

Chemische Synthese von niedermolekularen Wirkstoffen zur  
Untersuchung des Jasmonsäure-Signalweges und zur Etablierung  
einer neuen Inhibitor-Klasse für die ATPase p97

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades  
Dr. rer. nat.

der Fakultät für Biologie  
an der  
Universität Duisburg-Essen

vorgelegt von  
Jan Henrik Krahn

aus Münster  
Juli 2016

UNIVERSITÄT  
DUISBURG  
ESSEN

*Offen im Denken*

Die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegenden Experimente wurden in der Arbeitsgruppe Kaiser der Universität Duisburg-Essen im Zeitraum vom Oktober 2012 bis Juli 2016 durchgeführt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Markus Kaiser

2. Gutachter: Prof. Dr. Peter Bayer

Vorsitzender des Prüfungsausschusses: Prof. Dr. Hemmo Meyer

Tag der mündlichen Prüfung: 08.11.2016



# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	6
Abbildungsverzeichnis .....	9
Tabellenverzeichnis .....	11
1. Einleitung .....	12
1.1 Ansätze zur Entwicklung chemischer Sonden .....	13
1.1.1 Entwicklung von chemischen Sonden ausgehend von Naturstoffen .....	13
1.1.2 Entwicklung von chemischen Sonden durch Screening von chemischen Bibliotheken .....	14
1.1.3 Identifizierung von Zielproteinen chemischer Sonden .....	15
1.2 Chemisch-biologische Ansätze in der Pflanzenbiologie .....	19
1.2.1 Die Modellpflanze <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	19
1.2.2 Jasmonsäure-Signalweg .....	21
1.2.3 Analyse einer chemischen Bibliothek von Kinaseinhibitoren zur Identifikation neuer Effektoren für den JA-Signalweg .....	24
1.3 AAA-Proteinfamilie .....	26
1.3.1 ATPase p97 .....	27
1.3.2 Vacuolar protein sorting 4 (Vps4) .....	28
1.3.3 Bekannte Inhibitoren .....	29
2. Zielsetzung der Arbeit .....	32
3. Ergebnisse und Diskussion .....	34
3.1 Studien zu 5-Iodotubercidin, einem Inhibitor für Jasmonsäure .....	34
3.1.1 Entwicklung von Derivaten für 5-Iodotubercidin .....	34
3.1.2 Generelle biologische Evaluation von synthetisierten Derivaten .....	35
3.1.3 Derivatisierung an der freien Amin-Gruppe des Pyrimidin-Rings .....	36
3.1.4 Veränderung der Hydroxyl-Gruppen der Ribose-Untereinheit .....	38
3.1.5 Weitere Derivatisierung von <b>8</b> .....	41
3.1.6 Untersuchung von Alkinderivaten .....	43
3.1.7 Untersuchung von Monoazidderivaten .....	47
3.1.8 Synthese und Analyse einer ersten chemischen Sonde .....	50
3.1.9 Darstellung von Diazidderivaten als weitere chemische Sonden .....	52
3.1.10 Weitere biologische Experimente .....	55
3.2 Studien zu <b>2</b> , einem neuen Inhibitor der ATPase p97 .....	63
3.2.1 Entwicklung von potentiellen Inhibitoren für die ATPase p97 .....	63
3.2.2 Optimierung der Alkylkette .....	67
3.2.3 Optimierung des strukturellen Gerüsts des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems .....	78
3.2.4 Optimierung der Substituenten am Tetrahydrocarbazol-Ringsystem .....	84
3.2.5 Synthese von chemischen Sonden .....	88
3.2.6 Biologische Untersuchungen zu Vps4 .....	92

4. Zusammenfassung und Ausblick .....	95
5. Summary and Outlook .....	98
6. Experimenteller Teil.....	101
6.1. Geräte .....	101
6.2. Generelle Methoden .....	102
6.3 Synthese von Derivaten von 5-Iodotubercidin.....	104
6.3.1 Synthese von Derivaten der freien Amin-Gruppe.....	104
6.3.2 Synthese von Derivaten der Hydroxyl-Gruppe.....	106
6.3.3 Synthese von Derivaten von <b>8</b> .....	111
6.3.4 Synthese von Alkinderivaten .....	112
6.3.5 Synthese von Monoazidderivaten .....	117
6.3.6 Synthese der ersten chemischen Sonde.....	119
6.3.7 Synthese von Diazidderivaten.....	120
6.4 Synthese von Derivaten vom p97-Inhibitor <b>2</b> .....	123
6.4.1 Synthese von vereinfachten Derivaten.....	123
6.4.2 Synthese von Derivaten zur Optimierung der Alkylkette .....	127
6.4.3 Synthese von Derivaten mit Doppelbindung in der Alkylkette .....	155
6.4.4 Synthese weiterer Derivate zur Optimierung der Alkylkette .....	163
6.4.5 Synthese von Derivaten des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems .....	166
6.4.6 Synthese von Derivaten mit Substituenten am Tetrahydrocarbazol-Ringsystem. ....	192
6.4.7 Synthese von chemischen Sonden.....	200
7. Literaturverzeichnis.....	209
8. Anhang .....	223
9. Danksagung.....	226
10. Eidesstattliche Erklärungen.....	227

## Abkürzungsverzeichnis

ABPP	<i>activity-based protein profiling</i>
AfBP	<i>affinity-based probe</i>
ACN	Acetonitril
ADP	Adenosindiphosphat
ALIX	<i>ALG-2 interacting protein X</i>
ATP	Adenosintri-phosphat
aq.	wässrig
BIOS	<i>biology-oriented synthesis</i>
Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl-
CDCl <sub>3</sub>	deuteriertes Chloroform
CH	Cyclohexan
Col-0	<i>Columbia-0</i>
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d <sub>6</sub>	deuteriertes Dimethylsulfoxid
EDC	1-Ethyl-3-(3'-dimethylaminopropyl)carbodiimid
eq.	Äquivalent(e)
EA	Ethylacetat
ERAD	<i>endoplasmic reticulum associated degradation</i>
GUS	β-Glucoronidase
h	Stunde(n)
HOBt	<i>N</i> -Hydroxybenzotriazol
HPLC	Umkehrphase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
IC <sub>50</sub>	mittlere inhibitorische Konzentration
J	Kopplungskonstante
JA	Jasmonsäure
JAR1	<i>jasmonate resistant 1</i>
JAZ	<i>Jasmonate Zim Domain</i>

JA-Ile	(+)-7- <i>iso</i> -Jasmonoyl-L-isoleucin
LC-MS	Umkehrphase-Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
m	Multipllett
M	molar
MeJA	Jasmonsäure-Methylester
MeOH	Methanol
MeOD	deuteriertes Methanol
MHz	Megahertz
MIM	<i>MIT-interacting motif</i>
Min	Minute(n)
MIT	<i>microtubule interacting and trafficking</i>
MsCl	Mesylchlorid
MVB	<i>multivesicular bodies</i>
N	normal
NaB(OAc) <sub>3</sub> H	Natrium-triacetoxyborhydrid
NEt <sub>3</sub>	Triethylamin
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
p97/VCP	<i>valosin-containing protein</i>
PAL	<i>photoaffinity labeling</i>
pTsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrroldidino-phosphonium-hexafluorophosphat
q	Quartett
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
Rot A	Rotihibin A
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
SnRK1	<i>SNF1-related protein kinase</i>
SNF1	<i>sucrose non-fermenting 1 protein</i>
SOCl <sub>2</sub>	Thionylchlorid
t	Tripllett
t <sub>R</sub>	Retentionszeit
TBTA	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin

TCEP	Tris(carboxyethyl)phosphin
THF	Tetrahydrofuran
TFA	Trifluoressigsäure
UV	ultraviolett
Vps4	<i>vacuolar protein sorting 4</i>
X-Gluc	$\beta$ -D-Glucuronid
4-MUG	4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronid
°C	Grad Celsius
$\delta$	Chemische Verschiebung



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Übersicht zur Durchführung eines phänotypischen Screens.....	15
Abbildung 1.2: Chemische Struktur und die zugrunde liegende photoreaktive Reaktion von Diazirinen, arylischen Aziden und Benzophenon. ....	17
Abbildung 1.3: Prinzip des <i>photoaffinity labeling</i> mit einer <i>affinity-based probe</i> (adaptiert und modifiziert nach Geurink <i>et al.</i> <sup>[24]</sup> ).....	17
Abbildung 1.4: Struktur der Reportergruppen Tetramethylrhodamin und Biotin und einer radioaktiven Gruppe. ....	18
Abbildung 1.5: Schematische Darstellung der Click-Reaktion. ....	18
Abbildung 1.6: <i>Arabidopsis thaliana</i> in einem frühen Stadium der Blüte. <sup>[36]</sup> .....	20
Abbildung 1.7: Biosynthese der Jasmonsäure (adaptiert und modifiziert nach Kombrink und Wasternack <sup>[48, 50]</sup> ). ....	22
Abbildung 1.8: Struktur von (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine und Coronatin. <sup>[56]</sup> .....	23
Abbildung 1.9: Kurze Übersicht über die Jasmonsäure-vermittelte Genregulation (adaptiert und modifiziert nach Kombrink <sup>[48]</sup> ). ....	24
Abbildung 1.10: Ergebnisse des JAZ-Abbau-Screens nach Durchmustern einer Bibliothek von 84 bekannten Kinaseinhibitoren (adaptiert und modifiziert nach Meesters <sup>[18]</sup> ). ....	25
Abbildung 1.11: Chemische Strukturen von 5-Iodotubercidin, Toyocamycin, Sangivamycin und Tubercidin. ....	26
Abbildung 1.12: Hexamerische Anordnung und Aufbau des Proteins p97 (adaptiert und modifiziert nach Meyer <i>et al.</i> <sup>[81]</sup> ). ....	27
Abbildung 1.13: Strukturen von p97-hemmenden Naturstoffen. <sup>[85]</sup> .....	30
Abbildung 1.14: Strukturen selektiver synthetischer p97-Inhibitoren. <sup>[85]</sup> .....	30
Abbildung 2.1: Struktur von 5-Iodotubercidin.....	32
Abbildung 2.2: Struktur von <b>2</b> .....	33
Abbildung 3.1: Struktur von 5-Iodotubercidin mit markierten Stellen zur möglichen Derivatisierung. ....	34
Abbildung 3.2: Struktur der Derivate mit Veränderung an der freien Amin-Gruppe.....	36
Abbildung 3.3: Schema zur Synthese von Benzylaminderivaten <b>3</b> und <b>4</b> . ....	37
Abbildung 3.4: Biologische Evaluierung von <b>3</b> und <b>4</b> . ....	38
Abbildung 3.5: Struktur der Derivate mit Veränderung an der 5'-Hydroxyl-Gruppe. ....	39
Abbildung 3.6: Syntheschema zur Darstellung des Derivates <b>8</b> .....	39
Abbildung 3.7: Syntheschema zur Darstellung des Derivates <b>9</b> .....	40
Abbildung 3.8: Syntheschema zur Darstellung des Derivates <b>10</b> .....	40
Abbildung 3.9: Biologische Evaluierung von <b>8</b> , <b>9</b> und <b>10</b> . ....	41
Abbildung 3.10: Syntheschema zur Darstellung des Derivates <b>14</b> .....	42
Abbildung 3.11: Syntheschema zur Darstellung des Derivates <b>15</b> .....	42
Abbildung 3.12: Biologische Evaluierung von <b>14</b> und <b>15</b> . ....	43
Abbildung 3.13: Synthetisierte Derivate mit Alkin-Gruppe. ....	44
Abbildung 3.14: Syntheschema zur Darstellung von <b>16</b> . ....	44
Abbildung 3.15: Syntheschema zur Darstellung von Derivat <b>17</b> . ....	45
Abbildung 3.16: Syntheschema zur Darstellung von Derivat <b>18</b> . ....	45
Abbildung 3.17: Syntheschema zur Darstellung des Derivates <b>19</b> .....	46
Abbildung 3.18: Bestimmung der Bioaktivität von <b>16</b> , <b>17</b> , <b>18</b> und <b>19</b> . ....	47
Abbildung 3.19: Struktur der synthetisierten Monoazidderivate <b>22</b> , <b>23</b> und <b>24</b> . ....	48
Abbildung 3.20: Synthese der beiden Bausteine <b>27</b> und <b>30</b> .....	48
Abbildung 3.21: Synthese der Monoazide <b>22</b> , <b>23</b> und <b>24</b> . ....	49
Abbildung 3.22: Evaluierung der biologischen Aktivität von <b>22</b> , <b>23</b> und <b>24</b> . ....	50
Abbildung 3.23: Synthese der chemischen Sonde <b>31</b> . ....	51
Abbildung 3.24: Evaluierung der Bioaktivität von <b>31</b> . ....	51

Abbildung 3.25: Struktur des Diazids <b>32</b> .	52
Abbildung 3.26: Synthese des Diazid <b>32</b> .	53
Abbildung 3.27: Synthese von <b>38</b> und <b>39</b> .	54
Abbildung 3.28: Evaluierung der biologischen Aktivität von <b>38</b> und <b>39</b> .	55
Abbildung 3.29: Ergebnisse des sekundären VSP1p::GUS Screen der synthetisierten 5-Iodotubercidin-Derivate.	56
Abbildung 3.30: Wurzelwachstum von <i>Arabidopsis thaliana</i> unter Einfluss von verschiedenen synthetisierten Derivaten von 5-Iodotubercidin.	58
Abbildung 3.31: Vulcano-Plot einer <i>full proteome analysis</i> nach Zugabe von <b>8</b> auf <i>Arabidopsis thaliana</i> -Pflanzen.	59
Abbildung 3.32: Struktur von Rotihibin A.	60
Abbildung 3.33: Vulcano-Plot von Rot A gegen die DMSO-Kontrolle, bei dem die Proteine, die auch in der Messung von <b>8</b> signifikant verändert waren, blau markiert sind.	61
Abbildung 3.34: Venn-Diagramm der signifikant veränderten Proteine, die in beiden massenspektrometrischen Experimenten gemessen wurden.	62
Abbildung 3.35: Unterteilung des Inhibitors <b>2</b> in Teilbereiche zur Optimierung.	63
Abbildung 3.36: Konzept der schrittweisen strukturellen Vereinfachung des Inhibitors <b>2</b> .	64
Abbildung 3.37: Syntheschema für <b>42</b> .	64
Abbildung 3.38: Syntheschema zur Darstellung von <b>48</b> und <b>40</b> .	66
Abbildung 3.39: Synthese der Derivate <b>54</b> , <b>52</b> und <b>53</b> .	67
Abbildung 3.40: Synthese der Derivate <b>55</b> , <b>56</b> und <b>57</b> .	68
Abbildung 3.41: Synthese der Derivate <b>63</b> , <b>64</b> , <b>65</b> und <b>66</b> .	69
Abbildung 3.42: Synthese der Derivate <b>68</b> , <b>70</b> und <b>72</b> .	70
Abbildung 3.43: Exemplarische Synthese eines Derivates mit einem 6-Ringsystem anstelle der Alkylkette.	71
Abbildung 3.44: Synthese der Doppelbindungsderivate <b>77</b> , <b>81</b> und <b>84</b> .	73
Abbildung 3.45: Exemplarische Reaktion zur Synthese der Derivate mit Doppelbindung und Ringsystem anstelle der Alkylkette.	74
Abbildung 3.46: Synthese der Derivate <b>88</b> , <b>90</b> und <b>92</b> sowie Struktur von <b>91</b> .	76
Abbildung 3.47: Exemplarische Reaktion zur Synthese der Derivate mit Veränderung an der Stelle des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems.	78
Abbildung 3.48: Syntheschema zur Herstellung von <b>98</b> .	82
Abbildung 3.49: Synthese des Reagenzes <b>95</b> .	82
Abbildung 3.50: Exemplarische Reaktion zur Synthese der Tetrahydrocarbazol-Derivate.	85
Abbildung 3.51: Synthese der chemischen Sonde <b>102</b> .	89
Abbildung 3.52: Synthese der beiden chemischen Sonden <b>103</b> und <b>104</b> .	90
Abbildung 3.53: Struktur der Rhodamin-markierten chemischen Sonden <b>105</b> , <b>106</b> und <b>107</b> .	90
Abbildung 3.54: Exemplarische Synthese der chemischen Sonden <b>105</b> , <b>106</b> und <b>107</b> .	91

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Bekannte p97-Inhibitoren und deren biochemischer Wirkmechanismus. <sup>[85]</sup> .....	31
Tabelle 3.1: Inhibitorischer Effekt von den vereinfachten Molekülen <b>42</b> , <b>41</b> und <b>40</b> und den Derivaten <b>46</b> und <b>47</b> auf p97 im Vergleich zu <b>2</b> . .....	66
Tabelle 3.2: Synthetisierte Derivate mit Ringsystem anstelle Alkylkette.....	71
Tabelle 3.3: Synthese der Derivate mit einer Doppelbindung in der Alkylkette. ....	74
Tabelle 3.4: Inhibitorischer Effekt der synthetisierten Derivate auf p97 im Vergleich zu <b>42</b> . 77	
Tabelle 3.5: Synthetisierte Derivate mit Veränderung an der Stelle des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems. ....	79
Tabelle 3.6: Inhibitorische Wirkung der synthetisierten Derivate auf p97 im Vergleich zu <b>41</b> und <b>40</b> . ....	83
Tabelle 3.7: IC <sub>50</sub> -Konzentration der p97-Hemmung ausgewählter Derivate im Vergleich zu <b>2</b> , <b>41</b> und <b>40</b> . ....	84
Tabelle 3.8: Synthetisierte Derivate mit Substituenten am Tetrahydrocarbazol-Ringsystem..	85
Tabelle 3.9: IC <sub>50</sub> -Konzentrationen für p97 von den synthetisierten Derivaten und <b>2</b> .....	88
Tabelle 3.10: IC <sub>50</sub> -Konzentrationen für p97 von den synthetisierten chemischen Sonden und <b>2</b> . ....	92
Tabelle 3.11: IC <sub>50</sub> -Konzentrationen für p97 und Vps4 von ausgewählten synthetisierten Derivaten von <b>2</b> . ....	93

## 1. Einleitung

Die chemische Biologie ist ein interdisziplinäres Forschungsgebiet zwischen Biologie und Chemie. Es umfasst die Anwendung chemischer und biologischer Arbeitsweisen und Analysetechniken, um biologische Systeme zu untersuchen. Dabei werden sehr oft niedermolekulare Verbindungen (*small molecules*), die ein Molekulargewicht von maximal 800 g/mol besitzen und oft durch organisch-chemische Synthese hergestellt werden, verwendet, um eine Störung eines biologischen Systems zu verursachen und daraus Rückschlüsse auf Aufbau und Funktion einzelner Komponenten, insbesondere der Proteine, zu ziehen.<sup>[1]</sup>

Die Zuordnung der molekularen und zellulären Funktionen der zahlreichen Proteine ist immer noch eine große Herausforderung.<sup>[2]</sup> Zwar sind heutzutage die ca. 20.000 proteincodierenden Gene im Menschen bekannt und mittels der modernen Proteomik konnten bereits ca. 90 % der aus diesen Gene abgeleiteten Proteine identifiziert werden, durch Splicing und posttranslationale Modifikationen erhöht sich die Zahl der biologisch-relevanten Proteinvarianten auf zurzeit ca. 100.000.<sup>[3-5]</sup> Die große Anzahl und auch komplexe Interaktion der einzelnen Proteinvarianten führt dazu, dass mit klassischen Untersuchungsmethoden wie zum Beispiel der Genetik, welche auf Gen- und nicht auf Proteinebene Untersuchungen ermöglicht, nicht alle Fragestellungen der molekularen Biologie erschöpfend geklärt werden können.<sup>[6-8]</sup>

Demgegenüber stellen bioaktive niedermolekulare Verbindungen geeignete Werkzeuge zum Studium komplexer biologischer Systeme dar. Niedermolekulare Verbindungen wirken in der Regel auf Proteinebene, also nach dem Splicing und post-translationalen Modifikationen. Ihr Einsatz ist leicht über die Konzentration steuerbar und ihre Wirkung ist schnell, oft reversibel und somit nicht chronisch. Auch wenn viele niedermolekulare Wirkstoffe aus der Grundlagenforschung noch nicht die Eigenschaften von Medikamenten zeigen, können gute chemische Sonden des Weiteren ein Ausgangspunkt für eine weitergehende Medikamentenforschung sein. Deshalb ist die Entwicklung chemischer Sonden mit einer klar definierten Struktur, Selektivität und Wirkungsmechanismus eine aktuelle Fragestellung der chemischen Biologie.<sup>[1]</sup> In der Tat ist die Entwicklung chemischer Sonden immer noch aktuell, da trotz großer Anstrengungen und auch einiger Erfolge in den letzten Jahren für die meisten Proteine bzw. biologische Fragestellungen keine geeigneten chemischen Sonden existieren. In der vorliegenden Arbeit wird dementsprechend die Entwicklung chemischer Sonden für zwei definierte biologische Systeme beschrieben.

## 1.1 Ansätze zur Entwicklung chemischer Sonden

Zur Entwicklung von geeigneten chemischen Sonden wurden in den letzten Jahren verschiedene Ansätze etabliert. Einer davon beruht auf der Verwendung bioinformatischer Verfahren, häufig in Verbindung mit 3D-Strukturen der zu modulierenden Zielproteine, welche geeignete chemische Strukturen möglicher Sonden für diese Zielproteine vorschlagen. Trotz einiger Erfolge sind diese Methoden bisher jedoch noch nicht so weit entwickelt, dass sie zu verlässlichen Ergebnissen führen.<sup>[9]</sup>

Als Alternative dazu werden daher häufig auch auf Screening basierende Verfahren eingesetzt. Dabei wird zwischen zwei großen Forschungsansätzen unterschieden, dem Screening isolierter Naturstoffe und das *High-Throughput-Screening* von chemischen Bibliotheken. Damit aber auf diesen Wegen eine neue chemische Sonde oder sogar ein neues Medikament entwickelt werden kann, müssen in der Regel die pharmakologischen Eigenschaften der mittels Screenings gefundenen Substanzen in einem zweiten Schritt zuerst optimiert werden. Dazu ist die Aufklärung des Zusammenhangs zwischen chemischer Struktur und biologischer Aktivität (die sogenannte Struktur-Wirkungs-Beziehung) äußerst hilfreich, deren Aufstellung jedoch in der Regel eine hohe Anzahl an synthetisierten Derivaten erfordert.<sup>[10, 11]</sup> So ist es nicht verwunderlich, dass die organische Synthese und somit am Ende des Optimierungszyklus die Verfügbarkeit geeigneter bioaktiver *small molecules* immer noch als „Flaschenhals“ der chemischen Biologie bezeichnet wird. Dabei ist nicht die eigentliche Synthese der verschiedenen Derivate das größte Problem, sondern die Entwicklung geeigneter bioaktiver Derivate.<sup>[9]</sup>

Bis jetzt ist bei allen Ansätzen die Voraussage der biologischen Aktivität eines Derivates immer noch schwierig, so dass das Design von geeigneten chemischen Wirkstoffen weiterhin stark auf Ausprobieren beruht, kombiniert mit bereits gemachten Erfahrungen aus früheren Versuchen.<sup>[9]</sup>

### 1.1.1 Entwicklung von chemischen Sonden ausgehend von Naturstoffen

Naturstoffe finden in der medizinischen Chemie häufig Anwendung. So werden diese in der Medizin seit tausenden Jahren zur Bekämpfung von Krankheiten verwendet. Zu Beginn der medizinischen Naturstoffforschung wurden Naturstoffe meist als Gemische (meistens von Pflanzenextrakten) und direkt in lebenden Systemen getestet. Am Anfang des 19. Jahrhunderts wurde die Möglichkeit gefunden, die pharmakologisch-aktiven Substanzen zu isolieren. Dies stellte den Beginn der Naturstoffchemie dar. Auch in der modernen Medizin sind Naturstoffe von großer Bedeutung. Heutzutage basiert ca. die Hälfte der verwendeten und sich in klinischen

Tests befindlichen Medikamente auf Naturstoffen bzw. aus Naturstoffen entwickelten Derivaten.<sup>[10, 12-15]</sup>

Allerdings besteht auch ein großes Problem bei der Entwicklung von Medikamenten, die auf Naturstoffen basieren. Die meisten Naturstoffe werden durch biologische Isolierung in nur sehr geringen Mengen erhalten. Die Naturstoffchemie beschäftigt sich daher seit vielen Jahren damit, Naturstoffe und deren Derivate auf synthetischem Wege herzustellen. Dabei können Derivate entweder durch gezielte Veränderungen funktioneller Gruppen am Naturstoff oder durch organisch-chemische Totalsynthese erzeugt werden. Jedoch ist diese Arbeit oft sehr zeitintensiv und liefert häufig nur geringe Gesamtausbeuten. Nichtsdestotrotz konnten in den letzten Jahrzehnten eine Vielzahl von Naturstoffen auf organisch-chemischen Weg hergestellt werden. Dank moderner Analysemethoden wie Röntgenstrukturanalyse, Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie konnten auch Struktur und Eigenschaften von zahlreichen Naturstoffen herausgefunden werden.<sup>[14-16]</sup>

Neben der etablierten Anwendung in der Medizin können Naturstoffe aber ebenfalls als Ausgangspunkt zur Entwicklung chemischer Sonden eingesetzt werden. Es ist seit langem bekannt, dass viele Naturstoffe durch die Evolution in ihrer Struktur so optimiert wurden, dass sie besonders effizient an ausgewählte Proteinbindetaschen binden können. Daher stellen Naturstoffe wichtige Ausgangssubstanzen zur Entwicklung chemischer Sonden dar und der entsprechende Ansatz wird häufig auch als *biology-oriented synthesis* (BIOS) bezeichnet.<sup>[9, 11]</sup>

### **1.1.2 Entwicklung von chemischen Sonden durch Screening von chemischen Bibliotheken**

Insbesondere in der pharmazeutischen Industrie wurden in den letzten Jahren große synthetische Anstrengungen unternommen, große *small molecule* Bibliotheken aufzubauen. Diese können in verschiedensten Screens eingesetzt werden, um somit Substanzen mit interessanter biologischer Aktivität zu identifizieren.<sup>[17]</sup>

Zur Durchmusterung einer chemischen Bibliothek nach einer geeigneten bioaktiven Substanz muss dementsprechend zuerst eine Methode für einen *High-Throughput-Screen* vorhanden sein oder entwickelt werden. Dabei muss dieser so aufgesetzt werden, dass nur kleine Mengen des *small molecule* verbraucht werden, so dass sowohl die Wirkung einer hohen Anzahl an *small molecules* auf das interessierende Ziel analysiert werden kann als auch die Substanzbibliothek in möglichst vielen Screening-Kampagnen eingesetzt werden kann. Die Kandidaten, die mit dieser Methode gefunden werden, werden dann in einem zweiten unabhängigen Test kritisch untersucht und ggf. bestätigt, so dass falsch-positive Treffer ausgeschlossen werden können. Wurde ein biochemischer Assay auf ein Proteintarget durchgeführt, können diese *hits*

anschließend phänotypisch charakterisiert werden. Wurde ein phänotypischer Screen durchgeführt, so kann anschließend das Zielprotein identifiziert werden (vgl. Abb. 1.1). Dieser Schritt ist in den meisten Fällen der limitierende Schritt in phänotypischen Screens, so dass die Entwicklung von neuen Methoden hierfür sowohl in der chemischen Genetik als auch in der chemischen Proteomik in den letzten Jahren stark vorangetrieben wurde. Der Arbeitsaufwand wird aber durch die Möglichkeiten, die der Einsatz eines bioaktiven *small molecules* als chemisches Werkzeug in der biologischen Grundlagenforschung bietet, gerechtfertigt. In der Tat ist das phänotypische Screening und die anschließende Identifizierung des Zielproteins immer noch eine hochaktuelle Fragestellung der chemischen Biologie.<sup>[18-21]</sup>

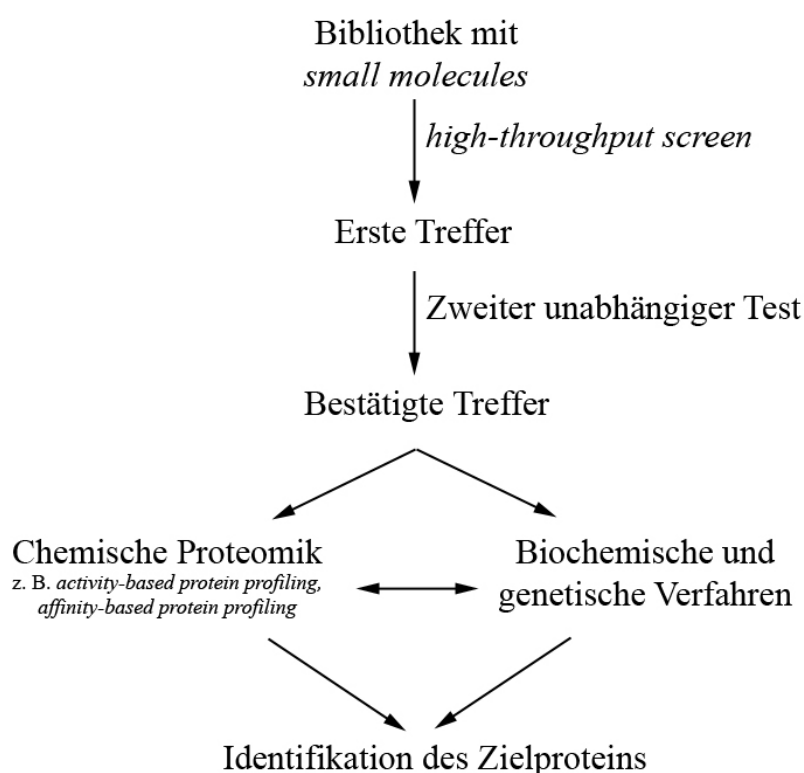


Abbildung 1.1: Übersicht zur Durchführung eines phänotypischen Screens. Als größte Herausforderung in einem phänotypischen Screen gilt in der Regel die Identifizierung des Zielproteins, welche häufig mit Hilfe der chemischen Proteomik oder biochemischer bzw. genetischer Verfahren durchgeführt wird (adaptiert und modifiziert nach Meesters<sup>[18]</sup>).

