

**Neue Antibiotika gegen  
grampositive Bakterien und  
oral wirksame Cephalosporine**

**Wolfgang Jenni**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Neue Antibiotika gegen  
grampositive Bakterien und  
oral wirksame Cephalosporine

vorgelegt von

Wolfgang Jenni

aus

München

2001

## **Erklärung**

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. H.R. Pfaendler betreut.

## **Ehrenwörtliche Versicherung**

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt.

München, den 14.09.2001

A handwritten signature in black ink, reading 'Wolfgang Jenni'. The signature is written in a cursive style with a large initial 'W' and a distinct 'J'.

Wolfgang Jenni

Dissertation eingereicht am 14.09.2001

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H.R. Pfaendler

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Steglich

Tag der mündlichen Prüfung: 23.10.2001

Die vorliegende Arbeit wurde auf Vorschlag und unter Anleitung von

**Herrn Prof. Dr. H.R. Pfaendler**

am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München im Zeitraum von Dezember 1997 bis März 2001 durchgeführt.

Meinem verehrten Doktorvater danke ich für seinen erfahrenen, wissenschaftlichen Rat und für die vielen Anregungen, mit Kreativität neue, auch fachübergreifende Problemstellungen zu lösen. Die angenehme Arbeitsatmosphäre und die engagierte Betreuung werden mir in wertvoller Erinnerung bleiben.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Kollegen Frau Gudrun Silvenoinen, Herrn Alexander Klingl, Herrn Ralf Weishaupt, Herrn Anton Gayring und Herrn Jörg Friedrich. Die gute Zusammenarbeit, die anregenden Diskussionen und die freundschaftlichen Beziehungen über den Arbeitsalltag hinaus waren mir eine große Unterstützung. Bei meinen Forschungspraktikanten Herrn Florian Kopp und Herrn Alexander Ruhl möchte ich mich für ihre engagierte Mitarbeit bedanken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir durch ihre großzügige Unterstützung, in allen Belangen, diese Ausbildung ermöglicht haben.

Und vor allem möchte ich mich bei meiner Freundin Silke und bei Ben Leon für ihre Geduld bedanken und dafür, dass sie mir immer zur Seite stehen.

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>A</b>	<b>ALLGEMEINER TEIL</b>	<b>1</b>
1	EINLEITUNG	1
2	SPEZIFISCHE STRUKTUR VON BAKTERIEN	2
3	WIRKUNGSMECHANISMEN VON ANTIBIOTIKA	3
3.1	Antibiotika, die in die Zellwandsynthese von Bakterien eingreifen	4
3.2	Proteinsynthese-Hemmer	6
3.3	Antibiotika, die in die DNA-Replikation eingreifen	9
4	RESISTENZ – ENTSTEHUNG UND MECHANISMEN	11
4.1	Verringerung der Antibiotika-Konzentration im Zellinneren	12
4.2	Inaktivierung der Antibiotika	13
4.3	Veränderung des Angriffspunkts im Bakterium	14
5	STRATEGIEN GEGEN RESISTENTE ERREGER	15
<b>B</b>	<b>SPEZIELLER TEIL</b>	<b>19</b>
1	MALEINIMID-DERIVATE ALS NEUARTIGE ANTIBIOTIKA GEGEN GRAMPOSITIVE BAKTERIEN	19
1.1	Aufgabenstellung	19
1.2	Einfacher Toxizitätstest mit <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bäckerhefe)	22
1.3	Toxizität der Maleinimid-Derivate	23
1.4	Bestimmung der idealen Kettenlänge für Maleinimido- <i>N</i> - alkancarbonsäuren	24
1.4.1	Synthese der Maleinimido- <i>N</i> -alkancarbonsäuren	24
1.4.2	Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der Maleinimido- <i>N</i> - alkancarbonsäuren	26
1.5	Modifizierung der Leitstruktur	28
1.5.1	Synthese von 6-( <i>N</i> -Maleinimido)-hexansäure (6)	30
1.5.2	Überführung in das Säurechlorid	30
1.5.3	Darstellung des Isocyanats 11	30
1.5.4	Syntheseversuch des 5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentylamins (12)	31

---

---

1.5.4.1	Synthese des Benzylurethans 13 .....	31
1.5.4.2	Versuche der selektiven Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe unter Palladium-Katalyse.....	32
1.5.4.3	Versuch zur selektiven Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe mit Lindlar-Katalysator.....	33
1.5.5	Synthese des 5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentylamins 12.....	34
1.5.5.1	Darstellung des <i>t</i> -Butylcarbamats.....	34
1.5.5.2	Abspaltung der BOC-Gruppe .....	34
1.5.6	Synthese weiterer Urethane.....	35
1.5.6.1	Darstellung des Methylurethans 17 .....	35
1.5.7	Synthese eines Harnstoffderivats.....	35
1.5.7.1	Syntheseversuch des Maleinimidopentylharnstoffderivats .....	35
1.5.7.2	Darstellung des Harnstoffs 19 .....	36
1.5.8	Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der drei Carbamate 13, 16, und 17, des Amins 12 und des Harnstoffes 19 .....	37
1.6	Weitere Strukturabwandlungen und Syntheseziele .....	39
1.6.1	Maleinimidopentylcarbaminsäureester .....	39
1.6.1.1	Darstellung von Phenyl- und 4-Acetylphenylurethan.....	40
1.6.1.2	Darstellung der Fluorbenzylcarbamate.....	40
1.6.2	Modifizierung der Urethangruppe durch den Positionstausch von Sauerstoff und Stickstoff.....	41
1.6.2.1	Darstellung von 5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentanol (25).....	42
1.6.2.2	Synthese verschiedener <i>N</i> -substituierter Carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester .....	42
1.6.2.3	Synthese des Carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylesters (29).....	43
1.6.3	Darstellung von Thiocarbamaten .....	44
1.6.4	Synthese eines Kohlensäurediesters .....	45
1.6.5	Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der synthetisierten Verbindungen .....	46
1.7	MIC-Werte einiger ausgewählter Substanzen .....	53
1.8	Weitere Strukturabwandlungen der Maleinimid-Derivate.....	54
1.8.1	Verwendung des 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-Rests .....	54
1.8.1.1	Darstellung des 3-Fluor-4-morpholinyl-nitrobenzols (40).....	55
1.8.1.2	Hydrierung zum 3-Fluor-4-morpholinyl-anilin 34.....	56

---

---

1.8.1.3	Synthese des Harnstoffs 35 .....	56
1.8.1.4	Darstellung des 5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl-carbamats 36 .....	58
1.8.1.5	Darstellung des 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-maleinimids 37 .....	59
1.8.2	Verwendung des Thiophenylmethylrestes .....	59
1.8.2.1	Darstellung des Thiophenylmethylcarbamats 44 .....	60
1.8.2.2	Synthese des 6-( <i>N</i> -Maleinimido)-hexansäureesters 45 .....	60
1.8.3	Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der neuen Substanzen.....	61
1.8.4	MIC-Tests der Thiophenylmethyl-derivate 44 und 45 .....	63
1.9	Zusammenfassende Betrachtungen .....	64
<b>2</b>	<b>SYNTHESE EINES NEUEN OXAZOLIDINON-ANALOGONS .....</b>	<b>65</b>
2.1	Aufgabenstellung .....	65
2.2	Syntheseplanung .....	69
2.3	Darstellung der Ausgangsprodukte .....	69
2.3.1	Synthese des Säurechlorids 49 .....	69
2.3.2	Darstellung des Dibrompropylamin-hydrobromids (50).....	70
2.4	Synthese des Benzylamids 51 .....	71
2.5	Cyclisierung zum Oxazolin 52 .....	72
2.6	Einführung der Azidfunktion .....	73
2.7	Überführung in die Acetamidomethylverbindung 48.....	73
2.8	Untersuchung der antibakteriellen Eigenschaften des Oxazolins 48.....	74
2.9	Zusammenfassende Betrachtungen .....	75
<b>3</b>	<b>SYNTHESE NEUER ORAL WIRKSAMER CEPHALOSPORINE .....</b>	<b>77</b>
3.1	Überblick .....	77
3.2	Nomenklatur der Cephalosporine.....	78
3.3	Struktur-Wirkungs-Beziehung oraler Cephalosporine .....	78
3.4	Aufgabenstellung .....	81
3.5	Syntheseplanung .....	82
3.6	Darstellung der Methoxymethylthioester 79 .....	85
3.6.1	Synthese des Thioessigsäureesters 78 .....	85
3.6.2	Abspaltung des Acetylrests.....	85
3.7	Einführung des Methoxymethylthioesteres ins 7-Phenoxy- acetylaminocphem .....	86
3.8	Einführung des Methoxymethylthioesteres ins 7-Phenyl- acetylaminocphem .....	87

---

---

3.8.1	Darstellung des Triflats 69.....	87
3.8.2	Substitution durch das Thiol 79.....	88
3.9	Abspaltung der V- und G-Seitenkette .....	89
3.10	Einführung der neuen Seitenketten an der 7- $\beta$ -Position .....	90
3.11	Abspaltung der Schutzgruppen .....	92
3.12	Biologische Eigenschaften der Cepheme 63, 64 und 65 .....	93
3.12.1	Hydrolysehalbwertszeiten bei pH = 7.4 .....	93
3.12.2	Säurestabilität der Verbindungen .....	94
3.12.3	Plattendiffusionstests .....	94
3.12.4	MIC-Werte gegen fünf ausgewählte Bakterienstämme .....	95
3.13	Zusammenfassende Betrachtungen.....	96
<b>C</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>	<b>99</b>
<b>1</b>	<b>ALLGEMEINE ARBEITSTECHNIK .....</b>	<b>99</b>
1.1	Physikalische Messgeräte .....	99
1.2	Reagenzien und Lösungsmittel .....	101
1.3	Präparative Methodik und chromatographische Verfahren.....	102
1.4	Kinetische Messungen - Bestimmung der Halbwertszeiten .....	102
1.5	Bakterielle Tests .....	103
1.5.1	Verwendete Materialien.....	103
1.5.2	Plattendiffusionstests .....	104
1.5.3	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration - MIC-Werte .....	105
1.6	Toxizitätstests .....	106
1.6.1	Verwendete Materialien.....	106
1.6.2	Plattendiffusionstests .....	106
<b>2</b>	<b>SYNTHESE DER MALEINIMID-DERIVATE .....</b>	<b>107</b>
2.1	Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der <i>N</i> -Maleinimido- alkancarbonsäuren 2, 5, 6 und 7 .....	107
2.1.1	2-( <i>N</i> -Maleinimido)-ethansäure (2) .....	107
2.1.2	5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentansäure (5) .....	108
2.1.3	6-( <i>N</i> -Maleinimido)-hexansäure (6).....	110
2.1.4	7-( <i>N</i> -Maleinimido)-heptansäure (7) .....	111
2.2	6-( <i>N</i> -Maleinimido)-hexansäurechlorid (9) .....	112
2.3	5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentylisocyanat (11).....	114

---

---

2.4	Allgemeine Methode zur Darstellung der Urethane 13, 16, 17, 20, 21, 22, 23 und 24 .....	115
2.4.1	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-benzylester (13) .....	116
2.4.2	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (16) .....	117
2.4.3	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-methylester (17) .....	118
2.4.4	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-phenylester (20) .....	119
2.4.5	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-4-acetyl-phenylester (21) .....	121
2.4.6	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-4-fluor-benzylester (22) ...	122
2.4.7	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-3-fluor-benzylester (23) ...	123
2.4.8	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-2-fluor-benzylester (24) ...	125
2.5	[5-( <i>N</i> -Succinimido)-pentyl]-amin (14) .....	126
2.6	[5-( <i>N</i> -Succinimido)-pentyl]-carbaminsäure-benzylester (15) .....	127
2.7	[5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl]-ammonium-trifluoracetat (12) .....	129
2.8	4-Methyl-piperazin-1-carbonsäure-{5-[3-(4-methyl-piperazin-1-yl)- <i>N</i> -succinimido]-pentyl}-amid (18) .....	130
2.9	4-Methyl-piperazin-1-carbonsäure-[5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentyl]-amid (19) .....	132
2.10	5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentanol (25) .....	134
2.11	Allgemeine Methode zur Darstellung der Carbamate 26 bis 28: .....	135
2.11.1	Benzyl-carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (26) .....	136
2.11.2	<i>tert</i> -Butyl-carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (27) .....	137
2.11.3	Phenyl-carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (28) .....	138
2.12	Carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (29) .....	139
2.13	Allgemeine Methode zur Darstellung der Thiourethane 30, 31 und 32: ...	141
2.13.1	Phenylthiocarbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (30) .....	141
2.13.2	Benzylthiocarbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (31) .....	143
2.13.3	Methylthiocarbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (32) .....	144
2.14	Ethyl-[5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentyl]-kohlendioxidester (33) .....	145
2.15	3-Fluor-4-morpholin- <i>N</i> -yl-nitrobenzol (38) .....	147
2.16	3-Fluor-4-morpholin- <i>N</i> -yl-anilin (34) .....	148
2.17	<i>N</i> -(3-Fluor-4-morpholin- <i>N</i> -yl-phenyl)- <i>N'</i> -[5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentyl]-harnstoff (35) .....	150
2.18	(3-Fluor-4-morpholin- <i>N</i> -yl-phenyl)-carbaminsäure-5-( <i>N</i> -maleinimido)-pentylester (36) .....	151
2.19	<i>N</i> -(3-Fluor-4-morpholin- <i>N'</i> -yl-phenyl)-maleinimid (37) .....	153

---

---

2.20	5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentyl-carbaminsäure-thiophen-2'-yl-methylester (44) .....	155
2.21	6-( <i>N</i> -Maleinimido)-hexansäure-thiophen-2'-yl-methylester (45) .....	156
<b>3</b>	<b>SYNTHESE VON <i>N</i>-[2-(4-ACETYL-PHENYL)-4,5-DIHYDRO-OXAZOL-5-YL-METHYL]-ACETAMID (48) .....</b>	<b>159</b>
3.1	4-Acetyl-benzoylchlorid (49) .....	159
3.2	2,3-Dibrom-propylamin Hydrobromid (50) .....	160
3.3	4-Acetyl- <i>N</i> -(2,3-Dibromo-propyl)-benzamid (51).....	161
3.4	2-(4-Acetyl-phenyl)-5-(bromomethyl)-4,5-dihydro-oxazol (52) .....	163
3.5	[2-(4-Acetyl-phenyl)-4,5-dihydro-oxazol-5-yl]-methylazid (53) .....	164
3.6	<i>N</i> -[2-(4-Acetyl-phenyl)-4,5-dihydro-oxazol-5-yl-methyl]-acetamid.....	166
<b>4</b>	<b>SYNTHESE ORAL WIRKSAMER CEPHALOSPORINE .....</b>	<b>168</b>
4.1	Thioessigsäure- <i>S</i> -methoxymethyl-ester (78).....	168
4.2	Methoxy-methanthiol (79).....	169
4.3	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-3-Methoxymethylthio-8-oxo-7-(2-phenoxy-acetylamino)-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (70)....	170
4.4	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-8-Oxo-7-phenylacetylamino-3-trifluormethylsulfonyl-oxy-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (69)....	172
4.5	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-3-Methoxymethylthio-8-oxo-7-(2-phenyl-acetylamino)-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethyl-ester (71).....	174
4.6	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-7-Amino-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (72) ausgehend von Verbindung 70.....	176
4.7	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-7-Amino-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (72) ausgehend von Verbindung 71.....	178
4.8	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-7-[( <i>Z</i> )-2-(2- <i>tert</i> -Butoxycarbonylamino-thiazol-4-yl)-2-methoxyimino-acetylamino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (73) .....	179
4.9	(6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-7-[( <i>Z</i> )-2-(2-Amino-thiazol-4-yl)-2-( <i>tert</i> -butoxycarbonyl-methoxyimino)-acetylamino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (74) .....	181

---

---

4.10	(2'R,6R,7R)-7-(2'- <i>tert</i> -Butoxycarbonylamino-2'-phenyl-acetylamino)-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (75).....	183
4.11	Kalium-(6R,7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-methoxyimino-acetylamino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat (63).....	185
4.12	Dikalium-(6R,7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-carboxy-methoxyimino-acetylamino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat (64).....	187
4.13	(2'R,6R,7R)-7-(2'-amino-2'-phenylacetylamino)-3-methoxy-methylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure (65).....	188
<b>D</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>191</b>
<b>1</b>	<b>STRUKTURVERZEICHNIS</b> .....	<b>191</b>
<b>2</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>200</b>
2.1	Maleinimid-Derivate als neuartige Antibiotika.....	200
2.2	Darstellung eines Oxazolidinon-Analogons.....	201
2.3	Neue Oralcephalosporine.....	202
<b>3</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>204</b>

---



---

## Verwendete Abkürzungen:

Äqu.	Äquivalente
Ar	Aryl
Bn	Benzyl
BOC	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
d	Tage
DC	Dünnschichtchromatogramm
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
Et	Ethyl
EtOAc	Essigsäureethylester
h	Stunden
HMDS	Hexamethyldisilazan
Me	Methyl
min	Minuten
mRNA	Messenger Ribonucleinsäure
MHz	Megahertz
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
Ph	Phenyl
R <sub>f</sub>	Related to front
RT	Raumtemperatur
Sdp	Siedepunkt
Smp	Schmelzpunkt
Tf	Trifluormethylsulfonyl
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethyl
tRNA	Transfer Ribonucleinsäure
VRE	Vancomycin-resistenter <i>Enterococcus</i>

---



## A Allgemeiner Teil

### 1 Einleitung

Seit der Einführung der ersten antibakteriellen Wirkstoffe, Sulfanilamid und Penicillin, in den 30er und 40er Jahren unseres Jahrhunderts kam es bei fast allen lebensbedrohlichen Bakterien-Infektionen zu einer deutlichen Abnahme der Sterblichkeitsrate<sup>[1]</sup>. Grundgedanke bei der Entwicklung der dabei verwendeten, antibakteriell wirksamen Substanzen war das sogenannte Ehrlich'sche Prinzip der selektiven Toxizität. Robert Koch war es 1882 gelungen, durch das spezifische Anfärben von Tuberkulose-Bakterien die unterschiedliche Affinität von chemischen Farbstoffen zu Mikroorganismen und Makroorganismen zu zeigen. Daraufhin war die Hoffnung groß, bald spezifische Substanzen zu finden, die Bakterien abtöten ohne gleichzeitig den menschlichen Organismus zu schädigen<sup>[2]</sup>.

Tatsächlich gelang es, vor allem in den 20er bis 50er Jahren, eine Reihe solcher Stoffe zu entdecken. Die meisten dieser neuen Substanzen stammen dabei aus speziellen Mikroorganismen (Pilzen oder Bakterien), die sie als chemische Waffen gegen andere Mikroben einsetzen, um sich Vorteile im Überlebenskampf in einer eng besiedelten Umgebung zu verschaffen.

Diese neue Klasse von Arzneistoffen wurde allgemein als Antibiotika bezeichnet. Man versteht darunter chemische Verbindungen, die im Körper infektiöse Organismen schädigen bzw. abtöten und dabei für den Menschen weitgehend untoxisch sind. Während dieser Begriff früher auf die aus Mikroorganismen gewonnenen Substanzen beschränkt war, werden heute auch halb- oder totalsynthetische Produkte sowie antibakteriell wirksame Stoffe aus Tieren und Pflanzen zu den Antibiotika gerechnet<sup>[3]</sup>.

Trotz des enormen Erfolgs bei der Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten leben wir heute in einer Zeit, in der viele Bakterienarten längst Methoden entwickelt haben, um sich vor dem Angriff antibakterieller Substanzen zu schützen. Sie sind resistent geworden<sup>[4]</sup>.

Um zu verstehen, wie Antibiotika wirken und in der Folge auch, warum sie unwirksam werden, muss man näher auf den spezifischen Aufbau der Bakterienzelle eingehen. Die selektive Toxizität der Antibiotika gegenüber Bakterien beruht auf dem Angriff an

---

speziellen Strukturen dieser Mikroorganismen, die beim Menschen nicht oder in wesentlich anderer Form vorkommen.

## 2 Spezifische Struktur von Bakterien<sup>[5]</sup>

Bakterien sind einzellige, prokaryontische Mikroorganismen und können hauptsächlich in zwei Klassen unterteilt werden, die sich vor allem in ihrem Zellwandaufbau unterscheiden:

Die erste Gruppe, die grampositiven Bakterien behalten eine vorher aufgetragene Iod-Kristallviolett-Färbung (Gramfärbung) bei, wenn sie mit organischen Lösungsmitteln (Ethanol oder Aceton) behandelt werden.

Die zweite Gruppe, die gramnegativen Bakterien verlieren diese Färbung. Dies spiegelt den unterschiedlichen Zellwandaufbau der beiden Bakterienklassen wider. Gramnegative Bakterien besitzen eine zusätzliche äußere Membran, durch die der Farbstoff nicht ins Bakterieninnere eindringen kann.

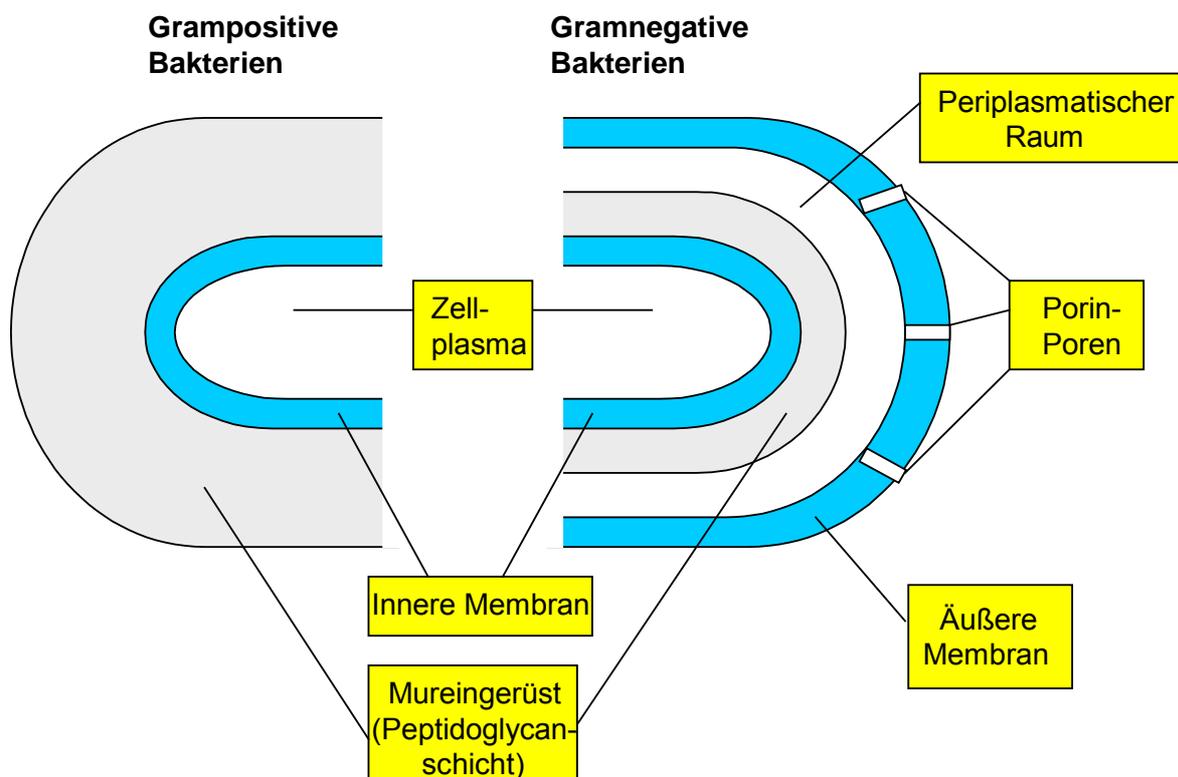


Abb.1: Schematischer Aufbau von grampositiven und gramnegativen Bakterien

Ansonsten wird bei beiden Arten das Cytoplasma von einer inneren Membran umgeben, an die sich ein für Bakterien typisches Mureingerüst anschließt. Dieses ist

u.a. aus verschiedenen Polysacchariden und Proteinen aufgebaut, die miteinander kovalent quervernetzt sind. Es verleiht somit der Zellwand die nötige mechanische Stabilität, um dem osmotischen Druck standzuhalten. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von der Peptidoglycanschicht der Bakterien.

Bei gramnegativen Arten folgt darauf der periplasmatische Raum und anschließend die äußere Membran. Bei grampositiven ist die Peptidoglycanschicht dagegen deutlich dicker. Dieser abweichende Aufbau bedingt auch eine unterschiedliche Durchlässigkeit gegenüber verschiedenen organischen Substanzen. Während bei grampositiven Bakterien sowohl lipophile wie hydrophile Substanzen relativ leicht ins Zellinnere eindringen können, ist die äußere Membran bei gramnegativen Bakterien schwerer zu überwinden. Der Transport in die Zelle erfolgt vor allem über bestimmte Transportkanäle, die Porine, die für polare Substanzen besser zugänglich sind.

Im Zellinneren besitzen alle Bakterien die auch in Eukaryonten üblichen Organellen wie z. B. Ribosomen für die Proteinsynthese. Allerdings unterscheiden sich diese von Säugetier-Ribosomen durch Größe und räumliche Struktur. Bakterien besitzen keinen Zellkern. Die DNA ist also von keiner Membran umschlossen. Das bakterielle Chromosom besteht aus einem einzelnen, ringförmigen DNA-Molekülfaden, der aus zwei sehr langen Polynucleotid-Helices aufgebaut ist, die sich um eine gemeinsame Achse winden. Zellteilung und DNA-Replikation verlaufen zwar prinzipiell ähnlich wie beim Menschen, die beteiligten Enzyme unterscheiden sich jedoch deutlich.

### **3 Wirkungsmechanismen von Antibiotika**

Die verschiedenen Antibiotika greifen vor allem in drei lebenswichtige Vorgänge in den Bakterienzellen ein:

- die Biosynthese der Bakterienzellwand
- die bakterielle Proteinsynthese
- die bakterielle DNA-Replikation und -Reparatur

Anhand von einigen ausgewählten Antibiotika soll hier das Eingreifen in diese bakteriellen Prozesse und die damit verbundenen Bakterenschädigungen erläutert werden.

---

### 3.1 Antibiotika, die in die Zellwandsynthese von Bakterien eingreifen<sup>[6],[7]</sup>

Die charakteristische Form der Bakterien wird von ihrer starren Membran bestimmt. Sie können in hypotonen Lösungen (d.h. in Salzkonzentrationen, die unter denen ihres Cytoplasmas liegen) überleben, ohne dass es zu einer osmotisch bedingten Schwellung bzw. Ruptur (Lyse) ihrer Zell-Membran kommt. Das Mureingerüst ist dabei für die mechanische Stabilität der Zellen verantwortlich. Es besteht aus Polysaccharidketten bzw. Glycansträngen, in denen alternierend *N*-Acetyl-glucosamid und *N*-Acetylmuraminsäure 1,4- $\beta$ -glykosidisch miteinander verknüpft sind. Dieses „Disaccharid“ stellt eine sich wiederholende Grundeinheit der Zuckerketten dar und wird durch Transglycolasen (TGase) an die wachsenden Polysaccharide angehängt. Die Glycanstränge werden dann durch Transpeptidasen (TPase) über ihre Peptidseitenketten miteinander (quer)-vernetzt. Diese Peptidseitenketten (meist Tetra- oder Pentapeptide) sind bei den verschiedenen Bakterienarten etwas unterschiedlich aufgebaut. Alle tragen jedoch vor der Verknüpfung ein D-Alanyl-D-Alanin-Ende. Je größer der Anteil der Peptidvernetzung insgesamt ist, desto stabiler ist das Mureingerüst.

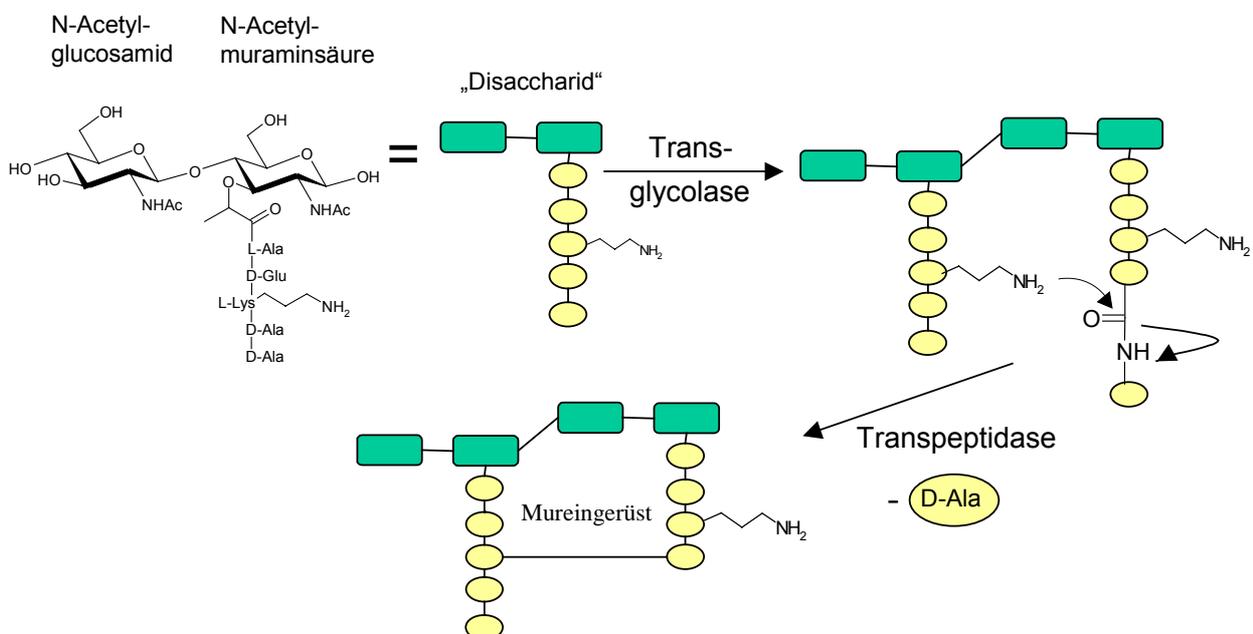


Abb.2: Vereinfachte Darstellung der bakteriellen Zellwandsynthese (Bsp. für Staph. aureus)

Angriffspunkt der  $\beta$ -Lactame wie z.B. der Penicilline oder Cephalosporine sind nun die bifunktionellen Enzyme der Bakterien, die sowohl Transpeptidasen als auch

Transglycolasen in verschiedenen Domänen enthalten. Die Transpeptidasen verknüpfen das C-terminale Ende einer Peptidseitenkette unter Abspaltung von D-Alanin mit der freien Aminogruppe einer zweiten Peptidkette. Aufgrund der Strukturanalogie des D-Alanyl-D-Alanin-Endes mit den  $\beta$ -Lactamen dienen diese als Pseudosubstrate und acylieren unter Öffnung des  $\beta$ -Lactam-Rings die Serin-Hydroxygruppe der Transpeptidasen. Diese werden somit auch als penicillin-bindende Proteine (PBP) bezeichnet. Die penicillin-gebundenen Transpeptidasen hydrolysieren nur sehr langsam, wodurch die normale Quervernetzung in der Peptidoglycanschicht verhindert wird und eine mechanisch geschwächte Zellwand resultiert. Veränderungen des osmotischen Drucks führen so zum Aufplatzen der Zellen (Lyse) und dem Bakterientod.

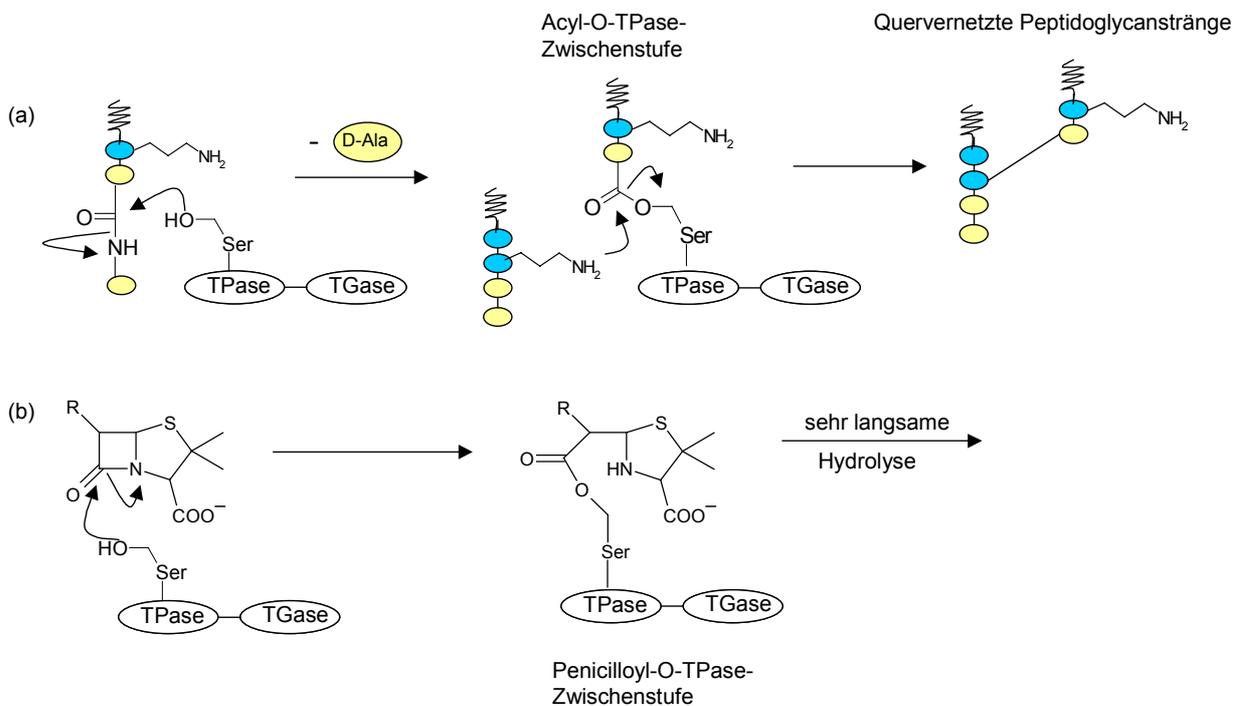


Abb. 3:a) Verlauf der Transpeptidierung und  
b) Inaktivierung der Transpeptidase durch Penicillin

Als weitere Gruppe greifen die Glycopeptid-Antibiotika wie Vancomycin oder Teicoplanin in den Aufbau des Mureingerüsts ein. Anstatt die Enzyme der Peptidvernetzung kovalent zu hemmen wie die  $\beta$ -Lactame, bildet Vancomycin über fünf Wasserstoffbrücken einen relativ stabilen Komplex mit dem D-Alanyl-D-Alanin-Ende der Peptidseitenkette, wodurch das Substrat weder mit den Transpeptidasen noch mit

den Transglycolasen der Bakterienzelle reagieren kann. Die Folge ist wieder eine mangelhafte Vernetzung der Peptidoglycanschicht und schließlich die Bakteriolyse.

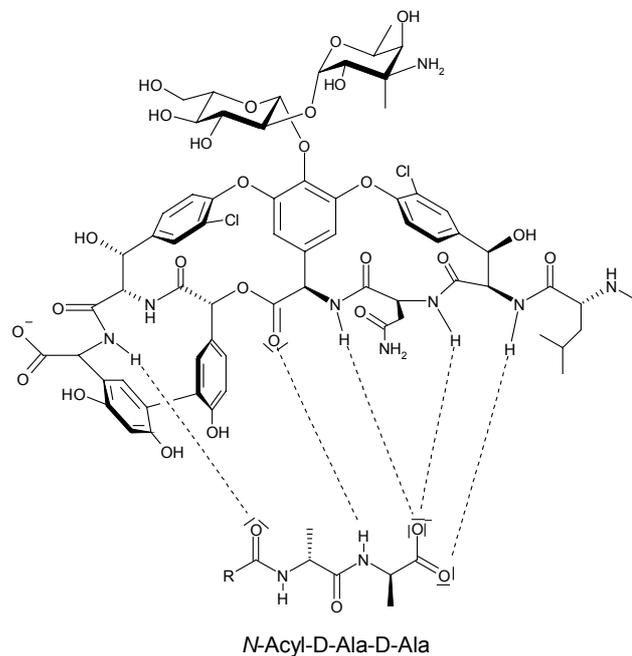


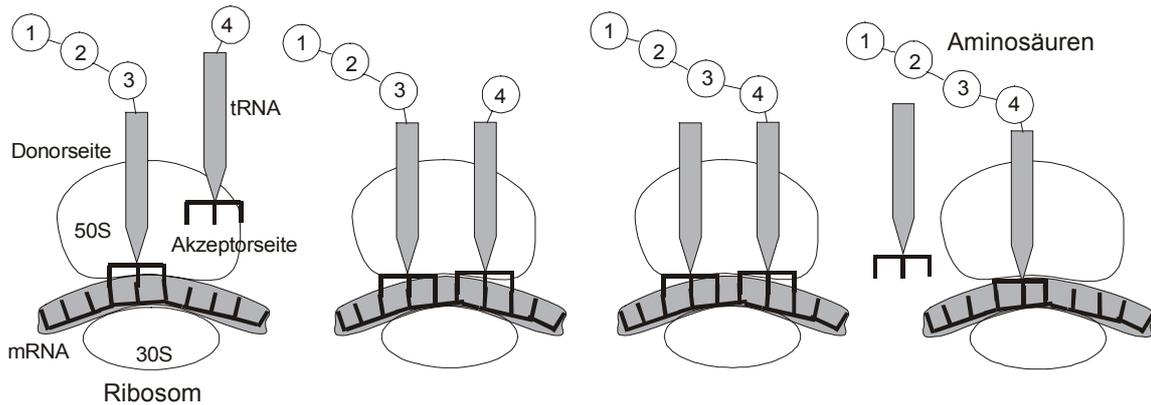
Abb.4: Schematische Komplexierung des D-Ala-D-Ala-Endes der Peptidseitenkette durch Vancomycin über fünf Wasserstoffbrückenbindungen

Da  $\beta$ -Lactame und Glycopeptid-Antibiotika auf unterschiedliche Weise in die Mureingerüstsynthese eingreifen, zeigen sie bei gleichzeitiger Gabe meist einen synergistischen Effekt.

### 3.2 Proteinsynthese-Hemmer<sup>[8]</sup>

Die Proteinsynthese findet prinzipiell in drei Schritten an den Ribosomen der Bakterien statt: Initiation, Elongation und Termination. Da bei prokaryontischen Ribosomen ausreichende Unterschiede im Vergleich zu eukaryontischen Zellen vorhanden sind, gibt es eine Vielzahl von Antibiotika, welche die bakterielle Proteinsynthese gezielt unterbinden und damit das Zellwachstum hemmen.

In Abbildung 5 ist schematisch der Elongationsschritt der Proteinsynthese dargestellt, wobei die Ribosomen aus 2 Untereinheiten (30S und 50S) aufgebaut sind, die sich an eine mRNA anlagern.

**A: Normaler Ablauf der Proteinsynthese**

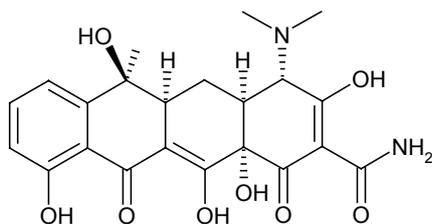
Zutritt der Aminoacyl-tRNA zur Akzeptorseite des Ribosoms	Anlagerung der zum mRNA-Triplett passenden tRNA an die Bindungsstelle	Transpeptidierung: Anknüpfung der neuen Aminosäure (4) an die bestehende Kette	Translokation: Verlagerung der die Aminosäurekette tragenden tRNA zur Donorseite
---	---	--	--

**B: Eingriff verschiedener Antibiotika**

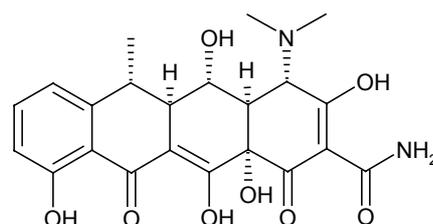
Blockade der Akzeptorseite: <b>Aminoglykoside</b> <b>Tetracycline</b>	Ablesefehler Codon-Anticodon: <b>Aminoglykoside</b>	Hemmung der Transpeptidierung: <b>andere Antibiotikaarten</b>	Hemmung der Translokation: <b>Makrolid-Antibiotika</b>
---	--	--	---

Abb. 5: Schematische Darstellung der ribosomalen Proteinsynthese und des Eingriffs verschiedener Antibiotika

Die aus vier linear kondensierten Sechsringen aufgebauten Tetracycline binden reversibel an die 30S-Untereinheit der Ribosomen. Dadurch blockieren sie die Akzeptorseite für eine mit einer Aminosäure beladenen tRNA (Aminoacyl-tRNA), wodurch die Verlängerung der Peptidkette verhindert und das Bakterienwachstum gehemmt wird.

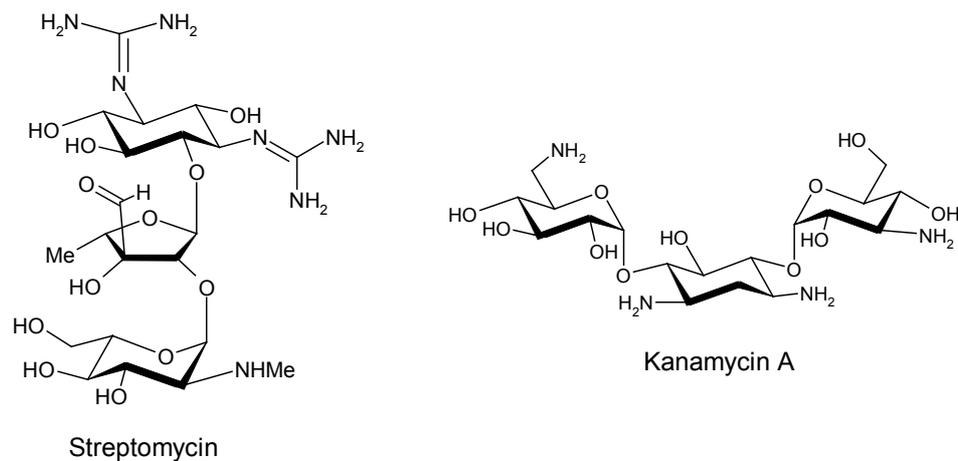


Tetracyclin

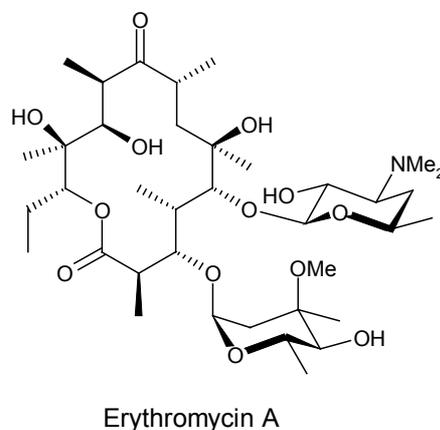


Doxycyclin

Aminoglykoside wie das Kanamycin oder Streptomycin binden dagegen irreversibel an die 30S-Untereinheit der Ribosomen und bewirken dadurch eine komplexe Störung der Proteinsynthese. Einerseits wird die Bindung von Formylmethionyl-tRNA an die 30S-Untereinheit blockiert und damit der Beginn der Proteinsynthese unterdrückt. Andererseits kann Aminoacyl-tRNA nicht an die Akzeptorstelle anlagern, was zum Kettenabbruch führt. Außerdem kommt es durch die Anlagerung der Aminoglykoside zu Ablesefehlern der mRNA. Die Folge sind fehlerhaft exprimierte Enzym- und Struktur-Proteine, die zu irreparablen Schäden in der Bakterienzelle führen.



Eine weitere Gruppe von Proteinsynthese-Hemmern sind die Makrolidantibiotika wie Erythromycin oder Azithromycin. Es handelt sich dabei um makrocyclische Lactone mit glykosidisch gebundenen Zuckerresten. Am Ribosom werden sie reversibel an die 50S-Untereinheit gebunden. Dadurch verhindern sie die Translokation während der Elongationsphase. Die Verschiebung der an der tRNA gebundenen Peptidkette von der Akzeptor- an die Donorposition kann nicht mehr stattfinden und die Proteinsynthese wird unterbrochen.



### 3.3 Antibiotika, die in die DNA-Replikation eingreifen

Da Bakterien bei ihrer Vermehrung durch Zellteilung ihre DNA verdoppeln müssen, sind sie gegenüber Substanzen, die in diesen komplexen Vorgang eingreifen, äußerst anfällig.

Um den neuen DNA-Molekülfaden von  $1300 \mu\text{m}$  Länge in einer Zelhülle von nur  $2 \mu\text{m}^3$  Volumen unterzubringen, müssen sich Bakterien einer speziellen Technik bedienen: der Superspiralisierung (auch Supercoiling genannt). Die vorspiralisierte Doppelhelix wird dabei durch das Enzym Gyrase zu einer äußerst kompakten Superhelix verwunden, die sich um einen RNA-Kern gruppiert und ohne weiteres in der Zelhülle Platz findet.

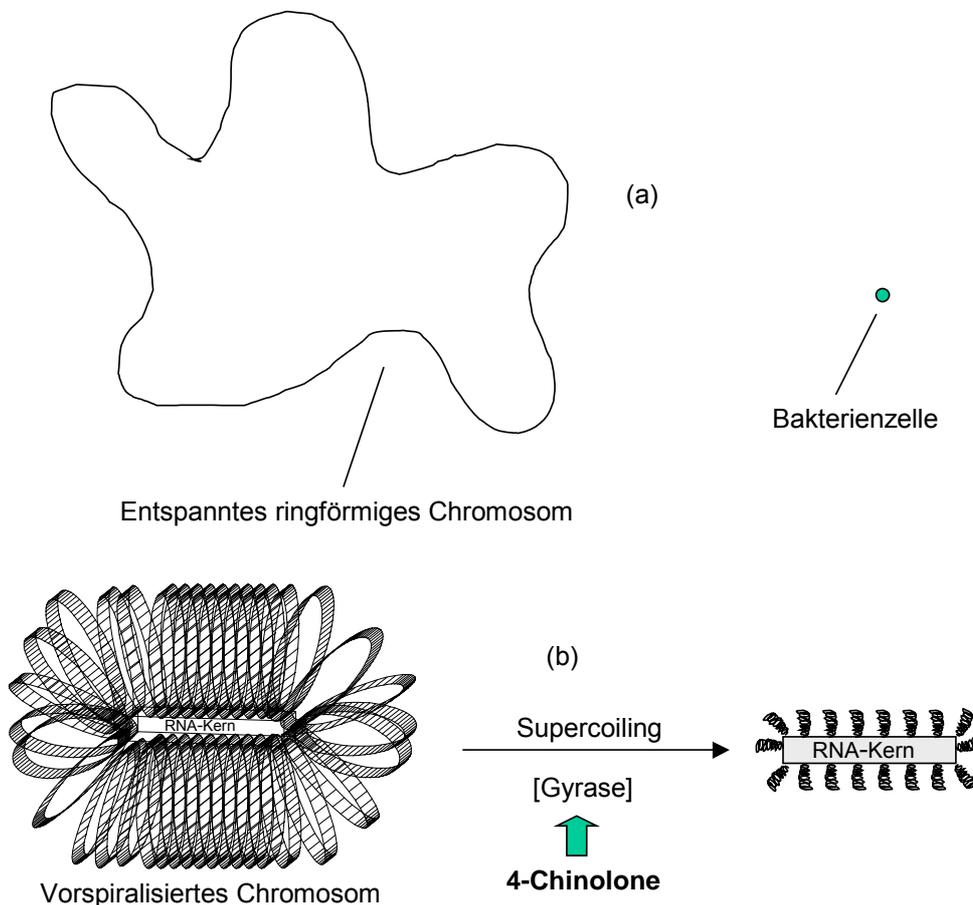
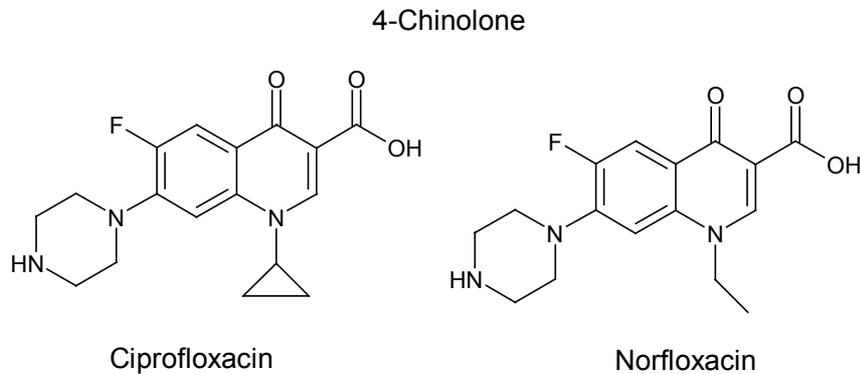


Abb.6: a) Größenverhältniss von Chromosom und Bakterienzelle,  
b) Durch die Gyrase katalysiertes Supercoiling und Angriff der 4-Chinolone am Enzym

Genau hier greifen die 4-Chinolone, wie z.B. Ciprofloxacin oder Norfloxacin, in die DNA-Replikation ein. Sie binden an die Gyrase, hemmen deren Aktivität und induzieren zusätzlich Strangbrüche. Die Folge ist der Bakterientod.

Die entsprechenden Enzyme im Menschen (Topoisomerasen) unterscheiden sich deutlich von der bakteriellen Gyrase, was die spezifische Wirkung der 4-Chinolone erklärt<sup>[9]</sup>.



DNA-Verdopplung und Zellteilung können außerdem noch indirekt unterbunden werden, indem die Zufuhr neuer Nucleosid-Bausteine unterbrochen wird. Auf diese Weise greifen Sulfonamide in die bakterielle Vermehrung ein. Durch ihre strukturelle Ähnlichkeit mit der para-Aminobenzoessäure blockieren sie ein entscheidendes Enzym der Tetrahydrofolatsynthese, die Dihydropteroatsynthese. Dadurch resultiert im Bakterium ein Mangel an Tetrahydrofolat, einem wichtigen Cofaktor für C1-Übertragungsreaktionen. In der Folge können verschiedene Nucleosid-Bausteine (v.a. Thymin) nicht mehr synthetisiert werden. Das Bakterienwachstum kommt zum Erliegen.

Während Bakterien das Tetrahydrofolat nur durch eigene Synthese gewinnen können, nimmt es der Mensch als Vitamin aus der Nahrung auf. Ein der Dihydropteroatsynthese entsprechendes Enzym fehlt im Menschen, weshalb Sulfonamide für ihn weitgehend untoxisch sind<sup>[10]</sup>.

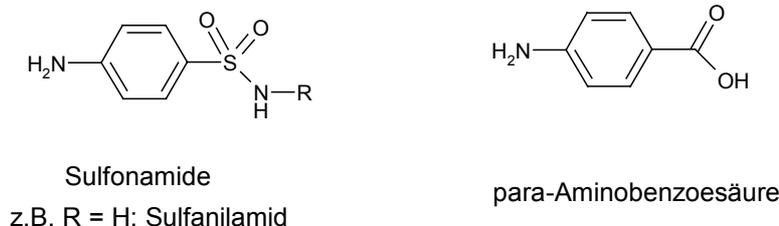


Abb.7: Sulfonamide wirken als Antagonisten der para-Aminobenzoessäure in der Tetrahydrofolatsynthese

## 4 Resistenz – Entstehung und Mechanismen

Sobald ein neues Antibiotikum auf den Markt kommt ist es keine Frage *ob*, sondern eher *wann* sich die ersten Resistenzen bei den verschiedenen Bakterienarten entwickeln. Normalerweise zeigt sich eine Antibiotikaresistenz innerhalb von einigen Monaten bis Jahren und ist die Antwort der Bakterien auf die Lebensbedrohung durch den Arzneistoff. Bakterien sind als Prokaryonten extrem anpassungsfähig und haben gegenüber den Eukaryonten den Vorteil einer deutlich schnelleren Vermehrungsrate. Die Dauer einer Zellteilung beträgt unter optimalen Bedingungen weniger als 20 Minuten<sup>[11]</sup>. Die durchschnittliche Mutationsrate dabei liegt bei ca. 1 mutierten Zelle pro 10 Millionen. Dies bedeutet, dass bei einer Infektion, an der vielleicht 10 Milliarden Bakterien beteiligt sind, um die 1000 mutierten Zellen vorkommen. Wenn sich nur eines dieser mutierten Bakterien als resistent gegen ein verwendetes Antibiotikum erweist, kann es sich ungehindert vermehren, während die anderen Zellen abgetötet werden. Bei einer Antibiotikabehandlung unterhalb der Wirksamkeitsgrenze ist die Resistenzentwicklung damit praktisch vorprogrammiert<sup>[12]</sup>.

Für eine anschließende, schnelle Ausbreitung der einmal erworbenen Resistenz sorgen vor allem die Plasmide der Bakterien. Dabei handelt es sich um kurze, ringförmige DNA-Abschnitte, die vom Chromosom des Bakteriums unabhängig sind. Sie können eigenständig vermehrt und zwischen verschiedenen Bakterienzellen und -arten ausgetauscht werden. Die auf ihnen gesammelten Resistenzgene definieren die Antibiotikaresistenz und können gelegentlich in sogenannten Transposonen abgetrennt und in das Chromosom der Bakterien eingebaut werden. Wie alle Resistenzen, welche über Chromosomen definiert sind, verbreiten sich diese dann über die normale Vermehrung der Bakterien<sup>[13]</sup>.

Seit Beginn der 50er Jahre hat man sich intensiv mit verschiedenen Resistenzmechanismen und deren Aufklärung beschäftigt. Resistente Bakterien haben vor allem drei Strategien entwickelt, um sich gegen die gängigen Antibiotika zur Wehr zu setzen<sup>[14]</sup>:

- Verringerung der Konzentration des Antibiotikums in der Bakterienzelle
  - Inaktivierung des Antibiotikums
  - Veränderung der Zielstruktur in den Bakterien
-

## 4.1 Verringerung der Antibiotika-Konzentration im Zellinneren

Damit Antibiotika überhaupt wirksam werden können, müssen sie den Wirkort im Bakterium erreichen und sich dort in ausreichender Konzentration ansammeln. Um z.B. die bakterielle Proteinsynthese zu hemmen, müssen sie die Zellmembranen der Erreger durchdringen und sich im Cytoplasma anreichern. Erst dann können sie spezifisch an den Ribosomen angreifen und die Zellen schädigen. Bakterien haben nun zwei Methoden entwickelt, um die Wirkstoffanreicherung im Zellinneren zu verhindern.

### Aktives Auspumpen der Antibiotika aus der Bakterienzelle<sup>[15]</sup>:

Grampositive und gramnegative Bakterien verwenden bestimmte Membranproteine, um die Antibiotika aus der Zelle pumpen. Durch die gezielte Produktion solcher Proteine werden z.B. Tetracycline schneller aus dem Cytoplasma hinausbefördert als sie hineindiffundieren können. Da keine ausreichende Wirkstoffkonzentration im Zellinnern mehr erreicht wird, bleibt der antibakterielle Effekt aus. Ähnliche Membranpumpen verwenden z.B. auch Streptomycesarten, um die von ihnen produzierten, aber für sie selbst giftigen Antibiotika aus ihrem Zellinnern zu transportieren.

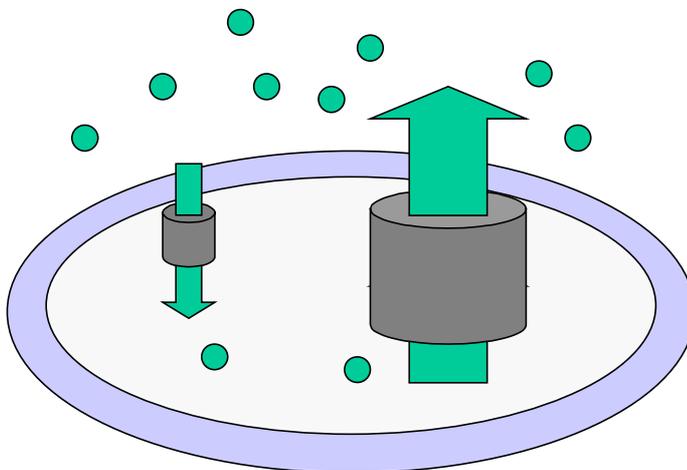


Abb. 8: Durch vermehrtes Auspumpen des Antibiotikums aus der Bakterienzelle reicht die Konzentration im Zellinneren nicht aus, um seine Wirkung zu entfalten

Auch die Resistenzen einiger Erreger gegenüber den Makrolid-Antibiotika oder den 4-Chinolonen gehen auf solche Membranpumpen zurück<sup>[12]</sup>.

### Undurchlässigkeit der Membran<sup>[16]</sup>:

Neben den in die Membran eingebauten Proteinpumpen sei noch kurz eine andere membranabhängige Resistenz-Strategie der Bakterien erwähnt. Vor allem bei gramnegativen Bakterien bewirkt die Veränderung der äußeren Membran eine Undurchlässigkeit gegenüber  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Dabei werden die Transportkanäle, die Porinporen, durch die diese Antibiotikaklasse normalerweise diffundiert über Mutationen für diese undurchlässig und die Bakterien resistent.

## 4.2 Inaktivierung der Antibiotika

Ein weiterer Resistenzmechanismus der Bakterien zielt auf die aktiven Stellen am Antibiotikum ab. Durch strukturelle Veränderungen werden diese zerstört, wodurch die Wirksamkeit verloren geht.

Der klassische Fall ist die hydrolytische Inaktivierung der  $\beta$ -Lactame durch spezielle Bakterien-Enzyme, sogenannten  $\beta$ -Lactamasen. Bevor  $\beta$ -Lactame unter Ringöffnung die bakteriellen Transpeptidasen acylieren können und die Zellwandsynthese hemmen, werden sie durch die Hydroxyfunktion einer Seringruppe des  $\beta$ -Lactamase-Enzyms nucleophil am Vierring angegriffen. Anschließend wird das ringgeöffnete Antibiotikum vom Enzym rasch wieder abgespalten, wodurch die  $\beta$ -Lactamase weitere Antibiotika-Moleküle zerstören kann. Wie effektiv diese Waffe des Bakteriums ist, zeigt sich daran, das ein einziges  $\beta$ -Lactamase-Molekül pro Sekunde ca. 1000 Penicillinmoleküle hydrolysieren kann<sup>[7]</sup>.

Die Bakterien geben diese Enzyme an ihre äußere Umgebung oder an den periplasmatischen Raum ab, um die  $\beta$ -Lactame zu zerstören, bevor sie sich der Mureinschicht nähern können<sup>[17]</sup>.

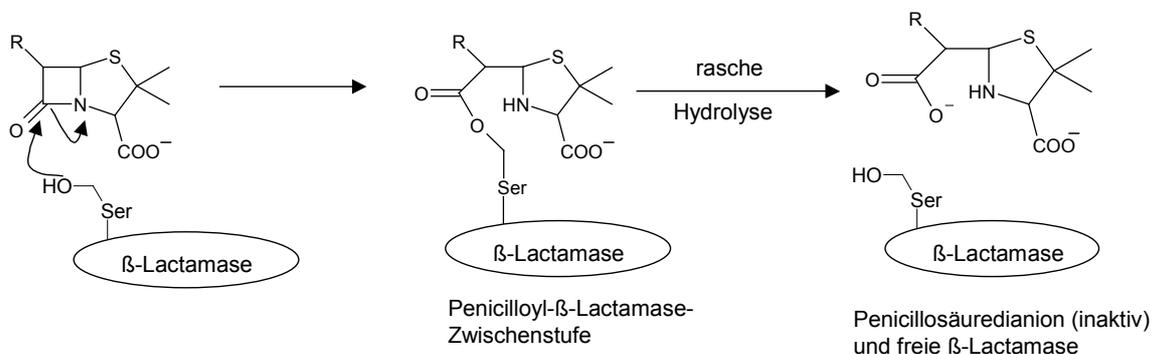


Abb. 9: Penicillin-Inaktivierung durch eine  $\beta$ -Lactamase, die pro Sekunde bis zu 1000 Penicillinmoleküle hydrolysieren kann

Ein anderer Weg der Bakterien, um z.B. Aminoglykosidantibiotika unschädlich zu machen, ist die gezielte enzymatische Anlagerung bestimmter Substituenten an diese Wirkstoffe. Die dadurch räumlich veränderten Moleküle können nicht mehr an die RNA in den Ribosomen binden und werden unwirksam. Die Enzyme resistenter Bakterien übertragen dabei Acetyl-, Phosphat- oder Adenosylmonophosphat-Reste auf die Aminoglykoside<sup>[18]</sup>.

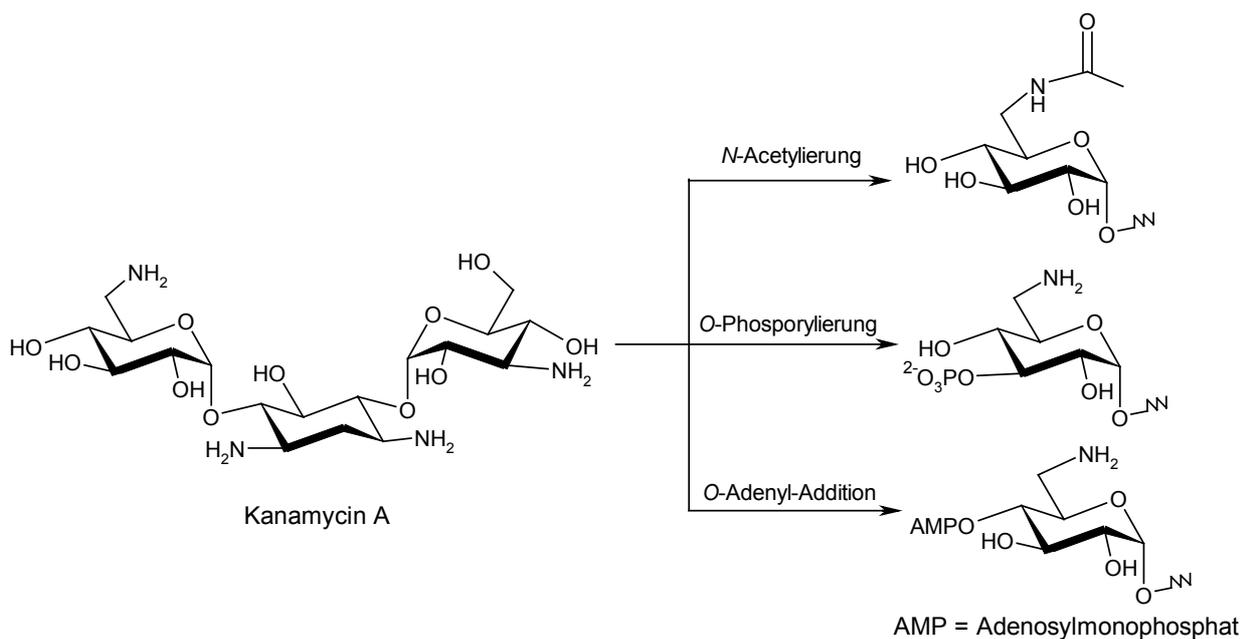


Abb. 10: Inaktivierung von Kanamycin in resistenten Bakterienarten

### 4.3 Veränderung des Angriffspunkts im Bakterium<sup>[15]</sup>

Bakterien können weiterhin ihre vom Antibiotikum angegriffenen Struktureinheiten verändern. Als Folge bleibt die spezifische Wechselwirkung zwischen dem Wirkstoff und der bakteriellen Angriffsstelle aus oder ist um ein Vielfaches schwächer.

Auf diese Weise reagieren z.B. gegen  $\beta$ -Lactame resistente Erreger. Durch räumliche Umprogrammierung der Transpeptidase in den Penicillin-bindenden Proteinen (PBP) verhindern die Bakterien den Angriff der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika ohne dabei ihre Enzymeigenschaften zu verlieren. Einer der bedeutendsten multiresistenten Problemkeime der heutigen Zeit, der sogenannte Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) bedient sich u.a. dieser Resistenzmethode.

Ähnlich wirken sich strukturelle Veränderungen der von Sulfonamiden und 4-Chinolonen angegriffenen Enzyme - Dihydropteroatsynthase und Gyrase – aus. Bei resistenten Erregern weisen die Antibiotika teilweise zehntausendfach schwächere Affinitäten zur aktiven Enzymstelle auf.

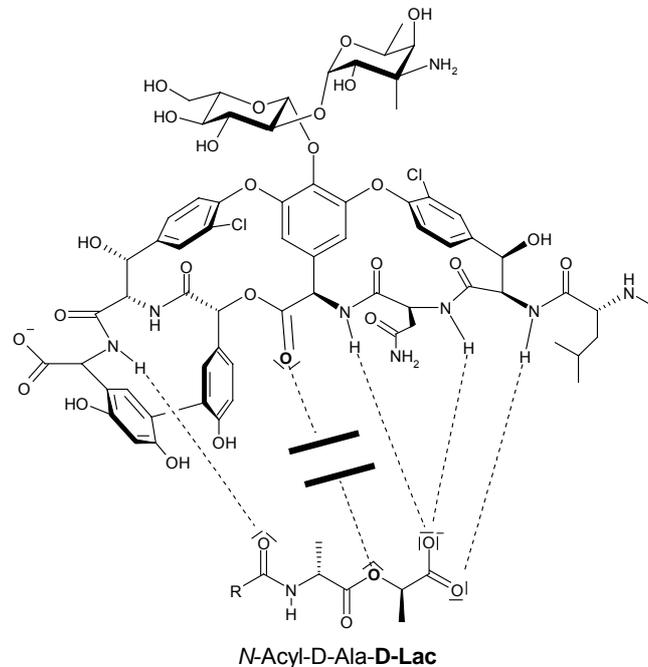


Abb.11: Durch den Einbau von Lactat um den Faktor 1000 niedrigere Affinität von Vancomycin an das Peptidsubstrat

Auch die lebensgefährlichen Vancomycin-resistenten *Enterokokken* (VRE) haben eine analoge Strategie entwickelt. Da Vancomycin das D-Alanyl-D-Alanin-Ende an der Peptidkette der Peptidoglycanstränge blockiert, wird das endständige D-Alanin, das bei der Quervernetzung abgespalten und somit nicht ins Mureingerüst eingebaut wird, durch eine D-Lactat-Einheit ersetzt. Dadurch wird die Bindungsaffinität des Vancomycins an das Substrat um den Faktor 1000 herabgesetzt und das Antibiotikum praktisch unwirksam, während der Aufbau der Bakterienzellwand von der Abwandlung nicht betroffen ist<sup>[7]</sup>.

## 5 Strategien gegen resistente Erreger<sup>[19]</sup>

Um die Resistenz von Bakterien gegen bestimmte Antibiotika zu umgehen und erneut wirksame Medikamente zu erhalten, gibt es vor allem zwei Ansätze.

Der erste greift in den spezifischen Resistenzmechanismus der Bakterien ein. Dieser wird gezielt außer Kraft gesetzt, wodurch die Antibiotika wieder wirksam werden. Bei  $\beta$ -Lactamase-produzierenden Keimen gelingt es auf zweierlei Weise, den Angriff des Bakterienenzym auf den Wirkstoff zu verhindern.

Einerseits können die  $\beta$ -Lactam-Antibiotika durch Einbau neuer Substituenten soweit räumlich verändert werden, dass die  $\beta$ -Lactamasen sie nur noch langsam hydrolysieren können. Die antibiotische Wirkung wird dadurch nur noch minimal eingeschränkt

Andererseits lassen sich die bakteriellen Enzyme durch gleichzeitig mit dem Antibiotikum verabreichte  $\beta$ -Lactamase-Hemmer inaktivieren. Dabei handelt es sich in der Regel ebenfalls um  $\beta$ -Lactame, die selbst nur schwach antibakteriell wirksam sind, dafür aber z.T. irreversibel an die  $\beta$ -Lactamasen binden. Das eigentliche Antibiotikum kann dann ungehindert in den Zellwandaufbau der Bakterien eingreifen und sie dadurch abtöten<sup>[20]</sup>. Daher wird z.B. Clavulansäure zusammen mit Amoxicillin, einem gegenüber  $\beta$ -Lactamasen anfälligen Penicillin-Derivat, kombiniert und als Augmentin verabreicht, das heutzutage erfolgreich gegen resistente Erreger eingesetzt wird.

