

STRUKTUR-WIRKUNGSBEZIEHUNGEN NEUARTIGER KÄFIGDIMERER
1,4-DIHYDROPYRIDINE ALS HIV-1 PROTEASEINHIBITOREN

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von

Herrn Dipl.-Pharm. Jörg Wollmann

geboren am 24.09.1975 in Bernburg (Saale)

Gutachter

1. Priv.-Doz. Dr. habil. Andreas Hilgeroth
2. Prof. Dr. habil. Andreas Langner
3. Prof. Dr. habil. Detlef Briel

Halle (Saale), den 30. Januar 2008

urn:nbn:de:gbv:3-000014329

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000014329>]

*Gott giebt die
Nüsse
aber er beißt sie
nicht auf*

Weimar, den 9. Oktober 1811

Johann Wolfgang von Goethe

Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand im Zeitraum von Februar 2001 bis Januar 2006 am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Sie wäre nicht ohne die Unterstützung, den Rat und die Geduld zahlreicher Personen möglich gewesen, bei denen ich mich im nachfolgenden herzlich bedanken möchte.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Priv.-Doz. Dr. habil. Andreas Hilgeroth, für die interessante Aufgabenstellung verbunden mit der Möglichkeit, die vorliegende Arbeit in seiner Arbeitsgruppe selbständig anfertigen zu dürfen. Seine ausgezeichnete Betreuung in Form einer jederzeit gewährten Unterstützung, die ständige Diskussionsbereitschaft und die wertvollen Hinweise und Anregungen sowohl bei synthetischen Arbeiten als auch zu theoretischen Fragestellungen trugen maßgeblich zum Gelingen der Arbeit bei.

Herrn Priv.-Doz. Dr. habil. Hauke Lillie danke ich vor allem für die Anleitung und Möglichkeit zur Durchführung der HIV-Protease-Assays in seiner Arbeitsgruppe.

Besonders danken möchte ich Frau Dr. rer. nat. Ute Baumeister für die Anfertigung der Röntgenstrukturanalysen und ihre tatkräftige Unterstützung bei der Aufbereitung und Interpretation der gewonnenen Daten.

Ebenso danke ich Herrn Dr. rer. nat. Björn Windshügel für die Berechnung der Moleküldynamiksimulationen.

Frau M. Woigk und Frau G. Leissring danke ich für die Anfertigung der Massenspektren, Frau B. Brandt für die Durchführung der Elementaranalysen und Frau H. Rudolf für die IR-Spektroskopie. Herrn Dr. rer. nat. D. Ströhl und Mitarbeitern danke ich für die Aufnahme der zahlreichen NMR-Spektren.

Der gesamten Arbeitsgruppe *Wirkstoffdesign und Analytik* danke ich für das wundervolle überaus freundschaftliche Arbeitsklima, die zahlreichen Diskussionen über wissenschaftliche und minder wissenschaftliche Themen sowie die vielfältigen gemeinsamen Aktivitäten, die weit über eine gewöhnliche Zusammenarbeit hinausgingen und die meine „Laborzeit“ zu einem unvergesslichen Erlebnis machten.

Besonderer Dank gebührt Frau Herta Reißig, die mir mit ihrer langjährigen Erfahrung bei vielen kleinen Problemen in der täglichen Laborarbeit stets hilfreich zur Seite stand.

Vor allem danke ich aber meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglicht haben, mich zu jeder Zeit tatkräftig unterstützten und in meinem Vorhaben bestärkten und große Geduld bewiesen beim zeitweise sehr langsamen Fortschritt der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

	Inhaltsverzeichnis	IV
	Abkürzungsverzeichnis	VII
	Abbildungsverzeichnis	XI
	Tabellenverzeichnis	XIII
1	Einleitung	1
2	Zielstellung der Arbeit	15
3	Synthese der HIV-1 Proteaseinhibitoren	18
3.1	Synthesekonzept	18
3.2	Cyclokondensation (Darstellung der monomeren 1,4-Dihydropyridine)	20
3.2.1	Die Heteroaromaten substituierten monomeren Derivate	22
3.2.2	Die Methoxy substituierten monomeren Derivate	24
3.2.3	Die Hydroxy substituierten monomeren Derivate	25
3.2.4	Die Benzyloxy substituierten monomeren Derivate	27
3.3	Photochemische Dimerisierungsreaktionen (Darstellung der dimeren 1,4-Dihydropyridine)	29
3.3.1	Festkörper-Dimerisierung („solid-state“)	31
3.3.2	Dimerisierung in Lösung	33
3.4	Darstellung der Zielstrukturen	35
3.4.1	Reduktion mittels komplexer Hydride	35
3.4.2	Versuche zur Schutzgruppenentfernung (Debenzylierung)	39
3.4.3	¹ H-NMR-spektroskopische Besonderheiten der käfigdimeren Alkoholzielstrukturen	44
4	Untersuchungen zum Versagen der Festkörper-Dimerisierung (der Hydroxy substituierten monomeren Derivate)	47
4.1	Röntgenstrukturanalyse	47
4.2	Gründe für ein Versagen der Festkörper-Dimerisierung	55
4.3	Moleküldynamiksimulation	59

5	Biochemische Testung ausgewählter Verbindungen	62
5.1	Fluorimetrischer <i>in-vitro</i> Assay	62
5.2	Auswertung und Ergebnisse der HIV-1 Proteasehemmung	65
5.3	Biologische Aktivität und Struktur-Wirkungsbeziehungen	72
6	Zusammenfassung und Ausblick	78
7	Experimenteller Teil	82
7.1	Methoden, Geräte und Chemikalien	82
7.1.1	Schmelzbereichbestimmung	82
7.1.2	NMR-Spektroskopie	82
7.1.3	Massenspektrometrie	82
7.1.4	Elementaranalyse	83
7.1.5	Chromatographie	83
7.1.5.1	Dünnschichtchromatographie	83
7.1.5.2	Säulenchromatographie	83
7.1.6	Röntgenstrukturanalyse	84
7.1.7	Moleküldynamiksimulation	84
7.1.8	IR-Spektroskopie	85
7.1.9	Fluorimetrischer <i>in-vitro</i> Assay	85
7.1.10	Chemikalien und Lösungsmittel	87
7.1.10.1	Vorbehandlung der eingesetzten Lösungsmittel	87
7.1.10.2	Kommerziell erworbene Chemikalien	87
7.2	Synthese der Verbindungen	89
7.2.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften	89
7.2.2	Synthese der Ausgangsverbindungen	91
7.2.2.1	Darstellung der Nitrile	91
7.2.2.2	Darstellung der Amine	92
7.2.3	Synthese der monomeren 1,4-Dihydropyridine	93
7.2.3.1	Darstellung der <i>N</i> -unsubstituierten 1,4-Dihydropyridine	93
7.2.3.2	Darstellung der <i>N</i> -substituierten 1,4-Dihydropyridine	94
7.2.4	Synthese der dimeren 1,4-Dihydropyridine	102
7.2.5	Synthese der Zielverbindungen	109

7.2.5.1	Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid	109
7.2.5.2	Versuche der Debenzylierung	118
8	Literaturverzeichnis	119
	Anhang	

Abkürzungsverzeichnis

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
Abk.	Abkürzung
Abz	2-Aminobenzoyl-
Abz-NF [*] -6	2-Aminobenzoyl-Thr-Ile-Nle- <i>p</i> -nitro-Phe-Gln-Arg-NH ₂ (fluorogenes Hexapeptid; Substrat für den fluorimetrischen Assay)
Abz-TIN-OH	2-Aminobenzoyl-Thr-Ile-Nle-OH (fluorogenes Tripeptid; <i>N</i> -terminales Spaltprodukt des Substrates des fluorimetrischen Assays)
Aids	erworbenes Immunschwäche-Syndrom (englisch: acquired immune deficiency syndrome)
aliphat.	aliphatisch
Alk	Alkyl-
Ar	Aryl-
aromat.	aromatisch
Arg	Arginin (Dreibuchstabenabkürzung)
Asp	Asparaginsäure (Dreibuchstabenabkürzung)
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (IR) (englisch: attenuated total reflexion)
ber.	berechnet
Bn	Benzyl-
br	breit (breites Signal bei NMR oder IR)
BSA	Rinderserum-Albumin (englisch: bovine serum albumin)
CA	Kapsid (Hüllprotein des HI-Virus)
CDCl ₃	deutertes Chloroform
¹³ C-NMR	¹³ C-Kernresonanz-Spektroskopie (englisch: ¹³ C nuclear magnetic resonance spectroscopy)
d	Dublett (NMR)
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Doppeldublett (NMR)
DMPU	Dimethylpropylenharnstoff (englisch: dimethylpropylenurea) (1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon)
DMSO	Dimethylsulfoxid

DMSO-d ₆	deutertes Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (englisch: desoxyribonucleic acid)
EA	Elementaranalyse
EI	Elektronenstoß-Ionisation
env	envelope-Gen (Gen des HIV-Genoms; kodiert für die viralen Glykoproteine gp120 und gp41)
ESI	Elektrospray-Ionisation
FI	Fusionsinhibitor
FTIR	<i>Fourier</i> -Transform-Infrarot-Spektroskopie
gag	group-antigen-Gen (Gen des HIV-Genoms; kodiert für die viralen Hüll-Proteine Matrix, Kapsid und Nukleokapsid)
gef.	gefunden
Gln	Glutamin (Dreibuchstabenabkürzung)
Gly	Glycin (Dreibuchstabenabkürzung)
HAART	hochaktive antiretrovirale Therapie (englisch: highly active antiretroviral therapy)
HIV	Humanes Immunschwäche-Virus (englisch: human immunodeficiency virus)
¹ H-NMR	Protonenkernresonanz-Spektroskopie (englisch: proton nuclear magnetic resonance spectroscopy)
HPLC	Hochleistungs-Flüssigchromatographie (englisch: high performance liquid chromatography)
I	Isoleucin (Einbuchstabenabkürzung)
IC ₅₀	Inhibitorkonzentration, bei der die Enzymaktivität um 50 % reduziert ist bzw. die eine 50 %ige Hemmung der enzymatischen Reaktion verursacht
Ile	Isoleucin (Dreibuchstabenabkürzung)
IN	Integrase
INI	Integraseinhibitor
INN	Internationaler Freiname (englisch: international non-proprietary name)
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante (NMR)
K _i	Inhibitorkonstante (Dissoziationskonstante des Enzym-Inhibitor-Komplexes)
K _m	<i>Michaelis-Menten</i> -Konstante (Dissoziationskonstante des Enzym-Substrat-Komplexes)
m	Multiplett (NMR); mittel (IR)

M	molare Konzentration
m/z	Massezahl pro Ladung (Massenspektrometrie)
MA	Matrix (Hüllprotein des HI-Virus)
MDR	Multidrug-Resistance
MES	2-(<i>N</i> -Morpholino)ethansulfonsäure
MRP	Multidrug-Resistance-associated Protein
MS	Massenspektrometrie
N	Norleucin (Einbuchstabenabkürzung)
<i>N</i> -Bn	<i>N</i> -Benzyl-
NC	Nukleokapsid (Hüllprotein des HI-Virus)
Nle	Norleucin (Dreibuchstabenabkürzung)
NMR	Kernmagnetresonanz (englisch: nuclear magnetic resonance)
NNRTI	nicht-nukleosidischer Reverse-Transkriptaseinhibitor
<i>N</i> -Pic	<i>N</i> -Picolyl-
NRTI	nukleosidischer Reverse-Transkriptaseinhibitor (Nukleosidanalogen)
<i>O</i> -Bn	<i>O</i> -Benzyl-
P-gp	P-Glykoprotein
Ph	Phenyl-
Phe	Phenylalanin (Dreibuchstabenabkürzung)
PI	Proteaseinhibitor
Pic	Picolyl-
<i>p</i> -nitro-Phe	<i>para</i> -Nitrophenylalanin
pol	Polymerase-Gen (Gen des HIV-Genoms; kodiert für die viralen Enzyme Protease, Reverse-Transkriptase und Integrase)
PR	Protease
Pyr	Pyridyl-
q	Quartett (NMR)
RNA	Ribonukleinsäure (englisch: ribonucleic acid)
RT	Reverse-Transkriptase
s	Singulett (NMR); stark (IR)
SU	Oberflächenprotein des HI-Virus (englisch: surface protein; Glykoprotein gp120, das dem Virus zum Andocken an den zellulären CD4-Rezeptor dient)
T	Threonin (Einbuchstabenabkürzung)
t	Triplett (NMR)

THF	Tetrahydrofuran
Thr	Threonin (Dreibuchstabenabkürzung)
TLA	Dreibuchstabenabkürzung (englisch: three-letter abbreviation)
TM	Transmembran-Protein (Glykoprotein gp41 in der Membranhülle des HI-Virus; dient zur Verankerung des Glykoproteins gp120)
w	schwach (IR)
ZNS	zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung und Aufbau des HI-Virus	2
Abbildung 2:	Replikationszyklus von HIV innerhalb einer Zielzelle (CD4 ⁺ -Zelle)	3
Abbildung 3:	Therapieschema der HAART	5
Abbildung 4:	Die Raumstruktur der HIV-1 Protease im Komplex mit dem Inhibitor Ritonavir	7
Abbildung 5:	Aufbau des HIV-1 Genoms und Funktion der HIV-Protease	9
Abbildung 6:	Übersicht über die derzeit zugelassenen HIV-1 Proteaseinhibitoren	10
Abbildung 7:	Die cyclischen Harnstoffe und ihre azaanalogen Derivate als erste Klasse nicht-peptidischer HIV-1 Proteaseinhibitoren	12
Abbildung 8:	Die 4-Hydroxy-2-pyrone als zweite Klasse nicht-peptidischer HIV-1 Proteaseinhibitoren	13
Abbildung 9:	Das käfigdimere 1,4-Dihydropyridin 31 als Vertreter der ersten Generation der dritten Klasse der nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren	15
Abbildung 10:	Variation und Position der Substituenten in den aromatischen Strukturen der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine	16
Abbildung 11:	3-Stufen-Synthesekonzept zur Darstellung der HIV-1 Proteaseinhibitoren	18
Abbildung 12:	Darstellung der <i>N</i> -unsubstituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine	20
Abbildung 13:	Darstellung der <i>N</i> -substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine	21
Abbildung 14:	Synthese der Heteroaromaten substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine	22
Abbildung 15:	Darstellung von 7 über das Zwischenprodukt 6	23
Abbildung 16:	Die Methoxy substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine	24
Abbildung 17:	Die Hydroxy substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine	25
Abbildung 18:	Synthese der Benzyloxy geschützten 1,4-Dihydropyridine	28
Abbildung 19:	Nifedipin und das unter Lichtexposition entstehende Umwandlungsprodukt	29
Abbildung 20:	Beispiele für photodimere Addukte der 1,4-Dihydropyridine, die bei einer Licht induzierten Dimerisierung in der Festkörperphase entstehen	30
Abbildung 21:	Photochemische Dimerisierung im Festkörper („solid-state“)	31
Abbildung 22:	Photochemische Dimerisierung in Lösung	34
Abbildung 23:	Darstellung der Zielverbindungen durch Reduktion mit kompl. Hydriden	36
Abbildung 24:	Beobachtete Debenzylierungen durch kompl. Hydride am Beispiel von 35	37
Abbildung 25:	Debenzylierungsversuche durch katalyt. Hydrierung am Beispiel von 34	40
Abbildung 26:	Debenzylierungsversuche durch Transfer-Hydrierung am Beispiel von 34	41

Abbildung 27: <i>O</i> -Benzylschutzgruppen-Entfernung durch ein Thioanisol-Trifluoressigsäure-System an 34	42
Abbildung 28: Die Zielverbindung 38 und ihre Estervorstufe 21 mit der Darstellung der für die Diskussion relevanten aromatischen Protonen	44
Abbildung 29: ¹ H-NMR-Spektrum der Verbindung 38	45
Abbildung 30: ¹ H-NMR-Spektrum der Verbindung 21	46
Abbildung 31: Molekülstrukturen von 13A , 13B und 14	49
Abbildung 32: Vergleich der Strukturen von Molekül 13A und 13B	50
Abbildung 33: Das System der Wasserstoffbrückenbindungen im Kristall der Verbindung 13	51
Abbildung 34: Das System der Wasserstoffbrückenbindungen im Kristall der Verbindung 14	52
Abbildung 35: Projektion der Kristallstruktur von Verbindung 13 in x-Richtung	52
Abbildung 36: Projektion der Kristallstruktur von Verbindung 13 in y-Richtung	53
Abbildung 37: Räumliche Darstellung der Kristallpackungen der Verbindungen 13 + 14	53
Abbildung 38: Kristallpackung der Verbindg. 14 in einer Projektion längs der z-Richtung	54
Abbildung 39: Kristallpackung der Verbindung 14 in einer Projektion längs [10-1]	54
Abbildung 40: Projektion zweier benachbarter Moleküle A und B der Verbindung 13	57
Abbildung 41: Moleküldynamiksimulationen	60
Abbildung 42: Grundprinzip des fluorimetrischen Assays	62
Abbildung 43: Fluoreszenzspektren	63
Abbildung 44: Fluoreszenzintensität-Zeit-Diagramme für die enzymatische Substrathydrolyse	66
Abbildung 45: Dixon-Diagramm zur Bestimmung der IC ₅₀ - und K _i -Werte am Beispiel des Inhibitors 39	69
Abbildung 46: Die <i>in-vitro</i> wirksamsten Vertreter aus der Reihe der cyclischen und azacyclischen Harnstoffderivate	73
Abbildung 47: Vorgeschlagene Bindungsverhältnisse an die Regionen S1/S1' und S2/S2' des aktiven Zentrums der HIV-1 Protease für die Verbindungen A-98881 und 32	74

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Antiretrovirale Arzneistoffe, die derzeit zur Behandlung der HIV-Infektion zugelassen sind	1
Tabelle 2:	Antiretrovirale Arzneimittel	6
Tabelle 3:	Kristalldaten und ausgewählte Parameter der Röntgenkristallstrukturanalyse	48
Tabelle 4:	ausgewählte Daten und Parameter der Wasserstoffbrückenbindungen in den Kristallpackungen der Verbindungen 13 und 14	52
Tabelle 5:	Die kürzesten Abstände potentiell reagierender Doppelbindungen benachbarter Moleküle in den Kristallpackungen der Verbindungen 13 und 14	55
Tabelle 6:	Ausgewählte geometrische Parameter	56
Tabelle 7:	Ausgewählte kritische Abstände für potentiell reagierende Nachbarmoleküle	58
Tabelle 8:	Die K_i -Werte der getesteten käfigdimeren HIV-1 Proteaseinhibitoren	71

1 Einleitung

Das Ziel der aktuellen HIV-Therapie besteht in einer möglichst vollständigen Unterdrückung der Virusvermehrung, wodurch das Fortschreiten der Immunschwächekrankheit Aids verhindert werden soll. Eine dauerhafte Inaktivierung des HI-Virus oder die komplette Elimination aus den infizierten Zellen ist bisher nicht möglich. Die Gründe hierfür sind vor allem in einer hohen Mutationsrate des Virus zu suchen.

Derzeit stehen insgesamt 21 Arzneistoffe für eine antiretrovirale HIV-Therapie zur Verfügung. Sie greifen an drei Targets (ein extrazellulärer und zwei intrazelluläre Angriffspunkte) des HIV-Replikationszyklus an und lassen sich in vier Substanzklassen einteilen (Tabelle 1).

intrazellulärer Angriffspunkt			extrazellulärer Angriffspunkt
NRTI	NNRTI	PI	Fusionsinhibitor
Abacavir	Delavirdin **	Amprenavir	Enfuvirtid
Didanosin	Efavirenz	Atazanavir	
Emtricitabin	Nevirapin	Darunavir	
Lamivudin		Fosamprenavir	
Stavudin		Indinavir	
Tenofovir DF		Lopinavir ***	
Zalcitabin *		Nelfinavir	
Zidovudin		Ritonavir	
		Saquinavir	
		Tipranavir	

*Tabelle 1: Antiretrovirale Arzneistoffe, die derzeit zur Behandlung der HIV-Infektion zugelassen sind (Stand: September 2007); * Vertrieb von der Firma Roche im Juni 2006 eingestellt; ** in Europa nicht zugelassen; *** nur als Kombinationspräparat mit Ritonavir zugelassen (Handelsname: Kaletra®)*

Die Reverse-Transkriptase (RT), ein viruseigenes Enzym, das die virale RNA in eine doppelsträngige DNA umschreibt, war das erste Target, für das HIV-Therapeutika entwickelt wurden: die Nukleosidanaloga bzw. nukleosidischen Reverse-Transkriptaseinhibitoren (NRTI). Mit Zidovudin (Retrovir®), ein Vertreter dieser Gruppe, kam 1987 das erste antiretrovirale Medikament auf den Markt (Hoffmann et al., 2007). Als „falsche Bausteine“

konkurrieren sie mit physiologischen Nucleosiden um die Substratbindungsstelle. Ihr Einbau in die DNA führt schließlich zum Abbruch der DNA-Synthese.

Mit der Entdeckung der HIV-1 Protease (PR) im Jahr 1989 (Navia *et al.*, 1989) stand ein weiteres Target-Enzym für die Entwicklung von antiviralen Arzneistoffen zur Verfügung. Die HIV-1 Protease spaltet die aus der Transkription und Translation der viralen Erbinformation hervorgegangenen viralen „Vorläuferproteine“ (*gag*- und *gag-pol*-Polyproteine) in einzelne Strukturproteine (Matrix, Kapsid und Nucleokapsid) sowie die Enzyme Integrase und Reverse-Transkriptase (von der Helm, 1996). Die HIV-1 Proteaseinhibitoren (PI) hemmen diesen für die Bildung neuer, intakter Viruspartikel wichtigen Schritt durch Bindung an das aktive Zentrum des Enzyms (Eron, 2000).

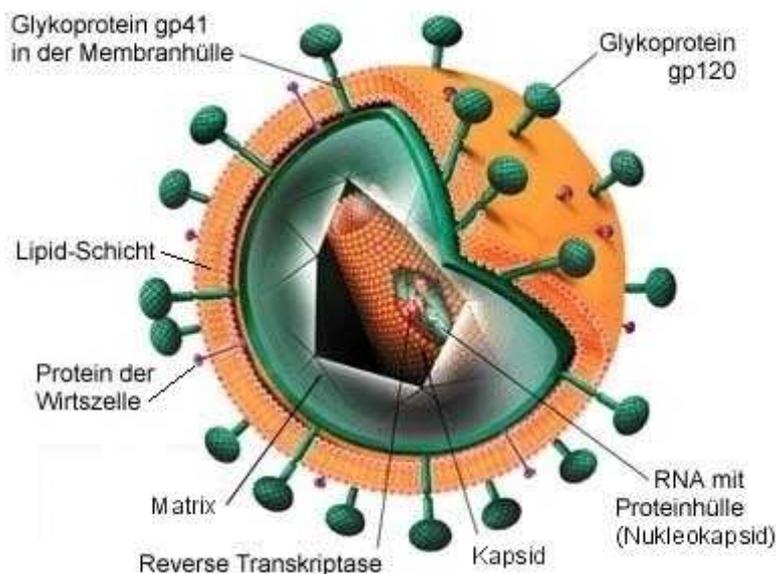


Abbildung 1: Schematische Darstellung und Aufbau des HI-Virus (modifiziert nach www.hiv-info.de)

Neben den NRTI wurden Vertreter einer Arzneistoffgruppe entwickelt, die ebenfalls an der Reverse-Transkriptase angreifen: die nicht-nucleosidischen Reverse-Transkriptaseinhibitoren (NNRTI). Sie docken direkt an eine Bindungsregion an, die sich nahe des aktiven Zentrums der Reversen-Transkriptase befindet und hemmen nicht-kompetitiv das Enzym. Dadurch wird die katalytisch aktive Bindungsstelle aufgrund einer Konformationsänderung blockiert und die Aktivität des Enzyms deutlich verlangsamt.

Mit *Enfuvirtid* (*Fuzeon*[®], Roche) befindet sich seit 2003 der erste und bislang einzige Vertreter einer weiteren Stoffklasse, der Fusionsinhibitoren (FI), auf dem Markt. Sie

verhindern in einem frühen Stadium der Virusvermehrung das Eindringen des HI-Virus in die $CD4^+$ -Zelle, die Wirtszelle des Virus (*Oldfield et al.*, 2005).

Ebenfalls an der Wirtszelloberfläche ist eine neuartige Wirkstoffklasse aktiv, die Corezeptor-Antagonisten. Zum Eintritt in die Zelle benutzt das Virus zwei Rezeptoren auf der Oberfläche, den $CD4$ -Rezeptor und einen Corezeptor. Die Corezeptoren werden in der Zellmembran in der Umgebung von $CD4$ exprimiert. Zwei von ihnen besitzen eine Schlüsselfunktion für das HI-Virus: der $CCR5$ - und der $CXCR4$ -Corezeptor. *Maraviroc* (*Celsentri*[®], Pfizer), ein $CCR5$ -Corezeptor-Antagonist, bindet selektiv an den $CCR5$ -Rezeptor. Diese Substanz könnte demnächst die Phase 3 der klinischen Prüfung verlassen. Sowohl die FDA als auch die EMEA haben eine Zulassung empfohlen, sie wird noch für das Jahr 2007 erwartet.

Die Integrase (IN) ist neben der Reverse-Transkriptase und der Protease das dritte für die Virusvermehrung wichtige HIV-Enzym. Es integriert die gebildete virale DNA in die humane DNA. *Raltegravir* (*Isentress*[®], Merck Sharp & Dohme) und *Elvitegravir* (Gilead) sind die zwei aussichtsreichsten Kandidaten einer neuen vielversprechenden Wirkstoffgruppe, die HIV-Integrase-Hemmer (INI). Sie befinden sich derzeit in der Phase 3 bzw. Phase 2B der klinischen Prüfung.

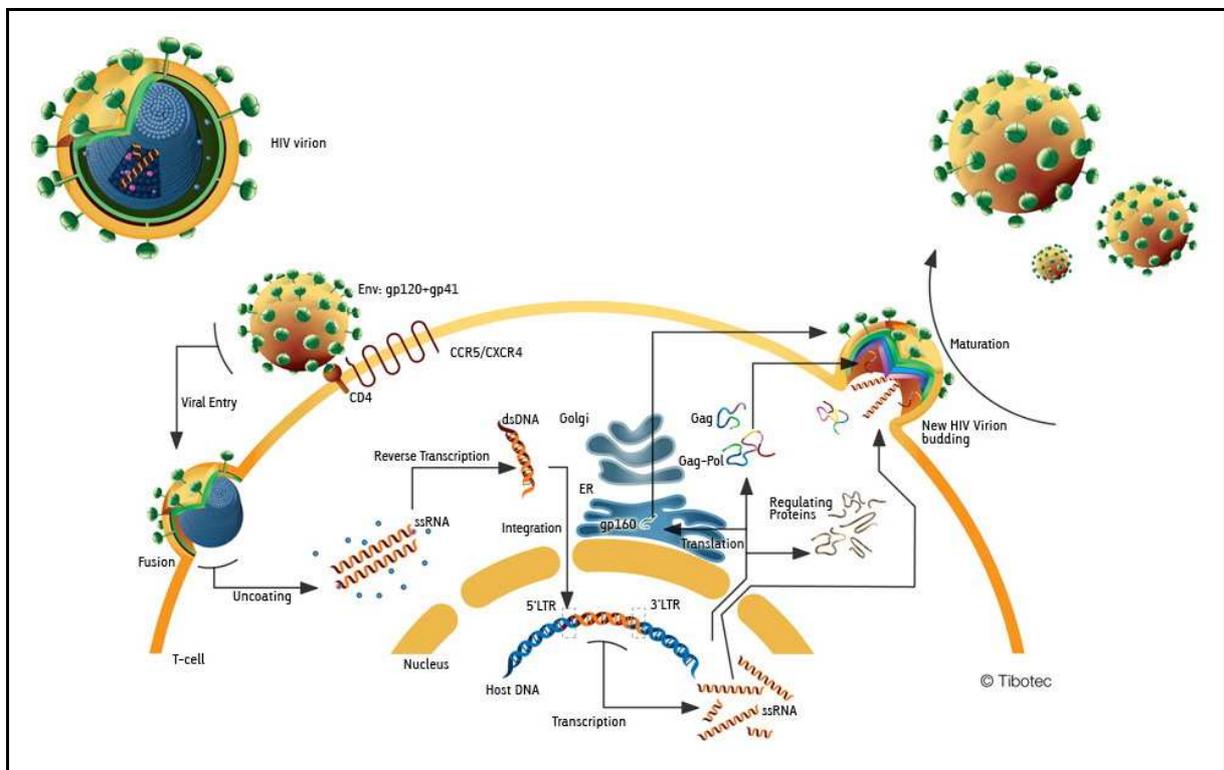


Abbildung 2: Replikationszyklus von HIV innerhalb einer Zielzelle ($CD4^+$ -Zelle) (www.tibotec.com)

In den Anfangsjahren der medikamentösen HIV-Behandlung traten unter der Monotherapie mit NRTI und PI sehr schnell Resistenzen gegen die verfügbaren Arzneistoffe auf (CONCORDE-Studie, 1994). Die Kombination antiretroviraler Therapeutika zeigte sich einer Monotherapie deutlich überlegen, nicht zuletzt, da Resistenzentwicklungen verzögert werden konnten. Dies belegten Mitte der Neunziger Jahre mehrere Studien eindrücklich, allen voran die europäisch-australische DELTA-Studie (1996) und die amerikanische ACTG 175-Studie (Hammer *et al.*, 1996).

Die Grundlage der heutigen HIV-Therapie bildet die im Jahre 1996 etablierte hochaktive antiretrovirale Therapie (HAART, englisch: highly active antiretroviral therapy). Mit ihr ließen sich erhebliche Erfolge in der Behandlung HIV-positiver Menschen erzielen, denn seit ihrer Einführung sterben deutlich weniger HIV-Infizierte an den Folgen von Aids. Somit hat sich die Prognose der HIV-Infektion dank HAART deutlich verbessert.

Die HAART basiert neben den bereits oben erwähnten Studien unter anderem auf Ergebnissen der Multicenter Aids Cohort Studie (MACS) (Mellors *et al.*, 1996), bei der 1604 HIV-positive Studienteilnehmer über einen durchschnittlichen Zeitraum von mehr als zehn Jahren hinsichtlich ihrer Therapie und des Krankheitsverlaufes beobachtet wurden. Keiner der Probanden bekam zum Zeitpunkt der Studienaufnahme eine antiretrovirale Behandlung. Im weiteren Verlauf der Beobachtung erhielten jedoch 41 % der Patienten antiretrovirale Medikamente. Dabei stellte sich heraus, dass die virale Aktivität und die Anzahl der CD4⁺-Zellen wichtige Parameter für den weiteren Verlauf der Infektionserkrankung sind. Die in der Literatur häufig als Viruslast bezeichnete Konzentration an HI-Viren im Blut sollte möglichst gering sein, während die CD4⁺-Zellzahl möglichst hoch sein sollte. Als Zielwert wird für die Viruslast eine Verringerung auf unter 500 HIV-RNA-Kopien pro Milliliter Blut angestrebt. Die Anzahl der CD4⁺-Zellen hingegen darf einen Wert von ca. 200 je Mikroliter Blut nicht unterschreiten. Aus der MAC-Studie ergab sich ein deutlicher Vorteil für Patienten mit initial niedriger Viruslast (Mellors *et al.*, 1996). Des Weiteren wirkte sich eine verringerte Viruslast als Ergebnis einer antiretroviralen Therapie ebenfalls sehr günstig auf den Krankheitsverlauf der HIV-Infektion aus.

Ziel der HAART ist es, durch eine Kombination mehrerer antiretroviraler Arzneistoffe mit unterschiedlichen Angriffspunkten die Zahl der Viren im infizierten Organismus möglichst schnell und deutlich zur Verbesserung der Prognose zu senken. Gleichzeitig können dadurch die Resistenzbarriere erhöht und Resistenzentwicklungen gegen die eingesetzten Wirkstoffe verzögert werden. Den Empfehlungen der HAART zufolge sollten zu Beginn der Therapie zwei Nukleosidanaloga entweder mit einem nicht-nukleosidischen Reverse-

Transkriptasehemmer oder einem Proteaseinhibitoren kombiniert werden (Abbildung 3) (Mosthaf, 2001). Dieses dreifach Therapieregime kann im weiteren Verlauf der Behandlung durch den Einsatz eines zusätzlichen Proteaseinhibitors oder eines Fusionshemmers zu einer vierfach Kombinationstherapie erweitert werden.

Hochaktive antiretrovirale Therapie (HAART)

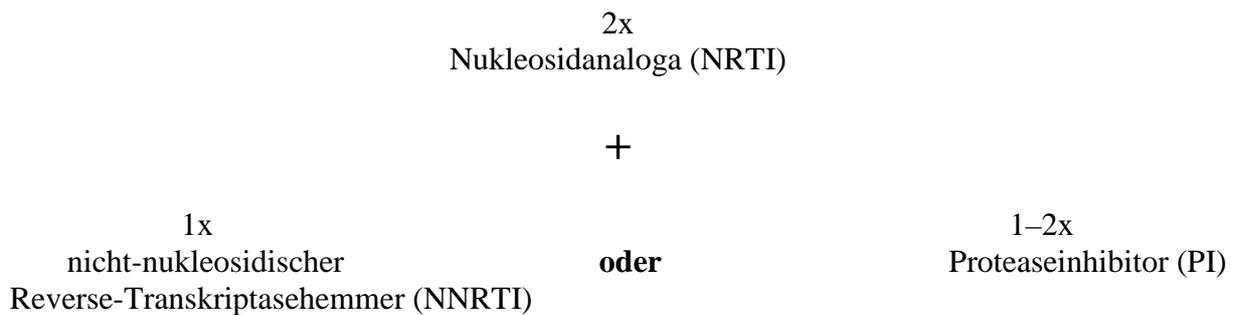


Abbildung 3: Therapieschema der HAART (modifiziert nach Mosthaf, 2001)

Im Falle einer erfolgreichen Therapie gelingt es häufig sogar, die Anzahl der Viren im Blut unter die Nachweisgrenze zu reduzieren. Eine Eradikation des Virus ist damit aber nicht erreichbar, wie man feststellen musste (Hoffmann *et al.*, 2007). Auch nach einer mehrjährigen HIV-Suppression mit nicht mehr nachweisbaren HIV-RNA-Mengen steigt innerhalb weniger Wochen nach dem Absetzen der antiretroviralen Therapie die Viruslast wieder an. Die Hoffnungen auf eine vollständige Eliminierung des HI-Virus durch eine intensive Hemmung der Virusvermehrung über mehrere Jahre haben sich nicht erfüllt. Vielmehr weiß man heute, dass selbst bei diagnostisch nicht mehr nachweisbaren RNA-Kopien die Replikation des viralen Erbgutes in ruhenden CD4⁺-Zellen des lymphatischen Systems weiter voranschreitet. Diese ruhenden CD4⁺-Zellen, die weder wachsen noch sich teilen, stellen ein massives Problem in der HIV-Therapie dar. Einige wenige infizierte Zellen in diesen therapeutisch nicht oder nur schwer zugänglichen Reservoirs wie dem Lymphsystem oder dem ZNS reichen vermutlich aus, um eine Infektion auch nach Jahren wieder zu reaktivieren (Hoffmann *et al.*, 2007).

Den Erfolgen der HAART mit einer verbesserten Prognose für die HIV-Infektion stehen aber einige nicht unerhebliche Nebenwirkungen gegenüber. Mit zunehmender Therapiedauer treten bei HIV-Patienten vermehrt Stoffwechselveränderungen und -störungen auf. Eine Mitochondrienschädigung (mitochondriale Toxizität) (Brinkman *et al.*, 1999), hervorgerufen durch NRTI und PI, wird hierfür ursächlich angenommen (Galli *et al.*, 2002). Unter der HAART können sich diese Nebenwirkungen als Übelkeit, Erbrechen, Durchfall,

Niereninsuffizienz, Hyperlipoproteinämie, Lactatacidose, Hepatomegalie, erhöhte Leberenzymwerte, Störung des Glucosestoffwechsels (bis hin zum Diabetes mellitus) oder am klinisch auffallendsten als Lipodystrophiesyndrom äußern (Nolan, 2003). Bei letzterem kommt es zu einer quasi „Fettverteilungsstörung“ mit ungewöhnlich starken Fettansammlungen in Brust- und Nackenbereich auf der einen Seite und verstärktem Fettabbau in der Wangen- und Stirnregion auf der anderen Seite.

Handelsname	TLA	INN	Hersteller	Jahreskosten (in Euro)***
Nukleosidische Reverse-Transkriptaseinhibitoren (NRTI)				
Combivir [®]	CBV	Zidovudin+Lamivudin	GlaxoSmithKline	7725
Emtriva [®]	FTC	Emtricitabin	Gilead	3656
Epivir [®]	3TC	Lamivudin	GlaxoSmithKline	3656
HIVID [®]	DDC	Zalcitabin	Roche	außer Vertrieb
Kivexa [®]	KVX	Lamivudin+Abacavir	GlaxoSmithKline	8796
Retrovir [®]	AZT	Zidovudin	GlaxoSmithKline	4070
Trizivir [®]	TZV	Zidovudin+Lamivudin+Abacavir	GlaxoSmithKline	13890
Truvada [®]	TVD	Emtricitabin+Tenofovir DF	Gilead	9357
Videx [®]	DDI	Didanosin	Bristol-Myers Squibb	4098
Viread [®]	TDF	Tenofovir DF	Gilead	5820
Zerit [®]	D4T	Stavudin	Bristol-Myers Squibb	3671
Ziagen [®]	ABC	Abacavir	GlaxoSmithKline	5141
Nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptaseinhibitoren (NNRTI)				
Rescriptor [®]	DLV	Delavirdin	Pfizer	nur Import
Sustiva [®]	EFV	Efavirenz	Bristol-Myers Squibb	5113
Viramune [®]	NVP	Nevirapin	Boehringer Ingelheim	5205
Proteaseinhibitoren (PI)				
Agenerase [®]	APV	Amprenavir*	GlaxoSmithKline	5596
Aptivus [®]	TPV	Tipranavir*	Boehringer Ingelheim	14499
Crixivan [®]	IDV	Indinavir*	Merck Sharp & Dohme	4368
Invirase [®]	SQV	Saquinavir*	Roche	8360
Kaletra [®]	LPV	Lopinavir+Ritonavir	Abbott	9409
Norvir [®]	RTV	Ritonavir**	Abbott	1346
Prezista [®]	DRV	Darunavir*	Janssen-Cilag	11896
Reyataz [®]	ATV	Atazanavir*	Bristol-Myers Squibb	9330
Telzir [®]	FPV	Fosamprenavir*	GlaxoSmithKline	8384
Viracept [®]	NFV	Nelfinavir	Roche	6315
Fusionsinhibitoren				
Fuzeon [®]	ENF	Enfuvirtid	Roche	24724
Kombination von zwei NRTI mit einem NNRTI				
Atripla [®]		Emtricitabin+Tenofovir DF+Efavirenz	Gilead+Bristol-Myers Squibb	nur Import

Tabelle 2: Antiretrovirale Arzneimittel (Stand: September 2007; modifiziert nach Hoffmann et al., 2007); * Kosten inklusive der empfohlenen Ritonavir-Boosterung; ** Booster-Dosis; *** Jahrestherapiekosten in Deutschland (in Euro, nach Roter Liste 2007)

Diese äußerlich sichtbare, körperliche Veränderung führt bei den Patienten sehr häufig zu einer Verschlechterung der Compliance bis hin zum Abbruch der Therapie.

Als problematisch erweist sich auch der Einfluss bestimmter zellulärer Transporterproteine auf zahlreiche HIV-Pharmaka. Diese Proteine, die auch als Membran-Efflux-Pumpen bezeichnet werden, transportieren die Arzneistoffe nach erfolgter Resorption und Passage durch Zellmembranen wieder aus den Zellen hinaus und senken damit den (therapeutisch nötigen) intrazellulären Wirkstoffspiegel. In der Folge kommt es zu einer verminderten Wirksamkeit, verbunden mit Resistenzentwicklungen. Diese Abwehrstrategie der Zellen gegen Fremdstoffe (Xenobiotika) wird als Multidrug-Resistance (MDR) benannt, die entsprechenden Proteine als Multidrug-Resistance-associated Proteine (MRP). Zu solchen Efflux-Pumpen zählt das P-Glykoprotein (P-gp), für das die Proteaseinhibitoren als Substrate fungieren (*Klinker, 2001*). Die Exprimierung von P-gp in verschiedenen epithelialen Zellen des Gastrointestinaltraktes, der Leber und der Niere sorgt somit für eine verringerte (orale) Bioverfügbarkeit der PI. Ebenso wird das Vorhandensein von P-gp in den Epithelzellen der Blut-Hirn-Schranke für die schlechte ZNS-Gängigkeit der PI verantwortlich gemacht.

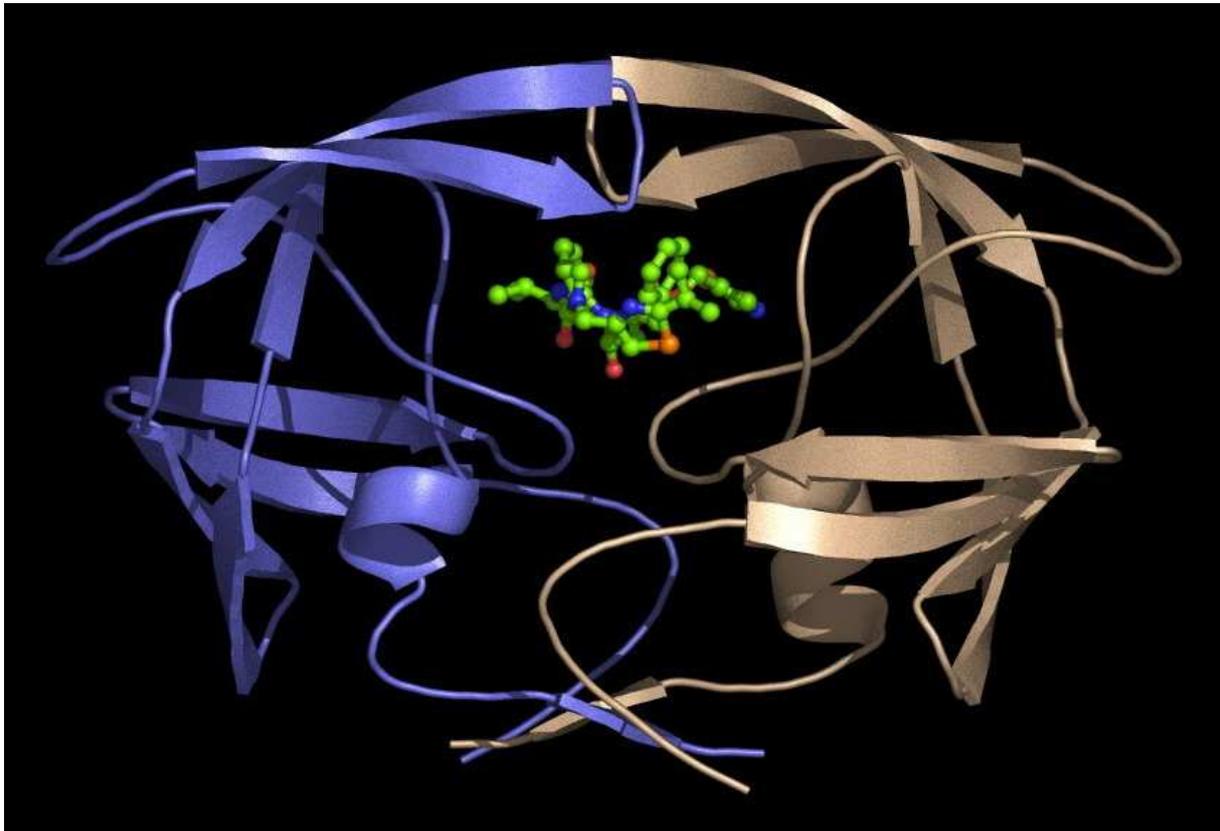


Abbildung 4: Die Raumstruktur der HIV-1 Protease im Komplex mit dem Inhibitor Ritonavir (www.chem.ucsb.edu)

Ferner ist die Gruppe der Nukleosidanaloga Substrat für das in den Lymphocyten auftretende Multidrug-Resistance-associated Protein-4 (MRP-4), ebenfalls ein Transporterprotein. In ihm wird die Ursache für die zelluläre Resistenz von Lymphocyten gegenüber den NRTI gesehen. Das ZNS und das Lymphsystem können daher leicht als Viren-Reservoir dienen.

Die HIV-1 Protease wurde durch *Navia et al.* (1989) charakterisiert und in ihrer räumlichen Struktur aufgeklärt (Abbildung 4). Sie stellt strukturell ein Homodimer dar, da sie aus zwei identischen, nicht miteinander kovalent verknüpften Aminosäureketten besteht, die aus jeweils 99 Aminosäuren aufgebaut sind. Sie ist unter den retroviralen Proteasen die kleinste und gehört zur Familie der Aspartyl-Proteasen. Aufgrund ihres dimeren Baus existiert eine C_2 -Symmetrie im aktiven Zentrum des Enzyms.

Die HIV-Protease spielt in der Virusvermehrung eine entscheidende Rolle. Nach autokatalytischer Abspaltung aus einem *gag-pol*-Polyproteinkomplex trennt sie in neu entstehenden Viruspartikeln die großen viralen Precursormoleküle („Vorläuferproteine“) in verschiedene, funktionsfähige Proteine auf (Abbildung 5). Sie spaltet die *gag*-Polyproteine in die Strukturproteine Matrix (MA), Kapsid (CA) und Nukleokapsid (NC). Die *gag-pol*-Polyproteine werden von ihr in die Enzyme Reverse-Transkriptase und Integrase sowie in die Strukturproteine Matrix und Kapsid aufgespalten (*von der Helm*, 1996). Die *env*-Proteine werden durch zelluläre Mechanismen (Proteasen der Wirtszelle) in die viralen Membran-Glykoproteine gp120 (SU) und gp41 (TM) gespalten. Die Strukturproteine werden dann zusammen mit den Enzymen in einem weiteren Schritt, der sogenannten Reifung (englisch: maturation), zu intakten Viren zusammengefügt. Werden aber die Proteinspaltungen durch Hemmung der viralen Protease unterbunden, können keine intakten, also „reife“ Viren entstehen (*von der Helm*, 1996). Die HIV-Protease besitzt eine Schlüsselrolle in der Virusvermehrung und ist daher als Target für die antiretrovirale HIV-Therapie prädestiniert.

Derzeit sind 10 Proteaseinhibitoren verfügbar, die bei der Behandlung der HIV-Infektion eingesetzt werden können (Abbildung 6 sowie Tabellen 1 und 2). Die ersten Vertreter dieser Substanzklasse waren *Saquinavir* (*Invirase*[®]), *Ritonavir* (*Norvir*[®]) und *Indinavir* (*Crixivan*[®]). Sie wurden in der 2. Hälfte der 90er Jahre eingeführt (DAZ, 1996; *Moyle & Gazzard*, 1996; *Hammer et al.*, 1997; *Cameron et al.*, 1998; *Stellbrink et al.*, 2000). *Saquinavir* und *Ritonavir* gingen aus Entwicklungen ausgehend von Pepstatin A, dem ersten HIV-1 Proteasehemmer (*Seelmeier et al.*, 1988), hervor. *Indinavir* wurde aus Renininhibitoren entwickelt aufgrund der Verwandtschaft von Renin als menschliche Aspartyl-Protease mit der HIV-1 Protease (*von der Helm*, 1996). Es folgten weitere Proteaseinhibitoren wie *Nelfinavir* (*Viracept*[®]),

Amprenavir (*Agenerase*[®]) und *Lopinavir* (in Kombination mit *Ritonavir* = *Kaletra*[®]). Mit *Atazanavir* (*Reyataz*[®]) kam 2004 der erste „Once-Daily“-PI auf den Markt und erleichterte mit einer einmal täglichen Tabletteneinnahme die medikamentöse Therapie für HIV-Patienten erheblich. *Fosamprenavir* (*Telzir*[®]) ist ein Calciumphosphatester des *Amprenavirs* und als Prodrug besser löslich und besser resorbierbar im Vergleich zu *Amprenavir*. Mit *Tipranavir* (*Aptivus*[®]) gelangte 2005 schließlich der erste und bisher einzige nicht-peptidische PI auf den Markt.

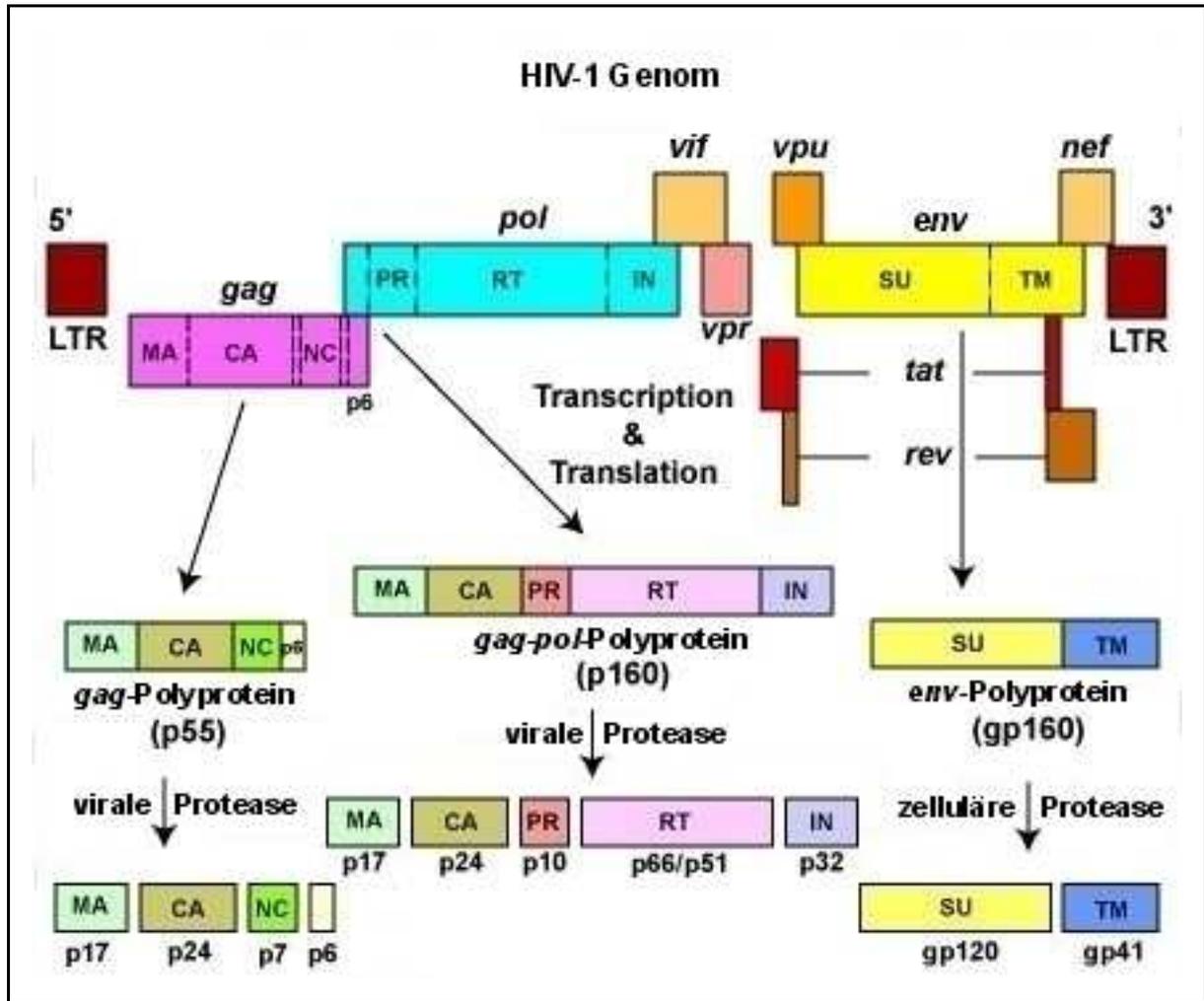


Abbildung 5: Aufbau des HIV-1 Genoms und Funktion der HIV-Protease (modifiziert nach student.ccbcmd.edu). Die gag- und pol-Gene werden als eine Einheit transkribiert und in die zwei Polyproteine gag und gag-pol translatiert. Die HIV-Protease spaltet das gag-Polyprotein (p55) in die Strukturproteine Matrix (MA; p17), Kapsid (CA; p24) und Nukleokapsid (NC; p7) sowie das gag-pol-Polyprotein (p160) in die Enzyme Reverse-Transkriptase (RT; p66/p51) und Integrase (IN; p32). Das env-Gen wird in das env-Polyprotein (gp160) transkribiert und translatiert, das von zellulärer Protease in das Oberflächen-Glykoprotein (SU; gp120) und das Transmembran-Glykoprotein (TM; gp41) gespalten wird. Die HIV-Gene vif, vpr, vpu, tat, rev und nef kodieren für regulatorische Proteine. An den „long terminal repeat“-Regionen (LTR) wird das virale Genom in die zelluläre DNA eingebaut.