### 1.1.3 Identifizierung von Zielproteinen chemischer Sonden

Die Auffindung des molekularen Zielproteins einer chemischen Sonde stellt im Allgemeinen eine große Herausforderung dar. In den letzten Jahren ist eine chemische Proteomik-Technologie, das sogenannte *activity-based protein profiling* (ABPP), beschrieben worden, welche große Beiträge zur Entwicklung von Methoden der Targetidentifizierung leisten konnte.

ABPP ist eigentlich eine Methode, mit der durch den Einsatz von chemischen Sonden der enzymatische Aktivitätsstatus von Enzymen in komplexen biologischen Systemen gemessen werden kann. Die Sonden sind zu diesem Zweck so aufgebaut, dass sie mittels eines elektrophilen Zentrums kovalent mit dem aktiven Zentrum eines Enzyms reagieren, so dass diese anschließend irreversibel mit der chemischen Sonde verbunden sind. Diese Technik funktioniert besonders gut für Enzyme, deren enzymatische Aktivität über eine Aminosäure mit einer nukleophilen Seitenkette im aktiven Zentrum gesteuert wird, zum Beispiel Serin-, Cystein- oder Threonin-Proteasen. Die kovalente Markierung der Zielproteine kann dann durch eine Reporter-Gruppe, die über einen Linker mit der chemischen Sonde verbunden ist, nachgewiesen werden. Zum Beispiel kann ein Biotinrest als Reporter verwendet werden, welcher nach kovalenter Markierung des Zielmoleküls eine Affinitätsaufreinigung und anschließende massenspektrometrisch-basierte Analyse des Sonden-markierten Proteins erlaubt.<sup>[2, 22-24]</sup>

Allerdings kann eine Identifizierung des Zielproteins von chemischen Sonden nach der ABPP-Methode nur bei solchen *small molecules* durchgeführt werden, die kovalent mit ihrem Zielprotein reagieren. Um auch für die in der chemische Biologie besonders interessanten, nicht-kovalent-bindenden *small molecules* ein Zielprotein mit Hilfe der ABPP-Methode finden zu können, wurde in den letzten Jahren das *photoaffinity labeling* (PAL) als Alternative entwickelt. Bei dieser Methode werden aus bioaktiven *small molecules* sogenannte *affinity-based probes* (AfBPs) hergestellt. Diese bestehen aus dem eigentlichen *small molecule*, welches reversibel an das Zielprotein bindet. Darüber hinaus tragen diese jedoch auch noch eine photoreaktive Gruppe, welche unter UV-Bestrahlung eine kovalente Bindung mit dem Zielprotein eingehen kann und eine Reportergruppe, die eine schnelle Aufreinigung und Detektion der nach Bestrahlung kovalent gebundenen Sonde ermöglicht. Als photoreaktive Gruppe werden zum Beispiel Benzophenone, Diazirine oder arylische Azide verwendet (vgl. Abb. 1.2), welche alle durch Aktivierung mit UV-Licht eine irreversible Bindung mit dem Enzym ausbilden können (vgl. Abb. 1.3). Eine Schwierigkeit beim PAL ist die häufig geringe Spezifität des Photolabelings, welches zu vielen unspezifischen *off-target-labelings* führt.<sup>[24-27]</sup>



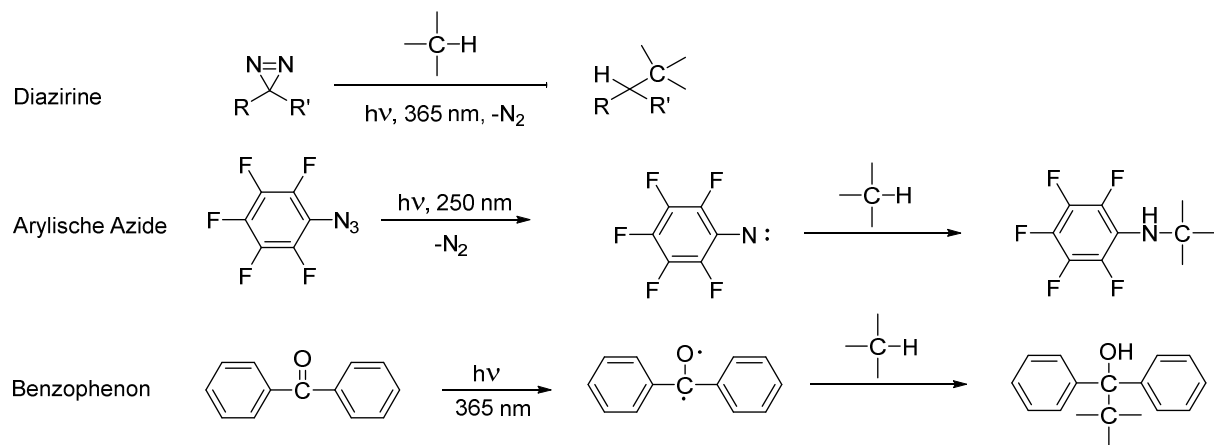


Abbildung 1.2: Chemische Struktur und die zugrunde liegende photoreaktive Reaktion von Diazirinen, arylischen Aziden und Benzophenon.

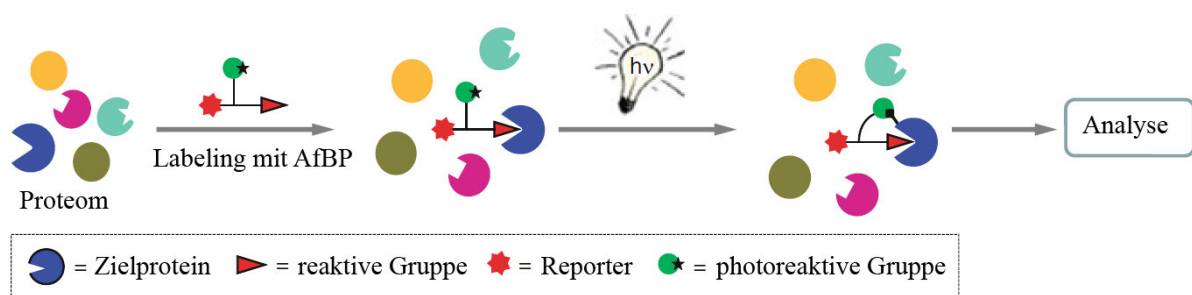


Abbildung 1.3: Prinzip des *photoaffinity labeling* mit einer *affinity-based probe* (adaptiert und modifiziert nach Geurink *et al.*<sup>[24]</sup>)

Ähnlich wie beim ABPP wird die Selektivität von AfBPs im Prinzip durch den Molekülteil erreicht, der an die eigentliche Bindungstasche des Zielproteins bindet.<sup>[25]</sup>

Viele Sonden besitzen zur räumlichen Trennung der bindenden Komponente und der Photoaffinitätsgruppe bzw. dem Reporter zusätzlich einen Linker, der durch seine Länge und chemischen Eigenschaften auch einen Einfluss auf die Spezifität der Sonde haben kann. Dementsprechend sollten in der Regel weder der Linker noch die Reporter-Gruppen einen negativen Einfluss auf die Selektivität der Sonde nehmen. Oft verwendete Reportergruppen sind Fluorophore (zum Beispiel Rhodamine), Biotin und radioaktive Gruppen (vgl. Abb. 1.4). Fluorophore können mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen und SDS-PAGE visualisiert werden, während Biotin mit Hilfe einer spezifischen Bindung zu Avidin aufgereinigt und danach mittels Massenspektrometrie analysiert werden kann.<sup>[2, 25, 28]</sup>

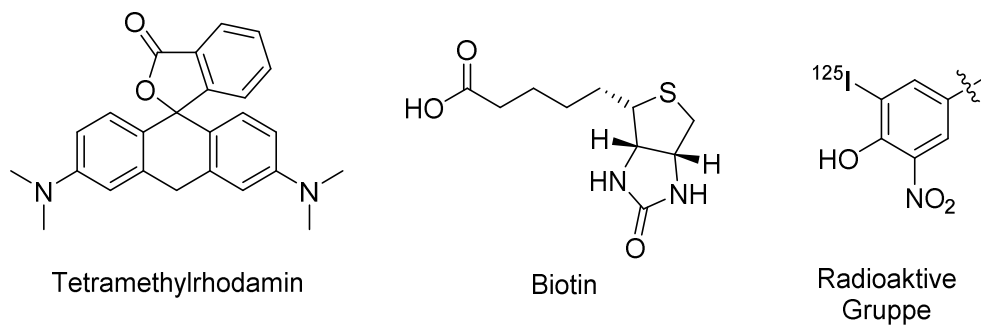


Abbildung 1.4: Struktur der Reportergruppen Tetramethylrhodamin und Biotin und einer radioaktiven Gruppe.

Ein Problem bei einer *in vivo*-Targetidentifizierung ist häufig die Größe der Sonden, denn große Sonden mit einem Molekulargewicht von über 700-1000 Da werden von den Zellen nicht mehr sehr gut aufgenommen und verteilt. Deshalb wurde vor einigen Jahren eine Methode entwickelt, bei der die Reporter-Gruppe in einem zweiten Schritt nach dem Photolabeling eingebracht wird. Diese Methode wird 2-Schritt-Photolabeling (bzw. 2-Schritt-ABPP bei kovalenten Sonden) genannt und basiert auf Verwendung der *click-chemistry*. Bei dieser wird eine Kupfer(I)-katalysierte 1,3-Huisgen-Cycloaddition zwischen einem terminalen Alkin und einem Azid durchgeführt. Vom chemischen Gesichtspunkt her ist es nicht relevant, welche der beiden Gruppen als eigentliche Reporter-Gruppe verwendet wird. In biologischen Systemen liefert die Click-Reaktion mit einem Alkin als Reportergruppe jedoch meistens die besseren Resultate. Zur Durchführung der Click-Reaktion wird meistens Kupfer(II)sulfat, welches durch Zugabe von Tris(carboxyethyl)phosphin (TCEP) zu Kupfer(I) reduziert wird, als Kupferlieferant für die Reaktion verwendet. Außerdem wird Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin (TBTA) als stabilisierender Ligand für Kupfer(I) benutzt. Diese Substanz schützt Kupfer nach der Reduktion vor einer Re-Oxidation und Disproportionierung, so dass die katalytische Aktivität des Katalysators in der Reaktion verbessert wird (vgl. Abb. 1.5).<sup>[23, 29-32]</sup>

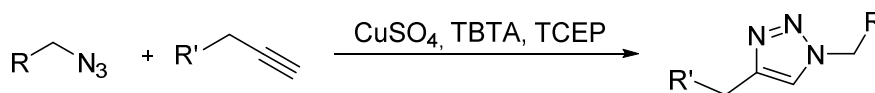


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung der Click-Reaktion.

## 1.2 Chemisch-biologische Ansätze in der Pflanzenbiologie

Pflanzen stellen eines der sechs Reiche des Lebendigen dar und sind seit Beginn der Menschheit unsere wichtigste Ernährungsgrundlage.<sup>[33]</sup> Durch die Fähigkeit zur Photosynthese können sie Energie aus dem Sonnenlicht gewinnen und dabei den für Mensch und Tier überlebenswichtigen Sauerstoff produzieren. Pflanzen und ihre Früchte bilden die Basis der Nahrungskette und besonders Nutzpflanzen wie Mais, Korn und Reis werden seit Jahrtausenden zur Ernährung angebaut. Trotz dieser enormen Bedeutung ist die Aufklärung der „molekularen Biologie“ der Pflanzen noch ein relativ-neues Wissenschaftsfeld und viele Aspekte der Pflanzenbiologie sind bisher nur rudimentär verstanden. Zur Aufklärung der molekularen Mechanismen der Pflanzen werden heutzutage meistens sogenannte Modellpflanzen wie zum Beispiel *Arabidopsis thaliana* verwendet. Untersuchungen in diesen Modellorganismen werden unter anderem mit Hilfe genetischer Ansätze erreicht. In den letzten Jahren sind aber zunehmend chemisch-biologische Ansätze immer wichtiger geworden.<sup>[34]</sup>

Dieses Nichtwissen über die molekularen Mechanismen der Pflanzen steht in starkem Kontrast zur klassischen Pflanzenbiologie, die zu den ältesten Bereichen der Wissenschaft und Studien gehört und deren Anfänge bis in die Antike zurück reichen, meistens mit der Absicht heilende und giftige Pflanzen zu erkennen oder neue, ertragreichere Nutzpflanzen zu züchten. So wurden unter anderem im Mittelalter viele Gartenanlagen bei Klöstern gegründet, in denen Pflanzen mit medizinischer Wirkung angebaut und untersucht wurden.

### 1.2.1 Die Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*

*Arabidopsis thaliana* (Acker-Schmalwand, Gänserauke) ist eine kleine Pflanze in der Familie der Kreuzblütler (*Brassicaceae*) und ist durch Johannes Thal bereits seit dem 16. Jahrhundert im Harz bekannt. Ursprünglich war sie in Europa, Zentralasien und Nordafrika beheimatet, aber mittlerweile kann sie in vielen weiteren Gegenden wie zum Beispiel Asien und Nordamerika gefunden werden. Sie wird ca. 15-20 cm hoch und die Blüten ca. 2 mm lang.<sup>[35-37]</sup>



Abbildung 1.6: *Arabidopsis thaliana* in einem frühen Stadium der Blüte.<sup>[36]</sup>

*Arabidopsis thaliana* wurde bereits 1943 von Friedrich Laibach als Modellpflanze vorgeschlagen, der schon in seiner Doktorarbeit 1907 herausgefunden hatte, dass ihr Genom aus nur fünf Chromosomenpaaren aufgebaut ist. Dies entspricht einem der kleinsten bekannten Pflanzengenome. *Arabidopsis thaliana* ist verwandt mit einigen hunderttausend Pflanzenarten, so dass an ihr viele Fragestellungen der Botanik untersucht werden können. Aufgrund der geringen Größe der Pflanze wird zum Kultivieren wenig Platz benötigt. Außerdem produziert eine einzelne Pflanze tausende Samen, so dass leicht viele Exemplare von Mutanten gezüchtet werden können.<sup>[38-40]</sup> Auch die geringe Lebenszeit von sechs Wochen von Keimung bis zur Reife ist für die Forschung von Vorteil.<sup>[35, 36]</sup> Laibachs Studentin Erma Reinholz zeigte im Jahr 1947, dass Mutationen von *Arabidopsis thaliana* durch Röntgenstrahlung erzeugt werden konnten. Mittlerweile können Mutanten auch leicht durch genetische Methoden erzeugt werden. Aufgrund dieser vielen Eigenschaften und einfachen Anforderungen zur Züchtung stieg das Forschungsinteresse zum Ende des 20. Jahrhunderts stark an und *Arabidopsis thaliana* wurde ab den 1980er Jahren weitestgehend als der wichtigste Pflanzen-Modellorganismus

akzeptiert.<sup>[38, 40]</sup> Dementsprechend wird sie gelegentlich auch als das Flaggschiff der Botanik bezeichnet.<sup>[35, 41, 42]</sup>

Seit 1996 wurde mit Hochdruck an der vollständigen Sequenzierung des Genoms gearbeitet, die im Jahr 2000 erreicht wurde. *Arabidopsis thaliana* war somit die erste Pflanze und der dritte multizelluläre Organismus, dessen Genom vollständig sequenziert wurde.<sup>[35, 36, 43]</sup> Das Genom ist ca. 157 Mbp groß und besteht aus ca. 27.000 Genen in ca. 11.000 Genfamilien.<sup>[35, 44-46]</sup>

Wegen dem hohen Forschungsinteresse an *Arabidopsis thaliana* existiert heutzutage eine große Sammlung von tausenden Mutanten und anderen käuflich erwerbbaaren Produkten zur genetischen Forschung.<sup>[36, 38]</sup>

In der chemischen Genetik und somit in phänotypischen Screens wird *Arabidopsis thaliana* oft eingesetzt, da sie aufgrund der kleinen Größe leicht und platzsparend in einer Multi-Well-Platte untersucht werden kann. Dies ist zum Beispiel für die Durchführung von *High-Throughput-Screens* sehr vorteilhaft.<sup>[19]</sup> Zwei Drittel der Gene dieser Modellpflanze besitzen mindestens ein Homolog und 37.4 % der vorhergesagten Proteine gehören zu einer Proteinfamilie mit mehr als fünf Mitgliedern. Da die aktiven Zentren innerhalb einer Proteinfamilie oft ähnlich sind, ist es wahrscheinlich, dass ein *small molecule*, das ein spezielles Protein deaktiviert, auch die anderen Mitglieder einer eng verwandten Proteinfamilie inhibieren kann. Somit haben chemisch-biologische Ansätze den Vorteil, dass sie die häufig bei Pflanzen auftretende genetische Redundanz umgehen können.<sup>[43, 47]</sup>

### 1.2.2 Jasmonsäure-Signalweg

Jasmonsäure (JA) und ihre Derivate, zusammen als Jasmonate bezeichnet, gehören zur Gruppe der Oxylipine und wurden zuerst 1962 aus *Jasminum grandiflorum* isoliert. Das wichtigste Derivat der Jasmonsäure ist der Jasmonsäure-Methylester (MeJA). Jasmonate spielen insbesondere bei der defensiven Antwort auf biotischen und abiotischen Pflanzenstress eine Rolle. So steigt die Menge von Jasmonsäure zum Beispiel bei Wunden, UV-Bestrahlung und Ozon-Behandlung stark. Außerdem ist sie auch bei Entwicklungsprozessen wie zum Beispiel Wurzelwachstum, Saataufgang und Blütenentwicklung beteiligt.<sup>[48-53]</sup>

Die Biosynthese der Jasmonsäure, welche von der-Linolensäure startet, wurde von Vick und Zimmermann bereits in den 1980er Jahren beschrieben (vgl. Abb. 1.7).<sup>[54, 55]</sup> Mittlerweile sind die meisten beteiligten Enzyme durch biochemische, molekulargenetische und strukturelle Experimente gut charakterisiert.<sup>[48]</sup>

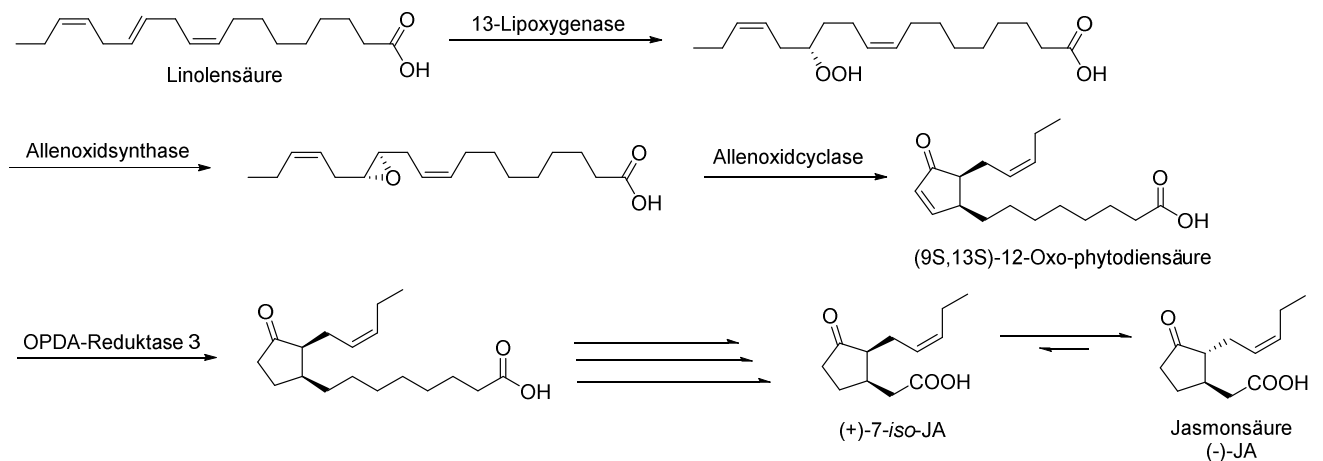


Abbildung 1.7: Biosynthese der Jasmonsäure (adaptiert und modifiziert nach Kombrink und Wasternack<sup>[48, 50]</sup>).

So wird  $\alpha$ -Linolensäure in den Chloroplasten durch 13-Lipoxygenase oxidiert und das entstehende Produkt wird dann in verschiedene Oxylipine weiter metabolisiert. Zur Biosynthese von Jasmonsäure wird es durch die Allenoxidsynthase zum Epoxid umgewandelt, welches durch die Allenoxidcyclase cyclisiert wird. Die Enzym-katalisierte Zyklisierung verläuft dabei hochselektiv, da ausschließlich die gewünschte (9S,13S)-12-Oxo-phytodienensäure entsteht. Nach der Reduktion mit Hilfe der OPDA-Reduktase 3 durchläuft das Molekül dreimal eine  $\beta$ -Oxidation. Die spontane Epimerisierung der Vorstufe zur Jasmonsäure ist unvollständig, so dass in der Zelle ein Gleichgewicht aus diesen beiden Molekülen vorliegt.<sup>[48, 50, 56]</sup>

Jasmonsäure wird in Pflanzenzellen ähnlich wie andere Hormone auf unterschiedliche Weise modifiziert. Das *Arabidopsis JAR1* (*jasmonate resistant 1*)-Gen kodiert ein ATP-abhängiges Enzym, das die Reaktion von JA mit der Aminosäure Isoleucin katalysiert und somit bei der Kontrolle des JA-Levels tätig ist.<sup>[57, 58]</sup> Im Jahr 2009 konnte gezeigt werden, dass (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucin (JA-Ile) die biologisch aktive Form ist und nicht das Enantiomer (-)-JA-L-Ile. Außerdem weist es eine ähnliche Struktur und biologische Aktivität auf wie das Phytotoxin Coronatin, das von *Pseudomonas syringae* produziert wird (vgl. Abb. 1.8). Obwohl heutzutage viele Derivate von JA mit Aminosäuren nachgewiesen sind, ist JA-Ile das bisher aktivste Jasmonatderivat.<sup>[48, 56]</sup>

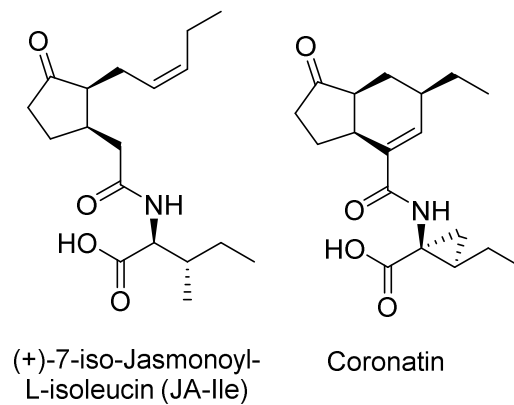


Abbildung 1.8: Struktur von (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine und Coronatin.<sup>[56]</sup>

Ubiquitin-Proteasom-Signalwege spielen eine zentrale Rolle in den meisten Hormonsignalwegen in Pflanzen und über Jasmonat regulierte Proteolyse ist auch das Prinzip hinter dem JA-Signalweg.<sup>[59]</sup> Der JA-Signalweg wurde in großen Teilen in *Arabidopsis thaliana* bzw. Tomaten aufgeklärt.<sup>[57, 60]</sup> In Abwesenheit von JA-Stimulierung wirken Proteine aus der *Jasmonate Zim Domain* (JAZ)-Familie als Repressoren für die Transkription der Gene zur JA-Antwort.<sup>[57]</sup> Das F-box Protein COI1 spielt dabei als Komponente des SCF-Komplexes (Skp1/Cullin/F-Box) eine sehr wichtige Rolle, da dieses Protein in der Ubiquitinierung und anschließenden Degradation der JAZ-Proteine involviert ist. COI1 beinhaltet die Bindungsstelle, die JA-Ile mit hoher Spezifität erkennt und damit einen ternären Komplex aus COI, welches wiederum eine Komponente des E3-Ligase SCF-Komplexes ist, JA-Ile und dem JAZ-Protein aufbaut, was letztendlich zur Ubiquitinierung der JAZ-Proteine führt.<sup>[48, 49, 53, 56, 57, 61]</sup> Somit wird die repressorische Interaktion von JAZ mit Transkriptionsfaktor MYC2 aufgehoben, wodurch die Gentranskription von JA-Antwortgenen induziert wird (vgl. Abb. 1.9).<sup>[62]</sup>

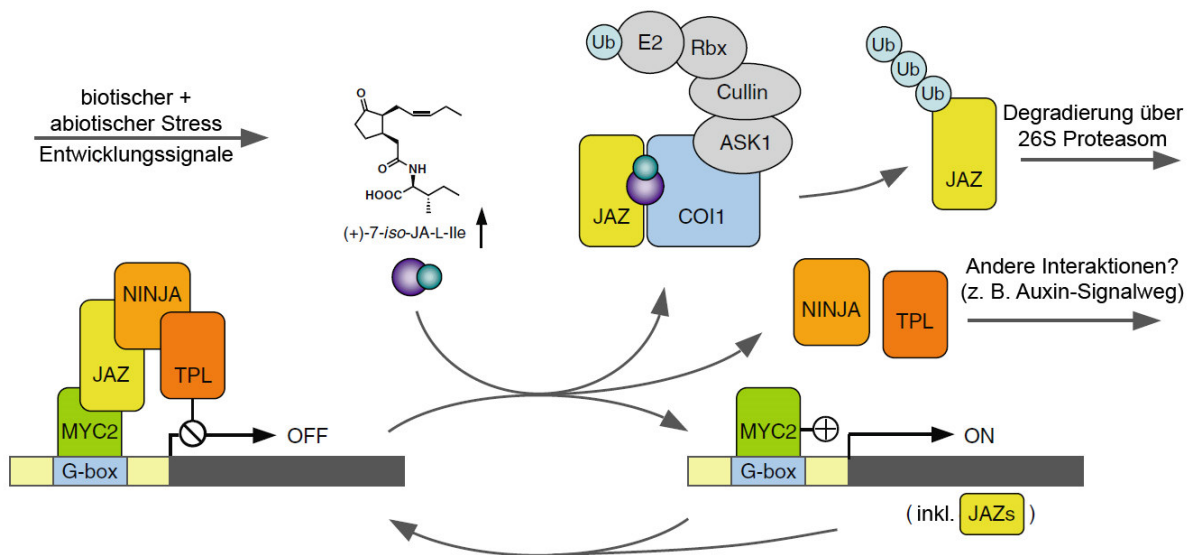
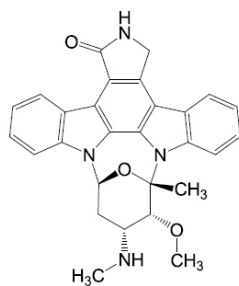
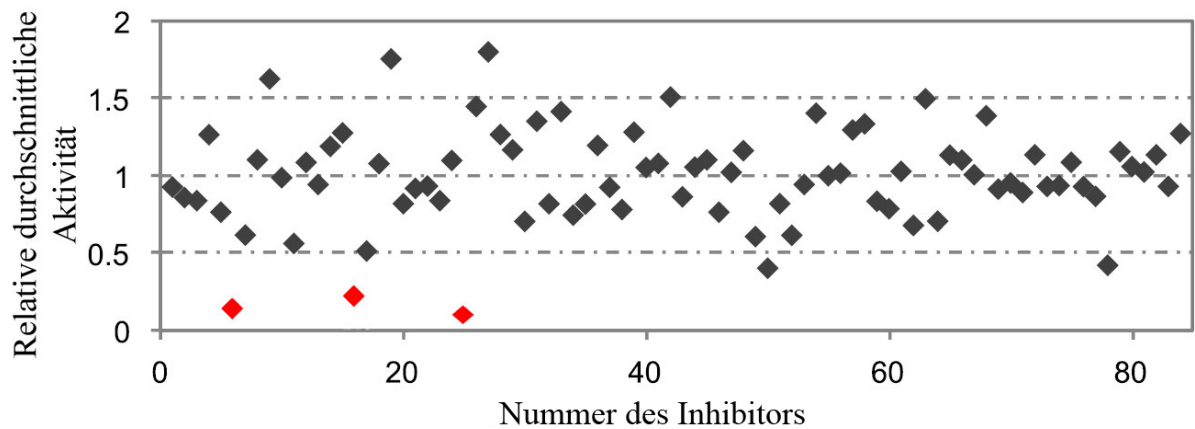


Abbildung 1.9: Kurze Übersicht über die Jasmonsäure-vermittelte Genregulation (adaptiert und modifiziert nach Kombrink<sup>[48]</sup>).