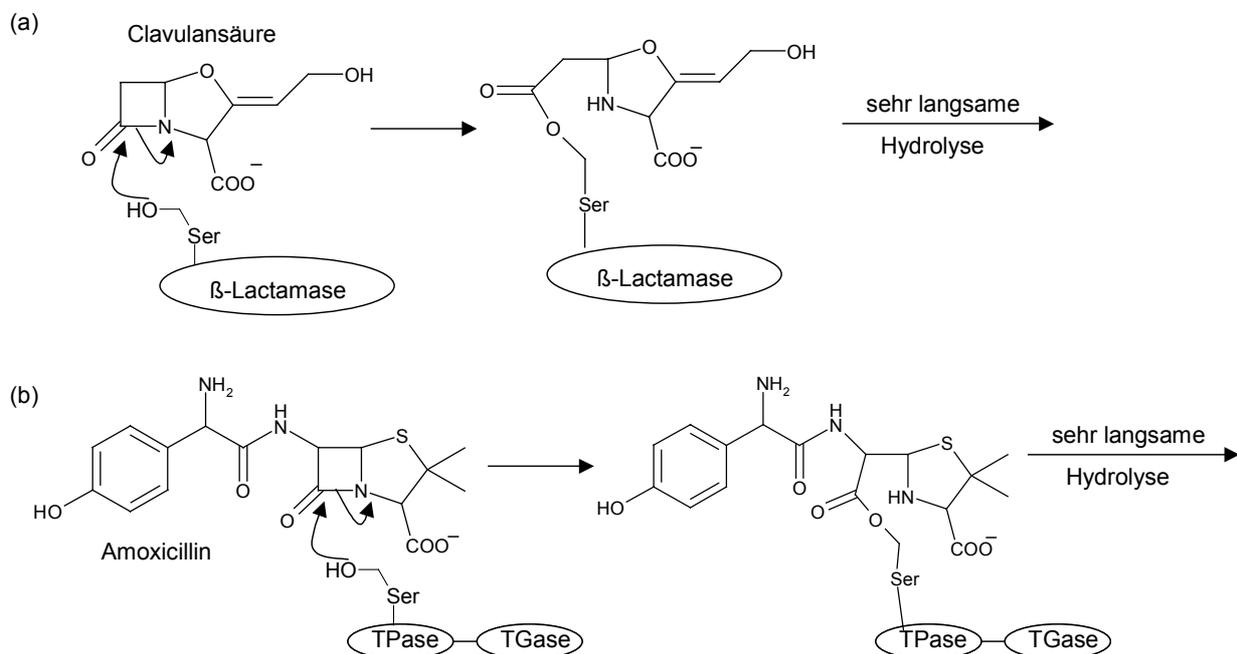
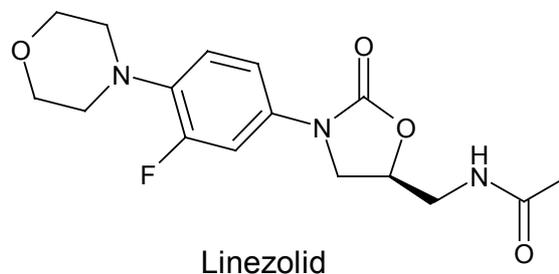


Abb. 12: Kombinationswirkung von Augmentin: a) Hemmung der  $\beta$ -Lactamase durch Clavulansäure  
b) Inaktivierung der Transpeptidase durch Amoxicillin

Mit einer ähnlichen Strategie wird neuerdings versucht, die durch das Auspumpen der Antibiotika resistent gewordenen Bakterien wieder gegenüber Tetracyclinen, Makrolidantibiotika oder 4-Chinolonen empfindlich zu machen. Diese Wirkstoffe werden gleichzeitig mit speziellen Membranpumpenhemmern verabreicht, welche den Pumpmechanismus unterbrechen und damit wieder eine ausreichende Anreicherung der Antibiotika in der Bakterienzelle gewährleisten<sup>[7]</sup>.

Der zweite Ansatz um Antibiotikaresistenzen zu umgehen ist die Entwicklung gänzlich neuer Antibiotika-Klassen, welche die Bakterien auf bisher noch nicht bekannte Weise schädigen. Dabei werden sowohl Stoffe aus natürlichen Reservoiren wie Mikroorganismen oder Pflanzen als auch rein synthetische Substanzen auf ihre antibakteriellen Eigenschaften untersucht und gegebenenfalls weiterentwickelt. Erst kürzlich gelang es, auf diesem Weg erstmals seit 30 Jahren wieder eine hochwirksame Antibiotika-Klasse zu entwickeln: die Oxazolidinone, auf die im Speziellen Teil noch genauer eingegangen wird. Linezolid ist als erster Vertreter dieser rein synthetischen Antiinfektiva-Klasse letztes Jahr in den USA zugelassen worden und zeigt vor allem gegen grampositive Erreger ein hervorragendes Wirkungsspektrum<sup>[21]</sup>.



Linezolid

Ein weiterer vielversprechender Kandidat im Kampf gegen resistente Bakterien ist das Ramoplanin, ein aus 17 Aminosäuren bestehendes Macrolacton. Es greift in die bakterielle Zellwandsynthese ein, indem es durch Substratkomplexierung die Transglycolase hemmt und dadurch ähnlich wie Vancomycin den Aufbau eines stabilen Mureingerüsts verhindert<sup>[22]</sup>.

Auf beiden Wegen konnten bisher neue, hochwirksame Antibiotika gegen resistente Erreger entwickelt werden. Angesichts der heutzutage immer ernster werdenden Resistenzproblematik müssen die Bemühungen in der Antibiotika-Entwicklung dennoch

verstärkt werden, um auch in der Zukunft noch wirksame Präparate zur Verfügung zu haben. Deshalb sollten im Rahmen dieser Arbeit sowohl neuartige Wirkstoffe entwickelt als auch bekannte Strukturen abgewandelt werden, um wirksame Antibiotika gegen resistente Erreger zu erhalten.

---

## **B     Spezieller Teil**

### **1     Maleinimid-Derivate als neuartige Antibiotika gegen grampositive Bakterien**

#### **1.1   Aufgabenstellung**

In den letzten Jahren konnte auf der ganzen Welt verstärkt eine Wiederausbreitung von längst überwunden geglaubten Infektionskrankheiten wie Diphtherie, Tuberkulose oder Cholera<sup>[23]</sup> beobachtet werden. Hauptproblem bzw. –ursache dabei ist die immer häufigere Resistenzentwicklung der Krankheitserreger, vor allem pathogener Bakterien, gegen die gängigen Antiinfektiva. Es ist daher dringend notwendig, einerseits einen verantwortlichen Umgang mit den entsprechenden Arzneistoffen zu etablieren und andererseits die Suche nach neuen Antibiotika zu forcieren.

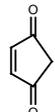
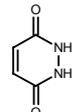
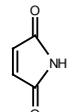
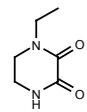
Dabei ist das Auffinden von biologisch aktiven Leitstrukturen in den letzten Jahrzehnten zu einer wichtigen Teilaufgabe bei der Wirkstoff-Entwicklung geworden. Die einmal gefundenen aktiven Substanzen können dann durch strukturelle Abwandlungen in ihrem Wirkprofil sowie ihren pharmakokinetischen Eigenschaften verändert und so zu potenten Arzneimitteln weiterentwickelt werden.

Da bereits kleinere Moleküle wie z.B. Sulfonamide<sup>[24]</sup> sich als antibakteriell wirksam erwiesen, sollten zunächst einige einfache 5- und 6-Ringsysteme routinemäßig auf ihre antibiotischen Eigenschaften mit Hilfe von Plattendiffusionstests<sup>[25],[26],[27]</sup> untersucht werden.

Zur Durchführung der Experimente wurden jeweils 30 µg der zu testenden Substanz als Lösung auf einem runden Filzplättchen auf eine mit Bakterien beimpfte Agar-Platte aufgetragen und für 18 h bei 37°C inkubiert. Durch die Diffusion der Substanzen ergibt sich ein radiales Konzentrationsgefälle um die Filzplättchen. Man kann dann anhand der Hemmhöfe um die Filzplättchen die antibiotische Wirksamkeit abschätzen. Der Hemmhofdurchmesser in mm dient dabei als Maß für die Wirksamkeit einer Verbindung, die nicht linear, sondern annähernd exponentiell mit dem Durchmesser zunimmt<sup>[25]</sup>. Als Vergleichsantibiotikum wurde jeweils das Cephalosporin Ceftazidim (CAZ) verwendet, dessen Hemmhofdurchmesser in jeder Testreihe nahezu gleich war.

---

## Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:

Bakterienstämme:		 2-Cyclo- penten- 1-on 30 µg	 4-Cyclo- penten- 1,3-dion 30 µg	 Malein- säure- hydrazid 30 µg	 Malein- imid 30 µg	 N-Ethyl-2,3- Piperazin- dion 30 µg	CAZ 30 µg
Gram- positiv:	s.aur. 1104	0	21	0	32	0	21
	s.aur.res.	0	18	0	33	0	15
	staph. 25768	0	20	0	31	0	12
	staph. Innsbruck	0	22	0	33	0	0
	E.coccus	0	14	0	32	0	0
Gram- negativ:	E.coli 1103	0	19	0	25	0	24
	E.coli TEM	0	21	0	28	0	27
	E.cloacae	0	16	0	22	0	14
	Ps.aer.	0	18	0	22	0	22
	Ps.aer.res.	0	18	0	22	0	12

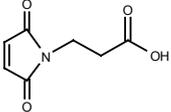
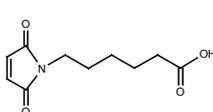
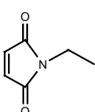
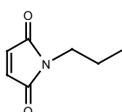
Bei den Tests ergaben sich einige interessante Ergebnisse. Während die meisten Ringsysteme unwirksam sind, zeigen Maleinimid und 2-Cyclopenten-1,3-dion antibiotische Aktivität. Da bereits antibakteriell aktive Derivate dieser beiden Fünfringe bekannt sind<sup>[28],[29]</sup>, war auch eine Wirksamkeit für die unsubstituierten Grundstrukturen anzunehmen. Vor allem Maleinimid erweist sich als antibakteriell hochwirksame Substanz. Gerade bei Problemkeimen wie dem Methicillin-resistenten *Staphylococcus Innsbruck* oder dem *Enterococcus*, gegen die z.B. Ceftazidim (CAZ) nicht mehr wirkt, zeigt sich ein enormes antibiotisches Potential.

Nun ist jedoch bekannt, dass Maleinimid auch akut toxisch ist und somit eine Anwendung als Medikament nicht in Frage kommt. Dennoch waren die Testergebnisse so ermutigend, dass zunächst weitere käufliche Derivate des Maleinimids auf ihre Eigenschaften als Antibiotika getestet werden sollten.

Man weiß bereits seit einiger Zeit, dass Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren eine hohe biologische Aktivität in verschiedenen Enzymsystemen aufweisen<sup>[30],[31]</sup>. Auch *N*-Alkylmaleinimide sind für eine Reihe von pharmakologischen Wirkungen<sup>[28],[32]</sup>

bekannt. Von beiden Substanzgruppen wurden deshalb einige Vertreter auf ihre antibiotischen Eigenschaften getestet.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:		 3-( <i>N</i> -Maleinimido)- propansäure 30 µg	 6-( <i>N</i> -Maleinimido)- hexansäure 30 µg	 <i>N</i> -Ethyl- maleinimid 30 µg	 <i>N</i> -Propyl- maleinimid 30 µg	CAZ 30 µg
Gram- positiv:	s.aur. 1104	8.5	14.5	15	14	22
	s.aur.res.	9	17	14	13	19
	staph. 25768	9.5	17	14.5	13	14
	staph. Innsbruck	9	17	17	14	0
	E.coccus	22	26	24	23	0
Gram- negativ:	E.coli 1103	8	7.5	20	18	24
	E.coli TEM	7.5	0	21	17	27
	E.cloacae	7	7	17	15	14
	Ps.aer.	0	0	10	7.5	22
	Ps.aer.res.	0	0	11	7.5	12

Wie sich herausstellte, zeigen die Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren eine immer noch befriedigende bis gute Wirksamkeit im Bereich der grampositiven Keime. Die *N*-Alkylmaleinimide weisen für alle Bakterienarten mittlere bis gute Wirksamkeiten auf. Beide Substanzgruppen schienen somit als mögliche Leitstrukturen für die weitere Entwicklung eines neuartigen Antibiotikatyps geeignet.

Allerdings lag aufgrund der hohen akuten Toxizität von Maleinimid (LD<sub>50</sub> bei Mäusen 9 mg/kg)<sup>[33]</sup> die Vermutung nahe, dass auch die davon abgeleiteten Derivate toxisch sind. Bevor nun eine Verbesserung der antibiotischen Eigenschaften durch Modifizierung der Leitstrukturen in Angriff genommen wurde, sollte zunächst ein einfaches Testverfahren auf akute Toxizität entwickelt werden. Durch Vergleich der antibakteriellen und der toxischen Eigenschaften könnte dann leichter ein Zusammenhang zwischen Struktur und Wirkung erkannt werden. Die richtige Vorauswahl erfolgversprechender Verbindungen würde sich deutlich vereinfachen.

## 1.2 Einfacher Toxizitätstest mit *Saccharomyces cerevisiae* (Bäckerhefe)<sup>[34]</sup>

Die erste Untersuchung eines neuen Arzneistoffes bezüglich seiner Giftigkeit ist die Prüfung auf akute Toxizität. Heutzutage werden überwiegend Tierversuche zur Bestimmung der Giftigkeit herangezogen. Dies bedeutet oft einen großen Zeit- und Kostenaufwand, ist ethisch nur teilweise vertretbar und steht einer schnellen und effektiveren Wirkstoffentwicklung im Weg.

Deshalb wurde auf einen anderen intakten, leicht zugänglichen und kultivierbaren Organismus mit eukaryontischen Zellen zurückgegriffen, die gewöhnliche Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*). Die Hefezellen besitzen eine Enzymausstattung, die vor allem bezüglich des fremdstoffmetabolisierenden Enzymsystems (Cytochrom P-450) der des Menschen sehr ähnelt<sup>[35]</sup>. Viele Wirkstoffe und auch Gifte werden durch die Hefe auf die gleiche Weise metabolisiert wie im tierischen oder menschlichen Körper. Somit scheint sie hervorragend als Testorganismus für Toxizitätstests geeignet<sup>[36]</sup>.

Die Arbeiten von H. P. Koch<sup>[34]</sup>, der ebenfalls einfache Bäckerhefe zur Untersuchung von akuter Toxizität verschiedener Substanzen verwendete, dienten bei der Entwicklung des Tests als Grundlage. Dort wurde diejenige Konzentration einer Substanz, bei der sich das Zellwachstums um die Hälfte verlangsamt, als Kenngröße für die Toxizität verwendet und auf Übereinstimmung mit Daten aus Tierversuchen überprüft.

Unser Ziel war nun, eine möglichst einfache Testanordnung zu entwickeln, die schnell durchzuführen und einfach auszuwerten ist. Dies gelang unter Verwendung der Plattendiffusionsmethode, die bereits bei Tests auf antibakterielle Wirksamkeit erfolgreich angewandt wird<sup>[25],[26],[27]</sup>. Allerdings mussten gegenüber dem Bakterientest einige Modifizierungen vorgenommen werden.

Es wurden jeweils frische Hefekulturen durch Bebrüten von Bäckerhefe in einem geeigneten Malz-Nährmedium bei 30 C° angezchtet. Diese wurden dann mit einem speziellen Hefeagar bestimmter Konzentration auf einer Petrischale vermischt. Nach dem Erstarren des Agars konnten die zu testenden Substanzen als Lösung in DMSO auf ein aufgelegtes, kreisrundes Filzplättchen aufgetragen werden. Hierbei entstand durch gleichmäßige, langsame Diffusion der Substanz ein radiales Konzentrationsgefälle. Nachdem die so vorbereiteten Agarplatten 18 h bei 30°C

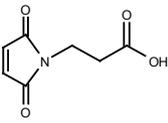
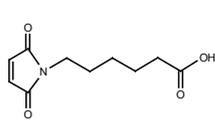
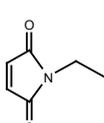
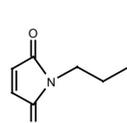
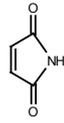
inkubiert wurden, ließ sich die Hemmung des Hefewachstums einfach an der nichtbewachsenen, kreisrunden Fläche um die Filzplättchen, dem sogenannten Hemmhof, erkennen. Die Toxizität konnte somit anhand der Hemmhofgröße abgeschätzt werden.

Als Vergleichsubstanz für alle Tests wurde das als akut toxisch bekannte Maleinimid gewählt. Durch mehrere Versuchsreihen konnte das Optimum für die aufzutragende Substanzmenge mit 1.0 mg ermittelt werden. Der Hemmhofdurchmesser für Maleinimid war dann mit 25 – 27 mm idealerweise relativ groß, was genügend Spielraum nach unten für weniger toxische Verbindungen ließ.

### 1.3 Toxizität der Maleinimid-Derivate

Die bereits auf ihre antibakteriellen Eigenschaften untersuchten Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren und *N*-Alkylmaleinimide konnten nun mit der neuen Methode auf ihre Toxizität getestet werden. Nach 18 h bei 30°C wurden die toxischen Eigenschaften anhand der Hemmhofdurchmesser verglichen.

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>					
	3-( <i>N</i> -Maleinimido)- propansäure 1 mg	6-( <i>N</i> -Maleinimido)- hexansäure 1 mg	<i>N</i> -Ethyl- maleinimid 1 mg	<i>N</i> -Propyl- maleinimid 1 mg	Malein- imid 1 mg
sacch.cerevisiae	13	14	38	40	26

Während beide Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren im Vergleich zu Maleinimid eine deutlich niedrigere Toxizität aufwiesen, waren die *N*-Alkylmaleinimide nach den Hemmhofdurchmessern zu urteilen sogar noch giftiger als das Maleinimid. Deshalb schienen für die weitere Wirkstoffsuche die Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren als Leitstrukturen am besten geeignet.

## 1.4 Bestimmung der idealen Kettenlänge für Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren

Bei der Wirkstoffentwicklung hat sich das sogenannte Homologie-Prinzip<sup>[37]</sup> als sehr hilfreich erwiesen. Danach führt die Verlängerung einer gesättigten Kohlenwasserstoffseitenkette oft zu einer Wirkungsverstärkung, bis bei einer bestimmten Kettenlänge ein Maximum erreicht ist. Deshalb sollten zunächst die Homologen der Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren bis zur Maleinimido-*N*-heptansäure auf ihre pharmakologischen Effekte untersucht werden, um die ideale Kettenlänge zu bestimmen.

Während Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren mit zwei, drei oder fünf Methylengruppen käuflich zu erwerben waren, mussten die weiteren Derivate vor den biologischen Tests zunächst synthetisiert werden.

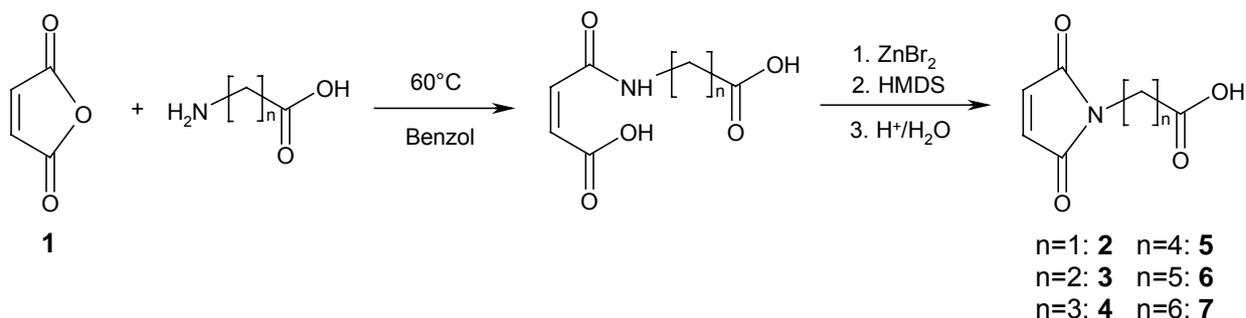
### 1.4.1 Synthese der Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren

Zur Synthese von Maleinimid-Derivaten steht eine Reihe von Möglichkeiten zur Verfügung. Am häufigsten wird die Kondensation eines primärenamins mit Maleinsäureanhydrid und die anschließende Cyclisierung unter Säure- oder Basenkatalyse verwendet<sup>[30],[38],[39],[40]</sup>. Eine alternative Methode ist die direkte *N*-Alkylierung von Maleinimid mit einem Alkohol mittels Mitsunobu-Reaktion<sup>[41],[42]</sup>. Weiterhin geht man gelegentlich von *N*-(Methoxycarbonyl)-maleinimid aus, das unter basischen Bedingungen mit einem primären Amin umgesetzt wird<sup>[43]</sup>.

All diese Methoden haben den Nachteil einer meist schlechten bis mäßigen Ausbeute gemeinsam. Außerdem ist ihre Anwendung meist auf eine nur begrenzte Auswahl von Resten beschränkt.

Erst kürzlich wurde jedoch von Toru et al.<sup>[44]</sup> eine neue, breit anwendbare Methode zur Darstellung von Maleinimid-Derivaten vorgestellt, die gute bis ausgezeichnete Ausbeuten liefert. Dabei wird zunächst das jeweilige primäre Amin mit Maleinsäureanhydrid in Benzol zur entsprechenden *N*-substituierten Maleamidsäure umgesetzt. Diese wird anschließend ohne Isolierung unter Anwesenheit von ZnBr<sub>2</sub> und Hexamethyldisilazan (HMDS) zum Maleinimid cyclisiert. Als Mechanismus wird dabei eine zwischenzeitliche Silylierung der Maleamidsäure angenommen. Die darauffolgende thermische Desoxysilylierung führt dann zur gewünschten Ringbildung.

Zur Darstellung der Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren wurden die entsprechenden Amino-alkancarbonsäuren verwendet.



Zunächst wurden Maleinsäureanhydrid (**1**) und die jeweilige Amino-alkancarbonsäure in Benzol unter Rühren auf 60°C erwärmt. Dabei schied sich allmählich ein weißer, amorpher Niederschlag an der Glaswand ab. Nach 1 h konnte man auf dem Dünnschichtchromatogramm kein Edukt mehr erkennen. Hierauf wurde 1 Äquivalent ZnBr<sub>2</sub> zugesetzt und die Mischung zum Sieden erhitzt. Durch Zutropfen von zunächst 1.5 Äquivalenten HMDS in Benzol wurde die Cyclisierungsreaktion gestartet. Nach 1.5 h wurden weitere 0.5 Äquivalente HMDS zugegeben. Nach insgesamt 4 h bei 80°C konnte die entsprechende Maleinimido-*N*-alkancarbonsäure nach saurer wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung in mäßiger bis guter Ausbeute isoliert werden.

*Vergleich der neu synthetisierten Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren:*

Kettenlänge n:	Charakteristische <sup>1</sup> H-NMR-Signale (δ [ppm])	Ausbeute	Schmelzpunkte
n=1: 2-( <i>N</i> -Maleinimido)-ethansäure ( <b>2</b> )	3.75 (s, N-CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H); 6.70 (s, HC=CH)	75%	111 – 113°C
n=4: 4-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentansäure ( <b>4</b> )	2.39 (t, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H); 3.55 (t, <sup>3</sup> J = 6.5 Hz, CH <sub>2</sub> -N); 6.71 (s, HC=CH)	63%	82 – 83°C
n=6: 7-( <i>N</i> -Maleinimido)-heptansäure ( <b>7</b> )	2.34 (t, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H); 3.51 (t, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> -N); 6.70 (s, HC=CH)	62%	89 – 91°C

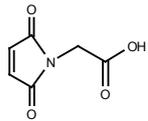
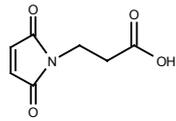
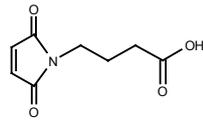
Die Analyse der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Substanzen ergibt annähernd gleiche Verschiebungen für die olefinischen Protonen des Maleinimid-Restes. Die

Methylengruppe in Verbindung **2** erscheint bei etwas tieferen Feld als die entsprechenden CH<sub>2</sub>-Gruppen in Nachbarschaft zum Stickstoff bei **4** und **6**. Die typischen Triplettssignale der Methylengruppen neben der Säuregruppe in Verbindung **4** und **6** weisen ähnliche ppm-Werte auf. Die Signale der restlichen Methylengruppen erscheinen als Multipletts und können nicht immer eindeutig zugeordnet werden.

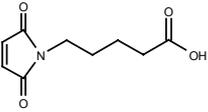
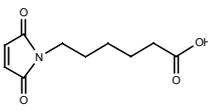
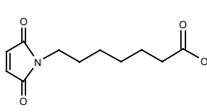
### 1.4.2 Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der Maleinimido-N-alkancarbonsäuren

Die antibiotische Aktivität der Homologenreihe wurde mittels der bereits erwähnten Plattendiffusionsmethode ermittelt.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:					CAZ
		2-(N-Maleinimido)-ethansäure ( <b>2</b> ) 30 µg	3-(N-Maleinimido)-propansäure ( <b>3</b> ) 30 µg	4-(N-Maleinimido)-butansäure( <b>4</b> ) 30 µg	30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	0	9	12	21
	s.aur.res.	0	9	15	15
	staph. 25768	0	10	15	12
	staph. Innsbruck	0	9	13	0
	E.coccus	9	22	24	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	0	8	9	24
	E.coli TEM	0	8	7	27
	E.cloacae	0	7	8	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

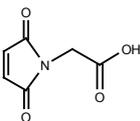
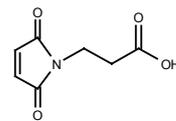
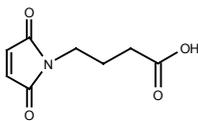
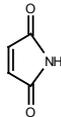
*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:					CAZ 30 µg
		5-( <i>N</i> -Maleinimido)- pentansäure (5) 30 µg	6-( <i>N</i> -Maleinimido)- hexansäure (6) 30 µg	7-( <i>N</i> -Maleinimido)- heptansäure (7) 30 µg	
Gram- positiv:	s.aur. 1104	13	16	17	21
	s.aur.res.	16	17	18	15
	staph. 25768	16	17	17	12
	staph. Innsbruck	15	17	18	0
	E.coccus	25	26	24	0
Gram- negativ:	E.coli 1103	9	8	7	24
	E.coli TEM	0	0	0	27
	E.cloacae	8	7	0	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

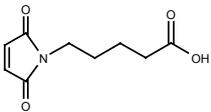
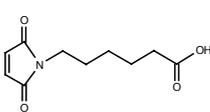
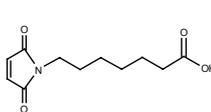
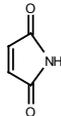
Aus den Werten lässt sich mit wachsender Kettenlänge eine Zunahme der antibakteriellen Wirksamkeit gegen grampositive Keime erkennen. Während **2** praktisch keine Wirkung zeigt, kommt es mit zunehmender Methylengruppenzahl zu einem deutlichen Aktivitätsanstieg, wobei der Unterschied von **6** zu **7** nur noch gering ist und es beim *Enterococcus* sogar zu einer Abnahme der Wirksamkeit kommt. Gegen gramnegative Bakterien sind die *N*-Maleinimido-alkancarbonsäuren nur minimal wirksam.

Zur weiteren Untersuchung wurden die Substanzen mit der neu entwickelten Agar-Diffusionsmethode auf ihre Toxizität gegen Hefe getestet und mit Maleinimid als toxischer Referenzsubstanz verglichen.

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>				
	2-( <i>N</i> -Maleinimido)-ethansäure ( <b>2</b> ) 1 mg	3-( <i>N</i> -Maleinimido)-propansäure ( <b>3</b> ) 1 mg	4-( <i>N</i> -Maleinimido)-butansäure( <b>4</b> ) 1 mg	Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	14	13	12	26

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>				
	5-( <i>N</i> -Maleinimido)-pentansäure ( <b>5</b> ) 1 mg	6-( <i>N</i> -Maleinimido)-hexansäure ( <b>6</b> ) 1 mg	7-( <i>N</i> -Maleinimido)-heptansäure ( <b>7</b> ) 1 mg	Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	13	14	16	26

Alle Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren zeigen eine deutlich niedrigere Toxizität als das unsubstituierte Maleinimid. Bei zunehmender Kettenlänge nimmt die toxische Wirkung zunächst ab, bis sie für die 4-(*N*-Maleinimido)-butansäure (**4**) ein Minimum erreicht. Bei den nächsthöheren Homologen steigt die Toxizität dann wieder an.

Nach Auswertung der Testergebnisse erschien insgesamt die 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure (**6**) als Verbindung mit den günstigsten Eigenschaften bezüglich antibakterieller und toxischer Wirkung. Einerseits zeigt die Substanz die größte Wirkung gegen *Enterokokken* und ist auch gegen andere grampositive Keime noch relativ gut wirksam, andererseits ist die Toxizität, wenngleich nicht minimal, im Vergleich zu Maleinimid durchaus akzeptabel. Somit wurde als Kettenlänge für weitere strukturelle Modifizierungen  $n = 5$  gewählt.

## 1.5 Modifizierung der Leitstruktur

Bei der Modifizierung von Wirkstoffen wird häufig eine Aminofunktion verwendet, um die polaren Eigenschaften der Substanzen zu beeinflussen. Primäre Amine sind dabei oft wirksamer als sekundäre, und diese wiederum wirksamer als tertiäre Amine<sup>[37]</sup>. Der

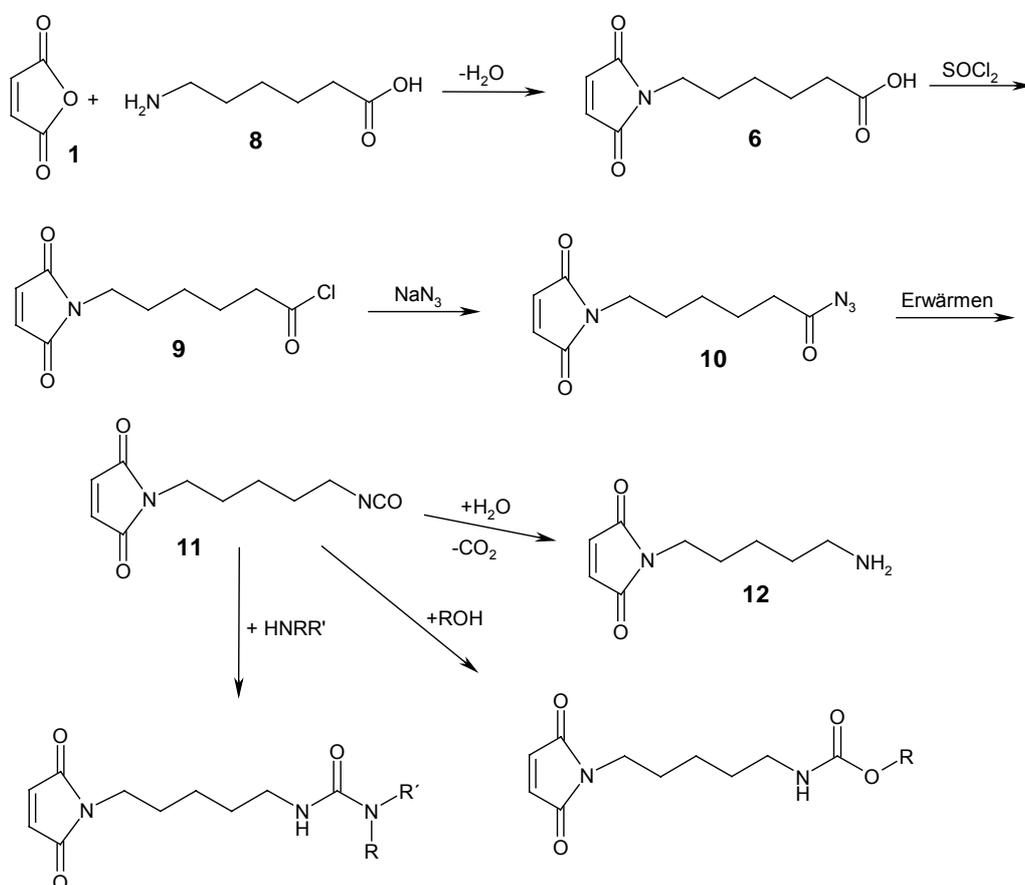
Antimalaria-Wirkstoff Primaquin ist als primäres Amin z.B. viel aktiver als das entsprechende sekundäre bzw. tertiäre Amin. Deshalb sollte zunächst die Carboxylgruppe von **6** durch eine Aminogruppe ersetzt werden.

Als einfacher Weg zur Einführung der primären Aminogruppe bot sich der Curtius-Abbau<sup>[45],[46],[47]</sup> ausgehend von der 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure (**6**) an. Diese Synthesevariante hat den Vorteil, dass sie über das isolierbare Isocyanat-Derivat führt, was zusätzlich eine Vielzahl verschiedener Urethan- und Harnstoff-Derivate zugänglich macht.

Dabei sollte zunächst eine größere Menge der 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure (**6**) nach der Methode von Toru et al.<sup>[44]</sup> synthetisiert werden, um sie anschließend in das Säurechlorid **9** zu überführen.

Als nächster Schritt war die Substitution zum Säureazid **10** geplant, das bei thermischer Aktivierung unter Stickstoffabspaltung in das Isocyanat umlagert.

Ausgehend vom Isocyanat **11** können dann in weiteren Schritten das Amin **12** sowie verschiedene Urethane und Harnstoffe erhalten werden.



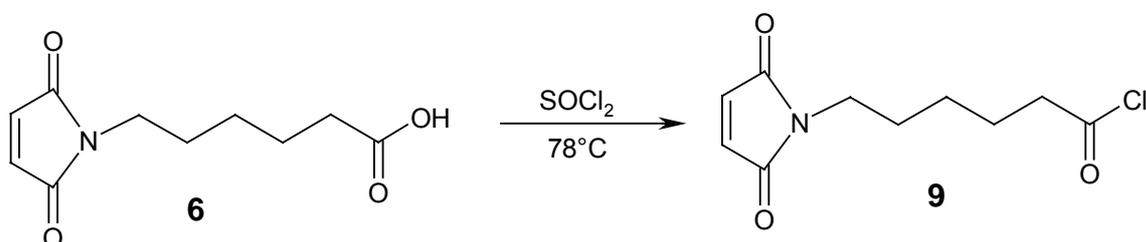
### 1.5.1 Synthese von 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure (**6**)

Analog zu den bereits dargestellten *N*-Maleinimido-alkancarbonsäuren ließ sich auch 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure (**6**) aus Maleinsäureanhydrid und 6-Aminohexansäure problemlos synthetisieren. Der Ringschluss gelang wiederum in Anwesenheit von ZnBr<sub>2</sub> und HMDS durch Erhitzen der Reaktionsmischung. Nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung konnte **6** in 72%iger Ausbeute isoliert werden.

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ist kaum eine Veränderung der charakteristischen Signale gegenüber den bereits synthetisierten *N*-Maleinimido-alkancarbonsäuren erkennbar.

### 1.5.2 Überführung in das Säurechlorid

Die Überführung von **6** in das Säurechlorid **9** verlief problemlos mit Thionylchlorid. Dabei wurde die Carbonsäure im Chlorierungsmittel gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Der Verlauf der Reaktion konnte gut über die Entstehung der gasförmigen Nebenprodukte SO<sub>2</sub> und HCl verfolgt werden. Nach einer Stunde am Rückfluss wurde das überschüssige Thionylchlorid abdestilliert. Durch weitere destillative Aufarbeitung am Hochvakuum konnte **9** als farblose Flüssigkeit in guter Ausbeute (80%) isoliert werden.



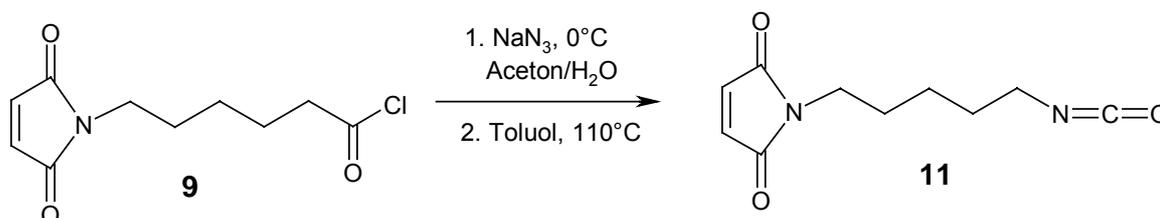
Die Auswertung des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums ergibt vor allem für die der Carbonsäurechlorid-Funktion benachbarte CH<sub>2</sub>-Gruppe mit 2.89 ppm eine stärkere Tieffeldverschiebung im Vergleich zur Carbonsäure **6** (2.35 ppm). Auch im IR-Spektrum ist eine deutliche Verschiebung der Carbonylabsorption von 1715 cm<sup>-1</sup> bei der freien Säure zu 1800 cm<sup>-1</sup> beim Säurechlorid zu beobachten.

### 1.5.3 Darstellung des Isocyanats **11**

Um das Carbonsäurechlorid **9** in das entsprechende Isocyanat **11** zu überführen, wurde zunächst das Säureazid **10** im sogenannten „Naß-Verfahren“ dargestellt<sup>[45],[48],[49]</sup>. Hierzu wurde **9** in Aceton bei 0°C vorgelegt und eine wässrige Lösung von 1.5

Äquivalenten Natriumazid langsam zugetropft. Nach einstündigem, kräftigen Rühren bei 0°C wurde die Reaktionsmischung mit kaltem Toluol extrahiert und über viel Magnesiumsulfat getrocknet.

Die so erhaltene Lösung des Carbonsäureazids **10** wurde direkt weiter zum Isocyanat **11** umgesetzt. Man erwärmte dazu die Säureazid-Lösung vorsichtig zum Rückfluss. Der Reaktionsverlauf ließ sich über die bei ca. 60°C einsetzende Stickstoffentwicklung gut beobachten. Nach 4 h am Rückfluss wurde die Reaktionslösung eingeengt und am Hochvakuum destilliert. Auf diese Weise konnte **11** als fahlgelbes Öl isoliert werden. Die Ausbeute betrug 50%.



Das IR-Spektrum des Produkts zeigt die für das Isocyanat charakteristische Bande bei 2280 cm<sup>-1</sup>, während die der Carbonylabsorption des Säurechlorids bei 1800 cm<sup>-1</sup> verschwunden ist. Die der Isocyanatgruppe benachbarte Methylengruppe erscheint im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum nun bei 3.30 ppm.

#### 1.5.4 Syntheseversuch des 5-(N-Maleinimido)-pentylamins (**12**)

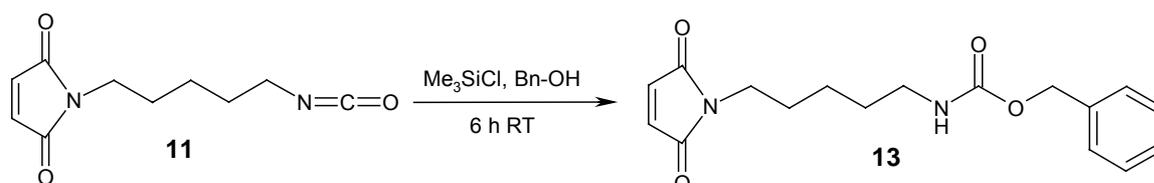
Amine können zwar direkt durch die Hydrolyse des Isocyanats zur instabilen Carbaminsäure mit anschließender Decarboxylierung dargestellt werden, die Reaktionsbedingungen hierbei sind jedoch meist drastischer Art. So wird entweder in konzentrierter Salz- oder Schwefelsäure erhitzt oder mit wässrigen Alkali-Lösungen gearbeitet<sup>[50]</sup>.

Um einen milderen Syntheseweg zu beschreiten, sollte das Isocyanat **11** zuerst in das Benzylurethan **13** überführt werden. Durch die anschließende hydrogenolytische Abspaltung der Benzylloxycarbonylgruppe bei Raumtemperatur mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator würde man das Amin **12** unter sanften Bedingungen erhalten.

##### 1.5.4.1 Synthese des Benzylurethans **13**

Da Alkylisocyanate bei milden Reaktionstemperaturen oft nur langsam mit Alkoholen reagieren, ist es üblich, die Reaktion durch Aktivierung<sup>[51]</sup> einer der Komponenten zu

beschleunigen. Als effiziente und einfache Methode bot sich hier eine von Vaultier et al.<sup>[52]</sup> entwickelte Aktivierung des Isocyanats durch HCl an. Der Mechanismus läuft vermutlich über ein zwischenzeitlich gebildetes Carbamoylchlorid ab, an das anschließend der Alkohol addiert. Als Quelle für den Katalysator HCl kann entweder eine 0.3 molare Lösung von HCl in Dichlormethan oder technisches Trimethylsilylchlorid verwendet werden. Ob HCl dabei bereits ausreichend im ungereinigten Me<sub>3</sub>SiCl vorhanden ist oder erst durch Reaktion von Me<sub>3</sub>SiCl mit dem Alkohol entsteht, ist noch ungeklärt.



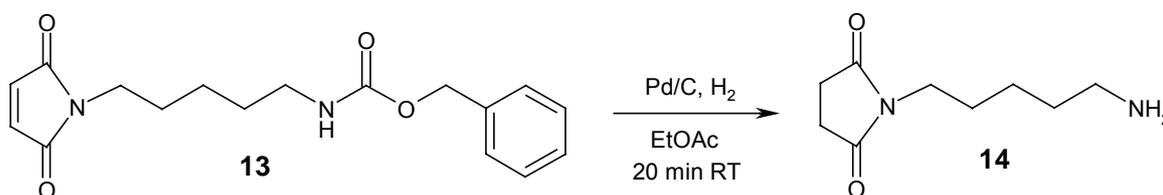
Zur Durchführung der Addition von Benzylalkohol an das Isocyanat **11** wurde Trimethylsilylchlorid verwendet. Das Isocyanat wurde dazu in Dichlormethan vorgelegt und mit 0.5 Äquivalenten Trimethylsilylchlorid versetzt. Dann wurden 1.5 Äquivalente des Alkohols zugegeben und die Reaktionslösung 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels IR-Spektroskopie (Verschwinden der Isocyanat-Bande bei 2280 cm<sup>-1</sup>) und Dünnschichtchromatographie verfolgt. Das Produkt **13** konnte nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung als weißer Feststoff in 86%iger Ausbeute isoliert werden.

#### 1.5.4.2 Versuche der selektiven Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe unter Palladium-Katalyse

Zur hydrogenolytischen Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe wurde Verbindung **13** in Essigsäureethylester gelöst und zu bereits vorhydriertem Palladium auf Aktivkohle gegeben. Die Wasserstoffaufnahme verlief bei Raumtemperatur sehr rasch und war nach 20 min beendet. Es wurde jedoch mehr Wasserstoff als erwartet aufgenommen. Nach Aufarbeitung und Trocknen am Hochvakuum erhielt man ein farbloses Öl, das mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie untersucht wurde.

Aus dem Fehlen von Signalen im aromatischen Bereich kann zwar auf die Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe geschlossen werden. Allerdings ist auch die Doppelbindung am Maleinimid hydriert worden. Statt dem typischen Signal bei

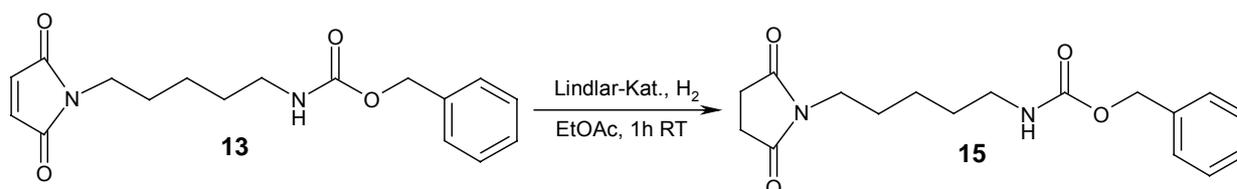
~6.7 ppm ist nun eine für Succinimide charakteristische Verschiebung von 2.70 ppm erkennbar. Es wurde also nicht das erwünschte Produkt **12**, sondern das 5-(*N*-Succinimido)-pentylamin **14** hergestellt.



Auch der Versuch, die Reaktion bei niedrigeren Temperaturen (0°C und –15°C) nach Aufnahme der berechneten Wasserstoffmenge abubrechen, führte nicht zur Zielverbindung. Stattdessen erhielt man unter anderem ein Gemisch aus Edukt und obiger Succinimid-Verbindung. Anders als bei einigen Michael-Systemen, bei denen die Doppelbindung mit Palladium als Katalysator deutlich langsamer hydriert wird als vorhandene benzyliche Schutzgruppen<sup>[53]</sup>, verlief die Wasserstoffaufnahme zu rasch und zu wenig selektiv, um das gewünschte Amin **12** auf diesem Weg zu erhalten.

#### 1.5.4.3 Versuch zur selektiven Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppe mit Lindlar-Katalysator

Da Palladium als Katalysator für die Hydrierung offensichtlich zu aktiv war, um eine selektive hydrogenolytische Abspaltung zu bewirken, wurde ein weiterer Abspaltungsversuch mit deaktiviertem Lindlar-Katalysator unternommen. Die Wasserstoffaufnahme nach Zugabe des Benzylurethans **13** war hierbei deutlich langsamer. Nach einer Stunde war 1 Äquivalent Wasserstoff verbraucht und man begann mit der Aufarbeitung des Reaktionsgemisches. Das isolierte farblose Öl wurde <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch untersucht.



Wie sich zeigt, ist diesmal selektiv nur die Doppelbindung des Maleinimid-Restes hydriert worden. Die Aromatensignale sind zwar noch vorhanden, die olefinischen

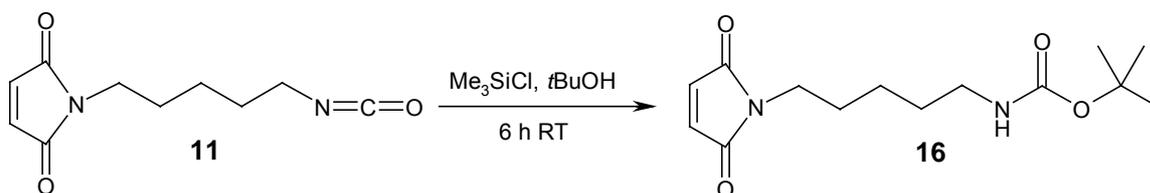
Protonen bei  $\sim 6.7$  ppm dagegen fehlen. Man hat also wieder eine Succinimido-Verbindung **15** erhalten, was am typischen Signal bei 2.68 ppm deutlich wird.

### 1.5.5 Synthese des 5-(*N*-Maleinimido)-pentylamins **12**

Da der Weg über das Benzylurethan **13** als nicht geeignet erschien, sollte das Amin **12** nun über ein *t*-Butylcarbammat dargestellt werden. Dazu sollte zuerst *t*-Butylalkohol an das Isocyanat **11** addiert werden und anschließend die BOC-Schutzgruppe unter sauren Bedingungen abgespalten werden.

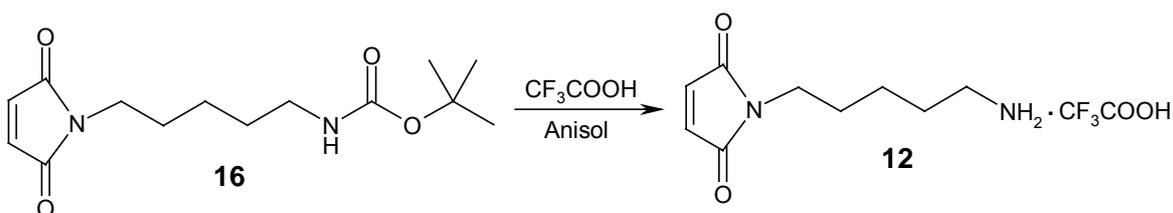
#### 1.5.5.1 Darstellung des *t*-Butylcarbamats

Die Synthese des *t*-Butylurethans **16** verlief problemlos nach der unter 1.5.4.1 erwähnten Methode aus dem Isocyanat **11** und *t*-Butylalkohol unter Anwesenheit von  $\text{Me}_3\text{SiCl}$ . Nach sechsstündiger Reaktion in Dichlormethan bei Raumtemperatur konnte das Carbamat **16** nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie als weißer Feststoff in guter Ausbeute (84%) isoliert werden.



#### 1.5.5.2 Abspaltung der BOC-Gruppe<sup>[43]</sup>

Zur Abspaltung der *t*-Butyloxycarbonylgruppe wurde **16** in Trifluoressigsäure und Anisol gelöst und für 15 min bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt. Nach weiteren 30 min bei Raumtemperatur war auf dem Dünnschichtchromatogramm kein Edukt mehr zu erkennen.



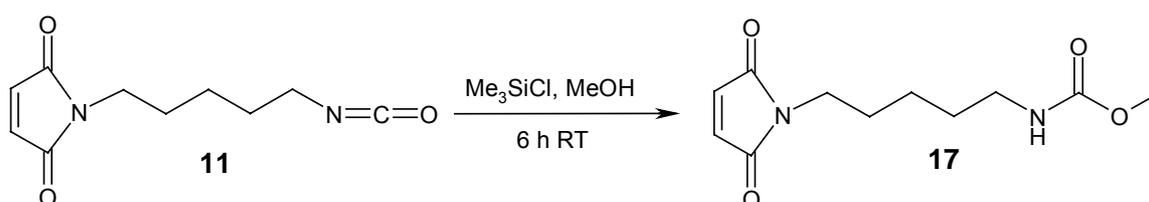
Nach kurzer Aufarbeitung und Umkristallisation aus Methylenchlorid/Ether erhielt man das Trifluoressigsäure-Salz des Amins **12** in Form weißer Nadeln. Die Ausbeute betrug 91%.

### 1.5.6 Synthese weiterer Urethane

Um die Auswahl an Urethanen für die systematischen biologischen Tests zu erweitern, sollte auch das Methylcarbamat **17** hergestellt werden.

#### 1.5.6.1 Darstellung des Methylurethans **17**

Die Addition von Methanol an 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (**11**) gelang nach der bereits erwähnten Methode von Vaultier et al.<sup>[52]</sup> in guter Ausbeute (80%). Als Katalysator diente wiederum HCl bzw. Trimethylsilylchlorid. Reaktionszeit und –bedingungen wurden gegenüber der Darstellung der anderen Urethane nicht verändert.



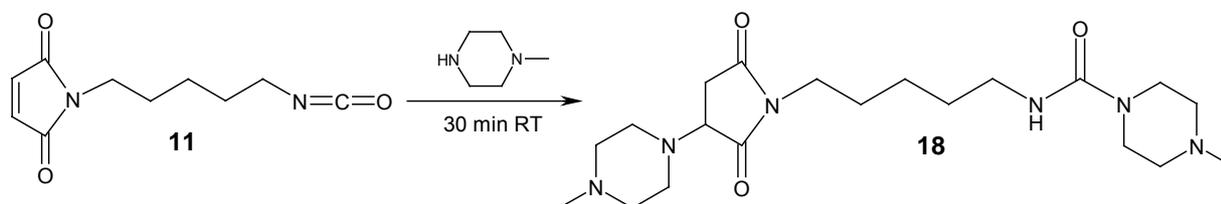
### 1.5.7 Synthese eines Harnstoffderivats

Die Harnstoffgruppe ist Bestandteil verschiedenster Wirkstoffe. So findet sie sich z.B. bei Sulfonamid-Derivaten<sup>[54]</sup> oder bei Arzneistoffen gegen Trypanosomeninfektionen (Schlafkrankheit)<sup>[55]</sup>. Auch Piperazin-harnstoffderivate zeigen häufig biologische bzw. physiologische Aktivität<sup>[56],[57]</sup> und werden u.a. als Antiwurmmittel<sup>[58]</sup> eingesetzt. So sollte nun durch Addition von *N*-Methylpiperazin an das Isocyanat **11** der entsprechende Harnstoff dargestellt werden.

#### 1.5.7.1 Syntheseversuch des Maleinimidopentylharnstoffderivats

Zur Darstellung des gewünschten Harnstoffes wurde das Isocyanat **11** in Essigsäureethylester gelöst, 1.5 Äquivalente *N*-Methylpiperazin bei 0°C zugetropft und anschließend bei Raumtemperatur gerührt. Da Piperazin als Alkylamin ein deutlich stärkeres Nucleophil ist als die bei der Urethandarstellung verwendeten Alkohole und außerdem selbst als Base agieren kann, wurde auf eine zusätzliche Aktivierung

verzichtet. Es bildete sich zunächst ein weißer Niederschlag, der sich allmählich wieder auflöste. Auf dem Dünnschichtchromatogramm zeigte sich ein neuer Produktfleck und nach 30 min war kein Reaktionsfortschritt mehr zu erkennen. Nach Aufarbeitung und Verreiben mit Ether konnte ein weißer Feststoff isoliert werden, der mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie untersucht wurde.

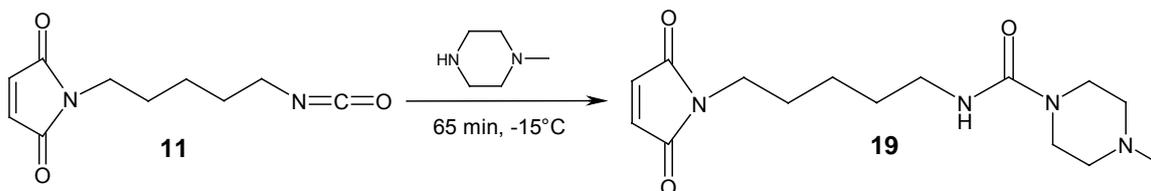


Wie sich herausstellte, handelte es sich nicht um den gewünschten Maleinimidopentylharnstoff, sondern um das Succinimid-Derivat **18**. Das bedeutete, dass der Piperazin-Stickstoff bei Raumtemperatur nucleophil genug war, um sowohl an das Isocyanat zu addieren, als auch in einer Michaeladdition an den Maleinimid-Rest anzulagern.

Die Zuordnung der Signale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum gelang mittels 2D-Spektroskopie. Zur optimalen Auflösung wurde eine Hochtemperaturmessung bei  $60^\circ\text{C}$  durchgeführt. Charakteristisch für den Succinimid-Ring sind die beiden Signale der diastereotopen H-Atome in Nachbarschaft zum Methylpiperazinylrest. Die Verschiebungen liegen bei 2.55 ppm und 2.72 ppm. Die Kopplung zueinander als auch diejenigen zum benachbarten Methinproton bei 3.74 ppm sind gut zu erkennen. Das typische Signal der Maleinimidgruppe bei  $\sim 6.7$  ppm ist gänzlich verschwunden.

### 1.5.7.2 Darstellung des Harnstoffs 19

Um den Reaktionsverlauf kinetisch kontrollieren zu können und die unterschiedlichen Reaktivitäten des Isocyanat- sowie des Maleinimid-Restes auszunutzen, wurde die Reaktion diesmal bei tieferer Temperatur und mit größerer Verdünnung durchgeführt. Das Isocyanat **11** wurde bei  $-15^\circ\text{C}$  in Essigsäureethylester vorgelegt und langsam eine verdünnte Lösung von Methylpiperazin in Essigsäureethylester zugegeben. Es wurde während 40 min bei  $-15^\circ\text{C}$  weitergerührt, wobei sich allmählich ein weißer Niederschlag bildete. Der Reaktionsverlauf konnte über das Verschwinden der Isocyanat-Bande bei  $2280\text{ cm}^{-1}$  im IR-Spektrum verfolgt werden. Nach kurzer Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung erhielt man **19** als weißen Feststoff.

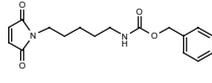
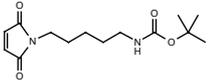
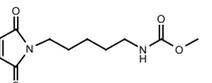


Dass Methylpiperazin nur an der Isocyanat-Gruppe und nicht am Maleinimid-Rest addiert hat, ist gut im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum anhand des Signals der olefinischen Protonen bei 6.69 ppm zu erkennen. Im IR-Spektrum ist vor allem die neue Bande der Harnstoff-Carbonylschwingung bei  $1650\text{ cm}^{-1}$  zu beobachten, während die Isocyanat-Schwingung bei  $2280\text{ cm}^{-1}$  fehlt.

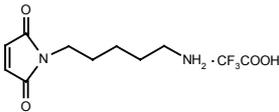
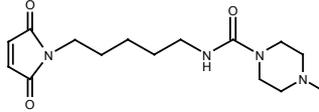
### 1.5.8 Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der drei Carbamate 13, 16, und 17, des Amins 12 und des Harnstoffes 19

Die antibiotischen Aktivität wurde mittels Plattendiffusionsverfahren bestimmt. Als Vergleichsantibiotikum wurde Ceftazidim (CAZ) verwendet. Es ergaben sich im einzelnen folgende Werte:

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:		 Benzylcarbamat <b>13</b> 30 µg	 t-Butylcarbamat <b>16</b> 30 µg	 Methylcarbamat <b>17</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	19	19	21	21
	s.aur.res.	18	18	20	15
	staph. 25768	22	19	23	12
	staph. Innsbruck	21	21	24	0
	E.coccus	22	21	23	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	0	7	10	24
	E.coli TEM	7	7	9	27
	E.cloacae	0	0	9	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

## Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:

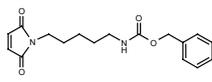
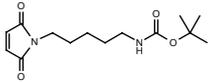
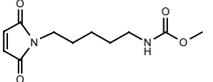
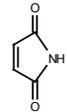
Bakterienstämme:		 <b>Amin 12</b> 30 µg	 <b>Methylpiperazin-harnstoff 19</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	0	10	21
	s.aur.res.	9	10	15
	staph. 25768	8	9	12
	staph. Innsbruck	8	8	0
	E.coccus	19	19	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	11	7	24
	E.coli TEM	11	7	27
	E.cloacae	9	8	14
	Ps.aer.	10	7	22
	Ps.aer.res.	8	8	12

Alle drei Urethane zeigen gegenüber der Leitstruktur eine verbesserte Wirksamkeit gegen grampositive Keime, speziell gegen *Staphylococcus Innsbruck*, einem Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA). Nur bei den *Enterokokken* sind sie etwas schwächer wirksam. Das Methylcarbammat **17** weist dabei die größte antibiotische Aktivität der drei Verbindungen auf. Die Wirksamkeit gegen gramnegative Bakterien ist weiterhin minimal bis gar nicht vorhanden.

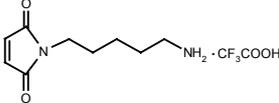
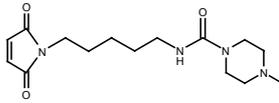
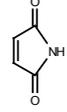
Das Amin **12** und der Harnstoff **19** dagegen besitzen nur eine sehr schwache Wirksamkeit gegen die grampositiven Bakterienstämme, mit Ausnahme der *Enterokokken*. Im gramnegativen Bereich ist zwar vor allem beim Amin **12** eine verbesserte Wirksamkeit zu erkennen, die antibakterielle Aktivität bleibt dennoch sehr gering.

Weiterhin wurden nun die toxischen Effekte der Verbindungen im Vergleich zu Maleinimid über Plattendiffusionstests bestimmt.

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>	 Benzylcarbamat <b>13</b> 1 mg	 t-Butylcarbamat <b>16</b> 1 mg	 Methylcarbamat <b>17</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
	sacch.cerevisiae	13	18	20

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>	 Amin <b>12</b> 1 mg	 Methylpiperazin-harnstoff <b>19</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
	sacch.cerevisiae	11	11

Harnstoff **19** und Amin **12** weisen neben ihrer schwachen antibiotischen Aktivität auch nur geringe toxische Effekte auf. Das antibakteriell wirksamste Carbamat **17** zeigt ebenso die höchste Toxizität der fünf Substanzen.

Als besonders interessant erweist sich jedoch das Benzylcarbamate **13**. Neben den günstigen antibakteriellen Eigenschaften im grampositiven Bereich besitzt die Verbindung eine erstaunlich niedrige Toxizität. Somit schien sie hervorragend für weitere strukturelle Modifizierungen geeignet.

## 1.6 Weitere Strukturabwandlungen und Synthesziele

### 1.6.1 Maleinimidopentylcarbaminsäureester

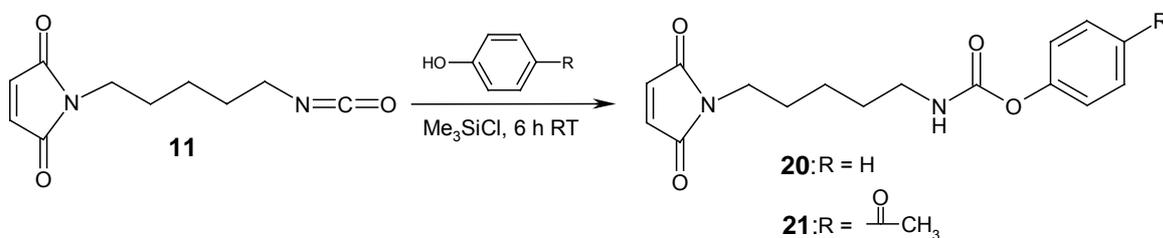
Aufgrund der guten antibakteriellen Wirksamkeit der Maleinimido-pentylurethane sollten nun weitere Vertreter dieser Reihe synthetisiert und auf ihre biologischen Eigenschaften getestet werden. Ausgehend vom Isocyanat **11** sollte zunächst das Phenylurethan **20** dargestellt werden. Als weiterer Rest war die p-Acetylphenylgruppe von Interesse. Sie ist Bestandteil eines Prototypen der Oxazolidinon-Antibiotika<sup>[59]</sup>, einer neuen Antiinfektiva-Klasse, die vor allem gegen grampositive Keime wirken.

Da vor allem das Benzylurethan **13** die gute antibiotische Wirksamkeit mit nur geringen toxischen Effekten verbindet, sollte weiterhin der Einfluss eines elektronenziehenden

Fluorsubstituenten am aromatischen Ring untersucht werden. Es war geplant, para-, meta- und orthosubstituierte Fluorbenzylcarbamate zu synthetisieren.

### 1.6.1.1 Darstellung von Phenyl- und 4-Acetylphenylurethan

Um Phenol und 4-Acetylphenol an das Isocyanat **11** zu addieren, wurde auf die bereits früher unter 1.5.4.1 verwendete Aktivierungsmethode mit Trimethylsilylchlorid zurückgegriffen. Hierzu wurde **11** in Dichlormethan vorgelegt, mit 0.5 Äquivalenten  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  versetzt und anschließend 1.5 Äquivalente des entsprechenden Alkohols zugegeben. Nach 6 Stunden bei Raumtemperatur wurde das Dichlormethan abgezogen und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt. Auf diese Weise konnten das Phenylurethan **20** und das 4-Acetylphenylurethan **21** jeweils als weißer Feststoff isoliert werden. Die Ausbeuten waren eher mäßig und betrugen 50% bzw. 55%.



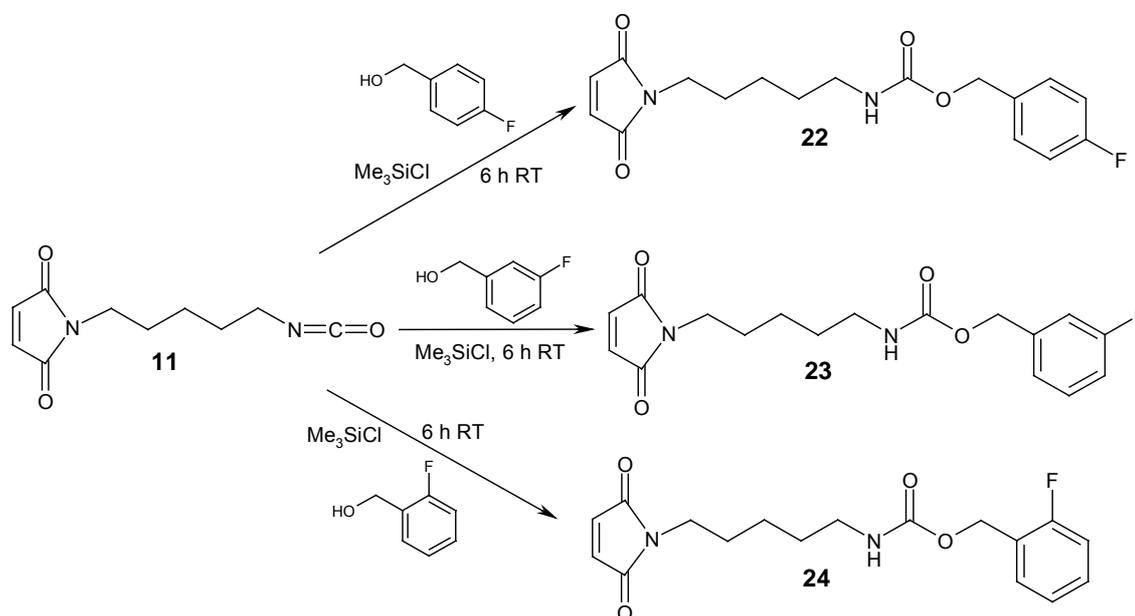
Während im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **20** die Aromatensignale als Multiplett erscheinen, ist beim 4-Acetylphenylcarbamate **21** das typische Kopplungsmuster für parasubstituierte Aromaten mit Dubletts bei 7.23 ppm und 7.97 ppm erkennbar. Die Signale des *N*-Maleinimidopentyl-Teils sind gegenüber den bereits dargestellten Urethanen nahezu unverändert.

Im IR-Spektrum ist die Isocyanat-Schwingung des Edukts bei  $2280\text{ cm}^{-1}$  verschwunden und jeweils die neue Carbonylabsorption des Urethans bei  $1740\text{ cm}^{-1}$  erkennbar. Beim 4-Acetylphenylurethan **21** zeigt sich zusätzlich die Carbonyl-schwingung der Acetylgruppe bei  $1685\text{ cm}^{-1}$ .

### 1.6.1.2 Darstellung der Fluorbenzylcarbamate

Auch die Fluorbenzylcarbamate wurden auf analoge Weise hergestellt. Zu jeweils 1 Äquivalent Isocyanat **11** und 0.5 Äquivalenten  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  in Methylenchlorid wurden 1.5 Äquivalente 4-Fluor-, 3-Fluor- oder 2-Fluorbenzylalkohol zugegeben. Aufarbeitung nach

6 Stunden bei Raumtemperatur und anschließende Chromatographie lieferte die Urethane **22**, **23** und **24** in Ausbeuten von 70%, 88% und 80%.



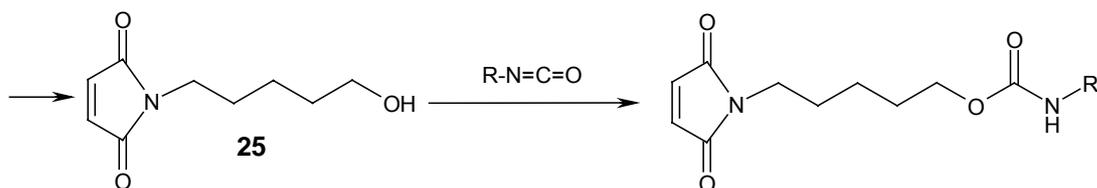
Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der parasubstituierten Verbindung **22** zeigen sich neben der ortho-H,H-Kopplung auch  $^3J$ - und  $^4J$ -Kopplungen der aromatischen H-Atome zum Fluoratom. Bei den Spektren von **23** und **24** sind die Signale im Aromatenbereich nur ungenügend aufgelöst. Sie erscheinen deshalb als Multipletts.

Auffällig bei allen drei Verbindungen sind außerdem die Kohlenstoff-Fluor-Kopplungen im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum. Die Signale der aromatischen C-Atome spalten in Dubletts auf. Die Kopplungsgrößen reichen von 1.7 Hz bei der kleinsten  $^4J$ -Kopplung bis 248 Hz bei der größten  $^1J$ -Kopplung.

