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

2-Pyridone als Katalysatoren in der Spaltungsreaktion von Ester- und Amidbindungen

von
Christian Fischer
aus
Augsburg

2004

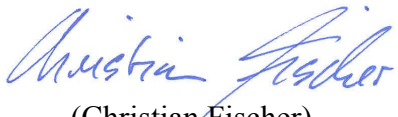
Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 von Prof. Dr. Hendrik Zipse betreut.

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 15.11.2004



(Christian Fischer)

Dissertation eingereicht am:	15.11.2004
1. Gutachter:	Prof. Dr. H. Zipse
2. Gutachter:	Prof. Dr. H. Mayr
Mündliche Prüfung am:	15.12.2004

Meiner Familie

Teile dieser Dissertation sind veröffentlicht in:

Synthesis and Solid-State Structures of Alkyl-Substituted 3-Cyano-2-pyridones. Christian B. Fischer, Kurt Polborn, Harald Steininger, Hendrik Zipse, *Z. Naturforsch. B* **2004**, *59*, 1121-1131.

Catalysis of Aminolysis of 4-Nitrophenyl Acetate by 2-Pyridones. Christian B. Fischer, Harald Steininger, David S. Stephenson, Hendrik Zipse, *J. Phys. Org. Chem.*, im Druck.

Danksagung

Herrn Prof. Hendrik Zipse danke ich für das in mich gesetzte Vertrauen, für die mir gewährte Forschungsfreiheit und das Interesse an meiner Arbeit. Seine wertvollen Anregungen und die wissenschaftlichen Diskussionen haben maßgeblich zum Gelingen dieser interessanten Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. Herbert Mayr danke ich herzlich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Danken möchte ich auch den Mitarbeitern der analytischen Abteilungen am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München. Ein ganz besonderer Dank geht hier vor allem an Herrn Dr. David S. Stephenson für die Aufnahme der Tieftemperaturmessungen und unzähliger 2D-NMR-Spektren. Mein Dank gilt weiter Frau Claudia Dubler für die Anfertigung der konzentrationsabhängigen 600 MHz ^{1}H-NMR-Messungen.

Herrn Dr. Kurt Polborn danke ich herzlich für die Durchführung zahlreicher Kristallstrukturanalysen und die Begutachtung der Publikation.

Den ehemaligen Kollegen, allen voran Dr. Tamara V. Perchyonok und Dr. David M. Smith, und allen derzeitigen Kollegen im Arbeitskreis möchte ich für die freundschaftliche und multikulturelle Atmosphäre, den zahlreichen anregenden Diskussionen und der schönen Zeit im und vor allem auch außerhalb des Labors danken.

Mein besonderer Dank gilt weiter all denjenigen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Harald Steininger für die langjährige und gute Zusammenarbeit im und außerhalb des Labors, den unzähligen wissenschaftlichen und weniger wissenschaftlichen Diskussionen und der Erfahrung, dass auch mit "*des Dings halt*" ein Labor bestens läuft.
Frau Anna Katharina Probst für die tatkräftige Unterstützung im Labor und die mittägliche Verpflegung.
Meinem Forschungspraktikanten Herrn Holger Emme für die erfolgreiche und engagierte Mitarbeit, für das sorgfältige Korrekturlesen des Manuskripts und natürlich auch die Möglichkeit, seinen Drucker zu quälen.
Margarita Öhm und den Herren Dr. Michael Bootz, Georg Mader und Ingmar Held für die kritische Durchsicht der Arbeit.
Etlichen Literaturpraktikanten für die Synthese der einen oder anderen Pyridonverbindung.
All meinen Freunden und Bekannten, die den Glauben an eine Welt ohne Chemie verloren haben.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Gitta für ihre Liebe und ihren Beistand.

Mein persönlicher Dank geht an meine Eltern für ihr Vertrauen und ihre unermüdliche und großartige Unterstützung in allen Belangen. Ein besonderes Dankeschön an dieser Stelle natürlich auch an meine Schwester Miriam.

Wenn nicht mehr Zahlen und Figuren
Sind Schlüssel aller Kreaturen,
Wenn die, so singen oder küssen
Mehr als die Tiefgelehrten wissen
Wenn sich die Welt ins freie Leben,
Und in die Welt wird zurückbegeben,
Wenn dann sich wieder Licht und Schatten
Zu echter Klarheit wieder gatten
Und man in Märchen und Gedichten
Erkennt die wahren Weltgeschichten,
Dann fliegt vor einem geheimen Wort
Das ganz verkehrte Wesen fort.

Friedrich von Hardenberg (Novalis), 1772-1801

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Aufgabenstellung 1

2 Entwicklung von Katalysatoren für die Anwendung in der Esteraminolyse 5

2.1 Allgemeines 5

2.2 Theoretische Untersuchungen zum Mechanismus der Esteraminolyse 6

2.3 Kinetische Grundlagen 9

2.4 Das 2-Pyridon und seine Derivate als Katalysatoren in der Esteraminolyse 12

3 Synthesen ausgewählter 3-cyanosubstituierter 2-Pyridone 15

3.1 Darstellung von ringanellierten 3-Cyano-2-pyridonderivaten durch Kondensationsreaktion von 1,3-Dicarbonylverbindungen 15

3.1.1 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) 16

3.1.2 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**30**) 17

3.1.3 2,5,6,7,8,9-Hexahydro-2-oxo-1*H*-cyclohepta[*b*]pyridin-3-carbonitril (**33**) 17

3.2 Synthese weiterer 3-Cyano-2-pyridone durch Alkylierungsreaktionen 18

3.2.1 Alkylierung von 1,2-Dihydro-6-methyl-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**34**) 18

3.2.2 Alkylierung von 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-pyrindin-3-carbonitril (**29**) 20

3.2.3 Alkylierung von 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**30**) 23

3.2.4 Vergleich der Alkylierungsreaktion an den Ringsystemen von **29** und **30** 26

3.2.5 Aufbau von Bispyridonsystemen aus 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) mit flexiblen Verknüpfungseinheiten 29

3.2.5.1 Synthese von α,ω-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-*n*-alkanen 31

3.2.5.2 Darstellung von *n*-alkylkettenverknüpften Bispyridonsystemen mit **29** als Grundkörper 32

3.2.6 Einbau einer funktionalisierten Seitenkette in Verbindung **29** 35

3.3 Untersuchungen zur Festkörperstruktur von 3-Cyano-2-pyridonen 38

4 Die Esteraminolyse am System *p*-Nitrophenylacetat (5) mit *n*-Butylamin (6) in $CDCl_3$ als Reaktionsmedium 48

4.1 Katalysatorenwahl und deren Löslichkeit im Reaktionsmedium 48

4.2 Datenaufnahme der kinetischen Untersuchungen 49

4.3 Kinetisches Modell I: Katalysatorassoziation führt zur Nichtlinearität 51

4.4 Reduzierung der in der Kinetik vorhandenen Variablen 53

4.4.1 Unabhängige Bestimmung der Hintergrundreaktion 53

4.4.2 Untersuchungen zum Aggregationsverhalten von Pyridonderivaten in $CDCl_3$ 54

4.4.2.1 Bestimmung der Dimerisierungskonstanten von Verbindung **29** und **30** über NMR-Titration in reinem $CDCl_3$ 55

4.4.2.2 Messungen in mit *n*-Butylamin (**6**) angereichertem $CDCl_3$ 63

4.5 Auswertung der Daten nach dem Kinetischen Modell I 65

4.6 Kinetisches Modell II: Vorgelagertes Gleichgewicht 67

4.7 Zusammenfassung der kinetischen Beobachtungen für das System 5 mit 6 73

5 Untersuchungen zum Hydrolyse- und Aminolyseverhalten des Depsipeptids D-Ala-D-Lac in wässriger Lösung 74

5.1 Vorkommen und Eigenschaften des Depsipeptids D-Ala-D-Lac 74

5.2 Kombination mechanistischer und kinetischer Untersuchungen 77

5.3 Synthese des Depsipeptids *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (59) 80

5.4 Synthese der Reaktionsprodukte und Referenzsubstanzen 85

5.4.1 Synthese des *p*-Nitrobenzoyl-D-alanins (**60**) 85

5.4.2 Synthese des *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-butylamids (**61**) 86

5.5 Entwicklung einer HPLC-Analysenmethode zur zeitabhängigen Untersuchung der Spaltung von 59 in wässriger Lösung 89

5.6 pH-Wert-abhängige Hydrolyse des D-Ala-D-Lac-Motivs (59), Pufferwahl und Hydrolysestabilität der Referenzsubstanzen 60 und 61 95

5.7 Abhängigkeit der mit *n*-Butylamin (6) basenkatalysierten Hydrolyse des D-Ala-D-Lac-Motivs (59) vom pH-Wert 98

5.8 Einsatz von 2-Pyridonen als Katalysatoren in der Hydrolysereaktion des Depsipeptids 59 99

5.9 Untersuchungen zur Spaltungstendenz der im D-Ala-D-Lac-Substrat (59) vorhandenen Amidbindung 106

6 Zusammenfassung 109

7 Experimenteller Teil 116

7.1 Allgemeines 116

7.1.1 Analytik und verwendete Geräte 116

7.1.2 Allgemeine Arbeitsmethoden 118

7.1.3 Verwendete Chemikalien und Lösemittel 118

7.2 Synthesevorschriften und analytische Daten 120

7.2.1 Synthesen ausgewählter 2-Pyridon-Derivate 120

7.2.1.1 Natriumsalz des 2-Hydroxymethylencyclopentanons (**28**) 120

7.2.1.2 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) aus **28** 121

7.2.1.3 Natriumsalz des 2-Hydroxymethylencycloheptanons (**32**) 123

7.2.1.4 2,5,6,7,8,9-Hexahydro-2-oxo-1*H*-cyclohepta[*b*]pyridin-3-carbonitril (**33**) aus **32** 124

7.2.1.5 6-(4-Phenylbutyl)-1,2-dihydro-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**36**) aus **34** 126

7.2.1.6 2,5,6,7-Tetrahydro-7-methyl-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**37**) aus **29** 128

7.2.1.7 2,5,6,7-Tetrahydro-7,7-dimethyl-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**38**) aus **29** 130

7.2.1.8 7-(3-Phenylpropyl)-2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**39**) aus **29** 131

7.2.1.9 7,7-Bis(3-phenylpropyl)-2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**40**) aus **29** 133

7.2.1.10 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-8-methyl-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**41**) aus **30** 135

7.2.1.11 Synthese von Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-alkan-Vorstufen 137
7.2.1.11.1 Darstellung von 1,3-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-propan (**44**) 137
7.2.1.11.2 Darstellung von 1,5-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-pentan (**45**) 138
7.2.1.11.3 Darstellung von 1,7-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-heptan (**46**) 139
7.2.1.12 2,2'-Dioxo-2,2',5,5',6,6',7,7'-octahydro-7,7'-pentan-1,5-diyl-bis-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**48**) aus **29** und **45** 140
7.2.1.13 2,2'-Dioxo-2,2',5,5',6,6',7,7'-octahydro-7,7'-heptan-1,7-diyl-bis-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**49**) aus **29** und **46** 142
7.2.1.14 7-(5-Pentyltosylat)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**54**) aus **29** und **45** 144
7.2.1.15 7-(7-Heptyltosylat)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**55**) aus **29** und **46** 146
7.2.1.16 7-(7-Heptanol)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**56**) aus **55** 148
7.2.2 Synthese des Substrats *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) 150
7.2.2.1 R-(+)-2-(Trimethylsilyl)ethyllactat (**67**) 150
7.2.2.2 Kupplungsreaktion von **67** mit Boc-D-Alanin (**68**) 151
7.2.2.3 Entfernung der Boc-Schutzgruppe von Verbindung **70** 153
7.2.2.4 Kupplungsreaktion von **71** mit *p*-NO_2-Benzoylchlorid (**72**) 154
7.2.2.5 Entschützen der Verbindung **73** und Reinigung der Zielverbindung **59** 155
7.2.3 Synthese der Referenzverbindungen 157
7.2.3.1 Darstellung von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanin (**60**) 157
7.2.3.2 Darstellung von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-butylamid (**61**) 159
7.2.3.2.1 *t*-Butyloxycarbonyl-D-alanyl-*n*-butylamid (**75**) 159
7.2.3.2.2 Entfernung der Boc-Schutzgruppe von Verbindung **75** 161
7.2.3.2.3 *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-*n*-butylamid (**61**) 161
7.2.3.3 Darstellung von *N*-(*p*-Nitrobenzoyl)-*N*'-[tris-(hydroxymethyl)-methyl]-alaninamid (**79**) aus **60** 163

8 Kinetische Messungen 164

8.1 Geräte und Messmethoden 164

8.1.1 NMR-Analytik 164
8.1.2 HPLC-Analytik 164

8.2 Aggregations-Messungen mittels NMR-Technik in $CDCl_3$ 165

8.3 Kinetische Messungen mittels NMR-Technik in $CDCl_3$ 168

8.3.1 Bereitung der Stammlösungen und Probenvorbereitung 168
8.3.2 Unabhängige Bestimmung der Hintergrundreaktion 169
8.3.3 Mit Pyridonderivat **20** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**) 172
8.3.4 Mit Pyridonderivat **29** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**) 173
8.3.5 Mit Pyridonderivat **30** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**) 174
8.3.6 Mit Pyridonderivat **33** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**) 175
8.3.7 Mit Pyridonderivat **34** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**) 176
8.3.8 Mit Pyridonderivat **43** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**) 177
8.3.9 Mathematische Ableitung des kinetischen Modells II: Vorgelagertes Gleichgewicht 178

8.4 Kinetische Messungen mittels HPLC-Technik in wässrigem Medium mit 59 als Substrat 180

8.4.1 Bereitung der Stammlösungen und Probenvorbereitung 180
8.4.2 Hydrolysereaktion von **59** in Abhängigkeit des pH-Wertes 182
8.4.3 Hydrolysereaktion von **59** in Abhängigkeit der Pufferkonzentration 189
8.4.4 Referenzmessungen zur Stabilität von **60** und **61** 192
8.4.5 Aminolyse von **59** mit **6** in Abhängigkeit des pH-Wertes 194
8.4.6 Mit Pyridonderivaten **20** und **29** versetzte Hydrolysereaktion von **59** 199
8.4.7 Mit Pyridonderivaten **20** und **29** versetzte Aminolysereaktion von **59** 202
8.4.8 Mit Pyridonderivat **56** versetzte Hydrolyse- und Aminolysereaktion von **59** 205

9 Literatur 209

Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström (10^{-10} m)
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetylrest
Ala	Alanin
API	*Active Pharmaceutical Ingredient*
Ar	Arylrest
Ber.	Berechnet
Boc	*tert*-Butyloxycarbonyl - Schutzgruppe
Bu	Butylgruppe
BuLi	Butyllithium
c	Konzentration
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol
CI	Chemische Ionisierung
d	Tag
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	*N*,*N'*-Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
decomp.	(unter) Zersetzung
DIEA	Diisopropylethylamin
DIPA	Diisopropylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EA	Elementaranalyse
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid
EEDQ	*N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin
EI	Elektronenstoßionisation
Et	Ethylgruppe
EtOAc	Essigsäureethylester
eq.	Äquivalent
eV	Elektronenvolt
FAB	*Fast Atom Bombardement*
GC	Gaschromatographie
Gef.	Gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde
Hex	Hexan
HPLC	*High Performance Liquid Chromatography*
HR-MS	*High Resolution - Mass Spectra*
I	Ionenstärke
IBCF	Isobutylchlorformiat, Chlorameisensäureisobutylester
IPCF	Isopropenylchlorformiat, Chlorameisensäureisopropenylester
IR	Infrarot
K	Kelvin

K_{as}	Assoziationskonstante
K_C	Komplexbildungskonstante
K_D	Dimerisierungskonstante
K_T	Konstante des Tautomerengleichgewichts
k_{kat}	katalysatorabhängige Reaktionsgeschwindigkeit [$l^2\ mol^{-2}\ s^{-1}$]
k_A	aminabhängige Reaktionsgeschwindigkeit [$l^2\ mol^{-2}\ s^{-1}$]
k_{obs}	beobachtete Reaktionsgeschwindigkeit [s^{-1}]
konz.	konzentriert
Kat	Katalysator
Lac	*Lactic acid*, Milchsäure
LDA	Lithiumdiisopropylamid
Lit.	Literatur
LM	Lösemittel
M	molar (mol/l)
Me	Methyl
MeOH	Methanol
min	Minute
MOPS	3-(*N*-Morpholin)propansulfonsäure
MS	Massenspektrum, Massenspektrometrie
N	normal (Konzentrationsangabe)
n.b.	nicht bestimmt
NMR	*Nuclear Magnetic Resonance*
ÖV	Ölpumpenvakuum
p	*para*
Ph	Phenyl
ppm (NMR)	*parts per million*
R_f	Retentionsfaktor (*ratio to front*, DC)
R_t	Retentionszeit (HPLC)
R	Rest
rds	*rate determining step*; geschwindigkeitsbestimmender Schritt
RP	*Reversed Phase* (HPLC)
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
SAR	*Structure-Activity Relationship*
Sdp.	Siedepunkt
Smp.	Schmelzpunkt
UV	Ultraviolett
T	Temperatur
TBAF	Tetra-*n*-butylammoniumfluorid
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THA	9-Amino-1,2,3,4-tetrahydroacridin
THF	Tetrahydrofuran
TMSE	Trimethylsilylethanol
Tos	Tosyl (Toluolsulfonyl)
Tris	1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (Puffer)
Vis	*visible*
Vol.	Volumen

1 Einleitung und Aufgabenstellung

Die Komplexität chemischer Reaktionen stellt nach wie vor eine enorme Herausforderung bei der Aufklärung der zugrunde liegenden Mechanismen dar. Die unterschiedlichen Wechselwirkungen der im Reaktionsgemisch vorhandenen Substanzen erschweren oft die separate Kontrolle und Quantifizierung gleichzeitig auftretender Einzelprozesse. Die Entwicklung von einfachen Modellsystemen ermöglicht dabei die Kontrolle einzelner oder mehrerer Parameter. In den auf elementare Strukturmotive konzentrierten Systemen können dabei einzelne Prozesse hervorgehoben werden, aber es kann auch sukzessive die Komplexität der Gesamtreaktion erhöht werden. Am Anfang der Aufklärung eines Mechanismus steht die experimentelle Bestimmung der Reaktionskinetik. Durch Beobachtung der zeitlichen Veränderung der Konzentration einer oder mehrerer Komponenten kann ein Geschwindigkeitsgesetz aufgestellt werden. Die gewonnenen kinetischen Daten stellen zwar die Möglichkeit bereit, Kriterien abzuleiten, die jeder vorgeschlagene Mechanismus erfüllen muss, können aber niemals einen Mechanismus beweisen. Aus dem Reaktionsmechanismus kann ein Geschwindigkeitsgesetz abgeleitet werden, aber aus dem Geschwindigkeitsgesetz kein Mechanismus.[1-5]

Eine spezielle und oft angewandte Reaktionsvariante stellt in diesem Zusammenhang die Katalyse mit der Aufklärung ihrer Einzelprozesse dar. Das Prinzip der Katalyse ist bereits seit der Antike in Form der alkoholischen Gärung bekannt und erhielt ihren Namen von dem griechischen Wort "*katalysis*", was so viel bedeutet wie "Auflösung", "Zersetzung" oder "Umsturz".[6,7] Heutzutage werden etwa 85 % aller chemischen Produkte durch den Einsatz von Katalysatoren erzeugt.[8] Die Katalyse beruht in ihrem Wesen auf der Bildung von gerichteten Bindungen zwischen Katalysator und Substrat. Daraus resultiert die Aktivierung einer oder mehrerer der Ausgangstoffe in einem Katalysator-Substrat-Komplex, welcher nach erfolgreicher Umsetzung wieder gelöst wird und den Katalysator freisetzt. Katalysatoren sind also Stoffe, die ausdrücklich und gewollt in den Reaktionsmechanismus eingreifen, aber selbst durch die Reaktion nicht verbraucht werden. Sie setzen die zur Reaktion notwendige Aktivierungsenergie E_A herab und beschleunigen die Gesamtreaktion, verändern aber nicht die Lage des Gleichgewichts. Die Wirkungsweise des Katalysators besteht darin, dass durch seine Anwesenheit Reaktionswege eröffnet werden, in denen die Übergangszustände (ÜZ, aktivierte Komplexe) zu jeder Zeit eine niedrigere Energie haben als im unkatalysierten

Reaktionsweg. Dieses Prinzip wird in dem in Abbildung 1-1 gezeigten Reaktionsprofil veranschaulicht.[9,10]

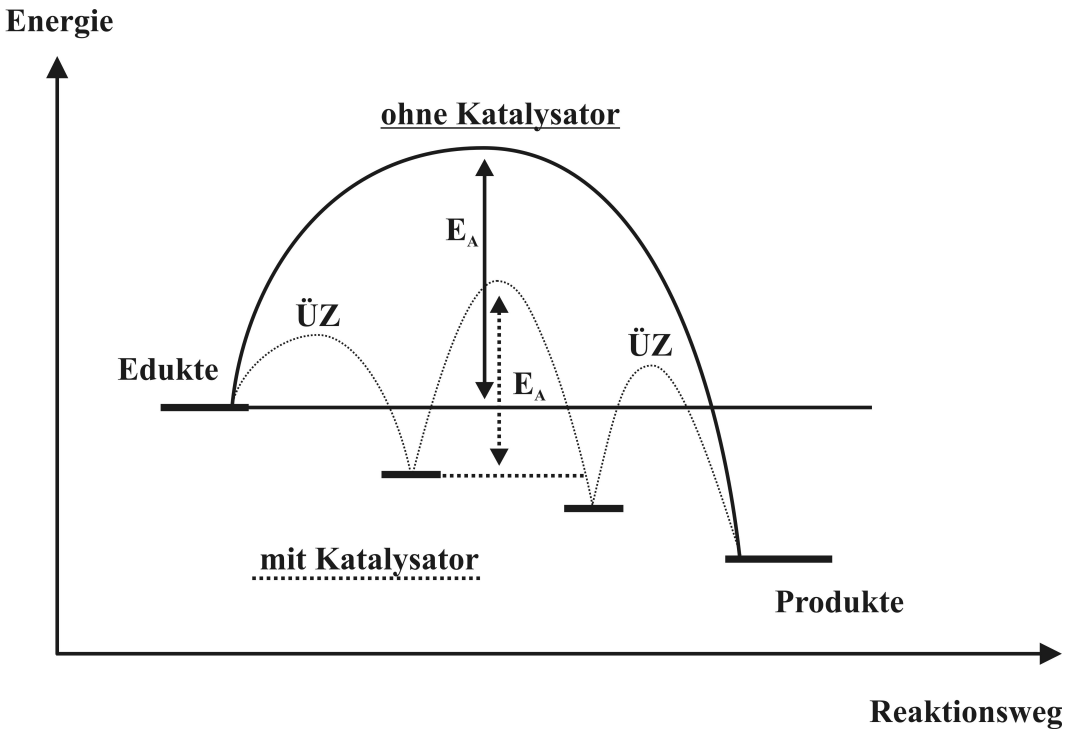


Abbildung 1-1: Schematische Darstellung eines Reaktionsprofils mit (gestrichelte Linie) und ohne (durchgezogene Linie) Einwirkung eines Katalysators. Bei Verwendung eines Katalysators wird die Aktivierungsenergie E_A herabgesetzt und die Reaktion auf andere Reaktionspfade mit günstigeren Übergangszuständen (ÜZ) umgeleitet.

Eine besondere Art von Katalysatoren bildet die Gruppe der Enzyme, auch als Biokatalysatoren bezeichnet, die von lebenden Organismen produziert werden und nahezu alle chemischen Reaktionen in deren Stoffwechsel kontrollieren. Viele der biologischen Verläufe sind dabei abhängig von einer selektiven Hydrolysereaktion von Estern und Amiden. In der Natur wird dieser Prozess hochspezifisch und effizient mittels Enzym-Kaskaden von Hydrolasen, Peptidasen etc. durchgeführt. Deswegen wurde und wird auch heute noch intensiv am prinzipiellen Grundverständnis der enzymkatalysierten Ester- und Amidhydrolyse geforscht.[11-15] Viele Versuche wurden unternommen, um die zugrunde liegenden Systeme nachzubilden und mit unterschiedlichsten Substanzen auf eine katalytische Aktivität hin zu überprüfen. Neben der Nachbildung der im aktiven Zentrum des Enzyms vorhandenen und an der Reaktion beteiligten Aminosäureeinheiten in Triaden[16], Dyaden[17] oder synthetischen Miniatur-Esterasen[18] wurden auch mit entsprechend modifizierten Cyclodextrinderivaten, die günstige und den Enzymtaschen ähnliche Kavitäten schaffen sollen,[19] synthetische und katalytische Erfolge erzielt. Die Synthese spezifischer "Biokatalysatoren"[20] und

enantioselektiver Katalysatoren mit kombinatorischen Methoden stehen dabei erst am Anfang ihrer Entwicklung.[21]

Der kleinste mögliche Schritt, der in den oben genannten Modellen unternommen werden kann, ist die Beschränkung auf das "katalytische Zentrum", das alle geforderten Bedingungen erfüllt und wenn möglich in einem Molekül von geringer Größe vorhanden ist.[16,22] Dieses Prinzip wurde bereits in der Synthese von katalytischen Antikörpern[16,23-25] und dem Einsatz von Verbindungen wie z.B. Imidazolen und Derivaten, die eine "*two proton transfer*" bzw. "bifunktionale" Katalyse im Sinne eines "*small molecule approach*" ermöglichen, verwirklicht.[17,26] Bei der Entwicklung von künstlichen Analoga von Enzymen und von maßgeschneiderten bifunktionellen Substanzen zur selektiven Spaltung von Estern oder dem Aufbau von Peptidbindungen dient sehr oft die Aminolysereaktion von aktivierten Estern in verschiedenen Lösemitteln als Modellsystem.[10,17-19,22-24,26,27]

Aufgabenstellung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Serie von unterschiedlichen, bifunktionalen 3-Cyano-2-pyridonderivaten synthetisiert. Die Substanzen wurden in einem unpolaren Reaktionsmedium auf ihre katalytische Aktivität überprüft. Als Modellreaktion diente dabei die *n*-Butylaminolyse von *p*-Nitrophenylacetat, die mit Hilfe von ^{1}H-NMR-Messungen spektroskopisch verfolgt wurde. Wegen der begrenzten Löslichkeit der 3-Cyano-2-pyridone in unpolaren Medien war es notwendig, an den Grundkörper Ringstrukturen und Alkylketten anzubringen, die einerseits die Solvatisierung fördern sollen und andererseits, aufgrund des veränderten Substitutionsmusters, einen möglicherweise positiven Effekt auf die Katalyse ausüben können. Im Zuge des Katalysatordesigns sollte getestet werden, ob es möglich ist, auf einem einfachen synthetischen Weg chirale 2-Pyridonderivate herzustellen.

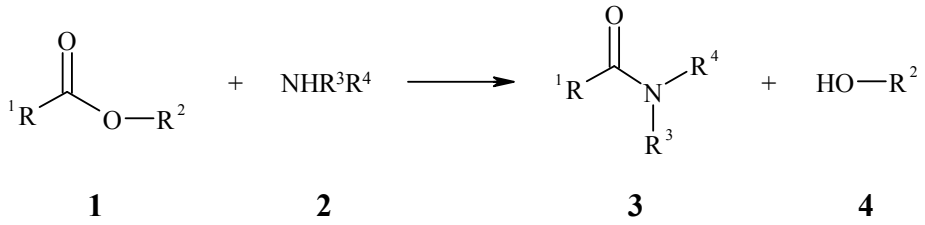
Durch sukzessive und unabhängige Bestimmung der in der Reaktionskinetik vorhandenen Variablen sollte deren Anzahl im formulierten Geschwindigkeitsgesetz vermindert werden und eine exaktere Ermittlung der katalysatorabhängigen Geschwindigkeitskonstanten k_{kat} ermöglicht werden. In diesem Zusammenhang wurde eine detaillierte Untersuchung des Assoziationsverhaltens der 2-Pyridone sowohl im angewandten Reaktionsmedium, als auch in den Festkörperstrukturen durchgeführt. Mit den unabhängig gewonnenen Daten sollte anschließend das Geschwindigkeitsgesetz überprüft und wenn nötig angeglichen werden.

Eine weitere Motivation dieser Arbeit stellte die Entwicklung einer Modellreaktion für die Ester- und Amidspaltung unter physiologischen Bedingungen dar. Sie sollte sich zur routinemäßigen Überprüfung von Katalysatorsubstanzen eignen und eine Quantifizierung der entsprechenden Reaktanten und Reaktionsprodukte ermöglichen. Die Analytik wurde dabei auf eine HPLC-Analysenmethode übertragen, damit in sehr verdünnten Konzentrationsbereichen gemessen werden konnte. Dies ermöglichte die Detektion kleinster Veränderungen in den Konzentrationsverhältnissen und das Auffinden geringer Spuren von Nebenprodukten. Als Esterkomponente kam hier das in Gram-positiv Bakterien vorhandene Depsipeptidmotiv D-Ala-D-Lac zum Einsatz. Zur Visualisierung der Leitstruktur und der möglichen Reaktionsprodukte mit UV/Vis-Technik werden die entsprechenden *p*-Nitrobenzoylderivate synthetisiert. Mit diesen Referenzsubstanzen sollte eine Methode entwickelt werden, welche eine einwandfreie Verfolgung der Reaktion des Substrats mit Nucleophilen wie Wasser, *n*-Butylamin und ausgewählten 2-Pyridonderivaten in einem wässrigen, gepufferten Medium bei 37 °C gewährleistet.

2 Entwicklung von Katalysatoren für die Anwendung in der Esteraminolyse

2.1 Allgemeines

Bei der Esteraminolyse handelt es sich um eine wohlbekannte, reversible Umsetzung von Estern (**1**) mit primären oder sekundären Aminen (**2**) (Abbildung 2-1).[28] Die Edukte reagieren miteinander unter Freigabe des im Ester gebundenen Alkohols (**4**) zu den entsprechend *N*- bzw. *N*,*N*-substituierten Amiden (**3**). Als Esterkomponente können sowohl Alkyl- als auch Arylderivate unterschiedlichsten Substitutionsgrades eingesetzt werden.

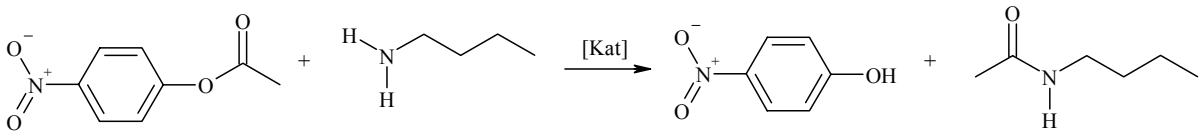


1 **2** **3** **4**

Abbildung 2-1: Allgemeines Reaktionsschema einer Esteraminolyse, bei der ein funktionalisierter Ester (**1**, wobei: R^1, R^2 = Alkyl-, bzw. Arylrest) wahlweise mit einem primären oder sekundären Amin (**2**, wobei R^3, R^4 = H, Alkylrest) umgesetzt wird. Als Reaktionsprodukte werden zum Einen die entsprechend substituierten *N*- oder *N*,*N*-Amide (**3**) und zum Anderen die korrespondierenden Alkohole (**4**) erhalten.

Wird die aufzubauende Bindung zwischen zwei Aminosäuren oder deren Derivaten geknüpft, so kann auf diese Weise eine Peptidbindung generiert werden. Aufgrund der großen Zahl an Variationsmöglichkeiten bezüglich der Komponentenwahl stellt die Esteraminolyse eine sehr wertvolle präparative Methode beim Aufbau unterschiedlichster Amid- und Peptidbindungen dar.[29] Sowohl die Knüpfung als auch die Spaltung der Amid- bzw. Peptidbindung wird in der Protein-Biosynthese durch spezifische Enzyme sehr effizient katalysiert. Generell kann die Esteraminolyse durch Zugabe von Säuren oder Basen auch im Labor katalytisch durchgeführt werden.[30] Eine derartige Reaktionsführung ist aber zum Aufbau von säure- bzw. baseunbeständigen Verbindungen und damit stereospezifischen Molekülstrukturen ungeeignet.[30,31] Daher stellt die Entwicklung moderner Katalysatoren eine besondere Herausforderung dar, um annähernd die katalytische Aktivität von Enzymen zu erreichen. In

diesem Zusammenhang untersuchten *Schellenberger et al.*[32] und *Nakamizo*[29e,f] detailliert Reaktionen, die zur Bildung und zur Spaltung von Amidbindungen führen. Experimentelle Arbeiten, die zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus von synthetischen Katalysatoren in der Esteraminolyse und zum Verständnis der reaktiven Schritte beitragen, werden oft an einfachen Modellen durchgeführt. Als Modellsystem zur Überprüfung einer möglichen Katalyseaktivität kommt unter anderem die Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**), einem aktivierten Essigsäureester, mit *n*-Butylamin (**6**) unter Ausbildung von *p*-Nitrophenol (**7**) und *N*-Butylacetamid (**8**) zum Einsatz (Abbildung 2-2).



5 **6** **7** **8**

Abbildung 2-2: Aminolysereaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) zu den Produkten *p*-Nitrophenol (**7**) und *N*-Butylacetamid (**8**). Die Reaktion kann mit Katalysatoren ([Kat]), wie z.B. Säuren oder Basen beschleunigt werden.

2.2 Theoretische Untersuchungen zum Mechanismus der Esteraminolyse

Zur mechanistischen Aufklärung der Esteraminolyse wurden von *Zipse et al.*[33] und von *Oie et al.*[34] *ab initio* Berechnungen an einfachen Modellsystemen wie Ammoniak und Ameisensäure durchgeführt. Die Ergebnisse für die in der Gasphase berechneten Modellreaktionen zeigen, dass mehrere Reaktionspfade existieren. Wird die Aminolyse in der Gasphase oder in unpolaren Lösemitteln durchgeführt,[35,36] so gibt es einen einstufigen (Abbildung 2-3) und einen mehrstufigen Reaktionsmechanismus (Abbildung 2-4). Das von *Gandour et al.*[36-38] behandelte Modellsystem, bestehend aus Phenylacetat (**9**) und Methylamin (**10**), kommt dem in dieser Arbeit experimentell untersuchten Reaktionssystem sehr nahe. Aus den theoretischen Berechnungen in der Gasphase ergeben sich für diese Reaktion ebenfalls die bereits erwähnten zwei Reaktionsmechanismen.

Bei dem einstufigen Reaktionsweg (Abbildung 2-3) handelt es sich um einen direkten Substitutionsmechanismus, der über einen formal ungeladenen Übergangszustand **11** verläuft, welcher in unpolaren Lösemitteln energetisch begünstigt wird. Die *C*-*N*-Bindungsbildung und die *C*-*O*-Bindungsspaltung erfolgen gleichzeitig durch Protonenübertragung vom Stickstoff-

zum Sauerstoffatom. Dabei werden die Produkte Phenol (**12**) und *N*-Methylacetamid (**13**) gebildet.

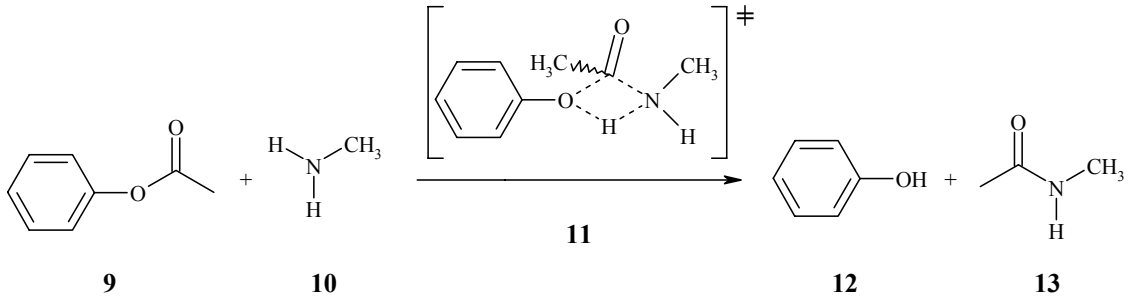


Abbildung 2-3: Direkter Substitutionsmechanismus über den formal ungeladenen Übergangszustand **11**.

Der mehrstufige Reaktionsweg entspricht einem Additions-Eliminierungs-Mechanismus (Abbildung 2-4). Methylamin (**10**) greift zunächst nucleophil am Carbonyl-Kohlenstoff von **9** an und über den viergliedrigen Übergangszustand **14** wird anschließend ein Proton auf den Carbonyl-Sauerstoff übertragen und das Zwischenprodukt **15** gebildet. Im folgenden Reaktionsschritt wird aus **15** durch Protonenwanderung über einen weiteren viergliedrigen Übergangszustand **16** Phenol (**12**) abgespalten und *N*-Methylacetamid (**13**) gebildet.

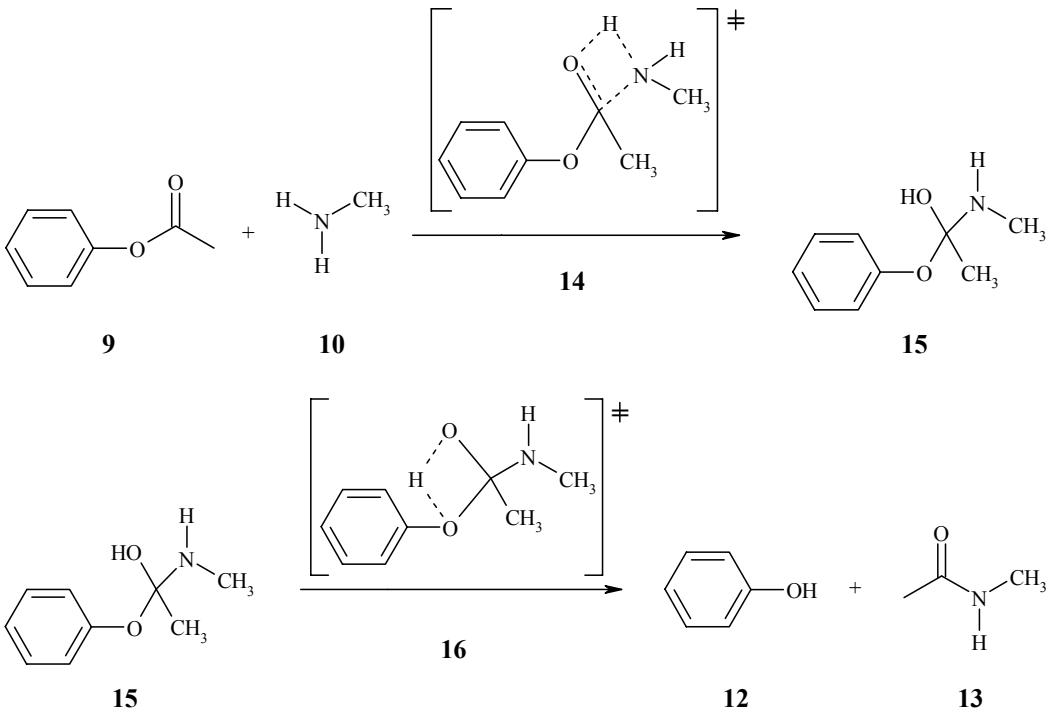
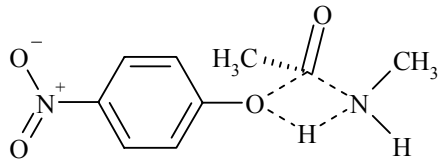


Abbildung 2-4: Additions-Eliminierungs-Mechanismus des mehrstufigen Reaktionspfades der Esteraminolyse.

Sowohl vom Übergangszustand **11** beim einstufigen, als auch von den Übergangszuständen **14** und **16** beim zweistufigen Reaktionspfad gibt es jeweils zwei Stereoisomere, die sich nur in der Stellung der Methylgruppe am Amin unterscheiden. Die energetische Differenz zwischen den verschiedenen Übergangszuständen (**11**: ∅ ΔE = + 27.8 kcal/mol,[35] **14**: ∅ ΔE = + 32.0 kcal/mol[35]) ist relativ gering. Für das Modellsystem, bestehend aus Methylamin (**10**) und *p*-Nitrophenylacetat (**5**), konnte der Übergangszustand **17** (Abbildung 2-5) berechnet werden, der bezüglich der Übergangsstruktur **11** des Modellsystems Methylamin (**10**) mit Phenylacetat (**9**), eine um ca. 10 kcal/mol geringere Aktivierungsenergie von +17.1 kcal/mol[35] besitzt. Verglichen mit den Werten für das oben beschriebene System ist die Reaktionsbarriere deutlich kleiner, da die elektronenziehende Nitrogruppe in **5** den nucleophilen Angriff des Amins **10** stärker begünstigt.



17

Abbildung 2-5: Übergangszustand **17** mit der niedrigsten Energie im Modellystem von **5** und **10**.

2.3 Kinetische Grundlagen

Die der Esteraminolyse zugrunde liegende Reaktion wurde mit verschiedenen Derivaten des *p*-Nitrophenylesters (**5**) und einer Vielzahl an Aminen (**2**) intensiv untersucht. Zur Aufklärung des Mechanismus kamen unterschiedliche Kinetikmessungen zum Einsatz, wobei die Reaktionen vor allem mit UV- oder NMR-spektroskopischen Methoden verfolgt wurden. Die Messungen selbst wurden sowohl in wässrigen[30] als auch verschiedenen organischen[29e,f,39-42] Reaktionsmedien durchgeführt. Bei der Esteraminolyse handelt es sich um eine bimolekulare Reaktion zweiter Ordnung, die demzufolge von der Start-Konzentration beider Reaktanten abhängig ist. Zur Reduzierung der Reaktionsordnung wird die Umsetzung unter Bedingungen pseudo-erster Ordnung durchgeführt, d.h. die Esterkonzentration [Ester] wird im Reaktionsgemisch um mindestens zwei Größenordnungen kleiner gewählt als die Aminkonzentration [Amin]. Letztere kann somit über die gesamte Reaktionszeit hinweg als annähernd konstant angesehen werden: [Amin] ≈ $[Amin]_0$. Es ergibt sich Gleichung 2.3-1, in der [Ester] die zu einem bestimmten Zeitpunkt t in der Reaktion noch vorhandenen Esterkonzentration und k_{obs} die beobachtete Reaktionsgeschwindigkeitskonstante darstellen.

Gleichung 2.3-1:

$$-\frac{d[Ester]}{dt} = k_{obs}[Ester]$$

Die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} wird durch Anpassung einer exponentiell abfallenden Kurve nach Gleichung 2.3-1 an den aus den NMR-Spektren erhaltenen Reaktionsfortschritt U(t) aufgetragen. U(t) stellt dabei die zum Zeitpunkt t ermittelbare Esterkonzentration [Ester] dar und wird praktischerweise als Quotient der aus den Messungen zum Zeitpunkt t erhaltenen Integralverhältnisse von noch vorhandener Esterkomponente I(Ester) und der Integralgröße des Produktsignals I(Phenol) angegeben (siehe Gleichung 2.3-2c). Die exponentielle Auftragung von Gleichung 2.3-2a (Abbildung 2-6**A**) ermöglicht die Bestimmung von k_{obs} innerhalb eines Zeitintervalls von mindestens zwei Halbwertszeiten bezüglich der Anfangskonzentration des eingesetzten Esters ($[Ester]_0$). Die simultane Ermittlung eines Zeitkorrekturfaktors Δt ermöglicht die Bestimmung des genauen Startpunktes der Reaktion. Diese Korrekturvariable entsteht durch den unterschiedlichen

Zeitbedarf für das Zusammengeben aller Komponenten und der gerätebedingten Einstellung, sowie dem Shimmprozess des NMR-Geräts vor der ersten Messung.

Gleichung 2.3-2: a) $$[Ester]_t = [Ester]_0 \, e^{-k_{obs}(t-\Delta t)}$$

mit b) $$\frac{[Ester]_t}{[Ester]_0} = U(t) = e^{-k_{obs}(t-\Delta t)}$$

und c) $$\frac{[Ester]_t}{[Ester]_0} = \frac{I[Ester]}{I[Ester] + I[Phenol]}$$

Durch Logarithmieren von Gleichung 2.3-2b wird eine lineare Abhängigkeit der unbekannten Variablen k_{obs} und Δt erreicht, die in Gleichung 2.3-3 und Abbildung 2-6**B** veranschaulicht wird.

Gleichung 2.3-3: $$-\ln U(t) = k_{obs} \cdot t_{corr.}$$

mit $$t_{corr.} = t - \Delta t$$

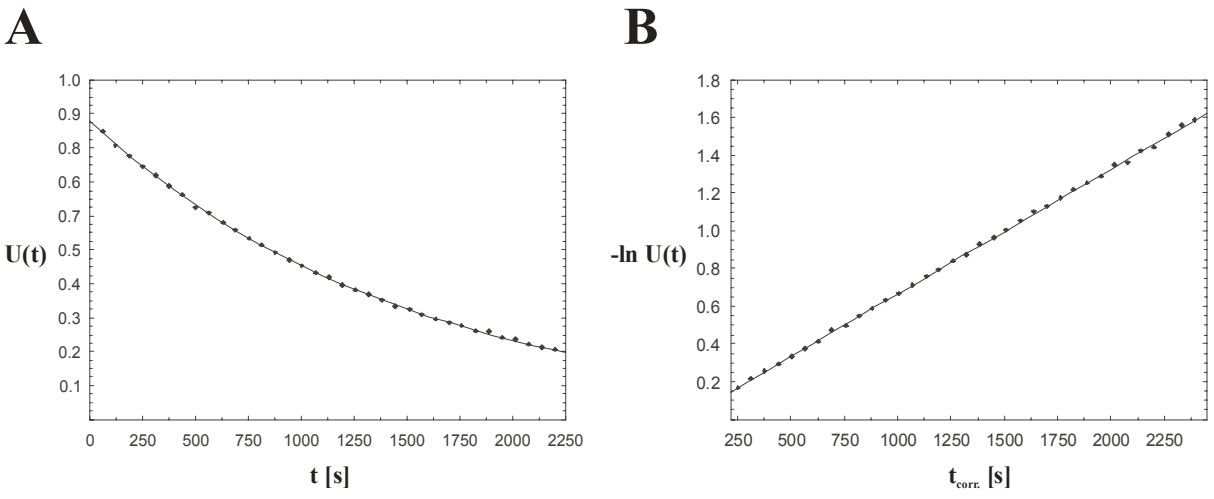


Abbildung 2-6: Auftragung der jeweiligen Umsatzvariablen U in Abhängigkeit von der Zeit t gegen die verstrichene Zeit t in s. Im Bild **A** wird die exponentielle Abnahme im Verlauf der Zeit nach Gleichung 2.3-2 dargestellt. Im Bild **B** ist die lineare Abhängigkeit nach Gleichung 2.3-3 illustriert.

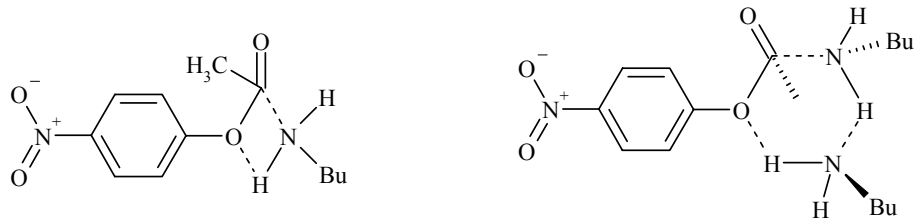
Für Reaktionen, die bezüglich des Esters pseudo-erster Ordnung verlaufen, ergibt sich die beobachtete Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_{obs} aus zwei Termen (Gleichung 2.3-4).

Dies konnte für das oben erwähnte System von *Wang*[35] durch Untersuchungen in Chlorbenzol bestätigt werden. Der erste Term ist dabei zweiter Ordnung bezüglich der Aminkonzentration [Amin] und beschreibt einen selbstkatalysierten Prozess, der mit der Geschwindigkeitskonstanten k_A quadratisch in die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} eingeht. Der zweite Term ist bezüglich des Amins erster Ordnung und geht mit der Konstanten $k_{A'}$ in den Gesamtprozess ein.

Gleichung 2.3-4:

$$k_{obs} = k_A [Amin]^2 + k_{A'} [Amin]$$

Aus der Termzusammensetzung in Gleichung 2.3-4 ist ersichtlich, dass für die Esteraminolyse prinzipiell zwei Reaktionspfade existieren, die auch bei den theoretischen Untersuchungen zum Mechanismus erhalten wurden (siehe Punkt 2.2). Der erste Pfad ist bezüglich des Amins bimolekular und der zweite unimolekular.[33,34] Der zweite Term entspricht dem direkten Substitutionsmechanismus mit dem in Abbildung 2-7 gezeigten Übergangszustand **18**. Der erste Term dagegen gehört zu einem mehrstufigen Mechanismus, an dem im Übergangszustand **19** zwei Aminmoleküle beteiligt sind (Abbildung 2-7). Demnach besteht die Möglichkeit, im mehrstufigen Reaktionsweg ein Aminmolekül durch einen entsprechend funktionalisierten Katalysator zu ersetzen.



18 **19**

Abbildung 2-7: Übergangszustände der un- und selbstkatalysierten Butylaminolyse von *p*-Nitrophenylacetat (**5**).

Wird zur Reaktionslösung eine bestimmte Konzentration an aktivem Katalysator [Kat] gegeben, so erweitert sich Gleichung 2.3-4 um einen dritten Term, der neben der katalysatorabhängigen Geschwindigkeitskonstante k_{kat} noch die Amin- und die Katalysatorkonzentration enthält (Gleichung 2.3-5).

Gleichung 2.3-5:

$$k_{obs} = k_A [Amin]^2 + k_{A'} [Amin] + k_{kat} [Amin] \cdot [Kat]$$

Für unverzweigte Amine, wie das hier verwendete *n*-Butylamin (**6**), ist $k_{A'}$ unterhalb einer Temperatur von 30 °C vernachlässigbar klein.[39,43] Gleichung 2.3-5 lässt sich also für Messungen bei Temperaturen von 20-25 °C, wie sie üblicherweise bei NMR-Messungen vorliegen, auf folgende Form vereinfachen:

Gleichung 2.3-6: a) $$k_{obs} = k_A[Amin]^2 + k_{kat}[Amin]\cdot[Kat]$$

b) $$\frac{k_{obs}}{[Amin]} = k_A[Amin] + k_{kat}[Kat]$$

Anhand von Gleichung 2.3-6b kann k_{kat} mittels Auftragung von k_{obs}/[Amin] gegen die Katalysatorkonzentration [Kat] aus der Steigung und die Geschwindigkeitskonstante der nur durch *n*-Butylamin (**6**) katalysierten Hintergrundreaktion k_A aus dem Achsenabschnitt durch einfache lineare Regression der Gleichung 2.3-6b bestimmt werden. Die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} wird dazu bei verschiedenen Katalysatorkonzentrationen [Kat] ermittelt und graphisch aufgetragen. Anhand der mathematischen Abhängigkeit der in Gleichung 2.3-6a bzw. b vorkommenden Variablen sollte bei der Auftragung eine Gerade erhalten werden.

2.4 Das 2-Pyridon und seine Derivate als Katalysatoren in der Esteraminolyse

Um eine katalytische Reaktionsführung der Esteraminolyse zu erreichen, wurde bereits eine Vielzahl an Verbindungen eingesetzt und auf ihre katalytische Aktivität hin überprüft. Neben den bereits erwähnten Säuren und Basen[30,31] wurde auch der Einsatz von Imidazolen,[44,45] Pyridinderivaten[43] und Polyetherstrukturen[35,36-38] getestet. Seit den eingehenden Untersuchungen von *Watson et al*.[43] ist die hohe katalytische Aktivität von 2-Pyridonen in der Butylaminolyse von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) bekannt. Die katalytische Wirkung beruht hierbei auf der bifunktionalen Eigenschaft des 2-Pyridons (**20**), das als simultan agierender Protonenakzeptor- und Protonendonor beschrieben werden kann.[46] Als Akzeptor übernimmt

das Pyridon ein Proton vom Amin (**6**) und gibt als Donor ein Proton an das *O*-Atom des Esters (**5**) ab. Durch den konzertierten Prozess wird eine Ladungstrennung und eine daraus resultierende Polarisierung des Gesamtkomplexes vermieden. Der wechselseitige Transfer der Protonen erfolgt über den achtgliedrigen Übergangszustand **21**, in dem die Wasserstoffbrückenbindungen linear angeordnet sind (Abbildung 2-8).

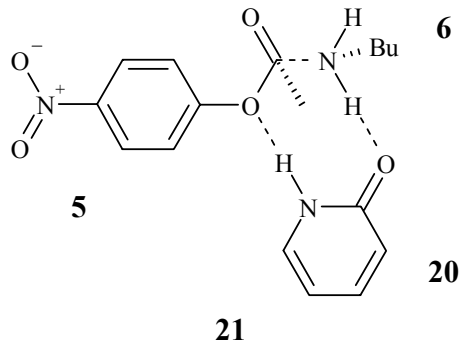


Abbildung 2-8: Achtgliedriger Übergangszustand **21** bei der pyridonkatalysierten Aminolyse von **5** mit **6**.

Auf dem Gebiet der Pyridonderivate wurde vor allem die Stammverbindung, das 2-Pyridon (**20**), als Prototyp zum Aufbau bifunktionalisierter Moleküle sehr intensiv untersucht. Die im Molekül **20** vorhandene Amid Substruktur stellt ein solides Fundament zum Aufbau einer supramolekularen Architektur und dem Einsatz in bifunktionalen Katalysen dar.[33-38,47-52] Verbindung **20** liegt in Lösung, bedingt durch ein Tautomerengleichgewicht, in den zwei bekannten Formen 2-Pyridon (**20a**) und dem 2-Hydroxypyridin (**20b**) vor (Abbildung 2-9). Die Lage des Gleichgewichts ist dabei abhängig von der Polarität des umgebenden Lösemittels.[47,53,54] Anhand von UV/Vis- und ^{1}H-NMR-spektroskopischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass in unpolaren Lösemitteln wie Cyclohexan,[53] Decan[53] oder Deuterochloroform[35] bevorzugt das 2-Pyridontautomer (**20a**) vorliegt. Eine Katalyse sollte aber aufgrund der vorliegenden Bifunktionalität prinzipiell mit beiden Tautomeren **20a** und **20b** möglich sein.

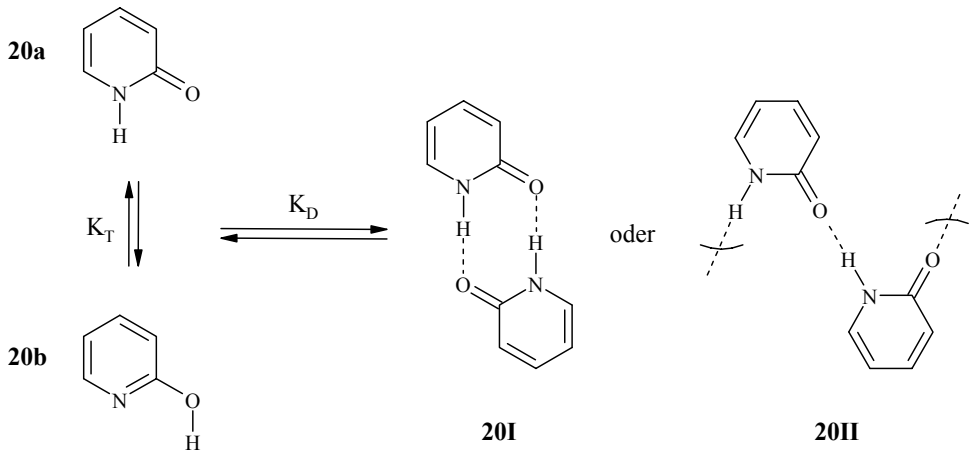


Abbildung 2-9: Tautomerie- und Aggregationsverhalten von 2-Pyridon (**20**) in Lösung.

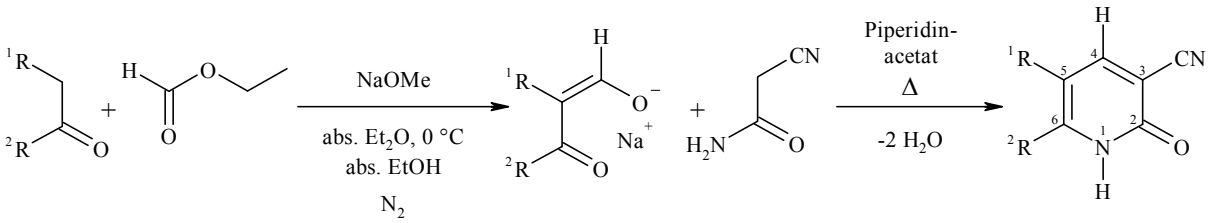
Für die in Abbildung 2-9 dargestellten Tautomere **20a** und **20b** ist darüber hinaus bekannt, dass sie vor allem in unpolaren Lösemitteln vorwiegend in einem assoziierten Zustand vorliegen (K_D = Dimerisierungskonstante). Die Ausbildung von symmetrischen Dimeren **20I** (ein graphentheoretisches $R_2^2(8)$ H-Brücken System[55]), wie auch von oligomeren Ketten **20II** (ein graphentheoretisches C(4) H-Brücken System[55]) ist denkbar. Das Aggregationsverhalten in Lösung wurde quantitativ mit UV/Vis-Spektroskopie in Cyclohexan und Decan,[53] mit IR-Messungen in CCl_4,[56] durch Anwendung von Dampfdruck Osmometrie (*vapor pressure osmometry*) in Chloroform[57] und ^{1}H-NMR-Spektroskopie in THF-d_8[46,47a] und Deuterochloroform[58] (inkl. eigener Beobachtungen siehe unter Punkt: 4.4.2 Aggregationsverhalten von Pyridon **29** und **30**) untersucht. Aus den Analysedaten der behandelten Lösemittel geht hervor, dass die Pyridone klar eine Dimerenstruktur der Form **20I** favorisieren. Die Assoziation der Pyridonderivate hat zur Folge, dass die Konzentration an monomerem 2-Pyridon (**20**) [Kat], welches als die katalytisch aktive Spezies angenommen wird, um den entsprechend nicht katalytisch aktiven Dimerenanteil vermindert ist. Das Fehlen an katalytisch aktivem Material wird sich besonders bei hohen Katalysatorkonzentrationen [Kat] und großen Dimerisierungskonstanten K_D in der kinetischen Behandlung der erhaltenen Messdaten bemerkbar machen. Da die Auswahl an bisher eingesetzten Pyridonderivaten auf UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen beschränkt ist und die Verbindungen größtenteils im verwendeten Reaktionsmedium schlecht löslich sind, wird dieser Sachverhalt mit besser löslichen Derivaten näher untersucht.

3 Synthesen ausgewählter 3-cyanosubstituierter 2-Pyridone

Im Folgenden werden Synthesemethoden aufgezeigt, die zur Darstellung von 3-Cyano-2-pyridon-Derivaten genutzt werden und den Aufbau der im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten und kinetisch untersuchten Verbindungen ermöglichen. Die Klasse der 3-Cyano-2-pyridone wurde ausgewählt, da durch die Anwesenheit der elektronenziehenden Cyanogruppe an der 3-Position die katalytische Aktivität erhöht werden kann. Diese Annahme wird unter anderem durch Berechnungen unterstützt.[33] Als nachteilig erweist sich aber bislang die schlechte Löslichkeit der stark polarisierten Verbindungen in den unpolaren Lösemitteln, die in der Reaktionskinetik verwendet werden. Es wird deshalb versucht, durch Einführung von unpolaren Substituenten in Form von Alkylringen oder Alkylseitenketten diesen Mangel auszugleichen, um mit den neu synthetisierten 3-Cyano-2-pyridonderivaten kinetische Studien in einem größeren Konzentrationsbereich durchzuführen.

3.1 Darstellung von ringanellierten 3-Cyano-2-pyridonderivaten durch Kondensationsreaktion von 1,3-Dicarbonylverbindungen

Eine allgemeine Synthese zur Darstellung von 3-Cyano-2-pyridonen, die an Position C-5 und/oder C-6 mit verschiedenen funktionellen Resten substituiert sein können, wird von *Paine*[59] beschrieben. Durch basenkatalysierte Formylierung einer Ketoverbindung **22** mit Ethylformiat (**23**) wird das stabile Natriumsalz einer 1,3-Dicarbonylverbindung **24** erhalten. Das Salz **24** kann in annähernd quantitativer Ausbeute isoliert und nach vollständiger Entfernung des Lösemittels ohne zusätzliche Reinigung im nächsten Reaktionsschritt umgesetzt werden. Durch Zugabe von Cyanacetamid (**25**) (der α-CH-aciden Komponente), Piperidinacetat als Puffer und Erhitzen zum Rückfluss wird die entsprechende 1,3-Dicarbonylverbindung **24** zum 3-Cyano-2-pyridonderivat (**26**) kondensiert (Abbildung 3-1).



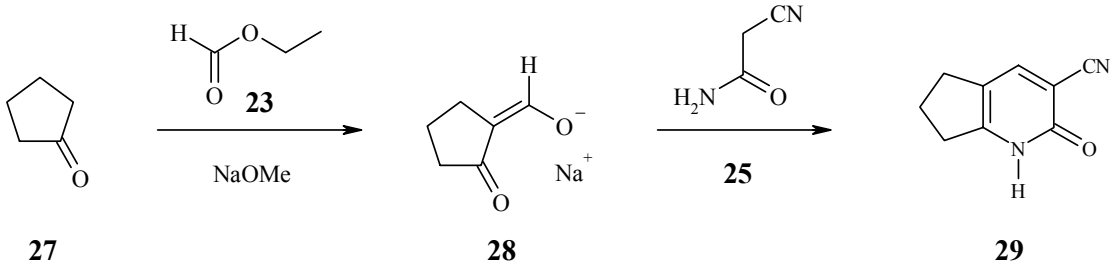
22 **23** **24** **25** **26**

Abbildung 3-1: Reaktionsschema zur Darstellung von 3-Cyano-2-pyridonderivaten (**26**) über einen Kondensationsschritt.

Durch Einsatz von cyclischen Ketoverbindungen **22** können nach obiger Reaktionsführung auch Ringsysteme aufgebaut werden, die in der Zielverbindung über Position C-5 und C-6 mit einer Alkylkette verknüpft sind. Im ersten Reaktionsschritt wird ein Überschuss sowohl an Base (2-3 %) als auch an Ethylformiat (**23**, 2-6 %) eingesetzt. Auf die in der Vorschrift angegebene Zugabe von abs. Ethanol kann durch eine größere Menge an abs. Ether verzichtet werden. Nach Isolierung der Zwischenstufe **24** wird diese mit 1.13 eq. Cyanacetamid (**25**) umgesetzt. Entgegen der von *Paine*[59] durchgeführten Eintopfreaktion kann durch Isolierung von **24** durchweg eine 10 %ige Steigerung der Rohausbeute erreicht werden. Auf diese Weise gelingt die Darstellung der folgenden ringanellierten Verbindungen in guten Ausbeuten.

3.1.1 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**)

Durch Umsetzung von Cyclopentanon (**27**) im ersten Reaktionsschritt erhält man das Natriumsalz des 2-Formylcyclopentanons (**28**) in quantitativer Ausbeute von 99 %. Im Kondensationsschritt wird die isolierte Zwischenstufe **28** zum Pyridonderivat **29** umgesetzt (Abbildung 3-2).



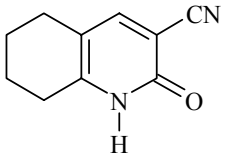
27 **28** **29**

Abbildung 3-2: Reaktionsschema zur Darstellung der Pyridonverbindung **29**.

Die Synthese konnte bereits in vorhergehenden Untersuchungen durchgeführt und in der vorliegenden Arbeit weiter optimiert werden.[60,61] Durch erheblich längere Kristallisationphasen kann die Ausbeute an **29** nach Umkristallisation von 42 % auf 53 % gesteigert werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung wird **29** in elementaranalytisch reiner Form erhalten und umgehend in kinetischen Messungen oder in weiterführenden Reaktionen eingesetzt.

3.1.2 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**30**)

Wird im obigen Reaktionsschema (Abbildung 3-1) die Ketokomponente **22** durch Cyclohexanon ersetzt, so wird nach Isolierung der ionischen Zwischenstufe und anschließender Kondensationsreaktion Verbindung **30** in einer Ausbeute von 28 % erhalten. Nach säulenchromatographischer Reinigung wird **30** umgehend weiterverarbeitet oder auf katalytische Aktivität hin überprüft.[60]



30

Abbildung 3-3: Molekulare Struktur der Verbindung **30**.

3.1.3 2,5,6,7,8,9-Hexahydro-2-oxo-1*H*-cyclohepta[*b*]pyridin-3-carbonitril (**33**)

Wird für die Ketokomponente **22** in Abbildung 3-1 Cycloheptanon (**31**) verwendet, so wird im ersten Reaktionsschritt das Natriumsalz des 2-Formylcycloheptanons (**32**) in quantitativer Ausbeute erhalten (Rohausbeute 99 %). Im Kondensationsschritt wird **32** mit einem Überschuss an Cyanacetamid umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Umkristallisation aus Eisessig mit wenig Aktivkohle erhält man das 2,5,6,7,8,9-Hexahydro-2-oxo-1*H*-cyclohepta[*b*]pyridin-3-carbonitril (**33**) in einer Ausbeute von 30 % (siehe Abbildung 3-4). Durch nachfolgende säulenchromatographische Reinigung wird **33** in elementaranalytisch reiner Form isoliert.

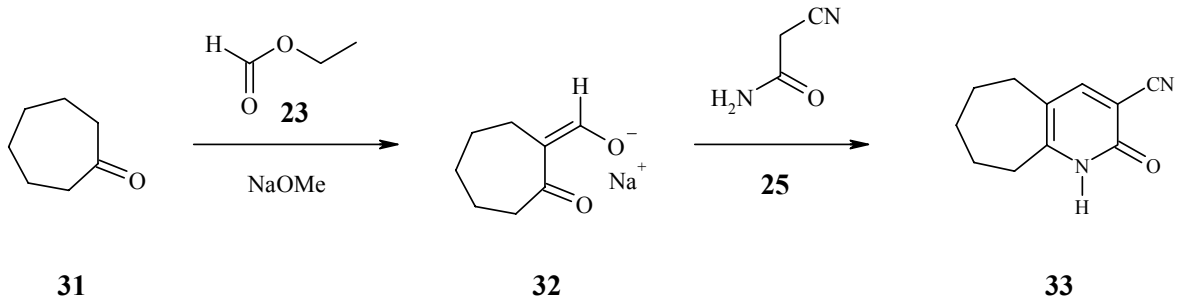


Abbildung 3-4: Reaktionsschema zur Darstellung der Pyridonverbindung **33**.

3.2 Synthese weiterer 3-Cyano-2-pyridone durch Alkylierungsreaktionen

3.2.1 Alkylierung von 1,2-Dihydro-6-methyl-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**34**)

Um eine größere Vielfalt an Pyridonderivaten zu erreichen, werden durch Derivatisierung bereits synthetisierter Vorläufer wie **29** und **30** neue Verbindungen hergestellt. Eine mögliche Methode zur Einführung von Substituenten wird von *Boatman et al.*[62] beschrieben, die es ihnen ermöglichte, selektiv an der C-7 Position (Abbildung 3-5) des Moleküls **34** Methyl- und Benzylgruppen anzubringen. Durch diese Alkylierungsreaktion ist es demnach möglich, in direkter Nachbarschaft zur Amidstruktur (also dem katalytischen Zentrum) selektiv funktionelle Gruppen einzuführen.

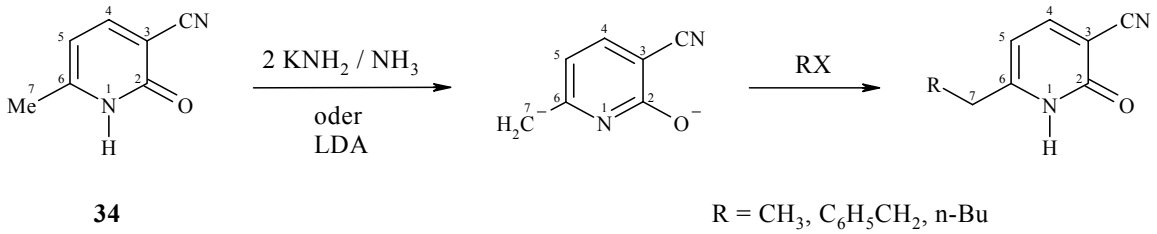
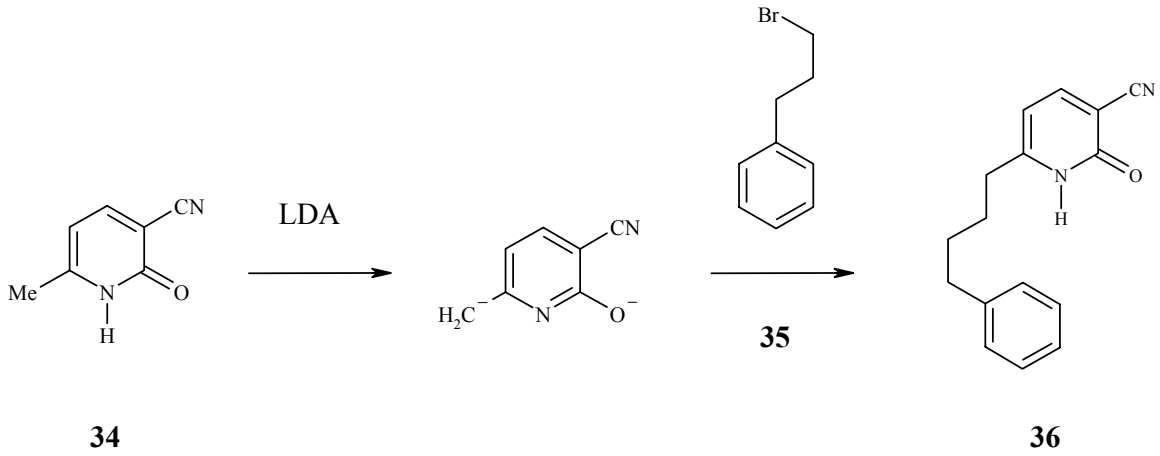


Abbildung 3-5: Reaktionsschema der von *Boatman et al.*[62] beschriebenen Derivatisierung von **34**.

Der von *Boatman et al.*[62] vorgeschlagene Deprotonierungsschritt mit Kaliumamid wird durch das besser handhabbare und *in situ* herstellbare LDA ersetzt.[63] Die obige Reaktionssequenz konnte bereits in früheren Arbeiten zur Derivatisierung von 1,2-Dihydro-6-methyl-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**34**) angewendet werden.[60,61] Offen war für das weitere Arbeiten, ob auch größere Substituenten mit längeren Ketten selektiv in die

Molekülstruktur eingebaut werden können. Zu diesem Zweck wurde Verbindung **34** nach der von *Binovi* beschriebenen Synthese hergestellt.[64] Als Alkylierungsmittel wird 1-Brom-3-phenylpropan (**35**) verwendet, da es zum Einen eine raumerfüllende Phenylgruppe und zum Anderen eine Kette mit drei Kohlenstoffatomen besitzt. Die im Vorfeld gestellten Anforderungen werden damit bestens erfüllt.



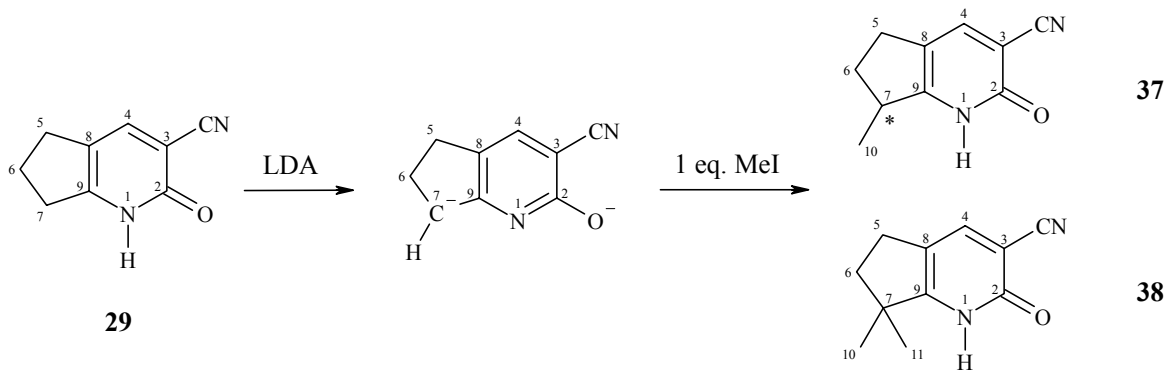
34 **36**

Abbildung 3-6: Reaktionsschema mit der Synthese von Verbindung **36**.

Bei der obigen Reaktion handelt es sich um eine Eintopfreaktion, bei der zuerst die Base LDA nach Vorschrift mit 2.15 Äquivalenten im Vergleich zum eingesetzten Pyridonderivat generiert und vorgelegt wird. Verbindung **34** wird zur vorbereiteten Lösung gegeben und dabei die stark orangerot gefärbte dianionische Zwischenstufe erzeugt.[65] Im Anschluss daran wird das Alkylhalogenid langsam zur Reaktionslösung getropft. Da sich auch nach der einfachen Alkylierung zwei weitere Wasserstoffatome an Position C-7 befinden, kann eine Mehrfachalkylierung an dieser Stelle im Reaktionsverlauf nicht ausgeschlossen werden. Die Reaktion liefert ein Produktgemisch, welches im wesentlichen aus nicht umgesetztem Startpyridon **34**, dem gewünschten monoalkyliertem Produkt **36** und einer weiteren Verbindung besteht, die sich anhand von ^{1}H-NMR-spektroskopischer Analyse als dialkylierte Spezies herausstellt. Die Zielverbindung kann nach säulenchromatographischer Reinigung trotzdem mit einer Ausbeute von 27 % isoliert werden.

3.2.2 Alkylierung von 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-pyrindin-3-carbonitril (**29**)

Im Rahmen dieser Arbeit wird die beschriebene Strategie der Alkylierungsreaktion auf ringanellierte Systeme ausgeweitet. *Boatman et al*.[62] berichten von einer gelungenen Umsetzung des 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitrils (**30**) über eine dianionische Zwischenstufe, die wiederum mit Kaliumamid erzeugt wurde. Als Halogenidkomponente wurde Benzylchlorid eingesetzt und das entsprechende Produkt in guten Ausbeuten von 75 % erhalten. Von besonderem Interesse bei den Untersuchungen ist die bereits oben erwähnte Produktverteilung zwischen mono- und dialkylierter Spezies. Da während der Reaktion simultan ein Stereozentrum an der zum Amid benachbarten Kohlenstoff-Position im Ringsystem aufgebaut wird, werden die Reaktionen bezüglich der Produktbildung auch unter stereochemischen Gesichtspunkten näher untersucht. Als erstes wird hier die Alkylierung von Verbindung **29** mit Methyliodid gewählt (Abbildung 3-7). Die gebildeten Produkte **37** und **38** können gut im ^{1}H-NMR-Spektrum unterschieden werden.



29 **37** **38**

Abbildung 3-7: Möglicher Alkylierungsverlauf und Substitutionsgrad bei der Umsetzung von **29** mit einem Äquivalent Methyliodid. Die Produktanalyse der Rohmasse ergibt eine Verteilung von 2:1 zwischen mono- (**37**) und dialkyliertem Produkt (**38**).

Analog dem oben beschriebenen Reaktionsverlauf, wird mit LDA als Base im ersten Reaktionsschritt eine Deprotonierung eingeleitet und die intensiv gelborange gefärbte dianionische Zwischenstufe von Verbindung **29** gebildet (Abbildung 3-7).[65] Diese wird durch Zugabe von Methyliodid im folgenden Reaktionsschritt selektiv an Position C-7 alkyliert. Nach beendeter Reaktion erhält man eine Mischung aus Edukt **29**, mono- (**37**) und dialkyliertem Produkt (**38**).

Über obige Reaktionsführung wird nach vorschriftsmäßiger Aufarbeitung als Rohprodukt ein gelbes Kristallpulver mit einer Ausbeute von 52 % erhalten. Nach ^{1}H-NMR-spektroskopischer und massenanalytischer Untersuchung konnte der erhaltene

Feststoff als ein Produktgemisch bestehend aus einfach- (**37**) und zweifachalkylierter (**38**) Ausgangsverbindung, wie auch nicht umgesetztem Edukt **29** identifiziert werden. Anhand der Signale im ^{1}H-NMR kann eine Produktverteilung in der Rohmasse über die Integralwerte der Methylsignale zwischen **37** und **38** von 2:1 ermittelt werden. Das Gemisch wird zur weiteren Charakterisierung an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH 1.) 10:1 und 2.) 15:1 chromatographiert. Nach der ersten Trennung erhält man folgende Produktverteilung: Edukt **29** 1 eq., monoalkyliertes Produkt **37** 2 eq. und dialkylierte Verbindung **38** 1 eq. Nach der zweiten Reinigung werden die beiden Reaktionsprodukte in folgenden Mengenangaben sauber isoliert. Das 2,5,6,7-Tetrahydro-7-methyl-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**37**) wird in einer Ausbeute von 13 % und das 2,5,6,7-Tetrahydro-7,7-dimethyl-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**38**) in einer Ausbeute von 9 % erhalten. Da bei Verbindung **37** während der Synthese ein stereogenes Zentrum aufgebaut wird, schließt sich an die Reinigung noch eine Untersuchung der Enantiomerenverteilung an. Die saubere Verbindung kann mittels einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (YMC-CHIRAL NEA (R)) in ihre beiden Enantiomere, **37A** und **37B**, aufgetrennt werden. Die Retentionszeiten der beiden nicht weiter charakterisierten Enantiomere betragen im gewählten Eluentensystem (1 ml/min Durchflussrate, isokratisch 25 % CH_3CN/75 % H_2O, gemessen bei 352 nm) 14.6 min für Enantiomer **37A** und 17.2 min für Enantiomer **37B**. Zum Vergleich sind in untenstehender Tabelle 3.1 die Retentionszeiten der erhaltenen Substanzen zusammengefasst.

Tabelle 3.1: Retentionszeiten der in Abbildung 3-7 gezeigten Verbindungen **29**, **37A**, **37B** und **38** an einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (1 ml/min, 25 % CH_3CN/75 % H_2O, 352 nm).

Verbindung	**29**	**37A**	**37B**	**38**
Retentionszeit [min]	12.51	14.64	17.15	18.40

Die Enantiomerenverteilung beträgt 1:1, so dass während der Reaktion wie erwartet keine Stereodifferenzierung auftritt. Bei obiger Reaktionsführung kann das monoalkylierte Produkt zwar als Racemat gewonnen werden, muss aber aufgrund auftretender Mehrfachalkylierung entsprechende Ausbeuteeinbußen hinnehmen. Die Produkte **37** und **38** können über konventionelle Säulenchromatographie an Kieselgel getrennt werden, so dass neben dem gewünschten Produkt noch eine zusätzliche Verbindung erhalten wird, die mit in die Serie der 3-Cyano-2-pyridonderivate aufgenommen werden kann.

Boatman et al.[62] beschreiben auch die gelungene Umsetzung von **30** mit einem raumerfüllenden Benzylrest. Deshalb wird auch an **29** eine Substitution der C-7-Position mit

einem größeren Rest vorgenommen. Als Alkylhalogenid wird das 1-Brom-3-phenylpropan (**35**) verwendet, da es für weitere Arbeiten wichtig ist in Erfahrung zu bringen, ob größere Reste mit einer kleinen bis mittleren Alkylkettenlänge an der zum katalytischen Zentrum benachbarten Position eingebaut werden können.

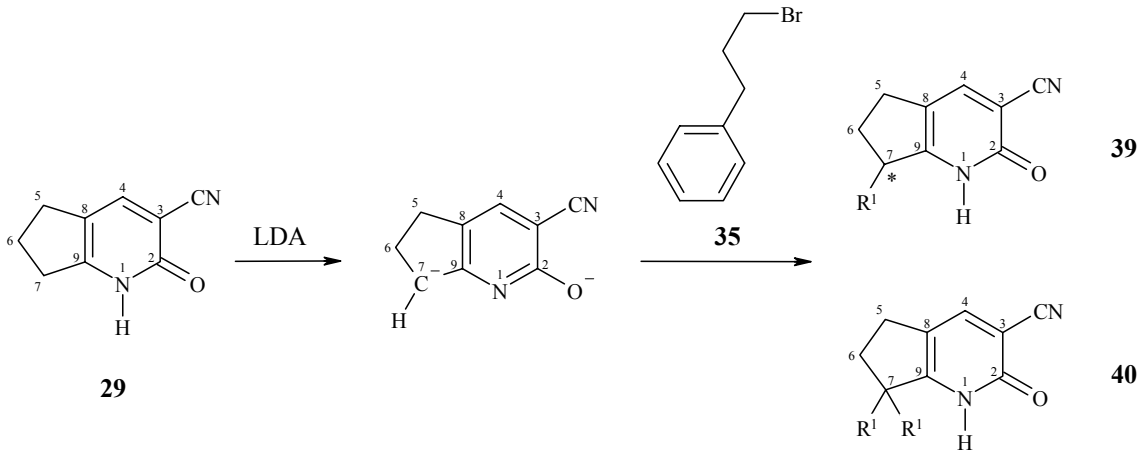


Abbildung 3-8: Alkylierung der C-7 Position von **29** mit 1-Brom-3-phenylpropan (**35**).

Die in Abbildung 3-8 gezeigte Reaktion wird analog zur oben beschriebenen Methylierungsreaktion von **29** durchgeführt und gleichermaßen aufgearbeitet. Als Rohprodukt wird ein orangefarbenes Kristallpulver in einer Ausbeute von 48 % erhalten. Nach ^{1}H-NMR-spektroskopischer und massenanalytischer Untersuchung des Rohproduktes konnte der erhaltene Feststoff als ein Produktgemisch bestehend aus einfach- (**39**) und zweifachalkylierter (**40**) Ausgangsverbindung, wie auch nicht umgesetztem Edukt **29** identifiziert werden. Anhand der im ^{1}H-NMR für jede Verbindung eindeutig lokalisierbaren 4-H-Arylsignale wird eine Produktverteilung in der Rohmasse über die Integralwerte zwischen **39** und **40** von 5:1 ermittelt. Das Produktgemisch wird zweifach an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (20:1) chromatographiert und beide Reaktionsprodukte werden isoliert. Das 7-(3-Phenylpropyl)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**39**) wird in einer Ausbeute von 20 % und das 7,7-Bis(3-phenylpropyl)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**40**) in 9 % erhalten. Die saubere Verbindung kann mittels einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (YMC-CHIRAL NEA (R)) in die Enantiomere **39A** und **39B** aufgetrennt werden. Die Retentionszeiten der nicht weiter charakterisierten Enantiomere betragen im gewählten Eluentensystem (1 ml/min Durchflussrate, isokratisch 70 % CH_3CN/30 % H_2O, gemessen bei 354 nm) 6.16 min für Enantiomer **39A** und 6.59 min für

Enantiomer **39B**. Zum Vergleich sind in untenstehender Tabelle 3.2 die Retentionszeiten der isolierten Substanzen zusammengefasst.