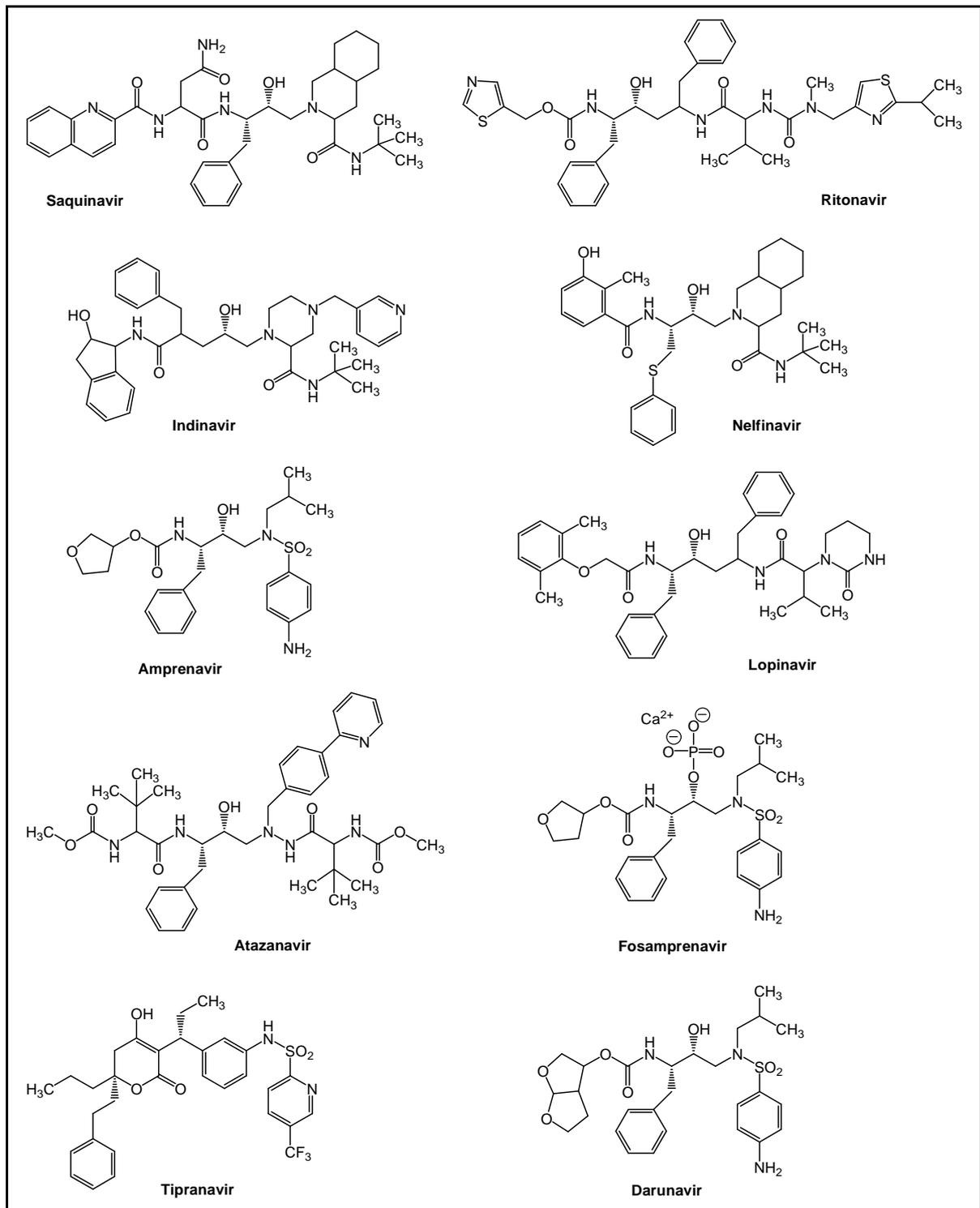


Abbildung 6: Übersicht über die derzeit zugelassenen HIV-1 Proteaseinhibitoren (Stand: September 2007)

Der jüngste Vertreter aus dieser Wirkstoffklasse, *Darunavir* (*Prezista*[®], 2007 in Europa zugelassen), ist das Ergebnis einer Weiterentwicklung von *Amprenavir*. Durch Einführung eines zweiten Tetrahydrofuranrestes an den bereits vorhandenen, konnte eine festere Bindung im aktiven Zentrum des Enzyms erzielt werden.

Bis auf *Tipranavir* ist ihnen allen eine peptidanaloge Struktur gemeinsam. Damit sind eine Reihe von Problemen verbunden. Denn die PI werden relativ schlecht resorbiert (*Klinker*, 2001), ihre Bioverfügbarkeit liegt lediglich zwischen ca. 4 % bei *Saquinavir* (Fachinformation *Invirase*[®]) und ca. 65 % bei *Indinavir* (Fachinformation *Crixivan*[®]). Ferner werden die Substanzen intensiv vom Cytochrom-P₄₅₀-Enzymsystem in der Leber und der Darmmukosa metabolisiert. Und schließlich unterliegen sie als Substrate des P-Glykoproteins der zellulären Multidrug-Resistance. Diese unbefriedigenden Resorptionen und ein ausgeprägter First-Pass-Effekt führen zu hohen Dosierungen der PI, die von einem breiten Nebenwirkungsspektrum begleitet werden.

Die hohe Affinität der PI zum Cytochrom-P₄₅₀-System hat außerdem zahlreiche, zum Teil gravierende, Interaktionen mit anderen Pharmaka und auch Nahrungsmittelbestandteilen (z. B. Grapefruitsaft) zur Folge. Diese erhöhte Gefahr von Wechselwirkungen muss vor allem bei der medikamentösen Therapie von Begleiterkrankungen Beachtung finden.

Arzneistoffwechselwirkungen sind jedoch nicht immer unerwünscht, sie können auch therapeutisch sinnvoll genutzt werden. Die meisten PI werden heute mit einer zusätzlichen niedrigen Dosis von *Ritonavir* (100–200 mg) kombiniert (Tabelle 2). *Ritonavir* ist zum einen ein potenter Inhibitor des Cytochrom-P₄₅₀-Isoenzym 3A4, über das fast alle PI verstoffwechselt werden, zum anderen hemmt es den P-Glykoprotein vermittelten Transport der PI aus den Zellen (*Klinker*, 2001). Dadurch wird sowohl der Abbau des zweiten PI vermindert als auch dessen Abtransport aus den Zellen verringert. Die Kombination von *Ritonavir* mit einem weiteren PI führt somit zu einer teilweise erheblichen Steigerung der intrazellulären Wirkstoffkonzentration des wirksamen PI, verbunden mit einer Verlängerung der Halbwertszeit (*Kempf et al.*, 1997). Dieser Effekt wird in der Literatur als „Boosterung“ bezeichnet. Er erlaubt neben einer erhöhten Bioverfügbarkeit eine Verringerung der Einnahmehäufigkeit auf ein- bis zweimal täglich, in deren Folge die Compliance in vielen Fällen deutlich verbessert wird. Mit *Kaletra*[®] (*Lopinavir* 200 mg + *Ritonavir* 50 mg), einer fixen Kombination zweier PI in einer Filmtablette, wurde bereits ein Fertigarzneimittel auf den Markt gebracht, das den „Booster-Effekt“ ausnutzt. Als kritisch bei der Boosterung erweist sich jedoch die Nephrotoxizität von *Ritonavir* bei längerer Anwendung (*Deray et al.*, 1998). Neben gastrointestinalen Nebenwirkungen, Interaktionen und der hohen Tablettenanzahl haben alle PI ihre Probleme in der Langzeitbehandlung – sie sind alle mehr oder weniger in die Lipodystrophie und Dyslipidämie involviert (*Nolan*, 2003; *Hoffmann et al.*, 2007).

Auch die beiden neuesten Vertreter dieser Stoffklasse, das nicht-peptidische *Tipranavir* und das peptidische *Darunavir*, zeigen einerseits eine gute Wirksamkeit gegen bereits PI resistente Virenstämme, haben andererseits aber mit den gleichen Problemen (schlechte Bioverfügbarkeit, hohes Neben- und Wechselwirkungspotential) zu kämpfen, wie sie aus der Anwendung der herkömmlichen PI bekannt sind (Lode & Stahlmann, 2006 & 2007).

Ein weiterer nicht unerheblicher Nachteil aller auf dem Markt befindlichen Inhibitoren sind die hohen Kosten, die durch eine langwierige Synthese und vor allem durch das Vorhandensein mehrerer Chiralitätszentren verursacht werden (Tabelle 2 und Abbildung 6).

Für eine weltweite Bekämpfung der HIV-Infektion und damit verbunden der Immunschwächekrankheit Aids müssen daher neue und vor allem preiswertere HIV-Therapeutika entwickelt werden. Gerade in den am stärksten betroffenen Regionen, den ärmsten Ländern der Erde, muss zukünftig der Zugang zu antiretroviralen Medikamenten erheblich erleichtert werden.

Eine Alternative zu den gegenwärtigen, mit Ausnahme von *Tipranavir* peptidischen Hemmern, liegt somit in der Entwicklung von nicht-peptidischen HIV-Proteaseinhibitoren. Sie sollten ein geringes Metabolisierungs- und Interaktionspotential besitzen, das heißt möglichst keine Wechselwirkung zum Cytochrom-P₄₅₀-Enzymsystem aufweisen.

Erste Beispiele für nicht-peptidische HIV-1 Proteaseinhibitoren stellten die cyclischen Harnstoffe, von *DuPont Merck* (Wilmington, Delaware, USA) entwickelt, und ihre azaanalogen Derivate, von *Abbott* (Abbott Park, Illinois, USA) entwickelt, dar. In Abbildung 7 sind die drei aussichtsreichsten Vertreter dieser Gruppe abgebildet.

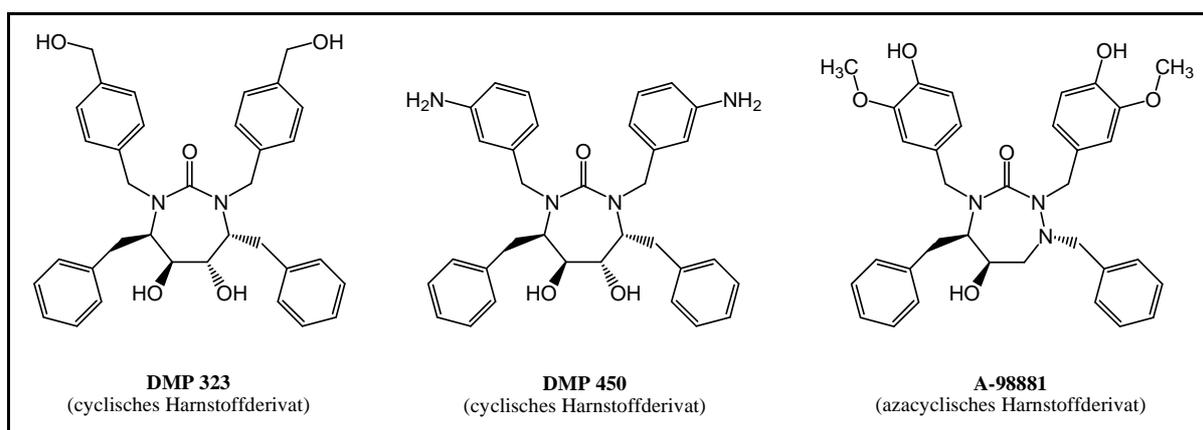


Abbildung 7: Die cyclischen Harnstoffe und ihre azaanalogen Derivate als erste Klasse nicht-peptidischer HIV-1 Proteaseinhibitoren

Ihrer Entwicklung lag die Ausnutzung der C_2 -Symmetrie des aktiven Zentrums der HIV-1 Protease zugrunde (Hodge *et al.*, 1996; Sham *et al.*, 1996). Dies erklärt den symmetrischen Aufbau dieser Verbindungen.

Leider erwiesen sie sich in der Phase I der klinischen Prüfung als zu schlecht oral bioverfügbar. **DMP 323** als bester Vertreter der ersten Generation wies eine schlechte Resorption sowie eine ausgeprägte Metabolisierung über das Cytochrom-P₄₅₀-System auf. Der hoffnungsvollste Vertreter der zweiten Generation, **DMP 450**, zeigte eine starke Plasma-Eiweiß-Bindung, die keinen ausreichenden Blutspiegel für eine antivirale Wirkung gegen die HI-Viren zur Folge hatte. Die Weiterentwicklung dieser ersten Klasse nicht-peptidischer PI wurde bis auf weiteres eingestellt (De Lucca & Lam, 1998).

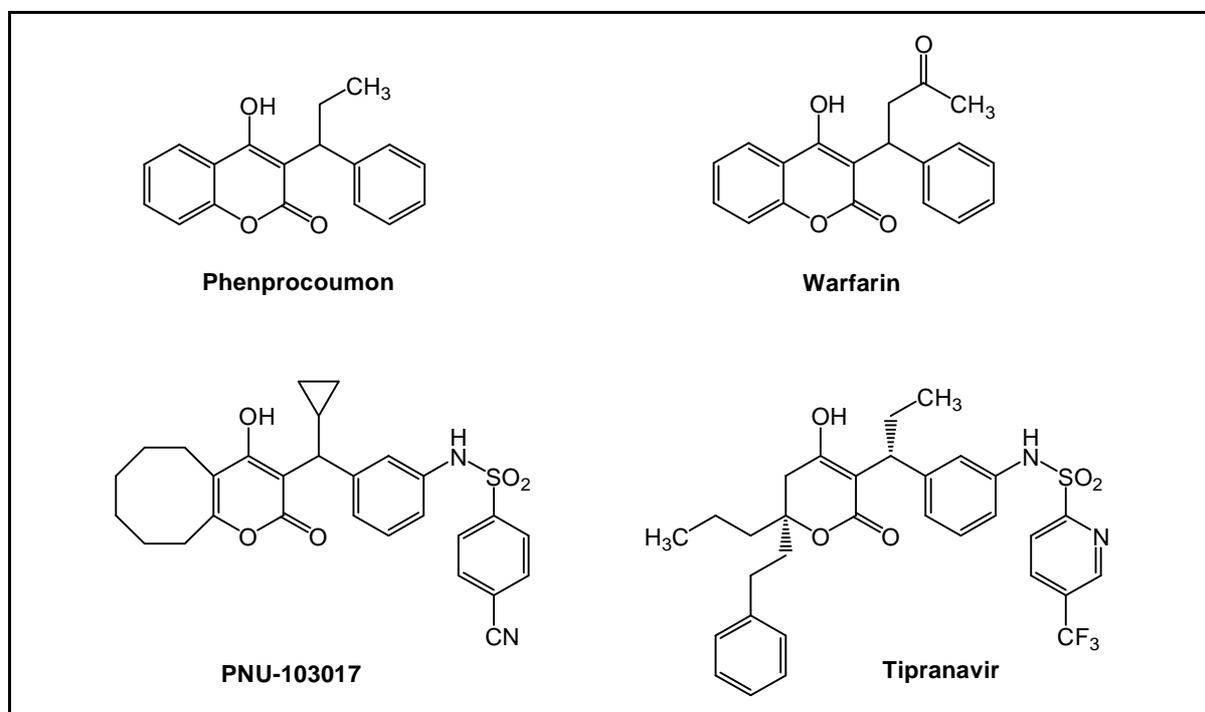


Abbildung 8: Die 4-Hydroxy-2-pyrone als zweite Klasse nicht-peptidischer HIV-1 Proteaseinhibitoren (hervorgegangen aus den oralen Antikoagulantien Phenprocoumon und Warfarin)

In Screening-Untersuchungen wurde für die als orale Antikoagulantien eingesetzten Arzneistoffe Warfarin (Coumadin[®], Bristol-Myers Squibb) und Phenprocoumon (Marcumar[®], Roche) eine HIV-Protease hemmende Aktivität gefunden, die zu einer neuen Klasse nicht-peptidischer PI führte (Thaisrivongs *et al.*, 1994; Aristoff, 1998). Von den 4-Hydroxy-2-pyronen (Abbildung 8) als zweite Klasse nicht-peptidischer PI mit einer verbesserten oralen Bioverfügbarkeit scheiterten die oralen Antikoagulantien Phenprocoumon und Warfarin (1. Generation) an mangelnder Wirksamkeit (Thaisrivongs *et al.*, 1994; Aristoff,

1998). **PNU-103017**, ein Vertreter der zweiten Generation mit gesteigerter Wirksamkeit, wies in klinischen Studien eine zu hohe Plasma-Eiweiß-Bindung auf (*Thaisrivongs et al.*, 1996; *Aristoff*, 1998). Bei *Tipranavir*, ein 4-Hydroxydihydropyron, konnte durch eine Verringerung der Plasma-Eiweiß-Bindung die Bioverfügbarkeit verbessert werden (*Aristoff*, 1998). Seit 2005 ist dieser Vertreter der dritten Generation in Europa zugelassen und unter dem Handelspräparat *Aptivus*[®] (Boehringer Ingelheim) auf dem Markt. Um ausreichende Plasmaspiegel zu erreichen, muss auch er wie die meisten PI durch eine zusätzliche Dosis *Ritonavir* „geboostert“ werden. Beunruhigend sind allerdings die in den RESIST-Studien (*Hicks et al.*, 2006) beobachteten erhöhten Transaminase- und Lipidwerte. Ein erhöhtes Risiko von Hepatotoxizitäten und Dyslipidämien unter einer *Tipranavir*-Therapie wird vermutet.

Gerade die Entwicklung neuartiger nicht-peptidischer Leitstrukturen stellt eine große Herausforderung an das Wirkstoffdesign dar. Basierend auf der Entdeckung der topochemischen Dimerisierung von 4-Aryl-1,4-dihydropyridinen wurden die entstehenden photodimeren Addukte von *Hilgeroth* (2002) als dritte Klasse nicht-peptidischer HIV-1 Proteaseinhibitoren eingeführt (Abbildung 9, Kapitel 2 und Abbildung 11, Kapitel 3.1). Sie zeigen eine kompetitive Hemmung der HIV-1 Protease (*Hilgeroth et al.*, 1999[d]). Bioanalytische Untersuchungen ausgewählter Substanzen der ersten Generation bewiesen, dass diese kaum metabolisiert werden und keine signifikanten Plasma-Eiweiß-Bindungen aufweisen (*Hilgeroth & Langner*, 2000).

2 Zielstellung der Arbeit

Unsere Arbeitsgruppe verfolgt in Analogie zu den cyclischen Harnstoffen die Entwicklung von nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren auf der Grundlage der C_2 -Symmetrie des aktiven Zentrums der HIV-1 Protease. Es handelt sich hierbei um dimere Addukte der 1,4-Dihydropyridine (Abbildung 11, Kapitel 3.1). Sie sind durch eine topochemische Photodimerisierung von 1,4-Dihydropyridinen zugänglich (Hilgeroth, 2002).

Von Vertretern der ersten Generation der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine sind hydrophobe Wechselwirkungen der aromatischen Substituenten (Phenyl- und *N*-Benzylreste) mit den hydrophoben Aminosäuren (Ile, Val, Leu) der Bindungsregionen S1/S1' und S2/S2' anzunehmen. Molecular-Modelling-Untersuchungen zeigten im Vergleich mit den cyclischen Harnstoffen für ein erstes käfigdimeres Derivat Wechselwirkungen der aromatischen Reste mit den hydrophoben Bindungsregionen und der Hydroxymethylgruppen mit den *NH*-Funktionen der Aminosäuren Ile50/Ile50' bzw. Asp25/Asp25' des aktiven Zentrums der HIV-1 Protease (Hilgeroth et al., 1999[c]).

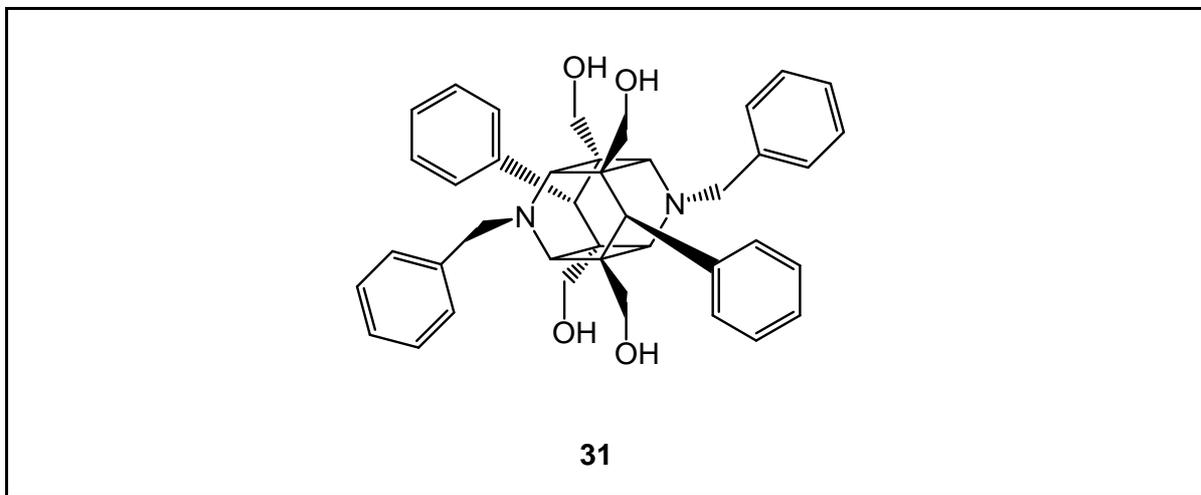


Abbildung 9: Das käfigdimere 1,4-Dihydropyridin **31** als Vertreter der ersten Generation der dritten Klasse der nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren

Als Vertreter der ersten Generation weist das käfigdimere Derivat **31** (Abbildung 9) bei kompetitivem Hemmmechanismus *in-vitro*-Aktivitäten im mikromolaren Bereich auf ($K_i = 7,8 \mu\text{M}$) (Hilgeroth et al., 1999[d]).

Die käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine zeichnen sich zudem durch eine Reihe von Vorteilen aus: Das Fehlen von Chiralitätszentren und eine einfache 3-Stufen-Synthese mit guten

Ausbeuten führen zu einem geringen Kostenaufwand bei der Synthese. Ferner zeigten die Substanzen in bioanalytischen Untersuchungen eine geringe *in-vitro*-Metabolisierung und keine signifikante Plasma-Eiweiß-Bindung (Hilgeroth & Langner, 2000).

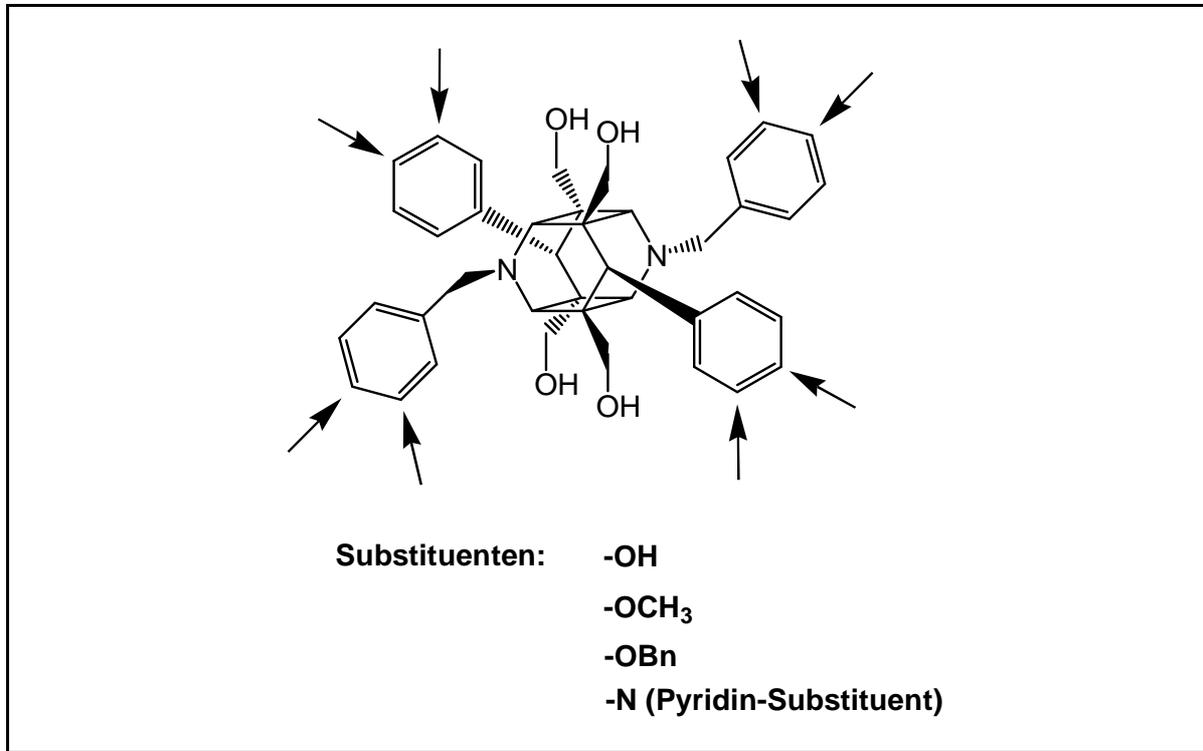


Abbildung 10: Variation und Position der Substituenten in den aromatischen Strukturen der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine (die Pfeile markieren die Substituentenpositionen in den Aromaten)

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel der Entwicklung von käfigdimeren 1,4-Dihydropyridinen der zweiten Generation als dritte Klasse der nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren. Eine Einführung von funktionellen Gruppen in die aromatischen Reste der 1,4-Dihydropyridin-Dimere (Abbildung 10) ist verbunden mit einer Erhöhung der Bindungsaffinitäten zu den Aminosäureresten im aktiven Zentrum der HIV-1 Protease.

Für die Hemmung der viralen Protease durch die Käfigdimere der ersten Generation zeichneten bisher hydrophobe Wechselwirkungen verantwortlich, vor allem zwischen den aromatischen Resten der dimeren 1,4-Dihydropyridine und den hydrophoben Aminosäuren der Bindungsregionen S1/S1' sowie S2/S2'. Zur Verbesserung der Wirksamkeit sollten nun Substituenten in die aromatischen Teilstrukturen eingeführt werden, die zu einer besseren Bindung an die Aminosäuren der Bindungstaschen S1/S1', S2/S2' und S3/S3' beitragen. Hierbei ist insbesondere an Wechselwirkungen mit den Aminosäuren Asp29/Asp29' und Asp30/Asp30' gedacht, die sich in der Übergangsregion der genannten Bindungstaschen

befinden. Es sollten solche Substituenten eingeführt werden, die zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen geeignet sind, in erster Linie Hydroxygruppen daneben aber auch Etherstrukturen wie Methoxy- und Benzyloxygruppen. Des Weiteren wurde die Darstellung von Heteroaromaten substituierten käfigdimeren 1,4-Dihydropyridinen verfolgt. Aus diesem Grund wurden (formal) *N*-Benzylreste durch *N*-Picolyreste (*N*-Methylpyridylreste) ersetzt, die als Wasserstoffbrückenakzeptoren fungieren sollten. Zur Spezifizierung, welcher der hydrophoben aromatischen Substituenten der käfigdimeren Zielverbindungen, der an Position vier der monomeren Dihydropyridin-Untereinheit (Phenylgruppe) oder der über einen Methylenlinker am Stickstoff gebundene (*N*-Benzylgruppe), an welche der hydrophoben Bindungsregionen S1/S1' oder S2/S2' der HIV-1 Protease bindet, sollten die Wasserstoffbrückenbindungen ausbildenden Substituenten in beide aromatischen Substrukturen eingeführt werden. Es ergeben sich somit zwei Reihen unterschiedlich substituiertes Zielverbindungen (Abbildung 10), die dargestellt werden sollten: die *N*-Benzyl-Reihe und die Phenyl-Reihe.

3 Synthese der HIV-1 Proteaseinhibitoren

3.1 Synthesekonzept

Die Darstellung der Zielverbindungen basiert auf einem 3-Stufen-Synthesekonzept (Abbildung 11). In einer ersten Reaktionsstufe erfolgt die Synthese der 1,4-Dihydropyridine. Sie können über eine Cyclokondensation aus einem Aldehyd, einem Propiolsäureester und einem Amin (*N*-substituierte 1,4-Dihydropyridine) oder Ammoniumacetat (*N*-unsubstituierte 1,4-Dihydropyridine) in Eisessig dargestellt werden (Kapitel 3.2). Die so erhaltenen monomeren 1,4-Dihydropyridine werden anschließend in einem zweiten Reaktionsschritt photochemisch umgesetzt. Hierbei kommt es zu einer Dimerisierung der 1,4-Dihydropyridine. Es entstehen als Hauptprodukte photostabile käfigdimere Strukturen.

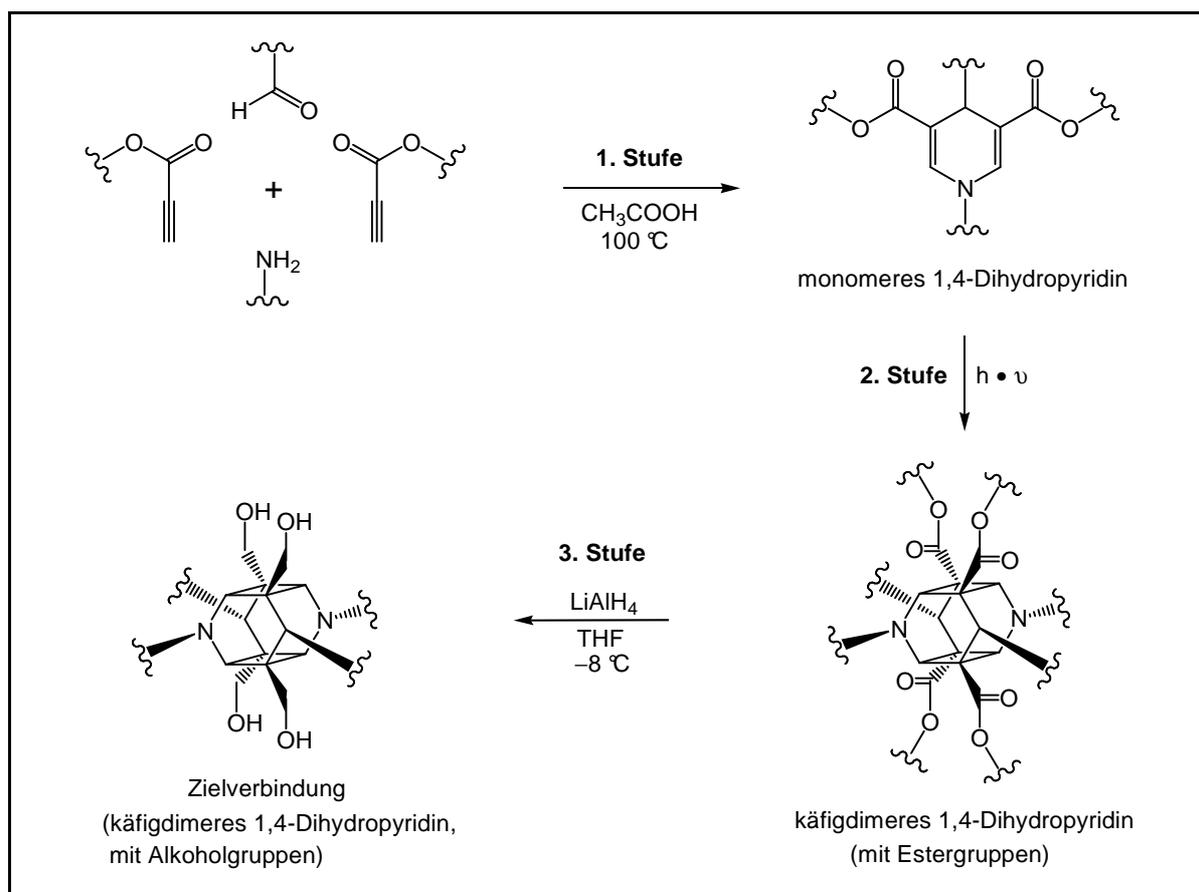


Abbildung 11: 3-Stufen-Synthesekonzept zur Darstellung der HIV-1 Proteaseinhibitoren

Als Strahlungsquelle dienen *Ultra-Vitalux*[®]-Lampen, die ein dem Sonnenlicht vergleichbares Spektrum aufweisen ($\lambda \geq 270$ nm). Die Bestrahlung wird entweder in der Festphase oder in Lösung durchgeführt (Kapitel 3.3). In einer abschließenden dritten Reaktionsstufe findet mittels komplexer Hydride (LiAlH_4) eine Reduktion der Esterfunktionen zu den entsprechenden Alkoholgruppen-haltigen Zielverbindungen statt (Kapitel 3.4).

3.2 Cyclokondensation

(Darstellung der monomeren 1,4-Dihydropyridine)

Synthesen zur Darstellung von 1,4-Dihydropyridinen sind schon seit langem bekannt. Die Pyridin-Synthese nach *Hantzsch* (1882), sowie ihre Modifizierung nach *Beyer* (1891) und ihre spätere Weiterentwicklung durch *Knoevenagel & Ruschhaupt* (1898) zählen zu den Klassikern. Diese sehr vielseitige und bewährte Methode führt allerdings üblicherweise zu 1,4-Dihydropyridinen mit Substituenten in 2- und 6-Position (*Hantzsch*, 1884; 1885[a] & [b]). Für die Darstellung der käfigdimeren Zielverbindungen als potentielle HIV-Proteaseinhibitoren sind jedoch 2,6-unsubstituierte 1,4-Dihydropyridine erforderlich. *Chennat & Eisner* (1975) sowie leicht abgewandelt *Lusis & Dubur* (1982) beschrieben eine ebenfalls sehr vielseitige und einfache Methode zur Darstellung solcher Dihydropyridine. Hierbei reagieren aromatischer Aldehyd und Ammoniumacetat mit Propiolsäureestern in Eisessig zu den entsprechenden 1,2,6-unsubstituierten Produkten (Abbildung 12). Die Darstellung unserer *N*-unsubstituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine folgte im wesentlichen diesen beiden jüngeren Vorschriften.

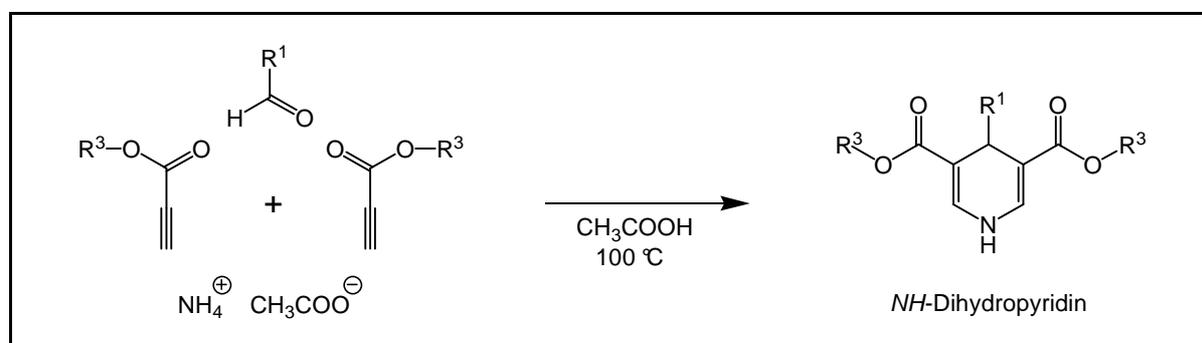


Abbildung 12: Darstellung der *N*-unsubstituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine (nach *Chennat & Eisner*, 1975; *Lusis & Dubur*, 1982)

Chekavichus et al. (1982) verwendeten statt des Ammoniumsalzes Anilinderivate und erhielten so sehr einfach und elegant ohne zusätzliche *N*-Alkylierung auf direktem Weg die entsprechenden *N*-substituierten 1,4-Dihydropyridine. Für die Synthese unserer *N*-substituierten Derivate wurden anstelle des Ammoniumsalzes bzw. der Aniline primäre Amine eingesetzt (*Hilgeroth*, 1994 & 2000). Diese Modifizierung nach *Hilgeroth* konnte bis auf wenige Ausnahmen problemlos auf die Darstellungsmethoden übertragen werden mit einheitlicher Produktbildung und in nahezu quantitativen Ausbeuten (Abbildung 13). Sie

ermöglicht eine große Strukturvariabilität verbunden mit einer leichten Zugänglichkeit für die Synthese der Ausgangsverbindungen (monomere 1,4-Dihydropyridine).

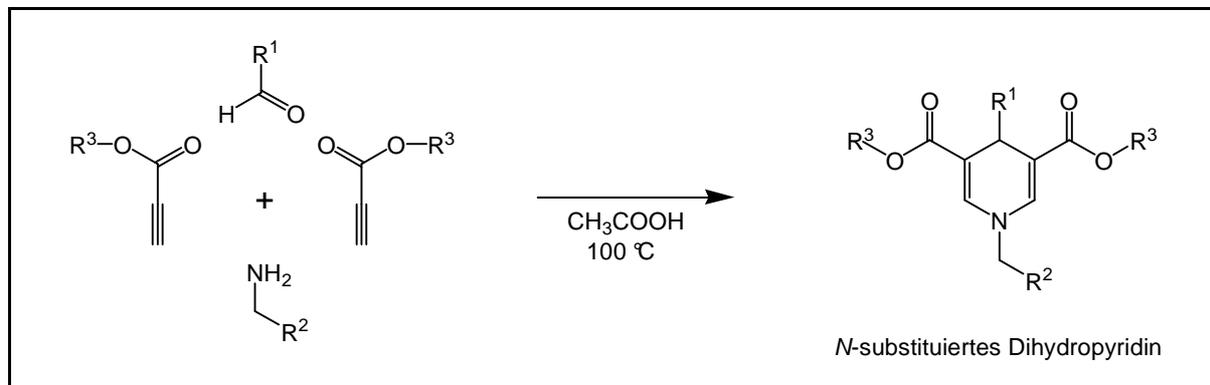


Abbildung 13: Darstellung der N-substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine (nach Chekavichus et al., 1982; modifiziert nach Hilgeroth, 2000)

3.2.1 Die Heteroaromaten substituierten monomeren Derivate

Die Verbindungen **9** und **10** waren aus den entsprechenden Pyridin-analogen Aldehyden (3-Pyridylaldehyd und 4-Pyridylaldehyd), Benzylamin und Propiolsäureethylester in Eisessig zugänglich (Abbildung 14). Das Dihydropyridin **8** konnte aus Benzaldehyd, 3-Picolylamin und Ethylpropiolat dargestellt werden. Die Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch verfolgt und nach 1–2 Stunden Erhitzen am Rückfluss zeigte eine tiefblaue Fluoreszenz eine erfolgreiche Produktbildung an.

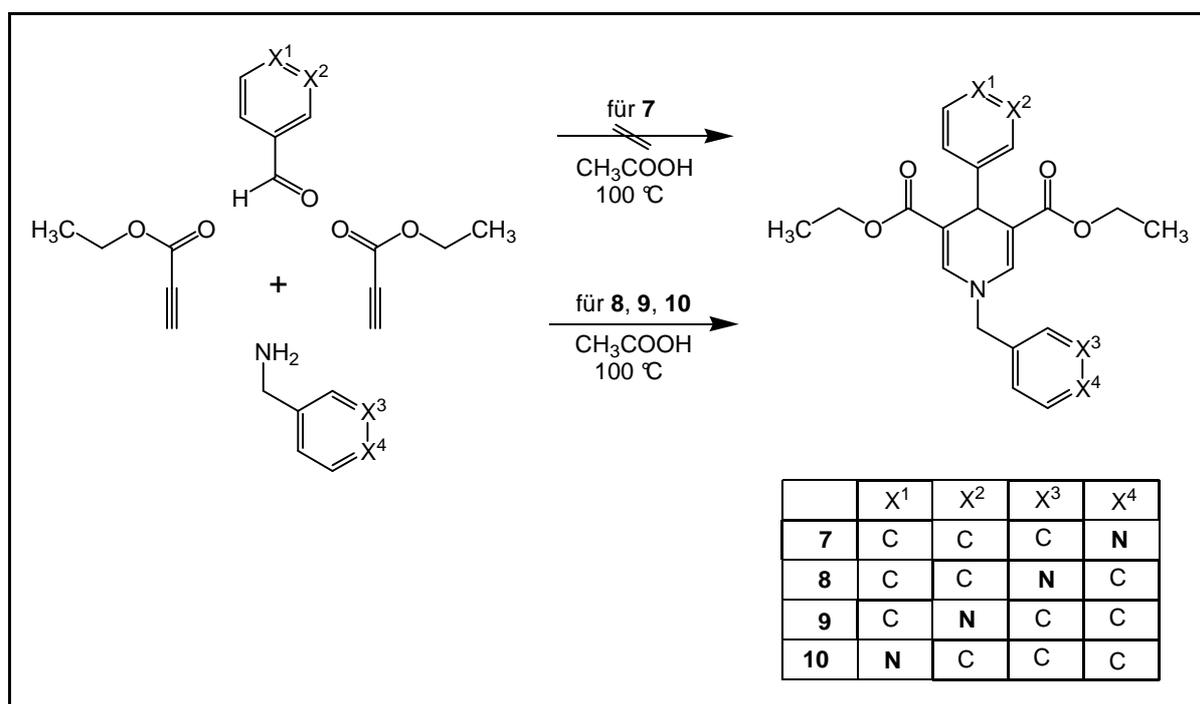


Abbildung 14: Synthese der Heteroaromaten substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine

Die Ausbeuten der Produkte lagen mit bis zu 41 % jedoch deutlich unter denen der anderen monomeren 1,4-Dihydropyridine. Zu Beginn der Umsetzungen, während der Reagenzienzugabe, konnte stets eine heftige Reaktion mit intensiver Wärmeentwicklung beobachtet werden. Aufgrund des stark exothermen Reaktionsbeginns findet eine verstärkte Nebenproduktbildung statt. Dies ließ sich insbesondere durch die Dünnschichtchromatographie bestätigen. Versuche bei späteren Reaktionsansätzen, durch Kühlung und eine zeitlich verzögerte bzw. verlangsamte Zuführung von Ausgangsstoffen die Nebenproduktbildung zurückzudrängen und die Ausbeuten zu verbessern, blieben erfolglos. Überraschenderweise gelang die Synthese von **7** aus Benzaldehyd, 4-Picolylamin und Ethylpropiolat nicht (Abbildung 14). Die direkte Darstellung nach der abgewandelten

Vorschrift von *Hilgeroth* (2000) führte zu keiner Produktbildung, was die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes und anschließende massenspektrometrische sowie $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen bestätigten. Daraufhin wurde nach einem neuen Syntheseweg für diese Verbindung gesucht. Als Alternative schien die Darstellung des entsprechenden *N*-unsubstituierten Dihydropyridins nach *Chennat & Eisner* (1975) mit anschließender *N*-Alkylierung mittels Natriumhydrid (*Sausin et al.*, 1978; *Lusis & Dubur*, 1982) und 4-Picolylbromid aussichtsreich. Das *NH*-Dihydropyridin **6** war aus Benzaldehyd, Ammoniumacetat und Methylpropiolat nach fünfständigem Erhitzen am Rückfluss problemlos zugänglich. In einem zweiten Reaktionsschritt erfolgte dann die *N*-Alkylierung von **6** mit 4-Picolylbromid-HBr in Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) bei 50 °C unter Argon-Atmosphäre. Über die Bildung des Dihydropyridinaniums mittels Protonenabstraktion durch Natriumhydrid konnte **6** erfolgreich alkyliert werden (Abbildung 15).

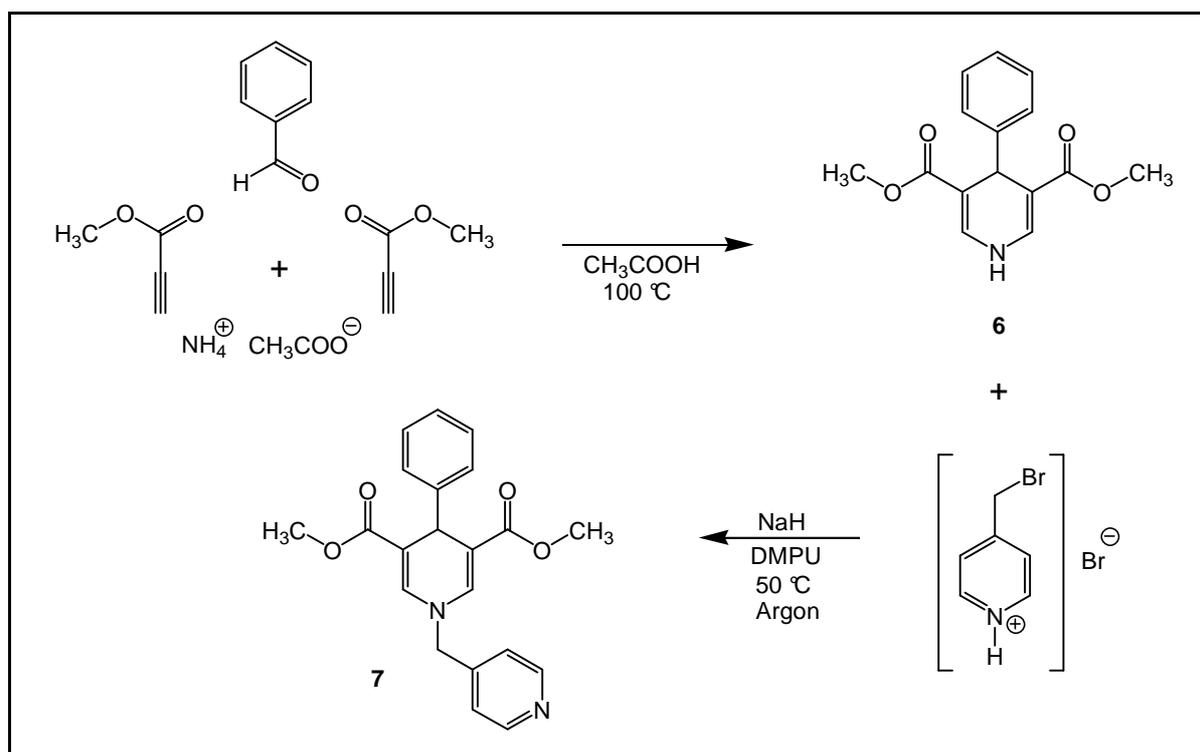


Abbildung 15: Darstellung von **7** über das Zwischenprodukt **6**

Nach Aufarbeitung des Reaktionsansatzes und anschließender säulenchromatographischer Reinigung kristallisierte das gewünschte Produkt in Form weißer Prismen aus. Die Synthese von **7** gelang auf diesem Weg mit guten Ausbeuten.

3.2.2 Die Methoxy substituierten monomeren Derivate

Aus einer „Eintopf“-Reaktion mit Benzylamin, 4-Methoxybenzaldehyd und Propiolsäureethylester in Eisessig ging via Cyclocondensation das Produkt **11** hervor. Analog gelang die Darstellung von **12** aus 4-Methoxybenzylamin, Benzaldehyd und Propiolsäureethylester. Beide Substanzen konnten nach einstündigem Erhitzen am Rückfluss in Ausbeuten von > 80 % gewonnen werden (Abbildung 16).

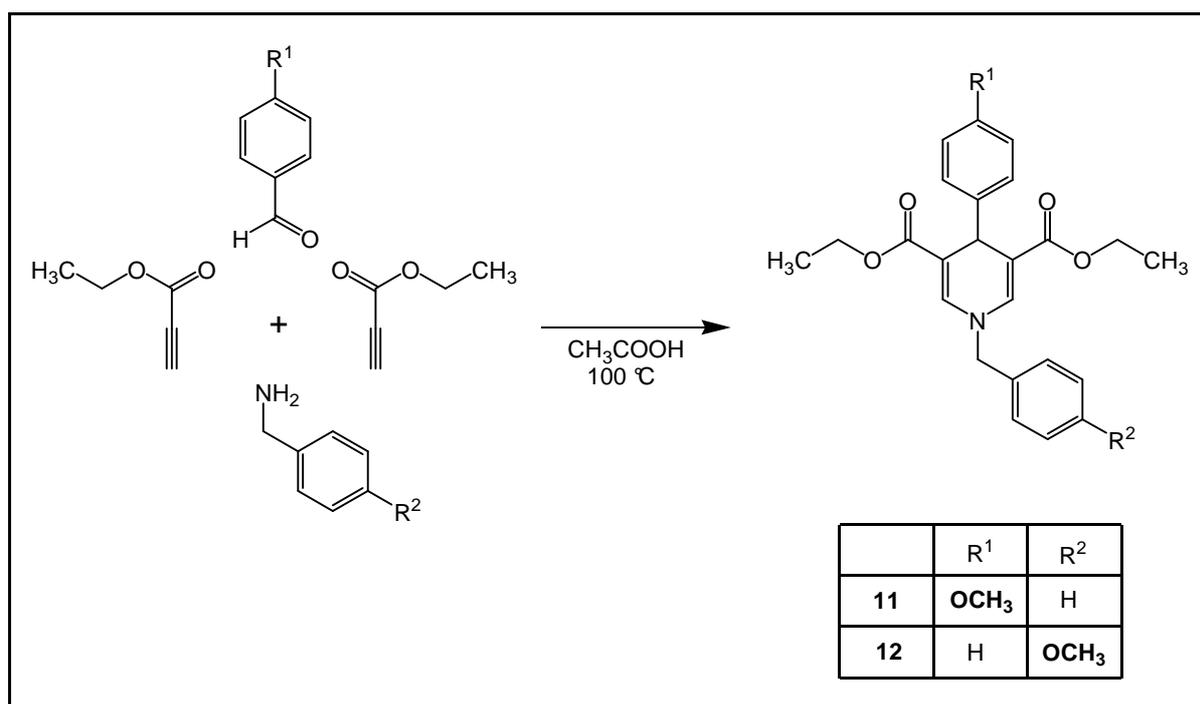


Abbildung 16: Die Methoxy substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine

3.2.3 Die Hydroxy substituierten monomeren Derivate

Die Hydroxy substituierten monomeren Derivate **13** und **14** waren aus den entsprechenden 4- und 3-Hydroxybenzaldehyden, Benzylamin und Propiolsäureethylester leicht zugänglich (Abbildung 17). Ihre Analoga mit 4- bzw. 3-Hydroxybenzylamin als Amin-Komponente und Benzaldehyd als Aldehyd-Komponente bereiteten jedoch Schwierigkeiten in der Synthese. Da die 4- und 3-Hydroxybenzylamine nicht käuflich zu erwerben waren, wurden unterschiedliche Ansätze zu ihrer Darstellung untersucht. Ein erster Ansatz beruhte auf der Reduktion von Nitrilen zu Aminen. Die in der Literatur hierzu beschriebenen Synthesen lassen sich im wesentlichen auf drei Methoden (der Hydrogenolyse) zurückführen:

- die Reduktion durch katalytische Hydrierung (z. B. Pd-Kohle und H₂-Gas),
- die Reduktion mittels komplexer Hydride (z. B. LiAlH₄),
- und die Reduktion durch Alkalimetalle in wasserfreien Alkoholen (z. B. Na in Ethanol, bekannt als *Bouveault-Blanc*-Reduktion).