### 1.6.2 Modifizierung der Urethangruppe durch den Positionstausch von Sauerstoff und Stickstoff

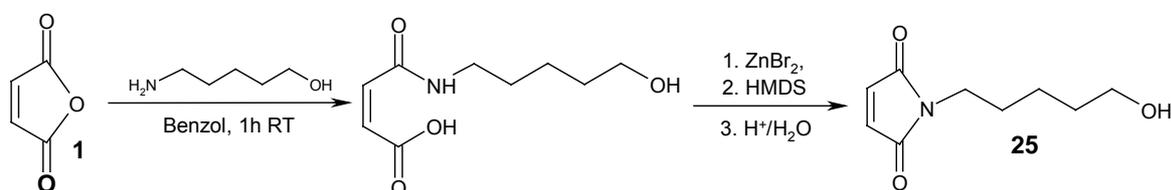
Da die bisher dargestellten *N*-Maleinimidopentyl-urethane vielversprechende antibakterielle Eigenschaften aufwiesen, sollte nun untersucht werden, ob der Positionstausch von Sauerstoff und Stickstoff im Urethan einen Einfluss auf die biologische Wirksamkeit hat. Hierzu bot es sich an, zunächst 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) zu synthetisieren. Einerseits stellt die Hydroxy-Funktion eine weitere

Variation der ursprünglichen Leitstruktur dar, andererseits führt die Addition dieses Alkohols an ein Isocyanat auf einfache Weise zu den gewünschten Carbamaten.



### 1.6.2.1 Darstellung von 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**)

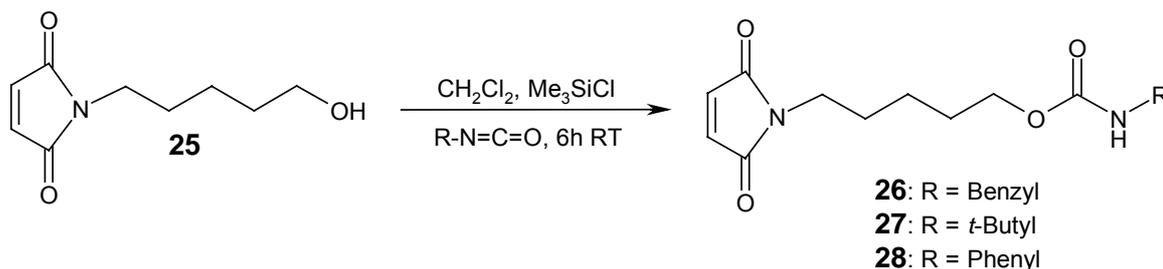
Auch bei der Synthese von 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) konnte auf die Methode von Toru et al.<sup>[44]</sup> zurückgegriffen werden. Ausgehend von Maleinsäureanhydrid wurde zuerst 5-Aminopentanol in Benzol bei Raumtemperatur (1 h) addiert. Die anschließende Cyclisierung gelang wie bereits bei den *N*-Maleinimido-alkancarbonsäuren (siehe unter 1.4.1) durch Katalyse von ZnBr<sub>2</sub> und Zugabe von Hexamethyldisilazan in der Hitze. Nach 4 h am Rückfluss und saurer wässriger Aufarbeitung wurde das fahlgelbe, feste Rohprodukt durch Säulenchromatographie gereinigt. Das Pentanol **25** konnte so als weißer Feststoff in 76%iger Ausbeute isoliert werden.



### 1.6.2.2 Synthese verschiedener *N*-substituierter Carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester

5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) konnte nun durch Addition an verschiedene Isocyanate zu den gewünschten Carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylestern umgesetzt werden. Dazu wurden die Isocyanate in Dichlormethan vorgelegt, wiederum mit 0.5 Äquivalenten Trimethylsilylchlorid aktiviert und mit 1 Äquivalent des Alkohols **25** versetzt. Nach 6 Stunden bei Raumtemperatur wurde aufgearbeitet und chromatographisch gereinigt. Auf diese Weise konnten Benzyl- (**26**), *t*-Butyl- (**27**) und

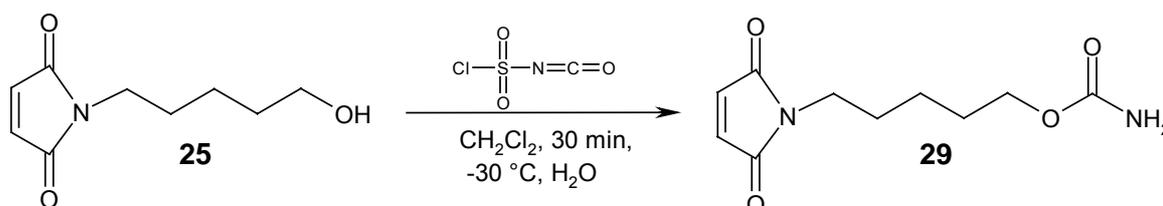
Phenyl-carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (**28**) jeweils als weißer Feststoff in guten Ausbeuten (93%, 88% und 78%) isoliert werden



In den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von **26**, **27** und **28** ist der Positionstausch von Stickstoff und Sauerstoff im Urethan gut am typischen Triplett-Signal der jetzt zum Carbamat-Sauerstoff benachbarten Methylengruppe erkennbar. Während zuvor mit Stickstoff als Nachbarn eine Verschiebung von  $\sim 3.2$  ppm charakteristisch war, erscheinen die Protonen nun deutlich tieffeldverschoben bei  $\sim 4.1$  ppm.

### 1.6.2.3 Synthese des Carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylesters (**29**)

Als weitere Strukturvariante sollte der am Stickstoff unsubstituierte Carbaminsäureester **29** dargestellt werden. Dazu wurde der Alkohol **25** in Dichlormethan gelöst und auf  $-30^\circ\text{C}$  gekühlt. Anschließend wurden 1.2 Äquivalente Chlorsulfonylisocyanat zugegeben und der Reaktionsverlauf über Dünnschichtchromatographie verfolgt. Dabei konnte das Verschwinden des Edukts ( $R_f$ -Wert: 0.16;  $\text{Et}_2\text{O}$ ) und die Bildung eines neuen Produkts ( $R_f$ -Wert: 0.18;  $\text{Et}_2\text{O}$ ) beobachtet werden. Nach 30 min Rühren bei  $-30^\circ\text{C}$  konnte das Produkt **29** nach Aufarbeitung als weißer Feststoff in 76%iger Ausbeute isoliert werden.

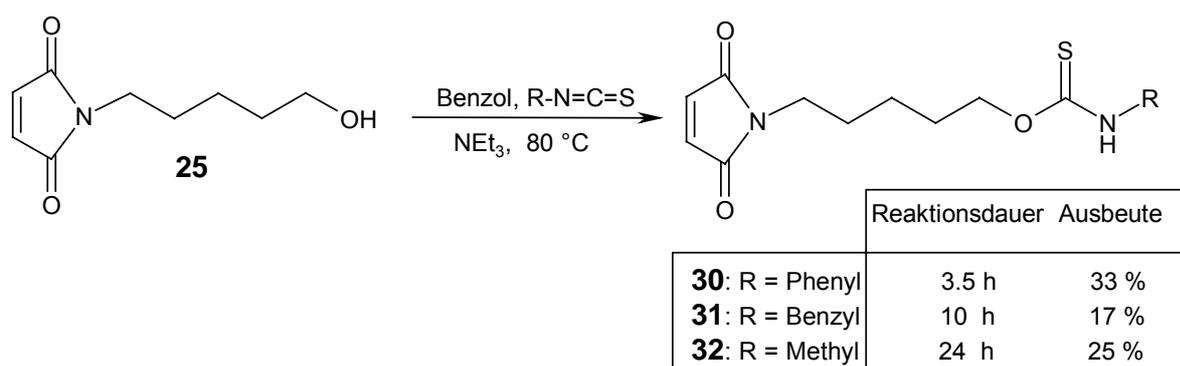


### 1.6.3 Darstellung von Thiocarbamaten<sup>[60]</sup>

Thiourethane üben vielfältige biologische Wirkungen aus, die von analgetischen bis zu bakteriziden und tuberkulostatischen Effekten<sup>[60],[61]</sup> reichen. Daher schien es interessant, die Bandbreite der zu testenden Verbindungen um diese Substanzklasse zu erweitern.

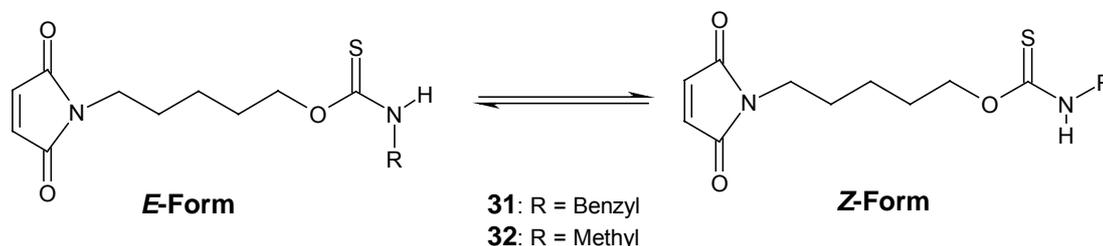
Da es wiederum das Ziel war, die C<sub>5</sub>-Kohlenstoffkette beizubehalten und 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) bereits synthetisiert war, lag es nahe, die Thiocarbamate durch Addition von **25** an verschiedene Thioisocyanate darzustellen.

Die Aktivierung der Thioisocyanatgruppe durch HCl war hierbei nicht möglich, da das Schwefelatom vermutlich zu wenig basisch war, um protoniert zu werden. Deshalb wurde auf Triethylamin als basischen Katalysator für die Addition zurückgegriffen. Der Alkohol **25** wurde in Benzol gelöst, etwa 3 Äquivalente Triethylamin zugetropft und schließlich 1.5 Äquivalente des entsprechenden Thioisocyanats zugegeben. Die Reaktionslösung wurde zum Rückfluss erhitzt und der Reaktionsverlauf über Dünnschichtchromatographie verfolgt. Die Reaktionsdauer war dabei stark von den verwendeten Thioisocyanaten abhängig, was wohl auf ihre unterschiedliche Reaktivität zurückzuführen ist. Nach Aufarbeitung und Chromatographie an Kieselgel konnten die Phenyl- und Benzylverbindung **30** und **31** jeweils als weißer Feststoff isoliert werden, während das Methylthiourethan **32** als farbloses Öl vorlag.



Die Einschränkung der freien Drehbarkeit infolge der partiellen Stickstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung führt sowohl beim Benzyl- (**31**) wie auch beim Methylthiourethan (**32**) zum Auftreten zweier Konformere. Daher sind im <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum der

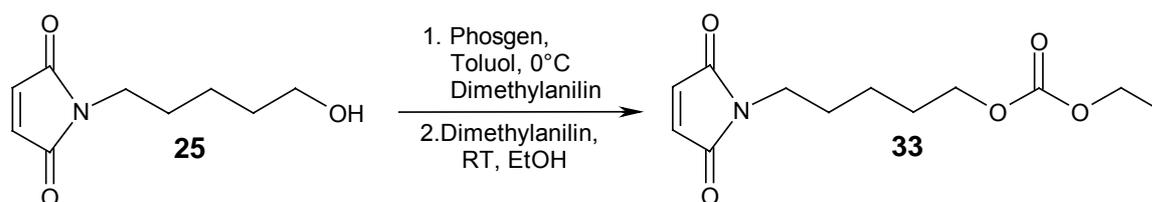
beiden Verbindungen die Signale von *E*- und *Z*-Form zu beobachten. Beim Phenylthiourethan hingegen kann keine *E/Z*-Isomerie beobachtet werden.



Nach Baumann<sup>[62]</sup> ist das *Z*-Isomere jeweils das im Gleichgewicht überwiegende Hauptkonformere. Beim Methylthiourethan **32** konnte das Verhältnis der beiden isomeren Formen durch die Integration der <sup>1</sup>H-Signale des in CDCl<sub>3</sub> bei 25°C gemessenen Spektrums zu *Z/E* = 68:32 ermittelt werden. Auffällig ist weiterhin die <sup>3</sup>J-Kopplung der Protonen der Methylgruppe zum NH-Proton der Thiourethangruppe. Beim Benzylurethan **31** ergibt sich ein Konformerenverhältnis von *Z/E* = 60:40 (CDCl<sub>3</sub>/25°C). Auch hier koppelte die benzyliche Methylengruppe zum benachbarten Stickstoff-Proton.

#### 1.6.4 Synthese eines Kohlensäurediesters

Als weitere Strukturabwandlung sollte die Urethangruppe durch eine Kohlensäurediesterfunktion, wie sie gelegentlich in Antiinfektiva<sup>[63]</sup> vorkommt, ersetzt werden. Hierzu wurden 1.1 Äquivalente Phosgen in Toluol bei 0°C vorgelegt und dann eine Lösung von 1 Äquivalent des Alkohols **25** und 1.2 Äquivalenten *N,N*-Dimethylanilin in Toluol über 45 min zugetropft. Der Reaktionsverlauf wurde über Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach 2 h bei 0°C war **25** verbraucht und überschüssiges Phosgen wurde durch Einleiten von Stickstoff aus dem Reaktionsgefäß entfernt. Zur Reaktionslösung wurden nun weitere 1.1 Äquivalente *N,N*-Dimethylanilin und 1.5 Äquivalente Ethanol zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung erhielt man den Kohlensäurediester **33** als weißen Feststoff in 75%iger Ausbeute.



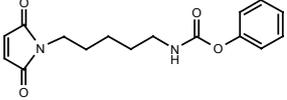
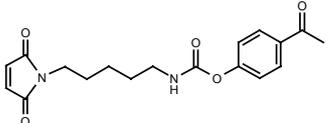
Die Carbonyl-Schwingung des Kohlendioxidesters bei  $1745\text{ cm}^{-1}$  ist im IR-Spektrum gut neben der Maleinimid-Carbonylbande bei  $1715\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen. Charakteristisch im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sind Triplet- und Quartett-Signal der Ethylgruppe bei  $1.31\text{ ppm}$  ( $\text{CH}_3$ ) und  $4.20\text{ ppm}$  ( $\text{CH}_2$ ). Die weitere Methylengruppe in Nachbarschaft zur Kohlendioxidesterfunktion erscheint als Triplet bei  $4.11\text{ ppm}$ .

### 1.6.5 Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der synthetisierten Verbindungen

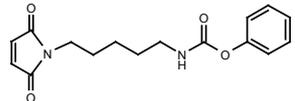
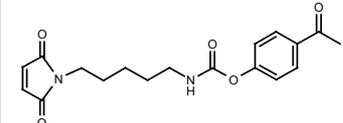
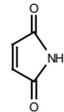
Zur Bestimmung der antibakteriellen Wirksamkeit der neuen Verbindungen wurde wieder auf das Plattendiffusionsverfahren zurückgegriffen. Vergleichsantibiotikum war Ceftazidim (CAZ).

Die Toxizität wurde wie bisher mittels Hefetest bestimmt. Als Maß für die Giftigkeit dient dabei der Hemmhofdurchmesser in [mm]. Je größer dieser Wert, desto toxischer ist die Verbindung. Vergleichsubstanz ist Maleinimid.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

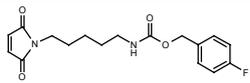
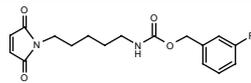
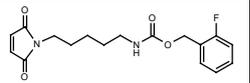
Bakterienstämme:		 Phenylcarbamat <b>20</b> 30 µg	 4-Acetylphenylcarbamate <b>21</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	17	15	21
	s.aur.res.	17	17	15
	staph. 25768	18	18	12
	staph. Innsbruck	19	18	0
	E.coccus	20	21	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	0	9	24
	E.coli TEM	0	8	27
	E.cloacae	0	8	14
	Ps.aer.	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	12

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

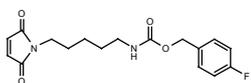
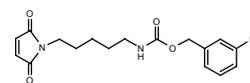
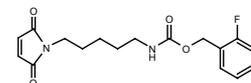
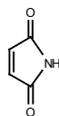
Hefe	 Phenylcarbamate <b>20</b> 1 mg	 4-Acetylphenylcarbamate <b>21</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	13	13	26

Die beide Carbamate **20** und **21** zeigen zwar prinzipiell antibiotische Aktivität gegen grampositive Keime, dennoch sind sie im Vergleich zu Benzyl-(**13**), *t*-Butyl-(**16**) und Methylurethan (**17**) (siehe unter 1.5.8) eher schwächer wirksam. Die Toxizität erweist sich ebenfalls als gering.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:		 4-Fluorbenzyl- carbamate <b>22</b> 30 µg	 3-Fluorbenzyl- carbamate <b>23</b> 30 µg	 2-Fluorbenzyl- carbamate <b>24</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram- positiv:	s.aur. 1104	16	18	18	21
	s.aur.res.	17	18	19	15
	staph. 25768	17	22	22	12
	staph. Innsbruck	19	22	23	0
	E.coccus	19	20	22	0
Gram- negativ:	E.coli 1103	0	0	0	24
	E.coli TEM	0	0	0	27
	E.cloacae	0	0	0	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

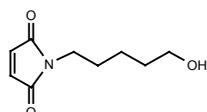
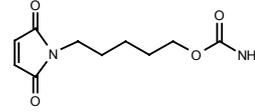
*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Hefe	 4-Fluorbenzyl- carbamate <b>22</b> 1 mg	 3-Fluorbenzyl- carbamate <b>23</b> 1 mg	 2-Fluorbenzyl- carbamate <b>24</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	12	15	14	26

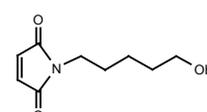
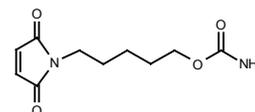
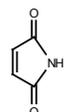
Bei den Fluorbenzylurethanen sind Unterschiede in der antibakteriellen Wirksamkeit erkennbar. Beim parasubstituierten Urethan **22** ist die antibiotische Aktivität klar niedriger als beim unsubstituierten Benzylurethan **13** (Vgl. 1.5.8), während sie sich bei meta-Substitution als ähnlich erweist. Das ortho-substituierte Derivat **24** scheint hingegen etwas besser wirksam zu sein, insbesondere gegen den Methicillin-resistenten *Staphylococcus Innsbruck*.

Gleichzeitig zeigt das ortho-substituierte Urethan **24** eine leicht schwächere Toxizität als das meta-substituierte Derivat **23**. Das Fluorbenzylurethan **22** mit Fluor in para-Stellung erweist sich als die am wenigsten toxische Substanz dieser Reihe. Es zeigt den annähernd gleichen Wert wie das unsubstituierte Benzylurethan **13** (Vgl. 1.5.8).

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:		 <i>N</i> -Maleinimidopentanol <b>25</b> 30 µg	 Carbaminsäureester <b>29</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	19	17	21
	s.aur.res.	21	18	15
	staph. 25768	21	20	12
	staph. Innsbruck	21	22	0
	E.coccus	24	24	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	13	12	24
	E.coli TEM	13	11	27
	E.cloacae	11	10	14
	Ps.aer.	8	0	22
	Ps.aer.res.	9	0	11

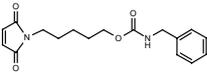
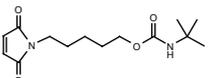
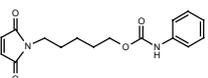
*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Hefe	 <i>N</i> -Maleinimidopentanol <b>25</b> 1 mg	 Carbaminsäureester <b>29</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	19	12	26

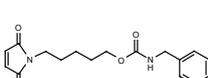
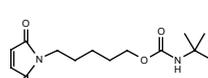
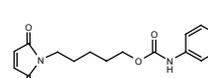
5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) erweist sich als relativ gut wirksames Antibiotikum gegen grampositive Bakterien und zeigt auch gegen gramnegative Keime noch eine schwache Aktivität. Allerdings gehört **25** nach dem Ergebnis des Toxizitätstests zu den eher giftigeren Substanzen.

Der am Stickstoff unsubstituierte Carbaminsäureester **29** hingegen weist neben den günstigen antibakteriellen Eigenschaften eine ebenso vorteilhafte niedrige Toxizität auf.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

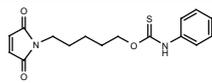
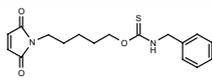
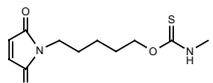
Bakterienstämme:					CAZ 30 µg
		Benzylcarbamat <b>26</b> 30 µg	<i>t</i> -Butylcarbamat <b>27</b> 30 µg	Phenylcarbamat <b>28</b> 30 µg	
Gram-positiv:	s.aur. 1104	17	18	17	21
	s.aur.res.	19	20	18	15
	staph. 25768	20	20	19	12
	staph. Innsbruck	21	22	22	0
	E.coccus	21	21	22	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	0	0	0	24
	E.coli TEM	0	0	0	27
	E.cloacae	0	0	0	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

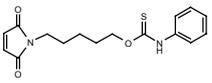
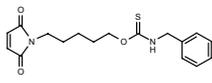
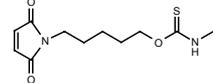
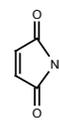
Hefe				
	Benzylcarbamat <b>26</b> 1 mg	<i>t</i> -Butylcarbamat <b>27</b> 1 mg	Phenylcarbamat <b>28</b> 1 mg	Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	12	19	14	26

Das Positionstausch von Stickstoff und Sauerstoff in der Urethangruppe scheint keine entscheidenden Auswirkungen auf die antibakterielle Aktivität zu haben. Es wurden jeweils die Benzyl-, *t*-Butyl- und Phenyl-Derivate untersucht. Tendenziell zeigen die Carbaminsäureester **26**, **27** und **28** ähnlich günstige Wirksamkeiten wie **13**, **16** und **20** (Vgl. auch 1.5.8 und 1.6.5). Auch die Toxizität unterscheidet sich dabei nur minimal. Die *t*-Butylverbindungen **27** und **16** weisen innerhalb der beiden Gruppen jeweils die größten Hemmhöfe und damit die höchste Toxizität auf.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

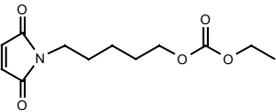
Bakterienstämme:		 Phenylthio- carbamat <b>30</b> 30 µg	 Benzylthio- carbamat <b>31</b> 30 µg	 Methylthio- carbamat <b>32</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram- positiv:	s.aur. 1104	18	16	21	21
	s.aur.res.	19	18	23	15
	staph. 25768	20	19	25	12
	staph. Innsbruck	19	19	27	0
	E.coccus	22	21	25	0
Gram- negativ:	E.coli 1103	0	0	10	24
	E.coli TEM	0	0	10	27
	E.cloacae	0	0	9	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

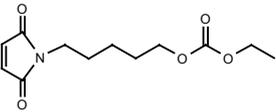
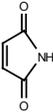
Hefe	 Phenylthio- carbamat <b>30</b> 1 mg	 Benzylthio- carbamat <b>31</b> 1 mg	 Methylthio- carbamat <b>32</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	12	12	19	26

Während die *N*-Phenyl- und *N*-Benzylthiocarbamate **30** und **31** keine merklichen Unterschiede in der antibakteriellen Aktivität zu den vorangegangenen Substanzen aufweisen, zeigt das *N*-Methylthiourethan **32** eine deutliche höhere Wirksamkeit. Die Verbindung ist zusätzlich zu den günstigen Werten im grampositiven Bereich sogar schwach gegen gramnegative Erreger wirksam. Allerdings erweist sie sich im Toxizitätstest als vergleichsweise giftig. Die Thiourethane **30** und **31** zeigen im Hefetest ähnliche Werte wie die entsprechenden Urethane **26** und **28**.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Bakterienstämme:</b>		 <b>Kohlensäurediester 33</b> 30 µg	<b>CAZ</b> 30 µg
<b>Gram-positiv:</b>	s.aur. 1104	18	21
	s.aur.res.	18	15
	staph. 25768	20	12
	staph. Innsbruck	19	0
	E.coccus	23	0
<b>Gram-negativ:</b>	E.coli 1103	9	24
	E.coli TEM	8	27
	E.cloacae	9	14
	Ps.aer.	0	22
	Ps.aer.res.	0	12

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>	 <b>Kohlensäurediester 33</b> 1 mg	 <b>Maleinimid</b> 1 mg
sacch.cerevisiae	19	26

Der Kohlensäurediester **33** besitzt zwar eine vergleichsweise gute antibiotische Wirksamkeit, erweist sich aber im Toxizitätstest als eher giftig.

Zusammenfassung der Testergebnisse:

Tendenziell zeigen die neu synthetisierten Verbindungen ähnliche Werte bei der antibakteriellen Wirksamkeit wie die bereits unter 1.5.8 getesteten Substanzen. Bei einer verbesserten antibiotischen Aktivität wie z.B. beim *N*-Methyl-thiourethan **32** erhöht sich oftmals auch die Toxizität. Allerdings kann ein direkter Zusammenhang zwischen antibakterieller Wirksamkeit und Toxizität nicht allgemein bestätigt werden. Denn

während z.B. der Pentyl-Alkohol **25** und der Carbaminsäureester **29** ähnlich gute antibiotische Eigenschaften aufweisen, ist **29** deutlich ungiftiger als **25**.

Insgesamt lässt sich bei den verschiedenen Modifizierungen jedoch kein eindeutiger Trend in Richtung auf eine höhere antibakterielle Wirksamkeit erkennen. Deshalb sollten zunächst von einigen besonders günstig erscheinenden Substanzen zusätzlich zu den Plattendiffusionstests auch die MIC-Werte (minimum inhibition concentration) bestimmt werden.

Da bei diesem deutlich aufwendigerem Testverfahren mögliche Unterschiede aufgrund eines anderen Diffusionsverhaltens entfallen, können genauere Aussagen über die antibiotischen Eigenschaften der Verbindungen getroffen werden.

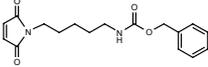
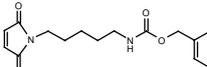
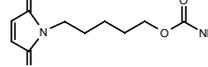
## 1.7 MIC-Werte<sup>[25]</sup> einiger ausgewählter Substanzen

Als besonders interessant für eine genauere Untersuchung der antibakteriellen Eigenschaften erschienen jene Substanzen, die neben möglichst großen Hemmhöfen im Bakterien-Plattendiffusionstest eine niedrige Toxizität zeigten. Es sollten nun die MIC-Werte des Benzylurethans **13**, des ortho-Fluorbenzylurethans **24** und des Carbaminsäureesters **29** bestimmt werden. Da ausreichende Aktivität nur im grampositiven Bereich vorhanden war, sollte nur das Verhalten gegen Keime dieser Gruppe untersucht werden. Hierzu wurden, wie im Experimentellen Teil (siehe dort unter 1.5.3) beschrieben, Agarplatten mit verschiedenen Konzentrationen an Testsubstanz (0.5; 1; 2; 3; 5; 10; 15; 20; 30 und 60 µg/mL) vorbereitet und anschließend jede Platte mit den grampositiven Bakterienstämmen geimpft. Nach 18 h bei 37°C konnte der MIC-Wert als die Konzentration bestimmt werden, bei der kein Bakterienwachstum mehr stattfand.

Außerdem wurden zum Vergleich die MIC-Werte von Vancomycin bestimmt. Dieses Glycopeptid-Antibiotikum ist eines der am häufigsten eingesetzten Medikamente bei Infektionen mit multiresistenten, grampositiven Erregern. Da es auch bei Behandlung mit Vancomycin bereits zum Auftreten von Resistenzen gekommen ist<sup>[64]</sup>, gilt die Suche nach einem Ersatz-Antibiotikum mit vergleichbar guter antibiotischer Wirksamkeit als eines der dringlichsten Ziele der Antibiotikaforschung.

---

*MIC-Wertbestimmung – MIC [ $\mu\text{g/ml}$ ]:*

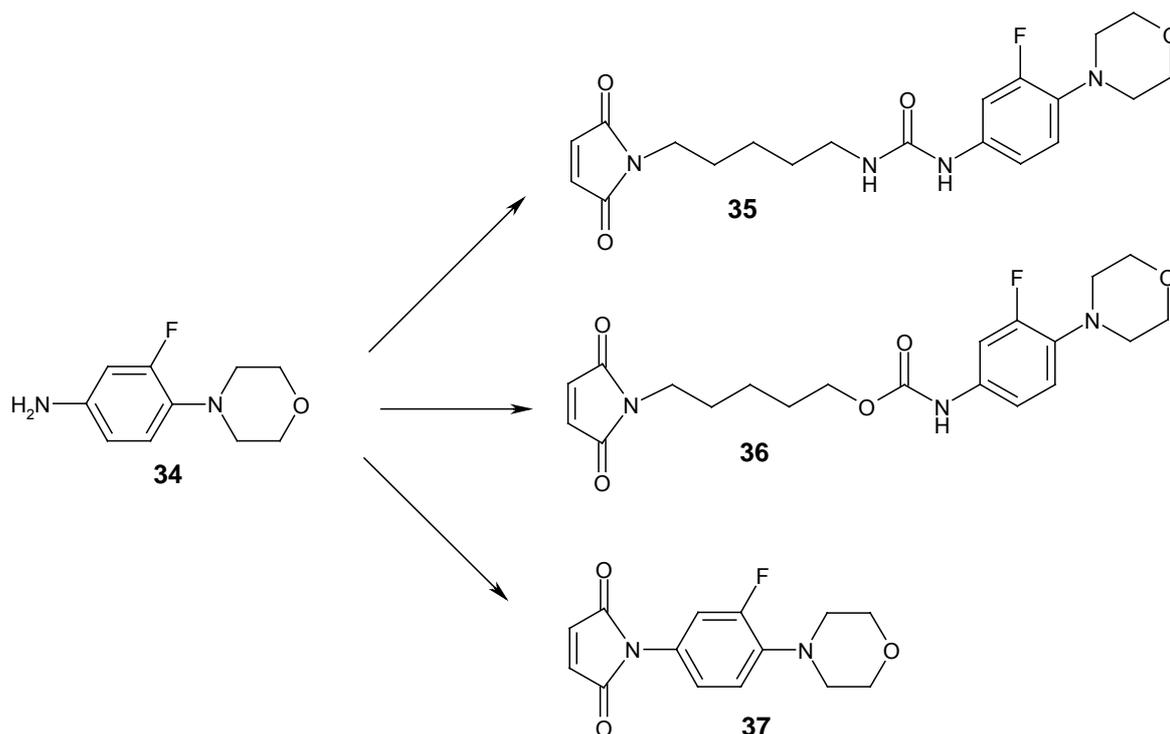
<b>Grampositive Bakterienstämme:</b>	 Benzyl- carbamate <b>13</b>	 2-Fluorbenzyl- carbamate <b>24</b>	 Carbaminsäure- ester <b>29</b>	Vancomycin
s.aur. 1104	20	20	30	1
s.aur.res.	20	20	30	2
staph. 25768	20	20	20	1
staph. Innsbruck	20	20	30	2
E.coccus	20	20	30	1

Alle drei Maleinimid-Derivate zeigen MIC-Werte zwischen 20  $\mu\text{g/ml}$  und 30  $\mu\text{g/ml}$  für alle grampositiven Keime. Die Substanzen weisen damit zwar noch eine beachtliche antibiotische Aktivität auf, im Vergleich zum 10 bis 30 mal wirksameren Vancomycin kommen sie aber als mögliche Ersatzpräparate nicht in Frage. Deshalb sollten weitere Versuche zur Verbesserung der antibakteriellen Eigenschaften der Maleinimid-Derivate unternommen werden.

## 1.8 Weitere Strukturabwandlungen der Maleinimid-Derivate

### 1.8.1 Verwendung des 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-Rests

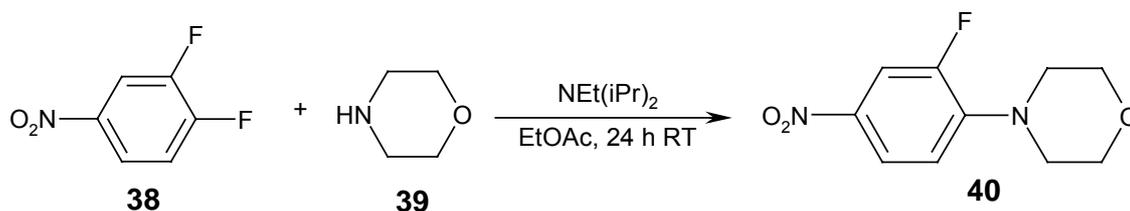
Da vor allem eine Verbesserung der antibakteriellen Eigenschaften gegen grampositive Keime im Vordergrund stand, fiel das Augenmerk erneut auf die im grampositiven Bereich hochwirksamen Oxazolidinon-Antibiotika. Teilstruktur eines der wirksamsten Vertreter dieser Gruppe, des Linezolid, ist ein 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-Rest<sup>[59],[65]</sup>. Deshalb war geplant, zunächst das 3-Fluor-4-morpholinyl-anilin (**34**) zu synthetisieren, welches anschließend in eine Harnstoff- sowie in eine Urethangruppe eingebaut werden sollte.



Außerdem sollte über diese Zwischenstufe ein Maleinimid-Derivat **37** synthetisiert werden, bei dem der 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-Rest direkt am Stickstoff des Maleinimids gebunden ist.

### 1.8.1.1 Darstellung des 3-Fluor-4-morpholinyl-nitrobenzols (**40**)

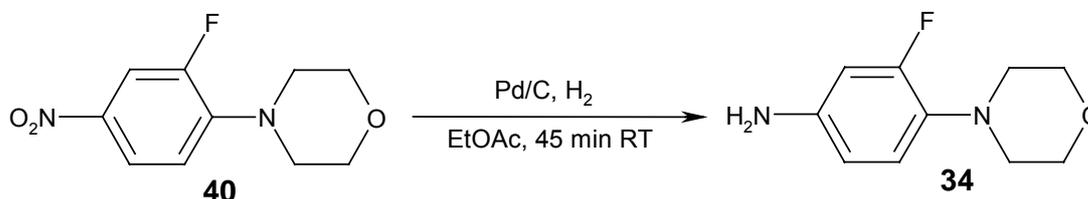
3-Fluor-4-morpholinyl-nitrobenzol (**40**) konnte durch nucleophile aromatische Substitution aus 3,4-Difluor-nitrobenzol (**38**) und Morpholin (**39**) dargestellt werden. Die Reaktion verlief problemlos in guter Ausbeute (75%). Dabei wurden jeweils 1.2 Äquivalente Morpholin (**39**) und Hünig-Base in Essigsäureethylester bei Raumtemperatur vorgelegt und anschließend 1 Äquivalent **38** zugetropft. Der Reaktionsverlauf konnte über Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Nach 24 h bei Raumtemperatur wurde aufgearbeitet und chromatographisch gereinigt. Man erhielt so das Produkt als gelben Feststoff.



Auffällig im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum ist das Kopplungsmuster der aromatischen H-Atome. Neben den typischen ortho- und meta-Kopplungen zeigt jedes der drei Atome eine Kopplung zum Fluor. Dabei sind die Werte der H,F-Kopplungen deutlich größer als die der entsprechenden H,H-Kopplungen über gleichviele Bindungen. So beträgt z.B. die  $^3J_{\text{H,F}}$ -Kopplung 13.1 Hz, während die  $^3J_{\text{H,H}}$ -Kopplung einen Wert von 8.9 Hz aufweist. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind alle aromatischen Signale durch eine Kopplung mit Fluor zu Dubletts aufgespalten. Die Kopplungskonstanten reichen von 3.1 Hz für die  $^4J$ -Kopplung bis zu 250 Hz bei der  $^1J$ -Kopplung.

### 1.8.1.2 Hydrierung zum 3-Fluor-4-morpholinyl-anilin **34**

Die Hydrierung des 3-Fluor-4-morpholinyl-nitrobenzols (**40**) wurde in Essigsäureethylester mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator bei Raumtemperatur durchgeführt. Über die Wasserstoffaufnahme, die nach 45 min zum Erliegen kam, konnte der Reaktionsverlauf verfolgt werden. Nach kurzer Aufarbeitung und Trocknen am Hochvakuum konnte das substituierte Anilin **34** als weißer Feststoff isoliert werden.



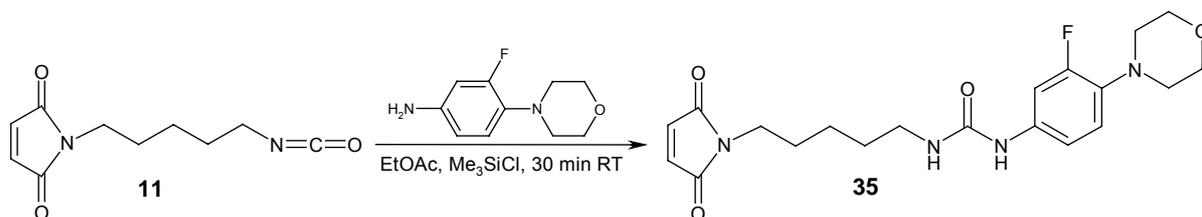
Die Protonen der neu entstandenen Aminogruppe sind als breites Singulett bei 3.57 ppm im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum gut erkennbar. Die Kopplungen im Aromatenbereich sind diesmal jedoch nur unzureichend aufgelöst, so dass die Aromaten-Signale als Multipletts erscheinen.

Die aromatischen  $^{13}\text{C}$ -Signale weisen erneut die typische Dublett-Struktur auf. Die Werte der C,F-Kopplungen liegen zwischen 3.1 Hz und 246 Hz.

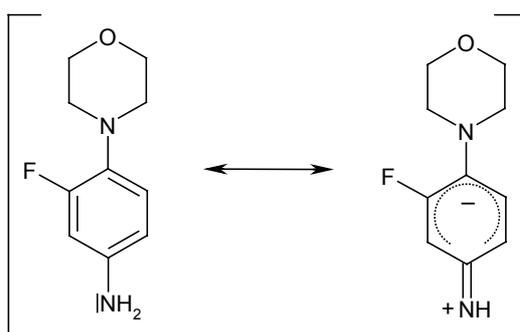
### 1.8.1.3 Synthese des Harnstoffs **35**

Die Nucleophilie der Aminogruppe im substituierten Anilin **34** reichte nicht aus, um bei Raumtemperatur ohne Aktivierung schnell genug an das 5-(*N*-Maleinimido)-

pentylisocyanat **11** zu addieren. Deshalb wurde auf die unter 1.5.4.1 beschriebene Aktivierungsmethode mit Trimethylsilylchlorid zurückgegriffen. Das Isocyanat **11** wurde dazu mit 0.5 Äquivalenten  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  in Essigsäureethylester gelöst, bei Raumtemperatur mit 1 Äquivalent **34** versetzt und 30 min gerührt. Dabei fällt allmählich ein weißer Niederschlag aus. Über Dünnschichtchromatographie konnte das Verschwinden des Edukts ( $R_f = 0.36$ ;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  2:1) sowie die Entstehung eines neuen Produkts ( $R_f = 0.16$ ;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  2:1) beobachtet werden, das nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie als weißer Feststoff isoliert wurde.



Am Signal der olefinischen Maleinimid-Protonen bei 7.00 ppm im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (DMSO- $d_6$ ) ist gut zu erkennen, dass die Aminogruppe nur am Isocyanat und nicht am Maleinimid-Rest addiert hat. Die schwächere Nucleophilie des aromatischenamins im Vergleich mit *N*-Methyl-piperazin, das bei Raumtemperatur sogar an der Maleinimid-Doppelbindung angreift (Vgl. 1.5.7.1), lässt sich über die Mesomerie-Beteiligung des freien Elektronenpaares erklären.

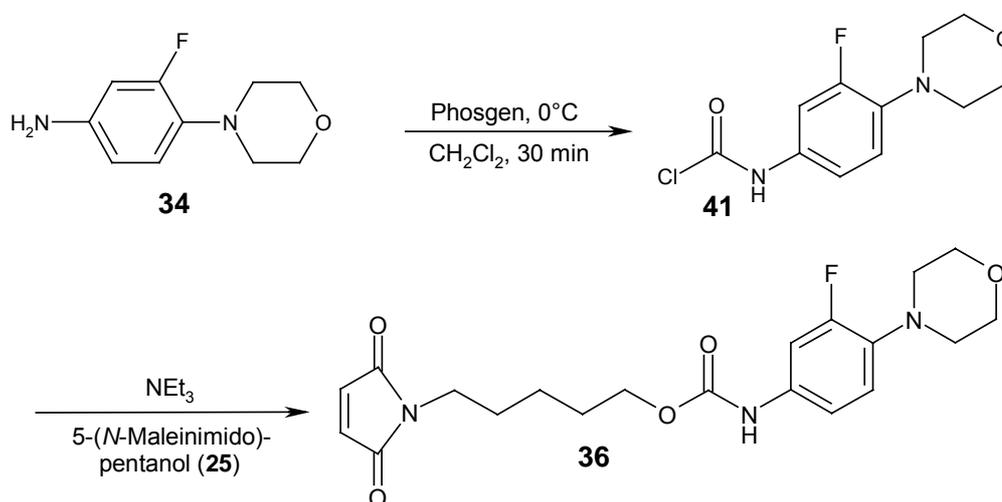


Die Signale der aromatischen Protonen sind auch hier nur ungenügend aufgelöst und erscheinen als Multipletts. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind jedoch wiederum Dubletts für die aromatischen C-Atome mit C,F-Kopplungen von 2.9 Hz bis 242 Hz erkennbar.

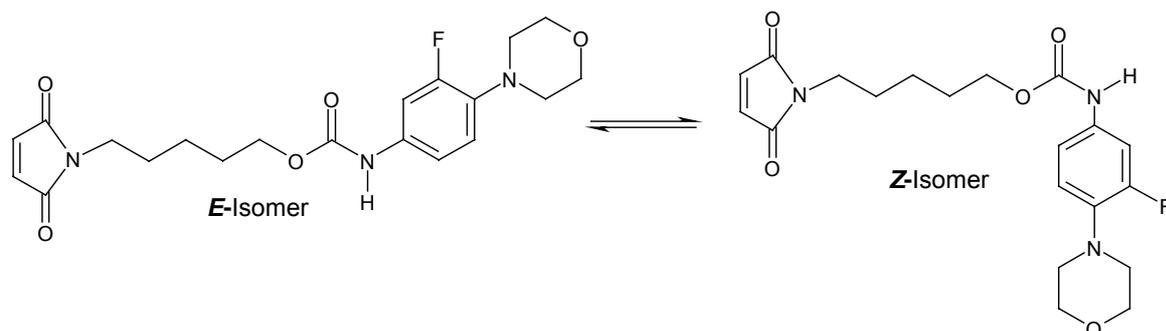
### 1.8.1.4 Darstellung des 5-(*N*-Maleinimido)-pentyl-carbamats **36**<sup>[66]</sup>

Die Synthese des Carbamats **36** verlief zunächst über das nicht isolierte Carbamoylchlorid **41**, an das dann der Alkohol **25** addiert wurde. Dazu wurden 1.04 Äquivalente Phosgen in Dichlormethan bei 0°C vorgelegt und anschließend eine Lösung von 1 Äquivalent des substituierten Anilins **34** in Dichlormethan zugegeben, wobei sofort ein weißer Niederschlag entstand. Nach 30 min war kein Edukt **34** mehr auf dem Dünnschichtchromatogramm zu erkennen. Es wurden 2.3 Äquivalente Triethylamin zugesetzt und weitere 15 min bei 0°C gerührt. Schließlich gab man 1.5 Äquivalente des Alkohols **25** zu und erhitzte über Nacht zum Rückfluss.

Nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung erhielt man **36** in 91%iger Ausbeute als weißen Feststoff.



Durch die partielle Doppelbindung zwischen dem Stickstoff und dem Carbonyl-C-Atom der Urethangruppe kommt es zu einer Einschränkung der freien Rotation um diese Bindung und es treten zwei isomere Konformationen der Verbindung **36** auf.

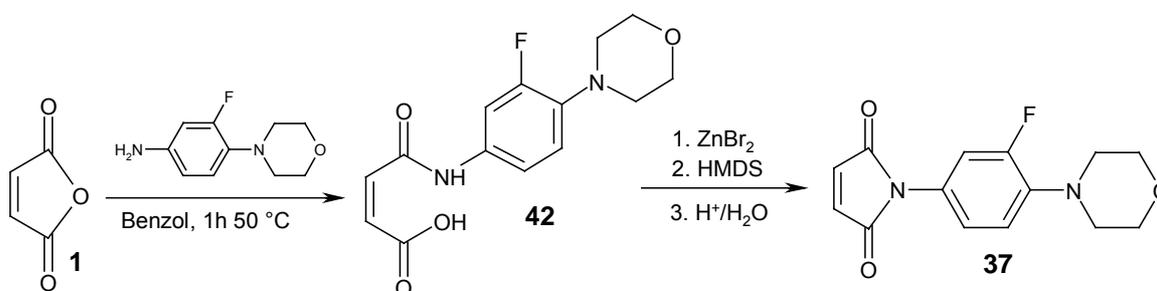


Bei der *E*-Form liegt die Pentylkette und der aromatische Rest auf der entgegengesetzten Seite der partiellen Doppelbindung, bei der *Z*-Form auf der gleichen. Die Signale der beiden Konformeren im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum liegen jedoch so nah beieinander, dass weder eine Zuordnung zur *Z*- oder *E*-Form gelingt noch ein Isomerenverhältnis ermittelt werden kann.

Im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum erkennt man die Signale von *E*- und *Z*-Konformeren bei fast allen Methylengruppen der Pentylkette sowie z.T. bei den C-Atomen des Aromatenbereichs.

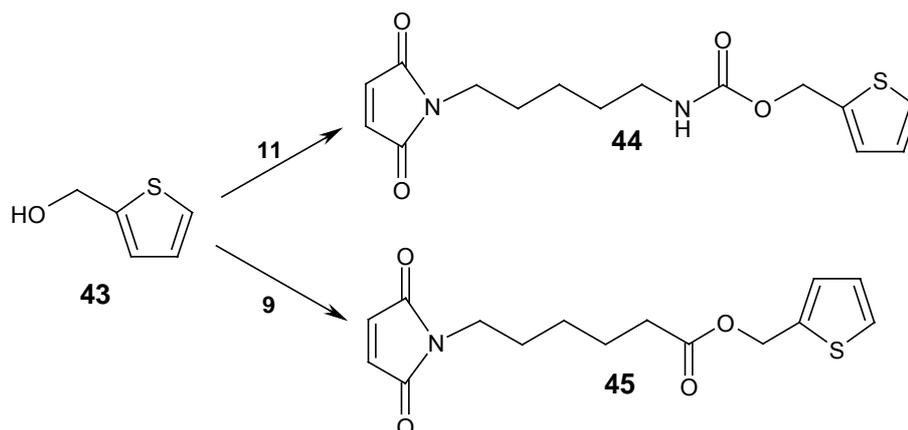
### 1.8.1.5 Darstellung des 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-maleinimids **37**

Die Darstellung des 3-Fluor-4-morpholinyl-phenyl-maleinimids **37** gelang nach der unter 1.4.1 beschriebenen Methode in einer Ausbeute von 87%. Ausgehend von Maleinsäureanhydrid (**1**) und dem Anilin **34** erhielt man das Zwischenprodukt **42**, das durch Ringschluss unter Anwesenheit von  $\text{ZnBr}_2$  und HMDS in das Zielmolekül **37** überführt wurde. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie konnte **37** als hellgelber Feststoff gewonnen werden.



### 1.8.2 Verwendung des Thiophenylmethylrestes

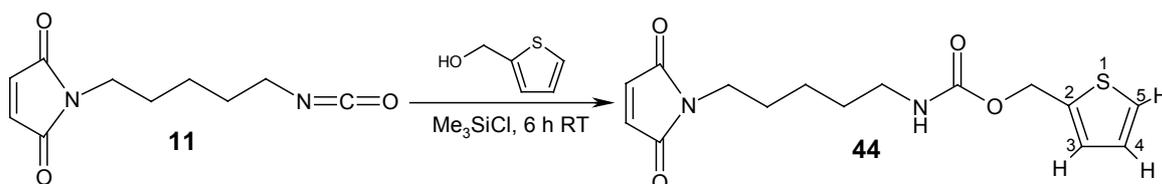
Bei einer Reihe von Antiinfektiva wird eine Thiophengruppe als Strukturelement verwendet. So kommt dieser pharmakologisch wichtige Rest in Cephalosporinen<sup>[67]</sup> sowie auch bei Oxazolidinon-Antibiotika<sup>[68]</sup> vor. Deshalb war geplant, diese Baugruppe als Thiophenylmethylalkohol **43** an das Isocyanat **11** und das Säurechlorid **9** zu addieren.



Die beiden entstehenden Produkte **44** und **45** unterscheiden sich nur durch die Urethan- und die Esterfunktion, was einen direkten Vergleich der beiden funktionellen Gruppen bezüglich des Einflusses auf die biologische Aktivität zulässt.

### 1.8.2.1 Darstellung des Thiophenylmethylcarbamats **44**

Analog zur Darstellung der Urethane über das 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (**11**) konnte auch das Thiophenylmethylcarbamate **44** in guter Ausbeute (75%) synthetisiert werden. Das Isocyanat **11** und 1.5 Äquivalente des Alkohols wurden dabei unter Zugabe von 0.5 Äquivalenten  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung erhielt man **44** als farblosen Feststoff.

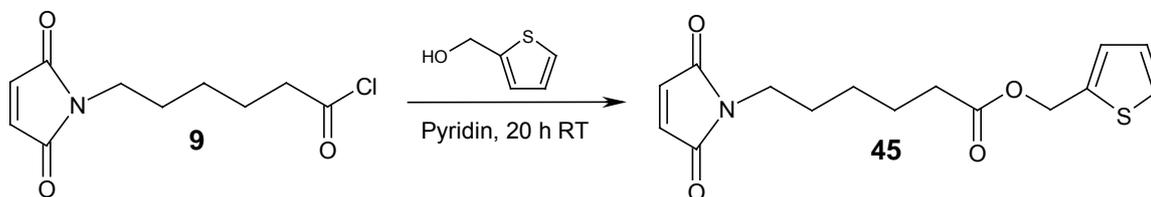


Die Protonen des Aromatenteils erscheinen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum alle als Dublett vom Dublett und können aufgrund der für Thiophenylreste typischen Kopplungskonstanten ( $^3J_{3,4} = 3.4 \text{ Hz}$ ;  $^3J_{4,5} = 4.9 \text{ Hz}$ ;  $^4J_{3,5} = 1.0 \text{ Hz}$ ) leicht zugeordnet werden.

### 1.8.2.2 Synthese des 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäureesters **45**

Um das Carbonsäurechlorid **9** in den Ester **45** zu überführen, wurde **9** zusammen mit 1.1 Äquivalenten Pyridin in Dichlormethan vorgelegt und 1 Äquivalent des Alkohols **43**

zugegeben. Nach 20 h bei Raumtemperatur war die Reaktion laut Dünnschichtchromatogramm beendet. Durch Aufarbeitung und Säulenchromatographie konnte **45** als weißer Feststoff isoliert werden.

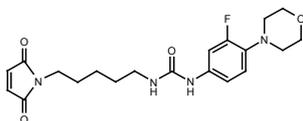
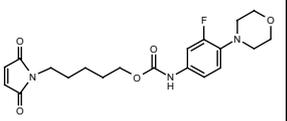
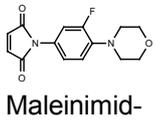


Die aromatischen H-Atome zeigen das gleiche Kopplungsmuster wie beim Urethan **44** und können dementsprechend zugeordnet werden.

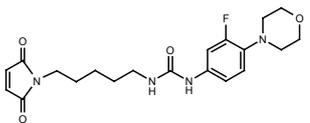
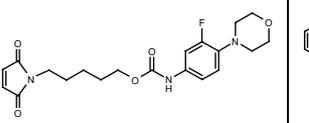
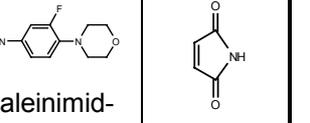
### 1.8.3 Antibakterielle Wirksamkeit und Toxizität der neuen Substanzen

Die antibakteriellen Eigenschaften und die Toxizität der Substanzen wurden wie bisher mit dem jeweiligen Plattendiffusionsverfahren (Vgl. 1.1 und 1.2) bestimmt. Als Maß für die biologische Aktivität gelten wieder die Hemmhofdurchmesser in mm.

#### Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:

Bakterienstämme:		 <b>Harnstoff 35</b> 30 µg	 <b>Carbamat 46</b> 30 µg	 <b>Maleinimid-derivat 37</b> 30 µg	CAZ 30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	14	9	12	21
	s.aur.res.	16	13	15	15
	staph. 25768	16	12	14	12
	staph. Innsbruck	17	11	12	0
	E.coccus	20	14	14	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	0	0	8	24
	E.coli TEM	0	0	0	27
	E.cloacae	0	0	0	14
	Ps.aer.	0	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	0	12

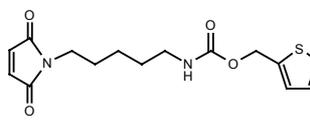
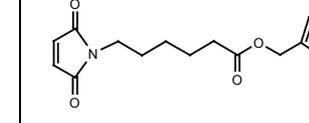
*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Hefe</b>	 <b>Harnstoff 35</b> 1 mg	 <b>Carbamat 36</b> 1 mg	 <b>Maleinimid-derivat 37</b> 1 mg	 <b>Maleinimid</b> 1 mg
	sacch.cerevisiae	10	10	12

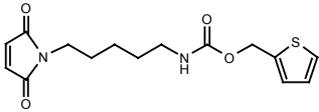
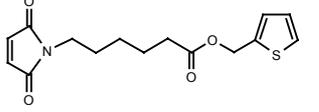
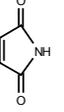
Entgegen den Erwartungen konnte durch die Einführung des 3-Fluor-4-morpholinylphenyl-Rests keine Verbesserung der antibakteriellen Wirksamkeit erreicht werden. Während der Harnstoff **36** eine immerhin noch mittlere bis gute antibiotische Wirkung zeigt, sind die antibakteriellen Eigenschaften beim Urethan **35** beinahe völlig verloren gegangen. Auch das Maleinimid-Derivat **37**, das keine C<sub>5</sub>-Kohlenstoffkette enthält, weist nur eine schwache Wirkung gegen grampositive Bakterien auf.

Die Toxizitäten aller drei Verbindungen erweisen sich ebenfalls als sehr gering .

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

<b>Bakterienstämme:</b>		 <b>Thiophenylmethyl-carbamat 44</b> 30 µg	 <b>Thiophenylmethyl-ester 45</b> 30 µg	<b>CAZ</b> 30 µg
<b>Gram-positiv:</b>	s.aur. 1104	20	20	21
	s.aur.res.	21	21	15
	staph. 25768	22	22	12
	staph. Innsbruck	23	25	0
	E.coccus	23	24	0
<b>Gram-negativ:</b>	E.coli 1103	8	8	24
	E.coli TEM	8	8	27
	E.cloacae	0	0	14
	Ps.aer.	0	0	22
	Ps.aer.res.	0	0	12

*Toxizität – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

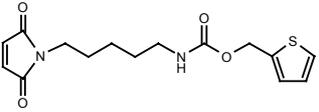
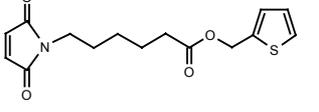
<b>Hefe</b>	 Thiophenylmethylcarbamate <b>44</b> 1 mg	 Thiophenylmethyl ester <b>45</b> 1 mg	 Maleinimid 1 mg
sacch.cerevisiae	14	14	26

Durch Einbau des Thiophen-Restes gelang es, bei beiden Verbindungen **44** und **45** die antibiotische Wirksamkeit zu verbessern, während die Toxizität gleichzeitig gering bleibt. Die Werte der Hemmhofdurchmesser gehören mit zu den besten aller bisher synthetisierten Verbindungen, vor allem im grampositiven Bereich. Deshalb sollten die antibakteriellen Eigenschaften des Carbamats **44** und des Esters **45** noch genauer in MIC-Tests untersucht werden.

**1.8.4 MIC-Tests der Thiophenylmethyl-derivate 44 und 45**

Die Bestimmung der MIC-Werte von **44** und **45** gegen grampositive Bakterienstämme erfolgte nach der bereits unter 1.7 beschriebenen Vorgehensweise. Als Vergleich wurden die MIC-Werte von Vancomycin herangezogen.

*MIC-Wertbestimmung – MIC [ $\mu\text{g/ml}$ ]:*

<b>Grampositive Bakterienstämme:</b>	 Thiophenylmethylcarbamate <b>44</b>	 Thiophenylmethyl ester <b>45</b>	Vancomycin
s.aur. 1104	5	10	1
s.aur.res.	5	10	2
staph. 25768	10	15	1
staph. Innsbruck	10	15	2
E.coccus	15	15	1

Beide Verbindungen weisen die bisher besten MIC-Werte aller getesteten Verbindungen auf, wobei das Carbamat **44** trotz der z.T. kleineren Hemmhofdurchmesser im Plattendiffusionstest wirksamer als der Ester **45** ist. Im Vergleich zu Vancomycin sind die antibakterielle Wirksamkeiten von **44** und **45** nur noch um einen Faktor 5 bis 15 schwächer. Von besonderem Interesse sind dabei die antibiotischen Eigenschaften gegenüber dem Methicillin-resistenten *Staphylococcus Innsbruck* (MRSA), bei dem das Urethan **44** eine nur fünfmal schwächere Wirkung als Vancomycin zeigt.

## 1.9 Zusammenfassende Betrachtungen

Es gelang durch Modifizierung der anfänglichen Leitstruktur **6** und die Synthese einer Vielzahl von Derivaten, neuartige Antibiotika vom Maleinimidtyp gegen grampositive Bakterienstämme herzustellen. Insbesondere das Thiophenylmethylurethan **44** konnte gegen MRSA eine aussichtsreiche Wirksamkeit erzielen, die sich von dem zur Zeit verwendeten Standard-Antibiotikum Vancomycin nur um einen Faktor 5 unterschied.

Die Verwendung solcher Maleinimid-Derivate als Arzneistoffe bleibt dennoch etwas fraglich. Denn unabhängig von den z.T. niedrigen Toxizitäten im Hefe-Test, reagieren die meisten Maleinimide oft unspezifisch mit den SH-Gruppen verschiedenster Proteine<sup>[30],[69]</sup> und Peptide<sup>[38]</sup>. So verwendet man *N*-substituierte Maleinimide z.B. zur Markierung von Peptiden an deren Thiolgruppen<sup>[70]</sup> oder als Quervernetzungsreagenzien für Proteine<sup>[41],[71]</sup>. Bei der Verabreichung als Medikament hätten diese unspezifischen Alkylierungsreaktionen wahrscheinlich eine Vielzahl von Nebenwirkungen zur Folge.

Deshalb käme die Verwendung eines Maleinimid-Derivats höchstens als antibakterielles Notfallpräparat in Frage, und zwar nur dann, wenn alle anderen zur Verfügung stehenden Antibiotika wegen Resistenz versagen.

Folglich wurde auf eine weitere Entwicklung dieser Präparategruppe vorerst verzichtet. Stattdessen sollte eine andere gegen grampositive Bakterien wirksame Antibiotikaklasse, die Oxazolidinon-Antibiotika, untersucht werden.

---

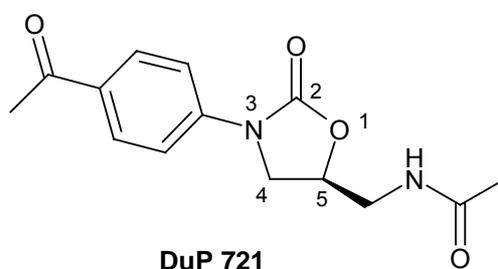
## 2 Synthese eines neuen Oxazolidinon-Analogons

### 2.1 Aufgabenstellung

Die Zunahme von multiresistenten Krankheitserregern vor allem im Bereich der grampositiven Bakterien ist heutzutage zu einem der größten Probleme der klinischen Medizin geworden<sup>[65]</sup>. Speziell die Verbreitung von Vancomycin-resistenten Bakterienstämmen in den letzten Jahren ist besorgniserregend, da das Glycopeptid-Antibiotikum Vancomycin als letzter medizinischer Ausweg bei Infektionen mit grampositiven *Kokken* gilt. Die Sterblichkeitsrate bei Infektionen mit Vancomycin-resistenten *Enterokokken* liegt bereits bei über 35%<sup>[72]</sup>. Noch dramatischer könnte die Situation werden, wenn auch die Bakterienstämme des extrem virulenten *Staphylococcus aureus* vermehrt eine Resistenz gegen Vancomycin erwerben, wie es nach ersten Einzelfällen für die nahe Zukunft erwartet wird<sup>[64]</sup>.

Vor diesem Hintergrund wurden in den letzten Jahrzehnten die Anstrengungen bei der Suche nach neuartigen Antibiotika, die über einen anderen Mechanismus wirken und somit das Resistenzproblem umgehen, verstärkt. Dies führte schließlich zur Entwicklung der Oxazolidinon-Antibiotika, einer neuen, rein synthetischen Antiinfektiva-Klasse.

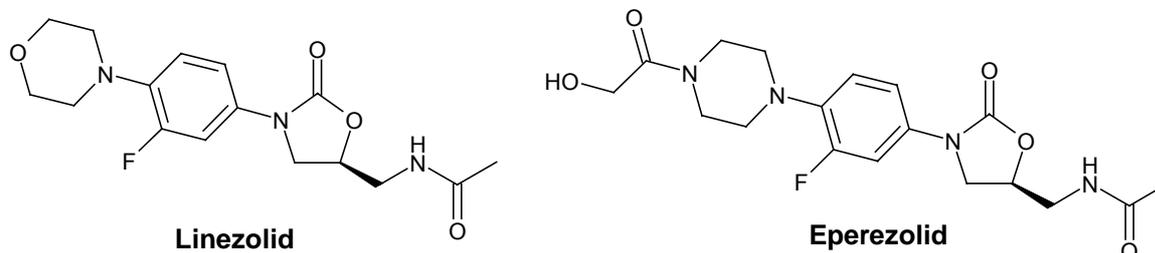
Ausgangspunkt war 1978 ein Patent der Firma DuPont für einen Stoff, der gegen pflanzenpathogene Keime wirksam war. Als sich herausstellte, dass Folgesubstanzen auch eine schwache Aktivität gegen humanpathogene Bakterien zeigten, wurde die Struktur soweit optimiert, bis man 1987 den ersten Prototypen der (5*S*)-Acetamidomethyl-3-aryl-2-oxazolidinone, das DuP 721 erhielt<sup>[73],[74]</sup>.



Dieses neue Antibiotikum war *in vitro* und *in vivo* gegen grampositive, multiresistente Bakterien hochaktiv und konnte sowohl oral wie auch parenteral verabreicht werden<sup>[75]</sup>.

Die Wirksamkeit gegenüber multiresistenten Stämmen beruht auf einem neuartigen Wirkmechanismus. Die Oxazolidinone greifen an einer anderen Stelle in die bakterielle Proteinsynthese ein als alle bisher bekannten Antibiotika. Die Translation, also die Proteinbiosynthese, bei Prokaryonten umfasst drei Phasen: Initiation, Elongation und Termination. Die Oxazolidinone inhibieren die Proteinsynthese zu einem sehr frühen Zeitpunkt des Initiationsschrittes<sup>[76],[77]</sup>. Verschiedene Proteine (Initiationsfaktoren) lagern sich bei Beginn der Translation mit der tRNA zu einem Initiationskomplex zusammen. Oxazolidinone stören die präzise Bildung dieses Komplexes. Als Folge werden die neuen Proteine nicht mehr exprimiert<sup>[75]</sup>. Der Inhibitionseffekt ist bei grampositiven Bakterien deutlich stärker ausgeprägt als bei gramnegativen, da die gramnegative Bakterienmembran für Oxazolidinone weniger durchlässig ist.

In den neunziger Jahren wurden zur Weiterentwicklung des Prototypen DuP 721 vor allem die Substituenten des aromatischen Restes variiert. Dies führte zu zwei neuen hochwirksamen Vertretern der Oxazolidinone, Linezolid und Eperezolid<sup>[59]</sup>, von denen Linezolid bereits die klinische Phase III durchlaufen hat und seit dem Frühjahr 2000 als Zyvox<sup>®</sup> in den USA zugelassen ist<sup>[21],[78]</sup>.

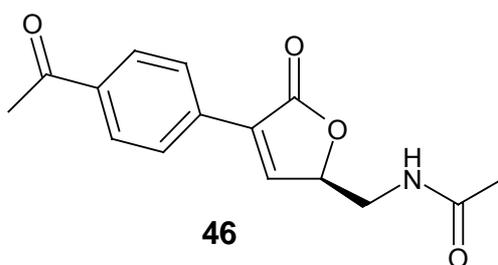


Neben ihrer verbesserten antibakteriellen Aktivität zeichnen sich beide Oxazolidinone auch durch das geringe Maß an Nebenwirkungen aus, was sie im Vergleich zu Vancomycin besonders attraktiv macht<sup>[59],[79],[80]</sup>.

Zur Aufklärung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Oxazolidinone wurde eine ganze Reihe von systematischen Untersuchungen durchgeführt. Dabei stand zunächst der Einfluss des Substituenten am Aromaten und des Restes an der 5-Stelle des Oxazolidinons im Mittelpunkt<sup>[74],[81]</sup>. Die Acetamidomethylgruppe am Ring erwies sich dabei als wichtige Voraussetzung für eine gute Wirksamkeit der Verbindungen. Wie sich weiter herausstellte, war nur das *S*-Enantiomer hochwirksam, während das *R*-Enantiomer beinahe keine antibakterielle Aktivität aufwies. Die Substituenten am

aromatischen Teil der Oxazolidinone konnten wesentlich vielfältiger variiert werden, ohne dass dabei die Wirksamkeit verloren ging. Allerdings erwies sich die para-Substitution als besonders günstig, während Substanzen mit größeren Substituenten in ortho-Position keine antibiotische Wirksamkeit mehr zeigten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die räumliche Lage des Oxazolidinon-Rings und des Aromaten zueinander mitentscheidend für die antibakterielle Wirksamkeit ist. Durch die Konjugation des aromatischen  $\pi$ -Systems mit der partiellen, amidähnlichen Doppelbindung des Oxazolidinons ist eine koplanare Ausrichtung der beiden Ringe bevorzugt. Dies spiegelt sich auch in der Röntgenstruktur von DuP 721 wider, in der beide Ringe fast koplanar zueinander liegen. Der sterische Einfluss eines großen ortho-Substituenten verhindert nun eine solche Ausrichtung. Als Folge geht die antibakterielle Aktivität verloren.

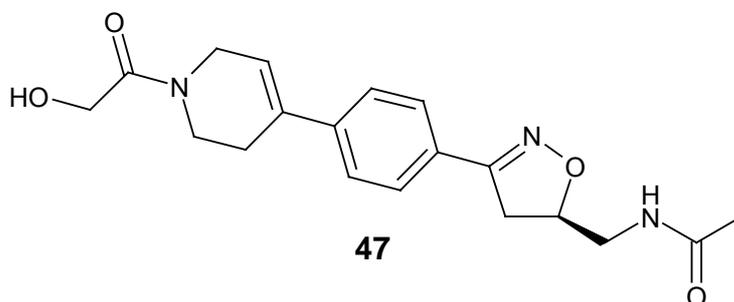
Der Einfluss des Oxazolidinon-Rings als charakteristisches Strukturelement wurde erst relativ spät untersucht. Man vermutete lange Zeit, dass die Oxazolidinon-Einheit unbedingte Voraussetzung für die antibiotische Wirksamkeit sei, da eine Reihe strukturell abgewandelter Fünfringe nur zu unwirksamen Substanzen führte<sup>[82]</sup>. Schließlich gelang es jedoch, mit dem ungesättigten Lacton **46** ein wirksames Oxazolidinon-Analogon<sup>[79],[83]</sup> zu synthetisieren, dessen MIC-Werte dem Vancomycin vergleichbar waren.