Tabelle 3.2: Retentionszeiten der in Abbildung 3-8 gezeigten Verbindungen **29**, **39A**, **39B** und **40** an einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (1 ml/min, 70 % CH_3CN/30 % H_2O, 354 nm).

Verbindung	**29**	**39A**	**39B**	**40**
Retentionszeit [min]	5.04	6.16	6.59	7.35

Die auftretende Mehrfachalkylierung ist hier aber trotz gleicher Bedingungen wie bei der Methylierung von **29** (Äquivalente, Temperatur, Aufarbeitung) nicht mehr so stark ausgeprägt, was deutlich an der 5:1-Verteilung der Rohprodukte zu erkennen ist. Dies ist offensichtlich auf das sterisch wesentlich anspruchsvollere Alkylierungsreagens zurückzuführen. Eine verminderte Alkylierungsreaktion dagegen findet nicht statt, da sich sowohl die Rohausbeuten (52 % für die Methylierung und 48 % für die Phenylpropanierung), wie auch die Endausbeuten in ähnlichen Größenordnungen bewegen. Die beiden Produkte **39** und **40** können auch hier über konventionelle Säulenchromatographie an Kieselgel voneinander getrennt werden, so dass die obige Reaktion neben dem gewünschten Produkt noch eine zusätzliche Verbindung liefert, die wiederum mit in die Serie der 3-Cyano-2-pyridonderivate aufgenommen werden kann.

3.2.3 Alkylierung von 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**30**)

Eine Umsetzung von Verbindung **30** mit Benzylchlorid ist bereits von *Boatman et al.*[62] beschrieben worden. Da es aber bei der vorher illustrierten Reaktion von Verbindung **29** zu einer solchen Vielfalt an Produkten kam, wurde die Reaktion ebenfalls nochmals untersucht. Der bereits erwähnte Austausch von Kaliumamid gegen LDA[63] als Deprotonierungsmittel, wird auch hier angewandt. Die Reaktionsbedingungen werden im Vergleich zu der Reaktion von 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) mit Methyliodid nicht verändert. Auch die Mengenverhältnisse bleiben gleich und das Alkylierungsreagens wird ebenfalls äquimolar zugegeben. Die Alkylierung erfolgt wiederum an der zum Amid benachbarten Alkylposition, in diesem Fall an der C-8 Position (siehe Abbildung 3-9). Nach beendeter Reaktionszeit wird die Lösung in der gleichen Weise aufgearbeitet und analysiert wie bei der für Verbindung **29** beschriebenen Methylierung.

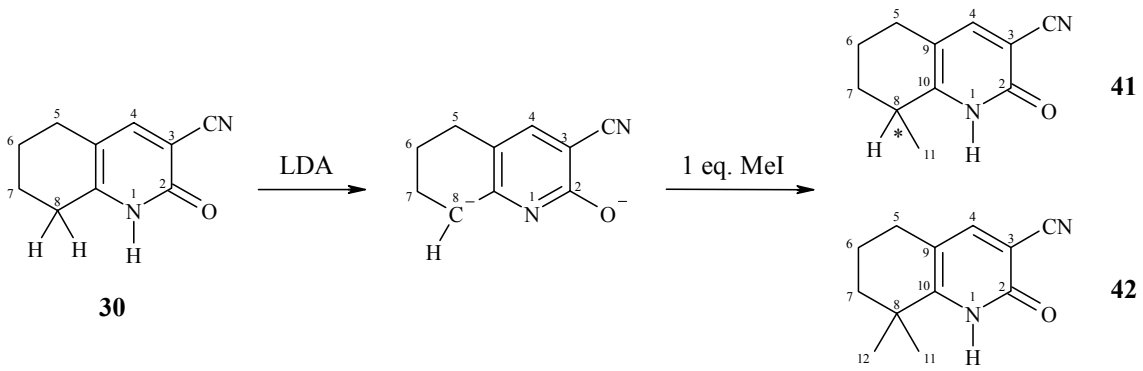


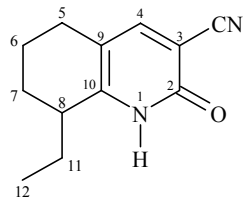
Abbildung 3-9: Reaktionsschema zur Untersuchung des Substitutionsgrades bei der selektiven Alkylierung an C-8 Position von **30** mit einem Äquivalent Methyliodid als Alkylierungsreagens.

Ganz analog zu den methylierten Verbindungen von **29** kann auch hier der Substitutionsgrad der gebildeten Produkte **41** und **42** gut über ^{1}H-NMR-Spektroskopie bestimmt werden. Bei obiger Reaktionsführung (Abbildung 3-9) wird als Rohprodukt ein orangefarbenes Kristallpulver mit einer Ausbeute von 63 % erhalten. Über die Integralwerte der Methylsignale von **41** und **42** im ^{1}H-NMR wird eine Produktverteilung von 20:1 ermittelt. Da für die dialkylierte Spezies **42** weniger als 5 % Rohausbeute erhalten werden, wird auf eine gesonderte Isolierung verzichtet. Das Produktgemisch wird zur weiteren Reinigung zweifach an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (15:1) chromatographiert und ausschließlich das 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-8-methyl-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**41**) wird in 40 %iger Ausbeute isoliert. Die saubere Verbindung kann mittels einer analytischen, chiralen HPLC-Säule in ihre beiden Enantiomere, **41A** und **41B**, aufgetrennt werden. Die Retentionszeiten der beiden nicht weiter charakterisierten Verbindungen betragen im gewählten Eluentensystem (1 ml/min Durchflussrate, isokratisch 50 % CH_3CN/50 % H_2O, gemessen bei 345 nm) 6.81 min für Enantiomer **41A** und 8.53 min für Enantiomer **41B**. Zum Vergleich sind in untenstehender Tabelle 3.3 die Retentionszeiten der Enantiomere und der Ausgangsverbindung **30** angegeben.

Tabelle 3.3: Retentionszeiten der in Abbildung 3-9 gezeigten Verbindungen **30**, **41A** und **41B** an einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (1 ml/min, 50 % CH_3CN/50 % H_2O, 345 nm).

Verbindung	**30**	**41A**	**41B**
Retentionszeit [min]	7.15	6.81	8.53

Wird in obigem Reaktionsschema (Abbildung 3-9) das Methyliodid durch Ethyliodid ausgetauscht, so kann eine Ethylierung an Position C-8 durchgeführt werden.[60] Das 8-Ethyl-1,2,5,6,7,8-hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**43**) erhält man über diesen Reaktionsweg in einer Ausbeute von 74 %. Die Mengenverhältnisse und Reaktionszeiten bleiben ebenso unverändert wie die Aufarbeitung und Reinigung.



43

Abbildung 3-10: Molekülstruktur des aus Verbindung **30** durch selektive Ethylierung an Position C-8 erhaltenen 8-Ethyl-1,2,5,6,7,8-hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**43**).

Nach ^{1}H-NMR-spektroskopischer Untersuchung wird der erhaltene Feststoff fast ausschließlich als monoalkylierte Spezies identifiziert. Anhand eines Signalvergleichs im ^{1}H-NMR kann ein dialkyliertes Produkt in der Rohmasse nur in Spuren gefunden werden. Nach einfacher Umkristallisation aus EtOH über wenig Aktivkohle, bzw. einfacher säulenchromatographische Trennung, wird ausschließlich das monoalkylierte Produkt in einer Ausbeute von 68-74 % erhalten. Wird die Reaktion dahingehend verändert, dass das Alkylierungsreagens in einem geringen Unterschuss von 1 % zugegeben wird, kann kein dialkyliertes Produkt mehr gefunden werden. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wird ausschließlich **43** in einer Ausbeute von 64 % erhalten. Verbindung **43** kann mittels einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (YMC-CHIRAL NEA (R)) in ihre beiden Enantiomere **43A** und **43B** aufgetrennt werden. Die Retentionszeiten der nicht weiter charakterisierten Verbindungen betragen im gewählten Eluentensystem (1 ml/min Durchflussrate, isokratisch 50 % CH_3CN/50 % H_2O, gemessen bei 346 nm) 7.55 min für **43A** und 8.80 min für **43B**. Zum Vergleich sind in untenstehender Tabelle die Retentionszeiten der Enantiomere und der Ausgangsverbindung **30** angegeben.

Tabelle 3.4: Retentionszeiten der Verbindungen **30**, **43A** und **43B** an einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (1 ml/min, 50 % CH_3CN/50 % H_2O, 346 nm).

Verbindung	**30**	**43A**	**43B**
Retentionszeit [min]	7.15	7.55	8.80

3.2.4 Vergleich der Alkylierungsreaktion an den Ringsystemen von **29** und **30**

Vergleicht man die Resultate der durchgeführten Alkylierungsreaktionen von **29** und **30** anhand der erhaltenen Produktverteilungen, so fällt sofort auf, dass bei Verbindung **29** eine Dialkylierung verstärkt gegenüber Verbindung **30** auftritt. Bei der Alkylierung von **29** mit MeI kommt es zu einer 2:1 Verteilung, bei Verwendung des sterisch anspruchsvollen 1-Brom-3-phenylpropans (**35**) zu einer 5:1 Verteilung von mono- zu dialkyliertem Produkt. Wird Verbindung **30** bei gleichen Bedingungen wie **29** einer Alkylierung mit MeI unterworfen, so vergrößert sich das Verhältnis der mono- zu dialkylierten Spezies auf 20:1. Eine Mehrfachalkylierung kann bei der Umsetzung von **30** mit Ethyliodid zu **43** fast nicht mehr detektiert werden. Die Ursache für eine solche Beobachtung findet man zum Teil in der Geometrie der beiden eingesetzten Ringverbindungen. Der Cyclopentylring in Verbindung **29** dürfte eine größere Ringspannung als der Cyclohexylring in **30** besitzen. Dies sollte zu einer etwas höheren CH-Acidität im 5-Ringderivat **29** führen. Eine Erhöhung der CH-Acidität in Abhängigkeit der Ringgröße konnten *Bordwell et al.* mit ihren Untersuchungen an Cyclopentanon ($pK_{HA} = 25.8$) und Cyclohexanon ($pK_{HA} = 26.4$) sowie auch weiteren heterocyclischen Verbindungen in DMSO zeigen.[66]

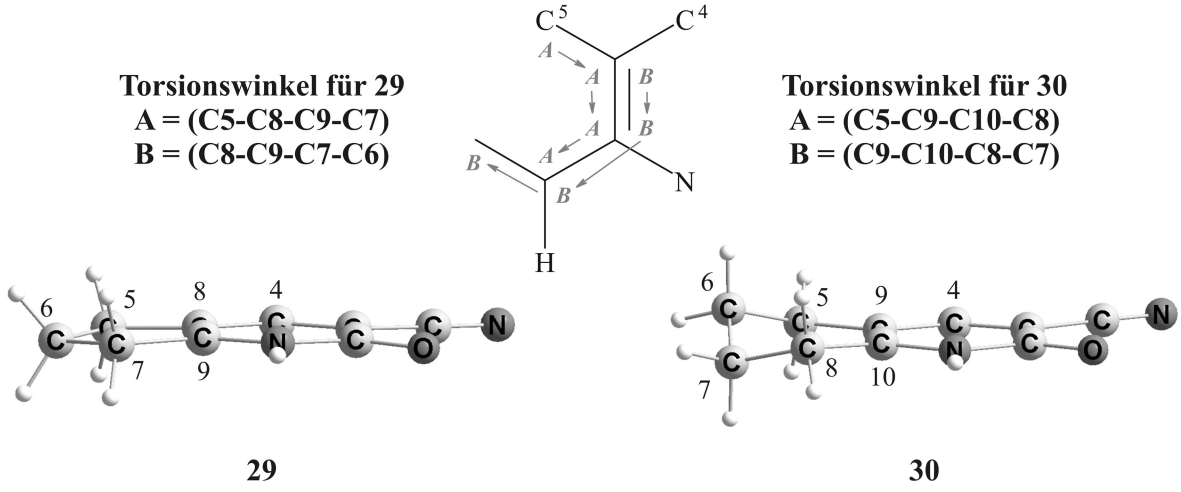


Abbildung 3-11: Darstellung der im Kristall vorhandenen monomeren Strukturen für **29** und **30**. Beim Vergleich der beiden aliphatischen Strukturen von Verbindung **29** und **30** kann man sehr gut die fast planare Anordnung des Cyclopentylrings im Gegensatz zu der Sesselform des Cyclohexylringes erkennen. Die angegebenen Torsionswinkel sind in Tabelle 3.5 zusammengefasst.[67]

Wegen des aromatischen und damit planaren Charakters des Pyridonringgerüsts wird auch der an Position C-8 und C-9 befindliche Cyclopentylrest in Verbindung **29** automatisch in eine planare Anordnung gezwungen. Der Cyclohexylring in **30** kann dieser erzwungenen

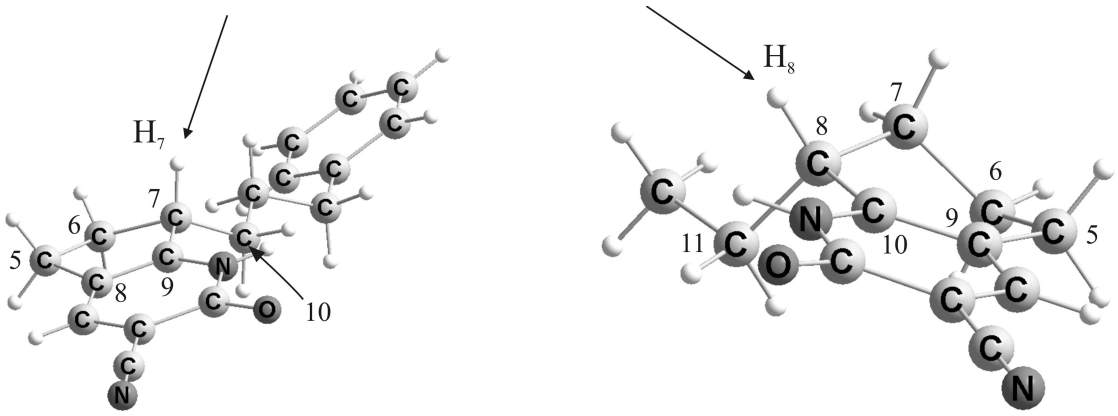
Geometrie durch eine Verdrehung der beiden nicht an das Gerüst gebundenen CH_2-Gruppen an C-6 und C-7 über und unter die Pyridonringebene ein wenig entgegensteuern. Dieses Verhalten kann anhand der erhaltenen und in Abbildung 3-11 gezeigten röntgenographischen Einkristallmessungen für **29** und **30** zumindest in den Festkörperstrukturen illustriert werden.[61] Zum Vergleich der in den Kristallen vorhandenen Torsionswinkel, die für die Stellung der anellierten Alkylringe verantwortlich sind, siehe Tabelle 3.5. Im System **29** ist der Ring nahezu planar, was auch die ermittelten Torsionswinkel mit 1.58° (A) und -2.72° (B) bestätigen. Bei den Winkeln wird jeweils die C-C-Bindung der aromatischen Struktur an dem die Ringe angebracht sind (A) und zum anderen die Torsion der C-C-Bindung zwischen der Substitutionsstelle und dem Aromatenring (B) betrachtet (Abbildung 3-11). Für das Sechsringsystem **30** dagegen kann eine Verdrillung der äußeren Methylengruppen mit einer Torsion von -17.78° (B) festgestellt werden.

Tabelle 3.5 Vergleich der Torsionswinkel in den Verbindungen **29**, **30**, **39** und **43**. Betrachtet wird zum Einen die C-C-Bindung der aromatischen Struktur an dem die Ringe angebracht sind (Position A) und zum Anderen die Torsion der C-C-Bindung zwischen der Substitutionsstelle und dem Aromaten (Position B). Angegeben wird außerdem die Stellung des Methin-Protons und des Substituenten in den monoalkylierten Verbindungen, bezüglich der C-C-Bindung zwischen Substitutionsstelle und der Aromatenstruktur.[67]

29	Winkel	[°]	**30**	Winkel	[°]
A	C5-C8-C9-C7	*1.58 (1)*	A	C5-C9-C10-C8	*2.91 (2)*
B	C8-C9-C7-C6	*- 2.72 (1)*	B	C9-C10-C8-C7	*- 17.78 (1)*
39			**43**		
A	C5-C8-C9-C7	*- 2.41 (1)*	A	C5-C9-C10-C8	*- 3.40 (5)*
B	C8-C9-C7-C6	*- 10.36 (1)*	B	C9-C10-C8-C7	*17.32 (4)*
Zu H	C8-C9-C7-H7	*102.80 (1)*	Zu H	C9-C10-C8-H8	*134.12 (4)*
Zu R	C8-C9-C7-C10	*- 136.20 (1)*	Zu R	C9-C10-C8-C11	*- 108.39 (4)*

Die planare Fünfringgeometrie in **29** wird auch nach der Monoalkylierung weitestgehend erhalten bleiben. Dies bedeutet aber auch, dass bei der monoalkylierten Cyclopentylspezies das neu entstandene Methin-Proton nicht abgeschirmt ist und verglichen zur Sechsringkomponente weiterhin über eine erhöhte Acidität an Position C-7 verfügt. Wie bereits *Hosomi et al.*[68] berichten, ist die Regiokontrolle bei der Substitution nicht nur ein sterischer Effekt, sondern auch in der Basizität des Deprotonierungsmittels zu suchen. Die Gruppe untersuchte unter anderem die Deprotonierungseigenschaften von LDA und BuLi an *N*-substituierten Methyl-cyclohexyliminen zur Abstraktion des tertiären Protons. Sie fanden dabei heraus, dass LDA für eine derartige Umsetzung zu schwach ist und nicht zu einer Dialkylierung führte, was eine Erklärung für den geringeren Anteil an dialkyliertem Produkt

bei der Umsetzung von **30** mit EtI zu **43** sein kann. Auch von den monoalkylierten Verbindungen **39** und **43** konnten Röntgendaten erhalten werden. Die jeweiligen monomeren Bausteine sind in Abbildung 3-12 gezeigt. Die für die Stellung der mit der aromatischen Struktur verknüpften Alkylringe verantwortlichen Torsionswinkel sind in Tabelle 3.5 (siehe oben) zusammengefasst.



39 **43**

Abbildung 3-12: Darstellung der im Kristall vorhandenen Einzelmoleküle von Verbindung **39** und **43**. In der Struktur von **39** ist die freie und pyramidale Stellung des Protons an Position C-7 gut zu erkennen. Ein zweiter Deprotonierungsschritt ist deswegen relativ ungestört durchführbar. In der Struktur von **43** ist die eher axiale Stellung des Ethylsubstituenten zu sehen. Damit befindet sich das Proton von Position C-8 in einer äquatorialen Lage und ist nicht so leicht mit der etwas voluminösen Base LDA abstrahierbar.[67]

Vergleicht man die in Abbildung 3-12 gezeigten monoalkylierten Verbindungen miteinander, so kann man in Verbindung **39** für den Cyclopentylteil wiederum eine fast planare Anordnung feststellen. Dies wird auch durch den in Tabelle 3.5 angegebenen Torsionswinkel von -2.41° bestätigt. Im Gegensatz zur unsubstituierten Verbindung **29** nimmt der Fünfring nun eine leichte Briefumschlags-Konformation mit einem Winkel von -10.36° ein, wobei die C-6-Position (Spitze) in Richtung des Substituenten gerichtet ist. Das Methin-Proton liegt dadurch in der Festkörperstruktur von dem Substituenten abgewandt und vollkommen ungeschützt für eine weitere Deprotonierung mit folgender Alkylierung vor. In Verbindung **43** wird das 8-H mit einer Torsion von 134.12° verstärkt in eine äquatoriale Orientierung gezwungen. Dies erschwert den Angriff für die Base LDA. Die Gruppe um *Jernigan* konnte in 1,3-Dioxansystemen zeigen, dass äquatorial orientierte Protonen eine deutlich geringere kinetische Acidität besitzen als ihre axialen Gegenspieler.[65] Damit würde sich in Verbindung **30** auch die geringere Bereitschaft gegenüber einer Mehrfachalkylierung erklären.

Die hier erhaltenen regioselektiven Alkylierungen sind mit den Beobachtungen in der Enolatchemie von cyclischen Alkanonsystemen vergleichbar. So berichten beispielsweise

Quesnel et al. von einer weitaus schwächeren Dialkylierung am carbanionischen Zentrum, wenn im direkten Vergleich zu Cyclopentanonen Cyclohexylderivate eingesetzt werden.[69] Auch *Negishi et al.* konnten lediglich eine Monoalkylierung bei der Umsetzung von Cyclohexanon mit KH als Base, Et_3B und MeI als Alkylierungsmittel feststellen.[70] Vergleichsstudien bei den mit Lithium generierten Enolaten von Cyclopentanon und Cyclohexanon ergaben bei thermodynamischer Kontrolle der Experimente auch eine höhere Bereitschaft der Fünfringverbindung zur Dialkylierung.[71] Des weiteren kommt es den Untersuchungen von *Reetz et al.* zufolge bei der Umsetzung von S_N2-aktiven Alkylierungsreagenzien (wie CH_3I) in der Li-Enolatchemie bei Verwendung von LDA als Base zu einer erhöhten Dialkylierung.[72]

3.2.5 Aufbau von Bispyridonsystemen aus 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) mit flexiblen Verknüpfungseinheiten

Wird bei den bereits erwähnten Alkylierungsreaktionen (siehe unter Punkt 3.2.1 - 3.2.3) ein halbes Äquivalent eines Dihalogenids eingesetzt, so können Bispyridone synthetisiert werden. Durch den Einsatz von *n*-Alkylketten, die an den beiden endständigen Positionen mit geeigneten Abgangsgruppen versehen sind, können so Moleküle synthetisiert werden, die zwei über ein flexibles Brückenelement verknüpfte Pyridoneinheiten enthalten (Abbildung 3-13).

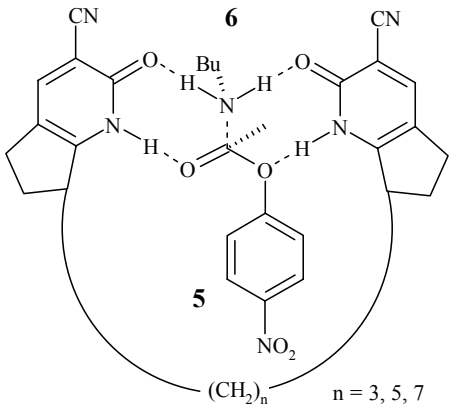
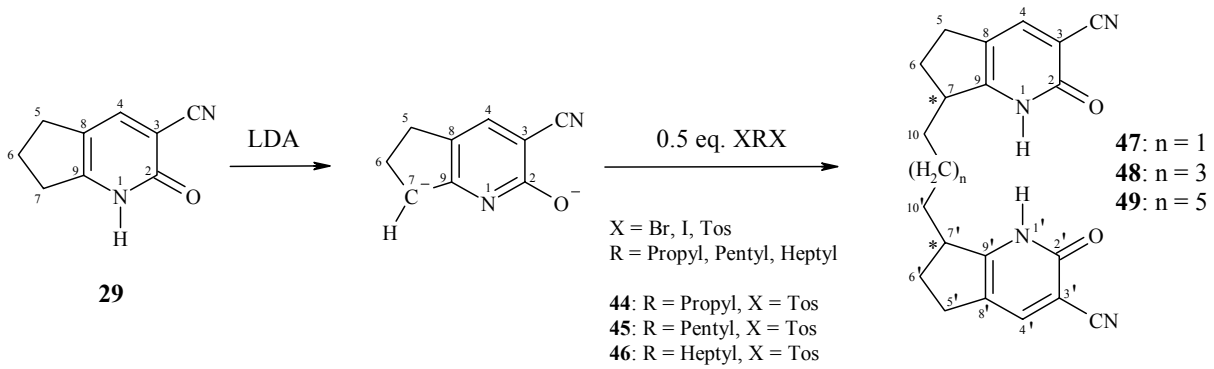


Abbildung 3-13: Schematische Darstellung der vermuteten Übergangszustandsgeometrie bei der mit Bispyridonsystemen katalysierten Aminolyse von **5** mit **6**.

Diese Methode konnte bereits in früheren Arbeiten bei der Verknüpfung von 1,2-Dihydro-6-methyl-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**34**) mit 1,3-Dibrompropan und 1,6-Dibromhexan zum

Aufbau der entsprechenden Bispyridonsysteme angewendet werden.[60,62] Die Synthese von Dipyridonen wird aufgegriffen, da laut Berechnungen von *Zipse et al.*[73] ein Dipyridonkatalysator mit definiertem Abstand der beiden reaktiven Pyridoneinheiten eine wesentlich stärkere katalytische Aktivität durch Begünstigung der Geometrie im Übergangszustand aufweisen sollte (siehe Abbildung 3-13).

Während es sich bei dem von *Wang*[35] synthetisierten Dipyridonkatalysator mit einem Acridingrundgerüst um ein relativ starres und in unpolaren Medien nur bedingt lösliches System handelt, besteht über den Einbau einer Alkylkette die Möglichkeit, ein flexibleres und möglicherweise in unpolaren Medien besser lösliches System zu entwickeln. Bei der hier vorliegenden Verknüpfung wird als Pyridoneinheit das 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) gewählt (Abbildung 3-14).



29

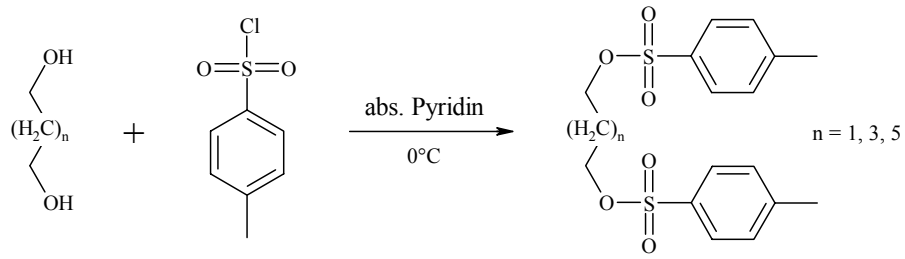
Abbildung 3-14: Reaktionsschema zur Synthese von flexiblen Bispyridonverbindungen, bestehend aus zwei Einheiten des 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitrils (**29**) und einer *n*-Alkylkette (Kettenlänge: 3, 5 und 7 CH_2-Gruppen).

Als *n*-Alkylketten werden Verbindungen mit ungerader Kohlenstoffanzahl eingesetzt. So können Moleküle aufgebaut werden, die jeweils bezüglich der zentralen Methylengruppe in der Ketteneinheit symmetrisch zueinander sind. Als Abgangsgruppen bieten sich auch hier Halogenide an. Eingesetzt werden zunächst die beiden kommerziell erhältlichen Verbindungen 1,3-Dibrompropan und 1,5-Diiodpentan. Beide Halogenverbindungen werden entsprechend dem in Abbildung 3-14 illustrierten Reaktionsschema verwendet. Die Umsetzung in der Alkylierungsreaktion verläuft dabei wie in den vorherigen Experimenten, aber die Aufarbeitung erweist sich in beiden Fällen als sehr mühsam. Während der Extraktion mit Ether bildet sich an der Grenzschicht der beiden Lösemittel ein nicht löslicher Feststoff. Nach dem Abtrennen und Ansäuern der wässrigen Phase ergibt sich ein schwer über Filtration abtrennbarer Niederschlag, der auch bei einer anschließenden säulenchromatographischen

Reinigung nur als nicht trennbares Produktgemisch in entsprechend schlechten Ausbeuten von ca. 20 % erhalten wird. Aufgrund dieser Umstände müssen die Halogenidverbindungen im vorliegenden Fall als eher schlechte bzw. nicht so gut geeignete Abgangsgruppen für die hier stattfindende verkettende Alkylierung eingestuft werden. Von ähnlichen Problemen berichten auch die Mitarbeiter um *Pang*,[74] welche unter anderem die Verknüpfung von 9-Amino-1,2,3,4-tetrahydroacridin (THA) mit verschiedenen Alkylketten zu einem bis-THA untersuchten. Durch den Austausch des verwendeten 1,7-Dibromheptans mit der entsprechenden Ditosyloxyalkylverbindung konnten sie sowohl die Reaktionszeit verkürzen als auch die Ausbeute verbessern.[74] Da sich dort die Tosylgruppe als besser geeignete Abgangsgruppe zur Verknüpfung herausgestellt hat, wird auch hier ein Austausch der Halogenidkomponente vorgenommen.

3.2.5.1 Synthese von α,ω-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-*n*-alkanen

Eine generelle Methode zur Darstellung von α,ω-Ditosyloxyverbindungen wird von *Searle et al.*[75] und *Pang et al.* [74] angegeben. Durch die Umsetzung von α,ω-Alkyldiolen (**50, 51, 52**) mit einem Überschuss an *p*-Toluolsulfonylchlorid in abs. Pyridin können die entsprechenden Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-alkane (**44, 45,** und **46**) synthetisiert werden (Abbildung 3-15).



50: n = 1, 1,3-Propandiol
51: n = 3, 1,5-Pentandiol
52: n = 5, 1,7-Heptandiol

44: n = 1
45: n = 3
46: n = 5

Abbildung 3-15: Allgemeines Reaktionsschema zur Tosylierung von α,ω-*n*-Alkyldiolen (**50**, **51**, **52**).

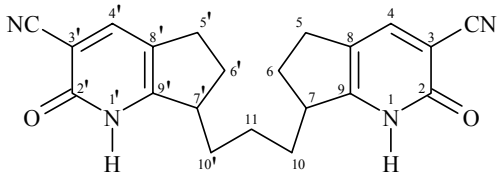
Durch striktes Einhalten eines Temperaturmaximums von 0 °C und Verwendung von frisch über KOH und unter N_2-Atmosphäre destilliertem Pyridin konnte die Synthese der α,ω-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-*n*-alkane **44**, **45** und **46** mit großen Ausbeuten und hoher Reinheit durchgeführt und weiter optimiert werden. Zur Reinigung aller Ditosylatverbindungen sollte entgegen den Angaben von *Searle et al.*[75] statt Ethanol

ausschließlich Methanol zur Umkristallisation verwendet werden. Die Schmelzpunkte der Produkte befinden sich vor allem ab einer Kettenlänge von fünf Methyleneinheiten dicht am oder unterhalb (7-CH_2-Gruppen) des Siedepunktes von EtOH und erschweren damit eine gute Umkristallisation. Die Ausbeuten können hier durch Verwendung von MeOH als Lösemittel ebenfalls verbessert werden. Die Produkte werden nach einem Reinigungsschritt jeweils kristallin und in hohen Ausbeuten (**44**: 74 %, **45**: 81 %, **46**: 78 %) isoliert.

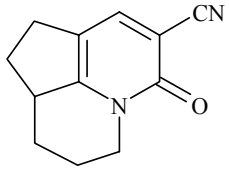
3.2.5.2 Darstellung von *n*-alkylkettenverknüpften Bispyridonsystemen mit **29** als Grundkörper

Mit der in Abbildung 3-14 angegebenen Reaktionssequenz und den unter Punkt 3.2.5.1 synthetisierten biterminalen Ditosylaten **44**, **45** und **46** sollte es möglich sein, flexible Bispyridonsysteme aufzubauen. Die zu verknüpfende Alkylkettenkomponente wird mit maximal 0.5 Äquivalenten zum dianionischen Zwischenprodukt von **29** in die Reaktionslösung eingebracht. Die Reaktionszeit beträgt bei allen Alkylierungsreaktionen ca. 20 h. Während der Aufarbeitung sollte auf die sonst übliche Filtration des nach dem Ansäuern entstandenen Niederschlags bei sämtlichen Verknüpfungsreaktionen mit Ditosylatverbindungen verzichtet werden. Stattdessen bietet sich eine kontinuierliche flüssig-flüssig Extraktion mit Chloroform gegen gesättigte NaCl-Lösung an. In den erhaltenen Rohproduktgemischen können bereits die gewünschten Substanzen, aber auch Nebenprodukte identifiziert werden. Eine anschließende säulenchromatographische Reinigung liefert die Bispyridone **48** und **49** in akzeptablen Ausbeuten. Das Erreichen hoher Ausbeuten bezüglich des Hauptproduktes ist nur bedingt möglich, da es auch hier während der Reaktion zu unterschiedlichen Alkylierungsgraden und auch denkbarer Polymerisierung kommt. Deswegen wird die Aufarbeitung lediglich auf den Erhalt der zu den Bispyridonen verknüpften Zielverbindungen konzentriert.

Neben der Wahl einer geeigneten Abgangsgruppe ist auch die Kettenlänge der einzuführenden Alkyleinheit von wesentlicher Bedeutung. Bei der Verknüpfung von **29** mit der Propyleinheit **44** als Alkyllinker kann zwar das Bispyridonprodukt **47** über massenspektroskopische Untersuchungen identifiziert werden (Rohausbeute: 84 %), aber auch das Nebenprodukt **53** wird gefunden (das molare Verhältnis von **47** zu **53** beträgt 3:2).



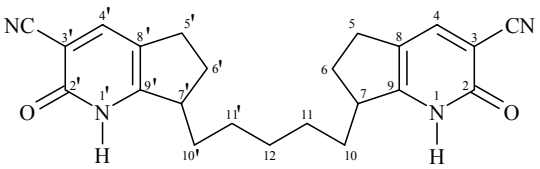
47



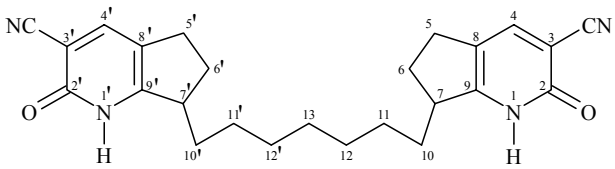
53

Abbildung 3-16: Massenspektroskopisch identifizierte Reaktionsprodukte bei der Umsetzung von **29** mit **44**.

Verbindung **53** ist offensichtlich auf eine intramolekulare Substitutionsreaktion zwischen der Tosyl- und der Amineinheit eines monoalkylierten Pyridons zurückzuführen. Die Verwendung der Tosylschutzgruppe wird häufig in der Naturstoffsynthese zum Aufbau von Ringsystemen verwendet. Durch basen-induzierte Cyclisierungen mit NaH in THF werden so zwischen einer Amid- und einer Tosyleinheit *N*-Alkylierungen durchgeführt. Diese intramolekularen Alkylierungsreaktionen führen meist zur Ausbildung von stickstoffhaltigen Sechsringen.[76] Dies ist offenbar auch im Reaktionsverlauf der hier durchgeführten Sequenz passiert, wobei überschüssiges bzw. noch nicht umgesetztes Dianion als Base die *N*-Alkylierung an der amidischen Ringposition einleitet. Positiv dürfte sich auch die Ausbildung einer Sechsringgeometrie im entstandenen Nebenprodukt **53** auswirken. Auch nach mehrmaliger säulenchromatographischer Reinigung werden wiederum nur Produktmischungen von **47** und **53** erhalten. Günstiger verläuft dagegen die Alkylierung mit der Pentyleinheit **45** und man kann nach allen Reinigungsschritten das 2,2'-Dioxo-2,2',5,5',6,6',7,7'-octahydro-7,7'-pentan-1,5-diyl-bis-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**48**) in 21 %iger Ausbeute isolieren. In den Rohproduktgemischen wird auch hier ein kleiner Teil eines Nebenproduktes gefunden, das auf eine intramolekulare Substitution der monoalkylierten Spezies zurückzuführen ist.



48



49

Abbildung 3-17: Die synthetisierten Bispyridone **48** und **49** mit flexiblen Ketten als Verknüpfungseinheit.

Am besten und mit nur sehr geringem Anteil an Ringschlussprodukten über intramolekularen Angriff verläuft die Synthese von **49**. Durch den Einsatz des Ditosylatprodukts **46** als Linker

wird das 2,2'-Dioxo-2,2',5,5',6,6',7,7'-octahydro-7,7'-heptan-1,7-diyl-bis-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**49**) in einer Gesamtausbeute von 22 % nach allen Reinigungsschritten erhalten. Neben der in Abbildung 3-14 gezeigten Monoalkylierung ist auch eine Zweifachalkylierung oder eine Verkettung von Pyridoneinheiten möglich. Die Ausbeuten an Zielverbindungen sind entsprechend gering. Eine versuchsweise Erhöhung der Reaktionszeit auf zwei Tage erbrachte keine besseren Resultate im Hinblick auf Ausbeute oder Substitutionsmuster. Ein zusätzliches Problem ist die unkontrollierte Erzeugung von Diastereomerengemischen. Im Unterschied zu den vorhergehenden Alkylierungsreaktionen werden im Sinne einer doppelten Monoalkylierung an Position C-7 und C-7´ zwei stereogene Zentren im Zielmolekül aufgebaut, so dass es im Laufe der Reaktion zu einer statistischen Verteilung der entstehenden Bispyridondiastereomere (RS, RR, SS) kommen sollte.

Für **48** und **49** gelingt eine Auftrennung des Diastereomerengemisches mit HPLC-Technik an einer analytischen, chiralen Säule (YMC-CHIRAL NEA (R)). Es werden jeweils drei Signale erhalten. Die Retentionszeiten der erhaltenen Peaks werden in untenstehender Tabelle 3.6 angegeben.

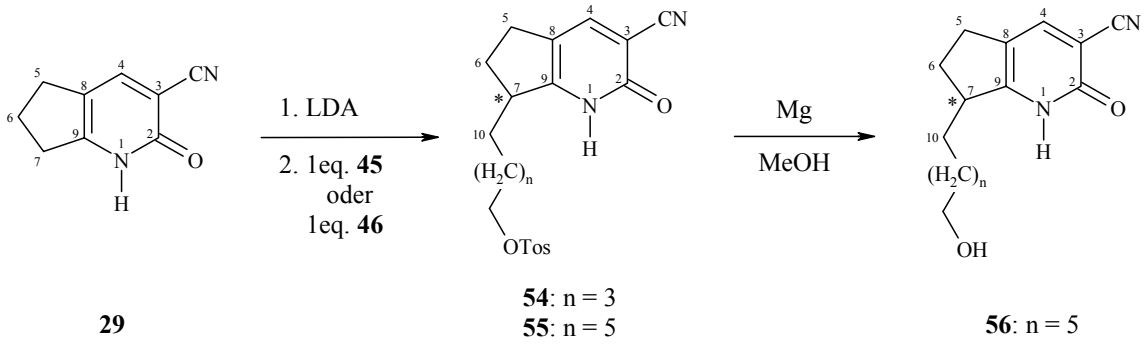
Tabelle 3.6: Auftrennung der Bispyridonsysteme **48** und **49** an einer chiralen Phase. In Klammern ist der prozentuale Anteil der Peakflächen zueinander angegeben (**48**: 1 ml/min, 70 % CH_3CN/30 % H_2O, 354 nm; **49**: 1 ml/min, 65 % CH_3CN/35 % H_2O, 352 nm).

Verbindung	**Peak 1**	**Peak 2**	**Peak 3**
48	10.61 (14.19)	13.08 (74.10)	26.12 (10.89)
49	16.03 (13.82)	19.60 (72.46)	30.85 (13.72)

Die Verteilung der Peaks beträgt bei beiden Verbindungen nach der Trennung ca. 1:5:1. Falls es sich hierbei um die Diastereomere handelt, so wäre keine statistische Verteilung während der Reaktion aufgetreten. Auf eine weitere Charakterisierung wird hier verzichtet, da eine kinetische Vermessung der erhaltenen Bispyridone aufgrund ihrer schlechten Löslichkeit nicht durchführbar ist. Bereits kurz nach Zugabe der sauber isolierten Substanzen **48** und **49** zu dem unpolaren Reaktionsmedium kommt es zu einer Art Gelierung bzw. Emulsion. In diesen Suspensionen fällt im Verlauf von einer Stunde immer mehr feiner Niederschlag aus, so dass eine Überprüfung der katalytischen Aktivität nicht möglich ist.

3.2.6 Einbau einer funktionalisierten Seitenkette in Verbindung **29**

Wie bereits in den vorangegangenen Alkylierungsreaktionen gezeigt wird, kann auch ein relativ großer Rest in Verbindung **29** an Position C-7 eingebracht werden. Durch eine Monoalkylierung von **29** mit einem der synthetisierten Ditosylate sollte es möglich sein, eine Tosyl-geschützte alkoholische Gruppe in das Molekül **29** zu integrieren und durch nachfolgendes Entfernen der Tosylgruppe eine OH-Funktion im Zielmolekül zu erhalten. Die Verwendung von Tosyl-geschützten Verbindungen zur Generierung von OH-Gruppen ist in der synthetischen Chemie durchaus etabliert, aber wegen der etwas unverträglichen Spaltungsmethoden gegenüber den eingesetzten Komponenten mit Na-Amalgam oder Na/NH_3-Lösungen in früheren Zeiten nicht so stark verbreitet. Die Freisetzung der Hydroxylgruppe gelingt über eine reduktive Spaltung der S-O-Bindung mit unterschiedlichen Methoden.[77] In neuerer Zeit wurden mildere und selektivere Entschützungen für verschiedene Anwendungen mit $LiAlH_4$ in Ether[78] oder $NaBH_4$ in DMSO[79] entwickelt. Darüber hinaus wird die Tosylschutzgruppe oft in der Naturstoffsynthese bei basen-induzierten Cyclisierungen zwischen einer Amideinheit und einer Tosylgruppe zum Aufbau von Ringsystemen eingesetzt.[76] Deshalb werden hier die längeren Alkylketten (5-CH_2-, 7-CH_2-Gruppen) zum Einbau bevorzugt, um eine mögliche *N*-Alkylierung durch größere Distanz und geometrische Faktoren (8-Ring-, 10-Ringbildung) einzuschränken.



29 **54**: n = 3 **55**: n = 5 **56**: n = 5

Abbildung 3-18: Synthese der Tosyl-geschützten Verbindungen **54** und **55** durch Monoalkylierung der Fünfringverbindung **29** mit **45** bzw. **46**.

Durch Umsetzung von **29** mit **45** kann Verbindung **54** synthetisiert werden (Abbildung 3-18). Neben dem gewünschten Produkt wird aber auch noch ein durch intramolekulare *N*-Alkylierung erhaltenes 8-gliedriges Ringprodukt erhalten. Anhand von NMR-spektroskopischer und massenanalytischer Untersuchung wird eine Verteilung der

beiden Hauptprodukte von 5:2 ermittelt. Die Ringverbindung kann von der Mischung nicht abgetrennt werden, was wiederum den Verdacht nahe legt, dass bei der Reinigung an Kieselgel immer eine geringe Menge vom Ringschlussprodukt mit gebildet wird.

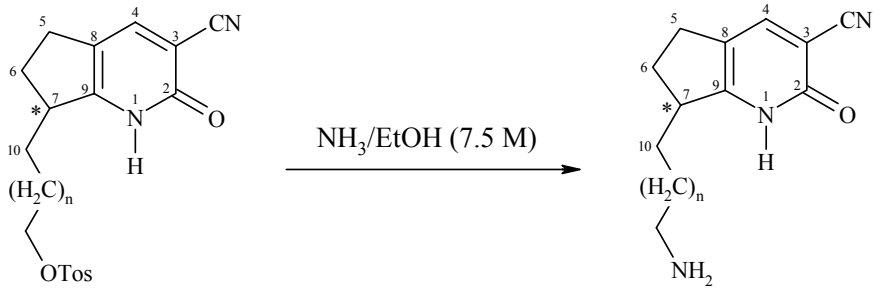
Wird **46** in der obigen Synthese (Abbildung 3-18) verwendet, so kann **55** als gelbes Öl in einer Gesamtausbeute von 40 % elementaranalytisch rein erhalten werden. Anzeichen für die Bildung eines größeren Teils einer Ringschlussverbindung werden nicht gefunden (unter 5 % im Rohprodukt). Wird die ölige Verbindung **55** kühl gelagert (4 °C, Kühlschrank), so beginnt sie während 1-3 Tagen zu kristallisieren. Im zweiten Reaktionsschritt wird die Tosylgruppe von **55** mit Magnesiumspänen in absolutiertem Methanol nach *Sridhar et al.* reduktiv abgespalten.[80] Diese Syntheseroute wird gewählt, da sie einfach durchzuführen ist und mit sehr guten Ausbeuten verläuft. Nach einer 24-stündigen Reaktionszeit wird die Umsetzung mit 2 N HCl neutralisiert. Die fortschreitende Neutralisation ist an der immer intensiver werdenden Grünfärbung der Lösung erkennbar. Die Aufarbeitung erfolgt durch Extraktion der wässrigen Lösung mit Chloroform, wobei die organische Phase eine schwarzrote Färbung hat. Der gewünschte Alkohol wird nach chromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 35 % als dunkelrotes Kristallpulver erhalten. Die saubere Verbindung kann mittels einer analytischen, chiralen HPLC-Säule (YMC-CHIRAL NEA (R)) in ihre Enantiomere **56A** bzw. **56B** aufgetrennt werden. Die Retentionszeiten der nicht weiter charakterisierten Enantiomere betragen im gewählten Eluentensystem (1 ml/min Durchflussrate, isokratisch 40 % CH_3CN/60 % H_2O, gemessen bei 353 nm) 10.55 min für Enantiomer **56A** und 12.07 min für Enantiomer **56B**. Zum Vergleich sind in untenstehender Tabelle 3.7 die Retentionszeiten der Komponenten **29**, **56A** und **56B** zusammengefasst.

Tabelle 3.7: Enantiomerentrennung von Verbindung **56**. Die folgenden Retentionszeiten der jeweiligen Verbindungen **29**, **56A** und **56B** werden durch Trennung an einer analytischen, chiralen HPLC-Säule erhalten.

Verbindung	**29**	**56A**	**56B**
Retentionszeit [min]	6.70	10.55	12.07

Statt der oben erwähnten reduktiven Entschützung der Tosylschutzgruppe zur OH-Funktionalität ist auch eine Umsetzung mit NH_3 oder anderen primären Aminen denkbar. Bei einer Umsetzung von Verbindung **55** wäre der Aufbau einer terminalen Aminogruppe im Molekül möglich.[81] Die Umsetzung mit ethanolischer Ammoniaklösung (7.5 M in EtOH[81a]) liefert in diesem Fall zwar das Zielmolekül mit einer Amingruppe, was zweifelsfrei in

massenanalytischen Untersuchungen nachgewiesen werden kann. Es wird aber keine quantitativ verwertbare und saubere Menge erhalten.



55: n = 5 **57**: n = 5

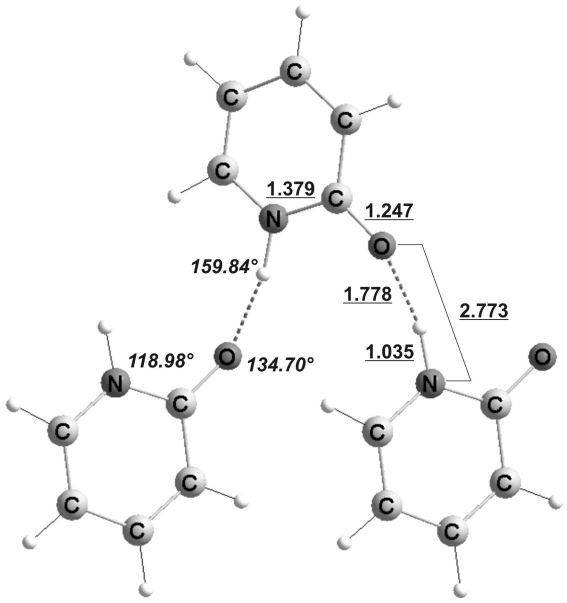
Abbildung 3-19: Reaktionsschema zur Darstellung von **57** durch Umsetzung von **55** in ethanolischer Ammoniaklösung (7.5 M).

Ein alternativer Syntheseweg für **57** besteht im Austausch der Tos-Schutzgruppe gegen eine Boc- oder Phtalimid-Gruppe. Beide Möglichkeiten führten aber bislang nicht zu nennenswerten Erfolgen. Die Aminfunktion wird im ersten Fall nur mit einer Boc-Schutzgruppe versehen und führt den analytischen Untersuchungen zufolge zu Polymerisaten und einer intramolekularen Substitutionsreaktion mit der Pyridoneinheit, ähnlich der bereits angesprochenen intramolekularen Ringschlussreaktion. Abhilfe könnte bei diesem Problem eine doppelt Boc-geschützte Amingruppe sein. Im zweiten Fall konnte die eingeführte Phtalimidschutzgruppe nicht mehr entfernt werden, ohne die Molekülstruktur zu zerstören.

3.3 Untersuchungen zur Festkörperstruktur von 3-Cyano-2-pyridonen

Von einigen der oben synthetisierten 3-Cyano-2-pyridonderivate können geeignete Kristalle gezüchtet werden, die zur näheren Untersuchung der Festkörperstruktur zur Verfügung stehen. Durch langsame Kristallisation aus Chloroform/Methanol (1:1 Vol.) Lösungen gelingt es, analysierbare Habitate für die Röntgenstrukturanalyse von Verbindung **29**, **30**, **33**, **34**, **36**, **43**, **39** und **40** zu erhalten. Zum Vergleich der erhaltenen Daten werden die bereits bekannten Strukturen für Verbindung **20**[51] und **34**[82] herangezogen. Wie sich bereits in dem strukturellen Aufbau dieser beiden Verbindungen zeigt, stehen die einzelnen Molekülbausteine über *H*-Brücken miteinander in engem Kontakt. Ähnlich der bereits unter Punkt 2.4 erwähnten Aggregation (siehe auch Abbildung 2-9), kommt es im Festkörper zur Ausbildung beider Phänotypen. Im Falle der Verbindung **20** ist das verbrückende Kettenmotiv das Hauptstrukturelement und für Verbindung **34** die Ausbildung einer Dimerenstruktur dominant. Da die Lokalisierung der einzelnen an der Bindung beteiligten Wasserstoffatome nicht genau erfolgen kann, wird die Wasserstoffbrückenbindung im Folgenden über die Distanz vom *N*- auf das *O*-Atom durch die Summe (r_A+r_B = N-H+H···O) der jeweiligen Einzelabstände r_A(N-H) und r_B(H···O) und der beteiligten Winkel *a*(N-H···O, zuständig für die Beschreibung der Linearität) und *a*(C=O···H, zuständig für die Koordination der Moleküle zueinander) angegeben. Eine solche Vorgehensweise muss angewandt werden, da sich mit größerer Abweichung der *H*-Brücke vom linearen Idealwinkel die direkte N-O-Distanz immer weniger zur Charakterisierung eignet.

Verbindung **20** bildet im Festkörper schraubenförmige Ketten der einzelnen Pyridonmoleküle aus, die über alternierende Wasserstoffbrückenbindungen miteinander verbunden sind (ein C(4) System[55]). Die wichtigsten Strukturparameter sind der Abstand *r*(NH+HO) = 2.813 Å und der Winkel *a*(C=O···H) = 134.70° (für die Daten aller Verbindungen siehe Tabelle 3.8 und Tabelle 3.9), die neben anderen Werten in Abbildung 3-20 dargestellt sind.



20

Abbildung 3-20: Kristallstruktur von Verbindung **20**. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind mit gestrichelten Linien dargestellt. Die Abstände werden in Ångström [Å] und unterstrichen, die Winkel in Grad [°] und kursiv angegeben.[67]

In Verbindung **29** (siehe Abbildung 3-21) dagegen findet man die Paarung von zwei Einzelmolekülen zu einer Dimerenstruktur (ein $R_2^2(8)$ System[55]), mit den Parametern *r*(NH+HO) = 2.753 Å und *a*(C=O···H) = 118.44°. Die *H*-verbrückten Dimere sind wiederum über weitere Kontakte zwischen den Cyanogruppen und den 4-H- und 4'-H-Positionen des Pyridonrings untereinander verbunden und bilden einen treppenartigen Strang aus. Der fünfgliedrige Ring nimmt eine nahezu planare Konformation ein und bildet im Festkörper einen unpolaren Bereich. Auch in Verbindung **30** (siehe Abbildung 3-21) beobachtet man eine symmetrische Dimerenbildung zwischen zwei Molekülen mit *r*(NH+HO) = 2.785 Å und dem Winkel *a*(C=O···H) = 124.71°. Die dem Pyridonring nicht benachbarten Methylengruppen des sechsgliedrigen aliphatischen Rings werden leicht über und unter die aufgespannte Eben gedreht und führen somit zu einer nicht planaren Anordnung des Rings. Die einzelnen Dimerenpaare sind verdreht zueinander in Säulen aufeinander gestapelt. Die sekundären Wechselwirkungen über die Cyanogruppen bilden in Verbindung **30** einen engeren Kontakt zu den Methylengruppen des aliphatischen Rings aus. Insgesamt werden auch hier treppenartige Stränge beobachtet, wobei sich die Ringe in unpolaren Regionen zusammenfinden.

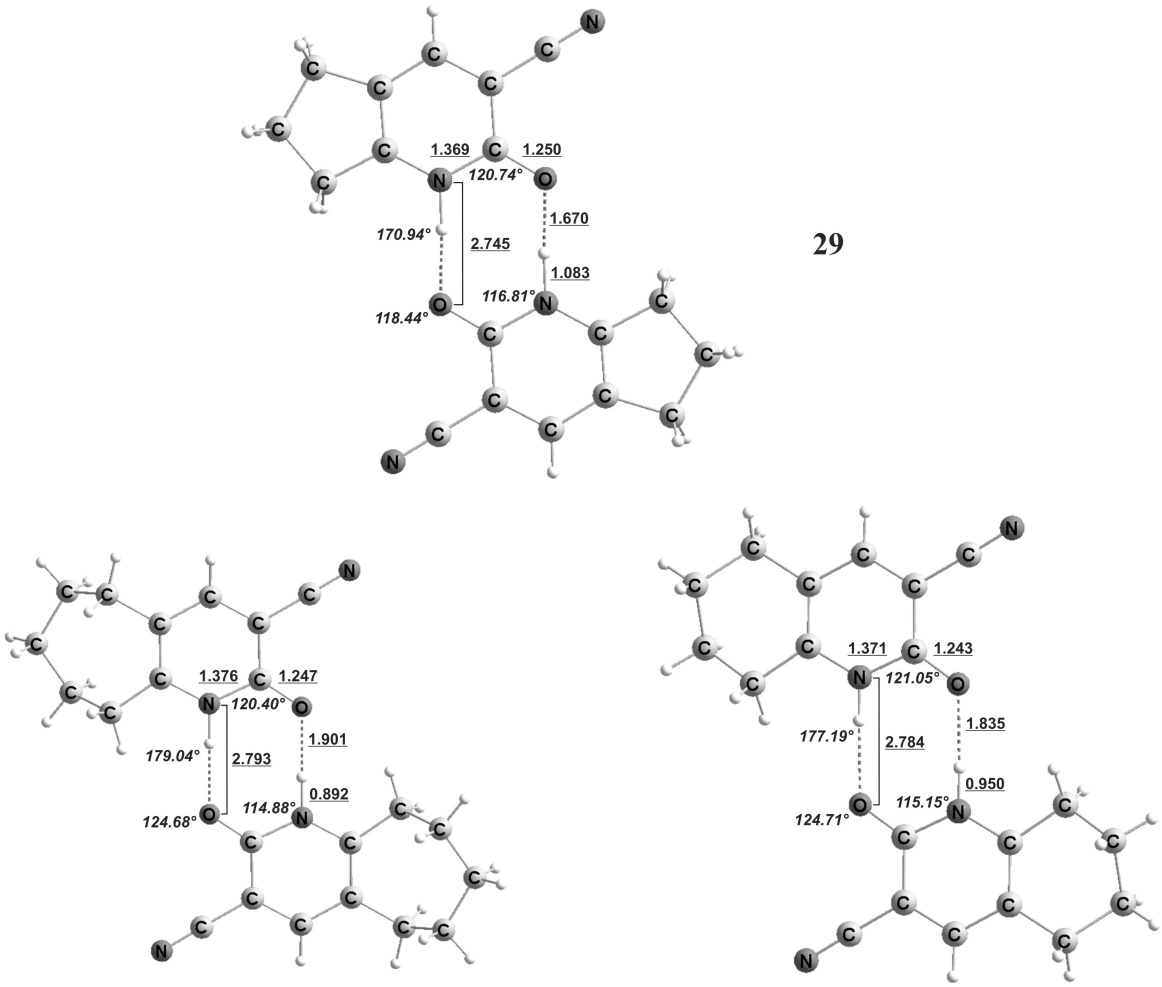
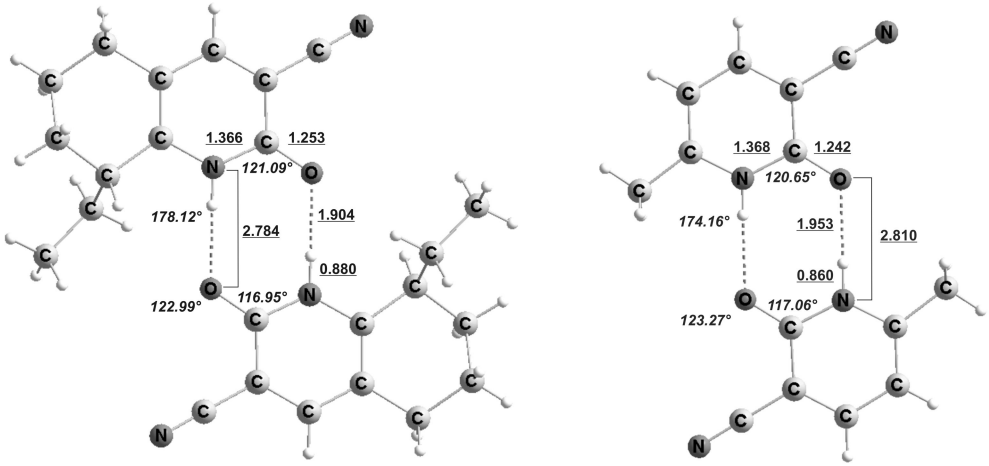


Abbildung 3-21: Festkörperstrukturen von Verbindung **29**, **30** und **33**. Für jede Verbindung wird jeweils das *H*-verbrückte Dimer gezeigt. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind mit gestrichelten Linien dargestellt. Die Abstände werden in Ångström [Å] und unterstrichen, die Winkel in Grad [°] und kursiv angegeben.[67]

Für Verbindung **33** (siehe Abbildung 3-21) ergibt sich in der Festkörperstruktur eine analoge Situation wie für Verbindungen **29** und **30**. Es werden wiederum über *H*-Brücken verknüpfte Dimere bestehend aus zwei Einzelmolekülen **33** mit r(NH+HO) = 2.793 Å und a(C=O···H) = 124.68° gefunden. Der aliphatische siebengliedrige Ring besitzt im Kristall eine sesselartige Konformation, die sich komplett auf einer Seite der Pyridonringebene befindet. Wie bei Verbindung **30** beobachtet man gestapelte Säulen von zueinander verdrehten Dimerenpaaren, aber die unpolaren Ringregionen sind wegen der höheren Anzahl an Methylengruppen wesentlich dominanter als bei **30** oder gar **29**.

Die chirale Verbindung **43** (siehe Abbildung 3-22) kristallisiert ebenfalls wie die vorher beschriebenen Verbindungen in einem Dimerenpaar mit r(NH+HO) = 2.784 Å und

a(C=O···H) = 122.99°. Das Dimerenpaar selbst setzt sich aus einem Molekül in R- und einem in S-Konfiguration bezüglich der chiralen Position an C-8 zusammen. Der sechsgliedrige Ring mit dem Ethylsubstituenten ist auch hier wie in Verbindung **30** nicht planar. Die nicht zum aromatischen Pyridonring benachbarten Methylengruppen werden leicht über und unter die aufgespannte Ebene gedreht, entsprechend alternierend zur axial ständigen Ethylgruppe. Die einzelnen Dimerenpaare sind versetzt zueinander in Säulen entlang der a-Achse übereinander gestapelt. Die sekundären Wechselwirkungen der Cyanogruppen bilden in Verbindung **43** ihrerseits wieder dimere Strukturen zu den 4-H-Positionen benachbarter Dimerenpaare aus, so das eine nahezu lineare Kette aus abwechselnden Dimeren gebildet wird. Der aliphatische Ring mit dem Substituenten an C-8 Position orientiert sich entlang unpolarer Bandstrukturen um die kettenförmig aufgebauten polaren *H*-Brücken herum.



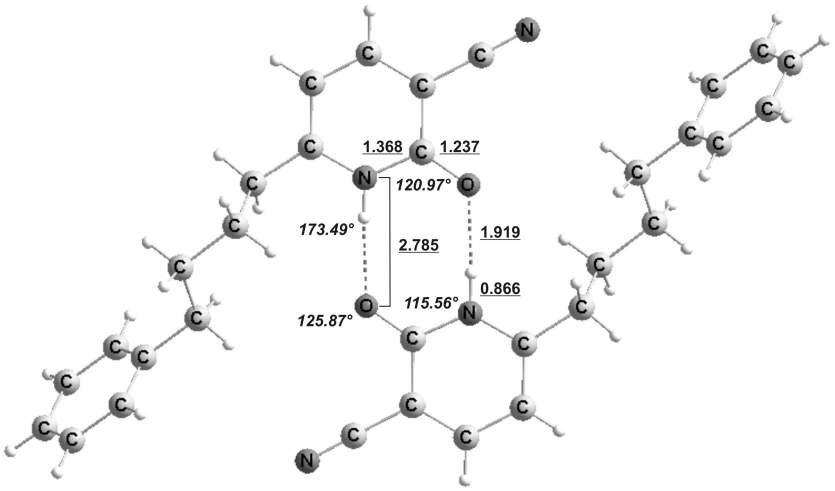
43 **34**

Abbildung 3-22: Festkörperstrukturen von Verbindung **43** und **34**. Für jede Verbindung wird jeweils das *H*-verbrückte Dimer gezeigt. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind mit gestrichelten Linien dargestellt. Die Abstände werden in Ångström [Å] und unterstrichen, die Winkel in Grad [°] und kursiv angegeben.[67]

Im Gegensatz zu Verbindung **20** bevorzugt auch das 1,2-Dihydro-6-methyl-2-oxo-pyridincarbonitril (**34**, Abbildung 3-22) die Ausbildung von symmetrischen Dimeren in einem monoklinen Kristallsystem, mit *r*(NH+HO) = 2.813 Å und *a*(C=O···H) = 123.27°. Die Dimerenpaare sind in regulären Säulen aufeinander gestapelt. Die sekundären Wechselwirkungen zwischen den Cyanogruppen und der 4-H-Position sind ebenfalls vorhanden und ordnen sich genauso wie die unpolare Region des Alkylsubstituenten zwischen den Dimerensäulen an. *Munakata et al.*[82] konnten ähnliche Beobachtungen an Verbindung **34** tätigen. Ihnen gelang es, einen Kristall von **34** in Aceton zu züchten und zu

analysieren. Auch sie finden Dimere als Hauptstrukturelement, wenn auch in einem triklinen System mit leicht anderer Geometrie für die *H*-Brücke mit *r*(NH+HO) = 2.804 Å und *a*(C=O···H) = 122.63° und damit einer leicht anderen Gesamtstruktur.

Wird in Verbindung **34** der Methylsubstituent gegen einen wesentlich größeren Rest ausgetauscht wie er in Verbindung **36** vorliegt, so ändert sich das Hauptstrukturelement im Festkörper nicht. Auch **36** bildet primär über *H*-Brücken verknüpfte Dimere (siehe Abbildung 3-23) mit *r*(NH+HO) = 2.785 Å und *a*(C=O···H) = 125.87° aus, die ihrerseits wiederum zwischen der Cyanogruppe und der 4-H-Position des Pyridonrings kettenförmig ähnlich der Struktur von **43** verknüpft sind. Die Ketten werden jeweils alternierend zueinander gestapelt, so dass über ein H···O-Brücken Dimer ein CN···H Dimer zum Liegen kommt. Durch Ausbildung weiterer sekundärer Wechselwirkungen bildet sich ein komplexes Netzwerk zwischen den polaren Bändern und nun wesentlich dominanteren unpolaren Strängen aus.

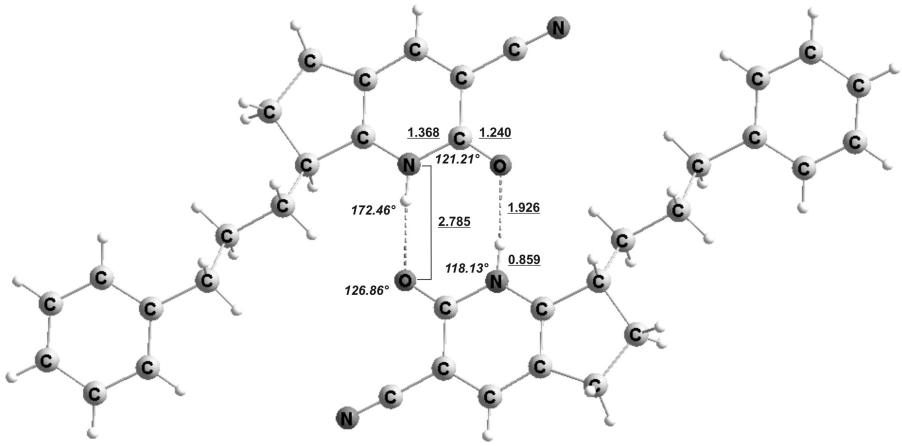


36

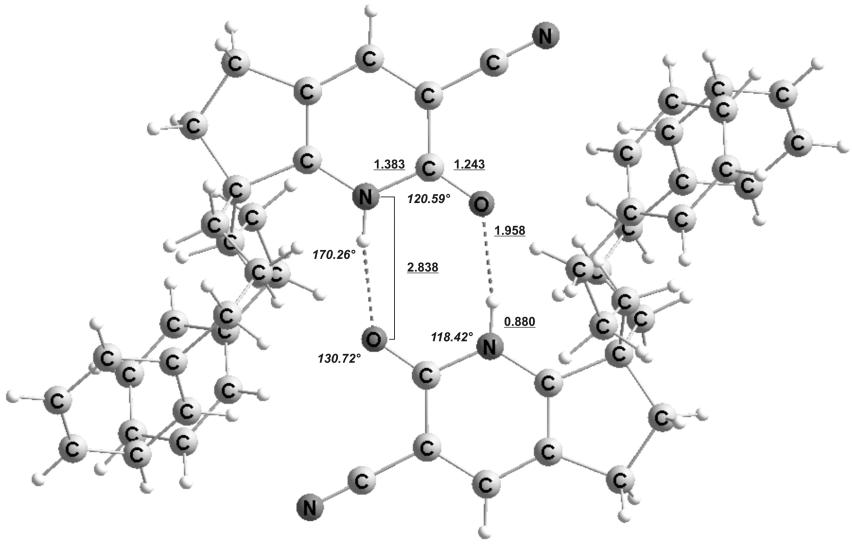
Abbildung 3-23: Dimere Festkörperstruktur von Verbindung **36**. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind mit gestrichelten Linien dargestellt. Die Abstände werden in Ångström [Å] und unterstrichen, die Winkel in Grad [°] und kursiv angegeben.[67]

Auch von den substituierten Fünfringsystemen **39** und **40** werden Strukturdaten erhalten, aber auch dort wird kein verändertes Hauptstrukturelement beobachtet. In Verbindung **39** (siehe Abbildung 3-24) findet man eine Paarung von zwei Einzelmolekülen zu einer *H*-verbrückten Dimerenstruktur mit *r*(NH+HO) = 2.785 Å und *a*(C=O···H) = 126.86°. Das Dimerenpaar selbst setzt sich aus einem Molekül in R- und einem in S-Konfiguration bezüglich der chiralen Position an C-7 zusammen. Der fünfgliedrige aliphatische Ring nimmt eine leichte

Briefumschlags-Struktur in abgewandter Stellung zum voluminösen Phenylpropylrest ein. Die *H*-verbrückten Dimere stehen wiederum über weitere Kontakte zwischen den Cyanogruppen und den 4-H-Positionen benachbarter Pyridonringe miteinander in Kontakt. Die CN···H-Bindungen bauen im vorliegenden Fall keine Dimere auf, sondern eine zwischen den Hauptdimeren alternierende Kettenstruktur ähnlich der *H*-Brücken in Verbindung **20**. Es kommt dabei aufgrund von sterischen Effekten untereinander zu einer sehr steilen Stapelung der Dimeren in Säulen, die mit den nun stark ausgeprägten unpolaren Bändern eine Art Fischgrätmuster bilden.



39



40

Abbildung 3-24: Dimere Festkörperstruktur von Verbindung **39** und **40**. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind mit gestrichelten Linien dargestellt. Die Abstände werden in Ångström [Å] und unterstrichen, die Winkel in Grad [°] und kursiv angegeben.[67]

Auch in Verbindung **40** wird ein *H*-verbrücktes Dimerenpaar als primäres Strukturelement mit r(NH+HO) = 2.838 Å und a(C=O···H) = 130.72° gefunden. Die Dimere stehen im Gegensatz zur vorher beschriebenen mono-substituierten Verbindung **39** wieder zwischen der CN-Gruppe und der 4-H-Position des benachbarten Dimers in kettenförmigem Kontakt. Die Ketten bilden in der mittlerweile stark unpolaren Verbindung isolierte polare Bänder im Festkörper, die von den unpolaren Gruppen vollständig umhüllt werden. Das *H*-verbrückte Dimer selbst ist schon fast komplett von einem kugelförmigen unpolaren Käfig umgeben, der gerade noch genügend Freiraum lässt, um die cyanoverbrückten Strukturen auszubilden.

Tabelle 3.8: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für die Verbindungen **29**, **30**, **33**, **43**, **34**, **36**, **39** und **40**.[67]

Kristall-daten	**29**	**30**	**33**	**43**	**34**	**36**	**39**	**40**
Molekül-formel	$C_9H_8N_2O$	$C_{10}H_{10}N_2O$	$C_{11}H_{12}N_2O$	$C_{12}H_{14}N_2O$	$C_7H_6N_2O$	$C_{16}H_{16}N_2O$	$C_{18}H_{18}N_2O$	$C_{27}H_{28}N_2O$
fw	160.18	174.20	188.23	202.25	134.14	252.31	278.34	396.52
Kristall-system	triklin	monoklin	monoklin	triklin	monoklin	monoklin	monoklin	monoklin
Raum-gruppe	$P\bar{1}$	$P2_1/n$	$P2_1/n$	$P\bar{1}$	$P2_1/c$	$P2_1/n$	$P2_1/c$	$P2_1/n$
***a*, *b*, *c* / [Å]**	4.192 (1)	5.965 (1)	9.955 (2)	6.340 (2)	3.981 (1)	6.538 (2)	17.115 (3)	12.548 (1)
	8.076 (2)	16.487 (4)	5.665 (1)	7.526 (3)	7.302 (2)	33.133 (11)	7.810 (1)	12.284 (1)
	11.679 (2)	9.301 (1)	16.841 (4)	12.292 (4)	21.832 (3)	6.912 (2)	11.766 (2)	14.496 (1)
***α*, *β*, *γ* / [°]**	80.97 (2)	90	90	87.19 (4)	90	90	90	90
	84.48 (1)	105.17 (2)	93.27 (2)	84.14 (4)	91.48 (2)	111.48 (2)	94.78 (1)	90.01 (1)
	84.13 (1)	90	90	69.98 (4)	90	90	90	90
Volumen / [Å^3]	387.2 (1)	882.8 (3)	948.2 (3)	548.1 (4)	634.5 (3)	1393.4 (7)	1567.3 (4)	2234.33 (2)
***T* / [K]**	295	295	295	295	295	295	295	295
Z	2	4	4	2	4	4	4	4
***μ* / [mm^{-1}]**	0.093	0.087	0.087	0.080	0.098	0.076	0.074	0.072
Reflexe								
gemessen	1067	1465	1587	3240	2216	2386	2574	20949
unabhängig	911	1378	1491	1584	1001	2181	2443	2927
obs (≥ 2σ(I))	748	1002	1194	547	712	1294	1649	1852
R1	0.0428	0.0532	0.0405	0.0449	0.0505	0.0616	0.0636	0.0901
wR2	0.1252	0.1208	0.1019	0.1048	0.1136	0.1331	0.1508	0.2547
Güte	1.049	1.156	1.166	0.710	1.182	1.206	1.105	1.050

Tabelle 3.9: Strukturdaten für die angegebenen Verbindungen. Abstände *r*(X-Y) werden in Ångström [Å] und Winkel *a*(X-Y-Z) kursiv und in Grad[°] angegeben.[67]

Verbindung	**20**[51]	**29**	**30**	**33**	**43**	**34**	**34**[82]	**36**	**39**	**40**
Parameter der H-Brückenbindung										
***r*(N···O)**	2.773 (-)	2.745 (12)	2.784 (20)	2.793 (14)	2.784 (64)	2.810 (17)	2.801 (-)	2.781 (32)	2.780 (1)	2.829 (0)
***r*$_A$ (N-H)**	1.035 (-)	1.083 (5)	0.950 (8)	0.892 (21)	0.880 (2)	0.860 (5)	0.989 (-)	0.866 (9)	0.859 (0)	0.880 (0)
***r*$_B$ (H···O)**	1.778 (-)	1.670 (8)	1.835 (13)	1.901 (23)	1.904 (44)	1.953 (12)	1.815 (-)	1.919 (23)	1.926 (1)	1.958 (0)
Σ $r_A + r_B$	2.813	2.753	2.785	2.793	2.784	2.813	2.804	2.785	2.785	2.838
***a*(N-H···O)**	*159.84* *(-)*	*170.94* *(17)*	*177.19* *(21)*	*179.04* *(20)*	*178.12* *(4)*	*174.16* *(24)*	*174.70* *(-)*	*173.49* *(2)*	*172.46* *(1)*	*170.26* *(0)*
***a*(C=O···H)**	*134.70* *(-)*	*118.44* *(16)*	*124.71* *(18)*	*124.68* *(62)*	*122.99* *(3)*	*123.27* *(18)*	*122.63* *(-)*	*125.87* *(2)*	*126.86* *(1)*	*130.72* *(0)*
CH- und CN-Kontakte										
***r*(CN···H$_{p\text{-}Aryl}$)**	-	2.783 (18)	2.469 (18)	2.537 (16)	2.499 (64)	2.688 (25)	2.637 (-)	2.601 (24)	2.900 (2)	2.475 (0)
***a*(N···H-C)**	-	*124.70* *(23)*	*168.98* *(28)*	*159.67* *(19)*	*172.24* *(4)*	*137.91* *(26)*	*151.45* *(-)*	*169.50* *(2)*	*158.29* *(1)*	*161.30* *(0)*
		2.841 (21)								
		138.85 *(23)*								
***r*(N···H$_{Alkyl}$-C)**	-	6-CH_2- 3.089 (29)	6-CH_2- 2.675 (9)	6-CH_2- 2.824 (18)	7-CH_2 2.622 (50)	Me- 2.716 (26)	Me- 2.682 (-)	10-CH_2- 3.038 (19)	7-CH- 2.738 (7)	Ar-H_A 2.900 (8)
***a*(N···H$_{Alkyl}$-C)**	-	6-CH_2- *130.33* *(24)*	6-CH_2- *138.73* *(35)*	6-CH_2- *136.72* *(20)*	7-CH_2 *146.65* *(2)*	Me- *162.52* *(79)*	Me- *162.97* *(-)*	10-CH_2- *149.67* *(2)*	7-CH- *138.86* *(1)*	Ar-H_A *133.72* *(0)*
***r*(O···H$_{Alkyl}$-C)**	3-CH- 2.660 (-)	7-CH_2- 2.974 (32)	7-CH_2- 2.816 (4)	9-CH_2- 2.727 (11)	11-H_A 2.795 (45)	Me- 2.684 (24)	Me- 2.681 (-)	8-CH_2- 2.651 (9)	10-CH_2- 2.439 (1)	10-CH_2- 2.607 (4)
***a*(O···H$_{Alkyl}$-C)**	3-CH- *133.76* *(-)*	7-CH_2- *161.75* *(24)*	7-CH_2- *144.25* *(32)*	9-CH_2- *143.63* *(21)*	11-H_A *124.59* *(2)*	Me- *161.34* *(58)*	Me- *155.85* *(-)*	8-CH_2- *139.34* *(2)*	10-CH_2- *161.13* *(1)*	10-CH_2- *152.47* *(0)*

Mit den hier analysierten Strukturdaten ergeben sich für die behandelten Verbindungen **20**, **29**, **30**, **33**, **34**, **36**, **43**, **39** und **40** im wesentlichen drei verschiedene beobachtbare Interaktionen zwischen den Molekülen im Festkörper: a) Wasserstoffbrückenbindungen

zwischen dem Pyridon C=O und dem Pyridon-NH, die entweder cyclische Dimere ($R_2^2(8)$) oder helikale Ketten (C(4)) bilden; b) Kontakte zwischen der CN-Gruppe und *H*-Atomen, die sich entweder in der C-4 Position des Pyridons oder in den aliphatischen Seitenketten der Pyridone befinden; c) hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den Alkylsubstituenten, die zur Ausbildung von unpolaren Bändern innerhalb der Festkörperstruktur führen (für detaillierte Strukturdaten siehe Tabelle 3.8 und Tabelle 3.9). Zur näheren Untersuchung werden lediglich die primären Wasserstoffbrückenbindungen mit den entsprechenden Parametern *r*(NH+HO) und *a*(C=O···H) betrachtet. In Abbildung 3-25 wird eine Korrelation zwischen den Parametern der hier behandelten Substanzen illustriert, in der auch berechnete Daten für das Gasphasendimer von **20** und **29** mit aufgenommen sind (siehe Tabelle 3.10).[61,83]

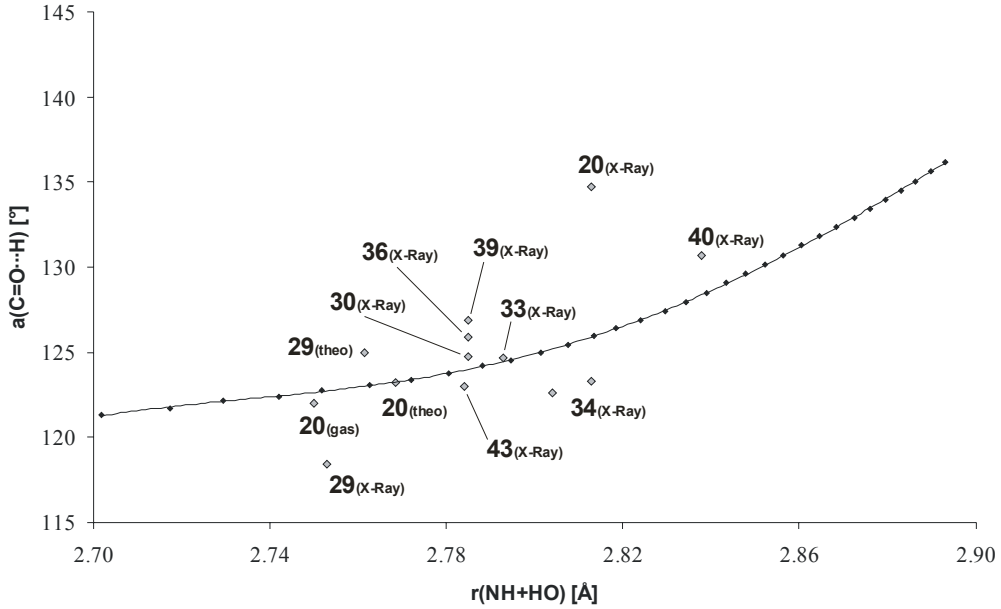


Abbildung 3-25: Korrelation der *H*-Brücken Distanzen *r*(NH+HO) in Ångström [Å] mit den jeweiligen Winkeln *a*(C=O···H) in Grad [°].

In der obigen Darstellung kann man sehr schön erkennen, dass die Struktur des Gasphasendimers von **20** und seine helikale Festkörperstruktur in ihrer Geometrie grundlegend verschieden sind. Die Gasphasen-Struktur kann mit dem Becke3LYP/6-311++G(2d,2p) Basissatz sehr gut reproduziert werden. Die Dehnung einer der H-Brücken und Optimierung aller anderen Strukturparameter führt (auf B3LYP/6-311++G(2d,2p)-Niveau) zur "Dehnungskurve", die in Abbildung 3-25 dargestellt ist. Diese Kurve kann als

Idealkurve für Pyridone angesehen werden, welche nicht durch äußere Einwirkungen beeinflusst werden.[61]

Tabelle 3.10: Strukturdaten der Gasphasendimere von **20** und **29** berechnet auf B3LYP/6-311++ G(2d,2p)-Niveau. Abstände *r*(X-Y) werden in Ångström [Å] und Winkel *a*(X-Y-Z) kursiv und in Grad[°] angegeben.

Verbindung	**20**$_{(C2v)}$[a]	**29**$_{(Ci)}$[a]
***r*(N-H···O)**	2.7684	2.7614
r_A**(N-H)**	1.0389	1.0397
r_B**(H···O)**	1.7295	1.7219
***r*(NH+HO)**	2.7684	2.7616
***a*(N-H···O)**	*179.95*	*178.57*
***a*(C=O···H)**	*123.23*	*125.00*

[a] Daten sind der Literaturstelle [61]entnommen

Betrachten wir nun die ermittelten Parameter der hier untersuchten Verbindungen, so ist es möglich, diese in zwei Gruppen einzuteilen. Die erste Gruppe ist sehr nahe an oder etwas unterhalb der Deformationslinie zu finden. Zu dieser Gruppe gehören Verbindungen, deren Substituenten nicht wesentlich aus der Pyridonringebene herausragen (**29**, **30**, **33**, **34**, **43**). Die kürzeste *H*-Brücke mit *r*(NH+HO) = 2.753 Å und den kleinsten Koordinationswinkel mit *a*(C=O···H) = 118.44° besitzt in dieser Gruppe das Pyridon **29**. Die zweite Gruppe von Pyridondrivaten befindet sich oberhalb der Linie und enthält Verbindungen, deren Alkylsubstituenten weiter aus der Pyridonringebene herausragen, wie **36**, **39**, **40** und **20**, wobei letzteres in Ketten kristallisiert. Aufgrund der vom Substituenten erzwungenen Raumerfüllung besitzen diese Substanzen im Festkörper für die *H*-Brücken größere Abstände und/oder aufgeweitete Koordinationswinkel. Im äußersten Fall ist auch eine andere Art des Kristallisationsmodus in Form von Ketten zu finden.[61] Neben der Tatsache, dass anscheinend eine grobe Korrelation zwischen Abstand und Winkel der Wasserstoffbrückenbindung und Struktur besteht, kann aber keine klare Aussage über die supramolekulare Festkörperstruktur eines der vorliegenden Moleküle anhand des Substitutionsmusters getroffen werden.