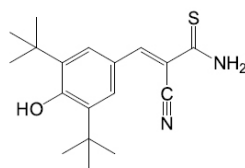
### 1.2.3 Analyse einer chemischen Bibliothek von Kinaseinhibitoren zur Identifikation neuer Effektoren für den JA-Signalweg

Vor kurzem wurde von Christian Meesters (AG Kombrink, MPIZ Köln) ein phänotypischer Screen auf Jasmonat-Signalweginhibitoren durchgeführt. In diesem Screen wurde der Abbau der JAZ-Proteine in lebenden Pflanzen verfolgt. Dazu wurde eine chemische Bibliothek, die aus 84 bekannten Kinaseinhibitoren besteht, in Keimlingen der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* untersucht. Als erste Treffer konnten drei Kandidaten identifiziert werden: Staurosporin, Tyrphostin AG-879 und 5-Iodotubercidin (vgl. Abb. 1.10).<sup>[18]</sup>

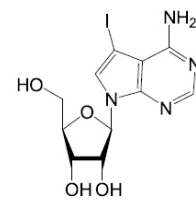




Staurosporin



Tyrphostin AG-879



5-Iodotubercidin

Abbildung 1.10: Ergebnisse des JAZ-Abbau-Screens nach Durchmustern einer Bibliothek von 84 bekannten Kinaseinhibitoren (adaptiert und modifiziert nach Meesters<sup>[18]</sup>).

Staurosporin ist als genereller Kinaseinhibitor bekannt und hemmt von 290 getesteten menschlichen Kinasen mehr als 80 %.<sup>[63]</sup> Tyrphostin AG-879 ist bekannt als Inhibitor für Tyrosinkinase und Mitogen-aktivierte Proteinkinase, die bei der Proliferation von menschlichen Brustkrebszellen eine Rolle spielen.<sup>[64, 65]</sup>

5-Iodotubercidin ist ein bekannter Inhibitor sowohl vieler Proteinkinase als auch spezieller von Adenosinkinase. Diese Substanz besitzt eine große strukturelle Ähnlichkeit zu Adenosin und eine Affinität zu den ATP-Bindungstaschen von Adenosinkinase. 5-Iodotubercidin wurde dabei für einige Zeit als mögliches Medikament gegen Krebs getestet. Allerdings zeigten Studien, dass die Zugabe von 5-Iodotubercidin zu unerwünschten DNA-Schäden führt, so dass der Einsatz als mögliches Medikament sehr eingeschränkt wäre.<sup>[66, 67, 68]</sup> Es existieren mehrere Naturstoffe, die eine starke strukturelle Ähnlichkeit zu 5-Iodotubercidin aufweisen, zum Beispiel Toyocamycin, Sangivamycin und Tubercidin (vgl. Abb. 1.11). Für Toyocamycin wurde eine Aktivität in Pflanzen berichtet, nämlich dass diese Substanz spezifisch die Expression der Auxin-induzierten Gene hemmt.<sup>[69]</sup> Daher wurden diese vier Inhibitoren von Meesters in einem zweiten Screen analysiert und konnten in ihrer Aktivität bestätigt werden.<sup>[18]</sup> Aus diesem Grund wurde entschieden, 5-Iodotubercidin als möglichen JA-Signalweg-modulator weiter im Rahmen dieser Arbeit zu verfolgen.

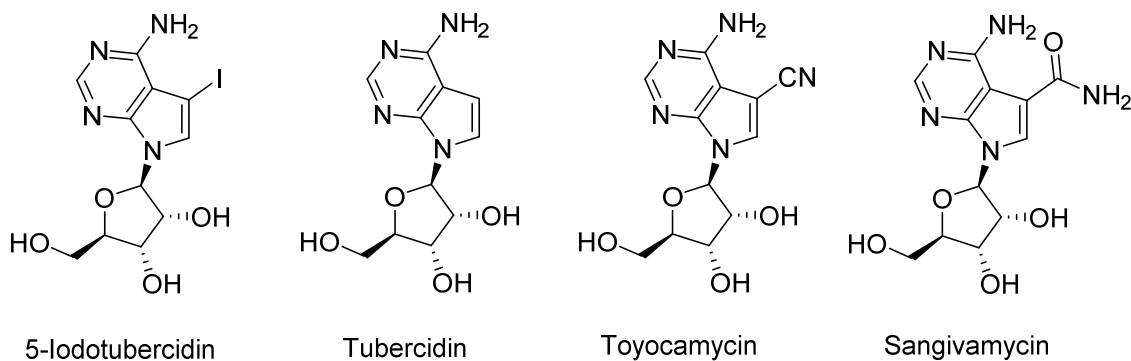


Abbildung 1.11: Chemische Strukturen von 5-Iodotubercidin, Toyocamycin, Sangivamycin und Tubercidin.

Synthetisch lassen sich Derivate von 5-Iodotubercidin sehr gut darstellen. Eine erste Synthese für diese Naturstoffe wurde bereits 1969 von Tolman, Robins und Townsend erreicht.<sup>[70]</sup> 5-Iodotubercidin konnte außerdem zusammen mit einigen Derivaten im Jahr 1984 ausgehend von Tubercidin erfolgreich synthetisiert werden.<sup>[71]</sup> Spätere Syntheserouten, die von D-Ribose ausgingen, konnten zwar entwickelt werden, allerdings musste hierzu D-Ribose in der Regel über mehrere Stufen geschützt werden. Zudem erforderte die anschließende Vorbereitung zur Kupplung mit der Pyrrol-Pyrimidin-Einheit den Einsatz des stark krebserregenden Hexamethylphosphorsäuretriamid als Lösungsmittel.<sup>[72, 73]</sup> Eine schnellere und ungiftige Synthese von den vier Molekülen konnte im Jahr 2011 von Song *et al.* mit Hilfe der Vorbrücken-Glycosylierung erfolgreich abgeschlossen werden.<sup>[74, 75]</sup> In der Tat wurde diese Methode im Rahmen dieser Arbeit zur Synthese von Iodotubercidin-Derivaten verwendet.

### 1.3 AAA-Proteinfamilie

In der vorliegenden Arbeit wurden Inhibitoren der AAA-ATpasen p97 und Vps4 entwickelt. Daher sollen diese Proteine hier zuerst einmal kurz dargestellt werden.

Die AAA-Proteinfamilie gehört zur Gruppe der *P-loop* NTPasen und ihre Mitglieder lassen sich in allen Organismen finden. In den letzten 20 Jahren wurden über 30.000 AAA-Proteine in allen Reichen des Lebendigen gefunden.<sup>[76]</sup> Sie sind für viele verschiedene zelluläre Funktionen notwendig, zum Beispiel der Regulation des Zellzyklus, vesikulärem Transport von Proteinen und der Kontrolle des Proteinabbaus und besitzen eine oder zwei ATP-Bindungsdomänen (AAA-Domäne) von ungefähr 230 Aminosäuren Länge. Diese enthalten Walker-A und Walker-B Bindungsmotive und vollziehen Konformationsänderungen während der Bindung und Hydrolyse von ATP. AAA-Proteine ordnen sich in der Regel als

hexamerische Ringe aus Oligomeren an, die eine zentrale Pore umgeben. Zwischen zwei Protomeren liegen die ATP-Bindungsstellen und das Walker-B Motiv formt die Bindung zum Nukleotid. Durch einen Aspartat-Rest kann ein Magnesium-Ion koordiniert werden, das für die ATP-Hydrolyse als Co-Faktor notwendig ist.<sup>[77-80]</sup>

### 1.3.1 ATPase p97

Das Protein p97 mit einer Größe von 97 kDa, das auch als *valosin-containing protein* (VCP) bekannt ist, wurde im Jahr 1990 zuerst von Peters *et al.* beschrieben und gehört zur Familie der AAA ATPasen.

p97 bildet unter physiologischen Bedingungen funktionale Hexamere. Jedes p97-Protomer ist aus einer N-terminalen Domäne und zwei AAA-Domänen aufgebaut (vgl. Abb. 1.12). Die bei der ATP-Hydrolyse entstehende Energie wird dabei von p97 genutzt, um seine Substrate strukturell zu entfalten oder aber von seinen Bindungspartnern zu trennen.<sup>[79, 81-83]</sup>

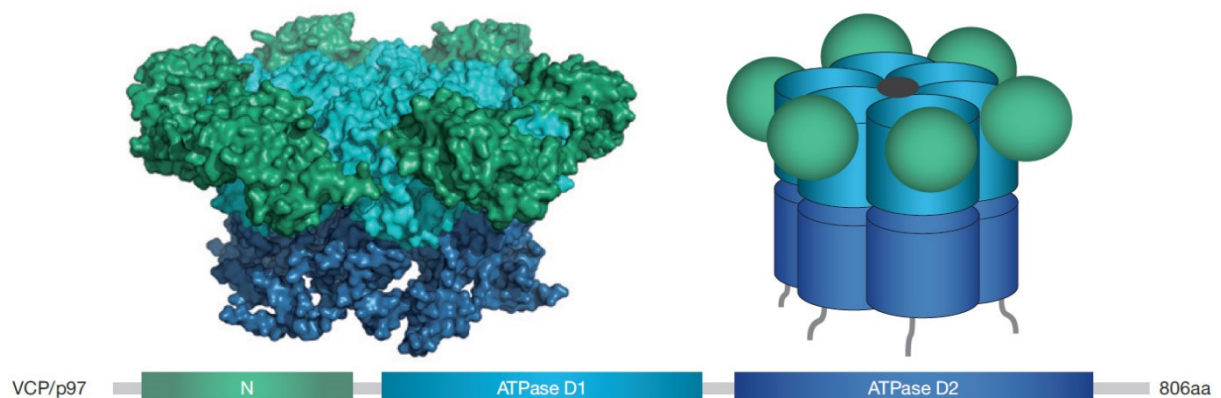


Abbildung 1.12: Hexamerische Anordnung und Aufbau des Proteins p97 (adaptiert und modifiziert nach Meyer *et al.*<sup>[81]</sup>).

p97 ist eines der häufigsten Proteine im eukaryotischen Cytosol und seine separierende Funktion wurde bereits bei vielen biologischen Prozessen nachgewiesen, insbesondere beim regulierten Proteinabbau, wie er zum Beispiel bei der Kontrolle des Zellzyklus oder der Gentranskription via Abbau von Transkriptionsfaktoren auftritt. Für die unterschiedlichen zellulären Funktionen sind verschiedene Co-Faktoren notwendig, von denen zurzeit bereits mehr als 30 Stück bekannt sind. Alle Co-Faktoren besitzen spezifische Domänen, die an p97 binden, meistens ans der N-terminalen Domäne oder dem C-terminalen Ende.<sup>[84, 85]</sup>

Zusammen mit verschiedenen Co-Faktoren unterstützt p97 den Abbau von Ubiquitin-markierten Proteinen durch das Proteasom. Dabei scheint die Funktion von p97 darin zu liegen, ubiquitinierte Proteine aus ihren zellulären Strukturen zu extrahieren oder von ihren

Bindungsproteinen zu trennen. p97 kann dabei direkt oder indirekt über die Co-Faktoren an ubiquitinierte Proteine binden. Auch Interaktionen mit Ubiquitinligasen bzw. Deubiquitinasen sind beschrieben worden. Die Funktion der meisten Co-Faktoren von p97 ist jedoch noch unbekannt, so dass hier weiterhin noch viel Forschung notwendig ist.<sup>[81, 84]</sup>

Außerdem ist p97 ein wichtiger Regulator für die *endoplasmic reticulum associated degradation* (ERAD), die der Hauptmechanismus zum regulierten Abbau von fehlgefalteten Proteinen aus dem endoplasmatischen Retikulum darstellt. Da viele Krebszellen durch die Belastung einer erhöhten Proteinsynthese auf den ERAD-Signalweg stark angewiesen sind, wird angenommen, dass eine Deaktivierung der p97-Funktion im ERAD-Signalweg zu einem unlösbaren proteotoxischen Stress bei Krebszellen führt. Es konnte bereits vor einigen Jahren gezeigt werden, dass eine erhöhte Menge von p97 bei vielen verschiedenen Krebsarten zu einem deutlich schlechteren klinischen Ergebnis führt. Außerdem konnte ein direkter Zusammenhang zwischen p97 und den beiden Transkriptionsfaktoren p53 und NFκB nachgewiesen werden, die bei dem Überleben von Krebszellen eine Rolle spielen. Zusätzlich konnten mehrere Hinweise gefunden werden, dass Krebszellen anfällig für die Inhibition von p97 sind. Somit könnte hier eventuell eine spezifische Verwundbarkeit von Krebszellen bestehen, die durch geeignete *small molecules* adressiert und ausgenutzt werden kann. Dementsprechend werden p97-Inhibitoren zurzeit in klinischen Studien als mögliche Chemotherapeutika evaluiert.<sup>[85-88]</sup>

### 1.3.2 Vacuolar protein sorting 4 (Vps4)

Das *vacuolar protein sorting 4* (Vps4) ist ein weiterer gut charakterisierter Vertreter der AAA ATPasen. Es besitzt eine N-terminale MIT-Domäne (*microtubule interacting and trafficking*) und eine C-terminale Helix, allerdings nur eine ATPase-Kassette, die die Walker-Bindungsmotive für die Bindung und Hydrolyse von ATP enthält. Vps4 liegt in Abwesenheit von Nukleotiden als inaktives Gleichgewicht aus Monomeren und Dimeren vor. Durch die Bindung von ATP ordnet es sich in Hexameren an, aber auch die Bildung von Dodecameren bei ausgewählten Mutanten oder bei nicht-physiologischen Bedingungen wurde schon beschrieben. Daher basieren die meisten Vps4-Strukturmodelle nicht auf einer Röntgenstruktur des Hexamers, sondern eines Monomers, welches dann durch Modeling und Vergleich mit der Struktur des hexameren Spastin bzw. p97 in eine Hexamerstruktur übertragen wurde.<sup>[89-91]</sup>

Vps4 ist Teil des ESCRT-Systems (*endosomal sorting complex required for transport*), das für die Vesikelbildung und Reparatur von Membranwunden notwendig ist und einen wichtigen Signalweg für die Degradation von beschädigten Proteinen darstellt. Neben Vps4 gehören noch

die Komplexe ESCRT-0, -I, -II und -III zum Kern des ESCRT-Systems. Der ESCRT-0 Komplex bindet an ubiquitinierte Membranproteinen oder -rezeptoren und bringt diese zum Endosom. An der Oberfläche des Endosoms sortieren die ESCRT-0, -I und -II Komplexe die Proteine, so dass sie als *multivesicular bodies* (MVB) in das Endosom gelangen können. Der ESCRT-II Komplex startet außerdem die Bildung von ESCRT-III Komplexen, die sich nur auf Endosomen ausprägen und für die Aufnahme des MVBs in das Endosom zuständig sind. Vps4 ist am Ende des Prozesses dafür verantwortlich, dass der ESCRT-III Komplex wieder von der Membran abgetrennt und in seine inaktiven Einzelteile zerlegt wird.<sup>[89, 92]</sup>

Die verschiedenen Untereinheiten des ESCRT-III Komplexes besitzen ein C-terminales *MIT-interacting motif* (MIM), das Vps4 an zwei Stellen seiner MIT-Domäne binden kann. Unter ATP-Hydrolyse entfaltet Vps4 einzelne Untereinheiten. In diesem Zusammenhang wird gelegentlich diskutiert, dass die Entfaltung auf ein „Ziehen“ des Substrates durch die zentrale Pore des Hexamers bewirkt wird. Die Bindung des Co-Faktors Vta1 verstärkt die ATPase-Aktivität durch Stabilisierung der Hexamere. ATP-Hydrolyse in Vps4 führt dann zur Auflösung der ESCRT-III Komplexe.<sup>[89-91, 93]</sup>

Viren mit einer Virushülle, wie zum Beispiel HIV oder Ebola, nutzen die ESCRT-Maschinerie einer Wirtszelle, um diese zu verlassen und neue Zellen befallen zu können. Es ist bekannt, dass bei der Freisetzung von HIV-1 das virale Capsidprotein Gag eine kleine Sequenz enthält, die an den ESCRT-I Komplex bindet und die Interaktion zwischen den ESCRT-0 und -I Komplexen nachahmt. Außerdem bindet Gag an das *ALG-2 interacting protein X* (ALIX), das die Bildung des ESCRT-III Komplexes aktiviert, der sich an die HIV-Capside anlagert. Es wird vermutet, dass der ESCRT-III Komplex zusammen mit Vps4 für die Freisetzung der viralen Kapside verantwortlich ist, jedoch sind der molekulare Mechanismus dieses Prozesses und die genaue Rolle von Vps4 dabei noch nicht vollständig aufgeklärt. Dementsprechend wird vermutet, dass Vps4-Inhibitoren ein Potential als mögliche antivirale Chemotherapeutika aufweisen könnten.<sup>[89, 94, 95]</sup>

### 1.3.3 Bekannte Inhibitoren

Der Erfolg von Bortezomib, welches der erste klinische zugelassene Proteasom-Inhibitor war, hat gezeigt, dass die Adressierung der Protein-Qualitätskontrolle durch Chemotherapeutika eine mögliche Strategie zur Bekämpfung von Krankheiten darstellen kann. Deshalb könnte auch eine Hemmung von p97 eine chemotherapeutische Option darstellen. In der Tat können durch eine chemische Modulation von p97 viele unterschiedliche Signalwege in ihrer Aktivität

moduliert werden. Einige davon sind bereits bekannte Optionen zur Behandlung von Krebs, zum Beispiel der bereits erwähnte ERAD-Signalweg (vgl. Kap. 1.3.2).<sup>[85]</sup>

In den letzten Jahren wurden einige *small molecules* entdeckt, die sowohl als ATP-kompetitive als auch als allosterische Inhibitoren von p97 fungieren können.<sup>[86, 96, 97, 98]</sup> Auch wenn die meisten sich aufgrund ihrer Eigenschaften nicht für klinische Studien eignen, konnten neue Erkenntnisse über die zellulären Konsequenzen durch die Inhibierung von p97 gewonnen werden. Neben den Naturstoffen Xanthohumol, Rheoemodin und Phomapyrrolidone A (vgl. Abb. 1.13) sind dementsprechend mittlerweile auch einige Inhibitoren aus *High-throughput-Screens* bzw. rationalem Design bekannt, die p97 hocheffizient hemmen. Hier sind insbesondere NMS-873, DBeQ und ML240 zu nennen (vgl. Abb. 1.14). Die inhibitorische Wirkung einiger ausgewählter Inhibitoren ist in Tab. 1.1 beschrieben.<sup>[85, 86]</sup>

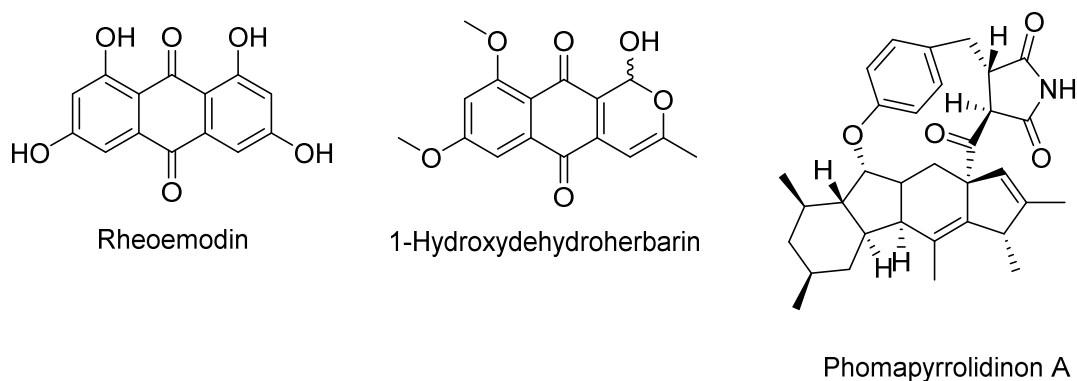


Abbildung 1.13: Strukturen von p97-hemmenden Naturstoffen.<sup>[85]</sup>

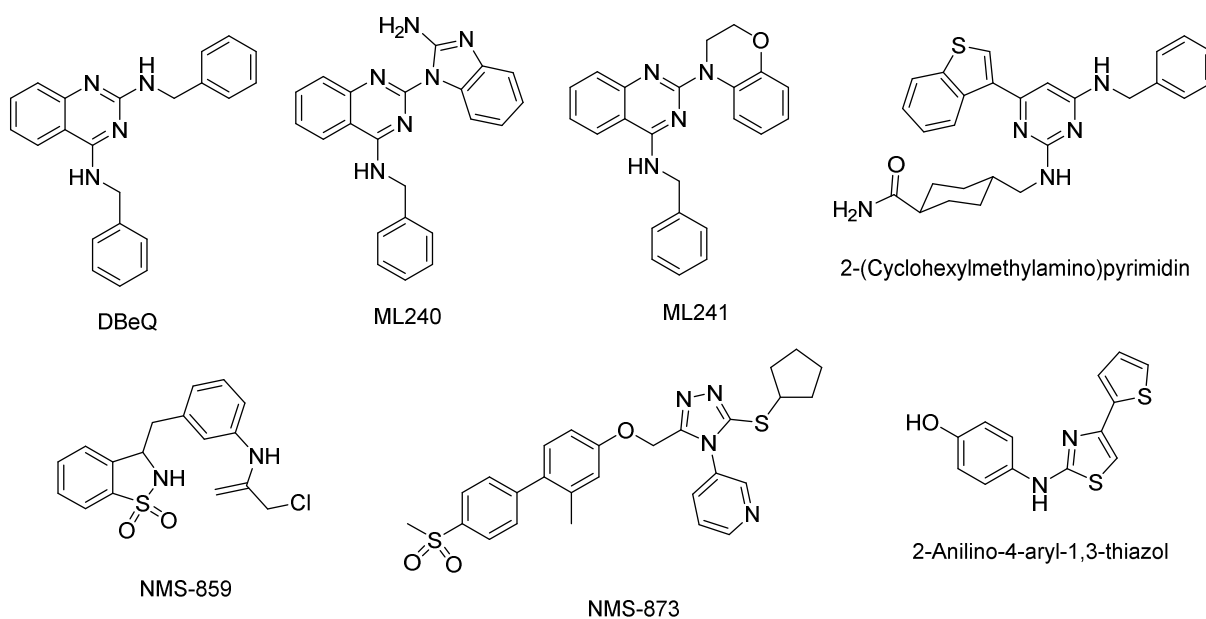


Abbildung 1.14: Strukturen selektiver synthetischer p97-Inhibitoren.<sup>[85]</sup>

Tabelle 1.1: Bekannte p97-Inhibitoren und deren biochemischer Wirkmechanismus.<sup>[85]</sup>

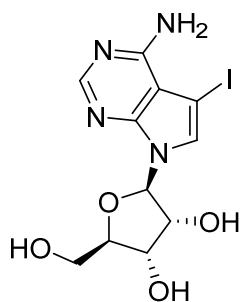
Name	Wirkmechanismus	P97 IC <sub>50</sub> (μM)
1-Hydroxydehydroherbarin	Allosterisch; Bindungsstelle ist unbekannt	21.7
Phomapyrrolidon A	Allosterisch; Bindungsstelle ist unbekannt	6.6
Rheoemodin	ATP-sensitiv und D1-sensitiv	39.8
2-Anilino-4-aryl-1,3-thiazol	ATP-sensitiv	0.11
2-(Cyclohexylmethylamino)pyrimidin	ATP-sensitiv; Bindungsstelle ist unbekannt	0.074
DBeQ	ATP-sensitiv; Bindung an D1- und D2-Domäne	2.6
ML240	ATP-sensitiv und D2-sensitiv	0.11
ML241	ATP-sensitiv und D2-sensitiv	0.11
NMS-859	Kovalent	0.37
NMS-873	Allosterisch	0.02

Im Gegensatz zu p97 sind bisher keine selektiven Vps4-Inhibitoren bekannt. Als bisher einziger synthetischer Inhibitor wird normalerweise DBeQ benutzt. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten von p97 und Vps4 wurde die inhibitorische Wirkung von DBeQ auf Vps4 von Zhang *et al.* untersucht und eine IC<sub>50</sub>-Konzentration von 11.5 μM bestimmt. Da DBeQ jedoch in einer Vergleichsmessung eine IC<sub>50</sub>-Konzentration von 16.6 μM für p97 ergab, ist DBeQ jedoch für Vps4-Untersuchungen nur sehr bedingt geeignet.<sup>[99]</sup>

## 2. Zielsetzung der Arbeit

Ziel der Arbeit war die chemische Synthese von Derivaten zur Verbesserung der biologischen und biochemischen Aktivität chemischer Sonden, die in biologischen Fragestellungen eingesetzt werden können. Dabei wurden zwei verschiedene Forschungsprojekte verfolgt.

In einem ersten Projekt sollten Derivate des bekannten Proteinkinaseinhibitors 5-Iodotubercidin (**1**) synthetisiert werden (vgl. Abb. 2.1). Diese sind interessant, da vorherige Untersuchungen am Max-Planck-Institut in Köln zeigten, dass **1** eine Hemmung des Jasmonsäure-Signalweges bewirkt. Dementsprechend sollten zielgerichtet Derivate von **1** synthetisiert werden, um einerseits einen spezifischeren Inhibitor zu erhalten und andererseits Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufstellen zu können, mit denen der molekulare Mechanismus von **1** weiter aufgeklärt werden kann. Um dieses Ziel zu erreichen, musste zuerst analysiert werden, an welchen Stellen eine Derivatisierung der Ausgangssubstanz unter Erhalt der Bioaktivität möglich ist. Die Aktivität der Derivate sollte in einem primären Screen geprüft und in einem zweiten Kontrollscreen validiert werden.



5-Iodotubercidin (**1**)

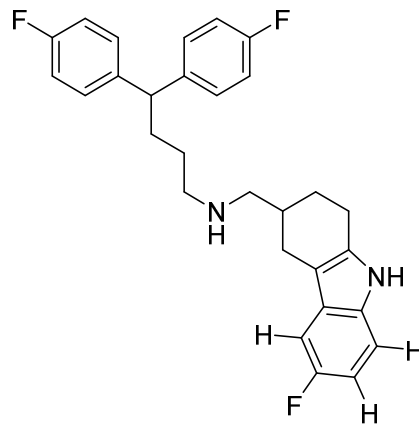
Abbildung 2.1: Struktur von 5-Iodotubercidin.

Ein weiteres Ziel dieses Forschungsprojektes war die Synthese einer geeigneten Photoaffinitätssonde, mit der ein chemisch-proteomischer Ansatz zur Identifizierung des Zielproteins verfolgt werden kann. So sollte die Sonde es ermöglichen, mittels eines Photoaffinitätslabelings Zielproteine aufzufinden und damit noch bisher unbekannte Faktoren des JA-Signalweges zu identifizieren.

Im zweiten Teilprojekt dieser Arbeit sollte eine neue Substanzklasse als Inhibitor für p97 etabliert werden. Dazu sollte der Inhibitor **2** als Ausgangsstruktur verwendet werden (vgl. Abb. 2.2), der in einem vorherigen externen Screen als potenter Hemmstoff der ATPase p97 gefunden wurde. Daher sollten für diese Substanzklasse Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt und die inhibitorische Wirkung auf p97 durch Derivatisierung an verschiedenen



Stellen im Molekül optimiert werden. Um eine möglichst hohe Chance auf eine Verbesserung der biologischen Aktivität zu erhalten, sollte eine „breite“ Bibliothek mit möglichst vielen Derivaten erzeugt werden. Hierzu mussten potentielle Stellen für eine Derivatisierung ermittelt werden. Anschließend sollte die Bedeutung dieser Stellen für die Bioaktivität durch möglichst viele Derivate ausgetestet werden. Die Validierung der hergestellten Derivate sollte über die Bestimmung der  $IC_{50}$ -Konzentration für p97 erfolgen.



**2**

Abbildung 2.2: Struktur von **2**.

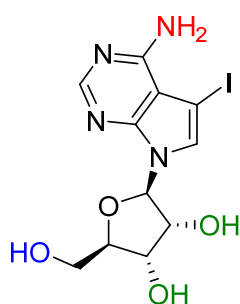
Eine weitere Aufgabe war die Aufklärung des molekularen Mechanismus der Hemmwirkung von **2**. Interessanterweise zeigten Studien in der AG Meyer, dass **2** nicht nur p97, sondern auch die strukturell verwandte ATPase Vps4 hemmt, für welche bisher nur wenige Inhibitoren bekannt sind. Daher sollten die Untersuchungen ergänzend zu p97 auch an Vps4 durchgeführt werden, besonders die Studien zur Aufklärung des molekularen Wirkmechanismus. Für diese Studien sollten photoreaktive Sonden entwickelt werden, welche zur Aufklärung der Bindungstasche im Zielprotein eingesetzt werden können.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Studien zu 5-Iodotubercidin, einem Inhibitor für Jasmonsäure

##### 3.1.1 Entwicklung von Derivaten für 5-Iodotubercidin

5-Iodotubercidin besteht aus einer Ribose-Untereinheit und einer Pyrrolopyrimidin-Untereinheit. Leicht derivatisierbare Stellen ausgehend von 5-Iodotubercidin (**1**) sind in Abb. 3.1 gekennzeichnet.