Ähnlich wie bei den Oxazolidinonen ist bei der neuen Verbindung aufgrund der Konjugation der Doppelbindung mit dem aromatischen  $\pi$ -Elektronensystem eine koplanare Ausrichtung der beiden Ringsysteme begünstigt, was grundlegend für die biologische Aktivität ist.

Als zusätzliche Wirkungsvoraussetzung wurde weiterhin der Einfluss der Carbonylgruppe und ihre Position im Fünfring angesehen. Um so überraschender war

es deshalb, als erst kürzlich mit der Isoxazolverbindung **47** eine weiteres antibakteriell hochwirksames Fünfring-Analogon zu den Oxazolidinonen patentiert wurde<sup>[84]</sup>.

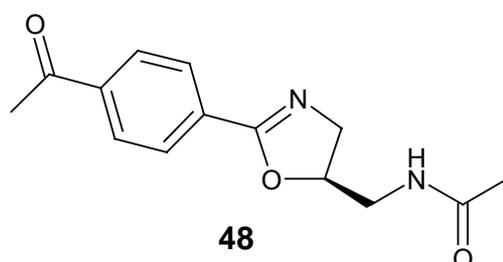


Während die Carbonylfunktion hier völlig fehlt, ist durch die Konjugation von Aromat und Doppelbindung im Fünfring erneut eine annähernd koplanare Stellung der beiden Ringe anzunehmen.

Folglich spielt der Fünfring für die antibiotische Wirksamkeit vermutlich die Rolle eines Spacers, also eines definierten räumlichen Verbindungsstücks. Seine koplanare Ausrichtung zur Aromatengruppe ist dabei für die Aktivität mitentscheidend und wird durch die Konjugation zwischen den Ringsystemen begünstigt. Bei den älteren, unwirksamen Fünfring-Analoga fehlte diese Konjugation.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte deshalb ein neues, zum Aromaten konjugiertes Fünfring-Derivat als Analogon zu den Oxazolidinonen synthetisiert und auf seine antibakterielle Wirksamkeit getestet werden.

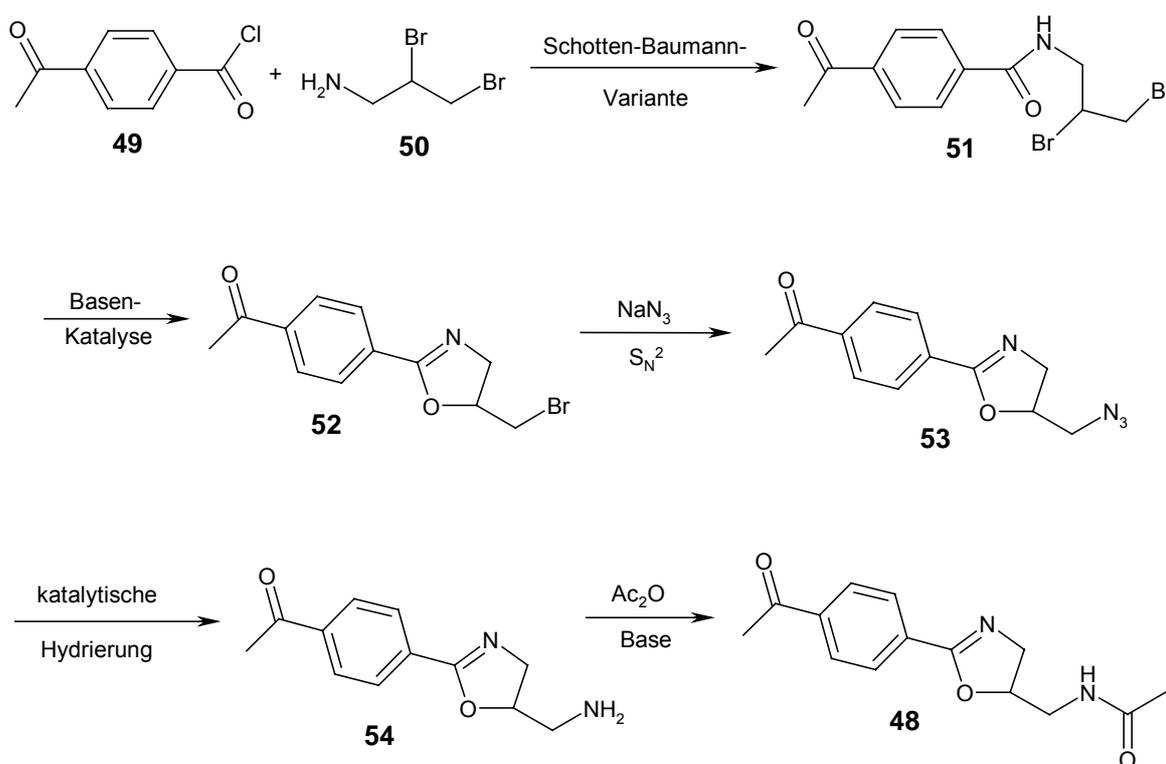
Als Zielmolekül, das alle bisher besprochenen Voraussetzungen für die antibiotische Wirksamkeit erfüllt, wurde (5*R*)-Acetamidomethyl-2-(4-acetylphenyl)-4,5-dihydrooxazol (**48**) gewählt.



Mitausschlaggebend für die Auswahl war, dass Phenyl- $\Delta^2$ -Oxazoline gute biologische Aktivität als Cholinmimetika<sup>85</sup> zeigten und somit auch Wirkungen in anderen biologischen Systemen zu erwarten waren.

## 2.2 Syntheseplanung

Es war geplant, zunächst das racemische  $\Delta^2$ -Oxazolin **48** zu synthetisieren und auf seine antibakterielle Aktivität zu testen. Dazu sollte durch Reaktion des Säurechlorids **49** und des Amins **50** unter Schotten-Baumann-Bedingungen zuerst das Benzamid **51** dargestellt werden. Anschließende Cyclisierung unter Basenkatalyse ergäbe dann den erwünschten Oxazolinring **52**. Durch eine  $S_N^2$ -Reaktion sollte dann Brom gegen eine Azidogruppe ausgetauscht werden. Schließlich erhält man durch die katalytische Hydrierung von **53** das Aminomethyloxazolin **54**, das im letzten Schritt zur Zielverbindung **48** acyliert wird.

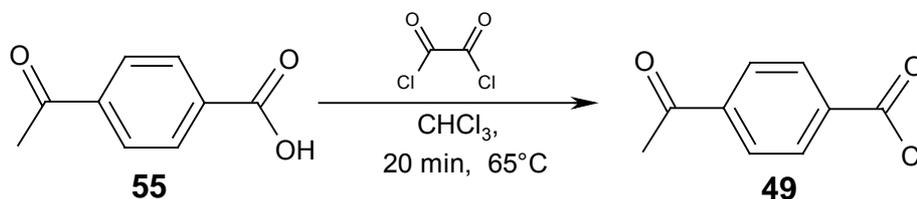


## 2.3 Darstellung der Ausgangsprodukte

### 2.3.1 Synthese des Säurechlorids **49**

Die Darstellung des 4-Acetylbenzoylchlorids **49** ausgehend von 4-Acetylbenzoesäure **55** gelang in quantitativer Ausbeute mit Oxalylchlorid als Chlorierungsmittel. Dazu wurde **55** in Chloroform suspendiert und mit einem Überschuss an Oxalylchlorid versetzt. Anschließend wurde die Mischung zum Rückfluss erhitzt, wobei man ab  $50^\circ C$  anhand der einsetzenden Gasentwicklung die Entstehung der Nebenprodukte CO und

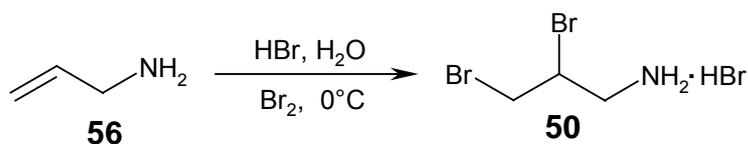
CO<sub>2</sub> beobachten konnte und allmählich eine klare Lösung entstand. Nach 20 Minuten war die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel und überschüssiges Reagens wurden abdestilliert, wobei das Produkt **49** als weißer Feststoff zurückblieb.



Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **49** erkennt man das für parasubstituierte Aromaten typische Kopplungsmuster mit zwei Dublettsignalen bei 8.07 ppm und 8.21 ppm. Das Signal der Methylgruppe bei 2.67 ppm ist im Vergleich zum Edukt **55** (2.63 ppm) nur wenig tieffeldverschoben. Im IR-Spektrum sind die Carbonyl-Absorptionen der Säurechloridfunktion bei 1770 cm<sup>-1</sup> und der Ketofunktion bei 1690 cm<sup>-1</sup> erkennbar, während die Carbonsäureabsorption des Edukts **55** bei 1715 cm<sup>-1</sup> verschwunden ist.

### 2.3.2 Darstellung des Dibrompropylamin-hydrobromids (**50**)<sup>[86]</sup>

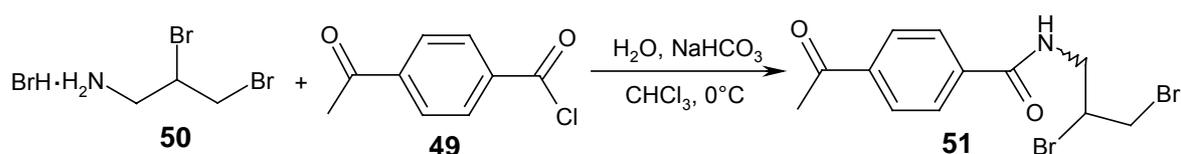
Die Synthese des 1,2-Dibrompropylamins sollte über eine Bromierung des Allylamins **56** erfolgen. Da die direkte Bromierung mit Brom zwar zunächst zum gewünschten dibromierten Produkt führt, aber in der Folge durch Substitutionsreaktionen weitere Nebenprodukte entstehen können, war es nötig den nucleophilen Stickstoff vor der Reaktion zu protonieren<sup>[86]</sup>. Dazu wurde Allylamin **56** in Wasser vorgelegt und bis zur schwach sauren Reaktion mit Bromwasserstoffsäure versetzt. Anschließend gab man 1 Äquivalent Brom langsam unter Kühlung zu und beließ das Reaktionsgemisch für 45 min bei 0°C. Das dabei ausgefallene Produkt **50** wurde als weißer Feststoff abfiltriert. Aus dem Filtrat konnte weiteres Produkt durch Einengen und Verreiben mit Ether gewonnen werden, wodurch man **50** in quantitativer Ausbeute erhielt.



Die Protonen der beiden Methylengruppen in Nachbarschaft zum stereogenen Zentrum am C-2-Atom sind jeweils diastereotop und erscheinen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgrund der zusätzlichen Kopplung zum Methinproton als Dublett vom Dublett. Die Verschiebungen liegen bei 3.36 ppm und 3.72 ppm für die H-Atome am Stickstoffende und bei 3.88 ppm und 4.02 ppm für die Protonen am C-3-Atom. Das Signal des Methinprotons bei 4.56 ppm ist vollständig aufgelöst, wodurch die Kopplungen zu allen vier benachbarten H-Atomen erkennbar sind. Insgesamt handelt es sich um ein ABCDE-Spinsystem.

## 2.4 Synthese des Benzylamids 51

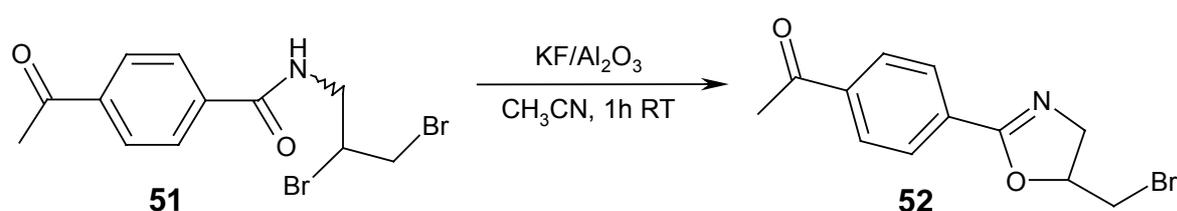
Die Umsetzung des Säurechlorids **49** mit dem Dibrompropylamin **50** verlief problemlos und führte in quantitativer Ausbeute zum gewünschten Benzylamid **51**. Dabei wurde das Hydrobromid-Salz desamins **50** in Wasser gelöst und das freie Amin erst nach und nach durch langsame Zugabe einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung freigesetzt. Parallel dazu tropfte man über 30 min unter Rühren 1.1 Äquivalente des Carbonsäurechlorids **49** in Chloroform zu. Nach insgesamt 2.5 h bei  $0^\circ\text{C}$  konnte das Produkt **51** nach Aufarbeitung und Trocknen am Hochvakuum als weißer Feststoff isoliert werden. Das Amid **51** erwies sich im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als nahezu rein und konnte ohne weitere Reinigung für die folgende Umsetzung verwendet werden.



Aufgrund der Amidresonanz kommt es zum Auftreten zweier Konformere. Die *E/Z*-Isomerie zeigt sich am doppelten Signalsatz für alle Kohlenstoffatome im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von **51**. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum hingegen sind *E*- und *Z*-Form nicht eindeutig zu identifizieren, was an der nur ungenügenden Auflösung der zur partiellen Doppelbindung benachbarten H-Atome liegt. Im IR-Spektrum treten die beiden Amidbanden bei  $1640\text{ cm}^{-1}$  und  $1534\text{ cm}^{-1}$  an die Stelle der vorherigen Carbonylschwingung des Säurechlorids bei  $1770\text{ cm}^{-1}$ . Die Carbonylbande des Ketons ist bei  $1680\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen.

## 2.5 Cyclisierung zum Oxazolin 52

Der Ringschluss von  $\omega$ -Halo-amiden unter basischen Bedingungen ist eine der möglichen Methoden zur Darstellung von  $\Delta^2$ -1,3-Oxazolinen. Ihr synthetischer Nutzen war jedoch bis vor kurzem begrenzt, da normalerweise im wässrigen oder alkoholischen System mit hohen Konzentrationen starker Basen und Wärmezufuhr gearbeitet wurde. Dies führte regelmäßig zu einer Vielzahl von Nebenprodukten und in der Folge zu niedrigen Ausbeuten. M. A. Mitchell und B. C. Beniwick<sup>[87]</sup> gelang es, mit Kaliumfluorid auf Aluminiumoxid als Reagens die Cyclisierung unter bedeutend mildereren Bedingungen zu vollziehen und damit die Anwendbarkeit dieser Methode deutlich zu erweitern. Interessanterweise ist die aktive Spezies bei der Reaktion nicht das Fluoridion, sondern die stark basische Aluminiumoxidoberfläche, die neben Kaliumhexafluoroaluminat vor allem aus Kaliumhydroxid und Kaliumaluminat besteht<sup>[88]</sup>. Zur Cyclisierung wurde das Amid **51** in Acetonitril gelöst und bei Raumtemperatur mit 4 Äquivalenten (bezogen auf KF) Kaliumfluorid auf Aluminiumoxid versetzt. Der Reaktionsverlauf des Ringschlusses konnte über Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Dabei konnte das Verschwinden des Edukts ( $R_f$ -Wert: 0.34; Toluol/EtOAc 2:1) und die Bildung eines neuen Produkts ( $R_f$ -Wert: 0.26; Toluol/EtOAc 2:1) beobachtet werden. Nach einer Stunde bei Raumtemperatur wurde über Celite filtriert, einrotiert und säulenchromatographisch gereinigt, wodurch man das  $\Delta^2$ -1,3-Oxazolin **52** als weißen Feststoff in 78%iger Ausbeute isolieren konnte.



Dass sich nur der Fünfring **52** und kein Sechsringprodukt gebildet hat, zeigt sich anhand des <sup>13</sup>C-DEPT-Spektrums von **52**, in dem die Signale für -CH<sub>2</sub>-Br bei 33.6 ppm, -CH<sub>2</sub>-N= bei 59.5 ppm und -CH-O- bei 78.1 ppm gut zu unterscheiden sind.

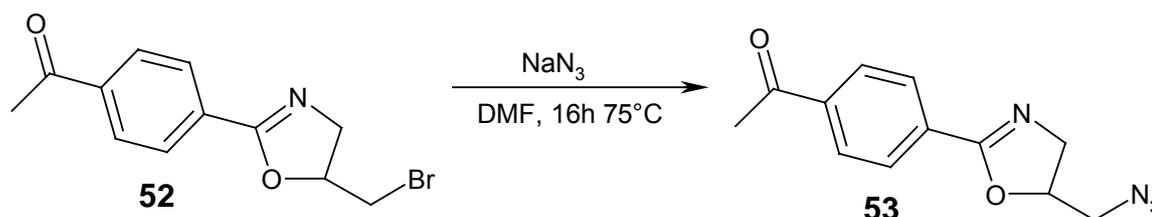
Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Oxazolins **52** sind die diastereotopen H-Atome der beiden Methylengruppen gut an ihren unterschiedlichen Verschiebungen zu erkennen. Die jeweiligen Dubletts vom Dublett liegen bei 3.54 ppm und 3.58 ppm für die dem Stickstoff benachbarte CH<sub>2</sub>-Gruppe und bei 3.95 ppm und 4.23 ppm für die zweite

Methylengruppe. Beim Methinprotonensignal bei 4.98 ppm sind die Kopplungen zu allen vier Nachbarprotonen gut erkennbar.

Der Ringschluss zeigt sich im IR-Spektrum von **52** daran, dass anstelle der beiden Amidbanden bei  $1640\text{ cm}^{-1}$  und  $1534\text{ cm}^{-1}$  nun nur eine Absorption für die C=N-Doppelbindung bei  $1650\text{ cm}^{-1}$  zu beobachten ist. Desweiteren kann man die Carbonylschwingung des Ketons bei  $1690\text{ cm}^{-1}$  erkennen.

## 2.6 Einführung der Azidfunktion

Die Substitution des Broms durch eine Azidgruppe gelang in einer  $S_N2$ -Reaktion in Dimethylformamid unter Erhitzen. Das Brommethyl-oxazolin **52** wurde dazu in DMF gelöst, 4 Äquivalente Natriumazid zugegeben und das Reaktionsgemisch 16 h auf  $75^\circ\text{C}$  erwärmt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung erhielt man das Azid **53** als fahlgelben Feststoff in 99%iger Ausbeute.



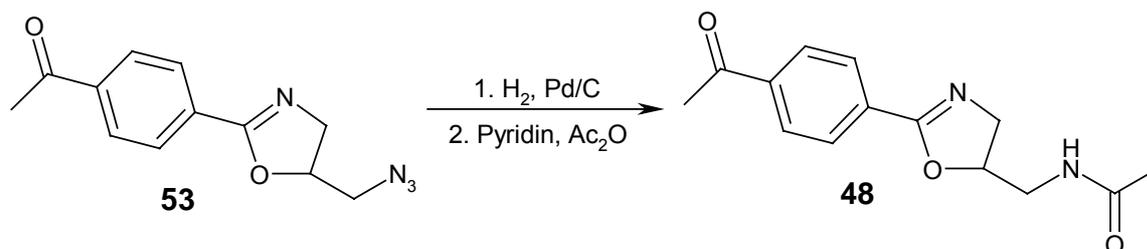
Die Substitution ist vor allem im IR-Spektrum des Produkts **53** anhand der neuen Azid-Bande bei  $2100\text{ cm}^{-1}$  gut zu erkennen. Die Absorptionen der Carbonylfunktion bei  $1680\text{ cm}^{-1}$  und der C=N-Schwingung bei  $1645\text{ cm}^{-1}$  sind nur wenig verschoben.

Die 4 Methylenprotonen erscheinen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum alle als vier einzelne Dubletts vom Dublett, was ihrem paarweise diastereotopen Charakter entspricht. Im Signal des H-Atoms am stereogenen Zentrum können erneut alle Kopplungen zu den 4 benachbarten Protonen beobachtet werden.

## 2.7 Überführung in die Acetamidomethylverbindung 48

Das Azid **53** konnte durch katalytische Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle zunächst in das Amin **54** überführt werden. Dazu wurde **53** in Essigsäureethylester gelöst und bei  $0^\circ\text{C}$  zu dem bereits im gleichen Lösungsmittel vorhydrierten Katalysator

zugespritzt. Die Reduktion zum Amin ließ sich über Dünnschichtchromatographie verfolgen und war nach 1.5 h beendet. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde die so erhaltene Lösung desamins **54** direkt unter Pyridin-Aktivierung mit einem leichten Überschuss an Essigsäureanhydrid umgesetzt. Aufarbeitung und chromatographische Reinigung lieferten schließlich das acylierte Produkt **48** als weißen Feststoff in 68%iger Ausbeute.



Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Oxazolins **48** zeigt sich ein neues Singulettsignal für die Methylacetamid-Gruppe bei 2.03 ppm. Ansonsten erscheinen die dem Amid-Stickstoff benachbarten diastereotopen Protonen wieder als zwei Dubletts vom Dublett, während die andere Methylengruppe und das Methinproton nur ungenügend aufgelöst sind und jeweils nur als Multiplettsignal charakterisiert werden können.

## 2.8 Untersuchung der antibakteriellen Eigenschaften des Oxazolins **48**

Das synthetisierte Oxazolin **48** sollte nun mit Hilfe der bereits ausführlich beschriebenen Plattendiffusionsmethode (siehe unter 1.1) auf seine antibakterielle Wirksamkeit untersucht werden. Dazu wurden jeweils 30 µg der Verbindung gegen die einzelnen Bakterienstämme getestet. Nach 18 h bei 37°C wurden die verschiedenen Agarplatten auf evtl. entstandene Hemmhöfe überprüft. Entgegen den Erwartungen zeigte das Oxazolin **48** weder im grampositiven noch im gramnegativen Bereich antibiotische Wirksamkeit.

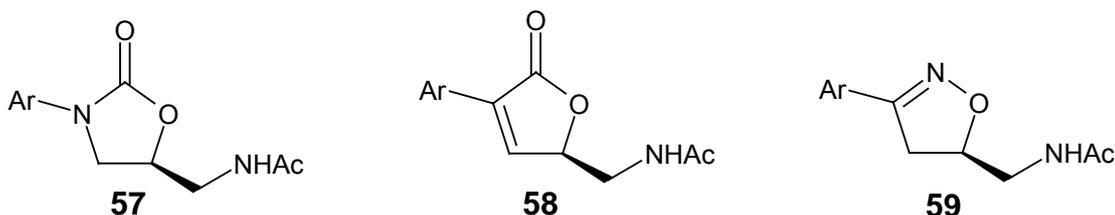
Um abzuklären, ob die mangelnde antibakterielle Aktivität auf einen schnellen Abbau des Oxazolins im wässrigen Medium zurückzuführen ist, wurde die Stabilität von **48** mittels UV-Spektroskopie untersucht. Dabei wurde die Abnahme der Extinktion der

Verbindung am Absorptionsmaximum bei 264 nm in einer physiologischen Phosphatpuffer-Lösung bei 37°C gemessen. Das Oxazolin **48** erwies sich dabei als äußerst stabil. Die Absorption hatte nach 24 Stunden nur um 2% abgenommen. Folglich war die fehlende antibiotische Aktivität nicht auf die Instabilität der Verbindung zurückzuführen.

## 2.9 Zusammenfassende Betrachtungen

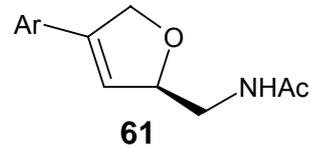
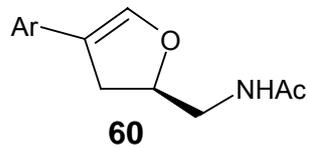
Das 4-Acetamido-2-aryl-oxazolin **48** konnte in vier Schritten mit einer Gesamtausbeute von 53% synthetisiert werden. Obwohl es alle bisher bekannten Wirkungsvoraussetzungen erfüllt, erwies es sich im Plattendiffusionstest als antibakteriell unwirksam. Die Verbindung wurde zwar als Racemat getestet, von dem nur das *R*-Enantiomer theoretisch wirksam ist. Eine verminderte antibiotische Aktivität im Vergleich zum entantiomerenreinen Wirkstoff war also zu erwarten. Dass die Wirksamkeit jedoch völlig fehlte, lässt sich dadurch nicht erklären. Vielmehr müssen anscheinend weitere Wirkungsvoraussetzungen erfüllt sein, um ein antibiotisch aktives Präparat zu erhalten. Unter Umständen spielt die unterschiedliche Polarität des hergestellten Oxazolin-Rings **48** im Vergleich zu den wirksamen Fünfringsystemen eine entscheidende Rolle.

Vergleicht man die wirksamen Fünfring-Gerüste, so fällt auf, dass bei allen drei Vertretern an der gleichen Stelle im Ring ein Sauerstoffatom enthalten ist.



Dies legt die Vermutung nahe, dass der Sauerstoff im Ring evtl. durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen oder durch seine Polarität mitentscheidend für die antibakterielle Wirksamkeit ist. Das hieße, dass neben dem Arylrest, der Acetamidogruppe und der Koplanarität der Ringe eine weitere Wirkungsvoraussetzung,

nämlich die definierte Stellung eines Sauerstoffatoms im Fünfring, für eine weitergehende Wirkstoffentwicklung zu beachten wäre.

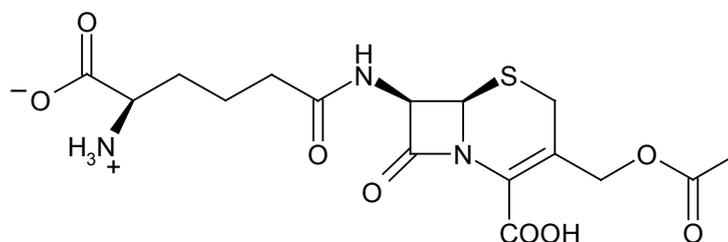


Um diese Theorie zu bestätigen, wäre es interessant, in der Zukunft weitere Fünfringsysteme wie z.B. die Dihydrofurane **60** oder **61**, die alle vier genannten Wirkungsvoraussetzungen erfüllen, zu synthetisieren und auf ihre antibiotische Aktivität zu testen.

### 3 Synthese neuer oral wirksamer Cephalosporine

#### 3.1 Überblick

Die Cephalosporine, Antibiotika der  $\beta$ -Lactam-Klasse, spielen heutzutage in der Therapie von Infektionskrankheiten eine bedeutende Rolle unter den verschiedenen Arten von Antiinfektiva<sup>[89],[90]</sup>. Ihre Entwicklung reicht bis ins Jahr 1945 zurück, als der Bakteriologe G. Brotzu an der Universität in Cagliari auf Sardinien entdeckte, dass der aus Meerwasser isolierte Pilz *Cephalosporium acremonium* ein antibakteriell wirksames Extrakt lieferte. Erst zehn Jahre später gelang es, neben einer Reihe wirksamer Substanzen auch Cephalosporin C zu isolieren<sup>[91]</sup>, den ersten Vertreter dieser neuen Antibiotika-Klasse.

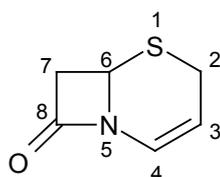


Cephalosporin C

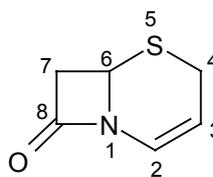
Obwohl die Wirksamkeit von Cephalosporin C nur mäßig war, zeichnete es sich durch zwei besondere Eigenschaften aus: es war beständig gegenüber Penicillinasen und im Vergleich zu Penicillin G stabil gegenüber Säuren<sup>[92]</sup>. In den nächsten Jahrzehnten setzte eine rapide Entwicklung halbsynthetischer Cephalosporin-Derivate ein, die zu einer Vielzahl von Arzneistoffen gegen die meisten bakteriellen Infektionskrankheiten führte<sup>[93]</sup>. Trotz der erwähnten Säurestabilität, die Voraussetzung für eine orale Verabreichung ist, wurden die meisten neuen Cephalosporine kaum oder gar nicht aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert. Deshalb war ihre Anwendung auf die parenterale Verabreichung beschränkt und es dauerte bis 1969, bis mit Cephalexin das erste oral applizierbare Cephalosporin auf den Markt kam<sup>[94]</sup>.

### 3.2 Nomenklatur der Cephalosporine

Die Grundstruktur der Cephalosporine besteht aus einem bicyclischen  $\beta$ -Lactam- $\Delta^3$ -dihydrothiazin-Ringsystem, das in einer häufig verwendeten und einfachen halb-systematischen Nomenklatur als 3-Cephem (Doppelbindung zwischen Position 3 und 4) bezeichnet wird. Alternativ lassen sich die Verbindungen auch nach IUPAC in der Bicyclus-Nomenklatur beschreiben, die eine genauere Bezeichnung der einzelnen Verbindungen erlaubt.



3-Cephem-Nomenklatur



IUPAC-Nomenklatur

Die räumliche Anordnung der Substituenten, insbesondere an Position 7, wird innerhalb der Trivialnomenklatur mit  $\alpha$  („nach hinten“) und  $\beta$  („nach vorne“) bezeichnet.

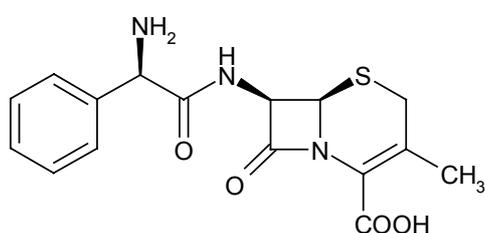
In der vorliegenden Arbeit werden im Speziellen Teil die kürzeren Trivialbezeichnungen verwendet, während im Experimentellen Teil die Benennung nach der genaueren IUPAC-Nomenklatur erfolgt.

### 3.3 Struktur-Wirkungs-Beziehung oraler Cephalosporine

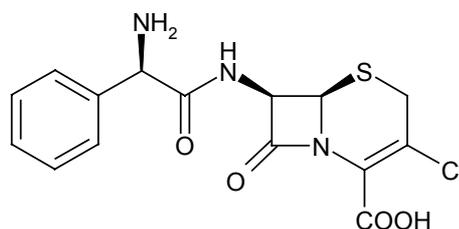
Die Cephalosporine wirken wie alle  $\beta$ -Lactam-Antibiotika über eine Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese (siehe Allgemeiner Teil 3.1). Ihr großer Vorteil ist, dass sie deutlich stabiler gegen  $\beta$ -Lactamasen sind als Penicillin-Derivate<sup>[95]</sup> und außerdem seltener als diese zu allergischen Reaktionen führen<sup>[96]</sup>. Die meisten Derivate werden allerdings nur intravenös oder intramuskulär angewandt, da sie aufgrund ihres hydrophilen Charakters kaum resorbiert werden. Um dieses Problem zu umgehen und die Cephalosporine auch als bequem zu verabreichende orale Arzneien verfügbar zu machen, gab es vor allem zwei Ansätze.

Der erste war die Einführung spezifischer Seitenketten an der 7- $\beta$ -Position und einer kleinen lipophilen Gruppe an der 3-Stelle des Cephemgrundkörpers, wodurch die betreffenden Verbindungen für spezifische Dipeptid-Carrier-Transportsysteme im

menschlichen Körper zugänglich wurden<sup>[97],[98]</sup>. Die erste für orale Cephalosporine typische Seitenkette an der 7- $\beta$ -Stelle war die D-Phenylglycingruppe, die sowohl in Cephalexin als auch in Cefaclor Verwendung fand. Während Cephalexin heutzutage wegen vermehrter Resistenzen kaum mehr als Antibiotikum verwendet wird, bewährt sich Cefaclor immer noch durch seine bessere Wirksamkeit gegen *Haemophilus Influenza*-Keime bei Atemwegs-Infektionen<sup>[99]</sup>. Allerdings wirkt sich der elektronegative Chlorsubstituent an der 3-Stelle negativ auf die Stabilität der Verbindung aus, weshalb Cefaclor im Körper rasch abgebaut wird<sup>[100]</sup>.

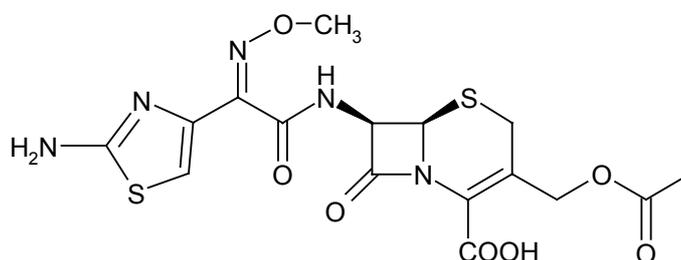


Cephalexin



Cefaclor

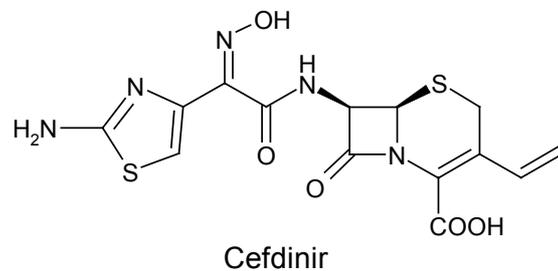
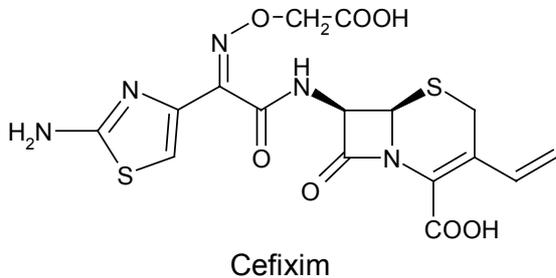
In den 70er Jahren kam es auf dem Gebiet der parenteralen Cephalosporine durch Einführung einer 2-Amino-thiazolyl-methoxyimino-Gruppe an der 7-Position zu einem Durchbruch im Bereich von Infektionen durch gramnegative Keime. Der Prototyp, das Cefotaxim, erwies sich zusätzlich aufgrund der Z-Stellung der Oximinogruppe als äußerst stabil gegen die meisten  $\beta$ -Lactamasen und konnte somit gut gegen resistente Bakterienstämme eingesetzt werden.



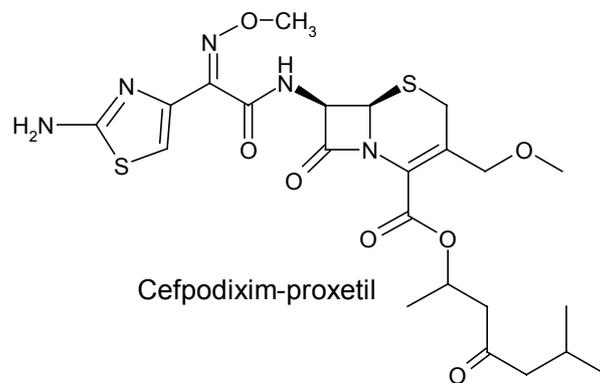
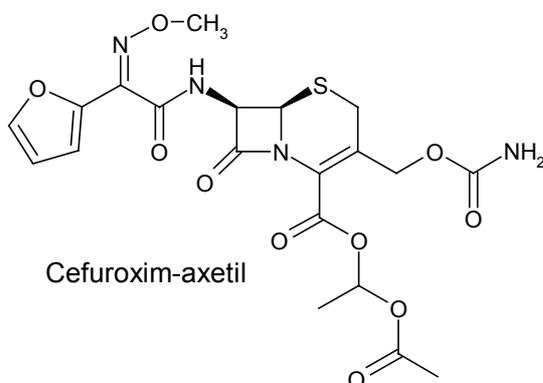
Cefotaxim (parenteral)

Wegen dieser günstigen Eigenschaften wurden diese Strukturelemente – teilweise unter leichter Abwandlung - auch in einigen neueren oralen Cephalosporinen verwendet, was z.B. zur Entwicklung von Cefixim und Cefdinir führte. Als lipophile

Gruppe an der 3-Position tragen beide eine Ethen-Funktion. Die beiden Substanzen wiesen gegenüber den älteren D-Phenylglycin-Cephalosporinen wie erwartet eine stärkere Wirksamkeit bei gramnegativen Keimen auf und waren gegen  $\beta$ -Lactamasen deutlich stabiler.



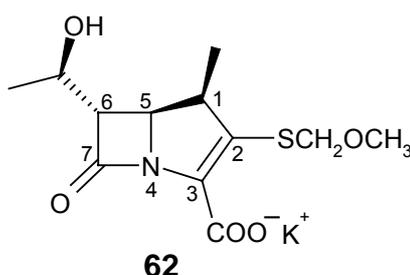
Der zweite erfolgreiche Zugang zu oral wirksamen Cephalosporinen war der über sogenannte Prodrug-Formen. Dabei wurde die hydrophile Carbonsäuregruppe an der 4-Position durch eine Esterfunktion geschützt, die erst nach der Absorption abgespalten werden sollte, um das eigentlich wirksame Cephalosporin freizusetzen. Das Problem lag hierbei in der Entwicklung von geeigneten Esterformen, die einerseits im Gastrointestinaltrakt stabil waren, da die freien Säuren nur schlecht resorbierbar waren und somit die Darmflora zerstörten. Andererseits sollten sie nach der Absorption schnell hydrolysieren, da die Ester selbst nicht aktiv waren. Nach anfänglichen Schwierigkeiten gelang es mit Cefuroxim-axetil ein Cephalosporin-Ester-Prodrug zu synthetisieren, das eine gute orale Bioverfügbarkeit aufwies, und vor allem durch passive Diffusion aus dem Dünndarm resorbiert wurde<sup>[94]</sup>. Ein weiterer Vertreter dieser Gruppe oraler Cephalosporine ist Cefpodixim-proxetil.



### 3.4 Aufgabenstellung

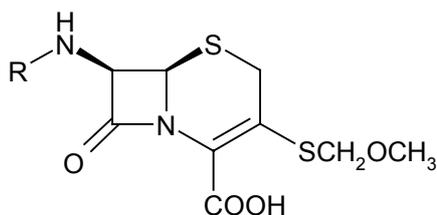
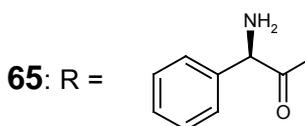
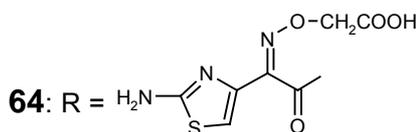
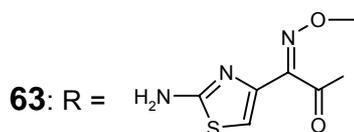
Während die älteren Oralcephalosporine mit der D-Phenylglycin-Seitenkette mit Ausnahme von Cefaclor meist eine gute Resorbierbarkeit zeigten, werden die neueren Vertreter trotz deutlicher Fortschritte immer noch unvollständig im Darm resorbiert<sup>[94]</sup>. Auch die Ester-Prodrug-Cephalosporine weisen nur Resorptionsquoten von 40 – 60% auf<sup>[101]</sup>. Dies hat eine Reihe von Nachteilen zu Folge. Zum einen muss bei höherer Dosierung aufgrund der Wirkspektren mit einer Schädigung der Darmflora gerechnet werden. Daneben besteht durch den höheren Selektionsdruck bei den Darmbakterien eine erhöhte Gefahr der Resistenzentwicklung. Zusätzlich werden nur vergleichsweise niedrige Wirkstoffkonzentrationen erreicht, was eine geringere antibakterielle Wirksamkeit zur Folge hat. Oralcephalosporine kommen daher bei lebensbedrohlichen Infektionen nicht in Betracht. Folglich ist die Verbesserung der Resorbierbarkeit von oralen Cephalosporinen immer noch ein dringliches Ziel der Antibiotikaforschung.

In diesem Zusammenhang war eine neue Erfindung auf dem Gebiet der Carbapeneme, einer verwandten  $\beta$ -Lactam-Antibiotikagruppe, von besonderem Interesse. Die ebenfalls schlecht resorbierbaren Carbapeneme konnten durch Einführung eines Methoxymethylthioestes an der 2-Position in das oral gut wirksame Derivat **62** überführt werden<sup>[102]</sup>.



Da auch bei den Cephalosporinen der Einfluss des Substituenten an der 3-Position mitentscheidend für die Resorbierbarkeit der Verbindungen ist, war es naheliegend, die Methoxymethylthiogruppe an dieser Position in die Cepheme einzuführen. Mit der Absicht, hier ebenfalls eine deutliche Verbesserung der oralen Wirksamkeit zu erreichen, sollten verschiedene 3-Methoxymethylthio-Derivate **63**, **64** und **65** mit unterschiedlichen Substituenten an der 7- $\beta$ -Position synthetisiert werden. Als

Seitenketten mit günstigem Einfluss auf die Resorbierbarkeit wurden Aminothiazolyl- und Phenylglycyl-Derivate gewählt.



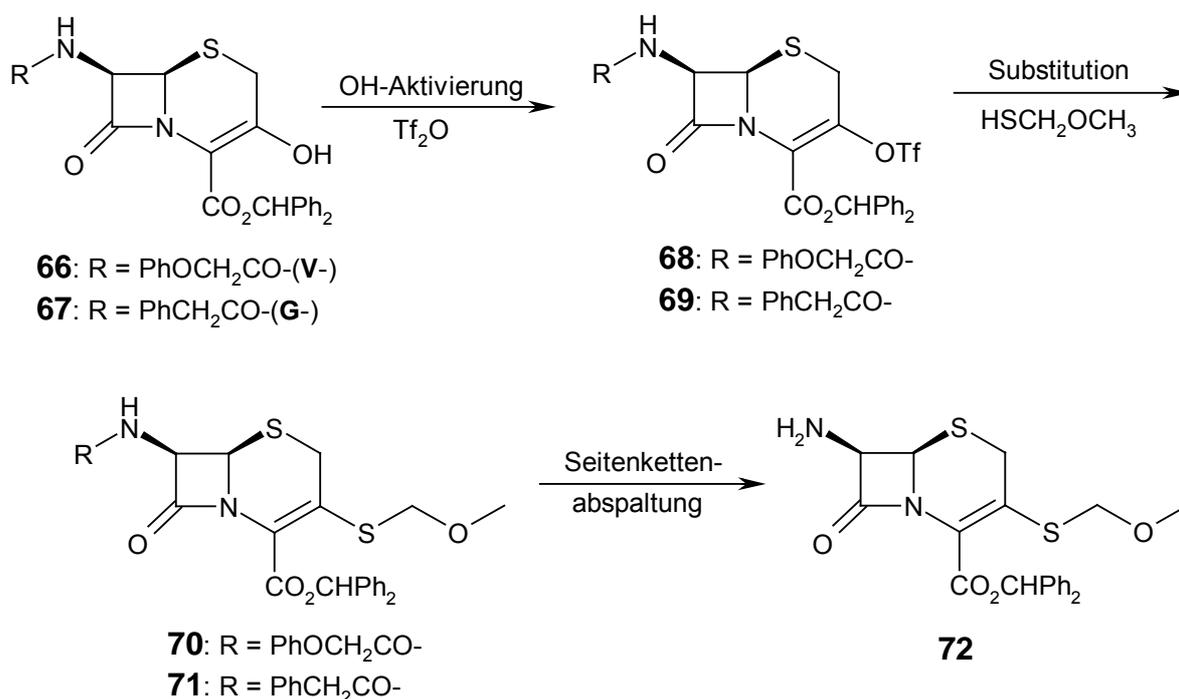
Es war geplant, die synthetisierten Cephalosporine **63** - **65** anschließend auf ihre antibiotische und orale Wirksamkeit zu testen.

### 3.5 Syntheseplanung

Als wichtigste Ausgangsverbindungen für 3-substituierte Cephalosporine dienen heutzutage 3-Hydroxycepheme. Sie werden überwiegend aus Penicillinderivaten durch Ringerweiterung<sup>[103],[104],[105],[106],[107]</sup> gewonnen und tragen deshalb an der 7-Stelle die für Penicilline typischen Seitenketten. Da das 3-Hydroxycephem **66** mit der Penicillin-V-Seitenkette (Phenoxyacetyl-amino) bereits im Arbeitskreis vorhanden war, sollte die Methoxymethylthiogruppe zunächst in dieses Derivat eingeführt werden. Später war geplant, auch das 3-Hydroxycephem **67** mit der G-Seitenkette (Phenylacetyl-amino) zu verwenden, da es aufgrund des besseren Zugangs zu Penicillin G weitaus günstiger ist und häufiger verwendet wird.

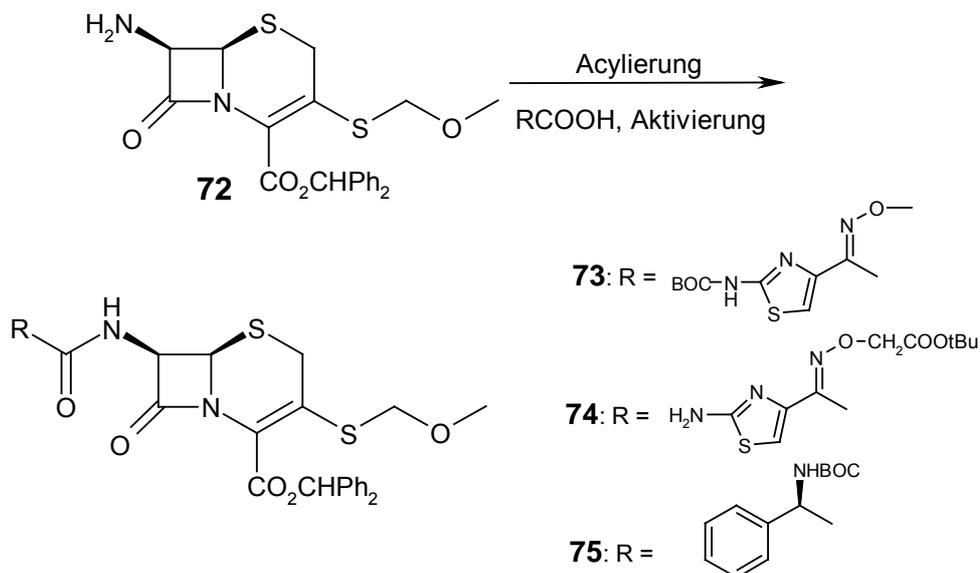
Die Einführung der meisten Substituenten erfordert dabei eine Aktivierung der Hydroxygruppe, da die direkte nucleophile Substitution nur selten gelingt. Überwiegend werden dazu Mesylate, Tosylate oder Phosphorsäureester verwendet<sup>[100]</sup>. Ein häufiges Problem bei der anschließenden nucleophilen Substitution ist die Tendenz der 3-Doppelbindung in die thermodynamisch stabilere 2-Position zu wandern. Diese Umlagerung kann bereits unter mäßig basischen Bedingungen eintreten und ist mit

einem Verlust der antibiotischen Wirksamkeit verbunden<sup>[108]</sup>. Die Rückisomerisierung zum 3-Cephem erfordert für gewöhnlich Oxidation des Ringschwefels, erneute Umlagerung der Doppelbindung und anschließende Reduktion. Dies ist einerseits aufwendig und kann andererseits bei schwefelhaltigen Substituenten, wie der Methoxymethylthiogruppe, zu unerwünschten Nebenprodukten führen. Farina et al.<sup>[109]</sup> beobachteten einen direkten Zusammenhang zwischen der Reaktivität der Abgangsgruppe und der Tendenz der Doppelbindung zu isomerisieren. Während bei einer schlechten Abgangsgruppe nur die Umlagerung der Doppelbindung eintrat, konkurrierte bei reaktiveren Abgangsgruppen die Substitutionsreaktion mit der Isomerisierung. Folglich gelang es Farina<sup>[109]</sup> durch Verwendung von Triflat als sehr gutem Nucleofug eine Umlagerung selbst unter basischen Bedingungen zu verhindern. Es war deshalb geplant, die 3-Hydroxycepheme **66** und **67** zunächst als Triflate zu aktivieren und anschließend in einer Michael-Addition-Eliminierungs-Sequenz mit Methoxymethanthiol zu substituieren.

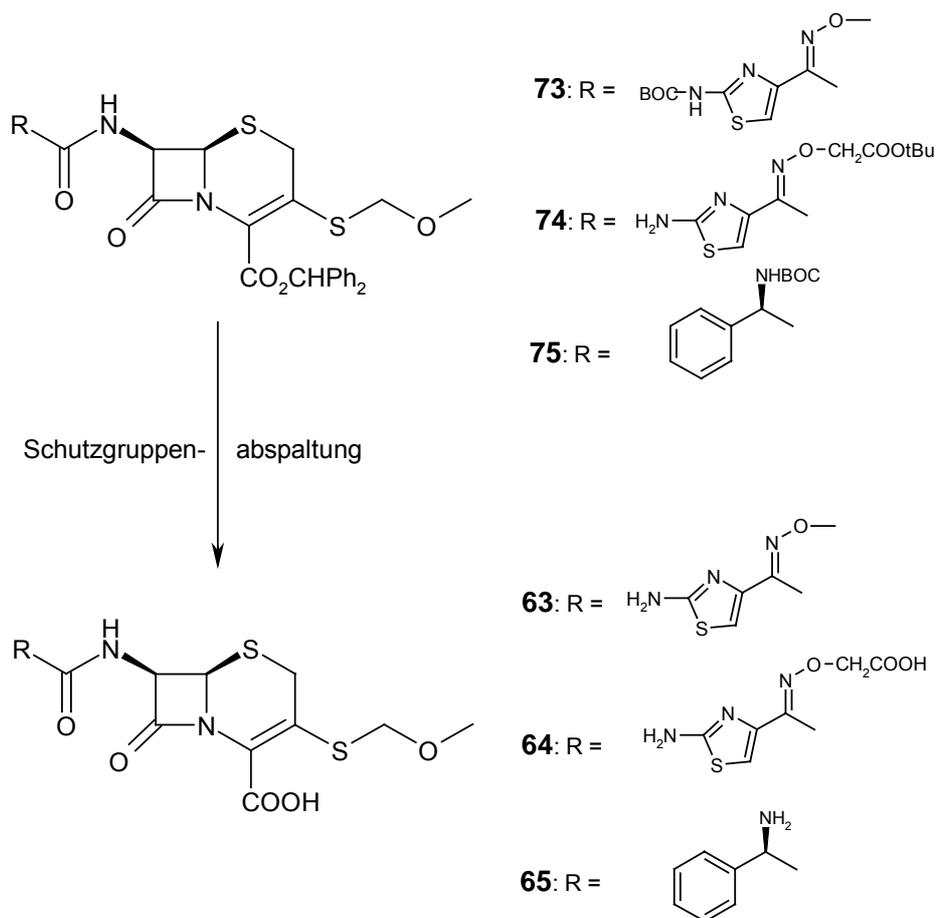


Als weiterer Schritt sollte die Abspaltung der Seitenkette an der 7-Position erfolgen, um das 7-Aminocephalosporin **72** zu erhalten.

Anschließend sollten die neuen Seitenketten durch Acylierung der Aminogruppe über die entsprechenden aktivierten Carbonsäuren eingeführt werden.



Schließlich erhält man durch Abspaltung der Schutzgruppen im letzten Schritt die freien Cephalosporin-Säuren **63**, **64** und **65**.

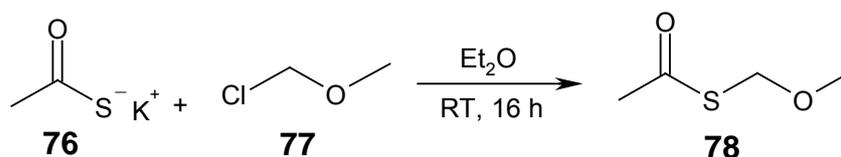


### 3.6 Darstellung der Methoxymethanthiols **79**<sup>[102]</sup>

Die Synthese der neuen Thiol-Seitenkette erfolgte in zwei Schritten. Zuerst wurde dazu Thioessigsäure-S-methoxymethylester **78** dargestellt, der anschließend zum Methoxymethanthiol **79** und Essigsäure gespalten wurde.

#### 3.6.1 Synthese des Thioessigsäureesters **78**

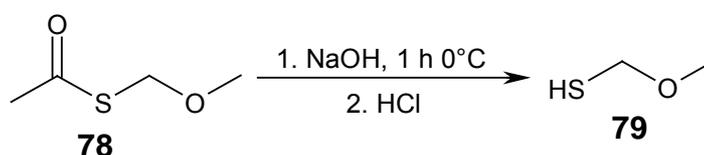
Um den Thioester **78** darzustellen wurde Kalium-thioacetat **76** als Nucleophil bei 0°C in Ether suspendiert und mit einem Äquivalent Chlormethyl-methylether **77** versetzt. Anschließend ließ man die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur rühren. Nach Aufarbeitung und destillativer Reinigung erhielt man den Ester **78** in 82%iger Ausbeute als farblose Flüssigkeit<sup>[102]</sup>.



Im IR-Spektrum der Verbindung ist die charakteristische Carbonylschwingung des Thioesters **78** bei  $1695 \text{ cm}^{-1}$  gut zu erkennen.

#### 3.6.2 Abspaltung des Acetylrests

Um den Thioester **78** zu hydrolysieren und das Thiol **79** freizusetzen, wurde **78** bei 0°C zu einer 1N Natriumhydroxid-Lösung getropft und 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Deuteriochloroform versetzt, angesäuert und das Produkt direkt in die  $\text{CDCl}_3$ -Phase extrahiert. Mit dieser Methode konnte die Problematik bei der Isolierung des extrem leichtflüchtigen Thiols **79** umgangen werden<sup>[102]</sup>. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat ließ sich der Gehalt durch Zugabe eines Standards über  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestimmen. Die Ausbeute an Thiol **79** betrug dabei 72%.

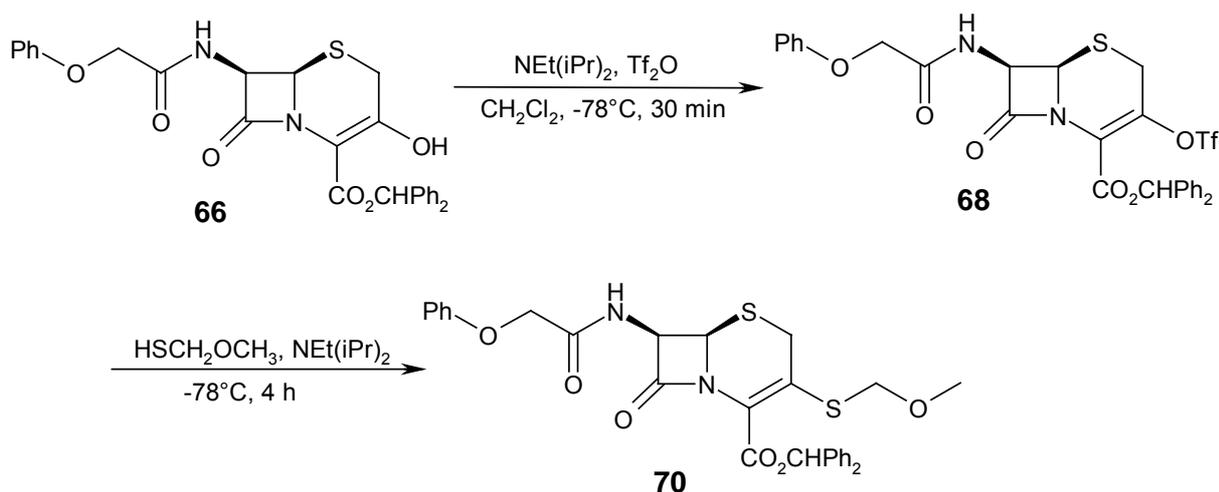


Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **79** lässt sich die Kopplung des Thiolprotons zur benachbarten  $\text{CH}_2$ -Gruppe beobachten. Das SH-Proton erscheint als Dublett bei 4.73 ppm und die Methylengruppe als Triplet bei 3.37 ppm.

Im IR-Spektrum ist nun keine Carbonylschwingung mehr zu erkennen, statt dessen zeigt sich die schwache Thiolabsorption bei  $2590\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.7 Einführung des Methoxymethylthioestes ins 7-Phenoxyacetylaminocephem

Die Einführung des Triflatrestes ins 3-Hydroxycephem **66** und die anschließende Substitution durch das Thiol **79** konnten in einem Schritt vollzogen werden. Dazu wurde das Cephem **66** zuerst in Methylenechlorid bei  $-78^\circ\text{C}$  mit je 1 Äquivalent Hünig-Base und Trifluormethansulfonsäureanhydrid umgesetzt, wobei die Veresterung bereits nach 30 min gemäß Dünnschichtchromatogramm beendet war. Bei gleichbleibender Temperatur wurde dann ein Überschuss des Thiols **79** zugefügt und eine verdünnte Lösung von Hünig-Base in Methylenechlorid sehr langsam zugetropft, um eine Isomerisierung zum  $\Delta^2$ -Cephem zu verhindern. Nach insgesamt 4.5 h bei  $-78^\circ\text{C}$  konnte das Produkt **70** nach Aufarbeitung und Umkristallisation in 81%iger Ausbeute als hellbeiger Feststoff isoliert werden.



Die neue Seitenkette an der 3-Position des Cephems **70** ist im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum gut zu erkennen. Neben dem Singulett-Signal der Methoxygruppe bei 3.32 ppm erscheint die neue Methylengruppe als AB-System bei 4.69 ppm und 4.79 ppm. Die  $\text{CH}_2$ -Gruppe

im Cephem-Ring bildet ein weiteres AB-System und zeigt zwei Dublettsignale für die diastereotopen Protonen bei 3.67 ppm und 3.80 ppm. Das Proton an der 7-Position koppelt sowohl zum benachbarten Methinproton als auch zum Amid-H-Atom der Seitenkette und zeigt ein Dublett-vom-Dublett-Signal bei 5.83 ppm, während das 6-Proton als Dublett bei 5.06 ppm erschien. Die Substitution ist ohne Doppelbindungs-Isomerisierung abgelaufen, da kein charakteristisches Signal einer eventuell gebildeten  $\Delta^2$ -Cephem-Verbindung im Spektrum beobachtet werden kann.

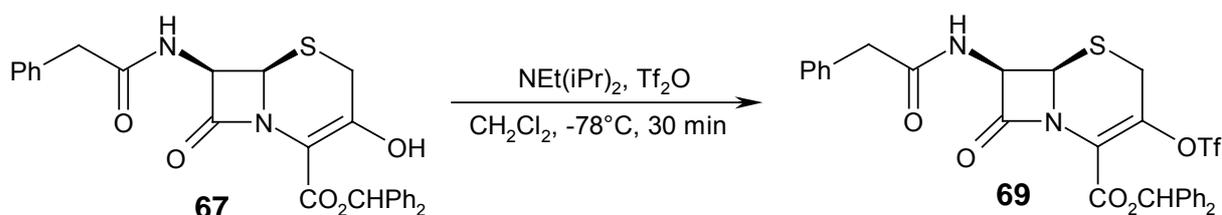
Da sich die Methoxymethylthio-Seitenkette problemlos in das V-Seitenketten-Cephalsporin **66** einführen ließ, sollte nun auch die Substitution am Phenylacetylaminoderivat (G-Verbindung) **67** versucht werden.

### 3.8 Einführung des Methoxymethylthioestes ins 7-Phenylacetylaminocephem

Während das Triflat **68** des V-Seitenketten-Cephems gut in Methylenechlorid löslich war, erwies sich das neue Triflat **69** als extrem schwerlösliche Verbindung. Deshalb musste die Methoxymethylthiogruppe in zwei Schritten eingeführt werden.

#### 3.8.1 Darstellung des Triflats **69**

Analog zur obigen Triflatsynthese konnte auch das Triflat **69** durch Zugabe von Hünig-Base und Triflylanhydrid aus dem Cephem **67** bei  $-78^\circ\text{C}$  gewonnen werden. Allerdings fiel hierbei das Produkt sofort aus der Reaktionslösung als weißer, schwerlöslicher Niederschlag aus und die Suspension musste durch mechanisches Rühren weiter durchmischt werden. Nach Aufarbeitung und Reinigung durch Verreiben mit Ether konnte das Triflat **69** als weißer Feststoff in 96%iger Ausbeute isoliert werden.

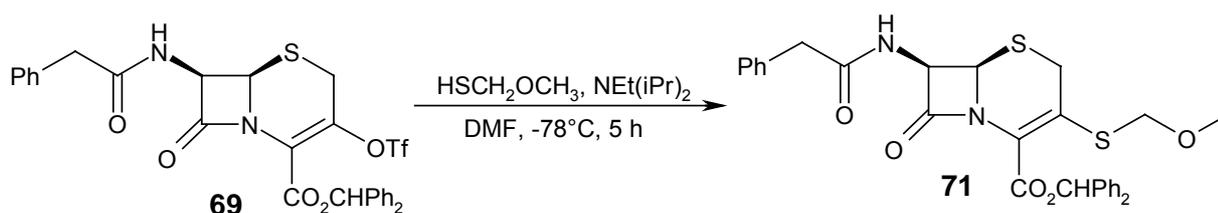


Wegen der Schwerlöslichkeit des Triflats **69** mussten die NMR-spektroskopischen Untersuchungen in Deuterodimethylsulfoxid durchgeführt werden. Die Einführung der

Triflatgruppe ist vor allem anhand des charakteristischen Quartettsignals des Trifluormethyl-C-Atoms bei 120.8 ppm im  $^{13}\text{C}$ -NMR zu erkennen. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zeigt zwei unterschiedliche AB-Systeme der Methylengruppen im Ring und in der G-Seitenkette. Das Amidproton erscheint als Dublett bei 9.27 ppm. Für die H-Atome an der 7- und 6-Stelle ist wieder ein Dublett vom Dublett bei 5.92 ppm bzw. ein Dublettsignal bei 5.33 ppm zu erkennen.

### 3.8.2 Substitution durch das Thiol **79**

Die Michael-Additions-Eliminierungs-Reaktion zum 3-Methoxymethylthiocephem **71** gelang in einer Ausbeute von 84%. Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Triflats **69** in schwächer polaren Solventien musste DMF als Lösungsmittel verwendet werden. Nach Zugabe der Deuteriochloroform-Lösung des Thiols **79** wurde wieder eine verdünnte Methylenchlorid-Lösung der Hünig-Base bei  $-78^\circ\text{C}$  sehr langsam zugetropft, um die Doppelbindungs-Isomerisierung zu unterdrücken. Der Reaktionsverlauf konnte über Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Nach der Aufarbeitung wurde das Rohprodukt, ein hellgelber Schaum, am Hochvakuum getrocknet und  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopisch untersucht. Dabei konnte man erkennen, dass neben dem Hauptprodukt **71** ca. 3% der unerwünschten  $\Delta^2$ -Cephems entstanden waren, das sich jedoch gut durch Umkristallisation aus Isopropanol oder durch Verreiben mit einer Ether-Pentan-Mischung entfernen ließ.



Auffälligster Unterschied im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **71** im Vergleich zum Phenoxyacetylcephem **70** ist die Verschiebung und Signalform der  $\text{CH}_2$ -Gruppe in der 7-Acylamino-Seitenkette. Während sie bei der V-Seitenkette als Singulett bei 4.58 ppm erscheint, bildet sie im Phenylacetylcephem **71** ein AB-System mit zwei Dublettsignalen bei 3.61 und 3.67 ppm. Insgesamt zeigt das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **71** für die drei Methylengruppen im Ring, in der neuen 3- und in der 7-Seitenkette jeweils drei unterschiedliche AB-Systeme. Die Methinprotonen der 7- und 6-Position erscheinen

wieder als Dublett-vom-Dublett- bzw. als einfaches Dublett-Signal bei 5.74 und 4.97 ppm.

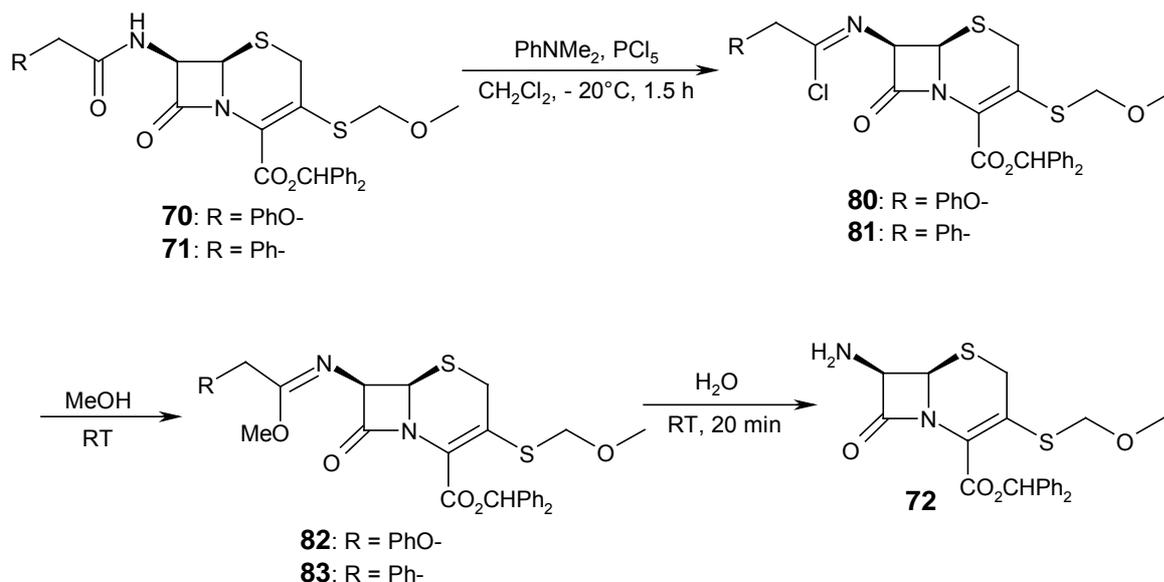
### 3.9 Abspaltung der V- und G-Seitenkette

Bei der Abspaltung der *N*-Acylseitenkette von Cephalosporinen hat sich eine dreistufige Reaktionsfolge besonders bewährt<sup>[110]</sup>. Dabei wird die Amidfunktion zunächst durch Phosphorpentachlorid in das Imidchlorid überführt, das durch Substitution mit einem Alkohol zum Imidoester weiterreagiert. Anschließend hydrolysiert man den Imidoester im sauren, wässrigen Medium zum freien Amin.

Die einzelnen Zwischenstufen können zwar isoliert werden, bequemer ist die Reaktion jedoch als Eintopfreaktion durchzuführen. Deshalb wurden die V- und G-Cepheme **70** und **71** jeweils in Methylenchlorid bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelöst und zunächst mit einem Überschuss an *N,N*-Dimethylanilin und Phosphorpentachlorid versetzt.

Nach 1.5 h bei  $-15$  bis  $-20^{\circ}\text{C}$  fügte man wasserfreies Methanol zu, da die entstandenen Imidchloride bei Gegenwart von Wasser schnell wieder in die Amide hydrolysiert werden. Die Reaktivität dieser Imidchloride gegenüber dem zugefügten Alkohol unterschied sich für beide Substrate deutlich und zeigte sich an der unterschiedlichen Reaktionsdauer. Während die Entstehung des Imidoesters der V-Seitenkette bereits nach 1 Stunde bei Raumtemperatur beendet war, dauerte die Substitutionsreaktion für das G-Substrat insgesamt 3 Stunden. Dabei fiel jeweils ein gelber Niederschlag – vermutlich die Hydrochloride der Imidoester – aus. Der Reaktionsverlauf konnte über Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Nach abschließender saurer Hydrolyse, Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung erhielt man in beiden Fällen das Amin **72** als hellgelben, brüchigen Schaum in einer Ausbeute von 72% (V) bzw 68% (G).