4 Die Esteraminolyse am System *p*-Nitrophenylacetat (5) mit *n*-Butylamin (6) in $CDCl_3$ als Reaktionsmedium

4.1 Katalysatorenwahl und deren Löslichkeit im Reaktionsmedium

Um den Einfluss des Substitutionsmusters auf die katalytischen Eigenschaften der 2-Pyridone auf breiter Basis zu untersuchen, werden die in Abbildung 4-1 gezeigten Verbindungen **20**, **29**, **30**, **33**, **34** und **43** auf ihre Aktivität hin im Modellsystem **5** mit **6** (siehe Abbildung 2-2) überprüft. Das 2-Pyridon (**20**) wird als Stammverbindung mit in die kinetischen Messungen aufgenommen und dient als Referenz im Vergleich zu den 3-cyanosubstituierten Substanzen.

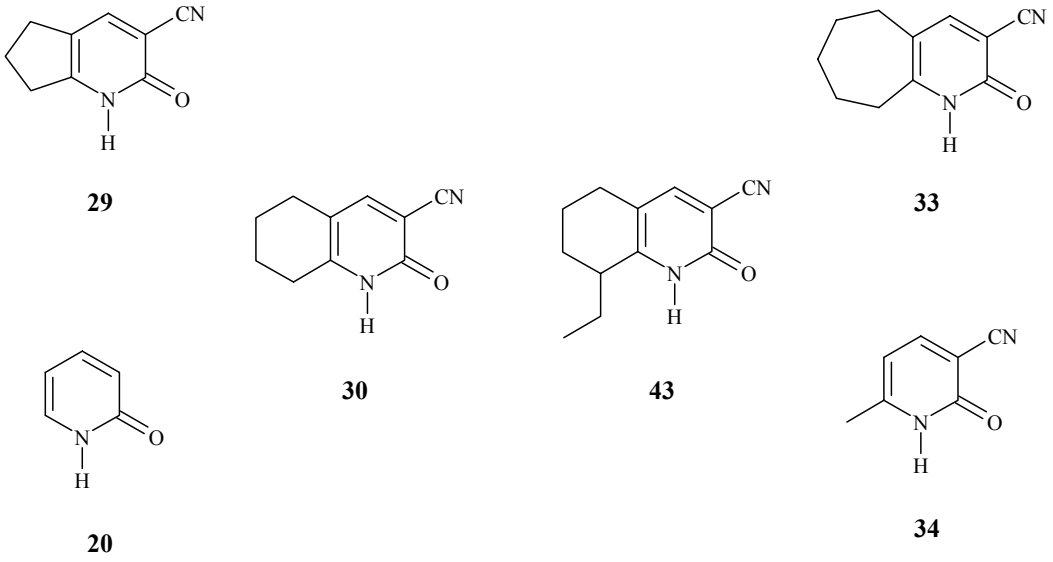


Abbildung 4-1: Serie der kinetisch vermessenen 2-Pyridonderivate.

Verbindung **34** wird trotz der schlechten Löslichkeit (zu Löslichkeiten: Vergleiche Tabelle 4.1) in $CDCl_3$ der Auswahl hinzugefügt, da dieses Derivat neben Verbindung **20** bereits in der Butylaminolyse von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) in Chlorbenzol als Lösemittel auf katalytische Aktivität hin überprüft worden ist.[33,35] Aus diesen früheren Messungen ist bekannt, dass die Einführung der CN-Einheit als elektronenziehende Gruppe an Position C-3 im Ringsystem des 2-Pyridons einen positiven Einfluss auf die Katalyse in der Esteraminolyse hat. Das

Pyridonderivat **29** wird aufgrund seiner außerordentlich kurzen *H*-Brückenbindungen, die in der erhaltenen Kristallstruktur gefunden werden (siehe Röntgenstrukturdaten in Kapitel 3.3), mit in die kinetischen Messungen aufgenommen.[61] Im Vergleich zu **34** ist es mit einer Löslichkeit von $40*10^{-3}$ mol l^{-1} in Deuterochloroform bei 25 °C als 3-Cyano-Derivat wesentlich besser geeignet, in den ^{1}H-NMR-Messungen einen breiten Konzentrationsbereich abzudecken. Verbindung **30** wird wegen seiner strukturellen Ähnlichkeit zu **29** und der durch Einführung einer zusätzlichen CH_2-Gruppe weiter verbesserten Löslichkeit von $120*10^{-3}$ mol l^{-1} im verwendeten Lösemittel untersucht. Verbindung **33** wird mit aufgenommen, um die Reihe der Ringverbindungen zu vervollständigen und zu überprüfen, ob die geringere Ringspannung zu einer Abschwächung der katalytischen Aktivität bei den ringanellierten 3-Cyano-2-pyridonderivaten führt. Die Untersuchung von Verbindung **43** soll Aufschluss über den Einfluss von Alkylsubstituenten geben, die sich in direkter Nachbarschaft zum katalytischen Reaktionszentrum befinden.

Tabelle 4.1: Löslichkeit einiger 3-Cyano-2-pyridonderivate in Chloroform.

Verbindung	Löslichkeit in $CHCl_3$ bei 25 °C [mol l^{-1}]
20	$\geq 500*10^{-3}$[84]
29	$40*10^{-3}$
30	$120*10^{-3}$
33	n. b. ($> 40*10^{-3}$) [a]
34	$0.9*10^{-3}$ ($3.0*10^{-3}$) [b]
43	$505*10^{-3}$

[a] Wert ergibt sich aus den Konzentrationen der kinetischen Messungen

[b] Wert in Klammern bezieht sich auf Chloroform mit $250*10^{-3}$ mol l^{-1} *n*-Butylamin (**6**)

4.2 Datenaufnahme der kinetischen Untersuchungen

Alle kinetischen Untersuchungen des Modellsystems *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) werden in Deuterochloroform als unpolarem Reaktionsmedium durchgeführt und ^{1}H-NMR-spektroskopisch verfolgt. Durch die Wahl der spektroskopischen Methode wird automatisch auch der Konzentrationsbereich festgelegt, in dem die Messungen erfolgen können. Die Aminkonzentration (**6**) sollte wegen der quadratischen Abhängigkeit in Gleichung 2.3-6 nur in einem kleinen Konzentrationsbereich variiert werden, so dass die

Reaktion weder zu schnell noch zu langsam abläuft. Bei der Wahl der *p*-Nitrophenylacetatkonzentration (**5**) treten zwei Probleme auf. Erstens darf die Konzentration der im Unterschuss vorhandenen Komponente nicht zu gering gewählt werden, da sonst eine Detektion im Spektrum nicht mehr möglich ist. Zweitens darf die Konzentration aber auch nicht zu groß sein, da dann die Aminkonzentration über den gesamten Reaktionsverlauf nicht mehr als konstant angesehen werden kann und die Voraussetzungen für eine Reaktion pseudo-erster Ordnung nicht mehr gegeben sind. Für die hier durchgeführten Untersuchungen wird die Esterkonzentration auf $50*10^{-3}$ mol l^{-1}, die Aminkonzentration auf $250*10^{-3}$ mol l^{-1} und die Katalysatorkonzentration auf $0\text{-}15*10^{-3}$ mol l^{-1} festgelegt. Dadurch lassen sich noch Reaktionsbedingungen pseudo-erster Ordnung einhalten.[60] Die jeweiligen Einzelmessungen werden bis zum Erreichen der zweiten Halbwertszeit (75 % Umsatz) durchgeführt, da bereits in früheren Arbeiten gezeigt werden konnte, dass die Reaktionsordnung bis zu diesem Punkt keinen wesentlichen Veränderungen unterworfen ist.[60]

Zur Auswertung der aufgenommenen NMR-Daten dienen in der vorliegenden Arbeit die Integralverhältnisse der Arylprotonensignale von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) und *p*-Nitrophenol (**7**). Der Reaktionsumsatz lässt sich wegen der direkten Proportionalität zwischen vorhandener Konzentration und Integralwert direkt aus dem Verhältnis des Produktintegrals (**7**) zu der Summe der Integrale von Produkt (**7**) und Edukt (**5**) ermitteln. Die Methode bietet sich aufgrund der möglichen Automatisierung der Datenaufnahme und der praktischen Auswertbarkeit an. Eine Überlagerung mit den Arylprotonensignalen der eingesetzten Katalysatoren tritt nicht auf, da deren Signale im Bereich von 7.59 (**43**) - 7.99 (**34**) ppm detektiert werden [Bei Verbindung **20** sind die höchsten Signale für die insgesamt vier Arylprotonen als Multiplett im Bereich zwischen 7.4 - 7.5 zu finden]. Die Signale der vier Arylprotonen von Edukt **5** und Produkt **7** der kinetischen Messungen liegen in Bereichen über 8 ppm bzw. deutlich unter 7 ppm und ermöglichen so ein störungsfreies Auswerten im Bereich über 8 ppm.

Die Ermittlung von k_{obs} erfolgt wie bereits unter Punkt 2.3 erläutert durch Invertieren der aus der angenäherten Exponentialkurve bzw. linearer Regression erhaltenen Zeitparameter. Durch die Anwendung von Bedingungen pseudo-erster Ordnung in der Reaktionsführung kann man die katalysatorabhängige Geschwindigkeitskonstante k_{kat} nach der bereits unter Punkt 2.3 erwähnten Methode durch Auftragung von k_{obs}/[Amin] gegen die entsprechende Katalysatorkonzentration ermitteln. Durch lineare Regression mit Hilfe der zugrunde liegenden kinetischen Gleichung 2.3-6b kann dann k_{kat} direkt bestimmt werden. Wie man aber

in Abbildung 4-2 sehen kann, folgt die Auftragung der gewonnenen k_{obs}-Werte (hier für **29**) auf die entsprechenden Katalysatorkonzentrationen [Kat] keiner linearen Abhängigkeit.[85]

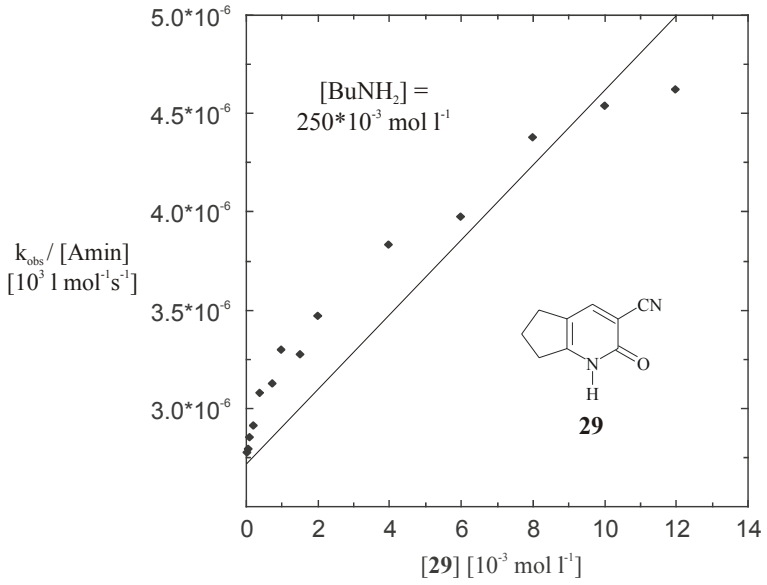


Abbildung 4-2: Auftragung von k_{obs}/[Amin] gegen die Katalysatorkonzentration **29** [Kat] in der Reaktion von **5** und **6**. Die für eine lineare Regression erhaltene Gerade wird zur Veranschaulichung des nichtlinearen Verhaltens in der Abbildung belassen.[85]

Im Folgenden wird nun erarbeitet, welche Faktoren zu der erhaltenen Nichtlinearität (Abbildung 4-2) im beobachteten System der Esteraminolyse von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in Deuterochloroform führen.

4.3 Kinetisches Modell I: Katalysatorassoziation führt zur Nichtlinearität

Bereits unter Punkt 2.4 wurde die Bifunktionalität der Pyridonderivate und ihre damit verbundene Assoziationsbereitschaft dargelegt. Die resultierende Dimerisierung der Pyridonderivate ist abhängig von der Wahl des eingesetzten Lösemittels und der entsprechenden Einstellung des Gleichgewichts, welches über die Dimerisierungskonstante K_D quantitativ erfasst werden kann (Abbildung 2-9). Die Konzentrationen des Monomers [M] und des Dimers [D] stehen in direktem Zusammenhang miteinander und werden über Gleichung 4.3-1 beschrieben.

Gleichung 4.3-1: $$[D] = K_D \cdot [M]^2$$

Die Konzentration des (als katalytisch aktiv angesehenen) Monomers [M] ist demnach immer kleiner als die eingesetzte Gesamtkonzentration $[M]_0$.[33] Dies bedeutet, dass die Dimerkonzentration [D] mit steigender Monomerkonzentration [M] des eingesetzten 2-Pyridonderivats quadratisch zunimmt und damit die katalytische Aktivität entsprechend reduziert wird. Die eingesetzte Gesamtkonzentration $[M]_0$ an Katalysator in der Lösung setzt sich aus der Monomerenkonzentration [M] und der doppelten Dimerkonzentration [D] zusammen:

Gleichung 4.3-2: $$[M]_0 = [M] + 2[D]$$

Durch Auflösen von Gleichung 4.3-2 nach der Dimerkonzentration [D] und Einsetzen in Gleichung 4.3-1 wird [D] eliminiert und man erhält die quadratische Gleichung 4.3-3:

Gleichung 4.3-3: $$[M]^2 + \frac{[M]}{2K_D} - \frac{[M]_0}{2K_D} = 0$$

Durch Umformung von Gleichung 4.3-3 lässt sich eine Korrelation zwischen der unbekannten Monomerkonzentration [M] und der Gesamt-Katalysatorkonzentration $[M]_0$ herleiten:

Gleichung 4.3-4: $$[M] = \frac{\sqrt{8K_D[M]_0 + 1} - 1}{4K_D}$$

Liegt also eine sehr kleine Dimerisierungskonstante vor, so ergibt sich als Grenzwert für die Monomerenkonzentration [M] demnach die eingesetzte Gesamtkonzentration $[M]_0$ an Pyridonkatalysator. Ist dagegen K_D groß, so verringert sich entsprechend auch die in der Reaktionslösung vorhandene Monomerenkonzentration [M]. Da jedoch nur vom Monomer eine katalytische Aktivität angenommen wird,[33] muss in Gleichung 2.3-6b für die Katalysatorkonzentration [Kat] anstelle der bekannten Gesamtkonzentration $[M]_0$ der

Ausdruck für die Monomerenkonzentration [M] aus Gleichung 4.3-4 eingesetzt werden. Man erhält dadurch Gleichung 4.3-5.

Gleichung 4.3-5:

$$\frac{k_{obs}}{[Amin]} = k_A [Amin] + k_{kat} \frac{\sqrt{8 K_D [M]_0 + 1} - 1}{4 K_D}$$

Wird nun die von der Aminkonzentration abhängige beobachtete Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_{obs}/[Amin] gegen die Katalysatorgesamtkonzentration $[M]_0$ aufgetragen, so können simultan durch nichtlineare Regression anhand von Gleichung 4.3-5 die katalysatorabhängige Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_{kat}, die Dimerisierungskonstante K_D und die Geschwindigkeitskonstante der Hintergrundreaktion k_A ermittelt werden.[37]

Um die Anzahl von Variablen zu verringern und ein besser lösbares System zu erhalten, werden die Geschwindigkeitskonstante k_A der Hintergrundreaktion und, unter Vorbehalt, die Dimerisierungskonstante K_D unabhängig ermittelt.

4.4 Reduzierung der in der Kinetik vorhandenen Variablen

4.4.1 Unabhängige Bestimmung der Hintergrundreaktion

Die Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) (siehe Abbildung 2-2) unterliegt einem selbstkatalytischen Prozess (siehe Punkt 2.3), der nur von der Konzentration der Aminkomponente [Amin] und der Geschwindigkeitskonstante k_A abhängt. Die Gleichung 2.3-4 reduziert sich demnach auf Gleichung 4.4-1:

Gleichung 4.4-1:

$$k_{obs} = k_A [Amin]^2$$

Um eine Parameterreduzierung in Gleichung 4.3-5 zu erreichen, werden in Zusammenarbeit mit *Steininger* 20 unabhängige, unkatalysierte Reaktionen von **5** mit **6** über einen Zeitraum von mehreren Monaten beobachtet.[58,86] Durch Annäherung einer exponentiell abfallenden Kurve nach dem unter Punkt 2.3 beschriebenen Regressionsprozess mit Gleichung 2.3-2 bzw.

linearen Auswertung nach Gleichung 2.3-3 kann aus den erhaltenen Daten für die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} durch Division mit der im Quadrat stehenden Aminkonzentration die Geschwindigkeitskonstante k_A ermittelt werden. In Tabelle 4.2 sind die Ergebnisse beider Auswertungsmethoden angegeben. Der berechnete Mittelwert für die selbstkatalytische Geschwindigkeitskonstante k_A wird in allen weiteren kinetischen Messungen als fest angenommen.

Tabelle 4.2: Ergebnisse zur Bestimmung der selbstkatalysierten Konstante k_A der Hintergrundreaktion. Mit den Resultaten beider Methoden wird ein mathematischer Mittelwert errechnet und der Wert $1.066*10^{-2}$ $l^2mol^{-2}s^{-1}$ für k_A erhalten. Die Daten, die zum Erhalt der Ergebnisse führen, sind unter Punkt 8.3.2 im Abschnitt „*Kinetische Messungen*“ detailliert aufgelistet.[85]

Methode	exponentiell	linear	Durchschnitt
$\overline{1/k_{obs}}$ [s]	1504.5 ± 61.5	1502.8 ± 66.4	1503.7 ± 64.0
$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]	$6.66*10^{-4} \pm 2.7*10^{-5}$	$6.67*10^{-4} \pm 2.9*10^{-5}$	$6.66*10^{-4} \pm 2.8*10^{-5}$
k_A [$l^2mol^{-2}s^{-1}$]	$1.065*10^{-2} \pm 4.4*10^{-4}$	$1.067*10^{-2} \pm 4.7*10^{-4}$	**$1.066*10^{-2} \pm 4.5*10^{-4}$**

4.4.2 Untersuchungen zum Aggregationsverhalten von Pyridonderivaten in $CDCl_3$

Um einen besseren Einblick in das Aggregationsverhalten der hier verwendeten Pyridonderivate zu bekommen, werden für Verbindung **29** und **30** genauere Untersuchungen in deuteriertem Chloroform durchgeführt. Beide Pyridonderivate werden aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeiten und ihrer guten Löslichkeit im verwendeten Lösemittel ausgewählt. Zur Überprüfung eines auftretenden Aggregationsverhaltens ist die ^{1}H-NMR-Spektroskopie im Löslichkeitsbereich der Komponenten bestens geeignet. Es werden typischerweise die konzentrationsabhängigen Verschiebungen von mindestens zwei Signalen beobachtet, die eine ausreichend große Verschiebung im gemessenen Konzentrationsintervall aufweisen. Im vorliegenden Fall eignen sich am besten die Signale für die NH- und 7-CH_2-Gruppe. Das NH-Signal, welches in einer $10*10^{-3}$ mol l^{-1} konzentrierten Lösung bei 13.455 ppm im Spektrum als breites Signal lokalisierbar ist, verschiebt sich über einen Bereich von 12.414 ppm (bei $1*10^{-3}$ mol l^{-1}) – 13.544 ppm (bei $15*10^{-3}$ mol l^{-1}) und das CH_2-Signal, das in einer $10*10^{-3}$ mol l^{-1} konzentrierten Lösung bei 3.013 ppm zu finden ist, über den Bereich von 2.975 ppm (bei $1*10^{-3}$ mol l^{-1}) bis 3.017 ppm (bei $15*10^{-3}$ mol l^{-1}). Wird die Temperatur während der NMR-Messungen auf -53 °C abgesenkt, so wird eine

Aufspaltung des NH-Signals in zwei neue Signale bei 6.627 und 14.147 ppm beobachtet. In Analogie zur Untersuchung von Systemen, die über *H*-Brücken in engem Kontakt stehen, kann das Signal bei 6.627 ppm dem monomeren Pyridon **29** (δ_M(**29**)) und das Signal bei 14.147 ppm entsprechend seiner dimeren Form zugeordnet werden (δ_D(**29**)).[87]

4.4.2.1 Bestimmung der Dimerisierungskonstanten von Verbindung **29** und **30** über NMR-Titration in reinem $CDCl_3$

Um das Gleichgewichtsverhalten der beiden identifizierten Formen quantitativ bestimmen zu können, werden ^{1}H-NMR-Spektren von verschiedenen Konzentrationen der beiden Verbindungen **29** und **30** gemessen. Die Messungen werden in Schritten von $0.5*10^{-3}$ mol l^{-1} in einem Intervall von $1.0\text{-}15.0*10^{-3}$ mol l^{-1} in Deuterochloroform durchgeführt. Jede Messung wird dreifach angefertigt und der jeweilige Mittelwert zur Datenauswertung und Visualisierung verwendet (Abbildung 4-3).[88]

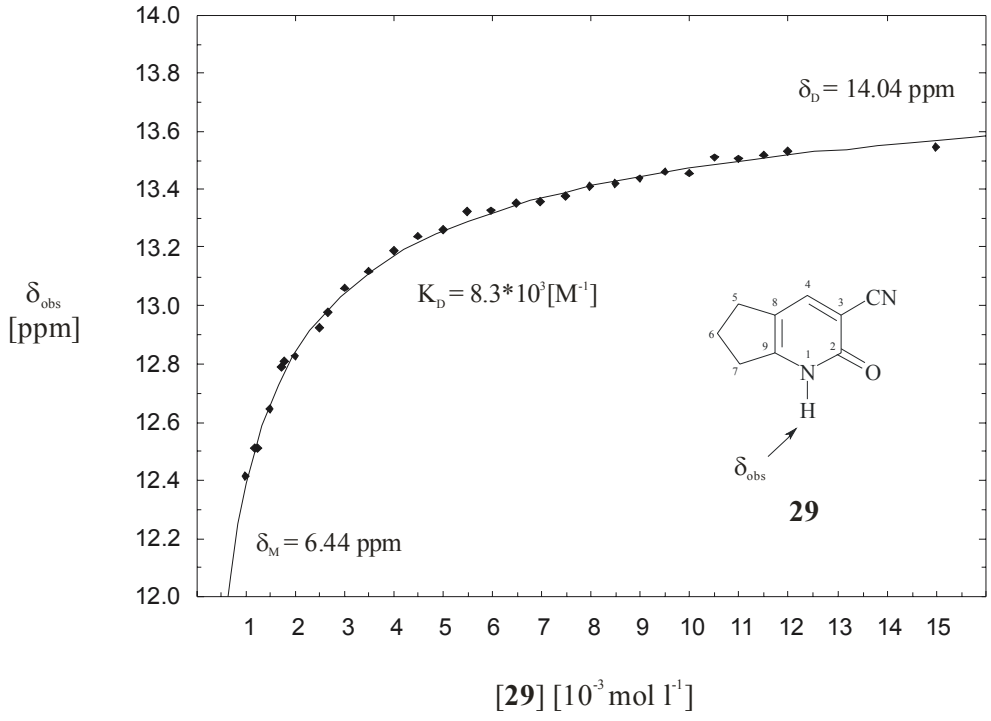


Abbildung 4-3: Darstellung der Konzentrationsabhängigkeit für die beobachtete Verschiebung δ_{obs} des NH-Protons in **29** gemessen in $CDCl_3$ bei 300 K. Die gezeigten Punkte ergeben sich aus den Mittelwerten der jeweiligen Einzelmessungen.[85]

Die in Abbildung 4-3 gezeigte Kurve zur quantitativen Beschreibung des Assoziationsverhaltens von Verbindung **29** in $CDCl_3$, wurde durch Anwendung der Methoden von *Chen et al.*[89] und *Horman et al.*[90] bestimmt. Beide Methoden behandeln ein simples Monomer/Dimer-Gleichgewicht, das aufgrund der gewählten Temperatur einer schnellen Umwandlung der beiden Formen unterworfen ist.

Ob es sich bei dem hier untersuchten System überhaupt um ein Gleichgewicht zwischen einer monomeren und dimeren Form im unpolaren Medium und nicht eines höheren Aggregationstyps in Form von Trimeren oder Tetrameren handelt, kann mit der von *Sellergren et al.*[91] beschriebenen Methode überprüft werden. Die Auftragung der relativen Verschiebungen ($\Delta\delta = \delta\text{-}\delta_{min}$) von zwei verschiedenen Protonenpositionen in ein und demselben Molekül bei unterschiedlichen Konzentrationen ermöglicht eine klare Unterscheidung zwischen Dimeren und höheren Aggregationzuständen. Sind nur Dimere und keine höheren Aggregationsformen im lösemittelabhängigen Gleichgewicht vorhanden, so ergibt sich in der Auftragung der Protonenverschiebungen der zwei Positionen eine eindeutig lineare Korrelation. Für Pyridon **29** eignen sich am besten die Protonen der amidischen NH- und der C-7-Methylengruppe. Beide Protonensignale zeigen in Abhängigkeit der Konzentration eine ausreichend große und signifikante Verschiebung, die in Abbildung 4-4 gezeigt ist.

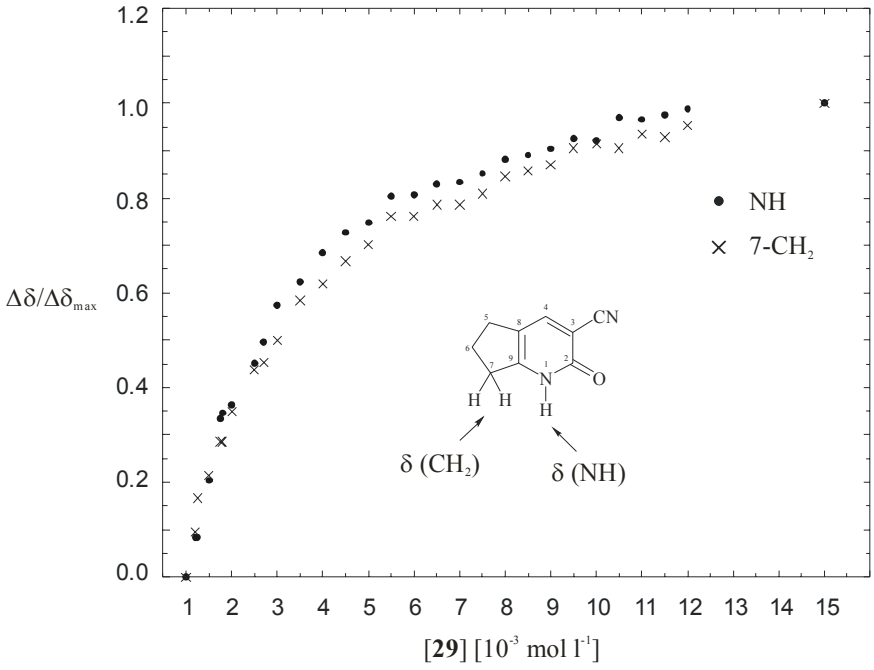


Abbildung 4-4: Auftragung der relativen induzierten Verschiebungen ($\Delta\delta/\Delta\delta_{max}$) für NH- und 7-$CH_2$ gegen die Konzentration von **29**.[85]

In Abbildung 4-4 wird die relative induzierte Verschiebung $\Delta\delta/\Delta\delta_{max}$ gegen die eingesetzte Konzentration von **29** aufgetragen. Diese auf den Wert 1 normierte Verschiebung wird erhalten, indem die jeweilige konzentrationsabhängige relative Verschiebung des Protonen-Signals $\Delta\delta$ durch die in der höchsten Konzentration maximal erreichten relativen Verschiebung $\Delta\delta_{max}$ dividiert wird. Wird dies für die beiden gewählten Protonenpositionen NH- und 7-CH_2 von **29** durchgeführt, so erhält man den in Abbildung 4-4 dargestellten Graphen, der für beide Positionen einen nahezu identischen Verlauf bei der chemischen Verschiebung in Abhängigkeit zur Konzentration aufzeigt.

Da zwischen den beiden Protonensorten in Bezug auf die konzentrationsabhängige Aggregation ein enger Zusammenhang besteht, werden beide Molekülpositionen auch zur weiteren Analyse verwendet. Wird nun die relative Verschiebung ($\Delta\delta = \delta\text{-}\delta_{min}$) der beiden Positionen gegeneinander aufgetragen, so ergibt sich folgende Korrelation:

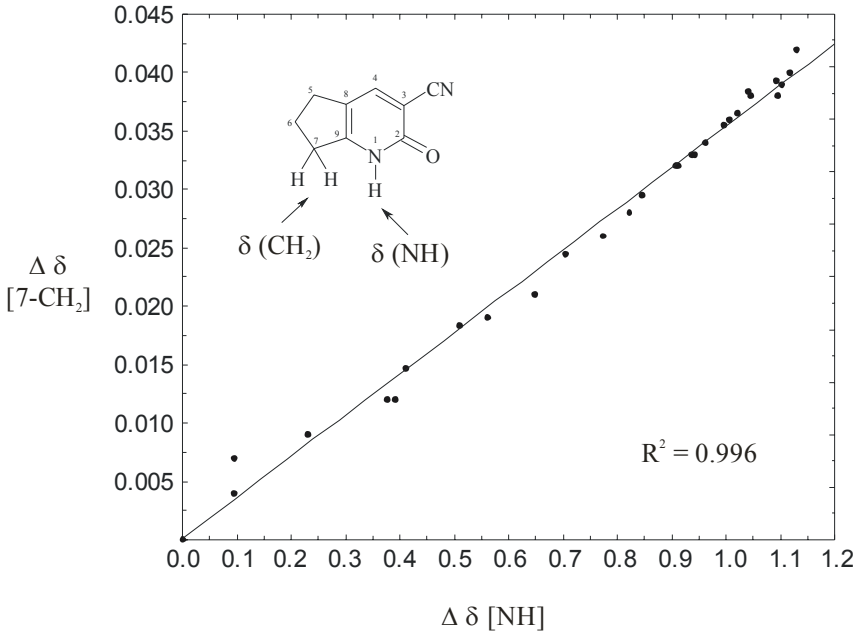


Abbildung 4-5: Auftragung der durch Aggregation von Verbindung **29** erzeugten Verschiebungen der 7-CH_2-Protonen gegen die des NH-Protons.[85]

Wie in Abbildung 4-5 zu sehen ist, wird eine hervorragende lineare Abhängigkeit der beiden Protonenverschiebungen mit einem Korrelationsfaktor von 0.996 über die gesamte Konzentrationsspanne erhalten. Dies bestätigt die Existenz von symmetrischen Dimeren als Hauptaggregationsform im vorliegenden Medium und ermöglicht eine Anwendung der Methoden von *Chen*[89] und *Horman*[90], die zur Behandlung von Monomer/Dimer-Systemen in der hier vorliegenden Form geeignet sind.

Der mathematische Zusammenhang von Monomer- [M] und Dimerkonzentration [D] wird in Gleichung 4.4-2 repräsentiert, in der die entsprechende Gleichgewichtskonstante mit der Dimerisierungskonstante K_D gleichzusetzen ist (siehe Abbildung 2-9).

Gleichung 4.4-2:

$$M + M \overset{K_D}{\rightleftharpoons} D$$

mit:

$$K_D = \frac{[D]}{[M]^2}$$

Die Gesamtkonzentration von anfänglich eingesetzter Verbindung $[M]_0$ ist gegeben durch die Summe der entsprechenden Monomer- [M] und Dimerkonzentration [D] (siehe Gleichung 4.3-2 mit $[M]_0 = [M] + 2[D]$ bzw. $[M] = [M]_0 - 2[D]$). Durch Auflösen von Gleichung 4.3-2 nach der Konzentration an freiem Monomer [M] und Einsetzen in Gleichung 4.4-2 kann [M] eliminiert werden und man erhält Gleichung 4.4-3:

Gleichung 4.4-3:

$$K_D = \frac{[D]}{([M]_0 - 2[D])^2}$$

Umformung von Gleichung 4.4-3 liefert:

Gleichung 4.4-4:

$$\frac{1}{2K_D[M]_0} = \frac{2[D]}{[M]_0} + \frac{[M]_0}{2[D]} - 2$$

Der Ausdruck für $2[D]/[M]_0$ aus Gleichung 4.4-4 ist der Molenbruch für die Dimerkonzentration [D]. Wird dieser durch die Variable x und gleichzeitig der linke Term in Gleichung 4.4-4 durch y ersetzt, so ergibt sich Gleichung 4.4-6:

Gleichung 4.4-5:

$$\frac{2[D]}{[M]_0} = x$$

Gleichung 4.4-6:

$$y = x + \frac{1}{x} - 2$$

Mit Hilfe des nachstehenden iterativen Prozesses ist die simultane Bestimmung der Dimerisierungskonstante K_D, der Monomerverschiebung δ_M und der Dimerverschiebung δ_D für die eingesetzte Verbindung möglich. Die Iteration beginnt mit der Suche einer geeigneten Kombination von Molenbruch x und dem zugehörigen Wert für K. Das Auffinden erfolgt dabei über einen rein graphischen Ansatz und liefert am Ende einen fiktiven Wert für die Dimerisierungskonstante K_D. Die am Ende zweckdienlichste Konstante K_i (i = Anzahl der iterativen Schritte) wird anschließend als erste Assoziationskonstante K_0 und damit als Initiator für die Iteration verwendet.

1. Schritt: Es werden unterschiedlichste Dimerisierungskonstanten K gewählt und mit Hilfe von Gleichung 4.4-7 und Gleichung 4.4-8 die dazugehörigen Molenbrüche errechnet:

Gleichung 4.4-7:

$$y = \frac{1}{2 \cdot K \cdot [M]_0}$$

Mit den bekannten Konzentrationen der eingesetzten Verbindung $[M]_0$ und der Wahl eines beliebigen Wertes für die Dimerisierungskonstanten K werden mit Hilfe der Gleichung 4.4-7 die Werte für die entsprechenden y_i-Variablen berechnet. Durch Einsetzen der erhaltenen y_i-Werte in Gleichung 4.4-8 können die jeweiligen Molenbrüche x_i ermittelt werden. Durch Auftragung der beobachteten Verschiebung der Mischpeaks δ_{obs} gegen die aus Gleichung 4.4-8 bestimmten Molenbrüche x_i kann das beste K durch graphische Auswertung bestimmt werden. Die Dimerisierungskonstante K wird dann als optimal bezeichnet, wenn sie die beste lineare Korrelation in dem Plot von δ_{obs} gegen x_i ergibt. Die Korrelation wird dabei über eine lineare Regression ermittelt. Um als optimaler Wert für den Startpunkt der Iteration gewählt zu werden, muss noch ein weiteres Kriterium bezüglich der Molenbrüche erfüllt sein. Diese sollten beim besten linear erhaltenen Plot zwischen 0.1 und 0.9 für x_i liegen, um geeignete Werte zu liefern (siehe Abbildung 4-6).[90]

Gleichung 4.4-8:

$$x_i = \left(1 + \frac{y_i}{2}\right) - \sqrt{\left(1 + \frac{y_i}{2}\right)^2 - 1}$$

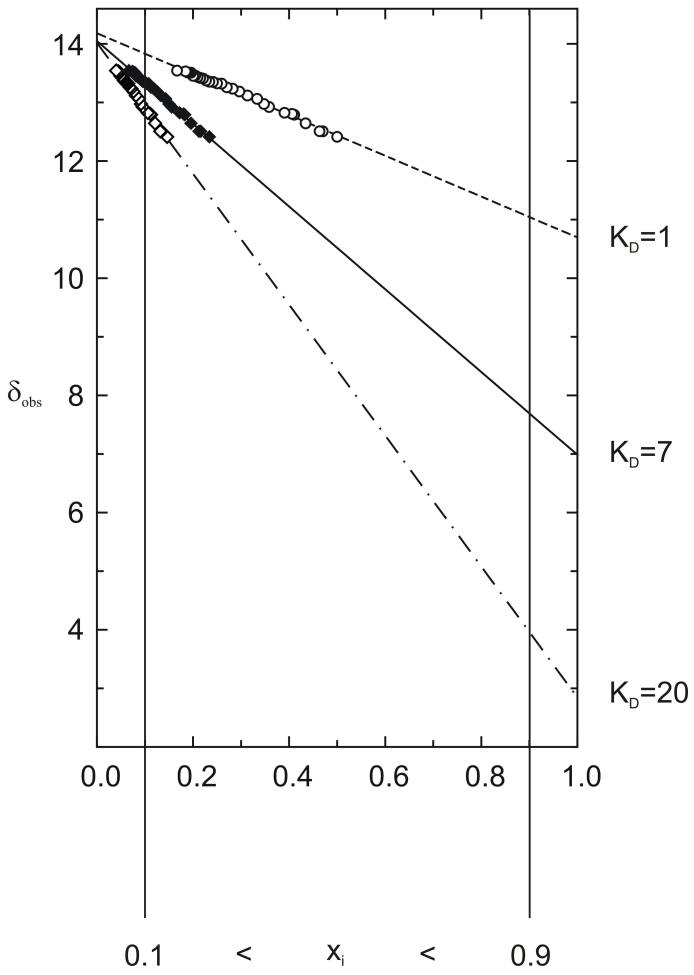


Abbildung 4-6: Methode der unter Schritt 1 beschriebenen linearen Regression zur Ermittlung des optimalen K-Wertes, der die beste Linearität in einem Bereich von 0.1 und 0.9 für die Molenbrüche x_i liefert.[85]

2. Schritt: Die berechneten Molenbrüche x_i sind über Gleichung 4.4-9 mit den beobachteten Verschiebungen δ_{obs} verknüpft, die als gemittelte chemische Verschiebungen jeweils aus den Anteilen der Verschiebung für das Monomer δ_M und Dimer δ_D zusammengesetzt sind:

Gleichung 4.4-9:
$$x_i = \frac{\delta_{obs} - \delta_M}{\delta_D - \delta_M}$$

Wird Gleichung 4.4-9 zu Gleichung 4.4-10 umgeformt, so erhält man einen Ausdruck der zur Bestimmung der Verschiebungen für δ_M und δ_D bestens geeignet ist.

Gleichung 4.4-10:
$$\delta_{obs} = \delta_M + x_i(\delta_D - \delta_M)$$

3. Schritt: Durch Einsetzen der mit Gleichung 4.4-10 extrapolierten Werte für δ_M und δ_D in Gleichung 4.4-11 erhält man einen neuen Wert für die Dimerisierungskonstante K_{i+1} (wobei i+1 die Anzahl der durchgeführten Iterationen angibt)

Gleichung 4.4-11:

$$\delta_{obs} = \delta_D - \left[\frac{|\delta_D - \delta_M|}{2 \cdot K_{i+1}}\right]^{\frac{1}{2}} \cdot \left[\frac{|\delta_{obs} - \delta_M|}{[M]_0}\right]^{\frac{1}{2}}$$

Gleichung 4.4-11 wird von *Chen et al.* beschrieben und ermöglicht hier im dritten Schritt des iterativen Prozesses die Bestimmung eines neuen Wertes für die Dimerisierungskonstante K_{i+1}.[89] Diese neu erhaltene Zahl für K wird wiederum im ersten Schritt der Iteration eingesetzt und liefert neue Werte für x_i und so weiter. Die Iteration wird so lange fortgesetzt, bis eine Konvergenz in der vierten Nachkommastelle der beteiligten Parameter δ_M, δ_D und K_D erhalten wird. Dieses Konvergenzkriterium wird normalerweise nach dem fünften bis sechsten Durchlauf des Iterationsprozesses erreicht (siehe Tabelle 4.3). Die erhaltenen Parameter werden dann in Gleichung 4.4-12 eingesetzt und man erhält die bereits in Abbildung 4-3 illustrierte Kurve mit den dazugehörenden Parametern für δ_M und δ_D.

Gleichung 4.4-12:

$$\delta_{obs} = \delta_M + \frac{\left[1 + 8K_D[M]_0\right]^{\frac{1}{2}} - 1}{\left[1 + 8K_D[M]_0\right]^{\frac{1}{2}} + 1}(\delta_D - \delta_M)$$

Der Iterationsverlauf für Verbindung **29** ist in Tabelle 4.3 dargestellt. Die folgenden Iterationen werden jeweils auf die aus den ^{1}H-NMR-Messungen (siehe Tabelle 8.1) erhaltenen Verschiebungen der NH-Position bezogen. Wie der Tabelle entnommen werden kann, spielt es dabei keine Rolle, ob man sich dem Ergebnis von höheren oder niedrigeren Werten für K her annähert. Beide Iterationen, sowohl die mit dem Startwert von $K_0 = 7.00$ als auch die mit $K_0 = 9.00$, enden in exakt den gleichen Endwerten für die gesuchten Parameter von Verbindung **29** (Dimerisierungskonstante K_D(**29**), Monomersignal δ_M(**29**) und Dimersignal δ_D(**29**)).

Tabelle 4.3: Darstellung der Iteration mit den konvergierten Ergebnissen für Verbindung **29**. Angegeben sind die gesuchten Werte für die Dimerisierungskonstante K_D(**29**), das Monomersignal δ_M(**29**) und das Dimersignal δ_D(**29**). Der iterative Prozess wird im ersten Fall mit dem Wert 7.00 (**A**) und danach mit 9.00 (**B**) für K_0 gestartet. Beide Iterationen führen zu identischen Resultaten (hervorgehoben durch Fettdruck am Ende der Spalten).[85]

A

Iteration Nr.	K_D [*10^3 M^{-1}]	δ_M [ppm]	δ_D [ppm]
1	7.0000	6.9869	14.0480
2	8.3048	6.4520	14.0420
3	8.3407	6.4379	14.0419
4	8.3395	6.4384	14.0419
5	8.3396	**6.4384**	**14.0419**
6	**8.3396**	---	---

B

Iteration Nr.	K_D [*10^3 M^{-1}]	δ_M [ppm]	δ_D [ppm]
1	9.0000	6.1842	14.0394
2	8.3162	6.4476	14.0420
3	8.3399	6.4383	14.0419
4	8.3390	6.4386	14.0419
5	8.3396	6.4384	**14.0419**
6	**8.3396**	**6.4384**	---

Mit dem K_D Wert kann nun die konzentrationsabhängige Verschiebung berechnet und der Unterschied zur Messung bewertet werden. Durch Auftragung der Diskrepanzen gegen die Konzentration wird nur eine statistische Verteilung der Punkte erhalten, so dass zwischen den beiden Werten keine offensichtliche Abhängigkeit besteht (siehe Abbildung 4-7und Tabelle 8.1). Verbindung **30** wird nach dem gleichen Schema bearbeitet (Tabelle 4.4 und Tabelle 8.2).

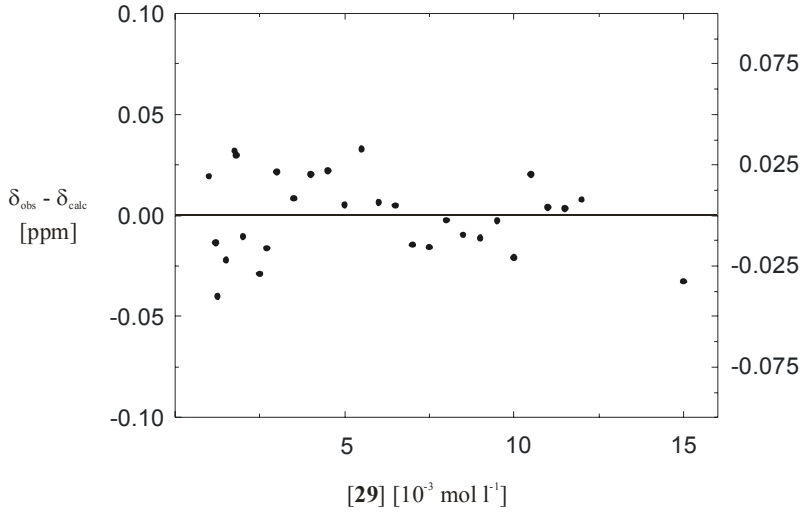


Abbildung 4-7: Auftragung des Unterschieds von gemessener zu berechneter Verschiebung für die amidische Gruppe (NH-: δ_{obs}-δ_{calc}) gegen die Konzentration. Die statistische Verteilung der Punkte zeigt an, dass die Abweichungen keiner Gesetzmäßigkeit unterworfen sind.[85]

Tabelle 4.4: Ergebnisse der ^{1}H-NMR-Untersuchungen zum Aggregationsverhalten der Verbindungen **29** und **30** gemessen in $CDCl_3$ mit unterschiedlichen Konzentrationen und bei variablen Temperaturen.[85]

Ergebnis für	Verbindung **29**		Verbindung **30**
	Tieftemperatur (T=220 K)	Variable Konzentrationen (T=300 K)	Variable Konzentrationen (T=300 K)
δ_M [ppm]	6.63	6.44 ± 0.07	6.22 ± 0.12
δ_D [ppm]	14.15	14.04 ± 0.01	13.57 ±0.02
K_D [M^{-1}]	-	$8.3*10^3 \pm 0.1*10^3$	$7.8*10^3 \pm 0.2*10^3$

Vergleicht man in Tabelle 4.4 die für Verbindung **29** erhaltenen Ergebnisse, so kann man eine gute Übereinstimmung zwischen den iterativ ermittelten Werten für die Verschiebungen δ_M und δ_D und den Ergebnissen bei 220 K erkennen. Auch die über den iterativen Prozess erhaltenen Werte für die Dimerisierungskonstanten K_D für das 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) und das 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**30**) stehen in sehr gutem Einklang mit der Literatur, die für ähnliche Verbindungen vergleichbare Werte liefert. Die Dimerisierungskonstante K_D(**29**) = $8.3*10^3 \pm 0.1*10^3$ M^{-1} ($CDCl_3$, 300 K) ist etwas kleiner als die von *Wuest et al.*[47c] berichtete, die eine Konstante von $K_D = 6*10^4$ M^{-1} ($CDCl_3$, 298 K) für mit starren Brücken verknüpfte Dipyridonsysteme ermittelten. Verglichen mit der Stammverbindung **20** K_D(**20**) = $2.9*10^3$ M^{-1} ($CDCl_3$, 296 K) oder dem strukturell sehr ähnlichen 3-Ethoxycarbonyl-2-(1*H*)-pyridon $K_D = 1.3*10^3$ M^{-1} ($CDCl_3$, 296 K) ist sie dagegen knapp um den Faktor drei größer.[47c,92] Die Dimerisierungskonstante von Verbindung **30** ist mit K_D(**30**) = $7.8*10^3 \pm 0.2*10^3$ M^{-1} ($CDCl_3$, 300 K) nur geringfügig kleiner. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Verbindung **29** offenbar in $CDCl_3$ ein besserer *H*-Brücken-Donor und -Akzeptor ist als beispielsweise **30** oder **20**.

4.4.2.2 Messungen in mit *n*-Butylamin (**6**) angereichertem $CDCl_3$

Die kinetischen Untersuchungen von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) und *n*-Butylamin (**6**) werden zwar auch in $CDCl_3$ als unpolarem Lösemittel durchgeführt, müssen aber aufgrund ihrer eingeschränkten Detektierbarkeit bei den ^{1}H-NMR-Messungen bei recht großer Konzentration durchgeführt werden. Das *n*-Butylamin (**6**) dürfte wohl an einer Erhöhung der Gesamtpolarität der Lösungen in den vorliegenden Konzentrationsverhältnissen erheblich

beteiligt sein. Deshalb werden die für Verbindung **29** zur Aggregationsbestimmung durchgeführten ^{1}H-NMR-Messungen nach Zugabe von $250*10^{-3}$ mol l^{-1} *n*-$BuNH_2$ (**6**) wiederholt. Die Konzentration an Amin entspricht dabei genau der in der Kinetik eingesetzten. Aufgrund der auftretenden Signalinterferenzen zwischen den jetzt anwesenden und nicht identischen NH-Gruppen, muss die Analyse auf die Methylenprotonen der Position C-7 von Verbindung **29** eingeschränkt werden. Die Ergebnisse dieser Messungen sind im Vergleich zu den vorher erhaltenen Daten in Abbildung 4-8 illustriert.

Die gefüllten Punkte zeigen den bekannten Verlauf der Aggregation von Verbindung **29** in reinem $CDCl_3$. Die nicht gefüllten Quadrate repräsentieren die Daten für die mit $250*10^{-3}$ mol l^{-1} *n*-$BuNH_2$ (**6**) angereicherten Lösungen. Im Gegensatz zu der Situation in $CDCl_3$ ist eine konzentrationsabhängige Verschiebung der CH_2-Protonen in letzterem Fall nicht erkennbar.

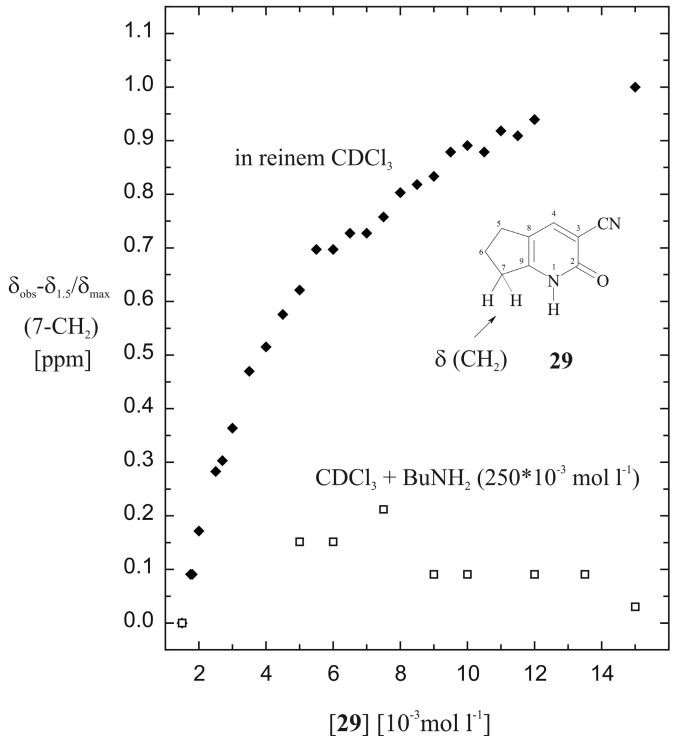


Abbildung 4-8: Auftragung der Verschiebung der 7-CH_2 Position (δ_{obs}-$\delta_{1.5}$) in **29** gegen die Konzentration von **29**. Die Signalverschiebung wird zum Einen in purem $CDCl_3$ (oberer Kurvenverlauf) und zum Anderen in $CDCl_3$ angereichert mit $250*10^{-3}$ mol l^{-1} *n*-$BuNH_2$ (**6**) (untere Punkte) verfolgt.[85]

Aufgrund dieser Ergebnisse ist anzunehmen, dass die Zugabe von $250*10^{-3}$ mol l^{-1} *n*-$BuNH_2$ (**6**) zu den Chloroformlösungen der Verbindung **29** zu einer vollständigen Auflösung dimerer Komlexe führt.

4.5 Auswertung der Daten nach dem Kinetischen Modell I

Nachdem die zur Auswertung notwendigen Daten bis auf die katalysatorabhängige Konstante unabhängig von den kinetischen Messungen bestimmt werden können, wird nun unter Berücksichtigung dieser Resultate eine Auswertung der Reaktionskinetik von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) versucht. Zur Auswertung wird die unter Punkt 4.3 entwickelte Gleichung 4.3-5 herangezogen:

Gleichung 4.3-5:

$$\frac{k_{obs}}{[Amin]} = k_A[Amin] + k_{kat}\frac{\sqrt{8K_D[M]_0 + 1} - 1}{4K_D}$$

Die Konstante k_A der Hintergrundreaktion kann gegen den unter Punkt 4.4.1 ermittelten Wert von $1.066*10^{-2}$ $l^2mol^{-2}s^{-1}$ ersetzt werden. Da die Dimerisierungskonstante K_D nur für zwei Pyridonderivate (**29** und **30**) bekannt ist, wird diese in obiger Gleichung nicht ersetzt.

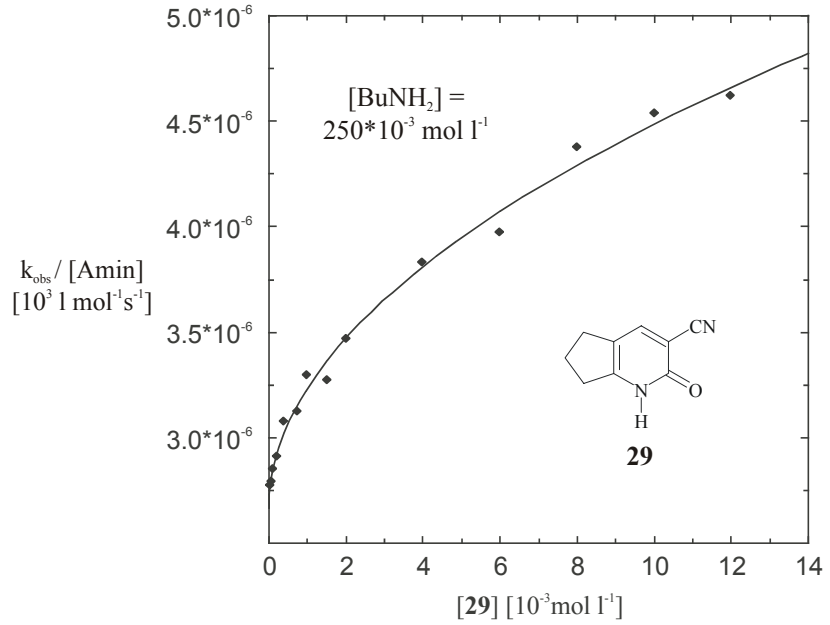


Abbildung 4-9: Messergebnisse für die Reaktion von **5** und **6** in Anwesenheit von Pyridon **29**. Die gezeigte Kurve gibt das Verhalten wieder, das durch Gleichung 4.3-5 mit $k_A = 1.066*10^{-2}$ l^2 mol^{-2} s^{-1}, $k_{kat} = 1.28*10^{1}$ l^2 mol^{-2} s^{-1} und $K_D = 243981$ l mol^{-1} vorhergesagt wird.[85]

Die Auswertung erfolgt durch Auftragung der in den kinetischen Messungen ermittelten Werte für die beobachtete aminabhängige Geschwindigkeitskonstante k_{obs}/[Amin] gegen die

anfangs eingesetzte Katalysatorkonzentration $[M]_0$. Mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 wird nun iterativ eine Kurve an die erhaltenen Messdaten angenähert, um die noch fehlenden Parameter k_{kat} und K_D zu bestimmen (Abbildung 4-9). Die nach dem kinetischen Modell I erhaltenen Ergebnisse sind in untenstehender Tabelle 4.5 zusammengefasst. Die Daten der jeweiligen Einzelmessungen sind im Abschnitt "*Kinetische Messungen*" unter Punkt 8.3 angegeben.

Tabelle 4.5: Ergebnisse der mit 2-Pyridonderivaten **20**, **29**, **30**, **33**, **34**, und **43** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C. Zur Auswertung wird Gleichung 4.3-5 aus dem kinetischen Modell I herangezogen.[85]

Verbindung	k_{kat} $[l^2\ mol^{-2}\ s^{-1}]$	K_D $[l\ mol^{-1}]$
20	$7.76*10^{-1} \pm 0.20*10^{-1}$	229.6 ± 15.6
29	$1.28*10^{1} \pm 1.79*10^{-1}$	243981 ± 6884
30	$1.11*10^{0} \pm 0.20*10^{-1}$	749.9 ± 32.2
33	$4.22*10^{-1} \pm 0.10*10^{-1}$	135.6 ± 10.1
34	$1.18*10^{1} \pm 2.72*10^{-1}$	314570 ± 1473
43	$9.65*10^{-1} \pm 0.31*10^{-1}$	149.8 ± 14.1

Vergleicht man die in Tabelle 4.5 gezeigten Werte für die Dimerisierungskonstante K_D von Verbindung **29** und **30** mit den Ergebnissen der ^{1}H-NMR Untersuchungen, so ist der Unterschied außergewöhnlich groß. Während in den mit *n*-$BuNH_2$ (**6**) angereicherten Aggregationsmessungen im speziellen für **29** keine Dimerisierung feststellbar ist, ist die im kinetischen Modell I ermittelte Dimerisierungskonstante K_D für **29** wesentlich größer, als die in reinem Chloroform erhaltene (243981 vs. 8340 $l\ mol^{-1}$). Darüber hinaus besteht auch ein großer Unterschied zwischen den K_D-Werten für die strukturell sehr ähnlichen Verbindungen **29** und **30**. Während in den ^{1}H-NMR-Einzelbestimmungen nur eine geringfügige Differenz zwischen den beiden K_D's feststellbar ist (K_D(**29**) = 8340 $l\ mol^{-1}$, K_D(**30**) = 7780 $l\ mol^{-1}$), unterscheiden sich die Werte aus dem kinetischen Modell I gleich um drei Größenordnungen (243981 vs. 750 $l\ mol^{-1}$). Ebenso erscheint ein K_D für Verbindung **34** mit 314568 $l\ mol^{-1}$ viel zu groß. Die einzigen sinnvoll vergleichbaren Resultate könnten die K_D's für Verbindung **30** und **43** sein. Beide Substanzen unterscheiden sich nur an dem Ethylrest in direkter Nachbarschaft zum reaktiven Zentrum, was ein Indiz auf verminderte Aggregationsbereitschaft sein könnte (K_D(**30**) = 750 vs. K_D(**43**) = 150 $l\ mol^{-1}$). Aber bezogen auf die oben beschriebenen Gegensätze sollten auch diese Zahlen nur als eine Art Trend gewertet werden.

Die aus dem kinetischen Modell I ermittelten Werte für die Dimerisierungskonstanten der eingesetzten Verbindungen müssen daher als unbrauchbar eingeordnet werden. Mit gleicher Vorsicht sind die berechneten Katalysatorkonstanten k_{kat} einzustufen, da beide Werte simultan miteinander bestimmt werden. Mit Gleichung 4.3-5 kann zwar auf Grundlage der erhaltenen Datenpunkte für k_{obs} in Abhängigkeit der Katalysatorkonzentrationen [Kat] eine nichtlineare Annäherung erreicht werden, die gewonnenen Zahlen sind aber nicht mit den unabhängig ermittelten Ergebnissen vereinbar.

4.6 Kinetisches Modell II: Vorgelagertes Gleichgewicht

Ein alternatives Modell für das Auftreten eines nichtlinearen Verhaltens in der Auftragung der k_{obs}-Werte gegen die Katalysatorkonzentration wird von *Spillane et al.* beschrieben.[93] Die Gruppe untersuchte die Aminolyse von Sulfamatestern unter ähnlichen Bedingungen, welche kinetisch über das Auftreten eines vorgelagerten Gleichgewichts interpretiert wird. Auch die Gruppe um *Byers et al.* bediente sich in ihrer Untersuchung zur Methylimidazol-katalysierten Hydrolyse von *p*-Nitrophenylcarboxylaten der Annahme eines vorgelagerten Gleichgewichts.[94] In beiden Fällen wird also die Ausbildung eines nicht kovalent gebundenen Komplexes zwischen Substrat (hier Ester **5**) und Katalysator [Ester·Kat] (Abbildung 4-10) vor dem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt (rds) angenommen.

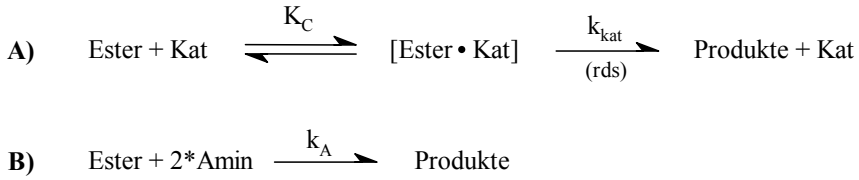


Abbildung 4-10: A) Reaktionsschema mit vorgelagertem Gleichgewicht, in dem ein Komplex bestehend aus Ester und Katalysator [Ester•Kat] gebildet wird. **B)** Hintergrundreaktion.

Entsprechend den bereits bekannten Vorgaben wird versucht, das obige Schema auf die hier untersuchte Reaktion anzuwenden. In dem vorliegenden Fall ist das kinetische Modell aus zwei Komponenten aufgebaut, dem durch *n*-Butylamin (**6**, Amin) selbstkatalysierten und dem mit Pyridonderivaten katalysierten Teil (siehe Punkt 2.3). Der unkatalysierte Term bleibt anhand des Reaktionsschemas in Abbildung 4-10**B** unverändert und kann wie gehabt mit dem

unabhängig ermittelten Wert für k_A verwendet werden. Während der laufenden Reaktion wird sich die Hintergrundreaktion aufgrund der abnehmenden Esterkonzentration [Ester] kontinuierlich verlangsamen, so dass auch hier die Komplexbildung in der kinetischen Entwicklung berücksichtigt werden muss. Für den mit Pyridonen katalysierten Term k_{kat} muss zunächst noch ein geeigneter Ausdruck entwickelt werden, in dem der Katalysator zudem selbst in einer komplexgebundenen Form vorliegt. Das Pyridonderivat bildet einen Komplex [Kat*] mit dem im Überschuss vorliegenden Amin mit der Assoziationkonstante K_{as}. Diese Annahme kann getroffen werden, da das Amin im Vergleich zum Katalysator mindestens in einem 15-fachen Überschuss vorliegt, selbst bei den höchsten hier verwendeten Katalysatorkonzentrationen (max. $16*10^{-3}$ mol l^{-1}). Die kinetischen Gleichungen können wie folgt dargestellt werden (Abbildung 4-11):

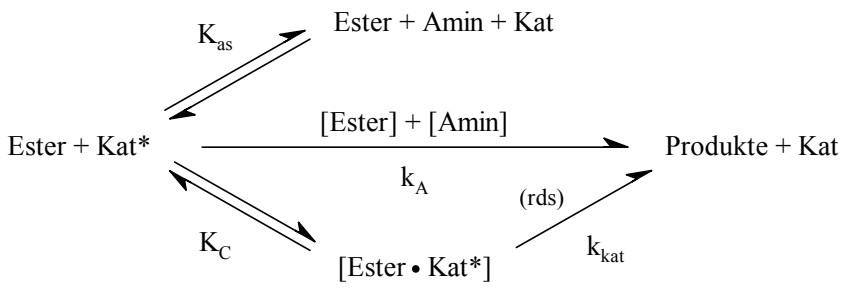


Abbildung 4-11: Diagramm für die Anwendung des reaktionskinetischen Modells II unter Einbeziehung einer Assoziation des Katalysators mit dem im Überschuss vorliegenden *n*-$BuNH_2$ (**6**).

Biechler et al.[95] fanden während ihrer Untersuchungen der alkalischen Hydrolyse von Aniliden unter Bedingungen pseudo-erster Ordnung ebenfalls ein kinetisches Verhalten mit vorgelagertem Gleichgewicht. Es war ihnen möglich, eine entsprechende Ableitung der mathematischen Zusammenhänge zu entwickeln und einen Ausdruck für den auftretenden Komplex zu liefern. Auch *Kahn et al.*[96] behandelten in ihren Metallsalz-katalysierten Untersuchungen über die Methanolyse von Acetylimidazolen und -pyrazolen ein sehr ähnliches System. In ihrer kinetischen Entwicklung wurde außerdem eine Hintergrundreaktion mit abnehmender Aktivität wegen zurückgehender Substratkonzentration vorgesehen. Gleichung 4.6-1 gibt an, aus welchen Termen das Geschwindigkeitsgesetz und die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} zusammengesetzt ist (eine detaillierte Ableitung ist unter Punkt 8.3.9 im Kapitel "*Kinetische Messungen*" angegeben):

Gleichung 4.6-1:

$$\frac{d[Produkt]}{dt} = k_{obs}[Ester] = k_A \cdot [Ester] \cdot [Amin]^2 + k_{kat} \cdot [Ester \cdot Kat*]$$

Die Hintergrund-Reaktion ist bekannt und besteht aus dem Term mit der spezifischen Geschwindigkeitskonstante k_A. Der mit Pyridon katalysierte Term k_{kat} ist abhängig von der Komplexkonzentration [Ester·Kat*]. Unter der Annahme eines quasi-stationären Zustandes (SSA - *steady state approximation*) bezüglich der Bildung und Auflösung des Komplexes resultiert zu jedem Zeitpunkt eine schnelle Einstellung des Gleichgewichts mit einer bestimmten Konzentration an Komplex. Die Weiterreaktion des Komplexes zu den Produkten in obiger Abbildung 4-11 mit der katalysatorabhängigen Geschwindigkeitskonstanten k_{kat} wird damit zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt (rds). Unter diesen Gesichtspunkten kann eine Gleichung zur Erklärung des Komplexierungsverhaltens aufgestellt werden:

Gleichung 4.6-2:

$$K_C = \frac{[Ester \cdot Kat*]}{[Ester] \cdot [Kat*]} \quad \text{mit} \quad [Ester \cdot Kat*] = K_C \cdot [Ester] \cdot [Kat*]$$

Mit dem neu gewonnenen Ausdruck für die unbekannte Komplexkonzentration [Ester·Kat*], zusammengesetzt aus dem Produkt von Komplexierungskonstante K_C, Esterkonzentration [Ester] und mit Amin komplexiertem Katalysator [Kat*], wird durch Einsetzen in Gleichung 4.6-1 folgende Gleichung 4.6-3 erhalten.

Gleichung 4.6-3:

$$\frac{d[Produkt]}{dt} = k_A \cdot [Ester] \cdot [Amin]^2 + k_{kat} \cdot K_C \cdot [Ester] \cdot [Kat*]$$

In Gleichung 4.6-3 kann die Esterkonzentration als weiterhin unbekannte Variable, die aber in beiden Termen von der Komplexbildung abhängig ist, wie folgt beschrieben werden:

Gleichung 4.6-4:

$$[Ester]_0 - [Produkt] = [Ester] + [Ester \cdot Kat*]$$

Durch Auflösen von Gleichung 4.6-4 nach der Komplexkonzentration [Ester·Kat*] und anschließender Eliminierung von [Ester·Kat*] mit Hilfe von Gleichung 4.6-2, wird nach

kleineren mathematischen Umformungen ein entsprechender Ausdruck für die Esterkonzentration erhalten.

Gleichung 4.6-5:

$$[Ester] = \frac{[Ester]_0 - [Produkt]}{1 + K_C \cdot [Kat*]}$$

Wird nun in Gleichung 4.6-3 die Esterkonzentration durch Gleichung 4.6-5 ersetzt, so wird Gleichung 4.4-6 erhalten:

Gleichung 4.6-6:

$$\frac{d[Produkt]}{dt} = k_A \cdot \frac{[Ester]_0 - [Produkt]}{1 + K_C \cdot [Kat*]} \cdot [Amin]^2 + k_{kat} \cdot K_C \cdot \frac{[Ester]_0 - [Produkt]}{1 + K_C \cdot [Kat*]} \cdot [Kat*]$$

Durch Umformen und anschließende Integration wird der in Gleichung 4.6-7 formulierte Ausdruck für k_{obs} erhalten, wobei k_0 eine konstante Größe darstellt, die $k_A*[Amin]^2 = 6.66*10^{-4}$ s^{-1} entspricht:

Gleichung 4.6-7:

$$k_{obs} = \frac{k_0 + k_{kat} \cdot K_C \cdot [Kat*]}{(1 + K_C \cdot [Kat*])}$$

Eine noch nicht exakt definierbare Größe stellt in Gleichung 4.6-7 die Konzentration von Kat* dar. Der Ausdruck [Kat*] selbst ist die Konzentration der aus *n*-Butylamin (**6**) und dem Pyridonderivat assoziierten Komplexverbindung. Da das Amin in einem mindestens 15-fachen Überschuss verglichen zur Pyridonkomponente im Reaktionsmedium vorhanden ist, kann davon ausgegangen werden, dass sämtliche Katalysatormoleküle am Anfang und während der fortlaufenden Reaktion in komplexgebundener Form vorliegen. Mit dieser weiteren Annahme kann die vorhandene Komplexkonzentration [Kat*] in Gleichung 4.6-7 mit der Katalysatorgesamtkonzentration zu Beginn der Reaktion $[Kat]_0$ gleichgesetzt werden. Die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} der Gesamtreaktion kann somit über Gleichung 4.6-8 formuliert werden.

Gleichung 4.6-8:

$$k_{obs} = \frac{k_0 + k_{kat} \cdot K_C \cdot [Kat]_0}{(1 + K_C \cdot [Kat]_0)}$$

In obiger Gleichung kann $k_0 = 6.66*10^{-4}\ s^{-1}$ als konstanter Wert eingesetzt werden. Die Auswertung erfolgt durch Auftragung der in den kinetischen Messungen ermittelten Werte für die beobachtete Katalysatorkonstante k_{obs} gegen die zu Beginn eingesetzte Katalysatorkonzentration $[Kat]_0$. Mit Hilfe von Gleichung 4.6-8 wird nun eine Kurve an die erhaltenen Messdaten angenähert, und die noch fehlenden Parameter k_{kat} und K_C durch ein iteratives Verfahren bestimmt. Für Verbindung **29** ist die durch Gleichung 4.6-8 beschriebene Kurve zusammen mit den experimentellen Ergebnissen in Abbildung 4-12 dargestellt.

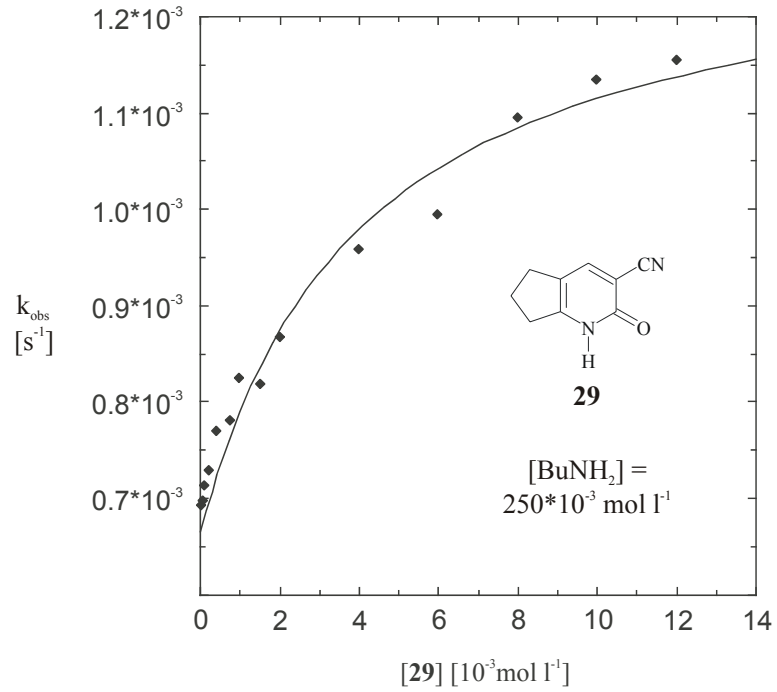


Abbildung 4-12: Der Kurvenverlauf gibt das Verhalten bei Anwesenheit von **29** in der Reaktion von **5** und **6** wieder, der durch Gleichung 4.6-8 mit $k_{kat} = 1.296*10^{-3}\ s^{-1}$ und $K_C = 248.4\ l\ mol^{-1}$ vorhergesagt wird.[85]

Die Auswertungen der einzelnen Reaktionskinetiken für die getesteten Pyridonderivate (**20**, **29**, **30**, **33**, **34**, **43**) nach dem kinetischen Modell II sind in untenstehender Tabelle 4.6 mit den entsprechenden Resultaten für die katalysatorabhängige Geschwindigkeitskonstanten k_{kat} und die Komplexbildungskonstanten K_C zusammengefasst. Neben den durch den Fitting-Prozess gewonnenen Parametern wird noch das Verhältnis von k_{kat}/k_0 angegeben, das die katalytische Aktivität der Pyridonderivate gegenüber der Hintergrundreaktion verdeutlichen soll. Die Daten der jeweiligen konzentrationsabhängigen Einzelmessungen sind im Abschnitt "*Kinetische Messungen*" unter Punkt 8.3 angegeben.

Tabelle 4.6: Ergebnisse der mit 2-Pyridonderivaten (**20**, **29**, **30**, **33**, **34**, **43**) katalysierten Reaktionskinetiken von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C. Zur Auswertung wird Gleichung 4.6-8 aus dem kinetischen Modell II herangezogen.[85]

Verbindung	k_{kat} [s^{-1}]	K_C [l mol^{-1}]	k_{kat}/k_0
20	$2.298*10^{-3} \pm 3.4*10^{-5}$	85.4 ± 3.1	3.45
29	$1.296*10^{-3} \pm 1.8*10^{-5}$	248.4 ± 17.8	1.94
30	$1.811*10^{-3} \pm 2.3*10^{-5}$	126.5 ± 5.3	2.72
33	$1.668*10^{-3} \pm 2.4*10^{-5}$	86.6 ± 3.2	2.50
34	$9.823*10^{-4} \pm 1.1*10^{-5}$	583.5 ± 39.6	1.47
43	$3.214*10^{-3} \pm 9.2*10^{-5}$	70.9 ± 3.9	4.82

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der ^{1}H-NMR-Untersuchungen über das Aggregationsverhalten der Pyridonkatalysatoren in *n*-$BuNH_2$ (**6**) angereichertem $CDCl_3$, enthält das hier angewandte kinetische Modell II auch keinen Ausdruck für eine auftretende Selbstassoziation. Die hier bestimmten Komplexbildungskonstanten K_C sind vom Wert her eher klein und kaum mit strukturellen Eigenschaften der getesteten Substanzen in Verbindung zu bringen. Auch die Geschwindigkeitskonstanten k_{kat} variieren wesentlich weniger als im kinetischen Modell I. Die katalytische Aktivität der getesteten Verbindungen kann am besten durch das Verhältnis k_{kat}/k_0 beschrieben werden. Wie man durch einen Vergleich aller Substanzen sehen kann, ist der Unterschied zueinander eher marginal. Alle getesteten Verbindungen zeigen gegenüber der Referenzsubstanz **20** schlechtere katalytische Fähigkeiten bis auf das 8-Ethyl-1,2,5,6,7,8-hexahydro-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**43**), welches als einziges einen höheren Wert für die katalytische Aktivität und k_{kat}, bei gleichzeitig niedrigster Komplexbildungstendenz liefert. Trotzdem ist festzustellen, dass die Veränderungen an den eingesetzten Substanzen, wie Ringgröße oder Substituenten, keinen bedeutenden positiven noch negativen Einfluss auf die Katalyse ausüben. Diese Beobachtung wäre in Übereinstimmung mit einem supramolekularen Mechanismus der Katalyse, in der das Pyridon als Katalysator eine Umgebung aus *H*-Brückenbindungen bereitstellt, die günstiger für den Übergangszustand der Aminolysereaktion als im basenkatalysierten Fall ist. Trotzdem wird aber ein alternativer Mechanismus einschließlich dem doppelten Protonentransfer nicht ausgeschlossen.[97,98]

4.7 Zusammenfassung der kinetischen Beobachtungen für das System 5 mit 6

Durch Kombination der erhaltenen Resultate aus den temperatur- und konzentrationsabhängigen Messungen mittels ^{1}H-NMR-Technik und den ermittelten Daten der kinetischen Untersuchungen der Aminolysereaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ als Reaktionsmedium, besteht kein Zweifel, dass die Reaktivität der eingesetzten Verbindungen **20**, **29**, **30**, **33**, **34** und **43** am sinnvollsten mit dem kinetischen Modell II interpretiert werden können. Die verwendeten Katalysatorverbindungen, die selbst als 1:1 Komplexe mit *n*-Butylamin (**6**) vorliegen, bilden gemäß dem kinetischen Modell II einen schwach assoziierten Komplex mit dem Ester **5** als Substrat. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist die Bildung der Produkte *n*-Butylacetamid (**7**) und *p*-Nitrophenol (**8**) über eine unimolekulare Reaktion des Substratkomplexes. Wenn man die Werte des mit Pyridonderivaten katalysierten Pfads k_{kat} mit dem selbstkatalysierten Teil k_0 ins Verhältnis gemäß k_{kat}/k_0 setzt, so stellt man fest, dass die eingesetzten Verbindungen keine herausragende katalytische Aktivität besitzen und die Reaktion nicht wesentlich zu beschleunigen vermögen. Weiter ist zu erkennen, dass kaum eine veränderte Einwirkung durch das unterschiedliche Substitutionsmuster der getesteten Substanzen bei der Katalysatorkonstante k_{kat} erzielt wird. Die einzige Ausnahme bildet Verbindung **43**, die sogar bessere Resultate bezüglich der kinetischen Daten liefert als die Stammverbindung **20**, wenn auch nur in einem begrenzten Rahmen. Die Beobachtungen können am besten über die Annahme von stabilisierenden Wechselwirkungen auf den Übergangszustand der Aminolysereaktion, hervorgerufen durch die Ausbildung von supramolekularen Effekten in Form von unterstützenden Wasserstoffbrückenbindungen, gedeutet werden.

5 Untersuchungen zum Hydrolyse- und Aminolyseverhalten des Depsipeptids D-Ala-D-Lac in wässriger Lösung

5.1 Vorkommen und Eigenschaften des Depsipeptids D-Ala-D-Lac

Zum Schutz gegen äußere Einflüsse sichern sich Bakterien durch den biosynthetischen Aufbau einer Zellwand ab. Letztere besteht aus einer Zellmembran und einer Peptidoglycanschicht. Die Peptidoglycanschicht dient zur strukturellen Unterstützung der Zellwand und schützt die Zelle vor dem Zerfall unter dem eigenen osmotischen Druck. Diese Schicht besteht aus einem polymeren Netzwerk von Bausteinen, die aus einer Disaccharideinheit und einer Pentapeptidkette aufgebaut sind (Abbildung 5-1).[99-103]

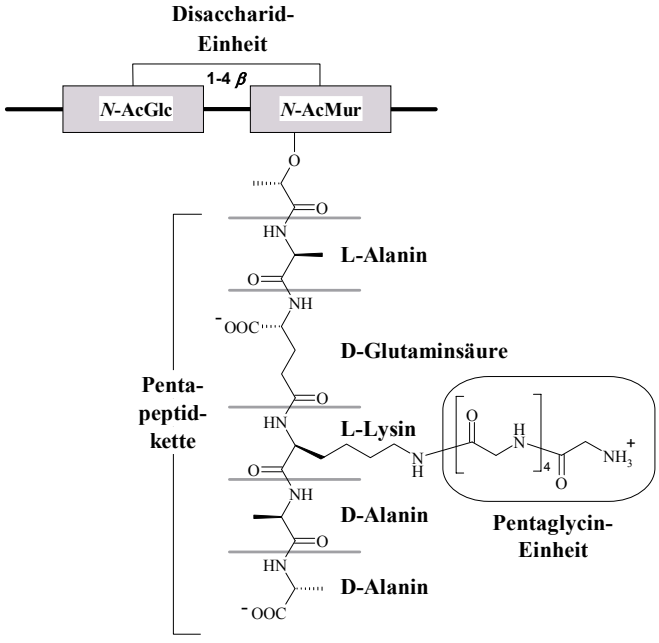


Abbildung 5-1: Darstellung eines monomeren Bausteins der Peptidoglycanschicht.

Die Zuckereinheit ist alternierend aus *N*-Acetylglucosamin (*N*-AcGlc) und *N*-Acetylmuraminsäure (*N*-AcMur) zusammengesetzt, die über eine (1→4)-*ß*-glycosidische Bindung verknüpft sind. Die Peptideinheit besteht aus einem L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala-Fragment, welches an der Muraminsäure über den *N*-Terminus des L-Alanins gebunden ist.