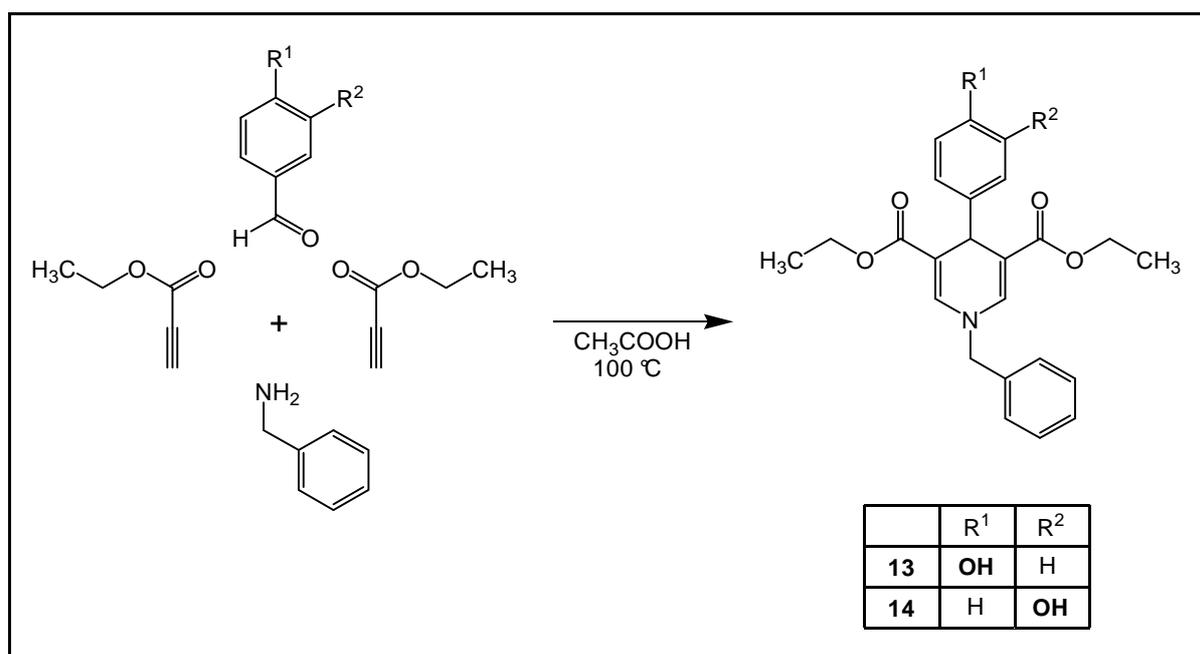


Abbildung 17: Die Hydroxy substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine

Die katalytische Hydrierung mit Edelmetallkatalysatoren (z. B. Palladium oder Platin auf Kohle) oder *Raney*-Nickel-Katalysatoren ermöglicht eine Reduktion von Nitrilen zu Aminen (*Becker et al.*, 1996[a]), wobei neben primären auch sekundäre und tertiäre Amine (*Paal & Gerum*, 1909; *von Braun et al.*, 1923) sowie Azomethine (*Schiff'sche Basen*; *Mignonac*, 1920) häufig als Nebenprodukte beschrieben wurden. Durch eine Hydrierung in

Gegenwart von Ammoniak lassen sich diese unerwünschten Nebenprodukte zwar zurückdrängen, aber nicht immer ganz vermeiden (*Schwoegler & Adkins*, 1939; *Juday & Adkins*, 1955; *Johnston et al.*, 1996).

Nach der *Bouveault-Blanc*-Reduktion (Natrium in wasserfreien Alkoholen; *Bouveault & Blanc*, 1904) lassen sich ebenfalls Nitrile mit guten Ausbeuten zu primären Aminen reduzieren. Jedoch liegen dieser Reduktionsmethode sehr drastische Reaktionsbedingungen zugrunde.

Die Umsetzung von Nitrilen mit komplexen Hydriden wie LiAlH_4 führt über die Zwischenstufe des Imins zu primären Aminen. Die Reduktionen mit komplexen Hydriden besitzen einige Vorteile. Sie laufen im allgemeinen unter milden Bedingungen, schnell und in hohen Ausbeuten ab; selbst sehr reaktionsträge Verbindungen können reduziert werden (*Becker et al.* 1996[b]). Diese Methode schien unter den genannten die am besten geeignete zu sein.

Daher sollte 4-Hydroxybenzonnitril mit LiAlH_4 zum 4-Hydroxybenzylamin reduziert werden. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und es konnte auch ein Produkt mit schwacher Intensität detektiert werden. Trotz umfangreicher Variationen der Reaktionsbedingungen, langer Reaktionszeiten und der Zugabe an Reduktionsmittel im Überschuss gelang es nicht, das Reaktionsgleichgewicht zu Gunsten der Produktbildung zu beeinflussen. Die Reduktion blieb auf einer Zwischenproduktstufe, dem Imin, stehen, wie die Beobachtung des Reaktionsverlaufes per Dünnschichtchromatographie und massenspektrometrische Untersuchungen bestätigten. Das zu erwartende 4-Hydroxybenzylamin konnte weder isoliert noch nachgewiesen werden. Als Ursache hierfür wird eine Salzbildung zwischen dem komplexen Hydrid (LiAlH_4) und der aromatischen Hydroxygruppe (Phenol) angenommen.

Einem zweiten Ansatz zur Darstellung der 3- und 4-Hydroxybenzylamine lag die Etherspaltung nach *Zeisel* (1885 & 1886) von Alkylarylethern durch Iodwasserstoffsäure zugrunde. Wässrige Iodwasserstoffsäure sollte unter Erhitzen am Rückfluss die Methoxybenzylamine quantitativ in die gewünschten Hydroxybenzylamine und Methyljodid spalten. Auch diese Methode führte nicht zum angestrebten Erfolg.

Die präparativen Schwierigkeiten bei der Synthese der beiden in diesem Kapitel beschriebenen Hydroxy substituierten Monomere bzw. deren Ausgangsstoffe und Probleme bei der Reduktion der Hydroxy substituierten Käfigdimere (Kapitel 3.4.1) machten den Einsatz von Schutzgruppen nötig. Im weiteren Verlauf der Synthesearbeiten sollten Benzylgruppen die phenolischen Hydroxygruppen vor einem reaktiven Angriff schützen. Die

Darstellung entsprechender Benzyloxy substituierter Derivate war daher das Ziel (Kapitel 3.2.4).

3.2.4 Die Benzyloxy substituierten monomeren Derivate

Probleme bei der Darstellung der Hydroxy substituierten monomeren Derivate (Kapitel 3.2.3) sowie bei der Reduktion der Hydroxy substituierten Käfigdimere (Kapitel 3.4.1) führten zu Überlegungen, Schutzgruppen in die Synthesestrategie einzubinden. Sie bewahren und schützen üblicherweise durch Derivatisierung entsprechende funktionelle Strukturen vor einem reaktiven Angriff. Bei den zuvor genannten Schwierigkeiten erwiesen sich insbesondere die Phenolgruppen mit ihrem aciden Wasserstoffatom als sehr reaktionsfreudig und damit problematisch. Eine Blockierung der phenolischen Hydroxyfunktionen durch Schutzgruppen sollte zukünftige reaktive Angriffe unterbinden.

Eine Zusammenstellung über die zahlreichen, unterschiedlichen Schutzgruppen in der organischen Chemie, ihre Einsatzmöglichkeiten und -grenzen sowie Methoden zu ihrer Einführung und Entfernung finden sich bei *Greene & Wuts* (1991) sowie bei *Kocienski* (1994). Ether, z. B. in Form von Methyl- oder Benzylgruppen, sind die in der Literatur favorisierten und am häufigsten eingesetzten Schutzgruppen für Phenole (*Greene & Wuts*, 1991; *Kocienski*, 1994). Sie lassen sich oftmals unter milden Bedingungen (via nukleophilem Angriff oder durch Hydrierung von Benzylethern) entfernen (*Bhatt & Kulkarni*, 1983). Der Einsatz von Benzylschutzgruppen für die Hydroxy substituierten Derivate (Phenole) erschien vielversprechend, besonders aufgrund der einfachen Möglichkeit, Benzylether durch Hydrierung am Palladium-Katalysator reaktiv zu spalten (*Freifelder*, 1978).

Aus 4- und 3-Benzyloxybenzaldehyd, Benzylamin und Ethylpropiolat in Eisessig waren die Monomere **15** und **16** ohne Probleme in guten Ausbeuten zugänglich (Abbildung 18).

Die entsprechenden 4- und 3-Benzyloxybenzylamine waren käuflich nicht erwerbbar. Sie wurden aus den zuvor genannten Aldehyden über einen zweistufigen Reaktionsweg hergestellt (Abbildung 18). Zuerst erfolgte nach einer „Eintopf“-Methode von *Wang & Lin* (1998) die Umwandlung der Aldehyde in die entsprechenden Nitrile unter Verwendung von Hydroxylaminhydrochlorid, Phthalsäureanhydrid und Triethylamin in wasserfreiem Acetonitril. Nach mehrtägigem Erhitzen am Rückfluss kristallisierten die Produkte aus einer Petroleumbenzin-Ethylacetat-Mischung als farblose Nadeln (4-Benzyloxybenzonnitril, **1**) bzw. weiße Plättchen (3-Benzyloxybenzonnitril, **2**) in nahezu quantitativen Ausbeuten aus.

Anschließend konnten die so erhaltenen Nitrile durch Reduktion mit Hilfe des komplexen Hydrides LiAlH_4 bei Temperaturen von $4\text{ }^\circ\text{C}$ in das gewünschte 4-Benzyloxybenzylamin (**3**) und 3-Benzyloxybenzylamin (**4**) überführt werden (*Freudenreich et al.*, 1984). Nun standen die entsprechenden Amine zur Verfügung und zusammen mit Benzaldehyd und Ethylpropiolat gelang die Darstellung der beiden monomeren Dihydropyridine **17** und **18** nach der bewährten modifizierten Vorschrift problemlos (*Hilgeroth*, 2000).

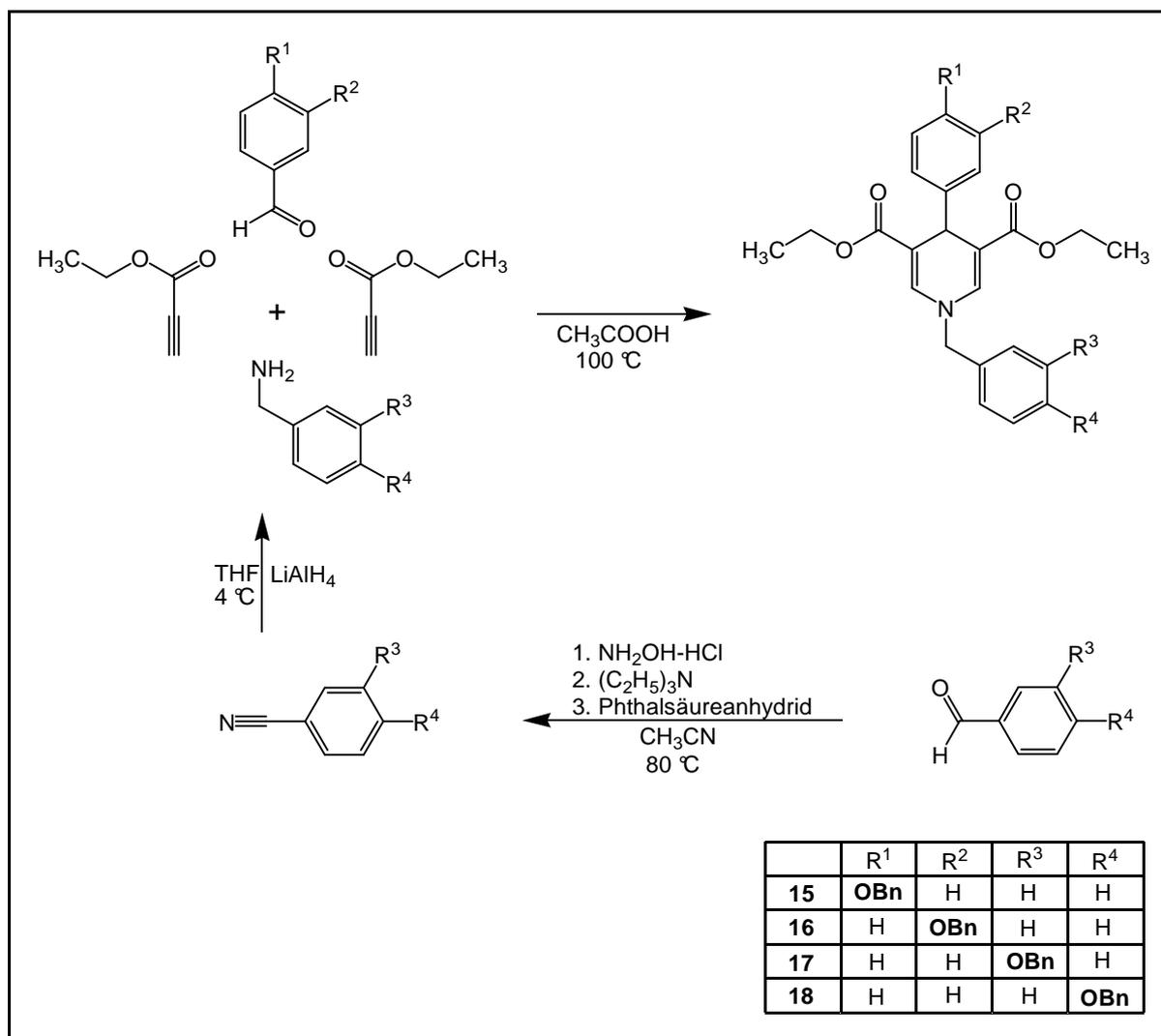


Abbildung 18: Synthese der Benzyloxy geschützten 1,4-Dihydropyridine

3.3 Photochemische Dimerisierungsreaktionen

(Darstellung der dimeren 1,4-Dihydropyridine)

In der Literatur ist mehrfach über die Lichtempfindlichkeit von 1,4-Dihydropyridinen berichtet worden (*Hinkel et al.*, 1931; *Berson & Brown*, 1955; *Akimoto et al.*, 1988). Schon lange bekannt ist die Photoreaktivität des *Nifedipins* (ein Koronardilatator, *Adalat*[®], Bayer AG, Leverkusen), ein Dimethyl-2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat, das unter der Einwirkung von Licht aromatisiert und zum Nitrosoderivat Dimethyl-2,6-dimethyl-4-(2-nitrosophenyl)-pyridin-3,5-dicarboxylat reagiert (*Schlossmann*, 1972; *Ebel et al.*, 1978) (Abbildung 19). Diese Licht induzierte intramolekulare Redoxreaktion findet sowohl in der Festkörperphase als auch in Lösung statt (*Thoma & Klimek*, 1985[a] & 1985[b]). Für die in Position zwei und sechs substituierten 1,4-Dihydropyridine, zu denen das *Nifedipin* und seine Analoga zählen, sind allerdings kaum Dimerisierungsprodukte bekannt. Die Substituenten in 2- und 6-Position am Dihydropyridinring verhindern aus sterischen Gründen eine entsprechende Dimerisierung.

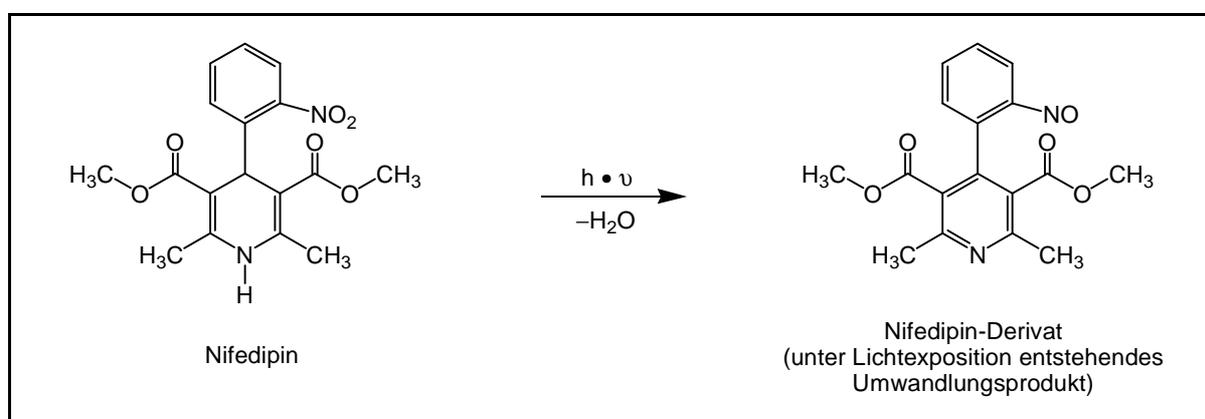


Abbildung 19: *Nifedipin* und das unter Lichtexposition entstehende Umwandlungsprodukt (*Ebel et al.*, 1978)

Hilgeroth (2000) hingegen beobachtete beim Aufbewahren von 2,6-unsubstituierten 1,4-Dihydropyridinen am Tageslicht Farbveränderungen der Kristalle. Weiterführende Untersuchungen, vor allem auf der Basis der Röntgenstrukturanalyse und der ¹³C-Festkörper-NMR-Spektroskopie, lieferten als Ergebnis die Bildung solcher photodimerer Addukte (*Hilgeroth & Heinemann*, 1998) (Abbildung 20). *Hilgeroth* konnte für eine ganze Reihe von verschieden substituierten 4-Aryl-1,4-dihydropyridinen zeigen, dass sie einer festkörperchemischen Photoreaktivität unterliegen. Er bestrahlte Proben der monomeren

2,6-unsubstituierten 1,4-Dihydropyridine mit *Ultra-Vitalux*[®]-Lampen, die ein dem Sonnenlicht vergleichbares Spektrum aufweisen ($\lambda \geq 270$ nm). Interessanterweise war die Photoreaktivität der Verbindungen außerordentlich hoch. Die Licht induzierten Festkörper-Dimerisierungen führten entweder zu *anti*-dimeren oder zu *syn*-dimeren Produkten (Abbildung 20), wobei letztere zu den entsprechenden Käfigdimeren weiterreagierten (Hilgeroth *et al.*, 1998; 1999[a] & 1999[b]). Die käfigdimeren Verbindungen erwiesen sich dann als photostabil.

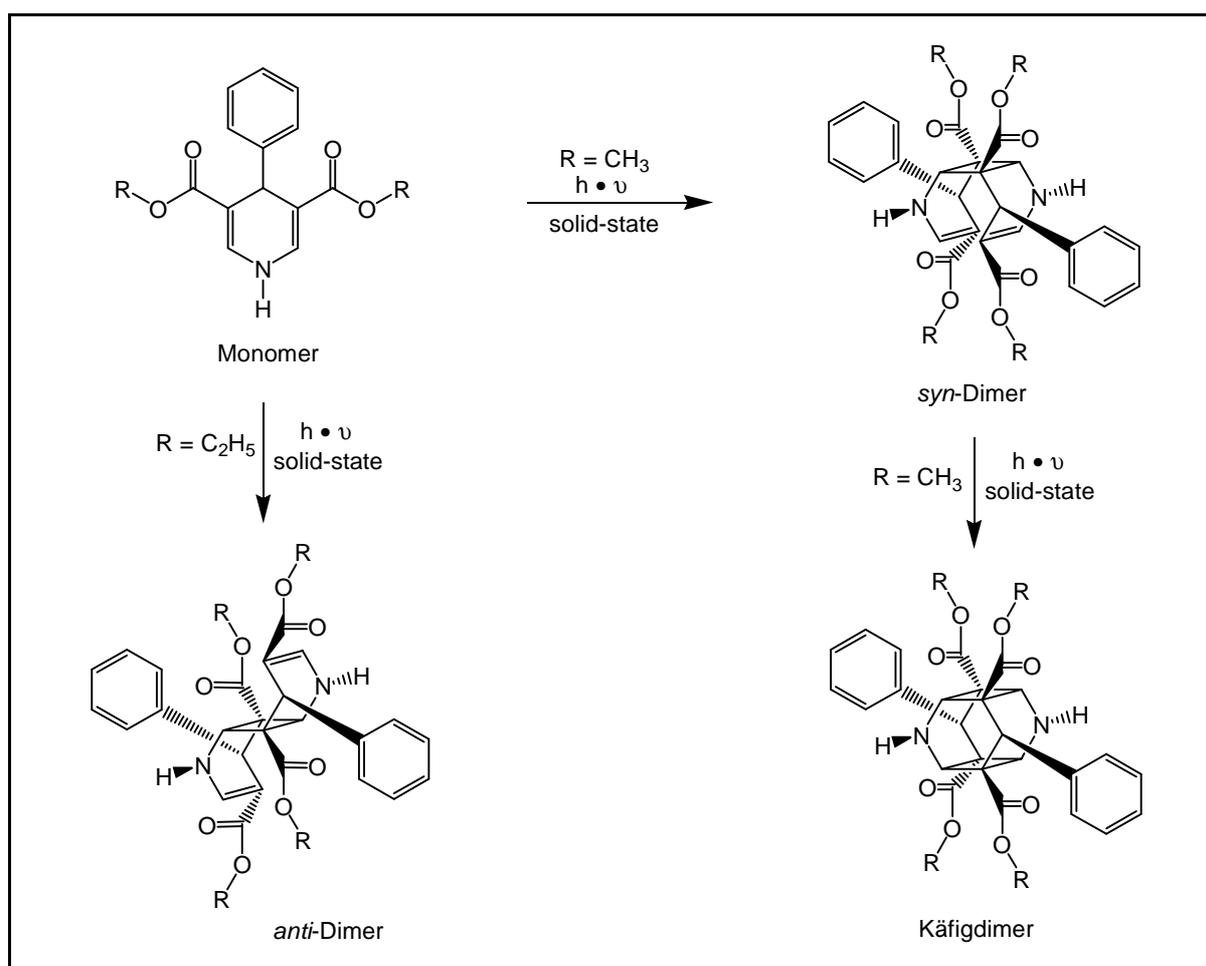


Abbildung 20: Beispiele für photodimere Addukte der 1,4-Dihydropyridine, die bei einer Licht induzierten Dimerisierung in der Festkörperphase (englisch: solid-state) entstehen (Hilgeroth *et al.*, 1999[a])

Neben der beschriebenen Festphasen-Dimerisierung wurden in der Literatur auch Untersuchungen zur Photodimerisierung der Substanzen in Lösung publiziert (Hilgeroth *et al.*, 2000). In Analogie zu den festkörperchemischen Produkten konnte ebenfalls die Bildung von *syn*- und *anti*-Dimeren beobachtet werden (Abbildung 22).

Diese Erkenntnisse bildeten die Grundlage für die photochemischen Dimerisierungsreaktionen in dieser Arbeit.

3.3.1 Festkörper-Dimerisierung („solid-state“)

Ausgewählte Verbindungen wurden auf die Möglichkeit der photochemischen Festkörperdimerisierung untersucht.

Die monomeren Dihydropyridine **11**, **12**, **13** und **14** wurden in einer Bestrahlungskammer unter reproduzierbaren Bedingungen bestrahlt (AAV 2, experimenteller Teil, Kapitel 7.2.1). Als Strahlungsquelle dienten *Ultra-Vitalux*[®]-Lampen, die ein dem Sonnenlicht entsprechendes Spektrum ($\lambda \geq 270$ nm) definierter Zusammensetzung produzieren.

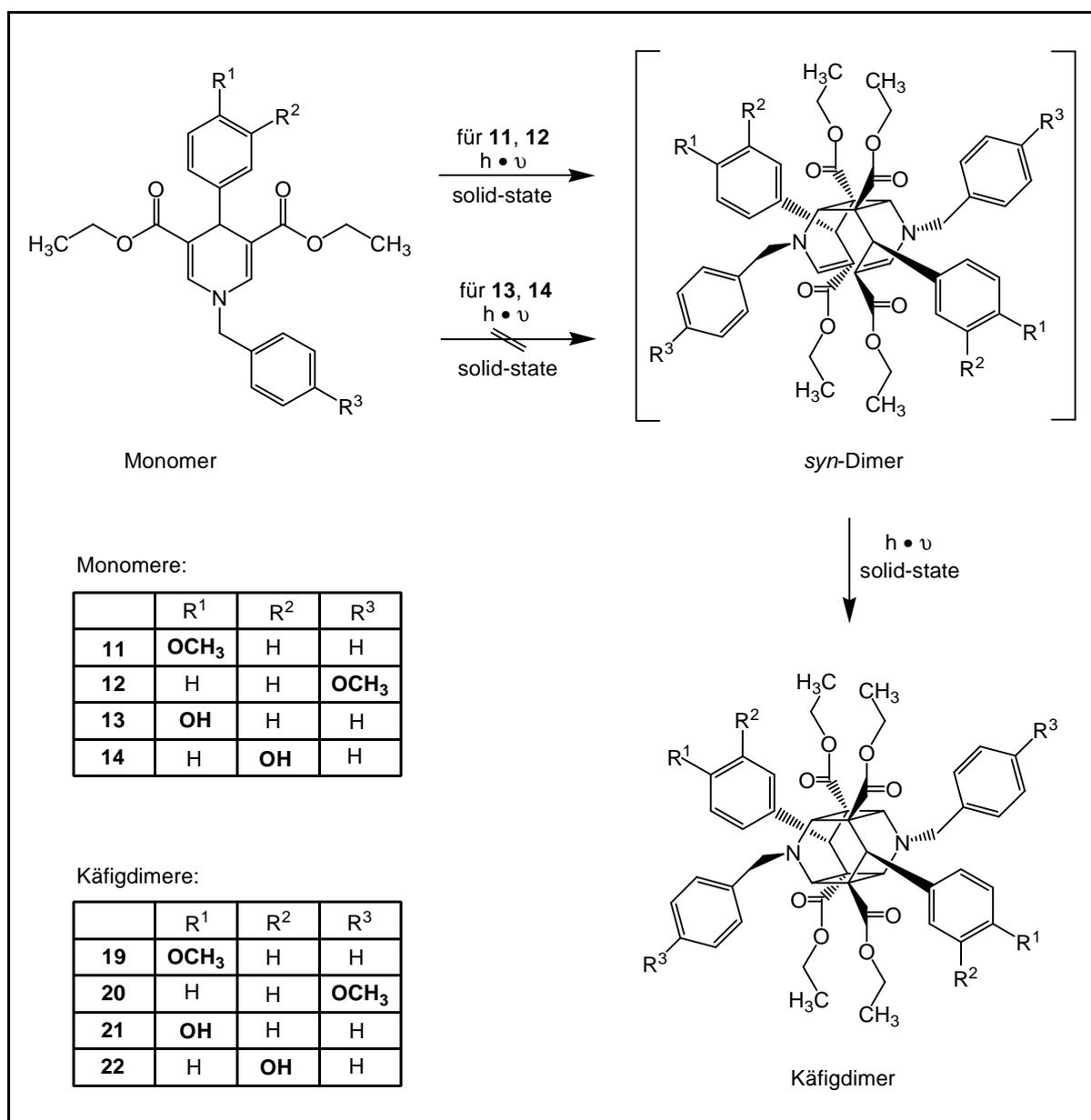


Abbildung 21: Photochemische Dimerisierung im Festkörper („solid-state“)

Der Verlauf der photochemischen Umsetzung wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Bei einer erfolgreichen Dimerisierungsreaktion im Festkörper lässt sich während der mehrwöchigen, ununterbrochenen Bestrahlung eine Farbveränderung der Kristalle – je nach Derivat von gelb bis braun nach weiß bis farblos – beobachten. Ferner zeigen die Dünnschichtchromatogramm-Flecken der Dimerisierungsprodukte keine Eigenfluoreszenz, im Gegensatz zu den monomeren 1,4-Dihydropyridinen, die unter dem Einfluss von ultraviolettem Licht intensiv blau fluoreszieren.

Der Dihydropyridinring sowie die beiden Carbonylgruppen in 3- und 5-Position bilden zusammen ein konjugiertes System aus π - und n-Elektronen, ein Chromophor (Fluorophor), das ein Absorptionsmaximum im Wellenlängenbereich von 350–425 nm aufweist. Die breite Absorptionsbande in diesem Wellenlängenbereich ist charakteristisch für derartige Dihydropyridinstrukturen (Bohlmann & Bohlmann, 1953; Berson & Brown, 1955; Schlossmann, 1972; Thoma & Klimek, 1985[a]). Durch die Lichtabsorption des Dihydropyridinchromophors wird das konjugierte π - und n-Elektronensystem zur Fluoreszenz angeregt. Für die Rückkehr der Elektronen aus dem Anregungszustand in den Grundzustand wird die Anregungsenergie bei diesen Molekülen in Form von Fluoreszenzlicht emittiert (Rücker *et al.*, 1992). Im angeregten Zustand erfolgt des Weiteren für die 2,5-unsubstituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine durch eine [2+2]-Cycloaddition eine Dimerisierung in der Festkörperphase (Abbildungen 20 und 21). Anstelle der 1,4-Dihydropyridingruppen enthalten die käfigdimeren Addukte Piperidinstrukturen, die zu einer „Auflösung“ des Fluoreszenzchromophors, verbunden mit einem Verlust der Fluoreszenz, führen.

Bleibt die Festkörperdimerisierung jedoch aus, so kommt es unter Beibehaltung ihrer fluoreszierenden Eigenschaften zu keiner merklichen Farbveränderung der Kristalle. Die entsprechenden Dihydropyridine erwiesen sich dann als photostabil im Festkörper.

Die beiden Monomere **11** und **12** waren photoreaktiv und unterlagen einer photochemischen Dimerisierung in der Festphase, wie dünnschichtchromatographische, massenspektrometrische und $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Auswertungen belegten. Untersuchungen von Hilgeroth (2000) zum Verlauf der festkörperchemischen Photoreaktion zeigten, dass in einem ersten Reaktionsschritt ein *syn*-dimeres Zwischenprodukt entsteht. Dieses setzt sich bei weiterer Bestrahlung zu einem käfigdimeren Produkt um (Abbildung 21). Die so erhaltenen Käfigdimere erwiesen sich dann als photostabil (Hilgeroth *et al.*, 1998 & 1999[b]).

Für die beiden monomeren Hydroxyderivate **13** und **14** konnte hingegen keine Dimerisierung im Festkörper beobachtet werden. Trotz mehrwöchiger Bestrahlung blieben sie photostabil in der Festphase und es kam zu keiner Photoreaktion. Aus diesem Grund wurden

Untersuchungen mittels Röntgenstrukturanalyse und Moleküldynamiksimulationen über das Ausbleiben der Dimerisierung bei diesen beiden Verbindungen durchgeführt (Kapitel 4).

3.3.2 Dimerisierung in Lösung

Für diejenigen Verbindungen, die sich als photostabil und ungeeignet für eine Festkörperdimerisierung erwiesen, wurde nach alternativen Darstellungsmöglichkeiten dimerer Addukte gesucht. Eine Dimerisierung in Lösung schien die geeignete Variante zu sein. Aufgrund der ungehinderten Beweglichkeit der monomeren Ausgangsprodukte in Lösung mit einer zueinander nicht festgelegten Position sollten Dimerisierungsreaktionen begünstigt und damit weitaus leichter dimere Produkte zugänglich sein. So war zu erwarten, dass die Substanzen, die in der Festphase keiner Dimerisierung unterlagen, in Lösung dimerisieren. Diese Vermutung konnte bei den Substanzen **13** und **14** bestätigt werden (Abbildung 22). Die im Festkörper photostabilen Verbindungen wurden hierfür in wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und dann als Lösung in die Bestrahlungskammer eingebracht. Eine Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte per Dünnschichtchromatographie. Die Dimerisierung der Hydroxygruppen enthaltenden monomeren Verbindungen **13** und **14** gelang problemlos in Lösung.

Neben den zwei genannten Substanzen wurden zahlreiche weitere Verbindungen einer Lösungsdimerisierung unterworfen (Abbildung 22). Die Bestrahlung der Substanzen erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie bei der Festkörperdimerisierung (AAV 3, experimenteller Teil, Kapitel 7.2.1). Auch bei der Lösungsbestrahlung konnte während der mehrwöchigen Lichtexposition bereits makroskopisch eine erfolgreiche Dimerisierung durch eine Aufhellung der Dihydropyridinlösung von gelb bis braun nach hellgelb bis farblos beobachtet werden. In Analogie zur Festkörperbestrahlung wurden käfigdimere Produkte erhalten. Daneben ist aber auch das Auftreten von *anti*-dimeren Produkten denkbar. Die nicht eingeschränkte Beweglichkeit der monomeren Edukte in Lösung, ihre nicht zueinander festgelegte Lage, könnte neben *syn*-verknüpften Produkten auch die Bildung von *anti*-verknüpften dimeren 1,4-Dihydropyridinen ermöglichen (Abbildung 22).

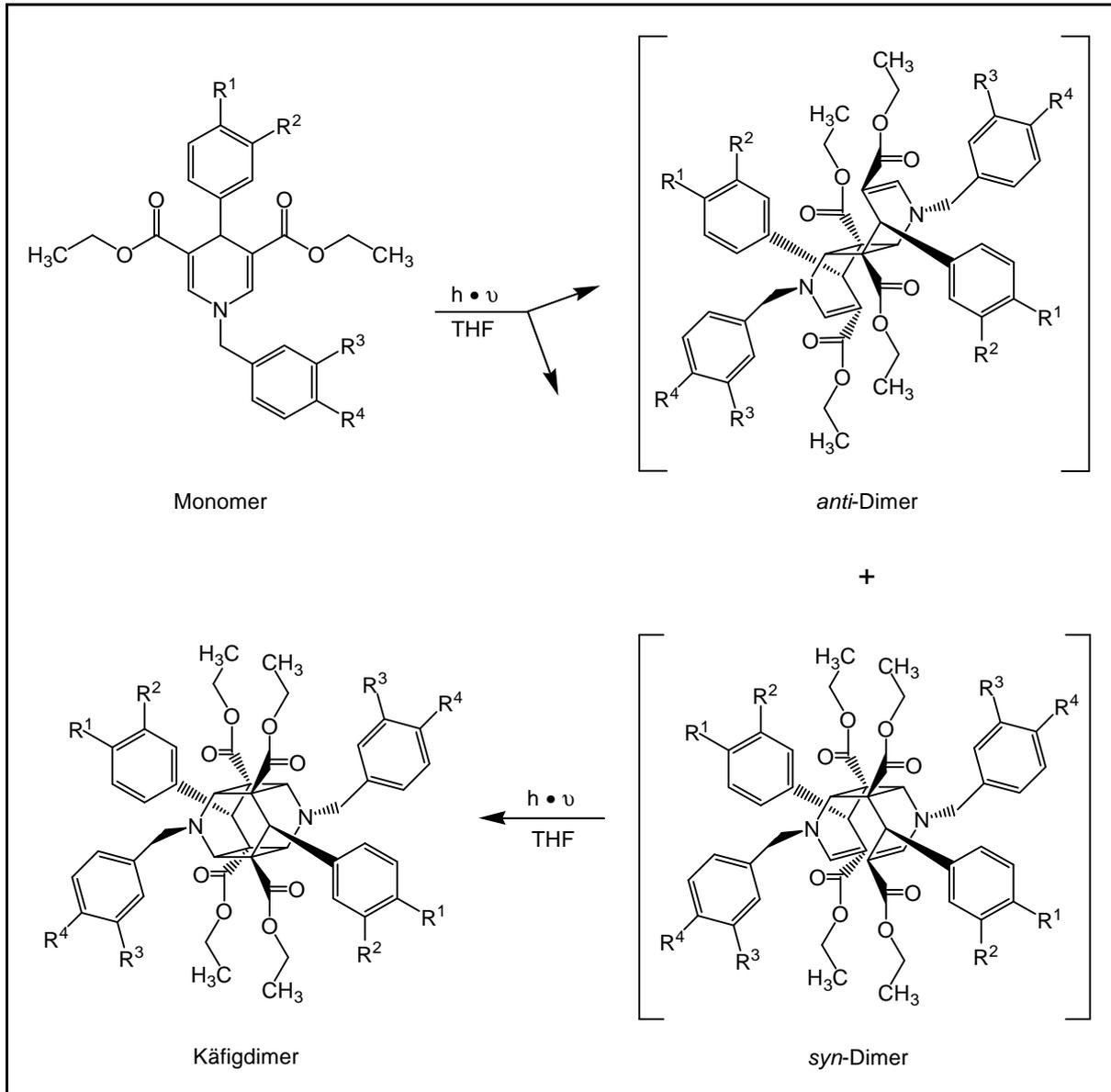
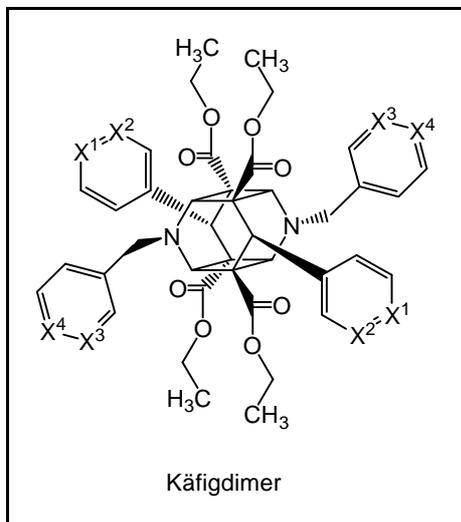


Abbildung22: Photochemische Dimerisierung in Lösung



Käfigdimere:

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
19	OCH₃	H	H	H
20	H	H	H	OCH₃
21	OH	H	H	H
22	H	OH	H	H
23	OBn	H	H	H
24	H	OBn	H	H
25	H	H	OBn	H
26	H	H	H	OBn

	X ¹	X ²	X ³	X ⁴
27	N	C	C	C
28	C	N	C	C
29	C	C	N	C
30	C	C	C	N

3.4 Darstellung der Zielstrukturen

3.4.1 Reduktion mittels komplexer Hydride

In einem abschließenden Reaktionsschritt wurden die zuvor erhaltenen Käfigdimere in die entsprechenden Zielstrukturen überführt. Hierfür mussten die vier Estergruppen der käfigdimeren Verbindungen zu den entsprechenden Alkoholstrukturen (Hydroxymethylgruppen) reduziert werden. Eine in der Literatur bewährte und häufig eingesetzte Reduktionsmethode für Ester beruht auf der Anwendung von komplexen Hydriden. Sie eignen sich hervorragend für die Reduktion von Carbonylverbindungen und gestatten selbst die Umsetzung der reaktionsträgen Carbonylderivate wie Ester, Amide und Carbonsäuren. Ferner zeichnen sie sich durch hohe Ausbeuten unter milden Bedingungen auch bei kleinsten Reaktionsansätzen aus (*Becker et al.*, 1996[b]).

Verwendung für die Reduktionen fand Lithiumaluminiumhydrid in einer 1,0 molaren Lösung in Tetrahydrofuran. Vorsicht schien vor allem hinsichtlich der Reaktionstemperatur geboten. Reduktionen mit komplexen Hydriden verlaufen stark exotherm. *Hilgeroth* (2000) beobachtete für *N*-unsubstituierte 1,4-Dihydropyridine eine Dimerenspaltung zu den monomeren Edukten anstelle der Reduktion beim Erhitzen mit Lithiumaluminiumhydrid sowohl in Tetrahydrofuran als auch in niedrig siedendem Diethylether. Aus diesem Grund wurden die Umsetzungen bei tiefen Temperaturen von $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Die Reduktionen verliefen nun deutlich langsamer, dafür aber einheitlich zu den gewünschten Hydroxymethylgruppen enthaltenden Zielstrukturen (Abbildung 23). Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte durch die Dünnschichtchromatographie. Die entstandenen Produkte wurden isoliert und konnten durch massenspektrometrische sowie $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen identifiziert werden.

Bei den Hydroxy substituierten Käfigdimeren **21** und **22** gelang eine vollständige Reduktion jedoch nicht. Es kam zu einem Ausfall des komplexen Salzes, verbunden mit einem „Reduktionsstopp“ auf der gebildeten Zwischenstufe. Die phenolischen Hydroxygruppen werden im Vergleich zu den Estergruppen von Lithiumaluminiumhydrid bevorzugt unter Salzbildung angegriffen. Das so entstandene Lithiumaluminiumphenolat-Salz besitzt dann eine verminderte Löslichkeit. Auch Variationen der Reaktionsbedingungen führten nicht zum Erfolg. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur, verbunden mit einer Löslichkeitsverbesserung verbietet sich aufgrund der damit einhergehenden Dimerspaltung bzw. Zersetzung der Käfigdimere. Tetrahydrofuran stellt bereits das Lösungsmittel der Wahl

dar, da die Käfigdimeren in Diethylether eine noch geringere Löslichkeit besitzen. Auch der Einsatz des komplexen Hydrides im Überschuss konnte kein befriedigendes Ergebnis herbeiführen.

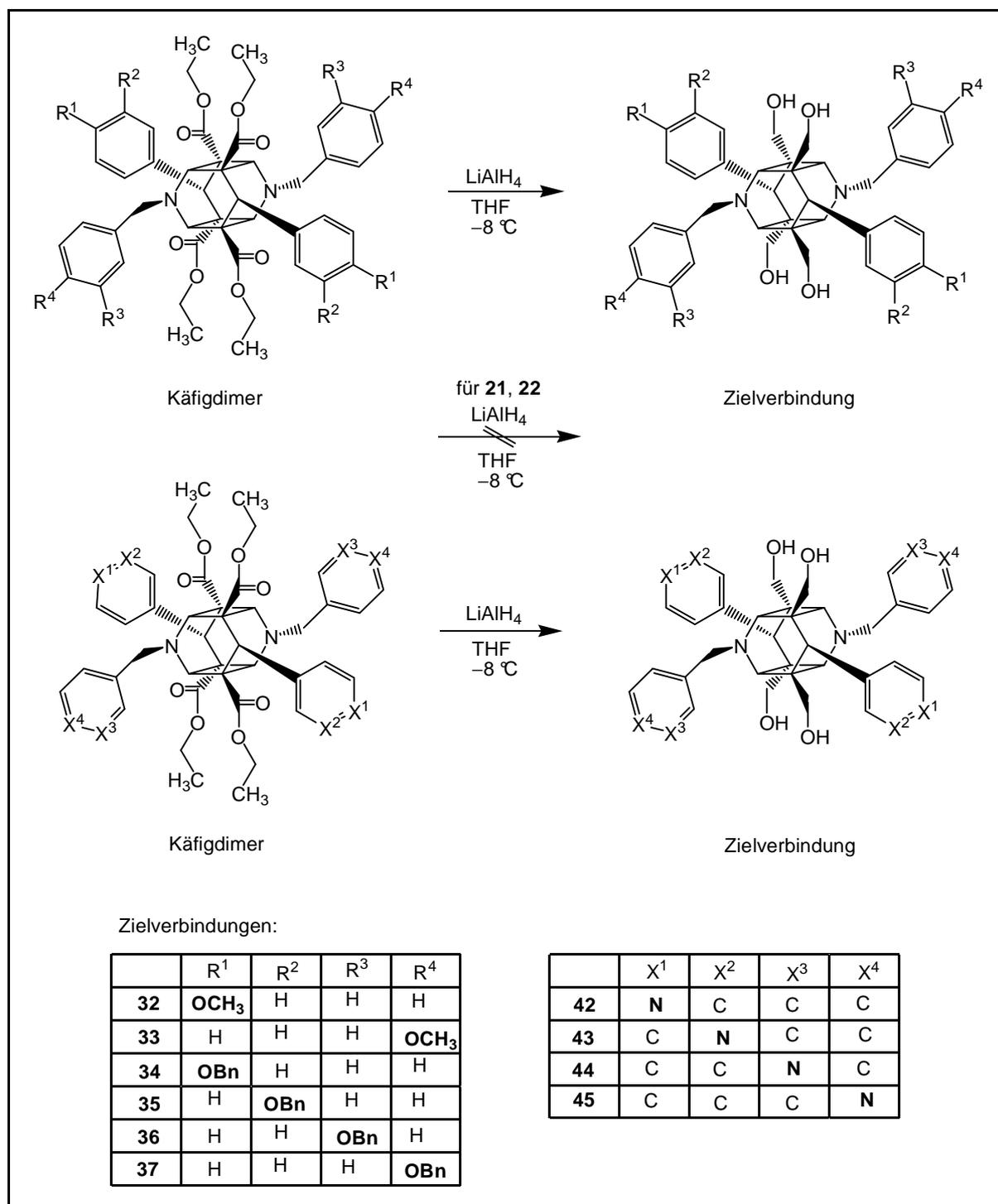


Abbildung 23: Darstellung der Zielverbindungen durch Reduktion mit komplexen Hydriden

Die in diesem Kapitel erwähnten Schwierigkeiten bei der Reduktion der Hydroxy substituierten Käfigdimeren sowie die Probleme in der Darstellung der Hydroxy substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine (Kapitel 3.2.3) führten zum Einsatz von Schutzgruppen für die phenolischen Strukturen in der Synthesestrategie. Benzylgruppen stellen eine in der Literatur favorisierte Schutzgruppe für Phenole dar (*Greene & Wuts, 1991; Kocienski, 1994*) und erwiesen sich als sehr erfolgreich im weiteren Verlauf der Synthesearbeiten (Kapitel 3.2.4).

Die Reduktion der Benzyl-oxo substituierten Käfigdimeren mit Lithiumaluminiumhydrid hingegen verlief glatt in Bezug auf die Esterfunktionen (Abbildung 23). Nach einer Reaktionszeit von maximal drei Stunden waren die Estergruppen quantitativ in die entsprechenden Alkoholfunktionen reduziert worden. Bemerkenswerterweise führte eine deutlich darüber hinausgehende Reaktionsdauer bei einem Teil der Verbindungen zu einer zusätzlichen reduktiven Entfernung der *O*-Benzylschutzgruppen (Abbildung 24).

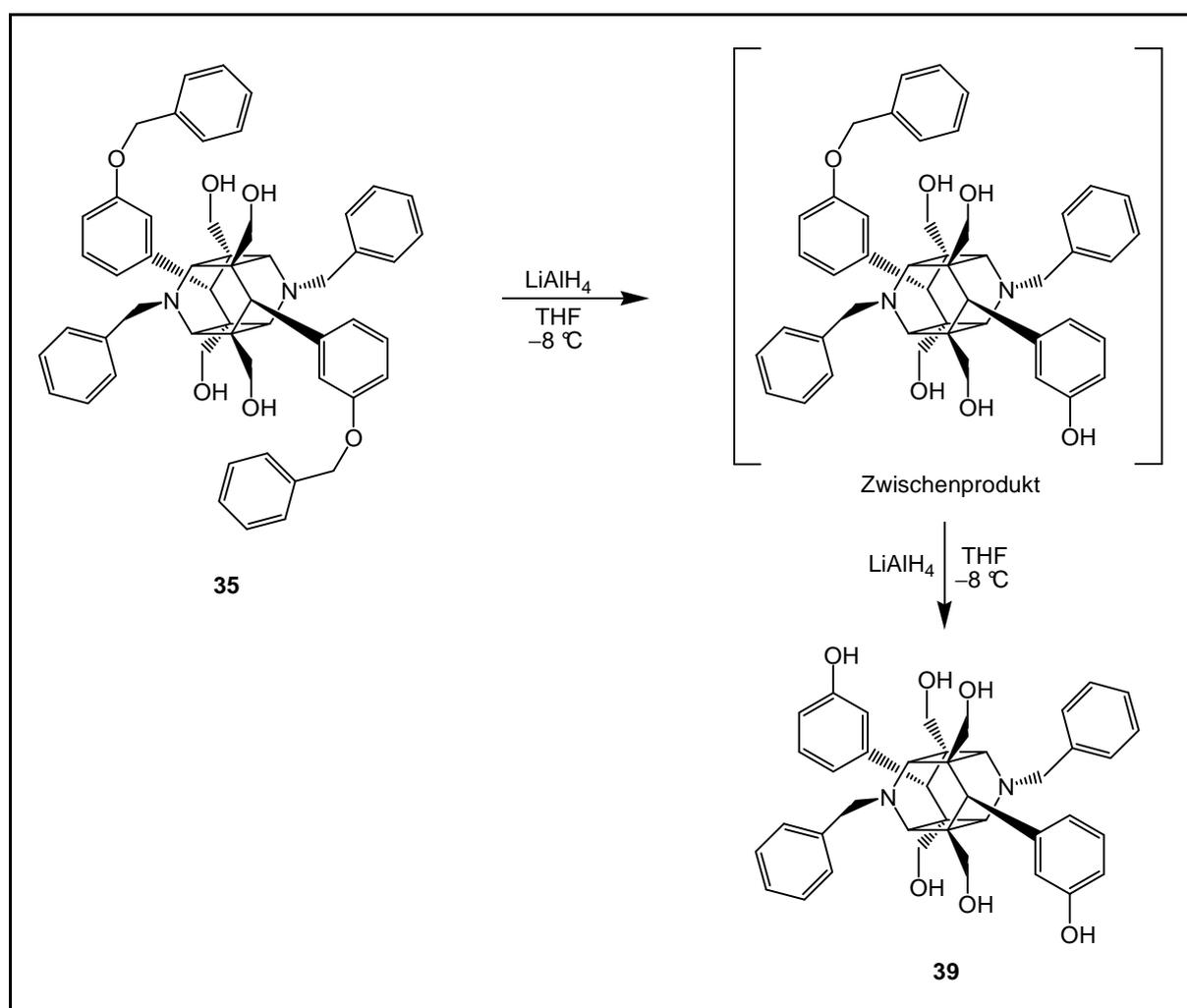


Abbildung 24: Beobachtete Debenzylierungen durch komplexe Hydride am Beispiel von **35**

Dies scheint um so interessanter, da in der Literatur das Vermögen komplexer Hydride zur Etherspaltung üblicherweise verneint wird (*Becker et al.*, 1996[b]). Es gibt lediglich vereinzelt Publikationen über Etherspaltungen durch Lithiumaluminiumhydrid in Gegenwart von Lewisäuren und bei erhöhten Temperaturen (*Bhatt & Kulkarni*, 1983; *Kocienski*, 1994). Allerdings erfolgte die Debenzylierung durch das komplexe Hydrid nicht einheitlich und nicht quantitativ, wie Untersuchungen des Reaktionsansatzes per Dünnschichtchromatographie und Massenspektrometrie bewiesen. Nach spätestens 48 Stunden stellte sich ein Produktgleichgewicht ein, das sich durch weitere Reaktionsdauer und Zugabe an Lithiumaluminiumhydrid im Überschuss nicht beeinflussen ließ. Ein Produktgemisch, bestehend aus Dibenzyl- und Monobenzyl- geschützten Käfigdimeren und den ungeschützten Hydroxyderivaten, war die Folge (Abbildung 24). Die Ursache für das „Stehenbleiben“ der Reduktion ist wahrscheinlich in der gleichen Annahme zu suchen, wie sie bereits bei den beiden Hydroxy substituierten Käfigdimeren **21** und **22** in diesem Kapitel diskutiert wurde: Ein bevorzugter Angriff der (entstandenen) phenolischen Hydroxygruppen durch das komplexe Hydrid mit Bildung des Lithiumaluminiumphenolat-Salzes; Ausfall des komplexen Salzes durch eine verringerte Löslichkeit, verbunden mit einem „Reduktionsstopp“ für die Ausgangs- und Zwischenprodukte.