---

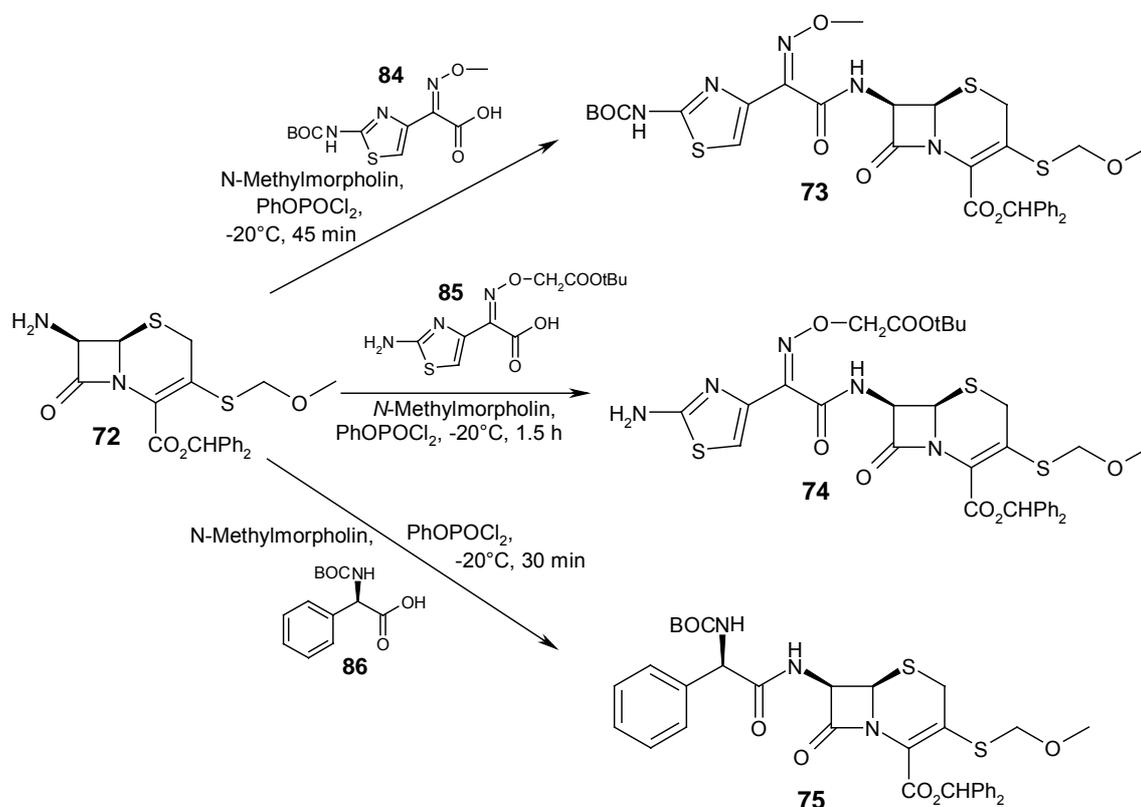


Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **72** erscheinen die Aminprotonen als breites Singulett bei 1.89 ppm. Beim H-Atom an der 7-Position ist nun keine Kopplung mehr zur Aminogruppe zu erkennen, es zeigt deshalb ein einfaches Dublettsignal, das allerdings gegenüber den Edukten deutlich hochfeldverschoben bei 4.97 ppm ist. Die Lage des 6-H-Atoms bei 4.72 ppm dagegen ist weniger stark verändert. Die verbliebenen zwei Methylengruppen bilden erneut zwei unterschiedliche AB-Systeme.

### 3.10 Einführung der neuen Seitenketten an der 7- $\beta$ -Position

Zur Einführung neuer Acyl-Seitenketten an die 7- $\beta$ -Position in Cephemen geht man in der Regel von den Carbonsäuren der jeweiligen Seitenkette aus. Diese werden zur Acylierung entweder in situ aktiviert oder in einer bereits aktivierten Form eingesetzt. Als besonders günstig und vielseitig einsetzbar zur Carbonsäureaktivierung der 7-Seitenketten hat sich Phenylphosphoryldichlorid erwiesen<sup>[111]</sup>. Die neuen BOC- bzw. *t*-Butyl-geschützten Seitenketten **84**, **85** und **86** wurden deshalb zusammen mit dem 7-Aminocephem **72** in Methylenechlorid suspendiert und zunächst bei  $-20^\circ\text{C}$  mit einem Überschuss *N*-Methylmorpholin versetzt, wobei allmählich eine klare Lösung entstand. Dabei erfüllte die BOC-Gruppe bei der Amino-thiazolyl-methoxyimino-Seitenkette **84** mehr die Funktion eines Löslichkeitsvermittlers als die einer Schutzgruppe, da bei Versuchen ohne die BOC-Funktion die Seitenkette nicht in Lösung ging. Als schwach nucleophile Gruppe muss die Aminothiazolylfunktion nicht unbedingt geschützt werden. Dies wird z.B. bei der Einführung von Seitenkette **85** deutlich, bei der die freie Aminogruppe vorliegt.

Schließlich konnte die Acylierung durch Zugabe eines Überschusses von Phenylphosphoryldichlorid gestartet und der Reaktionsverlauf anhand von Dünnschichtchromatogrammen verfolgt werden.



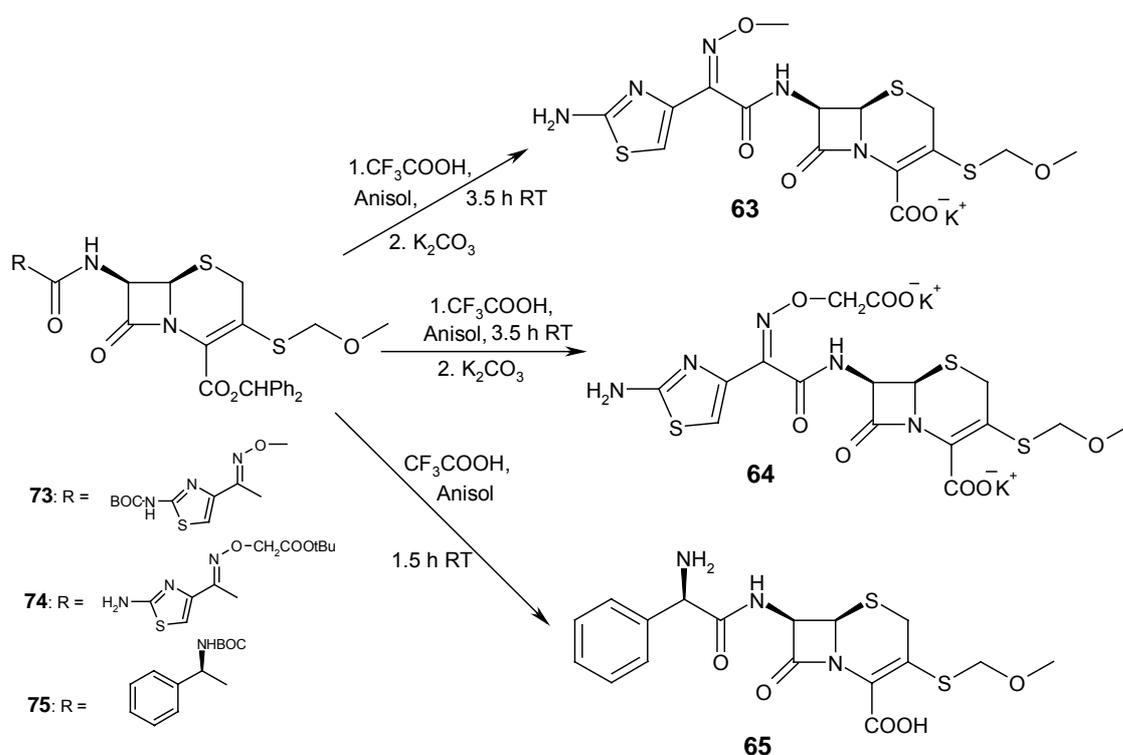
Nach unterschiedlicher Reaktionsdauer gelang es, die Produkte **73**, **74** und **75** nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung als hellgelben Schaum (**73**, **74**) oder Feststoff (**75**) in durchwegs guten Ausbeuten zu isolieren.

In <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Untersuchungen kann die Einführung der neuen Seitenketten jeweils gut anhand ihrer charakteristischen Signale beobachtet werden. So zeigt Verbindung **73** ein für die Methoxyiminogruppe typisches Singulett-Signal bei 4.10 ppm, während die entsprechende Oxyimino-CH<sub>2</sub>-Gruppe von **74** als AB-System bei 4.72 und 4.77 ppm erscheint. Beide Cepheme weisen ein für das aromatische Thiazolylproton typisches Signal bei 7.23 ppm bzw. 7.02 ppm auf. Beim Phenylglycylcephem **75** ist das Methinprotonensignal bei 5.65 ppm für die Seitenkette charakteristisch.

Bei allen drei Cephalosporinen koppeln die 7-H-Atome nach Einführung der Acylseitenketten wieder zum Amidproton und erscheinen als Dublett vom Dublett. Die Methylengruppen im Ring und in der 3-Seitenkette bilden erneut zwei unterschiedliche AB-Systeme.

### 3.11 Abspaltung der Schutzgruppen

Zur Abspaltung der Benzhydryl- und der BOC-Schutzgruppe unter sauren Bedingungen hat sich die Verwendung von Trifluoressigsäure bewährt<sup>[112]</sup>. Die Reaktion erfolgt meist in Gegenwart von Anisol, wobei die zwischenzeitlich entstehenden Diphenylmethyl- und *t*-Butyl-carbeniumionen durch Alkylierung des Anisols abgefangen werden. Die Cepheme **73**, **74** und **75** wurden deshalb in Anisol bei Raumtemperatur gelöst und mit Trifluoressigsäure versetzt. Während der Verbrauch der Edukte über Kieselgel-Dünnschichtchromatographie verfolgt wurde, konnte die Entstehung der Produkte über Reversed-Phase-Methoden detektiert werden. Die Abspaltung verlief beim Phenylglycinecephem **75** deutlich schneller (1.5 h) als bei den Aminothiazolylderivaten **73** und **74** (je 3.5 h), was auf eine unterschiedliche Reaktivität der einzelnen *t*-Butylester- bzw. BOC-Gruppen schließen lässt. Die Benzhydrylgruppe alleine ließ sich nämlich beim V-Seitenketten-Cephem **70** bereits nach 30 min vollständig abspalten. Nach der Aufarbeitung wurden die Rohprodukte als wässrige Lösungen an einem unpolaren Polymerharz chromatographisch gereinigt. Die Aminothiazolylcepheme **63** und **64** wurden dabei zur besseren Löslichkeit mit Kaliumhydrogencarbonat versetzt. Auf diese Weise erhielt man die drei Cephalosporine **63**, **64** und **65** als hellgelbe Feststoffe in mittleren Ausbeuten.



Die Abspaltung der Schutzgruppen zeigt sich im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum vor allem am Fehlen der charakteristischen Protonensignale des jeweiligen Restes. So ist das typische Signal des CH-Protons der Benzhydrylgruppe, das meist eine Verschiebung zwischen 6.9 und 7.0 ppm aufweist, verschwunden. Auch das *t*-Butyl-Signal, das in der Regel im Hochfeldbereich um 1.5 ppm erscheint, ist nicht mehr vorhanden. Ansonsten zeigen sich nur wenige Veränderungen im Vergleich zu den Edukten. Auffällig ist das Signal der Methylengruppe in der 7-Seitenkette des Cephems **64**, das jetzt als Singulett erscheint, während es vorher ein AB-System gebildet hat.

### 3.12 Biologische Eigenschaften der Cepheme **63**, **64** und **65**

#### 3.12.1 Hydrolysehalbwertszeiten bei pH = 7.4

Die Stabilität der Cepheme **63**, **64** und **65** des Vergleichsantibiotikums Cefaclor wurde durch Messung ihrer Hydrolysehalbwertszeiten in Phosphatpuffer bei pH = 7.4 und 37°C (physiologische Bedingungen im Blut) UV-spektroskopisch (siehe Experimenteller Teil 1.4) bestimmt. Es ergaben sich folgendende Werte:

*Hydrolysehalbwertszeiten (37°C, pH = 7.4):*

	<b>63</b>	<b>64</b>	<b>65</b>	<b>Cefaclor</b>
$t_{1/2}$	405 h	419 h	181 h	3 h

Alle drei neu synthetisierten Verbindungen weisen im Vergleich zu Cefaclor äußerst lange Hydrolyse-Halbwertszeiten auf, wobei die Aminothiazolyl-Derivate **63** und **64** deutlich am stabilsten sind. Die kurze Halbwertszeit beim Cefaclor ist vermutlich auf den elektronegativen Chlorsubstituenten in 3-Stellung zurückzuführen, der die Amidresonanz des  $\beta$ -Lactams schwächt und so einen nucleophilen Angriff auf das Carbonyl-C-Atom erleichtert.

### 3.12.2 Säurestabilität der Verbindungen

Eine Voraussetzung für die orale Wirksamkeit von Substanzen ist ihre Säurestabilität, da sie, bevor sie überhaupt resorbiert werden können, das saure Milieu des Magens passieren müssen. Deshalb sollten die Cepheme **63**, **64** und **65** und Cefaclor UV-spektroskopisch auf ihre Stabilität in einer physiologischen 0.01 N HCl-Lösung (enthält 0.9% NaCl) mit pH = 2.0 bei 37°C (physiologische Bedingungen im Magen) untersucht und ihre Hydrolyse-Halbwertszeiten bestimmt werden. Es wurden folgenden Werte ermittelt:

*Hydrolysehalbwertszeiten (37°C, pH = 2.0):*

	<b>63</b>	<b>64</b>	<b>65</b>	<b>Cefaclor</b>
$t_{1/2}$	375 h	398 h	171 h	74 h

Im Sauren sind die Halbwertszeiten der drei 3-Methoxymethylthio-Cepheme **63**, **64** und **65** zwar etwas kürzer als die bei pH = 7.4 ermittelten Werte, alle drei Verbindungen erweisen sich aber immer noch als sehr stabil unter diesen Bedingungen. Deshalb sind sie bezüglich der Magenpassage prinzipiell als mögliche orale Arzneistoffe geeignet. Auffällig ist, das Cefaclor im Sauren eine deutlich längere Halbwertszeit hat als beim pH-Wert des Blut-Plasmas (pH = 7.4), was seine Verwendung als Oralcephalosporin erst ermöglicht.

### 3.12.3 Plattendiffusionstests

Die antibakterielle Wirksamkeit der Cephalosporine **63**, **64** und **65** wurde in Plattendiffusionstests (Vgl. auch 1.1) ermittelt. Es wurden je 30 µg der synthetisierten Substanz auf die Filzplättchen auf der Agar-Platte aufgetragen. Als Vergleichsantibiotikum diente das Oralcephalosporin Cefaclor (CeCl).

Nach Bebrüten der Agar-Platten über Nacht bei 37°C konnte die biologische Aktivität anhand der Hemmhofdurchmesser [mm] abgelesen werden.

*Antibakterielle Wirksamkeit – Hemmhofdurchmesser [mm]:*

Bakterienstämme:		63 30 µg	64 30 µg	65 30 µg	CeCl 30 µg
Gram-positiv:	s.aur. 1104	27	25	30	32
	s.aur.res.	24	17	19	19
	staph. 25768	16	13	15	15
	staph. Innsbruck	0	0	12	11
	E.coccus	0	0	12	0
Gram-negativ:	E.coli 1103	25	24	21	23
	E.coli TEM	26	26	0	14
	E.cloacae	0	0	0	0
	Ps.aer.	0	0	0	0
	Ps.aer.res.	0	0	0	0

Alle drei neuen Cephalosporine erwiesen sich als antibiotisch wirksam. Das Phenylglycinylncephem **65** zeigt im grampositiven Bereich vergleichbare Werte wie Cefaclor, das die gleiche Seitenkette trägt. Gegen *Enterokokken* ist es sogar als einzige Substanz schwach wirksam. Im gramnegativen Bereich, in dem alle getesteten Substanzen nur teilweise gegen die ausgewählten Stämme wirksam sind, ist es gegen  $\beta$ -Lactamase-produzierende *E.coli*-Bakterien (*E.coli TEM*) schon nicht mehr aktiv.

Gerade resistente *E.coli*-Bakterien stellen jedoch immer häufiger Problemkeime dar. Deshalb sind die günstigen Wirksamkeiten der beiden Aminothiazolyl-Cepheme **63** und **64** gegen diesen Keim im Vergleich zu Cefaclor von besonderem Interesse. Ansonsten bewegen sich die Werte der beiden neuen Verbindungen im Bereich des Vergleichsantibiotikums, wobei die Methoxyimino-Verbindung tendenziell wirksamer ist. Alle Substanzen zeigen keine oder nur schwache Wirksamkeit im grampositiven Bereich gegen *Staphylococcus Innsbruck* und *Enterococcus*.

### 3.12.4 MIC-Werte gegen fünf ausgewählte Bakterienstämme

Zusätzlich zu den Plattendiffusionstest sollte die antibiotische Wirksamkeit der neuen Cepheme **63**, **64** und **65** auch durch Ermittlung der MIC-Werte bestimmt und mit den Werten von Cefaclor verglichen werden. Dazu wurden, wie im Experimentellen Teil

beschrieben, Agar-Platten mit verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanzen vorbereitet und anschließend mit 5 ausgewählten Bakterienstämmen angeimpft. Nach 16 h Bebrüten bei 37°C wurden folgende MIC-Werte beobachtet.

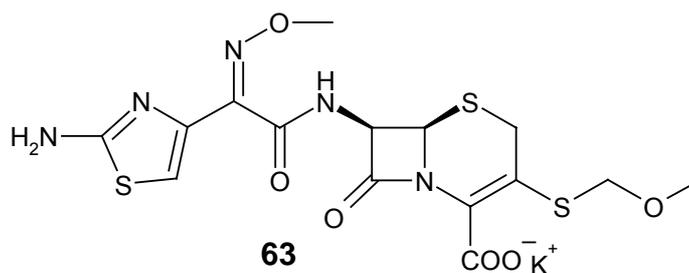
*MIC-Wertbestimmung – MIC [ $\mu\text{g/ml}$ ]:*

Bakterienstämme:	63	64	65	CeCl
s.aur. 1104	1	4	0.5	0.5
s.aur.res.	4	32	8	4
staph. 25768	32	>64	32	32
E.coli 1103	1	2	4	2
E.coli TEM	2	2	32	16

Durch die Bestimmung der MIC-Werte konnten im wesentlichen die Ergebnisse der Plattendiffusionstests bestätigt werden. Im Mittelpunkt des Interesses stand vor allem der Vergleich mit dem heutzutage immer noch häufig angewandten Oralcephalosporin Cefaclor<sup>[99]</sup>. Während die Cepheme **64** und **65** – mit Ausnahme von **64** gegen *E.coli TEM* - eher schwächer wirksam sind als Cefaclor, zeigt **63** vergleichbare MIC-Werte zu Cefaclor. Vor allem gegen den Problemkeim *E.coli TEM* ist **63** aber deutlich besser wirksam. Deshalb erscheinen weitergehende Untersuchungen zur oralen Resorbierbarkeit und antibakteriellen Wirksamkeit dieser Substanz von besonderem Interesse.

### 3.13 Zusammenfassende Betrachtungen

Ausgehend von den 3-Hydroxycephemen **66** und **67** gelang es in wenigen Schritten (4 bzw. 5 Stufen) drei neue 3-Methoxymethylthiocephalosporine **63**, **64** und **65** darzustellen. Alle drei Verbindungen erwiesen sich als antibakteriell wirksam. Dabei ist vor allem **63** eine besonders vielversprechende Substanz, da sie gut gegen  $\beta$ -Lactamase-produzierende *E.coli*-Bakterien wirksam ist. *E.coli*-Bakterien machen heutzutage ca. 20% aller bakteriellen Infektionen aus und gerade die resistenten Stämme stellen immer häufiger ein Problem dar.



Da durch die Einführung der Methoxymethylthioseitenkette ein neues, oral wirksames Cephem synthetisiert werden sollte, ist vor allem der Vergleich zum heutzutage verwendeten Oralcephalosporin Cefaclor von Bedeutung. Das Cephem **63** erweist sich dabei aus zweierlei Gründen als die günstigere Verbindung: Erstens ist **63** gegen resistente *E.coli*-Bakterien deutlich wirksamer und zweitens ist die Substanz unter physiologischen Bedingungen deutlich stabiler. Bei einer zusätzlich verbesserten oralen Resorbierbarkeit käme damit die Verwendung als neues Oralcephalosporin in Frage.



## C EXPERIMENTELLER TEIL

### 1 Allgemeine Arbeitstechnik

#### 1.1 Physikalische Messgeräte

##### <sup>1</sup>H-NMR-Spektren

Geräte:        Varian Mercury 200 für 200 MHz-Spektren  
                 Bruker ARX 300 für 300 MHz-Spektren  
                 Varian VXR 400 S für 400 MHz-Spektren

Das jeweils verwendete Gerät und das Lösungsmittel können den experimentellen Daten der einzelnen Verbindungen entnommen werden. Die jeweilige Nummerierung für die einzelnen Verbindungen ist aus den beistehenden Zeichnungen ersichtlich und entspricht aus Gründen der einheitlicheren Darstellung nicht immer den IUPAC-Regeln. Die Spektren wurden, wenn nicht anders erwähnt, bei 25°C aufgenommen. Als interner Standard bei den Messungen wurde entweder Tetramethylsilan ( $\delta = 0$  ppm) oder 3-(Trimethylsilyl)-propionsäure-d<sub>4</sub> Natriumsalz ( $\delta = 0$  ppm; in D<sub>2</sub>O) verwendet.

Die chemischen Verschiebungen  $\delta$  sind in ppm angegeben, die Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz). Die Signalmultiplizität ist wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, dd = Dublett vom Dublett, dt = Dublett vom Triplett, dddd = Dublett vom Dublett vom Dublett vom Dublett. Die Signalform wird manchmal als *breit* (br) beschrieben.

Die Auswertung der Spektren erfolgte nach erster Ordnung.

##### <sup>13</sup>C-NMR-Spektren:

Geräte:        Bruker ARX 300 für 75 MHz-Spektren  
                 Varian VXR 400 S für 100 MHz-Spektren

---

Es wurden  $^1\text{H}$ -breitband-entkoppelte Spektren aufgenommen. Die Spektren wurden, wenn nicht anders erwähnt, bei  $25^\circ\text{C}$  gemessen. Als interner Standard dient entweder Tetramethylsilan ( $\delta = 0$  ppm) oder 3-(Trimethylsilyl)-propionsäure-d<sub>4</sub> Natriumsalz ( $\delta = 0$  ppm; in  $\text{D}_2\text{O}$ ). Zusätzlich wurden bei fast allen Verbindungen DEPT-Spektren, sowie teilweise 2D-Messungen (COSY, HETCOR und COLOC) angefertigt, um die Zuordnung der Signale zu erleichtern. Ansonsten erfolgte die Zuordnung über Vergleichssubstanzen oder Inkrementsysteme und ist nicht immer eindeutig gesichert.

### IR-Spektren

Geräte: Perkin Elmer Ratio Recording  
Nicolet 520 FT IR Spektrometer

Sofern die Substanzen in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  löslich waren, wurden Spektren in diesem Lösungsmittel als 2 – 3%ige Lösungen in Natriumchlorid-Küvetten aufgenommen. Verbindung **79** wurde in  $\text{CDCl}_3$  gelöst vermessen. Bei schwerlöslichen Verbindungen wurden IR-Spektren der jeweils angefertigten KBr-Presslinge aufgenommen.

Grundsätzlich sind nur die stärksten und/oder die besonders charakteristischen Banden nach fallender Wellenzahl angegeben.

Zur Charakterisierung der Absorptionsbanden werden folgende Abkürzungen verwendet:

vs = sehr stark; s = schwach; m = mittel; w = schwach.

### Massenspektren:

Geräte: Finnigan MAT 90  
Finnigan MAT 95 Q

Es wurden folgende Methoden zur Charakterisierung der Verbindungen verwendet:

EI	Elektronen-Ionisation
CI	Chemische Ionisation
FAB	Fast-Atom-Bombardement (Matrix: m-Nitrobenzylalkohol)
ESI	Elektrospray-Ionisation (in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 90:10)

Die Ionisierungsmethode wird jeweils angegeben. Auf eine genaue Auswertung wurde verzichtet. Grundsätzlich werden, außer dem Molekülpeak, alle Signale mit einer relativen Intensität von mindestens 10% angeführt. Bei den ESI-Spektren werden die Acetonitril-Molekül-Addukte in der Regel nicht erwähnt.

#### Elementaranalysen:

Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium des Instituts für Organische Chemie der LMU München durchgeführt. Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel wurden mit Analysengeräten der Firma Heraeus (Universal Standard) oder der Firma Elementar (Vario EL) bestimmt. Die Brombestimmung wurde an einem Metrom Titroprozessor 686 durchgeführt.

#### Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Schmelzpunktbestimmungsapparatur SMP 535 der Firma Büchi bestimmt und sind nicht korrigiert.

#### UV/VIS-Spektren

Gerät: Perkin Elmer Lambda 3

Die Messungen erfolgten in Quarzglasküvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm.

#### Atomspektroskopie (ICP-AES)

Gerät: Varian VISTA RL CCD

Die Proben wurden in HCl/HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 4:3:1 gelöst und durch 20 min Erhitzen auf 80°C in der Mikrowelle für die Messung vorbereitet. Es wurde eine quantitative Bestimmung von Kalium durchgeführt.

## **1.2 Reagenzien und Lösungsmittel**

Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Fluka, Aldrich und Acros bezogen.

Die verwendeten Lösungsmittel wurden – sofern nötig – gemäß den üblichen Literaturmethoden getrocknet. Tetrahydrofuran wurde vor Gebrauch immer unter

---

Stickstoff mit Lithiumaluminiumhydrid unter Rückfluss gekocht und frisch abdestilliert.  $\text{ZnBr}_2$  wurde vor Verwendung über Nacht am Hochvakuum getrocknet.

Ansonsten genügte die Qualität der handelsüblichen Chemikalien, die somit ohne weitere Reinigung eingesetzt wurden.

Als Schutzgas für Reaktionen oder zur Handhabung feuchtigkeitsempfindlicher Substanzen wurden Stickstoff und Argon verwendet.

### **1.3 Präparative Methodik und chromatographische Verfahren**

Auf die Beschreibung von Standardapparaturen wird verzichtet. Werden spezielle Geräte oder Apparaturen eingesetzt, wird dies in den jeweiligen Versuchsbeschreibungen erwähnt.

Bei den meisten Umsetzungen konnte der Reaktionsfortschritt dünnschichtchromatographisch verfolgt werden. Die analytische Dünnschichtchromatographie wurde mit Hilfe von Kieselgel-60-F<sub>254</sub>- oder Reversed-Phase-RP-F<sub>254S</sub>-Fertigplatten (Schicht-dicke 0.25 mm) der Firma Merck als stationäre Phase durchgeführt. Die Fließmittelgemische der mobilen Phase sind der jeweiligen Versuchsvorschrift zu entnehmen.

Edukte und Produkte konnten durch ihre Absorption im UV-Licht (254 nm) oder durch ihr Anfärben mit Iod in der Iodkammer unterschieden werden.

Bei größeren Mengen wurde die präparative Trennung und Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60 der Firma Merck durchgeführt. Es wurden die Korngrößen 0.040 – 0.063 mm und 0.063 – 0.200 mm verwendet.

Man chromatographierte die Substanzgemische jeweils an der 15 – 30 fachen Menge Kieselgel. Die Laufmittelgemische sind in der jeweiligen Versuchsvorschrift angegeben. Zur Reinigung der wässrigen Lösungen der Cephalosporin-Endverbindungen wurde das Polymerharz HP-20 Diaion der Firma SUPELCO verwendet. Es wurde langsam (10 – 15 Minuten pro Fraktion) chromatographiert. Zur Vorbereitung ließ man das Harz 15 min in Methanol und anschließend 1 h in destilliertem Wasser quellen.

### **1.4 Kinetische Messungen - Bestimmung der Halbwertszeiten**

Die Stabilität der synthetisierten Cephemcarbonsäuren wurde über die Hydrolyse-Halbwertszeit der jeweiligen Verbindung bestimmt. Zu diesem Zweck wurde die zeitabhängige Abnahme der Extinktion im jeweiligen Absorptionsmaximum der Verbindung UV-spektroskopisch untersucht.

---

Um sowohl die physiologischen Bedingungen im Blut als auch im Magen zu simulieren, wurden die Messungen einmal in einer 0.067 molaren Phosphatpuffer-Lösung mit pH = 7.4 (Blut-pH-Wert) und einmal in einer physiologischen 0.01N HCl-Lösung (enthält ~0.9% NaCl) mit pH = 2.0 (Magen-pH-Wert) durchgeführt. Zur Herstellung der Phosphatpuffer-Lösung wurde 19.36 g (0.054 mol)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  und 1.72 g (0.013 mol)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in einem Liter Wasser gelöst. Die physiologische HCl-Lösung wurde durch Verdünnen von 100 mL einer 0.1N HCl-Maßlösung auf 1 Liter Wasser und Zugabe von 9.0 g NaCl hergestellt.

Die beiden Quarzglasküvetten wurden bei den unterschiedlichen Messreihen jeweils mit 3 mL dieser Lösungen (1. Messreihe: Phosphatpuffer/ 2. Messreihe: HCl/NaCl-Lösung) befüllt. Eine Küvette wurde mit soviel wässriger Lösung der zu untersuchenden Verbindung versetzt, dass der Wert der Extinktion im Absorptionsmaximum zu Beginn der Messung bei 0.80 – 1.00 lag. Die andere Küvette diente als Referenz. Man temperierte entweder das UV-Gerät für die Messungen auf 37°C oder bewahrte die Messküvetten zwischen den einzelnen Messungen bei 37°C auf. Die Aufzeichnung der Messungen erfolgte bis zum Erreichen einer konstanten Endabsorption.

Zur Auswertung der Kurven wurden die Gesetze für Reaktionen pseudoerster Ordnung zugrundegelegt. Aus den ersten 3 – 4 graphisch ermittelten Halbwertszeiten wurde die durchschnittliche Halbwertszeit bestimmt.

## 1.5 Bakterielle Tests

### 1.5.1 Verwendete Materialien

#### Nährlösung:

DIFCO Bacto Nutrient Broth dehydrated (3 g Bacto-Beef-Extract und 5 g Bacto-Pepton pro Liter; pH =  $6.8 \pm 0.2$ / 25°C)

#### Agar:

DIFCO Bacto Nutrient Agar dehydrated (3 g Bacto-Beef-Extract, 5 g Bacto-Pepton und 15 g Bacto-Agar pro Liter; pH =  $6.8 \pm 0.2$ / 25°C)

---

Bakterien:

## Gram-positiv:

- Staphylococcus aureus DSM 1104 (S. aur. 1104)
- Staphylococcus aureus 25466 (produziert  $\beta$ -Lactamase und ist Penicillin-resistent) (S. aur. res.)
- Staphylococcus 25768 (Staph. 25768)
- Staphylococcus Innsbruck (Methicillin-resistent) (Staph. Innsbruck)
- Enterococcus (E. coccus)

## Gram-negativ:

- Escherichia coli DSM 1103 (E. coli 1103)
- Escherichia coli TEM (produziert TEM 1- $\beta$ -Lactamase) (E. coli TEM)
- Enterobacter cloacae 30055 (produziert P-99- $\beta$ -Lactamase) (E. cloacae)
- Pseudomonas aeruginosa DSM 1117 (Ps. aer.)
- Pseudomonas aeruginosa resistent (Ps. aer. res.)

Vergleichsantibiotika:

- Cefaclor (CeCl)
- Ceftazidim (CAZ)
- Vancomycin (VA)

**1.5.2 Plattendiffusionstests<sup>[25]</sup>**

Man verwendete für die Tests originalverpackte Kunststoff-Petrischalen sowie in der Bunsenbrennerflamme sterilisierte Geräte. Die Anzucht der Bakterien erfolgte durch Bebrüten einer bakterienhaltigen Nährlösung bei 37°C im Brutschrank (Über-Nacht-Kultur). Anschließend wurden je 10 mL einer 3 h im Wasserdampf sterilisierten Agarsuspension mit je 10 Tropfen Bakterienlösung beimpft, in eine Petrischale gegossen und durch vorsichtiges Schwenken gleichmäßig verteilt. Nach dem Erstarren der Agarschicht wurden eine definierte Menge der Testsubstanz (10  $\mu$ L einer definierten Lösung (3 mg pro 1 mL) in H<sub>2</sub>O oder DMSO = 30  $\mu$ g) auf ein steriles, sehr saugfähiges Filzplättchen, das auf die Agarschicht gelegt wurde, aufgebracht. Zum Vergleich wurde ein weiteres Filzplättchen mit der Referenzsubstanz auf den bakterienhaltigen Nährboden gelegt.

---

Nach dem Bebrüten über Nacht (18h) bei 37°C wurde die biologische Aktivität anhand der gemessenen Hemmhofdurchmesser [mm] bestimmt.

### 1.5.3 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration - MIC-Werte<sup>[25]</sup>

Zur Ermittlung der MIC-Werte (minimum inhibition concentration) wurden ebenfalls nur originalverpackte Petrischalen und in der Bunsenbrennerflamme sterilisierte Geräte verwendet. Die Bakterienlösungen wurden durch Bebrüten der bakterienhaltigen Nährlösung bei 37°C jeweils frisch hergestellt. Die Agarsuspension wurde zunächst 3 h im Wasserdampf sterilisiert. Die sterilisierten Agarportionen (10 mL) wurden im Wasserbad auf 52°C temperiert, die entsprechende Menge einer wässrigen Testsubstanzlösung zugegeben und mit einem Glasstab verteilt. Die Mischung wurde in eine Petrischale gegossen, gleichmäßig verteilt und bis zum Erstarren stehen gelassen. Auf diese Weise wurden von jeder Testsubstanz Agarplatten mit unterschiedlichen Substanzkonzentrationen (z.B. 0.1 µg/mL; 0.2 µg/mL; 0.5 µg/mL; 1 µg/mL; 2 µg/mL; 4 µg/mL; 8 µg/mL; 16 µg/mL; 32 µg/mL und 64 µg/mL) angefertigt. Um die Testsubstanzlösungen leichter dosieren zu können wurden dazu zunächst verschieden konzentrierte Lösungen (0.1%; 0.01%) hergestellt und die entsprechenden Mengen mit einer Hamiltonspritze zugegeben. Jede der so vorbereiteten Platten wurde dann mit 10 verschiedenen Bakterienstämmen angeimpft. Dazu wurde ein steriler Inoculator (Mast Diagnostics, 19 Pin Inoculator mit Teflon Inoculum Pot) verwendet, der zuvor in das passende Inoculum mit den 10 unverdünnten Bakterienlösungen getaucht wurde. So wurden in einem Arbeitsschritt alle Bakterien an definierten Orten auf der jeweiligen Agarplatte aufgetragen. Um sicherzugehen, dass alle Bakterienlösungen auch wachstumsfähige Keime enthielten, wurde auch immer eine Kontrollplatte ohne Testsubstanz angefertigt, auf der das Wachstum aller Bakterienstämme zu beobachten war.

Die so vorbereiteten Platten wurden 18 Stunden bei 37°C inkubiert. Die Konzentration, bei der gerade kein Bakterienwachstum mehr erkennbar ist, entspricht dem ermittelten MIC-Wert.

Zum Vergleich wurden auch die MIC-Werte von den Referenzsubstanzen Vancomycin und Cefaclor bestimmt.

---

## 1.6 Toxizitätstests

### 1.6.1 Verwendete Materialien

#### Nährlösung:

OXOID Malzextrakt-Lösung (20 g pro Liter; pH = 5.4 ± 0.2/ 25°C)

#### Agar:

OXOID Hefen- und Pilzagar (20.5 g pro Liter; pH = 6.0 ± 0.2/ 25°C)

#### Hefe:

*Saccharomyces cerevisiae* (frische Bäckerhefe)

#### Vergleichssubstanz:

Maleinimid

### 1.6.2 Plattendiffusionstests

Für die Tests wurden originalverpackte Kunststoff-Petrischalen sowie in der Bunsenbrennerflamme sterilisierte Geräte verwendet. Zur Anzucht der Hefe wurden 150 mg frischer Bäckerhefe in 10 mL sterilisierter Nährlösung suspendiert und unter gelegentlichem Umschütteln bei 30°C im Brutschrank für 20 h bebrütet.

Zur Herstellung gleichmäßig beimpfter Agarplatten wurden je 10 Tropfen Hefesuspension unter Rühren der frischen angezüchteten Nährlösung entnommen, mit je 10 mL steriler Agarsuspension in eine Petrischale gegeben und durch vorsichtiges Schwenken gleichmäßig verteilt. Nach dem Erstarren der Agarschicht wurden eine definierte Menge der Testsubstanz (10 µL einer definierten Lösung (10 mg pro 100 µL) in DMSO = 1 mg) auf ein steriles, sehr saugfähiges Filzplättchen, das auf die Agarschicht gelegt wurde, aufgebracht. Auf die gleiche Weise wurde zum Vergleich auf ein weiteres Filzplättchen 1 mg der Referenzsubstanz (Maleinimid) aufgetragen.

Nach dem Bebrüten über Nacht (18h) bei 30°C konnte die Toxizität mittels der gemessenen Hemmhofdurchmesser [mm] bestimmt werden.

---

## 2 Synthese der Maleinimid-Derivate

### 2.1 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der *N*-Maleinimido-alkancarbonsäuren 2, 5, 6 und 7

In einem Dreihalskolben mit N<sub>2</sub>-Ballon, Rückflusskühler, Tropftrichter und Magnetrührer werden 200 mg (98.06 g/mol; 2.04 mmol) Maleinsäureanhydrid (1) in 10 mL Benzol gelöst. Über den Tropftrichter gibt man während 10 min bei Raumtemperatur 2.04 mmol (1 Äqu.) der entsprechenden Aminoalkan-1-carbonsäure zu (2: 153 mg(75.07 g/mol) Glycin; 5: 239 mg (117.15 g/mol) 5-Aminopentansäure; 6: 268 mg (131.18 g/mol) 6-Aminohexansäure; 7: 296 mg (145 g/mol) 7-Aminoheptansäure) in 20 mL Benzol zu. Die Lösung trübt sich und es bilden sich weiße Schlieren an der Glaswand. Man erwärmt das Gemisch für 1 h auf 60°C und gibt anschließend 459 mg (225.19 g/mol; 2.04 mmol; 1 Äqu.) trockenes ZnBr<sub>2</sub> zu. Während nun zum Sieden erhitzt wird, lässt man über 30 min 634 µL (491 mg; 160.41 g/mol; 3.06 mmol; d = 0.774 g/cm<sup>3</sup>; 1.5 Äqu.) Hexamethyldisilazan (HMDS) in 5 mL Benzol zutropfen. Allmählich löst sich der weiße amorphe Niederschlag an der Glaswand wieder und nach 1.5 h gibt man weitere 211 µL (0.5 Äqu.) HMDS in 1 mL Benzol zu.

Nach insgesamt 4 h am Rückfluss lässt man Abkühlen und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das erhaltene Öl wird in 20 mL 1N HCl aufgenommen und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Man extrahiert dreimal mit 15 mL Essigsäureethylester und wäscht die vereinigten organischen Phasen je einmal mit 20 mL 10%iger NaCl-Lösung und 10 mL gesättigter NaCl-Lösung. Es wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, über Watte filtriert und am Rotationsverdampfer einrotiert.

#### 2.1.1 2-(*N*-Maleinimido)-ethansäure (2)

Das so erhaltene hellgelbe, feste Rohprodukt wird an 8.2 g Kieselgel chromatographiert. Als Laufmittel dient CHCl<sub>3</sub>/MeOH 30:1. Die Fraktionsgröße beträgt jeweils 8 mL. Aus den Fraktionen 4-9 kann das Produkt nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum als weißer Feststoff isoliert werden.

$$M(\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_4) = 155.11 \text{ g/mol}$$

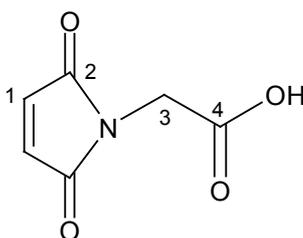
Ausbeute: 237 mg (75%)

Smp.: 111 - 113°C

DC:  $R_f = 0.19$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 19:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3105 m (OH); 3050 m (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Carbonsäure; C=O, Maleinimid); 1455 m; 1395 m; 1270 w; 1140 m; 1105 w; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 3.75 (t, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, 2H, 3-H); 6.70 (s, 2H, 1-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 38.9 (C-3); 134.1 (C-1); 170.9 (C-2); 179.3 (C-7).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 156 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.1%); 155 (M<sup>+</sup>, 1.6%); 111 (40%); 110 (100%); 82 (23%); 54 (16%).

### 2.1.2 5-(N-Maleinimido)-pentansäure (5)

Man erhält einen fahlgelben Feststoff, der an 9.70 g Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt wird. Als Laufmittel wird CHCl<sub>3</sub>/MeOH 45:1 verwendet. Es werden Fraktionen à 10 mL genommen. Aus Fraktionen 6-11 isoliert man nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißen Feststoff.

$M$  (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>) = 197.19 g/mol

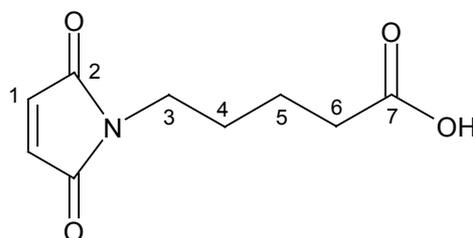
Ausbeute: 254 mg (63%)

Smp.: 82 - 83°C

DC:  $R_f = 0.24$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 19:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3100 m (OH); 3060 m (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 2670 w (OH); 1715 vs (C=O, Carbonsäure; C=O, Maleinimid); 1450 m; 1410 s; 1375 m; 1280 m; 1140 m; 1105 w; 935 m; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.63 – 1.66 (m, 4H, 4-H; 5-H); 2.39 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H, 6-H); 3.55 (t, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, 2H, 3-H); 6.71 (s, 2H, 1-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 21.7 (C-5); 27.9 (C-4); 33.3 (C-6); 37.3 (C-3); 134.1 (C-1); 170.9 (C-2); 179.3 (C-7).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 198 ([M+1]<sup>+</sup>, 1.0%); 197 (M<sup>+</sup>, 9.0%); 179 (26%); 152 (21%); 138 (14%); 123 (10%); 116 (17%); 111 (14%); 110 (100%); 98 (14%); 82 (30%); 58 (43%); 54 (10%); 43 (83%).

Elementaranalyse: ber.: C 54.82      H 5.62      N 7.10  
gef.: C 55.01      H 5.74      N 6.95

### 2.1.3 6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure (6)

Das nach dem Einrotieren erhaltene Rohprodukt wird an 11 g Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 45:1; Fraktionen à 11 mL) chromatographiert. Aus den Fraktionen 4-10 kann nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_4) = 211.22 \text{ g/mol}$

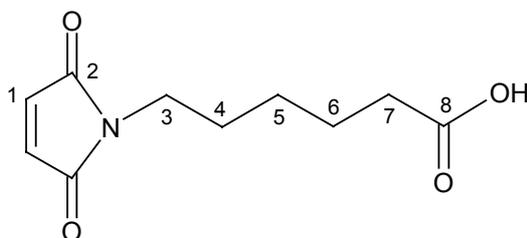
Ausbeute: 310 mg (72%)

Smp.: 84-85°C

DC:  $R_f = 0.28$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 19:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3100 m (OH); 3060 m (C-H<sub>olef.</sub>); 2955 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 2670 w (OH); 1715 vs (C=O, Carbonsäure; C=O, Maleinimid); 1450 m; 1410 s; 1370 m; 1275 m; 1140 m; 1105 w; 935 m; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.26 – 1.40 (m, 2H, 5-H); 1.56 – 1.71 (m, 4H, 4-H; 6-H); 2.35 (t, <sup>3</sup> $J = 7.4$  Hz, 2H, 7-H); 3.52 (t, <sup>3</sup> $J = 7.1$  Hz, 2H, 3-H); 6.70 (s, 2H, 1-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 24.1/ 26.1/ 28.2 (C-4/ C-5/ C-6); 33.8 (C-7); 37.6 (C-3); 134.1 (C-1); 170.9 (C-2); 179.6 (C-8).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 212 ( $[M+1]^+$ , 1.0%); 211 ( $M^+$ , 7.1%); 194 (13%); 193 (26%); 165 (12%); 130 (10%); 112 (14%); 111 (27%); 110 (100%); 98 (14%); 82 (20%); 55 (11%); 53 (10%)

Massenspektrum (EI, Hochauflösung,  $M^+$ ): ber.: 211.0810 u  
gef.: 211.0827 u

Elementaranalyse: ber.: C 56.87      H 6.20      N 6.63  
gef.: C 57.00      H 6.26      N 6.58

**2.1.4 7-(*N*-Maleinimido)-heptansäure (7)**

Die Reinigung des hellgelben, festen Rohprodukts erfolgt durch Chromatographie an 10.2 g Kieselgel. Man verwendet  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  40:1 als Laufmittel und nimmt Fraktionen á 10 mL. Das Produkt wird aus den Fraktionen 5–11 nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum als weißer Feststoff gewonnen.

$M(\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_4) = 225.24 \text{ g/mol}$

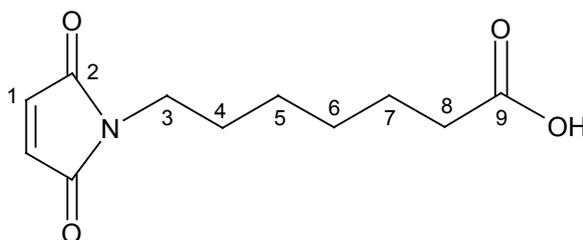
Ausbeute: 285 mg (62%)

Smp.: 89 - 91°C

DC:  $R_f = 0.35$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  19:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3100 m (OH); 3060 m ( $\text{C-H}_{\text{olef.}}$ ); 2950 m, 2870 w ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 2670 w (OH); 1715 vs ( $\text{C=O}$ , Carbonsäure;  $\text{C=O}$ , Maleinimid); 1455 m; 1410 s; 1370 m; 1280 m; 1140 m; 1105 w; 930 m; 830 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.27 – 1.42 (m, 4H, 5-H; 6-H); 1.55 – 1.68 (m, 4H, 4-H; 7-H); 2.34 (t,  $^3J = 7.4$  Hz, 2H, 8-H); 3.51 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 2H, 3-H); 6.70 (s, 2H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 24.7 /26.3 /28.3 /28.5 (C-4/ C-5/ C-6/ C-7); 33.9 (C-8); 37.8 (C-3); 134.0 (C-1); 170.9 (C-2); 179.8 (C-9).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 226 ( $[\text{M}+1]^+$ , 2.7%); 225 ( $\text{M}^+$ , 5.7%); 208 (29%); 207 (27%); 126 (10%); 111 (23%); 110 (100%); 98 (17%); 82 (18%).

Elementaranalyse: ber.: C 58.66      H 6.71      N 6.22  
gef.: C 58.62      H 6.63      N 6.19

## 2.2 6-(N-Maleinimido)-hexansäurechlorid (9)

In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten 25 mL Schlenkkolben mit Rückflusskühler, Blubberer und Magnetrührer löst man 4.00 g (211.22 g/mol; 18.94 mmol) 6-(N-Maleinimido)-hexansäure (6) in 7.0 mL (11.45 g; 118.97 g/mol; 96.20 mmol;  $d = 1.635 \text{ g/cm}^3$ ) frisch destillierten Thionylchlorid, wobei eine heftige Gasentwicklung zu beobachten ist. Nach 30-minütigem Rühren bei Raumtemperatur erhitzt man die Reaktionsmischung 1 h zum Rückfluss bis die Gasentwicklung beendet ist.

Nach dem Abkühlen wird das überschüssige Thionylchlorid unter Vakuum abdestilliert und der gelbe ölige Rückstand am Hochvakuum destilliert. Man erhält so das Produkt als farblose Flüssigkeit.

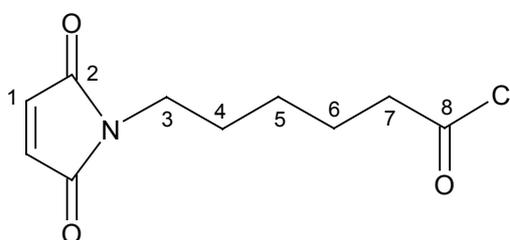
$M(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{ClNO}_3) = 229.66 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 3.48 g (80%)

Sdp.: 131 - 133°C ( $5 \cdot 10^{-3}$  mbar)

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3055 w, 3040 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1800 s (C=O, Säurechlorid); 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1450 m; 1410 s; 1375 m; 1145 m; 1110 m; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.40 (m, 2H, 5-H); 1.57 - 1.79 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.89 (t, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz); 3.53 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 6.71 (s, 2H, 1-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 24.5/ 25.5 /28.0 (C-4/ C-5/ C-6); 37.38 (C-3); 46.84 (C-7); 134.11 (C-1); 170.81 (C-2); 173.56 (C-8).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 231 ([M(<sup>37</sup>Cl)]<sup>+</sup>, 0.3%); 230 ([M(<sup>35</sup>Cl)+H]<sup>+</sup>, 0.3%); 229 ([M(<sup>35</sup>Cl)]<sup>+</sup>, 1.0%); 193 (28%); 175 (13%); 165 (16%); 149 (12%); 112 (14%); 111 (24%); 110 (100%); 98 (21%); 82 (15%); 68 (11%); 55 (11%).

Elementaranalyse:

ber.:	C 52.30	H 5.27	Cl 15.44	N 6.10
gef.:	C 51.95	H 5.39	Cl 15.21	N 6.03

### 2.3 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (11)

In einem 50 mL Zweihalskolben mit Magnetrührer und Thermometer werden 2.50 g (229.66 g/mol; 10.89 mmol) 6-*N*-Maleimido-hexansäurechlorid (9) in 27 mL kaltem Aceton gelöst und langsam unter Eiskühlung eine Lösung von 1.08 g  $\text{NaN}_3$  (65.01 g/mol; 16.65 mmol; 1.5 Äqu.) in 3.5 mL kaltem Wasser zugetropft, so dass die Innentemperatur nicht über 5°C ansteigt. Beim Zutropfen entsteht allmählich eine Trübung und es bildet sich ein zweiphasiges Gemisch. Anschließend rührt man noch 1 h bei 0°C weiter, wobei auf eine gute Durchmischung der beiden Phasen zu achten ist. Die Reaktionsmischung wird hierauf dreimal mit 10 mL kaltem Toluol extrahiert und die vereinigten organischen Phasen 1 h lang über viel  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Abfiltrieren über Watte erhitzt man die Reaktionslösung langsam zum Rückfluss, wobei ab ca. 60°C eine deutliche Gasentwicklung eintritt. Nach 4 h Rückflusskochen ist die Gasentwicklung beendet und das Gemisch wird nach dem Abkühlen am Rotationsverdampfer eingengt.

Der dunkelgelbe, ölige Rückstand lässt sich am Hochvakuum mit einer Kugelrohrdestille fraktionieren. Bei einer Übergangstemperatur von 140 - 150°C erhält man das Produkt als fahlgelbes Öl.

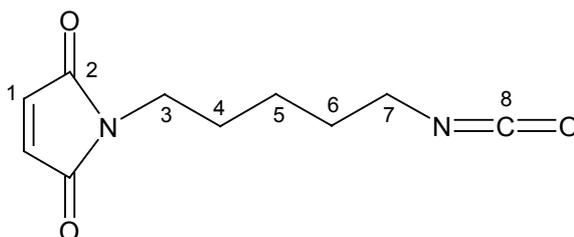
$$M(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3) = 208.22 \text{ g/mol}$$

Ausbeute: 1.12 g (50%)

Sdp.: 140 - 150°C ( $5 \cdot 10^{-3}$  mbar)

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3060 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 2280 vs (N=C=O); 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1450 m; 1415 s; 1375 m; 1155 m; 1115 m; 840 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.43 (m, 2H, 5-H); 1.58 - 1.69 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.30 (t, 2H, 7-H,  $^3J = 6.6$  Hz); 3.54 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.1$  Hz); 6.70 (s, 2H, 1-H).

 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.7 (C-5); 27.9/ 30.6 (C-4/ C-6); 37.5 (C-3); 42.7 (C-7); 122.0 (C-8); 134.1 (C-1); 170.8 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 209 ( $[\text{M}+1]^+$ , 1.6%); 208 ( $\text{M}^+$ , 11%); 127 (18%); 111 (18%); 110 (100%); 98 (11%); 82 (21%); 56 (14%); 54 (10%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 57.69	H 5.81	N 13.45
	gef.: C 57.76	H 5.82	N 13.05

## 2.4 Allgemeine Methode zur Darstellung der Urethane **13**, **16**, **17**, **20**, **21**, **22**, **23** und **24**

200 mg (208.22 g/mol; 0.96 mmol) 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (**11**) und 61  $\mu\text{L}$  (52 mg; 108.64 g/mol; 0.48 mmol; 0.5 Äqu.; 0.859 g/cm<sup>3</sup>) technisches  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  werden in einem trockenem 10 mL Schlenkrohr mit Stickstoffballon und Magnetrührer in 2.0 mL trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst. Über ein Septum werden langsam 1.44 mmol (1.5 Äquivalente) des entsprechenden Alkohols (**13**: 156 mg (108.14 g/mol) Benzylalkohol; **16**: 107 mg (74.12 g/mol) *t*-Butylalkohol; **17**: 46 mg (32.04 g/mol) Methanol; **20**: 113 mg (94.11 g/mol) Phenol; **21**: 196 mg (136.15 g/mol) 4-Acetylphenol; **22**: 182 mg (126.13 g/mol) 4-Fluorbenzylalkohol; **23**: 182 mg (126.13 g/mol) 3-Fluorbenzylalkohol; **24**: 182 mg (126.13 g/mol) 2-Fluorbenzylalkohol) zugetropft und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 6h ist die für das Edukt charakteristische Isocyanat-Bande bei 2280  $\text{cm}^{-1}$  im IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) verschwunden.

Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer einrotiert, wobei man das Rohprodukt als fahlgelbes Öl erhält.

### 2.4.1 [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-benzylester (13)

Zur Reinigung wird das Öl an 10 g Kieselgel mit Hexan/Ether 1:2 chromatographiert. Es werden Fraktionen à 10 mL genommen. Aus den Fraktionen 12-18 isoliert man das Produkt nach Abdestillieren des Laufmittels als weißen Feststoff.

$M(C_{17}H_{20}N_2O_4) = 316.36 \text{ g/mol}$

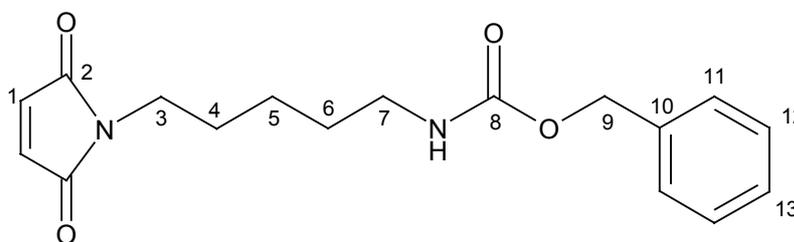
Ausbeute: 260 mg (86%)

Smp.: 64 - 65°C

DC:  $R_f = 0.17$  (Hexan/Ether 1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $CH_2Cl_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3450 w (N-H); 3060 w, 3040 w ( $C-H_{olef.}$ ); 2950 m, 2870 w ( $C-H_{aliph.}$ ); 1715 vs ( $C=O$ , Urethan;  $C=O$ , Maleinimid); 1450 m; 1415 s; 1375 m; 1155 m; 1115 m; 840 s.



$^1H$ -NMR (300 MHz;  $CDCl_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.27 - 1.35 (m, 2H, 5-H); 1.48 - 1.62 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.17 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 6.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{7/NH} = 6.8 \text{ Hz}$ ); 3.50 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.3 \text{ Hz}$ ); 4.82 (br s, 1H, NH); 5.07 (s, 2H, 9-H); 6.67 (s, 2H, 1-H); 7.26 - 7.36 (m, 5H,  $H_{arom.}$ ).

$^{13}C$ -NMR (75 MHz;  $CDCl_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.1/ 29.4 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 40.8 (C-7); 66.6 (C-9); 128.1/ 128.1/ 128.5 (C-11/ C-12/ C-13); 134.1 (C-1); 136.7 (C-10); 156.4 (C-8); 170.8 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 317$  ( $[M+1]^+$ , 0.2%);  $316$  ( $M^+$ , 0.1%);  $211$  (13%);  $210$  (100%);  $110$  (16%);  $108$  (13%);  $91$  (47%).

Elementaranalyse: ber.: C 64.54      H 6.37      N 8.86  
 gef.: C 64.58      H 6.45      N 8.83

**2.4.2 [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-*tert*-butylester (16)**

Das Rohprodukt wird an 11 g Kieselgel chromatographiert. Als Laufmittel verwendet man Hexan/Ether 1:2. Die Fraktionsgröße beträgt 10 mL. Aus den Fraktionen 6-14 erhält man nach Eindampfen und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als farblosen Feststoff.

$M(C_{14}H_{22}N_2O_4) = 282.34$  g/mol

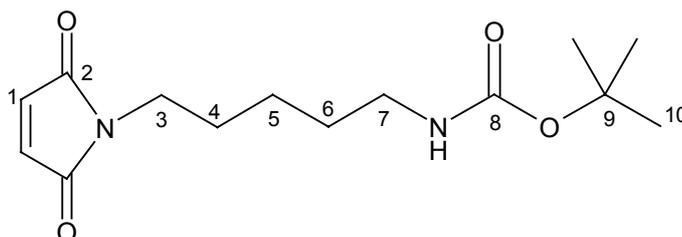
Ausbeute: 228 mg (84%)

Smp.: 52 - 53°C

DC:  $R_f = 0.24$  (Hexan/Ether 1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $CH_2Cl_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3470 m (N-H); 3070 w ( $C-H_{olef.}$ ); 2950 m, 2880 w ( $C-H_{aliph.}$ ); 1715 vs ( $C=O$ , Urethan;  $C=O$ , Maleinimid); 1510 s; 1450 m; 1415 s; 1400 m; 1375 s; 1250 m; 1175 m; 835 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.35 (m, 2H, 5-H); 1.44 (s, 9H, 10-H); 1.48 - 1.66 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.09 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 6.6$  Hz,  $^3J_{7/\text{NH}} = 6.6$  Hz); 3.52 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.2$  Hz); 4.55 (br s, 1H, NH); 6.69 (s, 2H, 1-H).

 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.9 (C-5); 28.2/ 29.6 (C-4/ C-6); 28.4 (C-10); 37.7 (C-3); 40.4 (C-7); 79.1 (C-9); 134.1 (C-1); 156.0 (C-8); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (FAB):

$m/z = 283$  ( $[\text{M}+1]^+$ , 6%); 282 ( $\text{M}^+$ , 19%); 184 (13%); 183 (73%); 57 (100%).

Elementaranalyse: ber.: C 59.56      H 7.85      N 9.92  
gef.: C 59.30      H 7.68      N 9.86

**2.4.3 [5-(N-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-methylester (17)**

Der gelbe, ölige Rückstand wird an 9 g Kieselgel säulenchromatographisch mit Hexan/ Ether 1:3 gereinigt. Es werden Fraktionen zu 6 mL gesammelt. Aus den Fraktionen 12-19 kann das Produkt nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum als weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4) = 240.26$  g/mol

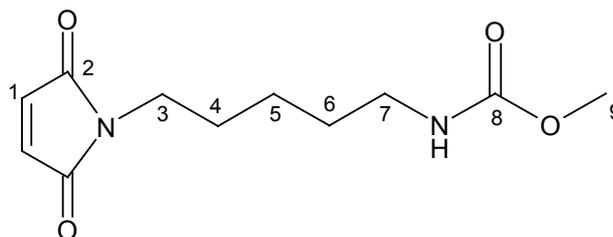
Ausbeute: 185 mg (80%)

Smp.: 53 - 54°C

DC:  $R_f = 0.19$  (Hexan/Ether 1:3); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3460 m (N-H); 3060 w ( $\text{C-H}_{\text{olef.}}$ ); 2950 m, 2870 w ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1730 vs (C=O, Urethan); 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1520 s; 1445 m; 1410 s; 1370 m; 1250 s; 1190 m; 1140 m; 1110 m; 1045 w; 830 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.35 (m, 2H, 5-H); 1.48 - 1.66 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.16 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 6.6$  Hz,  $^3J_{7/\text{NH}} = 6.6$  Hz); 3.52 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.1$  Hz); 3.66 (s, 3H, 9-H); 4.71 (br s, 1H, NH); 6.69 (s, 2H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.2/ 29.5 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 40.8 (C-7); 52.0 (C-9); 134.1 (C-1); 157.1 (C-8); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 240 ( $\text{M}^+$ , 1.4%); 208 (27%); 165 (65%); 142 (23%); 111 (11%); 110 (54%); 88 (100%); 84 (17%); 82 (19%); 59 (14%); 56 (11%); 55 (10%); 54 (12%); 44 (35%); 43 (10%); 41 (13%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 54.99	H 6.71	N 11.66
	gef.: C 55.05	H 6.67	N 11.37

#### 2.4.4 [5-(N-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-phenylester (20)

Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt mittels Säulenchromatographie (7.5 g Kieselgel; Hexan/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:3; Fraktionen zu 7 mL). Aus den Fraktionen 6-11 kann nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden.

$M(\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4) = 302.33$  g/mol

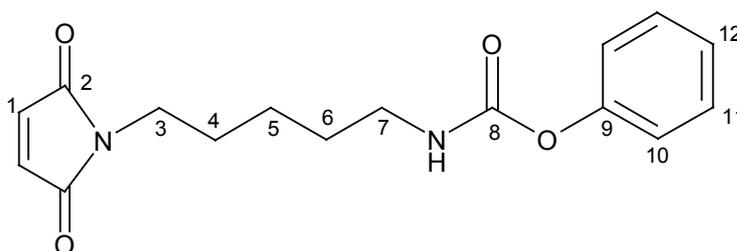
Ausbeute: 144 mg (50%)

Smp.: 90 - 92°C

DC:  $R_f = 0.21$  (Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:3); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3440 m (N-H); 3060 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1740 vs (C=O, Urethan); 1710 vs (C=O, Maleinimid); 1510 m; 1475 s; 1410 m; 1370 w; 1210 vs; 1160 w; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.30 - 1.40 (m, 2H, 5-H); 1.55 - 1.69 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.25 (dt, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7/NH</sub> = 6.6 Hz); 3.54 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 5.07 (br s, 1H, NH); 6.68 (s, 2H, 1-H); 7.11 - 7.20 (m, 3H, H<sub>arom.</sub>); 7.32 - 7.37 (m, 2H, H<sub>arom.</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.2/ 29.3 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 41.0 (C-7); 121.6 (C-10); 125.2 (C-12); 129.3 (C-11); 134.1 (C-8); 151.1 (C-9); 154.6 (C-8); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 303 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.01%); 302 (M<sup>+</sup>, 0.2%); 127 (14%); 111 (16%); 110 (88%); 98 (11%); 94 (100%); 82 (22%); 66 (21%); 65 (16%); 56 (18%); 55 (12%); 54 (13%).

Elementaranalyse: ber.: C 63.57      H 6.00      N 9.27  
gef.: C 63.61      H 5.92      N 9.17

### 2.4.5 [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-4-acetyl-phenylester (21)

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an 10 g Kieselgel gereinigt. Als Laufmittel dient Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:30. Es werden jeweils Fraktionen à 10 mL gesammelt. Aus den Fraktionen 8-14 wird das Produkt nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum als weißer Feststoff isoliert.

$M(C_{18}H_{20}N_2O_5) = 344.37 \text{ g/mol}$

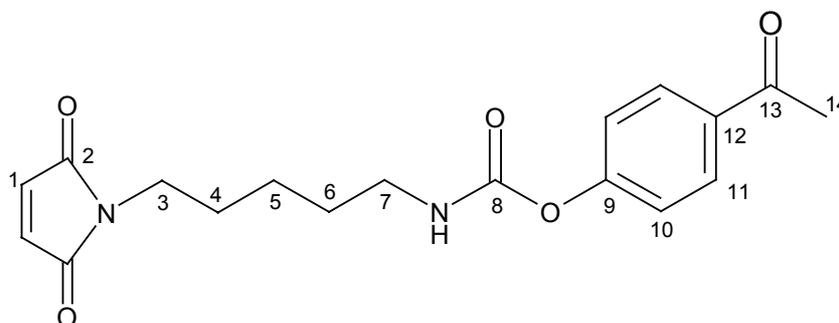
Ausbeute: 182 mg (55%)

Smp.: 87 - 88°C

DC:  $R_f = 0.20$  (Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:30); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3440 w (N-H); 3060 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2960 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1740 s (C=O, Urethan); 1705 vs (C=O, Maleinimid); 1685 s (C=O, Acetyl); 1600 m; 1510 m; 1490 m; 1405 m; 1360 m; 1205 s; 1160 m; 960 w; 830 m.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.36 (m, 2H, 5-H); 1.49 - 1.66 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.59 (s, 3H, 14-H); 3.27 (dt, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7/NH</sub> = 6.6 Hz); 3.54 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 5.19 (br s, 1H, NH); 6.69 (s, 2H, 1-H); 7.23 (d, 2H, 10-H, <sup>3</sup>J<sub>ortho</sub> = 8.7 Hz); 7.97 (d, 2H, 11-H, <sup>3</sup>J<sub>ortho</sub> = 8.7 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 26.6 (C-14); 28.2/ 29.2 (C-4/ C-6); 37.5 (C-2); 41.1 (C-7); 121.5 (C-10); 129.9 (C-11); 134.1 (C-12); 134.1 (C-8); 153.8 (C-9); 154.9 (C-8); 170.9 (C-2); 197.0 (C-13).

Massenspektrum (CI):

$m/z$  = 345 ( $[\text{M}+1]^+$ , 3.2%); 129 (25%); 137 (100%).

Elementaranalyse: ber.: C 62.78      H 5.85      N 8.14  
gef.: C 62.82      H 5.82      N 8.07

**2.4.6 [5-(N-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-4-fluor-benzylester (22)**

Das ölige, leicht gelbe Rohprodukt wird mit Hex/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:2 als Fließmittel an 13.3 g Kieselgel chromatographiert. Die Fraktionsgröße beträgt 13 mL. Aus den Fraktionen 7–15 kann nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum ein weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_4) = 334.35 \text{ g/mol}$

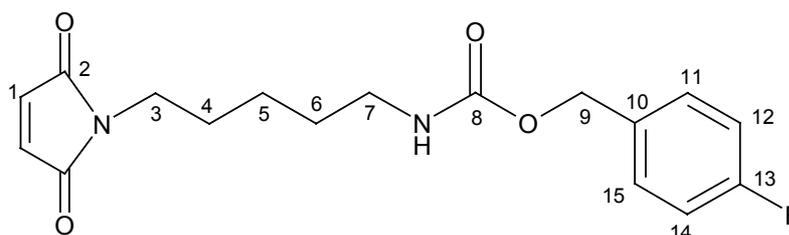
Ausbeute: 224 mg (70%)

Smp.: 69 - 70°C

DC:  $R_f = 0.15$  (Hexan/Ether 1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3450 w, 3335 m (N-H); 3080 w ( $\text{C-H}_{\text{olef./arom.}}$ ); 2950 m, 2870 w ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1710 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1530 m; 1455 w; 1415 s; 1370 m; 1260 m; 1230 m; 1160 w; 1115 w; 990 w; 840 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.22 - 1.35 (m, 2H, 5-H); 1.48 - 1.62 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.17 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 6.5$  Hz,  $^3J_{7/\text{NH}} = 6.5$  Hz); 3.50 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.2$  Hz); 4.81 (br s, 1H, NH); 5.05 (s, 2H, 9-H); 6.68 (s, 2H, 1-H); 7.03 (dd, 2H, 12-H,  $^3J_{11/12} = 8.6$  Hz,  $^3J_{12/\text{F}} = 8.6$  Hz); 7.33 (dd, 2H, 11-H,  $^3J_{11/12} = 8.6$  Hz,  $^4J_{11/\text{F}} = 5.5$  Hz).

 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.2/ 29.4 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 40.9 (C-7); 65.9 (C-9); 115.4 (d, C-12,  $^2J_{12/\text{F}} = 21.5$  Hz); 130.9 (d, C-11,  $^3J_{11/\text{F}} = 7.4$  Hz); 132.5 (d, C-10,  $^4J_{10/\text{F}} = 3.4$  Hz); 134.07 (C-1); 136.7 (C-10); 156.3 (C-8); 162.6 (d, C-13,  $^1J_{13/\text{F}} = 246$  Hz); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 335 ( $[\text{M}+1]^+$ , 0.2%); 334 ( $\text{M}^+$ , 0.1%); 126 (100%); 125 (73%); 123 (13%); 110 (16%); 109 (86%); 108 (10%); 107 (14%); 105 (34%); 98 (12%); 97 (93%); 96 (18%); 95 (38%); 83 (14%); 77 (30%); 75 (17%); 56 (12%); 51 (13%); 50 (10%).