Die Disaccharideinheit wird mittels Transglycosidasen zu einer Kette verlängert und mit weiteren Strängen polymerisiert. Das Pentapeptid wird zur zusätzlichen Verstärkung der Schichten noch über eine Amidbindung der freien Aminogruppe des Pentaglycinlinkers am L-Lys zur vorletzten D-Ala-Einheit einer anderen Pentapeptideinheit unter Freisetzung des terminalen D-Alanins quer vernetzt (Transpeptidierung). Glycopeptid-Antibiotika wie z.B. Vancomycin (siehe Abbildung 5-2) sind in der Lage, den Transglycosidierungs- und Transpeptidierungsschritt in der Biosynthese der Peptidoglycanschicht effektiv zu hemmen.[99-103] Aus Studien mit Zellwandfragmenten ist schon lange bekannt, dass Vancomycin reversibel und hoch selektiv das D-Ala-D-Ala-Fragment des Peptidoglycanmonomers bindet.[104] Diese nicht kovalente und feste Bindung wird über fünf Wasserstoffbrücken unter Ausbildung einer Tasche bewerkstelligt (Abbildung 5-2**A**) und verhindert damit die folgende Transglycosidierung (Kettenverlängerung) und Transpeptidierung (Quervernetzung) des monomeren Bausteins. Dies führt schließlich zum Zusammenbruch der Schutzschicht und zum Tod der Zelle.[99-103]

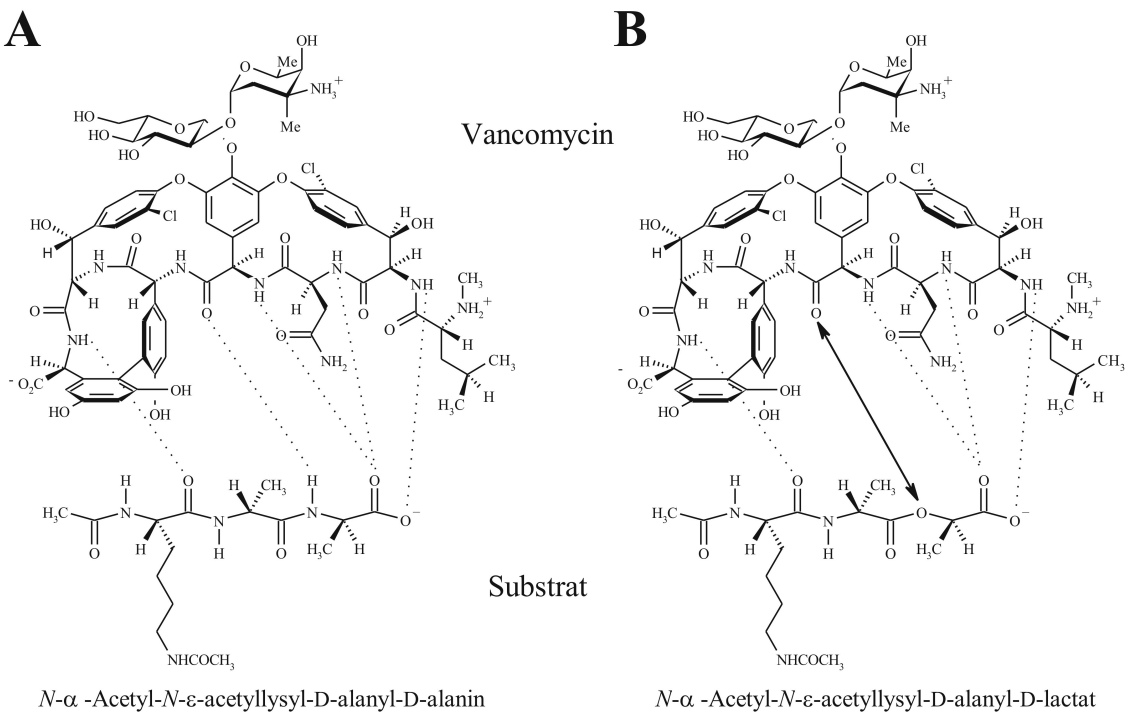
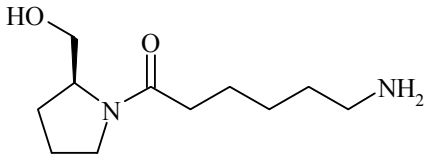


Abbildung 5-2: A) Darstellung der fünf bindenden Wasserstoffbrücken zwischen Vancomycin (im oberen Teil der Abbildung) und dem diacetylierten L-Lys-D-Ala-D-Ala-Tripeptid. Die *H*-Brücken sind mit gestrichelten Linien veranschaulicht. **B)** Darstellung der verringerten Bindungseigenschaft des Vancomycins im Resistenzfall. Das Wasserstoffbrückennetz enthält bei der Bindung zum diacetylierten L-Lys-D-Ala-D-Lac eine *H*-Brücke weniger als im Fall **A)**, was die Bindungsaffinität um das 10^3-fache vermindert. Die abstoßende Wirkung der beiden Sauerstoffatome ist mit dem Doppelpfeil und die *H*-Brücken mit gestrichelten Linien gekennzeichnet.

Vancomycin wurde lange Zeit als Notfall-Antibiotikum und letzter Ausweg bei der Behandlung von Infektionen eingesetzt, die durch Gram-positive Bakterien wie Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* Erreger verursacht werden. Der Einsatz erfolgte umfangreich und bis 1988 ohne beobachtbare Resistenzausbildung gegenüber dem Glycopeptid-Antibiotikum. Anfangs wurden Resistenzen an ungefährlichen *Enterococcen-Stämmen* und später auch an lebensbedrohlichen *Staphylococcen-Stämmen* bemerkt.[105] Die Resistenz resultiert aus dem einfachen Austausch einer Amid- gegen eine Esterbindung in dem monomeren Peptidoglycan. Am Ende des Peptidoglycanbausteins wird die terminale D-Ala-Gruppe durch den Einbau einer D-Lac Einheit ersetzt.[106] Durch diese Modifikation erhält die bakterielle Zellwandvorstufe zwar eine schwächere Esterbindung, erzeugt aber gleichzeitig auch eine abstoßende Kraft in der Antibiotika Bindungstasche, da die *H*-Brücke zur Amidbindung (wg. *O*-Atom) nicht mehr ausgebildet werden kann (vgl. Abbildung 5-2**B**). Dadurch wird die Affinität des Peptidliganden zum Vancomycin um den Faktor 10^3 herabgesetzt und dieses ist damit als Therapeutikum nutzlos.[106d] Die schwächere Esterbindung wird während der Quervernetzung wieder durch eine Amidbindung ersetzt und führt für das Bakterium letztendlich zu keiner Beeinträchtigung, außer einer im Vorfeld veränderten Biosynthese. Die Umstellung zur Produktion der terminalen D-Ala-D-Lac-Einheit erfolgt dabei im Bedarfsfall. Wenn also Vancomycin vorhanden ist, wird auch das Depsipeptid aufgebaut und umgekehrt. In den letzten Jahren wurden verschiedene Wege beschritten, um eine Resensibilisierung der ausgebildeten Resistenz zu erreichen. Durch chemische Modifizierung und Derivatisierung bereits bestehender Glycopeptid-Antibiotika,[107] kombinatorischer Biosynthese,[108] durch Dimerenbildung[109] und durch Einführung von hydrophoben Gruppen als Ankerelemente zur Bindung in der Zellwand,[110] konnten immer wieder Erfolge verzeichnet werden. Auch die 1999 durchgeführten Totalsynthesen des Vancomycins von *Nicolaou et al.*[111] und *Evans et al.*[112] eröffneten neue Wege, wie die Verwendung des Antibiotikums zur Derivatisierung auf einer Festphasenstruktur.[113] Aufgrund von Studien der Arbeitsgruppe um *Kahne*[114] wird auch die Meinung vertreten, dass eine selektive Bindung zwischen Ligand und Peptidstruktur bzw. D-Ala-D-Lac nicht zwingend notwendig ist. Ihre Annahme basiert dabei auf einem veränderten Wirkmechanismus während der Transglycosidierung, der auch durch Einsatz von modifizierten Zuckerbausteinen in Teilstrukturen des Vancomycins beeinflussbar ist.[114] Auch bei dem von *Janda et al.*[115] entwickelten Einsatz von katalytischen Antikörpern, die zur Spaltung der in der D-Ala-D-Lac-Einheit vorhandenen Esterbindung verwendet werden, ist eine Bindung nicht erforderlich. Die Gruppe um *Chiosis et al.*[116] entwickelte ein spezielles

Assay, in dem sie ausgehend von einem Pool willkürlich gewählter Tri- und Tetrapeptide durch eine SAR-Untersuchung und Minimierung der gefundenen Leitstruktur, *N*-acetylierte Prolinole als beste zur Spaltung der Esterbindung in dem D-Ala-D-Lac-Motiv identifizieren konnten. Das effektivste Derivat unter allen im Anschluss an die Aktivitätsstudien kinetisch und konzentrationsabhängig überprüften Verbindungen war dabei das ε-aminopentanoylierte S-Prolinol (**58**). Durch Kontrollexperimente konnten sie zeigen, dass eine antibakterielle Wirkung nur in Kombination mit Vancomycin besteht. Mit einem mehr als 24-fachen Überschuss an **58** konnte eine hydrolytische Spaltung hochselektiv am D-Ala-D-Lac-Motiv *in vitro* erreicht werden.



58

Abbildung 5-3: Effektivste Substanz in der von *Chiosis et al.*[116] durchgeführten Untersuchung zur hydrolytischen Spaltung des D-Ala-D-Lac-Motivs.

Dieser "*small molecule approach*"[117] zeigt aber trotzdem eindrucksvoll, dass es auch alternative Ansätze gibt, dem Problem der Bakterienresistenz beizukommen.

5.2 Kombination mechanistischer und kinetischer Untersuchungen

Die von *Chiosis et al.*[116] beschriebene Vorgehensweise zur selektiven und "katalytischen" Spaltung des Depsipeptids mit kleinen Molekülen wird in der vorliegenden Arbeit aufgegriffen und auf die 3-Cyano-2-pyridone als "kleine und aktive" Moleküle ausgedehnt. Neben einer nachgewiesenen hydrolytischen Aktivität der 2-Pyridonderivate auf Esterbindungen wäre durch deren Einsatz unter Umständen auch eine Amidbindungsspaltung beobachtbar. Wie sich bei den Untersuchungen von *Chiosis et al.* herausstellte, ist eine hydrolytische Aktivität von Verbindung **58** in Kombination mit Vancomycin hochselektiv für die Spaltung der Esterbindung, aber nur wenn **58** in einem Überschuss, mit der richtigen Konfiguration und mit dem Zellwandvorläufer D-Ala-D-Lac eingesetzt wird. Beim Test anderer Kombinationen, wie dem R-Prolinolderivat, Experimenten am D-Ala-D-Ala-Motiv

oder **58** alleine wird keine hydrolytische Spaltungsaktivität beobachtet. Damit ist festzustellen, dass das von *Chiosis et al.* identifizierte Molekül fast schon zu spezifisch für das vorliegende Problem ist. Aufgrund dieser Spezifität gegenüber dem Substrat könnten sich durch den Einsatz der 3-Cyano-2-pyridonderivate mögliche Alternativen ergeben. Interaktionen mit Vancomycin werden in der vorliegenden Arbeit von vorneherein ausgeschlossen und die zu testenden Substanzen individuell und ohne Zugabe des Glycopeptid-Antibiotikums untersucht.

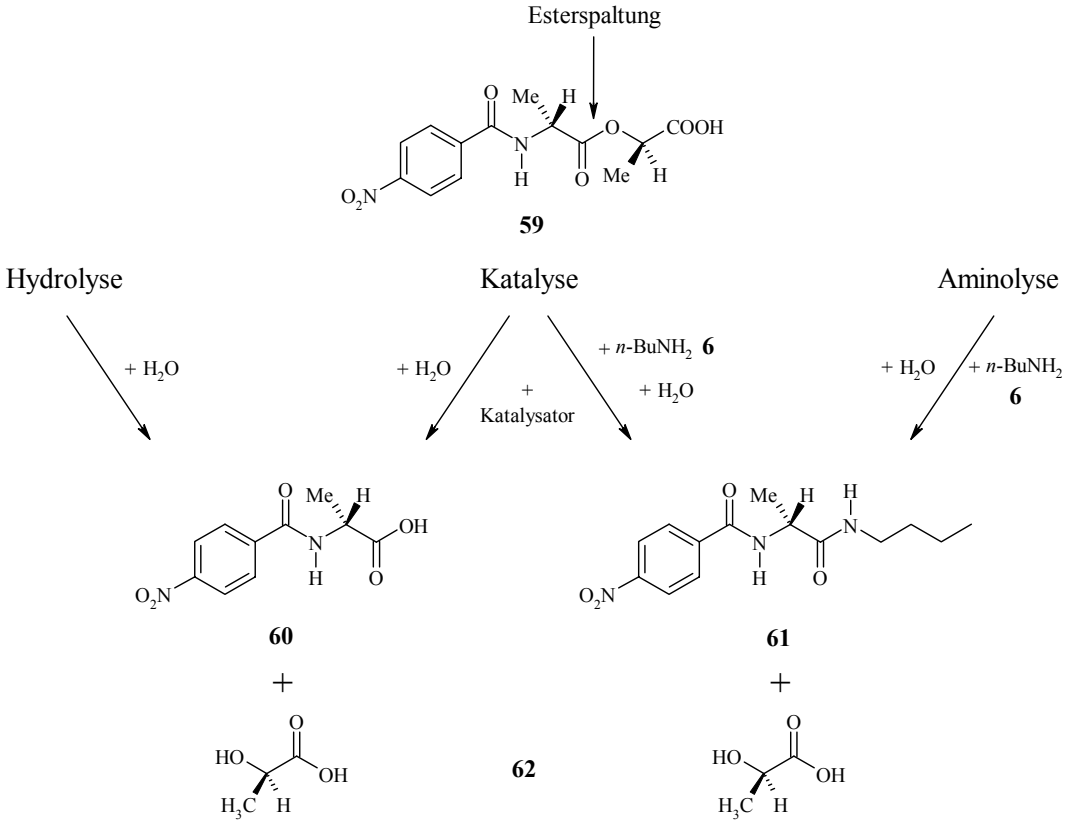
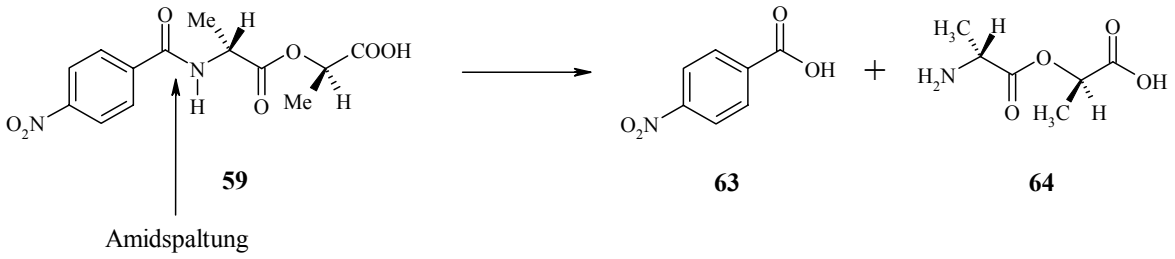


Abbildung 5-4: Schematische Darstellung der kinetischen Untersuchungen. Mittels HPLC-Technik wird eine Spaltung der im Depsipeptid **59** vorhandenen Esterbindung durch Zugabe verschiedener Nucleophile verfolgt. Im unteren Bereich sind die zu erwartenden und simultan mit dem Substrat detektierbaren Reaktionsprodukte **60** und **61** der katalysierten und unkatalysierten Hydrolyse bzw. Aminolyse abgebildet. Die D-Milchsäure (**62**) wird als Spaltungsprodukt zwar freigesetzt, kann aber über UV/Vis-Messungen nicht detektiert werden.

Um kleine Molekülkatalysatoren zu identifizieren, die im Stande sind, eine selektive Spaltung der Esterbindung im Depsipeptid **59** durchzuführen, werden hier die unkatalysierten und katalysierten Reaktionen des D-Ala-D-Lac-Motivs mit verschiedenen Nucleophilen analysiert. Die kinetische Verfolgung der Umsetzungen in den gepufferten und wässrigen Systemen erfolgt dabei an einem HPLC-Gerät über eine RP-C18 Säule mit einem UV-Detektor. Da das D-Ala-D-Lac-Motiv nur über ein sehr schwaches Chromophor verfügt, erfolgt die

Visualisierung durch Anhängen einer *p*-Nitrobenzoylgruppe an den *N*-Terminus und man erhält das Substrat **59** (siehe Abbildung 5-4).[116] Auch die zu erwartenden Hauptprodukte **60** und **61** der einzelnen Experimente können so bei geeigneter Trennung simultan beobachtet werden. Verbindung **60** entsteht während des Reaktionsverlaufs durch hydrolytische Spaltung der Esterbindung mit H_2O im katalysierten und unkatalysierten Pfad (siehe in Abbildung 5-4 linke Seite: Hydrolyse). Verbindung **61** kann durch eine Aminolysereaktion mit *n*-$BuNH_2$ (**6**) durch Spaltung der Esterbindung und Ausbildung einer Amidbindung gebildet werden (siehe Abbildung 5-4 rechte Seite: Aminolyse). In beiden Reaktionspfaden wird durch die Spaltung der Esterbindung auch die Milchsäure (**62**) freigesetzt (siehe Abbildung 5-4), die aber über die eingestellte Wellenlänge von 264 nm (λ_{max} der *p*-Nitrobenzoylgruppe) nicht detektiert werden kann. Neben der Spaltung der Esterbindung ist auch ein Bruch der Amidbindung zwischen dem Chromophor und dem D-Ala-D-Lac-Motiv möglich (siehe Abbildung 5-5). Das einzige bei dieser Reaktionsvariante auftretende und messbare Produkt beschränkt sich auf die *p*-Nitrobenzoesäure (**63**). Das freigesetzte D-Ala-D-Lac-Motiv (**64**) ist, wie auch weitere von diesem Motiv über Hydrolyse und Aminolyse ableitbare Produkte, mit der vorliegenden Analysenmethode nicht detektierbar.

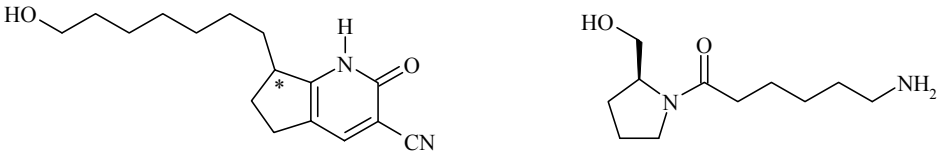


59 **63** **64**

Abbildung 5-5: Hauptprodukte bei einer möglichen Amidbindungsspaltung von **59**. Die *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) kann als einzige mit der angewandten Analysenmethode detektiert werden.

Die Katalysatorenwahl wird im vorliegenden Fall auf die Pyridone **20** und **29** beschränkt, da das Katalysatordesign im vorher beschriebenen Teil auf dem $CDCl_3$-System beruht und damit eine geeignete Lösung der unpolaren Substanzen im vorliegenden wässrigen System nicht vollkommen gewährleistet ist. Wie sich bereits bei vergleichenden Untersuchungen der Gruppe um *Chiosis*[116] gezeigt hat, ist auch die Kettenlänge im verwendeten Prolinolderivat von Bedeutung. Wird etwa die Anbindung der Aminogruppe in **58** durch eine längere oder kürzere Alkylkette realisiert, so wird auch die hydrolytische Aktivität der erhaltenen Substanzen herabgesetzt. Vergleicht man die in Abbildung 5-6 dargestellten Strukturen der Verbindungen **56** und **58**, so kann man feststellen, dass zwischen Amin- und Hydroxylgruppe

jeweils eine Distanz von 9-Atomen vorhanden ist. In beiden Verbindungen ist eine Carbonylgruppe und eine lange Alkylkette vorhanden, aber die nucleophilen Positionen zwischen *N* und *O* scheinen vertauscht zu sein. Aufgrund dieser strukturellen Ähnlichkeiten wird Verbindung **56** als neue Substanz in die kinetische Vermessung mit aufgenommen.



56 **58**

Abbildung 5-6: Strukturvergleich zwischen Verbindung **56** und **58**.

Um eine geeignete Analysenmethode entwickeln zu können, in der alle an der Reaktion beteiligten Substanzen trennbar und quantifizierbar sind, werden zunächst das Substrat **59** und die in Abbildung 5-4 gezeigten Hauptprodukte **60** und **61** als Referenzen synthetisiert.

5.3 Synthese des Depsipeptids *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (59)

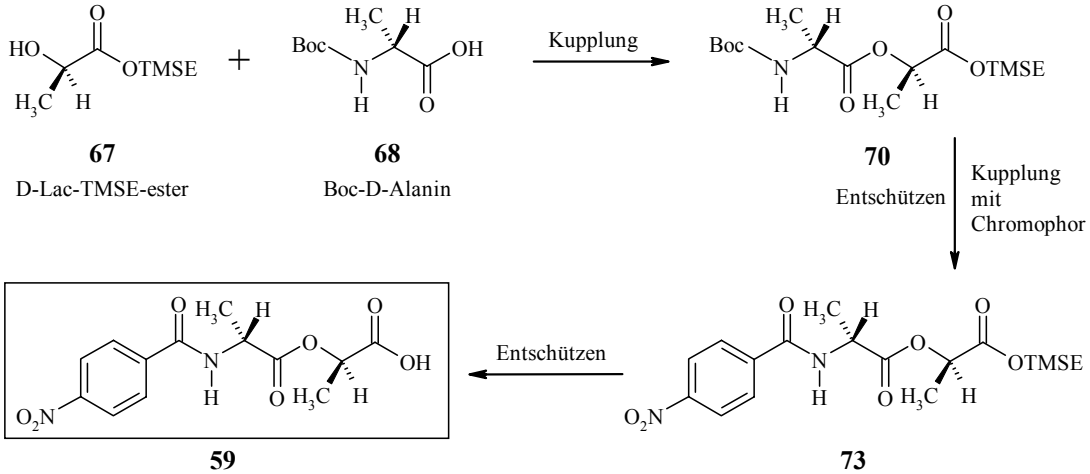
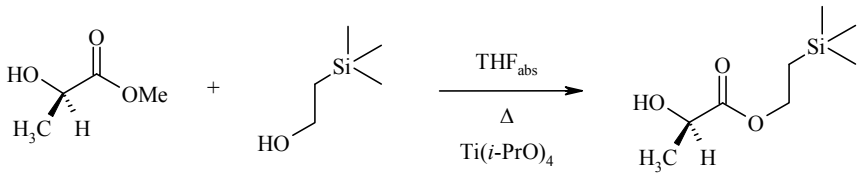


Abbildung 5-7: Gesamtsynthetische Betrachtung der Reaktionssequenz, die zum Erhalt der *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) führt.

Der erste Reaktionsschritt der mehrstufigen Synthesesequenz (Abbildung 5-7) besteht aus einer Transesterifikation von R-Methyllactat (**65**) unter wasserfreien Bedingungen.

Reaktionen die zu einer Umesterung führen, werden sehr häufig in der organischen Chemie eingesetzt, um aus kommerziell erhältlichen Esterverbindungen komplexere Esterstrukturen aufzubauen.[118] Zur Umesterung von **65** wird hier als Alkoholkomponente das leicht einzuführende Trimethylsilylethanol (**66**) gewählt, welches auch gleich als Schutzfunktion für die Carboxylgruppe dient.[77b] Die TMSE-Schutzgruppe wird wegen ihrer relativ hohen Stabilität bzw. trägen Reaktion gegenüber Säuren (insbesondere Trifluoressigsäure), der leichten Herstellbarkeit der Esterprodukte und ihrer unter milden Bedingungen raschen, quantitativ verlaufenden und racemisierungsfreien Entfernung mit Fluoridionen gewählt.[119] Die Umesterung des Methyllactats (**65**) mit **66** gelingt unter Titanat-[120] und Me_3SiCl-katalysierten[121] Bedingungen, oder mit LiBr und DBU.[122] In der hier vorliegenden Transesterifikation des R-Methyllactats (**65**) wird in Anlehnung an *Chiosis et al.*[116] und *Still et al.*[123] eine mit Titantetraisopropylat vermittelte Variante angewendet (Abbildung 5-8).
Wird die Reaktion wie beschrieben mit einem 20 %igen Überschuss an TMSE durchgeführt, so können nach 16 stündiger Reaktionszeit lediglich 20 % Ausbeute erhalten werden. Wird die Reaktion für annähernd 70 h zum Rückfluss erhitzt, so kann die Ausbeute auf 40 % gesteigert werden. Von einer ähnlichen Ausbeute berichten auch *Bartlett et al.*, die in ihrem Transesterifikationsschritt beim Aufbau eines Depsipeptids wegen einer konkurrierenden Dimerisationsreaktion der Carbonsäurederivate Ausbeuteeinbußen hatten.[124]



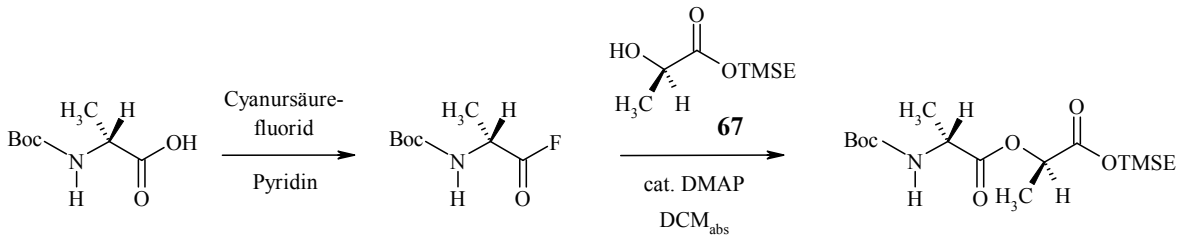
65 **66** **67**

Abbildung 5-8: Reaktionsschema für die mit Titantetraisopropylat katalysierte Umesterungsreaktion von R-Methyllactat (**65**) mit Trimethylsilylethanol (**66**).

Wie *Evans et al.*[125] und *Boger et al.*[126] in ihren Synthesen für Vancomycinbausteine durch Verwendung von TMSE-Estern mit sehr guten Ergebnissen zeigen konnten, ist es durch Variation der Reaktionsbedingungen aber auch möglich, höhere Ausbeuten zu erzielen. Die Reaktion kann fast quantitativ ausgeführt werden, wenn Molekularsieb 4Å zur Entfernung des frei werdenden Methanols aus dem Gleichgewicht verwendet wird.[127] Legt man im vorliegenden Fall das Molekularsieb im Reaktionskolben vor, so kann nach 24 h Reaktionszeit das Produkt nach Reinigung in einer Ausbeute von 24 % erhalten werden. Wird dagegen das Kondensat der zum Rückfluss erhitzten Reaktionslösung über einen

Tropftrichter, in dem sich das Molekularsieb 4Å befindet, geleitet, so kann das umgeesterte Produkt nach einer Reaktionszeit von 30 h mit 90 % Ausbeute erhalten werden. Das THF wird so kontinuierlich nach Abfangen des Methanols wieder der Reaktionslösung zugeführt. Eine oft angewandte destillative Abtrennung des frei werdenden Alkohols ist wegen der sehr dicht zusammenliegenden Siedepunkte von TMSE (71-72 °C), MeOH (64.5 °C) und THF (65-66 °C) in dem vorliegenden Fall nicht möglich.[128] Bei obiger Reaktionsführung ist es allerdings notwendig, die Alkoholgruppe in einem großen Überschuss (10-100 eq.[127]) oder direkt als Lösemittel einzusetzen. Durch die Modifikation der Apparatur mit der Tropftrichtermethode, kann die Zugabe der notwendigen Alkoholäquivalente bis auf 5 Anteile gedrückt werden. Das nicht umgesetzte TMSE (**66**) wird anschließend nahezu quantitativ über säulenchromatographische Reinigung zurückgewonnen.

Im nächsten Reaktionsschritt wird die TMSE-geschützte D-Milchsäure (**67**) in einer Kupplungsreaktion mit einem Alaninderivat verknüpft und eine Esterbindung gebildet. Eine Möglichkeit bietet sich durch Bildung des Säurefluorids **69** der Alaninkomponente und anschließender Kupplung an. Die Säurefluoridbildung von Boc-D-Alanin (**68**) mit Cyanursäurefluorid kann in guten Ausbeuten durchgeführt werden, aber die anschließende Acylierungsreaktion mit **67** unter DMAP-Katalyse liefert keine zufrieden stellenden Ausbeuten (Abbildung 5-9).[129]



68 **69** **70**

Abbildung 5-9: Umsetzung von Boc-D-Alanin (**68**) mit Cyanursäurefluorid zum Boc-D-Alaninfluorid (**69**), welches anschließend mit der geschützten D-Milchsäure (**67**) verknüpft wird. Leider werden vom Depsipeptid **70** nur Ausbeuten unter 10 % erhalten.

Stattdessen wird auf das teure Fluorierungsmittel verzichtet und die Esterbindung direkt aus dem Boc-D-Alanin (**68**) und dem Ester **67** durch Anwendung geeigneter Verknüpfungsreaktionen durchgeführt. Neben den gängigen Kupplungsreagenzien *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)[130] oder 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid (EDC)[131], welche bereits zur Synthese von Depsipeptidstrukturen und Esterifikationen mit Lactat-Bausteinen mittels DMAP-Katalyse[132] eingesetzt wurden,

wird auch das Isopropenylchlorformiat (IPCF) und das 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) getestet (Abbildung 5-10).

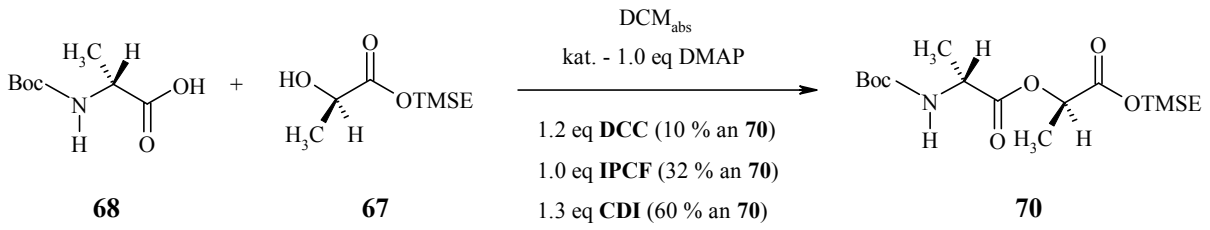


Abbildung 5-10: Kupplungsreaktion von Boc-D-Alanin (**68**) mit der geschützten D-Milchsäure (**67**). Eingesetzt werden mehrere Kupplungsreagenzien: *N*,*N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), Isopropenylchlorformiat (IPCF), und 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI). In Klammern sind die isolierten Ausbeuten des Depsipeptids **70** angegeben.

Wird die obige Reaktion mit DCC als Kupplungsreagens durchgeführt, so können nur 10 % des Depsipeptids **70** isoliert werden. Wird dagegen das Isopropenylchlorformiat (IPCF) eingesetzt, welches vor allem zur Generierung und anschließenden Esterifikation von gemischten Anhydriden bei Boc-Derivaten geeignet ist,[133] so kann unter günstiger Reaktionsführung eine Ausbeute von 32 % an **70** erhalten werden. Das IPCF eignet sich bestens für Esterifikationsreaktionen, da nach dem nucleophilen Angriff lediglich Aceton gebildet wird, und damit keine Veresterungen mit dem Reagens als Nebenreaktionen auftreten.[134] Alle Ausgangskomponenten, bis auf DMAP, welches nur zu 20 % zugegeben wird, werden äquimolar eingesetzt. Weiter sollte man auf die Einhaltung von wasserfreien Bedingungen, Temperaturen von $\leq$ 0 °C und einer optimierten Reihenfolge bei der Substanzenzugabe achten. Folgende Sequenz erweist sich als besonders günstig: (1) DCM mit der Base Triethylamin (TEA) vorlegen, (2) Boc-D-Ala, (3) DMAP, (4) IPCF, und (5) die geschützte D-Milchsäure.[135] Bei Abweichungen von den Reaktionsparametern kommt es verstärkt zu Nebenreaktionen, wie der Ausbildung von Isopropenylestern, Anhydridbildung des IPCF's oder einer möglichen weiteren *N*-Acylierung am D-Alanin nach bereits erfolgter Kupplungsreaktion.[136] Die Reaktion kann bereits nach einer Stunde abgebrochen werden und man erhält das Depsipeptid als farbloses Öl in einer Ausbeute von 32 %.

Wird in der obigen Reaktion (Abbildung 5-10) das bereits lange in der Peptid- und Estersynthese[137] eingesetzte 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) als Kupplungsreagens verwendet, so werden Ausbeuten von 60 % für das Depsipeptid **70** erzielt. Auch diese Reaktion wird bei 0 °C und wasserfreien Bedingungen durchgeführt. Die Beachtung der oben beschriebenen Zugabesequenz wird auch hier eingehalten, nur sollte das Einbringen einzelner Komponenten (siehe unten) über einen längeren Zeitraum erfolgen. Das CDI wird vor dem

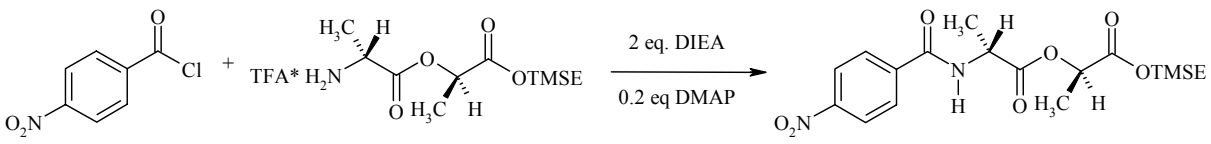
Einsatz unter Schutzgasatmosphäre (N_2) aus abs. THF umkristallisiert und in absolutiertem Dichlormethan zu einer 0.5 M Lösung verdünnt.[138] Die 0.5 M CDI-Lösung wird in absolutiertem Dichlormethan mit 1.3 eq. des Boc-D-Alanins (**68**) (gelöst in abs. DCM) sehr langsam (≥ 30 min) versetzt. Anschließend wird 1 eq. der geschützten D-Milchsäure **67** langsam (≥ 20 min) zur Reaktionslösung getropft.[139,140] Nach insgesamt vierstündiger Reaktionszeit werden 60 % reines Depsipeptid **70** erhalten.

Im Anschluss an die Kupplungsreaktion wird die Boc-Schutzgruppe in einem Gemisch aus einem Teil Trifluoressigsäure und drei Teilen Dichlormethan von dem Depsipeptid **70** abgespalten und **71** wird in quantitativer Ausbeute erhalten (Abbildung 5-11).[116,77c]

70 **71**

Abbildung 5-11: Quantitative Entfernung der Boc-Schutzgruppe vom Depsipeptid **70**.

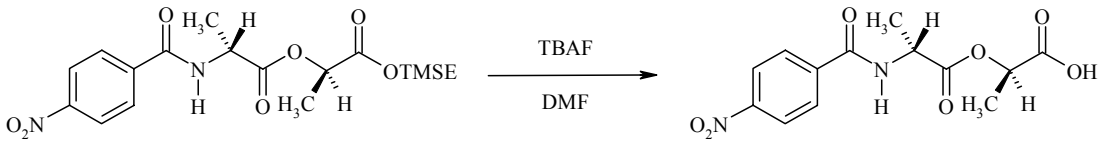
Das TFA-Salz der TMSE-geschützten D-Alanyl-D-milchsäure (**71**) wird ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt. Dieser besteht wiederum aus einer Kupplungsreaktion, in der **71** an das Chromophor (*p*-Nitrobenzoylgruppe) angehängt wird. Der von *Chiosis et al.*[116] vorgeschlagene Weg über die vorherige Bildung des Säurefluorids der *p*-Nitrobenzoesäure mit Cyanursäurefluorid wird ersetzt durch den Einsatz des käuflichen *p*-Nitrobenzoesäurechlorids (**72**). Die Acylierung wird mit einer katalytischen Menge an DMAP, 2 eq. frisch destilliertem DIEA und einem 30 %igen Überschuss an Säurechlorid **72** unter wasserfreien Bedingungen in Dichlormethan durchgeführt (Abbildung 5-12). Die Ausbeute an **73** beträgt 40 % nach Reinigung. Wird die Reaktion mit *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) und DCC als Kupplungsreagens ausgeführt, so wird **73** mit 33 % erhalten.



72 **71** **73**

Abbildung 5-12: Kupplungsreaktion des Depsipeptids **71** an das Säurechlorid **72**.

Im letzten Reaktionsschritt wird von der TMSE-geschützten *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**73**) die TMSE-Schutzgruppe durch Zugabe einer äquimolaren Menge an Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF) in DMF entfernt (Abbildung 5-13).[119]



73 **59**

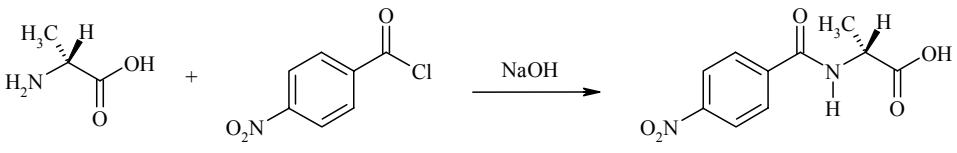
Abbildung 5-13: Die *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) wird durch Entfernung der TMSE-Schutzgruppe von **73** unter Einwirkung von Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung erhalten.

Die Entschützungsreaktion verläuft annähernd quantitativ. Nach einer anschließenden zweimaligen Reinigung an Sephadex LH-20 mit MeOH (+ 1 Vol.-% AcOH) als Eluent, kann das Depsipeptid **59** als farbloses Öl mit einer Ausbeute von 80 % erhalten werden. Durch ca. einwöchige Lagerung im Kühlschrank kristallisiert die Verbindung aus und kann in der besser geeigneten Form als Feststoff in den kinetischen Messungen eingesetzt werden. Über die gesamte Reaktionssequenz kann für die *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) eine Ausbeute von 22 % erzielt werden. Über ^{1}H-NMR- und HPLC-Analysen wird ein Diastereomerenverhältnis von D-Ala-D-Lac zu D-Ala-L-Lac je nach Charge von bis zu 94 % ermittelt, welches auch in den kinetischen Experimenten verifiziert werden kann.

5.4 Synthese der Reaktionsprodukte und Referenzsubstanzen

5.4.1 Synthese des *p*-Nitrobenzoyl-D-alanins (**60**)

Wird mit dem Substrat **59** eine Hydrolysereaktion durchgeführt, so wird die Esterbindung gespalten und man erhält die D-Milchsäure (**62**) und das *p*-Nitrobenzoyl-D-alanin (**60**). Von diesen beiden Produkten kann über UV/Vis-Messungen nur **60** wegen der als Chromophor fungierenden *p*-Nitrobenzoylgruppe visualisiert werden. Um das Signal für das Hydrolyseprodukt **60** im Chromatogramm zu lokalisieren, wird das *p*-Nitrobenzoyl-D-alanin (**60**) über folgende Reaktion synthetisiert (Abbildung 5-14).



74 **72** **60**

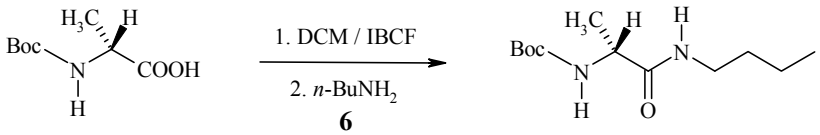
Abbildung 5-14: Einstufige Synthese der Referenzsubstanz **60**.

Verbindung **60** kann durch Umsetzung von D-Alanin (**74**) mit einem 10 %igen Überschuss an *p*-Nitrobenzoylchlorid (**72**) in basischer Umgebung enantiomerenrein erhalten werden.[141,142] Nach entsprechender Aufarbeitung und zweifacher Umkristallisation aus Ethylacetat wird **60** in einer Ausbeute von 27 % elementaranalytisch rein erhalten.

5.4.2 Synthese des *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-butylamids (**61**)

Wenn das Substrat **59** in den kinetischen Studien mit *n*-Butylamin (**6**) als Nucleophil umgesetzt wird, so sollten sich die D-Milchsäure (**62**) und das *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-*n*-butylamid (**61**) als Produkte ergeben (Abbildung 5-4). Auch hier kann in den HPLC-Studien nur das mit dem Chromophor (*p*-Nitrobenzoylgruppe) versehene **61** über UV/Vis-Technik verfolgt werden. Um das Signal für das Aminolyseprodukt **61** im Chromatogramm zu lokalisieren, wird Verbindung **61** über folgende Reaktionssequenz synthetisiert.

Im ersten Reaktionsschritt wird das Boc-D-Alanin (**68**) mit *n*-Butylamin (**6**) über eine Kupplungsreaktion zur entsprechenden Amidstruktur **75** umgesetzt. Die Kupplung erfolgt über die Bildung gemischter Anhydride nach den von *Paruszewski et al*.[143] und *Tamura et al*.[144] beschriebenen Umsetzungen zwischen Boc-geschützten Aminosäuren und Aminen mittels Isobutylchlorformiat (IBCF)[145] (Abbildung 5-15).



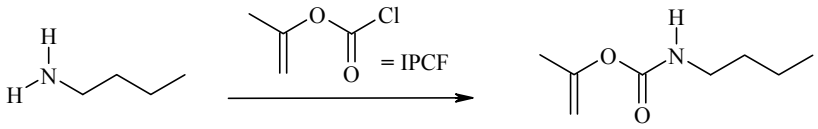
68 **75**

Abbildung 5-15: Reaktionsschema zur IBCF-vermittelten Kupplungsreaktion von Boc-D-Alanin (**68**) mit *n*-Butylamin (**6**) zum Boc-D-Alanyl-butylamid (**75**).

Ähnlich den bereits vorher zur Darstellung von **59** eingesetzten Kupplungsreaktionen mit IPCF muss auch hier auf die Einhaltung von wasserfreien Bedingungen,

Reaktionstemperaturen ≤ 0 °C und der richtigen Substanzreihenfolge bei der äquimolaren Zugabe geachtet werden. Die geschützte Säurekomponente **68** wird in DCM vorgelegt und mit 1 eq. TEA versetzt. Das IBCF wird über einen Zeitraum von ca. 20 min langsam zur Reaktionslösung gegeben, aber man lässt hier weitere 10 min reagieren bevor das Amin **6** langsam in die Lösung eingebracht wird. Nach beendeter Reaktionszeit erhält man das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 90 %.

In einer unter diesen Bedingungen nicht dominanten Nebenreaktion werden 6 % einer 1,3-Dibutylharnstoffverbindung erhalten,[146] die sich aufgrund einer zweifachen Acylierungsreaktion des *n*-Butylamins (**6**) bildet. Wird in der obigen Reaktion statt dem IBCF das IPCF unter gleichen Reaktionsbedingungen eingesetzt, so werden lediglich 55 % des Produkts **75** erhalten. Als weiteres Nebenprodukt wird in diesem Fall *N*-Isopropenyloxycarbonyl-*n*-butylamin (**76**) gebildet (Abbildung 5-16).

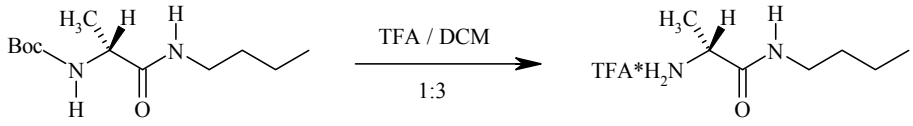


6 **76**

Abbildung 5-16: Auftretende Nebenreaktion bei der mit IPCF vermittelten Kupplung von **68** mit *n*-$BuNH_2$ (**6**).

Werden dagegen die Säure- und Aminkomponente bereits vor der Zugabe der Kupplungsreagenzien gemischt, so wird das *N*-Isopropenyloxycarbonyl-*n*-butylamin (**76**) zu 74 % isoliert. Durch die abweichende Reihenfolge werden Bedingungen geschaffen, die bereits von *Dufour et al*.[147] beschrieben wurden, welche gezielt Isopropenyl-Strukturen als Zwischenprodukte zur Weiterreaktion von Oxazolidinonen mit IPCF synthetisierten. Bei einer DCC und DMAP vermittelten Acylierungsreaktion werden im vorliegenden Fall nur geringe Mengen an Produkt **75** erhalten. Die Hauptprodukte sind in dieser Reaktion mit DCC gebildete Harnstoffderivate.

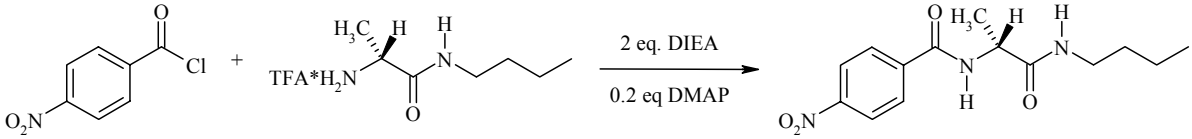
Als nächster Reaktionsschritt schließt sich die Entschützung des mit der Boc-Gruppe versehenen D-Alaninteils in Verbindung **75** an. Diese wird in einem Gemisch aus einem Teil Trifluoressigsäure und drei Teilen Dichlormethan abgespalten und man erhält **77** in quantitativer Ausbeute (Abbildung 5-11).[116, 77c]



75 **77**

Abbildung 5-17: Quantitative Entfernung der Boc-Schutzgruppe vom Boc-D-Alanyl-butylamid **75**.

Das TFA-Salz des D-Alanyl-*n*-butylamids (**77**) wird ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt. Dieser besteht wieder aus einer Acylierungsreaktion, in der **77** an das Chromophor (*p*-Nitrobenzoylgruppe) gekuppelt wird. Auch hier wird das käufliche *p*-Nitrobenzoesäurechlorid (**72**) eingesetzt. Die Kupplungsreaktion wird mit einer katalytischen Menge an DMAP (0.2 eq.), 2 eq. frisch destilliertem DIEA und einem 30 %igen Überschuss an Säurechlorid **72** unter wasserfreien Bedingungen in Dichlormethan durchgeführt (Abbildung 5-18). Die Ausbeute an **61** beträgt 85 % nach Reinigung. Wird die Reaktion mit *p*-Nitrobenzoesäure und DCC als Kupplungsreagens ausgeführt, so werden lediglich 25 % an **61** erhalten.



72 **77** **61**

Abbildung 5-18: Kupplungsreaktion des D-Alanyl-butylamid-TFA-Salzes (**77**) an **72**.

Auch hier wird versuchsweise eine Kupplungsreaktion über die Bildung gemischter Anhydride mit dem IPCF und *p*-Nitrobenzoesäure als Komponenten durchgeführt. Es können nach Aufarbeitung und mehrmaliger Reinigung nur 30 % Ausbeute an **61** erhalten werden, da es beim Einsatz des IPCF hier verstärkt zur Ausbildung von Isopropenylestern kommt.
Über die gesamte dreistufige Reaktionssequenz kann für das *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-*n*-butylamid (**61**) eine Ausbeute von 77 % erzielt werden.

5.5 Entwicklung einer HPLC-Analysenmethode zur zeitabhängigen Untersuchung der Spaltung von 59 in wässriger Lösung

Nach der Synthese der Referenzsubstanzen (siehe Abbildung 5-4) wird schrittweise eine Analysenmethode am HPLC-Gerät entwickelt, die eine simultane Verfolgung der Edukte und Produkte ermöglicht. Die Visualisierung erfolgt über das angehängte Chromophor bei 264 nm (λ_{max} der *p*-Nitrobenzoylgruppe). Nach erreichter Trennung der beiden Diastereomere von **59** unter isokratischen Bedingungen (CH_3CN/H_2O (0.1 % TFA)), werden Mischungen mit den Referenzverbindungen arrangiert. Auch hier kann eine Trennung aller im Reaktionssystem vorhandenen Substanzen durch entsprechende Feinabstimmung der Parameter erreicht werden. Die Katalysatoren werden im gewählten Eluentensystem zuerst über ihr spezifisches λ_{max} auf der Zeitachse lokalisiert, um dann ins Analysensystem übertragen werden zu können. Im Falle der Hydrolysereaktion wird die Trennung der Komponenten unter isokratischen Bedingungen erreicht (für Details siehe unter Punkt 8.1.2 im Abschnitt 8 "*Kinetische Messungen*"). Eine Auftrennung der Substanzen ist in Abbildung 5-19 gezeigt. Es handelt sich hierbei um das Spektrum einer mit **20** katalysierten hydrolytischen Spaltung bei einem pH-Wert von 7.5 und einer konstanten Temperatur von 37 °C zu Reaktionsbeginn (Ionenstärke = 1, YMC-Pack Pro C18 Säule der Firma YMC Europe GmbH).

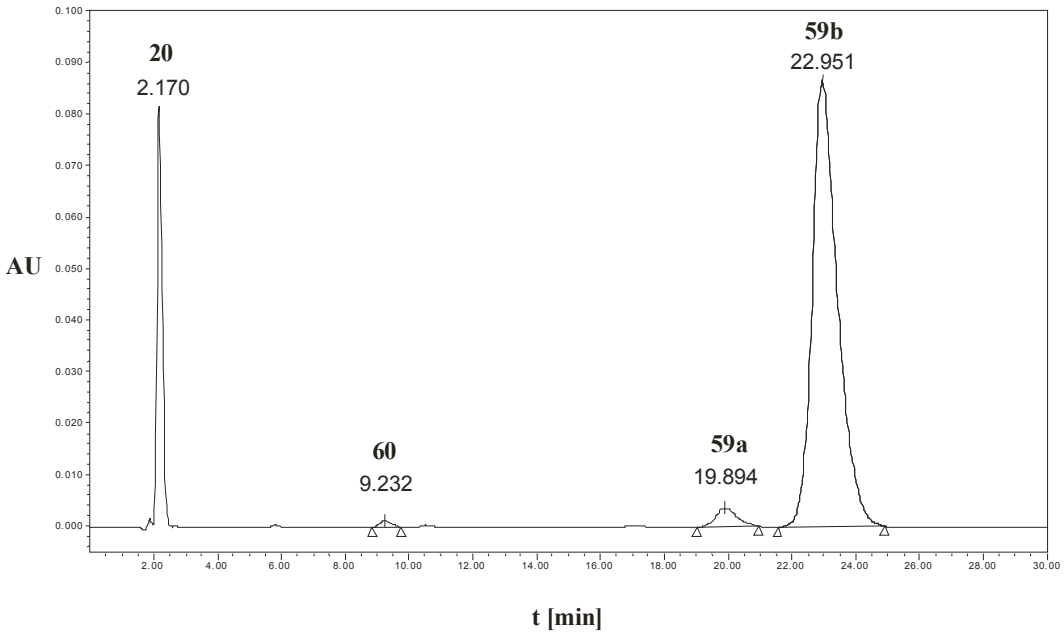


Abbildung 5-19: Trennung der Komponenten in einer mit **20** versetzten Hydrolysereaktion. Gezeigt ist das zu Reaktionsbeginn aufgenommene Spektrum mit der Trennung von 2-Pyridon (**20**), dem Hydrolyseprodukt **60** und den Diastereomeren des Substrats **59a**/**b**. Die Angabe der Retentionszeit erfolgt in Minuten.

In Abbildung 5-20 kann man den Verlauf der kinetischen Reaktion erkennen. Es handelt sich bei der Darstellung um das Spektrum der mit **20** versetzten Hydrolyse nach einer Reaktionszeit von t = 6868 min. Die Diastereomere **59a** und **59b** des Substrats werden zugunsten der Produktion von **60** aufgebraucht. Die Konzentration des Katalysators **20** bleibt über die gesamte gemessene Zeit konstant, was durch Analyse der Verhältnisse der Peakflächen aller identifizierter Substanzen bestätigt werden kann. Als kleines Signal bei ca. 17 min Retentionszeit kann auch *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) identifiziert werden, die aus einer hydrolytischen Amidspaltung zwischen dem Depsipeptidgerüst und dem Chromophor hervorgeht.

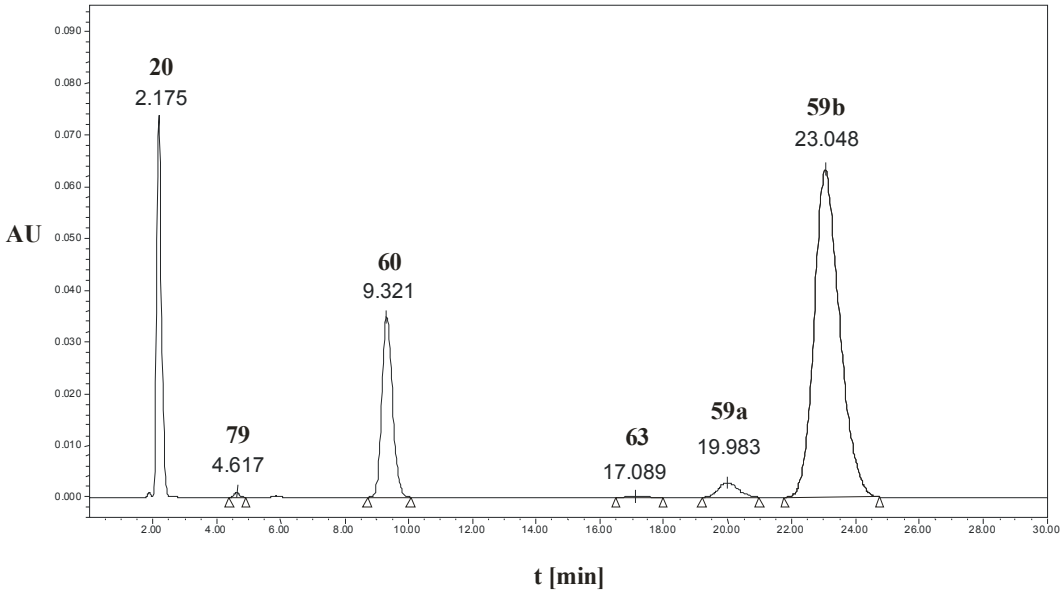
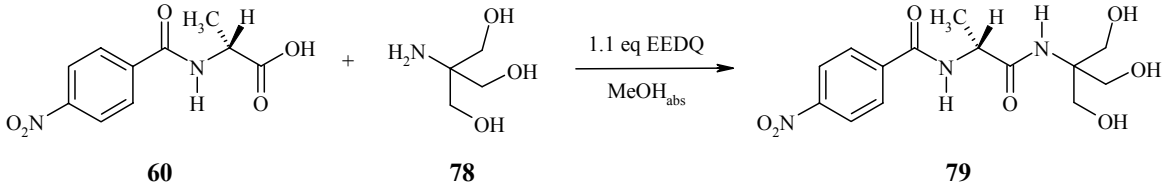


Abbildung 5-20: Darstellung des Spektrums der mit **20** versetzten Hydrolyse von **59** nach einer Reaktionszeit von 6868 min. Im Spektrum sind alle identifizierten Substanzen mit Angabe der Retentionszeit in Minuten dargestellt. Bei den Hauptsignalen handelt es sich um das 2-Pyridon (**20**), das Hydrolyseprodukt **60** und das Substrat **59**. Des Weiteren findet man noch zwei kleinere Signale, die mittels Referenzmessungen als Tris-Addukt **79** und als freie *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) identifiziert werden können.

Neben der Beobachtung des Hydrolyseprodukts **60** wird auch der Anstieg eines Peaks bei einer Retentionszeit von 4.6 min festgestellt (in Abbildung 5-20 mit **79** bezeichnet). Während den Messungen fällt auf, dass auch dieses Signal einem sehr geringen, aber kontinuierlichem Anstieg unterworfen ist. Bei der dort lokalisierbaren Verbindung handelt es sich um ein Aminolyseprodukt, welches während der Reaktion zu einem geringen Teil aus **59** und der zugegebenen Pufferkomponente 1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (**78**) gebildet wird. Die Verbindung kann nach unabhängiger Synthese der entsprechenden Referenzsubstanz **79**

eindeutig zugeordnet werden. Die Verbindung **79** wird über eine mit Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin (EEDQ) vermittelte Kupplungsreaktion von **60** mit **78** in abs. MeOH hergestellt (Abbildung 5-21).[148,149]



60 **78** **79**

Abbildung 5-21: Darstellung der Tris-Komponente **79** mittels einer EEDQ-vermittelten Kupplungsreaktion in abs. Methanol aus der Puffersubstanz **78** und der Referenzverbindung **60**.

Die Bildung von analogen Verbindungen wie **79** konnte bereits von *Whittaker et al.*[150] beobachtet werden. Die Arbeitsgruppe untersuchte den Aufbau von Peptidbindungen mit Unterstützung von proteolytischen Enzymen, und stellte fest, dass bei der Verwendung von 1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (**78**) als Puffer ein bislang unbekanntes Signal in ihren HPLC-Spektren auftrat. Durch nicht enzymatische Transesterifikationsreaktionen von Methylester-geschützten Aminosäurederivaten mit der Verbindung **78** waren sie in der Lage, das Signal den entsprechenden Tris-Produkten zuzuordnen und konnten den Sachverhalt zur Entstehung dieser Verbindungen klären. Verbindung **79** entsteht ihren Untersuchungen zufolge über eine Aminolysereaktion zwischen dem Estersubstrat und der Puffersubstanz **78** mit der höchsten Umwandlungsrate bei einem pH-Wert von 8. Ähnliche Beobachtungen bzgl. der Entwicklung von Tris-Produkten konnten auch *Zerner et al.*[151] machen, die sich unter anderem mit dem Katalysephänomen von 1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (**78**) beim Einsatz in der mit α-Chymotrypsin katalysierten Hydrolyse von Derivaten des Oxazolin-5-ons und *p*-Nitrophenylacetat (**5**) beschäftigten.

Bei der mit *n*-Butylamin (**6**) basenkatalysierten Reaktion gelingt eine Auftrennung der im Reaktionsgemisch vorhandenen Substanzen über das Gradientensystem **A** (für Details siehe unter Punkt 8.1.2 im Abschnitt 8 "*Kinetische Messungen*"). In Abbildung 5-22 wird eine mit **20** versetzte Butylaminolysereaktion beim Startpunkt der Umsetzung t = 0 min gezeigt. Die Bedingungen sind ebenfalls auf den pH-Wert 7.5, eine Temperatur von 37 °C und I = 1 eingestellt. Auch hier ist in der folgenden Abbildung 5-23 eine Momentaufnahme eines späteren Zeitpunkts der Umsetzung bei t = 9708 min dargestellt. Substanz **60** wird wie in der vorhergehenden Hydrolysereaktion auf Kosten der Verbindung **59** durch basenkatalysierte hydrolytische Spaltung der Esterverbindung erhalten. Die Bildung des Aminolyseprodukts **61**

verläuft hingegen deutlich langsamer. Dafür wird aber wie auch im nicht basenkatalysierten Hydrolysepfad ein Signal für Verbindung **79** detektiert.

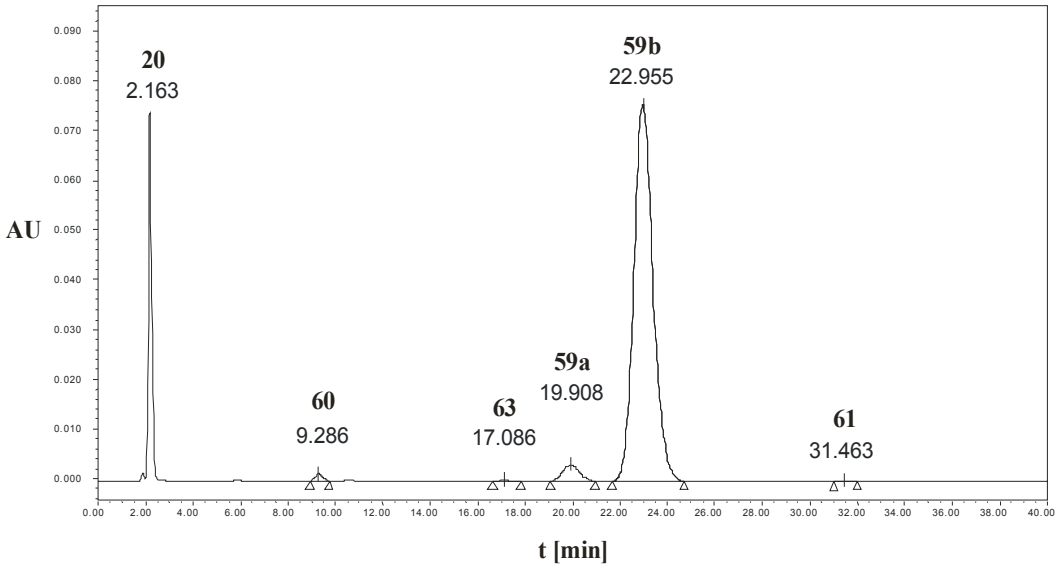


Abbildung 5-22: Trennung der Komponenten in einer mit **20** versetzten basenkatalysierten Hydrolyse des Substrats **59**. In der Darstellung handelt es sich um das zu Reaktionsbeginn aufgenommene Spektrum. Neben den Signalen für **20** und **59** sind die Hydrolyseprodukte **60** und **63** und das Aminolyseprodukt **61** zu erkennen.

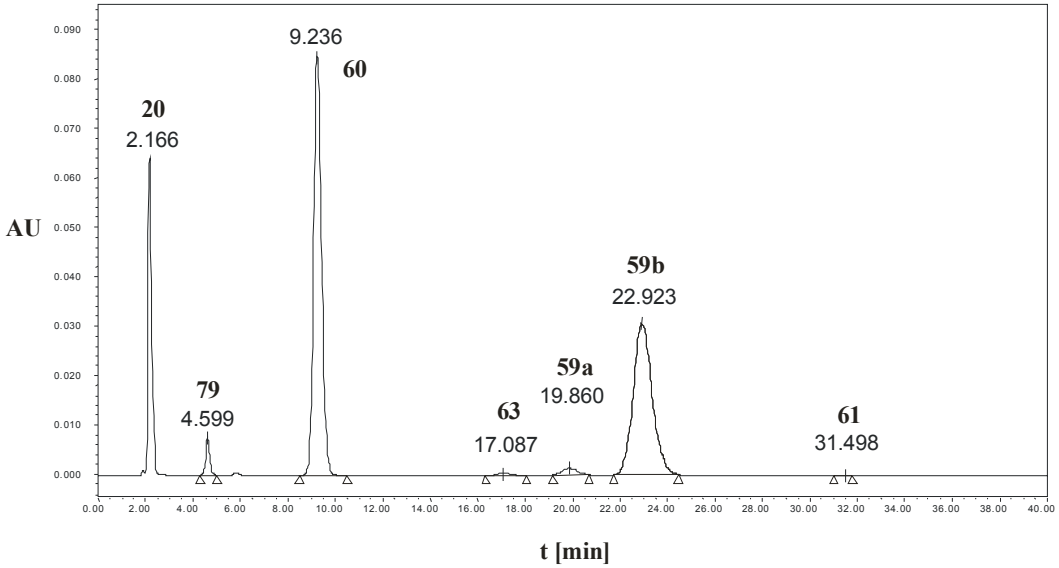


Abbildung 5-23: Darstellung des Spektrums einer mit **20** versetzten basenkatalysierten Hydrolyse von **59** nach einer Reaktionszeit von t = 9708 min. Bei den Hauptsignalen handelt es sich um den Katalysator **20**, das Hydrolyseprodukt **60** und das Substrat **59** mit den beiden Diastereomeren. Des Weiteren findet man noch zwei bzw. drei kleinere Nebensignale, die mittels Referenzmessungen als Tris-Addukt **79** und als freie *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) identifiziert werden können. Bei dem dritten und am Ende des Spektrums lokalisierten Signal handelt es sich um Spuren des Aminolyseprodukts **61**.

Mit den erhaltenen Spektren der beiden oben gezeigten Umsetzungen bieten sich für eine quantitative Auswertung der Reaktion folgende Möglichkeiten an:

A) Die Trennung von Verbindung **59** in die beiden Diastereomere **59a** und **59b** kann zur Ermittlung des Diastereomerenverhältnisses genutzt werden. Zudem ist es möglich eine kontinuierliche Überprüfung während der laufenden Reaktion durchzuführen, die Aufschluss darüber geben kann, ob eines der Stereoisomere bevorzugt abgebaut wird.

B) In den Spektren der mit und ohne Pyridonzugabe erhaltenen Hydrolysegemische kann sowohl die Verringerung der Konzentration von Verbindung **59** (als Summe beider Diastereomere) als auch die Zunahme an **60** zur Quantifizierung verwendet werden.

C) Da es während der mit *n*-Butylamin (**6**) basenkatalysierten Hydrolyse in keiner der untersuchten Reaktionen zu einer ausgeprägten Bildung des Aminolyseprodukts **61** kommt, wird auch hier der kontinuierliche Anstieg des durch hydrolytische Spaltung gebildeten **60** zur quantitativen Analyse herangezogen.

D) Die Bildung von *p*-Nitrobenzoesäure (**63**), des Aminolyseprodukts **61** und des Tris-Addukts **79** kann ebenfalls quantitativ ausgewertet werden.

Die einzelnen Reaktionen werden nur bis zu einem bestimmten Umfang durchgeführt und beim Erreichen folgender Kriterien terminiert. Beendet wird eine laufende Reaktion, wenn sich mehr als 50 % an Hydrolyseprodukt **60** gebildet hat oder eine Zeitspanne vom Startpunkt an von mehr als 10000 min vergangen ist, wobei das erste Kriterium nicht erreicht wird. Alle Messungen werden in einzelnen, mit selbstverschließenden Teflonkappen versehenen, Probengläsern durchgeführt. Die Teflondichtung wird mit einer Hamiltonspritze während der Entnahme durchstoßen und die Probe im Anschluss wieder in den Ofen gestellt. Eine Überprüfung auf Verschlussdichtigkeit der eingesetzten Probengläschen wird mittels eines Gewichtskonstanztests durchgeführt. Zu diesem Zweck werden 1.5 ml einer auf die Ionenstärke I = 1 eingestellten Solelösung in die Probengläschen überführt und bei der gewählten Temperatur von 37 °C über die doppelte Länge einer maximalen Einzelkinetik temperiert (also 20000 min) und täglich gewogen. Mit einem Gesamtgewichtsverlust von 0.1 % über einen Zeitraum von fast zwei Wochen, kann von einer guten Dichtigkeit der verwendeten Gläschen während der Messungen ausgegangen werden.

Die mittels der oben gezeigten Spektren erhaltenen Daten werden anhand ihrer Signalflächen analysiert. Dies ist möglich, da alle in der Kinetik beobachteten Substanzen die *p*-Nitrobenzoylgruppe als Chromophor tragen und nachweisbar über das gleiche Absorptionsmaximum bei 264 nm verfügen. Der Reaktionsfortgang kann bei dieser Wellenlänge durch zwei Signale verdeutlicht werden. Die Abnahme von **59** [Substrat] und der Anstieg des Hydrolyseprodukts **60** bieten sich zur Analyse an, da die Zunahme des Signals für **60** proportional zur Verminderung der Anfangskonzentration an Substrat **59** ist (als Summe beider Diastereomere **59a** und **59b**). Der kinetische Zusammenhang der beobachteten Komponenten ist in Gleichung 5.5-1 und Gleichung 5.5-2 dargestellt, unter der Annahme eines kinetischen Verhaltens nach pseudo-erster Ordnung. Aufgetragen wird der aus den Peakflächen berechnete prozentuale Anteil von **60** zum Zeitpunkt t (als $\frac{[\mathbf{60}]_t}{[\mathbf{59}]_0} = U_i$ in %) gegen die Zeit t in Minuten (siehe Abbildung 5-24). Die beobachtete Geschwindigkeitskonstante k_{obs} wird durch Anpassung einer exponentiell abfallenden Kurve nach Gleichung 5.5-2c ermittelt.

Gleichung 5.5-1:

$$-\frac{d[Substrat]}{dt} = k_{obs}[Substrat]$$

Gleichung 5.5-2

a) $$[Substrat] = [Substrat]_0 \cdot e^{-k_{obs}*t}$$

b) mit $$[Substrat] = [Substrat]_0 - [\mathbf{60}]_t$$

c) $$[\mathbf{60}]_t = [Substrat]_0 \cdot \left(1 - e^{-k_{obs}*t}\right)$$

Durch den nahezu idealen exponentiellen Abfall des Substrates **59** können die mit Gleichung 5.5-3 ermittelbaren Halbwertszeiten $t_{1/2}$ als Maß für den Reaktionsfortgang herangezogen werden (graphische Darstellung siehe Abbildung 5-24).

Gleichung 5.5-3

$$\frac{\ln 0.5}{-k_{obs}} = \frac{\ln 2}{k_{obs}} = t_{1/2}$$

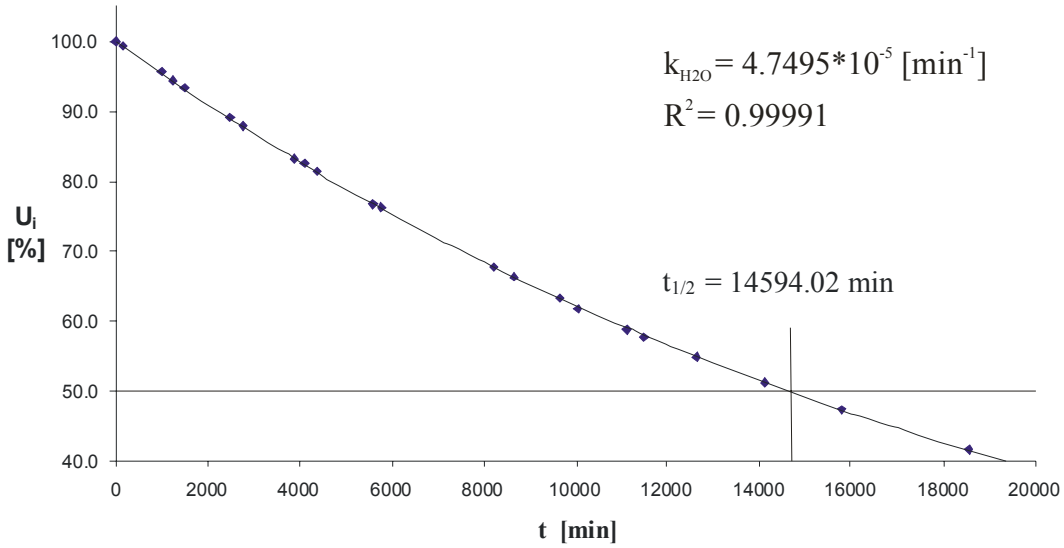


Abbildung 5-24: Repräsentative Darstellung des exponentiellen Abfalls der erhaltenen Datenpunkte aus einer Hydrolysereaktion nach Gleichung 5.5-2 bei einem pH-Wert von 7.4 (eingestellt mit Phosphat-Puffer). Zu erkennen ist auch die graphische Entwicklung einer Halbwertszeit $t_{1/2}$, die nach Gleichung 5.5-3 ermittelt wird. Als Maß für die Genauigkeit der exponentiellen Annäherung der Kurve an die experimentellen Werte, ist der Korrelationskoeffizient R^2 angegeben.

Vor der eigentlichen kinetischen Vermessung der verschiedenen Hydrolysereaktionen von **59** werden einige Kontrollexperimente durchgeführt. Diese Messungen sollen Aufschluss darüber geben, welcher Puffer bei welchem pH-Wert eine optimale Überwachung der Komponenten bei einer Temperatur von 37 °C zulässt. Die von *Chiosis et al.*[116] gewählten Konzentrationen von 0.5 mM Substrat und 20 mM Puffer (I = 1) werden beibehalten.

5.6 pH-Wert-abhängige Hydrolyse des D-Ala-D-Lac-Motivs (59), Pufferwahl und Hydrolysestabilität der Referenzsubstanzen 60 und 61

Allen Messungen voran wird eine pH-Wert abhängige Hydrolysereaktion mit zwei verschiedenen Puffern durchgeführt. Zur Anwendung kommt ein Phosphatpuffer, bestehend aus K_2HPO_4- und KH_2PO_4-Lösungen, die jeweils nach gefordertem pH-Wert zusammengegeben werden. Der Phosphatpuffer wird v. a. für den unter dem physiologischen Wert von 7.5 liegenden Bereich eingesetzt. Für die höheren Bereiche der pH-Skala wird der organische Tris-Puffer (1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (**78**)) gewählt. Vermessen wird das pH-Intervall von 6.5 - 8.5, wobei sich an dem pH-Wert von 7.5 beide Puffer für eine

vergleichenden Studie anbieten. Die erhaltenen U_i-Werte der einzelnen Umsetzungen werden gegen die Zeit t aufgetragen und gemäß Gleichung 5.5-2c ausgewertet. Die dabei ermittelten Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für die pH-Wert abhängige Hydrolyse sind in Abbildung 5-25**A** gezeigt. In Abbildung 5-25**B** sind die jeweiligen beobachteten unimolekularen Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} gegen den pH-Wert aufgetragen.

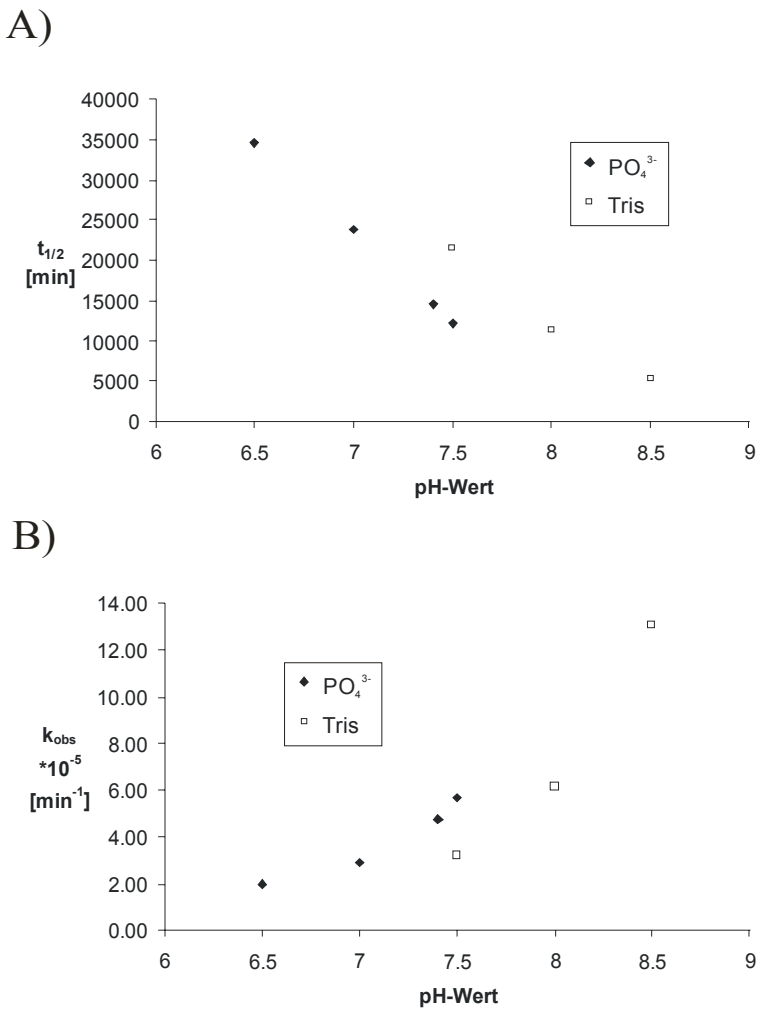


Abbildung 5-25: A) Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für die Hydrolyse von Depsipeptid **59** in unterschiedlichen Pufferlösungen (gefüllte Rauten = Phosphatpuffer, nicht gefüllte Quadrate = Tris-Puffer). **B)** Auftragung der über den exponentiellen Abfall aus Gleichung 5.5-2 erhaltenen beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} gegen die entsprechenden pH-Werte der beiden Puffer. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte aus bis zu drei individuellen Messungen.

In den obigen Darstellungen kann man sehr gut erkennen, dass die Hydrolyse in Anwesenheit des Phosphatpuffers (gefüllte Rauten) rascher verläuft als mit Tris-Puffer (nicht gefüllte Quadrate). Man erhält wesentlich kürzere Halbwertszeiten mit dem Phosphatpuffer von 12381 min ($k_{obs} = 5.69*10^{-5}$ min^{-1}) im Gegensatz zu den mit Tris-Puffer durchgeführten Reaktionen mit 21584 min ($k_{obs} = 3.21*10^{-5}$ min^{-1}). Deshalb fällt die Entscheidung zugunsten

des Tris-Puffers in den weiteren mit den 2-Pyridonderivaten als Katalysatoren gemessenen Kinetiken aus. An die pH-Wert abhängigen Messungen schließt sich eine Untersuchung in Abhängigkeit der Pufferkonzentration bei konstanter Ionenstärke I = 1 und einem pH-Wert von 7.5 an. Diese ist für den Bereich von 20 - 100 mM Tris-Puffer gegen k_{obs} in Abbildung 5-26 illustriert. Wie man ganz deutlich feststellen kann, steigen mit höherer Pufferkonzentration die k_{obs}-Werte linear an. Deswegen wird auch hier 20 mM als die kleinste noch vertretbare Konzentration für alle weiteren Messungen benutzt. Ein leichter und kontinuierlicher Anstieg der kinetischen Parameter mit steigender Pufferkonzentration ist nicht ungewöhnlich und konnte auch von *Zerner et al.*[151] für den hier eingesetzten Tris-Puffer **78** beobachtet werden. Die Arbeitsgruppe beschäftigte sich unter anderem mit dem Katalysephänomen von 1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (**78**). Der lineare Anstieg mit höherer Pufferkonzentration, wie er auch hier erhalten wird (siehe Abbildung 5-26), ist charakteristisch für Reaktionen, die generell einer Säure- bzw. Basenkatalyse unterworfen sind.[152]

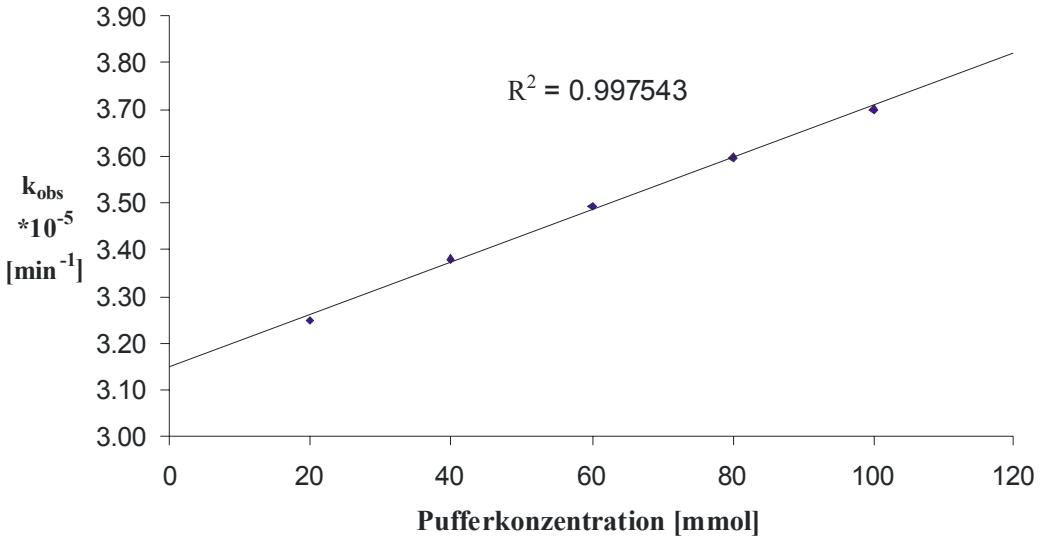


Abbildung 5-26: Darstellung der linearen Abhängigkeit der Tris-Pufferkonzentration von der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs}. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte aus bis zu drei individuellen Messungen.

Da sowohl steigende pH-Werte (Abbildung 5-25) als auch höhere Pufferkonzentrationen (Abbildung 5-26) zu einem eindeutig schnelleren Abbau von **59** führen, ist bei der vorliegenden Untersuchung allgemein von einer basenkatalytischen Reaktion auszugehen. Der pH-Wert von 7.5 wird neben einer 20 mM Tris-Pufferkonzentration **78** für die kinetische

Messung gewählt, da hier ein guter Kompromiss zwischen Reaktionsdauer und der mit steigendem pH-Wert stärkeren Basenkatalyse erreicht werden kann.
Eine Überprüfung der Hydrolysebeständigkeit der synthetisierten Referenzsubstanzen **60** und **61** wird unter den oben angegebenen Bedingungen ebenfalls durchgeführt. Es können aber keine Beobachtungen in dem gewählten Zeitintervall von 10000 min gemacht werden, die den vorliegenden kinetischen Verlauf maßgeblich beeinträchtigen. Eine schwache Hydrolysetätigkeit, die aufgrund einer Spaltung der amidischen Bindung zum Chromophor zu einer höheren *p*-Nitrobenzoesäurekonzentration (**63**) führt, konnte in beiden Fällen erst nach einem Zeitraum von 100 Tagen detektiert werden (für detaillierte Angaben siehe Tabellen unter Punkt 8.3 im Abschnitt 8 "*Kinetische Messungen*").

5.7 Abhängigkeit der mit *n*-Butylamin (6) basenkatalysierten Hydrolyse des D-Ala-D-Lac-Motivs (59) vom pH-Wert

Analoge Studien wie für die Hydrolyse mit variablem pH-Wert werden auch für den Bereich von 6.5 - 9.0 im Falle der mit *n*-Butylamin (**6**) katalysierten Hydrolysereaktion durchgeführt. Die Konzentrationsverhältnisse werden auch hier mit 0.5 mM Substrat **59** und 20 mM Phosphat- oder Tris-Puffer bei I = 1 gewählt. Die *n*-Butylaminkonzentration (**6**) wird wie in den im unpolaren Lösemittel durchgeführten kinetischen Messungen in einem fünffachen Überschuss zur Esterkomponente **59** gewählt, um Reaktionsbedingungen pseudo-erster Ordnung beibehalten zu können. Vergleicht man auch hier die für die Halbwertszeiten (Abbildung 5-27**A**) und k_{obs}-Werte (Abbildung 5-27**B**) ermittelten Zahlen, so ergibt sich auch hier ein leicht positiver katalysierender Effekt beim Einsatz des Phosphatpuffers, der aber weit weniger ins Gewicht fällt als noch bei der unkatalysierten Hydrolysereaktion. Die beiden Punkte für den pH-Wert bei 7.5 (gefüllte Rauten = Phosphatpuffer, nicht gefüllte Quadrate = Tris-Puffer) sind weniger weit voneinander entfernt als es noch in der Hydrolyse der Fall war ($t_{1/2}(PO_4^{3-})$ = 8242 min und $t_{1/2}$(Tris) = 9439 min). Der Bereich um pH 7.5 mit einer Tris-Pufferkonzentration von 20 mM kann auch bei der mit **6** basenkatalysierten Hydrolyse für die kinetischen Studien verwendet werden.

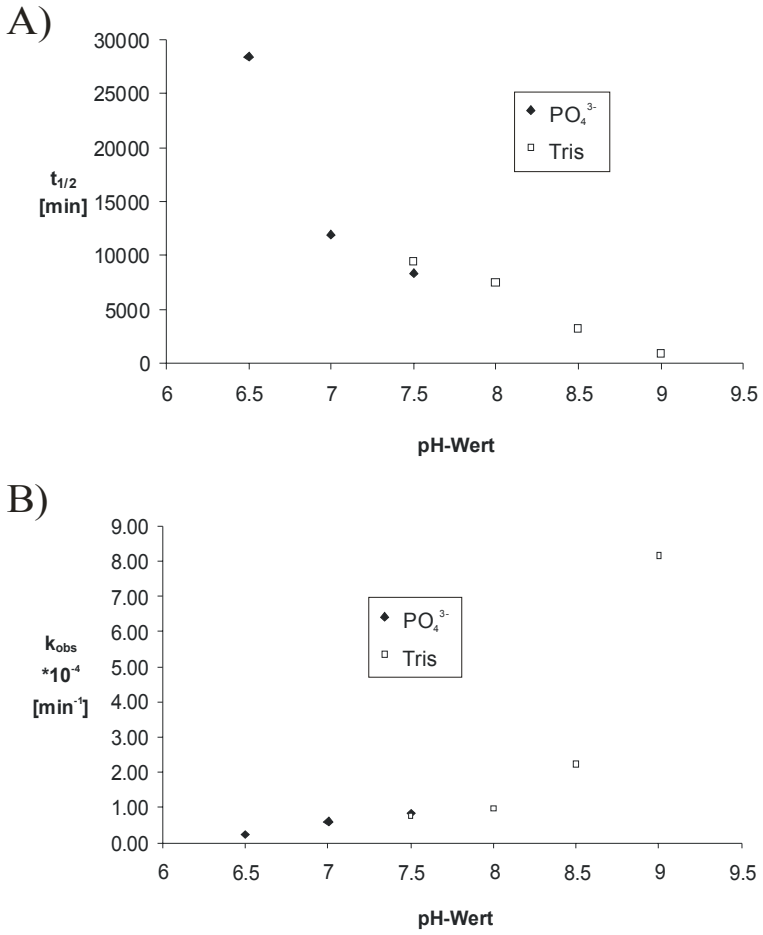


Abbildung 5-27: A) Auftragung der mit dem exponentiellen Abfall aus Gleichung 5.5-3 ermittelten Halbwertszeiten $t_{1/2}$ der beiden eingesetzten Puffer (gefüllte Rauten = Phosphatpuffer, nicht gefüllte Quadrate = Tris-Puffer) gegen den entsprechenden pH-Wert der hier mit **6** durchgeführten basenkatalysierten Hydrolyse von **59**. **B)** Auftragung der ebenfalls über den exponentiellen Abfall aus Gleichung 5.5-2 erhaltenen beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} gegen die entsprechenden pH-Werte beider Puffer. Angegeben sind jeweils die Daten bzw. Mittelwerte aus bis zu zwei individuellen Messungen.