5-Iodotubercidin (**1**)

Abbildung 3.1: Struktur von 5-Iodotubercidin mit markierten Stellen zur möglichen Derivatisierung.

Eine Substitution des Iods zur Erzeugung von Derivaten wurde nicht verfolgt, da diese Stelle den strukturellen Unterschied zu Toyocamycin und Sangivamycin ausmacht und in den letzten Jahren eine größere Anzahl an Derivaten mit anderen funktionellen Gruppen an dieser Stelle bereits synthetisiert und auf ihre biologische Wirkung untersucht wurden.<sup>[66, 69, 72]</sup>

Wenn das strukturelle Gerüst von **1** durch Synthese aus kleineren Bausteinen aufgebaut wird, können anstelle der primären Aminogruppe am Pyrrolopyrimidin-System sehr gut andere sekundäre Amine eingeführt werden, da bei der von Song *et al.* gezeigten Syntheseroute für **1** im letzten Schritt Ammoniak verwendet wird.<sup>[74]</sup> Durch Einsatz von anderen primären Aminen an dieser Stelle können somit vermutlich leicht Derivate synthetisiert werden. Alternativ könnten auch prinzipiell Substitutionsreaktionen am primären Amin des Iodotubercidin-Systems möglich sein, da für die Amin-Gruppe eine höhere Reaktivität im Vergleich zu den Hydroxyl-Gruppen der Ribose-Untereinheit angenommen werden kann.

Die Ribose-Untereinheit kann leicht an den 2- und 3-Positionen chemisch verändert werden. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass bei der chemischen Reaktion beide Alkohole reagieren können, so dass eine selektive Reaktion an nur einem der beiden vermutlich nur sehr

schwer zu erreichen ist. Zum Beispiel können die beiden Positionen als symmetrisches Ketal geschützt werden.

Außerdem kann bei der Ribose-Untereinheit sehr gut die 5-Position genutzt werden, um Derivate zu erzeugen. Song *et al.* konnten bei ihrer erfolgreichen Synthese von 5-Iodotubercidin aus einem Pyrrolopyrimidin- und einem Ribose-Baustein auch zeigen, dass mit ihrer Syntheseroute Zuckerderivate, bei denen die 5'-Hydroxyl-Gruppe fehlt, hergestellt werden können.<sup>[74]</sup> Außerdem ist eine selektive Oxidation dieser Hydroxyl-Gruppe zur Carboxyl-Gruppe in der Literatur bekannt.<sup>[100]</sup>

Eine weitergehende Veränderung des strukturellen Grundgerüsts von 5-Iodotubercidin, insbesondere der Adenosin artigen Basenstruktur, wurde nicht in Erwägung gezogen, da solche Änderungen vermutlich stärkere Auswirkungen auf die biologische Aktivität zeigen würden.

### 3.1.2 Generelle biologische Evaluation von synthetisierten Derivaten

Die synthetisierten Derivate sollten auf ihren Einfluss auf den Signalweg von Jasmonsäure im Vergleich zu 5-Iodotubercidin untersucht werden. Durch den Einsatz weiterer Derivate als Inhibitoren sollten zudem neue Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden, mit denen eventuell neue Interaktionen im JA-Signalweg gefunden werden können. Aufgrund der bereits von Meesters *et al.* früher durchgeführten Untersuchungen wurde hierfür eine Evaluierung in lebenden Pflanzen verwendet.<sup>[18]</sup>

Zur Evaluierung der synthetisierten Derivate wurde daher ein System gewählt, das auf den Reporter  $\beta$ -Glucuronidase (GUS) basiert und die Degradation des JA-Signalweg-Proteins JAZ nachverfolgen lässt. Dazu wurden transgene *Arabidopsis thaliana Columbia-0* Pflanzenlinien verwendet, bei denen ein JAZ1-GUS-Hybrid unter Kontrolle des konstitutiven Promoters 35S exprimiert wird. Dies führt zu einer konstanten Expression eines JAZ1-GUS Fusionsproteins, das die Messung des JAZ1-Levels durch GUS-Färbung erlaubt. GUS hydrolysiert 5-Bromo-4-chloro-3-indoyl- $\beta$ -D-glucuronid (X-Gluc) zu Glucuronsäure und 5-Brom-4-chlor-indoxyl. Letzteres wird durch Sauerstoff zum blauen, unlöslichen Farbstoff 5,5'-Dibrom-4,4'-dichlor-indigo oxidiert. Eine Behandlung mit MeJA führt zum proteosomalen Abbau des JAZ1-GUS Fusionsproteins, analog zum MeJA induzierten Abbau von JAZ-Proteinen in lebenden Pflanzen. Deshalb hemmt MG132, der ein spezifischer Inhibitor vom 26S-Proteasom ist, den MeJA induzierten Abbau von JAZ1-GUS und kann daher als Positivkontrolle eingesetzt werden. Die JAZ1-GUS Färbung ist bei Pflanzen vor allem in Wurzeln gut zu beobachten und wurde als histochemische Methode vor einigen Jahren von Thines *et al.* etabliert.<sup>[101, 102]</sup>

Die in dieser Arbeit gezeigten Bioaktivitätsanalysen wurden in Kooperation mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung in Köln von Dr. Mohamed Suliman aus der Erich Kombrink Gruppe durchgeführt.

### 3.1.3 Derivatisierung an der freien Amin-Gruppe des Pyrimidin-Rings

Als erste Stelle zur Synthese von Derivaten wurde die freie Amin-Gruppe der Pyrrolopyrimidin-Untereinheit ausgewählt. 5-Iodotubercidin als Adenosinderivat bindet mit einer hohen Affinität an verschiedene ATP-Bindungstaschen.<sup>[67]</sup> Durch eine Vergrößerung des Restes an dieser Stelle kann somit eventuell eine höhere Selektivität erreicht werden, da ATP-bindende Enzyme an dieser Stelle unterschiedlich viel Platz in der Bindungstasche aufweisen.

Dementsprechend wurden zwei Derivate synthetisiert: Eines mit einer Methoxy-Gruppe und einer mit Benzylamin-Gruppe anstatt der freien Amin-Gruppe (vgl. Abb. 3.2).

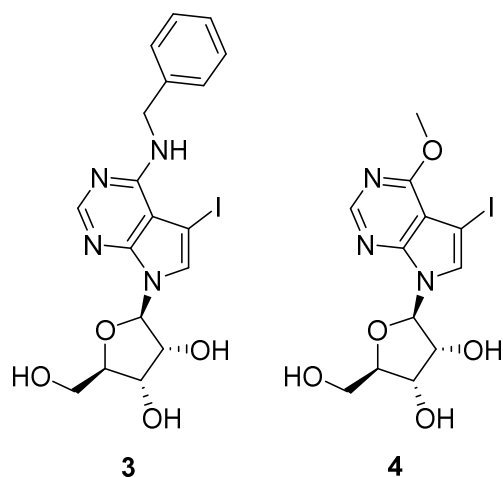


Abbildung 3.2: Struktur der Derivate mit Veränderung an der freien Amin-Gruppe.

### Synthese

Die Synthese erfolgte ausgehend von dem kommerziell erhältlichen 1,2,3,5-Tetraacetyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**5**) und 6-Chloro-7-iodo-7-deazapurin (**6**). Das Syntheschema für die beiden Derivate ist in Abbildung 3.3 dargestellt.

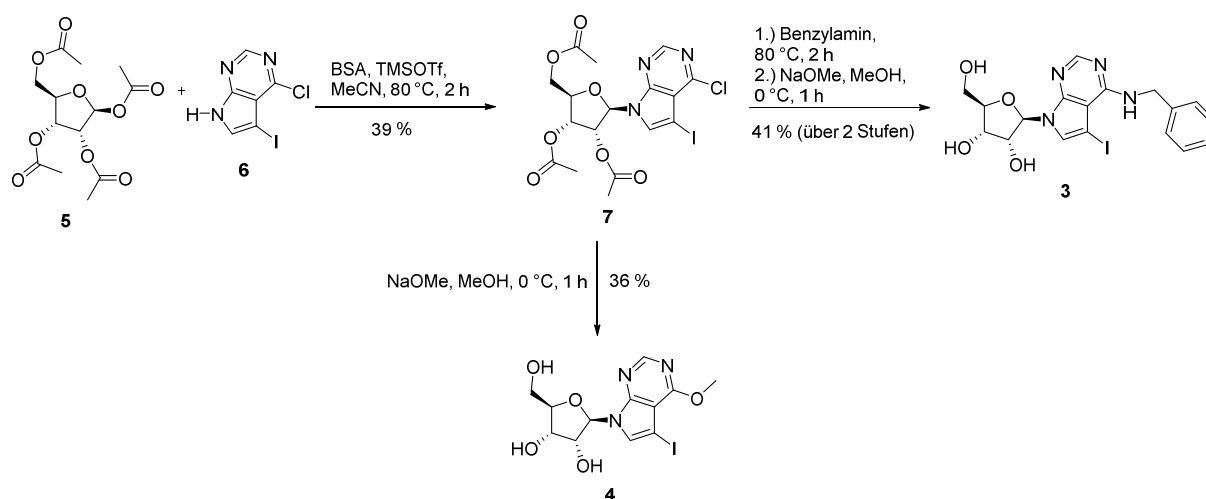


Abbildung 3.3: Schema zur Synthese von Benzylaminderivaten **3** und **4**.

Der erste Schritt der Synthese wurde nach der bekannten Methode von Song *et al.* durchgeführt und es konnte eine Ausbeute von 39 % erreicht werden. Da Song *et al.* auch nur von einer Ausbeute zwischen 50 % und 60 % berichten, ist die erlangte Ausbeute der ersten Stufe von 39 % nicht überraschend und es wurden keine weiteren Anstrengungen zur Optimierung unternommen.<sup>[74]</sup> Allerdings war es nicht möglich mit Hilfe einer Säulenchromatographie das Produkt **7** vom Baustein **6** abzutrennen. Erst nach einer Aufreinigung mittels einer HPLC mit einer kleinen Menge des Rohprodukts konnte das gewünschte Produkt isoliert werden, das für die Synthese von **3** verwendet wurde. Da die Aufreinigung über HPLC für große Mengen sehr zeitintensiv ist und die Verunreinigung mit dem Baustein **6** die nachfolgenden Reaktionen nicht störte, wurde das Rohprodukt bei späteren Synthesen nur säulenchromatographisch voraufgereinigt und das Produktgemisch weiter verwendet.

Zur Synthese von **3** wurde das Chloratom bei höheren Temperaturen durch Benzylamin substituiert und die Acetyl-Gruppen wurden nach einer in der Literatur bekannten Methode mit Natriummethanolat abgespalten.<sup>[103]</sup> Eine Anwendung dieser Methode direkt auf **7** lieferte das Produkt **4**, in dem das Chloratom durch die Methoxy-Gruppe ersetzt worden ist.<sup>[103]</sup>

### Biologische Evaluation

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wurde als primärer Aktivitätsscreen eine 35Sp::JAZ1-GUS-Reporterlinie verwendet. Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

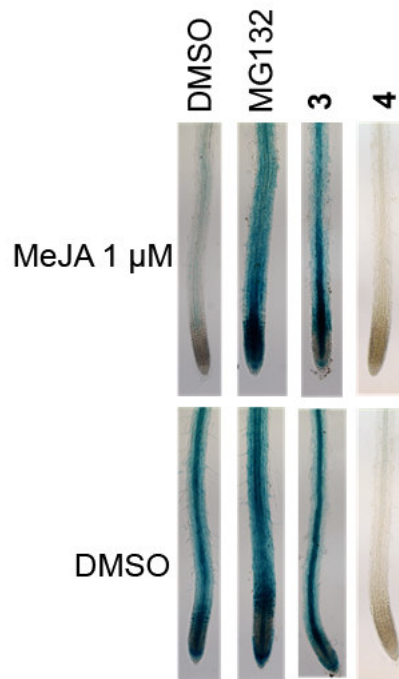


Abbildung 3.4: Biologische Evaluierung von **3** und **4**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Setzlinge der 35Sp::JAZ1-GUS-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des JAZ1-GUS Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle eingesetzt.

Für **4** ist in beiden Proben keine GUS-Aktivität zu sehen, so dass hier angenommen werden kann, dass dieses Derivat eventuell eine hohe Toxizität wie 5-Iodotubercidin zeigt. Bei **3** ist die Aktivität ähnlich wie bei MG132 und dies spricht für eine gute Aktivität (vgl. Abb. 3.4). Da die Vergrößerung an dieser Stelle vermutlich mit einer höheren Selektivität einhergeht, wurde diese Veränderung für die Entwicklung von allen folgenden Derivaten übernommen.

### 3.1.4 Veränderung der Hydroxyl-Gruppen der Ribose-Untereinheit

Als nächstes wurde eine Veränderung der Hydroxyl-Gruppen von der Ribose-Untereinheit verfolgt. Besonders die Derivatisierung an der 5-Position wurde als vielversprechend erachtet, da an dieser Stelle in biologischen Systemen oft Phosphorylierungen stattfinden, die zu weiteren biologischen Effekten führen können. Ein Verhindern der Phosphorylierungen an dieser Stelle hingegen könnte dazu führen, dass der Inhibitor im Vergleich zu 5-Iodotubercidin eine höhere Spezifität besitzt.

Ein Derivat, das keine funktionelle Gruppe an der 5-Position von der Ribose-Untereinheit besitzt, ist vermutlich die beste Wahl, um den Einfluss dieser Position zu untersuchen. Allerdings kann auch ein Derivat mit einem Mimetikum an dieser Position geeignet sein, um

diese Fragestellung zu beantworten. Eine Sulfamat-Gruppe könnte für diesen Zweck eine gute Wahl sein, da sie ein etabliertes Phosphatmimetikum darstellt.<sup>[104, 105]</sup> Außerdem wurde ein Derivat synthetisiert, bei welchem die Hydroxyl-Gruppe an der 5'-Position zur Carboxyl-Gruppe oxidiert wurde. Über diese Gruppe könnten später weitere Modifikationen eingebracht werden, die der Identifizierung des Zielproteins von 5-Iodotubercidin dienen, zum Beispiel ein Linker mit einer Reporter-Gruppe.

Die Strukturen von den Molekülen, die im Rahmen dieser Arbeit an der 5'-Hydroxyl-Gruppe derivatisiert wurden, sind in Abb. 3.5 gezeigt.

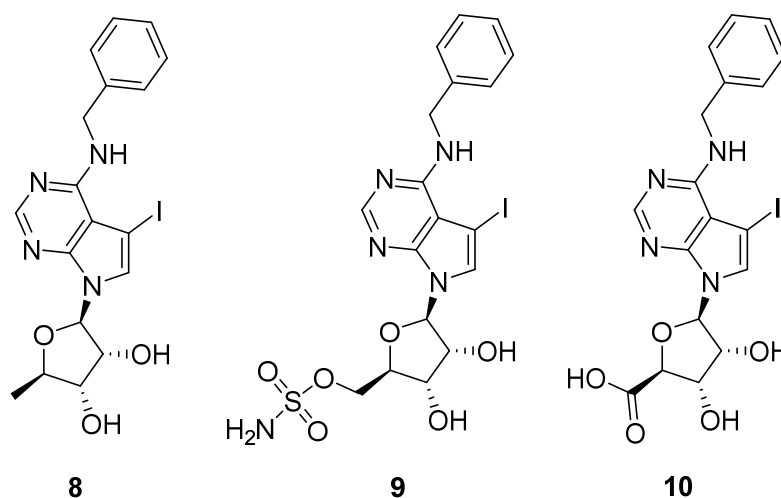


Abbildung 3.5: Struktur der Derivate mit Veränderung an der 5'-Hydroxyl-Gruppe.

## Synthese

Die Synthese des Derivates **8** wurde analog zur Synthese von **3** und wie in der Literatur beschrieben durchgeführt.<sup>[74]</sup> Bei der Substitution des Chlors durch Benzylamin stellte sich heraus, dass im Vergleich zur Synthese von **3** die Acetyl-Gruppen bereits in diesem Schritt abgespalten wurden, so dass eine Entschützung mit Natriummethanolat nicht notwendig war. So konnte **8** in einer Gesamtausbeute von 23 % über zwei Schritte erfolgreich dargestellt werden (vgl. Abb. 3.6).

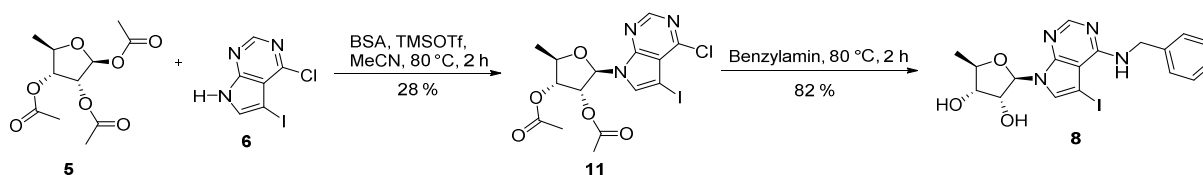


Abbildung 3.6: Syntheschema zur Darstellung des Derivates **8**.

Für die Synthese der Derivate **9** konnte von **3** ausgegangen werden. Die Hydroxyl-Gruppen an der 2- und 3-Position der Ribose-Untereinheit wurden zuerst als Ketal mit Dimethoxypropan und *para*-Toluolsulfonsäure als Katalysator geschützt. Das entstehende Zwischenprodukt wurde mit Aminosulfonylchlorid umgesetzt, das frisch aus Chlorosulfonyl-isocyanat und Ameisensäure hergestellt wurde. Nach der Hydrolyse des Ketals mit verdünnter HCl konnte **9** in einer Gesamtausbeute von 40 % über drei Stufen erhalten werden (vgl. Abb. 3.7).

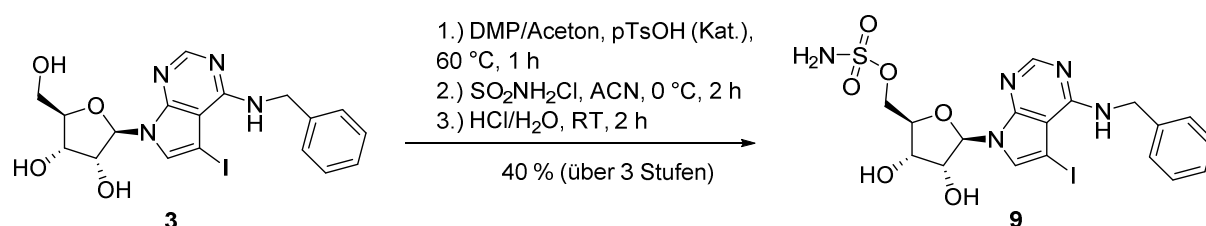


Abbildung 3.7: Syntheschema zur Darstellung des Derivates **9**.

Zur Darstellung von **10** wurde die Synthese von **3** mit einer größeren Menge wiederholt. Bei der Aufreinigung von **7** konnte wiederum **6** nicht vom Produkt abgetrennt werden. Bei der darauf folgenden Substitution mit Benzylamin konnte ebenfalls eine Verunreinigung auch nach mehreren säulenchromatographischen Aufreinigungen nicht abgetrennt werden. Glücklicherweise gelang es jedoch, die Ketalschätzung mit dem Gemisch durchzuführen, so dass **12** in 27 % über 4 Stufen erhalten werden konnte. Dies wurde anschließend analog zu einer Vorschrift von Van den Bos *et al.* oxidiert<sup>[100]</sup> und mit Hilfe von verdünnter HCl entschützt, so dass **10** in einer Gesamtausbeute von 19 % synthetisiert wurde (vgl. Abb. 3.8).

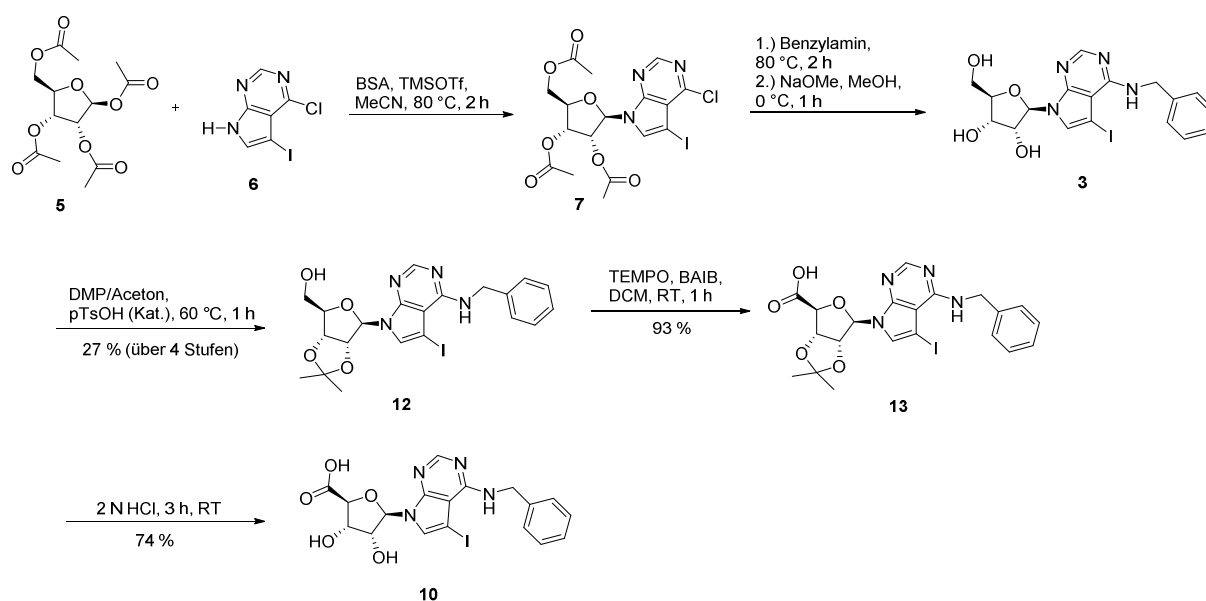


Abbildung 3.8: Syntheschema zur Darstellung des Derivates **10**.



## Biologische Evaluation

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wiederum die 35Sp::JAZ1-GUS-Reporterlinie verwendet (vgl. Abb. 3.9). Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

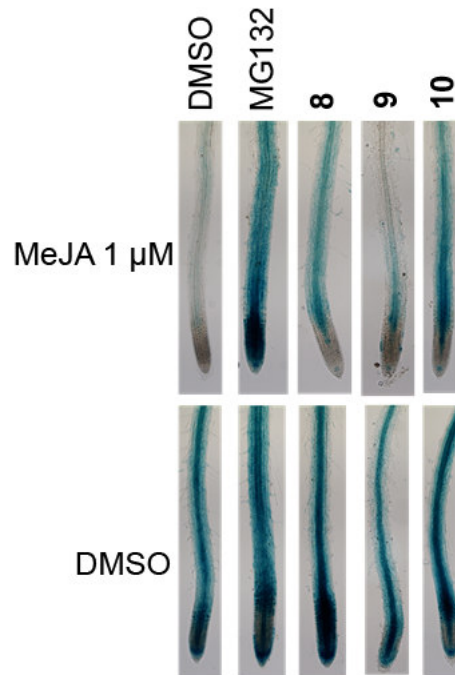


Abbildung 3.9: Biologische Evaluierung von **8**, **9** und **10**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Setzlinge der 35Sp::JAZ1-GUS-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des JAZ1-GUS Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle eingesetzt.

Es zeigte sich, dass das Sulfamat **9** seine inhibitorische Wirkung auf den JAZ-Abbau fast vollständig verloren hat. Dagegen zeigen sowohl **8** als auch **10** Aktivität (vgl. Abb. 3.9) und sind interessant für weitere Studien. Da **10** als mögliche Zwischenstufe zur Synthese von chemischen Sonden gedacht war, wurde sich bei den nächsten Experimenten auf **8** konzentriert.

### 3.1.5 Weitere Derivatisierung von **8**

Nachdem das Derivat **8** vielversprechende Bioaktivität im Reporterscreen gezeigt hatte, wurde versucht durch weitere Derivatisierung dessen biologische Aktivität noch zu erhöhen. Hierfür sollten neben der 5'-Position auch die 2'- und 3'-Positionen in der Ribose-Untereinheit derivatisiert werden. Um diese Fragestellung anzugehen, wurde ein Derivat synthetisiert, bei

dem diese beiden Positionen als Ketal modifiziert wurden. Hierfür wurde **8** benutzt und die beiden Hydroxyl-Gruppen analog zur Synthese von **13** zum Ketal in guter Ausbeute umgesetzt (vgl. Abb. 3.10).

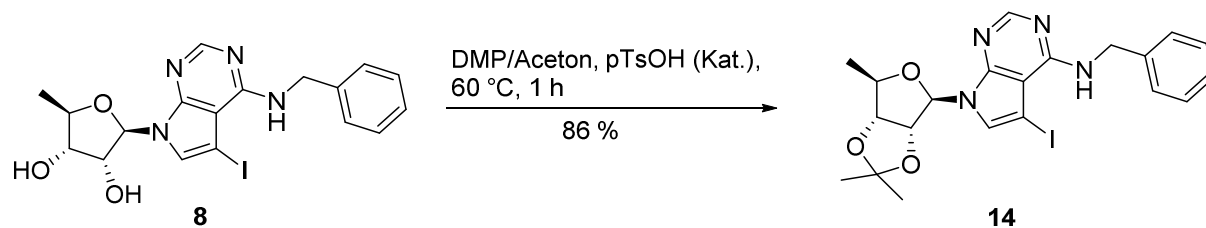


Abbildung 3.10: Syntheschema zur Darstellung des Derivates **14**.

Außerdem wurde ein Derivat synthetisiert, bei dem das Stickstoffatom der Benzylamin-Untereinheit durch ein Sauerstoffatom ausgetauscht wurde. Dazu wurde analog zur Synthese von **3** und **8** (vgl. Kap. 3.1.3, 3.1.4) vorgegangen und statt Benzylamin wurde hier Benzylalkohol als Reagenz verwendet (vgl. Abb. 3.11). Auch wenn aufgrund der geringeren Reaktivität des Benzylalkohols eine geringere Ausbeute bei gleichen Reaktionsbedingungen erwartet wurde, ist die mit 11 % erreichte Ausbeute sehr viel schlechter als bei den Synthesen von **3** und **8**. Dennoch reichte die hergestellte Menge aus, um alle biologischen Experimente durchzuführen, so dass die Reaktion nicht wiederholt wurde.

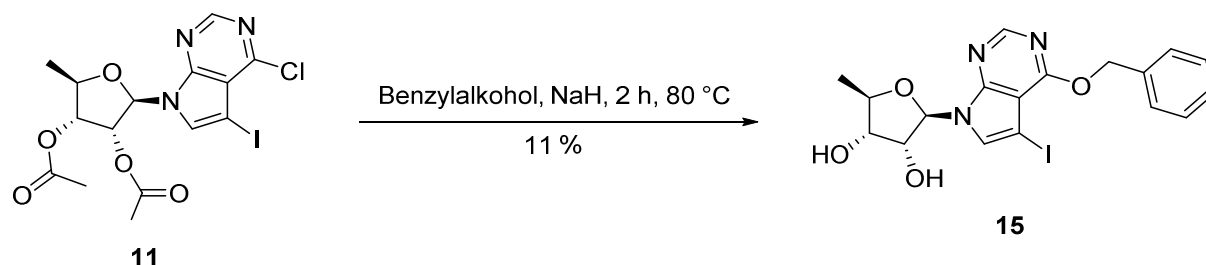


Abbildung 3.11: Syntheschema zur Darstellung des Derivates **15**.

## Biologische Evaluation

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wurde erneut die 35Sp::JAZ1-GUS Reporterlinie verwendet (vgl. Abb. 3.12). Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

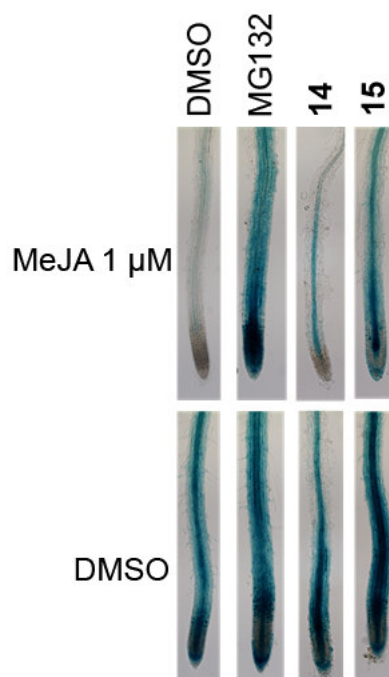


Abbildung 3.12: Biologische Evaluierung von **14** und **15**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Setzlinge der 35Sp::JAZ1-GUS-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden anschließend für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des JAZ1-GUS Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle verwendet.