Elementaranalyse: ber.: C 61.07      H 5.73      N 8.38  
gef.: C 60.92      H 5.74      N 8.32

**2.4.7 [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-3-fluor-benzylester (23)**

Das so erhaltene fahlgelbe Öl wird an 12 g Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Man nimmt Fraktionen zu 12 mL und verwendet Hexan/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:2 als Laufmittel. Das Produkt wird als weißer Feststoff aus den Fraktionen 6–15 nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum isoliert.

$M(\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_4) = 334.35$  g/mol

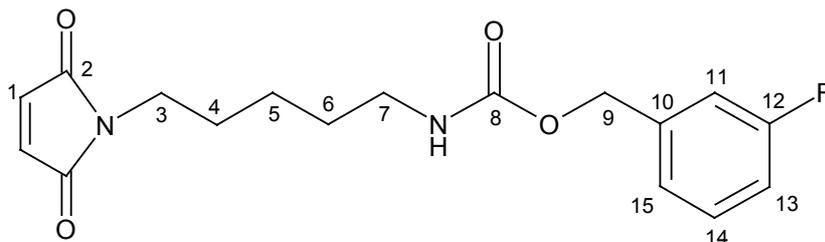
Ausbeute: 283 mg (88%)

Smp.: 66 - 67°C

DC:  $R_f = 0.17$  (Hexan/Ether 1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3450 w, 3320 m (N-H); 3085 w (C-H<sub>olef./arom.</sub>); 2940 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1710 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1550 m; 1440 m; 1415 m; 1380 w; 1260 m; 1250 m; 1150 w; 1115 m; 1040 w; 930 m; 840 m.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.25 - 1.36 (m, 2H, 5-H); 1.51 - 1.63 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.18 (dt, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7/NH</sub> = 6.5 Hz); 3.51 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 4.88 (br s, 1H, NH); 5.08 (s, 2H, 9-H); 6.68 (s, 2H, 1-H); 6.96 - 7.12 (m, 3H, 11-H, 13-H, 15-H); 7.30 - 7.35 (m, 1H, 14-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.2/ 29.4 (C-4/ C-6); 37.5 (C-3); 40.9 (C-7); 65.7 (C-9); 114.7/ 114.9 (d, C-11, <sup>2</sup>J<sub>11/F</sub> = 20.9 Hz)/ (d, C-13, <sup>2</sup>J<sub>13/F</sub> = 20.9 Hz); 123.3 (d, C-15, <sup>4</sup>J<sub>15/F</sub> = 1.7 Hz); 130.1 (d, C-14, <sup>3</sup>J<sub>14/F</sub> = 8.5 Hz); 134.1 (C-1); 139.3 (d, C-10, <sup>3</sup>J<sub>10/F</sub> = 7.4 Hz); 156.16 (C-8); 162.9 (d, C-12, <sup>1</sup>J<sub>12/F</sub> = 246 Hz); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 335 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.1%); 334 (M<sup>+</sup>, 0.3%); 210 (71%); 126 (23%); 125 (73%); 110 (41%); 109 (100%); 97 (11%).

Elementaranalyse: ber.: C 61.07      H 5.73      N 8.38  
gef.: C 61.08      H 5.62      N 8.37

### 2.4.8 [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-2-fluor-benzylester (24)

Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Säulenchromatographie (11 g Kieselgel; Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:2; Fraktionen á 11 mL). Aus den Fraktionen 11–15 erhält man nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als farblosen Feststoff

$M(C_{17}H_{19}FN_2O_4) = 334.35 \text{ g/mol}$

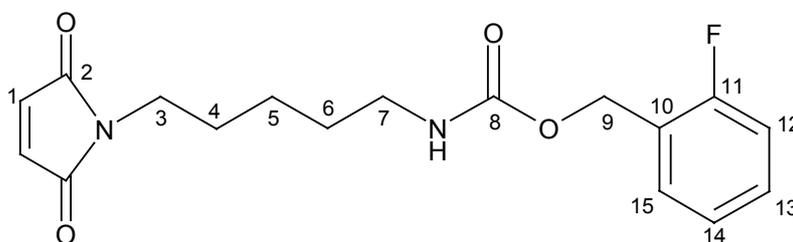
Ausbeute: 257 mg (80%)

Smp.: 60 - 62°C

DC:  $R_f = 0.14$  (Hexan/Ether 1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3450 w, 3330 m (N-H); 3090 w (C-H<sub>olef./arom.</sub>); 2940 m, 2860 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1710 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1545 m; 1490 w; 1440 w; 1415 m; 1380 w; 1280 w; 1260 m; 1250 m; 1120 m; 1030 w; 990 w; 840 m; 760 m; 690 m.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.27 - 1.32 (m, 2H, 5-H); 1.50 - 1.62 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.17 (dt, 2H, 7-H, <sup>3</sup> $J_{6/7} = 6.5 \text{ Hz}$ , <sup>3</sup> $J_{7/NH} = 6.5 \text{ Hz}$ ); 3.51 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup> $J = 7.1 \text{ Hz}$ ); 4.84 (br s, 1H, NH); 5.15 (s, 2H, 9-H); 6.67 (s, 2H, 1-H); 7.02 - 7.15 (m, 2H, 12-H, 14-H); 7.26 - 7.42 (m, 2H, 13-H, 15-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.2/ 29.4 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 40.9 (C-7); 60.5 (C-9); 115.4 (d, C-12, <sup>2</sup> $J_{12/F} = 22.0 \text{ Hz}$ ); 123.8 (d, C-10, <sup>2</sup> $J_{10/F} = 14.7 \text{ Hz}$ ); 124.2 (d, C-14, <sup>4</sup> $J_{14/F} =$

4.0 Hz); 130.0 (d, C-13,  $^3J_{13/F} = 7.9$  Hz); 130.6 (d, C-15,  $^3J_{15/F} = 4.0$  Hz); 134.1 (C-1); 156.2 (C-8); 161.0 (d, C-11,  $^1J_{11/F} = 248$  Hz); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 335$  ( $[M+1]^+$ , 0.1%); 334 ( $M^+$ , 0.5%); 210 (75%); 126 (16%); 125 (10%); 110 (50%); 109 (100%); 97 (10%).

Elementaranalyse: ber.: C 61.07      H 5.73      N 8.38  
gef.: C 60.87      H 5.77      N 8.32

## 2.5 [5-(*N*-Succinimido)-pentyl]-amin (14)

In einer Hydrierapparatur werden 50 mg Palladium auf Aktivkohle (10 Gew% Pd) in 1 mL Essigsäureethylester 30 min bei RT vorhydriert. Anschließend wird eine Lösung von 50 mg (316.36 g/mol; 0.158 mmol) Benzylurethan **13** in 1 mL Essigsäureethyl-ester über ein Septum zugespritzt und das Gemisch bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 min kommt die Wasserstoffaufnahme zum Erliegen. Man filtriert die Suspension über einen Glasfiltertiegel (P4) und wäscht zweimal mit 1 mL Essigsäure-ethylester nach. Aus der erhaltenen Lösung kann das Produkt nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum als farbloses Öl isoliert werden.

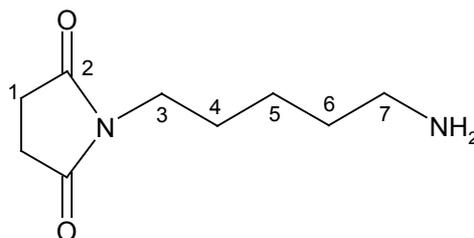
$M(C_{11}H_{16}N_2O_4) = 184.24$  g/mol

Ausbeute: 25 mg (87%)

DC:  $R_f = 0.04$  (Hexan/Ether 1:3); Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3440 m, 3320 m (N-H); 3060 m (C-H<sub>olef.</sub>); 2960 s, 2870 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Succinimid); 1520 s; 1445 m; 1410 s; 1370 m; 1350 m; 1270 m; 1170 m; 1140 w; 1110 m; 1005 w; 850 w.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.37 (m, 4H, 5-H,  $\text{NH}_2$ ); 1.47 - 1.68 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.68 (t, 2H, 7-H,  $^3J = 7.5$  Hz); 2.70 (s, 4H, 1-H) 3.53 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.2$  Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.9 (C-5); 27.2 (C-4); 28.1 (C-1); 29.5 (C-6); 37.8 (C-3); 40.9 (C-7); 176.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 185 ( $[\text{M}+1]^+$ , 1.2%); 184 ( $\text{M}^+$ , 8.6%); 153 (48%); 149 (25%); 140 (12%); 138 (11%); 136 (48%); 127 (15%); 126 (12%); 113 (22%); 112 (14%); 111 (11%); 109 (10%); 108 (17%); 107 (36%); 106 (36%); 105 (25%); 100 (64%); 97 (22%); 95 (16%); 89 (58%); 85 (30%); 84 (40%); 83 (26%); 82 (11%); 81 (14%); 79 (12%); 78 (27%); 77 (100%); 76 (11%); 72 (34%); 71 (42%); 70 (14%); 69 (37%); 67 (15%); 63 (11%); 59 (13%); 58 (10%); 57 (67%); 56 (30%); 55 (50%); 53 (11%); 51 (29%); 50 (15%); 45 (41%).

## 2.6 [5-(*N*-Succinimido)-pentyl]-carbaminsäure-benzylester (15)

In einer Hydrierapparatur werden 30 mg Lindlar-Katalysator (5 Gew% Pd auf  $\text{CaCO}_3$ , mit Blei vergiftet) in 0.7 mL Essigsäureethylester vorgelegt und 30 min bei Raumtemperatur vorhydriert. Hierauf spritzt man über ein Septum 30 mg (316.36 g/mol; 0.095 mmol) Benzylurethan **13** in 0.7 mL Essigsäureethylester bei Raumtemperatur zu und verfolgt den Reaktionsverlauf über die Wasserstoffaufnahme. Nach 1 h bei Raumtemperatur ist 1 Äquivalent  $\text{H}_2$  verbraucht und der Reaktionsfortschritt zum Erliegen gekommen. Man filtriert über einen Glasfiltertiegel (P4) ab und wäscht zweimal mit jeweils 0.5 mL Essigsäureethylester nach. Nach dem Einengen

des Filtrats am Rotationsverdampfer und Trocknen am Hochvakuum erhält man das Produkt als farbloses Öl.

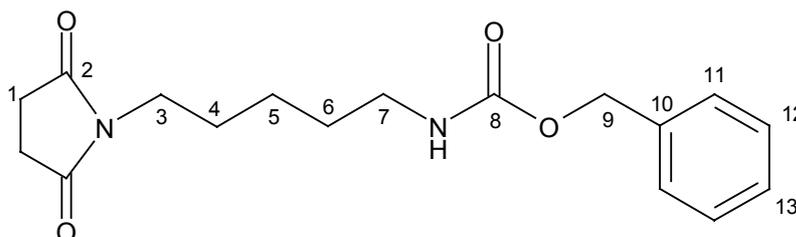
$M(\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4) = 318.37 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 26 mg (86%)

DC:  $R_f = 0.20$  (Hexan/Ether 1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3450 m (N-H); 3060 m ( $\text{C-H}_{\text{olef.}}$ ); 2950 m, 2875 w ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1715 vs ( $\text{C=O}$ , Urethan;  $\text{C=O}$ , Succinimid); 1520 s; 1445 w; 1410 s; 1375 m; 1350 m; 1240 s; 1170 m; 1135 m; 1030 w; 1000 w; 830 w.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.36 (m, 2H, 5-H); 1.48 - 1.61 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.68 (s, 4H, H-1); 3.17 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 6.7 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{7/\text{NH}} = 6.7 \text{ Hz}$ ); 3.50 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.2 \text{ Hz}$ ); 4.80 (br s, 1H, NH); 5.09 (s, 2H, 9-H); 7.28 - 7.36 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.9 (C-5); 27.3 (C-4); 28.2 (C-1); 29.4 (C-6); 38.5 (C-3); 40.8 (C-7); 66.6 (C-9); 128.1/ 128.1/ 128.5 (C-11/ C-12/ C-13); 136.7 (C-10); 156.4 (C-8); 177.3 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 319$  ( $[\text{M}+1]^+$ , 10%); 318 ( $\text{M}^+$ , 2.1%); 211 (83%); 183 (37%); 165 (15%); 108 (77%); 100 (20%); 91 (100%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 64.14	H 6.97	N 8.80
	gef.: C 63.85	H 7.14	N 8.50

## 2.7 [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-ammonium-trifluoracetat (12)

In einem ausgeheizten und mit Stickstoff befüllten 10 mL Schlenkrohr werden 100 mg (282.34 g/mol; 0.35 mmol) [5-(*N*-Maleinimido)-pentyl]-carbaminsäure-*tert*-butylester (16) in 0.5 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und 42.5 µL (42mg; 108 g/mol, 0.39 mmol; 1.1 Äqu.; d = 0.993 g/cm<sup>3</sup>) Anisol zugegeben. Zu der auf 0°C gekühlten Reaktionsmischung tropft man anschließend unter magnetischem Rühren 0.5 mL Trifluoressigsäure über ein Septum zu. Dabei kann eine Gasentwicklung beobachtet werden. Nach 15 min bei 0°C lässt man auf Raumtemperatur kommen. Nach 30 weiteren Minuten ist die Gasentwicklung beendet und auf dem DC kein Edukt mehr zu erkennen.

Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und der ölige bräunliche Rückstand mit 5 mL Et<sub>2</sub>O gut verrieben. Man erhält nach dem Abfiltrieren einen weißen Feststoff, der aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O in feinen Nadeln auskristallisiert.

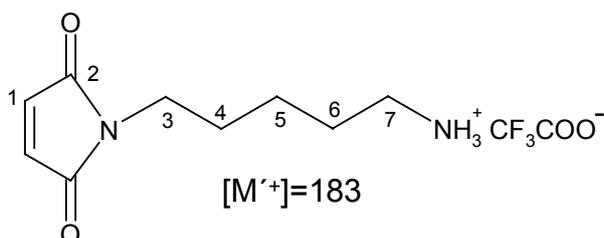
$$M(C_{11}H_{15}N_2O_4F_3) = 296.25 \text{ g/mol}$$

Ausbeute: 95 mg (91%)

Smp.: 111 -112°C

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3092 m (N<sup>+</sup>-H); 2946 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1703 vs (C=O, Maleinimid); 1681 s (C=O, Trifluoracetat); 1533 w; 1475 w; 1445 m; 1409 s; 1365 w; 1207 s; 1174 s; 1133 s; 846 m; 836 m; 796 w; 722 w; 695 m.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.31 - 1.42 (m, 2H, 5-H); 1.56 - 1.71 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.91 (t, 2H, 7-H,  $^3J = 7.6$  Hz); 3.52 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.0$  Hz); 6.81 (s, 2H, 1-H).

 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):

$\delta$  [ppm] = 24.5 (C-5); 28.0/ 29.0 (C-4/ C-6); 38.1 (C-3); 41.0 (C-7); 135.4 (C-1); 172.7 (C-2).

Massenspektrum (EI): ( $M^+ = R\text{-NH}_3^+$ )

$m/z$  = 183 ( $M^+$ , 4.0%); 182 ( $[M^+ - \text{H}]$ , 15%); 165 (32%); 164 (12%); 136 (16%); 110 (42%); 84 (100%); 83 (16%); 82 (17%); 69 (76%); 56 (18%); 54 (14%); 51 (28%); 50 (11%); 45 (16%).

Massenspektrum (EI, Hochauflösung,  $M^+ = R\text{-NH}_3^+$ ): ber.: 183.1133 u  
gef.: 183.1126 u

Elementaranalyse: ber.: C 44.60      H 5.10      N 9.46  
gef.: C 44.52      H 5.10      N 9.43

## 2.8 4-Methyl-piperazin-1-carbonsäure-{5-[3-(4-methyl-piperazin-1-yl)-*N*-succinimido]-pentyl}-amid (18)

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr mit Stickstoffballon und Magnetrührer werden 100 mg (208.22 g/mol; 0.48 mmol) 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (11) in 0.4 mL Essigsäureethylester vorgelegt und über ein Septum 80  $\mu\text{L}$  (122 mg; 100.17 g/mol; 0.72 mmol; 1.5 Äqu.;  $d = 0.902$  g/cm<sup>3</sup>) *N*-Methyl-piperazin in 0.3 mL Essigsäureethylester zugespritzt, wobei zunächst ein weißer Niederschlag ausfällt. Anschließend wird bei Raumtemperatur weitergerührt. Der Niederschlag löst sich nach ca. 10 min wieder auf und nach 30 min ist auf dem Dünnschichtchromatogramm keine Veränderung mehr erkennbar. Im IR-Spektrum ist die Isocyanatbande des Edukts bei 2280 cm<sup>-1</sup> verschwunden.

Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und der ölige Rückstand mit 5 mL Et<sub>2</sub>O verrieben. Nach dem Abfiltrieren kann das Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

Für die Elementaranalyse werden 60 mg des Feststoffs an 2.2 g Aluminiumoxid säulenchromatographisch (Fraktionen à 1 mL; EtOAc/MeOH 60:1) gereinigt. Man erhält so aus den Fraktionen 4–11 nach Entfernen des Lösungsmittels 54 mg des analysenreinen Produktes.

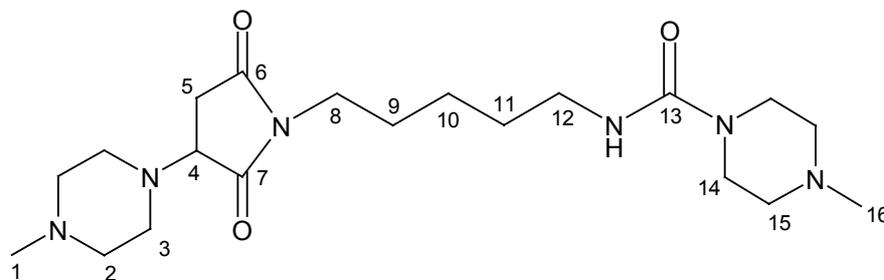
$$M(\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3) = 408.55 \text{ g/mol}$$

Ausbeute: 104 mg (53%)

Smp.: 98 - 100°C

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3470 m (N-H); 2940 m, 2850 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 2800 m (-NCH<sub>3</sub>); 1705 vs (C=O, Maleinimid); 1645 s (C=O, Harnstoff); 1520 s; 1455 m; 1400 m; 1370 m; 1350 m; 1290 m; 1240 m; 1165 m; 1145 m; 1110 w; 910 m.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CD<sub>3</sub>CN; T = 60°C):

$\delta$  [ppm] = 1.19 - 1.29 (m, 2H, 10-H); 1.40 - 1.57 (m, 4H, 9-H, 11-H); 2.18 (s, 3H, 1-H); 2.20 (s, 3H, 16-H); 2.27 (m, 4H, 15-H); 2.34 (m, 4H, 2-H); 2.42 - 2.49 (m, 2H, 3-H); 2.55 (dd, 1H, 5-H, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J = 18.1 Hz); 2.72 (dd, 1H, 5-H, <sup>3</sup>J = 8.9 Hz, <sup>2</sup>J = 18.1 Hz); 2.71 - 2.78 (m, 2H, 3-H); 3.08 (dt, 2H, 12-H, <sup>3</sup>J<sub>2/3</sub> = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2/NH</sub> = 5.5 Hz); 3.26 (m, 4H, 14-H); 3.41 (t, 2H, 8-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 3.74 (dd, H, 4-H, <sup>3</sup>J = 8.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz); 5.07 (br s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 24.1 (C-10); 27.5 (C-9); 29.6 (C-11); 31.0 (C-3); 38.2 (C-8); 40.7 (C-12); 43.7 (C-14); 46.0 (C-1); 46.2 (C-16); 48.9 (C-5); 54.7 (C-15); 54.9 (C-2); 62.3 (C-4); 157.8 (C-13); 175.1/ 176.0 (C-6/ C-7).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 409 ( $[\text{M}+1]^+$ , 2.0%); 408 ( $\text{M}^+$ , 8.5%); 309 (13%); 308 (37%); 110 (19%); 101 (41%); 100 (49%); 99 (58%); 98 (25%); 71 (21%); 70 (38%); 58 (100%); 57 (15%); 56 (30%); 55 (10%).

Massenspektrum (EI) - Hochauflösung:  $\text{M}^+$  : ber.: 408.2860 u  
gef.: 408.2862 u

Elementaranalyse: ber.: C 58.80      H 8.88      N 20.57  
gef.: C 58.58      H 8.79      N 20.29

## 2.9 4-Methyl-piperazin-1-carbonsäure-[5-(*N*-maleinimido)-pentyl]-amid (19)

100 mg (208.22 g/mol; 0.48 mmol) 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (**11**) werden in einem ausgeheizten und mit Stickstoff belüfteten 10 mL Schlenkrohr in 2.0 mL Essigsäureethylester gelöst und auf  $-15^\circ\text{C}$  gekühlt.

Über ein Septum tropft man anschließend 53  $\mu\text{L}$  (48 mg; 100.17 g/mol; 0.48 mmol; 1 Äqu.;  $d = 0.902 \text{ g/cm}^3$ ) *N*-Methyl-piperazin in 1.5 mL Essigsäureethylester während 25 min zu. Es bildet sich allmählich ein weißer Niederschlag und die Reaktionsmischung wird nach beendeter Zugabe weitere 40 min bei  $-15^\circ\text{C}$  magnetisch gerührt.

Man lässt auf Raumtemperatur kommen und destilliert das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab. Der entstandene fahlgelbe Feststoff wird an 8.2 g Aluminiumoxid mit EtOAc/MeOH 100:1 säulenchromatographisch gereinigt. Die Fraktionsgröße beträgt 8 mL. Auf diese Weise erhält man aus den Fraktionen 8-14 nach Einrotieren und Trocknen an der Hochvakuum das Produkt als weißen Feststoff.

$M(\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3) = 308.38 \text{ g/mol}$

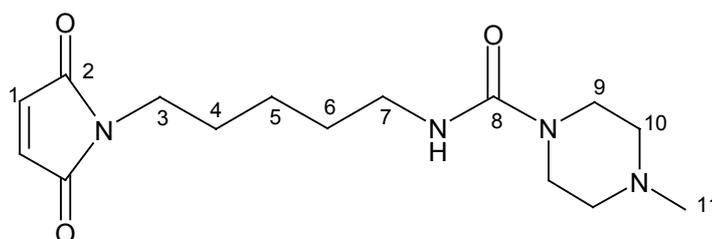
Ausbeute: 131 mg (89%)

Smp.: 138 - 139°C

DC(Alox):  $R_f = 0.11$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  19:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3470 m (N-H); 3050 w ( $\text{C-H}_{\text{olef.}}$ ); 2980 m, 2940 m, 2860 m ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 2800 m ( $\text{NCH}_3$ ); 1715 vs ( $\text{C=O}$ , Maleinimid); 1650 vs ( $\text{C=O}$ , Harnstoff); 1520 vs; 1450 m; 1410 s; 1375 m; 1295 m; 1245 m; 1150 m; 1120 m; 1010 w; 830 m.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.24 - 1.36 (m, 2H, 5-H); 1.49 - 1.66 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.32 (s, 3H, 11-H); 2.41 (m, 4H, 10-H); 3.21 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{7/\text{NH}} = 5.5 \text{ Hz}$ ); 3.39 (m, 4H, 9-H); 3.52 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.1 \text{ Hz}$ ); 4.52 (t, 1H, NH,  $^3J_{7/\text{NH}} = 5.5 \text{ Hz}$ ); 6.69 (s, 2H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 24.0 (C-5); 28.3/ 29.6 (C-4/ C-6); 37.5 (C-3); 40.7 (C-7); 43.6 (C-9); 46.1 (C-11); 54.7 (C-10); 134.1 (C-1); 157.7 (C-8); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 309 ( $[\text{M}+1]^+$ , 22%); 308 ( $\text{M}^+$ , 100%); 252 (11%); 251 (20%); 209 (14%); 127 (11%); 110 (26%); 99 (18%); 98 (15%); 71 (46%); 70 (45%); 58 (37%); 56 (21%); 43 (19%); 42 (12%).

Elementaranalyse:

ber.: C 58.42	H 7.85	N 18.17
gef.: C 58.78	H 7.99	N 18.02

## 2.10 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (25)

In einem trockenen 500 mL Dreihalskolben mit N<sub>2</sub>-Ballon, Rückflusskühler und Magnetrührer werden 2.00 g (98.06 g/mol; 20.40 mmol) Maleinsäureanhydrid (**1**) in 150 mL Benzol gelöst. Über einen Tropftrichter tropft man während 10 min unter Rühren 2.10 g (103.17 g/mol; 20.40 mmol; 1 Äqu.) 5-Amino-1-pentanol in 50 mL Benzol bei Raumtemperatur zu. Die Lösung trübt sich und es bilden sich weiße Schlieren an der Glaswand. Nach 1 h bei Raumtemperatur werden 4.59 g (225.19 g/mol; 20.40 mmol; 1 Äqu.) trockenes ZnBr<sub>2</sub> auf einmal zugegeben und die Reaktionsmischung zum Sieden erhitzt. Währenddessen werden über einen weiteren Tropftrichter innerhalb 30 min 6.34 mL (4.91g; 160.41 g/mol; 30.59 mmol; 1.5 Äqu.;  $d = 0.774 \text{ g/cm}^3$ ) HMDS in 50 mL Benzol zugetropft. Der weiße amorphe Rückstand an der Glaswand beginnt sich dabei allmählich zu lösen und nach 1.5 h bei 80°C werden weitere 2.11 mL (0.5 Äqu.) HMDS in 10 mL Benzol zu der Mischung zugetropft. Man belässt das Reaktionsgemisch insgesamt 4 h unter kräftigem Rühren am Rückfluss. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert, der gelbe, ölige Rückstand mit 50 mL 1N HCl aufgenommen und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend extrahiert man die wässrige Phase dreimal mit 100 mL Essigsäureethylester und wäscht die vereinigten organischen Phasen je einmal mit 100 mL gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 100 mL gesättigter NaCl-Lösung. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub>, Abfiltrieren über Watte und Einrotieren erhält man ein fahlgelbes, festes Rohprodukt, das säulenchromatographisch an 9 g Kieselgel gereinigt wird. Als Fließmittel dient Hexan/EtOAc 1:1. Aus den jeweils 9 mL fassenden Fraktionen 8-15 kann nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_3) = 183.21 \text{ g/mol}$

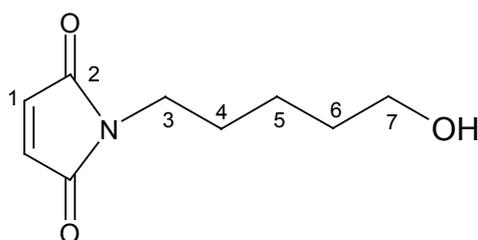
Ausbeute: 2.21 g (76%)

Smp.: 46 - 47°C

DC:  $R_f = 0.18$  (Hexan/EtOAc 1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3620 m, 3470 w (O-H); 3070 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1525 w; 1450 m; 1410 s; 1370 m; 1250 w; 1145 m; 1120 w; 1050 w; 830 s.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.31 - 1.42 (m, 2H, 5-H); 1.55 - 1.68 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.53 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 3.63 (t, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz); 6.69 (s, 2H, 1-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 22.9 (C-5); 28.3 (C-4); 32.1 (C-6); 37.7 (C-3); 62.6 (C-7); 134.1 (C-1); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 183 (M<sup>+</sup>, 3.8%); 111 (28%); 110 (100%); 99 (44%); 98 (14%); 85 (35%); 83 (10%); 82 (25%); 80 (10%); 68 (15%); 55 (30%); 54 (13%).

Elementaranalyse: ber.: C 59.00      H 7.15      N 7.65  
 gef.: C 58.79      H 7.29      N 7.66

**2.11 Allgemeine Methode zur Darstellung der Carbamate 26 bis 28:**

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr mit Stickstoffballon, Septum und Magnetrührer löst man 0.82 mmol des betreffenden Isocyanats (**26**: 109 mg (133.15 g/mol) Benzylisocyanat; **27**: 81 mg (99.13 g/mol) *t*-Butylisocyanat; **28**: 98 mg (119.12 g/mol) Phenylisocyanat) in 1.2 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und spritzt 52  $\mu$ L (45 mg; 108.64 g/mol; 0.41 mmol; 0.5 Äqu.; 0.859 g/cm<sup>3</sup>) technisches Me<sub>3</sub>SiCl zu. Anschließend wird unter

Rühren eine Lösung von 150 mg (183.21 g/mol; 0.82 mmol; 1Äqu.) 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) in 0.8 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei Raumtemperatur zugetropft. Nach 6 h Rühren bei Raumtemperatur ist der Alkohol verbraucht (DC) und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert.

### 2.11.1 Benzyl-carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (**26**)

Der fahlgelbe, feste Rückstand wird an 9 g Kieselgel mit Hexan/EtOAc 5:2 chromatographiert. Es werden Fraktionen à 9 mL gesammelt. Aus den Fraktionen 6-16 erhält man nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißen Feststoff.

$M(C_{17}H_{20}N_2O_4) = 316.36 \text{ g/mol}$

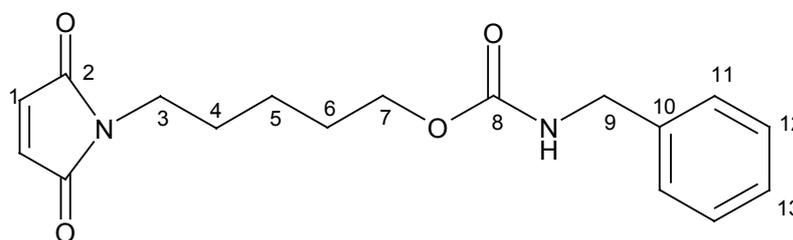
Ausbeute: 240 mg (93%)

Smp.: 69 - 70°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.30 (Hexan/EtOAc 1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3430 m (N-H); 3030 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2940 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1505 s; 1400 s; 1360 m; 1330 w; 1220 s; 1145 m; 1045 m; 825 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.40 (m, 2H, 5-H); 1.56 - 1.68 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.51 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz); 4.07 (t, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz); 4.35 (d, 2H, 9-H, <sup>3</sup>J<sub>9/NH</sub> = 6.0 Hz); 5.14 (br s, 1H, NH); 6.66 (s, 2H, 1-H); 7.23 - 7.36 (m, 5H, H<sub>arom.</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.2 (C-5); 28.1/ 28.4 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 45.0 (C-9); 64.8 (C-7); 127.4/ 127.5 (C-11/ C-13); 128.66 (C-12); 134.1 (C-1); 138.6 (C-10); 156.7 (C-8); 170.8 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 317 ( $[\text{M}+1]^+$ , 0.6%); 316 ( $\text{M}^+$ , 4.9%); 150 (19%); 133 (92%); 132 (41%); 111 (15%); 110 (63%); 107 (10%); 106 (37%); 105 (36%); 104 (54%); 99 (19%); 92 (10%); 91 (100%); 85 (17%); 82 (16%); 81 (10%); 79 (12%); 78 (30%); 77 (47%); 69 (21%); 68 (13%); 67 (10%); 65 (26%); 55 (19%); 51 (33%); 50 (19%).

Elementaranalyse: ber.: C 64.54      H 6.37      N 8.86  
gef.: C 64.30      H 6.43      N 8.85

**2.11.2 tert-Butyl-carbaminsäure-5-(N-maleinimido)-pentylester (27)**

Das Rohprodukt wird an 7.2 g Kieselgel (Hexan/EtOAc 5:2; Fraktionen zu 6 mL) säulenchromatographisch gereinigt. Aus den Fraktionen 4-8 wird nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als farbloser Feststoff isoliert.

$M(\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4) = 282.34 \text{ g/mol}$

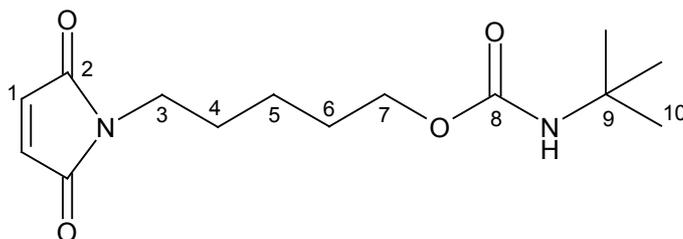
Ausbeute: 203 mg (88%)

Smp.: 38 - 39°C

DC:  $R_f = 0.53$  (Hexan/EtOAc 1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3450 m (N-H); 3060 w ( $\text{C-H}_{\text{olef.}}$ ); 2980 m; 2950 m; 2880 w ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1715 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1510 s; 1460 m; 1415 s; 1400 m; 1370 m; 1210 s; 1155 m; 1095 s; 915 w; 835 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.39 (m, 2H, 5-H); 1.32 (s, 9H, 10-H); 1.57 - 1.67 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.52 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.2$  Hz); 3.99 (t, 2H, 7-H,  $^3J = 6.3$  Hz); 4.69 (br s, 1H, NH); 6.69 (s, 2H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.3 (C-5); 28.2/ 28.5 (C-4/ C-6); 29.0 (C-10); 37.7 (C-3); 50.2 (C-9); 63.8 (C-7); 134.1 (C-1); 155.1 (C-8); 170.8 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 283$  ( $[\text{M}+1]^+$ , 17%); 267 (27%); 227 (55%); 185 (16%); 184 (100%); 166 (29%).

Elementaranalyse:

ber.:	C 59.56	H 7.85	N 9.92
gef.:	C 59.30	H 7.89	N 9.91

### 2.11.3 Phenyl-carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (28)

Der hellgelbe Rückstand wird an 7.3 g Kieselgel mit Toluol/EtOAc 10:1 chromatographiert. Es werden Fraktionen à 7 mL genommen. Aus den Fraktionen 6-13 kann nach Eindampfen und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4) = 302.33$  g/mol

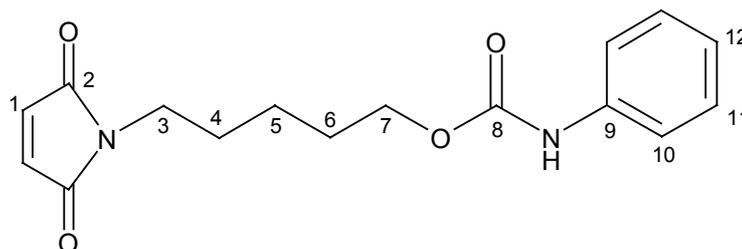
Ausbeute: 194 mg (78%)

Smp.: 85 - 86°C

DC:  $R_f = 0.20$  (Toluol/EtOAc 9:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3420 m (N-H); 3020 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2940 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1710 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1590 m; 1515 s; 1400 m; 1360 w; 1310 m; 1210 s; 1155 m; 1060 m; 830 m.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.36 - 1.47 (m, 2H, 5-H); 1.60 - 1.75 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.55 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz); 4.15 (t, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz); 6.69 (s, 2H, 1-H); 6.90 (br s, 1H, NH); 7.05 (t, 1H, 12-H); 7.30 (m, 2H, 11-H); 7.41 (m, 2H, 10-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 23.4 (C-5); 28.0/ 28.1 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 65.1 (C-7); 118.6 (C-10); 123.3 (C-12); 129.0 (C-11); 134.1 (C-1); 138.1 (C-9); 153.6 (C-8); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 303 ([M+1]<sup>+</sup>, 6.1%); 302 (M<sup>+</sup>, 34%); 137 (11%); 120 (14%); 119 (100%); 110 (99%); 98 (13%); 93 (43%); 91 (12%); 82 (11%); 69 (12%).

Elementaranalyse: ber.: C 63.57      H 6.00      N 9.27  
gef.: C 63.31      H 5.96      N 9.13

## 2.12 Carbaminsäure-5-(N-maleinimido)-pentylester (29)

In einem ausgeheizten 10 mL Schlenkrohr mit N<sub>2</sub>-Ballon werden 150 mg (183.21 g/mol; 0.82 mmol; 1 Äqu.) des Alkohols **25** in 2.0 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vorgelegt und auf

-30°C gekühlt. Über ein Septum tropft man nun unter magnetischem Rühren 86 µL (139 mg; 141.53 g/mol; 0.98 mmol;  $d = 1.62 \text{ g/cm}^3$ ) Chlorsulfonylisocyanat zu. Nach 30 min bei -30°C lässt man auf Raumtemperatur kommen, destilliert das Lösungsmittel ab und nimmt den festen Rückstand in 10 mL H<sub>2</sub>O auf.

Man extrahiert dreimal mit je 10 mL CHCl<sub>3</sub> und wäscht die vereinigten organischen Phasen je einmal mit 15 mL gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 15 mL gesättigter NaCl-Lösung. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub>, Abfiltrieren über Watte und Einrotieren erhält man das gemäß <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum reine Produkt als weißen Feststoff.

Ein Teil (90 mg) wird für die Elementaranalyse weiter säulenchromatographisch an 2.7 g Kieselgel mit Et<sub>2</sub>O als Laufmittel gereinigt. Die Fraktionsgröße beträgt 3 mL. Aus den Fraktionen 5-13 wird nach Eindampfen und Trocknen am Hochvakuum das analysenreine Produkt als weißer Feststoff isoliert.

$$M(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4) = 226.23 \text{ g/mol}$$

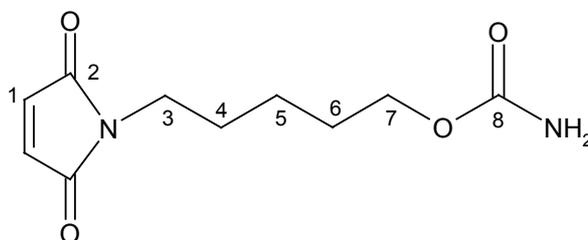
Ausbeute: 141 mg (76%)

Smp.: 104 - 105°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.18 (Et<sub>2</sub>O); UV-aktiv und schwaches Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3530 m, 3440 m (N-H); 3030 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1580 m; 1400 s; 1340 s; 1150 w; 1110 m; 1080 m; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.31 - 1.42 (m, 2H, 5-H); 1.58 - 1.70 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.53 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz); 4.04 (t, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz); 4.82 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>); 6.70 (s, 2H, 1-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

δ [ppm] = 23.2 (C-5); 28.1/ 28.3 (C-4/ C-6); 37.7 (C-3); 64.9 (C-7); 134.1 (C-1); 157.1 (C-8); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

*m/z* = 227 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.2%); 226 (M<sup>+</sup>, 1.0%); 165 (16%); 111 (23%); 110 (100%); 99 (32%); 98 (16%); 85 (21%); 84 (10%); 82 (24%); 68 (25%); 67 (10%); 55 (12%); 54 (13%).

Elementaranalyse: ber.: C 53.09      H 6.24      N 12.38  
gef.: C 53.28      H 6.07      N 12.30

## 2.13 Allgemeine Methode zur Darstellung der Thiourethane **30**, **31** und **32**:

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr mit Rückflusskühler, Magnetrührer und N<sub>2</sub>-Ballon werden 150 mg (183.21 g/mol; 0.82 mmol) 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) in 2 mL Benzol vorgelegt, 0.35 mL (254 mg; 101.19 g/mol; 2.51 mmol; 3.1 Äqu.; *d* = 0.727 g/cm<sup>3</sup>) Triethylamin zugetropft und schließlich 1.08 mmol (1.5 Äqu.) des jeweiligen Thioisocyanats (**30**: 146 mg (135.19 g/mol) Phenylisothiocyanat; **31**: 161 mg (149.22 g/mol) Benzylisothiocyanat; **32**: 79 mg (73.12 g/mol) Methylisothiocyanat) zugegeben. Man erhitzt die Reaktionsmischung zum Rückfluss und verfolgt den Verlauf der Reaktion per Dünnschichtchromatographie.

### 2.13.1 Phenylthiocarbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (**30**)

Nach 3.5 h bei 80°C ist das Edukt **25** (DC) verbraucht. Man verdünnt das Reaktionsgemisch nach dem Abkühlen mit 20 mL Toluol und wäscht jeweils mit 10 mL 1N HCl, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Man trocknet die organische Phase über MgSO<sub>4</sub>, filtriert über Watte und rotiert das Lösungsmittel ein. Das so erhaltene gelbe Öl wird säulenchromatographisch (7 g Kieselgel; Fraktionen à 7 mL; Hexan/ Et<sub>2</sub>O 1:1) gereinigt. Aus den Fraktionen 11-17 wird nach dem Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum ein weißer Feststoff isoliert.

$M(\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{SO}_3) = 318.40 \text{ g/mol}$

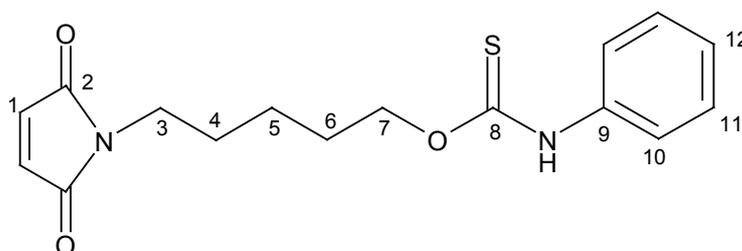
Ausbeute: 86 mg (33%)

Smp.: 68 - 69°C

DC:  $R_f = 0.21$  (Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3400 m, 3300 w (N-H); 3040 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2950 m, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1595 m; 1515 s; 1405 s; 1370 s; 1345 m; 1185 s (C=S); 1110 w; 1045 m; 830 s.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.36 - 1.46 (m, 2H, 5-H); 1.60 - 1.69 (m, 2H, 4-H); 1.76 - 1.86 (m, 2H, 6-H); 3.53 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 4.54 (m, 2H, 7-H); 6.68 (s, 2H, 1-H); 7.15 - 7.37 (m, 5H, H<sub>arom.</sub>); 8.47 (br s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 23.3 (C-5); 27.8/ 28.1 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 72.5 (C-7); 121.6 (C-10); 125.6 (C-12); 129.0 (C-11); 134.1 (C-1); 137.1 (C-9); 170.8 (C-2); 188.7 (C-8).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 319 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.8%); 318 (M<sup>+</sup>, 4.9%); 153 (23%); 136 (12%); 135 (100%); 120 (10%); 111 (14%); 110 (55%); 99 (19%); 85 (14%); 82 (12%); 77 (33%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.:	C 60.36	H 5.70	N 8.80	S 10.07
	gef.:	C 60.32	H 5.85	N 8.69	S 9.70

### 2.13.2 Benzylthiocarbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (31)

Nach 10 h bei 80°C gibt man 20 mL Toluol zu und wäscht jeweils mit 10 mL 1N HCl, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Man trocknet die organische Phase über MgSO<sub>4</sub>, filtriert über Watte und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das zurückbleibende gelbe Öl wird durch Chromatographie an 9 g Kieselgel (Fraktionen à 9 mL; Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:1) gereinigt. Nach dem Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum kann man aus den Fraktionen 10 –14 einen weißen Feststoff isolieren.

$M(C_{17}H_{20}N_2SO_3) = 332.42 \text{ g/mol}$

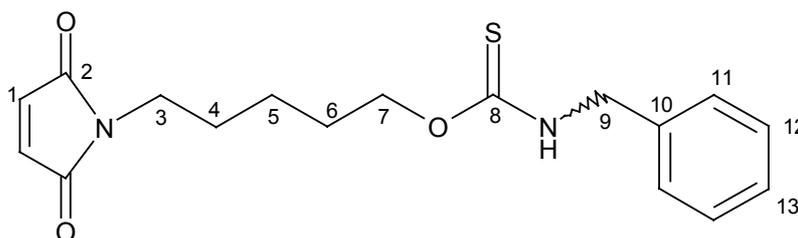
Ausbeute: 43 mg (17%)

Smp.: 76 - 77°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.15 (Hexan/Et<sub>2</sub>O 1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3390 \text{ m (N-H)}; 3030 \text{ w (C-H}_{\text{olef.}}); 2950 \text{ m, } 2870 \text{ w (C-H}_{\text{aliph.}}); 1710 \text{ vs (C=O, Maleinimid)}; 1505 \text{ s}; 1400 \text{ s}; 1345 \text{ m}; 1180 \text{ s (C=S)}; 1110 \text{ w}; 830 \text{ s}.$



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta [\text{ppm}] = 1.30 - 1.44 \text{ (m, 2H, 5-H)}; 1.55 - 1.75 \text{ (m, 4H, 4-H, 6-H)}; 3.49 \text{ (E-Isomer, t, 0.8H, 3-H, } ^3J = 7.2 \text{ Hz)}; 3.54 \text{ (Z-Isomer, t, 1.2H, 3-H, } ^3J = 7.2 \text{ Hz)}; 4.43 \text{ (E-Isomer, d, 0.8H, 9-H, } ^3J_{9/\text{NH}} = 5.4 \text{ Hz)}; 4.44 \text{ (Z-Isomer, t, 1.2H, 7-H, } ^3J = 6.3 \text{ Hz)}; 4.48 \text{ (E-Isomer, t, 2H, 7-H, } ^3J = 6.3 \text{ Hz)}; 4.75 \text{ (Z-Isomer, d, 1.2H, 9-H, } ^3J_{9/\text{NH}} = 5.5 \text{ Hz)}; 6.67 \text{ (s, 2H, 1-H)}; 6.96 \text{ (br s, 1H, NH)}; 7.23 - 7.38 \text{ (m, 5H, H}_{\text{arom.}}).$

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.1/ 23.3 (*E/Z*-Isomere C-5); 27.9/ 28.1/ 28.1/ 28.2 (*E/Z*-Isomere C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 47.2/ 49.3 (*E/Z*-Isomere C-9); 70.5/ 71.8 (*E/Z*-Isomere C-7); 127.5/ 127.8/ 127.9/ 128.0/ 128.8/ 128.9 (*E/Z*-Isomere C-11/ C-12/ C-13); 134.1 (C-1); 136.6/ 136.9 (*E/Z*-Isomere C-10); 170.84 (C-2); 189.9/190.9 (*E/Z*-Isomere C-8).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 332 ( $\text{M}^+$ , 1.2%); 149 (21%); 91 (100%); 65 (10%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 51.42	H 6.07	N 8.43	S 9.65
	gef.: C 51.54	H 6.15	N 8.44	S 9.94

**2.13.3 Methylthiocarbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (32)**

Nach 24 h am Rückfluss wird das Gemisch mit 20 mL Toluol verdünnt und jeweils einmal mit 10 mL 1N HCl, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und vom Lösungsmittel befreit. Den hellgelben öligen Rückstand chromatographiert man anschließend an 6.3 g Kieselgel. Als Laufmittel dient Hexan/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:2. Die Fraktionsgröße beträgt 7 mL. Aus den Fraktionen 7–12 kann das Produkt als farbloses Öl isoliert werden.

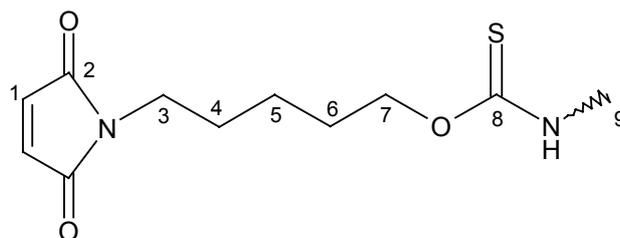
$M(\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{SO}_3) = 256.33 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 53 mg (25%)

DC:  $R_f = 0.22$  (Hexan/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3405 m (N-H); 3060 w; 2950 m; 2870w; 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1520 s; 1450 m; 1410 s; 1360 s; 1220 s; 1155 s (C=S); 1115 m; 1065 m; 830 s.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.34 - 1.45 (m, 2H, 5-H); 1.59 - 1.84 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.87 (*E*-Isomer, d, 0.96H, 9-H,  $^3J_{9/\text{NH}} = 5.1$  Hz); 3.09 (*Z*-Isomer, d, 2.04 H, 9-H,  $^3J_{9/\text{NH}} = 5.1$  Hz); 3.53 (*Z*-Isomer, t, 1.36H, 3-H,  $^3J = 7.3$  Hz); 3.54 (*E*-Isomer, t, 0.64H, 3-H,  $^3J = 7.2$  Hz); 4.41 (*Z*-Isomer, t, 1.36H, 7-H,  $^3J = 6.3$  Hz); 4.47 (*E*-Isomer, t, 0.64H, 7-H,  $^3J = 6.6$  Hz); 6.49 (br s, 1H, NH); 6.70 (s, 2H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.1/ 23.4 (*E/Z*-Isomere C-5); 27.9/ 28.1/ 28.2/ 28.2 (*E/Z*-Isomere C-4/ C-6); 29.7/ 31.8 (*E/Z*-Isomere C-9); 37.6 (C-3); 70.4/ 71.6 (*E/Z*-Isomere C-7); 134.1 (C-1); 170.9 (C-2); 190.6/ 191.4 (*E/Z*-Isomere C-8).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 257 ( $[\text{M}+1]^+$ , 2.0%); 256 ( $\text{M}^+$ , 12%); 166 (14%); 165 (68%); 111 (21%); 110 (100%); 98 (16%); 92 (70%); 82 (13%); 74 (13%); 68 (19%); 58 (17%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 51.54	H 6.29	N 10.93	S 12.51
	gef.: C 51.78	H 6.35	N 10.82	S 12.08

## 2.14 Ethyl-[5-(*N*-maleinimido)-pentyl]-kohlendäurediester (33)

In einem ausgeheizten 10 mL Schlenkrohr mit Magnetrührer und Stickstoffballon werden 477  $\mu\text{L}$  (89 mg; 98.92 g/mol; 0.90 mmol; 1.1 Äqu.) einer 20%igen Lösung von Phosgen in Toluol vorgelegt. Anschließend tropft man langsam über 45 min bei 0°C eine Mischung von 150 mg (183.21 g/mol; 0.82 mmol; 1 Äqu.) 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) und 125  $\mu\text{L}$  (119 mg; 121.18 g/mol; 0.98 mmol; 1.2 Äqu.;  $d = 0.956$  g/cm<sup>3</sup>) *N,N*-Dimethylanilin in 0.6 mL Toluol zu und lässt 2 h bei 0°C rühren, bis der Alkohol (DC) verbraucht ist.

Das überschüssige Phosgen wird durch Durchleiten eines Stickstoffstroms aus der Lösung entfernt und man gibt 114  $\mu\text{L}$  (109 mg; 121.18 g/mol; 0.90 mmol; 1.1 Äqu.;  $d = 0.956 \text{ g/cm}^3$ ) *N,N*-Dimethylanilin zu. Nun werden 72  $\mu\text{L}$  (57 mg ; 46. 07 g/mol; 1.23 mmol; 1.5 Äqu.;  $d = 0.790 \text{ g/cm}^3$ ) Ethanol zugetropft und die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.

Man verdünnt mit 10 mL Essigsäureethylester und wäscht mit jeweils 5 mL 1N HCl, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Nach dem Trocknen über  $\text{MgSO}_4$  und Filtrieren wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Das erhaltene Öl wird durch Chromatographie (Hexan/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:1; Fraktionen à 7 mL) an 7 g Kieselgel gereinigt. Aus den Fraktionen 8-12 wird nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum eine farblose Flüssigkeit isoliert, die bei  $-30^\circ\text{C}$  allmählich zu einen weißen Feststoff erstarrt.

$$M(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_5) = 255.27 \text{ g/mol}$$

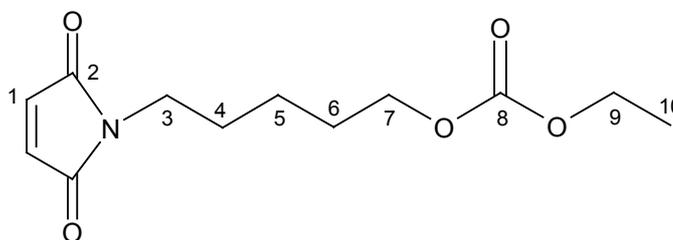
Ausbeute: 156 mg (75%)

Smp.: 32 - 33°C

DC:  $R_f = 0.23$  (Hexan/ $\text{Et}_2\text{O}$  1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3060 w (C-H<sub>olef.</sub>); 2980 m; 2880 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1745 vs (C=O, Kohlensäure-ester); 1715 vs (C=O, Maleinimid); 1600 w; 1470 m; 1450 m; 1415 s; 1370 m; 1270 s; 1160 m; 1120 m; 1015 m; 960 w; 915 w; 885 w; 835 s; 800 m.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.43 (m, 2H, 5-H); 1.31 (t, 3H, 10-H,  $^3J_{9/10} = 7.2 \text{ Hz}$ ); 1.58 - 1.74 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.53 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.2 \text{ Hz}$ ); 4.11 (t, 2H, 7-H,  $^3J = 6.5 \text{ Hz}$ ); 4.20 (q, 2H, 9-H,  $^3J_{9/10} = 7.2 \text{ Hz}$ ); 6.70 (s, 2H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 14.3 (C-10); 23.0 (C-5); 28.2/ 28.2 (C-4/ C-6); 37.7 (C-3); 63.9 (C-9); 67.5 (C-7); 134.1 (C-1); 155.2 (C-8); 170.8 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 256 ( $[\text{M}+1]^+$ , 0.4%); 255 ( $\text{M}^+$ , 3.4%); 166 (10%); 165 (36%); 137 (11%); 136 (17%); 111 (19%); 110 (100%); 99 (16%); 98 (13%); 82 (14%); 68 (14%).

Elementaranalyse: ber.: C 56.46      H 6.71      N 5.49  
gef.: C 56.51      H 6.76      N 5.51

## 2.15 3-Fluor-4-morpholin-*N*-yl-nitrobenzol (40)

In einem trockenem 50 mL Schlenkkolben mit Magnetrührer und Stickstoffballon werden 658  $\mu\text{L}$  (658 mg; 87.12 g/mol; 7.55 mmol; 1.2 Äqu.) Morpholin in 35 mL Essigsäureethylester gelöst und 1.29 mL (976 mg; 129.25 g/mol; 7.55 mmol; 1.2 Äqu.;  $d = 0.755 \text{ g/cm}^3$ ) *N,N*-Diisopropylethylamin zugegeben. Anschließend tropft man langsam 665  $\mu\text{L}$  (1.00 g; 159.09 g/mol; 6.29 mmol; 1 Äqu.;  $d = 1.503 \text{ g/cm}^3$ ) 3,4-Difluornitrobenzol zu und lässt 24 h bei Raumtemperatur rühren. Man verdünnt das Reaktionsgemisch mit 120 mL Essigsäureethylester und wäscht mit 60 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Die wässrige Phase wird zweimal mit 30 mL Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Abfiltrieren und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der erhaltene gelbe Feststoff an 33 g Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Als Laufmittel dient Toluol/EtOAc 40:1, die Fraktionsgröße beträgt 40 mL. Die Fraktionen 4–12 enthalten das Produkt, das nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum als gelber Feststoff isoliert wird.

$M(\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_3) = 226.21 \text{ g/mol}$

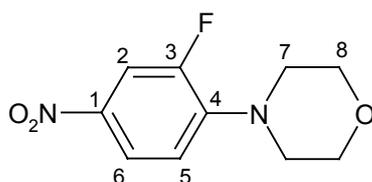
Ausbeute: 1.066 g (75%)

Smp.: 109 -110°C

DC:  $R_f = 0.23$  (Toluol/EtOAc 30:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $CH_2Cl_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3080 w, 3060 w (C-H<sub>arom.</sub>); 2960 w, 2900 w, 2860 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1600 s (C=C<sub>arom.</sub>); 1510 vs (Ar-NO<sub>2</sub>); 1450 m; 1335 vs (Ar-NO<sub>2</sub>); 1240 s; 1210 m; 1120 s ; 1080 m; 1045 w; 950 m; 920 m; 885 w; 820 w; 810 m.



$^1H$ -NMR (400 MHz;  $CDCl_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 3.29 (m, 4H, 7-H); 3.88 (m, 4H, 8-H); 6.94 (dd, 1H, 5-H;  $^3J_{5/6} = 8.9$  Hz,  $^4J_{5/F} = 8.9$  Hz); 7.91 (dd, 1H, 2-H,  $^3J_{2/F} = 13.1$  Hz,  $^4J_{2/6} = 2.8$  Hz); 7.99 (ddd, 1H, 6-H,  $^3J_{5/6} = 8.9$  Hz,  $^4J_{2/6} = 2.8$  Hz,  $^5J_{6/F} = 1.2$  Hz).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz;  $CDCl_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 49.8/ 49.9 (C-7); 66.6 (C-8); 112.6 (d, C-2,  $^2J_{2/F} = 25.9$  Hz); 116.9 (d, C-5,  $^4J_{5/F} = 3.8$  Hz); 121.0 (d, C-6,  $^3J_{6/F} = 3.1$  Hz); 140.9 (d, C-4,  $^2J_{4/F} = 9.2$  Hz); 145.5 (d, C-1,  $^3J_{1/F} = 7.6$  Hz); 153.2 (d, C-3,  $^1J_{3/F} = 249$  Hz).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 227$  ( $[M+1]^+$ , 8.1%); 226 ( $M^+$ , 83%); 168 (100%); 138 (19%); 122 (12%).

## 2.16 3-Fluor-4-morpholin-N-yl-anilin (34)

In einer Hydrierapparatur werden 900 mg Palladium/Aktivkohle (10%; 1.1fache Menge der zu hydrierenden Substanz) in 18.5 mL Essigsäureethylester bei Raumtemperatur vorgelegt und 30 min vorhydriert. Anschließend spritzt man eine Lösung von 800 mg (226.21 g/mol; 3.54 mmol) **38** in 6 mL Essigsäureethylester über ein Septum zu und verfolgt die Wasserstoffaufnahme. Innerhalb 45 min werden 238 mL H<sub>2</sub> (100% der Theorie) aufgenommen.

Man filtriert die Suspension über einen Glasfiltertrichter (P4), wäscht zweimal mit 5 mL Essigsäureethylester nach. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Trocknem am Hochvakuum erhält man das Produkt als weißen Feststoff.

$M(\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}) = 196.23 \text{ g/mol}$

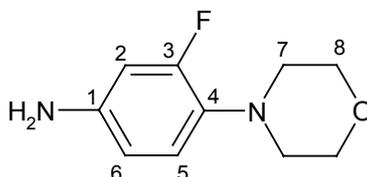
Ausbeute: 598 mg (86%)

Smp.: 120 -121°C

DC:  $R_f = 0.22$  (Toluol/EtOAc 2:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3460 m, 3380 m (N-H); 3040 w ( $\text{C-H}_{\text{arom.}}$ ); 2960 m, 2900 w, 2860 m, 2820 m ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1630 m ( $\text{C=C}_{\text{arom.}}$ ); 1580 s; 1510 s; 1450 m; 1375 w; 1310 w; 1300 w; 1220 m; 1160 m; 1120 s ; 1070 w; 1045 w; 965 w; 920 m; 845 w; 810 m.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 2.96 (m, 4H, 7-H); 3.57 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 3.85 (m, 4H, 8-H); 6.38 – 6.45 (m, 2H, 2-H, 6-H); 6.77 –6.81 (m, 1H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 51.7/ 51.8 (C-7); 67.2 (C-8); 103.9 (d, C-2,  $^2J_{2/F} = 23.65 \text{ Hz}$ ); 110.6 (d, C-6,  $^4J_{6/F} = 3.1 \text{ Hz}$ ); 120.3 (d, C-5,  $^3J_{5/F} = 4.6 \text{ Hz}$ ); 131.8 (d, C-4,  $^2J_{4/F} = 9.2 \text{ Hz}$ ); 142.7 (d, C-1,  $^3J_{1/F} = 9.9 \text{ Hz}$ ); 156.8 (d, C-3,  $^1J_{3/F} = 245 \text{ Hz}$ ).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 197$  ( $[\text{M}+1]^+$ , 9.6%); 196 ( $\text{M}^+$ , 100%); 138 (54%); 137 (14%).

---

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 61.21	H 6.68	N 14.28
	gef.: C 60.90	H 6.72	N 14.07

## 2.17 *N*-(3-Fluor-4-morpholin-*N*-yl-phenyl)-*N'*-[5-(*N*-maleinimido)-pentyl]-harnstoff (35)

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr mit Stickstoffballon, Septum und Magnetrührer löst man 100 mg (208.22 g/mol; 0.48 mmol) **11** in 1.2 mL Essigsäureethylester und spritzt 30  $\mu$ L (26 mg; 108.64 g/mol; 0.24 mmol; 0.5 Äqu.; 0.859 g/cm<sup>3</sup>) technisches Me<sub>3</sub>SiCl zu. Anschließend wird unter Rühren eine Lösung von 94 mg (196.23 g/mol; 0.48 mmol; 1 Äqu.) des Amins **34** in 0.8 mL Essigsäureethylester bei Raumtemperatur zugetropft, wobei allmählich ein Niederschlag ausfällt. Nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur sind die Edukte verbraucht (DC) und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Der hellgelbe, ölige Rückstand wird säulenchromatographisch (EtOAc/MeOH 30:1; Fraktionen à 5 mL) an 4.5 g Kieselgel gereinigt. Aus den Fraktionen 7–16 wird das Produkt nach Abdestillieren des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum als weißer Feststoff isoliert.

$M(\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_4) = 404.44 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 96 mg (50%)

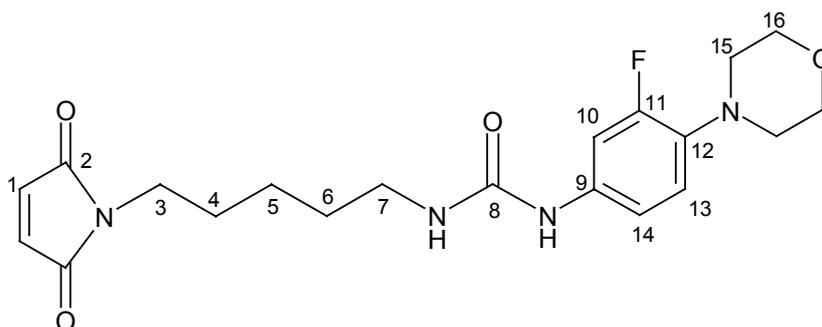
Smp.: 153-155°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.22 (EtOAc/MeOH 30:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3120 w (N-H); 2935 m, 2860 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1707 vs (C=O, Harnstoff, C=O, Maleinimid); 1645 s; 1598 m; 1556 m; 1514 s; 1449 w; 1411 m; 1376 w; 1314 w; 1251 w; 1222 m; 1165 w; 1117 m; 1047 w; 926 w; 828 w.

---



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz; DMSO- $d_6$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.18 - 1.27 (m, 2H, 5-H); 1.37 - 1.55 (m, 4H, 4-H, 6-H); 2.90 (m, 4H, 15-H); 3.03 (dt, 2H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 6.7$  Hz,  $^3J_{7/\text{NH}} = 5.5$  Hz); 3.39 (t, 2H, 3-H,  $^3J = 7.0$  Hz); 3.71 (m, 4H, 16-H); 6.14 (t, 1H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ,  $^3J_{7/\text{NH}} = 5.5$  Hz); 7.00 (s, 2H, 1-H); 6.87 - 6.97 (m, 2H, 13-H, 14-H); 7.36 - 7.41 (m, 1H, 10-H); 8.45 (s, Ar-NH-).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz; DMSO- $d_6$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.4 (C-5); 27.6/ 29.2 (C-4/ C-6); 37.0 (C-3); 38.6 (C-7); 50.8/ 50.9 (C-15); 66.2 (C-16); 105.9 (d, C-10,  $^2J_{10/\text{F}} = 25.8$  Hz); 113.2 (d, C-14,  $^4J_{14/\text{F}} = 2.9$  Hz); 119.2 (d, C-13,  $^3J_{13/\text{F}} = 4.7$  Hz); 133.2 (d, C-12,  $^2J_{12/\text{F}} = 9.4$  Hz); 134.3 (C-1); 136.2 (d, C-9,  $^3J_{9/\text{F}} = 11.2$  Hz); 154.8 (d, C-11,  $^1J_{11/\text{F}} = 242$  Hz); 155.0 (C-8); 171.0 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 405 ( $[\text{M}+1]^+$ , 9.0%); 404 ( $\text{M}^+$ , 40%); 223 (13%); 222 (100%); 196 (57%); 165 (12%); 164 (87%); 163 (24%); 138 (31%); 110 (18%); 84 (11%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 59.40	H 6.23	N 13.85
	gef.: C 59.15	H 6.22	N 13.68

## 2.18 (3-Fluor-4-morpholin-*N*-yl-phenyl)-carbaminsäure-5-(*N*-maleinimido)-pentylester (36)

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr werden 52 mg (98.92 g/mol; 0.53 mmol; 279  $\mu\text{L}$  einer 20%igen Lösung in Toluol; 1.04 Äqu.) Phosgen in 1 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei 0°C vorgelegt und langsam eine Lösung von 100 mg (196.23 g/mol; 0.51 mmol; 1 Äqu.) **34** in 1 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  zugespritzt. Es fällt sofort ein weißer Niederschlag aus und die entstandene Suspension wird 30 min bei 0°C gerührt, wobei das Edukt verbraucht wird

(DC). Hierauf gibt man 163  $\mu\text{L}$  (118 mg; 101.19 g/mol; 1.172 mmol; 2.3 Äqu.;  $d = 0.727 \text{ g/cm}^3$ ) Triethylamin zu und lässt die Reaktionsmischung weitere 15 min bei  $0^\circ\text{C}$  rühren.

Nun wird eine Lösung von 140 mg (183.21 g/mol; 0.76 mmol; 1.5 Äqu.) 5-(*N*-Maleinimido)-pentanol (**25**) in 0.5 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  zugetropft, 15 min bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt und anschließend zum Rückfluss erhitzt.

Nach 20 h bei  $40^\circ\text{C}$  verdünnt man mit 10 mL Essigsäureethylester, wäscht je einmal mit 5 mL 1N HCl, 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Die organische Phase wird über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und über Watte filtriert. Der nach dem Einrotieren erhaltene fahlgelbe Feststoff wird an 8.7 g Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Es werden jeweils 15 Fraktionen à 8 mL mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  20:1 und anschließend mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  10:1 genommen. Aus den Fraktionen 8–24 kann das Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{FN}_3\text{O}_5) = 405.43 \text{ g/mol}$

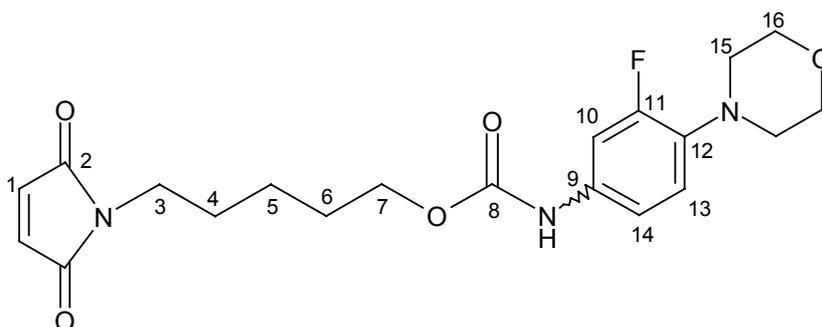
Ausbeute: 187 mg (91%)

Smp.: 143 -  $144^\circ\text{C}$

DC:  $R_f = 0.21$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  9:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3410 m, 3340 w (N-H); 3040 w ( $\text{C-H}_{\text{arom./olef.}}$ ); 2940 m, 2860 m ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1725 s (C=O, Urethan); 1710 vs (C=O, Maleinimid); 1630 w; 1590 m; 1520 s; 1440 w; 1410 m; 1380 w; 1210 s; 1160 w; 1115 m; 1070 w; 925 m; 830 m.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.34 - 1.45 (m, 2H, 5-H); 1.56 - 1.73 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.03 (m, 4H, 15-H); 3.55 (m, 2H, 3-H); 3.86 (m, 4H, 16-H); 4.15 (m, 2H, 7-H); 6.69 (s, 2H, 1-H); 6.85 - 6.90 (m, 1H, 13-H); 6.99 (br s, 1H, NH); 7.02 - 7.04 (m, 1H, 14-H); 7.29 - 7.32 (m, 1H, 10-H).