5.8 Einsatz von 2-Pyridonen als Katalysatoren in der Hydrolysereaktion des Depsipeptids 59

Nachdem der zu messende pH-Bereich für beide Reaktionsarten eingegrenzt ist, wird der Einfluss der 2-Pyridonderivate **20**, **29** und **56** auf die Hydrolysereaktionen untersucht. Die Messungen werden im Gegensatz zu *Chiosis et al.*[116] jeweils so arrangiert, dass zwischen dem Substrat **59** und dem einzusetzenden Katalysator ein Verhältnis von 1:1 vorliegt. Diese Bedingungen können im Falle der Verbindung **20** und **29** eingehalten werden, Verbindung **56** muss mit 10 Vol.-% DMSO als Lösungsvermittler versetzt werden und wird etwas später diskutiert. Die Hydrolysereaktionen können so unter Zusatz der Verbindungen **20** und **29**

vermessen und nach oben beschriebener Weise ausgewertet werden. In Tabelle 5.1 sind die Ergebnisse für die Hydrolyse und in Tabelle 5.2 die Resultate für die basenkatalysierte Hydrolyse jeweils als mathematischer Mittelwert aus mindestens zwei Einzelmessungen angegeben. In der nachfolgenden Abbildung 5-28 sind die in den Tabellen gezeigten Daten für die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} beider Hydrolysetypen und die mit **20** bzw. **29** versetzten Katalysereaktionen dargestellt.

Tabelle 5.1: Resultate der mit Pyridon **20** und **29** versetzten Hydrolysereaktion von **59** bei pH 7.5 (Tris), 37 °C und I = 1. Zum Vergleich ist auch eine unter analogen Bedingungen durchgeführte, nicht katalysierte Hydrolysereaktion aufgeführt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte der beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} und der Halbwertszeiten $t_{1/2}$ aus mindestens zwei individuellen Messungen.

Hydrolyse	**Kat [c]**	$\overline{k_{obs}}$ **[*10^{-5} min^{-1}]**	$\overline{t_{1/2}}$ **[min]**
ohne Zusatz	-	$2.836 \pm 1.8*10^{-2}$	24438.84 ± 156.35
mit **20**	0.5 mM	$2.798 \pm 0.4*10^{-2}$	24764.66 ± 37.04
mit **29**	0.5 mM	$2.780 \pm 0.7*10^{-2}$	24930.46 ± 58.33

Tabelle 5.2: Resultate der mit Pyridon **20** und **29** versetzten basenkatalysierten Hydrolyse von **59** bei pH 7.5 (Tris), 37 °C und I = 1. Zum Vergleich ist auch eine unter analogen Bedingungen durchgeführte basenkatalysierte Hydrolyse aufgeführt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte der beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} und der Halbwertszeiten $t_{1/2}$ aus mindestens zwei individuellen Messungen.

basenkatalysierte Hydrolyse	**Kat [c]**	$\overline{k_{obs}}$ **[*10^{-5} min^{-1}]**	$\overline{t_{1/2}}$ **[min]**
ohne Zusatz	-	$7.327 \pm 3.7*10^{-2}$	9459.80 ± 48.12
mit **20**	0.5 mM	$7.379 \pm 2.0*10^{-2}$	9394.03 ± 24.14
mit **29**	0.5 mM	$7.221 \pm 2.5*10^{-2}$	9598.94 ± 33.14

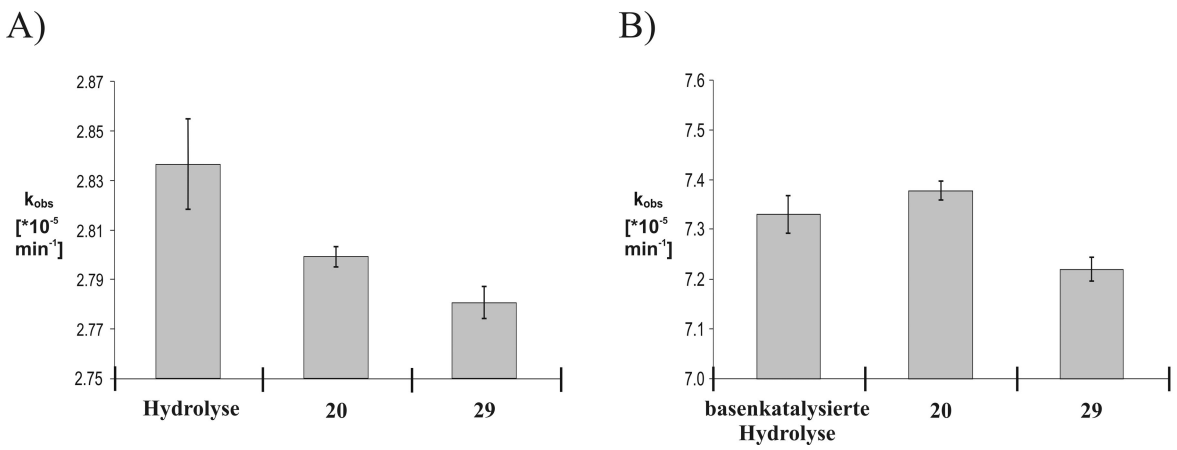


Abbildung 5-28: A) Graphische Darstellung der in Tabelle 5.1 aufgeführten k_{obs}-Werte für die unkatalysierte **Hydrolyse** und die mit **20** und **29** versetzten Hydrolysereaktionen. **B)** Graphische Darstellung der in Tabelle 5.2 aufgeführten k_{obs}-Werte für die **basenkatalysierte Hydrolyse** und die mit **20** und **29** versetzten, basenkatalysierten Untersuchungen.

Wie den Tabellen 5.1 und 5.2 und der graphischen Darstellung in Abbildung 5-28 entnommen werden kann, kommt es durch Zugabe der Pyridonderivate **20** und **29** zu keinem beobachtbaren katalytischen Effekt bezüglich der Spaltungsreaktion der Esterbindung in **59**. Im Falle der mit **29** versetzten Hydrolysereaktion ergibt sich eine Hemmung der Gesamtreaktion in Höhe von +2 % (24439 min zu 24930 min; Δ = 491 min), beim Zusatz von **20** um +1.3 % (24439 min zu 24765 min, Δ = 329 min).Vergleicht man die k_{obs}-Werte der basenkatalysierten Hydrolyse, so beschleunigt sich die Reaktion bei Zugabe von **20** um lediglich 66 min (-0.7 %). Bei der Beimengung von **29** erhält man wiederum eine Verminderung der Reaktionszeit um 139 min (+1.5 %).

Eine Aminolysereaktion mit dem zugegebenen Nucleophil *n*-BuNH_2 (**6**) in der basenkatalysierten Hydrolyse kann nicht beobachtet werden. Zu analogen Ergebnissen kommt auch die Arbeitsgruppe um *Pratt et al.*[153] Sie untersuchten die mit *ß*-Lactamase katalysierten Hydrolyse- und Aminolysereaktionen unterschiedlicher acyclischer Depsipeptidderivate, analoger Struktur zum D-Ala-D-Lac-Motiv (**59**), unter ähnlichen Bedingungen (wässriges System mit pH-Wert 7.5, 20 mM MOPS-Puffer, 25 °C). In ihrer Studie konnten sie zeigen, dass die Aminolysereaktion von der spezifischen Struktur der eingesetzten Nucleophile stark abhängig ist. Unter einer Vielzahl von getesteten Substanzen, wie Aminosäuren und Peptiden, erwiesen sich auch verschiedene Amine, wie *n*-Butylamin (**6**), Ethanolamin und 2-Phenylethylamin als wirkungslos in der Aminolysereaktion zur Ausbildung von Amidstrukturen.[153b] Als Grund für die Unwirksamkeit geben sie eine starke gerichtete Wechselwirkung zwischen dem *ß*-Lactamase-Enzym und den Aminen an. Sie konnten ebenfalls keine spontane Aminolyse in der nicht-enzymatischen Reaktion beobachten.[153f] Weiter fanden sie heraus, dass eine merkliche nicht-enzymatische Hydrolyse mit höherem pH-Wert einsetzt. Diese Beobachtung ist analog zu den hier vorliegenden Ergebnissen der pH-Wert-abhängigen Untersuchungen.[153b]

Ein möglicher Grund für das Ausbleiben einer Aminolysereaktion mit *n*-Butylamin (**6**) wäre eine Assoziation zwischen dem Amin **6** und weiteren im Reaktionsmedium vorhandenen Substanzen. Ein solches Phänomen würde zwar ein Ausbleiben der Aminolysereaktion erklären, kann aber mit der vorliegenden Analysenmethode nicht nachgewiesen werden. Ein Hauptgrund für das Ausbleiben lässt sich durch einen Vergleich der pK_A-Werte finden, die Aufschluss über die Konzentration an freier Aminkomponente geben. Das hier eingesetzte *n*-Butylamin (**6**) liegt bei 25 °C je nach Ionenstärke der wässrigen Lösung als protonierte Spezies (-NH_3^+) mit einen pK_A-Wert von 10.55 - 10.77 vor.[154] Damit liegt das freie Amin nur in einer Konzentration von weniger als 0.7 ‰ zur eingesetzten Anfangskonzentration vor.

Ein pH-Profil zur Bestimmung der im gepufferten Medium tatsächlich vorhandenen Aminkonzentration ist in Abbildung 5-29 gezeigt. Es werden die Prozente der Molfraktionen α/1-α von Base ($-NH_2$) zur Säure ($-NH_3^+$) basierend auf dem pK_A-Wert von 10.66 gegen die entsprechenden pH-Werte aufgetragen.

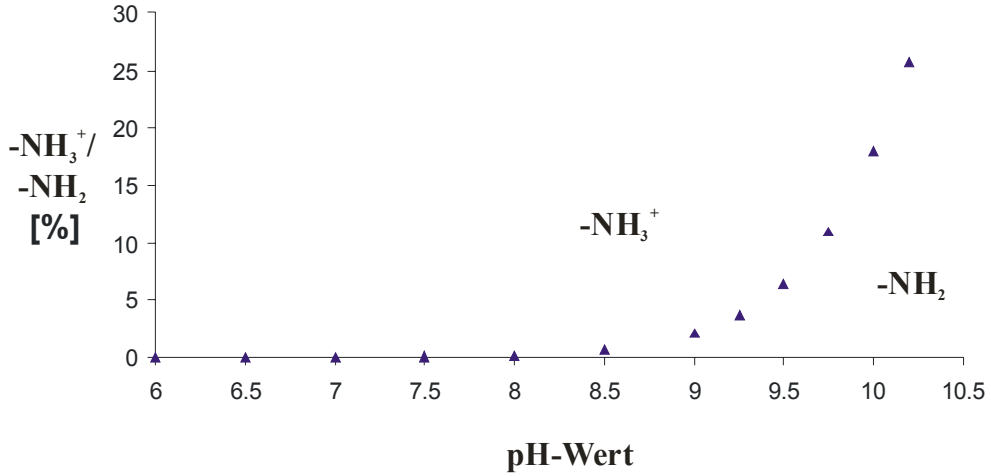


Abbildung 5-29: Darstellung der Konzentrationsverhältnisse von protonierter ($-NH_3^+$) und nicht protonierter ($-NH_2$) Verbindung **6** bei verschiedenen pH-Werten in Prozent bezüglich der freien Base. Die Werte wurden mit der *Henderson-Hasselbalch-Gleichung* [pH = pK_A+log(Base/Säure)] mit einem pK_A-Wert von 10.66[154] für **6** ermittelt.

Wie der Abbildung 5-29 entnommen werden kann, liegt die Mehrheit an **6** bei einem pH-Wert von 7.5 als protonierte Spezies ($-NH_3^+$) vor. Die Puffersubstanz **78** dagegen, ebenfalls ein primäres Amin, besitzt je nach Ionenstärke und Temperatur der wässrigen Lösung einen pK_A-Wert von 8.1 - 8.3[154b,155] und liegt zudem in einer achtfach höheren Anfangskonzentration im Reaktionsmedium vor. Der Anteil an unprotonierter Spezies bei einem pK_A-Wert von 8.3 (25 °C, I = 1) beträgt dann ca. 14 % und ist somit wesentlich höher als bei **6**. Eine Amidbildungstendenz mit Substanz **78** ist daher eher wahrscheinlich. Eine wesentliche Rolle sollte auch die Nucleophilie der beiden primären Amine **6** und **78** spielen, denn je nucleophiler das Amin im vorliegenden Medium ist, desto eher und effektiver sollte eine Aminolysereaktion stattfinden. Diese Annahme wird von *Díaz et al.*[156] mittels kinetischer Experimente unterstützt. Die Gruppe untersuchte die bifunktionelle Katalyse in der Aminolysereaktion von *β*-Lactamen durch den Einsatz von kleinen Nucleophilen sowohl mit theoretischen Methoden als auch kinetischen Messungen. Zur Anwendung kamen Ethanolamin und Propylamin, die simultan als Puffer und Nucleophil dienten. Das nucleophil schwächere Ethanolamin war dabei während der Aminolysereaktion weniger aktiv als das Propylamin.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der eingesetzten 2-Pyridone **20** und **29** lassen sich ebenfalls aus ihren pK_A-Werten erschließen. Mit einem pK_A-Wert von 11.74 ist **20** (in H_2O, 25 °C)[157] deutlich basischer als Verbindung **29**. Für **29** wird ein pK_A-Wert über Titrations-Experimente von 9.25 ermittelt.[157a,158] Vergleicht man diese Werte mit den Ergebnissen für die Hydrolysereaktion, so ergibt sich bei Erhöhung der Basizität der eingesetzten Verbindung auch höhere k_{obs}-Werte. Da die beiden verwendeten Pyridone selbst bei pH 7.5 fast nur in der Neutralform vorliegen, ergibt sich auch kein großer Unterschied untereinander. Eine ähnliche Tendenz wird auch für die basenkatalysierte Hydrolyse gefunden. Je größer der pK_A-Wert ist desto schneller wird die Reaktion im direkten Vergleich der beiden Substanzen. Dieser Effekt mag zum Teil auch auf die puffernden Eigenschaften der bifunktionellen Pyridonderivate zurückführbar sein. Aufgrund der bereits im Vorfeld erwähnten Donor- und Akzeptoreigenschaften erfüllen sie im wesentlichen die Grundvoraussetzungen einer Puffersubstanz. Eine geringfügige Veränderung der Gesamtbasizität bzw. -acidität der Reaktionslösung lässt sich aber bei Zusatz der aktiven Substanzen nicht komplett ausschließen, was möglicherweise eine weitere Ursache für die geringen zeitlichen Unterschiede in den verglichenen Messungen ist.

Der Effekt zur Bildung des Tris-Pufferprodukts **79** ist ähnlich zu den obigen Beobachtungen. Bei Zugabe der Pyridonkomponente **20** oder **29** in den Hydrolysereaktionen zeigt hingegen keine der beiden Substanzen eine Wirkung auf die Entstehung von **79**. Die Bildung von **79** beträgt mit und ohne Pyridonzusatz max. 0.5 % nach 10000 min. Im basenkatalysierten Fall dagegen kommt es insgesamt zu einem höheren Umsatz von Komponente **79** von bis zu 2.8 %. Dies gilt auch für die mit **20** oder **29** versetzte basenkatalysierte Reaktionsroute.

Analog zu der obigen Messreihe von **20** und **29** wird auch eine Überprüfung des Pyridonderivats **56** vorgenommen. Aufgrund der schlechteren Löslichkeit der Komponente im wässrigen Reaktionsmedium müssen 10 Vol.-% DMSO als Lösungsvermittler verwendet werden. Somit können die Resultate von **20** und **29** nicht direkt mit der von **56** verglichen werden, da das Lösemittel nicht mehr identisch ist und auch kein 1:1 Verhältnis zwischen Katalysator **56** und Substrat **59** erreicht wird. Die Katalyse wird daher mit 12.5 % Katalysator durchgeführt. Sowohl die unkatalysierten als auch die mit *n*-Butylamin (**6**) basenkatalysierten Hydrolysen können vermessen und nach oben beschriebener Weise ausgewertet werden. In Tabelle 5.3 ist das Ergebnis für die Hydrolyse und in Tabelle 5.4 das Resultat für die mit **6** basenkatalysierte Hydrolyse jeweils als mathematischer Mittelwert aus mindestens zwei Einzelwerten und die Umsetzung für die mit **56** versetzten Reaktionspfade angegeben.

Tabelle 5.3: Ergebnis der mit Verbindung **56** versetzten Hydrolysereaktion von **59** (pH-7.5 (Tris), 37 °C, I = 1, 10-Vol% DMSO). Zum Vergleich ist eine Hydrolysereaktion mit aufgeführt. Angegeben wird der Mittelwert der beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} und der Halbwertszeiten $t_{1/2}$ aus zwei individuellen Messungen.

Hydrolyse	**Kat [c]**	$\overline{k_{obs}}$ **[*10^{-5} min^{-1}]**	$\overline{t_{1/2}}$ **[min]**
ohne Zusatz	-	2.217 ± 0.11	31262.63 ± 22.93
mit **56**	0.06 mM	2.206 ± 0.12	31417.24 ± 37.36

Tabelle 5.4: Ergebnis der mit Verbindung **56** versetzten, basenkatalysierten Hydrolyse von **59** (pH-7.5 (Tris), 37 °C, I = 1, 10-Vol% DMSO). Zum Vergleich ist eine basenkatalysierte Hydrolyse mit aufgeführt. Angegeben wird der Mittelwert der beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} und der Halbwertszeiten $t_{1/2}$ aus zwei individuellen Messungen.

basenkatalysierte Hydrolyse	**Kat [c]**	$\overline{k_{obs}}$ **[*10^{-5} min^{-1}]**	$\overline{t_{1/2}}$ **[min]**
ohne Zusatz	-	4.359 ± 0.02	15900.42 ± 14.05
mit **56**	0.06 mM	4.331 ± 0.02	16006.19 ± 14.14

In der nachfolgenden Abbildung 5-30 sind die in den Tabellen 5.3 und 5.4 gezeigten Daten für die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} für **56** und zur Kontrolle die k_{obs}-Werte der jeweils unkatalysierten (**A**) und basenkatalysierten Hydrolyse (**B**) graphisch dargestellt.

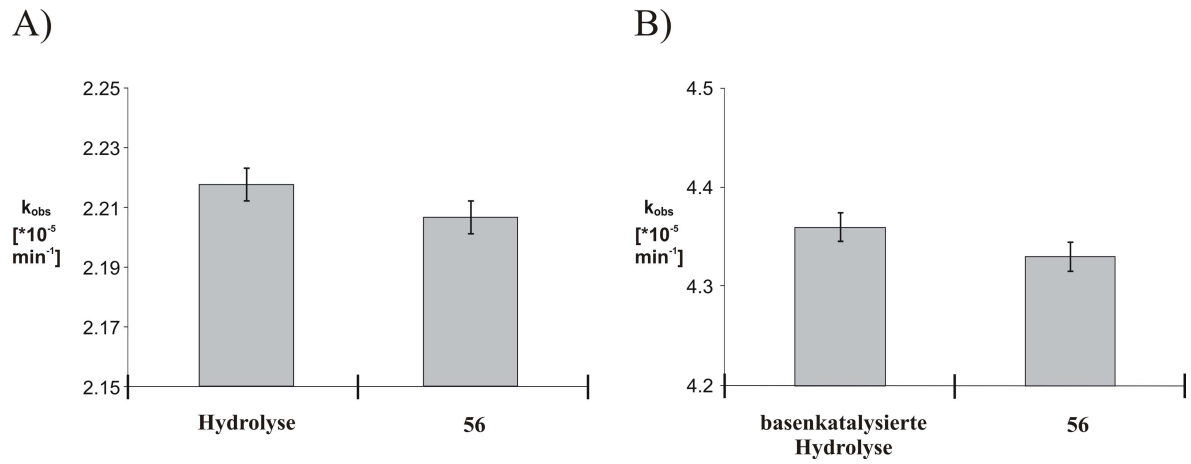


Abbildung 5-30: A) Graphische Darstellung der in Tabelle 5.3 aufgeführten k_{obs}-Werte für die unkatalysierte **Hydrolyse** und die mit **56** versetzte Hydrolysereaktion **B)** Graphische Darstellung der in Tabelle 5.4 aufgeführten k_{obs}-Werte für die ohne und mit **56** versetzte **basenkatalysierte Hydrolyse**.

Auch hier kann analog zu den vorhergehenden Umsetzungen mit **20** und **29** kein katalytischer Effekt der beigemischten Substanz **56** mit Wirkung auf eine verbesserte Hydrolyse der Esterbindung gefunden werden. Durch Zugabe des DMSO kommt es insgesamt in beiden Reaktionstypen zu einer verlangsamten Gesamtreaktion. Ein hemmender Effekt ist auch hier bei Zugabe der Pyridonverbindung **56** in beiden Fällen zu beobachten, der auch hier auf eine

mögliche Pufferwirkung der Pyridonsubstanz zurückzuführen ist und den Gesamt-pH-Wert der Lösung geringfügig verändern mag.

Auch bei der Untersuchung mit Pyridon **56** kommt es zur Bildung der Pufferadditionsverbindung **79**. Bei Zugabe von **56** zeigt sich in der Hydrolyse aber im Gegensatz zu den obigen Umsetzungen eine Wirkung auf die Entstehung von **79**. Im basenkatalysierten Pfad ist die Bildung von Verbindung **79** für die mit Substanz **56** versetzte Reaktionslösung nach 10000 min Reaktionszeit um 10 % vermindert, und zwar von 4.42 % Gesamtbildung auf 4.00 %. Im Fall der unkatalysierten Hydrolyse kommt es nach der gleichen Reaktionszeit zu einem Gesamtumsatz von ca. 0.7 % sowohl mit Substanz **56** als auch ohne.

Insgesamt muss also festgestellt werden, dass nach den bisher vorliegenden Ergebnissen die Pyridonderivate **20**, **29** und **56** keinen unterstützenden Effekt bei der hydrolytischen Spaltung der Esterbindung in der D-Ala-D-Lac-Einheit von Gram-positiv Bakterien zeigen. Zumindest nicht, wenn sie als Individualsubstanzen unter den hier vorliegenden Bedingungen eingesetzt werden. Eine mögliche Wirkung in Kombination mit Vancomycin sollte aber nicht ausgeschlossen werden. Beim Einsatz von *n*-Butylamin (**6**) als nucleophile Komponente zeigt sich eine eindeutige Beschleunigung in der Abbaureaktion des Depsipeptids **59**, die auf eine basenkatalytische Wirkung des Amins zurückzuführen ist. Vergleicht man die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten der beiden hydrolytischen Umsetzungen miteinander, so ergibt sich ein Verhältnis von 2.6 ($=k_{Amin}/k_{H2O}$) zugunsten der basenkatalysierten Reaktion. Dies wird auch durch die Beobachtung von *Chiosis et al.*[116] unterstützt, die beim Einsatz des S-Prolinolderivats **58**, das mit einer Aminopentanoylkette versehen wurde, eine erhöhte Hydrolyseaktivität feststellen konnten. Es wäre durchaus denkbar, dass es sich auch hier um einen basenkatalysierten Effekt handelt.

Weitere Vorteile würden sich demnach bestimmt aus einem alternativen Katalysatordesign ergeben. Dabei sollte der Einbau von Alkylaminseitenketten in den vorliegenden Pyridonstrukturen bei gleichzeitig guter Löslichkeit des Produkts im wässrigen System berücksichtigt werden.

5.9 Untersuchungen zur Spaltungstendenz der im D-Ala-D-Lac-Substrat (59) vorhandenen Amidbindung

Bereits in Kapitel 5.2 wird beobachtet, dass es während der laufenden Reaktion zu einem Bruch der im D-Ala-D-Lac-Substrat (**59**) vorhandenen Peptidbindung kommt. Die bei der Spaltung der zwischen Chromophor und D-Ala-D-Lac-Motiv lokalisierbaren Amidbindung freigesetzte *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) kann zweifelsfrei identifiziert werden (vgl. Spektren in Abbildung 5-20 und Abbildung 5-23). Während eines kinetischen Laufs steigt das bei einer Retentionszeit von ca. 17 min anwesende Signal zwar nur mit einem geringen Prozentsatz verglichen zur dominanten Hydrolysereaktion an, aber dafür kontinuierlich. Aufgrund des gleichen Chromophors kann **63** konzentrationsäquivalent zu den restlichen Produkten analysiert werden. In Tabelle 5.5 sind die nach über 10000 min Reaktionszeit erhaltenen Anteile an **63** der unterschiedlichen kinetischen Untersuchungen angegeben.

Tabelle 5.5: Umsätze der durch Amidspaltung erhaltenen *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) in den unkatalysierten, als auch mit **20** und **29** versetzten Reaktionspfaden nach über 10000 min. Die Werte sind auf die in der ersten Messung vorhandene Konzentration an **63** normiert und als Mittelwert aus zwei Einzelmessungen im Fall der katalysierten und drei Messungen im Fall der unkatalysierten Grundreaktionen angegeben.

	Anteil an **63** in Hydrolyse [%]	Steigerung in %	Anteil an **63** in basenkatalysierter Hydrolyse [%]	Steigerung in %
ohne Zusatz	0.10	-	0.21	-
mit **20**	0.19	90	0.30	43
mit **29**	0.17	70	0.31	48

Für die unkatalysierte Hydrolysereaktion wird ein Gesamtumsatz von 0.10 % an **63** erhalten. Vergleicht man dazu den Wert in der mit *n*-$BuNH_2$ (**6**) basenkatalysierten Reaktion, so verdoppelt sich der erhaltene Umsatz annähernd. Werden beide Reaktionsmedien mit dem Pyridonderivat **29** versetzt, so steigt die Spaltungstendenz der untersuchten Amidbindung um 70 % im Hydrolysepfad und um 48 % in der basenkatalysierten Umsetzung an. Bei Zugabe von Verbindung **20** kann in der Hydrolysereaktion der Verbindung **59** sogar ein 90 %iger und in der basenkatalysierten Umsetzung ein 43 %iger Anstieg an **63** verzeichnet werden. In Abbildung 5-31 sind repräsentative Kurvenverläufe der beiden Grundreaktionen (nicht gefüllte Quadrate) und der mit **20** versetzten Reaktionen (gefüllte Rauten) dargestellt. Aufgetragen wird in beiden Abbildungen der Anstieg der *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) gegen den

Reaktionsfortgang in Minuten für **A)** die Hydrolyse- und **B)** basenkatalysierte Hydrolysereaktion.

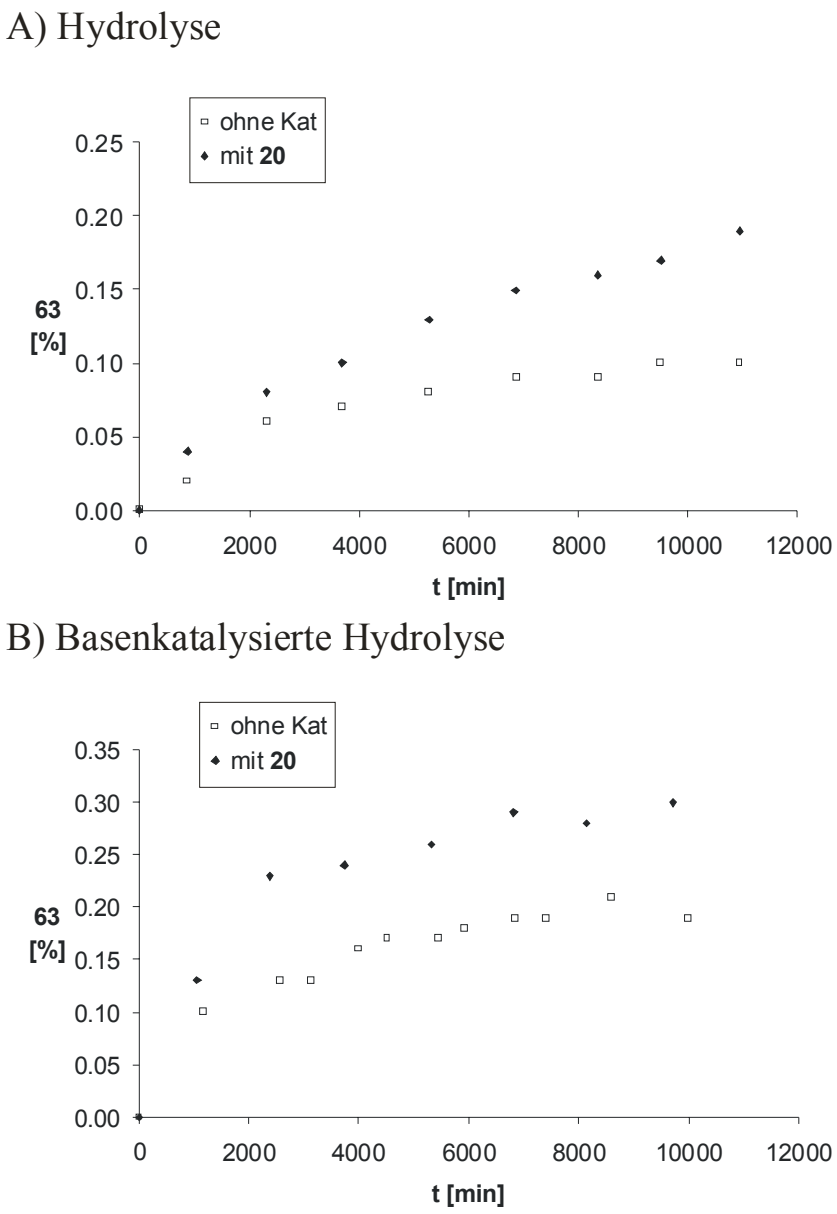


Abbildung 5-31: Repräsentative Darstellung jeweils einer Einzelmessung für den Anstieg der *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) bei **A**) einem mit **20** versetzten kinetischen Lauf und einer unkatalysierten Hydrolysereaktion (pH 7.5 (Tris), 37 °C und I = 1); und **B**) einem mit **20** versetzten kinetischen Lauf und einer mit **6** basenkatalysierten Hydrolyse (pH 7.5 (Tris), 37 °C und I = 1).

Werden die erhaltenen Datenpunkte über eine exponentielle Auswertungsmethode extrapoliert, so erhält man für die Amidspaltung in der unkatalysierten Hydrolysereaktion eine Halbwertszeit von 11.6 Jahren. Wird das Reaktionsmedium mit dem Pyridonderivat **20** versetzt (äquimolar zu **59**), so vermindert sich die Halbwertszeit $t_{1/2}$ auf 6.7 Jahre. Die mit **6** basenkatalysierte Hydrolyse ist von Anfang an schneller und kommt im pyridonfreien

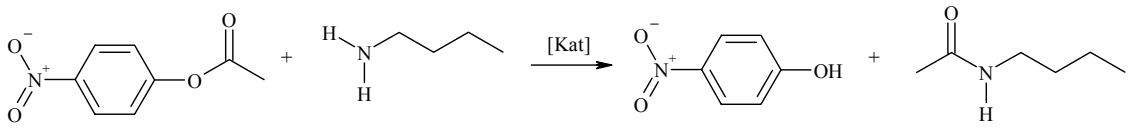
Reaktionsmedium auf eine Halbwertszeit für die Amidspaltung auf 4.9 Jahre und im mit 2-Pyridon katalysierten Pfad auf 3.3. Jahre.

Von ähnlichen Ergebnissen berichtet auch die Arbeitsgruppe um *Still*.[159] Sie untersuchten die nicht enzymatische Amidspaltungstendenz des polymergebundenen Tetrapeptids Phe-Phe-Phe-Gly über radioaktive Markierung am terminalen Glycin unter neutralen Bedingungen in Wasser (pH-Wert 7, 25 °C). Sie konnten zeigen, dass eine Spaltung zwischen der Phenylalanin- und Glycin-Einheit mit einer Halbwertszeit von annähernd 7 Jahren durch nicht-enzymatische hydrolytische Spaltung stattfindet. Die Autoren führen aber auch an, dass dieser Wert aufgrund möglicher sterischer Hinderungen des gebundenen Peptids auf dem Polymer und einer möglichen unterstützenden Wirkung des Polymers auf die Hydrolyse relativ klein ist. NMR-spektroskopische Untersuchungen von *Wolfenden et al.*[160] dagegen ergaben für das von ihnen untersuchte Dipeptid Gly-Gly einen Wert von 350 Jahren bei gleichen Reaktionsbedingungen (pH-Wert von 7 und 25 °C). *Hansen et al.*[161] bedienten sich des *N*-Phenylacetylglycinmotivs und ermittelten über HPLC-Messungen eine Halbwertszeit der Peptidbindungsspaltung unter neutralen Bedingungen in Wasser bei 37 °C von 243 Jahren. Abgesehen von den letzten beiden Zahlen sind im Vergleich auch die hier ermittelten Werte für die Halbwertszeiten der Peptidspaltungen wie bei *Still et al.*[159] relativ klein. Im vorliegenden Fall ist dies im wesentlichen auf die stark aktivierende Wirkung der *p*-Nitrobenzoylgruppe an der Peptidstruktur und nur bedingten Ähnlichkeiten zu den oben eingesetzten Substraten zurückzuführen. In den erwähnten Studien kommen durchweg Peptidstrukturen zum Einsatz. Im vorliegenden Fall wird das Depsipeptidsubstrat **59** mit einer zusätzlichen Esterstruktur verwendet, was möglicherweise zu einer weiteren Aktivierung der Spaltungstendenz der Peptidbindung führt. Die ungewöhnliche Umsatzsteigerung beim Einsatz von *p*-Nitroderivaten wurde auch intensiv von *Menger et al.*[162] untersucht. *Menger* selbst bezeichnet dieses Phänomen als das so genannte "*p*-Nitrophenylester Syndrom", da bei der Verwendung von weniger aktivierten Estern und Derivaten die starken Umsätze unproportional verringert werden.

6 Zusammenfassung

Synthese von funktionalisierten 3-Cyano-2-pyridonen

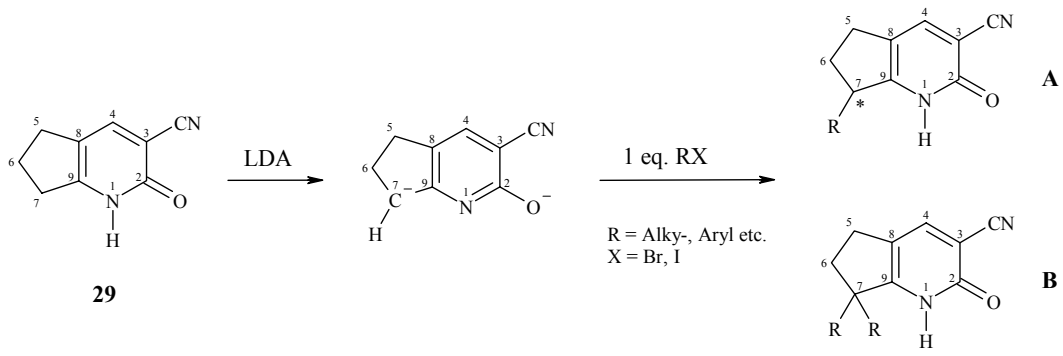
Basierend auf modifizierten Literaturvorschriften konnte eine Vielzahl von 3-Cyano-2-pyridonderivaten synthetisiert werden. Unter den erhaltenen Verbindungen befanden sich auch mehrere mit günstigen Löslichkeitseigenschaften, die im kinetischen Modellsystem der Esteraminolyse von **5** mit **6** auf katalytische Aktivität getestet werden konnten (Abbildung 6-1).



5 **6** **7** **8**

Abbildung 6-1: Aminolysereaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) zu den Produkten *p*-Nitrophenol (**7**) und *N*-Butylacetamid (**8**).

Das Katalysatordesign konnte durch eine selektive Substitution an den aliphatischen Resten verschiedener 3-Cyano-2-pyridonderivate wie z.B. **29** weiterentwickelt werden. Mit Hilfe der in Abbildung 6-2 gezeigten Reaktion konnten chirale Pyridone synthetisiert werden, die jeweils als racemische Gemische anfielen. Ein wesentlicher Vorteil der Reaktionssequenz aus Deprotonierung mit LDA und anschließender Alkylierung der dianionischen Zwischenstufe mit organischen Halogenverbindungen, besteht in der hohen Selektivität, die es ermöglichte, Substituenten in direkter Nachbarschaft zum reaktiven Zentrum einzuführen.



29

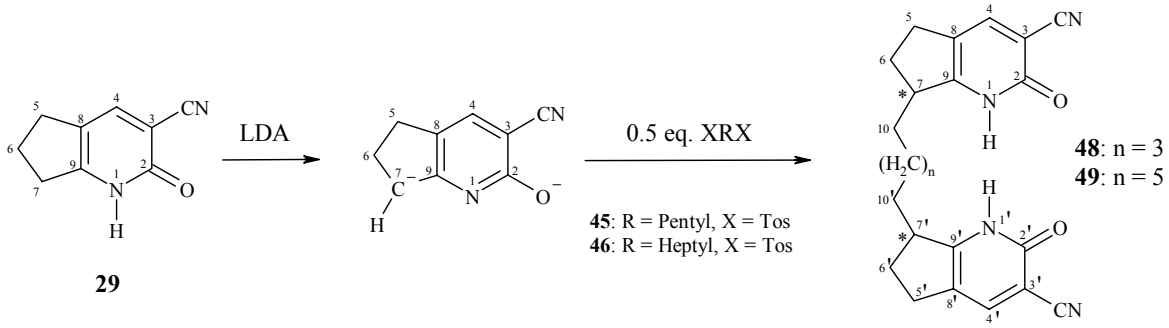
Abbildung 6-2: Reaktionssequenz zur Derivatisierung von Pyridon **29** mit einem LDA-vermittelten Deprotonierungsschritt und anschließender Alkylierung mit organischen Brom- bzw. Iodverbindungen. Die Reaktion liefert monosubstituierte und gleichzeitig chirale Pyridonderivate **A** und durch eine mögliche Dialkylierung die dialkylierten Produkte **B**.

Durch vergleichende Untersuchungen hinsichtlich des Substitutionsmusters an den Fünf- und Sechsringprodukten **29** und **30** konnte gezeigt werden, dass der Effekt einer Dialkylierung am Fünfringsystem wesentlich häufiger auftrat. Wurden kleine Substituenten eingeführt, wie z.B. Methylgruppen, so kam es im Falle von **29** zu einer 2:1 Verteilung zwischen mono- und dialkylierter Ausgangsverbindung. Bei der Methylierungsreaktion von Verbindung **30** unter gleichen Bedingungen wurde das aliphatische Sechsringsystem nur in einem Verhältnis von 20:1 einer Dialkylierung unterworfen. Wurden größere Reste zum Einbau gewählt, so erhielt man für **29** weiterhin einen hohen Anteil an Dialkylierung (z.B. beim Einsatz des 1-Brom-3-phenylpropans (**35**) ein Verhältnis von 5:1). Bei Verbindung **30** konnte bereits beim Einbau eines Ethylrests eine Dialkylierung der Ausgangsverbindung nur noch in Spuren im Rohprodukt festgestellt werden. Eine Erklärung für das unterschiedliche Substitutionsverhalten der augenscheinlich sehr ähnlichen Verbindungen kann sowohl in den unterschiedlichen Ringspannungen, als auch in den Kristallstrukturen der einzelnen Verbindungen gefunden werden. Das gespanntere Fünfringsystem in **29** behält die im Kristall gefundene, nahezu planare Anordnung auch nach der Substitution bei. Eine weitere Deprotonierung kann damit nicht verhindert werden. Zudem ist wegen der Ringspannung das Methinproton wesentlich saurer als in einer entsprechenden monoalkylierten Sechsringverbindung. Das Sechsringsystem in **30** nimmt im substituierten Zustand ebenso wie in der unsubstituierten Ausgangsverbindung eine Sesselform ein und richtet die Sesselkonformation in der monoalkylierten Form in eine Anti-Stellung zur eingeführten Alkylgruppe aus. Das neue Methinproton befindet sich damit in einer äquatorialen Position und kann aufgrund der nun geringeren kinetischen Acidität von der zudem sterisch etwas gehinderten Base LDA nicht mehr so leicht abstrahiert werden.

Synthese von flexiblen Bispyridonsystemen

Durch Umsetzung der Pyridonverbindung **29** mit maximal einem halben Äquivalent einer längerkettigen biterminalen Tosylverbindung war es möglich, flexible Bispyridone zu synthetisieren. Die in Abbildung 6-3 gezeigte Reaktionssequenz ist analog zu der oben angewandten. Eine Verkettung des Pyridons **29** gelang mit einer Fünfer- (**45**) und einer Siebenerkette (**46**) zu den Bispyridonverbindungen **48** und **49** mit annehmbaren Ausbeuten. Die Tosylgruppen wurden aufgrund ihrer besseren Abgangseigenschaften gegenüber einer Brom- bzw. Iodfunktionalität bevorzugt. Die synthetisierten Bispyridonysteme **48** und **49**

konnten aufgrund ihrer schlechten Lösungseigenschaften im organischen Reaktionsmedium des Modellsystems **5** mit **6** nicht auf eine katalytische Aktivität getestet werden.

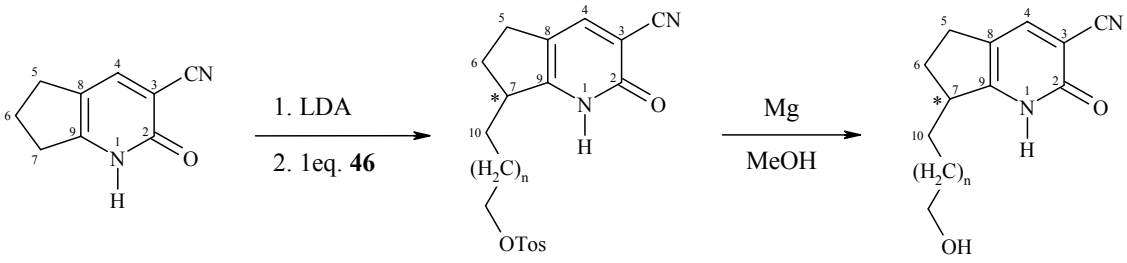


29

Abbildung 6-3: Reaktionsschema zur Synthese von flexiblen Bispyridonverbindungen, bestehend aus zwei Einheiten des 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitrils (**29**) und einer *n*-Alkylkette (Kettenlänge: 5 und 7 CH_2-Gruppen).

Funktionalisierung von 2-Pyridonen

Durch einen äquimolaren Einsatz von Tosylverbindung **46** im unten gezeigten Reaktionsschema gelang die Einführung einer geschützten alkoholischen Funktion. Durch reduktive Entschützung wurde Verbindung **56** erhalten, welche in kinetischen Untersuchungen im wässrigen System verwendet werden konnte.



29 **55**: n = 5 **56**: n = 5

Abbildung 6-4: Synthese der Tosyl-geschützten Verbindung **55**, welche durch Monoalkylierung der Fünfringverbindung **29** mit **46** erhalten wurde. **55** kann über eine reduktive Entfernung der Tosylgruppe in Verbindung **56** mit einer alkoholischen Seitenkette überführt werden.

Untersuchung von Festkörperstrukturen

Für mehrere der synthetisierten 3-Cyano-2-pyridonderivate (**29**, **30**, **33**, **34**, **36**, **39**, **40** und **43**) konnten geeignete Kristalle gezüchtet werden. Verglichen mit der helikalen Festkörperstruktur von **20**, in der die einzelnen Pyridonmoleküle über alternierende

Wasserstoffbrückenbindungen miteinander verbunden sind (ein C(4) System[55]), wurde in allen hier analysierten Festkörperstrukturen ein Dimerenmotiv (ein $R_2^2(8)$ System[55]) als dominante Struktur beobachtet. Mittels einer Korrelation der in den einzelnen Verbindungen gefundenen *H*-Brücken Distanzen *r*(NH+HO) mit den Winkeln *a*(C=O···H) im Vergleich zu einer im Gasphasendimer von **20** berechneten Dehnungskurve der *H*-Brücken (auf B3LYP/6-311++G(2d,2p)-Niveau) war es möglich, die erhaltenen 3-Cyano-2-pyridone in zwei strukturelle Gruppen entlang der berechneten Idealkurve für Pyridone einzuteilen. Zur ersten Gruppe zählen Verbindungen, die sehr nahe an oder etwas unterhalb dieser Linie liegen (**29**, **30**, **33**, **34**, **43**), wobei deren Substituenten nicht wesentlich aus der Pyridonringebene herausragen. Die zweite Gruppe von Pyridondrivaten befindet sich oberhalb der Linie und enthält Verbindungen, deren Alkylsubstituenten weiter aus der Pyridonringebene herausragen, wie **36**, **39**, **40** und **20**, wobei letzteres in Ketten kristallisiert. Neben der Feststellung, dass eine "grobe" Korrelation zwischen Abstand und Winkel der Wasserstoffbrückenbindung und Struktur besteht, kann aber keine klare Aussage über die zu erwartende Festkörperstruktur anhand des Substitutionsmusters getroffen werden. Aufgrund der gefundenen Festkörperstrukturen sollten sich die vorliegenden Pyridonderivate bestens als "*supramolecular synthons*" beim molekularen Aufbau von APIs ("*Active Pharmaceutical Ingredients*") in Form von Cokristallen oder ähnlichen Einsatzgebieten des "*Crystal Engineerings*" eignen. Bei der Komposition und Architektur solcher Anordnungen sind zielgerichtete Wasserstoffbrückenbindungen von größter Bedeutung.[163]

Kinetische Untersuchungen von 2-Pyridonen in der Esteraminolyse von 5 mit 6

Bei den kinetischen Untersuchungen der Aminolysereaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ als Reaktionsmedium wurde ein nichtlineares Verhalten der katalytischen Aktivität bei der konzentrationsabhängigen Zugabe von 2-Pyridonderivaten festgestellt. Das kinetische Modell I, bei dem die Bildung von katalytisch abgeschwächten Pyridondimeren für die eingeschränkte Aktivität verantwortlich ist, wurde durch Kombination von temperatur- und konzentrationsabhängigen ^{1}H-NMR-Messungen für Verbindung **29** und **30** näher untersucht. Ein Vergleich der Ergebnisse zeigte eindeutig, dass die ursprünglich prognostizierte Dimerenbildung in keinster Weise für die Nichtlinearität verantwortlich sein kann. Als wesentlich besser geeignet stellte sich das kinetische Modell II heraus, welches ein vorgelagertes Gleichgewicht beinhaltet. Die Bildung eines Katalysator-Substrat-Komplexes

führt hierbei zur Erklärung der beobachteten Nichtlinearität in der katalytischen Aktivität der getesteten Substanzen. Eine katalytische Aktivität einzelner, besser im Reaktionsmedium löslichen, 3-Cyano-2-Pyridon-Verbindungen ist vorhanden, kann aber nur in einem einzigen Fall die der Stammverbindung 2-Pyridon (**20**) um ca. 40 % übertreffen. Es wurden zwar auch mit dem Modell II keine überragenden katalytischen Fähigkeiten erhalten, aber die ermittelten Werte enthielten keine Diskrepanzen, wie sie im Modell I eindeutig über die separate Festlegung der Geschwindigkeitskonstante k_A und die unabhängige Messung der Dimerenkonstante K_D gezeigt werden konnten. Weiter ist zu vermerken, dass kaum eine veränderte Einwirkung der unterschiedlichen Substitutionmuster der getesteten Substanzen auf die Katalysatorkonstante k_{kat} erzielt wurde. Die Beobachtungen können am besten durch die Annahme von stabilisierend wirkenden Wechselwirkungen auf den Übergangszustand der Aminolysereaktion von **5** mit **6**, hervorgerufen durch die Ausbildung von supramolekularen Effekten in Form von unterstützenden Wasserstoffbrückenbindungen, gedeutet werden.

Studien zur Hydrolysestabilität des Depsipeptids 59 unter dem Einfluss von Nucleophilen

Mit einigen der synthetisierten 3-Cyano-2-pyridonderivate wird die Auswirkung auf die Hydrolysestabilität des Resistenzmotivs von Gram-positiv Bakterien (wie z.B. *Staphylococcus aureus*) untersucht. Im Resistenzfall wird die bakterielle Biosynthese der zellwandunterstützenden Peptidoglycanschicht verstärkt auf die Produktion des D-Ala-D-Lac-Motivs umgestellt, welches anstelle der Peptidbindung eine vergleichsweise schwächer gebundene Esterbindung enthält. Zur Visualisierung der Leitstruktur wurde eine *p*-Nitrobenzoylgruppe an das Depsipeptid als chromophore Einheit angehängt. Nach Entwicklung einer geeigneten HPLC-Analysenmethode war die simultane Detektion und quantitative Analyse aller mit dem Chromophor versehenen Reaktionsteilnehmer und Produkte der unterschiedlichen Hydrolysepfade möglich (siehe Abbildung 6-5). Das Substrat **59** wurde über eine 5-stufige Synthesesequenz mit einer Gesamtausbeute von 22 % und einem *de* von 94 % generiert. Die möglichen Reaktionsprodukte **60** und **61** wurden außerdem als Referenzen separat synthetisiert.

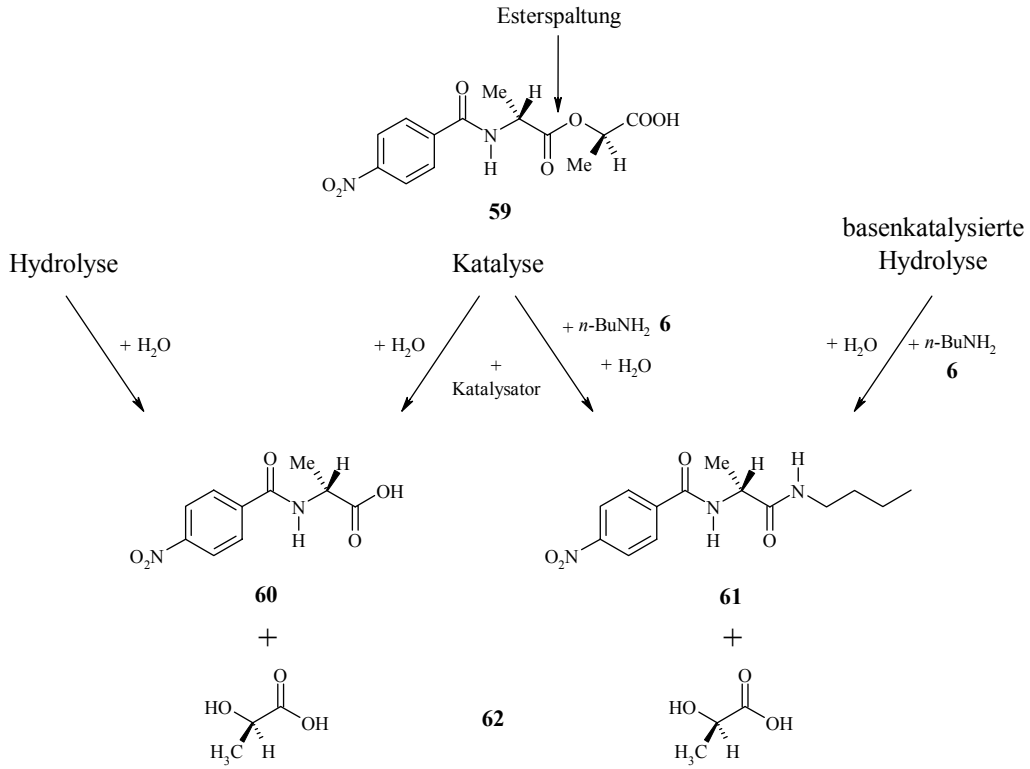
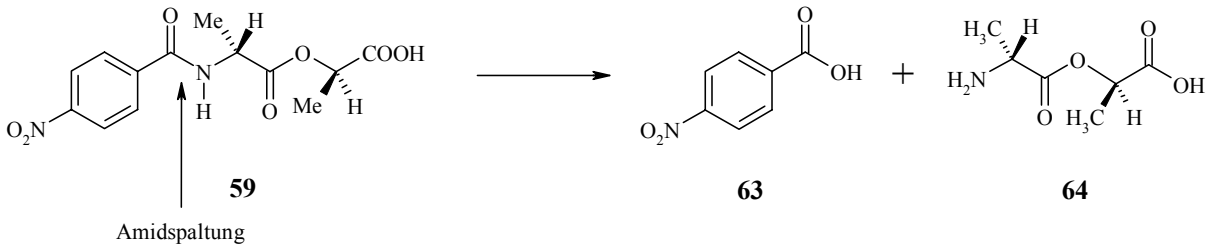


Abbildung 6-5: Schematische Darstellung der einzelnen kinetischen Untersuchungen. Mittels HPLC-Technik wird eine selektive Spaltung der im Depsipeptid **59** vorhandenen Esterbindung durch Zugabe verschiedener Nucleophile verfolgt. Im unteren Bereich sind die zu erwartenden und simultan mit dem Substrat detektierbaren (UV-Detektion) Reaktionsprodukte **60** und **61** der einzelnen Umsetzungen abgebildet. Die Milchsäure (**62**) wird als Spaltungsprodukt zwar freigesetzt, kann aber über UV/Vis-Messungen nicht detektiert werden.

Über pH-Wert-abhängige Messungen der Hydrolysereaktionen (im pH-Wert-Bereich von 6.5 - 9.0, 37 °C, I = 1) von **59** konnte eine allgemeine Basenkatalyse für das vorliegende System festgestellt werden. Durch vergleichende Untersuchungen bei einem pH-Wert von 7.5 mit einem Phosphat- und Tris-Puffersystem konnte eine stärkere Hydrolyseaktivität für den Phosphatpuffer festgestellt werden. Auch die Verwendung einer steigenden Pufferkonzentration von Tris (**78**) führte zu ansteigenden Geschwindigkeitskonstanten k_{obs}, so dass für alle weiteren Reaktionen die Rahmenbedingungen von 20 mM Tris-Puffer, pH-Wert 7.5, 37 °C und I = 1 eingehalten wurden. Zur quantitativen Verfolgung wurde in allen Reaktionsrouten die Bildung des Hydrolyseprodukts **60** gewählt.

Neben der starken Hydrolyse des D-Ala-D-Lac-Motivs **59** in der mit *n*-Butylamin (**6**) basenkatalysierten Reaktion konnte eine Bildung des entsprechenden Aminolyseprodukts **61** nicht festgestellt werden. Zu einer detektierbaren Aminolyseaktivität kam es aber dennoch. Diese fand aber zwischen dem Depsipeptid und der Pufferkomponente **78** statt. Während der laufenden Reaktionen konnte ein kontinuierlicher Anstieg für das Signal des gebildeten *N*-(*p*-Nitrobenzoyl)-*N*'-[tris-(hydroxymethyl)-methyl]-alaninamids (**79**) beobachtet werden.

Es ist anzunehmen, dass die in wesentlich höherer Konzentration bei pH 7.5 zur Verfügung stehende Tris-Komponente **78** besser als Nucleophil geeignet ist als das *n*-Butylamin (**6**).
Beim Einsatz der Pyridonderivate **20**, **29** und **56** konnte in keinem der vorliegenden Reaktionstypen eine katalytische Aktivität bezüglich einer verstärkten Spaltung der Esterbindung festgestellt werden. Es kam in fast allen Fällen zu einer Hemmung der Gesamtreaktion in einem Bereich von 1-2 %. Die Pyridonderivate waren im vorliegenden Fall unter den gegebenen Bedingungen als Individualsubstanzen nicht zur Beschleunigung der hydrolytischen Spaltung von **59** geeignet. Eine Beschleunigung der Aminolyse beim Einsatz der Pyridonderivate in der basenkatalysierten Reaktion mit *n*-Butylamin (**6**) konnte ebenfalls nicht festgestellt werden.
Eine verstärkt auftretende Spaltung der Amidbindung zwischen der chromophoren Einheit und dem D-Ala-D-Lac-Motiv dagegen konnte zweifelsfrei nachgewiesen und quantifiziert werden (siehe Abbildung 6-6).



59 **63** **64**

Abbildung 6-6: Hauptprodukte bei der Amidbindungsspaltung von **59**. Die *p*-Nitrobenzoesäure (**63**) konnte mit der angewandten Analysemethode detektiert und quantifiziert werden.

Durch den Einsatz der Pyridonderivate **20** und **29** kam es sowohl in der nicht- als auch in der basenkatalysierten Reaktionsroute zu einer erhöhten Freisetzung von **63**. Bei dem äquimolaren Einsatz von Pyridon **20** zu **59** konnte im basenkatalysierten Fall eine 43 %ige und in der unkatalysierten Hydrolysereaktion eine 90 %ige Steigerung erzielt werden.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemeines

7.1.1 Analytik und verwendete Geräte

Die *^{1}H-NMR-Spektren* wurden mit den Geräten BRUKER AMX 600 (600 MHz), Varian VXR 400S (399.92 MHz), BRUKER ARX 300 (300.13 MHz) und Varian Mercury 200 (199.98 MHz) der Firmen Bruker-Physik AG (Karlsruhe) und Varian (Darmstadt) aufgenommen. Das verwendete deuterierte Lösemittel wurde als interner Standard verwendet ($CDCl_3$: $\delta = 7.25$, $[D_6]$-DMSO: $\delta = 2.49$, D_2O: $\delta = 4.65$). Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm, die der Kopplungskonstante *J* in Hz. Die Signalmultiplizität wird wie folgt abgekürzt: s = Singulett, s_{br} = verbreitertes Signal, d = Dublett, dd = Dublett von Dubletts, t = Triplett, tt = Triplett von Tripletts, q = Quartett, dq = Dublett von Quartetts, quin = Quintett, m = Multiplett.

Die *^{13}C-NMR-Spektren* wurden mit den Geräten BRUKER AMX 600 (151 MHz), Varian VXR 400S (100.6 MHz) und BRUKER ARX 300 (75.5 MHz) der Firmen Bruker-Physik AG (Karlsruhe) und Varian (Darmstadt) aufgenommen. Das verwendete deuterierte Lösemittel wurde als interner Standard verwendet ($CDCl_3$: $\delta = 77.0$, $[D_6]$-DMSO: $\delta = 39.7$). Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm.

Massenspektren wurden an einem FINIGAN MAT 90 und einem FINIGAN MAT 95Q Massenspektrometer angefertigt. Angegeben werden die Ionisationsmethode, die Massenzahl *m/z* mit den zugehörigen Fragmentierungen und deren relativen Intensitäten in %. **EI**: Die Probenaufgabe erfolgte über Direkteinlass mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV. **FAB**: FAB-Proben wurden auf einem Stahl-Target in einer *o*-Nitrobenzylalkohol-, Glycerin- oder Thioglycerinmatrix gelöst und mit einem Cs^+-Ionenstrahl der Energie 20 kV ionisiert. **CI**: Die CI-Experimente wurden an dem Gerät MS 700 der Firma Jeol angefertigt. Der Probeneinlass erfolgt mit einem Trägergas (z.B. Kohlenwasserstoffe, H_2, H_2O, NH_3, Edelgase), das über einen Elektronenstoß ionisiert wird.

Die *UV/VIS-Spektren* wurden mit einem Perkin-Elmer Lambda 16 Spectrophotometer aufgenommen. Angegeben ist die Wellenlänge der Absorptionsmaxima in nm, das Lösemittel und der logarithmische molare Extinktionskoeffizient lg ε.

Infrarotspektren wurden mit den Geräten Perkin-Elmer FT-Spektrometer Spectrum-1000 und Perkin-Elmer 1420 Infrared Spectrometer der Firma Perkin-Elmer aufgenommen. Die Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ sind in cm^{-1} angegeben. Die Bandenintensität bzw. Struktur wird wie folgt abgekürzt: ss = sehr stark, s = stark, m = mittel, w = schwach, sh = Schulter, br = verbreitertes Signal. Die Substanzen wurden als KBr-Pressling oder als Film (Nujol) zwischen NaCl-Platten vermessen.

Die *Elementaranalysen* wurden von der Mikroanalytischen Abteilung des Departments Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München mit einem Analysenautomat der Firma Heraeus durchgeführt.

Schmelzpunkte wurden mit der digitalen Schmelzpunktapparatur Electrothermal IA 9000 SERIES, der Firma Electrothermal Engineering Ltd., bestimmt. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

Die *Einkristall-Röntgenstrukturanalysen* wurden mit den Geräten CAD-4-Diffraktometer der Firma Nonius, einem Flächendetektor IPDS der Firma Stoe und dem Kappa-CCD der Firma Enraf-Nonius mit Drehanode durchgeführt.

Säulenchromatographie wurde an Kieselgel der Korngröße 40-63 μm der Firma VWR International bei einem Überdruck von 2 bar (Flash-Chromatographie) durchgeführt.

Analytische Dünnschichtchromatographie wurde auf DC-Aluminiumfolien, Kieselgel 60 F_{254}, der VWR International durchgeführt. Die Detektion erfolgte durch Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlängen 254 und 350 nm, sowie durch Ninhydrin (Sprühreagens der Firma ACROS) und Kaliumpermanganat (Tauchbad: 1.0 g $KMnO_4$ in 100 ml dest. Wasser). Angegeben werden die R_f-Werte und das entsprechende Laufmittel.

Die *chirale HPLC-Analytik* erfolgte auf einer Waters-Anlage (bestehend aus: Waters In-Line Degasser, Waters 510 Pump, Rheodyne 7725i, Waters 486 Tunable Absorbance Detector, Software: Millenium^{32} Chromatography Manager) mit einer YMC-CHIRAL NEA (R) Säule (5 µm Partikelgröße, 250 * 4.6 mm I.D., Artikelbezeichnung: NR 30S05 – 2546 WT, S-5 µm, 30 nm/No. 042563972 (w)) der Firma YMC Europe GmbH und einer Probenschleife der Größe 5 µl. Zur Trennung der jeweils vorliegenden Produkt- und Enantiomerengemische wurde das jeweils angegebene Lösemittelgemisch aus H_2O (HPLC-Gradient grade, Fisher Scientific) und CH_3CN (HPLC-Gradient grade, Fisher Scientific) eingesetzt. Die Durchflussrate betrug bei allen Messungen 1 ml/min, die Durchflussart wie auch die am UV-Detektor eingestellte Wellenlänge wird angegeben.

7.1.2 Allgemeine Arbeitsmethoden

Bei allen hydrolyse- oder sauerstoffsensitiven Umsetzungen diente Stickstoff der Güte 5.02 als Schutzgas. Die dabei verwendeten Apparaturen wurden unter Vakuum mit einem Heißluftföhn ausgeheizt und nach dem Abkühlen mit Schutzgas belüftet. Alle weiteren Arbeitsschritte wurden unter leichtem N_2-Strom durchgeführt. Die restlichen Umsetzungen wurden, falls nicht anders angegeben, unter Atmosphärendruck und in offenen Systemen nach den für ein präparativ organisch chemisches Labor üblichen Verfahrensweisen durchgeführt. Auf die Beschreibung von Standardversuchsaufbauten wird in den folgenden Versuchsbeschreibungen verzichtet. Feste Reagenzien und Produkte wurden nach Standardmethoden aus den angegebenen Lösemitteln umkristallisiert und am Ölpumpenvakuum bei ~ $1 \cdot 10^{-3}$ mbar getrocknet. Zur Durchführung der Analytik wurden die erhaltenen Endprodukte ebenfalls im Vakuum getrocknet.

7.1.3 Verwendete Chemikalien und Lösemittel

Die allgemein benötigten *Chemikalien* ohne Verweis auf Literaturvorschriften wurden von der Chemikalienausgabe des Departments Chemie oder von den Vertriebsfirmen für Feinchemikalien VWR International, Sigma-Aldrich Co., Fluka AG und Acros Organics (über die Vertriebsgesellschaft KMF Laborchemie Handels GmbH) bezogen.

Die gängigen *Lösemittel*, die zum größten Teil bei der Säulenchromatographie Verwendung fanden, wurden durch Destillation gereinigt. *Absolutierte Lösemittel* wurden nach den üblichen Trocknungsverfahren[164] gereinigt und gemäß den entsprechenden Verfahrensweisen eingesetzt. Tetrahydrofuran und Ether wurden über Natrium mit Benzophenon als Indikator in einer Umlaufapparatur unter Stickstoff getrocknet.

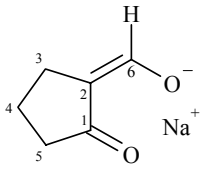
Das für die *kinetischen ^{1}H-NMR-Untersuchungen* benötigte Deuterochloroform wurde über Calciumhydrid gelagert und vor Verwendung unter Stickstoffatmosphäre destilliert. Das *n*-Butylamin (**6**) wurde ebenfalls über Calciumhydrid gelagert und bei Bedarf unter Stickstoff fraktioniert destilliert. Das *p*-Nitrophenylacetat (**5**) wurde ab Hersteller (Aldrich Chemie GmbH) einmal aus Hexan[165] umkristallisiert, am ÖV vollständig vom Lösemittel befreit und nach einer elementaranalytischen Untersuchung eingesetzt. Über einen längeren Zeitraum konnte Verbindung **5** auch kühl und unter Stickstoffatmosphäre gelagert werden. Das in den kinetischen Untersuchungen verwendete 2-Pyridon (**20**) wurde aus wenig Aceton über Aktivkohle umkristallisiert, am ÖV vom Lösemittel befreit und nach erfolgreicher Elementaranalyse eingesetzt. Auch hier konnte überschüssige Substanz gekühlt und unter N_2-Atmosphäre längere Zeit gelagert werden.

Die für die ringanellierenden Kondensationsreaktionen benötigten Edukte Cyclopentanon (**27**), Cyclohexanon, Cycloheptanon (**31**) und Ethylformiat (**23**) wurden vor dem Einsatz durch Destillation gereinigt und über Molekularsieb (4Å) in N_2-Atmosphäre gelagert. Die für die Kupplungsreaktionen benötigten Basen DIPA und DIEA wurden frisch destilliert eingesetzt. CDI wurde vor dem Einsatz unter Schutzgas umkristallisiert und anschließend in abs. DCM zu einer 2 M Lösung verdünnt.[138]

7.2 Synthesevorschriften und analytische Daten

7.2.1 Synthesen ausgewählter 2-Pyridon-Derivate

7.2.1.1 Natriumsalz des 2-Hydroxymethylencyclopentanons (**28**)



28

In einem unter Vakuum ausgeheizten und mit Tropftrichter bestückten 500 ml Dreihalskolben werden unter Schutzgas 6.22 g (115 mmol) Natriummethanolat in 300 ml abs. Ether bei 0 °C vorgelegt. Über den Tropftrichter wird zu der eisgekühlten Lösung eine Mischung aus 10 ml (113 mmol) Cyclopentanon (**27**) und 9.27 ml (115 mmol) Ethylformiat (**23**) über einen Zeitraum von 90 min zugetropft. Die Reaktionsmischung verfärbt sich dabei von leicht gelblich nach gelbbraun. Man lässt nach beendeter Zugabe die entstandene Suspension langsam auf RT kommen und rührt weitere 16 h. Nach vollendeter Reaktion erhält man eine braune, zähflüssige Kristallmasse, die durch Zugabe von 100 ml Ether suspendiert wird. Der Kristallbrei wird über eine Glasfritte filtriert, mit insgesamt 150 ml Ether in vier Portionen gewaschen und 1 h an der Luft getrocknet. Das restliche LM wird durch 2 h Trocknen im ÖV entfernt. Man erhält **28** als hellbraunes Kristallpulver, das ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt umgesetzt wird.

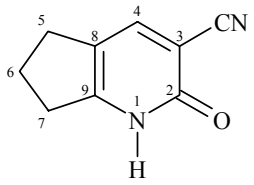
Ausbeute: 15.1 g (99 %) hellbraunes Kristallpulver.

^{1}H-NMR (300 MHz, D_2O + MeOH): δ = 8.76 (s, 1H, 6-H), 2.44 (t, J = 7.8 Hz, 2H, 5-CH_2), 2.29 (t, J = 7.8 Hz, 2H, 3-CH_2), 1.82 (quin, J = 7.4 Hz, 2H, 4-CH_2).

^{13}C-NMR (75.5 MHz, D_2O + MeOH): δ = 207.1 (CO), 176.2 (CHO), 113.1 (C-2), 39.2 (C-5), 25.5 (C-3), 20.1 (C-4).

Summenformel: $C_6H_7O_2Na$ (M: 134.11)

7.2.1.2 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**29**) aus **28**



29

Es werden 25.2 g (188 mmol) **28** mit 17.9 g (213 mmol) Cyanacetamid (**25**) und 160 ml H_2O in einem 500 ml Rundkolben zusammengegeben. Die gelbbraun gefärbte Suspension wird mit 16.8 ml frisch bereiteter Piperidinacetatlösung (hergestellt aus: 20 % AcOH, 45 % Wasser und 35 % Piperidin) versetzt und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird die noch heiße dunkelbraune Lösung mit 21.0 ml AcOH angesäuert. Daraufhin fällt ein orangebraun gefärbter Niederschlag aus. Die Suspension lässt man auf RT abkühlen. Der Rückstand wird abfiltriert, mit ca. 100 ml Wasser gewaschen und im ÖV getrocknet. Man erhält das Rohprodukt als braunes Kristallpulver in einer Ausbeute von 18.9 g (118 mmol, 63 %). Das Rohprodukt wird einmal aus 160 ml AcOH und ca. 2 g Aktivkohlegranulat umkristallisiert und man erhält nach 48 h Kristallisationsphase 15.8 g (99 mmol, 53 %) des 2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitrils (**29**) in Form von zitronengelben Kristallnadeln. Zur weiteren Reinigung werden 8.00 g (50 mmol) **29** an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (20:1) chromatographiert.

Ausbeute: 5.43 g (68 %, bzgl. der chromatographierten Menge) beigefarbenes Kristallpulver.

Smp.: 245 °C (Lit.[59]: 243.5-247 °C

R_f ($CHCl_3$/MeOH 20:1): 0.31

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 12.71 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, 4-H), 2.79 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 7-CH_2), 2.63 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 5-CH_2), 2.02 (quin, J = 7.5 Hz, 2H, 6-CH_2).

^{13}C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d_6): δ = 161.1 (CO), 158.6 (C-9), 145.6 (C-4), 118.4 (C-8), 117.5 (CN), 99.2 (C-CN), 31.5 (C-7), 28.8 (C-5), 22.6 (C-6).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 160 (87) [M^+], 159 (100) [M^+-H], 158 (2), 141 (3), 133 (2), 132 (10) [M^+-CO], 131 (14) [M^+-H, -CO], 116 (4) [M^+-CH_2NO], 106 (2) [M^+-CN, -CO], 105 (6) [M^+-CN, -CO, -H], 104 (10) [M^+-CN, -CO, -2H], 89 (2), 78 (4), 77 (8), 76 (4), 65 (3), 64 (3), 63 (3), 53 (3), 52 (5), 51 (4), 50 (2), 43 (5), 41 (2), 39 (4).

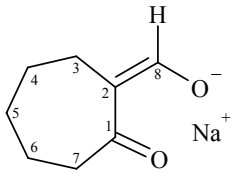
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 351.9 (0.42), 209.7 (0.28), 241.5 (0.25).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, m), 3302 (w), 3253 (w), 3149 (w), 2945 (s), 2902 (s), 2848 (s), 2797 (s), 2767 (s), 2709 (s), 2225 (ss), 1877 (w), 1650 (ss), 1605 (s), 1576 (m), 1541 (m), 1493 (s), 1464 (m), 1445 (m), 1424 (w), 1391 (m), 1338 (s), 1322 (w), 1299 (m), 1236 (s), 1210 (w), 1146 (m), 1079 (w), 1040 (w), 954 (m), 905 (w), 882 (w), 856 (w), 771 (m), 741 (w), 702 (w), 662 (s), 518 (w), 478 (s), 458 (m), 407 (w).

Summenformel: $C_9H_8N_2O$ (M: 160.18)

EA ($C_9H_8N_2O$): Ber. : C 67.49 H 5.03 N 17.49
Gef. : C 67.42 H 5.04 N 17.54

7.2.1.3 Natriumsalz des 2-Hydroxymethylencycloheptanons (**32**)



32

In einem unter Vakuum ausgeheizten und mit einem 50 ml Tropftrichter versehenen 500 ml Dreihalskolben werden unter N_2-Atmosphäre 4.70 g (87.0 mmol) Natriummethanolat in 300 ml abs. Ether bei 0 °C vorgelegt. Über den Tropftrichter wird zu der eisgekühlten Lösung eine Mischung aus jeweils frisch destillierten 10 ml (84.8 mmol) Cycloheptanon (**31**) und 7.25 ml (90.0 mmol) Ethylformiat (**23**) über einen Zeitraum von 60 min langsam zugetropft. Die Reaktionslösung verfärbt sich dabei von farblos nach hellgelb. Man lässt nach beendeter Zugabe die entstandene Suspension langsam auf RT kommen und rührt weitere 16 h. Nach vollendeter Reaktionszeit erhält man eine zähflüssige Kristallmasse, die durch Zugabe von 100 ml Ether suspendiert wird. Der Rückstand wird filtriert, mit insgesamt 200 ml Ether in zwei Portionen gewaschen und 1 h an der Luft getrocknet. Das restliche LM wird durch 2 h Trocknen im ÖV entfernt. Man erhält **32** als blassgelbes Kristallpulver, das ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt umgesetzt wird.

Ausbeute: 13.6 g (99 %) blassgelbes Kristallpulver.

^{1}H-NMR (300 MHz, D_2O): δ = 8.71 (s, 1H, 8-H), 2.35 (dt, J = 5.7 Hz, 2H, 7-CH_2), 2.20 (dt, J = 5.6 Hz, 2H, 3-CH_2), 1.63 - 1.56 (m, 2H, 5-CH_2), 1.52 - 1.45 (m, 2H, 6-CH_2), 1.37 - 1.29 (m, 2H, 4-CH_2).

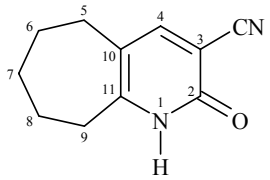
^{13}C-NMR (75.5 MHz, D_2O): δ = 207.0 (CO), 177.4 (CHO), 117.6 (C-2), 42.9 (C-7), 31.8 (C-3), 29.6 (C-6), 25.4 (C-4), 22.8 (C-5).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 185 (61) [M^++Na], 162 (83) [M^+], 141 (9), 140 (100) [M^++H, -Na], 133 (10), 125 (18), 112 (42), 111 (44), 110 (13), 97 (22), 96 (14), 95 (20), 94 (15), 93 (10), 84

(32), 83 (43), 81 (24), 80 (17), 79 (27), 77 (12), 70 (49), 69 (29), 68 (48), 67 (27), 57 (18), 56 (22), 55 (83), 54 (13), 53 (14).

Summenformel: $C_8H_{11}O_2Na$ (M: 162.16)

7.2.1.4 2,5,6,7,8,9-Hexahydro-2-oxo-1*H*-cyclohepta[*b*]pyridin-3-carbonitril (**33**) aus **32**



33

In einem 250 ml Rundkolben werden 12.8 g (78.9 mmol) **32** mit 7.35 g (87.4 mmol) Cyanacetamid (**25**) und 80 ml H_2O zusammengegeben. Die gelb gefärbte Suspension wird mit 5.60 ml frisch bereiteter Piperidinacetatlösung (hergestellt aus: 20 % AcOH, 45 % Wasser und 35 % Piperidin) versetzt und 6 h zum Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird die noch heiße Lösung mit 9 ml AcOH angesäuert und es bildet sich ein gelber Niederschlag. Die Suspension lässt man auf RT abkühlen und rührt weitere 16 h. Der Rückstand wird abfiltriert, mit ca. 80 ml kaltem Wasser gewaschen und 3 h an der Luft getrocknet. Das Rohprodukt wird einmal aus 60 ml AcOH und Aktivkohlegranulat umkristallisiert und man erhält nach 4 h Trocknung im ÖV 9.10 g (48.3 mmol, 61 %) des 2,5,6,7,8,9-Hexahydro-2-oxo-1*H*-cyclohepta[*b*]pyridin-3-carbonitrils (**33**) in Form eines beigefarbenen Kristallpulvers. Zur weiteren Reinigung werden 1.00 g **33** an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (15:1) chromatographiert.

Ausbeute: 713 mg (71 %, bzgl. der chromatographierten Menge) beigefarbenes Kristallpulver.

Smp.: 257-259 °C (decomp.), (Lit.: 242-243 °C [BuOH][166]).

R_f ($CHCl_3$/MeOH 15:1): 0.29

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 12.44 (s, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, 4-H), 2.73 (dt, J = 5.6 Hz, 2H, 9-CH_2), 2.54 (dt, J = 5.4 Hz, 2H, 5-CH_2), 1.75 - 1.69 (m, 2H, 7 -CH_2), 1.58 - 1.53 (m, 2H, 8-CH_2), 1.50 - 1.44 (m, 2H, 6-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 160.2 (CO), 157.8 (C-11), 150.0 (C-4), 119.2 (C-10), 116.9 (CN), 98.1 (C-CN), 33.8 (C-9), 31.3 (C-5), 31.3 (C-8), 27.1 (C-6), 25.1 (C-7).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 188 (100) [M^+], 187 (22) [M^+-H], 173 (16), 161 (3) [M^+-H, -CN], 160 (16) [M^+-CO], 159 (42) [M^+-H, -CO], 146 (27), 134 (14), 131 (7), 118 (5), 104 (7), 77 (5), 58 (5), 43 (15).

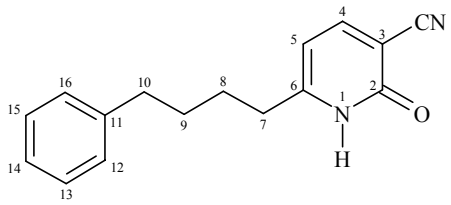
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 347.0 (1.82), 209.3 (1.74), 241.7 (1.30).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, m), 3299 (w), 3142 (w), 2934 (ss), 2854 (s), 2794 (m), 2232 (s), 1875 (w), 1649 (ss), 1599 (m), 1572 (s), 1484 (m), 1454 (m), 1438 (w), 1392 (w), 1364 (w), 1347 (m), 1338 (m), 1320 (w), 1265 (w), 1234 (w), 1194 (s), 1157 (w), 1130 (w), 1108 (w), 1075 (w), 1025 (w), 964 (s), 876 (w), 845 (w), 772 (m), 708 (w), 668 (m), 613 (w), 552 (w), 520 (w), 498 (w), 468 (w), 438 (w).

Summenformel: $C_{11}H_{12}N_2O$ (M: 188.23)

EA ($C_{11}H_{12}N_2O$): Ber. : C 70.19 H 6.43 N 14.88
Gef. : C 70.19 H 6.39 N 14.90

7.2.1.5 6-(4-Phenylbutyl)-1,2-dihydro-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**36**) aus **34**



36

In einem im Vakuum ausgeheizten und mit N_2 belüfteten 500 ml Dreihalskolben, der mit einem 50 ml Tropftrichter versehen ist, werden 300 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt und anschließend mit 9.20 ml (65.5 mmol) DIPA und nachfolgend 26.0 ml (65.0 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden in die nun gelblich gefärbte Reaktionslösung 4.08 g (30.4 mmol) 1,2-Dihydro-6-methyl-2-oxo-pyridin-3-carbonitril (**34**) portionsweise unter Stickstoffstrom eingebracht, die Lösung verfärbt sich dabei grün. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min die in 30 ml abs. THF gelösten 4.56 ml (30.2 mmol) 1-Brom-3-phenylpropan (**35**) langsam zur Reaktionslösung. Die Vorlage wird weitere 2 h kühl gehalten, anschließend langsam auf RT erwärmt und nochmals für 16 h gerührt. Die entstandene Suspension wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der orangerote kristalline Feststoff wird in 300 ml dest. Wasser rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 150 ml Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 4.5 - 5 angesäuert. Der entstandene ockerfarbene Niederschlag wird abfiltriert, mit 30 ml kaltem Wasser gewaschen und im ÖV von restlichem LM befreit. Man erhält das Rohprodukt als braungelbes Kristallpulver in einer Ausbeute von 6.51 g (25.8 mmol, 85 %) als Produktgemisch. Vom Produktgemisch werden 1.73 g an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (15:1) getrennt und Verbindung **36** isoliert.

Ausbeute:	458 mg (27 %) hellbeiges Kristallpulver.
Smp.:	159-160 °C
R_f ($CHCl_3$/MeOH 15:1):	0.45

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.41 (s, 1H, NH), 7.79 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 4-H), 7.28 - 7.24 (m, 2H, 13/15-H), 7.17 (m, 2H, 12/16-H), 7.15 (m, 1 H, 14-H), 6.16 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 5-H), 2.71 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 7-CH_2), 2.67 (t, J = 7.0 Hz, 2H, 10-CH_2), 1.81 - 1.67 (m, 4H, 8-CH_2/9-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.3 (CO), 157.1 (C-6), 148.4 (C-4), 141.7 (C-11), 128.4 (C-12/C-16), 128.3 (C-13/C-15), 125.8 (C-15), 115.6 (CN), 105.7 (C-5), 101.4 (C-CN), 35.4 (C-10), 33.6 (C-7), 30.5 (C-9), 27.9 (C-8).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 253 (8) [M^++H], 252 (43) [M^+], 251 (2) [M^+-H], 223 (7) [M^+-H, -CO], 161 (8), 149 (4), 148 (41), 147 (100), 134 (42), 121 (3), 118 (5), 117 (8), 116 (4), 115 (3), 105 (4), 104 (3), 103 (2), 93 (4), 91 (31), 79 (2), 78 (3), 77 (3), 65 (7), 64 (3), 51 (2).