Beim Derivat **14** ist nur eine schwache Färbung zu erkennen. Dies kann ein Indiz sein, dass die 2'- oder 3'-Position der Zucker-Untereinheit eine wichtige Rolle für die biologische Aktivität der Iodotubercidine spielt. Die GUS-Färbung ist bei **15** gut ausgeprägt und es kann daraus geschlossen werden, dass an dieser Stelle des Moleküls mindestens noch leichte Veränderungen ohne Verlust von biologischer Wirkung möglich sind.

### 3.1.6 Untersuchung von Alkinderivaten

Für eine mögliche Identifizierung der Zielproteine der Iodotubercidin-Derivate sollten Alkin-getaggte Varianten hergestellt werden. Alkine können mittels Click-Chemie leicht nach einer *in vivo*-Applikation funktionalisiert werden. Zu diesem Zweck wurde versucht an verschiedenen Stellen des Moleküls Alkin-Gruppen einzuführen, ohne dabei die biologische Aktivität zu verlieren. In Abb. 3.13 sind die vier Derivate gezeigt, die in diesem Zuge dargestellt wurden.

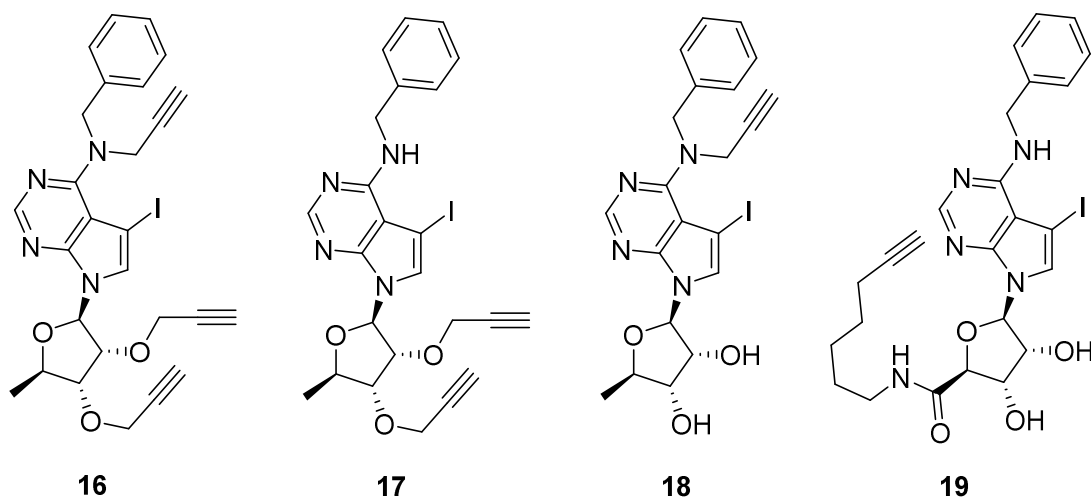


Abbildung 3.13: Synthetisierte Derivate mit Alkin-Gruppe.

## Synthese

Zuerst wurde das Derivat **16** ausgehend von **8** synthetisiert, wobei angenommen wurde, dass die beiden Hydroxyl-Gruppen nicht reaktiv genug sein würden. Nachdem ein erster Versuch mit  $\text{NEt}_3$  als Base fehlschlug, wurde die stärkere Base  $\text{NaH}$  verwendet. Dabei reagierten sowohl das sekundäre Amin als auch die beiden Hydroxyl-Gruppen, so dass in geringer Ausbeute **16** entstand (vgl. Abb. 3.14).

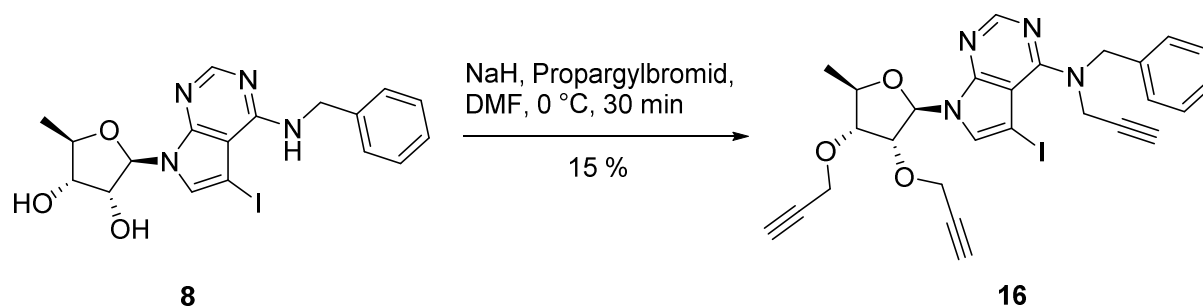


Abbildung 3.14: Syntheschema zur Darstellung von **16**.

Bei der Reaktion entstanden zwei Nebenprodukte, die nur zweifach substituiert waren. Jedoch konnte die Struktur von diesen nicht eindeutig zugeordnet werden, da die Substitution an den beiden 2'/3'-Hydroxyl-Gruppen in den NMR-Spektren nicht eindeutig voneinander zu unterscheiden war. Eine Erhöhung der Menge von  $\text{NaH}$  und Propargylbromid würde vermutlich zu einer besseren Ausbeute führen. Allerdings reichte die synthetisierte Menge **16** für alle biologischen Untersuchungen aus, so dass eine Wiederholung der Reaktion und Optimierung der Ausbeute nicht notwendig war.

Um das Problem der Mehrfachsubstituierung zu lösen, wurde versucht, das sekundäre Amin mit Hilfe der Boc-Gruppe selektiv zu schützen, so dass danach eine Alkylierung nur an den 2'- und 3'-Hydroxyl-Gruppen möglich sein würde. Die dazu durchgeführte Reaktion ist in Abb. 3.15 gezeigt.

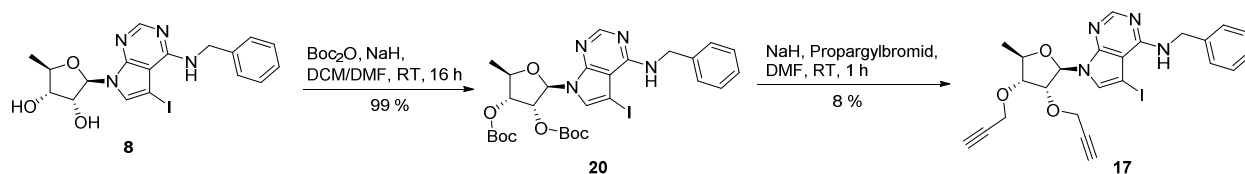


Abbildung 3.15: Syntheschema zur Darstellung von Derivat **17**.

Wider Erwarten fand die Boc-Schützung nicht an dem sekundären Amin statt. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum war das Signal für das Proton am sekundären Amin klar erkennbar und die Daten aus dem LC-MS-Spektrum weisen auf die Einführung von zwei Boc-Gruppen hin, so dass die Boc-Schützung an den beiden Alkoholen erfolgt sein muss. Bei der anschließenden Alkylierung war die Boc-Gruppe an den Alkoholen nicht stabil und es erfolgte eine zum Teil unvollständige Substitution sowohl an den beiden Hydroxyl-Gruppen als auch am sekundären Amin. Neben dem dreifach substituierten **16** konnte am Ende dieser Reaktionssequenz auch noch **17** in sehr schlechter Ausbeute isoliert und dessen Struktur mit Hilfe von  $^1\text{H-NMR}$ -Messungen bestätigt werden.

Als nächstes wurde eine selektive Alkylierung am sekundären Amin probiert. Dazu wurde das Ketal **14** wie bei den anderen Derivaten alkyliert. Jedoch war die Umsetzung auch bei viel längeren Reaktionszeiten nicht vollständig. Nach der Entschützung mit verdünnter  $\text{HCl}$  konnte das gewünschte Derivat **18** dargestellt werden (vgl. Abb. 3.16). Die Struktur des Moleküls wurde durch  $^1\text{H-NMR}$ -Messungen verifiziert.

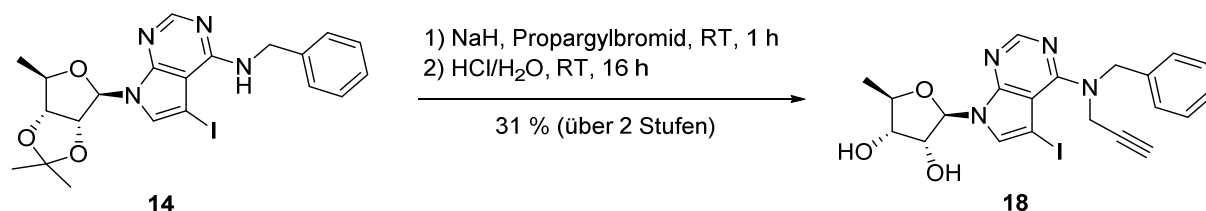


Abbildung 3.16: Syntheschema zur Darstellung von Derivat **18**.

Sowohl die Alkylierung als auch die Entschützung verliefen in mehreren Versuchen dieser Synthese nicht vollständig, daher ist die Ausbeute bei der Synthese dieses Derivates gering. Durch Optimierung der Reaktionsbedingungen könnte sie vermutlich deutlich gesteigert

werden, allerdings war die dargestellte Menge von **18** genug, um alle biologischen Analysen durchführen zu können. So wurde auf eine Optimierung der Synthese verzichtet.

Wie in Kap. 3.4 beschrieben, kann eine Carboxyl-Gruppe an der 5-Position der Ribose-Untereinheit sehr gut dazu genutzt werden, das Molekül über eine Peptid-Kupplung mit einem Linker inklusive einer Reporter-Gruppe zu verbinden. Der Linker wurde durch eine Reduzierung von 6-Heptynnitril mit  $\text{LiAlH}_4$  vorbereitet, so dass er anschließend mit **13** mit Hilfe von PyBOP und HOBT verknüpft werden konnte. Trotz Einsatz des starken Kupplungsreagens PyBOP fand bei dieser Reaktion keine vollständige Umsetzung statt. Durch Entfernen der Schutzgruppe konnte **19** in 22 % Ausbeute erhalten werden (vgl. Abb. 3.17).

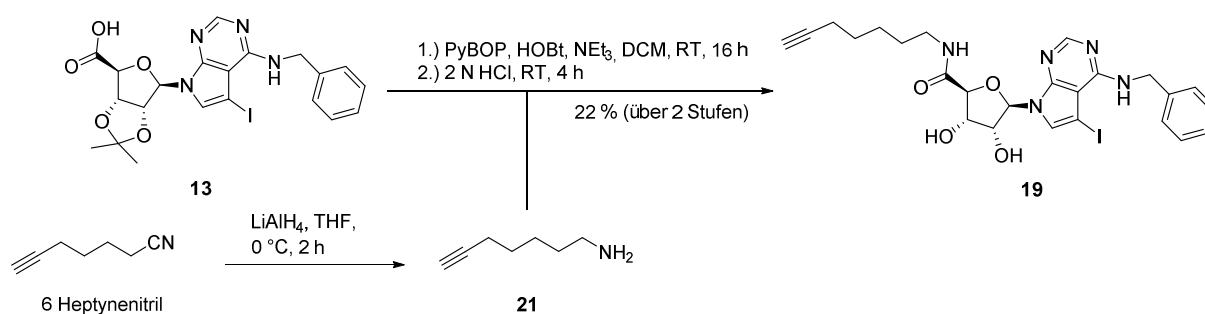


Abbildung 3.17: Syntheschema zur Darstellung des Derivates **19**.

Insgesamt musste festgestellt werden, dass die Ausbeuten bei allen vier Synthesen nicht zufriedenstellend waren. Sofern eine Darstellung größerer Mengen notwendig wäre, müsste daher eine Optimierung der Reaktionen vorgenommen werden. Zum jetzigen Zeitpunkt war dies jedoch noch nicht notwendig.

## Biologische Evaluation

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wurde die 35Sp::JAZ1-GUS-Reporterlinie zur Evaluierung der Bioaktivität verwendet (vgl. Abb. 3.18). Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

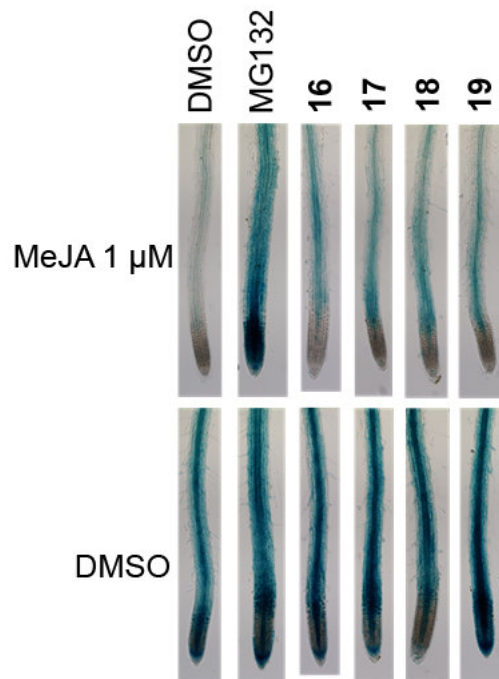


Abbildung 3.18: Bestimmung der Bioaktivität von **16**, **17**, **18** und **19**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Setzlinge der 35Sp::JAZ1-GUS-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des JAZ1-GUS Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle eingesetzt.

Es konnte beobachtet werden, dass alle Derivate in dieser Reihe eine gewisse Aktivität zeigen, die aber nicht so stark war wie der bekannte Inhibitor MG132. Dennoch scheinen alle Derivate geeignet zu sein, um zusammen mit einer noch in das Molekül einzubringenden photoreaktiven Gruppe für ein Photoaffinitätslabeling einsetzbar zu sein.

### 3.1.7 Untersuchung von Monoazidderivaten

Um eine kovalente Bindung einer nicht-kovalent bindenden chemischen Sonde zu erreichen, werden oft mit photoreaktiven Gruppen modifizierte Substanzen eingesetzt. Daher wurde auch im Rahmen dieses Projektes die Möglichkeit untersucht, ein Derivat von 5-Iodotubercidin mit einer solchen Gruppe zu synthetisieren. Dabei sollte die photoreaktive Gruppe an einer Stelle ins Molekül eingebracht werden, welche nicht mit einer möglichen Position für die Alkin-Gruppe kollidiert. In der Regel werden als photoreaktive Gruppen Benzophenone, arylische Azide oder Diazirine verwendet (vgl. Kap. 1.1.3). Da Benzophenon im Vergleich zum Iodotubercidin eine eher große Gruppe ist, wurde der Einsatz dieser Gruppe nicht verfolgt. Das arylische Azid wurde dem Diazirin vorgezogen, weil ein Benzylring bereits bei den

Benzylaminderivaten vorliegt und somit die Synthese eines Derivates nach Herstellung eines entsprechenden Benzylamins, das ein arylisches Azid enthält, leicht möglich sein sollte. Die hierfür dargestellten Derivate sind in Abb. 3.19 gezeigt:

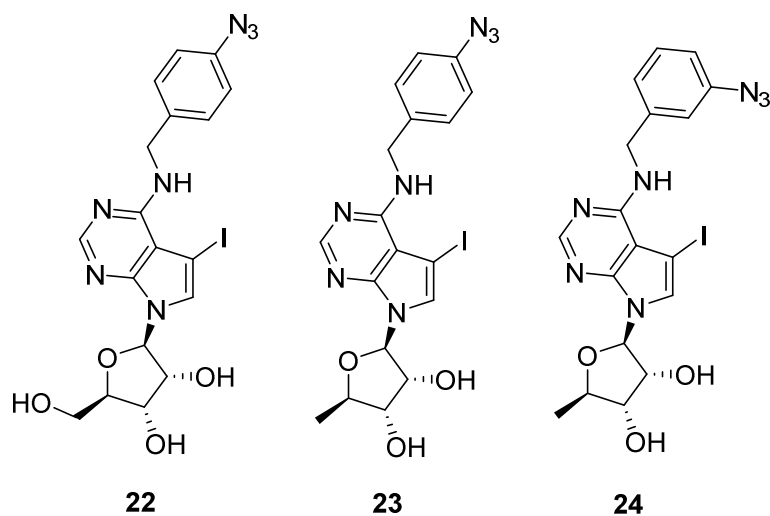


Abbildung 3.19: Struktur der synthetisierten Monoazidderivate **22**, **23** und **24**.

## Synthese

Zur Synthese dieser Derivate wurden zuerst die arylischen Azide als Bausteine mit einem freien, primären Amin hergestellt. Die Synthese beider Bausteine ist bereits in der Literatur beschrieben<sup>[106, 107, 108]</sup> und erfolgte in Anlehnung an diese (vgl. Abb. 3.20).

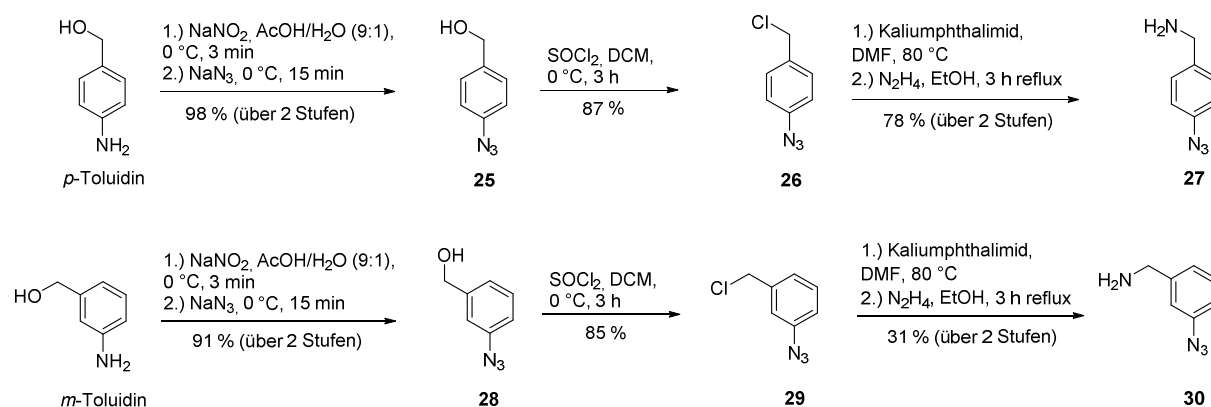


Abbildung 3.20: Synthese der beiden Bausteine **27** und **30**.

Das entsprechende Toluidin wurde in einer Diazotierung mit  $\text{NaNO}_2$  umgesetzt und die Diazo-Gruppe anschließend durch das Azid ersetzt. Die Hydroxyl-Gruppe wurde mit Hilfe von Thionylchlorid in ein Benzylchloridderivat überführt. Das Chlorid wurde anschließend mittels



einer Gabriel-Synthese durch den Einsatz von Kaliumphthalimid und Hydrazin in das primäre Amin umgewandelt.

Die Kupplung der Bausteine erfolgte analog zu den Benzylaminderivaten über die Substitution des Chlors von **3** durch den entsprechenden Baustein (vgl. Kap. 3.1.3, vgl. Abb. 3.21).

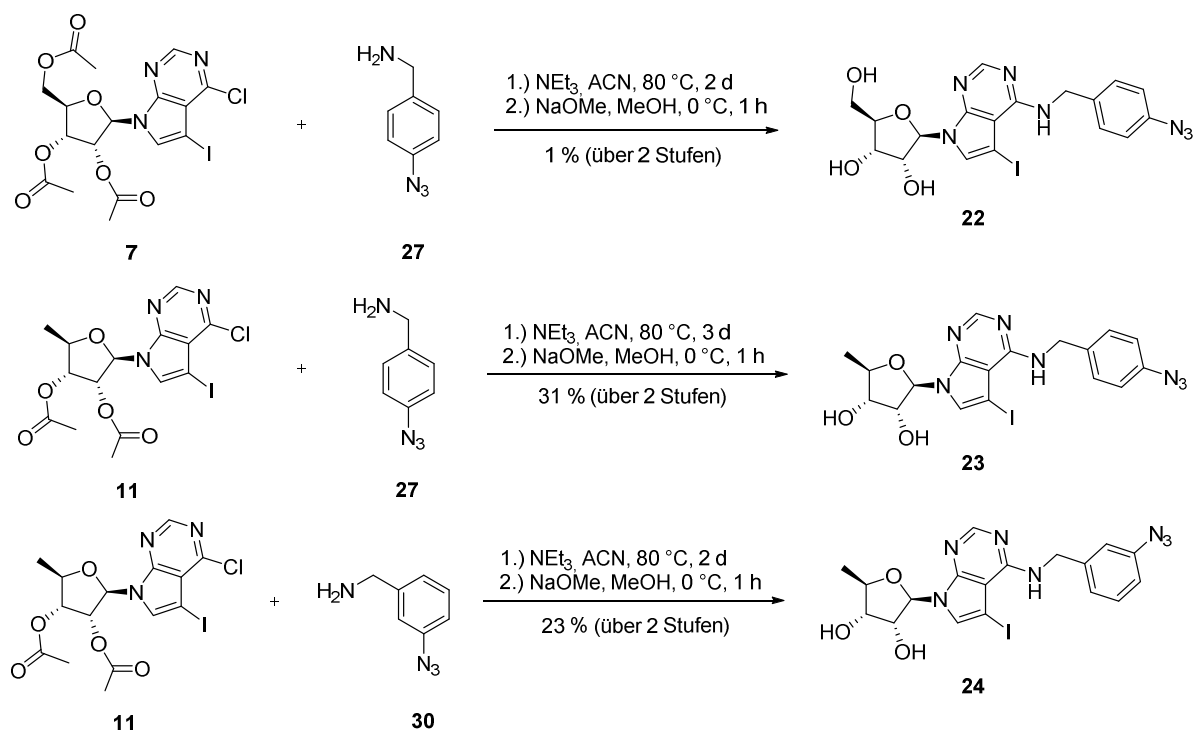


Abbildung 3.21: Synthese der Monoazide **22**, **23** und **24**.

Dabei wurde festgestellt, dass die Ausbeute trotz deutlich längerer Reaktionszeiten viel schlechter ist als bei der entsprechenden Reaktion mit Benzylamin. Dies könnte daran liegen, dass Benzylamin als Lösungsmittel und somit im viel höheren Überschuss eingesetzt wurde als bei den Reaktionen mit den Monoaziden.

### Biologische Evaluation

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wurde die bekannte 35Sp::JAZ1-GUS-Reporterlinie benutzt (vgl. Abb. 3.22). Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

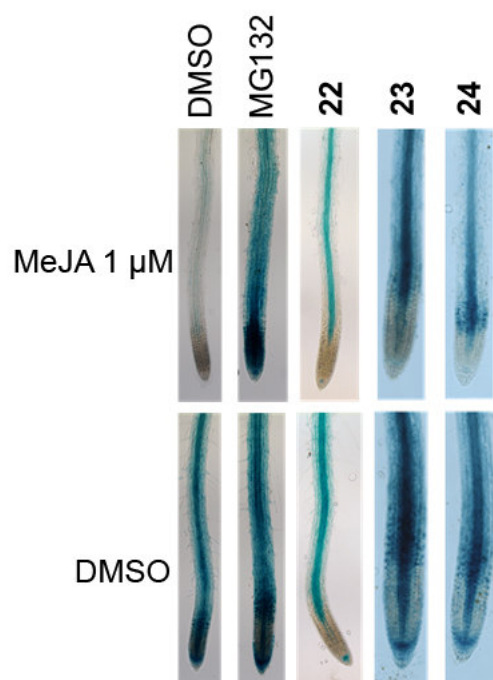


Abbildung 3.22: Evaluierung der biologischen Aktivität von **22**, **23** und **24**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Setzlinge der 35Sp::JAZ1-GUS-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des JAZ1-GUS Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle verwendet.

Alle drei Derivate scheinen Aktivität zu besitzen, aber bei **24** ist diese offenbar schwächer ausgeprägt als bei den anderen beiden Derivaten. Somit kann angenommen werden, dass sich die *para*-Position für eine photoreaktive Gruppe besser eignet als die *meta*-Position.

### 3.1.8 Synthese und Analyse einer ersten chemischen Sonde

Aufbauend auf den Ergebnissen aus den Alkin- und Monoazidderivaten wurde nun eine chemische Sonde entwickelt, die sowohl eine Alkin-Gruppe zur Click-Chemie als auch ein arylisches Azid als photoreaktive Gruppe enthielt. Die Synthese ging dabei von dem bereits dargestellten Derivat **23** aus und erfolgte analog zu dem Syntheschema für das Alkinderivat **18** (vgl. Kap. 3.1.6; vgl. Abb. 3.23).

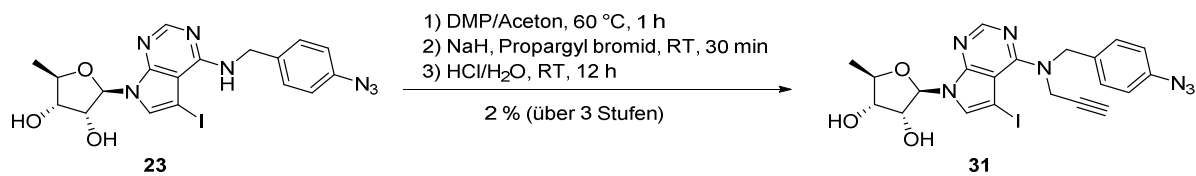


Abbildung 3.23: Synthese der chemischen Sonde **31**.

Es zeigte sich wieder, dass nur eine sehr schlechte Ausbeute erzielt werden konnte. Durch den Einsatz einer hinreichend großer Menge **23** konnte jedoch genug **31** hergestellt werden, um alle biologischen Analysen durchführen zu können. So konnte auf eine Optimierung der Reaktionsbedingungen und Steigerung der Ausbeute in dieser Reaktion verzichtet werden.

### Biologische Evaluation der chemischen Sonde

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wurde die 35Sp::JAZ1-GUS Reporterlinie zur Evaluierung der Bioaktivität von **31** verwendet (vgl. Abb. 3.24). Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

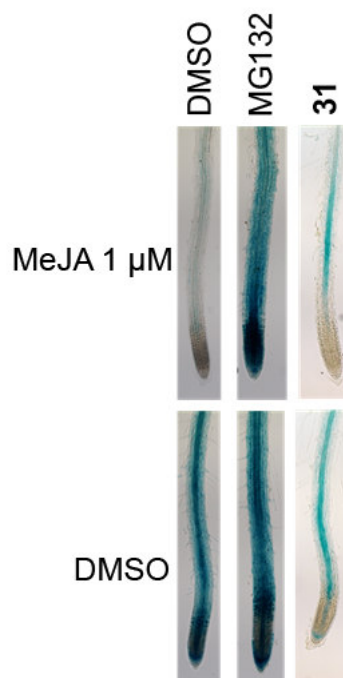


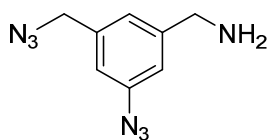
Abbildung 3.24: Evaluierung der Bioaktivität von **31**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Setzlinge der 35Sp::JAZ1-GUS-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des JAZ1-GUS Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle eingesetzt.

Der Assay zeigte, dass der Abbau des JAZ1-GUS-Fusionsproteins effektiv gehemmt wurde. Allerdings wurde insgesamt nur wenig JAZ1-GUS gebildet, wie sich in der DMSO-Kontrolle ohne MeJA-Induktion zeigt, so dass die Verbindung vielleicht insgesamt toxisch für die Pflanzen ist. Diese Eigenschaften könnten eine Anwendung als chemische Sonde negativ beeinflussen und daher sollte mit Hilfe einer anderen Synthesestrategie eine besser geeignete chemische Sonde dargestellt werden.

### 3.1.9 Darstellung von Diazidderivaten als weitere chemische Sonden

Neben der Kombination aus Alkin- und Monoazidderivaten wurde nach einer zweiten Möglichkeit gesucht, ein Derivat zu synthetisieren, das als photoreaktive chemische Sonde genutzt werden kann. Bei der Click-Chemie ist es nicht entscheidend, ob die Alkin- oder die Azid-Gruppe am Inhibitor sitzt, solange Reporter-Gruppen mit jeder der beiden Gruppen zur Click-Reaktion verfügbar sind. Daher ist die Synthese von Azidderivaten von gleichem Interesse wie die von den Alkinderivaten.

In der Literatur sind Diazide bekannt, die neben einem aliphatischen Azid zur Click-Chemie auch ein arylisches Azid enthalten, das als photoreaktive Gruppe benutzt werden kann.<sup>[109-111]</sup> Anhand dieser Daten wurde eine Synthese von einem geeigneten Diazid entwickelt (vgl. Abb. 3.25).



**32**

Abbildung 3.25: Struktur des Diazids **32**.

Das Diazid kann analog zu Benzylamin als Aminkomponente in der Substitution des Chlor-Atoms des Zwischenproduktes **11** eingesetzt werden (vgl. Kap. 3.1.4).