 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.0/ 23.5 (*E/Z*-Isomere C-5); 28.0/ 28.3 (*E/Z*-Isomere C-4); 32.1 (C-6); 37.6/ 37.7 (*E/Z*-Isomere C-3); 51.2/ 51.2 (C-15); 65.2 /62.6 (*E/Z*-Isomere C-7); 67.0 (C-16); 107.7/ 107.8 (*E/Z*-Isomere, C-10, d,  $^2J_{10/F} = 28.9$  Hz/  $^2J_{10/F} = 28.2$  Hz); 114.4 (C-14); 119.0 (d, C-13,  $^3J_{13/F} = 4.6$  Hz); 133.5 (d, C-12,  $^2J_{12/F} = 10.7$  Hz); 134.1 (C-1); 135.6 (d, C-9,  $^3J_{9/F} = 9.9$  Hz); 153.6 (C-8); 155.7 (d, C-11,  $^1J_{11/F} = 245$  Hz); 170.9 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 406 ( $[\text{M}+1]^+$ , 19%); 405 ( $\text{M}^+$ , 78%); 240 (11%); 223 (14%); 222 (100%); 165 (10%); 164 (82%); 163 (20%); 111 (10%); 110 (37%); 99 (12%); 85 (12%).

Elementaranalyse: ber.: C 59.25      H 5.97      N 10.37

gef.: C 58.91      H 6.01      N 10.29

**2.19 N-(3-Fluor-4-morpholin-*N'*-yl-phenyl)-maleinimid (37)**

In einem ausgeheizten 25 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler, Magnetrührer und  $\text{N}_2$ -Ballon werden 50 mg (98.06 g/mol; 0.51 mmol) Maleinsäureanhydrid (**1**) in 3.5 mL Benzol gelöst und anschließend 100 mg (196.23 g/mol; 0.51 mmol) des Amins **34** in 5 mL Benzol zugetropft. Dabei fällt ein gelber Niederschlag aus. Man lässt die Suspension 1 h bei 50°C rühren, bis beide Edukte verbraucht sind (DC). Dann gibt man 115 mg trockenes  $\text{ZnBr}_2$  (225.19 g/mol; 0.51 mmol; 1 Äqu.) zu und erhitzt die Reaktionsmischung bis zum Sieden. Währenddessen werden 158  $\mu\text{L}$  (123 mg; 160.41 g/mol; 0.76 mmol; 1.5 Äqu.;  $d = 0.774$  g/cm<sup>3</sup>) HMDS in 1 mL Benzol über 5 min zugetropft. Der gelbe Niederschlag geht allmählich wieder in Lösung.

Nach 2 h bei 80°C lässt man das Gemisch abkühlen, verdünnt mit 30 mL Essigsäureethylester und wäscht einmal mit 0.5 N HCl. Die wässrige Phase wird mit

festem  $\text{KHCO}_3$  auf  $\text{pH} = 9$  gebracht und einmal mit 10 mL Essigsäureethylester extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen Phasen je einmal mit 20 mL 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung, trocknet über  $\text{MgSO}_4$  und filtriert ab.

Der nach dem Eindampfen erhaltene gelbe Feststoff wird an 4.5 g Kieselgel (Toluol/EtOAc 8:1; Fraktionen à 4 mL) chromatographiert. Aus den Fraktionen 4–17 kann das Produkt nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum als hellgelber Feststoff gewonnen werden.

$M(\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_3) = 276.27 \text{ g/mol}$

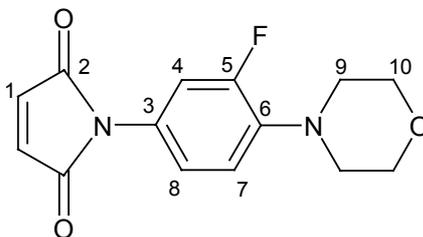
Ausbeute: 123 mg (87%)

Smp.: 204 - 205°C

DC:  $R_f = 0.34$  (Toluol/EtOAc 2:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3040 w ( $\text{C-H}_{\text{arom./olef.}}$ ); 2960 m, 2895 w, 2860 m, 2830 m ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1715 vs ( $\text{C=O}$ ); 1580 w; 1510 s; 1440 m; 1400 m; 1375 m; 1335 w; 1300 w; 1240 m; 1220 w; 1145 m; 1115 m; 1060 w; 1045 w; 935 m; 860 m; 825 m.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 3.11 (m, 4H, 9-H); 3.87 (m, 4H, 10-H); 6.84 (s, 2H, 1-H); 6.99 (m, 1H, 7-H); 6.08 - 6.10 (m, 2H, 4-H, 8-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 50.7/ 50.8 (C-9); 66.90 (C-10); 114.5 (d, C-4,  $^2J_{4/F}$  = 23.7 Hz); 118.6 (d, C-7,  $^3J_{7/F}$  = 4.6 Hz); 122.1 (d, C-8,  $^4J_{8/F}$  = 3.1 Hz); 125.2 (d, C-6,  $^2J_{6/F}$  = 9.9 Hz); 134.2 (C-1); 139.7 (d, C-3,  $^3J_{3/F}$  = 8.4 Hz); 155.1 (d, C-5,  $^1J_{5/F}$  = 247 Hz); 169.3 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 277 ( $[\text{M}+1]^+$ , 15%); 276 ( $\text{M}^+$ , 100%); 219 (11%); 218 (83%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 60.87	H 4.73	N 10.14
	gef.: C 60.84	H 4.62	N 10.06

## 2.20 5-(*N*-Maleinimido)-pentyl-carbaminsäure-thiophen-2'-yl-methylester (44)

Zu einer Lösung von 100 mg (208.22 g/mol; 0.48 mmol) 5-(*N*-Maleinimido)-pentylisocyanat (**11**) in 1.1 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  in einem 10 mL Schlenkrohr mit Magnetrührer, Septum und Stickstoffballon werden 30  $\mu\text{L}$  (26 mg; 108.64 g/mol; 0.24 mmol; 0.5 Äqu.; 0.859 g/cm<sup>3</sup>) technisches  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  zugegeben. Anschließend tropft man 68  $\mu\text{L}$  (114.17 g/mol; 0.72 mmol; 1.5 Äqu.;  $d = 1.207 \text{ g/cm}^3$ ) 2-Hydroxymethylthiophen zu und lässt bei Raumtemperatur rühren. Es bildet sich allmählich ein weißer Niederschlag und nach 6 h wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Die Reinigung des erhaltenen Rohprodukts erfolgt durch Chromatographie an 4.5 g Kieselgel. Als Laufmittel wird Toluol/EtOAc 9:1 verwendet. Die Fraktionsgröße beträgt jeweils 5 mL. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man aus den Fraktionen 6-13 das Produkt zunächst als farblose Flüssigkeit, die nach längerem Trocknen am Hochvakuum zu einem weißen Feststoff erstarrt.

$M(\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}) = 322.39 \text{ g/mol}$

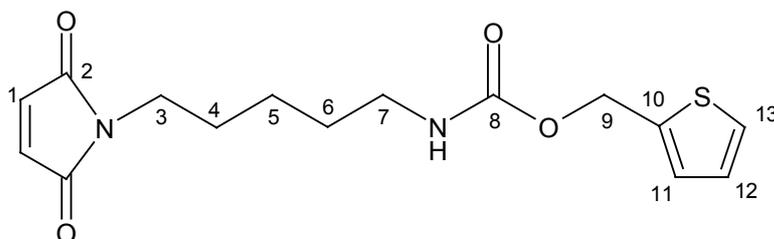
Ausbeute: 116 mg (75%)

Smp.: 46 - 47°C

DC:  $R_f = 0.20$  (Toluol/EtOAc 4:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3450 m (N-H); 3050 w (C-H<sub>arom./olef.</sub>); 2940 m, 2860 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1715 vs (C=O, Urethan; C=O, Maleinimid); 1600 w; 1515 s; 1440 m; 1410 s; 1370 m; 1230 s; 1130 m; 1030 w; 860 w; 830 s.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.26 - 1.33 (m, 2H, 5-H); 1.49 - 1.64 (m, 4H, 4-H, 6-H); 3.37 (dt, 2H, 7-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7/NH</sub> = 6.6 Hz); 3.50 (t, 2H, 3-H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz); 4.80 (br s, 1H, NH); 5.23 (s, 2H, 9-H); 6.67 (s, 2H, 1-H); 6.98 (dd, 1H, 12-H, <sup>3</sup>J<sub>12/13</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>11/12</sub> = 3.4 Hz); 7.08 (dd, 1H, 11-H, <sup>3</sup>J<sub>11/12</sub> = 3.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>11/13</sub> = 1.0 Hz); 7.30 (dd, 1H, 13-H, <sup>3</sup>J<sub>12/13</sub> = 4.9 Hz, <sup>4</sup>J<sub>11/13</sub> = 1.0 Hz).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 23.8 (C-5); 28.2/ 29.4 (C-4/ C-6); 37.6 (C-3); 40.9 (C-7); 60.8 (C-9); 126.6/ 127.8/ 128.8 (C-11/ C-12/ C-13); 134.0 (C-8); 138.8 (C-10); 156.1 (C-8); 170.8 (C-2).

Massenspektrum (FAB):

$m/z$  = 323 ([M+1]<sup>+</sup>, 4.9%); 279 (12%); 210 (10%); 154 (100%); 97 (62%); 77 (19%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 55.89	H 5.63	N 8.69	S 9.95
	gef.: C 55.84	H 5.62	N 8.65	S 9.79

**2.21 6-(N-Maleinimido)-hexansäure-thiophen-2'-yl-methylester (45)**

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr mit Magnetrührer, N<sub>2</sub>-Ballon und Septum werden 100 mg (229.66 g/mol; 0.44 mmol) 6-(N-Maleinimido)-hexansäurechlorid (**9**) in



12-H,  ${}^3J_{12/13} = 5.2$  Hz,  ${}^3J_{11/12} = 3.5$  Hz); 7.08 (dd, 1H, 11-H,  ${}^3J_{11/12} = 3.5$  Hz,  ${}^4J_{11/13} = 1.2$  Hz); 7.31 (dd, 1H, 13-H,  ${}^3J_{12/13} = 5.2$  Hz,  ${}^4J_{11/13} = 1.2$  Hz).

${}^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 24.3 (C-5); 26.2/ 28.2 (C-4/ C-6); 34.0 (C-7); 37.6 (C-3); 60.4 (C-9); 126.7/ 126.8/ 128.0 (C-11/ C-12/ C-13); 134.0 (C-8); 138.1 (C-10); 170.8 (C-2); 173.1 (C-8).

Massenspektrum (FAB):

$m/z = 308$  ( $[\text{M}+1]^+$ , 4.4%); 195 (13%); 210 (10%); 110 (10%); 97 (100%).

Elementaranalyse:

ber.:	C 58.62	H 5.58	N 4.56	S 10.43
gef.:	C 58.50	H 5.59	N 4.57	S 10.57

### 3 Synthese von *N*-[2-(4-Acetyl-phenyl)-4,5-dihydro-oxazol-5-ylmethyl]-acetamid (48)

#### 3.1 4-Acetyl-benzoylchlorid (49)

Man suspendiert 1.00 g (164.12 g/mol; 6.09 mmol) 4-Acetyl-benzoesäure in 22 mL  $\text{CHCl}_3$  in einem ausgeheizten 50 mL Schlenkkolben mit Rückflusskühler, Magnetrührer und Blubberer und fügt 757  $\mu\text{L}$  (1.08 g; 126.93 g/mol; 8.53 mmol; 1.4 Äqu.;  $d = 1.431 \text{ g/cm}^3$ ) Oxalylchlorid zu. Die Suspension wird zum Sieden erhitzt, wobei ab  $50^\circ\text{C}$  eine starke Gasentwicklung einsetzt und nach 5 min eine klare Lösung entsteht. Nach 15 min am Rückfluss ist die Gasentwicklung beendet. Das Lösungsmittel und überschüssiges Oxalylchlorid werden nach 20 min abdestilliert und der erhaltene weiße Feststoff am Hochvakuum getrocknet. Da das Produkt gemäß  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bereits rein ist, kann auf eine weitere Reinigung verzichtet werden.

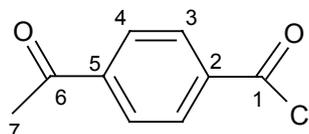
$M(\text{C}_9\text{H}_7\text{ClO}) = 182.61 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 1.12 g (quantitativ)

Smp.: 61 -  $63^\circ\text{C}$

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3050 w ( $\text{C-H}_{\text{arom./olef.}}$ ); 2995 w ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1770 s ( $\text{C=O}$ , Säurechlorid); 1690 s ( $\text{C=O}$ , Keton); 1565 w; 1490 w; 1400 m; 1350 m; 1300 m; 1240 w; 1200 s; 1170 m; 1070 w; 1010 w; 955 w; 880 s; 845 m; 645m.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 2.67 (s, 3H, 7-H); 8.07 (d, 2H, 4-H,  $^3J_{3/4} = 3.4 \text{ Hz}$ ); 8.21 (d, 2H, 3-H,  $^3J_{3/4} = 3.4 \text{ Hz}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 27.0 (C-7); 128.6 (C-4); 131.5 (C-3); 136.5 (C-2); 141.8 (C-5); 167.9 (C-1); 197.0 (C-6).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 182$  ( $M^+$ , 0.4%); 164 (12%); 149 (100%); 147 (15%); 121 (19%); 65 (13%); 43 (17%).

**3.2 2,3-Dibrom-propylamin Hydrobromid (50)**

Zu einer Lösung von 2.63 mL (2.00 g; 57.10; 35.03 mmol) Allylamin in 10 mL  $H_2O$  tropft man unter Rühren bei  $0^\circ C$  langsam wässrige HBr (47%; ca. 4.5 mL) bis zur sauren Reaktion zu. Anschließend werden über 15 min 1.8 mL  $Br_2$  (5.60 g; 159.82 g/mol; 35.03 mmol; 1 Äqu.;  $d = 3.11 \text{ g/cm}^3$ ) zugegeben und die Reaktionsmischung bei  $0^\circ C$  weitergerührt. 15 min nach beendeter Zugabe beginnt allmählich ein weißer Feststoff auszufallen.

Nach 45 min wird der Niederschlag abfiltriert und mit  $H_2O$  und  $Et_2O$  gewaschen. Aus dem Filtrat kann nach Entfernen des Lösungsmittels und dreimaligen Verreiben mit je 10 mL  $Et_2O$  zusätzliches Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

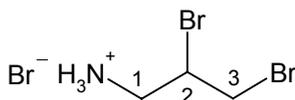
$M(C_3H_8Br_3N) = 297.80 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 10.44 g (quantitativ)

Smp.: 169 -  $170^\circ C$

IR (KBr):

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3004 \text{ s} (\text{NH}_3^+)$ ; 2947 s, 2861 s ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1976 m ( $\text{NH}_3^+$ ); 1590 s; 1475 s; 1441 m; 1429 m; 1224 w; 1169 m; 1093 m; 1053 w; 962 m; 883 m.

 $^1H$ -NMR (300 MHz;  $CD_3OD$ ):

$\delta$  [ppm] = 3.36 (dd, 1H, 1-H,  $^2J = 13.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{1/2} = 9.5 \text{ Hz}$ ); 3.72 (dd, 1H, 1-H,  $^2J = 13.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{1/2} = 3.3 \text{ Hz}$ ); 3.88 (dd, 1H, 3-H,  $^2J = 11.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{2/3} = 8.4 \text{ Hz}$ ); 4.02 (dd, 1H, 3-H,  $^2J$

= 11.1 Hz,  ${}^3J_{2/3} = 4.6$  Hz); 4.56 (dddd, 1H, 2-H,  ${}^3J_{1/2} = 9.5$  Hz,  ${}^3J_{2/3} = 8.4$  Hz,  ${}^3J_{2/3} = 4.6$  Hz,  ${}^3J_{1/2} = 3.3$  Hz); 4.82 (br s, 3H,  $\text{NH}_3^+$ ).

${}^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):

$\delta$  [ppm] = 34.2 (C-3); 45.6 (C-1); 48.0 (C-2).

Massenspektrum (EI,  $M^+ = \text{R-NH}_3^+$ ):

$m/z = 220$  ( $M^+$ , 2x  ${}^{81}\text{Br}$ , 33%); 218 ( $M^+$ ,  ${}^{81}\text{Br} + {}^{79}\text{Br}$ , 69%); 220 ( $M^+$ , 2x  ${}^{79}\text{Br}$ , 37%); 138 (48%); 136 (50%); 82 (97%); 81 (50%); 80 (100%); 79 (50%); 56 (80%); 54 (18%); 43 (13%); 42 (11%); 41 (10%).

### 3.3 4-Acetyl-*N*-(2,3-Dibromo-propyl)-benzamid (51)

In einem 100 mL Dreihalskolben mit Magnetrührer und 2 Tropftrichtern werden 700 mg (297.80 g/mol; 2.35 mmol) 2,3-Dibrom-propylamin Hydrobromid (**50**) in 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$  gelöst und mit einem Eisbad gekühlt. Anschließend gibt man gleichzeitig über 30 min 472 mg (182.61 g/mol; 2.59 mmol; 1.1 Äqu.) 4-Acetyl-benzoylchlorid (**49**) in 14 mL  $\text{CHCl}_3$  und 18 mL gesättigte  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung unter Rühren zu. Nach beendeter Zugabe wird noch 2 weitere Stunden bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt.

Anschließend verdünnt man die Reaktionsmischung mit 30 mL  $\text{CHCl}_3$  und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit 15 mL  $\text{CHCl}_3$  extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden je einmal mit 30 mL 0.5N HCl und 10%iger NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet über  $\text{MgSO}_4$ , filtriert ab und destilliert das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab. Der so erhaltene weiße Feststoff ist laut  ${}^1\text{H-NMR}$ -Spektrum rein und wird ohne weitere Reinigung für nachfolgende Reaktionen eingesetzt.

Für die Elementaranalyse werden 100 mg des Rohproduktes an 3 g Kieselgel (Toluol/EtOAc 6 : 1; Fraktionen à 3 mL) chromatographiert. Aus den Fraktionen 10–13 können 96 mg des Produkts als weißer Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{NO}_2) = 363.05$  g/mol

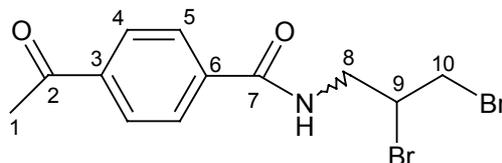
Ausbeute: 854 mg (quantitativ)

Smp.: 143 - 144°C

DC:  $R_f = 0.34$  (Toluol/EtOAc 2 :1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3330 (N-H); 3050 w ( $\text{C-H}_{\text{arom}}$ ); 2924 s, 2854 s ( $\text{C-H}_{\text{aliph.}}$ ); 1680 s (C=O, Keton); 1640 s (Amid I); 1534 s (Amid II); 1462 s; 1377 m; 1319 w; 1299 w; 1268 m; 1188 w; 1150 w; 1110 w; 1017 w; 958 m; 855 m; 845 m; 770 w; 721 w; 657 m.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz; DMSO- $d_6$ ):

$\delta$  [ppm] = 2.62 (s, 3H, 1-H); 3.66 – 3.87 (m, 2H, 8-H); 4.02 (d, 2H, 10-H,  $^3J = 5.8$  Hz); 4.61 (m, 1H, 9-H); 7.99 (d, 2H, 4-H,  $^3J_{4/5} = 8.6$  Hz); 8.05 (d, 2H, 5-H,  $^3J_{4/5} = 8.6$  Hz); 8.99 (br s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz; DMSO- $d_6$ ):

$\delta$  [ppm] = 26.9/ 27.0 (*E/Z*-Isomere C-1); 35.9/ 36.4 (*E/Z*-Isomere C-10); 44.5/ 44.6 (*E/Z*-Isomere C-8); 52.1/ 52.2 (*E/Z*-Isomere C-9); 127.6/ 128.1/ 128.2/ 128.4 (*E/Z*-Isomere C-4/ C-5); 132.6/ 132.7 (*E/Z*-Isomere C-6); 137.6/ 137.7 (*E/Z*-Isomere C-3); 165.7/ 165.8 (*E/Z*-Isomere C-7); 197.6/ 197.7 (*E/Z*-Isomere C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 366 ( $[\text{M}+1]^+$ ,  $2 \times {}^{81}\text{Br}$ , 0.3%); 364 ( $[\text{M}+1]^+$ ,  ${}^{81}\text{Br} + {}^{79}\text{Br}$ , 0.7%); 362 ( $[\text{M}+1]^+$ ,  $2 \times {}^{79}\text{Br}$ , 0.3%); 284 (35%); 283 (13%); 282 (35%); 268 (16%); 266 (16%); 202 (16%); 176 (10%); 148 (10%); 147 (100%); 104 (11%); 43 (10%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.:	C 39.70	H 3.61	N 3.86	Br 44.02
	gef.:	C 39.68	H 3.63	N 3.84	Br 44.06

### 3.4 2-(4-Acetyl-phenyl)-5-(brommethyl)-4,5-dihydro-oxazol (52)

In einen trockenen 25 mL Schlenkkolben mit N<sub>2</sub>-Ballon und Magnetrührer werden zunächst 150 mg (363.05 g/mol; 0.41 mmol) **51** unter leichtem Erwärmen in 9 mL CH<sub>3</sub>CN gelöst. Anschließend gibt man portionsweise 300 mg KF auf Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (5.5 mmol KF/g; 1.65 mmol; 4 Äqu.) zu und rührt die entstandene Suspension bei Raumtemperatur.

Nach 1 h wird das Gemisch über Celite abfiltriert, zweimal mit 5 mL CH<sub>3</sub>CN nachgewaschen und das Lösungsmittel abdestilliert.

Der so gewonnene grauweiße Feststoff wird an 3.7 g Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Die Fraktionsgröße beträgt 5 mL, als Laufmittel wird Toluol/EtOAc 5:1 verwendet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Trocknen am Hochvakuum erhält man aus Fraktionen 7–17 das Produkt als weißen Feststoff.

$M(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrNO}_2) = 282.14 \text{ g/mol}$

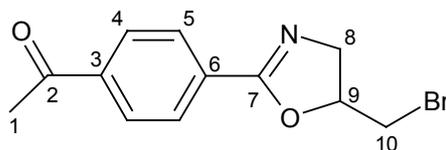
Ausbeute: 91 mg (78%)

Smp.: 109 - 110°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.26 (Toluol/EtOAc 2:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3050 w (C-H<sub>arom</sub>); 2924 w, 2854 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1690 vs (C=O, Keton); 1650 s (C=N); 1615 m; 1570 w; 1520 m; 1410 m; 1365 m; 1340 m; 1250 m; 1085 s; 1070 s; 1020 w; 960 m; 860 m.



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 2.63 (s, 3H, 1-H); 3.54 (dd, 1H, 8-H, <sup>2</sup>J = 10.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>8/9</sub> = 6.0 Hz); 3.58 (dd, 1H, 8-H, <sup>2</sup>J = 10.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>8/9</sub> = 5.1 Hz); 3.95 (dd, 1H, 10-H, <sup>2</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>9/10</sub> = 6.9 Hz);

4.23 (dd, 1H, 10-H,  $^2J = 15.5$  Hz,  $^3J_{9/10} = 9.7$  Hz); 4.98 (dddd, 1H, 9-H,  $^3J_{9/10} = 9.7$  Hz,  $^3J_{9/10} = 6.9$  Hz,  $^3J_{8/9} = 6.0$  Hz,  $^3J_{8/9} = 5.1$  Hz); 7.97 - 8.05 (m, 4H, 4-H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 26.8 (C-1); 33.6 (C-10); 59.5 (C-8); 78.1 (C-9); 128.3/ 128.5 (C-4/ C-5); 131.4 (C-6); 139.2 (C-3); 162.9 (C-7); 197.5 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 284 ( $[\text{M}+1]^+$ ,  $^{81}\text{Br}$ , 8.8%); 283 ( $\text{M}^+$ ,  $^{81}\text{Br}$ , 48%); 282 ( $[\text{M}+1]^+$ ,  $^{79}\text{Br}$ , 9.5%); 283 ( $\text{M}^+$ ,  $^{79}\text{Br}$ , 48%); 269 (12%); 268 (97%); 267 (12%); 266 (100%); 202 (70%); 188 (13%); 160 (13%); 159 (32%); 147 (19%); 146 (36%); 118 (10%); 104 (11%); 103 (10%); 43 (17%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.:	C 51.09	H 4.29	N 4.97	Br 28.32
	gef.:	C 51.21	H 4.22	N 4.97	Br 27.97

### 3.5 [2-(4-Acetyl-phenyl)-4,5-dihydro-oxazol-5-yl]-methylazid (53)

In einem ausgeheizten 10 mL Schlenkrohr mit Rückflusskühler; Stickstoffballon und Magnetrührer werden 70 mg (282.14 g/mol; 0.25 mmol) **52** in 1.7 mL DMF vorgelegt und 64 mg (65.01 g/mol; 0.99 mmol; 4 Äqu.)  $\text{NaN}_3$  zugegeben. Die Reaktionsmischung wird anschließend auf 75°C erhitzt.

Nach 16 h ist das Edukt verbraucht (DC) und man lässt abkühlen. Das Gemisch wird nun in 7 mL  $\text{H}_2\text{O}$  aufgenommen und zweimal mit 12 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und über Watte filtriert.

Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der gelbe ölige Rückstand an 2 g Kieselgel chromatographiert. Als Laufmittel dient Toluol/EtOAc 6:1. Es werden Fraktionen à 2 mL genommen. Aus den Fraktionen 7-14 wird nach dem Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als fahlgelber Feststoff gewonnen.

$M(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2) = 244.25$  g/mol

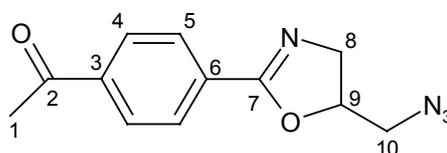
Ausbeute: 60 mg (99%)

Smp.: 59 – 61°C

DC:  $R_f = 0.22$  (Toluol/EtOAc 2:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3040 w (C-H<sub>arom</sub>); 2940 m, 2880 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 2100 vs (Azid); 1680 vs (C=O, Keton); 1645 s (C=N); 1610 m; 1565 m; 1505 w; 1410 m; 1355 m; 1265 s; 1085 s; 1070 s; 1020 m; 990 w; 960 m; 910 m; 855 m; 675 m.



<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 2.63 (s, 3H, 1-H); 3.46 (dd, 1H, 8-H, <sup>2</sup> $J = 13.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{8/9} = 5.7$  Hz); 3.53 (dd, 1H, 8-H, <sup>2</sup> $J = 13.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{8/9} = 4.1$  Hz); 3.86 (dd, 1H, 10-H, <sup>2</sup> $J = 15.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{9/10} = 7.0$  Hz); 4.19 (dd, 1H, 10-H, <sup>2</sup> $J = 15.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{9/10} = 10.0$  Hz); 4.93 (dddd, 1H, 9-H, <sup>3</sup> $J_{9/10} = 10.0$  Hz, <sup>3</sup> $J_{9/10} = 7.0$  Hz, <sup>3</sup> $J_{8/9} = 5.7$  Hz, <sup>3</sup> $J_{8/9} = 4.1$  Hz); 7.99 (d, 2H, 4-H, <sup>3</sup> $J_{4/5} = 8.6$  Hz); 8.04 (d, 2H, 5-H, <sup>3</sup> $J_{4/5} = 8.6$  Hz).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 26.8 (C-1); 53.9 (C-10); 57.9 (C-8); 78.5 (C-9); 128.3/ 128.5 (C-4/ C-5); 131.3 (C-6); 139.2 (C-3); 162.9 (C-7); 197.5 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 245$  ([M+1]<sup>+</sup>, 6.8%); 202 (19%); 189 (20%); 188 (73%); 187 (100%); 173 (12%); 172 (98%); 160 (14%); 159 (18%); 147 (23%); 146 (20%); 144 (16%); 119 (11%); 118 (68%); 117 (13%); 116 (20%); 103 (10%); 91 (11%); 90 (14%); 89 (16%); 76 (10%); 71 (16%); 43 (70%).

Massenspektrum (EI) - Hochauflösung: [M+1]<sup>+</sup> : ber.: 245.1029 u  
gef.: 245.1034 u

---

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 59.01	H 4.95	N 22.94
	gef.: C 59.07	H 4.97	N 22.55

### 3.6 ***N***-[2-(4-Acetyl-phenyl)-4,5-dihydro-oxazol-5-yl-methyl]-acetamid

In einer Hydrierapparatur werden 100 mg Palladium auf Aktivkohle (10 Gew% Pd) in 2 mL Essigsäureethylester 30 min bei 0°C vorhydriert. Anschließend spritzt man über ein Septum eine Lösung von 100 mg (244.25 g/mol; 0.41 mmol) des Azids **53** in 0.75 mL Essigsäureethylester zu und rührt bei 0°C. Nach 1.5 h ist auf dem DC kein Edukt mehr zu erkennen und die Suspension wird über einen Glasfiltertiegel (P4) filtriert und dreimal mit 1 mL Essigsäureethylester nachgewaschen.

Die erhaltene Lösung wird unter Stickstoff auf 0°C gekühlt und es werden unter Rühren zuerst 38 µL (37 mg; 79.10 g/mol; 0.47 mmol; 1.15 Äqu.;  $d = 0.983 \text{ g/cm}^3$ ) Pyridin und dann 45 µL (48 mg; 102.09 g/mol; 0.47 mmol; 1.15 Äqu.;  $d = 1.08 \text{ g/cm}^3$ ) Essigsäureanhydrid zugegeben. Man rührt 30 min bei 0°C und weitere 30 min bei Raumtemperatur.

Zur Aufarbeitung verdünnt man mit 10 mL Essigsäureethylester und wäscht mit jeweils 5 mL 1N HCl, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Nach dem Trocknen über MgSO<sub>4</sub>, Abfiltrieren und Entfernen des Lösungsmittel wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (2 g Kieselgel; EtOAc/MeOH 10:1; Fraktionen à 2 mL) gereinigt. Aus den Fraktionen 10–21 kann nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als weißer Feststoff isoliert werden.

$$M(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2) = 260.29 \text{ g/mol}$$

Ausbeute: 72 mg (68%)

Smp.: 121 – 122°C

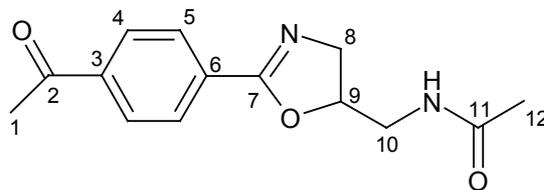
DC: R<sub>f</sub> = 0.17 (EtOAc/MeOH 10:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3415 m, 3320 w (NH); 3020 w (C-H<sub>arom</sub>); 2910 m, 2936 w, 2870 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1680 vs (C=O, Keton, Amid I); 1645 s (C=N); 1610 m; 1565 w; 1510 s (Amid

---

ll); 1420 w; 1405 m; 1350 m; 1245 m; 1080 s; 1060 s; 1010 m; 955 m; 890 w; 850 m; 670 m.



$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 2.03 (s, 3H, 12-H); 2.63 (s, 3H, 1-H); 3.37 – 3.48 (m, 1H, 8-H); 3.68 – 3.76 (m, 1H, 8-H); 3.77 (dd, 1H, 10-H,  $^2J = 15.5$  Hz,  $^3J_{9/10} = 7.5$  Hz); 4.15 (dd, 1H, 10-H,  $^2J = 15.5$  Hz,  $^3J_{9/10} = 10.0$  Hz); 4.83 – 4.92 (m, 1H, 9-H); 6.00 (br s, 1H, NH); 7.97 (d, 2H,  $^3J_{4/5} = 8.6$  Hz, 4-H); 8.02 (d, 2H,  $^3J_{4/5} = 8.6$  Hz, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 23.2 (C-12); 26.8 (C-1); 42.9 (C-10); 57.8 (C-8); 79.0 (C-9); 128.3/128.4 (C-4/ C-5); 131.5 (C-6); 139.1 (C-3); 162.8 (C-7); 170.6 (C-11); 197.5 (C-1).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 261 ( $[\text{M}+1]^+$ , 8.2%); 260 ( $\text{M}^+$ , 2.5%); 201 (17%); 189 (11%); 188 (80%); 159 (13%); 148 (15%); 147 (26%); 146 (11%); 118 (18%); 113 (100%); 73 (16%); 43 (28%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 64.60	H 6.20	N 10.76
	gef.: C 64.72	H 6.25	N 10.47

## 4 Synthese oral wirksamer Cephalosporine

### 4.1 Thioessigsäure-S-methoxymethyl-ester (78)

In einem trockenen 100 mL Schlenkcolben mit Magnetrührer und N<sub>2</sub>-Ballon werden 22.84 g (114.21 g/mol; 200 mmol) gut zermörseres Kalium-Thioacetat in 60 mL trockenem Et<sub>2</sub>O suspendiert. Zu dieser Suspension tropft man langsam bei 0°C 15.19 mL (16.10 g; 80.51 g/mol; 200 mmol; 1 Äqu.; d = 1.06 g/cm<sup>3</sup>) Chlormethylmethylether zu. Anschließend lässt man über Nacht bei Raumtemperatur rühren.

Der Niederschlag wird abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Die zurückbleibende gelbe Flüssigkeit wird durch Vakuumdestillation mit einer Mikrodestille bei einem Druck von 20 mbar gereinigt. Das Produkt kann bei einer Übergangstemperatur von 52 – 56°C als farblose Flüssigkeit isoliert werden.

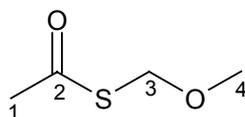
$$M(\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2\text{S}) = 120.17 \text{ g/mol}$$

Ausbeute: 16.64 g (82%)

Sdp.: 52 - 56°C (20 mbar)

IR (CDCl<sub>3</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3000 m, 2940 m, 2820 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1695 vs (C=O); 1445 m; 1415 w; 1350 m; 1300 w; 1190 m; 1135 s; 1090 vs (C-O); 1030 m; 975 m; 940 m; 900 w; 670 m; 620 s.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 2.41 (s, 3H, 1-H); 3.32 (s, 3H, 3-H); 5.05 (s, 2H, 4-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 31.1 (C-1); 57.1 (C-4); 71.9 (C-3); 194.8 (C-2).

Massenspektrum (EI):

$m/z = 120$  ( $M^+$ , 1.8%); 75 (24%); 64 (13%); 46 (13%); 45 (58%); 43 (100%).

## 4.2 Methoxy-methanthiol (79)

In einem 1L Rundkolben werden 375 mL 1N NaOH bei 0°C vorgelegt und langsam 9.01 g (120.17 g/mol; 75 mmol) Thioessigsäure-S-methoxymethylester (**78**) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 1 h bei 0°C gerührt.

Anschließend überführt man das Gemisch in einen Scheidetrichter und wäscht einmal kurz mit 75 mL  $\text{CHCl}_3$ . Die Waschphase wird verworfen und man gibt nun 75 mL  $\text{CDCl}_3$  zu. Durch vorsichtiges Zugeben von halbkonzentrierter HCl (~5N) wird der pH-Wert der wässrigen Phase auf pH = 5 eingestellt. Man extrahiert 3 – 4 min unter kräftigem Schütteln. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase noch einmal mit 10 mL  $\text{CDCl}_3$  extrahiert. Man trocknet über  $\text{MgSO}_4$  und filtriert anschließend über eine Fritte (P3) und wäscht mit wenig  $\text{CDCl}_3$  nach.

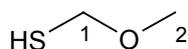
Man erhält so 91.0 mL einer Lösung des Produkts in  $\text{CDCl}_3$ . Der Gehalt wird über Integration der Signale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bestimmt. Dazu wird eine definiertes Volumen der Lösung mit 100  $\mu\text{L}$  Benzol als Standard versetzt und  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch untersucht.. Die Konzentration des Produkts beträgt 46.36 mg/mL  $\text{CDCl}_3$ -Lösung.

$M(\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}) = 78.13 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 4.22 g (72%)

IR ( $\text{CDCl}_3$ ):

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3000 \text{ m}, 2930 \text{ m}, 2820 \text{ m} (\text{C-H}_{\text{aliph.}}); 2590 \text{ w} (\text{S-H}); 1450 \text{ m}; 1425 \text{ w}; 1320 \text{ m}; 1280 \text{ m}; 1090 \text{ vs} (\text{C-O}); 1025 \text{ m}; 910 \text{ m}; 720 \text{ s}; 680 \text{ m}.$

 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.99 (t, 1H, SH,  $^3J_{1/\text{SH}} = 9.5 \text{ Hz}$ ); 3.37 (s, 3H, 2-H); 4.73 (d, 2H, 1-H,  $^3J_{1/\text{SH}} = 9.5 \text{ Hz}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 55.8 (C-2); 69.4 (C-1).

### 4.3 (6*R*,7*R*)-3-Methoxymethylthio-8-oxo-7-(2-phenoxy-acetylamino)-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (70)

In einem trockenen 100 mL Dreihalskolben mit Magnetrührer, Stickstoffballon und Septum werden 2.00 g (516.58 g/mol; 3.87 mmol) 3-Hydroxy-7-phenoxy-acetaminocephem **66** in 30 mL trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlt. Zu dieser Lösung werden nacheinander zügig 663  $\mu\text{L}$  (500 mg; 129.25 g/mol; 3.87 mmol; 1 Äqu.;  $d = 0.755 \text{ g/cm}^3$ ) *N,N*-Diisopropylethylamin und 639  $\mu\text{L}$  (1.09 g; 282.14 g/mol; 3.87 mmol; 1 Äqu.;  $d = 1.71 \text{ g/cm}^3$ ) Trifluormethansulfonsäureanhydrid bei  $-78^\circ\text{C}$  zugegeben, wobei sich die Lösung leicht gelblich färbt.

Nach 30 min Rühren bei  $-78^\circ\text{C}$  ist das Edukt verbraucht (DC) und man fügt 8.48 mL (46.36 mg/mL; 393 mg; 78.13 g/mol; 5.03 mmol; 1.3 Äqu.) einer Lösung von Methoxymethanthiol in  $\text{CDCl}_3$  zu. Zu diesem Gemisch wird nun eine Lösung von 729  $\mu\text{L}$  (551 mg; 129.25 g/mol; 4.26 mmol; 1.1 Äqu.;  $d = 0.755 \text{ g/cm}^3$ ) *N,N*-Diisopropylethylamin in 20 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  über 3 h bei  $-78^\circ\text{C}$  zugetropft.

Nach beendeter Zugabe rührt man noch 1 h bei  $-78^\circ\text{C}$  und verdünnt dann mit 600 mL Essigsäureethylester. Man wäscht mit je 300 mL 1N HCl, 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung und trocknet über  $\text{MgSO}_4$ . Nach Filtrieren und Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man einen hellbeigen brüchigen Schaum.

Das Rohprodukt wird durch Umkristallisieren aus 30 mL  $\text{CHCl}_3$  und 300 mL Hexan gereinigt. Man kann nach Filtrieren und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als hellbeigen Feststoff isolieren.

$M(\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2) = 576.70 \text{ g/mol}$

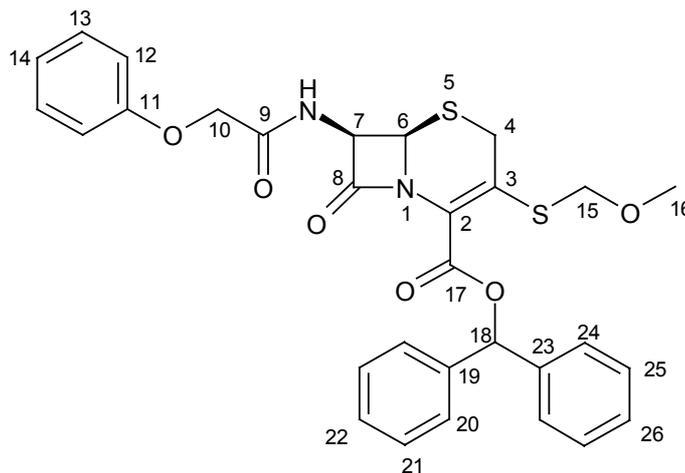
Ausbeute: 1.89 g (81%)

Smp.: 119 – 120°C

DC:  $R_f = 0.38$  (Toluol/EtOAc 4:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR ( $CH_2Cl_2$ ):

$\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3400 m (NH); 3030 w ( $C-H_{arom}$ ); 2920 w ( $C-H_{aliph.}$ ); 1780 vs ( $C=O$ ,  $\beta$ -Lactam); 1725 m ( $C=O$ , Ester); 1690 s ( $C=O$ , Amid I); 1595 m; 1510 s (Amid II); 1485 s; 1430 w; 1370 m; 1310 w; 1220 s; 1170 m; 1120 w; 1085 s; 1000 w; 950 w; 890 w.



$^1H$ -NMR (300 MHz;  $CDCl_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 3.32 (s, 3H, 16-H); 3.67 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.3$  Hz); 3.80 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.3$  Hz); 4.58 (s, 2H, 10-H); 4.69 (d, 1H, 15-H,  $^2J_{15/15'} = 12.2$  Hz); 4.79 (d, 1H, 15-H,  $^2J_{15/15'} = 12.2$  Hz); 5.06 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz); 5.83 (dd, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz,  $^3J_{7/NH} = 9.1$  Hz); 6.93 (d, 2H, 12-H,  $^3J_{12/13} = 8.9$  Hz); 6.97 (s, 1H, 18-H); 7.03 (t, 1H,  $^3J_{13/14} = 7.3$  Hz); 7.24 – 7.48 (m, 12H,  $H_{arom.}$ ).

$^{13}C$ -NMR (75MHz;  $CDCl_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 28.2 (C-4); 56.4 (C-16); 58.0 (C-6); 58.8 (C-7); 67.2 (C-10); 74.6 (C-15); 79.4 (C-18); 114.8 (C-12); 122.4 (C-14); 123.9 (C-2); 127.3/ 127.5/ 128.0/ 128.1/ 128.4/ 128.5/ 129.8 ( $C_{arom.}$ ); 134.3 (C-3) 139.4/139.5 (C-19/C-23); 156.6 (C-11); 161.0 (C-17); 164.0 (C-8); 168.7 (C-9).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 577 ( $[M+1]^+$ , 0.1%); 576 ( $M^+$ , 0.2%); 168 (41%); 167 (100%); 166 (22%); 165 (41%); 152 (14%); 94 (61%); 77 (12%); 65 (13%); 45 (19%).

---

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 62.48	H 4.89	N 4.86	S 11.12
	gef.: C 62.31	H 4.90	N 4.75	S 11.22

#### 4.4 (6*R*,7*R*)-8-Oxo-7-phenylacetylamino-3-trifluormethylsulfonyloxy-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäurediphenylmethylester (69)

In einem ausgeheizten 500 mL Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Stickstoffballon und Septum werden 15.02 g (500.57 g/mol; 30 mmol) 3-Hydroxy-7-phenylacetaminocephem **67** in 300 mL trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf –78°C gekühlt. Zu dieser Lösung gibt man bei –78°C zuerst 5.91 mL (4.46 g; 129.25 g/mol; 34.5 mmol; 1.15 Äqu.; d = 0.755 g/cm<sup>3</sup>) *N,N*-Diisopropylethylamin und anschließend zügig 5.69 mL (9.73 g; 282.14 g/mol; 34.5 mmol; 1.15 Äqu.; d = 1.71 g/cm<sup>3</sup>) Trifluormethansulfonsäureanhydrid zu. Es entsteht sofort ein hellbeiger Feststoff. Die Suspension wird unter kräftigem mechanischen Rühren weitere 30 min bei –78°C gehalten.

Anschließend verdünnt man das Reaktionsgemisch mit 2.5 L Methylenchlorid wobei eine hellgelbe Lösung entsteht. Man wäscht zweimal mit je 500 mL 10%iger NaCl-Lösung und extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen zweimal mit je 200 mL Methylenchlorid.

Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Man erhält einen beigen Feststoff. Zur Reinigung wird das Rohprodukt 1 h bei Raumtemperatur mit 300 mL Et<sub>2</sub>O verrieben. Nach Abfiltrieren, zweimaligen Waschen (100 mL Et<sub>2</sub>O und 100 mL Et<sub>2</sub>O/Pentan 1:1) und Trocknen am Hochvakuum erhält man das Produkt als weißes Pulver.

$M(C_{29}H_{24}F_3N_2O_7S_2) = 633.64 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 18.28 g (96%)

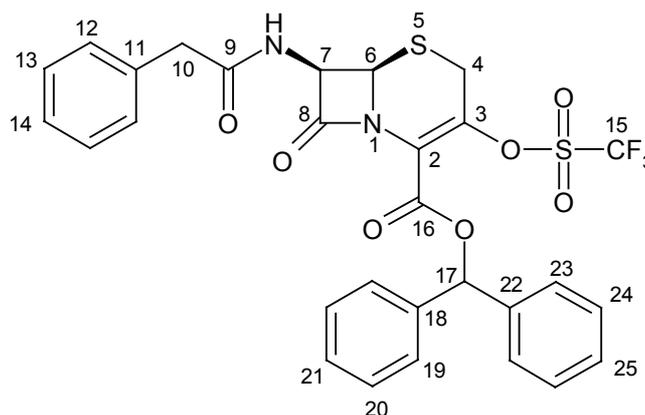
Smp.: 211 – 212°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.38 (Toluol/EtOAc 4:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

---

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3409 m, 3354 m (NH); 3064 w, 3032 w (C-H<sub>arom</sub>); 2962 w, 2925 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1793 s (C=O,  $\beta$ -Lactam); 1735 s (C=O, Ester); 1692 s (C=O, Amid I); 1604 w; 1529 m (Amid II); 1497 w; 1455 w; 1431 s; 1407 m; 1387 m; 1285 m; 1224 vs; 1170 m; 1136 s; 1096 m; 1031 w; 1012 w; 986 w; 920 m; 890 w; 826 m; 743 m; 700 m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>):

$\delta$  [ppm] = 3.51 (d, 1H, 10-H, <sup>2</sup> $J_{10/10'}$  = 13.7 Hz); 3.57 (d, 1H, 10-H, <sup>2</sup> $J_{10/10'}$  = 13.7 Hz); 3.92 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup> $J_{4/4'}$  = 17.6 Hz); 4.05 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup> $J_{4/4'}$  = 17.6 Hz); 5.33 (d, 1H, 6-H, <sup>3</sup> $J_{6/7}$  = 4.4 Hz); 5.92 (dd, 1H, 7-H, <sup>3</sup> $J_{6/7}$  = 4.4 Hz, <sup>3</sup> $J_{7/NH}$  = 7.8 Hz); 6.97 (s, 1H, 17-H); 7.24 – 7.52 (m, 15H, H<sub>arom.</sub>); 9.27 (d, 1H, NH, <sup>3</sup> $J_{7/NH}$  = 7.8 Hz).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>):

$\delta$  [ppm] = 25.5 (C-4); 41.5 (C-10); 58.1 (C-6); 58.6 (C-7); 79.52 (C-17); 120.8 (q, C-15, <sup>1</sup> $J_{15/F}$  = 321 Hz); 122.2 (C-2); 126.5/ 126.6/ 126.7/ 127.8/ 128.0/ 128.2/ 128.3/ 128.4/ 128.9 (C<sub>arom.</sub>); 135.5 (C-11); 139.1/139.4 (C-18/C-22); 140.5 (C-3); 158.0 (C-16); 165.8 (C-8); 170.8 (C-9).

#### 4.5 (6*R*,7*R*)-3-Methoxymethylthio-8-oxo-7-(2-phenyl-acetylamino)-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethyl-ester (71)

15.84 g (633.64 g/mol; 25 mmol) 3-Triflatcephem **69** werden in einem trockenen 500 mL Dreihalskolben mit mechanischem Rührer, Stickstoffballon und Septum in 150 mL trockenem DMF unter mildem Erwärmen gelöst und auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Man verdünnt zuerst mit 50 mL trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und gibt anschließend auf einmal 54.8 mL (46.36 mg/mL; 2.54 g; 78.13 g/mol; 32.5 mmol; 1.3 Äqu.) einer Lösung von Methoxymethanthiol in  $\text{CDCl}_3$  zu. Zu diesem Gemisch lässt man nun über 3.5 h eine Lösung von 4.71 mL (3.55 g; 129.25 g/mol; 27.5 mmol; 1.1 Äqu.;  $d = 0.755 \text{ g/cm}^3$ ) *N,N*-Diisopropylethylamin in 125 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei  $-78^{\circ}\text{C}$  unter gutem Rühren zutropfen. Nach beendeter Zugabe lässt man weitere 1.5 h bei  $-78^{\circ}\text{C}$  rühren bis das Edukt laut DC vollständig verbraucht ist.

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit 1 L Essigsäureethylester verdünnt und je einmal mit je 500 mL 1N HCl, 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels und kurzem Trocknen am Hochvakuum erhält man das Rohprodukt als hellgelben Schaum.

Zur Reinigung wird das Rohprodukt 12 h bei  $0^{\circ}\text{C}$  mit 250 mL  $\text{Et}_2\text{O}$ /Pentan 1:1 verrieben. Man versetzt mit weiteren 125 mL Pentan und filtriert ab, wodurch das Produkt nach Trocknen am Hochvakuum als hellgelbes Pulver isoliert werden kann.

$M(\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2) = 560.70 \text{ g/mol}$

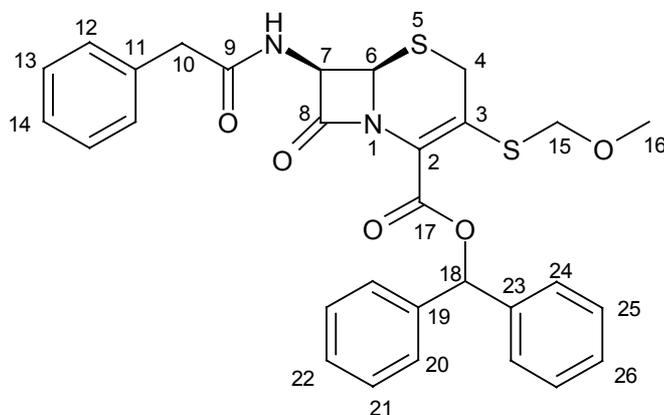
Ausbeute: 11.28 g (84%)

Smp.: 159 –  $161^{\circ}\text{C}$

DC:  $R_f = 0.27$  (Toluol/EtOAc 4:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3410 m (NH); 3030 w (C-H<sub>arom</sub>); 2940 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1780 vs (C=O,  $\beta$ -Lactam); 1730 m (C=O, Ester); 1685 s (C=O, Amid I); 1605 w; 1500 s (Amid II); 1430 m; 1370 m; 1310 w; 1220 s; 1165 m; 1120 w; 1090 s; 1010 w; 955 w; 920 w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 3.29 (s, 3H, 16-H); 3.59 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup>J<sub>4/4'</sub> = 17.1 Hz); 3.61 (d, 1H, 10-H, <sup>2</sup>J<sub>10/10'</sub> = 16.2 Hz); 3.66 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup>J<sub>4/4'</sub> = 17.1 Hz); 3.67 (d, 1H, 10-H, <sup>2</sup>J<sub>10/10'</sub> = 16.2 Hz); 4.60 (d, 1H, 15-H, <sup>2</sup>J<sub>15/15'</sub> = 12.2 Hz); 4.75 (d, 1H, 15-H, <sup>2</sup>J<sub>15/15'</sub> = 12.2 Hz); 4.97 (d, 1H, 6-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 4.6 Hz); 5.74 (dd, 1H, 7-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 4.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7/NH</sub> = 8.9 Hz); 6.50 (d, 1H, NH, <sup>3</sup>J<sub>7/NH</sub> = 8.9 Hz); 6.91 (s, 1H, 18-H); 7.21 – 7.44 (m, 15H, H<sub>arom.</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 27.8 (C-4); 43.3 (C-10); 56.4 (C-16); 58.3 (C-6); 59.3 (C-7); 74.2 (C-15); 79.5 (C-18); 123.1 (C-2); 127.2/ 127.4/ 127.6/ 128.0/ 128.1/ 128.4/ 128.5/ 129.1/ 129.5 (C<sub>arom.</sub>); 133.8 (C-11); 135.7 (C-3); 139.4/139.5 (C-19/C-23); 160.9 (C-17); 164.7 (C-8); 171.3 (C-9).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 561 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.1%); 560 (M<sup>+</sup>, 0.3%); 168 (17%); 167 (100%); 166 (22%); 165 (38%); 152 (12%); 91 (21%).

<u>Elementaranalyse:</u>	ber.: C 64.27	H 5.03	N 5.00	S 11.44
	gef.: C 64.39	H 5.10	N 4.62	S 11.72

#### 4.6 (6*R*,7*R*)-7-Amino-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (72) ausgehend von Verbindung 70

600 mg (576.70 g/mol; 1.04 mmol) 3-Methoxymethylthio-7-phenoxyacetamino-cephem **70** werden in einem trockenem 10 mL Schlenkrohr mit Argonballon und Septum in 2 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf –20°C gekühlt. Hierzu tropft man 330 µL (315 mg; 121.18 g/mol; 2.6 mmol; 2.5 Äqu.; d = 0.956 g/cm<sup>3</sup>) *N,N*-Dimethylanilin und gibt portionsweise 303 mg (208.24 g/mol; 1.46 mmol; 1.4 Äqu.) PCl<sub>5</sub> bei –20°C im Argon-Gegenstrom zu. Die Reaktionsmischung wird 1 h bei –15 bis –20°C gerührt.

Nun gibt man bei –15°C langsam 1 mL trockenes MeOH zu und lässt die Mischung bei Raumtemperatur weiterrühren. Bereits nach 15 min bildet sich ein hellgelber Niederschlag. Das Ende der Reaktion wird über Dünnschichtchromatographie ermittelt, wobei jeweils eine kleine Probe des Reaktionsansatzes sauer 15 min hydrolysiert wird und die organische Phase untersucht wird. Nach 1 h bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit 75 mL Essigsäureethylester verdünnt, mit 35 mL H<sub>2</sub>O versetzt und unter mechanischem Rühren 20 min gut durchmischt. Der pH-Wert der wässrigen Phase beträgt dabei pH ≈ 1-2.

Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 25 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wäscht man nun je einmal mit 50 mL 10%iger NaCl-Lösung und 50 mL gesättigter NaCl-Lösung. Man trocknet über MgSO<sub>4</sub>, filtriert ab und destilliert das Lösungsmittel ab.

Das gelbe Öl wird an 3.3 g Kieselgel chromatographiert (Toluol/EtOAc 5:2; Fraktionen à 3 mL). Aus den Fraktionen 8-19 kann nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als hellgelber, brüchiger Schaum isoliert werden.

$M(C_{22}H_{22}N_2O_4S_2) = 442.56 \text{ g/mol}$

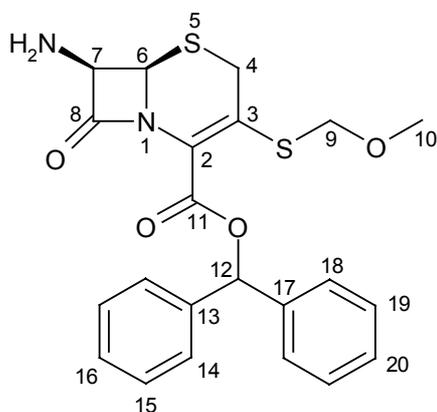
Ausbeute: 331 mg (72%)

Smp.: 79 – 82°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.16 (Toluol/EtOAc 3:2); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3400 m, 3330 w (NH); 3030 w (C-H<sub>arom</sub>); 2960 m, 2930 m (C-H<sub>aliph.</sub>); 1775 vs (C=O,  $\beta$ -Lactam); 1725 s (C=O, Ester); 1600 m; 1490 w; 1445 w; 1365 m; 1220 s; 1180 m; 1130 w; 1085 s; 1010 w; 950 w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 1.89 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>); 3.31 (s, 3H, 10-H); 3.70 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup>J<sub>4/4'</sub> = 17.4 Hz); 3.81 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup>J<sub>4/4'</sub> = 17.4 Hz); 4.64 (d, 1H, 9-H, <sup>2</sup>J<sub>9/9'</sub> = 12.2 Hz); 4.72 (d, 1H, 6-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 4.9 Hz); 4.80 (d, 1H, 9-H, <sup>2</sup>J<sub>9/9'</sub> = 12.2 Hz); 4.97 (d, 1H, 7-H, <sup>3</sup>J<sub>6/7</sub> = 4.9 Hz); 6.96 (s, 1H, 12-H); 7.24 – 7.47 (m, 10H, H<sub>arom</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz; CDCl<sub>3</sub>):

$\delta$  [ppm] = 28.3 (C-4); 56.4 (C-10); 59.3 (C-6); 63.6 (C-7); 75.1 (C-9); 79.4 (C-12); 125.2 (C-2); 127.3/ 127.7/ 128.0/ 128.3/ 128.5/ 128.5 (C<sub>arom</sub>.); 134.2 (C-3); 139.4/ 139.5 (C-13/C-17); 161.37 (C-11); 168.23 (C-8).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 443 ([M+1]<sup>+</sup>, 0.1%); 442 (M<sup>+</sup>, 0.3%); 168 (23%); 167 (100%); 166 (10%); 165 (21%).

Massenspektrum (EI, Hochauflösung, M<sup>+</sup>): ber.: 442.1021 u  
gef.: 442.1036 u

#### 4.7 (6*R*,7*R*)-7-Amino-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (72) ausgehend von Verbindung 71

In einem trockenem 50 mL Schlenkkolben mit Argonballon und Septum werden 2.80 g (560.70 g/mol; 5 mmol) 3-Methoxymethylthio-7-phenylacetamino-cephem **71** in 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf –20°C gekühlt. Hierzu tropft man anschließend 1.59 mL (1.52 g; 121.18 g/mol; 12.5 mmol; 2.5 Äqu.; d = 0.956 g/cm<sup>3</sup>) *N,N*-Dimethylanilin und gibt portionsweise über 5 min 1.46 g (208.24 g/mol; 7 mmol; 1.4 Äqu.) PCI<sub>5</sub> bei –20°C im Argon-Gegenstrom zu. Das Reaktionsgemisch färbt sich dunkel und man rührt 1.5 h bei –15 bis –20°C.

Hierauf werden bei dieser Temperatur 10 mL trockenes MeOH zugegeben und die Mischung bei Raumtemperatur weitergerührt. Nach 1.5 h beginnt ein hellgelber Niederschlag auszufallen und die dunkle Färbung verschwindet allmählich. Nach 3.5 h bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit 300 mL Essigsäureethylester verdünnt, mit 150 mL H<sub>2</sub>O versetzt und unter mechanischem Rühren 20 min gut durchmischt. Der pH-Wert der wässrigen Phase beträgt dabei pH ≈ 1-2.

Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 100 mL Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen werden je einmal mit 250 mL 10%iger NaCl-Lösung und 250 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet über MgSO<sub>4</sub>, filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Nach kurzen Trocknen am Hochvakuum wird der gelbe ölige Rückstand an 30 g Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Als Laufmittel dient Toluol/EtOAc 5:2. Es werden Fraktionen zu 30 mL genommen. Aus den Fraktionen 9-17 erhält man nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum das Produkt als hellgelben, brüchigen Schaum.

$M(C_{22}H_{22}N_2O_4S_2) = 442.56 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 1.50 g (68%)

Weitere analytische Daten siehe unter 4.6.

#### 4.8 (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-*tert*-Butoxycarbonylamino-thiazol-4-yl)-2-methoxyimino-acetyl-amino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (73)

200 mg (442.56 g/mol; 0.45 mmol) 7-Aminocephem **72** werden zusammen mit 143 mg (301.32 g/mol; 0.48 mmol; 1.05 Äqu.) (*Z*)-(2-*N*-BOC-amino-thiazol-4-yl)-2-methoxyimino-essigsäure (BOC-ATHMOA) (**84**) in 3.4 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> suspendiert und auf –20°C gekühlt. Man gibt nun über ein Septum 115 µL (105 mg; 101.15 g/mol; 1.04 mmol; 2.3 Äqu.;  $d = 0.918 \text{ g/cm}^3$ ) *N*-Methyl-morpholin zu und rührt 5 min bis eine klare Lösung entstanden ist. Anschließend werden langsam 81 µL (114 mg; 210.98 g/mol; 0.54 mmol; 1.2 Äqu.;  $d = 1.412 \text{ g/cm}^3$ ) Phenylphosphoryldichlorid zugetropft und die Mischung bei –20°C gerührt.

Nach 45 min ist die Reaktion beendet und man verdünnt mit 15 mL Essigsäureethylester. Es wird je einmal mit je 7 mL 1N HCl, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und abfiltriert.

Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und der erhaltene gelbe Schaum mittels Chromatographie (9 g Kieselgel; Toluol/EtOAc 7:2; Fraktionen à 9 mL) gereinigt. Aus den Fraktionen 6–19 wird das Produkt nach Einrotieren und Trocknen am Hochvakuum als hellgelber brüchiger Schaum isoliert.

$M(\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_3) = 725.85 \text{ g/mol}$

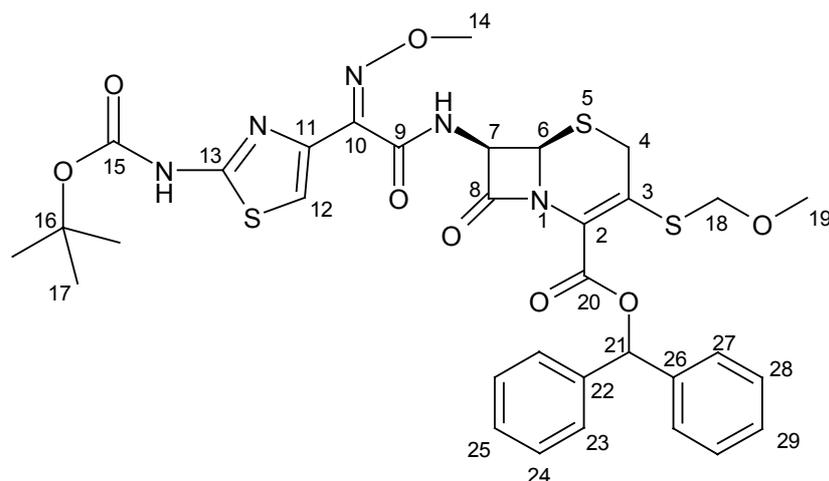
Ausbeute: 279 mg (85%)

Smp.: 119 – 121°C

DC:  $R_f = 0.25$  (Toluol/EtOAc 2:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3395 m, 3250 m (NH); 3030 w (C-H<sub>arom</sub>); 2930 m (C-H<sub>aliph</sub>); 1750 vs (C=O, β-Lactam); 1715 vs (C=O, Ester, Urethan); 1680 s (C=O, Amid I); 1600 w; 1540 s (Amid II); 1445 m; 1370 m; 1220 s; 1155 vs; 1085 s; 1045 m; 1000 w; 950 w; 890 w.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.50 (s, 9H, 17-H); 3.33 (s, 3H, 19-H); 3.71 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.2$  Hz); 3.80 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.2$  Hz); 4.10 (s, 3H, 14-H); 4.70 (d, 1H, 18-H,  $^2J_{18/18'} = 12.2$  Hz); 4.80 (d, 1H, 18-H,  $^2J_{18/18'} = 12.2$  Hz); 5.14 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz); 5.95 (dd, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz,  $^3J_{7/NH} = 8.6$  Hz); 6.92 (s, 1H, 21-H); 7.23 (s, 1H, 12-H); 7.24 – 7.49 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ); 7.73 (br s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 28.1 (C-17); 28.2 (C-4); 56.4 (C-19); 58.6 (C-6); 59.1 (C-7); 63.1 (C-14); 74.2 (C-18); 79.4 (C-21); 83.3 (C-16); 115.7 (C-12); 125.3 (C-2); 127.2/ 127.3/ 128.0/ 128.1/ 128.2/ 128.4/ 128.6 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ); 135.3 (C-3) 139.5/139.6 (C-22/C-26); 140.9 (C-11); 146.5 (C-13); 152.2 (C-15); 160.8/ 160.9/ 161.8/ 164.6 (C-8/ C-9/ C-10/ C-20).

Massenspektrum (ESI):

$m/z = 726$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100%); 484 (10%); 483 (33%); 396 (55%); 215 (14%).

Massenspektrum (ESI, Hochauflösung,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ):

ber.: 726.1726 u

gef.: 726.1724 u

#### 4.9 (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-Amino-thiazol-4-yl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl-methoxyimino)-acetylamino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (74)

In einem trockenen 25 mL Schlenkkolben mit Magnetrührer, N<sub>2</sub>-Ballon und Septum werden 443 mg (442.56 g/mol; 1.0 mmol) 7-Aminocephem **72** und 316 mg (301.32 g/mol; 1.05 mmol; 1.05 Äqu.) (*Z*)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(*tert*-butoxycarbonyl-methoxyimino)-essigsäure (ATMA) (**85**) in 7.5 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> suspendiert und auf –20°C gekühlt. Man gibt 253 µL (233 mg; 101.15 g/mol; 2.3 mmol; 2.3 Äqu.;  $d = 0.918 \text{ g/cm}^3$ ) *N*-Methyl-morpholin zu und rührt 10 min bis eine klare Lösung entstanden ist. Zu dieser Mischung werden langsam 179 µL (253 mg; 210.98 g/mol; 1.2 mmol; 1.2 Äqu.;  $d = 1.412 \text{ g/cm}^3$ ) Phenylphosphoryldichlorid zugetropft. Anschließend lässt man die Reaktionslösung 1.5 h bei –20°C rühren.

Hierauf wird die Reaktionslösung mit 30 mL Essigsäureethylester verdünnt und je einmal mit je 15 mL 1N HCl, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet über MgSO<sub>4</sub>, filtriert über Watte und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer.

Der so erhaltene hellgelbe Schaum wird an 18 g Kieselgel chromatographisch gereinigt. Man nimmt Fraktionen à 18 mL. Als Laufmittel dient Toluol/EtOAc 3:2. Das Produkt wird aus den Fraktionen 8–18 nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum als hellgelber brüchiger Schaum isoliert.

$M(\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_3) = 725.85 \text{ g/mol}$

Ausbeute: 573 mg (79%)

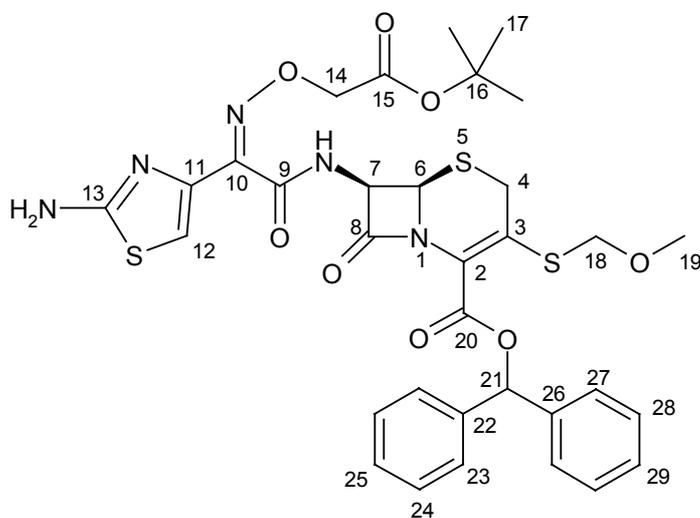
Smp.: 99 – 101°C

DC: R<sub>f</sub> = 0.15 (Toluol/EtOAc 1:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3480 \text{ m}, 3380 \text{ m}, 3250 \text{ w} (\text{NH}_2, \text{NH}); 3030 \text{ w} (\text{C-H}_{\text{arom}}); 2970 \text{ w}, 2930 \text{ m} (\text{C-H}_{\text{aliph.}}); 1780 \text{ vs} (\text{C=O}, \beta\text{-Lactam}); 1720 \text{ s} (\text{C=O}, \text{Ester}, \text{Urethan}); 1680 \text{ s} (\text{C=O}, \text{Amid})$

l); 1600 m; 1530 s (Amid II); 1450 w; 1375 s; 1220 s; 1145 s; 1120 w; 1085 vs; 1040 m; 1000 w; 950 w; 890 w; 845 w; 810 w.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.43 (s, 9H, 17-H); 3.33 (s, 3H, 19-H); 3.67 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 16.8$  Hz); 3.80 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 16.8$  Hz); 4.72 (d, 1H, 18-H,  $^2J_{18/18'} = 12.2$  Hz); 4.72 (d, 1H, 14-H,  $^2J_{14/14'} = 16.8$  Hz); 4.77 (d, 1H, 18-H,  $^2J_{18/18'} = 12.2$  Hz); 4.77 (d, 1H, 14-H,  $^2J_{14/14'} = 16.8$  Hz); 5.13 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz); 5.86 (dd, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz,  $^3J_{7/NH} = 8.6$  Hz); 6.95 (s, 1H, 21-H); 7.05 (s, 1H, 12-H); 7.15 – 7.48 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ); 8.73 (d, 1H, NH,  $^3J_{7/NH} = 8.6$  Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 28.1 (C-17); 28.4 (C-4); 56.3 (C-19); 59.1 (C-6); 59.9 (C-7); 71.4 (C-14); 74.44 (C-18); 79.2 (C-21); 83.3 (C-16); 114.1 (C-12); 123.7 (C-2); 127.3/ 127.9/ 128.1/ 128.2/ 128.4/ 128.5 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ); 136.4 (C-3); 139.5/139.6 (C-22/C-26); 141.0 (C-11); 149.9 (C-13); 161.1/ 161.9/ 164.0/ 168.2/ 170.4 (C-8/ C-9/ C-10/ C-15/ C-20).