Nach der Aufarbeitung der Reaktionsansätze wurden Anstrengungen unternommen, aus den erhaltenen Produktgemischen die einzelnen Verbindungen zu isolieren. Bei zwei der vier Hydroxy substituierten käfigdimeren Derivate gelang erfolgreich eine Trennung durch fraktionierte Kristallisation. Die käfigdimeren Zielverbindungen **39** und **41** konnten einzeln isoliert werden. Die beiden anderen Zielsubstanzen **38** und **40** ließen sich über diese Methode jedoch nicht sauber aus ihren jeweiligen Produktgemischen trennen. Sie mussten einem weiteren Reaktionsschritt, der Methoden der Debenzylierung beinhaltet, unterworfen werden (Kapitel 3.4.2).

3.4.2 Versuche zur Schutzgruppenentfernung (*O*-Debenzylierung)

Nach der Reduktion der Esterfunktionen in den Käfigdimeren zu den gewünschten Alkoholgruppen-haltigen Zielverbindungen war bei den Benzyloxy substituierten Derivaten noch eine Entfernung der *O*-Benzylschutzgruppen erforderlich. Zwar konnte, wie in Kapitel 3.4.1 bereits diskutiert, schon während der Reaktion mit Lithiumaluminiumhydrid eine über die Reduktion der Esterfunktionen hinausgehende teilweise Debenzylierung an den entsprechenden Verbindungen beobachtet werden, diese verlief jedoch nicht quantitativ und einheitlich. In deren Folge wurde ein Gemisch aus Dibenzylloxy, Monobenzylloxymonohydroxyaryl und Dihydroxyaryl substituierten Produkten erhalten (Abbildung 24, Kapitel 3.4.1). Bei einigen Verbindungen (**39** und **41**) gelang eine saubere Isolierung aus den Produktgemischen durch fraktionierte Kristallisation, bei anderen (**38** und **40**) hingegen nicht.

Daher musste für die beiden Käfigdimere **34** und **36** eine geeignete Methode für eine *O*-Debenzylierung zur Darstellung der entsprechenden Zielverbindungen **38** und **40** gefunden werden. In der Literatur sind zahlreiche Varianten zur Entfernung der Benzylethergruppe beschrieben (*Bhatt & Kulkarni*, 1983; *Greene & Wuts*, 1991; *Kocienski*, 1994). Die schonendste Methode bietet die katalytische Hydrierung, mit Palladium als Katalysator der Wahl. Die reduktive Abspaltung der Benzylschutzgruppen von **34** durch Hydrierung an einem Palladium-Kohle-Katalysator in Tetrahydrofuran blieb allerdings erfolglos (Abbildung 25). Auch nach 14-tägiger ununterbrochener Hydrogenolyse konnte per Dünnschichtchromatographie keine Umsetzung beobachtet werden. Daraufhin wurde ein zweiter Hydrierungsversuch mit Palladiumhydroxid als Katalysator unternommen. Eine dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsverlaufes zeigte dieses Mal die Existenz zweier Reaktionsprodukte an. Die vollständige Hydrogenolyse des Ausgangsstoffes **34** war nach 48 Stunden beendet. Eine anschließende massenspektrometrische Untersuchung bestätigte das Vorhandensein der zwei Reaktionsprodukte. Hierbei handelte es sich in beiden Fällen jedoch nicht um die gewünschte Zielverbindung **38**. Im Massenspektrum konnten zwei Peaks detektiert werden, die den Verbindungen **46** und **47** zugeordnet wurden (Abbildung 25). Neben der erwünschten Entfernung der beiden *O*-Benzylgruppen wurden parallel auch die *N*-Benzylgruppen im Molekül angegriffen. Ein Gemisch der Verbindungen **46** und **47** war schließlich die Folge.

Eine Alternative zur katalytischen Hydrierung bietet die Transfer-Hydrierung (*Brieger & Nestrick*, 1974; *Entwistle et al.*, 1985). Sie ist weniger anfällig für eine

Katalysatorvergiftung, und wo die klassische Hydrogenolyse mit Wasserstoffgas versagt, erweist sie sich häufig als erfolgreich (Kocienski, 1994). Palladium wird ebenfalls als Katalysator eingesetzt, Methanol oder Ethanol sind die üblicherweise verwendeten Lösungsmittel und Cyclohexen (Hanessian *et al.*, 1981), Cyclohexadien (Felix *et al.*, 1978) oder Ammoniumformiat (Bieg & Szeja, 1985) dienen als Wasserstoffdonatoren.

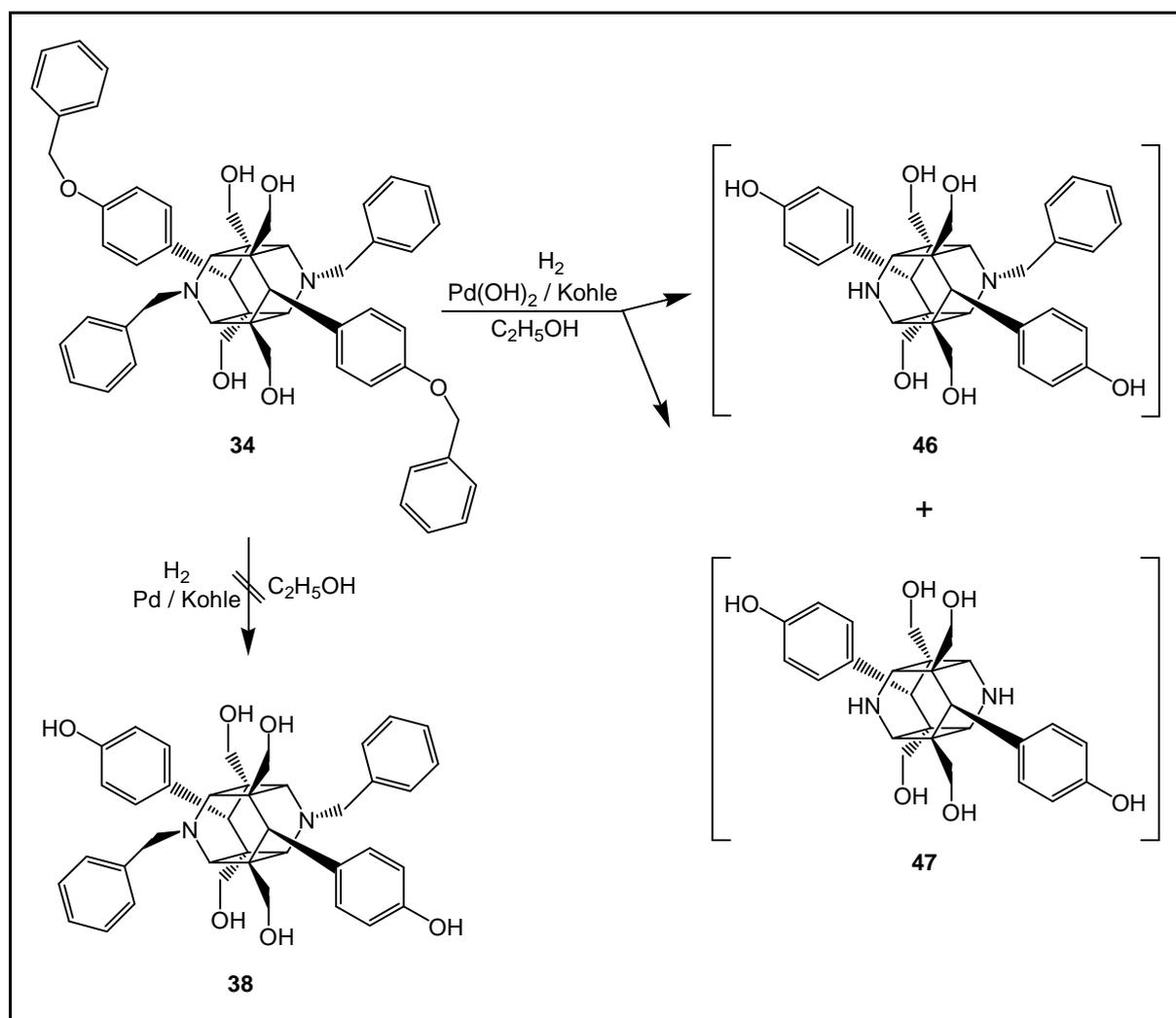


Abbildung 25: Debenzilyierungsversuche durch katalytische Hydrierung am Beispiel von **34**

Die Methode nach Felix *et al.* (1978) mit 1,4-Cyclohexadien als Wasserstoffquelle fand für die Verbindung **34** Anwendung (Abbildung 26). Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und zeigte nach 72 Stunden das Ende der Umsetzung mit der Bildung von zwei Reaktionsprodukten an. Die massenspektrometrische Analyse des Produktgemisches identifizierte die beiden Verbindungen **46** und **47**, wie sie bereits bei der katalytischen Hydrierung von **34** mit Palladiumhydroxid erhalten worden waren (Abbildung 25). Ein Vergleich der zwei Reaktionsgemische durch die

Dünnschichtchromatographie bestätigte das Ergebnis. Bei der Transfer-Hydrierung findet neben der *O*-Debenzylierung auch ein paralleler Angriff an den *N*-Benzylgruppen statt.

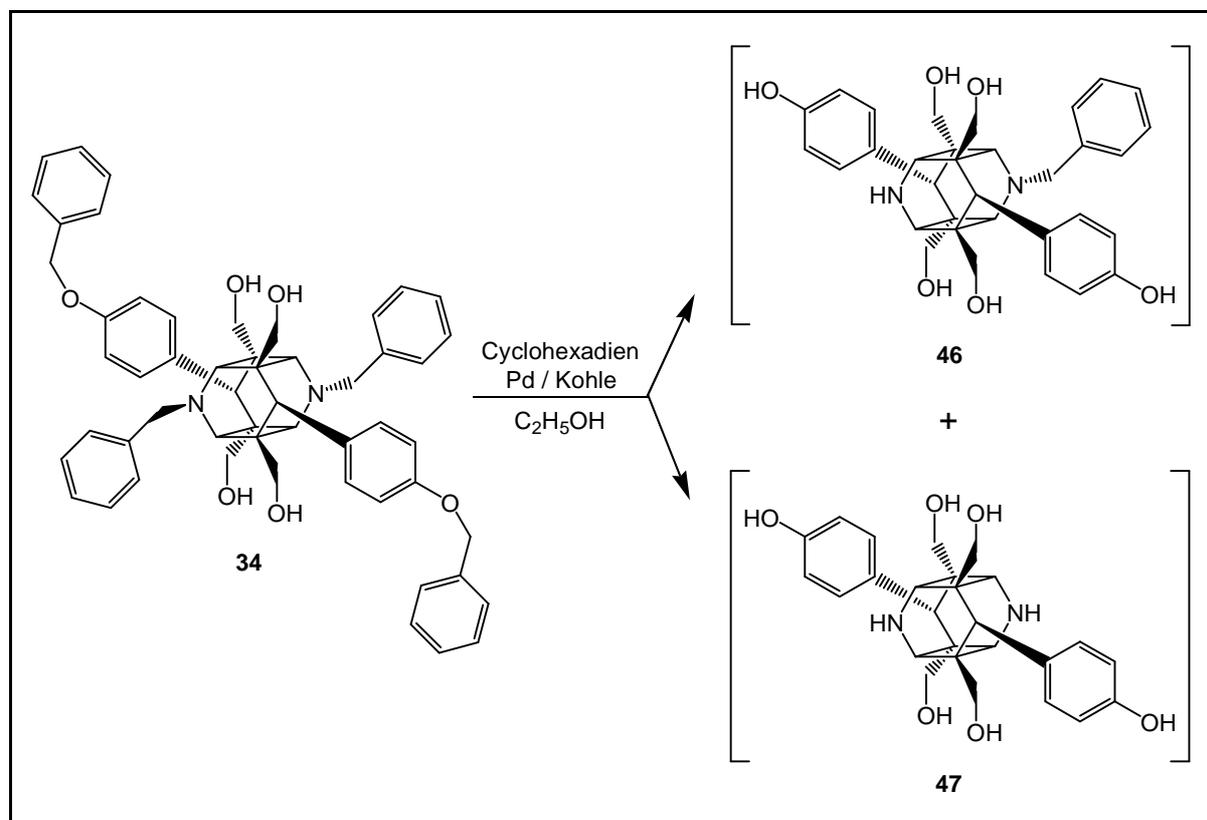


Abbildung 26: Debenzylierungsversuche durch Transfer-Hydrierung am Beispiel von **34**

Ferner kommen in der Literatur zahlreiche Lewisäuren für eine Spaltung der Benzylether zum Einsatz. Typische Reagenzien sind Bortrichlorid (*Williams et al.*, 1989), Eisen(III)-chlorid (*Park et al.*, 1987) oder Zinn(IV)-chlorid (*Hori et al.*, 1989), teilweise in Kombination mit Schwefel-Nukleophilen wie z. B. Thioethanol oder Thioanisol. *Overman & Fukaya* (1980) verwendeten Bortrifluorid in Verbindung mit Thioethanol zur Entfernung einer *O*-Benzylgruppe in Gegenwart einer *N*-Benzylgruppe, wobei letztere erhalten blieb. Allerdings handelte es sich um aliphatische Benzyletherstrukturen. Sie werden deutlich leichter von Bortrifluorid gespalten als die aromatischen Benzylether, die neben einer verlängerten Reaktionszeit teilweise zu unvollständigen Umsetzungen führen, wie *Fuji et al.* (1979) berichteten. Sie untersuchten die Anwendbarkeit von Bortrifluorid-Etherat-Komplexen in Thioethanol zur Spaltung von sowohl Aryl- als auch Alkyl-Benzyl-Ethern. *Kiso et al.* (1980) hingegen beschrieben eine effiziente Methode zur Entfernung der Schutzgruppen aus aromatischen Benzylethern. Unter Verwendung von Thioanisol und Trifluoressigsäure gelang die quantitative Spaltung von Aryl-Benzyl-Ethern z. B. in Form des *O*-Benzyltyrosins

innerhalb von drei Stunden bei 25 °C. Dieses Thioanisol-Trifluoressigsäure-System erlaubt die Spaltung von aromatischen Benzylethern durch einen sogenannten „Push-Pull“-Mechanismus: Hierbei kommt es zur elektrophilen Addition des Protons (harte Säure nach *Pearson*) der Trifluoressigsäure an das Sauerstoffatom (harte Base nach *Pearson*) der Etherbindung. Diese Addition verursacht einen Elektronenzug (englisch: pull) vom Benzylkohlenstoff in Richtung des Ethersauerstoffs. Durch den nukleophilen Angriff des Schwefelatoms (weiche Base nach *Pearson*) im Thioanisol an den elektronenverarmten Kohlenstoff (weiche Säure nach *Pearson*) der Benzylgruppe erfolgt ein Elektronenschub (englisch: push) ebenfalls vom Benzylkohlenstoff in Richtung des Ethersauerstoffs, der den Elektronenzug unterstützt und damit die Spaltung der Etherbindung herbeiführt. Mit der Vorschrift nach *Kiso et al.* (1980) können aromatische Benzylether viel leichter als aliphatische Benzylether gespalten werden. Ferner bleibt die Bildung von Nebenprodukten, wie sie beim alleinigen Einsatz von Trifluoressigsäure ohne Schwefel-Nukleophil häufig beobachtet wurden, aus (*Kiso et al.*, 1978).

Diese Reaktion verdeutlicht das einfache, aber sehr effektive Zusammenspiel zwischen einem weichen Nukleophil (Thioanisol) und einem harten Elektrophil (Trifluoressigsäure) an einem Substrat (Benzylether).

Nach der vielversprechenden Methode von *Kiso et al.* (1980) wurde eine *O*-Debenzylierung an den Verbindungen **34** und **36** versucht (Abbildung 27). Die Substanzen wurden mit einer Thioanisol-Trifluoressigsäure-Mischung versetzt und mehrere Tage bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt.

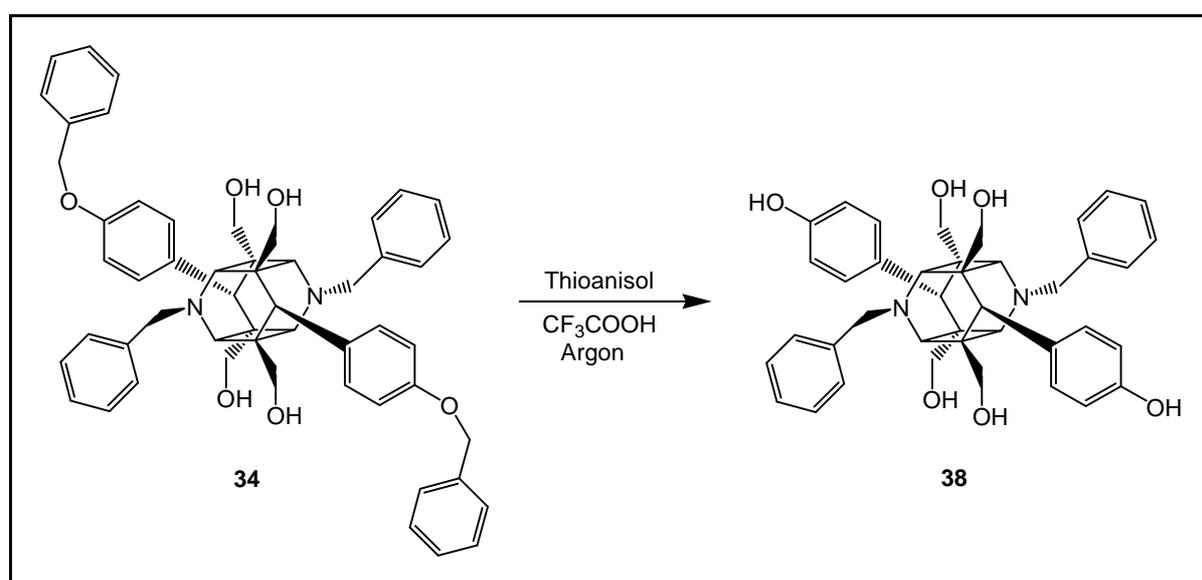


Abbildung 27: *O*-Benzylschutzgruppen-Entfernung durch ein Thioanisol-Trifluoressigsäure-System an **34** („Push-Pull“-Mechanismus, nach *Kiso et al.*, 1980)

Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte durch die Dünnschichtchromatographie. Bereits nach 48 Stunden war die Umsetzung von **34** beendet. Das entstandene Produkt wurde isoliert und konnte durch massenspektrometrische sowie $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen als die gewünschte Verbindung **38** identifiziert werden. Demnach verlief die Abspaltung der *O*-Benzylgruppen erfolgreich quantitativ, wo hingegen die *N*-Benzylgruppen, wie erhofft, unter diesen Bedingungen stabil blieben (Abbildung 27). Für die Verbindung **36** jedoch konnte auch nach 14-tägiger Reaktionsdauer keine Umsetzung beobachtet werden. Auch Variationen der Reaktionsbedingungen wie erhöhte Temperatur und Einsatz der Reagenzien im deutlichen Überschuss führten zu keiner Produktbildung, wie die Kontrolle per Dünnschichtchromatographie bewies. Vermutlich werden nur *para*-substituierte Benzylether vom Thioanisol-Trifluoressigsäure-System angegriffen, wie es das in der Literatur von *Kiso et al.* (1980) beschriebene *O*-Benzyltyrosin und die Verbindung **34** zeigen.

3.4.3 $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Besonderheiten der käfigdimeren Alkoholzielstrukturen

In den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der nach Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid erhaltenen Alkohole bilden die Protonen der Hydroxymethylgruppen $\text{CH}_{\text{AB}}\text{OH}_X$ ein ABX-System. Dies konnte allerdings nur in Spektren beobachtet werden, die in deuteriertem Dimethylsulfoxid aufgenommen wurden. Kopplungen von OH-Protonen mit benachbarten CH-Protonen lassen sich häufig nur dann beobachten, wenn Lösungsmittel verwendet werden, in denen der Protonenaustausch deutlich verlangsamt abläuft (Rücker *et al.*, 1992). Für das in diesem Kapitel beispielhaft abgebildete Spektrum der Verbindung **38** betragen die Kopplungskonstanten der entsprechenden Protonen $^2J_{\text{A/B}} = 10,5 \text{ Hz}$ und $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 4,5 \text{ Hz}$ (Abbildungen 28 und 29).

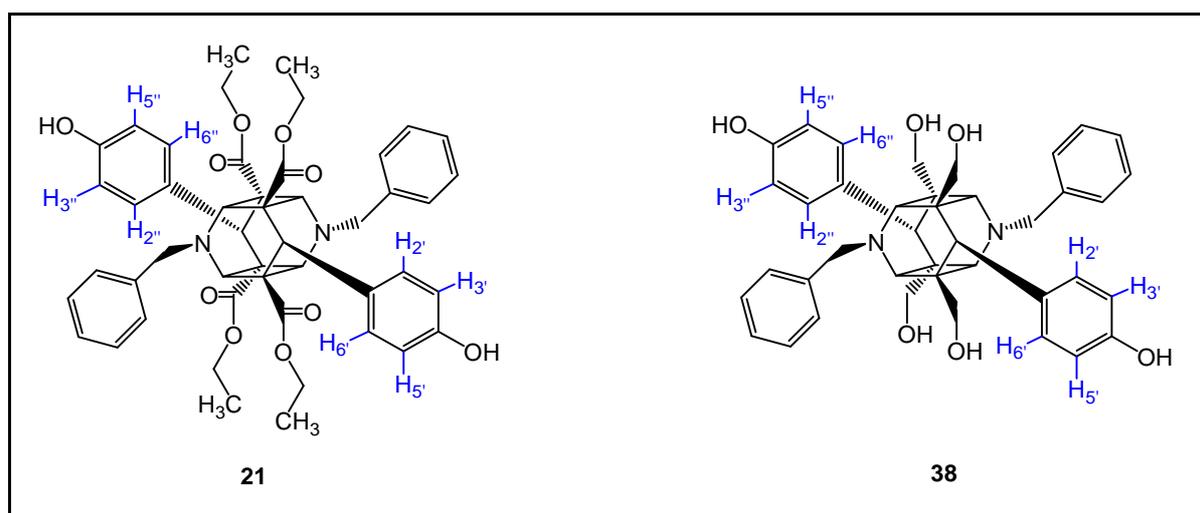


Abbildung 28: Die Zielverbindung **38** und ihre Estervorstufe **21** mit der Darstellung der für die Diskussion relevanten aromatischen Protonen (blau)

Für die käfigdimeren Zielverbindungen fällt in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des Weiteren eine deutlich unterschiedliche Verschiebung der Signale der aromatischen Protonen der beiden Substituenten am C-6 und C-12 des Käfiggrundkörpers auf. Die chemisch äquivalenten Protonen 2'- und 6'-H bzw. 3'- und 5'-H des einen Arylrestes sowie 2''- und 6''-H bzw. 3''- und 5''-H des zweiten Arylrestes sind überraschenderweise magnetisch nicht äquivalent. In den entsprechenden Spektren treten für diese Protonen vier Signale auf, die jeweils ein Integral besitzen, das zwei Protonen entspricht. In den käfigdimeren Estervorstufen hingegen sind die chemisch äquivalenten Protonen auch magnetisch äquivalent. In den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren dieser Verbindungen existiert für die Protonen 2'-, 6'-, 2''- und 6''-H der beiden

Arylsubstituenten ein gemeinsames Signal, mit einer Integrationshöhe von vier Protonen sowie für die Protonen 3'-, 5'-, 3''- und 5''-H ein zweites Signal, ebenfalls mit einer vier Protonen entsprechenden Integrationshöhe. Besonders deutlich wird diese Beobachtung beim Vergleich des ^1H -NMR-Spektrums der Verbindung **38** mit dem ^1H -NMR-Spektrum ihrer Estervorstufe (Verbindung **21**). In den Abbildungen 29 und 30 sind die ^1H -NMR-Spektren der entsprechenden Substanzen dargestellt.

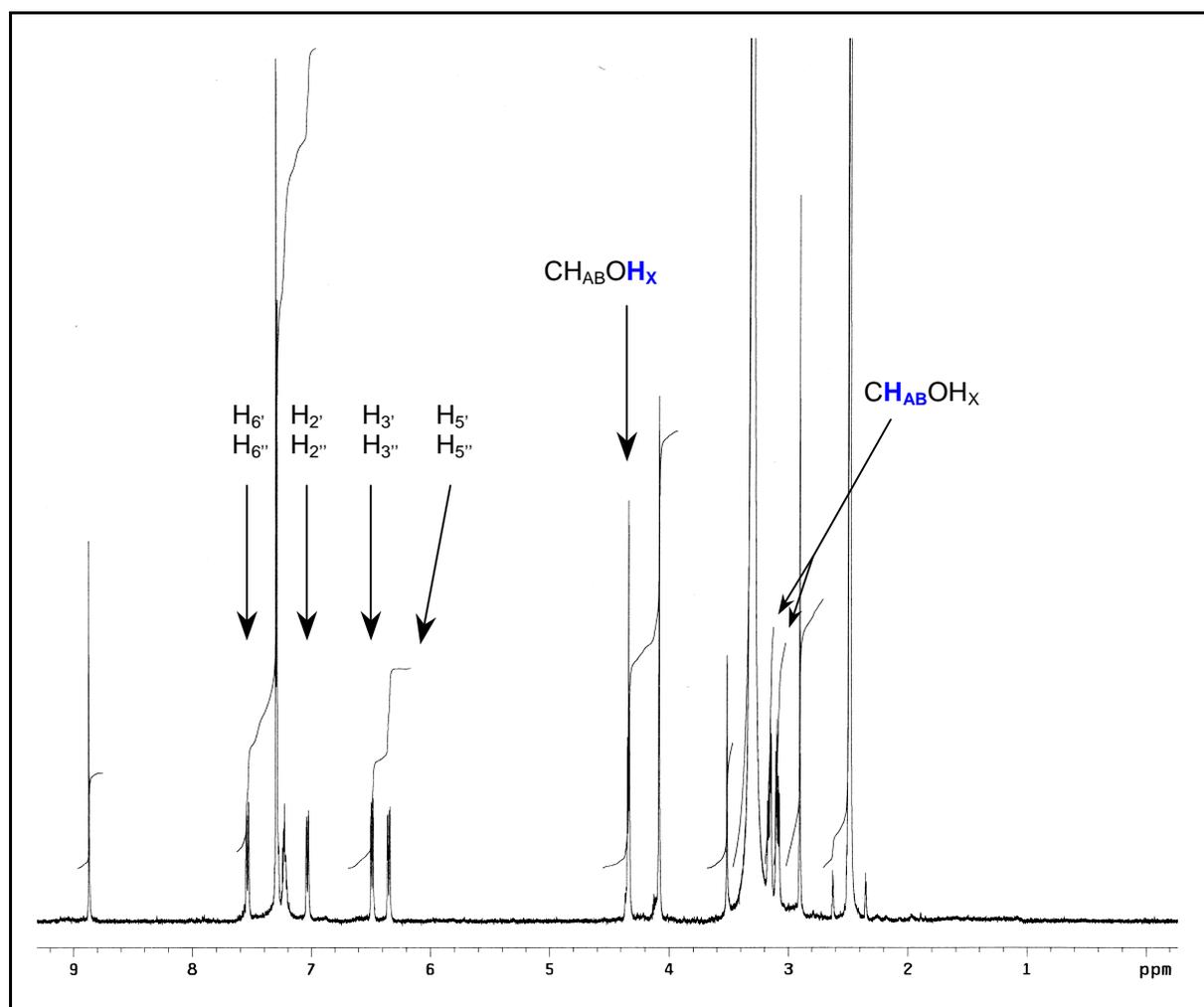


Abbildung 29: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung **38** (aufgenommen mit 500 MHz in DMSO-d_6)

Als Ursache für die magnetische Nichtäquivalenz der jeweiligen *ortho*-ständigen aromatischen Protonenpärchen (2'- und 6'-H, bzw. 2''- und 6''-H) sowie der *meta*-ständigen aromatischen Protonenpärchen (3'- und 5'-H bzw. 3''- und 5''-H) der 6-,12-Arylreste wird eine eingeschränkte Drehbarkeit der beiden aromatischen Ringe in den käfigdimeren Alkoholen angenommen, die zu der beobachteten Differenzierung der Protonensignale führt.

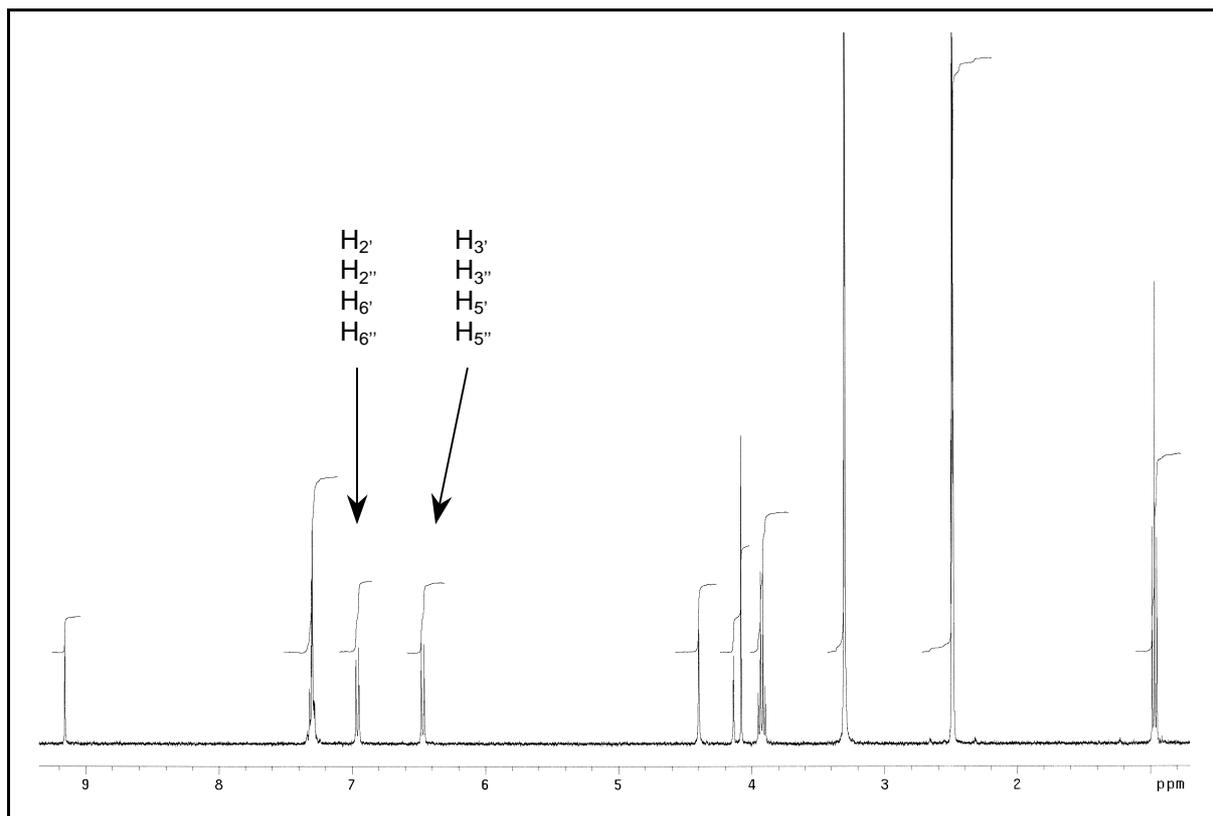


Abbildung 30: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **21** (aufgenommen mit 400 MHz in DMSO-d_6)

4 Untersuchungen zum Versagen der Festkörper-Dimerisierung (der Hydroxy substituierten monomeren Derivate)

4.1 Röntgenstrukturanalyse

Die monomeren 2,6-unsubstituierten 4-Aryl-1,4-dihydropyridine unterliegen bereits unter dem Einfluss von Tageslicht im kristallinen Zustand (im Festkörper; englisch: solid-state) einer photochemischen Dimerisierung (*Hilgeroth & Heinemann*, 1998). Dabei reagieren sie entweder zu *anti*-dimeren oder zu *syn*-dimeren Produkten, wobei letztere unter fortgesetzter Bestrahlung zu Käfigdimeren weiterreagieren (Abbildung 20, Kapitel 3.3).

Im Gegensatz dazu wurden für die 2,6-substituierten 1,4-Dihydropyridine, deren bekanntester Vertreter das *Nifedipin* ist, kaum Dimerisierungsprodukte beschrieben. Die in 2- und 6-Position vorhandenen Substituenten verhindern aus sterischen Gründen eine Bildung derartiger dimerer Addukte. Die Lichtempfindlichkeit der 1,4-Dihydropyridine vom *Nifedipin*-Typ hingegen beruht auf einer Licht induzierten, intramolekularen Redoxreaktion unter Aromatisierung des Pyridinringes (*Schlossmann*, 1972; *Ebel et al.*, 1978; *Thoma & Klimek*, 1985[a] & [b]) (Abbildung 19, Kapitel 3.3).

Die Lichtempfindlichkeit zahlreicher unterschiedlich substituierter monomere 4-Aryl-1,4-dihydropyridine und der Reaktionsverlauf ihrer Dimerisierung wurden schon von *Hilgeroth* (2000) untersucht und mehrfach publiziert (*Hilgeroth et al.*, 1998; 1999[a] & 1999[b]). Auch in dieser Arbeit konnte die Photoreaktivität in der Festphase und die Dimerenbildung am Beispiel der monomeren Verbindungen **11** und **12** bestätigt werden (Kapitel 3.3.1).

Die beiden Hydroxy substituierten monomeren 1,4-Dihydropyridine **13** und **14** erwiesen sich bei der Bestrahlung im Festkörper jedoch als photostabil. Es ist bekannt, dass in einem Pool von photosensitiven Molekülvariationen immer wieder photostabile Derivate auftreten können (*Ramamurthy & Venkatesan*, 1987). Zur Untersuchung und Aufklärung der Photostabilität wurden für beide Verbindungen jeweils eine Röntgenkristallstrukturanalyse angefertigt (Experimenteller Teil, Kapitel 7.1.6). Die Kristalle der zu untersuchenden Verbindungen **13** und **14** konnten aus Ethanol gewonnen werden. Die entsprechenden Kristalldaten und ausgewählte Parameter der Kristallstrukturbestimmungen sind in Tabelle 3

zusammengefasst. Die Substanz **14** kristallisiert im monoklinen Kristallsystem in der Raumgruppe $P2_1/n$. Die Verbindung **13** hingegen kristallisiert im triklinen Kristallsystem in der Raumgruppe $P\bar{1}$ mit zwei Molekülen **A** und **B** in der asymmetrischen Einheit. Im Molekül **B** ist der *N*-Benzylring einer Fehlordnung unterworfen, die in der Darstellung von zwei möglichen Grenzlagen zum Ausdruck kommt. In Abbildung 31 sind die Molekülstrukturen von **13** (mit den beiden Molekülen **A** und **B**) und **14** dargestellt mit Atombezeichnungen und Auslenkungsellipsoide für 50 % Wahrscheinlichkeit.

Die vollständigen Daten der Messbedingungen, Kristall- und Atomparameter sowie Bindungslängen und -winkel der Verbindungen **13** und **14** sind beim *Cambridge Crystallographic Data Center* hinterlegt (CCDC, 2005).

Verbindung	13	14
Summenformel	$C_{24}H_{25}NO_5$	$C_{24}H_{25}NO_5$
Molare Masse ($g \cdot mol^{-1}$)	407,45	407,45
Kristallsystem	triklin	monoklin
Raumgruppe	$P\bar{1}$	$P2_1/n$
a (Å)	10,7367(9)	12,101(2)
b (Å)	10,9125(8)	14,078(1)
c (Å)	19,654(1)	12,395(2)
α (°)	76,950(8)	90
β (°)	76,785(9)	93,222(14)
γ (°)	84,335(7)	90
Volumen der Elementarzelle (Å ³)	2181,1(3)	2108,3(5)
Z	4	4
D_X ($g \cdot cm^{-3}$)	1,241	1,284
μ (Mo-K α) (mm^{-1})	0,087	0,090
Anzahl der Einzelreflexe	8596	4606
R_{int}	0,077	0,116
$2\theta_{max}$ (°)	52	54
R1/wR2	0,073/0,167	0,093/0,233
Min/max $\Delta\rho$ ($e \cdot \text{Å}^{-3}$)	-0,20/0,28	-0,21/0,25

Tabelle 3: Kristalldaten und ausgewählte Parameter der Röntgenkristallstrukturanalyse

Die 1,4-Dihydropyridinringe von allen drei Molekülen (**13A**, **13B** und **14**) sind durch eine Boot- bzw. Wannenkongformation charakterisiert, die am N1-Atom abgeflacht ist und zur Halbsessel- bzw. Umschlagkongformation tendiert. Ferner ist den beiden symmetrieunabhängigen Molekülen **13A** und **13B** sowie Molekül **14** die Lage der

Hydroxyphenyl- und *N*-Benzylsubstituenten bezogen auf den Dihydropyridinring gemeinsam. Die Hydroxyphenylringe sind pseudoaxial über der entsprechenden Dihydropyridinringebene, die Ringe der *N*-Benzylgruppen auf der entgegengesetzten Seite (unter) dieser Ebene angeordnet. Die Ebenen der Hydroxyphenylsubstituenten halbieren hierbei die entsprechenden 1,4-Dihydropyridinringebenen nahezu mit Abweichungen von den halbierenden Ebenen durch die Atome N1, C3, C6, C18 (für jedes Molekül) von $10,7(1)^\circ$ (**13A**), $7,3(1)^\circ$ (**13B**) und $4,0(1)^\circ$ (**14**).

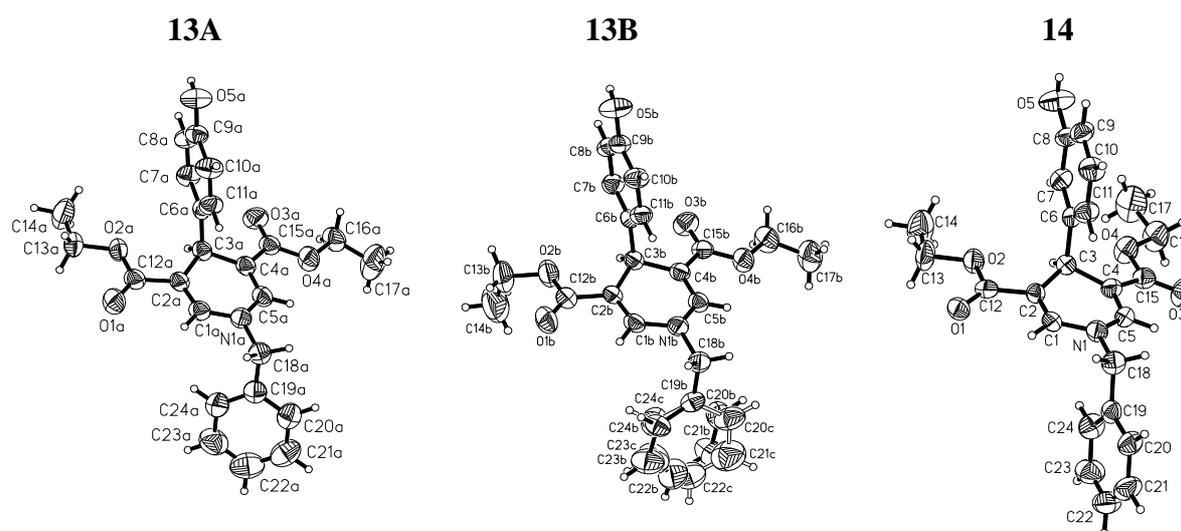


Abbildung 31: Molekülstrukturen von **13A**, **13B** und **14** mit Atombezeichnungen und Auslenkungsellipsoiden für 50 % Wahrscheinlichkeit. Die fehlgeordneten Atome des *N*-Benzylringes von **13B** sind zur Unterscheidung mit „b“ und „c“ beschriftet.

Bei allen drei Molekülen befinden sich die zwei Estergruppen nahezu in der Ebene der Dihydropyridinringe mit Winkeln von $5,9(1)^\circ$ bis $11,1(1)^\circ$ zwischen den Ebenen durch die Estergruppen (Atome O1, C12, O2 bzw. O3, C15, O4) und derjenigen durch die Dihydropyridinringe (Atome C1, C2, C4, C5, N1). Dies wurde auch von *Fossheim et al.* (1988) bei den 2,6-Dimethyl substituierten 1,4-Dihydropyridinen publiziert. Interessanterweise unterscheiden sich aber die Carbonylgruppen hinsichtlich ihrer Orientierung in den Molekülen (Abbildung 31). In den Strukturen **13A** und **13B** weisen die Carbonylgruppen an C2a und C2b jeweils eine *anti*-periplanare und an C4a und C4b eine *syn*-periplanare Konformation auf. Die zugehörigen Torsionswinkel betragen für C3–C2–C12–O1 $-177,5(3)^\circ$ (**13A**) und $-168,3(4)^\circ$ (**13B**) bzw. für C3–C4–C15–O3 $-2,9(5)^\circ$ (**13A**) und $-3,3(5)^\circ$ (**13B**). In der Verbindung **14** hingegen besitzen beide Carbonylgruppen eine *anti*-periplanare Anordnung mit Torsionswinkeln von $-176,4(4)^\circ$ (C3–C2–C12–O1) bzw. $174,7(5)^\circ$ (C3–C4–C15–O3).

Die Konformationen der Carbonylgruppen in den Molekülen **13A** und **13B** entsprechen den in der Literatur veröffentlichten Ergebnissen für die strukturverwandten 2,6-Dimethylsubstituierten Derivate (*Fossheim et al.*, 1988), von denen die eine Carbonylgruppe *anti*-periplanar, die andere *syn*-periplanar angeordnet sind. Im Gegensatz dazu stellt die Verbindung **14** mit ihrer einheitlich *anti*-periplanaren Orientierung der Carbonylgruppen eine Besonderheit in der Reihe der Dihydropyridine dar.

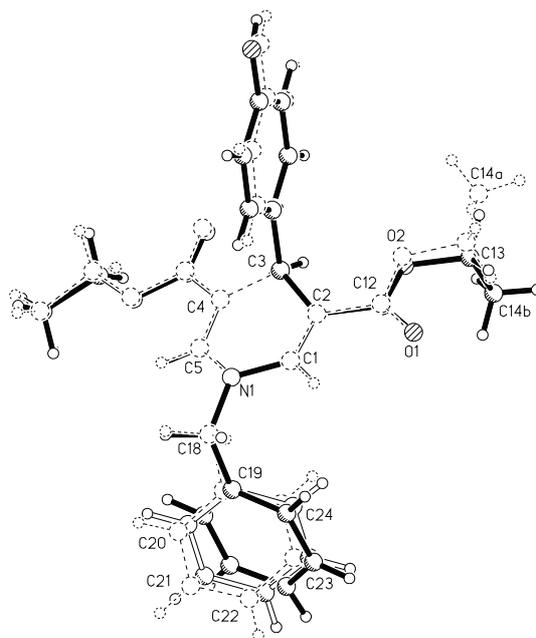


Abbildung 32: Vergleich der Strukturen von Molekül **13A** (gestrichelt) und **13B** (schwarz). Die Zeichenkoordinaten der Atome C1-C5 und N1 beider Moleküle wurden durch ein Least-Squares-Verfahren aneinander angepasst.

Die bedeutendsten Abweichungen der Strukturen der Moleküle **13A** und **13B** betreffen die Konformation der Ethylgruppe am O2-Atom und die Orientierung des *N*-Benzylringes um die Bindung C18–C19 (Abbildung 32). Im Molekül **13A** liegt eine *anti*-periplanare Orientierung der Ethylestergruppe vor (Torsionswinkel C12–O2–C13–C14 = $-172,9(3)^\circ$), im Molekül **13B** eine *anti*-clinale Orientierung (Torsionswinkel C12–O2–C13–C14 = $-97,2(5)^\circ$).

Die Fehlordnung des *N*-Benzylringes im Molekül **13B** lässt sich durch die zwei möglichen Grenzpositionen mit den entsprechenden Torsionswinkeln von $89,2(8)^\circ$ (N1–C18–C19–C20b) bzw. $115,6(6)^\circ$ (N1–C18–C19–C20c) beschreiben. Der *N*-Benzylring in **13A** liegt mit einem Torsionswinkel von $-131,4(4)^\circ$ (N1–C18–C19–C20) außerhalb der Grenzlagen des *N*-Benzylsubstituenten von **13B** (Abbildung 32).

Im Kristall der Verbindung **13** sind die beiden Moleküle **A** und **B** in der asymmetrischen Einheit der Elementarzelle annähernd zentrosymmetrisch zueinander angeordnet. Diese

Molekülpaare bilden durch Translation entlang [100] generierte Stapel (Abbildungen 35-37). Die Moleküle eines Paares sind jeweils durch zwei mittelstarke Wasserstoffbrückenbindungen (Abbildung 33) zwischen den Hydroxygruppen des einen Moleküles und dem Carbonyl-Sauerstoffatom des Partnermoleküles verknüpft ($O5a-H5a \cdots O3b$ und $O5b-H5b \cdots O3a$). Die Hydroxygruppe des Moleküles **B** ist darüber hinaus an einer schwachen Wasserstoffbrücke zur Hydroxygruppe eines zentrosymmetrisch erzeugten **B'**-Moleküles eines Nachbarstapels beteiligt ($O5b-H5b \cdots O5b'$). Das Hydroxy-Wasserstoffatom $H5b$ geht somit eine 3-Zentren-Wasserstoffbrückenbindung ein (Abbildung 33).

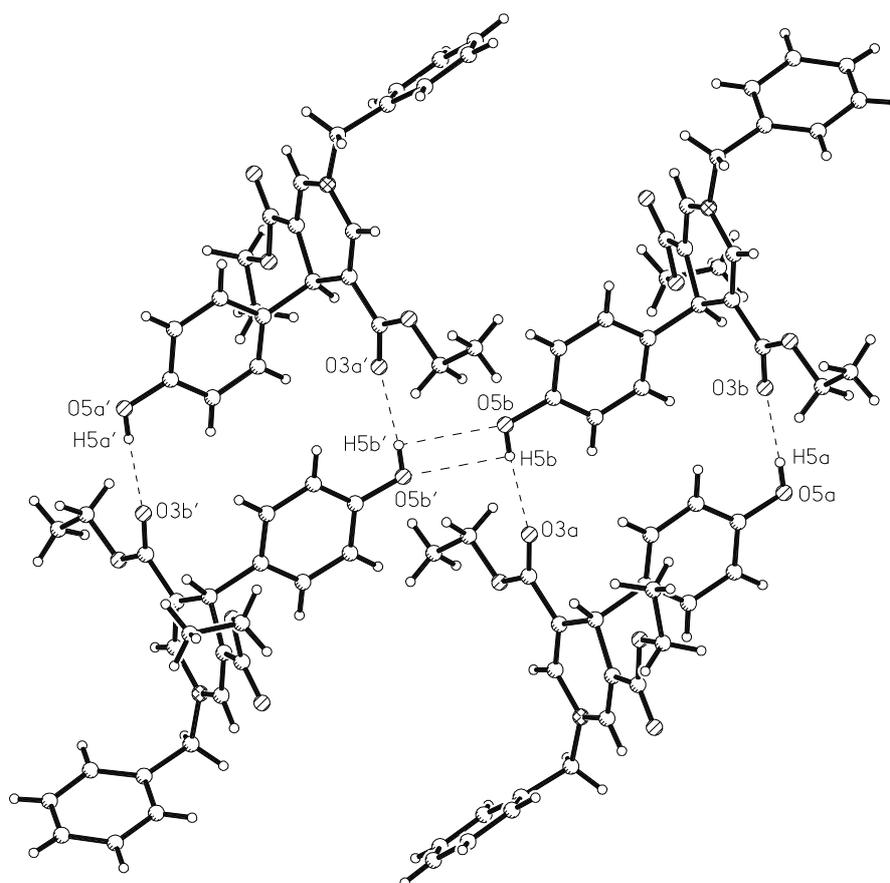


Abbildung 33: Das System der Wasserstoffbrückenbindungen (gestrichelt) im Kristall der Verbindung **13**. Das mit „*B*“ bezeichnete Molekülpaar wird über ein Symmetriezentrum aus dem anderen generiert.

Molekül **14** bildet eindimensionale Molekülstapel aus translatorisch entlang [001] generierten Molekülen (Abbildungen 37-39). Im Kristall sind die Moleküle über eine mittelstarke Wasserstoffbrücke (Abbildung 34) zwischen der Hydroxygruppe des einen Moleküles und dem Carbonyl-Sauerstoffatom des Nachbarmoleküles verbunden ($O5-H5 \cdots O1$).

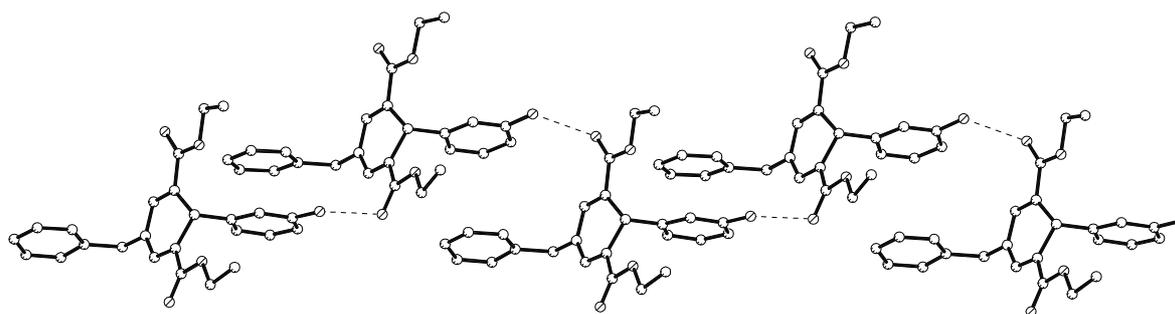


Abbildung 34: Das System der Wasserstoffbrückenbindungen (gestrichelt) im Kristall der Verbindung **14** (ohne H-Atome, in Richtung [101] H-verbrückte Molekülkette)

Als Folge der Zentrosymmetrie liegt eine antiparallele Packung benachbarter Molekülstapel vor. Die Kristallpackungen sind sowohl in der Verbindung **13** als auch bei **14** durch Wasserstoffbrückenbindungen entlang der Nachbarstapel stabilisiert (Tabelle 4).