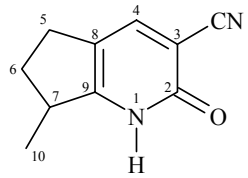
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 205.5 (0.43), 336.0 (0.26), 236.5 (1.04).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 cm^{-1} (br, w), 3153 (w), 3082 (w), 3022 (m), 2999 (w), 2936 (s), 2859 (s), 2792 (m), 2224 (s), 1865 (w), 1667 (ss), 1613 (s), 1565 (s), 1494 (m), 1454 (m), 1333 (w), 1302 (w), 1238 (w), 1210 (m), 1170 (w), 1105 (w), 1083 (w), 1035 (w), 1008 (w), 951 (w), 812 (w), 762 (w), 746 (m), 727 (w), 700 (m), 654 (w), 627 (w), 594 (w), 564 (w), 526 (w), 491 (m), 441 (w).

Summenformel: $C_{16}H_{16}N_2O$ (M: 252.32)

EA ($C_{16}H_{16}N_2O$): Ber. : C 76.16 H 6.39 N 11.10
Gef. : C 76.14 H 6.46 N 10.93

7.2.1.6 2,5,6,7-Tetrahydro-7-methyl-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**37**) aus **29**



37

In einem im Vakuum ausgeheizten und mit N_2 belüfteten 250 ml Dreihalskolben, der mit einem 25 ml Tropftrichter versehen ist, werden 50 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt und anschließend mit 2.90 ml (20.8 mmol) DIPA und nachfolgend 8.40 ml (21.0 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 1.51 g (9.4 mmol) von Verbindung **29** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min das in 20 ml abs. THF gelöste Methyliodid (1.33 g, 9.4 mmol) langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und 16 h reagieren. Die entstandene Suspension wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der braune Rückstand wird in 75 ml dest. Wasser aufgenommen und dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 5 angesäuert. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit je 20 ml kaltem Wasser und kaltem Diethylether gewaschen und im ÖV vom restlichen LM befreit. Man erhält das Rohprodukt als gelbes Kristallpulver in einer Ausbeute von 855 mg (4.9 mmol, 52 %) als Gemisch aus einfach- (**37**) und zweifachalkylierter (**38**) Ausgangsverbindung **29**. Das Produktgemisch wird an Kieselgel mit 1.) $CHCl_3$:MeOH (10:1) und 2.) $CHCl_3$:MeOH (15:1) gereinigt.

Ausbeute:	220 mg (13 %) hellgelbes Kristallpulver.
Smp.:	236 °C (decomp.)
R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1):	0.35
R_f ($CHCl_3$/MeOH 15:1):	0.27

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.14 (s, 1H, NH), 7.75 (s, 1H, 4-H), 3.32 (dq, J = 14.8 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 7-H), 2.80 - 2.65 (m, 2H, 5-CH_2), 2.46 - 2.37 (m, 1H, 6-H_A), 1.79 - 1.70 (m, 1H, 6-H_B), 1.42 (d, J = 7.2 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.8 (CO), 161.3 (C-9), 145.4 (C-4), 119.9 (C-8), 116.2 (CN), 100.8 (C-CN), 39.2 (C-7), 32.4 (C-6), 28.0 (C-5), 18.0 (C-10).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 174 (76) [M^+], 173 (23) [M^+-H], 160 (11), 159 (100) [M^+-CH_3], 141 (4), 132 (5), 131 (8) [M^+-CH_3, -CO], 130 (3), 116 (5), 104 (8) [M^+-CN, -CO, -CH_3, -H], 103 (2), 77 (3), 76 (2), 52 (2).

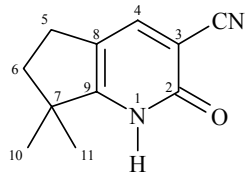
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 352.5 (1.19), 207.8 (1.01), 241.1 (0.75).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, m), 3156 (w), 2939 (s), 2866 (s), 2224 (s), 1854 (w), 1646 (ss), 1576 (s), 1498 (m), 1460 (m), 1389 (w), 1318 (m), 1301 (m), 1241 (s), 1145 (m), 1106 (w), 1067 (w), 1017 (w), 927 (m), 843 (m), 769 (w), 712 (w), 663 (m), 596 (w), 523 (w), 476 (m).

HR-EI-MS: $C_{10}H_{10}N_2O$ (M: 174.20)
Ber. : 174.0793 Gef. : 174.0797

EA ($C_{10}H_{10}N_2O$): Ber. : C 68.95 H 5.79 N 16.08
Gef. : C 67.94 H 5.75 N 15.54

7.2.1.7 2,5,6,7-Tetrahydro-7,7-dimethyl-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**38**) aus **29**



38

Die Ansatzgröße und Versuchsdurchführung ist identisch mit der unter Punkt 7.2.1.6 beschriebenen Synthese von Verbindung **37**. Verbindung **38** konnte aus dem Produktgemisch durch Chromatographie an Kieselgel, wie oben beschrieben, isoliert werden.

Ausbeute: 153 mg (9 %) hellbeiges, fast farbloses Kristallpulver.

Smp.: 266 °C

R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1): 0.48
R_f ($CHCl_3$/MeOH 15:1): 0.35

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.23 (s, 1H, NH), 7.74 (s, 1H, 4-H), 2.72 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 5-CH_2), 2.01 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 6-CH_2), 1.39 (s, 6H, 2*CH_3).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 164.2 (C-9), 163.7 (CO), 145.7 (C-4), 118.4 (C-8), 116.2 (CN), 100.9 (C-CN), 44.9 (C-7), 39.8 (C-6), 26.8 (C-5), 26.1 (C-10/11).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 188 (16) [M^+], 174 (13), 173 (100) [M^+-CH_3], 171 (2), 158 (6) [M^+-2*CH_3], 155 (3), 146 (2), 145 (3), 130 (3) [M^+-2*CH_3, -CO], 128 (3), 118 (3), 103 (2).

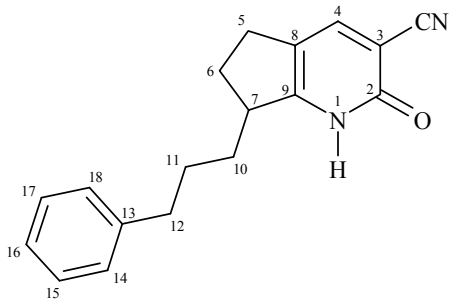
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 352.3 (1.26), 208.6 (1.04), 241.4 (0.78).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, w), 3246 (w), 3156 (w), 2956 (s), 2869 (s), 2769 (s), 2225 (s), 1871 (w), 1645 (ss), 1591 (ss), 1578 (ss), 1498 (s), 1462 (m), 1396 (w), 1384 (w), 1370 (w), 1328 (w), 1316 (m), 1293 (m), 1273 (w), 1240 (s), 1210 (w), 1192 (w), 1154 (w), 1138 (m), 1112 (w), 1056 (w), 998 (w), 964 (m), 924 (m), 840 (s), 787 (w), 772 (m), 716 (w), 664 (s), 588 (w), 526 (w), 475 (m), 450 (w), 438 (w).

HR-EI-MS: $C_{11}H_{12}N_2O$ (M: 188.23)
Ber. : 188.0950 Gef. : 188.0972

EA ($C_{11}H_{12}N_2O$): Ber. : C 70.19 H 6.43 N 14.88
Gef. : C 69.10 H 6.31 N 14.62

7.2.1.8 7-(3-Phenylpropyl)-2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**39**) aus **29**



39

Ein mit einem 25 ml Tropftrichter versehener 250 ml Dreihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 150 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt, mit 3.80 ml (27.0 mmol) DIPA und nachfolgend 10.8 ml (27.0 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 2.00 g (12.5 mmol) von Verbindung **29** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min eine Mischung aus 1.90 ml (12.6 mmol) 1-Brom-3-phenylpropan (**35**)

gelöst in 10 ml abs. THF langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und für 16 h reagieren. Die entstandene tiefrote Lösung wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der kristalline braunrote Rückstand wird in ca. 100 ml dest. Wasser rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 50 ml Et_2O extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 4.5 - 5 angesäuert. Es entsteht ein sehr feiner suspensionsartiger Niederschlag, der zweimal mit je 200 ml $CHCl_3$ aus der wässrigen Phase extrahiert wird. Die beiden organischen Extrakte werden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Man erhält das Rohprodukt als orangefarbene Kristalle in einer Ausbeute von 1.66 g (48 %, bzgl. **39**) als Gemisch aus einfach- (**39**) und zweifachalkylierter (**40**) Ausgangsverbindung **29**. Das Produktgemisch zweifach an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (20:1) chromatographiert und beide Alkylierungsstufen können isoliert werden.

Ausbeute: 684 mg (20 %) hellgelbes Kristallpulver.

Smp.: 177 °C

R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1): 0.39

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.63 (s, 1H, NH), 7.74 (s, 1H, 4-H), 7.26 - 7.22 (m, 2H, 15-H/17-H), 7.20 - 7.18 (m, 2H, 14-H/18-H), 7.16 - 7.12 (m, 1H, 16-H), 3.30 - 3.23 (m, 1H, 7-H), 2.79 - 2.70 (m, 2H, 5-CH_2), 2.72 - 2.62 (m, 2H, 11-CH_2), 2.38 - 2.30 (m, 1H, 6-H_A), 2.15 - 2.07 (m, 1H, 10-H_A), 1.86 - 1.77 (m, 1H, 6-H_B), 1.73 - 1.63 (m, 2H, 12-CH_2), 1.65 - 1.55 (m, 1H, 10-H_B).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.7 (CO), 160.2 (C-9), 145.3 (C-4), 142.1 (C-13), 128.4 (C-14/C-18), 128.3 (C-15/C-17), 125.7 (C-16), 120.2 (C-8), 116.1 (CN), 101.0 (C-CN), 44.3 (C-7), 35.8 (C-12), 32.1 (C-10), 29.6 (C-6), 28.7 (C-11), 28.1 (C-5).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 279 (6) [M^++H], 278 (30) [M^+], 174 (16), 173 (100) [M^+-(Ph-CH_2-CH_2)], 172 (4), 160 (12), 159 (15),

131 (2), 117 (3), 104 (5), 103 (3), 91 (14), 78 (2), 77 (4), 65 (4).

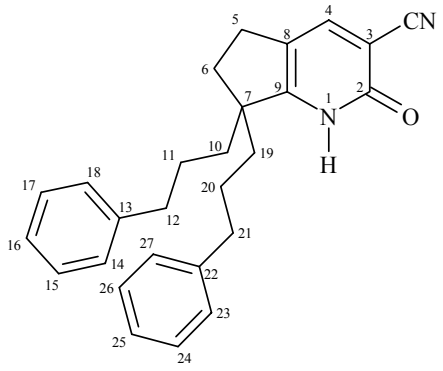
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 206.6 (0.61), 353.8 (0.41), 241.5 (0.26).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, m), 3060 (w), 3023 (w), 2931 (m), 2860 (m), 2222 (m), 1648 (ss), 1574 (s), 1496 (m), 1454 (w), 1389 (w), 1312 (w), 1242 (m), 1147 (w), 1091 (w), 1030 (w), 926 (w), 840 (w), 771 (w), 749 (m), 700 (m), 663 (w), 522 (w), 478 (w).

HR-EI-MS: $C_{18}H_{18}N_2O$ (M: 278.35)
Ber. : 278.1419 Gef. : 278.1410

EA ($C_{18}H_{18}N_2O$): Ber. : C 77.67 H 6.52 N 10.06
Gef. : C 77.43 H 6.50 N 10.03

7.2.1.9 7,7-Bis(3-phenylpropyl)-2,5,6,7-Tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**40**) aus **29**



40

Die Ansatzgröße und Versuchsdurchführung ist identisch mit der unter Punkt 7.2.1.8 beschriebenen Synthese von Verbindung **39**. Verbindung **40** konnte aus dem Produktgemisch durch Chromatographie an Kieselgel, wie oben beschrieben, isoliert werden.

Ausbeute: 190 mg (9 %), farbloses Kristallpulver.

Smp.: 172 °C

R_f ($CHCl_3$/MeOH 20:1): 0.59

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.43 (s, 1H, NH), 7.64 (s, 1H, 4-H), 7.22 - 7.18 (m, 4H, 15-H/17-H/24-H/26-H), 7.13 - 7.11 (m, 2H, 16-H/25-H), 7.09 - 7.07 (m, 4H, 14-H/18-H/23-H/27-H), 2.66 (t, J = 7.4 Hz, 2H, 5-CH_2), 2.58 (t, J = 7.6 Hz, 4H, 12-CH_2/21-CH_2), 2.00 (t, J = 7.4 Hz, 2H, 6-CH_2), 1.87 - 1.70 (m, 4H, 10-CH_2/19-CH_2), 1.58 - 1.47 (m, 2H, 11-CH_A/20-CH_A), 1.42 - 1.31 (m, 2H, 11-CH_B/20-CH_B).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.6 (CO), 161.9 (C-9), 145.3 (C-4), 141.9 (C-13/C-22), 128.4 (C-14/C-18/C-23/C-27), 128.3 (C-15/C-17/C-24/C-26), 125.7 (C-16/C-25), 119.9 (C-8), 116.0 (CN), 101.2 (C-CN), 52.2 (C-7), 37.8 (C-10/C-19), 36.1 (C-12/C-21), 33.9 (C-6), 27.5 (C-5), 26.5 (C-11/C-20).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 397 (19) [M^++H], 396 (55) [M^+], 305 (13), 292 (17), 291 (60), 279 (19), 278 (84), 277 (100), 199 (6), 187 (12), 186 (11), 185 (9), 174 (15), 173 (103), 172 (13), 171 (14), 160 (7), 159 (15), 158 (4), 118 (6), 117 (22), 116 (4), 115 (6), 105 (14), 104 (9), 103 (6), 92 (6), 91 (68), 79 (6), 78 (4), 77 (8), 65 (10).

UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 207.4 (0.39), 354.1 (0.18), 240.2 (0.12).

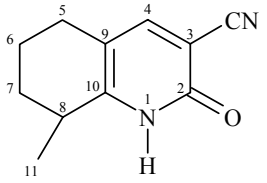
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, w), 3152 (w), 3061 (w), 3026 (m), 2939 (s), 2861 (s), 2223 (s), 1877 (w), 1644 (ss), 1586 (s), 1574 (s), 1494 (s), 1453 (m), 1386 (w), 1312 (m), 1237 (m),

1179 (w), 1144 (w), 1112 (w), 1070 (w), 1029 (w), 931 (w), 838 (s), 772 (w), 747 (m), 701 (s), 662 (m), 622 (w), 572 (w), 477 (m).

HR-EI-MS: $C_{27}H_{28}N_2O$ (M: 396.53)
Ber. : 396.2202 Gef. : 396.2185

EA ($C_{27}H_{28}N_2O$): Ber. : C 81.78 H 7.12 N 7.06
Gef. : C 80.69 H 7.20 N 6.78

7.2.1.10 1,2,5,6,7,8-Hexahydro-8-methyl-2-oxo-chinolin-3-carbonitril (**41**) aus **30**



41

In einem unter Vakuum ausgeheizten und mit N_2 belüfteten 250 ml Dreihalskolben, der mit einem 10 ml Tropftrichter bestückt ist, werden 140 ml abs. THF vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C gekühlt, mit 2.70 ml (19.2 mmol) DIPA und anschließend mit 7.55 ml (18.9 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 1.50 g (8.6 mmol) von Verbindung **30** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min eine Mischung bestehend aus 0.53 ml (8.6 mmol) Methyliodid in 8.0 ml abs. THF langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und 16 h reagieren. Die entstandene gelbe Lösung wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der kristalline Rückstand wird in 150 ml dest. Wasser rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 80 ml Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 4.5 angesäuert. Der entstandene orangefarbene Niederschlag wird abfiltriert, mit 10 ml kaltem Wasser gewaschen und im ÖV vom restlichen LM befreit. Man erhält das Rohprodukt als orangefarbenes Kristallpulver in

einer Ausbeute von 1.02 g (5.4 mmol, 63 %) als Gemisch aus einfach- (**41**) und wenig zweifachalkylierter (**42**) Ausgangsverbindung **30**. Das Produktgemisch zweifach an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (15:1) chromatographiert und Verbindung **41** isoliert.

Ausbeute: 646 mg (40 %), fast farbloses Kristallpulver.

Smp.: 243-244 °C (decomp.)

R_f ($CHCl_3$/MeOH 15:1): 0.34

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.10 (s, 1H, NH), 7.61 (s, 1H, 4-H), 3.01 - 2.93 (m, 1H, 8-H), 2.56 - 2.43 (m, 2H, 5-CH_2), 1.93 - 1.84 (m, 1H, 7-H_A), 1.83 - 1.76 (m, 1H, 6-H_A), 1.75 - 1.67 (m, 1H, 6-H_B), 1.65 - 1.58 (m, 1H, 7-H_B), 1.39 (d, J = 7.2 Hz, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 162.4 (CO), 154.9 (C-10), 149.8 (C-4), 115.8 (CN), 114.8 (C-9), 101.6 (C-CN), 31.3 (C-8), 29.3 (C-7), 26.4 (C-5), 20.6 (C-11), 18.7 (C-6).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 189 (12) [M^++H], 188 (89) [M^+], 187 (46) [M^+-H], 186 (21), 185 (11), 184 (13), 174 (12), 173 (100) [M^+-CH_3], 172 (6), 171 (17), 161 (6), 160 (38) [M^+-CO], 159 (58) [M^+-H, -CO], 158 (9), 156 (8), 155 (9), 153 (5), 146 (10), 145 (6), 142 (7), 132 (5), 131 (7), 130 (8), 129 (6), 128 (12), 118 (7), 117 (5), 116 (6), 115 (5), 105 (7), 104 (8), 103 (6), 91 (5), 78 (6), 77 (11), 76 (5), 52 (6), 51 (6).

UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 212.0 (0.45), 345.4 (0.40), 237.0 (0.28).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 cm^{-1} (br, m), 3309 (w), 3158 (m), 3060 (m), 3022 (s), 2943 (s), 2225 (s), 1868 (w), 1645 (ss), 1594 (s),

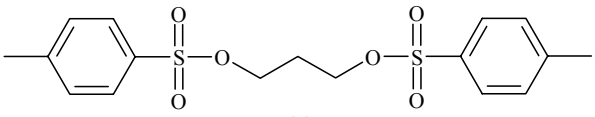
1567 (s), 1488 (m), 1459 (m), 1390 (w), 1340 (m), 1302 (m), 1285 (w), 1257 (w), 1236 (w), 1211 (m), 1202 (m), 1167 (m), 1127 (m), 1088 (w), 1033 (w), 935 (m), 871 (w), 854 (w), 843 (m), 807 (w), 769 (w), 729 (w), 700 (w), 686 (w), 666 (m), 658 (m), 568 (w), 535 (w), 521 (w), 456 (m), 410 (w).

HR-EI-MS: $C_{11}H_{12}N_2O$ (M: 188.23)
Ber. : 188.0950 Gef. : 188.0955

EA ($C_{11}H_{12}N_2O$): Ber. : C 70.19 H 6.43 N 14.88
Gef. : C 70.33 H 6.51 N 14.94

7.2.1.11 Synthese von Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-alkan-Vorstufen

7.2.1.11.1 Darstellung von 1,3-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-propan (**44**)



44

In einem 250 ml Dreihalskolben werden unter Stickstoffatmosphäre 22.8 g (120 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid in 60 ml abs. Pyridin vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Über einen Tropftrichter wird eine Mischung bestehend aus 2.85 ml (39.4 mmol) 1,3-Propandiol (**50**) in 16 ml abs. Pyridin bei 0 °C langsam zugetropft. Die Vorlage verfärbt sich dabei orangefarben, bleibt aber klar. Nach erfolgter Zugabe lässt man die Reaktionslösung langsam auf RT kommen. Nach 4 h Reaktionszeit wird die Mischung in ca. 400 ml Eiswasser gegossen. Der bei starkem Rühren ausfallende apricot-farbene Niederschlag wird über eine Glasfritte abfiltriert und mit wenig Eiswasser gewaschen. Das Rohprodukt wird einmal aus 160 ml Ethanol umkristallisiert. Man erhält 10.3 g (68 %) Produkt **44** als farblos glänzende

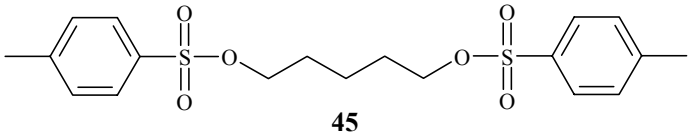
Kristallplättchen. Das Filtrat wird eingeengt und bei -18 °C 2 d zur Nachkristallisation aufbewahrt. Dadurch kann weiteres Produkt (**44**) isoliert werden (985 mg).

Ausbeute: 11.3 g (74 %) farblose glänzende Kristallplättchen.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.72 (d, J = 8.3 Hz, 4H, 2*Aryl $H_A/H_{A'}$), 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 4H, 2*Aryl $H_B/H_{B'}$), 4.04 (t, J = 6.0 Hz, 4H, 2*O-CH_2-), 2.43 (s, 6H, 2*CH_3), 1.98 (quin, J = 6.0 Hz, 2H, -CH_2-C$\underline{H}_2$-CH_2).

^{13}C-NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$): δ = 145.5 (2C, S-$\underline{C}$), 133.0 (2C, CH_3-$\underline{C}$), 130.4 (4C, Aryl-$C_B/C_{B'}$), 128.3 (4C, Aryl-$C_A/C_{A'}$), 66.2 (2C, O-$\underline{C}H_2$-), 29.1 (-CH_2-), 22.0 (2C, -CH_3).

7.2.1.11.2 Darstellung von 1,5-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-pentan (**45**)



45

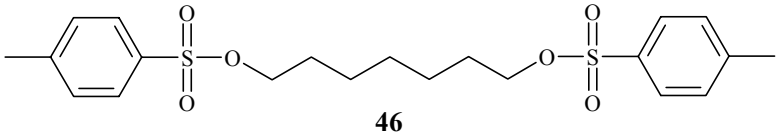
Die Vorgehensweise erfolgt analog zu der unter Punkt 7.2.1.11.1 beschriebenen Synthese von **44**. Eingesetzt werden 11.0 g (57.7 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid in 40 ml abs. Pyridin und 2.0 ml (19.1 mmol) 1,5-Pentandiol (**51**) in 10 ml abs. Pyridin. Nach analoger Aufarbeitung erhält man 7.62 g Rohprodukt, das anschließend einmal aus 50 ml Methanol umkristallisiert wird. Man erhält **45** als farblose Kristallplättchen.

Ausbeute: 6.38 g (81 %) farblose Kristallplättchen.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.75 (d, J = 8.4 Hz, 4H, 2*Aryl $H_A/H_{A'}$), 7.33 (d, J = 8.7 Hz, 4H, 2*Aryl $H_B/H_{B'}$), 3.95 (t, J = 6.3 Hz, 4H, 2*O-CH_2-), 2.43 (s, 6H, 2*CH_3), 1.59 - 1.49 (m, 4H, 2*O-CH_2-C$\underline{H}_2$-), 1.34 - 1.24 (m, 2H, -CH_2-C$\underline{H}_2$-CH_2-).

^{13}C-NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$): δ = 145.2 (2C, S-<u>C</u>), 133.4 (2C, CH_3-<u>C</u>), 130.3 (4C, Aryl-C_B/$C_{B'}$), 128.2 (4C, Aryl-C_A/$C_{A'}$), 70.4 (2C, O-<u>C</u>H_2-), 28.6 (2C, O-CH_2-<u>C</u>H_2-), 22.0 (2C, -CH_3), 21.9 (-CH_2-C<u>H</u>$_2$-CH_2-).

7.2.1.11.3 Darstellung von 1,7-Bis-(*p*-toluolsulfonyloxy)-heptan (**46**)



46

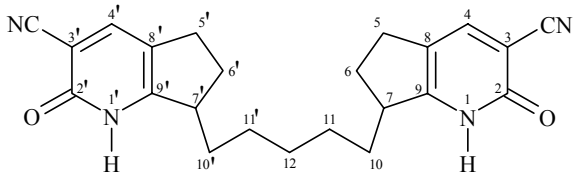
Die Vorgehensweise erfolgt analog zu der unter Punkt 7.2.1.11.1 beschriebenen Synthese von **44**. Eingesetzt werden 9.06 g (47.8 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid in 25 ml abs. Pyridin und 2.0 ml (18.9 mmol) 1,7-Heptandiol (**52**) in 10 ml abs. Pyridin. Nach analoger Aufarbeitung erhält man 6.92 g Rohprodukt, das anschließend einmal aus 20 ml Methanol umkristallisiert wird. Man erhält **46** als hellgraue Kristallnadeln.

Ausbeute: 5.51 g (78 %) hellgraue Kristallnadeln.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 4H, 2*Aryl H_A/$H_{A'}$), 7.32 (d, J = 8.4 Hz, 4H, 2*Aryl H_B/$H_{B'}$), 3.97 (t, J = 6.3 Hz, 4H, 2*O-CH_2-), 2.42 (s, 6H, 2*CH_3), 1.62 - 1.52 (m, 4H, 2*O-CH_2-C<u>H</u>$_2$-), 1.29 - 1.10 (m, 4H, O-CH_2-CH_2-C<u>H</u>$_2$/ 2H, O-CH_2-CH_2-CH_2-C<u>H</u>$_2$-).

^{13}C-NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$): δ = 145.1 (2C, S-<u>C</u>), 133.6 (2C, CH_3-<u>C</u>), 130.2 (4C, Aryl-C_B/$C_{B'}$), 128.2 (4C, Aryl-C_A/$C_{A'}$), 70.8 (2C, O-<u>C</u>H_2-), 29.0 (2C, O-CH_2-<u>C</u>H_2-), 28.6 (O-CH_2-CH_2-CH_2-<u>C</u>H_2-), 25.5 (2C, O-CH_2-CH_2-<u>C</u>H_2-), 22.0 (2C, -CH_3).

7.2.1.12 2,2'-Dioxo-2,2',5,5',6,6',7,7'-octahydro-7,7'-pentan-1,5-diyl-bis-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**48**) aus **29** und **45**



48

Ein mit einem 25 ml Tropftrichter versehener 250 ml Dreihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 50 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt, mit 3.09 ml (22.0 mmol) DIPA und nachfolgend 8.70 ml (21.8 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 1.60 g (10 mmol) von Verbindung **29** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min eine Mischung aus 2.00 g (4.85 mmol) 1,5-Pentylditosylat (**45**) gelöst in ca. 10 ml abs. THF langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und 16 h reagieren. Die entstandene rot-braune Suspension wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der hellbraune Rückstand wird in ca. 50 ml dest. Wasser rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 100 ml Ether extrahiert. Die dunkelrote wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 4.5 - 5 angesäuert. Der entstandene orangefarbene Niederschlag wird abfiltriert und unter vermindertem Druck vollständig vom Lösemittel befreit. Man erhält das Rohprodukt in Form eines dunkelroten Feststoffs, der als Gemisch vorliegt. Zur weiteren Reinigung wird an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (10:1) und $CHCl_3$:MeOH (15:1) chromatographiert.

Ausbeute:	404 mg (21 %) hellgelbes Pulver.
Smp.:	325 °C (decomp.)
R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1):	0.46
R_f ($CHCl_3$/MeOH 15:1):	0.30

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 12.68 (s, 2H, NH), 7.99 (s, 2H, 4/4'-H), 3.07 - 3.00 (m, 2H, 7/7'-H), 2.68 - 2.52 (m, 4H, 5/5'-CH_2), 2.23 - 2.14 (m, 2H, 6/6'-H_A), 1.87 - 1.74 (m, 2H, 10/10'-H_A), 1.81 - 1.69 (m, 2H, 6/6'-H_B), 1.40 - 1.32 (m, 2H, 10/10'-H_B), 1.31 - 1.21 (m, 6H, 11/11'-CH_2/12-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 161.3 (2*CO), 160.5 (C-9/9'), 145.7 (C-4/4'), 117.8 (C-8/8'), 117.2 (2*CN), 99.4 (2*<u>C</u>-CN), 43.5 (C-7/7', <u>C</u>H), 32.0 (C-10/10'-CH_2), 28.9 (C-12, -CH_2), 28.5 (C-6/6'-CH_2), 27.4 (C-5/5'-CH_2), 26.1 (C-11/11'-CH_2).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 389 (8) [M^++H], 388 (25) [M^+], 230 (10), 229 (58), 217 (6), 216 (38), 215 (6), 174 (15), 173 (100), 172 (11), 171 (12), 161 (5), 160 (38), 159 (54), 158 (9), 131 (7), 130 (5), 116 (6), 104 (12).

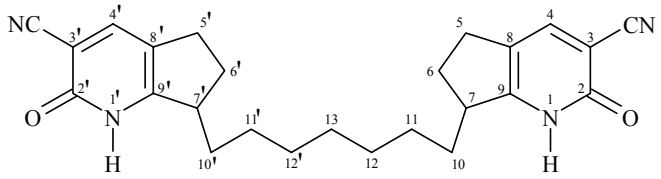
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 201.6 (0.52), 241.7 (0.35), 353.9 (0.59).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, m), 2931 (m), 2859 (m), 2224 (m), 1647 (ss), 1572 (m), 1478 (w), 1387 (w), 1306 (w), 1239 (m), 1144 (w), 929 (w), 838 (w), 770 (w), 663 (m), 479 (w).

HR-EI-MS: $C_{23}H_{24}N_4O_2$ (M: 388.47)
Ber. : 388.1899 Gef. : 388.1901

EA ($C_{23}H_{24}N_4O_2$): Ber. : C 71.11 H 6.23 N 14.42
Gef. : C 70.44 H 6.44 N 13.74

7.2.1.13 2,2'-Dioxo-2,2',5,5',6,6',7,7'-octahydro-7,7'-heptan-1,7-diyl-bis-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**49**) aus **29** und **46**



49

Ein mit einem 25 ml Tropftrichter versehener 250 ml Dreihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 50 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt, mit 3.09 ml (22.0 mmol) DIPA und nachfolgend 8.70 ml (21.8 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 1.60 g (10 mmol) von Verbindung **29** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min eine Mischung aus 2.00 g (4.54 mmol) 1,7-Heptylditosylat (**46**) gelöst in ca. 10 ml abs. THF langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und 16 h reagieren. Die entstandene braunrote Suspension wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der kristalline hellbraune Rückstand wird in ca. 50 ml dest. Wasser rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 100 ml Ether extrahiert. Die dunkelrote wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 4.5 - 5 angesäuert. Der entstandene feine, hellbraune Niederschlag wird in gesättigter NaCl-Lösung gelöst und dreimal mit je 50 ml $CHCl_3$ extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Man erhält das Rohprodukt in Form eines gelbbraunen Feststoffs, der als Gemisch vorliegt. Zur weiteren Reinigung wird an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (10:1) und $CHCl_3$:MeOH (5:1) chromatographiert.

Ausbeute:	420 mg (22 %) hellgelbes Pulver.
Smp.:	298 °C (decomp.)
R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1):	0.29
R_f ($CHCl_3$/MeOH 5:1):	0.67

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 12.68 (s, 2H, NH), 7.97 (s, 2H, 4/4'-H), 3.06 - 2.99 (m, 2H, 7/7'-H), 2.67 - 2.52 (m, 4H, 5/5'-CH_2), 2.22 - 2.13 (m, 2H, 6/6'-H_A), 1.79 - 1.70 (m, 2H, 10/10'-H_A), 1.75 - 1.69 (m, 2H, 6/6'-H_B), 1.41 - 1.31 (m, 2H, 10/10'-H_B), 1.30 - 1.18 (m, 10H, 11/11'-CH_2/12/12'-CH_2/ 13-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 161.7 (2*CO), 161.2 (C-9/9'), 146.1 (C-4/4'), 118.5 (C-8/8'), 117.7 (2*CN), 99.8 (2*<u>C</u>-CN), 43.9 (C-7/7', <u>C</u>H), 32.5 (C-10/10'-CH_2), 29.3 (C-12/12'-CH_2), 29.1 (C-13, -CH_2), 28.9 (C-6/6'-CH_2), 27.8 (C-5/5'-CH_2), 26.6 (C-11/11'-CH_2).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 417 (25) [M^++H], 416 (70) [M^+], 415 (6) [M^+-H], 257 (21), 245 (6), 244 (31), 187 (5), 174 (13), 173 (100), 172 (5), 171 (5), 161 (6), 160 (46), 159 (38), 104 (5).

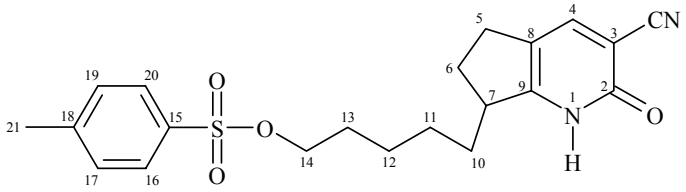
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 208.6 (0.87), 241.0 (0.61), 353.5 (1.05).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, w), 3157 (w), 2928 (s), 2857 (s), 2224 (s), 1647 (ss), 1573 (s), 1496 (w), 1464 (w), 1388 (w), 1305 (w), 1241 (m), 1145 (w), 1074 (w), 927 (w), 839 (w), 770 (w), 712 (w), 662 (m), 522 (w), 478 (w).

HR-EI-MS: $C_{25}H_{28}N_4O_2$ (M: 416.53)
Ber. : 416.2212 Gef. : 416.2197

EA ($C_{25}H_{28}N_4O_2$): Ber. : C 72.09 H 6.78 N 13.45
Gef. : C 71.24 H 6.85 N 13.09

7.2.1.14 7-(5-Pentyltosylat)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**54**) aus **29** und **45**



54

Ein mit einem 25 ml Tropftrichter versehener 250 ml Dreihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 50 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt, mit 3.09 ml (22.0 mmol) DIPA und nachfolgend 8.7 ml (21.8 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 1.60 g (10 mmol) von Verbindung **29** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min eine Mischung aus 4.12 g (10 mmol) 1,5-Pentylditosylat (**45**) gelöst in 20 ml abs. THF langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und für 16 h reagieren. Die entstandene Suspension wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der braune Rückstand wird in 75 ml dest. Wasser rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 100 ml Chloroform extrahiert. Die verbliebene wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 4.5 angesäuert und mit weiteren 50 ml Chloroform extrahiert. Die organischen Extrakte werden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Man erhält das Rohprodukt in Form eines braungelben Feststoffs, der als Gemisch vorliegt. Zur weiteren Reinigung wird an Kieselgel zweimal mit $CHCl_3$:MeOH (10:1) und einmal mit CH_2Cl_2:EtOAc (20:1) chromatographiert.

Ausbeute:	617 mg (15 %) dunkelgelber Feststoff.
R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1):	0.42
R_f (CH_2Cl_2/EtOAc 20:1):	0.17
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$):	δ = 13.79 (s, 1H, NH), 7.78 - 7.75 (m, 2H, 16-H/20-H), 7.73 (s, 1H, 4-H), 7.33 - 7.30 (m, 2H, 17-H/19-H), 4.04 (t,

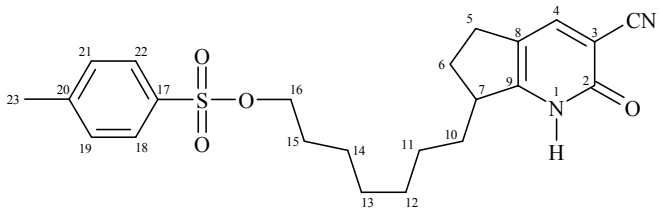
J = 6.4 Hz, 2H, 14-CH_2), 3.26 - 3.15 (m, 1H, 7-H), 2.80 - 2.61 (m, 2H, 5-CH_2), 2.42 (s, 3H, 21-CH_3), 2.39 - 2.29 (m, 1H, 6-H_A), 2.16 - 2.03 (m, 1H, 10-H_A), 1.86 - 1.75 (m, 1H, 6-H_B), 1.74 - 1.61 (m, 2H, 13-CH_2), 1.57 - 1.49 (m, 1H, 10-H_B), 1.49 - 1.29 (m, 4H, 11-CH_2/ 12-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.8 (CO), 160.2 (C-9), 145.3 (C-4), 144.5 (C-15), 133.3 (C-18), 129.8 (C-17/C-19), 127.9 (C-16/C-20), 120.1 (C-8), 116.1 (CN), 100.9 (C-CN), 70.8 (C-14, CH_2-O), 44.1 (C-7, CH), 31.8 (C-10), 29.6 (C-6), 28.5 (C-13), 28.0 (C-5), 26.0 (C-11), 25.0 (C-12), 21.6 (C-21).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 400 (8) [M^+], 230 (17), 229 (34), 228 (43), 227 (13), 213 (6), 211 (7), 200 (9), 199 (12), 186 (7), 185 (10), 184 (20), 174 (19), 173 (67), 172 (51), 171 (13), 161 (13), 160 (80), 159 (64), 158 (8), 155 (12), 131 (6), 117 (8), 116 (7), 115 (5), 108 (20), 107 (32), 104 (13), 103 (5), 92 (13), 91 (100), 90 (15), 89 (15), 79 (13), 78 (6), 77 (21), 69 (30), 68 (20), 67 (12), 65 (32), 63 (13).

HR-EI-MS: $C_{21}H_{24}N_2O_4S$ (M: 400.50)
Ber. : 400.1457 Gef. : 400.1458

7.2.1.15 7-(7-Heptyltosylat)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**55**) aus **29** und **46**



55

Ein mit einem 25 ml Tropftrichter versehener 250 ml Dreihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 50 ml abs. THF als Lösemittel vorgelegt. Die Vorlage wird auf 0 °C abgekühlt, mit 3.09 ml (22.0 mmol) DIPA und nachfolgend 8.7 ml (21.8 mmol) *n*-BuLi (2.5 M in Hexan) versetzt. Nach 20 min Rühren bei 0 °C werden 1.60 g (10 mmol) der Verbindung **29** portionsweise unter N_2-Strom zugegeben. Man lässt unter kontinuierlicher Kühlung 2 h reagieren und tropft dann über einen Zeitraum von 30 min eine Mischung aus 4.41 g (10 mmol) 1,7-Heptylditosylat (**46**) gelöst in 20 ml abs. THF langsam zur Reaktionslösung. Nach weiteren 2 h Kühlung lässt man langsam auf RT kommen und 16 h reagieren. Die entstandene Suspension wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeengt. Der kristalline, braungelbe Rückstand wird in 50 ml dest. Wasser und 50 ml 2 N HCl rückstandslos aufgenommen und dreimal mit je 100 ml Chloroform extrahiert. Die organischen Extrakte werden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Man erhält das Rohprodukt in Form eines ockergelben Feststoffs, der als Gemisch vorliegt. Zur weiteren Reinigung wird an Kieselgel einmal mit $CHCl_3$:MeOH (10:1) und zweimal mit $CHCl_3$:MeOH (30:1) chromatographiert.

Ausbeute:	1.70 g (40 %) gelber kristalliner Feststoff.
Smp.:	121.5 °C
R_f ($CHCl_3$/MeOH 10:1):	0.65
R_f ($CHCl_3$/MeOH 30:1):	0.41

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.72 (s, 1H, NH), 7.78 - 7.75 (m, 2H, 18-H/22-H), 7.73 (s, 1H, 4-H), 7.33 - 7.31 (m, 2H, 19-H/21-H), 3.99 (t, J = 6.6 Hz, 2H, 16-CH_2), 3.24 - 3.17 (m, 1H, 7-H), 2.79 - 2.64 (m, 2H, 5-CH_2), 2.43 (s, 3H, 23-CH_3), 2.38 - 2.29 (m, 1H, 6-H_A), 2.09 - 2.01 (m, 1H, 10-H_A), 1.86 - 1.72 (m, 1H, 6-H_B), 1.66 - 1.59 (m, 2H, 15-CH_2), 1.49 - 1.42 (m, 1H, 10-H_B), 1.32 - 1.28 (m, 8H,11-CH_2/ 12-CH_2/13-CH_2/14-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.7 (CO), 160.5 (C-9), 145.3 (C-4), 144.5 (C-17), 133.3 (C-20), 129.8 (C-19/C-21), 127.9 (C-18/C-22), 120.1 (C-8), 116.1 (CN), 100.8 (C-CN), 70.8 (C-16, CH_2-O), 44.3 (C-7, CH), 32.2 (C-10), 29.6 (C-6), 29.0 (C-12), 28.7 (C-15), 28.6 (C-13), 28.0 (C-5), 26.6 (C-11), 25.2 (C-14), 21.6 (C-23).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 428 (3) [M^+], 256 (13), 174 (15), 173 (82), 172 (15), 160 (100), 159 (74), 108 (14), 107 (22), 104 (20), 92 (15), 91 (82), 89 (16), 77 (18), 65 (32).

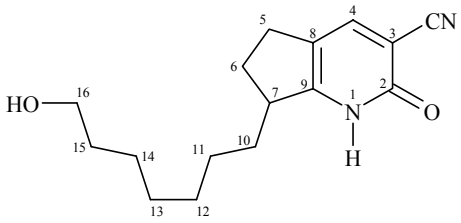
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 221.2 (0.27), 352.9 (0.20).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (br, w), 3159 (w), 3054 (w), 2925 (s), 2858 (s), 2218 (m), 1847 (w), 1640 (ss), 1590 (s), 1575 (s), 1500 (m), 1469 (w), 1390 (w), 1359 (s), 1322 (w), 1306 (w), 1292 (w), 1244 (m), 1212 (w), 1188 (s), 1176 (ss), 1146 (w), 1098 (w), 1077 (w), 1022 (w), 1002 (w), 957 (s), 923 (s), 834 (m), 810 (m), 794 (w), 772 (w), 758 (w), 725 (w), 710 (w), 689 (w), 666 (s), 576 (m), 556 (s), 534 (w), 491 (w), 482 (m), 457 (m).

HR-EI-MS: $C_{23}H_{28}N_2O_4S$ (M: 428.55)
Ber. : 428.1770 Gef. : 428.1753

EA ($C_{23}H_{28}N_2O_4S$):	Ber. :	C 64.46	H 6.59	N 6.54	S 7.48
	Gef. :	C 64.70	H 6.55	N 6.46	S 7.60

7.2.1.16 7-(7-Heptanol)-2,5,6,7-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-pyrindin-3-carbonitril (**56**) aus **55**



56

Ein 50 ml Dreihalskolben wird mit 57 mg (2.3 mmol, 10 eq.) Magnesiumspänen befüllt, unter Vakuum ausgeheizt und mit N_2 belüfteten. Unter N_2-Strom werden 15 ml abs. Methanol eingebracht und mit einem Wasserbad auf RT temperiert. Es werden 100 mg (0.23 mmol) **55** in ca. 15 ml abs. Methanol gelöst und in die Vorlage gegeben. Die anfänglich trübe, leicht gelb gefärbte Suspension klärt sich nach 1 h auf. Nach 20 h Reaktionszeit wird vorsichtig mit 2 N HCl neutralisiert und auf einen pH-Wert von ungefähr 5 eingestellt, bzw. bis die wässerige Lösung klar ist. Die entstandene tiefgrün gefärbte Lösung wird dreimal mit je 25 ml $CHCl_3$ extrahiert. Die violettfarbenen organischen Phasen werden vereinigt, mit 100 ml Wasser und 100 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und anschließend unter vermindertem Duck vom LM befreit. Man erhält das Rohprodukt als dunkelroten, glasartigen Feststoff in einer Ausbeute von 102 mg. Das Produktgemisch wird zur weiteren Reinigung an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (20:1) chromatographiert und Verbindung **56** isoliert.

Ausbeute: 22 mg (35 %) dunkelroter Feststoff.

Smp.: 151 °C

R_f ($CHCl_3$/MeOH 20:1): 0.24

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.52/1.45 (s_{br}, 2H, -OH, NH), 7.73 (s, 1H, 4-H), 3.60 (t, J = 6.6 Hz, 2H, 16-CH_2), 3.25 - 3.18 (m, 1H, 7-H), 2.79 - 2.64 (m, 2H, 5-CH_2), 2.38 - 2.29 (m, 1H, 6-H_A), 2.09 - 2.01 (m, 1H, 10-H_A), 1.86 - 1.77 (m, 1H, 6-H_B), 1.58 - 1.52 (m, 2H, 15-CH_2), 1.49 - 1.46 (m, 1H, 10-H_B), 1.40 - 1.33 (m, 8H, 11-CH_2/12-CH_2/13-CH_2/14-CH_2).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 163.7 (CO), 160.7 (C-9), 145.3 (C-4), 120.0 (C-8), 116.1 (CN), 100.7 (<u>C</u>-CN), 62.8 (C-16, <u>C</u>H_2-O), 44.3 (C-7, <u>C</u>H), 32.5 (C-15), 32.4 (C-10), 29.6 (C-6), 29.0 (C-12), 28.8 (C-13), 28.0 (C-5), 26.6 (C-11), 25.4 (C-14).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 275 (5) [M^++H], 274 (14) [M^+], 244 (3), 187 (3), 175 (5), 174 (13), 173 (100), 172 (7), 171 (5), 162 (5), 161 (13), 160 (126), 159 (62), 158 (6), 131 (5), 104 (8).

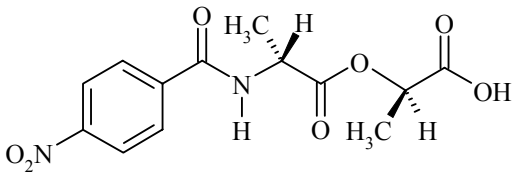
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 209.7 (0.95), 241.5 (0.69), 353.4 (1.16).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3361 cm^{-1} (br, m), 3157 (w), 2927 (s), 2856 (s), 2225 (m), 1652 (ss), 1573 (s), 1494 (m), 1466 (w), 1388 (w), 1333 (w), 1318 (w), 1244 (m), 1144 (w), 1055 (w), 1024 (w), 984 (w), 928 (w), 838 (w), 772 (w), 711 (w), 662 (m), 518 (w), 486 (w).

HR-EI-MS: $C_{16}H_{22}N_2O_2$ (M: 274.37)
Ber. : 274.1681 Gef. : 274.1669

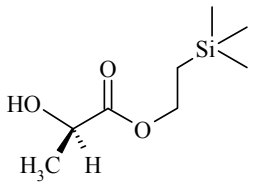
EA ($C_{16}H_{22}N_2O_2$): Ber. : C 70.04 H 8.08 N 10.21
Gef. : C 69.55 H 8.09 N 9.87

7.2.2 Synthese des Substrats *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**)



59

7.2.2.1 R-(+)-2-(Trimethylsilyl)ethyllactat (**67**)



67

Ein 50 ml Zweihalskolben versehen mit einem Kühler und einem 10 ml Tropftrichter mit Druckausgleich, der am Ausgang zum Hahn mit ein wenig Glaswolle bestückt wurde, wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. In den noch heißen Tropftrichter werden unter kontinuierlichem Stickstoffstrom 3 g frisch im Vakuum ausgeheiztes Molekularsieb (4Å) eingefüllt. Im Reaktionskolben werden ca. 25 ml abs. THF vorgelegt und nacheinander 0.24 ml (2.5 mmol) R-(+)-Methyllactat (**65**), 1.80 ml (12.6 mmol, 5 eq.) Trimethylsilylethanol (**66**) und 0.19 ml (0.63 mmol, 0.25 eq.) Tetraisopropylorthotitanat in die Reaktionslösung gegeben. Die farblose und wasserklare Reaktionslösung wird 24 h zum Rückfluss erhitzt, so dass das Kondensat kontinuierlich durch den Tropftrichter über das Molekularsieb zurück in die Vorlage tropft. Nach beendeter Reaktionszeit wird unter vermindertem Druck das Lösemittel entfernt. Der leicht gelbliche ölige Rückstand wird an Kieselgel mit DCM:Aceton (8:1) gereinigt. Die Detektion der Fraktionen erfolgte durch Eintauchen der DC-Folien in eine Kaliumpermanganatlösung und anschließendem Erhitzen.

Ausbeute: 432 mg (90 %) farbloses Öl.

R_f (DCM/Aceton 8:1): 0.72

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4.27 - 4.22 (m, 2H, O-C$\underline{H}_2$), 4.21 (q, J = 6.8 Hz, 1H, CH), 2.87 (s_{br}, 1H, -OH), 1.38 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH_3), 1.02 - 0.98 (m, 2H, O-CH_2-C$\underline{H}_2$), 0.03 (s, 9H, (Si(C$\underline{H}_3$)$_3$).

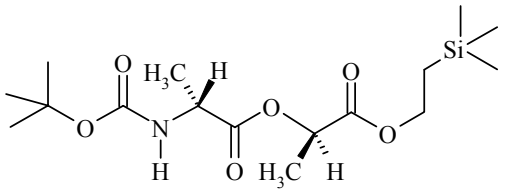
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 175.8 (CO), 66.8 (C-H), 64.0 (O-$\underline{C}H_2$), 20.3 (-CH_3), 17.4 (O-CH_2-$\underline{C}H_2$-), -1.6 (Si($\underline{C}H_3$)$_3$).

CI-MS (NH_3): *m/z* (%) = 208 (20) [M^++NH_4^+], 190 (1) [M^+], 129 (9), 119 (13), 117 (8) [M^+-$SiMe_3$], 113 (14), 112 (10), 101 (10), 85 (7), 83 (10), 75 (38), 73 (100), 71 (14), 70 (13), 57 (22), 45 (12).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3468 cm^{-1} (br, m), 2956 (s), 2900 (m), 1732 (ss), 1455 (m), 1418 (w), 1252 (ss), 1224 (s), 1180 (m), 1131 (ss), 1042 (m), 938 (m), 859 (s), 839 (ss), 762 (w), 695 (w), 664 (w).

Summenformel: $C_8H_{18}O_3Si$ (M: 190.32)

7.2.2.2 Kupplungsreaktion von **67** mit Boc-D-Alanin (**68**)



70

Ein mit einem 10 ml Tropftrichter versehener 100 ml Dreihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 2.8 ml einer 0.5 M CDI/CH_2Cl_2 Lösung vorgelegt und unter Rühren auf 0 °C gekühlt. In die grünbraune wasserklare

Reaktionslösung werden 271 mg (1.4 mmol) Boc-D-Alanin (**68**) gelöst in 10 ml abs. DCM über ein Septum während 30 min tropfenweise eingespritzt. Nach erfolgter Zugabe wird noch für 5 min unter Kühlung gerührt, bevor über den Tropftrichter 210 mg (1.1 mmol) der Verbindung **67** gelöst in 5 ml abs. DCM während weiterer 20 min in die Reaktionslösung getropft werden. Man kühlt eine Stunde, lässt auf RT erwärmen und rührt nochmals für 3.5 h. Nach beendeter Reaktionszeit wird die Lösung durch Zugabe von 10 ml H_2O gequencht, anschließend zur Trockene eingeengt und der verbliebene Rückstand in 50 ml Et_2O gelöst. Die organische Phase wird nacheinander mit je 15 ml H_2O, 5 %iger Zitronensäure-, 5 %iger $NaHCO_3$-Lösung und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der farblose ölige Rückstand wird an Kieselgel mit einem Eluentensystem bestehend aus DCM:Hexan:EtOAc (10:4:1) gereinigt.

Ausbeute: 217 mg (60 %) farbloses Öl.

R_f (DCM/Hex/EtOAc 10:4:1): 0.67

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 5.08 (q, J = 7.1 Hz, 1H, Lac-CH), 5.01 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NH), 4.37 - 4.30 (m, 1H, Ala-CH), 4.21 - 4.16 (m, 2H, O-C$\underline{H}_2$), 1.47 (d, J = 7.1 Hz, 3H, Lac-CH_3), 1.43 (d, J = 7.2 Hz, 3H, Ala-CH_3), 1.41 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 0.99 -0.95 (m, 2H, O-CH_2-C$\underline{H}_2$), 0.01 (s, 9H, (Si(C$\underline{H}_3$)$_3$).

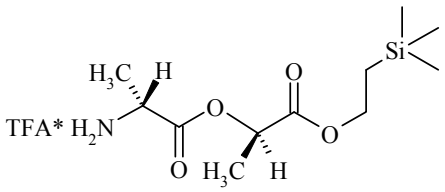
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 172.9 (Ala-CO), 170.5 (Lac-CO), 155.1 (CO), 79.8 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 69.1 (Lac-$\underline{C}$H), 63.8 (O-$\underline{C}H_2$), 49.0 (Ala-$\underline{C}$H), 28.3 (C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.5 (Ala-$\underline{C}H_3$), 17.2 (O-CH_2-$\underline{C}H_2$-), 16.8 (Lac-$\underline{C}H_3$), -1.6 (Si($\underline{C}H_3$)$_3$).

FAB-MS: *m/z* (%) = 384 (4) [M^++Na], 362 (9) [M^++H], 350 (9), 306 (4), 281 (6), 279 (9), 278 (50), 262 (12), 235 (16), 234 (100), 226 (16), 207 (6), 188 (14), 163 (8), 160 (11), 154 (17), 147 (22), 144 (12), 137 (29), 136 (31), 117 (12), 116 (11), 107 (10).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3378 cm^{-1} (br, m), 2978 (s), 2957 (s), 2902 (m), 1748 (ss), 1718 (ss), 1513 (m), 1455 (m), 1390 (m), 1367 (s), 1308 (m), 1251 (s), 1224 (s), 1165 (ss), 1134 (m), 1098 (s), 1070 (s), 936 (m), 859 (s), 839 (ss), 762 (m), 695 (w), 664 (w), 608 (w).

HR-FAB-MS: $C_{16}H_{32}NO_6Si$ (M+1: 362.51)
Ber. : 362.1999 Gef. : 362.1917

7.2.2.3 Entfernung der Boc-Schutzgruppe von Verbindung **70**



71

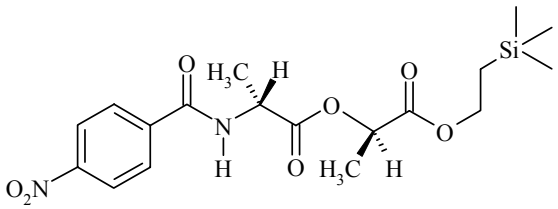
In einem 50 ml Rundkolben werden 512 mg (1.42 mmol) des Depsipeptids **70** vorgelegt und mit 15 ml einer Lösung bestehend aus DCM und TFA (3/1; 11.25 ml/3.75 ml) versetzt. Die wasserklare Reaktionslösung wird für ca. 30 min bei RT gerührt. Die Vorlage wird nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck eingeengt. Nach vollständiger Entfernung des Lösemittels am ÖV erhält man Verbindung **71** in nahezu quantitativer Ausbeute.

Ausbeute: 530 mg (99 %) klares, leicht gelbes Öl.

R_f (DCM/Hex/EtOAc 10:4:1): 0.05

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.13 (s_{br}, 2H, NH_2), 5.14 (q, J = 7.1 Hz, 1H, Lac-CH), 4.25 - 4.17 (m, 2H, O-C$\underline{H}_2$), 4.20 - 4.15 (m, 1H, Ala-CH), 1.65 (d, J = 7.4 Hz, 3H, Lac-CH_3), 1.51 (d, J = 7.0 Hz, 3H, Ala-CH_3), 1.03 - 0.94 (m, 2H, O-CH_2-C$\underline{H}_2$), 0.03 (s, 9H, (Si(C$\underline{H}_3$)$_3$).

7.2.2.4 Kupplungsreaktion von **71** mit *p*-NO_2-Benzoylchlorid (**72**)



73

Ein mit einem 10 ml Tropftrichter versehener 50 ml Zweihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 166 mg (0.44 mmol) **71** gelöst in 10 ml abs. DCM bei RT vorgelegt und nacheinander mit 0.15 ml (0.88 mmol, 2 eq.) frisch destilliertem DIEA und einer kat. Menge DMAP (11 mg, 0.2 eq.) versetzt. In die Vorlage werden anschließend 107 mg (0.58 mmol, 1.3 eq.) *p*-NO_2-Benzoylchlorid (**72**) gelöst in ca.10 ml abs. DCM portionsweise über den Tropftrichter zugegeben. Die Reaktionslösung wird für 3 h bei RT gerührt, und im Anschluss daran unter vermindertem Druck zur Trockene eingeengt. Der kristalline Rückstand wird in 10 ml Et_2O und 10 ml 5 %iger $NaHCO_3$-Lösung aufgenommen. Die organische Phase wird jeweils mit 10 ml 5 %iger $NaHCO_3$- und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und vollständig vom Lösemittel befreit. Nach 2 h Trocknung am ÖV erhält man einen gelbes Öl, welches an Kieselgel mit DCM:Hexan:Aceton (4:4:1) gereinigt wird.

Ausbeute: 72 mg (40 %) gelbes Öl.

R_f (DCM/Hex/Aceton 4:4:1): 0.67

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.29 - 8.26 (m, 2H, Aryl-$H_{B/B'}$), 7.97 - 7.93 (m, 2H, Aryl-$H_{A/A'}$), 6.83 (d, J = 7.2 Hz, 1H, Aryl-CO-N<u>H</u>), 5.19 (q, J = 7.2 Hz, 1H, Lac-CH), 4.89 - 4.82 (m, 1H, Ala-CH), 4.26 - 4.20 (m, 2H, O-C<u>H</u>$_2$), 1.63 (d, J = 7.2 Hz, 3H, Ala-CH_3), 1.54 (d, J = 6.8 Hz, 3H, Lac-CH_3), 1.03 - 0.98 (m, 2H, O-CH_2-C<u>H</u>$_2$), 0.04 (s, 9H, (Si(C<u>H</u>$_3$)$_3$).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 172.4 (Ala-CO), 170.2 (Lac-CO), 164.9 (Aryl-CO), 149.8 (C-NO_2), 139.4 (C_q), 128.3 (Aryl-$C_{A/A'}$), 123.8

(Aryl-$C_{B/B'}$), 69.7 (Lac-<u>C</u>H), 64.1 (O-<u>C</u>H_2), 48.7 (Ala-<u>C</u>H), 18.4 (Ala-<u>C</u>H_3), 17.4 (O-CH_2-<u>C</u>H_2-), 16.8 (Lac-<u>C</u>H_3), -1.6 (Si(<u>C</u>H_3)$_3$).

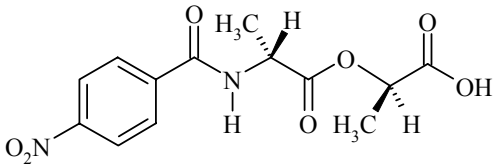
FAB-MS: *m/z* (%) = 411 (4) [M^++H], 385 (9), 384 (24), 383 (100), 367 (15), 337 (4), 295 (6), 293 (16), 265 (5), 227 (6), 226 (31), 222 (12), 221 (76), 205 (10), 194 (12), 193 (81), 177 (12), 166 (5), 163 (6), 151 (12), 150 (71), 147 (9), 120 (12), 105 (10), 104 (19).

UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 263.0 (0.59).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3331 cm^{-1} (br, m), 3108 (w), 3077 (w), 2990 (w), 2955 (m), 2900 (w), 1945 (w), 1747 (ss), 1651 (s), 1603 (s), 1530 (ss), 1488 (m), 1455 (m), 1385 (m), 1348 (s), 1313 (m), 1251 (s), 1202 (s), 1167 (ss), 1133 (m), 1097 (s), 1046 (m), 1015 (w), 934 (m), 843 (ss), 784 (w), 762 (w), 722 (m), 696 (w), 664 (w), 609 (w), 579 (w), 508 (w).

HR-FAB-MS: $C_{18}H_{27}N_2O_7Si$ (M+1: 411.50)
Ber. : 411.1588 Gef. : 411.1628

7.2.2.5 Entschützen der Verbindung **73** und Reinigung der Zielverbindung **59**



59

Das TMSE-geschützte Depsipeptid **73** (70 mg, 0.17 mmol) wird in 10 ml frisch destilliertem DMF gelöst und mit einer äquimolaren Menge (0.2 ml) 1 M TBAF-Lösung versetzt. Die leicht gelbliche, aber wasserklare Reaktionslösung verfärbt sich bei der Zugabe der

TBAF-Lösung stark gelb und entfärbt sich innerhalb der nächsten 30 s wieder in ein leichtes beige, bleibt aber durchgehend wasserklar. Die Lösung wird für ca. 1 h bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wird das Lösemittel unter vermindertem Druck vollständig entfernt und man erhält einen braunfarbenen öligen Rückstand. Das Öl wird in 70 ml EtOAc aufgenommen, mit Essigsäure auf einen pH-Wert von 4 - 5 angesäuert und dreimal mit je 10 ml H_2O gewaschen. Die organische Phase wird kurz über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Das so erhaltene gelbliche Öl wird zweifach an Sephadex LH 20 mit MeOH/AcOH (99:1) gereinigt. Man erhält **59** als farbloses Öl, das bei kühler Lagerung innerhalb von 2 d kristalline perlmuttfarbene Sterne ausbildet.

Ausbeute: 42 mg (80 %) perlmuttfarbene Kristallplättchen.

Smp.: 114-115 °C, Gasentwicklung.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 12.88 (s_{br}, 1H, COO<u>H</u>), 9.17 (d, J = 6.8 Hz, 1H, Aryl-CO-N<u>H</u>), 8.34 - 8.31 (m, 2H, Aryl-$H_{B/B'}$), 8.12 - 8.02 (m, 2H, Aryl-$H_{A/A'}$), 4.96 (q, J = 7.2 Hz, 1H, Lac-CH), 4.58 - 4.51 (m, 1H, Ala-CH), 1.46 (d, J = 7.2 Hz, 3H, Ala-CH_3), 1.42 (d, J = 7.2 Hz, 3H, Lac-CH_3).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 172.1 (Ala-CO), 171.8 (Lac-CO), 165.0 (Aryl-CO), 149.4 (C-NO_2), 139.4 (C_q), 129.2 (Aryl-$C_{A/A'}$), 123.7 (Aryl-$C_{B/B'}$), 68.9 (Lac-<u>C</u>H), 48.5 (Ala-<u>C</u>H), 16.9 (Lac-<u>C</u>H_3), 16.6 (Ala-<u>C</u>H_3).

FAB-MS: *m/z* (%) = 311 (6) [M^++H], 221 (4), 193 (3).

UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 263.0 (0.43).

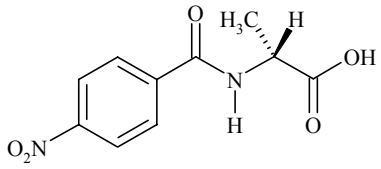
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3400 cm^{-1} (br, m), 3289 (m), 3079 (w), 2997 (w), 2940 (w), 1753 (ss), 1729 (s), 1646 (s), 1602 (s), 1527 (ss), 1489 (w), 1456 (m), 1383 (w), 1352 (s), 1318 (w), 1303 (w), 1271 (w), 1204 (m), 1169 (m), 1122 (w), 1101

(w), 1047 (w), 1016 (w), 901 (w), 870 (m), 846 (m), 784 (w), 758 (w), 723 (m), 687 (w), 669 (w), 581 (w), 541 (w), 448 (w).

HR-FAB-MS: $C_{13}H_{15}N_2O_7$ (M+1: 311.27)
Ber. : 311.0879 Gef. : 311.0869

7.2.3 Synthese der Referenzverbindungen

7.2.3.1 Darstellung von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanin (**60**)



60

In einem 50 ml Zweihalskolben werden 6 ml 2 N NaOH vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. In die stark rührende basische Vorlage werden 891 mg (10 mmol) D-Alanin (**74**) gegeben. Nach kompletter Lösung der Aminosäure werden 2.04 g (11 mmol) *p*-NO_2-Benzoylchlorid (**72**) portionsweise in die Reaktionslösung eingebracht. Die Zugabe wird begleitet von ebenfalls gleichzeitig stattfindender Einbringung gleicher Mengen an 2 N NaOH, die über einen Tropftrichter zugetropft werden (über den gesamten Zeitraum 10 ml). Die Reaktionslösung klärt sich 30 min nach Zugabe aller Komponenten und wird bei RT für weitere 16 h gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit erhält man eine wasserklare, leicht gelb gefärbte Lösung, die in 20 ml H_2O suspendiert und mit konz. HCl auf einen pH-Wert von 1 - 2 eingestellt wird. Ab einem pH-Wert von 4 - 5 bildet sich ein farbloser Niederschlag, der im noch saureren Bereich eine gelblich gefärbte Suspension ergibt. Der Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene **60** wird zweimal aus 25 ml EtOAc umkristallisiert.

Ausbeute: 648 mg (27 %) leicht gelbliche Kristallnadeln.

Smp.: 172-173 °C

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 13.30 (s_{br}, 1H, -COOH), 9.02 (d, J = 7.2 Hz, 1H, NH), 8.34 - 8.30 (m, 2H, Aryl-$H_{B/B'}$), 8.12 - 8.08 (m, 2H, Aryl-$H_{A/A'}$), 4.43 (dq, J = 7.2 Hz, 1H, CH), 1.40 (d, J = 7.2 Hz, 3H, -CH_3).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 173.8 (<u>C</u>OOH), 164.5 (C=O), 149.1 (C_q, <u>C</u>-NO_2), 139.5 (C_q, <u>C</u>-C=O), 128.9 (Aryl-$C_{A/A'}$), 123.4 (Aryl-$C_{B/B'}$), 48.3 (CH), 16.7 (CH_3).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 238 (2) [M^+], 220 (8), 194 (6) [M^+-CO_2], 193 (49) [M^+-H, -CO_2/-NO_2], 151 (6), 150 (100) [M^+-Alanyl], 120 (7), 104 (18), 92 (8), 84 (9), 76 (12), 66 (10).

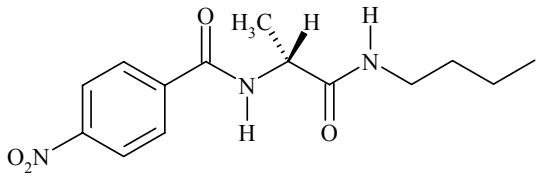
UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 263.9 (1.07).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3356 cm^{-1} (s), 3074 (m), 2645 (w), 1945 (w), 1721 (ss), 1664 (ss), 1604 (s), 1523 (ss), 1485 (s), 1465 (s), 1424 (m), 1392 (m), 1346 (s), 1303 (s), 1268 (s), 1229 (ss), 1173 (m), 1109 (m), 1064 (w), 1049 (w), 1012 (w), 982 (w), 965 (w), 948 (w), 868 (m), 850 (s), 827 (m), 784 (w), 789 (w), 724 (s), 711 (m), 692 (w), 668 (w), 632 (w), 592 (w), 562 (m), 502 (m), 424 (w).

HR-EI-MS: $C_{10}H_{10}N_2O_5$ (M: 238.20)
Ber. : 238.0590 Gef. : 238.0574

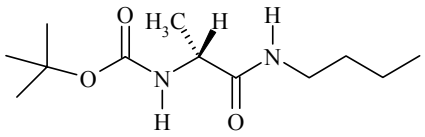
EA ($C_{10}H_{10}N_2O_5$): Ber. : C 50.42 H 4.23 N 11.76
Gef. : C 50.46 H 4.13 N 11.80

7.2.3.2 Darstellung von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-butylamid (**61**)



61

7.2.3.2.1 *t*-Butyloxycarbonyl-D-alanyl-*n*-butylamid (**75**)



75

Ein mit einem 10 ml Tropftrichter versehener 50 ml Zweihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 20 ml abs. DCM als Lösemittel vorgelegt. In die Vorlage werden anschließend bei 0 °C 420 mg (2.2 mmol) Boc-D-Alanin (**68**) und 0.31 ml (2.2 mmol) TEA eingebracht. Die wasserklare Lösung wird mit 0.29 ml (2.2 mmol) IBCF, verdünnt in 5 ml abs. DCM, über den Tropftrichter langsam zugegeben. Nach beendeter IBCF-Zugabe und weiteren 10 min Reaktionszeit bei 0 °C wird zur Vorlage langsam eine Mischung bestehend aus 0.22 ml (2.2 mmol) *n*-Butylamin (**6**) und 5 ml abs. DCM getropft. Man lässt für 30 min reagieren und auf RT erwärmen. Nach beendeter Reaktionszeit wird die Lösung unter vermindertem Druck zur Trockene eingeengt. Der farblose kristalline Rückstand wird in 10 ml EtOAc und 10 ml H_2O aufgenommen. Die wässrige Phase wird anschließend dreimal mit je 10 ml EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit je 10 ml 10 %iger Zitronensäurelösung, Wasser, 5 %iger $NaHCO_3$- und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und vollständig vom Lösemittel befreit. Nach 2 h Trocknung am ÖV erhält man ein farbloses Öl, welches zur weiteren Reinigung an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (20:1) chromatographiert wird. Man erhält **75** als farblose Flüssigkeit, die nach 12 h Lagerung bei 4 °C zu einem farblosen Feststoff auskristallisiert.

Ausbeute: 490 mg (90 %) farbloser Feststoff.

Smp.: 69-70 °C (decomp.)

R_f ($CHCl_3$/MeOH 20:1): 0.31

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 6.27 (s_{br}, 1H, CONH), 5.07 (s_{br}, 1H, Boc-NH), 4.11 (s_{br}, 1H, CH), 3.23 (q, J = 6.7 Hz, 2H, N-C$\underline{H}_2$), 1.50 - 1.43 (m, 2H, N-CH_2-C$\underline{H}_2$-), 1.42 (s, 9H, C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 1.36 - 1.27 (m, 2H, -C$\underline{H}_2$-CH_3), 1.32 (d, J = 7.1 Hz, 3H, CH_3), 0.89 (t, J = 7.3 Hz, 3H, -CH_2-C$\underline{H}_3$).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 172.5 (CO), 155.5 (Boc-CO), 80.0 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 50.1 ($\underline{C}$H), 39.1 (N-CH_2), 31.6 (N-CH_2-$\underline{C}H_2$), 28.3 (C($\underline{C}H_3$)$_3$), 19.9 (-$\underline{C}H_2$-CH_3), 18.4 (CH_3), 13.7 (-CH_2-$\underline{C}H_3$).

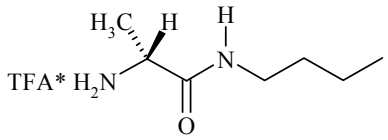
FAB-MS: *m/z* (%) = 511 (5) [$2M^+$+Na], 489 (4) [$2M^+$+H], 268 (4), 267 (32) [M^++Na], 246 (7), 245 (52) [M^++H], 190 (9), 189 (100) [M^+-C_4H_9], 171 (7), 146 (5), 145 (65), 144 (7), 107 (7), 89 (7), 88 (7), 77 (6), 74 (10), 72 (6), 57 (25).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3322 cm^{-1} (ss), 3092 (m), 2965 (s), 2935 (s), 2874 (m), 2792 (w), 1685 (ss), 1653 (ss), 1528 (ss), 1457 (m), 1392 (m), 1368 (s), 1322 (s), 1270 (s), 1253 (s), 1172 (ss), 1116 (w), 1071 (s), 1042 (m), 1024 (s), 977 (w), 956 (w), 883 (w), 860 (m), 790 (m), 756 (m), 722 (w), 627 (m), 463 (w), 435 (w).

HR-FAB-MS: $C_{12}H_{25}N_2O_3$ (M+1: 245.34)
Ber. : 245.1865 Gef. : 245.1819

EA ($C_{12}H_{24}N_2O_3$): Ber. : C 58.99 H 9.90 N 11.47
Gef. : C 58.95 H 9.87 N 11.54

7.2.3.2.2 Entfernung der Boc-Schutzgruppe von Verbindung **75**



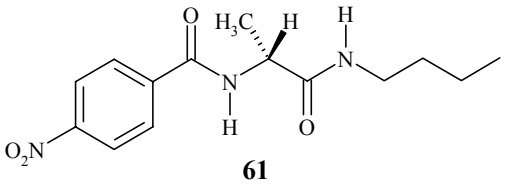
77

In einem 25 ml Rundkolben werden 228 mg (0.93 mmol) **75** vorgelegt und mit 15 ml einer Lösung bestehend aus DCM und TFA (3/1; 11.25 ml/3.75 ml) versetzt. Die wasserklare Reaktionslösung wird für 45 min bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit (DC-Kontrolle) wird die Vorlage unter vermindertem Druck eingeengt. Nach vollständiger Entfernung des Lösemittels am ÖV erhält man Verbindung **77** in quantitativer Ausbeute, welche ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt wird.

Ausbeute: 241 mg (100 %) klares, leicht gelbes Öl.

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.07 (s_{br}, 3H, NH_2/NH), 3.76 (s_{br}, 1H, CH), 3.20 - 3.03 (m, 2H, N-C$\underline{H}_2$), 1.49 - 1.22 (m, 7H, N-CH_2-C$\underline{H}_2$/ -C$\underline{H}_2$-CH_3/-CH_3), 0.86 (t, J = 7.3 Hz, 3H, -CH_2-C$\underline{H}_3$).

7.2.3.2.3 *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-*n*-butylamid (**61**)



61

Ein mit einem 10 ml Tropftrichter versehener 50 ml Zweihalskolben wird unter Vakuum ausgeheizt und anschließend mit N_2 belüftet. Es werden 241 mg (0.93 mmol) **77** gelöst in 10 ml abs. DCM bei RT vorgelegt und nacheinander mit 0.31 ml (1.82 mmol, 2 eq.) frisch destilliertem DIEA und einer kat. Menge DMAP (23 mg, 0.2 eq) versetzt. In die Vorlage werden anschließend 203 mg (1.21 mmol, 1.3 eq.) *p*-NO_2-Benzoylchlorid (**72**) gelöst in 10 ml

abs. DCM portionsweise über den Tropftrichter zugegeben. Die Reaktionslösung wird für 3 h bei RT gerührt und im Anschluss daran unter vermindertem Druck zur Trockene eingeengt. Der farblose kristalline Rückstand wird in 10 ml Et_2O und 10 ml 5 %iger $NaHCO_3$-Lösung aufgenommen. Die organische Phase wird jeweils mit 10 ml 5 %iger $NaHCO_3$- und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und vollständig vom LM befreit. Nach 2 h Trocknung am ÖV erhält man einen hellgelben Feststoff, der an Kieselgel mit $CHCl_3$:MeOH (20:1) chromatographiert wird.

Ausbeute: 232 mg (85 %) fast farbloses Kristallpulver.

Smp.: 143-144 °C

R_f ($CHCl_3$/MeOH 20:1): 0.36

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.29 - 8.25 (m, 2H, Aryl-$H_{B/B'}$), 7.97 - 7.94 (m, 2H, Aryl-$H_{A/A'}$), 7.22 (d, J = 6.8 Hz, 1H, Aryl-CO-N<u>H</u>), 6.09 (s_{br}, 1H, CONH), 4.65 (dq, J = 6.8 Hz, J = 6.8 Hz, 1H, CH), 3.35 - 3.22 (m, 2H, N-C<u>H</u>$_2$), 1.54 - 1.47 (m, 2H, N-CH_2-C<u>H</u>$_2$-), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH_3), 1.39 - 1.30 (m, 2H, -C<u>H</u>$_2$-CH_3), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H, -CH_2-C<u>H</u>$_3$).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 171.7 (CO), 164.9 (Aryl-CO), 149.8 (C-NO_2), 139.4 (C_q), 128.3 (Aryl-$C_{A/A'}$), 123.8 (Aryl-$C_{B/B'}$), 49.5 (<u>C</u>H), 39.5 (N-CH_2), 31.5 (N-CH_2-<u>C</u>H_2), 20.0 (-<u>C</u>H_2-CH_3), 19.0 (CH_3), 13.7 (-CH_2-<u>C</u>H_3).

FAB-MS: *m/z* (%) = 294 (54) [M^++H], 293 (3) [M^+], 281 (5), 221 (8), 193 (13).

UV/Vis (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 263.6 (0.71).

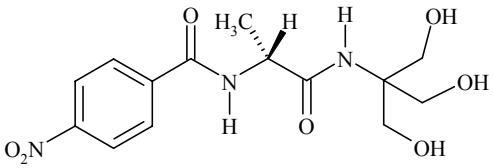
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3295 cm^{-1} (s), 3080 (w), 2962 (m), 2935 (m), 2874 (m), 1638 (ss), 1601 (s), 1526 (ss), 1489 (m), 1451 (m),

1348 (s), 1317 (m), 1285 (m), 1238 (m), 1160 (ss), 1108 (w), 1016 (w), 959 (w), 898 (w), 865 (m), 846 (m), 783 (w), 721 (m), 623 (w), 509 (w), 419 (w).

HR-FAB-MS: $C_{14}H_{20}N_3O_4$ (M+1: 294.32)
Ber. : 294.1454 Gef. : 294.1418

EA ($C_{14}H_{19}N_3O_4$): Ber. : C 57.33 H 6.53 N 14.33
Gef. : C 57.22 H 6.53 N 14.16

7.2.3.3 Darstellung von *N*-(*p*-Nitrobenzoyl)-*N*'-[tris-(hydroxymethyl)-methyl]-alaninamid (**79**) aus **60**



79

In einem 50 ml Zweihalskolben werden 220 mg (0.90 mmol) der Säurekomponente **60** in 20 ml frisch destilliertem MeOH vorgelegt. Die klare Lösung wird mit 246 mg (1.02 mmol) EEDQ und im Anschluss mit 120 mg (1.02 mmol) 1,1,1-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (**78** = Tris-Puffer) versetzt. Die Lösung wird 6 h zum Rückfluss erhitzt und nach beendeter Reaktionszeit unter vermindertem Druck vom Lösemittel befreit. Der gelb bräunliche Rückstand wird in 20 ml H_2O gelöst und zweimal mit je 15 ml EtOAc extrahiert. Die gesammelte organische Phase, welche zur Entfernung nicht umgesetzter EEDQ Reste dient, wird verworfen und die wässrige Phase erneut zur Trockene eingedampft. Trotz zweimaliger Umkristallisation kann das Produkt **79** nur als Gemisch mit eingesetztem **60** erhalten werden.

Ausbeute: 168 mg (55 %) leicht gelbliche Kristallnadeln.

FAB-MS: *m/z* (%) = 342 (3) [M^++H], 275 (4), 251 (3), 202 (3), 193 (3), 153 (5), 150 (5), 122 (100), 120 (7), 104 (7), 91 (5).

8 Kinetische Messungen

8.1 Geräte und Messmethoden

8.1.1 NMR-Analytik

Alle Aminolysereaktionen, sowohl die katalysierten als auch die unkatalysierten von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) werden mit ^{1}H-NMR Spektroskopie verfolgt. Der Reaktionsverlauf wird anhand der Integralgrößen der Reaktanten analysiert. Sämtliche Einzelmessungen werden in Deuterochloroform als Lösemittel durchgeführt und an dem Gerät Mercury 200 (199.98 MHz) der Firma Varian bei einer konstanten Temperatur von 23 °C angefertigt.

Das für die NMR-Messungen benötigte Deuterochloroform wird über CaH_2 gelagert und vor jeder Benutzung frisch unter Stickstoffatmosphäre destilliert. Das *n*-Butylamin (**6**) wurde ebenfalls über CaH_2 gelagert und bei Bedarf unter Stickstoff fraktioniert destilliert.

8.1.2 HPLC-Analytik

Die kinetische HPLC-Analytik erfolgt auf einer Waters-Anlage (bestehend aus: Waters In-Line Degasser, Waters 510 Pump, Rheodyne 7725i, Waters 486 Tunable Absorbance Detector, Software: Millenium^{32} Chromatography Manager) mit einer YMC-Pack Pro C18 Säule (5 µm Partikelgröße, 150 * 4.6 mm I.D., Artikelbezeichnung: AS-302, AS 12 S05 - 1546 WT , S-5 µm, 120 A/No. 041541815(w)) der Firma YMC Europe GmbH und einer Probenschleife der Größe 5 µl. Zur Trennung der jeweiligen Reaktionsgemische (Hydrolyse, basenkatalysierte Hydrolyse [Aminolyse], Katalyse mit **20**, **29**, **56**) kommen die folgenden Lösemittelkombinationen zum Einsatz. Die Durchflussrate durch die Anlage beträgt bei allen durchgeführten Messungen 1 ml/min.

Hydrolyse: Sowohl die mit **20** und **29** versetzten, als auch die unkatalysierten Hydrolysegemische können mit Hilfe eines isokratischen Lösemittelsystems bestehend aus

22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA] getrennt werden. Die Detektion der mit dem *p*-NO_2-Benzoylchromophor versehenen Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm.

Basenkatalysierte Hydrolyse (Aminolyse): Sowohl die mit **20** und **29** versetzten, als auch die basenkatalysierten Hydrolysegemische (Aminolyse) werden mit Hilfe des Gradienten **A** getrennt. Die Detektion der mit dem *p*-NO_2-Benzoylchromophor versehenen Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm.
Gradient A (Gesamtlänge 40 min): Lösemittel: CH_3CN und H_2O [0.1 % TFA]
20 min 78 % H_2O und 22 % CH_3CN isokratisch, innerhalb 8 min auf 70 % H_2O und 30 % CH_3CN, innerhalb 8 min zurück auf 78 % H_2O und 22 % CH_3CN und 4 min isokratisch Spülen bei 78 % H_2O und 22 % CH_3CN.

Untersuchungen mit 56: Die unkatalysierten bzw. basenkatalysierte Hydrolysegemische werden gemäß obiger Beschreibung isokratisch (22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA]) bzw. mit dem Gradientensystem **A** getrennt. Die mit **56** versetzten Umsetzungen können mit Hilfe des Gradienten **B** getrennt werden. Die Detektion der mit dem *p*-NO_2-Benzoylchromophor versehenen Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm.
Gradient B (Gesamtlänge 50 min): Lösemittel: CH_3CN und H_2O [0.1 % TFA]
20 min 78 % H_2O und 22 % CH_3CN isokratisch, innerhalb 10 min auf 73 % H_2O und 27 % CH_3CN, innerhalb 10 min zurück auf 78 % H_2O und 22 % CH_3CN und 10 min isokratisch Spülen bei 78 % H_2O und 22 % CH_3CN.

8.2 Aggregations-Messungen mittels NMR-Technik in $CDCl_3$

Die Dimerisierungskonstanten der Verbindungen **29** und **30** werden über Titrationsexperimente mittels ^{1}H-NMR-Technik ermittelt. Die konzentrationsabhängigen Messungen werden analog zu den kinetischen Experimenten in Deuterochloroform als Lösemittel durchgeführt und an dem Gerät AMX 600 (600.13 MHz) der Firma Bruker bei einer konstanten Temperatur von 300.00 K ± 0.05 K angefertigt. Vor jeder Messreihe wird eine Stammlösung genauer Konzentration frisch angemischt und die einzelnen Proben auf die entsprechend gewünschte Konzentration mit reinem Lösemittel verdünnt.