Die Synthese des zur Darstellung benötigten Diazids **32** ging vom kommerziell erhältlichen Dimethyl-5-aminoisophthalat (**33**) aus und das Syntheschema ist in Abb. 3.26 gezeigt. Dabei waren alle Schritte bis auf den letzten in der Literatur bereits beschrieben.<sup>[109-111]</sup>

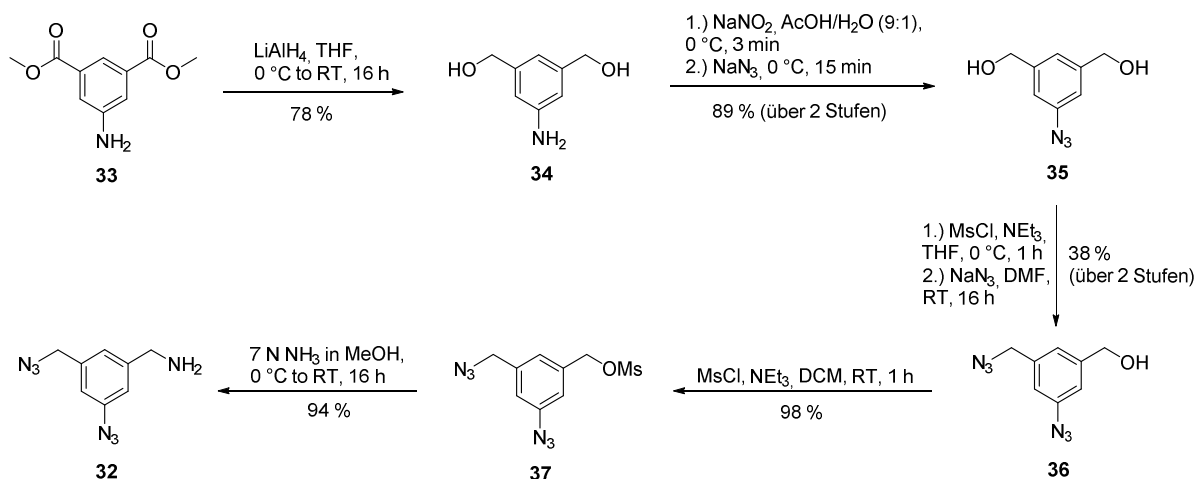


Abbildung 3.26: Synthese des Diazids **32**.

Der Methylester wurde im ersten Schritt mit Hilfe von Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol reduziert. Anschließend erfolgte die Diazotierung des Amins mittels Natriumnitrit, so dass die Diazo-Gruppe nach Zugabe von Natriumazid durch die Azid-Gruppe in sehr guter Ausbeute ausgetauscht werden konnte. Die Aktivierung der ersten Hydroxyl-Gruppe im vierten Schritt der Synthese wurde im Gegensatz zur Literatur nicht mit Tetrabrommethan und Triphenylphosphin durchgeführt, sondern mit 1 eq. Mesylchlorid, weil dies zum Zeitpunkt der Synthese einfacher und schneller verfügbar war als Tetrabrommethan. Das Mesylat, das im Gegensatz zur Hydroxyl-Gruppe eine sehr gute Abgangsgruppe darstellt, wurde dann durch eine Azid-Gruppe substituiert. Da die zweite Hydroxyl-Gruppe durch Mesylchlorid genauso gut aktiviert und somit zum Azid umgeformt werden kann, wurde hier trotz Einsatz von äquimolarer Mengen leider nur eine schlechte Ausbeute erzielt. Die verbleibende Hydroxyl-Gruppe wurde im nächsten Reaktionsschritt wieder mit Mesylchlorid in eine gute Abgangsgruppe umgewandelt, die im letzten Schritt durch einen Überschuss Ammoniak substituiert wurde. Dies führte zum gewünschten Diazid **32**, welches in einer Gesamtausbeute von 25 % dargestellt werden konnte.

Die Kupplung des Diazids mit dem Zwischenprodukt **11** wurde unter den Standard-Reaktionsbedingungen durchgeführt, allerdings war die Ausbeute mit nur 23 % deutlich schlechter als bei früheren Umsetzungen. Auch die Entschützung der Acetylgruppen nach derselben Vorschrift wie bei den anderen Derivaten verlief nur in mäßiger Ausbeute (vgl. Abb. 3.27). Dennoch konnte das gewünschte Derivat **39** in ausreichender Menge hergestellt werden, um alle biologischen Analysen durchführen zu können.

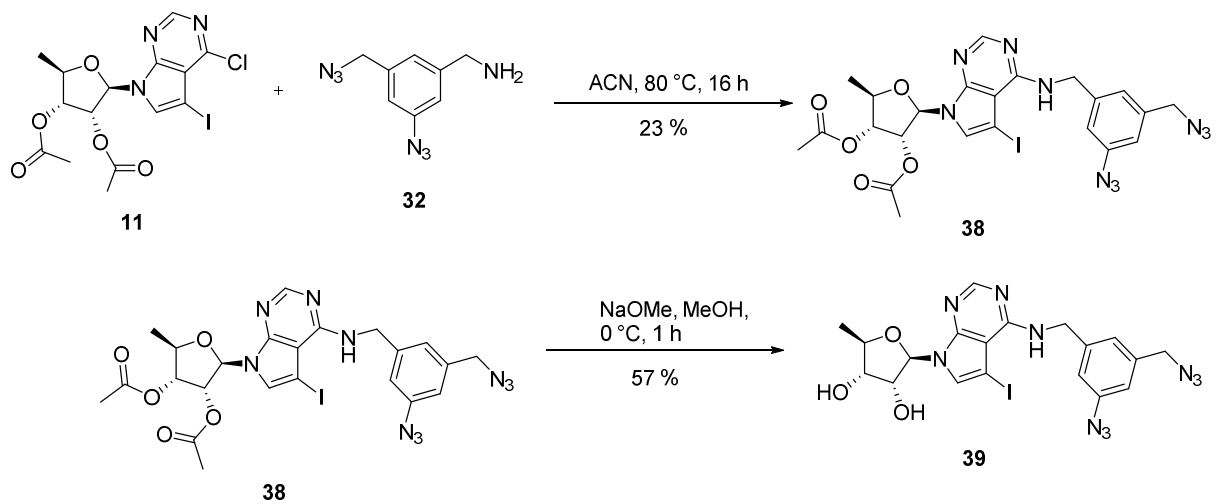


Abbildung 3.27: Synthese von **38** und **39**.

### Biologische Evaluation der Diazidderivate

Wie in Kap. 3.1.2 beschrieben, wurde die 35Sp::JAZ1-GUS Reporterlinie benutzt (vgl. Abb. 3.28). Dieses Experiment wurde in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman durchgeführt.

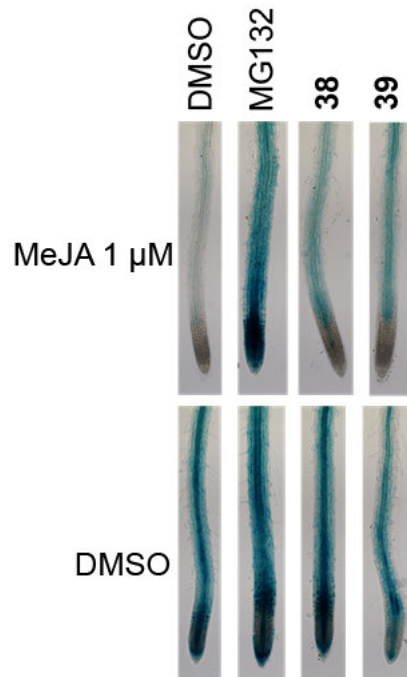


Abbildung 3.28: Evaluierung der biologischen Aktivität von **38** und **39**. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana*-Setzlinge der 35Sp::*JAZ1-GUS*-Pflanzenlinie wurden für 1 h mit den entsprechenden Substanzen im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Degradation des *JAZ1-GUS* Fusionsproteins zu induzieren. Um die Anwesenheit des Fusionsproteins zu bestimmen, wurden die Setzlinge in eine GUS-Lösung gesetzt, die X-Gluc enthielt, und über Nacht inkubiert. MG132 wurde als Positivkontrolle verwendet.

Beim Derivat **38** ist nur eine schwache Färbung zu erkennen. Dies passt zur Vermutung, dass die 2'- und 3'-Position von der Ribose-Untereinheit für die biologische Aktivität des Moleküls benötigt werden. Das Derivat **39** scheint hingegen etwas aktiver zu sein, auch wenn es nicht so stark wie MG132 wirkt. Dennoch könnte es sich als chemische Sonde zur Identifizierung des Zielproteins eignen.

### 3.1.10 Weitere biologische Experimente

Zur Validierung der Ergebnisse aus dem primären Reporterlinienscreen wurde ein zweiter, unabhängiger Screen durchgeführt, der auch auf dem GUS-Reporter basiert (vgl Kap. 3.1.2). Dafür wurde eine Pflanzenlinie mit einem *VSP1p::GUS* (*VSP1*: *vegetative storage protein 1*) Reporter verwendet. Die Expression von *VSP1* ist ein bekannter Marker für die Induktion des Jasmonatsignalweges und das entsprechende Reportersystem wurde bereits häufiger zur Evaluierung des Einflusses chemischer Substanzen auf den Jasmonatsignalweg verwendet.<sup>[112]</sup> Zur Quantifizierung der Reporterlinie wurde eine vor kurzem entwickelte Methode benutzt, die eine semi-quantitative Messung der GUS-Aktivität *in situ* erlaubt. Dabei wird

4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronid (4-MUG) durch GUS in 4-Methylumbelliferon umgewandelt, dessen Fluoreszenz direkt in der Lösung detektiert werden kann.<sup>[113]</sup>

Da die Bibliothek der synthetisierten Derivate insgesamt nicht zu groß war und die Methode sich auch als *High-Throughput-Screen* eignet, wurden nicht nur die Treffer aus dem primären Screen, sondern fast alle Derivate getestet.

Dazu wurden 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana*-Pflanzen der VSP1p::GUS-Reporterlinie mit dem entsprechenden Derivat versetzt und mit MeJA induziert. Nachdem die GUS-Expression über Nacht stattfinden konnte, wurden die Pflanzen lysiert und die Fluoreszenz gemessen. Als Kontrollen wurden Pflanzen nur mit DMSO behandelt und ohne Zusatz eines Derivats nur mit MeJA induziert. Die Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Mohamed Suliman aus der Erich Kombrink Gruppe durchgeführt und die Ergebnisse sind in Abb. 3.29 dargestellt.

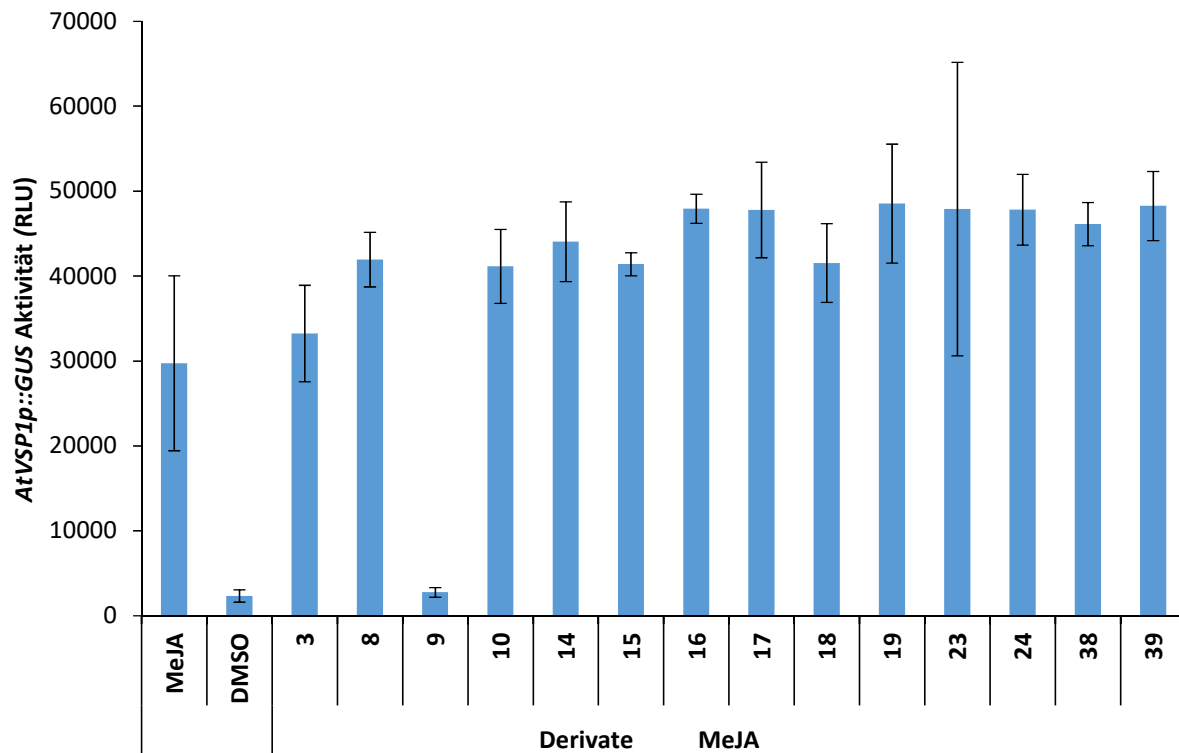


Abbildung 3.29: Ergebnisse des sekundären VSP1p::GUS Screen der synthetisierten 5-Iodotubercidin-Derivate. 12-14 Tage alte *Arabidopsis thaliana*-Setzlinge, die den VSP1p::GUS Reporter enthielten, wurden für 1 h mit der entsprechenden Substanz im Medium inkubiert. Die Setzlinge wurden für 1 h mit oder ohne MeJA behandelt, um die Expression des GUS-Reporters zu induzieren. Nach Entfernen des Mediums wurden die Setzlinge mit Lysis-Puffer versetzt, der 4-MUG enthält. Die Messwerte der Fluoreszenz sind in relativen Lichteinheiten (RLU) angegeben und sind Mittelwerte von mindestens vier biologischen Replikaten.



Beim sekundären Screen zeigten überraschenderweise fast alle Derivate keine Wirkung, da die Fluoreszenz ähnlich stark war wie bei der Kontrolle, die mit MeJA induziert wurde und kein Derivat enthielt. Nur bei Zugabe von **9** trat eine signifikante Reduktion der Fluoreszenz auf. Dies könnte eine inhibitorische Wirkung dieses Derivates auf den JA-Signalweg andeuten. Allerdings war dieses Derivat beim primären Screen nicht aktiv, so dass die Ergebnisse beider Screens für diese Substanz widersprüchlich zueinander sind. Eine Erklärung für diesen Widerspruch konnte nicht gefunden werden und es wurde versucht, durch weitere Experimente mehr Erkenntnisse über die vielversprechendsten Derivate zu gewinnen.

Zuerst wurde hierzu das Wurzelwachstum untersucht, da dies einer der besten untersuchten physiologischen Effekte von JA ist.<sup>[50, 114]</sup> Dazu wurden Samen von *Arabidopsis thaliana* im Medium, welches mit dem entsprechenden 5-Iodotubercidin-Derivat versetzt wurde, für neun Tage nach dem Keimen inkubiert und danach Bilder der Pflanzen aufgenommen. Diese wurden nach einer in der Literatur bekannten Methode ausgewertet.<sup>[18, 115]</sup> Als Negativkontrolle dient eine Pflanze, die mit DMSO statt einem Derivat behandelt wurde, und als Positivkontrolle eine Pflanze, bei der 5-Iodotubercidin zugesetzt wurde (vgl. Abb 3.30). Diese Experimente wurden in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Christian Meesters durchgeführt.

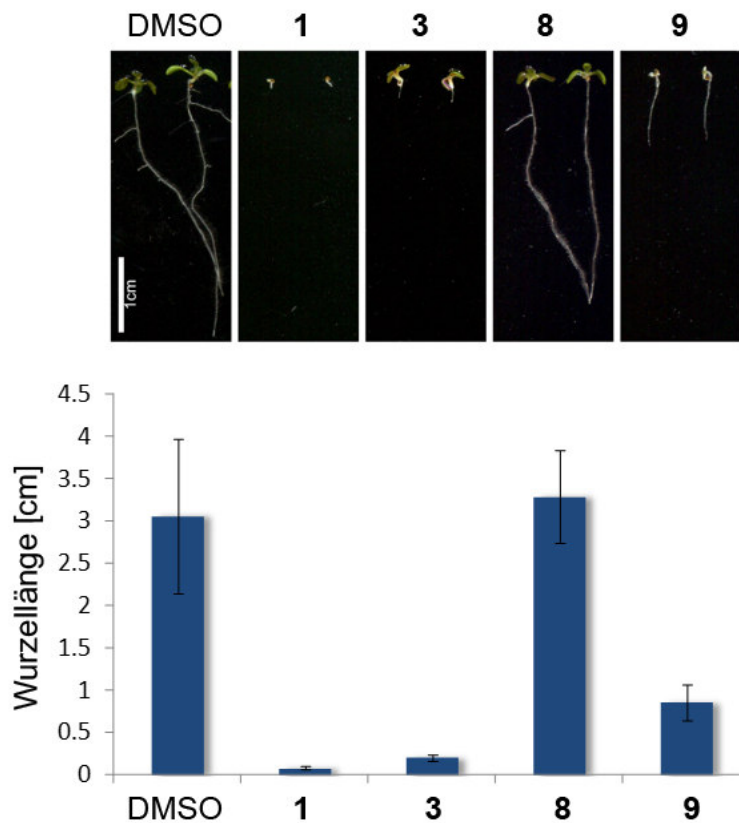


Abbildung 3.30: Wurzelwachstum von *Arabidopsis thaliana* unter Einfluss von verschiedenen synthetisierten Derivaten von 5-Iodotubercidin. Samen von *Arabidopsis thaliana* wurden in Anwesenheit der entsprechenden Substanz für neun Tage nach der Keimung inkubiert, bevor Bilder der Pflanzen aufgenommen wurden. Die Wurzellänge wurde mit Hilfe der Software ImageJ bestimmt. <sup>[18, 115]</sup>

Das Derivat **3** zeigte eine ähnlich starke Inhibition des Wurzelwachstums wie 5-Iodotubercidin, während bei **8** keine Veränderung in der Wurzellänge zu beobachten war und die Pflanze gesund erschien. Bei Zugabe von **9** waren die Wurzeln nicht so lang wie bei der DMSO-Kontrolle, aber auch nicht so kurz wie bei 5-Iodotubercidin. Allerdings sah die Pflanze nicht vollständig gesund aus und das Blattwachstum schien kaum ausgeprägt zu sein. Da bekannt ist, dass 5-Iodotubercidin für die Pflanzen stark giftig und sogar tödlich sein kann, wurden die Pflanzen nach Aufnahme der Bilder ohne Anwesenheit der Inhibitoren weiter wachsen gelassen. Dabei zeigte sich innerhalb von 30 Tagen eine deutliche Erholung der Pflanze, die mit **3** behandelt wurde, so dass hier vermutet werden kann, dass der Effekt von **3** reversibel ist und dieses Derivat ungiftiger ist als 5-Iodotubercidin. Bei den anderen Pflanzen konnte keine Veränderung beobachtet werden.

Um mögliche Zielproteine von **8** zu finden, wurden 14 Tage alte *Arabidopsis thaliana* Pflanzen für 24 Stunden mit **8** behandelt und anschließend mit Hilfe einer *full proteome analysis* untersucht. Als Negativkontrolle wurde DMSO verwendet. Der biologische Teil der Experimente wurden in enger Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für

Pflanzenzüchtungsforschung Köln von Dr. Vivek Halder durchgeführt und die massenspektrometrische Analyse von Dr. Farnusch Kaschani. Um eine sinnvolle statistische Auswertung zu ermöglichen, wurde die massenspektrometrische Analyse mit drei Replikaten durchgeführt. Für die statistische Auswertung wurde ein t-Test verwendet.

In Abb. 3.31 ist die Veränderung der gemessenen Proteine gegenüber der DMSO-Kontrolle als Vulcano-Plot gezeigt. Die Proteine mit der signifikantesten und stärksten Veränderung sind rot markiert und die Proteine, von denen eine Reaktion auf die Behandlung mit JA bekannt ist, in blau.

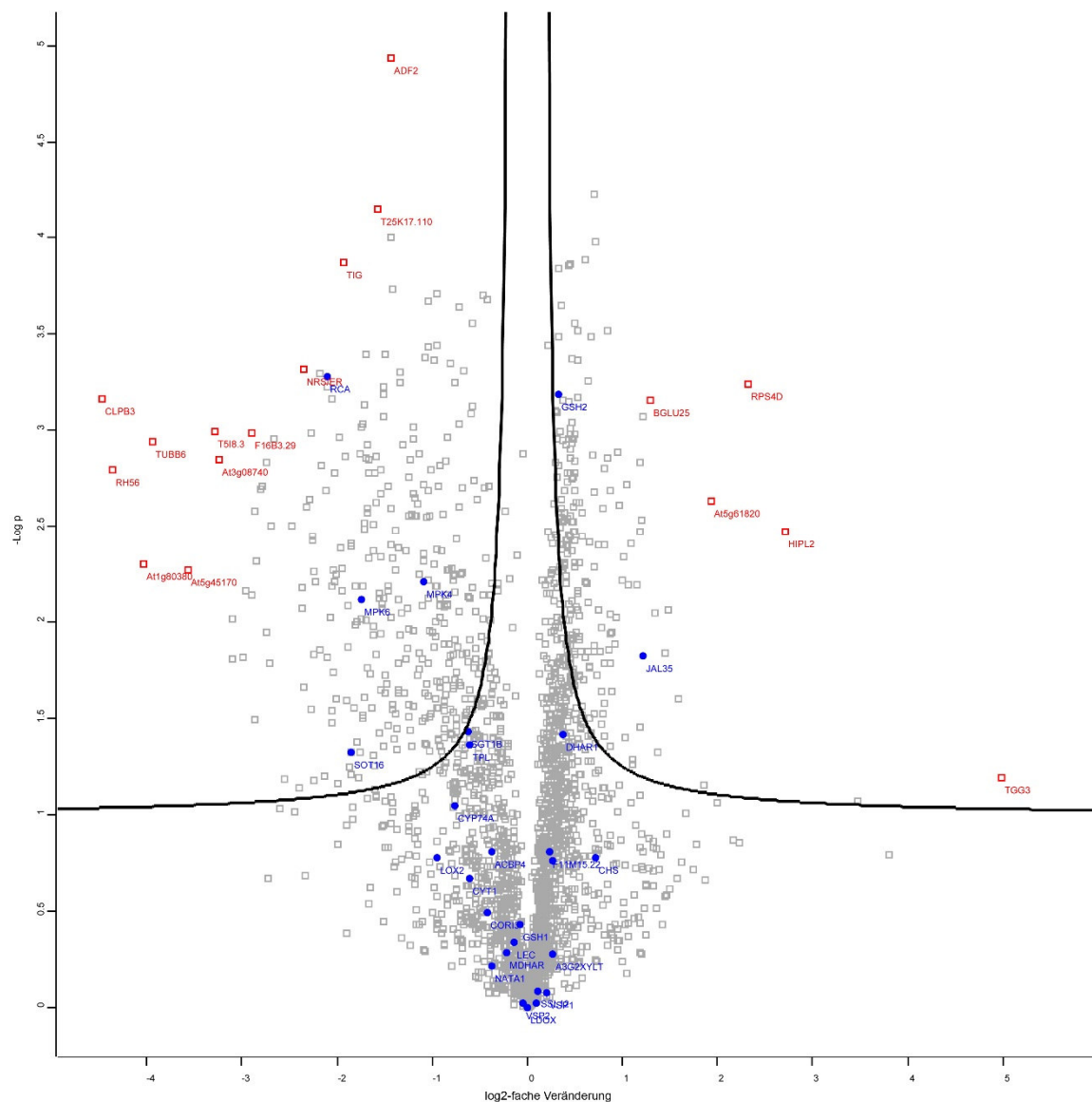


Abbildung 3.31: Vulcano-Plot einer *full proteome analysis* nach Zugabe von **8** auf *Arabidopsis thaliana*-Pflanzen. Rote Markierung: Hervorgehoben wurden die am stärksten und signifikantesten veränderten Proteine nach Zugabe von **8**, blaue Markierung: JA-Response-Proteine.

Es wurde erwartet, dass bei einem Einfluss von **8** auf den JA-Signalweg die Menge der blau markierten Proteine signifikant unterschiedlich ist. Da dies bei der durchgeführten Messung nicht der Fall ist, scheint **8** keinen einfachen Einfluss auf den JA-Signalweg zu besitzen, sondern andere Proteine zu beeinflussen.

Bei der Auswertung der Daten zeigte sich jedoch unerwarteterweise eine auffallend starke Ähnlichkeit mit den Daten aus einem Experiment, bei dem *Arabidopsis thaliana*-Pflanzen in einem ähnlichen Experiment mit dem Naturstoff Rotihibin A (Rot A) inkubiert wurden. Rotihibin A zeigt wie **8** eine Hemmung des Wurzelwachstums von Pflanzen<sup>[116, 117]</sup> und eine Totalsynthese konnte vor kurzem in dieser Arbeitsgruppe erfolgreich abgeschlossen werden.<sup>[118]</sup>

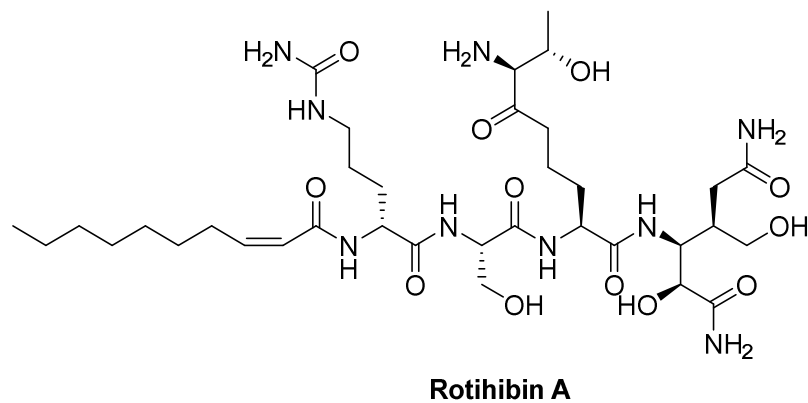


Abbildung 3.32: Struktur von Rotihibin A.

Um genauer die Übereinstimmung zwischen einer **8**- und Rot A-Inkubation zu bestimmen, wurden ein entsprechender Vulcano-Plot der Rot A-Analyse erstellt und alle auch mit **8** signifikant veränderten Proteine blau dargestellt (vgl. Abb. 3.33).

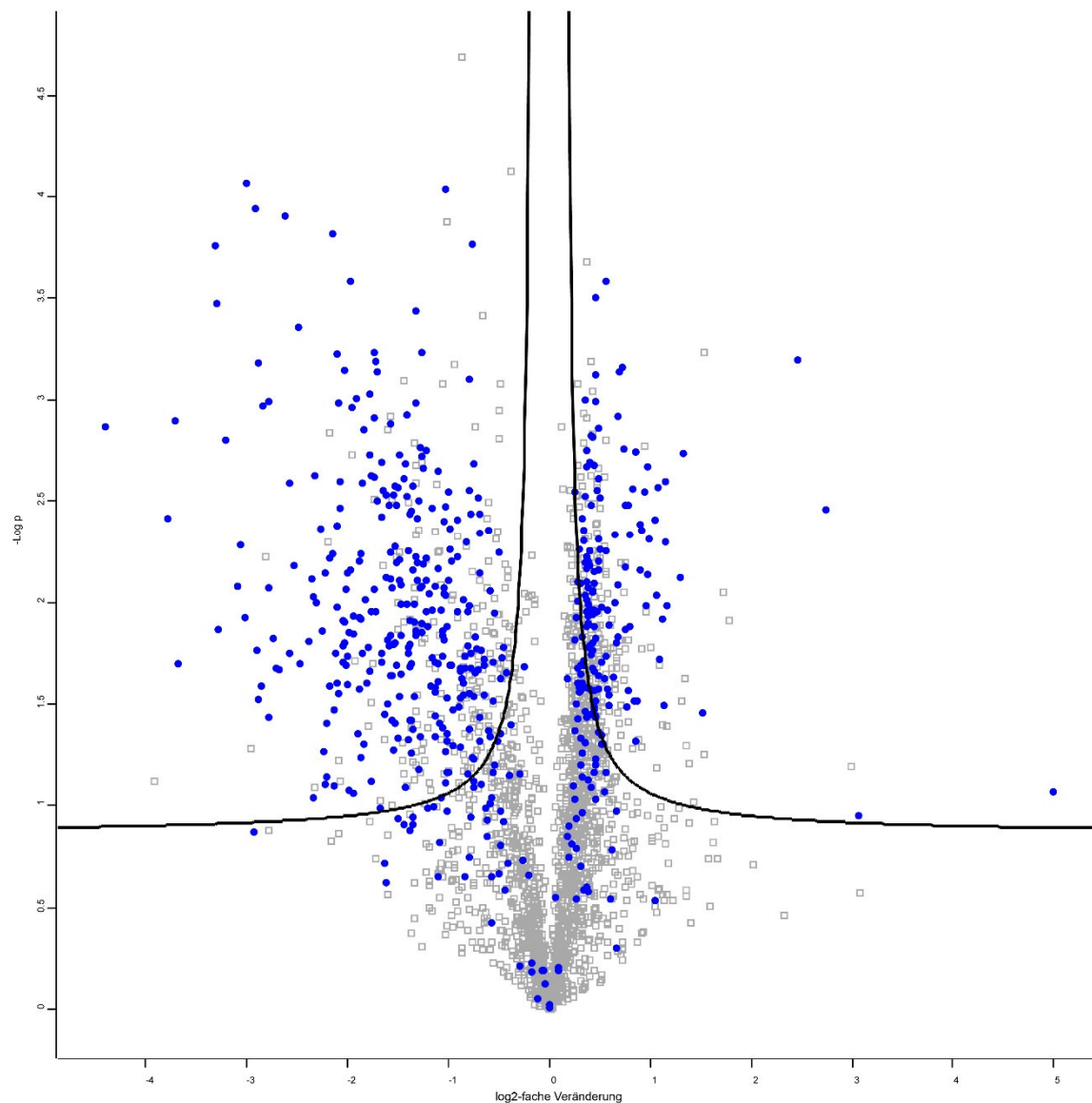


Abbildung 3.33: Vulcano-Plot von Rot A gegen die DMSO-Kontrolle, bei dem die Proteine, die auch in der Messung von **8** signifikant verändert waren, blau markiert sind.