	D–H...A	D–H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D–H...A (°)	Symmetriecode
13	O5a–H5a...O3b	0,83(4)	2,00(4)	2,817(4)	174(5)	+ x, y, z
	O5b–H5b...O3a	0,84(4)	2,07(4)	2,898(4)	171(4)	x, y, z
	O5b–H5b...O5b'	0,84(4)	2,77(4)	2,858(5)	88(3)	– x, 1 – y, 1 – z
14	O5–H5...O1	0,82	2,03	2,849(5)	175	0,5 + x, 0,5 – y, 0,5 + z

Tabelle 4: ausgewählte Daten und Parameter der Wasserstoffbrückenbindungen in den Kristallpackungen der Verbindungen **13** und **14**

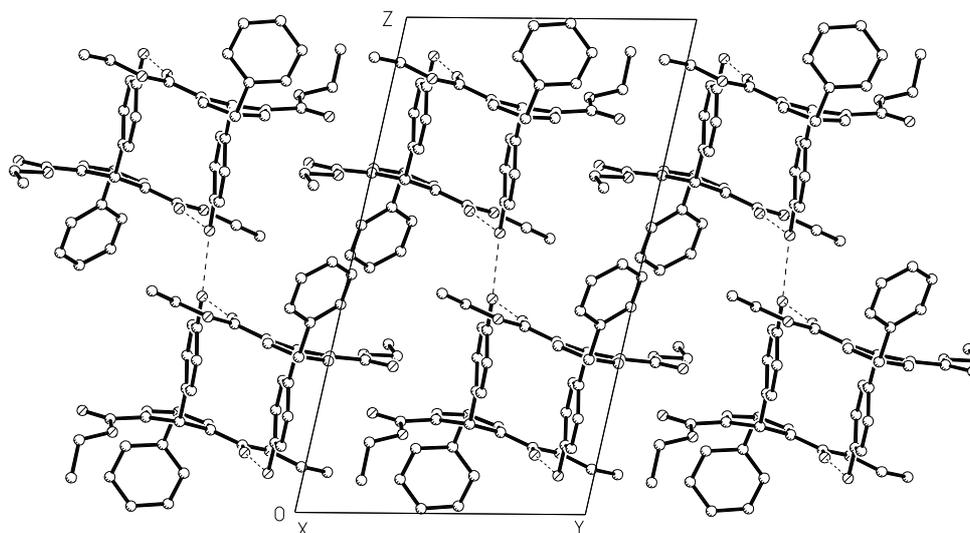


Abbildung 35: Projektion der Kristallstruktur von Verbindung **13** in x-Richtung (ohne H-Atome, Wasserstoffbrücken gestrichelt dargestellt)

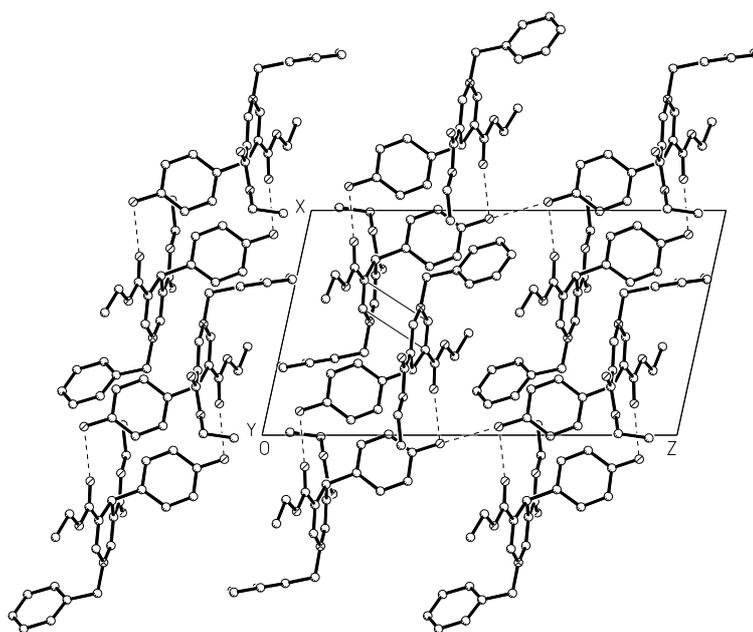
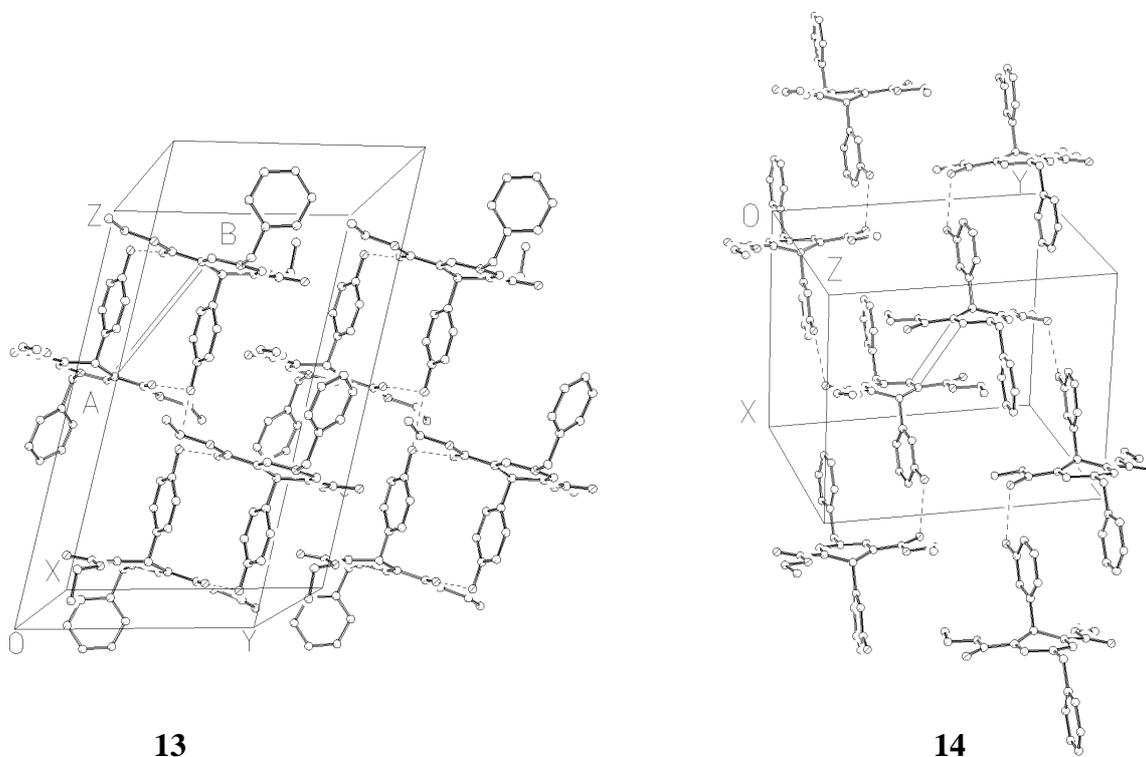


Abbildung 36: Projektion der Kristallstruktur von Verbindung **13** in y -Richtung mit den kürzesten Abständen (dünne Verbindungslinien) potentiell reagierender Doppelbindungen (ohne H-Atome, Wasserstoffbrücken gestrichelt dargestellt)



13

14

Abbildung 37: Räumliche Darstellung der Kristallpackungen der Verbindungen **13** und **14** mit eingezeichneten Wasserstoffbrücken (gestrichelte Linien) und Beispielen für am engsten benachbarte, potentiell reagierende Doppelbindungen (dünne Verbindungslinien; ohne H-Atome)

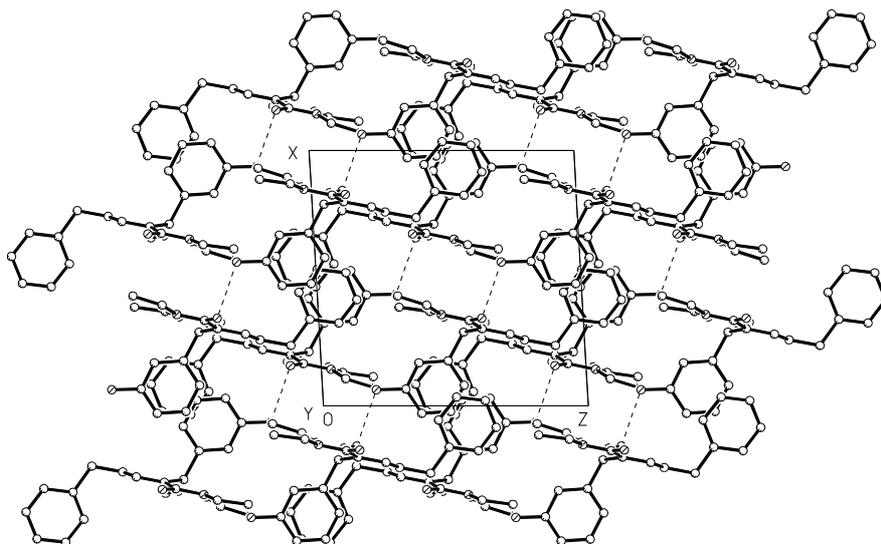


Abbildung 38: Kristallpackung der Verbindung **14** in einer Projektion längs der z -Richtung (ohne H-Atome, Wasserstoffbrücken gestrichelt dargestellt)

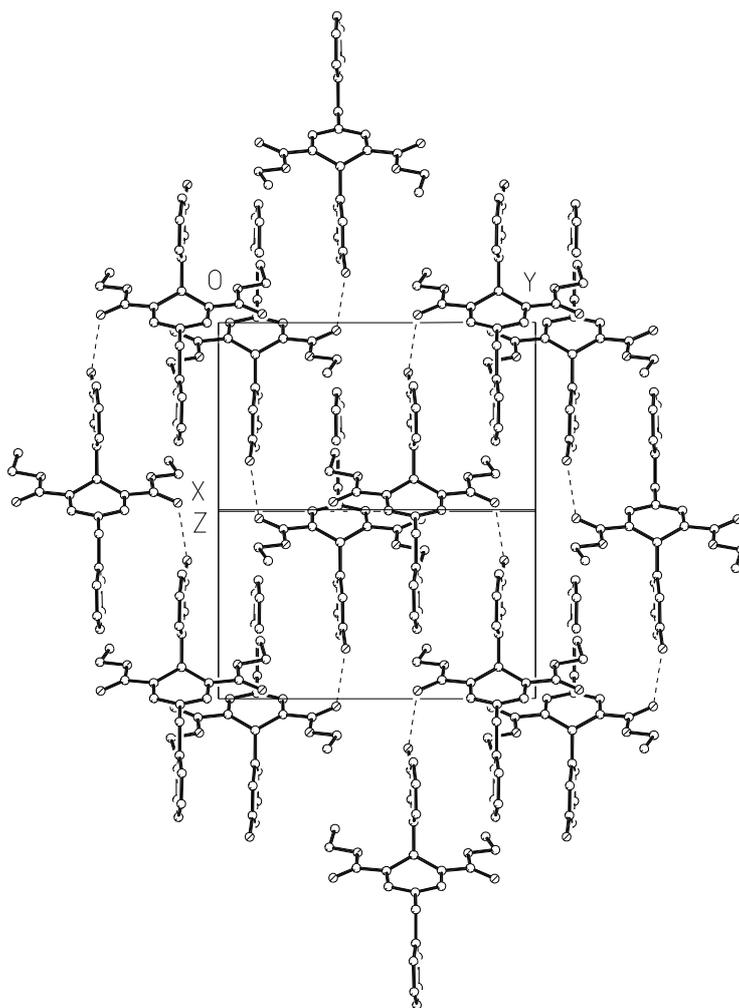


Abbildung 39: Kristallpackung der Verbindung **14** in einer Projektion längs $[10-1]$ (ohne H-Atome, Wasserstoffbrücken gestrichelt dargestellt)

4.2 Gründe für ein Versagen der Festkörper-Dimerisierung

Um die Photostabilität der beiden Verbindungen **13** und **14** in der Festkörperphase zu verstehen, wurden unterschiedliche geometrische Parameter in den Kristallpackungen bestimmt und analysiert. Aus der Literatur ist bekannt, dass der kürzeste Abstand zwischen potentiell reagierenden Doppelbindungen benachbarter Moleküle in der Festphase nicht mehr als 4,2 Å betragen sollte (Cohen & Schmidt, 1964; Cohen et al., 1964; Schmidt, 1964). Liegen hingegen die Doppelbindungen deutlich weiter voneinander entfernt, so findet keine Dimerisierung statt, die Verbindungen erweisen sich dann als photostabil (Schmidt, 1964).

Verbindung	Atome	Abstand (Å)
13	C4a–C5b	4,014(5)
	C4b–C5a	4,042(5)
14	C4–C5'	6,888(6)
	C5–C4'	6,875(6)

Tabelle 5: Die kürzesten Abstände potentiell reagierender Doppelbindungen benachbarter Moleküle in den Kristallpackungen der Verbindungen **13** und **14**

Die kürzeste Entfernung zwischen potentiell reagierenden Doppelbindungen im Kristall der Verbindung **14** liegt mit 6,9 Å deutlich über dem in der Literatur postulierten Grenzwert (Abbildung 37 und Tabelle 5). Dies erklärt die beobachtete Photostabilität von **14** im Festkörper und das Ausbleiben von Dimerisierungsprodukten. In der Kristallpackung der ebenfalls photostabilen Verbindung **13** betragen die kürzesten Abstände potentiell reagierender Doppelbindungen 4,014(5) Å für die Atome C4a...C5b sowie 4,042(5) Å für C4b...C5a (Abbildungen 36, 37 und 40 sowie Tabelle 5). Für **13** ist somit das Abstandskriterium formal erfüllt und eine *anti*-Dimerenbildung scheint theoretisch möglich, dennoch findet auch für diese Substanz keine Festkörperdimerisierung statt. Neben dem Abstand besitzt nach Ramamurthy & Venkatesan (1987) das Kriterium der minimalen translatorischen Bewegung, das zu Dimerisierungen im Festkörper führt, einen entscheidenden Einfluss auf mögliche Festkörperreaktionen. Diesem Kriterium folgend wurden weitere geometrische Parameter bestimmt, um die Lage der potentiell reagierenden Doppelbindungen zueinander zu beschreiben. Es handelt sich hierbei um die folgenden drei Winkel:

- den Rotationswinkel (θ_1) zwischen den Doppelbindungen C4a=C5a und C4b=C5b,

- den vier Winkeln (θ_2) innerhalb des Vierecks, das durch die Atome der Doppelbindungen $C4a=C5a\cdots C4b=C5b$ beschrieben wird,
- den zwei Winkeln (θ_3) zwischen der Ausgleichsebene durch die vier Kohlenstoffatome der potentiell reagierenden Doppelbindungen $C4a, C5a, C4b, C5b$ und der Ausgleichsebene durch die Dihydropyridinringatome $C4a, C5a, N1a, C3a$ für Molekül **13A** bzw. $C4b, C5b, N1b, C3b$ für Molekül **13B**.

Nach *Ramamurthy & Venkatesan* (1987) wird eine parallele Ausrichtung der Doppelbindungen zueinander als vorteilhaft betrachtet ($\theta_1 = 0^\circ$). Ferner favorisieren sie eine Anordnung der vier Doppelbindungsatome in Form eines Rechtecks ($\theta_2 = 90^\circ$) anstelle eines Parallelogrammes ($\theta_2 \neq 90^\circ$) und schließlich sollten idealerweise die zwei Ausgleichsebenen durch die beiden Dihydropyridinringe senkrecht zur Ausgleichsebene durch die vier Atome der Doppelbindungen stehen ($\theta_3 = 90^\circ$), vergleichbar mit dem Aufbau einer Treppenstufe. Eine derartige räumliche Anordnung der entsprechenden Doppelbindungen zueinander wird als exzellent für eine günstige Beeinflussung von Festkörperdimerisierungsreaktionen angesehen.

Während in der Verbindung **13** der Winkel θ_1 mit $2,5^\circ$ nur geringfügig vom postulierten Idealwert ($\theta_1 = 0^\circ$) abweicht, differieren die beiden anderen Winkel θ_2 mit ca. 70° bzw. 110° und θ_3 mit ca. 73° bzw. 76° deutlich von den jeweils angestrebten 90° (Tabelle 6). Allerdings sind in der Literatur für photoreaktive 4-Aryl-1,4-dihydropyridine Abweichungen für diese geometrischen Parameter in vergleichbaren Größenordnungen bekannt (*Hilgeroth et al.*, 1999). Sie können demnach durchaus toleriert werden und erklären nicht allein die Photostabilität der Substanz **13** im Festkörper.

	Winkel θ_1 ($^\circ$)	Winkel θ_2 ($^\circ$)	Winkel θ_3 ($^\circ$)
$C4a=C5a$ und $C4b=C5b$	2,5		
$C5a=C4a\cdots C5b$		70,8(2)	
$C4a=C5a\cdots C4b$		109,1(2)	
$C5b=C4b\cdots C5a$		69,6(2)	
$C4b=C5b\cdots C4a$		110,5(2)	
Ausgleichsebene durch die Atome:			
$C4a, C5a, C4b, C5b$ und $C4a, C5a, N1a, C3a$			73,0(1)
$C4a, C5a, C4b, C5b$ und $C4b, C5b, N1b, C3b$			75,9(1)

Tabelle 6: Ausgewählte geometrische Parameter, die die Lage potentiell reagierender Doppelbindungen benachbarter Moleküle in der Kristallpackung der Verbindung **13** beschreiben

Für eine Dimerisierung in der Festphase sind bei Divergenzen in den Parametern entsprechende Verschiebungen der Moleküle im Kristall erforderlich, um die von *Ramamurthy & Venkatesan* (1987) postulierte günstige, räumliche Anordnung zu erreichen und damit das Kriterium der minimalen translatorischen Bewegung zu erfüllen. Die beiden Moleküle **13A** und **13B** müssen sich hierfür entlang der Vektoren D1 und D2 aufeinanderzubewegen (Abbildung 40). Die berechneten Entfernungen betragen für D1 = 1,36 Å und für D2 = 1,44 Å.

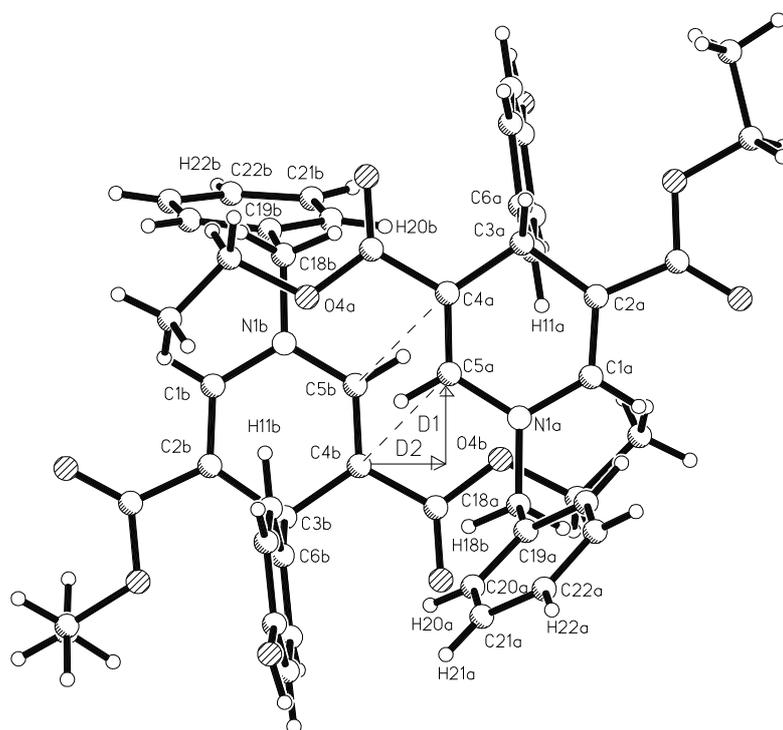


Abbildung 40: Projektion zweier benachbarter Moleküle A und B der Verbindung 13 auf die Ausgleichsebene durch die Atome C1b, C2b, C4b, C5b mit Kennzeichnung der für die Diskussion relevanten Atome und der Abstände zwischen den Atomen der potentiell reagierenden Doppelbindungen (gestrichelt) sowie der für die Reaktion erforderlichen Verschiebungen D1 und D2 (Vektorpfeile)

Findet solch eine Bewegung entlang der genannten Vektoren statt, so verringern sich die Abstände zwischen den Molekülen und damit auch zwischen den Atomen benachbarter Moleküle. Die *Van-der-Waals*-Radien der beteiligten Atome limitieren dabei entsprechende mögliche Verschiebungen. Die Distanz zwischen Atomen zweier Moleküle darf nicht kleiner werden als die Summe ihrer *Van-der-Waals*-Radien. Diese Problematik wird besonders an den Atompaaren O4...H11 und C6...C18 der benachbarten Moleküle **13A** und **13B** deutlich

(Abbildung 40). In der Kristallpackung beträgt die Entfernung der beiden Atome O4a...H11b 2,93 Å, für die Atome O4b...H11a 2,82 Å und für das Atompaar C6a...C18b 4,380(5) Å sowie ihr Analogpärchen C6b...C18a 4,428(5) Å. Eine Verschiebung entlang der Vektoren D1 (1,36 Å) und D2 (1,44 Å) führt zu einer Verringerung dieser Atomabstände deutlich unter die Summe der *Van-der-Waals*-Radien der betreffenden Atome. Diese liegen mit Größenordnungen von 2,74 Å für O4...H11 und 3,40 Å für C6...C18 (Bondi, 1964) nur geringfügig unter den tatsächlichen Distanzwerten im Kristall. Des Weiteren führt eine Bewegung in Richtung D2 zu einer kritischen Annäherung des *N*-Benzylringes an den Phenylring des Nachbarmoleküles (Tabelle 7).

Die diskutierten sterischen Behinderungen verbieten die für eine Festkörperdimerisierung erforderlichen Verschiebungen der Moleküle im Kristall. Eine theoretisch mögliche, für eine Dimerisierung geeignete gegenseitige Lage der potentiell reagierenden Doppelbindungen kann aus diesem Grund nicht erreicht bzw. eingenommen werden. Somit resultiert die beobachtete Photostabilität von **13** aus dem räumlichen Aufbau und der sterischen Anordnung der Moleküle in der Kristallpackung.

Atom	Abstand (Å)		
	A	B	C
C18	4,148(4)	4,130(4)	
C19	4,364(5)	4,408(4)	
C20	3,443(6)	3,448(7)	3,296(6)
C21	3,664(8)	3,81(1)	3,42(1)
C22	4,816(9)	5,15(2)	4,65(2)
H18b	3,25	3,22	
H20	2,66	2,57	2,47
H21	3,04	3,16	2,68
H22	4,99	5,41	4,73

*Tabelle 7: Ausgewählte kritische Abstände für potentiell reagierende Nachbarmoleküle (zwischen den *N*-Benzylatomen und der Ausgleichsebene durch die Kohlenstoffatome des benachbarten Phenylringes); A = *N*-Benzylatome von **13A** (bezeichnet mit „a“ in Abb. 31+40) und Phenylring von **13B**; B = *N*-Benzylatome von **13B** (erste Position, bezeichnet mit „b“ in Abb. 31+40) und Phenylring von **13A**; C = *N*-Benzylatome von **13B** (zweite Position, bezeichnet mit „c“ in Abb. 31) und Phenylring von **13A** (Bezeichnung siehe Abb. 31+40)*

4.3 Moleküldynamiksimulation

Zusätzlich wurden Moleküldynamiksimulationen für die beiden Moleküle **13A** und **13B** durchgeführt. Die bei einer Bewegung entlang D1 sich sterisch behindernden 4-Hydroxyphenylsubstituenten und Carbonylesterfunktionen an C4a und C4b könnten durch Drehungen der Gruppen den sterisch kritischen Positionen ausweichen und eine gegenseitige Behinderung vermeiden, mit der Folge, eine entsprechende Verschiebung in der Kristallpackung zu erleichtern. Die freie Drehbarkeit dieser Substituenten und ihre möglichen räumlichen Alternativpositionen im Festkörper sollten mit den computergestützten Moleküldynamikuntersuchungen simuliert und evaluiert werden (Experimenteller Teil, Kapitel 7.1.7). Für die Startkonformation der Moleküle kamen die aus der Röntgenkristallstrukturanalyse erhaltenen geometrischen Daten zum Einsatz, die zuvor Energie minimiert wurden.

Die Orientierung des 4-Hydroxyphenylsubstituenten in **13A** wird durch den Torsionswinkel C11a–C6a–C3a–C2a beschrieben, der sich in den Computersimulationen nach einer Equilibrierungszeit von 30 Picosekunden auf einen Durchschnittswert von etwa 60° einstellte, verbunden mit einer Schwankung von $ca \pm 20^\circ$ (Abbildung 41). Der durch die Röntgenstrukturuntersuchung experimentell ermittelte Wert beträgt $47,4(4)^\circ$. Für **13B** wurde der analoge Torsionswinkel C11b–C6b–C3b–C2b mit -60° und einer Streuung von $\pm 25^\circ$ berechnet. Im Vergleich hierzu beträgt der experimentelle Wert $-52,4(4)^\circ$.

Die Carbonylesterfunktion ist durch den Torsionswinkel C5a–C4a–C15a–O4a in der Verbindung **13A** charakterisiert, für den ein Mittelwert von -5° mit einer Abweichung von $\pm 30^\circ$ errechnet wurde (experimentell $-2,9(5)^\circ$) (Abbildung 41). Und schließlich konnte für das Pendant in der Verbindung **13B** C5b–C4b–C15b–O4b ein Torsionswinkel von $0^\circ \pm 25^\circ$ (experimentell $3,9(5)^\circ$) simuliert werden.

Die Ergebnisse der moleküldynamischen Computersimulationen zeigen, dass die untersuchten funktionellen Gruppen (4-Hydroxyphenylsubstituent und Carbonylesterfunktion am C4) in ihrer (freien) Drehbarkeit eingeschränkt sind. Die Substituenten sind lediglich in der Lage, in geringem Maße um die Ausgangskonformation zu oszillieren. Ein vollständiges Umklappen bzw. eine ungehinderte Drehung in eine andere Konformation scheint nicht möglich und konnte in den Moleküldynamiksimulationen nicht beobachtet werden. Die Konformation im Kristall wird zum einen durch sterische Einflüsse der Nachbargruppen und zum anderen durch die diskutierten Wasserstoffbrückenbindungen bestimmt (Kapitel 4.1 und 4.2).

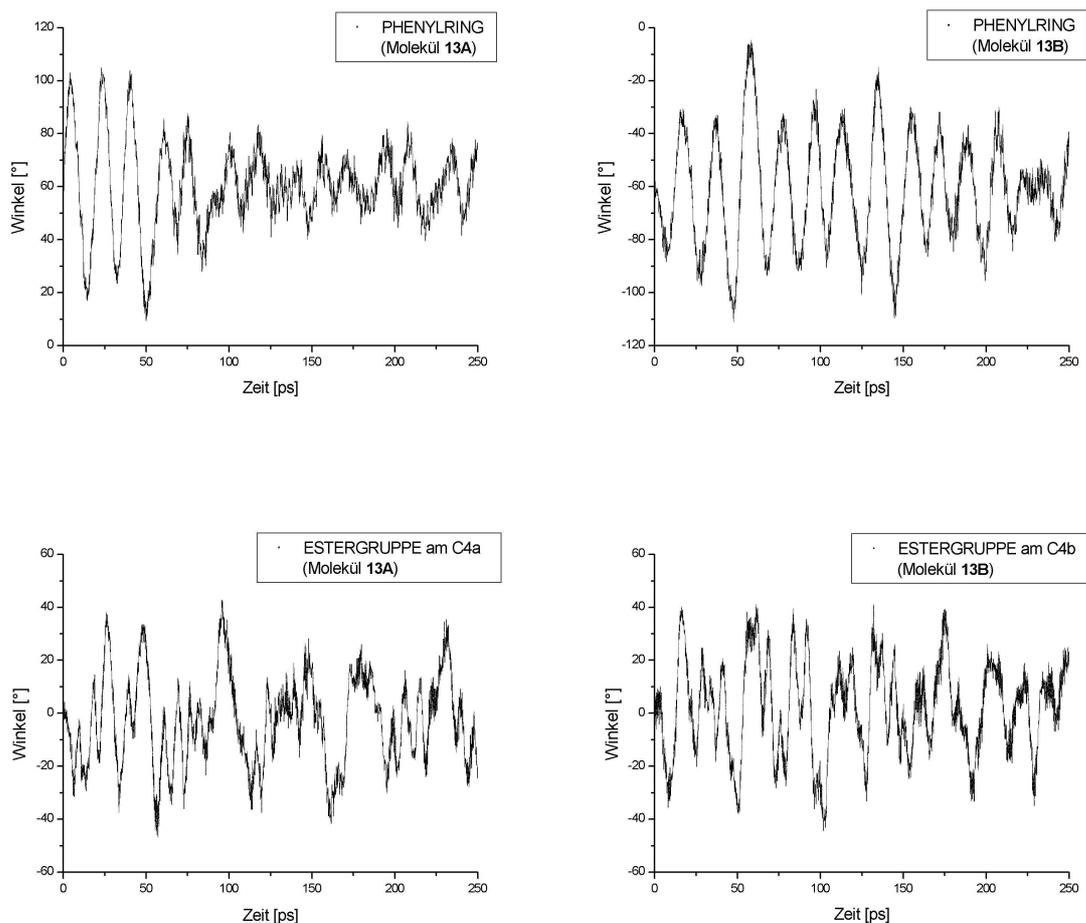


Abbildung 41: Moleküldynamiksimulationen der Torsionswinkel der 4-Hydroxyphenyl-substituenten und der Carbonyl-estergruppen am C4 der energetisch minimierten Moleküle **A** und **B** der Verbindung **13**

Ferner wurden Moleküldynamikuntersuchungen auch am gemeinsamen Molekülpaar **13A/13B** durchgeführt, mit ihrer kristallographischen Anordnung in der Elementarzelle einschließlich konstruierter Nachbarzellen in ihrer Umgebung. Für die Berechnungen wurde ein Würfel aus $3 \cdot 3 \cdot 3 = 27$ Elementarzellen konstruiert. Jede Elementarzelle enthielt ein Molekülpärchen **13A/13B**, ausgehend von den kristallographisch gewonnenen Daten der Röntgenstrukturanalyse. Während der computergestützten Simulation wurde das Molekülpärchen im Zentrum dieses Würfels beobachtet. Eine zuvor durchgeführte energetische Minimierung des Molekülpärchens im konstruierten Würfel führte zu keiner Verringerung der Abstände zwischen den Molekülen respektive den potentiell reagierenden Doppelbindungen. Die anschließende Moleküldynamiksimulation zeigte praktisch keine Bewegung der beiden Moleküle **13A** und **13B** in der Kristallpackung.

Die aus sterischen Gründen limitierten Konformationen und aufgrund der *Van-der-Waals*-Radien verbotenen Verschiebungen der Moleküle für eine ideale Anordnung im Hinblick auf eine erfolgreiche Dimerisierung wurden durch das Computermodell bestätigt.

Für die photostabilen 4-(Hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine **13** und **14** wurden Röntgenstrukturanalysen durchgeführt, um die Topochemie der genannten Moleküle im Kristallverband zu untersuchen. Die Photostabilität der beiden Verbindungen im Festkörper ist in unterschiedlichen Ursachen begründet. Im 3-Hydroxyphenylderivat sind Nachbarmoleküle zu weit voneinander entfernt in der Kristallpackung angeordnet. Die Abstände zwischen potentiell reagierenden Doppelbindungen benachbarter Moleküle liegen mit 6,9 Å deutlich über den in der Literatur publizierten Grenzwerten von 4,2 Å für Festkörperreaktionen (*Cohen & Schmidt, 1964; Cohen et al., 1964; Schmidt, 1964*). Das 4-Hydroxyphenylderivat erfüllt hingegen das Abstandskriterium mit 4,0 Å, allerdings können die für eine Dimerisierungsreaktion in der Festphase notwendigen Verschiebungen der Moleküle im Kristall nicht stattfinden. Die aromatischen Gruppen und Carbonyl ester-substituenten verhindern durch sterische Einflüsse diese Bewegungen, die für eine optimale Ausrichtung der potentiell reagierenden Doppelbindungen zueinander nötig wären (*Ramamurthy & Venkatesan, 1987*).

5 Biochemische Testung ausgewählter Verbindungen

5.1 Fluorimetrischer *in-vitro* Assay

In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Bestimmung der HIV-Protease-Aktivität publiziert worden (*Schneider & Kent*, 1988; *Darke et al.*, 1988; *Moore et al.*, 1989; *Nashed et al.*, 1989; *Tomaszek et al.*, 1989; *Hyland et al.*, 1989; *Richards et al.*, 1990; *Tamburini et al.*, 1990; *Toth & Marshall*, 1990). Sie lassen sich jedoch alle auf ein einheitliches Prinzip zurückführen: Die Inkubation des Enzyms mit einem synthetischen Substrat und der anschließenden Bestimmung einer Messgröße des Substrates bzw. der entstehenden Spaltprodukte. Je nach Methode ist eine kontinuierliche (fluorimetrische-, spektrophotometrische Methode) oder eine diskontinuierliche (HPLC-Analyse, Radioassay) Messung möglich. In dieser Arbeit wurde für die kinetischen Untersuchungen an der HIV-1 Protease ein fluorimetrischer *in-vitro* Assay nach *Toth & Marshall* (1990) eingesetzt (Abbildung 42). Dieses kontinuierliche Testsystem erlaubt die schnelle und präzise Messung mehrerer Proben hintereinander.

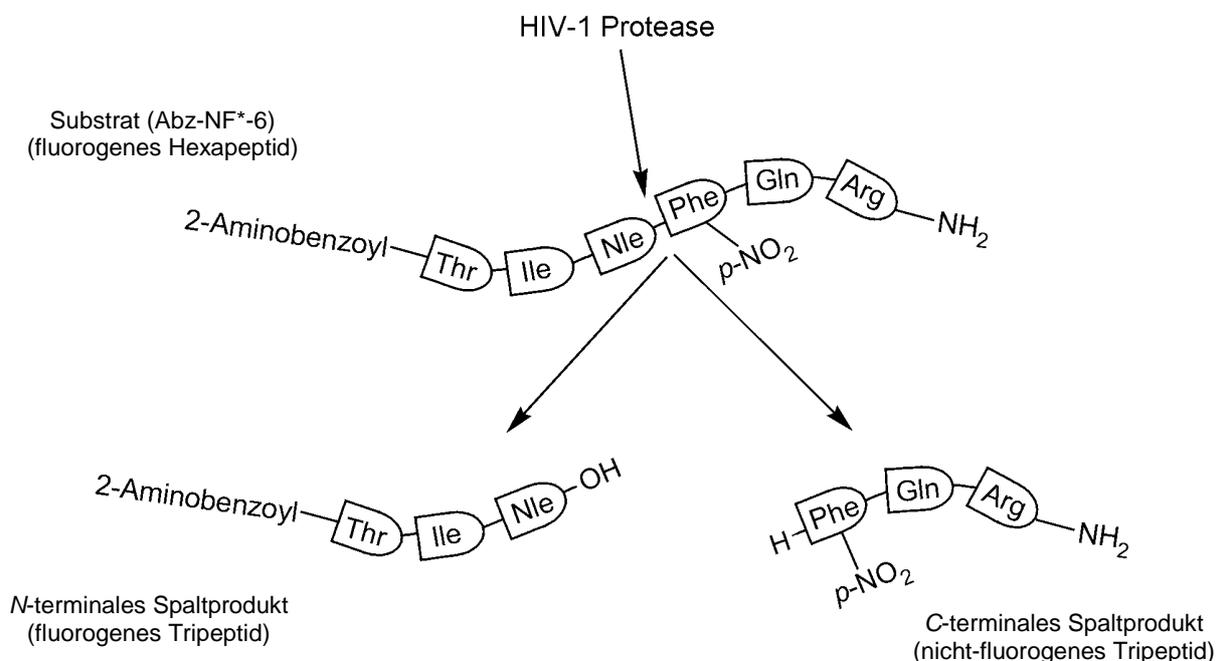


Abbildung 42: Grundprinzip des fluorimetrischen Assays nach *Toth & Marshall* (1990): das fluorogene Hexapeptid Abz-NF*-6 wird durch die HIV-1 Protease gespalten in das fluorogene N-terminale und das nicht-fluorogene C-terminale Tripeptid

Fluorogene Substrate, d.h. Substrate die ein kovalent gebundenes fluoreszierendes Chromophor enthalten, sind aufgrund ihrer Selektivität und ihrer hohen Sensitivität in der Biochemie weit verbreitet (Rücker *et al.*, 1992). Neben dem genannten Assay sind in der Literatur noch weitere auf der Fluorimetrie basierende Testsysteme für die HIV-1 Protease-Aktivität beschrieben (Weidner *et al.*, 1990; Matayoshi *et al.*, 1990; Geoghegan *et al.*, 1990). Sie unterscheiden sich vor allem hinsichtlich der eingesetzten fluorogenen Substrate.

Als Substrat für die HIV-1 Protease findet in diesem Fluoreszenz-Assay das fluorogene Hexapeptid 2-Aminobenzoyl-Thr-Ile-Nle-*p*-nitro-Phe-Gln-Arg-NH₂ (Abz-NF^{*}-6) Anwendung (Abbildung 42). Es enthält in der P1'-Position einen Akzeptor, ein *para*-Nitrophenylalanin (*p*-nitro-Phe) und am *N*-terminalen Ende des Peptides einen Fluoreszenz-Donator in Form der 2-Aminobenzoylgruppe (Abz). Das Substrat wird durch enzymatische Hydrolyse von der HIV-1 Protease zwischen Norleucin (Nle) und *para*-Nitrophenylalanin (*p*-nitro-Phe) in zwei Tripeptide gespalten (siehe Pfeile in Abbildung 42). Das *N*-terminale Spaltprodukt 2-Aminobenzoyl-Thr-Ile-Nle-OH (Abz-TIN-OH) besitzt wie das Substrat Abz-NF^{*}-6 fluoreszierende Eigenschaften. Beide Peptide zeigen Absorptionsmaxima bei 337 nm und breite Fluoreszenzmaxima zwischen 390 und 440 nm (Toth & Marshall, 1990). Allerdings ist bei gleichen Wellenlängen das Absorptionsmaximum des *N*-terminalen Produktes zehnmal größer und das Emissionsmaximum um das Sechsfache erhöht im Vergleich zum Substrat (Abbildung 43).

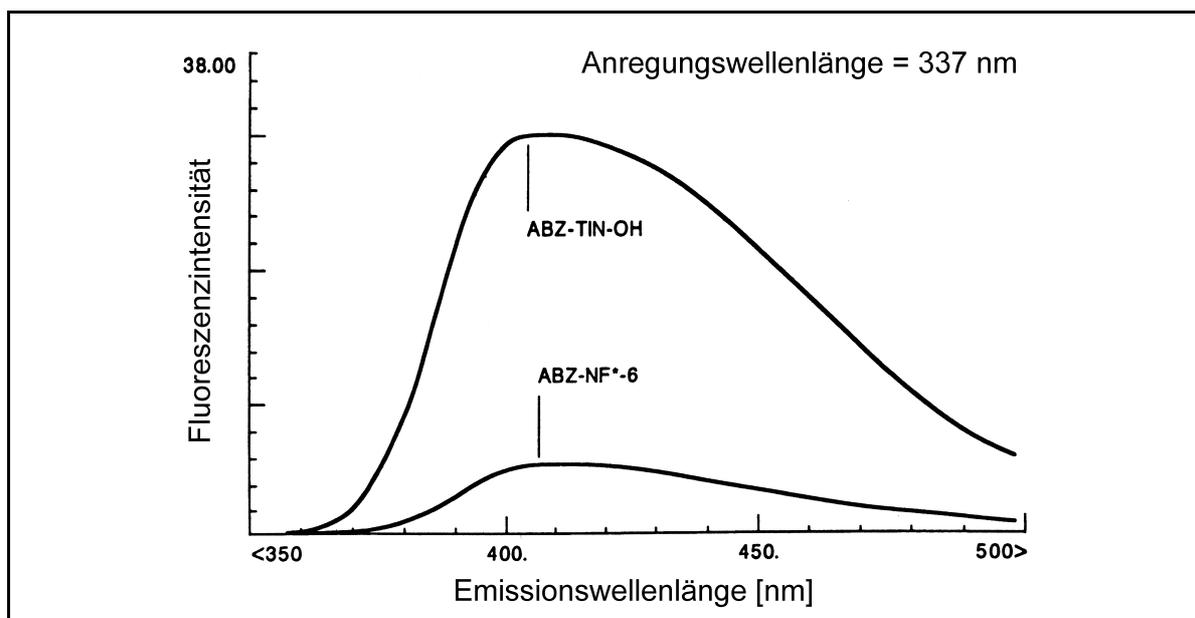


Abbildung 43: Fluoreszenzspektren des Substrates Abz-NF^{*}-6 ($c = 0,1 \text{ mM}$) und des *N*-terminalen Spaltproduktes Abz-TIN-OH ($c = 0,1 \text{ mM}$) gemessen im Assay-Puffer bei einer Anregungswellenlänge von 337 nm (modifiziert nach Toth & Marshall, 1990)

Die enzymatische Spaltung des Substrates führt zu einem Anstieg der Fluoreszenzintensität, der am Fluorimeter kontinuierlich verfolgt werden kann. Bei 410 nm ist die Differenz der beiden Intensitäten maximal und daher die Messgenauigkeit am größten. Bestimmt wird die Zunahme der Fluoreszenzemission in Abhängigkeit von der Zeit als ein Maß für die Geschwindigkeit der enzymatischen Hydrolyse bzw. der HIV-1 Protease-Aktivität. Die Reaktion wurde in einer Quarzglasküvette mit Magnetrührer unter imitierten physiologischen Bedingungen ($t = 37\text{ °C}$, $\text{pH} = 6,25$) durchgeführt und an einem Fluorimeter (Anregungswellenlänge $\lambda_{\text{An}} = 337\text{ nm}$, Emissionswellenlänge $\lambda_{\text{Em}} = 410\text{ nm}$) gemessen (Experimenteller Teil, Kapitel 7.1.9).

5.2 Auswertung und Ergebnisse der HIV-1 Proteasehemmung

Für die in dieser Arbeit synthetisierten HIV-1 Proteasehemmer wurden die entsprechenden Inhibitorkonstanten K_i (Dissoziationskonstante des Enzym-Inhibitor-Komplexes) und die IC_{50} -Werte (Inhibitorkonzentration, die eine 50 %ige Hemmung der enzymatischen Reaktion verursacht) ermittelt. Zur Bestimmung dieser inhibitorischen Parameter wurde der fluorimetrische Assay nach *Toth & Marshall* (1990) angewendet. Hierbei wird der Anstieg der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der Zeit und in Gegenwart verschiedener Inhibitorkonzentrationen (I) gemessen. Die Zunahme der Fluoreszenzemission als Funktion der Zeit verhält sich direkt proportional zur Geschwindigkeit der enzymatischen Substrathydrolyse (V) und stellt somit ein Maß für die proteolytische Aktivität der HIV-1 Protease dar. Die Messungen wurden unter den Bedingungen der Substratsättigung des Enzyms durchgeführt, um eine konstante, maximale Reaktionsgeschwindigkeit für die Substratspaltung (V_{max}) zu gewährleisten. Im Fluoreszenzintensität-Zeit-Diagramm (Abbildung 44) steigt die Fluoreszenzemission über einen Zeitraum von ca. 90 Sekunden vom Zeitpunkt der Enzyminkubation an gerechnet linear an. Danach ist für die HIV-1 Protease eine Substratsättigung nicht mehr gegeben, folglich liegt auch keine konstante, maximale Substratspaltungsgeschwindigkeit vor. Die Zunahme der Fluoreszenzemission in Abhängigkeit von der Zeit geschieht unter diesen Bedingungen nicht-linear. Der Graph verläuft kurvenförmig und nähert sich asymptotisch einem Maximal-Emissionswert an, der der vollständigen Substratumsetzung entspricht. Zu Beginn der Messung lässt sich im Fluoreszenzintensität-Zeit-Diagramm ein horizontaler Verlauf des Graphen beobachten, der auf die Eigenfluoreszenz des Substrates (konstante Substratkonzentration, $[S] = \text{konst.}$) und das Fehlen des Enzymes zurückzuführen ist. Die anschließenden sprunghaften Zunahmen der Fluoreszenzintensität markieren den Zeitpunkt der Zugabe der HIV-1 Protease und sind auf einfallendes Streulicht aus der Umgebung zurückzuführen, das beim Zupipettieren des Enzymes in die Quarzglasküvette von der Photozelle der geöffneten Messapparatur erfasst wird.

Für jeden HIV-1 Proteasehemmer wurden Testreihen aus fünf Messungen durchgeführt. Die erste Messung erfolgte ohne Zugabe des Inhibitors zur Bestimmung der maximalen Umsetzungsgeschwindigkeit (V_{max}) der nicht-inhibierten Substrathydrolyse (Abbildung 44). In den anschließenden vier Messungen wurde die Enzymkinetik in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen des Inhibitors (I) bestimmt. Jede Messung wurde dreimal wiederholt und hieraus der Mittelwert bestimmt.

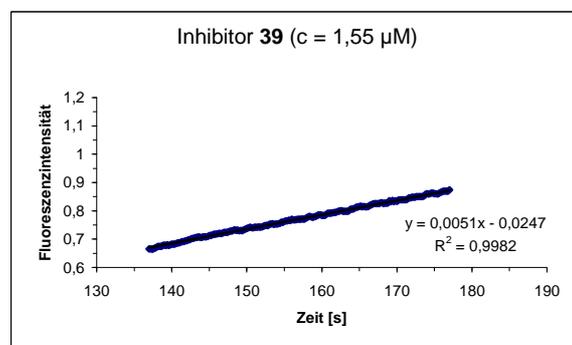
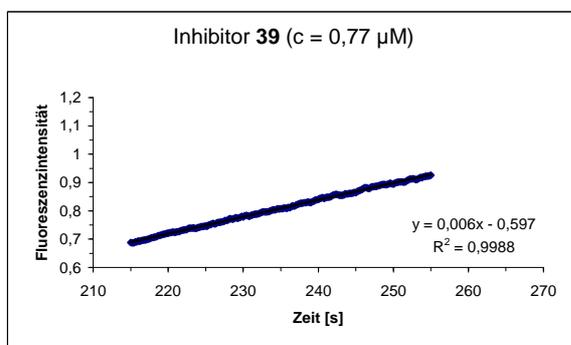
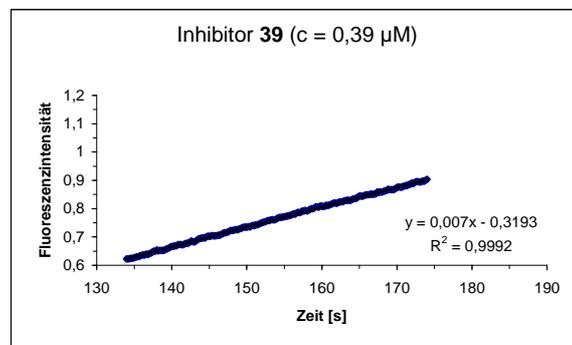
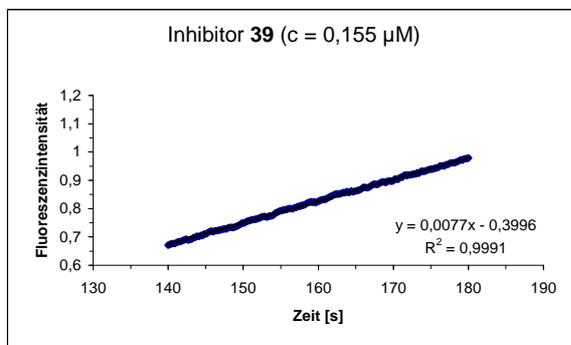
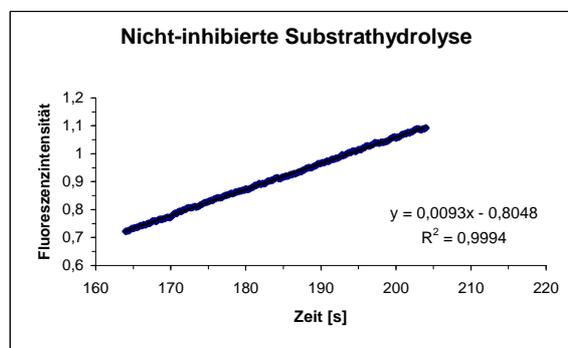
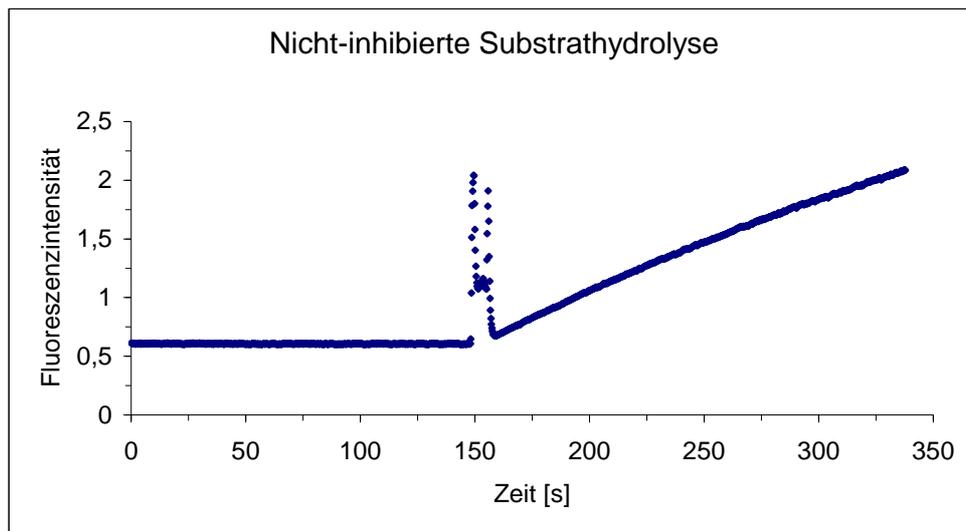


Abbildung 44: Fluoreszenzintensität-Zeit-Diagramme für die enzymatische Substrathydrolyse in Abwesenheit und Gegenwart des Inhibitors **39** (in vier unterschiedlichen Konzentrationen)

In Abbildung 44 sind die fünf Fluoreszenzintensität-Zeit-Diagramme für den potentesten, käfigdimeren HIV-1 Proteaseinhibitor **39** exemplarisch dargestellt. Gut zu erkennen sind die verschiedenen Anstiege der Graphen nach der Enzymzugabe, die das unterschiedliche Ausmaß der Enzymhemmung widerspiegeln.

Die IC_{50} -Werte der HIV-1 Proteasehemmer ergeben sich aus den Anfangsgeschwindigkeiten der enzymatischen Hydrolyse (V_i) bei unterschiedlichen Inhibitorkonzentrationen (I) unter Verwendung des folgenden Zusammenhanges (*Scholz et al.*, 1994):

Gleichung 1

$$V_i = \frac{V_{\max} \cdot IC_{50}}{[I] + IC_{50}}$$

Mittels eines Computerprogrammes (*Origin*[®] 6.0, Microcal Software, Inc., Northampton, Massachusetts, USA) wurde über ein Zeitintervall von 40 Sekunden im Bereich des linearen Anstieges der Fluoreszenzintensität eine Gerade durch lineare Regression an die vorhandenen Datenpunkte angepasst. Der ermittelte Anstiegparameter (m) der Regressionsgeraden ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Substratspaltung (V). Es besteht zwischen beiden Größen ein direkter linearer Zusammenhang. Der Anstieg (m) ist für die nicht-inhibierte Reaktion am größten und nimmt mit zunehmender Inhibitorkonzentration entsprechend ab (Abbildung 44). Daher lassen sich die Hydrolysegeschwindigkeiten (V) in der oben genannten Gleichung 1 durch die entsprechenden Anstiege (m) der Regressionsgeraden ersetzen. Es gilt somit folgende Gleichung 2:

Gleichung 2

$$m_i = \frac{m_{\max} \cdot IC_{50}}{[I] + IC_{50}}$$

Durch Auftragung des Kehrwertes des Anstieges gegen die Inhibitorkonzentration ($1/m_i$ versus $[I]$) in einem *Dixon*-Diagramm, lässt sich der IC_{50} -Wert des zugehörigen Inhibitors bestimmen (Abbildung 45). Die Umformung der zuvor genannten Gleichung 2 verdeutlicht die lineare Beziehung zwischen der Inhibitorkonzentration (I) und dem Kehrwert des Anstieges (m_i).