Der gleiche Ablauf wird auch für die Bereitung der Tieftemperaturproben angewandt. Alle Messungen werden an dem Gerät VRX 400S (399.92 MHz) der Firma Varian bei einer konstanten Temperatur von 219.75 K ± 0.05 K (-53.4 °C) angefertigt.

Tabelle 8.1: Daten und Ergebnisse der Aggregations-Messungen für Verbindung **29**. Die für jede Konzentration angegebene Verschiebung δ_{obs} in ppm, stellt den mathematischen Mittelwert der beobachteten Peaks aus bis zu vier Einzelmessungen verschiedener Chargen dar. Die Verschiebung δ_{calc} in ppm ist der iterativ mit Gleichung 4.4-12 ermittelte Wert für die entsprechende Konzentration.[85]

$c*10^{-3}$ [mol l^{-1}]	δ_{obs} [ppm]	δ_{calc} [ppm]	Δ (δ_{obs} - δ_{calc})
1.00	12.41363	12.39416	0.01947
1.20	12.50830	12.52171	-0.01341
1.25	12.50910	12.54908	-0.03998
1.50	12.64413	12.66615	-0.02203
1.75	12.79080	12.75877	0.03203
1.80	12.80500	12.77508	0.02992
2.00	12.82403	12.83447	-0.01044
2.50	12.92317	12.95206	-0.02890
2.70	12.97400	12.99014	-0.01614
3.00	13.06190	13.04030	0.02160
3.50	13.11825	13.10974	0.00851
4.00	13.18665	13.16626	0.02039
4.50	13.23560	13.21344	0.02216
5.00	13.25890	13.25363	0.00527
5.50	13.32130	13.28840	0.03290
6.00	13.32545	13.31888	0.00657
6.50	13.35090	13.34588	0.00502
7.00	13.35550	13.37003	-0.01453
7.50	13.37605	13.39179	-0.01574
8.00	13.40930	13.41154	-0.00224
8.50	13.42010	13.42957	-0.00947
9.00	13.43495	13.44612	-0.01117
9.50	13.45880	13.46138	-0.00258
10.00	13.45470	13.47551	-0.02081
10.50	13.50900	13.48864	0.02036
11.00	13.50500	13.50089	0.00411
11.50	13.51590	13.51236	0.00354
12.00	13.53100	13.52311	0.00789
15.00	13.54355	13.57615	-0.03260

Nach dem unter Punkt 4.4.2.1 beschriebenen Iterationsprozess werden folgende Ergebnisse erhalten:

δ_M(**29**) = 6.44 (± 0.07) ppm, δ_D(**29**) = 14.04 (± 0.01) ppm, K_D(**29**) = 8340 (± 104) M^{-1}

Tabelle 8.2: Daten und Ergebnisse der Aggregations-Messungen für Verbindung **30**. Die für jede Konzentration angegebene Verschiebung δ_{obs} in ppm, stellt den mathematischen Mittelwert der beobachteten Peaks aus bis zu drei Einzelmessungen verschiedener Chargen dar. Die Verschiebung δ_{calc} in ppm ist der iterativ mit Gleichung 4.4-12 ermittelte Wert für die entsprechende Konzentration.[85]

$c*10^{-3}$ [mol l^{-1}]	δ_{obs} [ppm]	δ_{calc} [ppm]	Δ (δ_{obs} - δ_{calc})
1.00	11.92027	11.92568	-0.00541
2.00	12.31840	12.36260	-0.04420
2.50	12.52221	12.47949	0.04272
3.33	12.61658	12.61452	0.00206
4.00	12.71783	12.69260	0.02523
5.00	12.78850	12.77961	0.00889
6.66	12.87726	12.87950	-0.00224
7.50	12.91087	12.91727	-0.00640
8.00	12.94319	12.93696	0.00623
9.00	12.96645	12.97144	-0.00499
10.00	12.99317	13.00074	-0.00757
12.50	13.05306	13.05831	-0.00525
20.00	13.15260	13.16169	-0.00909

Nach dem unter Punkt 4.4.2.1 beschriebenen Iterationsprozess werden folgende Ergebnisse erhalten:

δ_M(**30**) = 6.22 (± 0.12) ppm, δ_D(**30**) = 13.57 (± 0.02) ppm, K_D(**30**) = 7778 (± 163) M^{-1}

Tabelle 8.3: Ergebnisse der Tieftemperaturmessung für Verbindung **29** bei T=220 K. Die für jede Konzentration angegebenen Verschiebungen δ_M und δ_D in ppm entsprechen den bei tieferen Temperaturen nicht mehr als Mischpeak vorliegenden Verschiebungen für die in Lösung vorhandenen Monomere und Dimere der Verbindung **29**.

$c*10^{-3}$ [mol l^{-1}]	δ_M [ppm]	δ_D [ppm]
0.50	6.79358	13.90745 (min)
1.00	6.95002 (max)	14.07000
1.50	- (n.b.)	14.12360
2.00	6.87567	14.14690
5.00	6.38036 (min)	14.20800
7.50	6.45286	14.21400 (max)
10.00	6.45991	14.21170

Zum Vergleich sind nachstehend die unter Punkt 4.4.2.1 iterativ erhaltenen Werten für beide Verschiebungen aufgelistet: Monomersignal δ_M(**29**) = 6.44 (± 0.07) ppm und Dimersignal δ_D(**29**) = 14.04 (± 0.01) ppm.

8.3 Kinetische Messungen mittels NMR-Technik in $CDCl_3$

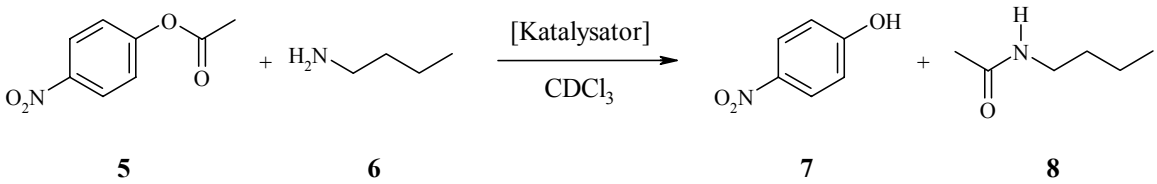
8.3.1 Bereitung der Stammlösungen und Probenvorbereitung

Die Stammlösungen werden vor jeder Messreihe in entsprechenden Messkolben frisch zubereitet. Die Kolben werden vorher mehrmals mit dest. H_2O und dest. Aceton im Ultraschallbad gereinigt, bei 120 °C im Trockenschrank gelagert und erst kurz vor der Anmischung zum Abkühlen entnommen. Die gleiche Prozedur wird auch für die zum Einsatz kommenden NMR-Röhrchen angewandt. Bei der Bereitung der Maßlösungen müssen prinzipiell zwei Präparationsmöglichkeiten unterschieden werden, die von der Löslichkeit des zu testenden Katalysatorsystems abhängig sind. Ist der Katalysator in Deuterochloroform gut löslich (besser als $10*10^{-3}$ mol l^{-1}) und ergibt eine homogene Lösung, können die Komponenten einzeln in separaten Kolben zubereitet werden. Die Maßlösungen von *p*-Nitrophenylacetat (**5**), *n*-Butylamin (**6**) und des zu testenden Katalysators werden jeweils in dreifacher Konzentration angemischt. Die Katalysatormaßlösung wird anschließend durch eine Verdünnungsreihe auf die gewünschten Konzentrationen mit $CDCl_3$ verdünnt. Die drei Stammlösungen werden erst unmittelbar vor der Messung zu gleichen Teilen von 180 µl in einem NMR-Rohr zusammengegeben, um die benötigten Endkonzentrationen von $50*10^{-3}$ mol l^{-1} für *p*-Nitrophenylacetat (**5**) und $250*10^{-3}$ mol l^{-1} für *n*-Butylamin (**6**) zu ergeben. Ist der Katalysator nur bedingt in Deuterochloroform löslich (z.B. **34**), aber wesentlich besser in einer mit *n*-Butylamin (**6**) angereicherten Chloroform- bzw. Deuterochloroformlösung, so wird zunächst eine ausreichende Menge an *n*-Butylaminmaßlösung ($250*10^{-3}$ mol l^{-1}) bereitet. Zu einem genau abgemessenen Volumen dieser Lösung wird eine genau abgewogene und noch lösliche Menge an Katalysator gegeben, die über eine Verdünnungsreihe auf die entsprechenden Konzentrationen mit der vorbereiteten *n*-Butylaminlösung (**6**) verdünnt wird. Die *p*-Nitrophenylacetatlösung (**5**) dagegen wird in einer Konzentration von 2 mol l^{-1} in $CDCl_3$ angesetzt. Auch hier werden die Lösungen erst kurz vor der Messung zusammengegeben, indem genau 1 ml der jeweiligen *n*-Butylamin-Katalysatormaßlösung in ein NMR-Rohr pipettiert wird. Diese Mischung wird unmittelbar vor der Messung mit 25 µl der hochkonzentrierten Esterlösung versetzt und kräftig durchmischt.

In der Regel ist die Reaktionslösung jeweils aus drei äquivalenten Mengen (Volumina) der einzelnen Stammlösungen zusammengesetzt, um im vereinten Zustand in den Reaktionen folgende Kriterien zu erfüllen:

- Substratkonzentration (**5**) (c = konstant): $5*10^{-2}$ mol l^{-1}
- *n*-Butylamin (**6**) (c = konstant): $25*10^{-2}$ mol l^{-1}
- Katalysator (c = variabel): $0\text{-}15*10^{-3}$ mol l^{-1}

Sollte es sich um eine Reaktionslösung zur Bestimmung der Hintergrundreaktion mit ihrer spezifischen Konstante k_A handeln, so wird die Menge an Katalysatorstammlösung im NMR-Röhrchen durch eine äquivalente Menge an reinem Deuterochloroform ersetzt. Jede Einzelmessung zu je 16 Pulsen wird nach einer Messroutine alle 2 bis 3 Minuten wiederholt, so dass je nach Konzentration der Katalysatormaßlösung zwischen 20 und 35 Einzelmessungen erhalten werden.



5 **6** **7** **8**

Abbildung 8-1: Reaktionsschema für die mittels NMR-Technik durchgeführten kinetischen Messungen.

8.3.2 Unabhängige Bestimmung der Hintergrundreaktion

Zur unabhängigen Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_A der Hintergrundreaktion, die nur von der Aminkonzentration abhängig ist, werden in Zusammenarbeit mit *Steininger*[86] über einen Zeitraum von ca. 12 Monaten 20 verschiedene Einzelmessungen durchgeführt. Diese Messungen erfolgen nach obiger Vorschrift, ohne jeglichen Zusatz von Katalysatormolekülen bei 23 °C. Der Parameter k_A [l^2 mol^{-2} s^{-1}] wird sowohl nach einer nichtlinearen (exponentieller Abfall) als auch nach einer linearen Auswertungsmethode ermittelt, die bereits unter Punkt 4.4.1 dargelegt wurden. Die Resultate der beiden Auswertungsmethoden aus allen 20 Einzelmessungen werden gemittelt und der Wert $1.066*10^{-2}$ l^2 mol^{-2} s^{-1} für k_A erhalten. Dieser Wert wird für alle Messungen in der Auswertung fixiert.

Tabelle 8.4: Zusammenfassung der Ergebnisse der unkatalysierten Aminolysereaktion zur Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten k_A nach Vorgabe der exponentiellen Auswertungsmethode von Gleichung 2.3-2.[85]

Reaktions-Nr.	$1/k_{obs}$ [s]	Fehler ±	Δt [s]	k_{obs} [s^{-1}]
1	1498.64040	11.00060	-123.53470	6.67271e-4
2	1581.56170	3.16930	-138.00790	6.32286e-4
3	1499.78400	4.15750	-232.44720	6.66763e-4
4	1554.87120	5.22750	-202.35540	6.43140e-4
5	1517.24020	4.25700	-98.33630	6.59091e-4
6	1514.56700	11.07730	-102.55950	6.60255e-4
7	1507.81860	4.12050	-191.12870	6.63210e-4
8	1401.83740	4.96960	-190.02650	7.13349e-4
9	1638.71810	5.03730	-227.51700	6.10233e-4
10	1603.45360	9.12530	-94.73440	6.23654e-4
11	1379.49060	10.44840	-100.18960	7.24905e-4
12	1503.15270	10.38510	-93.42100	6.65268e-4
13	1442.00280	10.05640	-161.10680	6.93480e-4
14	1486.79550	9.52630	-324.52430	6.72587e-4
15	1488.93320	8.91840	-304.14290	6.71622e-4
16	1497.53160	7.95930	-256.21740	6.67766e-4
17	1500.49470	6.24960	-115.59360	6.66447e-4
18	1495.64510	7.52750	-133.22310	6.68608e-4
19	1534.06120	14.52320	-105.33040	6.51864e-4
20	1443.80660	15.51770	-111.09450	6.92614e-4

Statistische Auswertung für die **$1/k_{obs}$** Spalte:

Anzahl	20
Sum $1/k_{obs}$	3.0090e+4
Mean	1504.52030
Standard deviation	61.53490
Max for $1/k_{obs}$	1638.71810
Min for $1/k_{obs}$	1379.49060

Statistische Auswertung für die **k_{obs}** Spalte:

Anzahl	20
Sum k_{obs}	0.01331
Mean	6.65720e-4
Standard deviation	2.72530e-5
Max for k_{obs}	7.24910e-4
Min for k_{obs}	6.10230e-4

$$\Rightarrow k_A = \frac{\overline{k_{obs}}}{[Amin]^2} = 1.0652 * 10^{-2}\ \mathrm{l^2 mol^{-2} s^{-1}} \pm 4.36 * 10^{-4}\ \mathrm{l^2 mol^{-2} s^{-1}}$$

mit: $[Amin] = 0.25\ \mathrm{mol\,l^{-1}}$

Tabelle 8.5: Zusammenfassung der Ergebnisse der unkatalysierten Aminolysereaktion zur Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten k_A nach Vorgabe der linearen Auswertungsmethode von Gleichung 2.3-3.[85]

Reaktions-Nr.	$1/k_{obs}$ [s]	Fehler ±	k_{obs} [s^{-1}]	r^2
1	1483.12940	5.35745	6.74250e-4	99.92000
2	1582.85452	1.62848	6.31770e-4	99.99000
3	1498.57635	1.97021	6.67300e-4	99.98000
4	1550.21936	2.70295	6.45070e-4	99.97000
5	1522.30172	2.58022	6.56900e-4	99.98000
6	1533.78938	5.65988	6.51980e-4	99.91000
7	1508.47764	1.94457	6.62920e-4	99.99000
8	1395.73185	2.21183	7.16470e-4	99.98000
9	1646.65975	2.90132	6.07290e-4	99.97000
10	1622.24421	5.24162	6.16430e-4	99.92000
11	1378.91094	4.94825	7.25210e-4	99.91000
12	1511.16753	4.88187	6.61740e-4	99.93000
13	1441.04678	5.08692	6.93940e-4	99.90000
14	1488.38317	4.57706	6.71870e-4	99.91000
15	1483.30540	4.05353	6.74170e-4	99.94000
16	1492.58187	3.64223	6.69980e-4	99.95000
17	1497.81319	3.38733	6.67640e-4	99.96000
18	1489.82450	4.60466	6.71220e-4	99.93000
19	1509.82139	7.16943	6.62330e-4	99.86000
20	1419.97047	7.76847	7.04240e-4	99.83000

Statistische Auswertung für die **$1/k_{obs}$** Spalte:

Anzahl	20
Sum $1/k_{obs}$	3.0057e+4
Mean	1502.84050
Standard deviation	66.44690
Max for $1/k_{obs}$	1646.65980
Min for $1/k_{obs}$	1378.91090

Statistische Auswertung für die **k_{obs}** Spalte:

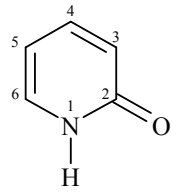
Anzahl	20
Sum k_{obs}	0.01333
Mean	6.66640e-4
Standard deviation	2.93250e-5
Max for k_{obs}	7.25210e-4
Min for k_{obs}	6.07290e-4

$$\Rightarrow k_A = \frac{\overline{k_{obs}}}{[Amin]^2} = 1.0666 * 10^{-2}\ \mathrm{l^2 mol^{-2} s^{-1}} \pm 4.69 * 10^{-4}\ \mathrm{l^2 mol^{-2} s^{-1}}$$

mit: $[Amin] = 0.25\ \mathrm{mol\,l^{-1}}$

8.3.3 Mit Pyridonderivat **20** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**)

In untenstehender Tabelle 8.6 sind die Daten und Ergebnisse der mit Verbindung **20** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C zusammengefasst.[86] Es erfolgt die Bestimmung von k_{kat} und K_D bei gegebenem k_A mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 (Kinetik Modell I) und Gleichung 4.6-8 (Kinetik Modell II):



20

Tabelle 8.6: Zusammenfassung der Ergebnisse der mit **20** katalysierten Aminolysereaktion von **5** mit **6**.[85]

c (20) [mmol]	**1 / k_{obs} [s]**	**k_{obs} [s^{-1}]**	**k_{obs} / [Amin]**	**1 / $\overline{k_{obs}}$ [s]**	**$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]**	**$\overline{k_{obs}}$ / [Amin]**
0.335	1369.93708	$7.29961 \cdot 10^{-3}$	2.91984e-6	1369.93708	$7.29961 \cdot 10^{-3}$	2.91984e-6
0.670	1368.16333	$7.30907 \cdot 10^{-3}$	2.92363e-6	1368.16333	$7.30907 \cdot 10^{-3}$	2.92363e-6
1.660	1187.03209	$8.42437 \cdot 10^{-3}$	3.36975e-6	1187.03209	$8.42437 \cdot 10^{-3}$	3.36975e-6
3.000	959.77160	$1.04191 \cdot 10^{-3}$	4.16766e-6	959.77160	$1.04191 \cdot 10^{-3}$	4.16766e-6
3.300	979.05402	$1.02139 \cdot 10^{-3}$	4.08558e-6	979.05402	$1.02139 \cdot 10^{-3}$	4.08558e-6
5.000	876.78028	$1.14054 \cdot 10^{-3}$	4.56215e-6	876.78028	$1.14054 \cdot 10^{-3}$	4.56215e-6
16.000	621.72363	$1.60843 \cdot 10^{-3}$	6.43373e-6	621.72363	$1.60843 \cdot 10^{-3}$	6.43373e-6

Ergebnis nach Gleichung 4.3-5: **k_{kat}:** $7.7635 \cdot 10^{-7}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1} ± $1.9943 \cdot 10^{-8}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1}

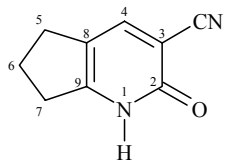
K_D: 0.22962 l $mmol^{-1}$ ± 0.01558 l $mmol^{-1}$

Ergebnis nach Gleichung 4.6-8: **k_{kat}:** $2.2980 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} ± $3.3773 \cdot 10^{-5}$ s^{-1}

K_C: 0.08536 l $mmol^{-1}$ ± $3.0844 \cdot 10^{-3}$ l $mmol^{-1}$

8.3.4 Mit Pyridonderivat **29** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**)

In untenstehender Tabelle 8.7 sind die Daten und Ergebnisse der mit Verbindung **29** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C zusammengefasst. Es erfolgt die Bestimmung von k_{kat} und K_D bei gegebenem k_A mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 (Kinetik Modell I) und Gleichung 4.6-8 (Kinetik Modell II):



29

Tabelle 8.7: Zusammenfassung der Ergebnisse der mit **29** katalysierten Aminolysereaktion von **5** mit **6**.[85]

c (29) [mmol]	**1 / k_{obs} [s]**	**k_{obs} [s^{-1}]**	**k_{obs} / [Amin]**	**1 / $\overline{k_{obs}}$ [s]**	**$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]**	**$\overline{k_{obs}}$ / [Amin]**
0.04	1426.03829	7.01243e-4	2.80497e-6			
0.04	1460.69531	6.84605e-4	2.73842e-6	1443.36680	6.92825e-4	2.77130e-6
0.08	1434.15648	6.97274e-4	2.78910e-6	1434.15648	6.97274e-4	2.78910e-6
0.10	1402.52316	7.13001e-4	2.85200e-6	1402.52316	7.13001e-4	2.85200e-6
0.20	1400.20538	7.14181e-4	2.85672e-6			
0.20	1331.89066	7.50812e-4	3.00325e-6			
0.20	1389.81188	7.19522e-4	2.87809e-6	1373.96931	7.27818e-4	2.91127e-6
0.40	1304.21805	7.66743e-4	3.06697e-6			
0.40	1297.02045	7.70998e-4	3.08399e-6	1300.61925	7.68865e-4	3.07546e-6
0.75	1280.36078	7.81030e-4	3.12412e-6	1280.36078	7.81030e-4	3.12412e-6
1.00	1213.57930	8.24009e-4	3.29604e-6	1213.57930	8.24009e-4	3.29604e-6
1.50	1283.73431	7.78977e-4	3.11591e-6			
1.50	1160.93133	8.61377e-4	3.44551e-6	1222.33282	8.18108e-4	3.27243e-6
2.00	1152.08062	8.67995e-4	3.47198e-6			
2.00	1155.61350	8.65341e-4	3.46136e-6	1153.84706	8.66666e-4	3.46666e-6
4.00	1043.69040	9.58139e-4	3.83255e-6	1043.69040	9.58139e-4	3.83255e-6
6.00	1058.85669	9.44415e-4	3.77766e-6			
6.00	954.22414	1.04797e-3	4.19189e-6	1006.54042	9.93502e-4	3.97401e-6
8.00	939.56962	1.06432e-3	4.25727e-6			
8.00	888.72769	1.12520e-3	4.50082e-6	914.14865	1.09391e-3	4.37566e-6
10.00	890.84023	1.12254e-3	4.49014e-6			
10.00	873.22710	1.14518e-3	4.58071e-6	882.03367	1.13374e-3	4.53497e-6
12.00	872.08185	1.14668e-3	4.58673e-6			
12.00	859.71538	1.16318e-3	4.65270e-6	865.89861	1.15487e-3	4.61948e-6

Ergebnis nach Gleichung 4.3-5: **k_{kat}:** $1.2814*10^{-5}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1} ± $1.7899*10^{-7}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1}

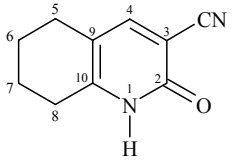
K_D: 243.9808 l $mmol^{-1}$ ± 6.8835 l $mmol^{-1}$

Ergebnis nach Gleichung 4.6-8: **k_{kat}:** $1.2956*10^{-3}$ s^{-1} ± $1.8230*10^{-5}$ s^{-1}

K_C: 0.24840 l $mmol^{-1}$ ± 0.01781 l $mmol^{-1}$

8.3.5 Mit Pyridonderivat **30** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**)

In untenstehender Tabelle 8.8 sind die Daten und Ergebnisse der mit Verbindung **30** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C zusammengefasst. Es erfolgt die Bestimmung von k_{kat} und K_D bei gegebenem k_A mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 (Kinetik Modell I) und Gleichung 4.6-8 (Kinetik Modell II):



30

Tabelle 8.8: Zusammenfassung der Ergebnisse der mit **30** katalysierten Aminolysereaktion von **5** mit **6**.[85]

c (30) [mmol]	**1 / k_{obs} [s]**	**k_{obs} [s^{-1}]**	**k_{obs} / [Amin]**	**1 / $\overline{k_{obs}}$ [s]**	**$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]**	**$\overline{k_{obs}}$ / [Amin]**
0.10	1427.98924	7.00285e-4	2.80114e-6			
0.10	1462.23019	6.83887e-4	2.73555e-6	1445.10972	6.91989e-4	2.76796e-6
0.30	1334.64468	7.49263e-4	2.99705e-6			
0.30	1459.64424	6.85098e-4	2.74039e-6	1397.14446	7.15746e-4	2.86298e-6
0.40	1347.04132	7.42368e-4	2.96947e-6	1347.04132	7.42368e-4	2.96947e-6
0.75	1319.82542	7.57676e-4	3.03070e-6			
0.75	1233.54906	8.10669e-4	3.24268e-6	1276.68724	7.83277e-4	3.13311e-6
1.00	1174.96535	8.51089e-4	3.40436e-6			
1.00	1215.13268	8.22955e-4	3.29182e-6	1195.04902	8.36786e-4	3.34714e-6
1.50	1149.88591	8.69651e-4	3.47861e-6			
1.50	1169.11198	8.55350e-4	3.42140e-6	1159.49895	8.62441e-4	3.44977e-6
2.50	1062.78810	9.40921e-4	3.76369e-6	1062.78810	9.40921e-4	3.76369e-6
5.00	902.83395	1.10762e-3	4.43049e-6			
5.00	882.28620	1.13342e-3	4.53368e-6			
5.00	1024.43965	9.76143e-4	3.90457e-6			
5.00	1025.27623	9.75347e-4	3.90139e-6	958.70901	1.04307e-3	4.17228e-6
7.50	841.27629	1.18867e-3	4.75468e-6			
7.50	829.23631	1.20593e-3	4.82372e-6			
7.50	786.86048	1.27087e-3	5.08349e-6			
7.50	897.49354	1.11421e-3	4.45686e-6	838.71665	1.19230e-3	4.76919e-6
9.00	752.39058	1.32910e-3	5.31639e-6	752.39058	1.32910e-3	5.31639e-6
10.00	756.01808	1.32272e-3	5.29088e-6			
10.00	758.80926	1.31785e-3	5.27142e-6	757.41367	1.32028e-3	5.28113e-6
12.00	739.83583	1.35165e-3	5.40660e-6	739.83583	1.35165e-3	5.40660e-6
15.00	720.07889	1.38874e-3	5.55495e-6			
15.00	695.85177	1.43709e-3	5.74835e-6	707.96533	1.41250e-3	5.64999e-6

Ergebnis nach Gleichung 4.3-5: **k_{kat}:** $1.1050*10^{-6}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1} ± $2.0447*10^{-8}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1}

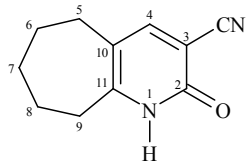
K_D: 0.74994 l $mmol^{-1}$ ± 0.03219 l $mmol^{-1}$

Ergebnis nach Gleichung 4.6-8: **k_{kat}:** $1.8113*10^{-3}$ s^{-1} ± $2.2504*10^{-5}$ s^{-1}

K_C: 0.12647 l $mmol^{-1}$ ± $5.2547*10^{-3}$ l $mmol^{-1}$

8.3.6 Mit Pyridonderivat **33** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**)

In untenstehender Tabelle 8.9 sind die Daten und Ergebnisse der mit Verbindung **33** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C zusammengefasst. Es erfolgt die Bestimmung von k_{kat} und K_D bei gegebenem k_A mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 (Kinetik Modell I) und Gleichung 4.6-8 (Kinetik Modell II):



33

Tabelle 8.9: Zusammenfassung der Ergebnisse der mit **33** katalysierten Aminolysereaktion von **5** mit **6**.[85]

c (33) [mmol]	**1 / k_{obs} [s]**	**k_{obs} [s^{-1}]**	**k_{obs} / [Amin]**	**1 / $\overline{k_{obs}}$ [s]**	**$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]**	**$\overline{k_{obs}}$ / [Amin]**
0.03	1481.72150	6.74891e-4	2.69956e-6	1481.72150	6.74891e-4	2.69956e-6
0.045	1466.65030	6.81826e-4	2.72730e-6	1466.65030	6.81826e-4	2.72730e-6
0.06	1463.37670	6.83351e-4	2.73340e-6	1463.37670	6.83351e-4	2.73340e-6
0.12	1437.56490	6.95621e-4	2.78248e-6	1437.56490	6.95621e-4	2.78248e-6
0.18	1377.41190	7.25999e-4	2.90400e-6	1377.41190	7.25999e-4	2.90400e-6
0.45	1432.56610	6.98048e-4	2.79219e-6	1432.56610	6.98048e-4	2.79219e-6
1.20	1339.62450	7.46478e-4	2.98591e-6	1339.62450	7.46478e-4	2.98591e-6
1.80	1307.44260	7.64852e-4	3.05941e-6			
1.80	1123.79930	8.89839e-4	3.55935e-6	1215.62095	7.46478e-4	3.29050e-6
3.00	1216.26780	8.22187e-4	3.28875e-6			
3.00	1126.26520	8.87890e-4	3.55156e-6	1171.26650	8.53777e-4	3.41511e-6
4.50	1037.05340	9.64270e-4	3.85708e-6			
4.50	1079.69460	9.26188e-4	3.70475e-6	1058.37400	9.44846e-4	3.77938e-6
6.00	970.20380	1.03071e-3	4.12285e-6			
6.00	980.41700	1.01997e-3	4.07990e-6	975.31040	1.02531e-3	4.10126e-6
6.75	976.97210	1.02357e-3	4.09428e-6	976.97210	1.02357e-3	4.09428e-6
9.00	966.65810	1.03449e-3	4.13797e-6			
9.00	840.15050	1.19026e-3	4.76105e-6	903.40430	1.10692e-3	4.42770e-6

Ergebnis nach Gleichung 4.3-5: **k_{kat}:** $4.2181*10^{-7}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1} $\pm$ $9.9664*10^{-9}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1}

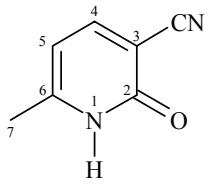
K_D: 0.13561 l $mmol^{-1}$ $\pm$ 0.01009 l $mmol^{-1}$

Ergebnis nach Gleichung 4.6-8: **k_{kat}:** $1.6676*10^{-3}$ s^{-1} $\pm$ $2.4072*10^{-5}$ s^{-1}

K_C: 0.08661 l $mmol^{-1}$ $\pm$ $3.1766*10^{-3}$ l $mmol^{-1}$

8.3.7 Mit Pyridonderivat **34** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**)

In untenstehender Tabelle 8.10 sind die Daten und Ergebnisse der mit Verbindung **34** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C zusammengefasst. Es erfolgt die Bestimmung von k_{kat} und K_D bei gegebenem k_A mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 (Kinetik Modell I) und Gleichung 4.6-8 (Kinetik Modell II):



34

Tabelle 8.10: Zusammenfassung der Ergebnisse der mit **34** katalysierten Aminolysereaktion von **5** mit **6**.[85]

c (34) [mmol]	**1 / k_{obs} [s]**	**k_{obs} [s^{-1}]**	**k_{obs} / [Amin]**	**1 / $\overline{k_{obs}}$ [s]**	**$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]**	**$\overline{k_{obs}}$ / [Amin]**
0.02	1438.17021	6.95328e-4	2.78131e-6			
0.02	1452.45977	6.88487e-4	2.75395e-6	1445.31499	6.91891e-4	2.76756e-6
0.10	1426.51550	7.01009e-4	2.80404e-6	1426.51550	7.01009e-4	2.80404e-6
0.40	1369.65616	7.30110e-4	2.92044e-6			
0.40	1366.38668	7.31857e-4	2.92743e-6	1368.02142	7.30983e-4	2.92393e-6
0.80	1324.78430	7.54840e-4	3.01936e-6	1324.78430	7.54840e-4	3.01936e-6
1.00	1284.80649	7.78327e-4	3.11331e-6			
1.00	1274.37825	7.84696e-4	3.13879e-6	1279.59237	7.81499e-4	3.12600e-6
1.20	1253.14347	7.97993e-4	3.19197e-6	1253.14347	7.97993e-4	3.19197e-6
2.40	1173.92338	8.51844e-4	3.40738e-6	1173.92338	8.51844e-4	3.40738e-6
3.00	1151.47270	8.68453e-4	3.47381e-6	1151.47270	8.68453e-4	3.47381e-6

Ergebnis nach Gleichung 4.3-5: **k_{kat}:** $1.1806*10^{-5}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1} ± $2.7200*10^{-7}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1}

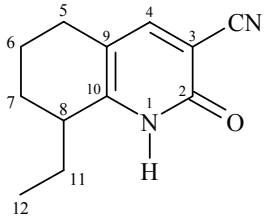
K_D: 314.5699 l $mmol^{-1}$ ± 14.7340 l $mmol^{-1}$

Ergebnis nach Gleichung 4.6-8: **k_{kat}:** $9.8230*10^{-4}$ s^{-1} ± $1.0748*10^{-5}$ s^{-1}

K_C: 0.58349 l $mmol^{-1}$ ± 0.03960 l $mmol^{-1}$

8.3.8 Mit Pyridonderivat **43** katalysierte Aminolysereaktion von (**5**) mit (**6**)

In untenstehender Tabelle 8.11 sind die Daten und Ergebnisse der mit Verbindung **43** katalysierten Reaktion von *p*-Nitrophenylacetat (**5**) mit *n*-Butylamin (**6**) in $CDCl_3$ bei 23 °C zusammengefasst. Es erfolgt die Bestimmung von k_{kat} und K_D bei gegebenem k_A mit Hilfe von Gleichung 4.3-5 (Kinetik Modell I) und Gleichung 4.6-8 (Kinetik Modell II):



43

Tabelle 8.11: Zusammenfassung der Ergebnisse der **43** katalysierten Aminolysereaktion von **5** mit **6**.[85]

c (43) [mmol]	**1 / k_{obs} [s]**	**k_{obs} [s^{-1}]**	**k_{obs} / [Amin]**	**1 / $\overline{k_{obs}}$ [s]**	**$\overline{k_{obs}}$ [s^{-1}]**	**$\overline{k_{obs}}$ / [Amin]**
0.02	1508.14335	6.63067e-4	2.65227e-6	1508.14335	6.63067e-4	2.65227e-6
0.04	1520.49516	6.57680e-4	2.63072e-6			
0.04	1447.67045	6.90765e-4	2.76306e-6	1484.08281	6.73817e-4	2.69527e-6
0.10	1397.66362	7.15480e-4	2.86192e-6			
0.10	1483.53398	6.74066e-4	2.69626e-6	1440.59880	6.94156e-4	2.77662e-6
0.20	1308.13139	7.64449e-4	3.05780e-6	1308.13139	7.64449e-4	3.05780e-6
0.40	1294.46721	7.72519e-4	3.09007e-6	1294.46721	7.72519e-4	3.09007e-6
1.00	1074.65764	9.30529e-4	3.72212e-6	1074.65764	9.30529e-4	3.72212e-6
2.00	1045.20390	9.56751e-4	3.82700e-6			
2.00	1072.22856	9.32637e-4	3.73055e-6	1058.71623	9.44540e-4	3.77816e-6
5.00	739.47734	1.35231e-3	5.40923e-6			
5.00	797.97319	1.25317e-3	5.01270e-6			
5.00	783.80778	1.27582e-3	5.10329e-6	773.75279	1.29240e-3	5.16961e-6
10.00	598.98887	1.66948e-3	6.67792e-6			
10.00	550.90269	1.81520e-3	7.26081e-6	574.94579	1.73929e-3	6.95718e-6

Ergebnis nach Gleichung 4.3-5: **k_{kat}:** $9.6476*10^{-7}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1} ± $3.0656*10^{-8}$ l^2 $mmol^{-2}$ s^{-1}

K_D: 0.14982 l $mmol^{-1}$ ± 0.01414 l $mmol^{-1}$

Ergebnis nach Gleichung 4.6-8: **k_{kat}:** $3.2135*10^{-3}$ s^{-1} ± $9.2437*10^{-5}$ s^{-1}

K_C: 0.07086 l $mmol^{-1}$ ± $3.9122*10^{-3}$ l $mmol^{-1}$

8.3.9 Mathematische Ableitung des kinetischen Modells II: Vorgelagertes Gleichgewicht

Reaktionsrate gesamt r_{ges} gliedert sich auf wie folgt:

$$r_{ges} = r_{\text{Amin}} + r_{Kat} = k_A \cdot [\text{Ester}] \cdot [\text{Amin}]^2 + k_{kat} \cdot [\text{Ester} \cdot \text{Kat}*] \quad \textbf{(A)}$$

$$\frac{d[\text{Produkt}]}{dt} = k_A \cdot [\text{Amin}]^2 \cdot [\text{Ester}] + k_{kat} \cdot [\text{Ester} \cdot \text{Kat}*] \quad \textbf{(B)}$$

Zusammenfassen von k_A mit $[\text{Amin}]^2$ zu der Konstanten k_0

$$\frac{d[\text{Produkt}]}{dt} = k_0 \cdot [\text{Ester}] + k_{kat} \cdot [\text{Ester} \cdot \text{Kat}*] \quad \textbf{(C)}$$

Mit der Beschreibung der Gleichgewichtsreaktion ergibt sich:

$$K_C = \frac{[Ester \cdot Kat*]}{[Ester] \cdot [Kat*]} \quad \text{mit} \quad [Ester \cdot Kat*] = K_C \cdot [Ester] \cdot [Kat*] \quad \textbf{(D)}$$

D in **C**:

$$\frac{d[\text{Produkt}]}{dt} = k_0 \cdot [\text{Ester}] + k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Ester}] \cdot [\text{Kat}*] \quad \textbf{(E)}$$

Weiter gilt:

$$[Ester]_0 - [Produkt] = [Ester] + [Ester \cdot Kat*] \text{ mit } [Ester \cdot Kat*] = [Ester]_0 - [Produkt] - [Ester] \quad \textbf{(F)}$$

Die Kombination der Gleichung **D** mit **F** liefert:

$$K_C \cdot [Ester] \cdot [Kat*] = [Ester]_0 - [Produkt] - [Ester] \quad \textbf{(G)}$$

Gleichung **G** nach [Ester] Auflösen:

$$[Ester] = \frac{[Ester]_0 - [Produkt]}{1 + K_C \cdot [Kat*]} \quad \textbf{(H)}$$

Ausdruck für [Ester] von **H** in Gleichung **E** ersetzen:

$$\frac{d[\text{Produkt}]}{dt} = k_0 \cdot \frac{[\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}*]} + k_{kat} \cdot K_C \cdot \frac{[\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}*]} \cdot [\text{Kat}*] \quad \textbf{(I)}$$

$[\text{Ester}]_0$-[Produkt] wird ausgeklammert:

$$\frac{d[\text{Produkt}]}{dt} = [\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}] \cdot \left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \cdot \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) \quad \textbf{(J)}$$

J wird auf beiden Seiten mit $1/([\text{Ester}]_0\text{-}[\text{Produkt}])$ multipliziert:

$$\frac{d[\text{Produkt}]}{dt} \cdot \frac{1}{([\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}])} = \left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) \quad \textbf{(K)}$$

Auf beiden Seiten Integrieren liefert:

$$\int_{t=0}^{t=t} \frac{1}{([\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}])} \cdot d[\text{Produkt}] = \int_{t=0}^{t=t} \left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) \cdot dt \quad \textbf{(L)}$$

Für das Integral gilt:

$$\int \frac{1}{b - ax} dx = \left(\frac{1}{-a} \ln(b - ax) \right) \quad \textbf{(M)}$$

$$-\ln([\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}]) = \left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) \cdot t \quad \textbf{(N)}$$

obere Grenze minus untere Grenze

$$(-\ln([\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}])) - (-\ln([\text{Ester}]_0)) = \left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) t - 0 \quad \textbf{(O)}$$

$$(\ln([\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}])) - (\ln([\text{Ester}]_0)) = -\left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) t - 0 \quad \textbf{(P)}$$

$$e^{(\ln([\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}])) - (\ln([\text{Ester}]_0))} = e^{-\left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) t} \quad \textbf{(Q)}$$

$$\frac{[\text{Ester}]_0 - [\text{Produkt}]}{[\text{Ester}]_0} = e^{-\left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) t} \quad \textbf{(R)}$$

$$[\text{Produkt}] = ([\text{Ester}]_0) \cdot \left(1 - e^{-\left(\frac{k_0}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} + \frac{k_{kat} \cdot K_C \cdot [\text{Kat}^*]}{1 + K_C \cdot [\text{Kat}^*]} \right) t} \right)$$

unter Berücksichtigung der Assoziation von Pyridon mit Amin gilt: $[\text{Kat}^*] = [\text{Kat}]_0$

$$k_{obs} = \frac{k_0 + k_{kat} \cdot K_C \cdot [Kat]_0}{(1 + K_C \cdot [Kat]_0)} \quad \textbf{(S)}$$

8.4 Kinetische Messungen mittels HPLC-Technik in wässrigem Medium mit 59 als Substrat

8.4.1 Bereitung der Stammlösungen und Probenvorbereitung

Für die Bereitung der Stammlösungen wird als Lösemittel ausschließlich Wasser der Güte HPLC-Grade verwandt. Zur Einstellung der Ionenstärke I wird Kaliumchlorid KCl der Firma Fluka (puriss. p.a. ACS; ≥ 99.5 % (AT)) eingesetzt. Die Pufferlösungen werden zum Einen aus den Salzen K_2HPO_4 (puriss. p.a. ACS; ≥ 99.0 % (T)) und KH_2PO_4 (puriss. p.a. ACS; ≥ 99.5 % (T)) [Phosphatpuffer] der Firma Fluka und zum Anderen aus der Verbindung α,α,α-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (99.9+ %) [Tris-Puffer] der Firma Aldrich hergestellt. Das für die basenkatalysierte Hydrolysereaktionen benötigte *n*-Butylamin (**6**) wird frisch über CaH_2 destilliert und eingesetzt. Die Stammlösungen werden in Messkolben zubereitet, die vorher mehrmals mit dest. H_2O und dest. Aceton im Ultraschallbad gereinigt, bei 120 °C im Trockenschrank gelagert und erst kurz vor der Anmischung zum Abkühlen entnommen werden. Wegen der Hydrolyseempfindlichkeit des Substrats **59** wird dieses ausschließlich in purem Wasser angesetzt und bei -18° aufbewahrt. Die Stammlösung von **59** weist eine Konzentration von $1.5*10^{-3}$ mol l^{-1} auf. Sie wird in der Reaktionslösung mit zwei weiteren Aliquoten vermengt, um eine Endkonzentration von $0.5*10^{-3}$ mol l^{-1} zu erreichen. Vor jeder Verwendung wird die Substratlösung aufgetaut und im Anschluss wieder eingefroren. Die Pufferlösungen werden entsprechend nur 1.5-fach konzentriert ($30*10^{-3}$ mol l^{-1} an Puffer und I = 1.5) angemischt, da sie auch zum Lösen des Katalysators oder der Aminkomponente eingesetzt werden können. Im Reaktionsgemisch werden sie dann mit einem weiteren Aliquot der Stammlösung von **59** versetzt und ergeben die erforderliche Pufferendkonzentration von $20*10^{-3}$ mol l^{-1} und eine Ionenstärke von I = 1. Der Phosphatpuffer wird dabei durch Zusammengeben der entsprechend erforderlichen Mengen der K_2HPO_4- und KH_2PO_4-Lösungen (beide $30*10^{-3}$ mol l^{-1} und mit KCl auf I = 1.5) auf den gewünschten pH-Wert nach Sørensen eingestellt. Der Tris-Puffer ($30*10^{-3}$ mol l^{-1} und mit KCl auf I = 1.5) wird mit 0.1 N HCl (Firma Merck) auf den erforderlichen pH-Wert gebracht. Ausgenommen davon sind die Messungen, in denen die Konzentration des Tris-Puffers variiert wird [$20*10^{-3}$ - $100*10^{-3}$ mol l^{-1}]. Als Stammlösung dient hier eine 150 mM Pufferlösung mit I = 1.5, welche nach Bedarf in der Reaktionslösung mit Wasser I = 1.5 auf

die erforderliche Konzentration des Puffers verdünnt wurde (siehe in den Tabellen der Mischungsverhältnisse). Alle Pufferlösungen werden nach dem Einstellen auf den geforderten pH-Wert zur Entfernung von etwaigen Staubpartikeln über ZORBAX SPE C18 Kartuschen der Firma Agilent filtriert. Die pH-Wert-Kontrolle der Pufferlösungen wird mit einem Zweipunkt pH-Meter der Firma Greisinger (Produktname: Greisinger pH 014) durchgeführt, welches vor jeder Benutzung mit den Standardpufferlösungen pH 7.00 und pH 10.00 der Firma Merck (CertiPUR®) equilibriert wird.

Die Pyridonverbindungen **20** und **29** werden wie die Substratstammlösung in dreifacher Konzentration ($1.5*10^{-3}$ mol l^{-1}) in der entsprechenden Pufferlösung gelöst. In der Reaktionslösung werden sie mit zwei weiteren Aliquoten auf die gewünschte Endkonzentration ($0.5*10^{-3}$ mol l^{-1}) verdünnt. Die Stammlösung der Aminkomponente *n*-Butylamin (**6**) wird ebenfalls mit der entsprechenden Pufferlösung angemischt. Auch hier wird eine dreifache Menge an *n*-Butylamin (**6**) ($7.5*10^{-3}$ mol l^{-1}) vorgelegt, um in der Reaktionslösung eine Konzentration von $2.5*10^{-3}$ mol l^{-1} (fünffacher Überschuss zu **59**) zu erreichen. Die Stammlösungen der Referenzverbindungen **60** und **61** werden in dreifacher Konzentration ($1.5*10^{-3}$ mol l^{-1}) in Wasser gelöst und mit zwei äquivalenten Mengen der Pufferlösung mit dem pH-Wert 7.5 [Tris, $30*10^{-3}$ mol l^{-1}, I = 1.5] vermischt.

In der Regel werden in der Reaktionslösung jeweils drei äquivalente Mengen (Volumina) zusammengegeben, um im vereinten Zustand in den spezifischen Reaktionen folgende Kriterien zu erfüllen:

- Substratkonzentration (**59**): $0.5*10^{-3}$ mol l^{-1}
- Pufferkonzentration: $20*10^{-3}$ mol l^{-1}
- Ionenstärke: 1
- *n*-Butylamin (**6**): $2.5*10^{-3}$ mol l^{-1}
- Katalysator: $0.5*10^{-3}$ mol l^{-1}

Die einzige Ausnahme, in der obige Kriterien nicht erfüllt werden können, ist die Vermessung des Pyridonderivats **56**. Wegen seiner schlechten Lösungseigenschaften muss DMSO (HPLC-Grade) als Lösungsvermittler eingesetzt werden. Deswegen wird hier als Lösemittel ein Gemisch bestehend aus 85 Vol.-% Wasser und 15 Vol.-% DMSO verwendet. Mit Hilfe des DMSO gelingt es, eine $0.375*10^{-3}$ M Lösung des Katalysators herzustellen. Außer der Substratlösung werden alle weiteren für die Messungen benötigten Stammlösungen ebenfalls mit dem Wasser/DMSO Gemisch angefertigt.

Die jeweiligen Reaktionsgemische werden vor jeder Kinetik aus den dafür benötigten Stammlösungen mittels einer Eppendorfpipette entsprechend der angegebenen Reaktionsmatrix frisch zubereitet. Als Reaktionsgefäße werden braunglasige Probenfläschchen (mit ebenem Boden, Volumen 2 ml) verwendet, die mit einer Teflonverschlusskappe versehen sind. Die Gläschen werden vor der Verwendung mehrmals mit dest. H_2O und dest. Aceton im Ultraschallbad gereinigt, anschließend bei 120 °C im Trockenschrank getrocknet und nach Abkühlung mit den vorgesehenen Kappen verschlossen. Die in der Kappe eingebrachte Teflonmembran lässt sich leicht mit einer Hamiltonspritze zur Probenentnahme durchstoßen und verschließt sich anschließend automatisch wieder (Blindproben zur Gewichtsüberprüfung werden durchgeführt). Die Reaktionsgefäße werden in einem Ofen der Fa. Heraeus bei einer konstanten Temperatur von 37 °C aufbewahrt und nur kurzzeitig zur jeweiligen Messung aus dem Ofen entnommen. Für jede Einzelmessung werden jeweils 20 - 25 µl mit einer Hamiltonspritze aus dem Probengefäß entnommen, auf die 5 µl Probenschleife gegeben, die Trennung umgehend gestartet und die Probe wieder in den temperierten Ofen zurückgestellt.

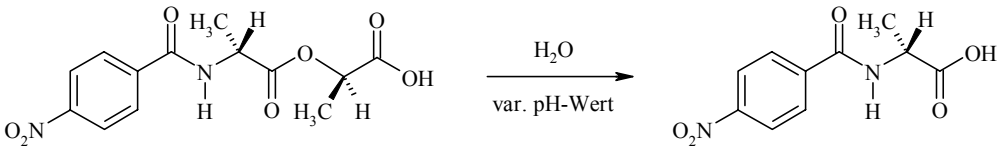
In den folgenden Beschreibungen der Versuche werden in den abgebildeten Reaktionsschemata nur die aus der Ester- und Amidbindungspaltung zu erwartenden Produkte abgebildet, die mit dem UV-Gerät detektiert werden können. Verzichtet wird auf eine explizite Darstellung der aus der Aminolysereaktion mit dem Tris-Puffer entstandenen und detektierbaren Verbindung **79**, die aber in die tabellarische Auswertung mit aufgenommen ist.

8.4.2 Hydrolysereaktion von **59** in Abhängigkeit des pH-Wertes

Zur Ermittlung des geeigneten pH-Bereichs wird eine pH-Wert abhängige Hydrolyse der *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) durchgeführt. Die analytische Trennung des Gemisches gelingt mit isokratischen Bedingungen [22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA]] und einer Durchflussrate von 1 ml/min. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

Reaktionsbedingungen:	I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
	pH-Wert variabel: von 6.5 bis 8.5 unter Verwendung von eingestellten K-Phosphatpuffern [PO_4] und Tris-Puffern [Tris]
Stammlösungen:	**59** = 1.5 mM in H_2O (Sub-1)
	Pufferlösungen = 30 mM, I = 1.5

Reaktionsschema:



59 **60**

Tabelle 8.12: Mischungsverhältnisse der pH-Wert abhängigen Hydrolysereaktionen.

Nr. Reaktion	pH-Wert Art des Puffers	Eingesetzte Verbindungen	I_{ges}	V_{ges} [ml]
B-1 Hydrolyse	**7.4** PO_4 [30 mM] 1.0 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.5 ml	1	1.5
B-4 Hydrolyse	**7.4** PO_4 [30 mM] 1.0 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.5 ml	1	1.5
C-1 Hydrolyse	**7.4** PO_4 [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
D-1 Hydrolyse	**6.5** PO_4 [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
D-2 Hydrolyse	**7.0** PO_4 [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
D-3 Hydrolyse	**7.5** PO_4 [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
D-4 Hydrolyse	**8.0** Tris [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
D-5 Hydrolyse	**8.5** Tris [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
D-6 Hydrolyse	**8.0** Tris [30 mM] 0.6 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.3 ml	1	0.9
E-1 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
E-2 Hydrolyse	**7.5** PO_4 [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
E-3 Hydrolyse	**8.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
E-4 Hydrolyse	**6.5** PO_4 [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6

Tabelle 8.13: Hydrolyse B-1 bei einem pH-Wert von 7.4 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-B1a	0.55	3.08	96.37	-	99.45	94	100.00	0.00
Kin-B1b	1.37	3.35	95.28	-	98.63	93	99.18	185.083
Kin-B1c	4.65	3.63	91.72	-	95.35	92	95.88	1022.88
Kin-B1d	6.03	2.81	91.16	-	93.97	94	94.49	1273.52
Kin-B1e	6.87	2.76	90.36	-	93.12	94	93.65	1502.68
Kin-B1f	11.27	2.51	86.23	-	88.74	94	89.22	2503.55
Kin-B1g	12.39	2.57	85.03	-	87.60	94	88.09	2784.72
Kin-B1h	17.04	2.25	80.71	-	82.96	95	83.42	3891.13
Kin-B1i	17.92	2.46	79.62	-	82.08	94	82.53	4102.90
Kin-B1j	18.95	2.44	78.61	-	81.05	94	81.50	4383.17
Kin-B1k	23.72	2.14	74.15	-	76.29	94	76.70	5614.82
Kin-B1l	24.41	2.16	73.43	-	75.59	94	76.01	5795.55
Kin-B1m	32.72	1.78	65.50	-	67.28	95	67.65	8240.95
Kin-B1n	34.30	1.77	63.93	-	65.70	95	66.06	8682.62

Kin-B1o	37.20	1.85	60.95	-	62.80	94	63.15	9651.85
Kin-B1p	38.21	1.69	60.10	-	61.79	95	62.13	10057.83
Kin-B1q	41.40	1.67	56.93	-	58.60	94	58.92	11123.03
Kin-B1r	42.51	1.61	55.88	-	57.49	94	57.81	11490.07
Kin-B1s	44.60	1.45	53.94	-	55.39	95	55.71	12649.23
Kin-B1t	48.42	1.47	50.11	-	51.58	94	51.87	14127.67
Kin-B1u	52.52	1.23	46.25	-	47.48	95	47.74	15689.55
Kin-B1v	58.22	1.04	40.73	-	41.77	95	42.01	18529.73

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000470226 $t_{½}$: 14740.72426 min R^2: 0.99965

Tabelle 8.14: Hydrolyse B-4 bei einem pH-Wert von 7.4 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-B4a	0.59	3.06	96.36	-	99.42	94	100.00	0.00
Kin-B4b	1.30	3.13	95.57	-	98.70	94	99.29	167.13
Kin-B4c	4.97	2.80	92.23	-	95.03	94	95.59	1002.92
Kin-B4d	6.08	2.62	91.30	-	93.92	94	94.48	1251.02
Kin-B4e	7.14	2.51	90.35	-	92.86	95	93.41	1481.88
Kin-B4f	11.45	2.52	86.02	-	88.54	94	89.08	2480.98
Kin-B4g	12.67	2.48	84.85	-	87.33	94	87.85	2766.67
Kin-B4h	17.20	2.40	80.40	-	82.80	94	83.29	3867.98
Kin-B4i	17.97	2.37	79.66	-	82.03	94	82.52	4099.92
Kin-B4j	19.12	2.40	78.48	-	80.88	94	81.36	4360.83
Kin-B4k	23.86	2.12	74.03	-	76.15	94	76.59	5591.58
Kin-B4l	24.28	2.14	73.58	-	75.72	94	76.17	5772.88
Kin-B4m	32.78	1.97	65.24	-	67.21	94	67.62	8212.73
Kin-B4n	34.21	1.76	64.00	-	65.76	95	66.18	8660.28
Kin-B4o	37.13	1.89	60.99	-	62.88	94	63.25	9629.20
Kin-B4p	38.47	1.73	59.80	-	61.53	94	61.90	10037.77
Kin-B4q	41.60	1.69	56.71	-	58.40	94	58.75	11099.65
Kin-B4r	42.62	1.60	55.78	-	57.38	94	57.72	11469.68
Kin-B4s	45.36	1.52	53.12	-	54.64	94	54.97	12630.35
Kin-B4t	49.18	1.32	49.50	-	50.82	95	51.13	14108.95
Kin-B4u	52.88	1.31	45.81	-	47.12	94	47.40	15796.87
Kin-B4v	58.70	1.23	40.07	-	41.30	94	41.55	18551.58

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000474953 $t_{½}$: 14594.01626 min R^2: 0.99991

Tabelle 8.15: Hydrolyse C-1 bei einem pH-Wert von 7.4 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-C1a	1.50	2.67	95.82	-	98.49	95	100.00	0.00
Kin-C1b	5.91	2.32	91.77	-	94.09	95	95.52	923.333
Kin-C1c	7.56	2.36	90.09	-	92.45	95	93.85	1240.38
Kin-C1d	8.21	2.47	89.32	-	91.79	95	93.19	1461.98
Kin-C1e	12.39	2.02	85.59	-	87.61	95	88.94	2390.73
Kin-C1f	15.11	2.17	82.72	-	84.89	95	86.18	2971.12
Kin-C1g	20.07	2.22	77.71	-	79.93	94	81.15	4129.32
Kin-C1h	28.77	1.84	69.39	-	71.23	95	72.31	6674.15
Kin-C1i	30.69	1.91	67.39	-	69.30	94	70.36	7165.40
Kin-C1j	33.58	1.81	64.62	-	66.43	95	67.43	8160.40
Kin-C1k	35.17	1.79	63.04	-	64.83	94	65.81	8716.28
Kin-C1l	38.71	1.59	59.70	-	61.29	95	62.22	9704.03

Kin-C1m	42.38	1.58	56.04	-	57.62	95	58.49	11094.48
Kin-C1n	45.15	1.45	53.40	-	54.85	95	55.68	12509.45
Kin-C1o	49.55	1.31	49.14	-	50.45	95	51.21	13936.50
Kin-C1p	56.23	1.16	42.61	-	43.77	95	44.43	16820.62

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000481608 $t_{½}$: 14392.35188 min R^2: 0.99939

Tabelle 8.16: Hydrolyse D-1 bei einem pH-Wert von 6.5 [PO_4].

Messung	**60**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-D1a	1.19	3.11	95.70	-	98.81	94	100.00	0.00
Kin-D1b	2.89	2.90	94.21	-	97.11	94	98.28	919.599
Kin-D1c	3.69	2.76	93.55	-	96.31	94	97.47	1376.70
Kin-D1d	5.76	2.69	91.55	-	94.24	94	95.37	2435.97
Kin-D1e	6.46	2.67	90.87	-	93.54	94	94.67	2837.92
Kin-D1f	8.42	2.59	88.99	-	91.58	94	92.68	3872.58
Kin-D1g	9.13	2.57	88.30	-	90.87	94	91.96	4303.02
Kin-D1h	11.02	2.54	86.44	-	88.98	94	90.05	5265.70
Kin-D1i	11.47	2.52	86.01	-	88.53	94	89.60	5540.52
Kin-D1j	13.98	2.42	83.60	-	86.02	94	87.06	6959.67
Kin-D1k	16.34	2.33	81.32	-	83.65	94	84.67	8344.48
Kin-D1l	18.67	2.29	79.05	-	81.34	94	82.31	9720.72
Kin-D1m	21.11	2.20	76.69	-	78.89	94	79.84	11183.60
Kin-D1n	23.34	2.17	74.49	-	76.66	94	77.58	12663.15

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000199709 $t_{½}$: 34707.85896 min R^2: 0.99974

Tabelle 8.17: Hydrolyse D-2 bei einem pH-Wert von 7.0 [PO_4].

Messung	**60**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-D2a	1.12	3.15	95.73	-	98.88	94	100.00	0.00
Kin-D2b	3.76	2.78	93.45	-	96.23	94	97.33	918.217
Kin-D2c	4.94	2.72	92.34	-	95.06	94	96.14	1375.52
Kin-D2d	7.93	2.68	89.39	-	92.07	94	93.11	2437.82
Kin-D2e	8.98	2.57	88.45	-	91.02	94	92.05	2837.28
Kin-D2f	11.63	2.55	85.82	-	88.37	94	89.37	3871.88
Kin-D2g	12.71	2.51	84.78	-	87.29	94	88.28	4301.65
Kin-D2h	15.14	2.43	82.43	-	84.86	94	85.82	5264.67
Kin-D2i	15.83	2.40	81.77	-	84.17	94	85.12	5539.25
Kin-D2j	19.11	2.31	78.58	-	80.89	94	81.81	6958.78
Kin-D2k	22.55	2.19	75.27	-	77.46	94	78.33	8345.90
Kin-D2l	25.35	2.11	72.54	-	74.65	94	75.50	9722.42
Kin-D2m	28.52	2.01	69.47	-	71.48	94	72.29	11184.27
Kin-D2n	31.57	1.94	66.49	-	68.43	94	69.21	12662.40

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000290377 $t_{½}$: 23870.59514 min R^2: 0.99995

Tabelle 8.18: Hydrolyse D-3 bei einem pH-Wert von 7.5 [PO_4].

Messung	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-D3a	1.11	0.24	2.98	95.66	-	98.64	94	100.00	0.00
Kin-D3b	6.33	0.29	2.83	90.56	-	93.39	94	94.71	925.533
Kin-D3c	8.60	0.34	2.72	88.33	-	91.05	94	92.41	1374.25
Kin-D3d	14.25	0.39	2.62	82.74	-	85.36	94	86.68	2436.25
Kin-D3e	16.22	0.41	2.56	80.81	-	83.37	94	84.68	2836.90
Kin-D3f	20.97	0.43	2.38	76.23	-	78.61	94	79.87	3870.48
Kin-D3g	22.69	0.41	2.41	74.49	-	76.90	94	78.12	4300.38
Kin-D3h	26.83	0.43	2.26	70.49	-	72.75	94	73.93	5263.20
Kin-D3i	28.18	0.44	2.25	69.14	-	71.39	94	72.56	5537.63
Kin-D3j	33.50	0.47	2.04	63.99	-	66.03	94	67.16	6957.58
Kin-D3k	38.69	0.46	1.97	58.88	-	60.85	94	61.90	8345.33
Kin-D3l	43.08	0.44	1.71	54.77	-	56.48	94	57.45	9720.87
Kin-D3m	47.65	0.45	1.60	50.30	-	51.90	94	52.82	11183.97
Kin-D3n	51.58	0.47	1.52	46.43	-	47.95	94	48.83	12662.67

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000571298 $t_{½}$: 12132.84802 min R^2: 0.99981

Tabelle 8.19: Hydrolyse D-4 bei einem pH-Wert von 8.0 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-D4a	1.09	3.05	95.86	-	98.91	94	100.00	0.00
Kin-D4b	7.26	2.62	90.12	-	92.74	94	93.76	925.633
Kin-D4c	9.95	2.53	87.53	-	90.06	94	91.04	1373.77
Kin-D4d	16.29	2.44	81.27	-	83.71	94	84.63	2448.62
Kin-D4e	18.55	2.35	79.11	-	81.46	94	82.35	2836.50
Kin-D4f	24.06	2.18	73.76	-	75.94	94	76.78	3885.93
Kin-D4g	26.18	2.08	71.73	-	73.81	94	74.63	4299.78
Kin-D4h	30.84	1.97	67.19	-	69.16	94	69.92	5263.42
Kin-D4i	31.84	1.93	66.23	-	68.16	94	68.91	5537.78
Kin-D4j	38.31	1.73	59.95	-	61.68	94	62.37	6957.13
Kin-D4k	43.89	1.63	54.48	-	56.11	94	56.73	8348.18
Kin-D4l	48.90	1.48	49.61	-	51.09	94	51.66	9721.53
Kin-D4m	53.76	1.34	44.90	-	46.24	94	46.75	11186.07

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000679119 $t_{½}$: 10206.56440 min R^2: 0.99997

Tabelle 8.20: Hydrolyse D-5 bei einem pH-Wert von 8.5 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-D5a	1.15	2.97	95.88	-	98.85	94	100.00	0.00
Kin-D5b	11.58	2.56	85.86	-	88.42	94	89.45	839.217
Kin-D5c	16.39	2.53	81.08	-	83.61	94	84.58	1241.55
Kin-D5d	27.21	2.16	70.63	-	72.79	94	73.64	2273.67
Kin-D5e	31.44	2.14	66.38	-	68.52	94	69.36	2703.47
Kin-D5f	38.96	1.90	59.13	-	61.03	94	61.75	3646.05
Kin-D5g	41.84	1.81	56.34	-	58.15	94	58.84	3939.93
Kin-D5h	51.99	1.44	46.57	-	48.01	94	48.57	5363.62
Kin-D5i	60.19	1.20	38.60	-	39.80	94	40.27	6741.55

Ergebnis: k_{obs}: 0.0001345033 $t_{½}$: 5153.38420 min R^2: 0.99988

Tabelle 8.21: Hydrolyse D-6 bei einem pH-Wert von 8.0 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-D6a	1.12	3.06	95.82	-	98.88	94	100.00	0.00
Kin-D6b	5.87	2.62	91.51	-	94.13	94	95.20	838.45
Kin-D6c	8.02	2.60	89.39	-	91.99	94	93.02	1240.23
Kin-D6d	13.29	2.45	84.26	-	86.71	94	87.69	2272.00
Kin-D6e	15.26	2.38	82.36	-	84.74	94	85.70	2704.93
Kin-D6f	19.67	2.25	78.08	-	80.33	94	81.24	3644.93
Kin-D6g	20.85	2.24	76.91	-	79.15	94	80.05	3942.25
Kin-D6h	27.16	2.13	70.71	-	72.84	94	73.67	5361.83
Kin-D6i	32.51	1.99	65.50	-	67.49	94	68.25	6746.72
Kin-D6j	36.69	1.79	61.52	-	63.31	94	64.03	8119.65
Kin-D6k	41.43	1.69	56.89	-	58.58	94	59.23	9586.22
Kin-D6l	45.99	1.60	52.41	-	54.01	94	54.62	11048.65

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000553643 $t_{½}$: 12519.74974 min R^2: 0.99908

Tabelle 8.22: Hydrolyse E-1 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-E1a	1.10	0.24	3.05	95.61	-	98.66	94	100.00	0.00
Kin-E1b	2.85	0.25	3.01	93.89	-	96.90	94	98.24	507.117
Kin-E1c	5.82	0.26	2.94	90.97	-	93.91	94	95.24	1498.32
Kin-E1d	11.21	0.34	2.71	85.74	-	88.45	94	89.79	2966.97
Kin-E1e	14.83	0.38	2.67	82.13	-	84.80	94	86.13	4456.72
Kin-E1f	18.28	0.38	2.57	78.77	-	81.34	94	82.64	5815.75
Kin-E1g	25.75	0.35	2.29	71.61	-	73.90	94	75.08	8664.68
Kin-E1h	29.07	0.36	2.24	68.33	-	70.57	94	71.73	10343.68
Kin-E1i	32.34	0.40	2.16	65.11	-	67.27	94	68.42	11796.97

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000325560 $t_{½}$: 21290.91966 min R^2: 0.99867

Tabelle 8.23: Hydrolyse E-2 bei einem pH-Wert von 7.5 [PO_4].

Messung	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-E2a	1.10	0.24	3.08	95.57	-	98.65	94	100.00	0.00
Kin-E2b	4.05	0.25	2.96	92.74	-	95.70	94	97.01	513.4
Kin-E2c	9.38	0.33	2.92	87.36	-	90.28	94	91.61	1498.05
Kin-E2d	16.92	0.38	2.59	80.10	-	82.69	94	83.96	2966.60
Kin-E2e	23.40	0.44	2.47	73.70	-	76.17	94	77.39	4456.22
Kin-E2f	29.25	0.45	2.30	67.99	-	70.29	94	71.46	5815.18
Kin-E2g	39.27	0.46	1.91	58.36	-	60.27	94	61.31	8665.60
Kin-E2h	44.80	0.48	1.81	52.91	-	54.72	94	55.70	10345.55
Kin-E2i	48.96	0.51	1.69	48.81	-	50.50	94	51.49	11796.57

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000566608 $t_{½}$: 12233.27557 min R^2: 0.99972

Tabelle 8.24: Hydrolyse E-3 bei einem pH-Wert von 8.5 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-E3a	1.09	2.89	96.02	-	98.91	94	100.00	0.00
Kin-E3b	5.29	2.79	91.92	-	94.71	94	95.75	281.45
Kin-E3c	7.73	2.72	89.55	-	92.27	94	93.29	512.80
Kin-E3d	17.36	2.41	80.23	-	82.64	94	83.55	1387.82
Kin-E3e	23.70	2.26	74.04	-	76.30	94	77.14	1940.77
Kin-E3f	31.87	1.98	66.14	-	68.12	94	68.88	2856.83
Kin-E3g	36.47	1.87	61.64	-	63.51	94	64.23	3349.80
Kin-E3h	43.33	1.61	55.06	-	56.67	94	57.29	4346.50
Kin-E3i	52.12	1.40	46.48	-	47.88	94	48.41	5705.62
Kin-E3j	66.14	0.99	32.87	-	33.86	94	34.23	8552.75

Ergebnis: k_{obs}: 0.0001271729 $t_{½}$: 5450.43150 min R^2: 0.99915

Tabelle 8.25: Hydrolyse E-4 bei einem pH-Wert von 6.5 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-E4a	1.12	2.93	95.95	-	98.88	94	100.00	0.00
Kin-E4b	3.12	2.82	94.06	-	96.88	94	97.98	1012.333
Kin-E4c	5.96	2.79	91.25	-	94.04	94	95.11	2480.72
Kin-E4d	8.70	2.64	88.66	-	91.30	94	92.33	3942.43
Kin-E4e	11.35	2.60	86.04	-	88.64	94	89.65	5432.43
Kin-E4f	13.71	2.49	83.80	-	86.29	94	87.27	6790.18
Kin-E4g	18.46	2.35	79.19	-	81.54	94	82.46	9641.57
Kin-E4h	21.23	2.30	76.47	-	78.77	94	79.66	11320.52
Kin-E4i	23.47	2.20	74.33	-	76.53	94	77.40	12771.62

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000200658 $t_{½}$: 34543.71022 min R^2: 0.99998

Tabelle 8.26: Ergebnisse der pH-abhängigen Hydrolyse von **59**.

Messung	Reaktionstyp	pH-Wert	k_{obs} [$*10^{-5}$ min^{-1}]	$t_{½}$[min]	R^2
B-1	Hydrolyse	7.4 [PO_4]	4.70226	14740.72	0.99965
B-4	Hydrolyse	7.4 [PO_4]	4.74953	14594.02	0.99991
C-1	Hydrolyse	7.4 [PO_4]	4.81608	14392.35	0.99939
D-1	Hydrolyse	6.5 [PO_4]	1.99709	34707.86	0.99974
D-2	Hydrolyse	7.0 [PO_4]	2.90377	23870.60	0.99995
D-3	Hydrolyse	7.5 [PO_4]	5.71298	12132.85	0.99981
D-4	Hydrolyse	8.0 [Tris]	6.79119	10206.56	0.99997
D-5	Hydrolyse	8.5 [Tris]	13.45033	5153.38	0.99988
D-6	Hydrolyse	8.0 [Tris]	5.53643	12519.75	0.99908
E-1	Hydrolyse	7.5 [Tris]	3.25560	21290.92	0.99867
E-2	Hydrolyse	7.5 [PO_4]	5.83075	12233.28	0.99972
E-3	Hydrolyse	8.5 [Tris]	12.71729	5450.43	0.99915
E-4	Hydrolyse	6.5 [PO_4]	2.00658	34543.71	0.99998

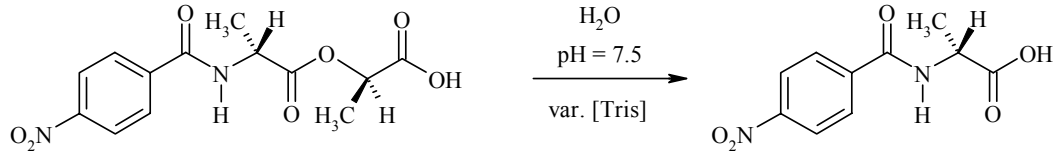
8.4.3 Hydrolysereaktion von **59** in Abhängigkeit der Pufferkonzentration

Um einer katalytischen Wirkung des Tris-Puffers nachzugehen, wird die Hydrolysereaktion von **59** in unterschiedlichen Puffer-Konzentrationen durchgeführt. Die analytische Trennung des Gemisches gelingt mit isokratischen Bedingungen [22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA]] und einer Durchflussrate von 1 ml/min. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

Reaktionsbedingungen: I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
pH-Wert konstant bei 7.5 unter Verwendung des Tris-Puffers [Tris], aber Konzentrationen variabel: 20 - 100 mM

Stammlösungen: **59** = 1.5 mM in H_2O
Pufferlösung = 150 mM [Tris], I = 1.5, pH = 7.5
H_2O mit I = 1.5, zum Verdünnen

Reaktionsschema:



59 **60**

Tabelle 8.27: Mischungsverhältnisse der Messungen in Abhängigkeit der Tris-Pufferkonzentration.

Nr. Reaktion	Volumen Puffer [Endkonzentration]	Eingesetzte Verbindungen	V H_2O	I_{ges}	V_{ges} [ml]
I-1 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.08 ml **[20mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.32 ml	1	0.6
I-2 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.16 ml **[40mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.24 ml	1	0.6
I-3 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.24 ml **[60mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.16 ml	1	0.6
I-4 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.32 ml **[80mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.08 ml	1	0.6
I-5 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.40 ml **[100mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.00 ml	1	0.6
I-6 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.16 ml **[60mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.16 ml	1	0.6
I-7 Hydrolyse	**7.5** Tris [150 mM] – 0.40 ml **[100mM]**	**59** (Sub-3/1.5 mM) 0.2 ml	0.00 ml	1	0.6

Tabelle 8.28: Hydrolyse I-1 bei einer Pufferkonzentration von **20mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I1a	0.61	4.94	94.45	-	99.39	90	100.00	0.00
Kin-I1b	4.08	4.75	91.17	-	95.92	90	96.51	1137.65
Kin-I1c	8.57	4.62	86.81	-	91.43	90	91.99	2672.83
Kin-I1d	11.98	4.42	83.60	-	88.02	90	88.56	3908.40

Kin-I1e	17.07	4.14	78.78	-	82.92	90	83.44	5741.05
Kin-I1f	20.34	4.02	75.64	-	79.66	90	80.15	6963.22
Kin-I1g	23.67	3.79	72.54	-	76.33	90	76.80	8328.87
Kin-I1h	28.28	3.53	68.19	-	71.72	90	72.16	10260.42

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000316832 $t_{½}$: 21877.43601 min R^2: 0.99989

Tabelle 8.29: Hydrolyse I-2 bei einer Pufferkonzentration von **40mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I2a	0.60	4.91	94.48	-	99.39	90	100.00	0.00
Kin-I2b	4.29	4.73	90.99	-	95.72	90	96.29	1158.233
Kin-I2c	9.14	4.57	86.29	-	90.86	90	91.41	2684.93
Kin-I2d	13.01	4.30	82.68	-	86.98	90	87.51	3906.60
Kin-I2e	18.22	4.19	77.59	-	81.78	90	82.27	5739.55
Kin-I2f	21.18	3.90	74.91	-	78.81	90	79.29	6961.14
Kin-I2g	24.91	3.76	71.33	-	75.09	90	75.54	8342.25
Kin-I2h	29.90	3.60	66.49	-	70.09	90	70.52	10258.93

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000337949 $t_{½}$: 20510.40780 min R^2: 0.99976

Tabelle 8.30: Hydrolyse I-3 bei einer Pufferkonzentration von **60mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I3a	0.60	5.10	94.30	-	99.40	90	100.00	0.00
Kin-I3b	4.43	4.79	90.78	-	95.57	90	96.15	1167.517
Kin-I3c	9.32	4.72	85.87	-	90.59	90	91.23	2682.02
Kin-I3d	13.37	4.42	82.21	-	86.63	90	87.15	3903.82
Kin-I3e	18.67	4.18	77.15	-	81.33	90	81.82	5737.55
Kin-I3f	22.12	3.93	73.95	-	77.88	90	78.35	6960.02
Kin-I3g	26.12	3.75	70.13	-	73.88	90	74.33	8339.93
Kin-I3h	30.97	3.46	65.57	-	69.03	90	69.45	10256.90

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000353411 $t_{½}$: 19613.06186 min R^2: 0.99974

Tabelle 8.31: Hydrolyse I-4 bei einer Pufferkonzentration von **80mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I4a	0.59	5.13	94.28	-	99.41	90	100.00	0.00
Kin-I4b	4.75	4.92	90.33	-	95.25	90	95.82	1250.283
Kin-I4c	9.38	4.53	86.09	-	90.62	90	91.16	2695.37
Kin-I4d	13.65	4.37	81.99	-	86.36	90	86.86	3903.73
Kin-I4e	18.87	4.02	77.10	-	81.12	90	81.61	5736.73
Kin-I4f	22.78	3.92	73.30	-	77.22	90	77.68	6959.72
Kin-I4g	26.23	3.66	70.11	-	73.77	90	74.21	8338.90
Kin-I4h	31.45	3.40	65.15	-	68.55	90	68.96	10256.17

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000359679 $t_{½}$: 19271.27190 min R^2: 0.99957

Tabelle 8.32: Hydrolyse I-5 bei einer Pufferkonzentration von **100mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I5a	0.59	5.07	94.34	-	99.41	90	100.00	0.00
Kin-I5b	4.93	4.83	90.24	-	95.07	90	95.63	1246.733
Kin-I5c	9.29	4.53	86.27	-	90.80	90	91.25	2608.00
Kin-I5d	13.52	4.33	82.15	-	86.48	90	86.99	3808.70
Kin-I5e	19.09	3.95	76.96	-	80.91	90	81.39	5641.58
Kin-I5f	22.90	3.86	73.24	-	77.10	90	77.56	6865.50
Kin-I5g	26.66	3.59	69.76	-	73.35	90	73.78	8244.35
Kin-I5h	31.98	3.32	64.70	-	68.02	90	68.42	10161.07

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000369720 $t_{½}$: 18747.89518 min R^2: 0.99959

Tabelle 8.33: Hydrolyse I-6 bei einer Pufferkonzentration von **60mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I6a	0.58	4.90	94.52	-	99.42	90	100.00	0.00
Kin-I6b	4.70	4.83	90.47	-	95.30	90	95.86	1249.4
Kin-I6c	9.11	4.59	86.31	-	90.90	90	91.42	2636.98
Kin-I6d	13.03	4.42	82.55	-	86.97	90	87.48	3807.83
Kin-I6e	18.17	4.08	77.75	-	81.83	90	82.31	5640.60
Kin-I6f	22.34	3.84	73.82	-	77.66	90	78.11	7165.88
Kin-I6g	25.70	3.64	70.66	-	74.30	90	74.73	8525.22
Kin-I6h	30.18	3.55	66.27	-	69.82	90	70.23	10160.15

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000345319 $t_{½}$: 20072.66268 min R^2: 0.99977

Tabelle 8.34: Hydrolyse I-7 bei einer Pufferkonzentration von **100mM**.

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-I7a	0.58	4.86	94.57	-	99.43	90	0.00	0.00
Kin-I7b	4.92	4.81	90.27	-	95.08	90	4.36	1249.517
Kin-I7c	9.60	4.50	85.90	-	90.40	90	9.07	2655.57
Kin-I7d	13.60	4.30	82.10	-	86.40	90	13.09	3807.93
Kin-I7e	19.28	4.00	76.71	-	80.71	90	18.81	5662.23
Kin-I7f	23.60	3.74	72.67	-	76.41	90	23.15	7165.55
Kin-I7g	27.56	3.63	68.81	-	72.44	90	27.13	8530.95
Kin-I7h	31.97	3.40	64.63	-	68.03	90	31.57	10164.67

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000370324 $t_{½}$: 18717.31728 min R^2: 0.99977

Tabelle 8.35: Ergebnisse der Hydrolysereaktionen von **59** mit variabler Pufferkonzentration bei einem pH-Wert von 7.5 (Tris-Puffer).

Messung	Reaktionstyp	Puffer [c]	k_{obs} [$*10^{-5}$ min^{-1}]	$t_{½}$[min]	R^2
I-1	Hydrolyse	20 mM	3.16832	21877.44	0.99989
I-2	Hydrolyse	40 mM	3.37949	20510.41	0.99976
I-3	Hydrolyse	60 mM	3.53411	19613.06	0.99974
I-4	Hydrolyse	80 mM	3.59679	19271.27	0.99957
I-5	Hydrolyse	100 mM	3.69720	18747.90	0.99959
I-6	Hydrolyse	60 mM	3.45319	20072.66	0.99977
I-7	Hydrolyse	100 mM	3.70324	18717.32	0.99977

8.4.4 Referenzmessungen zur Stabilität von **60** und **61**

Zur Überprüfung der Stabilität der während der Reaktion gebildeten Produkte **60** und **61**, wird für beide Verbindungen eine Zerfallsstudie unter den gewählten kinetischen Bedingungen (pH-Wert = 7.5, Pufferkonzentration = 20 mM) durchgeführt. Die analytische Trennung des jeweiligen Gemisches gelingt im Falle von **60** mit isokratischen Bedingungen [22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA]] und bei **61** mit Hilfe des Gradienten **A** [Lösemittel: CH_3CN/H_2O [0.1 % TFA]]. Die Durchflussrate beträgt jeweils 1 ml/min. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

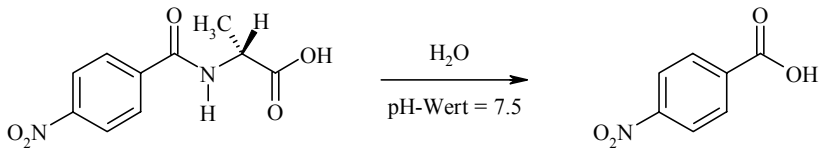
Reaktionsbedingungen: I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
pH-Wert konstant bei 7.5 unter Verwendung des Tris-Puffers [Tris] mit einer Konzentration von 20 mM

Stammlösungen: **60** = 1.5 mM in H_2O
61 = 1.5 mM in H_2O
Pufferlösung = 30 mM [Tris], I = 1.5, pH = 7.5

Tabelle 8.36: Mischungsverhältnisse in den Stabilitätsmessungen der Referenzsubstanzen **60** und **61**.

Nr. Reaktion	Volumen Puffer [Gesamt-c]	Eingesetzte Verbindungen	I_{ges}	V_{ges} [ml]
H-2 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] – 0.4 ml **[20mM]**	**60** (Ref-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
H-4 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] – 0.4 ml **[20mM]**	**60** (Ref-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
H-3 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] – 0.4 ml **[20mM]**	**61** (Ref-2/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
H-5 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] – 0.4 ml **[20mM]**	**61** (Ref-2/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6

Reaktionsschema für Referenzverbindung **60**:



60 **63**

Tabelle 8.37: Referenz-Hydrolyse H-2 bei einem pH-Wert von 7.5, Tris [20mM].

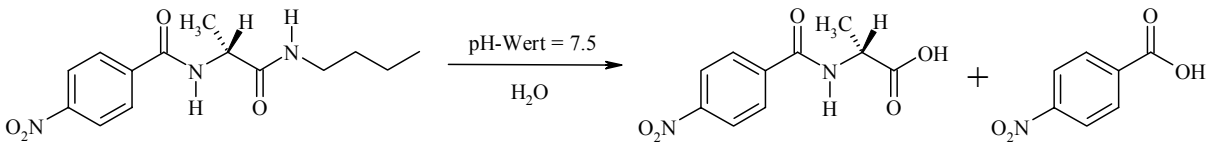
Messung	60	63	61	79	t_{abs} [min]
Kin-H2a	99.85	0.15	0.00	0.00	0.00
Kin-H2b	99.87	0.13	0.00	0.00	793.1
Kin-H2c	99.86	0.14	0.00	0.00	5251.60

Kin-H2d	99.87	0.13	0.00	0.00	7167.77
Kin-H2e	99.86	0.14	0.00	0.00	9976.22
Kin-H2f	99.86	0.14	0.00	0.00	15340.63
Kin-H2g	99.79	0.21	0.00	0.00	142342.35

Tabelle 8.38: Referenz-Hydrolyse H-4 bei einem pH-Wert von 7.5, Tris [20mM].