Die in beiden Experimenten signifikant veränderten Proteine können zusätzlich in einem Venn-Diagramm dargestellt werden (vgl. Abb. 3.34).

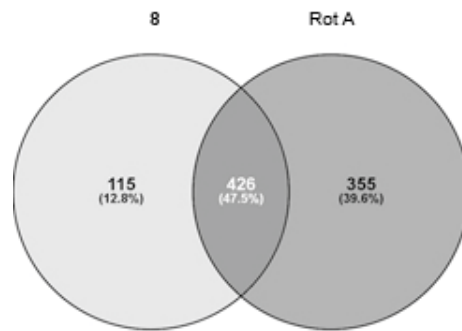


Abbildung 3.34: Venn-Diagramm der signifikant veränderten Proteine, die in beiden massenspektrometrischen Experimenten gemessen wurden.

Von den 541 signifikant veränderten Proteinen in den Proben mit **8** waren 426 auch in den Proben mit Rot A signifikant verändert. Alle diese 426 Proteine sind bei beiden Experimenten in dieselbe Richtung verändert (vgl. Anhang). Diese Übereinstimmung ist unter Betrachtung der Tatsache, dass die Strukturen von **8** und Rotihibin A stark unterschiedlich sind, überraschend gut und kann als Hinweis dafür angesehen werden, dass beide Moleküle denselben Wirkmechanismus besitzen.

In weiteren Experimenten innerhalb der Arbeitsgruppe konnten Hinweise gefunden werden, dass Rotihibin A ein Aktivator für die *SNF1-related protein kinase* (SnRK1) ist. Diese Kinase ist ortholog zur Proteinkinasefamilie, zu der auch das *sucrose non-fermenting 1 protein* (SNF1) und die AMP-aktivierten Proteinkinasen gehören, die eine zentrale Rolle bei der Regelung des zellulären Energielevels spielen. Es ist bekannt, dass SnRK1 ähnlich funktioniert und für das Wachstum bei Nacht wichtig ist, und es wird angenommen, dass es auch bei der zellulären Antwort auf abiotischen und biotischen Stress beteiligt ist.<sup>[119-121]</sup> Diese Hinweise müssen allerdings noch in weiteren Experimenten untersucht und validiert werden.

## 3.2 Studien zu 2, einem neuen Inhibitor der ATPase p97

### 3.2.1 Entwicklung von potentiellen Inhibitoren für die ATPase p97

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte eine neue p97-Inhibitor-Klasse entwickelt werden. In einem vor Beginn dieser Arbeiten extern durchgeführten *High-Throughput-Screen* konnte **2** als neuer allosterischer Inhibitor gefunden werden. Dieses Molekül wurde als Inhibitor für p97 in der AG Meyer an der Universität Duisburg-Essen validiert und es konnte eine  $IC_{50}$ -Konzentration von  $5.1 \mu\text{M}$  gemessen werden. Nun sollte die inhibitorische Aktivität dieses Moleküls auf p97 verbessert werden.

Um synthetisierte Inhibitoren mit bekannten Inhibitoren vergleichen zu können, wurden die  $IC_{50}$ -Konzentrationen von DBeQ und NMS-873 im gleichen *in house*-Assay bestimmt. Dieser lieferte einen  $IC_{50}$  von  $3.2 \mu\text{M}$  für DBeQ und von  $0.03 \mu\text{M}$  für NMS-873. Diese Werte liegen somit ungefähr in dem Bereich der Literaturwerte ( $2.6 \mu\text{M}$  bzw.  $0.02 \mu\text{M}$ ).<sup>[85]</sup>

Zur Optimierung wurde der Inhibitor **2** in Bereiche unterteilt, die einzeln leicht derivatisiert werden können (vgl. Abb. 3.35).

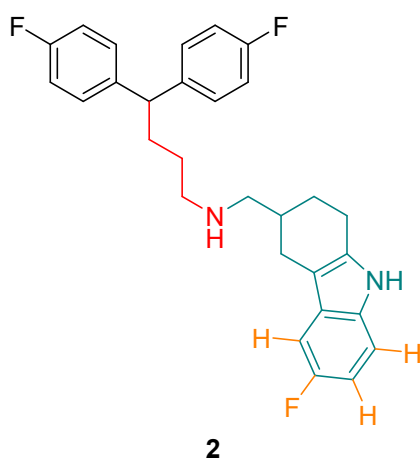


Abbildung 3.35: Unterteilung des Inhibitors **2** in Teilbereiche zur Optimierung.

Die Alkylkette (roter Bereich) kann in ihrer Länge, Zusammensetzung und Verzweigung geändert werden. Das Tetrahydrocarbazol-System (türkiser Bereich) ist in der Ringgröße und im aromatischen Charakter veränderbar, wobei bei anderen Ringsystemen auch weitere Substituenten eingebracht werden können. Auch bei den Substituenten (orangener Bereich) können leicht Derivate erzeugt werden.

Die Synthese von Derivaten für manche Bereiche kann vereinfacht werden, wenn anstatt des „vollen“ **2**-Moleküls vereinfachte Fragmente als Molekülgerüst verwendet werden (vgl. Abb.

3.36). Im ersten Schritt wurde dementsprechend das Tetrahydrocarbazol-System, das zum Teil aromatisch ist, auf einen einzelnen Ring reduziert. Da dieser nicht mehr aromatisch ist, wurde er im zweiten Schritt durch eine Benzyl-Gruppe ersetzt. Im letzten Schritt wurden die Fluoratome im Biphenyl-System durch Wasserstoff ausgetauscht, um mehr Möglichkeiten mit kommerziell erhältlichen Ausgangsstoffen zu erhalten.

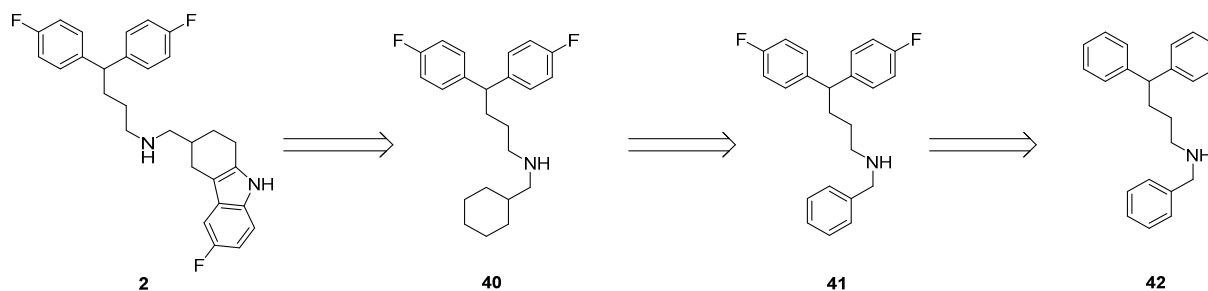


Abbildung 3.36: Konzept der schrittweisen strukturellen Vereinfachung des Inhibitors **2**.

Diese vereinfachten Moleküle mussten zum Vergleich mit dem Ausgangsinhibitor **2** dargestellt werden, bevor eine Synthese von Derivaten zur Verbesserung der biologischen Aktivität sinnvoll war. Zu diesem Zweck wurden zuerst zwei Syntheserouten für **42** getestet, die in Abb. 3.37 gezeigt sind.

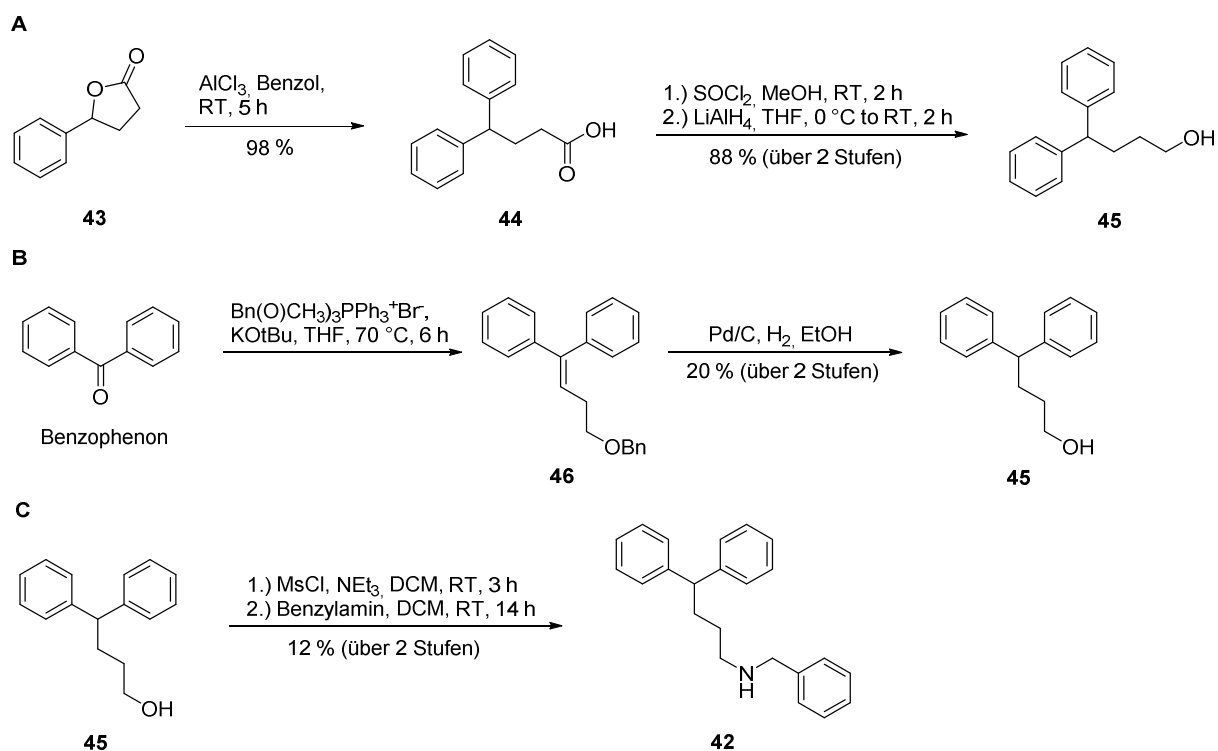


Abbildung 3.37: Syntheschema für **42**.



Die erste Syntheseroute wurde anhand der Literatur angepasst (vgl. Abb. 3.37 A). Dabei wurde zuerst  $\gamma$ -Phenyl- $\gamma$ -butyrolacton durch eine Reaktion mit Aluminiumchlorid und Benzol in das Zwischenprodukt **44** umgewandelt. Dieses Molekül wurde im Gegensatz zur Literatur methyliert, so dass die anschließende Reduktion zum Alkohol in einer höheren Ausbeute zum gewünschten Produkt **45** führte.<sup>[122]</sup>

Bei der zweiten Syntheseroute wurde zuerst Benzophenon in einer Wittig-Olefinierung zu **46** umgesetzt (vgl. Abb. 3.37 B). Mit Hilfe von Wasserstoff in Anwesenheit von Palladium als Katalysator konnte die Benzyl-Gruppe abgespalten und die Doppelbindung reduziert werden. Diese Syntheseroute wurde bereits vorher in der Literatur beschrieben.<sup>[123]</sup>

Bei beiden Synthesen wurde zum Schluss der Alkohol **45** durch Zugabe von Mesylchlorid in eine gute Abgangsgruppe transformiert, die dann in einer S<sub>N</sub>2-Reaktion durch Benzylamin ersetzt wurde (vgl. Abb. 3.37 C).

Die erste Syntheseroute verlief in deutlich besseren Ausbeuten und ist somit gut geeignet für die Darstellung von Derivaten, die aus dem Alkohol **45** erhalten werden können. Zur Synthese der anderen beiden vereinfachten Moleküle konnte sie aber nicht genutzt werden, da das entsprechend substituierte Lacton nicht kommerziell erhältlich war. Deshalb wurde hierfür auf die zweite Syntheseroute zurückgegriffen und von 4,4'-Difluorobenzophenon ausgegangen. Dieselbe Methode, die für die Synthese von **42** genutzt wurde, konnte ausgehend von **48** auch für **41** und **40** verwendet werden (vgl. Abb. 3.38).

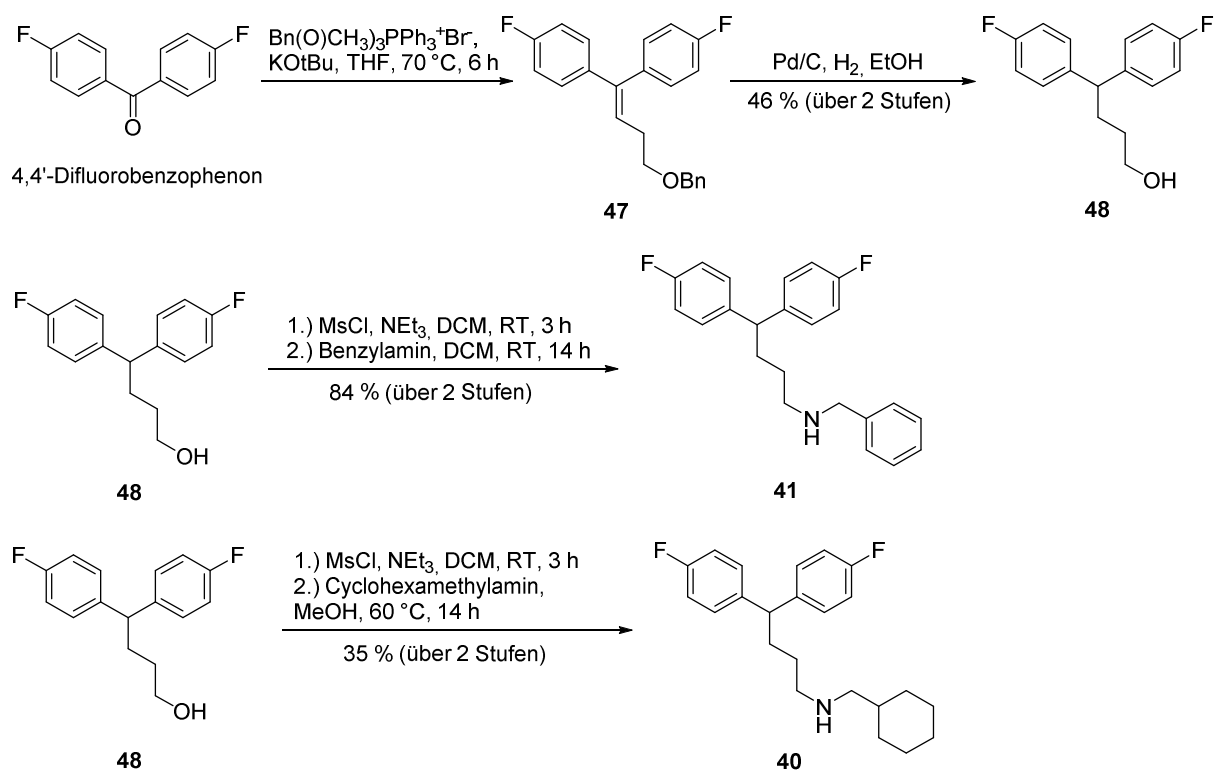


Abbildung 3.38: Syntheschema zur Darstellung von **48** und **40**.

## Biologische Evaluation

Nach der Synthese wurden sowohl die vereinfachten Moleküle als auch die Zwischenstufen **46** und **47** auf ihre inhibitorische Wirkung getestet. Dazu wurde die Restaktivität von p97 bei einer Inhibitorkonzentration von 100  $\mu\text{M}$  im Vergleich zur DMSO-Kontrolle untersucht. Diese Experimente wurden von Robert Pöhler aus der AG Meyer der Universität Duisburg-Essen durchgeführt und die Ergebnisse sind zusammen mit **2** als Vergleich in Tab. 3.1. dargestellt.

Tabelle 3.1: Inhibitorischer Effekt von den vereinfachten Molekülen **42**, **41** und **40** und den Derivaten **46** und **47** auf p97 im Vergleich zu **2**. Es wurde die Restaktivität von p97 bei einer Inhibitorkonzentration von 100  $\mu\text{M}$  gemessen. Der Wert der DMSO-Kontrolle diente zur Normierung.

Molekül	Restaktivität von p97 bei 100 $\mu\text{M}$ Inhibitor [%]
<b>2</b>	0
<b>42</b>	61
<b>41</b>	27
<b>40</b>	19
<b>46</b>	97
<b>47</b>	100

Auch wenn die biologische Aktivität mit jeder Stufe der Vereinfachung abnahm, eignen sich die gemessenen Restaktivitäten als Richtwert für spätere Untersuchungen von synthetisierten Derivaten.

Der Aktivitätsverlust ist zwischen **41** und **42** überraschend stark, so dass hier angenommen werden kann, dass die beiden Fluoratome des Biphenyl-Systems für die Wirkung von **2** wichtig sind. Jedoch ist die Synthese von Derivaten mit Veränderung am Biphenyl-System sehr aufwendig und zeitintensiv sowie mit schlechten Ausbeuten verbunden, so dass sie nicht weiter verfolgt wurde.

Die Zwischenstufen **46** und **47** hatten im Vergleich zu **2** ihre inhibitorische Wirkung vollständig verloren. Es wurde vermutet, dass entweder die Doppelbindung oder das Sauerstoffatom dafür verantwortlich ist und dies wurde bei der Entwicklung von späteren Derivaten berücksichtigt.

### 3.2.2 Optimierung der Alkylkette

Zuerst wurde mit der Optimierung der Alkylkette begonnen. Aufgrund der Länge und der freien Drehbarkeit der Alkylkette wurde hier das höchste Potential zur Optimierung erwartet. Zu diesem Zweck wurde eine breit angelegte Bibliothek mit vielen unterschiedlichen Derivaten synthetisiert. Anhand dieser sollten auch Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden. Am Anfang wurde der Einfluss der Kettenlänge auf die Aktivität untersucht. Hierzu wurde ein Amin mit unterschiedlicher Alkylkettenlänge mit Benzylchlorid alkyliert (vgl. Abb. 3.39).

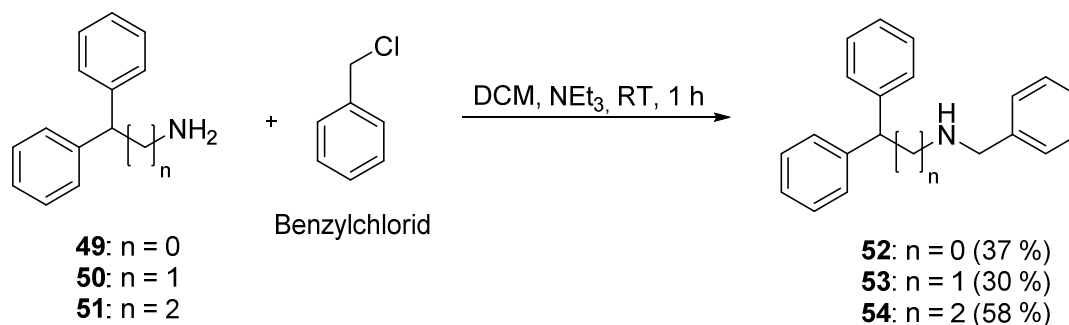


Abbildung 3.39: Synthese der Derivate **54**, **52** und **53**.

Der Einsatz von Benzylchlorid führte nur zu mäßigen Ausbeuten, jedoch konnte ein großer Teil des Eduktes bei der Aufreinigung zurück gewonnen werden. Die Reaktion wurde auch mit dem reaktiveren Benzylbromid getestet, allerdings kam es dabei in allen Fällen zu mehrfacher Substitution am Amin, die nicht erwünscht war. Deshalb wurde in späteren Fällen Benzylchlorid verwendet. Derivate mit längeren Alkylketten als bei **42** konnten nicht dargestellt werden, da die entsprechenden Amine nicht kommerziell erhältlich waren.

Als nächstes wurde die Position des Stickstoffs innerhalb der Alkylkette untersucht. Die beiden Derivate **55** und **56** wurden durch eine reduktive Aminierung mit Hilfe von  $\text{NaB(OAc)}_3\text{H}$  und dem jeweiligen Aldehyd erhalten. Das Derivat **57** konnte durch die Alkylierung von Benzhydrylamin mit 1-Bromo-4-phenylbutan dargestellt werden (vgl. Abb. 3.40).

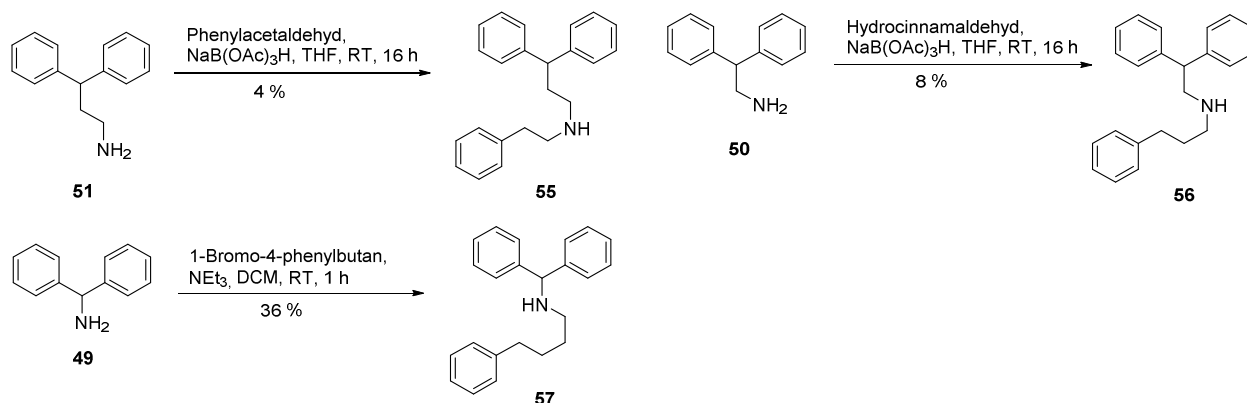


Abbildung 3.40: Synthese der Derivate **55**, **56** und **57**.

In der Regel lassen sich bei reduktiven Aminierungen sehr gute Ausbeuten erzielen. Hier wurden jedoch nur geringe Ausbeuten erhalten. Da allerdings die synthetisierte Menge für alle biologischen Analysen ausreichte, wurde auf eine Wiederholung der Reaktionen verzichtet.

### Synthese von Amidderivaten

Da in dem Molekül ein sekundäres Amin vorkommt, sollte als nächstes geprüft werden, ob ein Amid anstelle des Amins dieselbe biologische Aktivität besitzt. Da an dieser Stelle eine Aminosäure mit dem Amin gekuppelt werden könnte, würde ein biologisch aktives Derivat mit einem Amid ein erster Hinweis dafür sein, dass an der Stelle auch der Einbau von natürlichen Aminosäuren sinnvoll sein könnte. Diese könnten die biologische Aktivität eines Inhibitors aufgrund ihrer vielseitigen Aufgaben in einem biologischen System stark beeinflussen.

Zur Synthese der Amide wurden zuerst vier Derivate synthetisiert, bei denen die Amid-Gruppe an verschiedenen Positionen in der Alkylkette des Moleküls eingebaut ist (vgl. Abb. 3.41). Hierzu wurden Standardpeptidkuppelungsbedingungen verwendet. Da das Amin **58** nicht kommerziell erhältlich war, wurde **45** analog zu der Synthese von **42** ausgehend mit Mesylchlorid umgesetzt und anschließend mittels Ammoniak in **58** überführt.

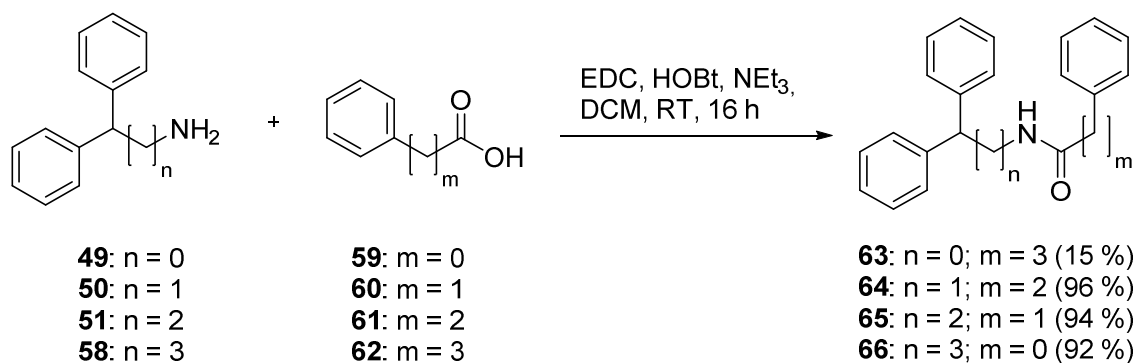


Abbildung 3.41: Synthese der Derivate **63**, **64**, **65** und **66**.

### Synthese von Derivate mit Aminosäuren in der Alkylkette

Es wurde auch der direkte Einbau von Aminosäuren in die Alkylkette untersucht. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Aminogruppe der Aminosäure an der gleichen Stelle in der Alkylkette eingebracht wurde wie das sekundäre Amin beim vereinfachten Ausgangsmolekül **42**, so dass die Länge der Alkylkette in beiden Derivaten gleich ist. Ähnlich wie bei den Amidderivaten wurde somit getestet, ob eine Aminosäuren-Seitenkette die Spezifität des Inhibitors steigern könnte. Deshalb wurden drei Derivate erzeugt, die eine Aminosäure in der Alkylkette enthalten. Zur Synthese der Derivate wurde Benzylhydramin mit der jeweiligen Aminosäure, die am N-Terminus mit der Boc-Gruppe geschützt war, unter Standardpeptidkupplungsbedingungen umgesetzt. Die Boc-Gruppe wurde im sauren Milieu abgespalten, so dass im letzten Schritt der N-Terminus mit Benzylchlorid alkyliert werden konnte (vgl. Abb. 3.42).

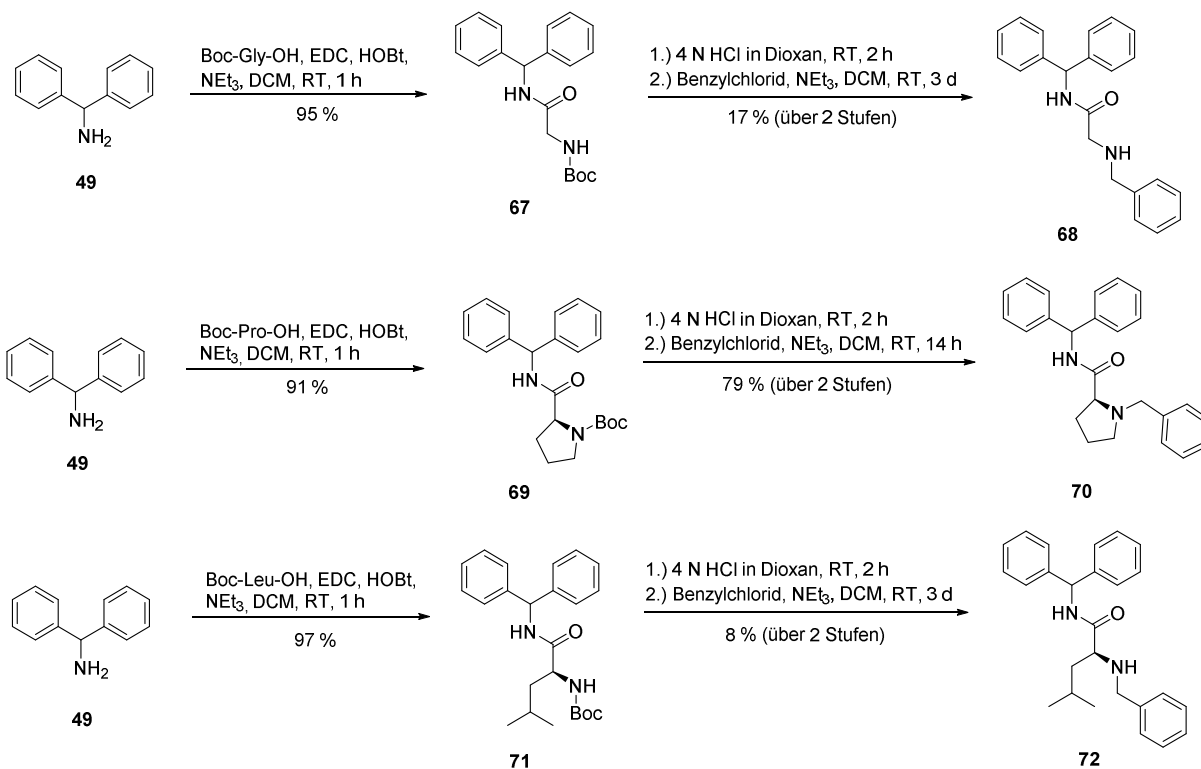


Abbildung 3.42: Synthese der Derivate **68**, **70** und **72**.