Gleichung 3

$$\frac{1}{m_i} = \frac{[I] + IC_{50}}{m_{\max} \cdot IC_{50}} = \frac{1}{m_{\max} \cdot IC_{50}} \cdot [I] + \frac{1}{m_{\max}}$$

Durch die Datenpunkte im *Dixon*-Diagramm wird mit Hilfe der linearen Regression erneut eine Gerade gelegt. Deren Anstieg (A) und ihr Schnittpunkt mit der Ordinate (B) entsprechen, wie aus der Gleichung 3 zu entnehmen ist, den mathematischen Termen:

$$A = \frac{1}{m_{\max} \cdot IC_{50}}$$

$$B = \frac{1}{m_{\max}}$$

Diese beiden Terme lassen sich über m_{\max} ineinander einsetzen und derart umstellen, dass die IC_{50} -Werte, die Inhibitorkonzentrationen bei der die Enzymaktivität um 50 % reduziert ist, aus den Parametern A und B der Regressionsgeraden ermittelt werden können.

Gleichung 4

$$IC_{50} = \frac{B}{A}$$

Dass es sich bei den käfigdimeren Verbindungen um kompetitive Hemmer der HIV-1 Protease handelt, wurde bereits von *Hilgeroth et al.* (1999[d]) untersucht und bestätigt. Die Bestimmung der Inhibitorkonstanten (K_i) für eine kompetitive Enzymhemmung ist nach einer von *Henderson* (1972) abgeleiteten Gleichung möglich.

Gleichung 5

$$\frac{[I]}{1 - \frac{V_i}{V_{\max}}} = \frac{K_i \cdot V_{\max}}{V_i} \cdot \left(1 + \frac{[S]}{K_m} \right) + [E_i]$$

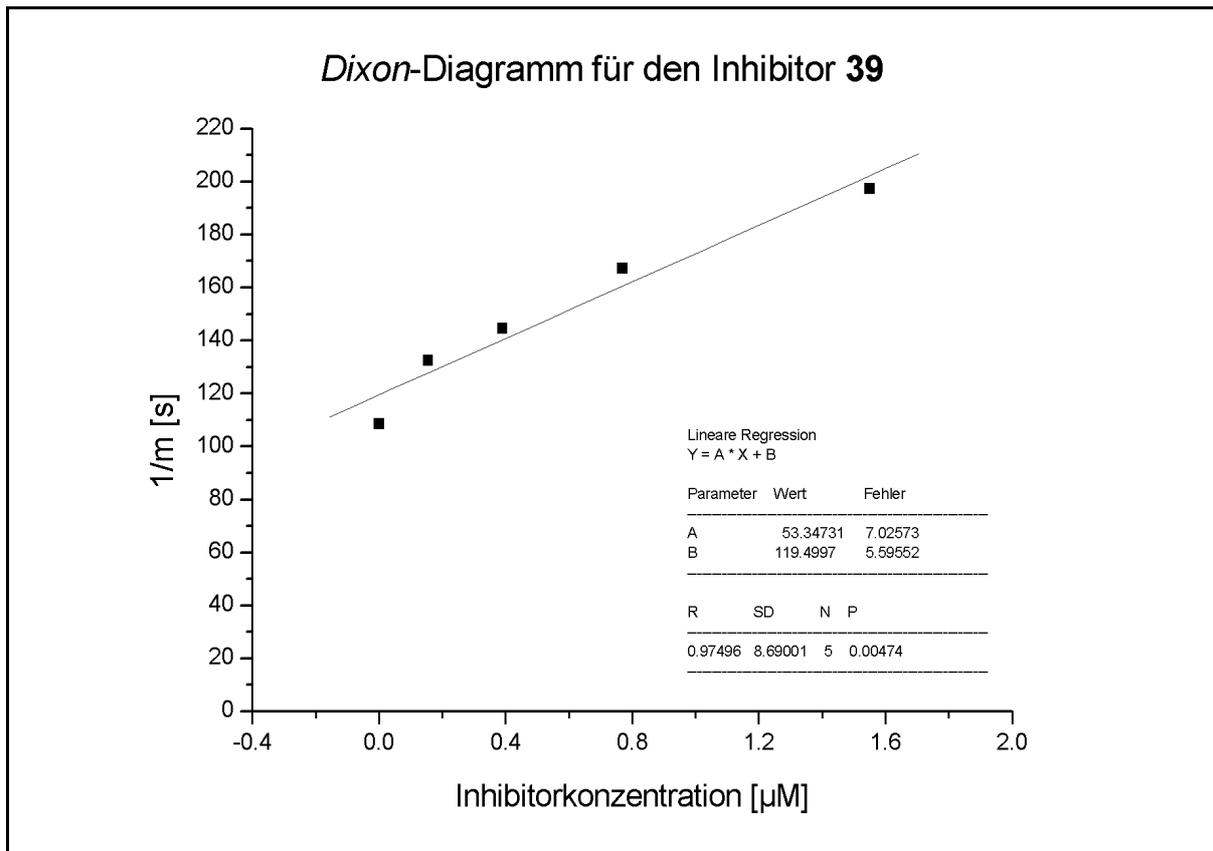


Abbildung 45: Dixon-Diagramm zur Bestimmung der IC_{50} - und K_i -Werte am Beispiel des Inhibitors 39

Für eine Konzentration des Inhibitors, die eine halbmaximale Hemmung der enzymatischen Reaktionsgeschwindigkeit bewirkt (IC_{50}), gilt:

Gleichung 6

$$V_i = \frac{1}{2} \cdot V_{\max}$$

und die *Henderson*-Gleichung (Gleichung 5) vereinfacht sich dann zu:

Gleichung 7

$$IC_{50} = \frac{[E_t]}{2} + K_i \left(1 + \frac{[S]}{K_m} \right)$$

Wenn die Enzymkonzentration (E_t) und die Substratkonzentration (S) im Assay sowie die *Michaelis-Menten*-Konstante (K_m) für das Enzym-Substrat-Paar bekannt sind, lassen sich die Inhibitorkonstanten (K_i) für die HIV-1 Proteasehemmer nach obiger Gleichung aus den entsprechenden IC_{50} -Werten bestimmen.

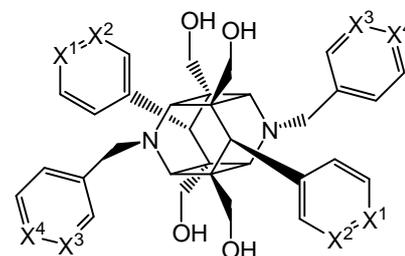
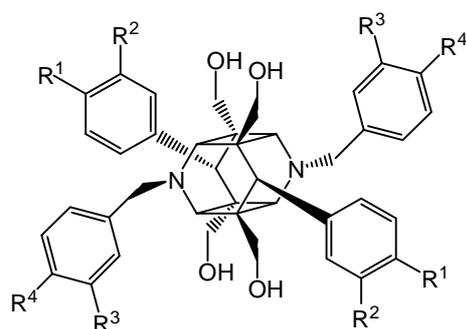
Gleichung 8

$$K_i = \frac{IC_{50} - \frac{[E_t]}{2}}{1 + \frac{[S]}{K_m}}$$

Im fluorimetrischen *in-vitro* Assay nach *Toth & Marshall* (1990) betrug die Totalkonzentration an HIV-1 Protease $E_t = 46,5$ nM, das fluorogene Substrat Abz-NF^{*}-6 wurde in einer Konzentration von $S = 100$ μ M eingesetzt und die *Michaelis-Menten*-Konstante für das Enzym-Substrat-Paar ließ sich aus der Literatur mit $K_m = 37 \pm 8$ μ M entnehmen (*Toth & Marshall*, 1990).

Die Tabelle 8 enthält für ausgewählte Verbindungen die ermittelten K_i -Werte. Die Ergebnisse werden im Kapitel 5.3 ausführlich diskutiert.

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	K _i [μM]
31	H	H	H	H	7,8 ± 2
32	OCH₃	H	H	H	23 ± 8
33	H	H	H	OCH₃	5,7 ± 1
34	OBn	H	H	H	19 ± 4
35	H	OBn	H	H	13 ± 1
36	H	H	OBn	H	14 ± 4
37	H	H	H	OBn	25 ± 5
38	OH	H	H	H	8,3 ± 2
39	H	OH	H	H	0,6 ± 0,1
40	H	H	OH	H	nicht bestimmt
41	H	H	H	OH	9,8 ± 0,8



	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	K _i [μM]
42	N	C	C	C	4,7 ± 1
43	C	N	C	C	1,8 ± 0,4
44	C	C	N	C	25 ± 9
45	C	C	C	N	47 ± 16

Tabelle 8: Die K_i-Werte der getesteten käfigdimeren HIV-1 Proteaseinhibitoren

5.3 Biologische Aktivität und Struktur-Wirkungsbeziehungen

Die Tabelle 8 (Kapitel 5.2) gibt einen Überblick über das Substitutionsmuster der getesteten Substanzen und sie zeigt deren biologische Aktivitäten in Form ihrer K_i -Werte.

Die Kristallstruktur und der räumliche Aufbau der HIV-1 Protease wurden bereits 1989 von *Navia et al.* (1989) aufgeklärt und veröffentlicht. Sie gehört zur Familie der Aspartyl-Proteasen und ist strukturell ein Homodimer. Mit zwei identischen Aminosäureketten, die nicht kovalent miteinander verknüpft und aus jeweils 99 Aminosäuren aufgebaut sind, stellt sie unter den retroviralen Proteasen die kleinste dar. Bedingt durch ihren dimeren Bau existiert eine C_2 -Symmetrie im aktiven Zentrum der Protease.

Basierend auf Röntgenstrukturuntersuchungen von kristallisierten Inhibitor-HIV-1 Protease-Komplexen konnten drei Bindungstaschen S1/S1', S2/S2' und S3/S3' im aktiven Zentrum lokalisiert werden. Insbesondere die Anstrengungen auf dem Gebiet der Entwicklung der cyclischen Harnstoffderivate (*DuPont Merck*, Wilmington, Delaware, USA) bzw. der azacyclischen Harnstoffe (*Abbott*, Abbott Park, Illinois, USA) als potentielle, nicht-peptidische HIV-1 Proteaseinhibitoren führten zur Aufklärung der Struktureigenschaften dieser Bindungsregionen (Abbildung 46). Aufgrund der lipophilen Natur der Enzymtaschen S1/S1' erwiesen sich einfache, aromatische Strukturen wie z. B. Benzylgruppen als sehr gut geeignet für eine hohe Bindungsaffinität (*Nugiel et al.*, 1996 & 1997). Die S2/S2'-Taschen der HIV-1 Protease zeichnen sich ebenfalls durch überwiegend lipophile Eigenschaften aus, wie Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen der cyclischen Harnstoffe von *Lam et al.* (1996) bewiesen. Molecular-Modelling-Studien zeigten ferner, dass die Bindungstaschen S2/S2' verhältnismäßig groß sind und sogar voluminöse Substituenten von der Art einer Naphthylgruppe darin Platz haben (*Lam et al.*, 1994). Weitere Molecular-Modelling-Analysen ließen darüber hinaus verschiedene Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen in den S2/S2' bzw. S3/S3' Bindungsregionen erkennen. Diese konnten überwiegend auf die Aminosäuren Asp29/Asp29', Asp30/Asp30' und Gly48/Gly48' zurückgeführt werden (*Ghosh et al.*, 1994; *Sham et al.*, 1996; *De Lucca & Lam*, 1998). Phenylgruppen mit Hydroxy- oder Hydroxymethylsubstituenten in der *para*- oder *meta*-Position schienen für eine hohe Bindungsaffinität besonders prädestiniert zu sein. Zum einen ist durch sie die wichtige hydrophobe Wechselwirkung mit den lipophilen S2/S2' Enzymtaschen gewährleistet, zum anderen können sie ihre hydrophilen Substituenten in die Nähe der Wasserstoffbrückendonator- bzw. -akzeptorgruppen dirigieren, die sich innerhalb der S2/S2' bzw. S3/S3' Bindungsregionen befinden (*Sham et al.*, 1996; *De Lucca & Lam*, 1998). In

Abbildung 46 sind die potentesten Vertreter vom Typ der cyclischen und azacyclischen Harnstoffe dargestellt. Ihre Entwicklung wurde allerdings in der Phase 1 der klinischen Prüfung bis auf weiteres eingestellt aufgrund einer zu geringen oralen Bioverfügbarkeit in *in-vivo*-Untersuchungen (De Lucca & Lam, 1998).

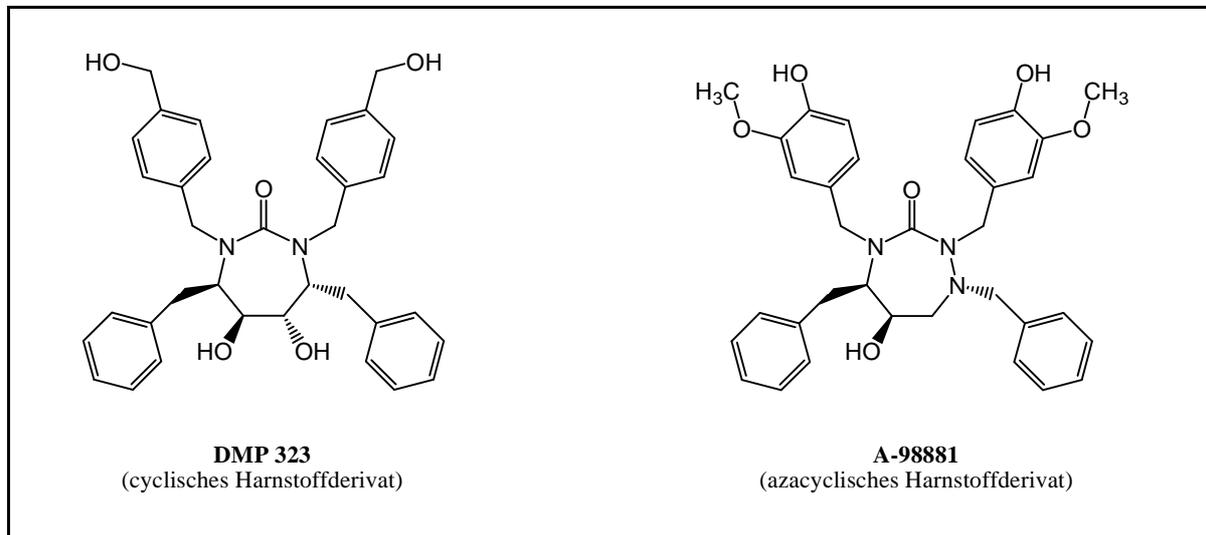


Abbildung 46: Die *in-vitro* wirksamsten Vertreter aus der Reihe der cyclischen und azacyclischen Harnstoffderivate; ihre Entwicklung wurde aufgrund unzureichender Bioverfügbarkeiten bis auf weiteres in der Phase 1 der klinischen Prüfung eingestellt

Hilgeroth (2000) verglich in Molecular-Modelling-Untersuchungen die Zielverbindung **32** als Vertreter der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine mit dem *in-vitro* wirksamsten azacyclischen Harnstoffderivat **A-98881** (Abbildung 47) hinsichtlich Moleküleigenschaften und der Lage gemeinsamer funktioneller Gruppen. Das Harnstoffderivat wurde dabei in der am Enzym gebundenen Konformation betrachtet (Hodge *et al.*, 1996; Sham *et al.*, 1996). Im Ergebnis dieser Analysen fanden sich gute Übereinstimmungen zwischen beiden Molekülen mit ähnlichen Bindungseigenschaften an das aktive Zentrum der HIV-1 Protease (Hilgeroth *et al.*, 1999[c]). Folglich sind für die käfigdimeren Verbindungen gute Wechselwirkungsmöglichkeiten zum Targetenzym gegeben und prädestinieren diese Substanzklasse als neuartige HIV-1 Proteaseinhibitoren. In Abbildung 47 sind die vorgeschlagenen Bindungsverhältnisse an die Regionen S1/S1' und S2/S2' des aktiven Zentrums der HIV-1 Protease für die Verbindungen **32** und **A-98881** dargestellt.

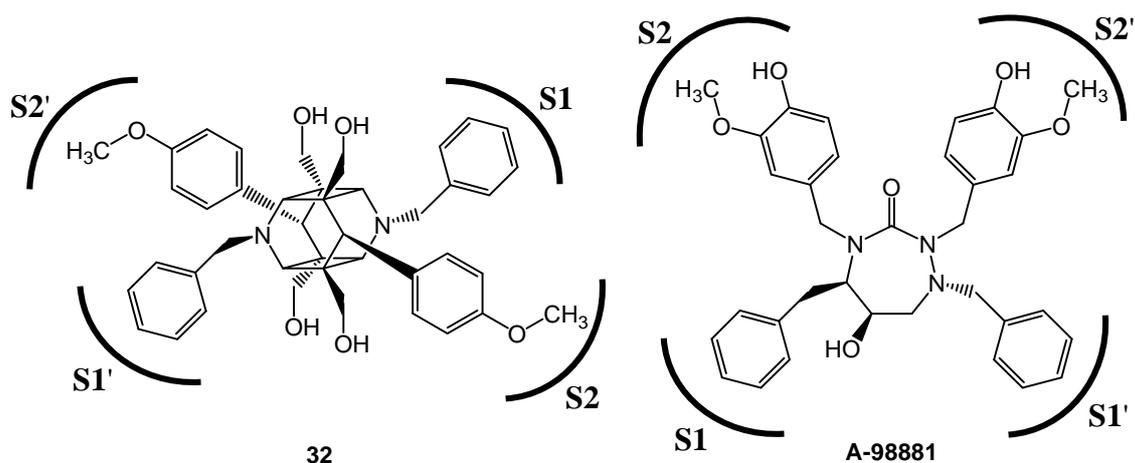


Abbildung 47: Vorgeschlagene Bindungsverhältnisse an die Regionen S1/S1' und S2/S2' des aktiven Zentrums der HIV-1 Protease für die Verbindungen A-98881 und 32 (basierend auf Molecular-Modelling-Untersuchungen)

Die Auswertung der K_i -Werte (Tabelle 8, Kapitel 5.2) der unterschiedlich substituierten käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine bietet einen Beleg für den nicht unerheblichen Einfluss der Stellung der Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen im Aromaten (*meta* oder *para*) auf die inhibitorische Aktivität der Verbindungen. Bei gleichem Substituenten weist die *meta*-Position stets eine stärkere Hemmung der HIV-1 Protease auf im Vergleich zur *para*-Position. Dies konnte durchweg für alle Substituenten beobachtet werden. In der Literatur sind solche Effekte für potentielle HIV-1 Proteaseinhibitoren bereits publiziert worden. Lam *et al.* (1996) und Huang *et al.* (2004) beschrieben solch eine Sensitivität der *meta*-Position für Substituenten in aromatischen Strukturen gegenüber der *para*-Position für die cyclischen Harnstoffe.

Ferner zeigen die Daten, dass für die Einführung einer funktionellen Gruppe in die aromatischen Reste der Käfigdimere die Wahl der Phenylreste anstelle der *N*-Benzylreste ebenfalls fast immer mit einer gesteigerten Inhibitionswirkung verbunden ist. Lediglich die Methoxygruppe weist an den *N*-Benzylresten günstigere Hemmparameter auf als an den Phenylresten.

Die Einführung von Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen in die *N*-Benzylgruppen der Käfigdimere führt zu keiner deutlichen Steigerung der Wirksamkeit im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung 31, wie die K_i -Werte in Tabelle 8 (Kapitel 5.2) belegen. Für die *N*-Picoly- und *N*-Benzyloxybenzylsubstituenten wurde sogar eine Verringerung der Hemmparameter um den Faktor zwei bis sechs ermittelt. Lediglich die *para*-Methoxybenzylfunktion zeigt eine leichte Verbesserung in der Hemmwirkung (33,

$K_i = 5,7 \pm 1 \mu\text{M}$), während die *para*-Hydroxybenzylfunktion eine marginale Verschlechterung aufweist (**41**, $K_i = 9,8 \pm 0,8 \mu\text{M}$). Die Verbindung **40** war synthetisch zwar grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht sauber und rein einzeln isoliert werden und stand folglich für die Bestimmung von zuverlässigen K_i -Messdaten nicht zur Verfügung. Für eine ausreichende Affinität der Inhibitorstrukturen zu den Bindungstaschen S1/S1' der HIV-1 Protease zeichnen somit hauptsächlich hydrophobe Wechselwirkungen verantwortlich.

Die Einführung von Hydroxysubstituenten in die Phenylreste zeigt deutliche Unterschiede bezüglich der Position im Aromaten. Die *para*-Position bringt keine Veränderung der Hemmeffekte (**38**, $K_i = 8,3 \pm 2 \mu\text{M}$), sie liegen in der Größenordnung der unsubstituierten Verbindung **31**. Die *meta*-Position hingegen brachte überraschenderweise die potenteste Verbindung unter allen getesteten hervor. Mit einem $K_i = 0,6 \pm 0,1 \mu\text{M}$ ist **39** um eine ganze Zehnerpotenz (10^{-1}) wirksamer im direkten Vergleich mit **31** und befindet sich damit im Bereich der nanomolaren Hemmkonzentration. Der formale Austausch der Phenylgruppen durch Pyridylgruppen führt ebenfalls zu einer deutlichen Steigerung der Wirksamkeit, je nach *N*-Stellung im Aromaten um den Faktor zwei (**42**, $K_i = 4,7 \pm 1 \mu\text{M}$) bis fünf (**43**, $K_i = 1,8 \pm 0,4 \mu\text{M}$). Für die Methoxy- und Benzyloxysubstituenten ist jedoch eine Verringerung der HIV-1 Proteasehemmung gegeben. Trotz der in der Literatur als „große, voluminöse Enzymtaschen“ publizierten Bindungsregionen S2/S2' (Lam *et al.*, 1994), scheinen die Alkyloxy- und Aryloxystrukturen nicht zu einer Zunahme der Affinitäten zwischen Inhibitor und aktivem Zentrum des Enzyms beitragen zu können. Wie die Auswertungen des Assays beweisen, spielen in den S2/S2' bzw. S3/S3' Bindungstaschen, wie bereits bei den cyclischen Harnstoffen beschrieben (Sham *et al.*, 1996; De Lucca & Lam, 1998), neben hydrophoben Interaktionen auch die Möglichkeiten zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Strukturelementen der Proteasehemmer und den Aminosäuren im aktiven Zentrum der HIV-1 Protease eine entscheidende Rolle.

Die Ergebnisse unterstützen die in der Literatur veröffentlichten Annahmen über die chemische Art und stereochemische Anordnung geeigneter Substituenten und favorisierter funktioneller Gruppen für eine optimale Wechselwirkung im aktiven Zentrum der HIV-1 Protease mit dem Ziel einer ausgeprägten Inhibierung.

Die Analyse des Bindungsparameters (K_i) der käfigdimeren HIV-1 Proteaseinhibitoren erlaubt allerdings eine weitere interessante Schlussfolgerung. Wie bereits oben erwähnt, erweist sich die *meta*-Position des Stickstoff im 3-Pyridylsubstituenten als vorteilhafter gegenüber der *para*-Position im 4-Pyridylsubstituenten. Gleiches gilt für die Hydroxyphenyl- und Benzyloxyphenylfunktion: die *para*-Stellung im Phenylrest ist deutlich benachteiligt im

Vergleich zur *meta*-Stellung, wie die Bindungsparameter belegen. Eine Begünstigung der *meta*-Position im Gegensatz zur *para*-Position wurde in der Literatur auch für die cyclischen Harnstoffe publiziert (Lam *et al.*, 1996; Huang *et al.*, 2004). Dieser Unterschied hinsichtlich der Position im Aromaten spricht für eine Bindung der substituierten Phenyl- bzw. Pyridylgruppen an die S2/S2' Bindungsregionen und für die unsubstituierten *N*-Benzylgruppen an die S1/S1' Bindungsregionen der HIV-1 Protease, in Analogie zu den cyclischen Harnstoffen (Nugiel *et al.*, 1996; De Lucca & Lam, 1998). Dies wird ferner dadurch belegt, dass die käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine in den aromatischen Strukturen ein mit den cyclischen Harnstoffen vergleichbares Substitutionsmuster aufweisen. Des Weiteren konnten Hilgeroth *et al.* (1999[c]) in Molecular-Modelling-Studien für ein käfigdimeres Derivat (**32**) ähnliche Bindungseigenschaften wie für die cyclischen bzw. azacyclischen Harnstoffe im aktiven Zentrum des Enzyms nachweisen (Abbildung 47). Für die cyclischen und azacyclischen Harnstoffe wurde in ausführlichen Bindungsstudien der Bindungsmodus im aktiven Zentrum der HIV-1 Protease aufgeklärt (Lam *et al.*, 1996; Hodge *et al.*, 1996; Sham *et al.*, 1996). Danach binden die *N*-Benzylgruppen mit *meta*- bzw. *para*-substituierten Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen an die S2/S2' Bindungsregionen und die unsubstituierten *N*-Benzylgruppen an die S1/S1' Bindungstaschen. Für die zweite Hälfte der dargestellten käfigdimeren Zielverbindungen, bei denen die Substituenten in die *N*-Benzylgruppen eingeführt wurden bzw. die *N*-Benzylgruppen formal durch *N*-Picolygruppen ersetzt wurden und die Phenylgruppen unverändert blieben, konnte überraschenderweise ein vergleichbarer Unterschied für die *meta*- und die *para*-Position festgestellt werden. Diese Beobachtung deutet ebenfalls auf eine Wechselwirkung der substituierten *N*-Benzyl- bzw. *N*-Picolygruppen mit den S2/S2' Bindungstaschen des Enzyms hin. Folglich binden die unsubstituierten Phenylgruppen dieser Käfigdimere an die S1/S1' Bindungsregionen.

In den azacyclischen Harnstoffen sind die Methoxygruppen an der Ausbildung von Wasserstoffbrücken mit den Aminosäure Asp29/Asp29', Asp30/Asp30' und Gly48/Gly48' der Enzymbindungstaschen S2/S2' beteiligt und begünstigen somit eine festere Bindung des Inhibitors an das aktive Zentrum der HIV-1 Protease, was mit einer gesteigerten Inhibitorwirkung einhergeht (Sham *et al.*, 1996). Die Einführung der Methoxyfunktionen in die Phenylgruppen der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine (**32**) führte jedoch zu einer Verringerung der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zum unsubstituierten Derivat (**31**). Hingegen brachte die Einführung der Methoxyfunktion in die *para*-Stellung des *N*-Benzylsubstituenten eine leicht verbesserte Inhibitorwirkung hervor. Daher wird für die

para-Methoxybenzylfunktion eine Bindung an die S2/S2' Enzymtaschen vorgeschlagen, wie es auch für die cyclischen Harnstoffe beschrieben wurde (*Lam et al.*, 1996).

Das bedeutet, die aromatischen Gruppen (mit den Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen) in den käfigdimeren HIV-1 Proteaseinhibitoren können je nach Art des Substituenten und Substitutionsmusters entweder an die S1/S1' oder an die S2/S2' Bindungsregionen der HIV-1 Protease binden. Es existiert demnach kein starrer Bindungsmodus sowohl für die *N*-Benzyl- bzw. *N*-Picolylgruppen als auch für die Phenyl- bzw. Pyridylgruppen, ganz gleich ob substituiert oder unsubstituiert. Vielmehr ist der Bindungsmodus, das heißt welche aromatische Molekülstruktur des Inhibitors mit welcher Bindungsregion des Enzyms in Wechselwirkung tritt, für die käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine von Derivat zu Derivat unterschiedlich.

Für zukünftige Synthesearbeiten scheint die Kombination des wirksamsten Vertreters aus der *N*-Benzylgruppe (**33**) mit den potentesten Substituenten aus der Reihe der Phenylreste (**39**, **43**, **42**) sinnvoll, verbunden mit dem Ziel einer (möglicherweise synergistisch) gesteigerten Wirksamkeit. Die spannende Aufgabe der Darstellung und Testung dieser Verbindungen bleibt nachfolgenden Forschungsarbeiten vorbehalten.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Die HIV-1 Protease zerlegt nach katalytischer Eigenabspaltung aus einem *gag-pol*-Polyproteinkomplex die viralen „Vorläuferproteine“ (Precursormoleküle, *gag*- und *gag-pol*-Polyproteine) in verschiedene, funktionsfähige Virus-Proteine (Enzyme und Hüllproteine). Diese viralen Proteine werden in einem weiteren Schritt, der sogenannten Reifung, zu intakten Viren zusammengefügt. Werden aber die Proteinspaltungen durch Hemmung der viralen Protease unterbunden, können keine intakten, also „reife“ Viren entstehen. Aus diesem Grund stellt die HIV-1 Protease ein attraktives Target für eine antiretrovirale HIV-Therapie dar. Die HIV-1 Proteaseinhibitoren hemmen diesen für die Bildung neuer, intakter Viruspartikel wichtigen Schritt.

Die derzeit auf dem Markt befindlichen HIV-1 Proteasehemmer sind bis auf eine Ausnahme peptidischer Natur. Damit sind jedoch eine Reihe von Problemen verbunden. Sie werden schlecht resorbiert und ihre oralen Bioverfügbarkeiten sind unbefriedigend. Ferner werden die Substanzen intensiv vom Cytochrom-P₄₅₀-Enzymsystem in Leber und Darm metabolisiert und schließlich unterliegen sie als Substrate des P-Glykoproteins der zellulären Multidrug-Resistance. Die unzureichenden Resorptionen und ein ausgeprägter First-Pass-Effekt bedingen die hohen Dosierungen der peptidischen Proteaseinhibitoren, die mit einem breiten Nebenwirkungsspektrum einhergehen. Ein weiterer heutzutage nicht unerheblicher Nachteil liegt in den hohen Kosten für die Darstellung der Verbindungen, die durch eine aufwendige Synthese verbunden mit dem Auftreten mehrerer chiraler Zentren begründet sind. Eine Alternative zu den gegenwärtigen peptidischen Hemmern ist daher in der Entwicklung von nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren zu suchen.

In der vorliegenden Arbeit sollten zunächst neuartige käfigdimere 1,4-Dihydropyridine als dritte Klasse der nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren synthetisiert werden. Vorrangiges Ziel war die Entwicklung der zweiten Generation durch Einführung von funktionellen Gruppen in die aromatischen Teilstrukturen der 1,4-Dihydropyridin-Dimeren und damit verbunden eine Erhöhung der Bindungsaffinitäten zu den Aminosäuren im aktiven Zentrum der HIV-1 Protease. Es wurden solche Substituenten eingeführt, die zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen geeignet sind, in erster Linie Hydroxygruppen daneben aber auch Etherstrukturen wie Methoxy- und Benzyloxygruppen. Weiterhin wurde die Darstellung von Heteroaromaten substituierten käfigdimeren 1,4-Dihydropyridinen verfolgt. Aus diesem Grund wurden formal *N*-Benzylreste durch *N*-Picolylreste (*N*-Methylpyridylreste)

ersetzt, die als Wasserstoffbrückenakzeptoren fungieren sollen. Zur Spezifizierung, welche der hydrophoben aromatischen Substituenten der 1,4-Dihydropyridin-Dimeren, die *N*-Benzylgruppen oder die Phenylgruppen, an welche der hydrophoben Bindungsregionen, die S1/S1' oder die S2/S2' Bindungstaschen, der HIV-1 Protease bindet, wurden die Wasserstoffbrückenbindungen ausbildenden Substituenten in beide aromatischen Substrukturen eingeführt. Es ergaben sich damit zwei Reihen unterschiedlich substituierter Zielverbindungen: die *N*-Benzyl-Reihe und die Phenyl-Reihe. Hieraus sollten sich Struktur-Wirkungsbeziehungen der neuartigen käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine als HIV-1 Proteaseinhibitoren ableiten lassen können.

Die Darstellung dieser Verbindungen basierte auf einem 3-Stufen-Synthesekonzept. Über eine Cyclokondensation aus einem Aldehyd, einem Propiolsäureester und einem Amin oder Ammoniumacetat erfolgte in einem ersten Reaktionsschritt die Synthese der 1,4-Dihydropyridine. Diese wurden anschließend in einer zweiten Reaktionsstufe photochemisch umgesetzt. Als Strahlungsquelle dienten *Ultra-Vitalux*[®]-Lampen ($\lambda \geq 270$ nm), die ein dem Sonnenlicht vergleichbares Spektrum aufweisen. Die Bestrahlung wurde entweder in der Festphase oder in Lösung durchgeführt. Hierbei kam es zu einer topochemischen Photodimerisierung der 1,4-Dihydropyridine. Als Hauptprodukte entstanden photostabile käfigdimere Strukturen. In einem dritten Reaktionsschritt fand schließlich mittels komplexer Hydride eine Reduktion der Esterfunktionen zu den entsprechenden Hydroxymethylgruppen-haltigen Zielverbindungen statt. Die so erhaltenen käfigdimeren Addukte der 1,4-Dihydropyridine weisen ebenso wie das Targetenzym, die HIV-1 Protease, eine C_2 -Symmetrie auf. Sie bieten damit eine ideale Voraussetzung zur Bindung an das C_2 -symmetrische aktive Zentrum der HIV-1 Protease.

Ausgewählte Verbindungen wurden unter den Bedingungen der Festkörperphase bestrahlt. Bei den beiden monomeren 4-(Hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridinen blieb jedoch überraschenderweise eine Dimerisierung in der Festphase aus. Sie erwiesen sich bei der Bestrahlung im Festkörper als photostabil. Daraufhin wurden Untersuchungen mittels Röntgenstrukturanalyse zum Versagen der Festkörper-Dimerisierung durchgeführt. Somit konnte die Topochemie der genannten Moleküle im Kristallverband bestimmt werden. Für die Photostabilität der beiden Verbindungen wurden unterschiedliche Ursachen gefunden. Beim 3-Hydroxyphenylderivat sind die Nachbarmoleküle in der Kristallpackung zu weit voneinander entfernt angeordnet. Die Abstände potentiell reagierender Doppelbindungen benachbarter Moleküle liegen mit 6,9 Å deutlich über den in der Literatur publizierten Grenzwerten von 4,2 Å für Festkörperreaktionen. Das 4-Hydroxyphenylderivat erfüllt

hingegen das Abstandskriterium mit 4,0 Å, allerdings können die für eine Dimerisierungsreaktion in der Festphase notwendigen Verschiebungen der Moleküle im Kristall nicht stattfinden. Sterische Einflüsse der aromatischen Gruppen und Carbonyl ester-substituenten sowie die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen verhindern diese Bewegungen, die für eine optimale Ausrichtung der potentiell reagierenden Doppelbindungen zueinander nötig wären. Zusätzlich wurden für die beiden Moleküle jeweils Moleküldynamiksimulationen durchgeführt, die die eingeschränkte Drehbarkeit der Hydroxyphenylsubstituenten und der Carbonyl esterfunktionen am Computermodell bestätigten.

Alle synthetisierten Zielverbindungen wurden auf ihre HIV-1 Proteasehemmung hin untersucht. Die Testung der Substanzen erfolgte auf der Grundlage eines fluorimetrischen *in-vitro* Assays. Die Auswertung der Inhibitor konstanten (K_i) der Proteasehemmung der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine zeigte für die Stellung der Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen im Aromaten (*meta* oder *para*) einen bedeutenden Einfluss auf die inhibitorische Aktivität der Verbindungen. Bei gleichem Substituenten weisen die Verbindungen mit *meta*-Position stets eine stärkere Hemmung der HIV-1 Protease auf im Vergleich zu denen mit *para*-Position. Dies konnte durchweg für alle Substituenten beobachtet werden. In der Literatur sind solche Effekte für die cyclischen Harnstoffe bereits publiziert worden. Ferner belegen die Daten, dass für die Einführung einer funktionellen Gruppe in die aromatischen Reste der Käfigdimere die Wahl der Phenylreste anstelle der *N*-Benzylreste ebenfalls fast immer mit einer gesteigerten Inhibitionswirkung verbunden ist. Lediglich die Methoxygruppe weist an den *N*-Benzylresten günstigere Hemmparameter auf als an den Phenylresten.

Aus der Reihe der an den *N*-Benzylresten substituierten Käfigdimere erweist sich das 4-Methoxybenzyl derivat als wirksamster Vertreter. In der Gruppe der Phenyl substituierten Käfigdimere zeigt das 3-Hydroxyphenyl derivat die größte inhibitorische Aktivität. Es ist zugleich die potenteste Verbindung unter allen getesteten. Mit einem $K_i = 0,6 \pm 0,1 \mu\text{M}$ ist diese Verbindung (**39**) um eine ganze Zehnerpotenz (10^{-1}) wirksamer im direkten Vergleich mit der unsubstituierten Verbindung **31**. Durch Strukturvariationen ist es gelungen, die inhibitorische Aktivität der Käfigdimere zu steigern. Erste Vertreter weisen bereits Hemmkonzentrationen im nanomolaren Bereich auf.

Wie die Auswertungen des Assays beweisen, spielen in den Bindungstaschen des Enzyms neben hydrophoben Interaktionen auch die Möglichkeiten zur Ausbildung von

Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Strukturelementen der Proteasehemmer und den Aminosäuren im aktiven Zentrum der HIV-1 Protease eine entscheidende Rolle.

Die Analyse der Bindungsparameter (K_i) aus dem Enzym-Assay lässt eine weitere interessante Schlussfolgerung zu. Die aromatischen Gruppen mit den Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen in den Käfigdimeren können je nach Art des Substituenten und Substitutionsmuster entweder an die S1/S1' oder an die S2/S2' Bindungsregionen der HIV-1 Protease binden. Es existiert kein starrer Bindungsmodus sowohl für die *N*-Benzyl- bzw. *N*-Picolygruppen als auch für die Phenyl- bzw. Pyridylgruppen, unabhängig davon ob diese substituiert oder unsubstituiert sind. Vielmehr ist der Bindungsmodus, das heißt welche aromatische Molekülstruktur des Inhibitors mit welcher Bindungsregion des Enzyms in Wechselwirkung tritt, für die käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine von Derivat zu Derivat unterschiedlich.

Um zukünftig stärker wirksame Verbindungen zu erhalten, scheint die Kombination des potentesten Substituenten der *N*-Benzylgruppe mit den wirksamsten Vertretern aus der Reihe der Phenylreste aussichtsreich. Diese Vereinigung in einem Molekül führt möglicherweise zu einer synergistisch gesteigerten Wirksamkeit, die eine inhibitorische Aktivität der Substanzen im nanomolaren Konzentrationsbereich erwarten lässt. Darüber hinaus lassen sich weitere Wasserstoffbrückendonator- und -akzeptorfunktionen wie z. B. Aminogruppen in die aromatischen Teilstrukturen der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine einführen. Die spannende und interessante Aufgabe der Synthese und Testung dieser Verbindungen bleibt nachfolgenden Forschungsarbeiten vorbehalten.

7 Experimenteller Teil

7.1 Methoden, Geräte und Chemikalien

7.1.1 Schmelzbereichbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzbereiche erfolgte an einem *Boetius*-Heiztischmikroskop und sie stellen unkorrigierte Werte dar.

7.1.2 NMR-Spektroskopie

Die Aufnahmen der ^1H -NMR-Spektren erfolgten an einem *Varian Gemini 2000* für Messungen mit einer Arbeitsfrequenz von 200 MHz oder 400 MHz bzw. an einem *Varian Inova Unity 500* für Frequenzen von 500 MHz. Die Angaben der chemischen Verschiebung δ in ppm gelten für die Symmetrieachse der Signale. Sie beziehen sich auf das Restresonanzsignal des jeweiligen deuterierten Lösungsmittels. In Klammern sind für jedes Signal stets die Multiplizität, die integrierte Protonenanzahl, die Kopplungskonstanten J in Hz sowie die chemische Zuordnung angegeben. Bei unscharfen Signalen mit einer scheinbar geringeren Multiplizität ist diese in Anführungszeichen gesetzt. Als Lösungsmittel dienten deuteriertes Chloroform (CDCl_3) oder deuteriertes Dimethylsulfoxid (DMSO-d_6).

7.1.3 Massenspektrometrie

Die Aufnahme der EI-Massenspektren erfolgte an einem *AMD 402 (AMD INTEDRA)*. Sie wurden mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV gemessen. Die ESI-Massenspektren wurden an einem *Finnigan LCQ Classic (Thermo Electron)* aufgenommen. Die Substanzen wurden mit einer Spritzenpumpe *Harvard Apparatus 22* injiziert. Grundlage der Messungen bildete die Elektrospray-Massenspektrometrie, wobei die Ionisation in einem Elektronenspray bei 4,5 kV positiv und negativ erfolgte.

7.1.4 Elementaranalyse

Die elementaranalytischen Daten wurden an einem *CHNS-932* Analysenautomaten der Firma *Leco-Corporation* gewonnen.

7.1.5 Chromatographie

7.1.5.1 *Dünnschichtchromatographie*

Die Dünnschichtchromatographie diente der Verfolgung des Reaktionsverlaufes und erlaubte eine erste Einschätzung zur Identität und Reinheit von isolierten Zwischenverbindungen und Produkten. Zur Verfügung standen Aluminiumfolien der Firmen *Macherey-Nagel* und *Merck*, die mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtet waren.

Die in geeigneten Lösungsmitteln gelösten Substanzen wurden mittels Glaskapillaren aufgetragen und in Chromatographiekammern unter Kammersättigung entwickelt. Als mobile Phase kamen folgende Laufmittel zum Einsatz:

Laufmittel 1: reines Toluol

Laufmittel 2: Toluol/Methanol 85:1

Laufmittel 3: Toluol/Methanol 85:15

Laufmittel 4: Toluol/Methanol 75:25

Laufmittel 5: Toluol/Methanol 50:50

Laufmittel 6: Cyclohexan/Essigester 80:20

Laufmittel 7: Cyclohexan/Essigester 75:25

Laufmittel 8: Chloroform/Essigester/Methanol 75:25:5

Die Detektion der Chromatogramme erfolgte nach vorangegangener Trocknung durch Fluoreszenzlöschung oder durch Eigenfluoreszenz der Verbindungen. Die Fluoreszenzlöschung bzw. Eigenfluoreszenz fand in einer Dunkelkammer unter Bestrahlung der Chromatogramme mit ultraviolettem Licht der Wellenlängen 254 nm oder 366 nm statt.

7.1.5.2 *Säulenchromatographie*

Die Säulenchromatographie wurde zur Trennung und Reinigung einiger Zwischenprodukte eingesetzt. Es kam ausschließlich das Feuchtsäulenverfahren unter Normaldruck mit Kieselgel 60 der Firma *Merck* mit einer Korngröße von 63–200 µm zur Anwendung.

Die eingesetzten Elutionsmittel entsprachen denen der Dünnschichtchromatographie. Die Polarität der Elutionsmittel wurde zur Verbesserung des Trenneffektes teilweise diskontinuierlich verändert.

7.1.6 Röntgenstrukturanalyse

Die Kristalle der zu untersuchenden Verbindungen **13** und **14** wurden aus ethanolischer Lösung gewonnen. Die entsprechenden Kristalldaten und ausgewählte Parameter der Kristallstrukturbestimmungen sind in Tabelle 3 (Kapitel 4.1) zusammengefasst. Alle Röntgenstrukturdaten wurden bei Raumtemperatur unter Verwendung von Graphit-monochromatisierter Mo-K α -Strahlung ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) auf einem *STADIA*-Vierkreisdiffraktometer der Firma *Stoe & Cie GmbH* (Darmstadt, Deutschland) im $\omega/2\theta$ -Scanningmodus gemessen. Die Strukturauflösung erfolgte mit direkten Methoden in *SHELXS-97* (*Sheldrick*, 1990) und wurde verfeinert durch full-matrix least-squares Methoden über F^2 in *SHELXL-97* (*Sheldrick*, 1997). Die Anordnung der Wasserstoffatome erfolgte nach geometrischen Kriterien, ihre Verfeinerung mit Hilfe des Riding-Modells mit Ausnahme der Wasserstoffatome H5AO und H5BO der Verbindung **13**, für die die Koordinaten verfeinert wurden. Die geometrischen Parameter wurden mit *SHELXL-97* (*Sheldrick*, 1997) und *PLATON* (*Spek*, 2001) berechnet, die räumliche Darstellung der Moleküle erfolgte mit *XP/PC* (*XP/PC*, 1990). Die vollständigen Daten der Messbedingungen, Kristall- und Atomparameter sowie Bindungslängen und -winkel der Verbindungen **13** und **14** sind beim *Cambridge Crystallographic Data Center* hinterlegt (*CCDC*, 2005).

Die Substanz **14** kristallisiert im monoklinen Kristallsystem in der Raumgruppe $P2_1/n$. Die Verbindung **13** hingegen kristallisiert im triklinen Kristallsystem in der Raumgruppe $P\bar{1}$ mit zwei Molekülen **A** und **B** in der asymmetrischen Einheit. Im Molekül **B** ist der *N*-Benzylring einer Fehlordnung unterworfen, die in der Darstellung von zwei möglichen Grenzlagen zum Ausdruck kommt (Abbildungen 31 bis 39, Kapitel 4.1).

7.1.7 Moleküldynamiksimulation

Die Moleküldynamiksimulationen für die Verbindungen **13** und **14** wurden mit dem MOE (Molecular Operating Environment)-Computerprogramm (*MOE*, 2004) der *Chemical Computing Group Corporation* (Montreal, Quebec, Kanada) durchgeführt. Als Simulationsbedingungen wurde ein Vakuum bei einer Temperatur von 300 K ohne

Aufheizungszeit gewählt, die Messungen erfolgten in 1-Femtosekunden-Schritten über eine Zeitdauer von 250 Picosekunden. Die Equilibrierung war nach ca. 30 Picosekunden abgeschlossen. Als Kraftfeld kam das Tripos-Force-Field zur Anwendung, mit einem Energiegradienten für die Konvergierung der Force-Field-Engine von $0,001 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-1}$ und abstandsabhängigen, elektrostatischen Parametern.

Als Startstrukturen für die Moleküldynamiksimulationen von **13** und **14** wurden die geometrischen Daten der Röntgenstrukturanalyse verwendet. Diese wurden zuvor einer Energieminimierung unterzogen.

7.1.8 IR-Spektroskopie

Die ATR-Spektren wurden an einem FTIR-Spektrometer *IFS 28* der Firma *Bruker* gemessen. Die Angabe der IR-spektroskopischen Daten erfolgte als Wellenzahl ν in cm^{-1} für die Valenzschwingungen ausgewählter charakteristischer Gruppen.

7.1.9 Fluorimetrischer *in-vitro* Assay

Assay-Puffer: MES ($c = 0,1 \text{ M}$; $\text{pH} = 6,25$), Natriumchlorid ($c = 0,37 \text{ M}$), BSA ($c = 0,1 \%$)

Die Pufferlösung wurde vor der Durchführung des Assays frisch hergestellt. MES und Natriumchlorid wurden in bidestilliertem Wasser vollständig gelöst und mit Natriumhydroxidlösung ($c = 1 \text{ M}$ und $c = 10 \text{ M}$) auf einen pH-Wert von 6,25 eingestellt. Anschließend wurde dieser Pufferlösung 0,1 % BSA zugesetzt.

Substrat: Anthranilyl-HIV-Protease-Substrat

Sequenz: Abz-Thr-Ile-Nle-*p*-nitro-Phe-Gln-Arg-NH₂

Summenformel: C₄₃H₆₅N₁₃O₁₁

Molare Masse: 940,1 g•mol⁻¹

Als Substrat für die HIV-Protease fand ein fluorogenes Hexapeptid, das Anthranilyl-HIV-Protease-Substrat der Firma *Bachem* (Torrance, Kalifornien, USA), Anwendung. Es enthält am *N*-terminalen Ende des Peptides ein fluorogenes Chromophor (Fluorophor) in Form der 2-Aminobenzoylgruppe (Abz) und wird durch die HIV-1 Protease zwischen Norleucin und *para*-Nitrophenylalanin in zwei Tripeptide gespalten. Das fluorogene Tripeptid (Abz-Thr-Ile-Nle) zeigt eine stärkere Fluoreszenzemission als das ursprüngliche Hexapeptid. Das Substrat wurde bei $-15 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert und vor der Durchführung des Assays bei Raumtemperatur in DMSO in einer Konzentration von $c = 10 \text{ mM}$ (Eppendorfgefäß) gelöst. Diese Lösung wurde

als Substrat-Stock-Lösung eingesetzt. Damit ergibt sich eine Substratkonzentration im Assay von $c = 100 \mu\text{M}$ (Quarzglasküvette). Die *Michaelis-Menten*-Konstante für das Enzym-Substrat-Paar beträgt laut Literatur $K_m = 37 \pm 8 \mu\text{M}$ (*Toth & Marshall*, 1990).

Enzym: HIV-1 Protease

Molare Masse: $10759 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Verwendung fand „*rec* HIV-1 Protease (affinity purified) (expressed in *Escherichia coli*)“ der Firma *Bachem* (Torrance, Kalifornien, USA). Das Enzym wurde bei $-78 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert und vor der Durchführung des Assays 30 Minuten in Crash-Eis aufbewahrt. Die HIV-1 Protease wurde unverdünnt im Assay eingesetzt. Die Konzentration an Protease im Eppendorfgefäß betrug $c = 46,5 \mu\text{M}$ (analytisches Datenblatt der Firma *Bachem*) und somit im Assay $c = 46,5 \text{ nM}$ (Quarzglasküvette).

Inhibitor:

Für die zu testenden Inhibitoren wurden Verdünnungsreihen mit vier verschiedenen Konzentrationen hergestellt. Als Lösungsmittel diente DMSO.

Durchführung des Assays

Grundlage der Messungen bildet der fluorimetrische *in-vitro* Assay nach *Toth & Marshall* (1990). Die Bestimmungen der HIV-1 Proteaseaktivität erfolgten in einer Quarzglasküvette mit Magnetrührer unter imitierten physiologischen Bedingungen ($\vartheta = 37 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 6,25$) an einem Fluorimeter *f-4500* der Firma *Hitachi*. Die Anregungswellenlänge betrug $\lambda_{\text{An}} = 337 \text{ nm}$ und die Emissionswellenlänge $\lambda_{\text{Em}} = 410 \text{ nm}$.

$980 \mu\text{l}$ Assay-Puffer mit $0,1 \%$ BSA wurden auf $37 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert und in eine Quarzglasküvette mit Magnetrührer pipettiert. Danach erfolgte die Zugabe von $10 \mu\text{l}$ der Substrat-Stock-Lösung. Anschließend wurden weitere $10 \mu\text{l}$ einer Inhibitorlösung oder $10 \mu\text{l}$ reines DMSO (für die nicht-inhibierte Messung) hinzugefügt. Die Konzentration an DMSO im Assay überschritt dabei 2% nicht. Die fluorimetrische Messung wurde gestartet und nach ca. 60 Sekunden erfolgte das Hinzupipettieren von $1 \mu\text{l}$ der Enzymlösung. Durch die enzymatische Substratspaltung kommt es zu einer Zunahme der Fluoreszenzemission in Abhängigkeit von der Zeit. Dies ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Substrathydrolyse und damit für die HIV-1 Proteaseaktivität. Sie unterliegt unmittelbar nach der Enzymzugabe für ca. 40 Sekunden dem Zustand der Substratsättigung.