Massenspektrum (ESI):

$m/z = 726$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100%).

Massenspektrum (ESI, Hochauflösung,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ):

ber.: 726.1726 u

gef.: 726.1716 u

#### 4.10 (2′R,6R,7R)-7-(2′-tert-Butoxycarbonylamino-2′-phenyl-acetylamino)-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure-diphenylmethylester (75)

In einem 10 mL Schlenkrohr mit, Stickstoffballon und Magnetrührer werden 100 mg (442.56 g/mol; 0.23 mmol) 7-Aminocephem **72** und 60 mg (251.59 g/mol; 0.24 mmol; 1.05 Äqu.) BOC-D-Phenylglycin (**85**) in 1 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vorgelegt und auf –20°C gekühlt. Zu dieser Suspension werden 57 µL (53 mg; 101.15 g/mol; 0.52 mmol; 2.3 Äqu.;  $d = 0.918 \text{ g/cm}^3$ ) N-Methyl-morpholin zugegeben und solange gerührt (ca. 5 min) bis eine klare Lösung entstanden ist.

Nun tropft man langsam 41 µL (57 mg; 210.98 g/mol; 0.27 mmol; 1.2 Äqu.;  $d = 1.412 \text{ g/cm}^3$ ) Phenylphosphoryldichlorid zu und rührt 30 min bei –20°C.

Die Reaktionslösung wird mit 10 mL Essigsäureethylester verdünnt und je einmal mit je 5 mL 1N HCl, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, 10%iger NaCl-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub>, Filtrieren und Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man ein hellgelben Schaum, der an 6 g Kieselgel chromatographisch gereinigt wird. Man verwendet Toluol/EtOAc 9:1 als Laufmittel und sammelt Fraktionen à 6 mL. Das Produkt kann aus den Fraktionen 5–19 nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen am Hochvakuum als hellgelber Feststoff isoliert werden.

$M(\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}_2) = 676.77 \text{ g/mol}$

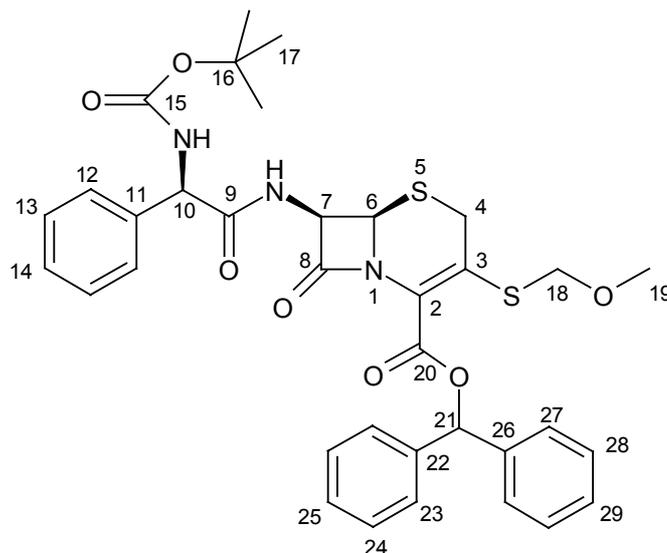
Ausbeute: 130 mg (85%)

Smp.: 180 – 182°C

DC:  $R_f = 0.14$  (Toluol/EtOAc 9:1); UV-aktiv und Anfärben im Iod

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3400 \text{ m (NH)}; 3020 \text{ w (C-H}_{\text{arom}}); 2960 \text{ w, } 2920 \text{ m (C-H}_{\text{aliph.}}); 1780 \text{ vs (C=O, } \beta\text{-Lactam)}; 1720 \text{ s (C=O, Ester; Urethan)}; 1685 \text{ s (C=O, Amid I)}; 1595 \text{ w; } 1495 \text{ s (Amid II)}; 1365 \text{ m; } 1310 \text{ w; } 1215 \text{ m; } 1160 \text{ s; } 1110 \text{ w; } 1080 \text{ s; } 1025 \text{ w; } 950 \text{ w.}$



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 1.42 (s, 9H, 17-H); 3.30 (s, 3H, 19-H); 3.57 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.4$  Hz); 3.70 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.4$  Hz); 4.65 (d, 1H, 18-H,  $^2J_{18/18'} = 12.2$  Hz); 4.76 (d, 1H, 18-H,  $^2J_{18/18'} = 12.2$  Hz); 4.96 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.9$  Hz); 5.23 (br s, 1H, NH-BOC); 5.65 (d, 1H, 10-H,  $^3J_{10/NH} = 6.1$  Hz); 5.74 (dd, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.9$  Hz,  $^3J_{7/NH} = 8.9$  Hz); 6.66 (d, 1H, NH,  $^3J_{7/NH} = 8.9$  Hz); 6.93 (s, 1H, 21-H); 7.23 – 7.45 (m, 15H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  [ppm] = 28.1 (C-4); 28.3 (C-17); 56.4 (C-19); 58.1 (C-6); 59.3 (C-7); 59.0 (C-10); 74.6 (C-18); 79.4 (C-21); 80.5 (C-16); 123.8 (C-2); 127.3/ 127.4/ 127.5/ 128.0/ 128.1/ 128.4/ 128.5/ 128.7/ 129.2 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ); 133.8 (C-3); 137.4 (C-11); 139.4/139.5 (C-22/ C-26); 155.0 (C-15); 160.9 (C-20); 164.0 (C-8); 170.6 (C-9).

Massenspektrum (EI):

$m/z$  = 676 ( $[\text{M}+1]^+$ , 0.02%); 675 ( $\text{M}^+$ , 0.1%); 168 (26%); 167 (100%); 166 (23%); 165 (38%); 152 (13%); 105 (11%); 56 (16%); 44 (34%); 41 (26%); 39 (10%).

#### 4.11 Kalium-(6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-methoxyimino-acetylamino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat (63)

In einem ausgeheizten 10 mL Schlenkkolben mit Magnetrührer und N<sub>2</sub>-Ballon werden 508 mg (725.85 g/mol; 0.70 mmol) 3-Methoxymethylthiocephem **73** in 3.5 mL Anisol gelöst. Bei 0°C gibt man nun langsam 3.5 mL CF<sub>3</sub>COOH zu und lässt die Mischung bei Raumtemperatur rühren.

Nach 3.5 h ist die Reaktion beendet (DC: Kieselgel und Reversed Phase) und die Reaktionslösung wird langsam unter Rühren zu 70 mL Pentan/Et<sub>2</sub>O 4:1 bei 0°C getropft. Der dabei entstandene hellbeige Niederschlag wird abzentrifugiert, zweimal mit 40 mL Pentan/Et<sub>2</sub>O 4:1 gewaschen, abfiltriert und kurz am Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird in 14 mL H<sub>2</sub>O suspendiert und die wässrige Phase mit festem KHCO<sub>3</sub> auf pH = 8 gebracht. Dabei geht der Feststoff allmählich in Lösung und die Mischung wird an 31 g HP-20 Diaion Polymerharz langsam chromatographiert. Es werden 7 Fraktionen mit H<sub>2</sub>O und 7 Fraktionen mit H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1 als Fließmittel gesammelt. Die Fraktionsgröße beträgt jeweils 30 mL. Die Fraktionen 8–13 werden am Rotationsverdampfer unter Hochvakuum und Trockeneiskühlung vom Lösungsmittel befreit. Man verreibt den erhaltenen amorphen Feststoff kurz mit Et<sub>2</sub>O und filtriert ab. Das Produkt kann so als hellgelbes Pulver isoliert werden.

$M(C_{15}H_{16}N_5O_8S_3K) = 497.60 \text{ g/mol}$

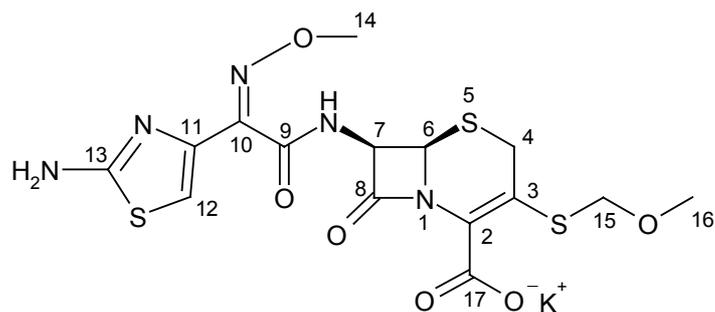
Ausbeute: 220 mg (63%)

Smp.: 194 – 197°C (Zersetzung)

DC: R<sub>f</sub> = 0.53 (H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1; Reversed Phase); UV-aktiv

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3412 m (NH); 3035 w (C-H<sub>arom</sub>); 2935 w, 2820 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1761 vs (C=O, β-Lactam); 1670 s (C=O, Amid I); 1610 vs (C=O, Carboxylat); 1530 s (Amid II); 1461 w; 1375 s; 1350 s; 1206 w; 1180 m; 1128 w; 1075 m; 1033 m; 945 w; 895 w; 841 w; 807 w; 772 w.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$  [ppm] = 3.41 (s, 3H, 16-H); 3.63 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.6$  Hz); 3.91 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.6$  Hz); 4.00 (s, 3H, 14-H); 4.76 (d, 1H, 15-H,  $^2J_{15/15'} = 11.7$  Hz); 4.94 (d, 1H, 15-H,  $^2J_{15/15'} = 11.7$  Hz); 5.27 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.8$  Hz); 5.80 (d, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.8$  Hz); 7.04 (s, 1H, 12-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$  [ppm] = 31.6 (C-4); 58.7 (C-16); 60.2 (C-6); 61.8 (C-7); 65.5 (C-14); 78.0 (C-15); 115.6 (C-3); 116.3 (C-12); 137.0 (C-2); 143.2 (C-11); 150.9 (C-11); 165.6 (C-8); 167.7 (C-9); 171.5 (C-17); 173.8 (C-10).

Massenspektrum (ESI;  $M' = (\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_3) = 459$  u = protonierte Säure):

$m/z = 460$  ( $[\text{M}' + \text{H}]^+$ , 100%).

Massenspektrum (ESI, Hochauflösung,  $[\text{M}' + \text{H}]^+$ ):

ber.: 460.0419 u

gef.: 460.0424 u

Atomspektroskopie (ICP-AES): ber.: K 7.86%

gef.: K..7.56%

#### 4.12 Dikalium-(6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-carboxy-methoxyimino-acetyl-amino]-3-methoxymethylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat (64)

73 mg (725.85 g/mol; 0.10 mmol) **74** werden in einen 10 mL Schlenkrohr mit Magnetrührer, Stickstoffballon und Septum in 0.5 mL Anisol gelöst und auf 0°C gekühlt. Man gibt langsam 0.5 mL CF<sub>3</sub>COOH zu und rührt bei Raumtemperatur weiter.

Nach beendeter Reaktion (3.5 h bei Raumtemperatur; DC: Kieselgel und Reversed Phase) tropft man das Reaktionsgemisch bei 0°C unter Rühren zu 10 mL Pentan/Et<sub>2</sub>O 4:1. Es fällt ein hellbeiger Niederschlag aus. Man zentrifugiert ab, wäscht zweimal mit 7 mL Pentan/Et<sub>2</sub>O 4:1 und filtriert den hellbeigen Feststoff über eine Fritte ab.

Zur Reinigung suspendiert man das Pulver in 3 mL H<sub>2</sub>O und stellt die wässrige Phase mit festem KHCO<sub>3</sub> auf pH = 8 ein. Man erhält eine Lösung, die an 5 g HP-20 Diaion Polymerharz sehr langsam chromatographiert wird. Als Laufmittel dient H<sub>2</sub>O. Es werden Fraktionen à 5 mL gesammelt. Aus den Fraktionen 5–9 kann nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer unter Hochvakuum und Trockeneiskühlung zunächst eine gelblicher amorpher Feststoff isoliert werden. Nach Verreiben mit Et<sub>2</sub>O und Abfiltrieren erhält man das Produkt als hellgelbes Pulver.

$M(C_{16}H_{15}N_5O_8S_3K_2) = 579.69 \text{ g/mol}$

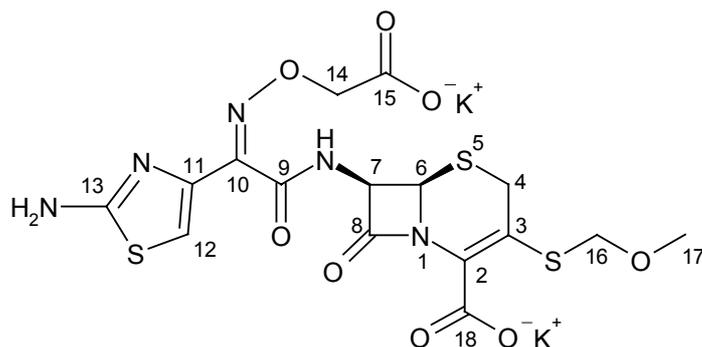
Ausbeute: 29 mg (50%)

Smp.: 196 – 198°C (Zersetzung)

DC: R<sub>f</sub> = 0.68 (H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1; Reversed Phase); UV-aktiv

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3420 m (NH); 3033 w (C-H<sub>arom</sub>); 2928 w, 2820 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1761 s (C=O, β-Lactam); 1670 s (C=O, Amid I); 1606 vs (C=O, Carboxylat); 1531 s (Amid II); 1390 m; 1350 m; 1316 m; 1206 w; 1180 m; 1126 w; 1073 m; 1036 m; 948 w; 895 w; 842 w; 811 w; 772 w.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$  [ppm] = 3.41 (s, 3H, 17-H); 3.63 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.6$  Hz); 3.90 (d, 1H, 4-H,  $^2J_{4/4'} = 17.6$  Hz); 4.58 (s, 2H, 14-H); 4.76 (d, 1H, 16-H,  $^2J_{16/16'} = 11.7$  Hz); 4.95 (d, 1H, 16-H,  $^2J_{16/16'} = 11.7$  Hz); 5.27 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.8$  Hz); 5.82 (d, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.8$  Hz); 7.05 (s, 1H, 12-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$  [ppm] = 31.6 (C-4); 58.7 (C-17); 60.3 (C-6); 61.9 (C-7); 75.8 (C-14); 78.0 (C-16); 116.1 (C-3); 116.5 (C-12); 136.9 (C-2); 143.2 (C-11); 151.1 (C-13); 165.8 (C-8); 167.6 (C-9); 171.5 (C-18); 173.8 (C-10); 180.1 (C-15).

Massenspektrum (ESI;  $M' = (\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_3\text{K}_2) = 503$  u = protonierte Säure):

$m/z = 504$  ( $[\text{M}'+\text{H}]^+$ , 100%); 483 (36%); 396 (12%).

Massenspektrum (ESI, Hochauflösung,  $[\text{M}'+\text{H}]^+$ ):

ber.: 504.0317 u

gef.: 504.0304 u

**4.13 (2'R,6R,7R)-7-(2'-amino-2'-phenylacetyl-amino)-3-methoxy-methylthio-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure (65)**

In einem trockenen 10 mL Schlenkrohr mit  $\text{N}_2$ -Ballon und Magnetruhrer werden 67 mg (676.77 g/mol; 0.10 mmol) **75** in 0.5 mL Anisol vorgelegt und bei  $0^\circ\text{C}$  langsam 0.5 mL  $\text{CF}_3\text{COOH}$  zugegeben. Man rührt die Reaktionslösung 1.5 h bei Raumtemperatur und tropft sie anschließend unter Rühren zu 10 mL Pentan/ $\text{Et}_2\text{O}$  4:1 bei  $0^\circ\text{C}$ . Der dabei

entstandene hellbeige Niederschlag wird abzentrifugiert, zweimal mit 5 mL Pentan/Et<sub>2</sub>O 4:1 gewaschen, abfiltriert und kurz am Hochvakuum getrocknet.

Man nimmt den Feststoff in 3 mL H<sub>2</sub>O auf und reinigt ihn durch langsame Chromatographie an 4.1 g HP-20 Diaion Polymerharz. Es werden je 5 Fraktionen mit H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1 und H<sub>2</sub>O/MeOH 3:2 als Laufmittel genommen. Die Fraktionen 6-13 werden vereinigt und am Rotationsverdampfer unter Hochvakuum und Trockeneiskühlung vom Lösungsmittel befreit.

Der erhaltene amorphe gelbe Feststoff wird mit Et<sub>2</sub>O verrieben und abfiltriert. Auf diese Weise kann das Produkt als hellgelbes Pulver isoliert werden.

$M(\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2) = 409.47 \text{ g/mol}$

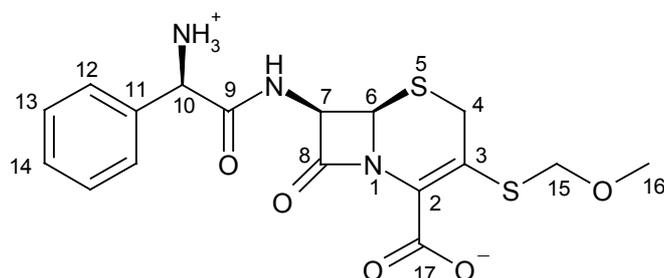
Ausbeute: 25 mg (61%)

Smp.: 219 – 222°C (Zersetzung)

DC: R<sub>f</sub> = 0.22 (H<sub>2</sub>O/MeOH 4:1; Reversed Phase); UV-aktiv

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3042 m (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>); 3033 w (C-H<sub>arom</sub>); 2928 w, 2820 w (C-H<sub>aliph.</sub>); 1765 vs (C=O, β-Lactam); 1690 s (C=O, Amid I); 1628 s (C=O, Carboxylat); 1550 m (Amid II); 1500 w; 1458 w; 1370 m; 1247 w; 1180 m; 1126 w; 1081 m; 1031 w; 948 w; 890 w; 845 w.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; D<sub>2</sub>O):

$\delta$  [ppm] = 3.37 (s, 3H, 16-H); 3.43 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup>J<sub>4/4'</sub> = 17.6 Hz); 3.75 (d, 1H, 4-H, <sup>2</sup>J<sub>4/4'</sub> = 17.6 Hz); 4.71 (d, 1H, 15-H, <sup>2</sup>J<sub>15/15'</sub> = 11.6 Hz); 4.88 (d, 1H, 15-H, <sup>2</sup>J<sub>15/15'</sub> = 11.6 Hz);

5.11 (s, 1H, 10-H); 5.12 (d, 1H, 6-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz); 5.69 (d, 1H, 7-H,  $^3J_{6/7} = 4.6$  Hz);  
7.42 – 7.54 (m, 5H, H<sub>arom.</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$  [ppm] = 31.3 (C-4); 58.6 (C-16); 59.7 (C-10); 60.3 (C-6); 61.9 (C-7); 78.0 (C-15);  
115.4 (C-3); 131.3/ 131.9/ 132.5 (C<sub>arom.</sub>); 136.8 (C-2); 139.0 (C-11); 165.8 (C-8);  
171.3 (C-17); 173.6 (C-9).

Massenspektrum (ESI;  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  90:10):

$m/z$  = 451 ( $[\text{M}+\text{H}+\text{CH}_3\text{CN}]^+$ , 100%); 410 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 72%); 250 (11%); 220 (15%);  
102 (13%).

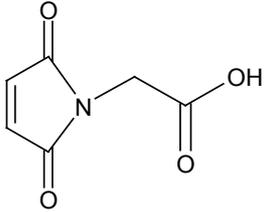
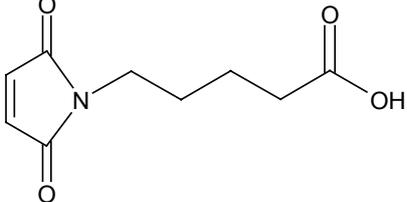
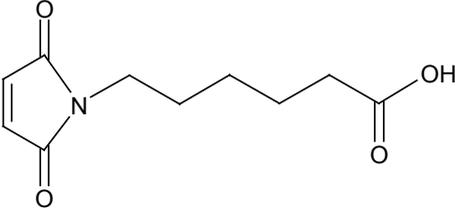
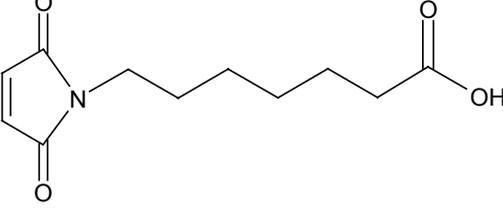
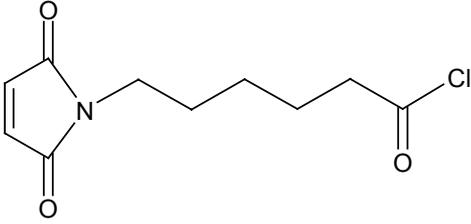
Massenspektrum (ESI, Hochauflösung,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ):

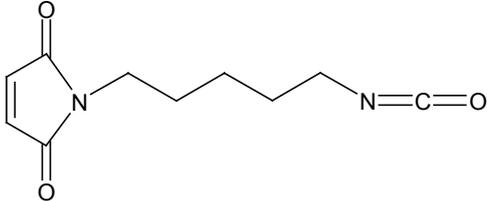
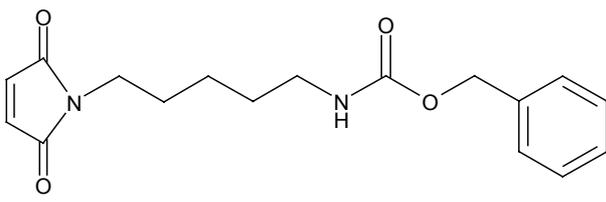
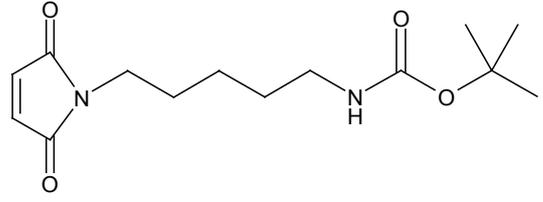
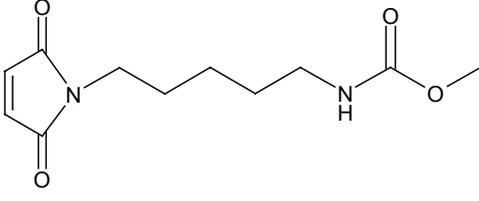
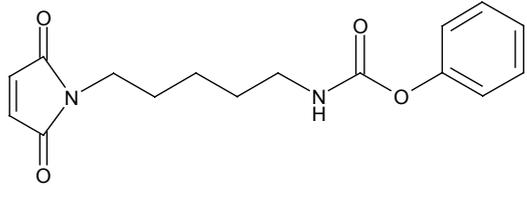
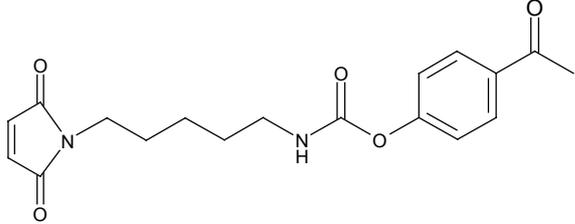
ber.: 410.0844 u

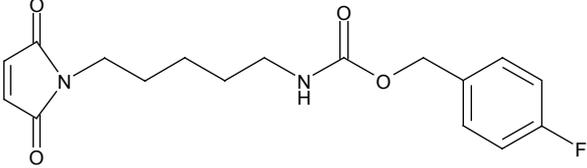
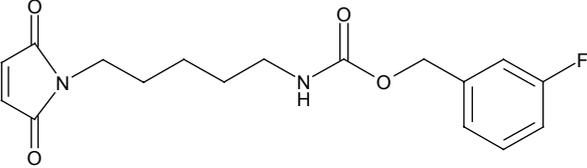
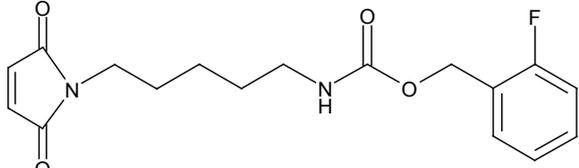
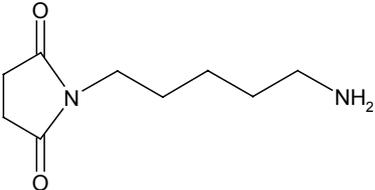
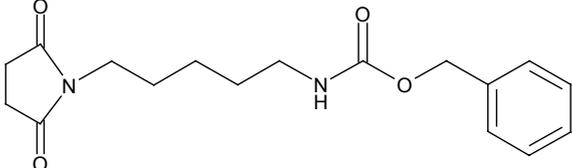
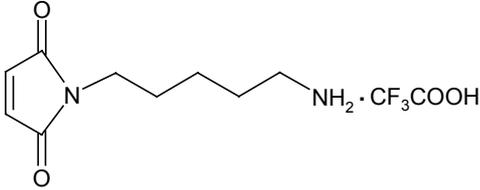
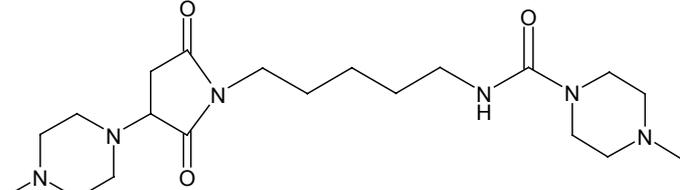
gef.: 410.0874 u

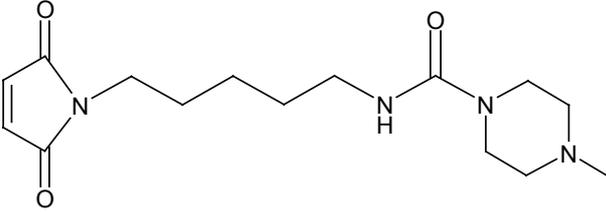
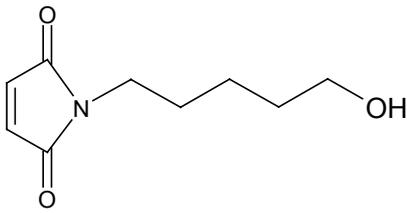
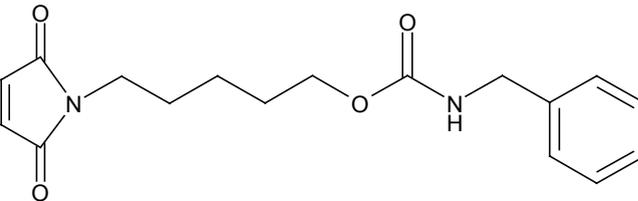
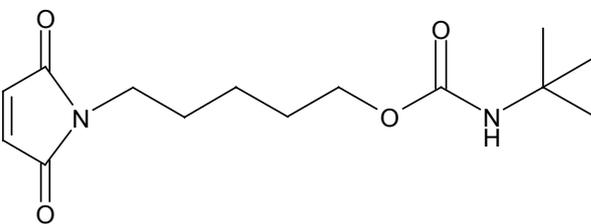
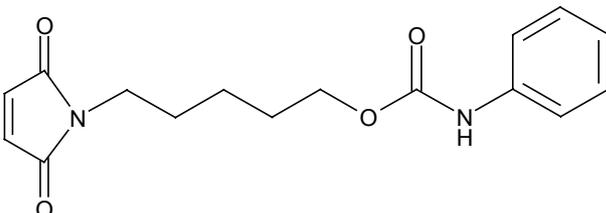
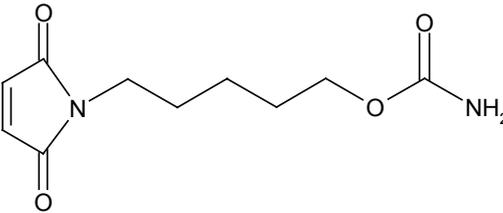
---

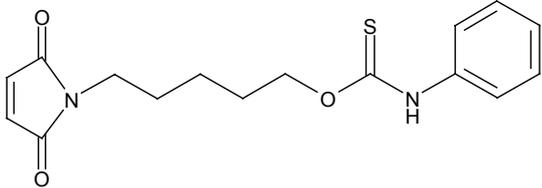
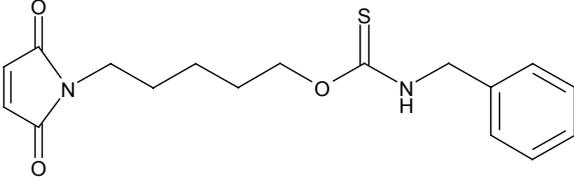
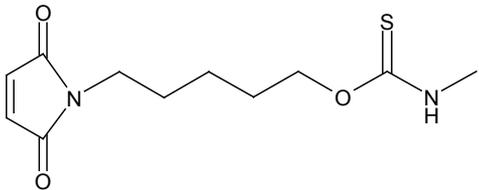
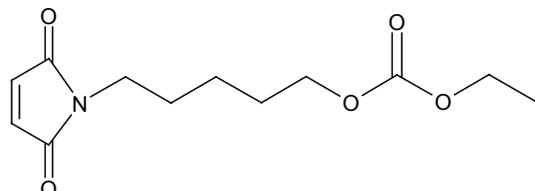
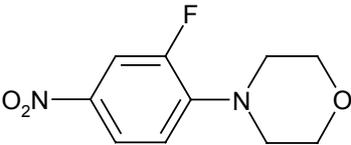
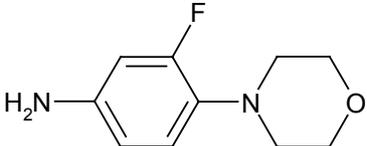
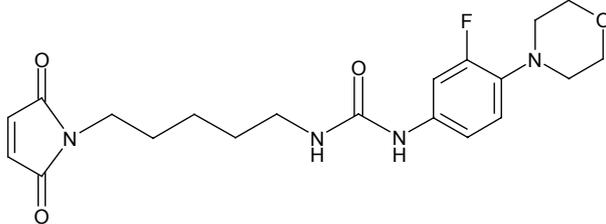
**D Anhang****1 Strukturverzeichnis**

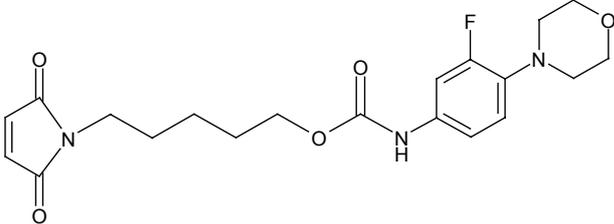
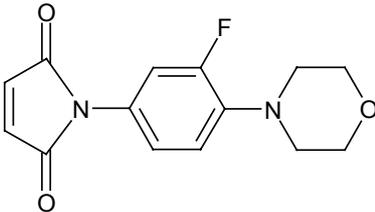
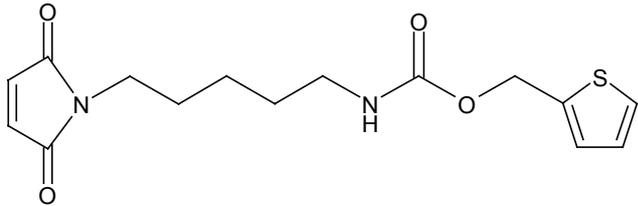
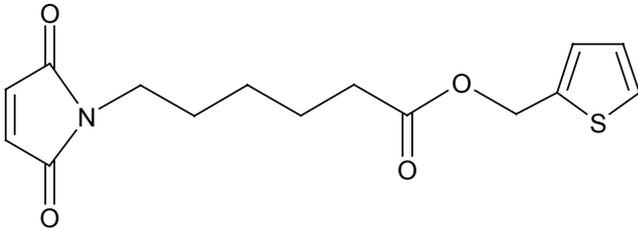
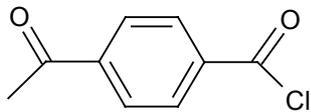
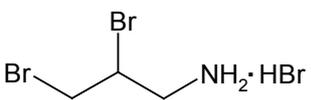
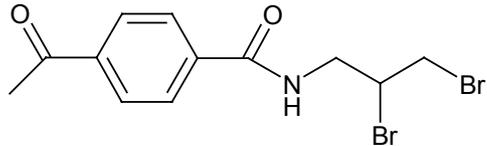
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	<b>2</b>	107
	<b>5</b>	108
	<b>6</b>	110
	<b>7</b>	111
	<b>9</b>	112

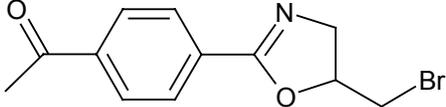
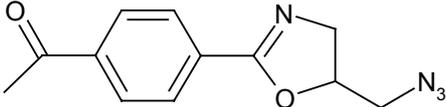
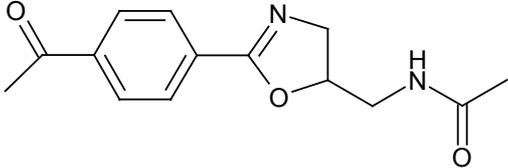
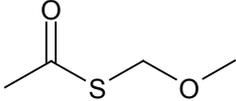
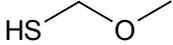
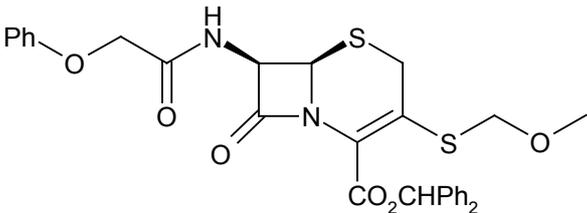
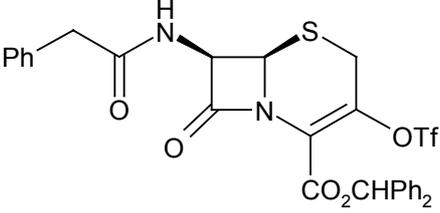
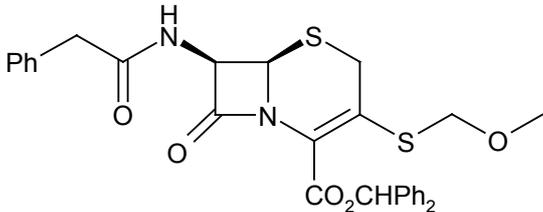
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	11	114
	13	116
	16	117
	17	118
	20	119
	21	121

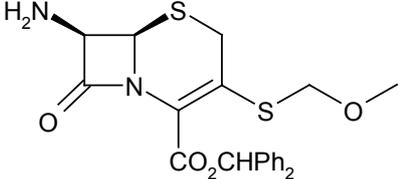
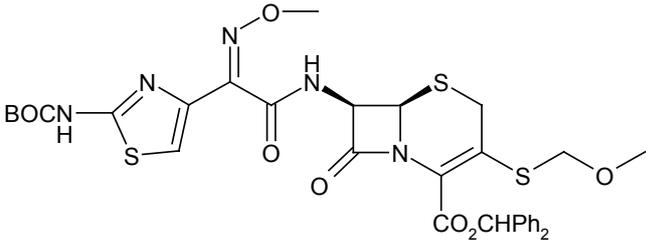
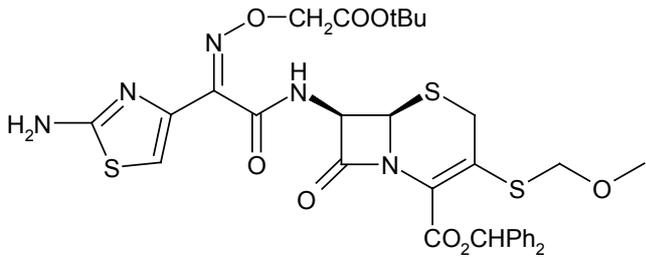
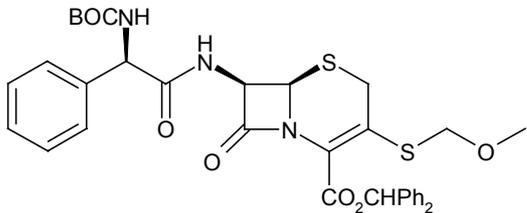
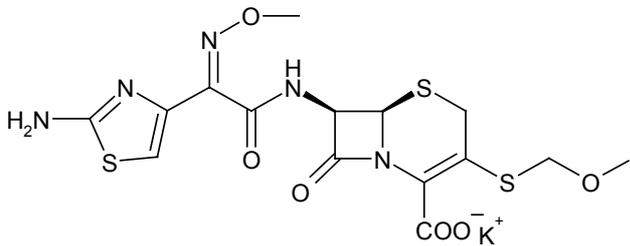
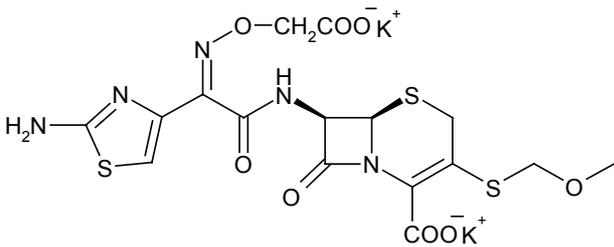
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	22	122
	23	123
	24	125
	14	126
	15	127
	12	129
	18	130

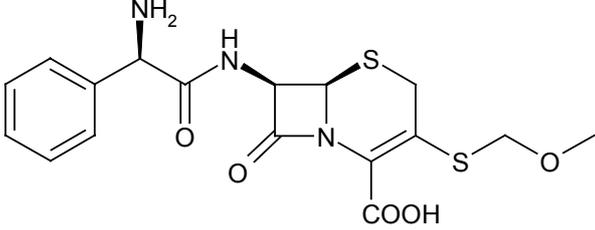
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	19	132
	25	134
	26	136
	27	137
	28	138
	29	139

Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	30	141
	31	143
	32	144
	33	145
	40	147
	34	148
	35	150

Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	36	151
	37	153
	44	155
	45	156
	49	159
	50	160
	51	161

Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	52	163
	53	164
	48	166
	78	168
	79	169
	70	170
	69	172
	71	174

Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
	72	176 und 178
	73	179
	74	181
	75	183
	63	185
	64	187

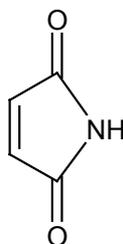
Struktur	Nummer	Seite im Experimentellen Teil
 <chem>COCS1=CN2C(=O)N(C2)C1=NC(=O)N(C2=CC=CC=C2)C(=O)N2</chem>	65	188

## 2 Zusammenfassung

### 2.1 Maleinimid-Derivate als neuartige Antibiotika

Da seit den 90er Jahren eine starke Ausbreitung von resistenten Erregern beobachtet werden kann, ist die Entwicklung neuer Antibiotika ein dringliches Ziel der heutigen Wirkstoffforschung.

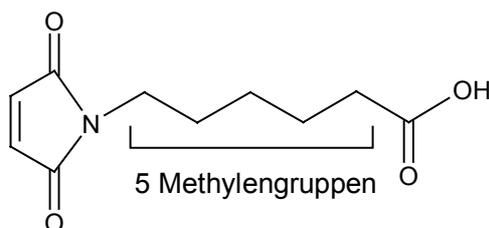
Bei der routinemäßigen Untersuchung einiger 5- und 6-Ringe auf ihre antibiotische Aktivität erwies sich Maleinimid als besonders wirksame Substanz. Die Verbindung ist jedoch auch für ihre hohe Toxizität bekannt (LD50 = 9 mg/kg bei Mäusen). Deshalb wurde der Versuch unternommen, die pharmakologischen Eigenschaften der Substanz durch strukturelle Abwandlungen soweit zu verändern, bis neue, weniger toxische Antibiotika resultieren.



Maleinimid

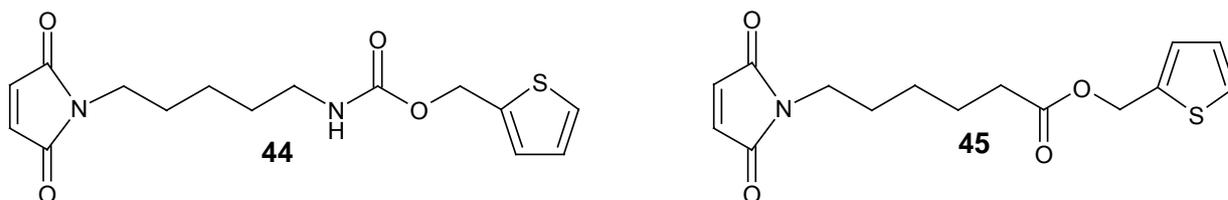
Es gelang zunächst, ein einfaches Testverfahren auf akute Toxizität zu entwickeln. Zusammen mit bekannten, antibakteriellen Testmethoden war damit die Grundlage für eine Charakterisierung neuer Maleinimid-Derivate bezüglich ihrer toxischen und antibiotischen Eigenschaften geschaffen.

Unter verschiedenen Derivatgruppen erwiesen sich Maleinimido-*N*-alkancarbonsäuren als besonders günstige Leitstrukturen. Durch Variation der Länge der Alkanseitenkette konnte zunächst ein Optimum der biologischen Eigenschaften für fünf Methylengruppen in der Seitenkette ermittelt werden.



6-(*N*-Maleinimido)-hexansäure **6**

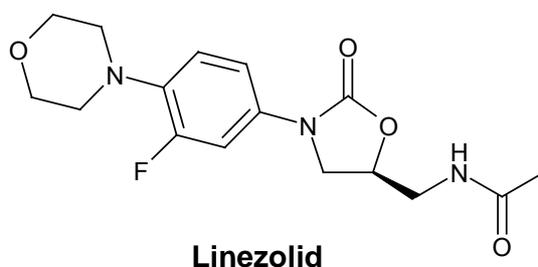
Im weiteren Verlauf gelang es, durch Variation der funktionellen Gruppe am Kettenende eine Vielzahl von Derivaten herzustellen, die auf ihre antibiotischen und toxischen Eigenschaften getestet wurden. Vor allem zwei Substanzen erwiesen sich dabei als hochwirksame Antibiotika, die im Vergleich zu Maleinimid eine deutlich niedrigere Toxizität zeigten.



Beide Verbindungen **44** und **45** enthielten eine Thiophengruppe und zeigten vor allem gegen grampositiven Erreger hervorragende Aktivitäten. Gegen den problematischen Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) war die antibiotische Wirksamkeit von **44** nur fünfmal geringer als die von Vancomycin, einem der wichtigsten Antibiotika gegen diesen Erreger.

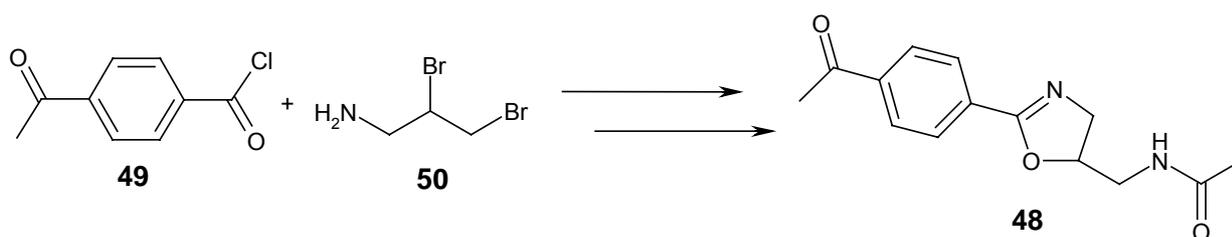
## 2.2 Darstellung eines Oxazolidinon-Analogons

Oxazolidinon-Antibiotika stellen eine völlig neue Wirkstoffklasse gegen grampositive Bakterien dar. Linezolid ist im Jahr 2000 als erster Vertreter dieser Gruppe in den USA als Medikament zugelassen worden.



Während der Einfluss der verschiedenen Substituenten am Oxazolidinonring bereits eingehend untersucht wurde, existieren zur Bedeutung des Fünfrings selbst nur wenige

Studien. Dabei spielt u.a. die annähernd koplanare Ausrichtung des Fünfrings zum Aromaten eine entscheidende Rolle für die biologische Aktivität. Bisher konnten erst zwei wirksame Fünfring-Analoga zu den Oxazolidinonen dargestellt werden. Bei beiden war eine Doppelbindung im Fünfring mit dem aromatischen System konjugiert und sorgte für die günstige koplanare Ausrichtung. Im Rahmen dieser Arbeit gelang es nun, ausgehend vom Säurechlorid **49** und dem Amin **50** in vier Schritten ein weiteres Fünfring-Analogon **48** in 53%iger Ausbeute zu synthetisieren.



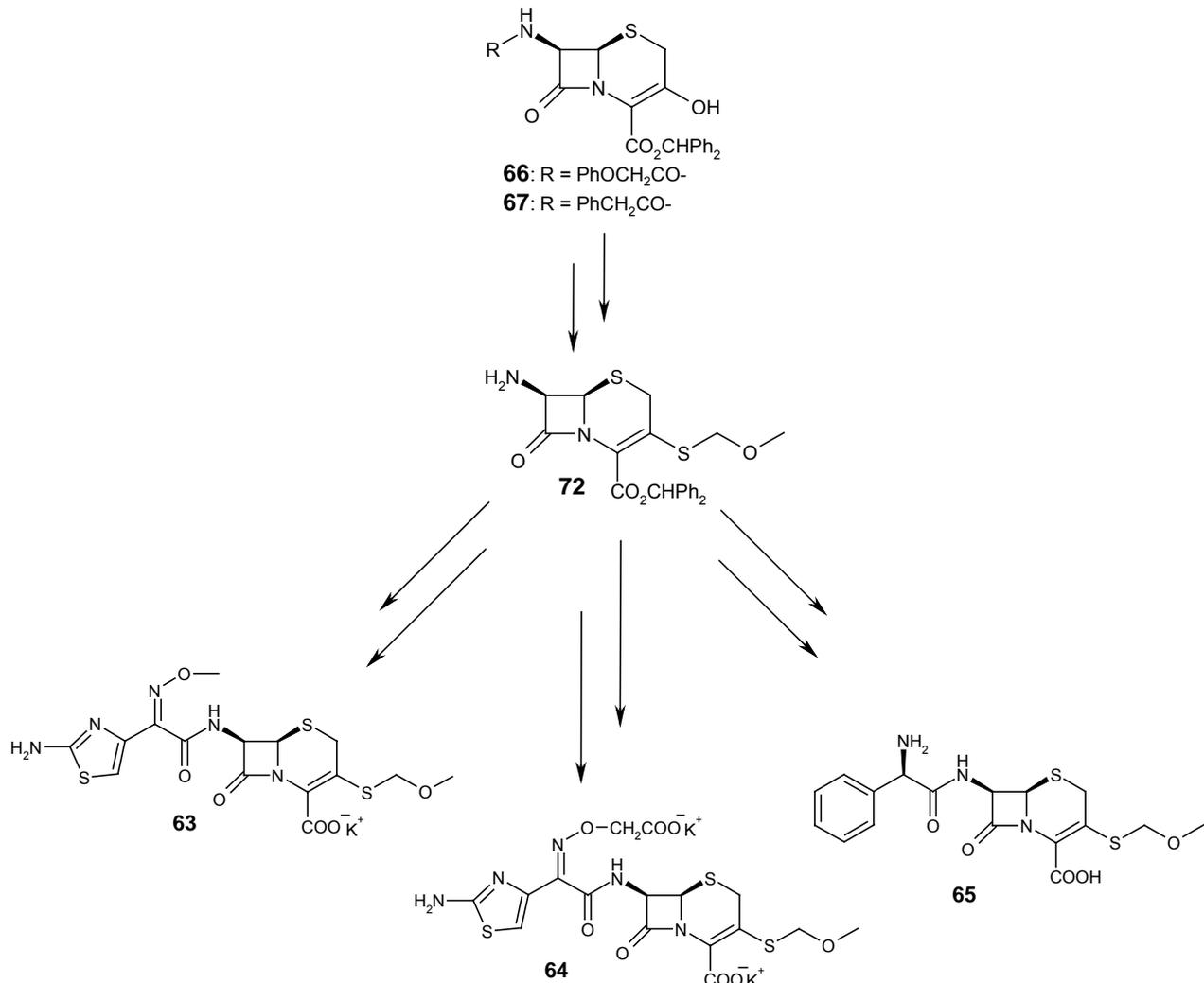
Obwohl das  $\Delta^2$ -Oxazolin **48** alle bisher in der Literatur bekannten Wirkungsvoraussetzungen wie Substituenten und Konjugation des Fünfrings zum Aromaten erfüllte, zeigte es keine antibiotische Aktivität. Dies bedeutet, dass die antibakterielle Wirksamkeit der Oxazolidinon-Antibiotika und ihrer Analoga von weiteren strukturellen Faktoren abhängt.

### 2.3 Neue Oralcephalosporine

Über die Hälfte aller Antibiotika sind heutzutage  $\beta$ -Lactame. Davon stellen die Cephalosporine mit über 50% Anteil die größte Gruppe dar. Dennoch existieren bisher vergleichsweise wenige oral wirksame Vertreter dieser Antibiotika-Klasse. Aufgrund ihrer schlechten Resorbierbarkeit werden sie überwiegend parenteral verabreicht. Es ist bis heute nicht gelungen, die gute Wirksamkeit einiger Cepheme gegen resistente Erreger mit einer vollständigen Resorbierbarkeit zu verbinden.

Erst kürzlich konnte bei den ebenfalls oral schlecht verfügbaren Carbapenemen durch Einführung einer neuen Seitenkette, der Methoxymethylthiogruppe, eine deutliche Steigerung der oralen Wirksamkeit festgestellt werden. Deshalb wurde die gleiche Seitenkette nun auch an der 3-Position von Cephalosporinen eingeführt. Ausgehend

von den 3-Hydroxycephemen **66** und **67** konnten in mehreren Schritten über das 7-Aminocephem **72** drei neue Cephalosporine **63**, **64**, und **65** synthetisiert und auf ihre antibiotischen Eigenschaften getestet werden.



Dabei erwies sich vor allem das Cephem **63** im Vergleich zum derzeitig verwendeten Oralcephalosporin Cefaclor als vielversprechende Verbindung. Einerseits zeigte **63** gerade gegen den  $\beta$ -Lactamase-produzierenden Problemkeim *E.coli* TEM eine bessere antibiotische Aktivität als Cefaclor. Andererseits war es unter den physiologischen Bedingungen im Blut (pH = 7.4; 37°C) und im Magen (pH = 2.0; 37°C) deutlich stabiler. Erweist sich die Einführung der neuen Seitenkette, ähnlich wie bei den Carbapenemen, zusätzlich als günstig für die orale Resorbierbarkeit, wäre das Cephem **63** eine interessante Alternative zu den herkömmlichen Oralcephalosporinen.

### 3 Literaturverzeichnis

- [1] H. Wacha in *Infektiologie heute – Zeit zum Umdenken* (Hrsg.: H. Wacha), W. Zuckschwerdt Verlag, München u.a, **1999**, S. XI – XIV.
- [2] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S. 651ff.
- [3] Römpp, *Chemielexikon*, Thieme Verlag, Stuttgart, **1989**, 9. Auflage.
- [4] R. Gaynes, *Infect. Dis. Clin. N.A.* **1997**, 11, 757 – 765.
- [5] A. D. Russell, I. Chopra, *Understanding antibacterial action and resistance*, Ellis Horwood Limited, New York u.a., **1990**, S. 18 – 31.
- [6] D. Voeth, J. G. Voeth, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**, S.256 – 259.
- [7] C. Walsh, *Nature* **2000**, 406, 775 – 781.
- [8] A. D. Russell, I. Chopra, *Understanding antibacterial action and resistance*, Ellis Horwood Limited, New York u.a., **1990**, S. 45 – 63.
- [9] J. T. Smith, *Infection* **1986**, 14, Suppl. 1, S3 – S15.
- [10] A. D. Russell, I. Chopra, *Understanding antibacterial action and resistance*, Ellis Horwood Limited, New York u.a., **1990**, S. 40 - 41.
- [11] D. Voeth, J. G. Voeth, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**, S.3 – 4.
- [12] J. E. Davies in *Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread* (Hrsg.: D. J. Chadwick, J. Goodie), John Wiley & Sons, Chichester u.a., **1997**, S. 15 – 35.
- [13] S. B. Levy in *Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread* (Hrsg.: D. J. Chadwick, J. Goodie), John Wiley & Sons, Chichester u.a., **1997**, S. 1 – 14.
- [14] H. Knothe in *Infektiologie heute – Zeit zum Umdenken* (Hrsg.: H. Wacha), W. Zuckschwerdt Verlag, München u.a, **1999**, S. 3 – 12.
- [15] M. N. Alekshun, S. B. Levy in *Bacterial Stress Responses* (Hrsg.: G. Storz), ASM Press, Washington, **2000**, S. 323 – 365.
- [16] A. D. Russell, I. Chopra, *Understanding antibacterial action and resistance*, Ellis Horwood Limited, New York u.a., **1990**, S. 167.
- [17] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S. 660 – 661.
-

- 
- [18] A. D. Russell, I. Chopra, *Understanding antibacterial action and resistance*, Ellis Horwood Limited, New York u.a., **1990**, S. 154 - 156.
- [19] S. B. Levy in *Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread* (Hrsg.: D. J. Chadwick, J. Goodie), John Wiley & Sons, Chichester u.a., **1997**, S. 1 – 14.
- [20] K. Bush in *Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread* (Hrsg.: D. J. Chadwick, J. Goodie), John Wiley & Sons, Chichester u.a., **1997**, S. 152 – 166.
- [21] H. B. Fung, H. L. Kirschenbaum, B. O. Ojofeitimi, *Clin. Ther.* **2001**, 23, 356 – 391.
- [22] M.-C. Lo, H. Men, A. Branstrom, J. Helm, N. Yao, R. Goldman, S. Walker, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 3540 – 3541.
- [23] P. Sichrovsky, P. Scheer, *Resistent: Die Wiederkehr der Seuchen*, Berlin Verlag, Berlin, **1995**, S.143 –156.
- [24] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S.688ff.
- [25] B. Wiedemann in *Mikrobiologische Diagnostik* (Hrsg.: F. Burkhardt), Thieme Verlag, Stuttgart, **1992**, S.714 – 732.
- [26] R. Reiner in *Natural Compounds, Part 2: Antibiotics, Vitamins and Hormons* (Hrsg.: F. Korte, M. Goto), Thieme Verlag, Stuttgart, **1977**, S.11 – 15.
- [27] E. Wasielewski in *Arzneimittel, Bd. 4, Chemotherapeutica Teil 1* (Hrsg.: G. Ehrhart, H. Ruschig), Verlag Chemie, Weinheim, **1972**, S.13 – 17.
- [28] Y. Komatsu, *J. Antibiotics* **1971**, 24, 876 –883.
- [29] T. Shigematsu, M. Tomita, T. Shibahara, K. Inoue, M. Nakazawa, *Japan. Kokai* **1977**, JP 76-225 19760101.
- [30] A. S. Kalgutkar, B. C. Crews, L. J. Marnett, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1692 – 1703.
- [31] D. H. Rich, P.D. Gesellchen, A. Tong, A. Cheung, C. K. Buckner, *J. Med. Chem.* 1975, 18, 1004 – 1010.
- [32] T. Yamashita, Y. Tanaka, T. Horigome, E. Fujikawa, *Experientia* **1979**, 35, 1054 – 1056.
- [33] D. A. Cooney, H. A. Milman, R. G. Cable, R. L. Dion, V. H. Bono Jr., *Biochem. Pharmacol.* **1978**, 27, 151 – 166.
- [34] H. P. Koch, *Pharmazie* **1992**, 47, 531 – 537.
-

- 
- [35] O. Käppeli, *Microbiol. Reviews* **1986**, *50*, 244 – 258.
- [36] J. P. Rosazza, R. V. Smith, *Adv. Appl. Microbiol.* **1979**, *25*, 169 – 208.
- [37] R. B. Silverman, *Medizinische Chemie*, VCH, Weinheim, **1994**.
- [38] T. Miyadera, E. M. Kosower, N. S. Kosower, *J. Med. Chem.* **1971**, *18*, 873 – 878.
- [39] W. Tang, Y. Chang, X.-Y. Liu, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6515 – 6516.
- [40] T. Oishi, H. Morikawa, K. Matsusaki, M. Fujimoto, *Polymer Journal* **1994**, *26*, 1332 – 1344.
- [41] M.A. Walker, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 675 – 678.
- [42] M.A. Walker, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5352 – 5355.
- [43] Y. Arano, T. Uezono, H. Akizawa, M. Ono, K. Wakisaka, M. Nakayama, H. Sakahara, J. Konishi, A. Yokoyama, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3451 – 3460.
- [44] P. A. Reddy, S. Kondo, T. Toru, Y. Ueno, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2652 – 2654.
- [45] P. A. S. Smith in *Organic Reactions Volume III*, Wiley & Sons, New York, **1946**, S.337 – 449.
- [46] D. V. Banthorpe in *The chemistry of the azido group*, Interscience Publishers, London-New York- Sydney-Toronto, **1971**. S. 397 – 440.
- [47] F. Möller in Houben-Weyl: Methoden der Organischen Chemie Band XI/1 Stickstoffverbindungen II (Hrsg. E. Müller), Thieme Verlag, Stuttgart, **1957**, S.862 – 877.
- [48] J. Weinstock, *J. Org. Chem.* **1961**, *24*, 3511.
- [49] C. F. H. Allen, A. Bell in *Organic Syntheses Vol. 24*, Wiley & Sons, New York **1944**, S. 94 – 95.
- [50] C. Naegeli, A. Tyabji, *Helv. Chim. Acta* **1933**, *16*, 348 – 366.
- [51] W: J. Bailey, J. R. Griffith, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2690 – 2692.
- [52] A. Benalil, P. Roby, B. Carboni, M. Vaultier, *Synthesis* **1991**, 787 – 788.
- [53] R. Weishaupt, Dissertation, Ludwig Maximilians Universität München, **2000**.
- [54] H. J. Roth, H. Fenner, Pharmazeutische Chemie III: Arzneistoffe, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1994**, 2., überarb. Auflage, S. 40 –S. 44.
- [55] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S. 726.
- [56] A. Shiozawa, Y. Ichikawa, C. Komuro, G. Idzu, M. Ishikawa, S. Kurashige, H. Miyazaki, H. Yamanaka, T. Sakamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 553-563.
-

- 
- [57] S. F. Campbell, J. D. Hardstone, M. J. Palmer, *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1031 – 1035.
- [58] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S. 735.
- [59] M. Müller, K.-L. Schimz, *Cell. Mol. Life Sci.* **1999**, 56, 280 – 285.
- [60] W. Walter, K.-D. Bode, *Angew. Chem.* **1967**, 79, 285 – 328.
- [61] D. Martin, A. Rieche, R. N. Iyer, *Arch. Pharmaz.* **1963**, 296, 641 – 650.
- [62] R. A. Baumann, *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 4129 – 4132.
- [63] A. J. Schwartzapel, L. Fichera, M. Esteva, J. B. Rodriguez, E. G. Gros, *Helv. Chim. Acta* **1995**, 78, 1207 – 1214.
- [64] S. Kretschmer, *Pharm. Ztg.* **1999**; 144, 1042 – 1043.
- [65] S. J. Brickner, D. K. Hutchinson, M. R. Barbachyn, P. R. Manninen, D. A. Ulanowicz, S. A. Garmon, K. C. Grega, S. K. Hendges, D. S. Toops, C. W. Ford, G. E. Zurenko, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 673 – 679.
- [66] J.-L. Soulier, D. Yang, B. Brémont, T. Croci, U. Guzzi, M. Langlois, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 1755 – 1761.
- [67] W. Schröck in *Arzneimittel: Fortschritte 1972 – 1985* (Hrsg.: A. Kleemann, J. Engel), VCH, Weinheim, **1987**, S.1001 – 1007.
- [68] A. N. Pae, H. Y. Kim, H. J. Joo, B. H. Kim, Y. S. Cho, K. I. Choi, J. H. Choi, H. Y. Koh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 2679 – 2690.
- [69] J. Leslie, *Anal. Biochem.* **1965**, 10, 162 – 167.
- [70] J. E. T. Corrie, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 2975 – 2982.
- [71] W. E. Trommer, H. Kolkenbrock, G. Pfeiderer, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1975**, 356, 1455 – 1458.
- [72] R. V. Spera, B. F. Farber, *Drugs* **1994**, 48, 678 – 688.
- [73] A. M. Slee, M. A. Wuonola, D. R. Britelli, R. J. McRipley, I. Zajac, M. J. Zawada, P. T. Bartholomew, W. A. Gregory, M. Forbes, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, 31, 1791 – 1794.
- [74] W. A. Gregory, D. R. Britelli, C.-L. J. Wang, M. A. Wuonola, R. J. McRipley, D. C. Eustice, V. S. Elberly, P. T. Bartholomew, A. M. Slee, M. Forbes, *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1673 – 1681.
- [75] D. Kuhn, P. Imming, D. Dettmering, D. Dix, *Pharm. Ztg.* **1999**, 3497 – 3505.
- [76] D. C. Eustice, P. A. Feldmann, I. Zajac, A. M. Slee, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1988**, 32, 1218 – 1222.
-

- 
- [77] D. Shinabarger, *Expert Opin. Invest. Drugs* **1999**, *8*, 1195 – 1202.
- [78] *Drug Data Report* 2001, *23*, 158 – 160.
- [79] A. D. Borthwick, K. Biggadike, V. Rocherolle, D. M. Cox, G. A. C. Chung, *Med. Chem. Res.* **1996**, *6*, 22 – 27.
- [80] D. Clemett, A. Markham, *Drugs* **2000**, *59*, 815 – 817.
- [81] W. A. Gregory, D. R. Britelli, C.-L. J. Wang, H. S. Kezar, R. K. Carlson, C.-H. Park, P. F. Corless, S. J. Miller, P. Pajagopalan M. A. Wuonola, R. J. McRipley, D. C. Eustice, V. S. Elberly, A. M. Slee, M. Forbes, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2569 – 2578.
- [82] P. Seneci, M. Caspani, F. Ripamonti, R. Ciabatti, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 2345 – 2351.
- [83] A. Denis, T. Villette, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1925 – 1930.
- [84] a) Pharmacia & Upjohn Co., *Drug Data Report* **1999**, *21*, 996. b) M.R. Barbachyn, EP 920421, US 5990136.
- [85] U. Fotadar, C. Becu, F. A. M. Borremans, M. J. O. Anteunis, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 3537 – 3544.
- [86] C. Paal, C. Hermann, *Chem. Ber.* **1889**, *22*, 3076 – 3085.
- [87] M. A. Mitchell, B. C. Benicewicz, *Synthesis* **1994**, 675 – 676.
- [88] L. M. Weinstock, J. M. Stevenson, S. A. Tomellini, S.-H. Pan, T. Utne, R. B. Jobson, D. F. Reinhold, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3845 – 3848.
- [89] W. Schröck in *Arzneimittel: Fortschritte 1972 – 1985* (Hrsg.: A. Kleemann, J. Engel), VCH, Weinheim, **1987**, S.992.
- [90] Broschüre „Pharma Daten 2000“ (Hrsg. Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V.), 30.Aufl., **2000**, S11.
- [91] E. P. Abraham, *Drugs* **1987**, *34* (Suppl.2), 1 – 14.
- [92] F. Kees, H. Grobecker, *Antibiot. Chemother.* **1995**, *47*, 1 – 7.
- [93] A. Bryskier, *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 1028 – 1037.
- [94] F. Kees, H. Grobecker, *Fortschr. antimikr. antineoplast. Chemother.* **1993**, *12/1*, 69 – 77.
- [95] A. Bauernfeind, *Fortschr. antimikr. antineoplast. Chemother.* **1993**, *12/1*, 31 – 34.
- [96] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S. 674.
-

- 
- [97] E. Nakshima, A. Tsuji, H. Mizuo, T. Yamana, *Biochem. Pharmacol.* **1984**, *33*, 3345 – 3352.
- [98] K. Stoeckel, W. L. Hayton, D. J. Edwards, *Antibiot. Chemother.* **1995**, *47*, 34 – 71.
- [99] D. A. Preston, M. Turik, *J. Chemother.* **1998**, *10*, 195 – 202.
- [100] W. Dürckheimer, A. Friedhelm, G. Fischer, R. Kirrstetter, *Advances in Drug Res.* **1988**, *17*, 61 – 234.
- [101] E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **1997**, Korrigierter Nachdruck der 7. Aufl., S. 673.
- [102] H. R. Pfaendler, *Eur. Pat. Appl.* **2000**, EP976752.
- [103] S. Kukulja, S. P. Lammert, M. R. B. Gleissner, A. I. Ellis, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 5040 – 5041.
- [104] R. Scartazzini, H. Bickel, *Heterocycles* **1977**, *7*, 1165 – 1188.
- [105] Y. Hamashima, T. Kubota, K. Ishikura, K. Minami, T. Tokura, W. Nagata, *Heterocycles* **1976**, *5*, 419 – 426.
- [106] H. R. Pfaendler, P. A. Rossy, J. Gosteli, R. B. Woodward, *Heterocycles* **1976**, *5*, 293 – 296.
- [107] H. Tanaka, M. Taniguchi, Y. Kameyama, M. Monnin, S. Torii, M. Sasaoka, T. Takashi, S. Nagao, T. Yamada, Y. Tokumaru, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 1385 – 1391.
- [108] J. D. Cocker, S. Eardley, G. I. Gregory, M. E. Hall, A. G. Long, *J. Chem. Soc. (C)* **1966**, 1142 – 1151.
- [109] V. Farina, S. R. Baker, S. I. Hauck, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4962 – 4966.
- [110] B. Fechtig, H. Peter, H. Bickel, E. Vischer, *Helv. Chim. Acta* **1968**, *51*, 1108 – 1118.
- [111] M. Kume, T. Kubota, Y. Kimura, H. Nakashimizu, K. Motokawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 758 – 762.
- [112] M. Tsushima, K. Iwamatsu, A. Tamura, S. Shibahara; *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1009 – 1017.
-

# LEBENS LAUF

## Persönliche Daten

Name: Wolfgang Jenni  
Geburtsdatum/-ort: 21.10.1968 in Freilassing

## Schul Ausbildung

09/1975 – 09/1979 Grundschule München  
09/1979 – 06/1988 Oskar-von-Miller-Gymnasium München

## Zivildienst

10/1988 – 05/1990 Zivildienst Diakonie München

## Hochschulausbildung

10/1990 – 09/1991 Grundstudium der Geologie an der Ludwig-Maximilians-Universität München  
10/1991 – 05/1994 Grundstudium der Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Vordiplom  
05/1994 – 02/1997 Hauptstudium Chemie, (Wahlfach Patentrecht),  
Diplomprüfungen  
04/1997 – 10/1997 Diplomarbeit im Arbeitskreis von Prof. Dr. H.R. Pfaendler ,  
Thema: Synthese und biologische Wirksamkeit der *N*-Cyclopropyl-[1,4]-dihydro-4-pyridon-3-carbonsäure  
12/1997 – 10/2001 Anfertigung der Dissertation unter Anleitung von Prof. Dr. H.R. Pfaendler am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München

## Berufstätigkeit

04/1995 – 07/1999 Flüchtlingsbetreuer beim Sozialreferat der Stadt München  
Seit 01/1998 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München

---