Messung	60	63	61	79	t_{abs} [min]
Kin-H4a	99.86	0.14	0.00	0.00	0.00
Kin-H4b	99.86	0.14	0.00	0.00	794.95
Kin-H4c	99.86	0.14	0.00	0.00	5252.40
Kin-H4d	99.85	0.15	0.00	0.00	7167.35
Kin-H4e	99.86	0.14	0.00	0.00	9975.80
Kin-H4f	99.85	0.15	0.00	0.00	15342.60
Kin-H4g	99.77	0.21	0.00	0.02	142341.35

Reaktionsschema für Referenzverbindung **61**:



61 **60** **63**

Tabelle 8.39: Referenz-Hydrolyse H-4 bei einem pH-Wert von 7.5, Tris [20mM].

Messung	60	63	61	79	t_{abs} [min]
Kin-H3a	2.45	0.00	97.55	0.00	0.00
Kin-H3b	1.59	0.02	98.38	0.00	791.667
Kin-H3c	0.86	0.03	99.09	0.01	5250.67
Kin-H3d	0.38	0.05	99.55	0.01	7166.15
Kin-H3e	0.48	0.05	99.46	0.01	9975.23
Kin-H3f	0.24	0.07	99.67	0.02	15400.55
Kin-H3g	0.60	0.09	99.26	0.05	142365.98

Tabelle 8.40: Referenz-Hydrolyse H-5 bei einem pH-Wert von 7.5, Tris [20mM].

Messung	60	63	61	79	t_{abs} [min]
Kin-H5a	1.50	0.00	98.50	0.00	0.00
Kin-H5b	0.37	0.00	99.63	0.00	801
Kin-H5cb	0.17	0.00	99.83	0.00	5248.30
Kin-H5d	0.22	0.03	99.74	0.01	7163.53
Kin-H5e	0.23	0.03	99.72	0.02	9973.95
Kin-H5f	0.07	0.03	99.86	0.03	15409.72
Kin-H5g	0.27	0.11	98.97	0.04	142378.65

8.4.5 Aminolyse von **59** mit **6** in Abhängigkeit des pH-Wertes

Für die Aminolysereaktion von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) mit *n*-Butylamin (**6**) als Aminkomponente wird ebenfalls eine Untersuchung der pH-Wert Abhängigkeit im Bereich von 6.5 - 9.0 durchgeführt. Die analytische Trennung des Gemisches gelingt mit Hilfe des Gradienten **A** [Lösemittel: CH_3CN/H_2O [0.1 % TFA]] und einer Durchflussrate von 1 ml/min. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

Reaktionsbedingungen: I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
pH-Wert variabel: von 6.5 bis 9.0 unter Verwendung von eingestellten K-Phosphatpuffern [PO_4] und Tris-Puffern [Tris]

Stammlösungen: **59** = 1.5 mM in H_2O (Sub-1/Sub-2)
n-Butylamin (**6**) = 7.4 µl in 10 ml Pufferlösung = 7.5 mM
Pufferlösungen = 30 mM, I = 1.5

Reaktionsschema:

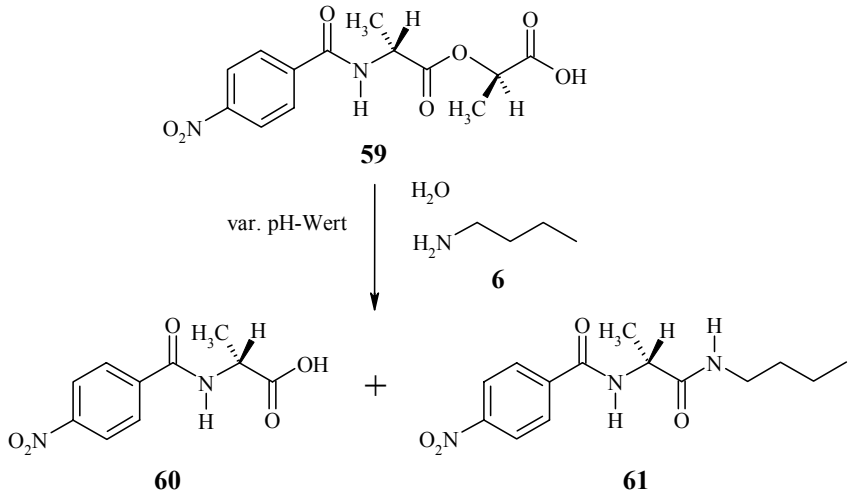


Tabelle 8.41: Mischungsverhältnisse der pH-Wert abhängigen Butylaminolyse.

Nr. Reaktion	pH-Wert Art des Puffers	Eingesetzte Verbindungen	I_{ges}	V_{ges} [ml]
F-1 Aminolyse	**6.5** PO_4 [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
F-2 Aminolyse	**7.0** PO_4 [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
F-3 Aminolyse	**7.5** PO_4 [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
F-5 Aminolyse	**8.0** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
F-6 Aminolyse	**8.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
G-2 Aminolyse	**7.0** PO_4 [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6

G-3 Aminolyse	**7.5** PO_4 [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
G-4 Aminolyse	**8.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
G-5 Aminolyse	**9.0** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
G-8 Aminolyse	**9.0** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
K-6 Aminolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6
K-7 Aminolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-1/1.5 mM) 0.2 ml **6** (7.5 mM in Puffer) 0.2 ml	1	0.6

Tabelle 8.42: Aminolyse F-1 bei einem pH-Wert von 6.5 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-F1a	1.49	2.93	95.58	0.00	98.51	94	100.00	0.00
Kin-F1b	3.39	2.77	93.54	0.29	96.31	94	98.10	877.317
Kin-F1c	7.30	2.66	89.87	0.17	92.53	94	94.19	2423.37
Kin-F1d	13.50	2.46	83.54	0.50	86.00	94	87.99	5277.87
Kin-F1e	14.32	2.39	83.02	0.27	85.41	94	87.17	5666.72
Kin-F1f	16.67	2.31	80.76	0.26	83.07	94	84.82	6801.80
Kin-F1g	19.67	2.24	77.81	0.28	80.05	94	81.82	8252.97
Kin-F1h	22.66	2.20	74.91	0.22	77.11	94	78.83	9739.23
Kin-F1i	25.75	2.18	71.90	0.16	74.08	94	75.74	11302.32

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000244023 $t_{½}$: 28404.99381 min R^2: 0.99981

Tabelle 8.43: Aminolyse F-2 bei einem pH-Wert von 7.0 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-F2a	1.48	7.32	91.20	0.00	98.52	85	100.00	0.00
Kin-F2b	8.01	6.84	84.93	0.22	91.77	85	93.47	1147.25
Kin-F2c	11.06	6.78	81.87	0.29	88.65	85	90.42	1690.65
Kin-F2d	15.78	6.22	77.68	0.33	83.90	85	85.70	2601.23
Kin-F2e	18.51	6.09	75.12	0.29	81.21	85	82.97	3162.80
Kin-F2f	23.60	5.85	70.29	0.24	76.14	85	77.88	4240.77
Kin-F2g	29.94	5.30	64.60	0.17	69.90	85	71.54	5815.15
Kin-F2h	35.91	4.87	59.11	0.11	63.98	85	65.57	7397.75
Kin-F2i	40.80	4.48	54.56	0.16	59.04	85	60.68	8829.18
Kin-F2j	44.86	4.11	51.90	0.13	56.01	85	56.62	10040.13

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000571179 $t_{½}$: 12135.37579 min R^2: 0.99939

Tabelle 8.44: Aminolyse F-3 bei einem pH-Wert von 7.5 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-F3a	1.51	7.48	91.01	0.00	98.49	85	100.00	0.00
Kin-F3b	3.86	7.26	88.56	0.23	95.82	85	97.65	255.967
Kin-F3c	11.79	6.64	81.25	0.32	87.89	85	89.72	1271.07
Kin-F3d	14.18	6.39	79.09	0.34	85.48	85	87.33	1599.80
Kin-F3e	22.13	5.99	71.63	0.26	77.62	85	79.38	2722.62
Kin-F3f	24.24	5.65	69.87	0.24	75.52	85	77.27	3073.73

Kin-F3g	30.78	5.14	63.75	0.33	68.89	85	70.73	4148.80
Kin-F3h	39.42	4.54	55.84	0.20	60.38	85	62.09	5726.23
Kin-F3i	46.83	3.94	49.16	0.07	53.10	85	54.68	7308.97
Kin-F3j	53.03	3.50	43.38	0.09	46.88	85	48.48	8738.90
Kin-F3k	57.59	3.20	39.12	0.09	42.32	85	43.92	9950.67

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000829405 $t_{½}$: 8357.161828 min R^2: 0.99990

Tabelle 8.45: Aminolyse F-5 bei einem pH-Wert von 8.0 [Tris].

Messung	**60**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-F5a	1.54	7.21	91.25	0.00	98.46	85	100.00	0.00
Kin-F5b	3.95	7.24	88.57	0.23	95.81	85	97.59	246.2
Kin-F5c	11.62	6.66	81.41	0.31	88.07	85	89.92	1092.93
Kin-F5d	14.49	6.46	78.75	0.30	85.21	85	87.05	1425.18
Kin-F5e	23.52	5.78	70.31	0.39	76.09	85	78.02	2547.47
Kin-F5f	25.84	5.45	68.39	0.31	73.84	85	75.70	2875.92
Kin-F5g	33.54	4.94	61.15	0.37	66.09	85	68.00	3972.70
Kin-F5h	42.30	4.26	53.12	0.32	57.38	85	59.24	5549.57
Kin-F5i	50.12	3.54	46.24	0.09	49.78	85	51.42	7133.40
Kin-F5j	56.02	3.25	40.65	0.07	43.90	85	45.52	8564.00

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000935917 $t_{½}$: 7406.075331 min R^2: 0.99901

Tabelle 8.46: Aminolyse F-6 bei einem pH-Wert von 8.5 [Tris].

Messung	**60**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-F6a	1.54	7.36	91.10	0.00	98.46	85	100.00	0.00
Kin-F6b	6.97	7.00	85.81	0.22	92.81	85	94.57	245.1
Kin-F6c	21.30	5.79	72.63	0.39	78.42	85	80.24	1008.77
Kin-F6d	27.27	5.37	66.97	0.39	72.34	85	74.27	1338.12
Kin-F6e	30.62	5.14	63.90	0.35	69.04	85	70.92	1550.92
Kin-F6f	43.47	4.11	52.08	0.35	56.19	85	58.07	2460.28
Kin-F6g	47.34	3.85	48.50	0.32	52.35	85	54.20	2790.03
Kin-F6h	50.04	3.67	46.12	0.17	49.79	85	51.50	3021.80
Kin-F6i	59.15	2.96	37.54	0.34	40.50	85	42.39	3889.02

Ergebnis: k_{obs}: 0.0002203497 $t_{½}$: 3145.668819 min R^2: 0.99995

Tabelle 8.47: Aminolyse G-2 bei einem pH-Wert von 7.0 [PO_4].

Messung	**60**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-G2a	1.68	7.31	91.01	0.00	98.32	85	100.00	0.00
Kin-G2b	7.80	7.11	84.87	0.21	91.98	85	93.88	1039.967
Kin-G2c	16.38	6.22	76.99	0.41	83.21	85	85.30	2625.93
Kin-G2d	23.41	5.62	70.74	0.23	76.36	85	78.27	4056.63
Kin-G2e	28.83	5.26	65.70	0.21	70.96	85	72.85	5308.67
Kin-G2f	35.41	4.75	59.75	0.10	64.50	85	66.27	6930.35
Kin-G2g	40.23	4.52	55.13	0.11	59.65	85	61.45	8267.23
Kin-G2h	45.50	3.97	50.53	0.10	54.50	85	56.18	9976.20

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000587976 $t_{½}$: 11788.69853 min R^2: 0.99930

Tabelle 8.48: Aminolyse G-3 bei einem pH-Wert von 7.5 [PO_4].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-G3a	1.62	7.27	91.11	0.00	98.38	85	100.00	0.00
Kin-G3b	9.56	6.62	83.59	0.23	90.21	85	92.06	956.617
Kin-G3c	21.39	5.88	72.47	0.26	78.35	85	80.23	2543.05
Kin-G3d	30.55	5.10	64.20	0.16	69.30	85	71.07	3973.17
Kin-G3e	37.38	4.66	57.81	0.15	62.47	85	64.24	5225.33
Kin-G3f	45.37	4.15	50.38	0.10	54.53	85	56.25	6837.02
Kin-G3g	51.61	3.62	44.68	0.09	48.30	85	50.01	8182.08
Kin-G3h	56.81	3.18	39.92	0.09	43.10	85	44.81	9675.88

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000840981 $t_{½}$: 8242.126523 min R^2: 0.99956

Tabelle 8.49: Aminolyse G-4 bei einem pH-Wert von 8.5 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-G4a	1.64	7.45	90.91	0.00	98.36	85	100.00	0.00
Kin-G4b	20.13	6.08	73.51	0.29	79.59	85	81.51	872.25
Kin-G4c	26.81	5.61	67.40	0.18	73.01	85	74.83	1254.07
Kin-G4d	43.92	4.22	51.65	0.21	55.87	85	57.72	2459.38
Kin-G4e	59.62	2.99	37.21	0.18	40.20	85	42.02	3889.97
Kin-G4f	69.22	2.23	28.48	0.07	30.71	85	32.42	5138.30

Ergebnis: k_{obs}: 0.0002214517 $t_{½}$: 3130.015171 min R^2: 0.99949

Tabelle 8.50: Aminolyse G-5 bei einem pH-Wert von 9.0 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-G5a	1.61	7.36	91.03	0.00	98.39	85	100.00	0.00
Kin-G5b	20.32	5.87	73.51	0.30	79.38	85	81.29	210.283
Kin-G5c	60.88	2.91	35.84	0.37	38.75	85	40.73	997.18

Ergebnis: k_{obs}: 0.0009043337 $t_{½}$: 766.4727971 min R^2: 0.99932

Tabelle 8.51: Aminolyse G-8 bei einem pH-Wert von 9.0 [Tris].

Messung	60	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-G8a	1.62	7.46	90.68	0.23	98.14	85	100.00	0.00
Kin-G8b	10.89	6.69	82.19	0.23	88.88	85	90.73	128.533
Kin-G8c	18.81	6.03	74.94	0.23	80.97	85	82.81	249.83
Kin-G8d	26.18	5.54	68.04	0.23	73.58	85	75.44	375.92
Kin-G8e	34.62	4.79	60.38	0.22	65.17	85	67.00	532.58
Kin-G8f	40.17	4.49	55.15	0.19	59.64	85	61.45	660.08
Kin-G8g	63.72	2.72	33.43	0.13	36.15	85	37.90	1351.43

Ergebnis: k_{obs}: 0.0007272196 $t_{½}$: 953.1470007 min R^2: 0.99918

Tabelle 8.52: Aminolyse K-6 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-K6a	0.00	0.69	0.13	3.35	95.69	0.13	99.04	93	100.00	0.00
Kin-K6b	0.54	9.32	0.23	3.06	86.76	0.08	89.82	93	91.29	1168.78
Kin-K6c	1.09	18.31	0.26	2.75	77.52	0.06	80.27	93	82.21	2547.33
Kin-K6d	1.28	21.81	0.26	2.61	73.98	0.06	76.59	93	78.68	3146.10
Kin-K6e	1.52	26.41	0.29	2.39	69.34	0.06	71.73	93	74.03	3989.00
Kin-K6f	1.67	29.02	0.30	2.38	66.57	0.05	68.95	93	71.40	4502.50
Kin-K6g	1.91	33.82	0.30	2.16	61.76	0.05	63.92	93	66.55	5443.92
Kin-K6h	2.02	36.00	0.31	2.10	59.53	0.05	61.63	93	64.35	5923.35
Kin-K6i	2.17	40.07	0.32	1.95	55.42	0.06	57.37	93	60.24	6846.38
Kin-K6j	2.23	42.22	0.32	1.82	53.36	0.05	55.18	93	58.07	7405.87
Kin-K6k	2.42	46.69	0.34	1.70	48.79	0.05	50.49	93	53.55	8583.30
Kin-K6l	2.60	51.89	0.32	1.52	43.67	0.04	45.19	93	48.30	10004.73

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000736803 $t_{½}$: 9407.49672 min R^2: 0.99913

Tabelle 8.53: Aminolyse K-7 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-K7a	0.00	0.70	0.12	3.41	95.65	0.11	99.06	93	100.00	0.00
Kin-K7b	0.52	9.11	0.21	3.07	87.00	0.08	90.07	93	91.51	1155.22
Kin-K7c	1.09	17.98	0.23	2.76	77.88	0.06	80.64	93	82.56	2534.13
Kin-K7d	1.52	26.00	0.28	2.47	69.71	0.03	72.18	93	74.46	3976.97
Kin-K7e	1.93	33.43	0.29	2.22	62.08	0.05	64.30	93	66.96	5432.93
Kin-K7f	2.23	39.80	0.31	1.97	55.66	0.04	57.63	93	60.53	6834.02
Kin-K7g	2.54	46.60	0.34	1.71	48.78	0.04	50.49	93	53.66	8572.97
Kin-K7h	2.69	52.02	0.33	1.51	43.40	0.04	44.91	93	48.19	10004.09
Kin-K7i	2.66	94.51	0.45	0.08	2.30	0.00	2.38	93	5.30	100823.24

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000731902 $t_{½}$: 9470.49169 min R^2: 0.99975

Tabelle 8.54: Ergebnisse der pH-abhängigen Butylaminolyse von **59**.

Messung	Reaktionstyp	pH-Wert	k_{obs} [$*10^{-5}$ min^{-1}]	$t_{½}$[min]	R^2
F-1	Aminolyse	6.5 [PO_4]	2.44023	28404.99	0.99981
F-2	Aminolyse	7.0 [PO_4]	5.71179	12135.38	0.99939
F-3	Aminolyse	7.5 [PO_4]	8.29405	8357.16	0.99990
F-5	Aminolyse	8.0 [Tris]	9.35917	7406.08	0.99901
F-6	Aminolyse	8.5 [Tris]	22.03497	3145.67	0.99995
G-2	Aminolyse	7.0 [PO_4]	5.87976	11788.70	0.99930
G-3	Aminolyse	7.5 [PO_4]	8.40981	8242.13	0.99956
G-4	Aminolyse	8.5 [Tris]	22.14517	3130.02	0.99949
G-5	Aminolyse	9.0 [Tris]	90.43337	766.47	0.99932
G-8	Aminolyse	9.0 [Tris]	72.72196	953.15	0.99918
K-6	Aminolyse	7.5 [Tris]	7.36803	9407.50	0.99913
K-7	Aminolyse	7.5 [Tris]	7.31902	9470.49	0.99975

8.4.6 Mit Pyridonderivaten **20** und **29** versetzte Hydrolysereaktion von **59**

Die Hydrolysereaktion von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) wird jeweils mit einer definierten Menge der Pyridonderivate **20** und **29** versetzt, um eine katalytische Fähigkeit der bifunktionellen Verbindungen im vorgegebenen Reaktionsmedium zu überprüfen. Die analytische Trennung der Referenz-Hydrolyse und der Gemische beider Katalyseansätze gelingt mit isokratischen Bedingungen [22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA]]. Die Durchflussrate im System beträgt 1 ml/min. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

Reaktionsbedingungen: I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
pH-Wert konstant bei 7.5 unter Verwendung des Tris-Puffers [Tris] mit einer Konzentration von 20 mM

Stammlösungen: **59** = 1.5 mM in H_2O
20 = 1.5 mM in Pufferlösung
29 = 1.5 mM in Pufferlösung
Pufferlösungen = 30 mM [Tris], I = 1.5

Reaktionsschema:

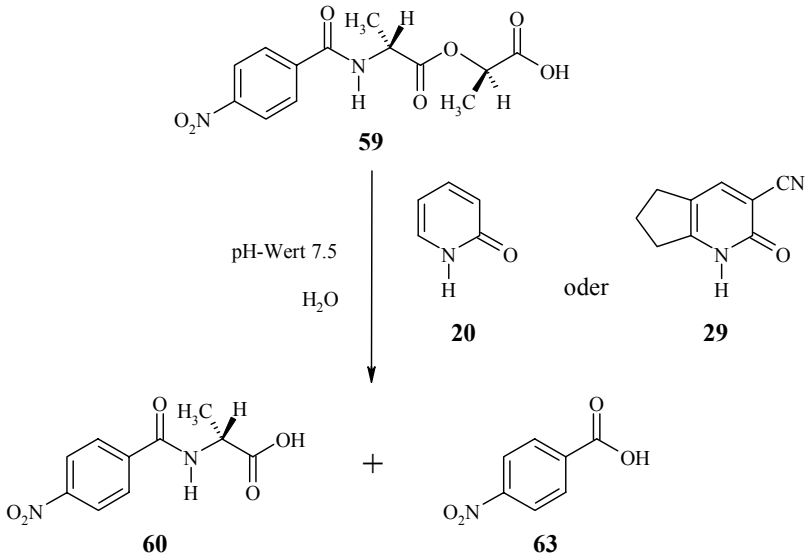


Tabelle 8.55: Mischungsverhältnisse in der mit **20** und **29** katalysierten Hydrolysereaktion.

Nr. Reaktion	pH-Wert Art des Puffers	Eingesetzte Verbindungen	Katalysator	I_{ges}	V_{ges} [ml]
J-1 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6
J-2 Katalyse (H)	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	**20** (Pyr-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
J-3 Katalyse (H)	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	**20** (Pyr-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
J-4 Katalyse (H)	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	**29** (Pyr-2/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6

J-5 Katalyse (H)	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	**29** (Pyr-2/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
J-6 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6
J-7 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6

Tabelle 8.56: Hydrolyse J-1 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J1a	0.00	0.57	0.12	3.43	95.88	-	99.31	93	100.00	0.00
Kin-J1b	0.05	3.01	0.14	3.32	93.49	-	96.81	93	97.54	887.033
Kin-J1c	0.10	6.83	0.18	3.10	89.78	-	92.88	93	93.70	2308.85
Kin-J1d	0.16	10.37	0.19	3.01	86.27	-	89.28	93	90.13	3681.58
Kin-J1e	0.24	14.29	0.20	2.90	82.37	-	85.27	93	86.18	5278.78
Kin-J1f	0.31	18.06	0.21	2.75	78.67	-	81.42	93	82.39	6871.47
Kin-J1g	0.36	21.39	0.21	2.69	75.35	-	78.04	93	79.04	8351.40
Kin-J1h	0.40	23.91	0.22	2.56	72.90	-	75.46	93	76.50	9509.03
Kin-J1i	0.44	26.89	0.22	2.50	69.95	-	72.45	93	73.50	10948.72

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000281612 $t_{½}$: 24613.55271 min R^2: 0.99999

Tabelle 8.57: Katalyse (H) J-2 mit **20** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J2a	0.00	0.59	0.11	3.35	95.94	-	99.29	93	100.00	0.00
Kin-J2b	0.05	3.00	0.16	3.29	93.50	-	96.79	93	97.57	881.767
Kin-J2c	0.12	6.84	0.19	3.10	89.76	-	92.86	93	93.71	2304.97
Kin-J2d	0.19	10.34	0.22	2.99	86.27	-	89.26	93	90.18	3675.82
Kin-J2e	0.25	14.06	0.25	2.85	82.59	-	85.44	93	86.43	5274.37
Kin-J2f	0.30	17.98	0.27	2.78	78.67	-	81.45	93	82.49	6868.08
Kin-J2g	0.36	21.39	0.28	2.73	75.23	-	77.96	93	79.05	8345.72
Kin-J2h	0.41	23.84	0.27	2.59	72.89	-	75.48	93	76.58	9503.83
Kin-J2i	0.45	26.76	0.30	2.48	70.02	-	72.50	93	73.64	10943.60

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000280190 $t_{½}$: 24738.46963 min R^2: 0.99993

Tabelle 8.58: Katalyse (H) J-3 mit **20** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J3a	0.00	0.58	0.12	3.39	95.91	-	99.30	93	100.00	0.00
Kin-J3b	0.05	2.98	0.16	3.29	93.52	-	96.81	93	97.58	878.1
Kin-J3c	0.12	6.76	0.20	3.13	89.80	-	92.93	93	93.78	2305.10
Kin-J3d	0.18	10.31	0.22	3.00	86.27	-	89.27	93	90.20	3677.38
Kin-J3e	0.26	14.28	0.25	2.89	82.32	-	85.21	93	86.20	5277.00
Kin-J3f	0.32	18.02	0.27	2.76	78.64	-	81.40	93	82.44	6862.90
Kin-J3g	0.38	21.30	0.28	2.67	75.37	-	78.04	93	79.13	8351.10
Kin-J3h	0.40	23.80	0.29	2.58	72.93	-	75.51	93	76.62	9499.73
Kin-J3i	0.44	26.58	0.31	2.42	70.25	-	72.67	93	73.82	10941.57

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000279598 $t_{½}$: 24790.84902 min R^2: 0.99991

Tabelle 8.59: Katalyse (H) J-4 mit **29** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J4a	0.00	0.57	0.14	3.33	93.95	-	97.28	93	100.00	0.00
Kin-J4b	0.02	2.92	0.16	3.23	91.66	-	94.89	93	97.58	874.45
Kin-J4c	0.04	6.52	0.19	3.03	88.23	-	91.26	93	93.88	2334.92
Kin-J4d	0.16	10.62	0.22	2.94	84.05	-	86.99	93	89.67	3906.38
Kin-J4e	0.22	13.95	0.26	2.83	80.75	-	83.58	93	86.25	5291.97
Kin-J4f	0.28	17.45	0.28	2.70	77.30	-	80.00	93	82.65	6856.92
Kin-J4g	0.33	20.72	0.29	2.64	74.02	-	76.66	93	79.29	8346.62
Kin-J4h	0.39	23.17	0.30	2.49	71.66	-	74.15	93	76.77	9499.35
Kin-J4i	0.44	26.16	0.30	2.45	68.65	-	71.10	93	73.69	10936.32

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000278493 $t_{½}$: 24889.21375 min R^2: 0.99995

Tabelle 8.60: Katalyse (H) J-5 mit **29** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J5a	0.00	0.58	0.15	3.30	93.99	-	97.29	93	100.00	0.00
Kin-5b	0.04	2.94	0.17	3.22	91.66	-	94.88	93	97.57	880.75
Kin-J5c	0.11	6.73	0.20	3.13	87.86	-	90.99	93	93.68	2340.37
Kin-J5d	0.20	10.63	0.22	2.92	84.06	-	86.98	93	89.67	3907.00
Kin-J5e	0.25	13.95	0.25	2.80	80.77	-	83.57	93	86.26	5305.17
Kin-J5f	0.31	17.46	0.26	2.69	77.30	-	79.99	93	82.65	6853.72
Kin-J5g	0.35	20.71	0.28	2.60	74.07	-	76.67	93	79.31	8343.98
Kin-J5h	0.39	23.04	0.31	2.57	71.72	-	74.29	93	76.91	9494.07
Kin-J5i	0.43	26.05	0.32	2.42	68.79	-	71.21	93	73.82	10935.77

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000277573 $t_{½}$: 24971.70764 min R^2: 0.99998

Tabelle 8.61: Hydrolyse J-6 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J6a	0.00	0.78	0.14	3.46	95.61	-	99.07	93	100.00	0.00
Kin-J6b	0.10	5.21	0.17	3.23	91.29	-	94.52	93	95.54	1627.95
Kin-J6c	0.18	9.04	0.18	3.11	87.50	-	90.61	93	91.68	3061.02
Kin-J6d	0.26	12.68	0.21	2.98	83.87	-	86.85	93	88.02	4495.93
Kin-J6e	0.32	16.17	0.23	2.86	80.42	-	83.28	93	84.50	5916.92
Kin-J6f	0.38	19.51	0.25	2.73	77.14	-	79.87	93	81.14	7337.45
Kin-J6g	0.44	22.73	0.24	2.62	73.98	-	76.60	93	77.90	8742.00
Kin-J6h	0.49	25.81	0.25	2.54	70.91	-	73.45	93	74.80	10173.35

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000285104 $t_{½}$: 24312.08193 min R^2: 0.99998

Tabelle 8.62: Hydrolyse J-7 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-J7a	0.00	0.73	0.12	3.44	95.71	-	99.15	93	100.00	0.00
Kin-J7b	0.10	5.16	0.17	3.25	91.32	-	94.57	93	95.53	1623.3
Kin-J7c	0.17	9.01	0.19	3.11	87.52	-	90.63	93	91.65	3058.12

Kin-J7d	0.25	12.61	0.22	2.98	83.94	-	86.92	93	88.02	4490.82
Kin-J7e	0.31	16.02	0.24	2.87	80.57	-	83.44	93	84.58	5913.02
Kin-J7f	0.38	19.49	0.26	2.77	77.11	-	79.88	93	81.08	7368.90
Kin-J7g	0.43	22.54	0.26	2.67	74.11	-	76.78	93	78.00	8738.03
Kin-J7h	0.48	25.61	0.26	2.56	71.09	-	73.65	93	74.91	10168.10
Kin-J7i	0.91	79.47	0.39	0.65	18.58	-	19.23	93	20.58	100823.96

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000284183 $t_{½}$: 24390.87421 min R^2: 0.99999

Tabelle 8.63: Ergebnisse der mit **20** und **29** katalysierten Hydrolyse von **59** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	Reaktionstyp	Kat [c]	k_{obs} [$*10^{-5}$ min^{-1}]	$t_{½}$[min]	R^2
J-1	Hydrolyse	-	2.81612	24613.55	0.99999
J-2	Katalyse (H)	0.5 mM	2.80190	24738.47	0.99993
J-3	Katalyse (H)	0.5 mM	2.79598	24790.85	0.99991
J-4	Katalyse (H)	0.5 mM	2.78493	24889.21	0.99995
J-5	Katalyse (H)	0.5 mM	2.77573	24971.71	0.99998
J-6	Hydrolyse	-	2.85104	24312.08	0.99998
J-7	Hydrolyse	-	2.84183	24390.87	0.99999

8.4.7 Mit Pyridonderivaten **20** und **29** versetzte Aminolysereaktion von **59**

Die Aminolysereaktion von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) mit *n*-Butylamin (**6**) als Aminkomponente wird jeweils mit einer definierten Menge der Pyridonderivate **20** und **29** versetzt, um eine katalytische Fähigkeit der bifunktionellen Verbindungen im vorgegebenen Reaktionsmedium zu überprüfen. Die analytische Trennung der Aminolyse und beider Katalyseansätze gelingt mit Hilfe des Gradienten **A** [Lösemittel: CH_3CN/H_2O [0.1 % TFA]] bei einer Durchflussrate von 1 ml/min. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

Reaktionsbedingungen: I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
pH-Wert konstant bei 7.5 unter Verwendung des Tris-Puffers [Tris] mit einer Konzentration von 20 mM,

Stammlösungen: **59** = 1.5 mM in H_2O
20 = 1.5 mM in Pufferlösung
29 = 1.5 mM in Pufferlösung
n-Butylamin (**6**) = 7.4 µl in 10 ml Pufferlösung = 7.5 mM
Pufferlösung = 30 mM [Tris], I = 1.5

Reaktionsschema:

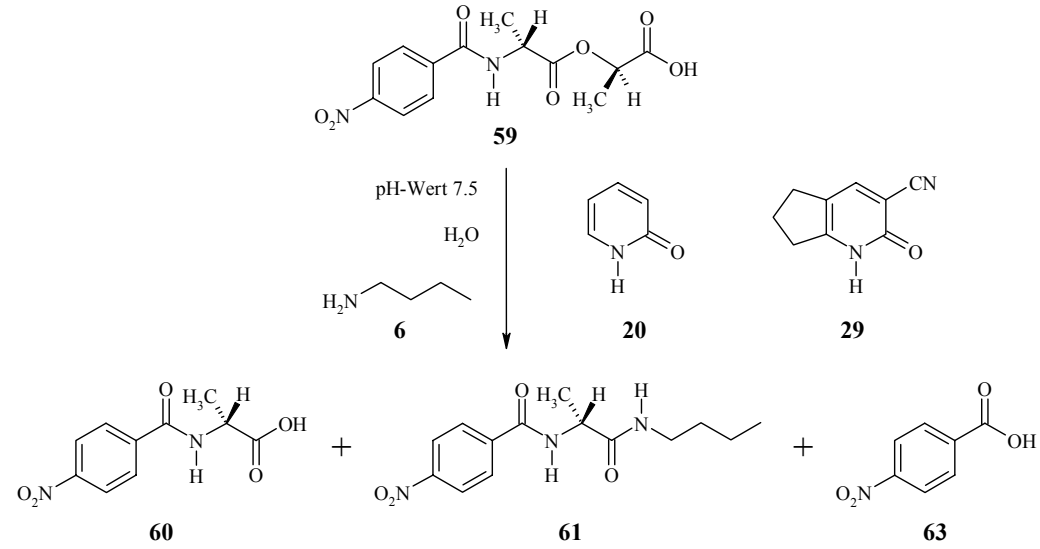


Tabelle 8.64: Mischungsverhältnisse in der mit **20** und **29** katalysierten Butylaminolysereaktion.

Nr. Reaktion	pH-Wert Art des Puffers	Eingesetzte Verbindungen	Katalysator	I_{ges}	V_{ges} [ml]
K-1 Aminolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1/7.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6
K-2 Katalyse (A)	**7.5** Tris [30 mM] -	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1/7.5 mM) 0.2 ml	**20** (Pyr-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
K-3 Katalyse (A)	**7.5** Tris [30 mM] -	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1/7.5 mM) 0.2 ml	**20** (Pyr-1/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
K-4 Katalyse (A)	**7.5** Tris [30 mM] -	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1/7.5 mM) 0.2 ml	**29** (Pyr-2/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
K-5 Katalyse (A)	**7.5** Tris [30 mM] -	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1/7.5 mM) 0.2 ml	**29** (Pyr-2/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6

Tabelle 8.65: Aminolyse K-1 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-K1a	0.00	0.90	0.14	3.40	95.72	0.13	99.12	93	100.00	0.00
Kin-K1b	0.45	8.44	0.24	3.02	87.78	0.06	90.80	93	92.39	1069.283
Kin-K1c	0.92	17.32	0.27	2.78	78.63	0.08	81.41	93	83.43	2382.27
Kin-K1d	1.34	25.45	0.29	2.48	70.38	0.06	72.86	93	75.23	3742.32
Kin-K1e	1.78	33.57	0.32	2.17	62.10	0.06	64.27	93	67.04	5323.40
Kin-K1f	2.06	40.18	0.36	2.02	55.35	0.04	57.37	93	60.37	6832.58
Kin-K1g	2.28	45.59	0.35	1.74	50.00	0.05	51.74	93	54.91	8148.75
Kin-K1h	2.45	50.81	0.37	1.56	44.77	0.04	46.33	93	49.65	9717.40
Kin-K1i	2.54	56.52	0.39	1.35	39.16	0.05	40.51	93	43.89	11438.02

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000729460 $t_{½}$: 9502.19588 min R^2: 0.99910

Tabelle 8.66: Katalyse (A) K-2 mit **20** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-K2a	0.00	0.62	0.13	3.42	95.73	0.09	99.15	93	100.00	0.00

Kin-K2b	0.47	8.67	0.26	3.11	87.44	0.05	90.55	93	91.88	1061.05
Kin-K2c	0.93	17.57	0.36	2.82	78.27	0.05	81.09	93	82.90	2373.58
Kin-K2d	1.38	25.50	0.37	2.46	70.25	0.05	72.71	93	74.91	3733.32
Kin-K2e	1.81	33.73	0.39	2.17	61.86	0.05	64.03	93	66.61	5313.93
Kin-K2f	2.10	40.28	0.42	1.93	55.22	0.05	57.15	93	60.00	6825.07
Kin-K2g	2.31	45.46	0.41	1.81	49.98	0.03	51.79	93	54.78	8140.58
Kin-K2h	2.55	51.13	0.43	1.52	44.33	0.04	45.85	93	49.06	9708.42
Kin-K2i	2.71	56.62	0.46	1.36	38.82	0.03	40.18	93	43.52	11428.87

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000739202 $t_{½}$: 9376.96571 min R^2: 0.99882

Tabelle 8.67: Katalyse (A) K-3 mit **20** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	**79**	**60**	**63**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-K3a	0.00	0.63	0.13	3.42	95.71	0.11	99.13	93	100.00	0.00
Kin-K3b	0.48	8.67	0.26	3.06	87.46	0.06	90.52	93	91.89	1067.65
Kin-K3c	0.92	17.45	0.33	2.79	78.45	0.05	81.24	93	83.03	2374.42
Kin-K3d	1.39	25.37	0.37	2.48	70.34	0.05	72.82	93	75.04	3732.80
Kin-K3e	1.82	33.57	0.39	2.18	61.99	0.05	64.17	93	66.77	5315.58
Kin-K3f	2.13	40.27	0.42	1.96	55.18	0.04	57.14	93	60.01	6830.48
Kin-K3g	2.34	45.43	0.41	1.76	50.01	0.04	51.77	93	54.81	8139.95
Kin-K3h	2.57	51.16	0.44	1.53	44.27	0.03	45.80	93	49.03	9716.25
Kin-K3i	2.73	56.35	0.45	1.33	39.11	0.03	40.44	93	43.79	11428.90
Kin-K3j	1.69	97.14	0.50	0.02	0.64	0.00	0.66	94	2.64	115223.94

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000736521 $t_{½}$: 9411.09867 min R^2: 0.99879

Tabelle 8.68: Katalyse (A) K-4 mit **29** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	**79**	**60**	**63**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-K4a	0.00	0.62	0.12	3.35	93.84	0.11	97.19	93	100.00	0.00
Kin-K4b	0.53	8.39	0.25	3.00	85.80	0.06	88.80	93	92.01	1067.55
Kin-K4c	1.01	16.80	0.30	2.74	77.12	0.06	79.86	93	83.35	2374.63
Kin-K4d	1.43	24.51	0.34	2.46	69.24	0.06	71.70	93	75.42	3732.83
Kin-K4e	1.84	32.31	0.39	2.20	61.24	0.05	63.44	93	67.39	5322.90
Kin-K4f	2.16	38.84	0.40	2.00	54.58	0.04	56.58	93	60.67	6830.72
Kin-K4g	2.35	44.05	0.42	1.73	49.44	0.03	51.17	93	55.31	8147.63
Kin-K4h	2.56	49.40	0.42	1.53	44.09	0.03	45.62	93	49.81	9740.817
Kin-K4i	2.77	54.43	0.43	1.37	39.00	0.03	40.37	93	44.63	11429.53

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000720349 $t_{½}$: 9622.37999 min R^2: 0.99864

Tabelle 8.69: Katalyse (A) K-5 mit **29** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	**79**	**60**	**63**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-K5a	0.00	0.62	0.12	3.35	93.86	0.09	97.21	93	100.00	0.00
Kin-K5b	0.48	8.37	0.26	3.02	85.86	0.05	88.88	93	92.03	1064.18
Kin-K5c	1.05	16.89	0.31	2.71	77.03	0.05	79.74	93	83.26	2370.67
Kin-K5d	1.51	24.65	0.35	2.44	69.06	0.04	71.50	93	75.28	3729.17
Kin-K5e	1.88	32.59	0.37	2.16	60.99	0.04	63.15	93	67.11	5338.30
Kin-K5f	2.15	38.97	0.41	1.97	54.49	0.04	56.46	93	60.55	6827.20
Kin-K5g	2.42	44.16	0.40	1.74	49.28	0.04	51.02	93	55.21	8150.13

Kin-K5h	2.71	49.53	0.42	1.53	43.81	0.03	45.34	93	49.69	9737.88
Kin-K5i	2.83	54.63	0.43	1.37	38.75	0.03	40.12	93	44.44	11425.63
Kin-K5j	1.76	95.07	0.50	0.03	0.69	0.00	0.72	92	2.84	115219.39

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000723875 $t_{½}$: 9575.50932 min R^2: 0.99860

Tabelle 8.70: Ergebnisse der mit **20** und **29** katalysierten Aminolyse von **59** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	Reaktionstyp	Kat [c]	k_{obs} [$*10^{-5}$ min^{-1}]	$t_{½}$[min]	R^2
K-1	Aminolyse	-	7.29460	9502.20	0.99910
K-2	Katalyse (A)	0.5 mM	7.39202	9376.97	0.99882
K-3	Katalyse (A)	0.5 mM	7.36521	9411.10	0.99879
K-4	Katalyse (A)	0.5 mM	7.20349	9622.38	0.99864
K-5	Katalyse (A)	0.5 mM	7.23875	9575.51	0.99860

8.4.8 Mit Pyridonderivat **56** versetzte Hydrolyse- und Aminolysereaktion von **59**

Die Hydrolyse- und Aminolysereaktion von *p*-Nitrobenzoyl-D-alanyl-D-milchsäure (**59**) wird jeweils mit einer definierten Menge des Pyridonderivats **56** versetzt, um eine katalytische Fähigkeit der bifunktionellen Verbindung in den vorgegebenen Reaktionsmedien zu überprüfen. Wegen der nur mäßigen Lösungseigenschaften des Katalysators muss mit einem Lösungsmittelgemisch von H_2O/DMSO (9/1, Vol.) gearbeitet werden. Die analytische Trennung der Reaktionsgemische wird wie folgt durchgeführt:

Das Hydrolysegemisch wird unter isokratischen Bedingungen [22 % CH_3CN/78 % H_2O [0.1 % TFA]] getrennt. Die Trennung der Aminolysereaktion gelingt mit Hilfe des Gradienten **A** [Lösemittel: CH_3CN/H_2O [0.1 % TFA]] und die der Katalysemischungen mit Hilfe des Gradienten **B** [Lösemittel: CH_3CN/H_2O [0.1 % TFA]]. Die Trennungen werden jeweils mit einer Durchflussrate von 1 ml/min durchgeführt. Die Detektion der Reaktionsprodukte erfolgt bei einer Wellenlänge von 264 nm (Max. der *p*-NO_2-Derivate).

Reaktionsbedingungen: I = 1, mit KCl (74.555 g/mol); ϑ = 37 °C
pH-Wert konstant bei 7.5 unter Verwendung des Tris-Puffers [Tris] mit einer Konzentration von 20 mM,

Stammlösungen: **59** = 1.5 mM in H_2O
56 = 0.375 mM in Pufferlösung
n-Butylamin (**6**) = 7.4 µl in 10 ml Pufferlösung = 7.5 mM
Pufferlösung = 30 mM [Tris], I = 1.5, 15 Vol.-% DMSO

Reaktionsschema:

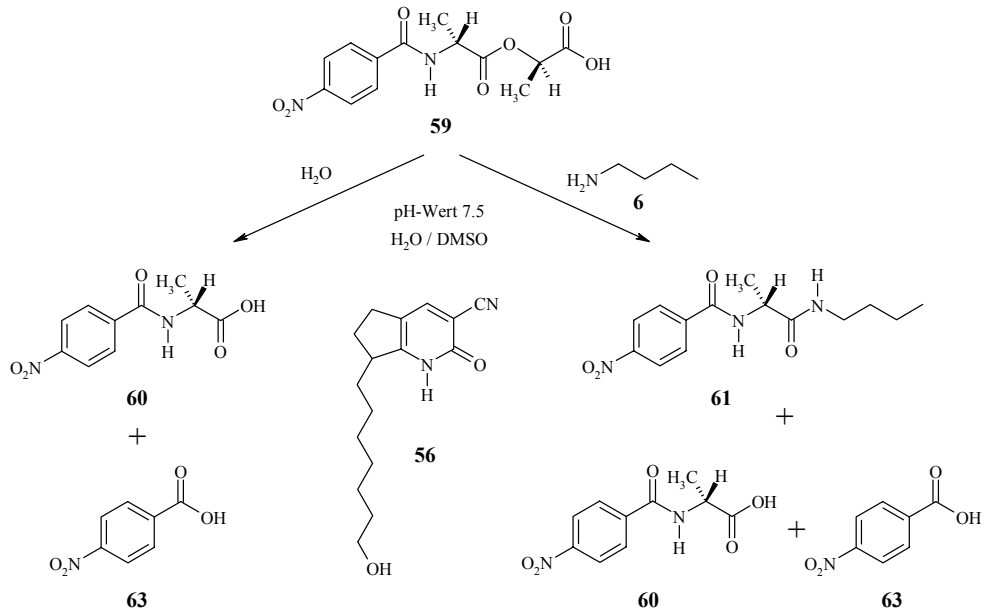


Tabelle 8.71: Mischungsverhältnisse der mit **56** katalysierten Reaktionen.

Nr. Reaktion	pH-Wert Art des Puffers	Eingesetzte Verbindungen	Katalysator	I_{ges}	V_{ges} [ml]
L-1 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6
L-2 Katalyse (H)	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	**56** (Pyr-3/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
L-3 Katalyse (H)	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	**56** (Pyr-3/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
L-4 Aminolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.2 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1D/7.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6
L-5 Katalyse (A)	**7.5** Tris [30 mM] -	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1D/7.5 mM) 0.2 ml	**56** (Pyr-3/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
L-6 Katalyse (A)	**7.5** Tris [30 mM] -	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml **6** (Bu-1D/7.5 mM) 0.2 ml	**56** (Pyr-3/1.5 mM) 0.2 ml	1	0.6
L-7 Hydrolyse	**7.5** Tris [30 mM] 0.4 ml	**59** (Sub-4/1.5 mM) 0.2 ml	-	1	0.6

Tabelle 8.72: Hydrolyse L-1 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-L1a	0.00	0.69	0.14	3.34	95.83	-	99.17	93	100.00	0.00
Kin-L1b	0.11	3.38	0.15	3.26	93.10	-	96.36	93	97.29	1241.333
Kin-L1c	0.24	6.62	0.16	3.11	89.87	-	92.98	93	94.02	2805.85
Kin-L1d	0.35	9.37	0.19	3.04	87.06	-	90.10	93	91.25	4123.30
Kin-L1e	0.44	12.25	0.20	2.94	84.17	-	87.11	93	88.34	5622.18
Kin-L1f	0.56	15.62	0.21	2.78	80.82	-	83.60	93	84.95	7356.92
Kin-L1g	0.62	17.73	0.22	2.70	78.72	-	81.42	93	82.82	8477.80
Kin-L1h	0.73	20.23	0.23	2.64	76.17	-	78.81	93	80.30	9892.65
Kin-L1i	0.80	22.69	0.23	2.52	73.76	-	76.28	93	77.82	11316.38

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000221729 $t_{½}$: 31261.00693 min R^2: 0.99998

Tabelle 8.73: Katalyse (H) L-2 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-L2a	0.00	0.71	0.14	3.38	95.77	-	99.15	93	100.00	0.00
Kin-L2b	0.13	4.04	0.17	3.14	92.51	-	95.65	93	96.64	1519.8
Kin-L2c	0.24	6.75	0.20	3.08	89.73	-	92.81	93	93.91	2829.55
Kin-L2d	0.34	9.68	0.22	3.02	86.74	-	89.76	93	90.95	4270.75
Kin-L2e	0.47	13.20	0.22	2.88	83.23	-	86.11	93	87.40	6063.40
Kin-L2f	0.55	15.30	0.23	2.81	81.11	-	83.92	93	85.28	7188.68
Kin-L2g	0.63	17.80	0.23	2.76	78.58	-	81.34	93	82.76	8601.42
Kin-L2h	0.71	20.35	0.24	2.65	76.04	-	78.69	93	80.19	10022.12

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000220812 $t_{½}$: 31390.82933 min R^2: 0.99994

Tabelle 8.74: Katalyse (H) L-3 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-L3a	0.00	0.70	0.14	3.39	95.77	-	99.16	93	100.00	0.00
Kin-L3b	0.13	3.99	0.17	3.18	92.53	-	95.71	93	96.68	1509.67
Kin-L3c	0.23	6.71	0.19	3.10	89.76	-	92.86	93	93.94	2822.33
Kin-L3d	0.34	9.54	0.21	2.99	86.91	-	89.90	93	91.09	4260.23
Kin-L3e	0.47	13.08	0.23	2.91	83.31	-	86.22	93	87.52	6053.92
Kin-L3f	0.55	15.23	0.24	2.79	81.20	-	83.99	93	85.35	7180.18
Kin-L3g	0.62	17.78	0.23	2.70	78.67	-	81.37	93	82.78	8592.57
Kin-L3h	0.71	20.38	0.24	2.60	76.07	-	78.67	93	80.15	10020.62

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000220441 $t_{½}$: 31443.65978 min R^2: 0.99998

Tabelle 8.75: Aminolyse L-4 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-L4a	0.00	0.69	0.14	3.33	95.72	0.12	99.05	93	100.00	0.00
Kin-L4b	0.71	5.82	0.18	3.11	90.08	0.09	93.19	93	94.82	1198.867
Kin-L4c	1.67	12.57	0.21	2.87	82.60	0.07	85.47	93	88.01	2872.17
Kin-L4d	2.36	17.61	0.23	2.68	77.06	0.07	79.74	93	82.92	4184.93
Kin-L4e	2.91	22.35	0.25	2.49	71.94	0.07	74.43	93	78.13	5622.90
Kin-L4f	3.64	28.26	0.26	2.27	65.53	0.04	67.80	93	72.17	7417.33
Kin-L4g	4.02	31.65	0.27	2.13	61.90	0.05	64.03	93	68.74	8545.93
Kin-L4h	4.42	35.53	0.29	1.98	57.73	0.05	59.71	93	64.83	9988.53
Kin-L4i	4.79	39.13	0.30	1.85	53.89	0.04	55.74	93	61.19	11385.97

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000435930 $t_{½}$: 15900.42393 min R^2: 0.99967

Tabelle 8.76: Katalyse (A) L-5 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	79	60	63	59a	59b	61	Σ 59	de	U_i [%]	t_{abs} [min]
Kin-L5a	0.00	0.70	0.14	3.42	95.62	0.12	99.04	93	100.00	0.00
Kin-L5b	0.88	7.39	0.17	3.07	88.40	0.08	91.47	93	93.25	1547.65
Kin-L5c	1.55	12.92	0.20	2.88	82.37	0.07	85.25	93	87.66	2879.13
Kin-L5d	2.15	17.77	0.23	2.69	77.08	0.08	79.77	93	82.76	4294.65
Kin-L5e	2.83	23.91	0.26	2.45	70.50	0.06	72.95	93	76.57	6088.92

Kin-L5f	3.18	27.51	0.28	2.32	66.65	0.07	68.97	93	72.93	7218.87
Kin-L5g	3.68	31.84	0.30	2.14	61.99	0.06	64.13	93	68.56	8755.80
Kin-L5h	3.94	35.31	0.32	2.02	58.36	0.05	60.38	93	65.05	10061.65

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000433320 $t_{½}$: 15996.19636 min R^2: 0.99922

Tabelle 8.77: Katalyse (A) L-6 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	**79**	**60**	**63**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-L6a	0.00	0.68	0.13	3.35	95.71	0.12	99.06	93	100.00	0.00
Kin-L6b	0.90	7.34	0.19	3.10	88.38	0.09	91.48	93	93.28	1547.017
Kin-L6c	1.61	12.70	0.23	2.87	82.51	0.08	85.38	93	87.87	2892.27
Kin-L6d	2.21	17.73	0.26	2.65	77.07	0.08	79.72	93	82.79	4293.72
Kin-L6e	2.94	23.84	0.27	2.44	70.45	0.07	72.89	93	76.62	6088.25
Kin-L6f	3.27	27.42	0.28	2.30	66.66	0.07	68.96	93	73.01	7230.30
Kin-L6g	3.74	31.84	0.29	2.12	61.96	0.06	64.08	93	68.54	8754.67
Kin-L6h	4.05	35.38	0.31	2.02	58.19	0.06	60.21	93	64.97	10075.40

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000432779 $t_{½}$: 16016.19257 min R^2: 0.99957

Tabelle 8.78: Hydrolyse L-7 bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	**79**	**60**	**63**	**59a**	**59b**	**61**	**Σ 59**	**de**	**U_i [%]**	**t_{abs} [min]**
Kin-L7a	0.00	0.70	0.14	3.41	95.75	-	99.16	93	100.00	0.00
Kin-L7b	0.12	3.52	0.14	3.25	92.97	-	96.22	93	97.16	1298.18
Kin-L7c	0.24	6.75	0.16	3.10	89.74	-	92.84	93	93.90	2838.42
Kin-L7d	0.35	9.48	0.18	3.06	86.93	-	89.99	93	91.15	4179.83
Kin-L7e	0.44	12.30	0.20	2.94	84.12	-	87.06	93	88.30	5564.20
Kin-L7f	0.57	15.76	0.22	2.78	80.67	-	83.45	93	84.81	7414.63
Kin-L7g	0.63	17.76	0.23	2.71	78.67	-	81.38	93	82.80	8532.80
Kin-L7h	0.71	20.30	0.23	2.62	76.13	-	78.75	93	80.23	9950.73
Kin-L7i	0.79	22.79	0.23	2.54	73.65	-	76.19	93	77.72	11373.48

Ergebnis: k_{obs}: 0.0000221706 $t_{½}$: 31264.24998 min R^2: 0.99997

Tabelle 8.79: Ergebnisse der mit **56** katalysierten Reaktionen von **59** bei einem pH-Wert von 7.5 [Tris].

Messung	**Reaktionstyp**	**Kat [c]**	**k_{obs} [$*10^{-5}$ min^{-1}]**	**$t_{½}$[min]**	**R^2**
L-1	Hydrolyse	-	2.21729	31261.01	0.99998
L-2	Katalyse (H)	0.125 mM	2.20812	31390.83	0.99994
L-3	Katalyse (H)	0.125 mM	2.20441	31443.66	0.99998
L-4	Aminolyse	-	4.35930	15900.42	0.99967
L-5	Katalyse (A)	0.125 mM	4.33320	15996.20	0.99922
L-6	Katalyse (A)	0.125 mM	4.32779	16016.19	0.99957
L-7	Hydrolyse	-	2.21706	31264.25	0.99997

9 Literatur

[1] P. G. Ashmore, "*Catalysis and Inhibition of Chemical Reactions*", Butterworths & Co. (Publishers) Ltd., London, **1963**.

[2] K. J. Laidler, "*Chemical Kinetics*", McGraw-Hill Book Company, sec. Ed., New York • St. Louis • San Francisco • Toronto • London • Sydney, **1965**.

[3] S. R. Logan, "*Grundlagen der chemischen Kinetik*", Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim • Berlin • New York • Chichester • Brisbane • Singapore • Toronto, **1997**.

[4] R. I. Masel, "*Chemical Kinetics and Catalysis*", Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, Inc., Publication, New York • Chichester • Weinheim • Brisbane • Singapore • Toronto, **2003**.

[5] E. T. Denisov, O. M. Sarkisov, G. I. Likhtenshtein, "*Chemical Kinetics - Fundamentals and New Developments*", Elsevier Science B. V., Amsterdam • Boston • London • New York • Oxford • Paris • San Diego • San Francisco • Singapore • Sydney • Tokyo, **2003**.

[6] J. Falbe (Hrsg.), M. Regitz (Hrsg.), "*Römpp Lexikon Chemie*", Georg Thieme Verlag Stuttgart • New York, 10. Auflage, **1997**.

[7] I. T. Horváth (Editor in Chief), "*Encyclopedia of Catalysis*", Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, Inc., Publication, **2003**.

[8] B. Cornils, W. A. Hermann, R. Schlögl, C.-H. Wong, "*Catalysis from A to Z*", Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim • New York • Chichester • Brisbane • Singapore, **2000**.

[9] a) B. Cornils, W. A. Herrmann, *J. Catal.* **2003**, *216*, 23-31.
b) W. A. Herrmann, B. Cornils, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1074-1095. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 1049-1067.

[10] R. Pascal, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1813-1824.

[11] R. B. Silverman, "*The Organic Chemistry of Enzyme - Catalyzed Reactions*", Academic Press, An Elsevier Science Imprint, San Diego • San Francisco • New York • Boston • London • Sydney • Tokyo, Revised Edition, **2002**.

[12] M. T. Reetz, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6595-6602.

[13] N. G. J. Richards, *Annu. Rep. Prog. Chem. Sect. B: Org. Chem.* **1999**, *95*, 299-334.

[14] A. Fersht, "*Structure and Mechanism in Protein Science - A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*", W. H. Freeman and Company, New York, 2nd Printing, **1999**.

[15] J. S. Parratt, M. C. Cripps, S. J. Faulconbridge, K. E. Holt, C. L. Rippé, S. P. Savage, S. J. C. Taylor, *Annu. Rep. Prog. Chem. Sect. B: Org. Chem.* **1997**, *93*, 291-307.

[16] D. R. Corey, C. S. Craik, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1784-1790.

[17] K. D. Cramer, S. C. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3680-3682.

[18] A. J. Nicoll, R. K. Allemann, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2175-2180.

[19] H. Tsutsumi, H. Ikeda, H. Mihara, A. Ueno, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 723-726.

[20] K. Matsumoto, B. G. Davis, J. B. Jones, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4129-4137.

[21] M. T. Reetz, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 292-320. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 284-310.

[22] V. T. D'Souza, M. L. Bender, *Acc. Chem. Res.* **1987**, *20*, 146-152.

[23] H. Wade, T. S. Scanlan, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 531-540.

[24] G. MacBeath, D. Hilvert, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 433-445.

[25] Y. Xu, N. Yamamoto, K. D. Janda, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5247-5268.

[26] a) K. S. Broo, L. Brive, P. Ahlberg, L. Baltzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11362-11372.

b) T. C. Bruice, R. Lapinski, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2265-2267.

[27] A.-T. Talvik, A. Tuulmets, E. Vaino, *J. Phys. Org. Chem.* **1999**, *12*, 747-750.

[28] J. March, "*Advanced Organic Chemistry*", Third Edition, John Wiley & Sons, New York • Chichester • Brisbane • Toronto • Singapore, **1985**, S. 375.

[29] a) M. Bodánszky, *Nature* **1955**, *175*, 685.

b) M. Bodánszky, M. Szelke, E. Tömörkény, E. Weisz, *Chem. & Ind.* **1955**, 1517.

c) M. Bodánszky, *Chem. & Ind.* **1957**, 524.

d) M. Bodánszky, C. A. Birkhimer, *Chem. & Ind.* **1962**, 1620-1621.

e) N. Nakamizo, *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1969**, *42*, 1071-1077 / 1078-1082.

f) N. Nakamizo, *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1971**, *44*, 2006.

g) L. M. Siemens, F. W. Rottnek, L. S. Trzupek, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3507-3511, und dort aufgeführte Literaturstellen.

[30] W. P. Jencks, "*Catalysis in Chemistry and Enzymology*", McGraw-Hill Book Company, New York • St. Louis • San Francisco • London • Sydney • Toronto • Mexico • Panama, **1969**.

[31] M. L. Bender, *Chem. Rev.* **1960**, *60*, 53-100.

[32] V. Schellenberger, H.-D. Jakubke, *Angew. Chem.* **1981**, *102*, 1404-1425.

[33] a) L. Wang, H. Zipse, *Liebigs Ann.* **1996**, 1501-1509.
b) H. Zipse, L. Wang, K. N. Houk, *Liebigs Ann.* **1996**, 1511-1522.

[34] T. Oie, G. H. Loew, S. K. Burt, J. S. Binkley, R. D. MacElroy, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6169-6174.

[35] L. Wang, Dissertation, Technische Universität Berlin **1998**.

[36] R. D. Gandour, D. A. Walker, A. Nayak, G. R. Newkome, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3608-3609.

[37] J. C. Hogan, R. D. Gandour, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2821-2826.

[38] J. C. Hogan, R. D. Gandour, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 55-61.

[39] F. M. Menger, J. H. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3824-3829.

[40] P. Haberfield, J. J. Cincotta, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1334-1338.

[41] S. Thea, G. Cevasco, G. Guanti, G. Petrillo, *Gazz. Chim. Ital.* **1988**, *118*, 607-608.

[42] H. J. Koh, S. I. Kim, B. C. Lee, I. Lee, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1996**, 1335-1357.

[43] C. W. Su, J. W. Watson, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1854-1857.

[44] a) M. L. Bender, B. W. Turnquest, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1652-1655.
b) M. L. Bender, B. W. Turnquest, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1656-1662.

[45] T. C. Bruice, G. L. Schmir, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1663-1667.

[46] Y. Ducharme, J. D. Wuest, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5787-5789.

[47] a) M. Gallant, M. T. P. Viet, J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 721-723.
b) M. Simard, D. Su, J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4696-4698.
c) F. Persico, J. D Wuest, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 95-99.
d) P. Brunet, M. Simard, J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2737-2738.

[48] M. Akazome, S. Suzuki, Y. Shimizu, K. Henmi, K. Ogura, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6917-6921.

[49] V. B. Rybakov, A. A. Bush, E. V. Babaev, L. A. Aslanov, *Acta Cryst.* **2004**, *E60*, 160-161.

[50] B. R. Penfold, *Acta Cryst.* **1953**, *6*, 591-600.

[51] U. Ohms, H. Guth, E. Hellner, H. Dannöhl, A. Schweig, *Z. Kristallogr.* **1984**, *169*, 185-200.

[52] H. W. Yang, B. M. Craven, *Acta Cryst.* **1998**, *Ser. B54*, 912-920.

[53] P. Beak, *Acc. Chem. Res.* **1977**, *10*, 186-192.

[54] L. D. Hatherley, R. D. Brown, P. D. Godfrey, A. P. Pierlot, W. Caminati, D. Damiani, S. Melandri, and L. B. Favero, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 46-51.

[55] J. Bernstein, R. E. Davis, L. Shimoni, N.-L. Chang, *Angew. Chem.* **1995***, 107,* 1689-1708. / *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995***, 34,* 1555-1573.

[56] N. Kulevsky, W. Reineke, *J. Phys. Chem.* **1968**, *72*, 3339-3340.

[57] P. Beak, J. B. Covington, S. G. Smith, J. M. White, J. M. Zeigler, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1354-1362.

[58] C. B. Fischer, H. Steininger, D. S. Stephenson, H. Zipse, *J. Phys. Chem. Org.*, im Druck.

[59] J. B. Paine III, *J. Heterocycl. Chem.* **1987**, *24*, 351-355.

[60] C. B. Fischer, Diplomarbeit, LMU München **2000**.

[61] C. B. Fischer, K. Polborn, H. Steininger, H. Zipse, *Z. Naturforsch. B* **2004**, *59*, 1121-1131.

[62] a) S. Boatman, T. M. Harris, C. R. Hauser, *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 3593-3597.
b) T. M. Harris, S. Boatman, C. R. Hauser, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3186-3191.
c) S. Boatman, T. M. Harris, C. R. Hauser, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5198-5202.

[63] D. DeJohn, J. M. Domagala, J. S. Kaltenbronn, U. Krolls, *J. Heterocycl. Chem.* **1983**, *20*, 1295-1302.

[64] L. J. Binovi, H. G. Arlt jr., *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 1656-1657.

[65] M. T. Jernigan, E. L. Eliel, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9638-9644.

[66] F. G. Bordwell, H. E. Fried, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4218-4223.

[67] Die Kristallstrukturen wurden mit dem Programm Diamond Version 2.1c der Firma CRYSTAL IMPACT, K. Brandenburg & M. Berndt GbR, Postfach 1251, D-53002 Bonn analysiert und dargestellt.

[68] A. Hosomi, Y. Araki, H. Sakurai, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2081-2083.

[69] Y. Quesnel, L. Bidois-Sery, J.-M. Poirier, L. Duhamel, *Synlett* **1998**, 413-415.

[70] E.-I. Negishi, M. J. Idacavage, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *10*, 845-848.

[71] M. W. Rathke, A. Lindert, *Synth. Commun.* **1978**, *8*, 9-14.

[72] M. T. Reetz, H. Haning, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7395-7398.

[73] Die semiempirischen und *ab initio* Berechnungen wurden von H. Zipse und L. Wang durchgeführt.

[74] Y.-P. Pang, F. Hong, P. Quiram, T. Jelacic, S. Brimijoin, *J. Chem. Soc.*, *Perkin Trans. 1* **1997**, 171-176.

[75] G. H. Searle, R. J. Geue, *Aust. J. Chem.* **1984**, *37*, 959-970.

[76] a) H. Abe, S. Aoyagi, C. Kibayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4583-4592.
b) J. D. White, Y. Choi, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2373-2376.
c) D. L. Boger, J. A. McKie, T. Nishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2301-2302.
d) R. K. Olsen, K. L. Bhat, R. B. Wardle, W. J. Hennen, G. D. Kini, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 896-899.
e) B. Adger, U. Dyer, G. Hutton, M. Woods, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6399-6402.
f) A. Kouvarakis, H. E. Katerinopoulos, *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 3035-3044.
g) J. Makarević, V. Škarić, *J. Chem. Res.*, *Synop.* **1989**, 212-213.
h) K. Tadano, Y. Iimura, T. Suami, *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, *4*, 129-139.

[77] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, "*Protective Groups in Organic Synthesis*", Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York • Chichester • Weinheim • Brisbane • Toronto • Singapore, **1999**, a) 197-200, 285-286, b) 380-381, 399-400, c) 518-525.

[78] H. B. Borén, G. Ekborg, J. Lonngren, *Acta. Chem. Scand.*, *Ser. B* **1975**, *B29*, 1085-1088.

[79] V. Pozsgay, E. P. Dubios, L. Pannell, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2832-2846.

[80] M. Sridhar, B. A. Kumar, R. Narender, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2847-2850.

[81] a) M. Baenziger, L. Gobbi, B. P. Riss, F. Schaefer, A. Vaupel, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 2231-2237.
b) T. Katakami, T. Yokoyama, M. Miyamoto, H. Mori, N. Kawauchi, T. Nobori, K. San-nohe, T. Kaiho, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3325-3330.
c) I.-H. Um, J.-Y. Hong, J.-J. Kim, O.-M. Chae, S.-K. Bae, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5180-5185.

[82] M. Munakata, L. P. Wu, M. Yamamoto, T. Kuroda-Sowa, M. Maekawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3117-3124.

[83] a) A. Müller, M. Losada, S. Leutwyler, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 157-165.

b) M. Meuwly, A. Müller, S. Leutwyler, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 2663-2672.

c) A. Müller, F. Talbot, S. Leutwyler, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 5192-5202.

d) A. Müller, F. Talbot, S. Leutwyler, *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 3717-3725.

[84] G. G. Hammes, A. C. Park, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 956-961.

[85] Die Berechnungen und Darstellungen wurde mit dem Programm *pro fit 5.6.6* der Firma QuantumSoft, Bühlstr. 18, CH-8707 Uetikon am See, Schweiz durgeführt.

[86] persönliche Mitteilung von Herrn H. Steininger, AK-Zipse, München **2002**.

[87] a) M. Tkadlecová, V. Dohnal, M. Costas, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1*, 1479-1486.

b) L. Fielding, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6151-6170.

[88] K. A. Connors, "*Binding Constants - The Measurement of Molecular Complex Stability*", Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, New York • Chichester • Brisbane • Toronto • Singapore, **1987**.

[89] a) J. S. Chen, R. B. Shirts, *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 1643-1646.

b) J. S. Chen, F. Rosenberger, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3975-3978.

[90] I. Horman, B. Dreux, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 754-764.

[91] M. Quaglia, K. Chenon, A. J. Hall, E. De Lorenzi, B. Sellergren, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2146-2154.

[92] A. Loppinet–Serani, F. Charbonnier, C. Rolando, I. Huc, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 937-942.

[93] W. J. Spillane, G. Hogan, P. McGrath, J. King, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 309-313.

[94] R. A. Gagliano, R. C. Knowlton, L. D. Byers, *J. Org. Chem.* **1985**, *54*, 5247-5250.

[95] S. S. Biechler, R. W. Taft, jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4927-4935.

[96] A. Khan, A. A. Neverov, A. K. Yatsimirsky, R. S. Brown, *Can. J. Chem.* **1999**, *77*, 1005-1008.

[97] K.-A. Engdahl, H. Bivehed, P. Ahlberg, W. H. Saunders, jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4767-4774.

[98] M. Kuzuya, A. Noguchi, T. Okuda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, *57*, 3461-3465.

[99] a) B. K. Hubbard, C. T. Walsh, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 752-789. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 730-765.

b) V. L. Healy, I. A. D. Lessard, D. I. Roper, J. R. Knox, C. T. Walsh, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, R109-R119.

[100] I. G. Boneca, G. Chiosis, *Expert Opin. Ther. Targets* **2003**, *7*, 311-328.

[101] D. L. Boger, *Med. Res. Rev.* **2001**, *21*, 356-381.

[102] a) D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1264-1286.

b) D. H. Williams, *Nat. Prod. Rep.* **1996**, *13*, 469-477.

[103] K. C. Nicolaou, C. N. C. Boddy, S. Bräse, N. Winssinger, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2230-2287. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2096-2152.

[104] H. R. Perkins, *Biochem. J.* **1969**, *111*, 195-205.

[105] a) M. N. Swartz, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 2420-2427.

b) A. H. Uttley, C. H. Collins, J. Naidoo, R. C. George, *Lancet* **1988**, *1*, 57-58.

[106] a) T. Walsh, S. L. Fisher, I.-S. Park, M. Prahalad, Z. Wu, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 21-28.

b) C. T. Walsh, *Science* **1993**, *261*, 308-309.

c) G. D. Wright, C. T. Walsh, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 468-473.

d) T. D. H. Bugg, G. D. Wright, S. Dutka-Malen, M. Arthur, P. Courvalin, C. T. Walsh, *Biochemistry* **1991**, *30*, 10408-10415.

[107] a) S. Weist, B. Bister, O. Puk, D. Bischoff, S. Pelzer, G. J. Nicholson, W. Wohlleben, G. Jung, R. D. Süssmuth, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3531-3534. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3383-3385.

b) A. Malabarba, T. Nicas, R. Ciabatti, *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, *32*, 459-478.

c) N. E. Allen, D. L. LeTourneau, J. N. Hobbs, jr., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 66-71.

d) M. Bois-Choussy, L. Neuville, R. Beugelmans, J. Zhu, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9309-9322.

[108] C. T. Walsh, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 124-134.

[109] a) K. C. Nicolaou, R. Hughes, S. Y. Cho, N. Winssinger, C. Smethurst, H. Labischinski, R. Endermann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3981-3986. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3823-3828.

b) K. C. Nicolaou, R. Hughes, S. Y. Cho, N. Winssinger, H. Labischinski, R. Endermann, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3824-3843.

c) U. N. Sundram, J. H. Griffin, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *118*, 13107-13108.

[110] a) R. Kerns, S. D. Dong, S. Fukuzawa, J. Carbeck, J. Kohler, L. Silver, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12608-12609.

b) G. J. Sharman, A. C. Try, R. J. Dancer, Y. R. Cho, T. Staroske, B. Bradsley, A. J. Maguire, M. A. Cooper, D. P. O'Brien, D. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12041-12047.

[111] a) K. C. Nicolaou, H. J. Mitchell, N. F. Jain, N. Winssinger, R. Hughes, T. Bando, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 253-257. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 240-244.

b) K. C. Nicolaou, S. Natarajan, H. Li, N. F. Jain, R. Hughes, M. E. Solomon, J. M. Ramanjulu, C. N. C. Boddy, M. Takayanagi, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2872-2878. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2708-2714.

c) K. C. Nicolaou, N. F. Jain, S. Natarajan, R. Hughes, M. E. Solomon, H. Li, J. M. Ramanjulu, M. Takayanagi, A. E. Koumbis, T. Bando, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2879-2881. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2714-2716.

d) K. C. Nicolaou, M. Takayanagi, N. F. Jain, S. Natarajan, A. E. Koumbis, T. Bando, J. M. Ramanjulu, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2881-2883. / *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2717-2719.

[112] a) D. A. Evans, M. R. Wood, B. W. Trotter, T. I. Richardson, J. C. Barrow, J. L. Katz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2700-2704.

b) D. A. Evans, C. J. Dinsmore, P. S. Watson, M. R. Wood, T. I. Richardson, B. W. Trotter, J. L. Katz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2704-2708.

[113] K. C. Nicolaou, S. Y. Cho, R. Hughes, N. Winssiger, C. Smethurst, H. Labischinski, R. Endermann, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3798-3823.

[114] M. Ge, Z. Chen, H. R. Onishi, J. Kohler, L. L. Silver, R. Kerns, S. Fukuzawa, C. Thompson, D. Kahne, *Science* **1999**, *284*, 507-511.

[115] S. Isomura, J. A. Ashley, P. Wirsching, K. D. Janda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 861-864.

[116] G. Chiosis, I. G. Boneca, *Science* **2001**, *293*, 1484-1487.

[117] R. D. Süssmuth, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 295-298.

[118] J. Otera, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1449-1470.

[119] a) P. Sieber, *Helv. Chim. Acta* **1977**, *60*, 2711-2716.

b) H. Gerlach, *Helv. Chim. Acta* **1977**, *60*, 3039-3044.

c) F. Cavelier-Frontin, R. Jacquier, J. Paladino, J. Verducci, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 9807-9822.

[120] D. Seebach, E. Hungerbühler, R. Naef, P. Schnurrenberger, B. Weidmann, M. Züger, *Synthesis* **1982**, 826-827.

[121] a) M. A. Brook, T. H. Chan, *Synthesis* **1983**, 201-203.
b) J. Eras, M. Llovera, X. Ferran, R. Canela, *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 1129-1133.

[122] D. Seebach, A. Thaler, D. Blaser, S. Y. Ko, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 1102-1118.

[123] J. H. Rothman, W. C. Still, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 3159-3164.

[124] A. M. Sefler, M. C. Kozlowski, T. Guo, P. A. Bartlett, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 93-102.

[125] D. A. Evans, J. A. Ellmann, K. M. DeVries, *J. Am .Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8912-8914.

[126] a) D. L. Boger, D. Yohannes, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6000-6017.
b) D. L. Boger, D. Yohannes, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2498-2502.

[127] H. Rehwinkel, W. Steglich, *Synthesis* **1982**, 826-827.

[128] a) J. Lehmann, A. Radwansky, C. Thomas, *Arch. Pharm.* **1994**, *327*, 739-742.
b) C. E. Rehberg, M. B. Dixon, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 1918-1922.
c) E. M. Filachione, M. L. Fein, J. H. Lengel, C. H. Fisher, *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 526-529.
d) C. E. Rehberg, C. H. Fisher, *J. Org. Chem.* **1947**, *12*, 226-231.
e) M. L. Fein, W. P. Ratchford, C. H. Fisher, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 1201-1203.

[129] L. A. Carpino, E.-S. M. E. Mansour, D. Sadat-Aalaee, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2611-2614.

[130] a) S. B. Christensen, A. Andersen, H. Kromann, M. Treiman, B. Tombal, S. Denmeade, J. T. Isaacs, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1273-1280.
b) C. S. J. Walpole, S. Bevan, G. Bloomfield, R. Breckenridge, I. F. James, T. Ritchie, A. Szallasi, J. Winter, R. Wrigglesworth, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2939-2952.
c) C. Gilon, Y. Klausner, A. Hassner, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3811-3814.

[131] R. K. Olsen, K. Ramasamy, K. L. Bhat, C. M. L. Low, M. J. Waring, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6032-6036.

[132] B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556-557.

[133] a) K. L. McLaren, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6082-6084.

b) P. Jouin, B. Castro, C. Zeggaf, A. Pantaloni, J. P. Senet, S. Lecolier, G. Sennyey, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 1661-1664.

c) M. Jaouadi, C. Selve, J. R. Dormoy, B. Castro, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1721-1722.

[134] a) N. L. Benoiton, F. M. F. Chen, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1993**, *42*, 455-458.

b) F. M. F. Chen, Y. C. Lee, N. L. Benoiton, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1991**, *38*, 97-102.

[135] a) C. Zeggaf, J. Poncet, P. Jouin, M.-L. Dufour, B. Castro, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 5039-5050.

b) S. Kim, J. I. Lee, Y. C. Kim, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 560-565.

[136] a) R. B. Merriefield, A. R. Mitchell, J. E. Clarke, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 660-668.

b) J. A. Hoffmann, M. A. Tilak, *Org. Prep. Proced. Int.* **1975**, *7*, 215-219.

c) K. D. Kopple, R. J. Renick, *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1565-1567.

[137] a) R. C. Morton, D. Mangroo, G. E. Gerber, *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 1701-1705.

b) H. A. Staab, A. Mannschreck, *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 1284-1297.

c) R. Paul, G. W. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4596-4600.

[138] H. A. Staab, K. Wendel, *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 3374.

[139] B. F. Gisin, R. B. Merrifield, D. C. Tosteson, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 2691-2695.

[140] F. G. Weber, K. Brosche, *Tetrahedron* **1971**, *27*, 1435-1445.

[141] J. S. Davies, E. Hakeem, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1984**, 1387-1392.

[142] S. Benvenuti, F. Severi, L. Costantino, G. Vampa, M. Melegari, *Il Farmaco* **1998**, *53*, 439-442.

[143] R. Paruszewski, P. Jaworski, J. Tautt, J. Dudkiewicz, *Boll. Chim. Farmaceutico* **1994**, *133*, 301-308.

[144] K. Tamura, K. A. Agrios, D. V. Velde, J. Aubé, R. T. Borchardt, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1859-1866.

[145] L. A. Paquette (Editor in Chief), "*Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*", John Wiley & Sons, Chichester • New York • Brisbane • Toronto • Singapore, **1995**.

[146] R. Nomura, Y. Hasegawa, M. Ishimoto, T. Toyosaki, H. Matsuda, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7339-7342.

[147] M.-L. Dufour, P. Jouin, J. Poncet, A. Pantaloni, B. Castro, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 1895-1899.

[148] a) B. A. Hernandez, V. Chang, I. Villanueva, M. D. Heagy, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6905-6906.

b) I. Villanueva, B. Hernandez, V. Chang, M. D. Heagy, *Synthesis* **2000**, 1435-1438.

[149] a) F. Belin, P. Barthélémy, K. Ruiz, J. M. Lacombe, B. Pucci, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 247-265.

b) A. Polidori, B. Pucci, J. G. Riess, L. Zarif, A. A. Zafia, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2899-2902.

[150] R. G. Whittaker, P. J. Hayes, V. J. Bender, *Peptide Res.* **1993**, *6*, 125-128.

[151] J. de Jersey, B. Zerner, *Biochemistry* **1969**, *8*, 1975-1983.

[152] a) W. P. Jencks, *Chem. Rev.* **1972**, *72*, 705-718.

b) W. P. Jencks, *Acc. Chem. Res.* **1976**, *9*, 425-432.

[153] a) M. Dryjanski, R. F. Pratt, *Biochemistry* **1995**, *34*, 3561-3568.

b) S. Pazhanisamy, C. P. Govardhan, R. F. Pratt, *Biochemistry* **1989**, *28*, 6863-6870.

c) S. Pazhanisamy, R. F. Pratt, *Biochemistry* **1989**, *28*, 6875-6882.

d) C. P. Govardhan, R. F. Pratt, *Biochemistry* **1987**, *26*, 3385-3395.

f) R. F. Pratt, C. P. Govardhan, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1984**, *81*, 1302-1306.

[154] a) A. Gervasini,A. Auroux, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 2628-2639.

b) J. W. Bunting, D. Stefanidis, *J. Amer. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 779-786.

c) V. Frenna, N. Vivona, G Consiglio, D. Spinelli, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1985**, 1865-1868.

d) B. M. Fernandes, C. B. Schapira, S. Lamdan, *J. Heterocycl. Chem.* **1980**, *17*, 667-672.

[155] a) M. W. Washabaugh, J. T. Stivers, K. A. Hickey, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7094-7097.

b) M. E. Morgan, K. Liu, B. D. Anderson, *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 238-245.

c) P. Y. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5959-5964.

d) H. Tomida, M. A. Schwartz, *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 331-335.

e) T. H. Fife, J. E. C. Hutchins, M. S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 5878-5882.

f) S. A. Bernhard, *J. Biol. Chem.* **1956**, *218*, 961-969.

[156] N. Díaz, D. Suárez, T. L. Sordo, R. Méndez, J. M. Villacorta, *Eur. J. Chem.* **2003**, 4161-4172.

[157] J. W. Bunting, A. Toth, C. K. M. Heo, R. G. Moors, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8878-8885.

[158] a) R. Knorr, K. Ferchland, *Liebigs Ann.* **1995**, 419-425.
b) R. Knorr, K. Ferchland, T. P. Hoang, *Liebigs Ann.* **1994**, 943-948.

[159] D. Kahne, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7529-7534.

[160] A. Radzicka, R. Wolfenden, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6105-6109.

[161] R. M. Smith, D. E. Hansen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8910-8913.

[162] F. M. Menger, M. Ladika, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3145-3146.

[163] Ö. Almarsson, M. J. Zaworotko, *Chem. Commun.* **2004**, 1889-1896.

[164] a) Trocknen im Labor, Broschüre aus der Reihe „Reagenzien“ (Darmstadt).
b) Tabellen für das Labor, Hrsg. Firma MERCK (Darmstadt), 63-65.

[165] E. T. Chen, H. L. Pardue, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 3318-3322.

[166] V. P. Litvinov, Yu A. Sharanin, L. A. Rodinovskaya, V. N. Nesterov, V. E. Shklover, Yu T. Struchkov, *Chemica Scripta* **1989**, *29*, 372-332.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN:

Name:	Christian, Berthold Fischer
geboren:	am 30. Juli 1971 in Augsburg
Familienstand:	ledig
Nationalität:	deutsch

SCHULAUSBILDUNG:

9/1978 – 7/1982	Grundschule Hochzoll-Nord in Augsburg
9/1982 – 7/1991	Rudolf-Diesel-Gymnasium in Augsburg
Juli 1991	Abitur

WEHRDIENST:

7/1991 – 6/1992	Kraftfahrzeugstaffel Fliegerhorst Fürstenfeldbruck

STUDIUM:

Seit 11/1992	Studium der Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München
7/1996	Diplom-Vorprüfung
7/1999	Diplom-Hauptprüfung
9/1999 – 3/2000	Diplomarbeit bei Prof. H. Zipse, Thema: "*Untersuchungen zur katalytischen Aktivität von ausgewählten 3-Cyano-2-pyridonderivaten in der Esteraminolyse*"
5/2000	Beginn der Arbeiten zur vorliegenden Dissertation

BERUFSTÄTIGKEIT:

Seit 5/2000	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München

München, den 15.11.2004