Die Auswertung und Bestimmung der inhibitorischen Parameter (IC_{50} - und K_i -Werte) erfolgte mit Hilfe des Computerprogrammes *Origin*[®] 6.0 (Microcal Software, Inc., Northampton, Massachusetts, USA) nach Literatur bekannten Gleichungen und Zusammenhängen (Kapitel 5.2). Für jede Inhibitorkonzentration wurden drei Messungen durchgeführt.

7.1.10 Chemikalien und Lösungsmittel

7.1.10.1 Vorbehandlung der eingesetzten Lösungsmittel

Alle eingesetzten Lösungsmittel wurden vor Verwendung nach den in der Literatur (*Becker et al.*, 1996[c]) angegebenen Vorschriften getrocknet und frisch destilliert.

7.1.10.2 Kommerziell erworbene Chemikalien

Folgende Chemikalien wurden entweder kommerziell erworben (Bezugsquelle in Klammern) oder aus den Beständen des Institutes für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg bezogen.

Ammoniumacetat

Benzaldehyd (*Fluka*)

Benzylamin (*Fluka*)

3-Benzyloxybenzaldehyd (*Sigma-Aldrich*)

4-Benzyloxybenzaldehyd (*Sigma-Aldrich*)

Dimethylpropylenharnstoff (1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon) (*Fluka*)

3-Hydroxybenzaldehyd (*Fluka*)

4-Hydroxybenzaldehyd (*Fluka*)

Hydroxylamin-HCl

Lithiumaluminiumhydrid (1,0 molare Lösung in THF, *Fluka*)

Lithiumaluminiumhydrid (Pellets, *Fluka*)

4-Methoxybenzylamin (*Fluka*)

Natriumchlorid (*Grüssing*)

Natriumhydrid

Natriumhydroxid (*Grüssing*)

Natriumsulfat (*Grüssing*)

2-(*N*-Morpholino)ethansulfonsäure (*Sigma-Aldrich*)

Phosphor(V)-oxid (*Sigma-Aldrich*)

Phthalsäureanhydrid

3-Picolylamin (*Sigma-Aldrich*)

4-Picolylbromid-HBr (*Sigma-Aldrich*)

Propiolsäureethylester (*Fluka*)

Propiolsäuremethylester (*Fluka*)

3-Pyridylaldehyd (*Sigma-Aldrich*)

4-Pyridylaldehyd (*Sigma-Aldrich*)

Rinderserum-Albumin (*Bachem*)

Thioanisol (*Lancaster*)

Triethylamin (*Fluka*)

Trifluoressigsäure (*Lancaster*)

7.2 Synthese der Verbindungen

7.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1:

Cyclokondensation von primärem Amin, aromatischem Aldehyd und Propiolsäureestern zu *N*-substituierten 1,4-Dihydropyridinen nach einer modifizierten Vorschrift von *Chennat & Eisner* (1975)

Es werden 10 mmol aromatischer Aldehyd, 20 mmol Ethyl- oder Methylpropiolat und 10 mmol primäres Amin in 1 ml frisch destilliertem Eisessig gelöst. Der Reaktionsansatz wird 1–2 Stunden unter Rühren auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Danach wird auf Raumtemperatur abgekühlt und reichlich Wasser hinzugefügt. Die Extraktion des Reaktionsproduktes erfolgt durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform, Trocknung der vereinigten Chloroform-Phasen über Natriumsulfat und anschließender Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck. Je nach Dihydropyridinderivat wird ein gelb bis braun gefärbtes, dickflüssiges Öl erhalten. Durch Zugabe von Ethanol oder Diethylether konnte bis auf wenige Ausnahmen das entsprechende 1,4-Dihydropyridin ausgefällt werden.

AAV 2:

Festkörperdimerisierung der 1,4-Dihydropyridine nach *Hilgeroth* (2000)

Kristalle der monomeren 1,4-Dihydropyridine werden gleichmäßig mit einer maximalen Schichtdicke von 1 mm auf einem Uhrglas verteilt. Durch *Ultra-Vitalux*[®]-Lampen ($\lambda \geq 270$ nm) erfolgt eine Bestrahlung der kristallinen Substanzen in einem Abstand von 60 cm bei Raumtemperatur. In regelmäßigen Abständen werden die Kristalle während der Bestrahlung durchmischt. Der Reaktionsverlauf wird durch die Dünnschichtchromatographie verfolgt. Während der Dimerisierung lässt sich häufig eine Farbänderung der Kristalle beobachten, je nach Derivat von gelb bis braun nach weiß bis farblos. Nach erfolgreicher Dimerisierung (ca. 4–8 Wochen) werden die dimeren Produkte aus Methanol umkristallisiert.

AAV 3:

Lösungsdimerisierung der 1,4-Dihydropyridine nach *Hilgeroth* (2000)

1,2 mmol monomeres 1,4-Dihydropyridin werden in 30 ml trockenem Tetrahydrofuran in einem Quarzglaskolben gelöst. Nach Durchspülen der Lösung mit Argon wird der verschlossene Quarzglaskolben von einer *Ultra-Vitalux*[®]-Lampe ($\lambda \geq 270$ nm) in einem Abstand von 60 cm bei Raumtemperatur bestrahlt. Der Reaktionsverlauf (ca. 8–16 Wochen) wird durch die Dünnschichtchromatographie verfolgt. Neben einer Umsetzung des monomeren 1,4-Dihydropyridins zum entsprechenden Käfigdimer kommt es während der Lösungsdimerisierung auch zur Bildung des *anti*-dimeren Produktes. Häufig kristallisiert das Käfigdimer bereits im Verlauf der Bestrahlung aus der Lösung aus, während das *anti*-Dimer erst nach Abtrennung des Käfigdimeren beim Verdunsten des Lösungsmittels ausfällt. Nach erfolgreicher Dimerisierung werden die dimeren Produkte jeweils aus Methanol umkristallisiert.

AAV 4:

Reduktion der Esterfunktionen der käfigdimeren 1,4-Dihydropyridine mit komplexen Hydriden zu den entsprechenden Alkoholgruppen

Unter mäßigem Erwärmen werden 70 μ mol Käfigdimer (mit Esterfunktionen) in 20 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Nach Durchspülen der Lösung mit Argon wird noch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf -8 °C im Eisbad (Trockeneis in Methanol) abgekühlt. Danach werden 1,12 mmol Lithiumaluminiumhydrid (16 facher Überschuss, vierfach pro Estergruppe) als 1,0 molare Lösung in Tetrahydrofuran vorsichtig zum Reaktionsansatz bei -8 °C unter Rühren zugetropft und drei Stunden bei dieser Temperatur weitergerührt. Die Reaktion wird dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung zum Alkohol wird überschüssiges Hydrid durch Zugabe von Eiswasser vorsichtig bei 0 °C hydrolysiert. Anschließend erfolgt die Extraktion des Reaktionsproduktes durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Durch Zugabe einer Mischung von Chloroform, Diethylether und Petroleumbenzin zum farblosen festen bis öligen Rückstand konnte das entsprechende Käfigdimer (mit Hydroxymethylgruppen) ausgefällt werden. Abschließend wird es aus Methanol unter Kühlung umkristallisiert.

7.2.2 Synthese der Ausgangsverbindungen

7.2.2.1 Darstellung der Nitrile

4-Benzyloxybenzonitril (1)

Die Verbindung **1** wurde nach einer Vorschrift von Wang & Lin (1998) in einer „Eintopf“-Reaktion aus 4-Benzyloxybenzaldehyd, Hydroxylamin-HCl, Triethylamin und Phthalsäureanhydrid hergestellt. Als Lösungsmittel kam frisch destilliertes Acetonitril zum Einsatz. **1** wurde als hellgrünes Öl erhalten, das aus Petroleumbenzin/Ethylacetat 10:4 zu langen, farblosen Nadeln auskristallisierte.

Summenformel: C₁₄H₁₁NO

Molare Masse: 209,24 g/mol

Ausbeute: 85 %

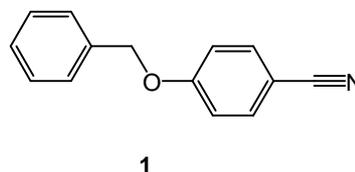
Schmelzbereich: 93–94 °C

MS (EI, m/z): 209 [10,0 M⁺]; 91 [100,0 C₆H₆-CH₂⁺]; 77 [20,0 C₆H₅⁺]

IR (ATR): 2221 (s, C≡N)

EA: gef.: C 80,37 %; H 5,32 %; N 6,65 %
ber.: C 80,36 %; H 5,30 %; N 6,69 %

¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 400 MHz]: 5,10 (s, 2 H, O-CH₂-C₆H₅); 7,00 (m, 2 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems O-C₆H₄-CN); 7,32–7,39 (m, 5 H, Ar-H des O-Bn); 7,57 (m, 2 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems O-C₆H₄-CN)



3-Benzyloxybenzonitril (2)

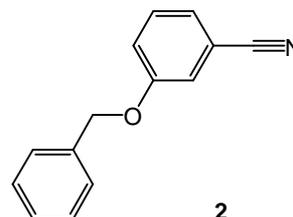
Die Verbindung **2** wurde analog **1** nach einer Vorschrift von Wang & Lin (1998) aus 3-Benzyloxybenzaldehyd, Hydroxylamin-HCl, Triethylamin und Phthalsäureanhydrid in frisch destilliertem Acetonitril hergestellt. Nach Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der hellgrüne, ölige Rückstand säulenchromatographisch gereinigt mit Laufmittel 1 als Elutionsmittel. Das farblose Öl kristallisierte aus Petroleumbenzin/Ethylacetat 6:1 bei tiefen Temperaturen von –15 °C zu weißen Plättchen.

Summenformel: C₁₄H₁₁NO

Molare Masse: 209,24 g/mol

Ausbeute: 84 %

Schmelzbereich: 38–40 °C



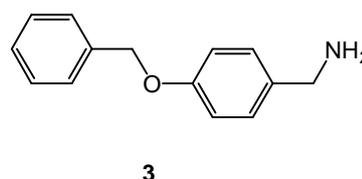
MS (EI, m/z):	209 [20,0 M ⁺]; 91 [100,0 C ₆ H ₆ -CH ₂ ⁺]; 77 [30,0 C ₆ H ₅ ⁺]
IR (ATR):	2230 (s, C≡N)
EA:	gef.: C 80,15 %; H 5,33 %; N 6,66 % ber.: C 80,36 %; H 5,30 %; N 6,69 %
¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 5,07 (s, 2 H, O-CH ₂ -C ₆ H ₅); 7,18–7,40 (m, 9 H, Ar-H)

7.2.2.2 Darstellung der Amine

4-Benzyloxybenzylamin (3)

Die Verbindung **3** wurde nach einer Vorschrift von *Freudenreich et al.* (1984) aus 4-Benzyloxybenzonnitril (**1**) und Lithiumaluminiumhydrid in Diethylether hergestellt. Nach Einengung des Lösungsmittels kristallisierte das Produkt als weißer Feststoff.

Summenformel:	C ₁₄ H ₁₅ NO
Molare Masse:	213,28 g/mol
Ausbeute:	85 %
Schmelzbereich:	77–81 °C
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺
IR (ATR):	3355 (m, br, NH ₂) 3310 (m, br, NH ₂)

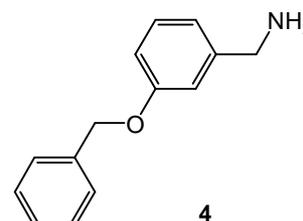


¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 1,48 (s, 2 H, NH ₂); 3,79 (s, 2 H, CH ₂ -NH ₂); 5,05 (s, 2 H, O-CH ₂ -C ₆ H ₅); 6,93 (m, 2 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems O-C ₆ H ₄ -CH ₂); 7,21 (m, 2 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems O-C ₆ H ₄ -CH ₂); 7,28–7,42 (m, 5 H, Ar-H des O-Bn)
---------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

3-Benzyloxybenzylamin (4)

Die Verbindung **4** wurde nach einer Vorschrift von *Freudenreich et al.* (1984) aus 3-Benzyloxybenzonnitril (**2**) und Lithiumaluminiumhydrid in Diethylether hergestellt. Nach Einengung des Lösungsmittels kristallisierte das Produkt als weißer Feststoff.

Summenformel:	C ₁₄ H ₁₅ NO
Molare Masse:	213,28 g/mol
Ausbeute:	59 %
Schmelzbereich:	65–70 °C
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 200 MHz]: 1,71 (s, 2 H, NH_2); 3,82 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$); 5,06 (s, 2 H, $\text{O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$); 6,82–6,94 (m, 3 H, Ar-H); 7,20–7,45 (m, 6 H, Ar-H)

7.2.3 Synthese der monomeren 1,4-Dihydropyridine

7.2.3.1 Darstellung der *N*-unsubstituierten 1,4-Dihydropyridine

Diethyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (5)

Die Verbindung **5** wurde nach einer Vorschrift von *Chennat & Eisner* (1975) aus Ammoniumacetat, Benzaldehyd und Ethylpropiolat hergestellt und kristallisierte unter Kühlung bei $-15\text{ }^\circ\text{C}$ aus Ethanol zu gelben Prismen.

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_4$

Molare Masse: 301,34 g/mol

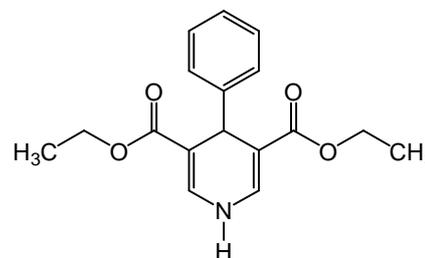
Ausbeute: 30 %

Schmelzbereich: $116\text{--}124\text{ }^\circ\text{C}$

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{H}^+$

IR (ATR): 3330 (m, br, NH)
2981 (m, aliph. CH)
1687 (s, COOC_2H_5)
1607 (m, $\text{N-C=C-COOC}_2\text{H}_5$)

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 1,17 (t, 6 H, $^3\text{J}_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0\text{ Hz}$, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 4,06 (q, 4 H, $^3\text{J}_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0\text{ Hz}$, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 4,88 (s, 1 H, 4-H); 6,21 (s, 1 H, NH); 7,19–7,33 (m, 7 H, 2-,6-H, Ar-H des Ph)



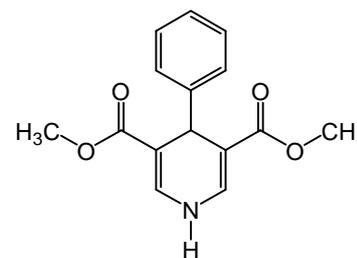
5

Dimethyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (6)

Die Verbindung **6** wurde nach einer Vorschrift von *Chennat & Eisner* (1975) aus Ammoniumacetat, Benzaldehyd und Methylpropiolat hergestellt und kristallisierte unter Kühlung bei $-15\text{ }^\circ\text{C}$ aus Ethanol zu gelben Prismen. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein (*Chennat & Eisner*, 1975).

Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_4$

Molare Masse: 273,28 g/mol



6

7.2.3.2 Darstellung der *N*-substituierten 1,4-Dihydropyridine

Darstellung durch *N*-Alkylierung

Dimethyl-4-phenyl-1-(4-picolyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (7)

Die Verbindung **7** wurde nach einer Vorschrift von *Hilgeroth* (2000) aus **6**, 4-Picolylbromid-HBr und Natriumhydrid in Dimethylpropylenharnstoff hergestellt und als gelb-braunes Öl erhalten. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Laufmittel 8 als Elutionsmittel. Danach wurden die Produkt enthaltenden Fraktionen vereinigt und das Elutionsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der so erhaltene orangefarbige, ölige Rückstand kristallisierte aus Diethylether zu weißen Prismen.

Summenformel: $C_{21}H_{20}N_2O_4$

Molare Masse: 364,39 g/mol

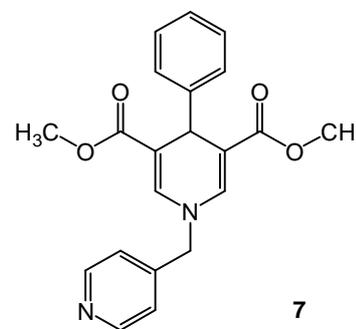
Ausbeute: 38 %

Schmelzbereich: 209–211 °C

MS (ESI, m/z): $M+H^+$

IR (ATR): 2951 (w, aliph. CH)
2930 (w, aliph. CH)
1704 (s, COOCH₃)
1662 (m, N-C=C-COOCH₃)

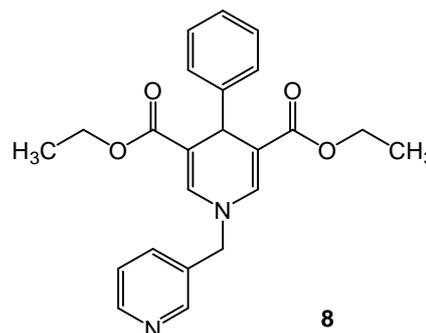
¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 400 MHz]: 3,61 (s, 6 H, O-CH₃); 4,61 (s, 2 H, N-CH₂); 4,93 (s, 1 H, 4-H); 7,14–7,29 (m, 9 H, 2-,6-H, Ar-H des Ph, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des *N*-Pic); 8,65 (m, 2 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des *N*-Pic)



Darstellung durch Cyclokondensation**Diethyl-4-phenyl-1-(3-picolyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (8)**

Die Verbindung **8** wurde nach AAV 1 aus Benzaldehyd, Ethylpropiolat und 3-Picolylamin als dunkelbraunes, teerartiges Öl erhalten, das aus Diethylether zu grau-braunen Prismen kristallisierte.

Summenformel:	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₄
Molare Masse:	392,45 g/mol
Ausbeute:	< 10 %
Schmelzbereich:	161–164 °C
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺
IR (ATR):	2982 (m, aliph. CH) 1693 (s, COOC ₂ H ₅) 1582 (s, N-C=C-COOC ₂ H ₅)

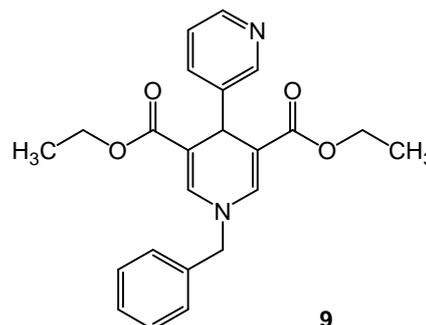


¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 1,15 (t, 6 H, ³ J _{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,05 (q, 4 H, ³ J _{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,62 (s, 2 H, N-CH ₂); 4,89 (s, 1 H, 4-H); 7,12–7,24 (m, 7 H, 2-,6-H, Ar-H des Ph); 7,41 („s“, br, 1 H, 5-H des <i>N</i> -Pic); 7,68 („d“, 1 H, ³ J _{Ar-H des <i>N</i>-Pic} = 8,5 Hz, 4-H des <i>N</i> -Pic); 8,61 („s“, br, 2 H, 2-,6-H des <i>N</i> -Pic)
---------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Diethyl-1-benzyl-4-(3-pyridyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (9)

Nach AAV 1 wurde aus 3-Pyridylaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin ein dunkelbraunes, teerartiges Öl erhalten. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Laufmittel 3 als Elutionsmittel. Danach wurden die Produkt enthaltenden Fraktionen vereinigt und das Elutionsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde aus dem erhaltenen braunen Rückstand das Produkt **9** mit siedendem Petroleumbenzin (niedrigsiedend, 30–50 °C) extrahiert, das dann aus Diethylether zu braunen Prismen kristallisierte.

Summenformel:	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₄
Molare Masse:	392,45 g/mol
Ausbeute:	41 %
Schmelzbereich:	134–137 °C
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺

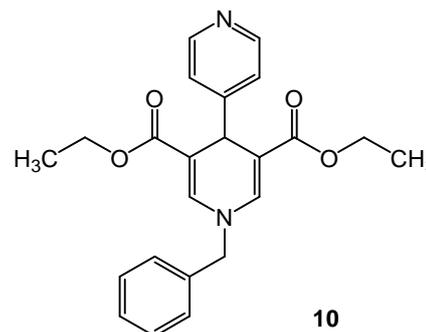


IR (ATR):	2983 (w, aliph. CH) 1696 (s, COOC ₂ H ₅) 1582 (m, N-C=C-COOC ₂ H ₅)
¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 1,16 (t, 6 H, ³ J _{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,04 (q, 4 H, ³ J _{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,60 (s, 2 H, N-CH ₂); 5,03 (s, 1 H, 4-H); 7,26–7,29 (m, 4 H, 2-,6-H, 2-,6-H des <i>N</i> -Bn); 7,37–7,45 (m, 4 H, ³ J _{Ar-H des Pyr} = 5,3 Hz, 3-,4-,5-H des <i>N</i> -Bn, 5-H des Pyr); 8,00 („s“, br, 1 H, 4-H des Pyr); 8,41 („d“, 1 H, ³ J _{Ar-H des Pyr} = 5,3 Hz, 6-H des Pyr); 8,56 („s“, 1 H, 2-H des Pyr)

Diethyl-1-benzyl-4-(4-pyridyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (10)

Die Verbindung **10** wurde nach AAV 1 aus 4-Pyridylaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin als dunkelbraunes, teerartiges Öl erhalten. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Laufmittel 3 als Elutionsmittel. Danach wurden die Produkt enthaltenden Fraktionen vereinigt und das Elutionsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene hellbraune Öl wurde über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

Summenformel:	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₄
Molare Masse:	392,45 g/mol
Ausbeute:	< 10 %
MS (ESI, m/z):	M+Na ⁺
IR (ATR):	2930 (m, aliph. CH) 1700 (s, COOC ₂ H ₅) 1661 (w, N-C=C-COOC ₂ H ₅)



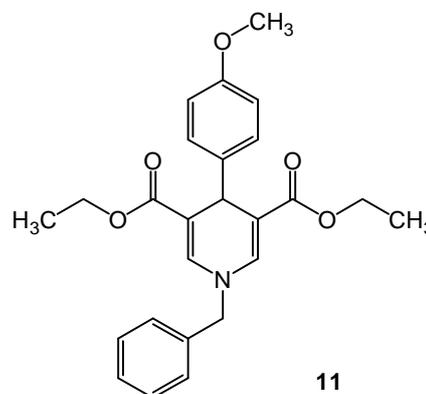
¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 1,15 (t, 6 H, ³ J _{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,04 (q, 4 H, ³ J _{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,57 (s, 2 H, N-CH ₂); 4,88 (s, 1 H, 4-H); 7,13–7,41 (m, 9 H, 2-,6-H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des Pyr, Ar-H des <i>N</i> -Bn); 8,45 (m, 2 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des Pyr)
---------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Diethyl-1-benzyl-4-(4-methoxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (11)

Die Verbindung **11** wurde nach AAV 1 aus 4-Methoxybenzaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin in Form gelber Kristalle erhalten. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein (*Hilgeroth, 2000*).

Summenformel: $C_{25}H_{27}NO_5$

Molare Masse: 421,49 g/mol

**Diethyl-1-(4-methoxybenzyl)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (12)**

Die Verbindung **12** wurde nach AAV 1 aus Benzaldehyd, Ethylpropiolat und 4-Methoxybenzylamin in Form gelber Kristalle erhalten.

Summenformel: $C_{25}H_{27}NO_5$

Molare Masse: 421,49 g/mol

Ausbeute: 84 %

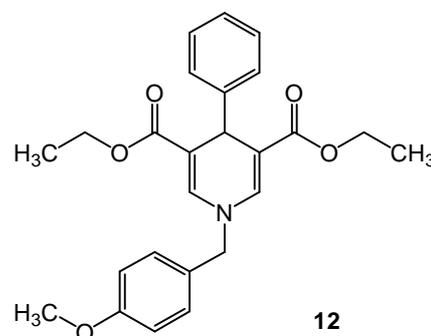
Schmelzbereich: 102–103 °C

MS (ESI, m/z): $M+H^+$

IR (ATR): 2992 (m, aliph. CH)
2932 (m, aliph. CH)
1700 (s, $COOC_2H_5$)
1620 (m, $N-C=C-COOC_2H_5$)

EA: gef.: C 71,01 %; H 6,47 %; N 3,30 %
ber.: C 71,24 %; H 6,46 %; N 3,32 %

1H -NMR: δ [ppm, $CDCl_3$, 400 MHz]: 1,15 (t, 6 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,0$ Hz, O-CH₂-CH₃); 3,81 (s, 3 H, O-CH₃); 4,04 (q, 4 H, $^3J_{CH_2/CH_3} = 7,0$ Hz, O-CH₂-CH₃); 4,50 (s, 2 H, N-CH₂); 4,87 (s, 1 H, 4-H); 6,91 (m, 2 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems CH₂-C₆H₄-O-CH₃); 7,08–7,25 (m, 9 H, 2-,6-H, Ar-H des Ph, AA'-Teil des AA'BB'-Systems CH₂-C₆H₄-O-CH₃)



Diethyl-1-benzyl-4-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (13)

Die Verbindung **13** wurde aus 4-Hydroxybenzaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin in Form gelber Kristalle erhalten nach AAV 1en.

Summenformel: C₂₄H₂₅NO₅

Molare Masse: 407,46 g/mol

Ausbeute: 34 %

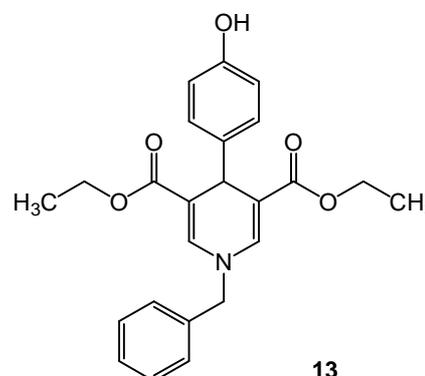
Schmelzbereich: 144–146 °C

MS (ESI, m/z): M+Na⁺

IR (ATR): 3419 (s, br, OH)
2987 (s, aliph. CH)
1696 (s, COOC₂H₅)
1663 (s, N-C=C-COOC₂H₅)

EA: gef.: C 70,39 %; H 6,21 %; N 3,42 %
ber.: C 70,74 %; H 6,18 %; N 3,44 %

¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 400 MHz]: 1,16 (t, 6 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,05 (q, 4 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,55 (s, 2 H, N-CH₂); 4,81 (s, 1 H, 4-H); 4,97 (s, 1 H, C₆H₄-OH); 6,62 (m, 2 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems C₆H₄-OH); 7,10 (m, 2 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems C₆H₄-OH); 7,23–7,41 (m, 7 H, 2-,6-H, Ar-H des N-Bn)

**13****Diethyl-1-benzyl-4-(3-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (14)**

Die Verbindung **14** wurde nach AAV 1 aus 3-Hydroxybenzaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin in Form gelber Kristalle erhalten.

Summenformel: C₂₄H₂₅NO₅

Molare Masse: 407,46 g/mol

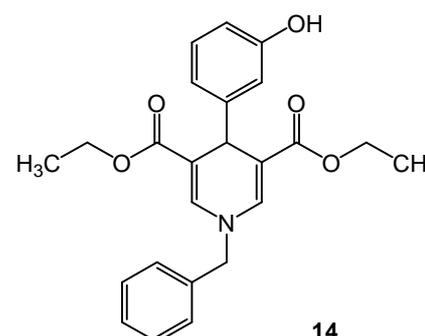
Ausbeute: 37 %

Schmelzbereich: 129–132 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

IR (ATR): 3395 (s, OH)
2987 (m, aliph. CH)
1697 (s, COOC₂H₅)
1668 (s, N-C=C-COOC₂H₅)

EA: gef.: C 70,39 %; H 6,20 %; N 3,43 %
ber.: C 70,74 %; H 6,18 %; N 3,44 %

**14**

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 1,16 (t, 6 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,06 (q, 4 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,56 (s, 3 H, C_6H_4 -OH, CH_2 - C_6H_4); 4,84 (s, 1 H, 4-H); 6,59 („d“, 1 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,8$ Hz, 4-H des Ph); 6,65 („s“, 1 H, 2-H des Ph) 6,84 („d“, 1 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,8$ Hz, 6-H des Ph); 7,06 („t“, 1 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,8$ Hz, 5-H des Ph); 7,24–7,42 (m, 7 H, 2-,6-H, Ar-H des *N*-Bn)

Diethyl-1-benzyl-4-(4-benzyloxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (15)

Die Verbindung **15** wurde nach AAV 1 aus 4-Benzyloxybenzaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin als gelbes, dickflüssiges Öl erhalten, das aus Diethylether zu einem gelben Feststoff kristallisierte.

Summenformel: $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{NO}_5$

Molare Masse: 497,58 g/mol

Ausbeute: 79 %

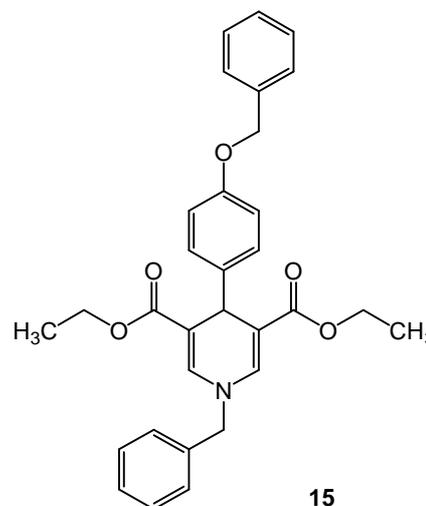
Schmelzbereich: 124–126 °C

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{Na}^+$

IR (ATR): 2982 (m, aliph. CH)
1696 (s, COOC_2H_5)
1666 (m, N-C=C-COOC $_2$ H $_5$)

EA: gef.: C 74,83 %; H 6,25 %; N 2,82 %
ber.: C 74,83 %; H 6,28 %; N 2,81 %

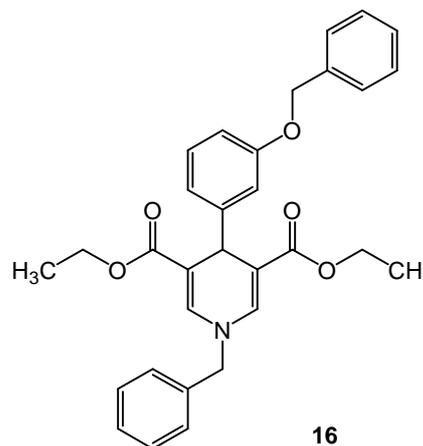
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 1,16 (t, 6 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,05 (q, 4 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,56 (s, 2 H, N- CH_2); 4,83 (s, 1 H, 4-H); 4,98 (s, 2 H, O- CH_2 - C_6H_5); 6,81 (m, 2 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des Ph); 7,16 (m, 2 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des Ph); 7,23–7,41 (m, 12 H, 2-,6-H, Ar-H des *N*-Bn, Ar-H des *O*-Bn)



Diethyl-1-benzyl-4-(3-benzyloxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (16)

Nach AAV 1 wurde aus 3-Benzyloxybenzaldehyd, Ethylpropiolat und Benzylamin ein gelbbraunes Öl erhalten. Durch anschließende mehrmalige Extraktion mit siedendem Petroleumbenzin (niedrigsiedend, 30–50 °C) konnten nicht umgesetzte Ausgangsstoffe entfernt werden. Übrig blieb die Verbindung **16** als dunkelgelbes, dickflüssiges Öl, das über Phosphor(V)-oxid getrocknet wurde.

Summenformel:	C ₃₁ H ₃₁ NO ₅
Molare Masse:	497,58 g/mol
Ausbeute:	44 %
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺
IR (ATR):	2982 (w, aliph. CH) 1696 (s, COOC ₂ H ₅) 1661 (m, N-C=C-COOC ₂ H ₅)

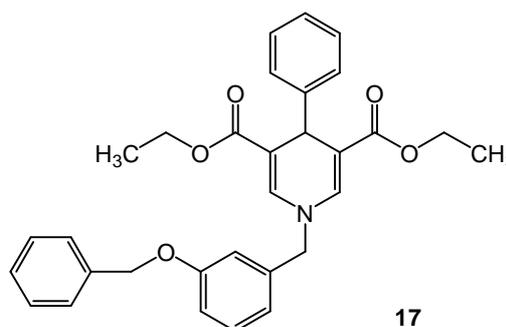


¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 1,16 (t, 6 H, ³ J _{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,05 (q, 4 H, ³ J _{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,55 (s, 2 H, N-CH ₂); 4,88 (s, 1 H, 4-H); 4,94 (s, 2 H, O-CH ₂ -C ₆ H ₅); 6,74 („d“, 1 H, ³ J _{Ar-H des Ph} = 8,0 Hz, 4-H des Ph); 6,90–6,91 (m, 2 H, 2-,6-H des Ph); 7,11 („t“, 1 H, ³ J _{Ar-H des Ph} = 8,0 Hz, 5-H des Ph); 7,24–7,41 (m, 12 H, 2-,6-H, Ar-H des N-Bn, Ar-H des O-Bn)
---------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Diethyl-1-(3-benzyloxybenzyl)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (17)

Die Verbindung **17** wurde nach AAV 1 aus Benzaldehyd, Ethylpropiolat und 3-Benzyloxybenzylamin (**4**) als gelb-oranges Öl erhalten. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Laufmittel 6 als Elutionsmittel. Danach wurden die Produkt enthaltenden Fraktionen vereinigt und das Elutionsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene orangefarbige, dickflüssige Öl wurde über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

Summenformel:	C ₃₁ H ₃₁ NO ₅
Molare Masse:	497,58 g/mol
Ausbeute:	71 %
MS (ESI, m/z):	M+Na ⁺
IR (ATR):	2982 (w, aliph. CH) 1696 (s, COOC ₂ H ₅) 1662 (w, N-C=C-COOC ₂ H ₅)



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 1,16 (t, 6 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,02 (q, 4 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,53 (s, 2 H, N- CH_2); 4,89 (s, 1 H, 4-H); 5,05 (s, 2 H, O- CH_2 - C_6H_5); 6,86 („d“, 1 H, $^3J_{\text{Ar-H des } N\text{-Bn}} = 7,7$ Hz, 4-H des *N*-Bn); 6,87 („s“, 1 H, 2-H des *N*-Bn); 6,93 („d“, 1 H, $^3J_{\text{Ar-H des } N\text{-Bn}} = 9,7$ Hz, 6-H des *N*-Bn); 7,10–7,43 (m, 13 H, 2-,6-H, Ar-H des Ph, 5-H des *N*-Bn, Ar-H des *O*-Bn)

Diethyl-1-(4-benzyloxybenzyl)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat (**18**)

Die Verbindung **18** wurde nach AAV 1 aus Benzaldehyd, Ethylpropiolat und 4-Benzyloxybenzylamin (**3**) als gelb-oranges Öl erhalten. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Laufmittel 6 als Elutionsmittel. Danach wurden die Produkt enthaltenden Fraktionen vereinigt und das Elutionsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene orangefarbige, dickflüssige Öl wurde über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

Summenformel: $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{NO}_5$

Molare Masse: 497,58 g/mol

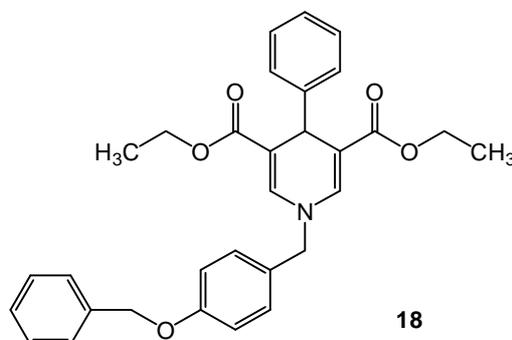
Ausbeute: 50 %

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{Na}^+$

IR (ATR): 2987 (w, aliph. CH)

1696 (s, COOC_2H_5)

1661 (w, N-C=C-COOC₂H₅)



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 1,15 (t, 6 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,04 (q, 4 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,49 (s, 2 H, N- CH_2); 4,87 (s, 1 H, 4-H); 5,07 (s, 2 H, O- CH_2 - C_6H_5); 6,98 (m, 2 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des *N*-Bn); 7,08–7,41 (m, 14 H, 2-,6-H, Ar-H des Ph, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des *N*-Bn, Ar-H des *O*-Bn)

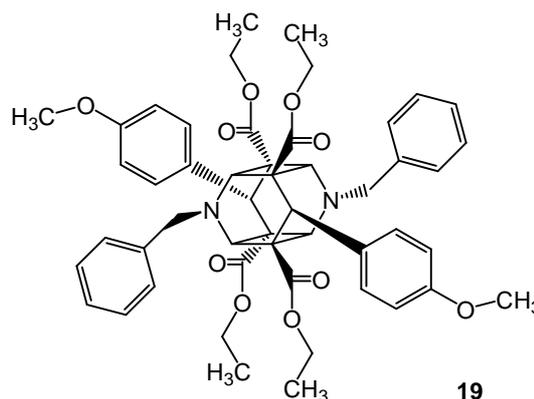
7.2.4 Synthese der dimeren 1,4-Dihydropyridine

Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(4-methoxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (19)

Die Verbindung **19** wurde sowohl durch Festkörperdimerisierung (nach AAV 2) als auch durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **11** in Form farbloser Kristalle erhalten. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein (Hilgeroth, 2000).

Summenformel: C₅₀H₅₄N₂O₁₀

Molare Masse: 842,97 g/mol

**Tetraethyl-3,9-bis(4-methoxybenzyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (20)**

Die Verbindung **20** wurde sowohl durch Festkörperdimerisierung (nach AAV 2) als auch durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **12** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: C₅₀H₅₄N₂O₁₀

Molare Masse: 842,97 g/mol

Ausbeute: 95 % (AAV 2)

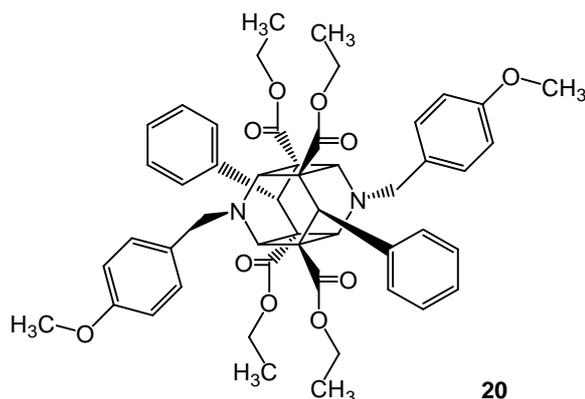
78 % (AAV 3)

Schmelzbereich: 202–205 °C

MS (ESI, m/z): M+Na⁺

IR (ATR): 2978 (s, aliph. CH)
1721 (s, COOC₂H₅)

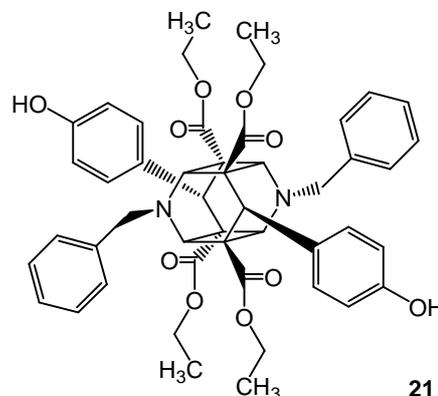
¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 500 MHz]: 0,99 (t, 12 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 3,79 (s, 6 H, O-CH₃); 3,98 (q, 8 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,26 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,28 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,42 (s, 4 H, N-CH₂); 6,82 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des N-Bn); 7,10 (m, 6 H, 3-,4-,5-H des Ph); 7,21–7,26 (m, 8 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des N-Bn, 2-,6-H des Ph)



**Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(4-hydroxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-
[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (21)**

Die Verbindung **21** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **13** als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₄₈H₅₀N₂O₁₀
 Molare Masse: 814,92 g/mol
 Ausbeute: 58 %
 Schmelzbereich: 231–233 °C
 MS (ESI, m/z): M+H⁺
 IR (ATR): 3379 (s, br, OH)
 2982 (s, aliph. CH)
 1705 (s, COOC₂H₅)

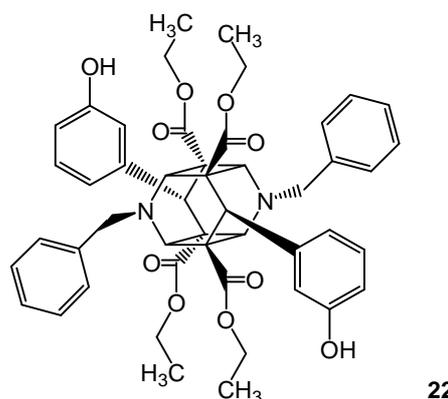


¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 400 MHz]: 0,97 (t, 12 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 3,92 (q, 8 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,08 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,14 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,40 (s, 4 H, N-CH₂); 6,47 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des Ph); 6,96 (m, 4 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des Ph); 7,28–7,32 (m, 10 H, Ar-H des N-Bn); 9,16 (s, 2 H, C₆H₄-OH)

**Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(3-hydroxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-
[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (22)**

Die Verbindung **22** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **14** in Form weißer Kristalle erhalten.

Summenformel: C₄₈H₅₀N₂O₁₀
 Molare Masse: 814,92 g/mol
 Ausbeute: 47 %
 Schmelzbereich: 218–225 °C
 MS (ESI, m/z): M+Na⁺
 IR (ATR): 3384 (s, OH)
 2982 (m, aliph. CH)
 1716 (s, COOC₂H₅)

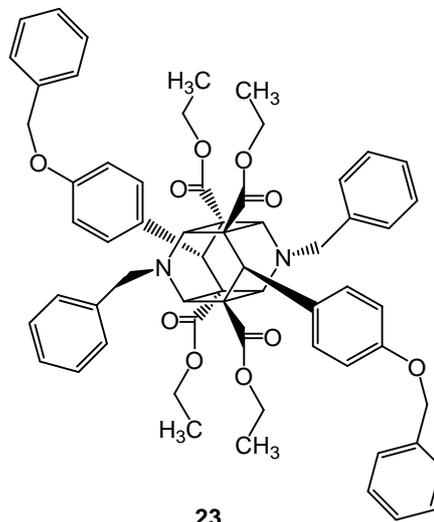


¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 400 MHz]: 0,96 (t, 12 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 3,93 (q, 8 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,06 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,17 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,40 (s, 4 H, N-CH₂); 6,55 (m, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,0 Hz, 4 H, 6-,5-H des Ph); 6,69 („s“, 2 H, 2-H des Ph); 6,89 („t“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,0 Hz, 5-H des Ph); 7,24–7,27 (m, 10 H, Ar-H des N-Bn); 9,11 (s, 2 H, C₆H₄-OH)

**Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(4-benzyloxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-
[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (23)**

Die Verbindung **23** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **15** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel:	C ₆₂ H ₆₂ N ₂ O ₁₀
Molare Masse:	995,16 g/mol
Ausbeute:	76 %
Schmelzbereich:	182–185 °C
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺
IR (ATR):	2983 (s, aliph. CH) 1726 (s, COOC ₂ H ₅)
EA:	gef.: C 74,47 %; H 6,25 %; N 2,83 % ber.: C 74,83 %; H 6,28 %; N 2,81 %

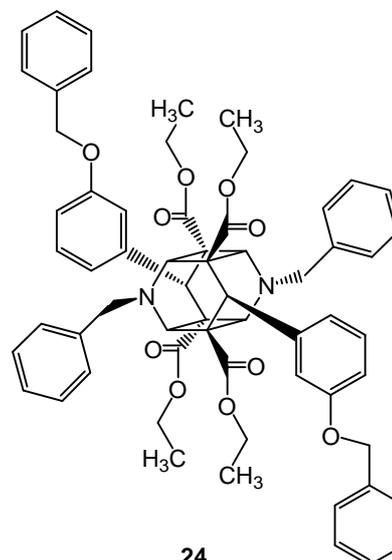
**23**

¹ H-NMR:	δ [ppm, CDCl ₃ , 400 MHz]: 0,98 (t, 12 H, ³ J _{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 3,96 (q, 8 H, ³ J _{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH ₂ -CH ₃); 4,21 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,24 (s, 4 H, 2-,4-,8-,12-H); 4,45 (s, 4 H, N-CH ₂); 4,98 (s, 4 H, O-CH ₂ -C ₆ H ₅); 6,67 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des Ph); 7,12 (m, 4 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des Ph); 7,23–7,41 (m, 20 H, Ar-H des N-Bn, Ar-H des O-Bn)
---------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(3-benzyloxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-
[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (24)**

Die Verbindung **24** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **16** in Form weißer Kristalle erhalten.

Summenformel:	C ₆₂ H ₆₂ N ₂ O ₁₀
Molare Masse:	995,16 g/mol
Ausbeute:	46 %
Schmelzbereich:	169–178 °C
MS (ESI, m/z):	M+H ⁺
IR (ATR):	2977 (m, aliph. CH) 1725 (s, COOC ₂ H ₅)

**24**

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 500 MHz]: 0,97 (t, 12 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 3,97 (q, 8 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 4,25 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,27 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,46 (s, 4 H, N-CH_2); 4,88 (s, 4 H, $\text{O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$); 6,72 („d“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,7$ Hz, 4-H des Ph); 6,80 („d“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,7$ Hz, 6-H des Ph); 6,96 („s“, 2 H, 2-H des Ph); 6,99 („t“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,7$ Hz, 5-H des Ph); 7,17–7,35 (m, 20 H, Ar-H des *N*-Bn, Ar-H des *O*-Bn)

**Tetraethyl-3,9-bis(3-benzyloxybenzyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo-
[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (25)**

Die Verbindung **25** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **17** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{62}\text{H}_{62}\text{N}_2\text{O}_{10}$

Molare Masse: 995,16 g/mol

Ausbeute: 45 %

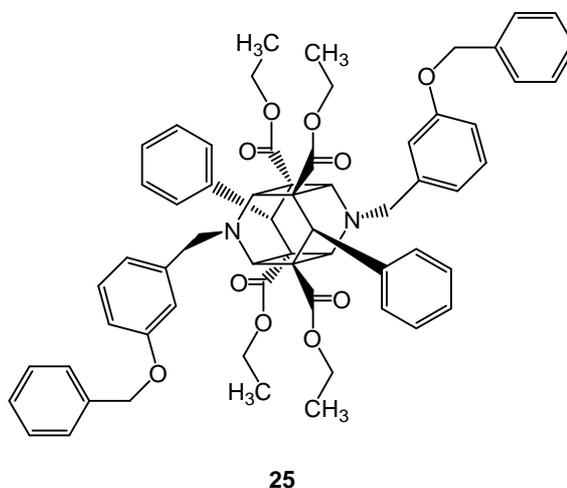
Schmelzbereich: 119–126 °C

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{H}^+$

IR (ATR): 2981 (m, aliph. CH)
1725 (s, COOC_2H_5)

EA: gef.: C 74,81 %; H 6,31 %; N 2,80 %
ber.: C 74,83 %; H 6,28 %; N 2,81 %

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, DMSO-d_6 , 400 MHz]: 0,93 (t, 12 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 3,92 (q, 8 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 4,17 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,27 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,44 (s, 4 H, N-CH_2); 4,77 (s, 4 H, $\text{O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$); 6,87–6,90 (m, 4 H, 2-,4-H des *N*-Bn); 7,06–7,22 (m, 10 H, 3-,4-,5-H des Ph, 5-,6-H des *N*-Bn); 7,30–7,38 (m, 14 H, 2-,6-H des Ph, Ar-H des *O*-Bn)



Tetraethyl-3,9-bis(4-benzyloxybenzyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (26)

Die Verbindung **26** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **18** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: C₆₂H₆₂N₂O₁₀

Molare Masse: 995,16 g/mol

Ausbeute: 10 %

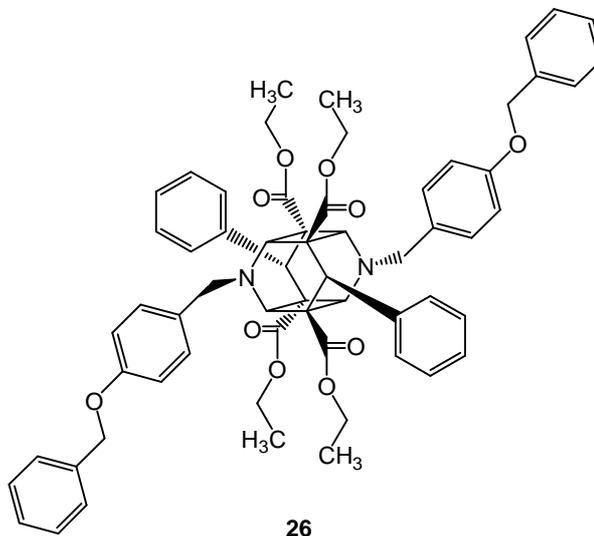
Schmelzbereich: 165–175 °C

MS (ESI, m/z): M+Na⁺

IR (ATR): 2982 (m, aliph. CH)
2928 (m, aliph. CH)
2854 (m, aliph. CH)
1732 (s, COOC₂H₅)

EA: gef.: C 74,47 %; H 6,31 %; N 2,79 %
ber.: C 74,83 %; H 6,28 %; N 2,81 %

¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 500 MHz]: 0,97 (t, 12 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 3,96 (q, 8 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,25 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,26 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,40 (s, 4 H, N-CH₂); 5,03 (s, 4 H, O-CH₂-C₆H₅); 6,88 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des N-Bn); 7,03–7,10 (m, 6 H, 3-,4-,5-H des Ph); 7,18–7,25 (m, 8 H, 5-H des Ph, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des N-Bn); 7,29–7,45 (m, 10 H, Ar-H des O-Bn)



Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(4-pyridyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (27)

Die Verbindung **27** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **10** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: C₄₆H₄₈N₄O₈

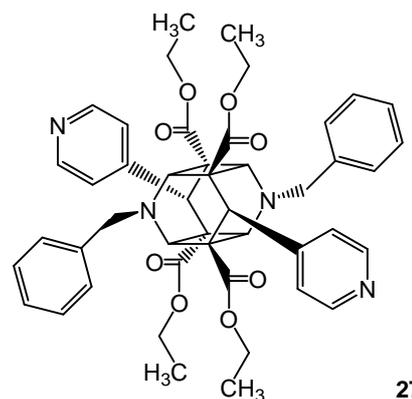
Molare Masse: 784,90 g/mol

Ausbeute: 13 %

Schmelzbereich: 225–233 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

IR (ATR): 2923 (m, aliph. CH)
1728 (s, COOC₂H₅)



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 0,96 (t, 12 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 3,95 (q, 8 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,26 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,27 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,47 (s, 4 H, N- CH_2); 7,19–7,29 (m, 14 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des Pyr, Ar-H des *N*-Bn); 8,20 (m, 4 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des Pyr)

Tetraethyl-3,9-dibenzyl-6,12-bis(3-pyridyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (28)

Die Verbindung **28** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **9** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_8$

Molare Masse: 784,90 g/mol

Ausbeute: < 10 %

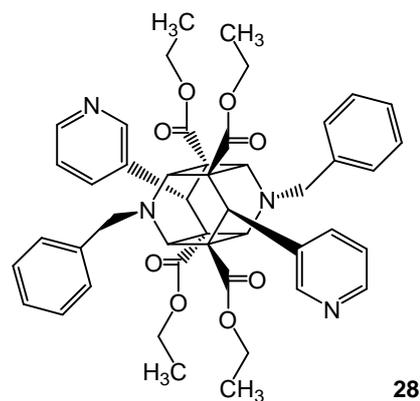
Schmelzbereich: 209–217 °C

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{H}^+$

IR (ATR): 2986 (m, aliph. CH)
1726 (s, COOC_2H_5)

EA: gef.: C 70,07 %; H 6,13 %; N 7,11 %
ber.: C 70,39 %; H 6,16 %; N 7,14 %

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, CDCl_3 , 400 MHz]: 1,01 (t, 12 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,00 (q, 8 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 4,27 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,28 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,45 (s, 4 H, N- CH_2); 6,97 (m, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Pyr}} = 5,0$ Hz, $^3J_{\text{Ar-H des Pyr}} = 8,0$ Hz, 5-H des Pyr); 7,27–7,32 (m, 10 H, Ar-H des *N*-Bn); 7,58 („d“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Pyr}} = 8,0$ Hz, 4-H des Pyr); 8,36 („d“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Pyr}} = 5,0$ Hz, 6-H des Pyr); 8,42 („s“, 2 H, 2-H des Pyr)



28

Tetraethyl-6,12-diphenyl-3,9-bis(3-picolyl)-3,9diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (29)

Die Verbindung **29** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **8** in Form weißer Kristalle erhalten.

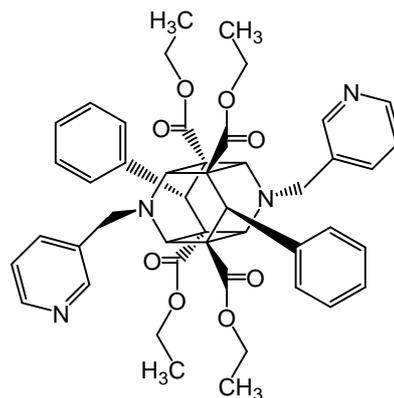
Summenformel: $\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_8$

Molare Masse: 784,90 g/mol

Ausbeute: 49 %

Schmelzbereich: 249–250 °C

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{H}^+$



29

IR (ATR): 2986 (m, aliph. CH)
1720 (s, COOC₂H₅)

¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 400 MHz]: 0,97 (t, 12 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 3,99 (q, 8 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, O-CH₂-CH₃); 4,24 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,25 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,48 (s, 4 H, N-CH₂); 7,10–7,20 (m, 12 H, ³J_{Ar-H des N-Pic} = 4,6 Hz, ³J_{Ar-H des N-Pic} = 7,3 Hz, 5-H des N-Pic, Ar-H des Ph); 7,59 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des N-Pic} = 7,3 Hz, 4-H des N-Pic); 8,51 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des N-Pic} = 4,6 Hz, 6-H des N-Pic); 8,55 („d“, 2 H, 2-H des N-Pic)

Tetramethyl-6,12-diphenyl-3,9-bis(4-picolyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat (30)

Die Verbindung **30** wurde durch Lösungsdimerisierung (nach AAV 3) aus **7** in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: C₄₂H₄₀N₄O₈

Molare Masse: 728,79 g/mol

Ausbeute: 83 %

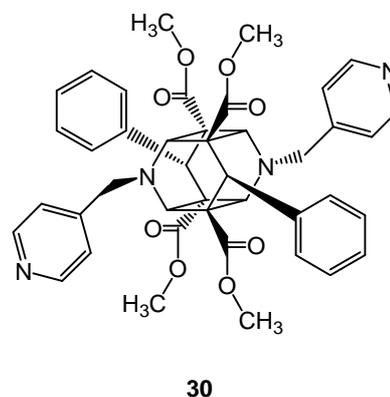
Schmelzbereich: 255–262 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

IR (ATR): 2951 (w, aliph. CH)
1728 (s, COOCH₃)

EA: gef.: C 69,19 %; H 5,55 %; N 7,65 %
ber.: C 69,22 %; H 5,53 %; N 7,69 %

¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 400 MHz]: 3,54 (s, 12 H, O-CH₃); 4,24 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 4,25 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,48 (s, 4 H, N-CH₂); 7,11–7,15 (m, 14 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des N-Pic, Ar-H des Ph); 8,48 (m, 4 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des N-Pic)



7.2.5 Synthese der Zielverbindungen

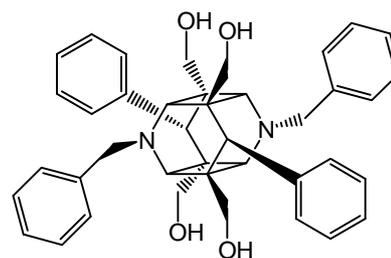
7.2.5.1 Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (31)

Die Substanz **31** wurde freundlicherweise von A. Hilgeroth zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein (Hilgeroth, 2000).

Summenformel: C₄₀H₄₂N₂O₄

Molare Masse: 614,77 g/mol



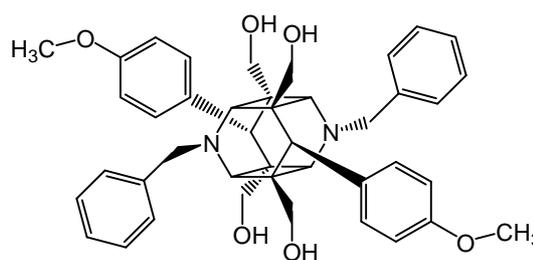
31

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakis(4-methoxymethyl)-6,12-bis(4-methoxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (32)

Die Verbindung **32** wurde nach AAV 4 aus **19** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein (Hilgeroth, 2000).

Summenformel: C₄₂H₄₆N₂O₆

Molare Masse: 674,82 g/mol



32

1,5,7,11-Tetrakishydroxymethyl-3,9-bis(4-methoxybenzyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (33)

Die Verbindung **33** wurde nach AAV 4 aus **20** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₄₂H₄₆N₂O₆

Molare Masse: 674,82 g/mol

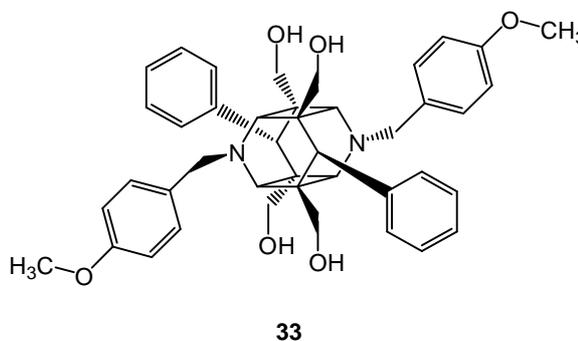
Ausbeute: 55 %

Schmelzbereich: 197–202 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

IR (ATR): 3458 (m, br, OH)
2913 (m, aliph. CH)
1607 (m, arom. C=C)
1512 (m, arom. C=C)

¹H-NMR: δ [ppm, CDCl₃, 400 MHz]: 2,93 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,11 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, ²J_{A/B} = 10,4 Hz, ³J_{CH₂/OH} = 4,5 Hz, CH₂-OH); 3,65 (s, 2 H, 6-,12-H); 3,74 (s, 6 H, O-CH₃); 4,05 (s, 4 H, N-CH₂); 4,40 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, ³J_{OH/CH₂} = 4,5 Hz, CH₂-OH); 6,87 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des N-Bn); 7,00–7,13 (m, 6 H, 3-,4-,5-H des Ph); 7,24–7,27 (m, 6 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des N-Bn, 2-H des Ph); 7,81 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 7,6 Hz, 6-H des Ph)



3,9-Dibenzyl-6,12-bis(4-benzyloxyphenyl)-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (34)

Die Verbindung **34** wurde nach AAV 4 aus **23** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₅₄H₅₄N₂O₆

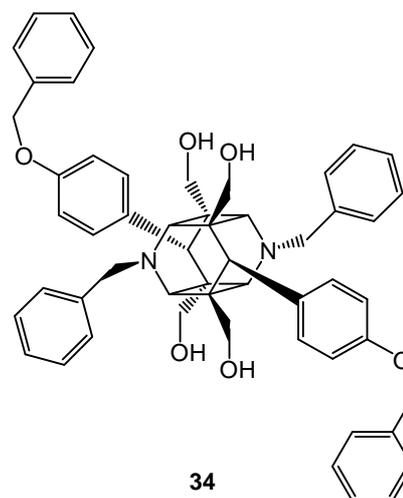
Molare Masse: 827,02 g/mol

Ausbeute: 66 %

Schmelzbereich: 245–251 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

IR (ATR): 3445 (s, OH)
3369 (s, OH)
2918 (s, aliph. CH)
2880 (s, aliph. CH)
1607 (m, arom. C=C)
1514 (s, arom. C=C)

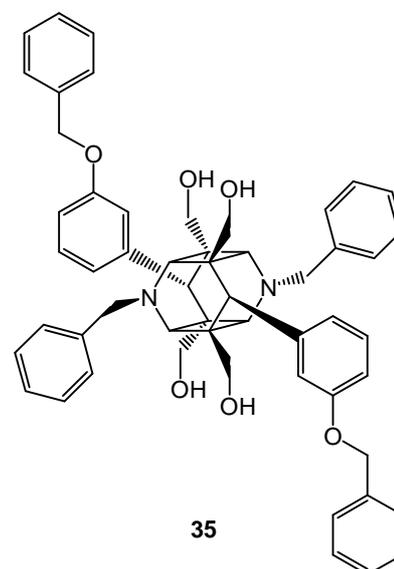


¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,93 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,13 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, ²J_{A/B} = 10,5 Hz, ³J_{CH₂/OH} = 4,5 Hz, CH₂-OH); 3,60 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,10 (s, 4 H, N-CH₂); 4,40 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, ³J_{OH/CH₂} = 4,5 Hz, CH₂-OH); 5,03 (s, 4 H, O-CH₂-C₆H₅); 6,56 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,8 Hz, 5-H des Ph); 6,77 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,3 Hz, 3-H des Ph); 7,19 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,3 Hz, 2-H des Ph); 7,32–7,47 (m, 20 H, Ar-H des *N*-Bn, Ar-H des *O*-Bn); 7,67 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,8 Hz, 6-H des Ph)

3,9-Dibenzyl-6,12-bis(3-benzyloxyphenyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (35)

Die Verbindung **35** wurde nach AAV 4 aus **24** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₅₄H₅₄N₂O₆
 Molare Masse: 827,02 g/mol
 Ausbeute: 29 %
 Schmelzbereich: 111–117 °C
 MS (ESI, m/z): M+Na⁺



¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,95 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,15 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, CH₂-OH); 3,68 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,17 (s, 4 H, N-CH₂); 4,44 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, CH₂-OH); 4,84 (s, 2 H, O-CH₂-C₆H₅); 5,01 (s, 2 H, O-CH₂-C₆H₅); 6,71 („d“, 1 H, ³J_{4-/5-H des Ph¹} = 10,8 Hz, 4-H des Ph¹); 6,78 („d“, 1 H, ³J_{4-/5-H des Ph²} = 10,8 Hz, 4-H des Ph²); 6,96 („s“, 1 H, 2-H des Ph¹); 7,04 (m, 3 H, 2-H des Ph², 5-H des Ph¹ und Ph²); 7,20–7,45 (m, 21 H, 6-H des Ph¹, Ar-H des *N*-Bn, Ar-H des *O*-Bn.); 7,63 („d“, 1 H, ³J_{6-/5-H des Ph²} = 8,7 Hz, 6-H des Ph²)

3,9-Bis(3-benzyloxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (36)

Die Verbindung **36** wurde nach AAV 4 aus **25** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₅₄H₅₄N₂O₆

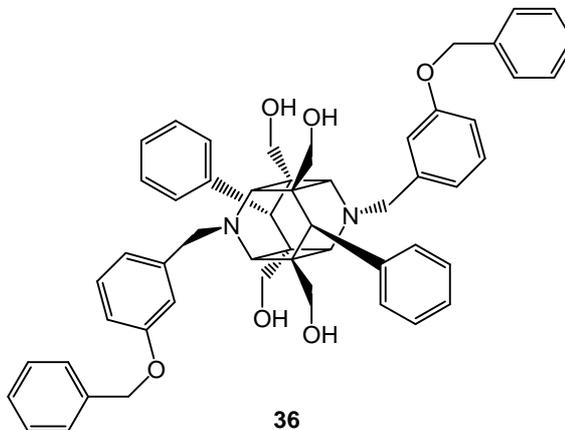
Molare Masse: 827,02 g/mol

Ausbeute: 69 %

Schmelzbereich: 219–225 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,96 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,16 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, ²J_{A/B} = 10,4 Hz, ³J_{CH₂/OH} = 4,4 Hz, CH₂-OH); 3,65 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,12 (s, 4 H, N-CH₂); 4,50 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, ³J_{OH/CH₂} = 4,4 Hz, CH₂-OH); 4,91 (s, 4 H, O-CH₂-C₆H₅); 6,85 („dd“, 2 H, ³J_{Ar-H des N-Bn} = 8,0 Hz, ⁴J_{Ar-H des N-Bn} = 2,4 Hz, 4-H des N-Bn); 6,89 („dd“, 2 H, ³J_{Ar-H des N-Bn} = 7,6 Hz, ⁴J_{Ar-H des N-Bn} = 2,4 Hz, 6-H des N-Bn); 6,95 („s“, 2 H, 2-H des N-Bn); 7,00–7,12 (m, 6 H, 3-,4-,5-H des Ph); 7,21 („t“, 2 H, ³J_{Ar-H des N-Bn} = 7,6 Hz, ³J_{Ar-H des N-Bn} = 8,0 Hz, 5-H des N-Bn); 7,28–7,40 (m, 12 H, 2-H des Ph, Ar-H des O-Bn); 7,81 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 7,4 Hz, 6-H des Ph)



3,9-Bis(4-benzyloxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (37)

Die Verbindung **37** wurde nach AAV 4 aus **26** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

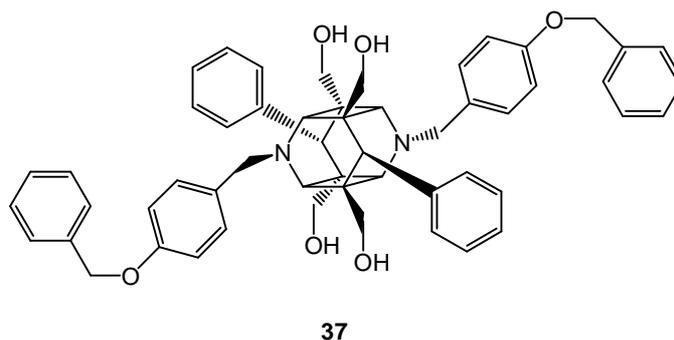
Summenformel: C₅₄H₅₄N₂O₆

Molare Masse: 827,02 g/mol

Ausbeute: 37 %

Schmelzbereich: 225–231 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺



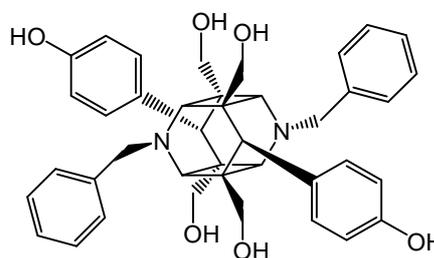
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, DMSO- d_6 , 400 MHz]: 2,91 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,14 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, $^2J_{A/B} = 10,5$ Hz, $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 4,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 3,57 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,03 (s, 4 H, N-CH_2); 4,46 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, $^3J_{\text{OH}/\text{CH}_2} = 4,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 5,08 (s, 4 H, $\text{O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$); 6,93 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des *N*-Bn); 7,03–7,10 (m, 6 H, 3-,4-,5-H des Ph); 7,22–7,24 (m, 6 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 8,6$ Hz, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des *N*-Bn, 2-H des Ph); 7,31–7,45 (m, 10 H, Ar-H des *O*-Bn); 7,76 („d“, 2 H $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 8,3$ Hz, 6-H des Ph)

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-6,12-bis(4-hydroxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (38)

Die Verbindung **38** lässt sich nach AAV 4 (Reaktionsdauer 48 Stunden) aus **23** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran herstellen. Die Verbindung war über diesen Syntheseschritt grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht sauber und rein isoliert werden. Eine Trennung vom Nebenprodukt **34**, das bei dieser Reaktion parallel entstanden ist, gelang nicht. Die Verbindung **38** konnte aber aus **34** über einen weiteren Reaktionsschritt, der Methoden der Debenzylierung beinhaltet, dargestellt werden (Kapitel 3.4.2 und 7.2.5.2).

Summenformel: $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6$

Molare Masse: 646,77 g/mol



38

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-6,12-bis(3-hydroxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (39)

Die Verbindung **39** wurde nach AAV 4 (Reaktionsdauer 48 Stunden) aus **24** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und nach fraktionierter Kristallisation als weißer Feststoff erhalten. Eine Trennung vom Nebenprodukt **35**, das bei dieser Reaktion parallel entstanden ist, gelang durch fraktionierte Kristallisation.

Summenformel: C₄₀H₄₂N₂O₆

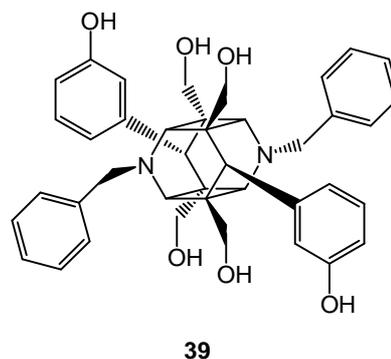
Molare Masse: 646,77 g/mol

Ausbeute: 12 %

Schmelzbereich: 179–184 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,91 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,13 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, CH₂-OH); 3,60 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,16 (s, 4 H, N-CH₂); 4,38 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, CH₂-OH); 6,44 („d“, 1 H, ³J_{4-/5-H des Ph¹} = 8,1 Hz, 4-H des Ph¹); 6,51 („d“, 1 H, ³J_{4-/5-H des Ph²} = 8,1 Hz, 4-H des Ph²); 6,71–6,76 (m, 2 H, 5-H des Ph¹ und Ph²); 7,21 („d“, 1 H, ³J_{6-/5-H des Ph¹} = 7,6 Hz, 6-H des Ph¹); 7,29–7,32 (m, 11 H, Ar-H des N-Bn, 2-H des Ph¹); 7,39 („d“, 1 H, ³J_{6-/5-H des Ph²} = 7,6 Hz, 6-H des Ph²); 7,46 („s“, 1 H, 2-H des Ph²); 8,78 (s, 1 H, C₆H₄-OH); 8,87 (s, 1 H, C₆H₄-OH)



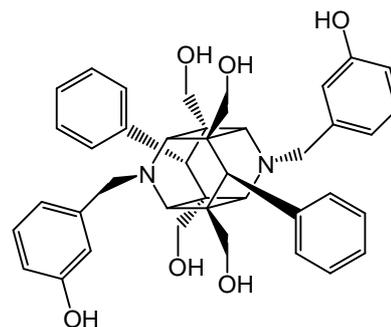
39

3,9-Bis(3-hydroxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (40)

Die Verbindung **40** lässt sich nach AAV 4 (Reaktionsdauer 48 Stunden) aus **25** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran herstellen. Die Verbindung war synthetisch grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht sauber und rein einzeln isoliert werden. Eine Trennung vom Nebenprodukt **36**, das bei dieser Reaktion parallel entstanden ist, gelang nicht. Folglich stand die Verbindung für die Bestimmung von zuverlässigen spektroskopischen Messdaten nicht zur Verfügung.

Summenformel: C₄₀H₄₂N₂O₆

Molare Masse: 646,77 g/mol



40

3,9-Bis(4-hydroxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (41)

Die Verbindung **41** wurde nach AAV 4 (Reaktionsdauer 48 Stunden) aus **26** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und nach fraktionierter Kristallisation als weißer Feststoff erhalten. Eine Trennung vom Nebenprodukt **37**, das bei dieser Reaktion parallel entstanden ist, gelang durch fraktionierte Kristallisation.

Summenformel: C₄₀H₄₂N₂O₆

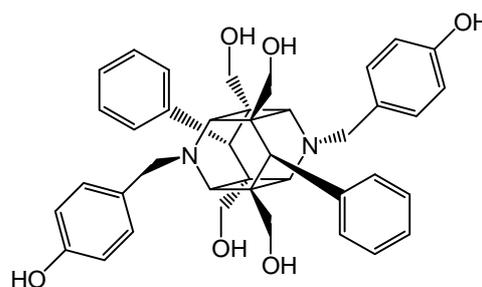
Molare Masse: 646,77 g/mol

Ausbeute: 25 %

Schmelzbereich: 241–246 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,90 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,10 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, CH₂-OH); 3,65 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,00 (s, 4 H, N-CH₂); 4,40 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, CH₂-OH); 6,68 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des N-Bn); 6,94–7,01 (m, 2 H, 3-H des Ph); 7,05 („t“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 7,2 Hz, 4-H des Ph); 7,09–7,14 (m, 6 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des N-Bn, 5-H des Ph); 7,24 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 7,0 Hz, 2-H des Ph); 7,83 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 7,6 Hz, 6-H des Ph); 9,17 (s, 2 H, C₆H₄-OH)



41

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakis(4-pyridyl)-6,12-bis(4-hydroxymethyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (42)

Die Verbindung **42** wurde nach AAV 4 aus **27** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und in Form farbloser Kristalle erhalten.

Summenformel: C₃₈H₄₀N₄O₄

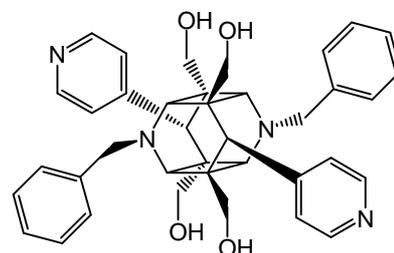
Molare Masse: 616,75 g/mol

Ausbeute: 55 %

Schmelzbereich: 228–237 °C

MS (ESI, m/z): M+H⁺

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,94 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,11 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, CH₂-OH); 3,64 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,11 (s, 4 H, N-CH₂); 4,41 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, CH₂-OH); 7,21–7,30 (m, 12 H, Ar-H des N-Bn, 2-H des Pyr); 7,76 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Pyr} = 7,6 Hz, 6-H des Pyr); 8,28 („d“, 4 H, ³J_{Ar-H des Pyr} = 7,6 Hz, 3-,5-H des Pyr)

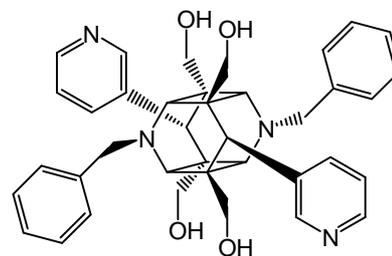


42

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-6,12-bis(3-pyridyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (43)

Die Verbindung **43** wurde nach AAV 4 aus **28** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als hellgelber Feststoff erhalten.

Summenformel: C₃₈H₄₀N₄O₄
 Molare Masse: 616,75 g/mol
 Ausbeute: < 10 %
 Schmelzbereich: über 300 °C Zersetzung
 MS (ESI, m/z): M+H⁺

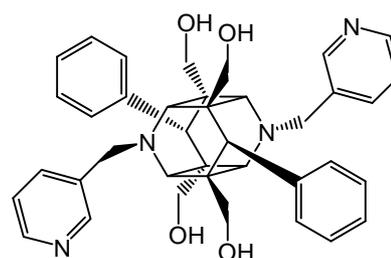
**43**

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 400 MHz]: 2,95 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,09 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, CH₂-OH); 3,71 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,13 (s, 4 H, N-CH₂); 4,52 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, CH₂-OH); 6,86 („s“, 2 H, 5-H des Pyr); 7,19–7,37 (m, 10 H, Ar-H des *N*-Bn); 7,68 (m, 2 H, 4-H des Pyr); 8,05 (m, 2 H, 6-H des Pyr); 8,29 („s“, 2 H, 2-H des Pyr)

1,5,7,11-Tetrakishydroxymethyl-6,12-diphenyl-3,9-bis(3-picolyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (44)

Die Verbindung **44** wurde nach AAV 4 aus **29** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und in Form weißer Kristalle erhalten.

Summenformel: C₃₈H₄₀N₄O₄
 Molare Masse: 616,75 g/mol
 Ausbeute: 68 %
 Schmelzbereich: 280–291 °C
 MS (ESI, m/z): M+H⁺
 IR (ATR): 3163 (s, br, OH)
 2929 (m, aliph. CH)
 1662 (m, arom. C=C und C=N)
 1548 (m, arom. C=C und C=N)

**44**

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 400 MHz]: 2,95 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,15 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, ²J_{A/B} = 10,5 Hz, ³J_{CH₂/OH} = 4,4 Hz, CH₂-OH); 3,67 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,14 (s, 4 H, N-CH₂); 4,52 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, ³J_{OH/CH₂} = 4,4 Hz, CH₂-OH); 6,96 („t“, 2 H, ³J_{Ar-H des *N*-Pic} = 5,0 Hz, ³J_{Ar-H des *N*-Pic} = 7,2 Hz, 5-H des *N*-Pic); 7,04–7,15 (m, 6 H, 3-,4-,5-H des Ph); 7,29 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 7,9 Hz, 2-H des Ph); 7,66 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des *N*-Pic} = 7,2 Hz, 4-H des *N*-Pic); 7,71 („d“,

2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 8,1 \text{ Hz}$, 6-H des Ph); 8,45 („d“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des N-Pic}} = 5,0 \text{ Hz}$, 6-H des N-Pic); 8,51 („s“, 2 H, 2-H des N-Pic)

1,5,7,11-Tetrakishydroxymethyl-6,12-diphenyl-3,9-bis(4-picolyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (45)

Die Verbindung **45** wurde nach AAV 4 aus **30** und Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_4$

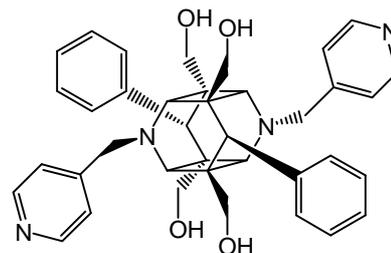
Molare Masse: 616,75 g/mol

Ausbeute: 65 %

Schmelzbereich: 291–296 °C

MS (ESI, m/z): $\text{M}+\text{H}^+$

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm, DMSO- d_6 , 400 MHz]: 2,94 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,16 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 3,66 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,17 (s, 4 H, N- CH_2); 4,53 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 7,00–7,17 (m, 8 H, 2-,3-,4-,5-H des Ph); 7,30 (m, 4 H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems 2-,6-H des N-Pic); 7,70 („d“, 2 H, $^3J_{\text{Ar-H des Ph}} = 7,5 \text{ Hz}$, 6-H des Ph); 8,48 (m, 4 H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems 3-,5-H des N-Pic)



45

7.2.5.2 Versuche der Debenzylierung

3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-bis(4-hydroxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0^{2,7}.0^{4,11}.0^{5,10}]dodecan (38)

Die Verbindung **38** wurde nach einer Vorschrift von *Kiso et al.* (1980) aus **34** und Thioanisol in Trifluoressigsäure als gelbes, dickflüssiges Öl erhalten. Nach Aufarbeitung des Reaktionsansatzes kristallisierte das Produkt aus Methanol zu gelben Prismen.

Summenformel: C₄₀H₄₂N₂O₆

Molare Masse: 646,77 g/mol

Ausbeute: 32 %

Schmelzbereich: 245–252 °C

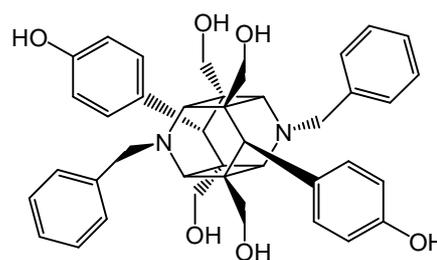
MS (ESI, m/z): M+H⁺

IR (ATR): 3330 (m, br, aliph. OH)

3188 (m, br, arom. OH)

2933 (w, aliph. CH)

¹H-NMR: δ [ppm, DMSO-d₆, 500 MHz]: 2,90 (s, 4 H, 2-,4-,8-,10-H); 3,13 (AB-Teil des ABX-Systems, 8 H, ²J_{A/B} = 10,5 Hz, ³J_{CH₂/OH} = 4,5 Hz, CH₂-OH); 3,52 (s, 2 H, 6-,12-H); 4,09 (s, 4 H, N-CH₂); 4,34 (X-Teil des ABX-Systems, 4 H, ³J_{OH/CH₂} = 4,5 Hz, CH₂-OH); 6,35 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,6 Hz, 5-H des Ph); 6,49 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,2 Hz, 3-H des Ph); 7,03 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,2 Hz, 2-H des Ph); 7,23–7,30 (m, 10 H, Ar-H des *N*-Bn); 7,54 („d“, 2 H, ³J_{Ar-H des Ph} = 8,6 Hz, 6-H des Ph); 8,87 (s, 2 H, C₆H₄-OH)

**38**

8 Literaturverzeichnis

- Akimoto K., Kurosaka K., Nakagawa H., Sugimoto I., *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 1483-1490
- Aristoff P.A., *Drugs Fut.* **1998**, *23*, 995-999
- [a] Becker H.G.O., Berger W., Doschke G., Fanghänel E., Faust J., Fischer M., Gentz F., Grewald K., Gluch R., Mayer R., Müller K., Pavel D., Schmidt H., Schollberg K., Schwetlick K., Seiler E., Zeppenfeld G., *Organikum 1996, Johann Ambrosius Barth Verlag Heidelberg & Leipzig, 20. Auflage*, 470-471
- [b] *am anderen Ort*, 535-539
- [c] *am anderen Ort*, 685-708
- Berson J.A., Brown E., *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 447-450
- Beyer C., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 1662-1670
- Bhatt M.V., Kulkarni S.U., *Synthesis* **1983**, 249-282
- Bieg T., Szeja W., *Synthesis* **1985**, 76-77
- Bohlmann F., Bohlmann M., *Chem. Ber.* **1953**, *86*, 1419-1423
- Bondi A., *J. Phys. Chem.* **1964**, *68*, 441-451
- Bouveault L., Blanc G., *Bull. Soc. Chim. France* **1904**, *31*, 1213-1215
- Brieger G., Nestrick T.J., *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 567-580
- Brinkman K., Smeitink J.A., Romijn J.A., Reiss P., *Lancet* **1999**, *354*, 1112-1115
- Cameron D.W., Heath-Chiozzi M., Danner S., Cohen C., Kravcik S., Maurath C., Sun E., Henry D., Rode R., Potthoff A., Leonard J., *Lancet* **1998**, *351*, 543-549
- CCDC, Cambridge Crystallographic Data Center Nummer 251544 (**13**) und 251545 (**14**) beinhalten die vollständigen kristallographischen Daten für diese Verbindungen (**2005**). Die Daten können entweder kostenfrei von der Homepage heruntergeladen werden (www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html) oder über das Cambridge Crystallographic Data Center, 12, Union Road, Cambridge CB2 1EZ, United Kingdom, (Fax: +44 1223 336033) bezogen werden.
- Chekavichus B.S., Sausin A.E., Dubur G.Y., *Khim. Geterotsikl. Soedin.* **1982**, *8*, 1072-1077; englisch: *Chem. Heterocycl. Comp.* **1982**, *18*, 818-823
- Chennat T., Eisner U., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1975**, *10*, 926-929
- Cohen M.D., Schmidt G.M.J., *J. Chem. Soc.* **1964**, 1996-2000
- Cohen M.D., Schmidt G.M.J., Sonntag F.I., *J. Chem. Soc.* **1964**, 2000-2013

- CONCORDE-Studie, CONCORDE Coordinating Committee, *Lancet* **1994**, *343*, 871-881
- Darke P.L., Nutt R.F., Brady S.F., Garsky V.M., Ciccarone T.M., Leu C.T., Lumma P.K., Freidinger R.M., Veber D.F., Sigal I.S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *156*, 297-303
- DAZ, *Neue Arzneimittel* **1996**, *43*
- DELTA-Studie, DELTA Coordinating Committee, *Lancet* **1994**, *343*, 283-291
- De Lucca G.V., Lam P.Y.S., *Drugs Fut.* **1998**, *23*, 987-994
- Deray G., Bochet M., Katlama C., Bricaire F., *Presse Med.* **1998**, *35*, 1801-1803
- Ebel S., Schütz H., Hornitschek A., *Arzneim.-Forsch. / Drug Res.* **1978**, *28*, 2188-2193
- Entwistle I.D., Johnstone R.A.W., Whitby A.H., *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 129-170
- Eron J.J.Jr., *Clin. Infect. Dis.* **2000**, *30*, Supplement 2, 160-170
- Fachinformation Invirase[®], Roche, Stand: Mai **2007**
- Fachinformation Crixivan[®], Merck Sharp & Dohme, Stand: Mai **2007**
- Felix A.M., Heimer E.P., Lambros T.J., Tzougraki C., Meienhofer J., *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4194-4196
- Fossheim R., Joslyn A., Solo A.J., Luchowski E., Rutledge A., Triggle D.J., *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 300-305
- Freifelder M., *Catalytic Hydrogenation in Organic Synthesis* **1978**, John Wiley & Sons, Inc., New York, 109ff
- Freudenreich C., Samama J.P., Biellmann J.F., *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3344-3353
- Fuji K., Ichikawa K., Node M., Fujita E., *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1661-1664
- Galli M., Ridolfo A.L., Adorni F., Gervasoni C., Ravasio L., Corsico L., Gianelli E., Piazza M., Vaccarezza M., d'Arminio Monforte A., Moroni M., *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2002**, *29*, 21-31
- Geoghegan K.F., Spencer R.W., Danley D.E., Contillo L.G. Jr., Andrews G.C., *FEBS Lett.* **1990**, *262*, 119-122
- Ghosh A.K., Thompson W.J., Fitzgerald P.M.D., Culberson J.C., Axel M.G., McKee S.P., Huff J.R., Anderson P.S., *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2506-2508
- Green T.W., Wuts P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis* **1991**, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2nd Edition, 143ff
- Hammer S.M., Katzenstein D.A., Hughes M.D., Gundacker H., Schooley R.T., Haubrich R.H., Henry W.K., Lederman M.M., Phair J.P., Niu M., Hirsch M.S., Merigan T.C., *N. Engl. J. Med.* **1996**, *335*, 1081-1090

- Hammer S.M., Squires K.E., Hughes M.D., Grimes J.M., Demeter L.M., Currier J.S., Eron J.J.Jr., Feinberg J.E., Balfour H.H.Jr., Deyton L.R., Chodakewitz J.A., Fischl M.A., *N. Engl. J. Med.* **1997**, *337*, 725-733
- Hanessian S., Liak T.J., Vanasse B., *Synthesis* **1981**, 396-397
- Hantzsch A., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 1512-1522
- [a] Hantzsch A., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 1744-1749
- [b] Hantzsch A., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 2579-2586
- Hantzsch A., *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1882**, *215*, 1-82
- Hartmann M., *Dissertation* **2005**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Henderson P.J.F., *Biochem. J.* **1972**, *127*, 321-333
- Hicks C.B., Cahn P., Cooper D.A., Walmsley S.L., Katlama C., Clotet B., Lazzarin A., Johnson M.A., Neubacher D., Mayers D., Valdez H., *Lancet* **2006**, *368*, 466-475
- Hilgeroth A., Baumeister U., Heinemann F.W., *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1213-1218
- Hilgeroth A., Baumeister U., Heinemann F.W., *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 245-249
- [a] Hilgeroth A., Baumeister U., Heinemann F.W., *J. Mol. Struct.* **1999**, *474*, 267-274
- [b] Hilgeroth A., Hempel G., Baumeister U., Reichert D., *Solid State Nucl. Mag. Res.* **1999**, *13*, 231-243
- [c] Hilgeroth A., Fleischer R., Wiese M., Heinemann F.W., *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1999**, *13*, 233-242
- [d] Hilgeroth A., Wiese M., Billich A., *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4729-4732
- Hilgeroth A., *Dissertation* **1994**, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- Hilgeroth A., *Habilitation* **2000**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Hilgeroth A., Heinemann F.W., *J. Heterocyclic Chem.* **1998**, *35*, 359-364
- Hilgeroth A., Langner A., *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2000**, *333*, 32-34
- Hilgeroth A., *Min. Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 235-245
- Hinkel L.E., et al., *J. Chem. Soc.* **1931**, S. 1835-1841
- Hodge C.N., Aldrich P.E., Bacheler L.T., Chang C.-H., Eyermann C.J., Garber S., Grubb M., Jackson D.A., Jadhav P.K., Korant B., Lam P.Y.S., Maurin M.B., Meek J.L., Otto M.J., Rayner M.M., Reid C., Sharpe T.R., Shum L., Winslow D.L., Erickson-Viitanen S., *Chemistry & Biology* **1996**, *3*, 301-314
- Hoffmann C., Rockstroh J., Kamps B., *HIV.NET* **2007**, *Steinhäuser Verlag*, (www.hiv.net)
- Hori H., Nishida Y., Ohru H., Meguro H., *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1346-1353
- Huang P.P., Randolph J.T., Klein L.L., Vasavanonda S., Dekhtyar T., Stoll V.S., Kempf D.J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4075-4078

- Hyland L.J., Tomaszek T.A.Jr., Dayton B.D., Moore M.L., Magaard V.W., Huffman W.F., Heys J.R., Shu A.Y.L., Metcalf B.W., Meek T.D., *Abstr. 2nd Int. Conf. Drug Res. Immunologic and Infectious Disease. AIDS.*, **1989**, *New York Acad. Sci.*, 1-20
- Johnston A.G., Leigh D.A., Murphy A., Smart J.P., *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1996**, *105*, 721-727
- Juday R., Adkins H., *J. Amer. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 4559-4563
- Kempf D.J., Isaacson J.D., King M.S., Brun S.C., Sylte J., Richards B., Bernstein B., Rode R., Sun E., *Antiviral Therapy* 2002, *7*, 165-174
- Kiso Y., Isawa H., Kitagawa K., Akita T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1978**, *26*, 2562-2564
- Kiso Y., Ukawa K., Nakamura S., Ito K., Akita T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1980**, *28*, 673-676
- Klinker H., *Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)*, in: *HIV und AIDS 2001*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg & New York, 4. Auflage, 47ff (www.hivleitfaden.de)
- Knoevenagel E., Ruschhaupt W., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1898**, *31*, 1025-1033
- Kocienski P.J., *Protecting Groups 1994*, Georg Thieme Verlag Stuttgart & New York, 1. Auflage, 46ff
- Lam P.Y.S., Jadhav P.K., Eyermann C.J., Hodge C.N., Ru Y., Bacheler L.T., Meek J.L., Otto M.J., Rayner M.M., Wong Y.N., Chang C.-H., Weber P.C., Jackson D.A., Sharpe T.R., Erickson-Viitanen S., *Science* **1994**, *263*, 380-384
- Lam P.Y.S., Ru Y., Jadhav P.K., Aldrich P.E., De Lucca G.V., Eyermann C.J., Chang C.-H., Emmett G., Holler E. R., Daneker W.F., Li L., Confalone P.N., McHugh R.J., Han Q., Li R., Markwalder J.A., Seitz S.P., Sharpe T.R., Bacheler L.T., Rayner M.M., Klabe R.M., Shum L., Winslow D.L., Kornhauser D.M., Jackson D.A., Erickson-Viitanen S., Hodge N., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3514-3525
- Lode H., Stahlmann R., *Zeitschr. Chemother.* **2006**, *2*, 1ff (www.zct-berlin.de)
- Lode H., Stahlmann R., *Zeitschr. Chemother.* **2007**, *2*, 1ff (www.zct-berlin.de)
- Lusis V.K., Dubur G.Y., *Khim. Geterotsikl. Soedin.* **1982**, *8*, 1067-1071; englisch: *Chem. Heterocycl. Comp.* **1982**, *18*, 813-818
- Matayoshi E.D., Wang G.T., Krafft G.A., Erickson J., *Science* **1990**, *247*, 954-958
- Mellors J.W., Rinaldo C.R.Jr., Gupta P., White R.M., Todd J.A., Kingsley L.A., *Science* **1996**, *272*, 1167-1170
- Mignonac G., *Compt. rend.* **1920**, *171*, 114
- MOE, Molecular Operating Environment Program, Version 2004.03, Chemical Computing Group Corporation, Montreal, Quebec, Kanada, **2004**

- Moore M.L., Bryan W.M., Fakhoury S.A., Magaard V.W., Huffman W.F., Dayton B.D., Meek T.D., Hyland L., Dreyer G.B., Metcalf B.W., Strickler J.E., Gorniak J.G., Debouck C., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *159*, 420-425
- Mosthaf F., *Antiretrovirale Therapie*, in: *HIV und AIDS 2001*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg & New York, 4. Auflage, 29ff (www.hivleitfaden.de)
- Moyle G., Gazzard B., *Drugs* **1996**, *51*, 701-712
- Nashed N.T., Louis J.M., Sayer J.M., Wondrak E.M., Mora P.T., Oroszlan S., Jerina D.M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *163*, 1079-1085
- Navia M.A., Fitzgerald P.M.D., McKeever B.M., Leu C.-T., Heimbach J.C., Herber W.K., Sigal I.S., Darke P.L., Springer J.P., *Nature* **1989**, *337*, 615-620
- Neufert C., *Dissertation 2003*, Alexander von Humboldt-Universität Berlin
- Nolan D., *Drugs* **2003**, *63*, 2555-2574
- Nugiel D.A., Jacobs K., Cornelius L., Chang C.-H., Jadhav P.K., Holler E.R., Klabe R.M., Bacheler L.T., Cordova B., Garber S., Reid C., Logue K.A., Gorey-Feret L.J., Lam G.N., Erickson-Viitanen S., Seitz S.P., *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1465-1474
- Nugiel D.A., Jacobs K., Worley T., Patel M., Kaltenbach R.F., Meyer D.T., Jadhav P.K., De Lucca G.V., Smyser T.E., Klabe R.M., Bacheler L.T., Rayner M.M., Seitz S.P., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2156-2169
- Oldfield V., Keating G.M., Plosker G., *Drugs* **2005**, *65*, 1139-1160
- Overman L.E., Fukaya C., *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1454-1456
- Paal C., Gerum J., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1909**, *42*, 1553-1560
- Park M.H., Takeda R., Nakanishi K., *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3823-3824
- Ramamurthy V., Venkatesan K., *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 433-481
- Richards A.D., Phylip L.H., Farmeries W.G., Scarborough P.E., Alvarez A., Dunn B.M., Hirel P.H., Konvalinka J., Strop P., Pavlickova L., Kostka V., Kay J., *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 7733-7736
- Richter M., *Dissertation 2005*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- [a] Rucker G., Neugebauer M., Willems G.G., *Instrumentelle pharmazeutische Analytik 1992*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2. Auflage, 102-108
- [b] *am anderen Ort*, 155-165
- Sausin A.E., Lusic V.K., Dubur G.Y., Beilis Y.I., *Khim. Geterotsykl. Soedin.* **1978**, *11*, 1508-1513; englisch: *Chem. Heterocycl. Comp.* **1978**, *14*, 1226-1231
- Schloßmann K., *Arzneim.-Forsch. / Drug Res.* **1972**, *22*, 60-62
- Schmidt G.M.J., *J. Chem. Soc.* **1964**, 2014-2021

- Schneider J., Kent S.B.H., *Cell* **1988**, *54*, 363-368
- Scholz D., Billich A., Charpiot B., Ettmayer P., Lehr P., Rosenwirth B., Schreiner E., Gstach H., *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3079-3089
- Schwoegler E.J., Adkins H., *J. Amer. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 3499-3502
- Seelmeier S., Schmidt H., Turk V., von der Helm K., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 6612-6616
- Sham H.L., Zhao C., Stewart K.D., Betebenner D.A., Lin S., Park C.H., Kong X.-P., Rosenbrook W.Jr., Herrin T., Madigan D., Vasavanonda S., Lyons N., Molla A., Saldivar A., Marsh K.C., McDonald E., Wideburg N.E., Denissen J.F., Robins T., Kempf D.J., Plattner J.J., Norbeck D.W., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 392-397
- Sheldrick G.M., *Acta Crystallogr.* **1990**, *A46*, 467 (SHELXS-97, Programm zur Auflösung von Kristallstrukturen, Georg-August-Universität Göttingen, 1997)
- Sheldrick G.M., SHELXL-97, Programm zur Verfeinerung von Kristallstrukturen, Georg-August-Universität Göttingen, **1997**
- Spek A.L., *Acta Crystallogr.*, *A46C34*; (PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht-Universität, Utrecht, Niederlande, **2001**)
- Stellbrink H.J., Hawkins D.A., Clumeck N., et al, *Clin. Drug Invest.* **2000**, *20*, 295-307
- Struckmeyer G., *Diplomarbeit* **2001**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Tamburini P.P., Dreyer R.N., Hansen J., Letsinger J., Elting J., Gore-Willse A., Dally R., Hanko R., Osterman D., Kamarack M.E., Yoo-Warren H., *Anal. Biochem.* **1990**, *186*, 363-368
- Thaisrivongs S., Janakiraman M.N., Chong K.T., Tomich P.K., Dolak L.A., Turner S.R., Strohbach J.W., Lynn J.C., Horng M.M., Hinshaw R.R., Watenpaugh K.D., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2400-2410
- Thaisrivongs S., Tomich P.K., Watenpaugh K.D., Chong K.T., Howe J., Yang C.P., Strohbach J.W., Turner S.R., McGrath J.P., Bohanon M.J., Lynn J.C., Mulichak A.M., Spinelli P.A., Hinshaw R.R., Pagano K.F., Moon J.B., Ruwart M.J., Wilkinson K.F., Rush B.D., Zipp G.L., Dalga R.J., Schwende F.J., Howard G.M., Pabury G.E., Toth L.N., Zhao Z., Koeplinger K.A., Kakuk T.J., Cole S.L., Zaya R.M., Piper R.C., Jeffrey P., *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3200-3204
- [a] Thoma K., Klimek E., *Pharm. Ind.* **1985**, *47*, 207-215
- [b] Thoma K., Klimek E., *Pharm. Ind.* **1985**, *47*, 319-327
- Tomaszek T.A.Jr., Magaard V.W., Bryan H.G., Moore M.L., Meek T.D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *168*, 274-280

- Toth M.V., Marshall G.R., *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, *36*, 544-550
- Voigt B.J., *Dissertation* **2007**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Von Braun J., Blessing G., Zobel F., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, *56*, 1988-2001
- Von der Helm K., *Biol. Chem.* **1996**, *377*, 765-774
- Wang E.C., Lin G.J., *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 4047-4050
- Weidner J.R., Roberts R.F., Dunn B.M., *Proc. 11th Am. Peptide Symp.* **1990** (Rivier J. & Marshall G.R., eds.), ESCOM, Leiden, Niederlande, 831-832
- Williams D.R., Brown D.L., Benbow J.W., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1923-1925
- XP/PC, Molecular Graphics Program Package for Display and Analysis of Stereochemical Data, Version 4.2 for MS-DOS, Siemens Analytical X-ray Instruments, Inc., Madison, Washington, USA, **1990**
- Zeisel S., *Monatsh. Chem.* **1885**, *6*, 989-997
- Zeisel S., *Monatsh. Chem.* **1886**, *7*, 406-409

Liste der Veröffentlichungen, Vorträge und Poster

Publikationen

J. Wollmann, U. Baumeister, A. Hilgeroth

Topochemical characterization of photostable 4-hydroxyaryl-1,4-dihydropyridines by X-ray crystal structure analysis

Journal of Molecular Structure, 743, 169-175 (2005)

J. Wollmann, M. Richter, J. Molnár, A. Hilgeroth

First insight into the symmetry and flexibility of membrane efflux pump P-glycoprotein by novel bifunctional modulators

ChemBioChem, 6, 1353-1356 (2005)

J. Wollmann, J. Molnár, A. Hilgeroth

Physicochemical characteristics of novel P-glycoprotein inhibitors of the cage dimeric 1,4-dihydropyridine type

Medicinal Chemistry, 2, 565-568 (2006)

J. Wollmann, A. Hilgeroth

Antiretrovirale Therapie. Neue Ansätze im Kampf gegen HIV

Pharmazeutische Zeitung, 151, 4496-4503 (2006)

Vorträge und Poster

A. Hilgeroth, J. Wollmann, M. Jaskolski, A. Billich, H. Lilie

Dimeric 4-aryl-1,4-dihydropyridines as third class of non-peptidic HIV-1 protease inhibitors

11th Symposium on HIV Infection, 14.-16. Juni 2001, Toulon, Frankreich

J. Wollmann, A. Hilgeroth

Käfigdimere 4-Aryl-1,4-dihydropyridine als dritte Klasse der nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren: Entwicklung der zweiten Generation

Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, 10.-13. Oktober 2001, Halle

J. Wollmann, A. Hilgeroth

Käfigdimere 4-Aryl-1,4-dihydropyridine als dritte Klasse der nicht-peptidischen HIV-1 Proteaseinhibitoren: Entwicklung der zweiten Generation

XVII. Wissenschaftliche Tagung der Österreichischen Pharmazeutischen Gesellschaft, 24.-26. April 2003, Graz, Österreich

J. Wollmann, A. Hilgeroth

Struktur-Wirkungsbeziehungen neuartiger käfigdimerer 1,4-Dihydropyridine als HIV-Proteaseinhibitoren

Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, 08.-11. Oktober 2003, Würzburg

J. Wollmann, M. Richter, A. Hilgeroth

Application of non-substrate transmembrane efflux pump inhibitors with potential benefit for combined antiretroviral therapies

XVI International AIDS Conference, 13.-18. August 2006, Toronto, Kanada

Lebenslauf

Name : *Jörg Wollmann*

Wohnort : *Clara-Zetkin-Platz 12
06406 Bernburg (Saale)*

Geburtsdatum : *24. September 1975*

Geburtsort : *Bernburg (Saale)*

Staatsangehörigkeit : *deutsch*

Familienstand : *ledig*

Schulbildung : *September 1982 bis Juni 1983
POS „Ernst Thälmann“, Bernburg*
*September 1983 bis Juni 1990
POS „Franz Mehring“, Bernburg*
*September 1990 bis Juni 1994
Gymnasium Carolinum, Bernburg*

Schulabschluß : *Allgemeine Hochschulreife im Juni 1994*

Dienst : *Oktober 1994 bis September 1995
Zivildienst beim Deutschen Roten Kreuz, Bernburg,
Abteilung Sozialstation (mobiler Pflegedienst)*

Studium : *Oktober 1995 bis September 1999
Studium der Pharmazie an der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg*

1. Staatsexamen: September 1997
2. Staatsexamen: September 1999

Approbationsjahr : *Oktober 1999 bis März 2000
wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische
Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Diplomand in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. habil. B. Dobner)*

*April 2000 bis September 2000
Pharmazie-Praktikant in der Dorotheenstädtischen Apotheke
in Berlin*

3. Staatsexamen: Oktober 2000

Approbation : *Approbation als Apotheker am 2. November 2000*

- Diplom :** *Erlangung des akademischen Grades Diplom-Pharmazeut am 10. Januar 2001 mit einer Diplomarbeit zum Thema: „Synthese von unterschiedlich substituierten Pentaerythritolderivaten als Vorstufe von Glykolipiden“*
- Stipendium :** *Oktober 2000 bis September 2002
Stipendiat der Graduiertenförderung des Landes Sachsen-Anhalt*
- Promotionsstudium :** *Dezember 2002 bis November 2006
wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazeutische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Doktorand in der Arbeitsgruppe von Privatdozent Dr. habil. A. Hilgeroth)*
- Berufstätigkeit :** *seit Dezember 2006 als Apotheker in der Bär-Apotheke in Bernburg tätig*

Bernburg (Saale), Oktober 2007

Erklärung

Hiermit erkläre ich gemäß §5 (2) b der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe sowie ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel und Quellen verfasst habe. Alle Stellen, die wörtlich oder inhaltlich aus Veröffentlichungen oder anderen Werken entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Ich versichere weiterhin, dass ich mich zu keinem früheren Zeitpunkt um den Doktorgrad beworben habe und dass ich die vorliegende Arbeit an keiner anderen Universität oder Hochschule eingereicht habe.

Bernburg (Saale), Oktober 2007

Jörg Wollmann