Wie bei den anderen Alkylierungen mit Benzylchlorid ist auch hier zu beobachten, dass der Umsatz mit Ausnahme beim Prolin-Derivat sehr schlecht ist. Eine Umsetzung mit Benzylbromid würde vermutlich trotz Mehrfachalkylierung zu einer höheren Ausbeute führen. Eine Wiederholung der Synthesen war jedoch nicht notwendig, da die dargestellte Menge für die biologischen Experimente ausreichte.

### Synthese von Derivaten mit Ringsystem statt Alkylkette

Da die Alkylkette mit der hier vorliegenden Länge ohne Verzweigung sehr leicht drehbar ist, wurde untersucht, ob ein eher starres Gerüst wie ein Ringsystem eine ähnliche biologische Aktivität besitzt wie die Alkylkette. Da insbesondere 5-Ring- und 6-Ringsysteme den besten Kompromiss zwischen chemischer Stabilität und konformationeller Freiheit darstellen, wurden einige Derivate synthetisiert, die ein solches Ringsystem anstelle einer Alkylkette besitzen. Zur Synthese dieser Derivate wurde von einem Pyrrolidin- bzw. Piperidinderivat, welches an einem der Kohlenstoffatome eine Carboxyl-Gruppe besitzt, ausgegangen. Diese wurde mit Hilfe von SOCl<sub>2</sub> und Methanol in den Methylester überführt und das sekundäre Amin im Anschluss mit Benzylbromid oder 2-Bromo-ethylbenzol alkyliert. Der Methylester wurde mit Hilfe des Grignard-Reagenzes Phenylmagnesiumbromid in das Biphenyl-System umgewandelt (vgl. Abb. 3.43).

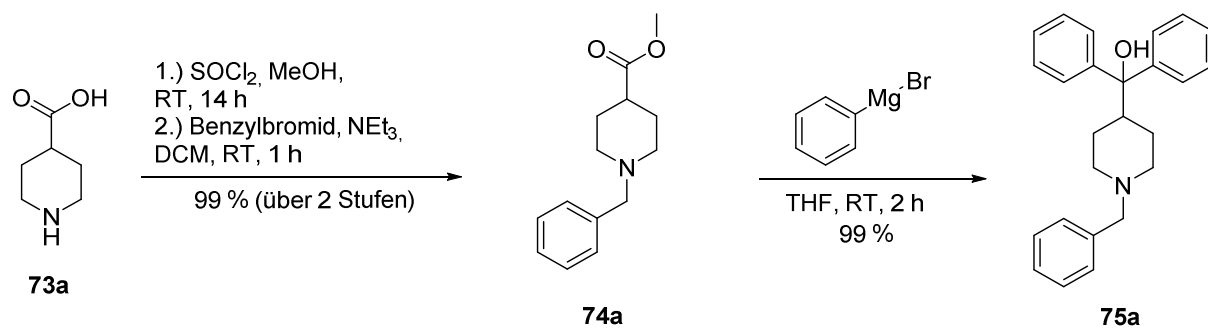
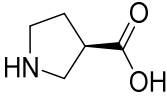
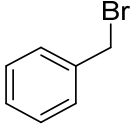
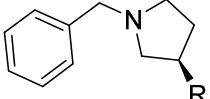
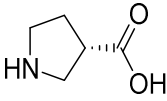
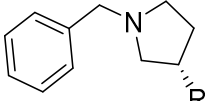
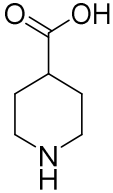
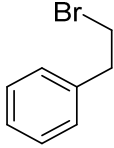
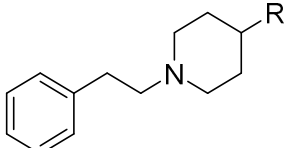
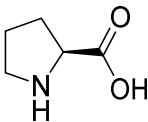
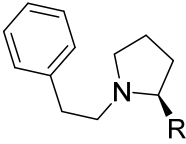
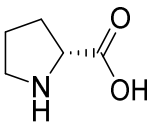
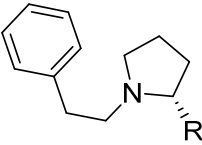
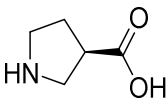
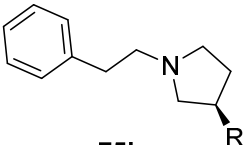
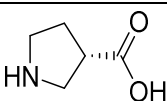
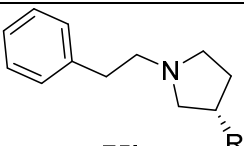


Abbildung 3.43: Exemplarische Synthese eines Derivates mit einem 6-Ringsystem anstelle der Alkylkette.

Alle auf diese Weise synthetisierten Derivate sind in Tabelle 3.2 gezeigt.

Tabelle 3.2: Synthetisierte Derivate mit Ringsystem anstelle Alkylkette.

Edukt	Reagenz	Produkt (R = $\text{CPh}_2\text{OH}$ )	Gesamt- ausbeute
<p><b>73a</b></p>	<p>Benzylbromid</p>	<p><b>75a</b></p>	98 %
<p><b>73b</b></p>		<p><b>75b</b></p>	48 %
<p><b>73c</b></p>		<p><b>75c</b></p>	66 %
<p><b>73d</b></p>		<p><b>75d</b></p>	45 %
<p><b>73e</b></p>		<p><b>75e</b></p>	53 %

 <b>73f</b>	 Benzylbromid	 <b>75f</b>	70 %
 <b>73g</b>		 <b>75g</b>	80 %
 <b>73a</b>	 2-Bromo-ethylbenzol	 <b>75h</b>	8 %
 <b>73d</b>		 <b>75i</b>	53 %
 <b>73e</b>		 <b>75j</b>	60 %
 <b>73f</b>		 <b>75k</b>	22 %
 <b>73g</b>		 <b>75l</b>	23 %

Höhere Ausbeuten wurden bei den Reaktionen mit Benzylbromid erhalten, bei 2-Bromoethylbenzol wurden trotz erhöhter Temperatur (80 °C gegenüber Raumtemperatur) niedrigere Ausbeuten erhalten.

### Synthese von Derivaten mit Doppelbindung in der Alkylkette

Als Alternative zur Einführung eines Ringsystems in der Alkylkette wurde mit demselben Ziel die Idee einer Doppelbindung in der Alkylkette verfolgt. Dazu wurden die entsprechenden



Derivate der beiden vereinfachten Inhibitoren **42** und **41** synthetisiert. Außerdem wurde ein Derivat hergestellt, das neben der Doppelbindung noch zwei statt nur einer Benzylgruppe besitzt (vgl. Abb. 3.44).

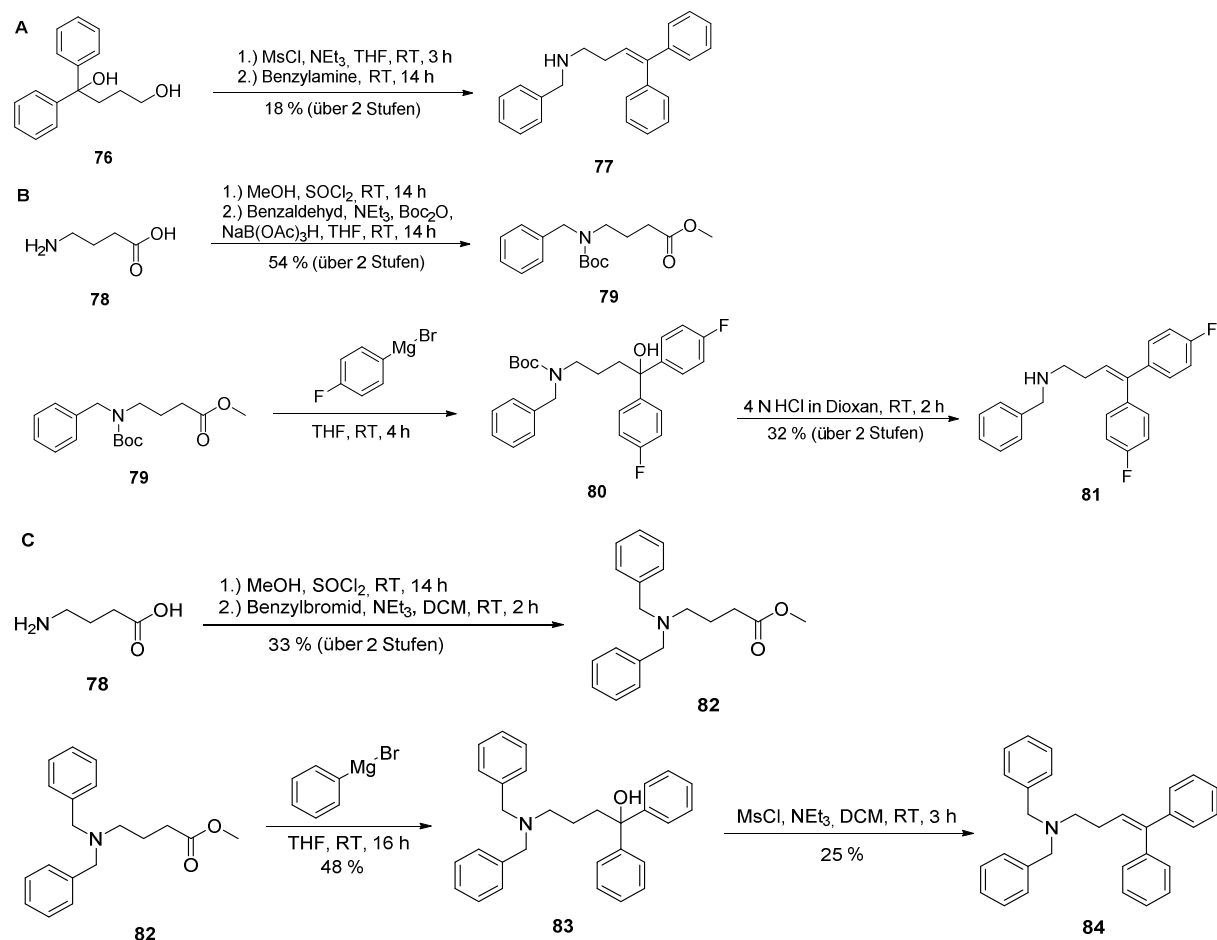


Abbildung 3.44: Synthese der Doppelbindungsderivate **77**, **81** und **84**. A: Syntheschema für das Derivat **77**, B: Syntheschema für das Derivat **81**, C: Syntheschema für das Derivat **84**

Das erste Derivat **77** konnte aus dem kommerziell erhältlichen 1,1-Diphenyl-butan-1,4-diol (**76**) in zwei Stufen dargestellt werden (vgl. Abb. 3.44 A). Die beiden Hydroxyl-Gruppen wurden mit Hilfe von MsCl in eine gute Abgangsgruppe überführt, so dass danach die terminale Hydroxygruppe durch Benzylamin substituiert werden konnte. Gleichzeitig wurde dabei die andere Mesyl-Gruppe eliminiert und somit die Doppelbindung gebildet.

Ausgehend von  $\gamma$ -Aminobutansäure (**78**) wurde das zweite Derivat **81** in vier Schritten synthetisiert (vgl. Abb. 3.44 B). Die Carboxyl-Gruppe wurde mit SOCl<sub>2</sub> in einem Methylester umgewandelt und danach das freie Amin mit Benzylaldehyd, Boc<sub>2</sub>O und NaB(OAc)<sub>3</sub>H gleichzeitig sowohl mit einer Boc-Gruppe geschützt als auch mit einer reduktiven Aminierung mit einer Benzyl-Gruppe umgesetzt.<sup>[124]</sup> Der Methylester **79** wurde mit dem Grignard-Reagenz 4-Fluorphenylmagnesiumbromid zum Biphenyl-System reduziert. Im stark sauren Bereich

wurde anschließend die Boc-Gruppe abgespalten und die gewünschte Doppelbindung unter Wasserabspaltung erhalten.

Die Synthese des dritten Derivates **84** erfolgte analog zu der Synthese von **81** in vier Stufen (vgl. Abb. 3.44 C). Statt der einfachen Benzylierung im zweiten Schritt wurde ein Überschuss Benzylbromid eingesetzt, um das doppelt benzylierte Produkt zu erhalten. Danach wurde Phenylmagnesiumbromid benutzt, um den Methylester **82** zum Biphenyl-System zu reduzieren. Im letzten Schritt wurde zur Erzeugung der Doppelbindung MsCl statt HCl verwendet.

Neben diesen wurde die Doppelbindung bei ein paar Derivaten mit dem Ringsystem erzeugt, um zu prüfen, ob Derivate mit einem starren Grundgerüst noch dieselbe biologische Aktivität aufweisen (vgl. Tab. 3.3). Eine exemplarische Reaktion ist in Abb. 3.45 gezeigt.

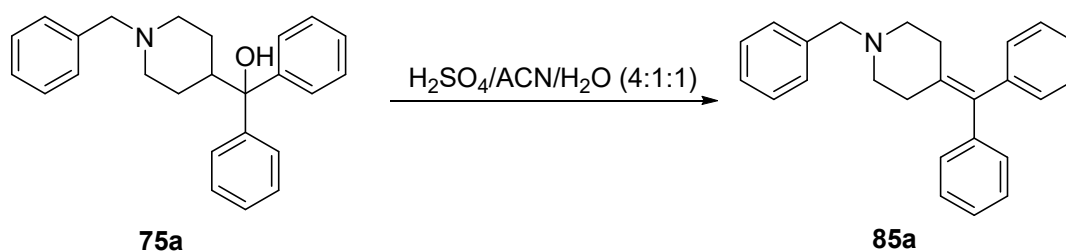
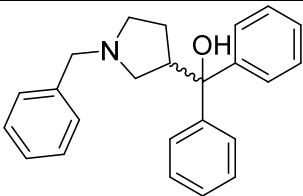
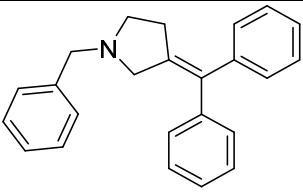
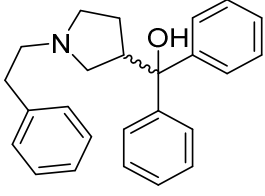
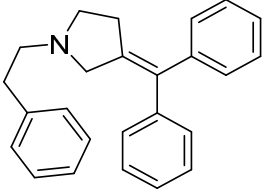
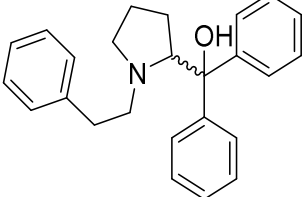
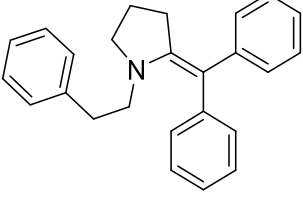


Abbildung 3.45: Exemplarische Reaktion zur Synthese der Derivate mit Doppelbindung und Ringsystem anstelle der Alkylkette.

Tabelle 3.3: Synthese der Derivate mit einer Doppelbindung in der Alkylkette.

Edukt	Reagenz	Produkt	Ausbeute
 <b>75a</b>	verd. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	 <b>85a</b>	63 %
 <b>75h</b>		 <b>85b</b>	66 %
 <b>75b oder 75c</b>		 <b>85c</b>	41 %

 <p><b>75f oder 75g</b></p>	verd. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	 <p><b>85d</b></p>	60 %
 <p><b>75k oder 75l</b></p>		 <p><b>85e</b></p>	94 %
 <p><b>75i oder 75j</b></p>		 <p><b>85f</b></p>	55 %

### Synthese weiterer Derivate

Neben den bereits beschriebenen Derivaten wurden drei verschiedene Derivate mit Anwesenheit von weiteren bzw. anderen Heteroatomen erzeugt. Somit sollten weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen für das Molekül aufgestellt werden.

Das erste Derivat **88** enthält ein weiteres Stickstoffatom in der Alkylkette. Zur Synthese wurde die Kette durch Aminierung von Chlordiphenylmethan mit Ethylendiamin aufgebaut und auf bekannte Weise mit Benzylamin alkyliert (vgl. Abb. 3.46 A). Für das zweite Derivat **90** wurde das kommerziell erhältliche **89** alkyliert (vgl. Abb. 3.46 B). Dabei wurde Benzylbromid statt wie bei den bisherigen Derivaten Benzylchlorid eingesetzt, weil eine Mehrfachalkylierung nicht möglich war und somit die Verwendung von Benzylbromid zu einer höheren Ausbeute führen sollte. Beim dritten Derivat wurde das Stickstoffatom von **42** durch ein Sauerstoffatom ersetzt. Zur Synthese wurde das Zwischenprodukt **45** mit Benzylbromid in Anwesenheit der starken Base Natriumhydrid alkyliert (vgl. Abb. 3.46 C). Das Molekül **91**, das eine ähnliche Struktur wie **45** aufweist (vgl. Abb. 3.46 D), war kommerziell erhältlich, so dass es leicht zusammen mit den anderen Derivaten getestet werden konnte.

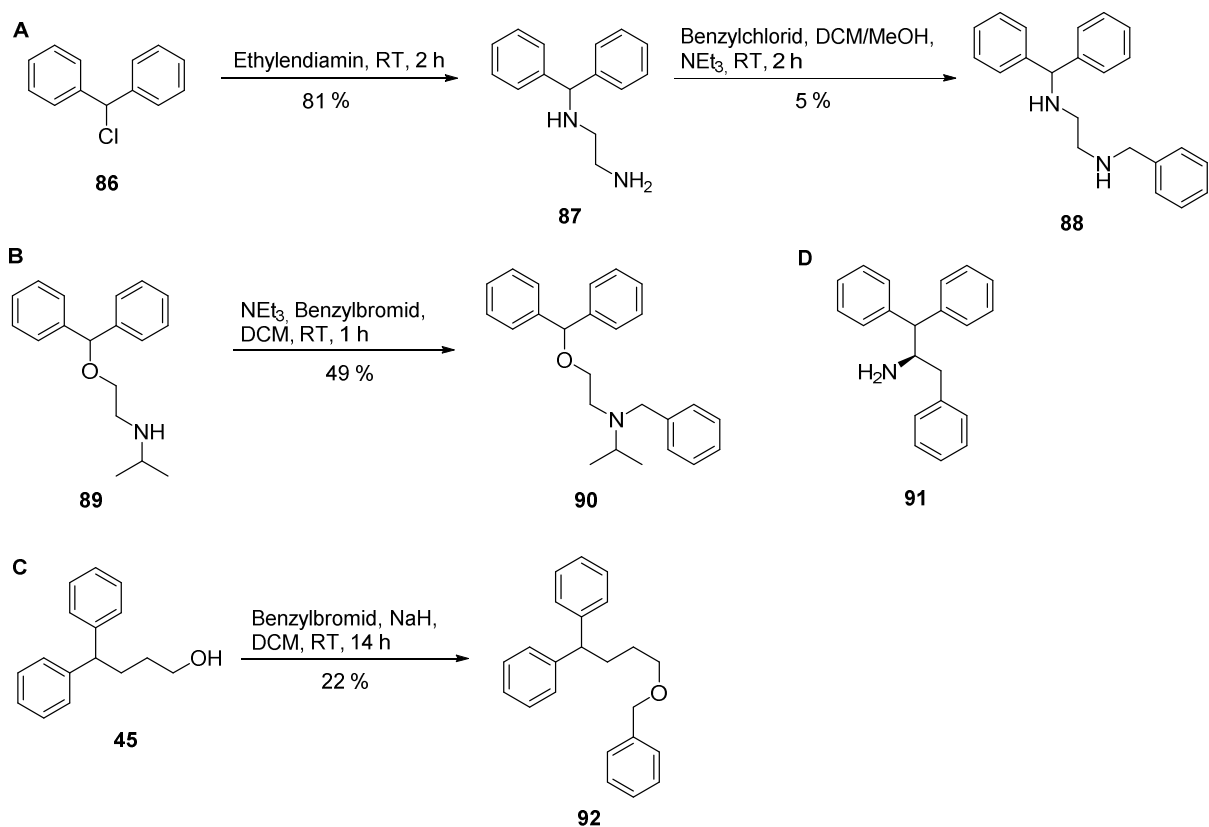


Abbildung 3.46: Synthese der Derivate **88**, **90** und **92** sowie Struktur von **91**.

### Biochemische Evaluation

Alle synthetisierten Derivate zur Optimierung der Alkylkette wurden auf ihre Wirkung auf p97 getestet. Dazu wurde die Restaktivität von p97 bei einer Inhibitorkonzentration von 100  $\mu\text{M}$  analysiert. Diese Experimente wurden von Robert Pöhler aus der AG Meyer der Universität Duisburg-Essen durchgeführt und die Ergebnisse sind zusammen mit **42** als Vergleich in Tab. 3.4. dargestellt.

Tabelle 3.4: Inhibitorischer Effekt der synthetisierten Derivate auf p97 im Vergleich zu **42**. Es wurde die Restaktivität von p97 bei einer InhibitorKonzentration von 100  $\mu$ M gemessen. Der Wert der DMSO-Kontrolle diente zur Normierung.

Molekül	Restaktivität von p97 bei 100 $\mu$ M Inhibitor [%]	Molekül	Restaktivität von p97 bei 100 $\mu$ M Inhibitor [%]
<b>42</b>	61	<b>75h</b>	73
<b>52</b>	75	<b>75i</b>	92
<b>53</b>	85	<b>75j</b>	85
<b>54</b>	94	<b>75g</b>	79
<b>55</b>	63	<b>75k</b>	80
<b>56</b>	63	<b>75l</b>	81
<b>57</b>	84	<b>77</b>	37
<b>63</b>	100	<b>81</b>	63
<b>64</b>	86	<b>83</b>	86
<b>65</b>	90	<b>84</b>	76
<b>66</b>	81	<b>85a</b>	81
<b>68</b>	77	<b>85b</b>	75
<b>70</b>	82	<b>85c</b>	75
<b>72</b>	90	<b>85d</b>	83
<b>75a</b>	82	<b>85e</b>	74
<b>75b</b>	72	<b>85f</b>	81
<b>75c</b>	77	<b>88</b>	95
<b>75d</b>	79	<b>90</b>	90
<b>75e</b>	70	<b>92</b>	100
<b>75f</b>	80	<b>91</b>	63

Die meisten Derivate zeigen eine schlechtere inhibitorische Aktivität als das Vergleichsmolekül **42**. Bei einer breit angelegten Bibliothek an Derivaten ist dieses Ergebnis nicht überraschend. Vier Derivate (**55**, **56**, **81**, **91**) zeigten vergleichbare Aktivitäten wie **42**. Da bei **55** und **56** nur die Position des Stickstoffatoms innerhalb der Alkylkette vertauscht ist, scheint hier nur wenig Veränderung im Molekül möglich zu sein. Diese Vermutung wird gestützt durch die relative Inaktivität von **57**, bei dem das Stickstoffatom an einer anderen Position innerhalb der Alkylkette eingebracht worden ist.

Wie die Derivate **54**, **52** und **53** jedoch zeigen, führt eine Verkürzung der Kette zu einem fast kompletten Verlust der Wirkung auf p97. Ebenso muss anhand der Daten davon ausgegangen

werden, dass sowohl eine Amid-Gruppe in der Alkylkette als auch ein Austausch des Stickstoffatoms durch ein Sauerstoffatom die inhibitorische Aktivität fast vollständig verschwinden lässt.

Mit **77**, das eine Doppelbindung an einem Ende der Alkylkette enthält, konnte ein Derivat entdeckt werden, das eine geringere Restaktivität als das Vergleichsmolekül **42** besitzt. Allerdings hat **81** dieselbe Doppelbindung und zusätzlich auch die beiden Fluoratome im Biphenyl-System, während die inhibitorische Aktivität ungefähr gleich ist wie **42**. Dies ist widersprüchlich zu der Vermutung, dass die Doppelbindung zu einer Erhöhung der Wirkung auf p97 führt.

Insgesamt wurde kein Derivat gefunden, das eindeutig eine deutlich bessere inhibitorische Aktivität besitzt wie das Vergleichsmolekül **42**.

### 3.2.3 Optimierung des strukturellen Gerüsts des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems

Nachdem die biologische Aktivität von **2** durch Veränderung der Alkylkette nicht weiter optimiert werden konnte, wurde nun versucht, an der Stelle des Tetrahydrocarbazol-Systems Derivate zu erzeugen, die eine bessere inhibitorische Wirkung besitzen als das Vergleichsmolekül **41** bzw. **40**. Dazu wurde ähnlich wie bei der Alkylkette eine breit angelegte Bibliothek an Derivaten synthetisiert, mit denen auch Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden sollten.

Die Synthese aller Derivate erfolgte nach einem einheitlichen Syntheseweg, ausgehend von dem Alkohol **48**. Dieser wurde mit Hilfe von Mesylchlorid in eine gute Abgangsgruppe umgewandelt, so dass das jeweilige Amin mittels einer S<sub>N</sub>2-Reaktion eingeführt werden konnte. Eine exemplarische Reaktion ist in Abb. 3.47 gezeigt:

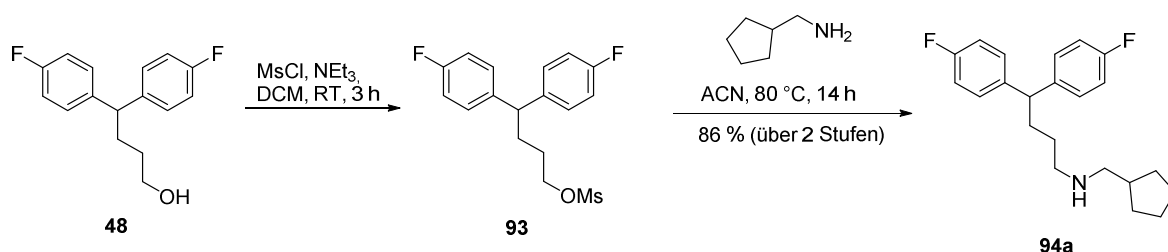
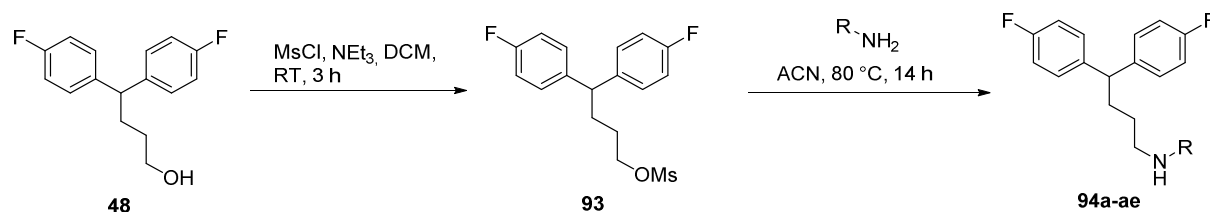


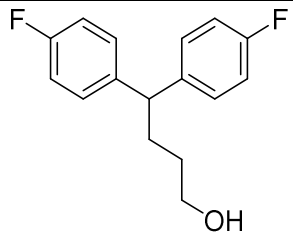
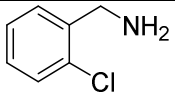
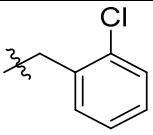
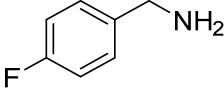
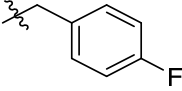
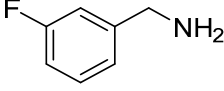
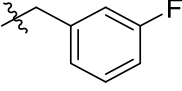
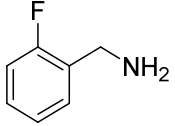
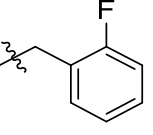
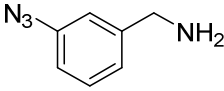
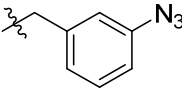
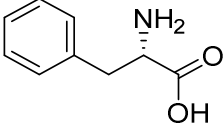
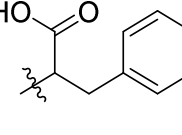
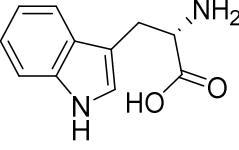
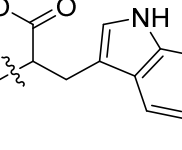
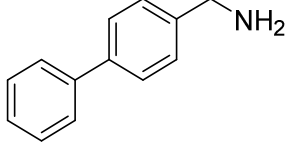
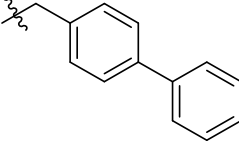
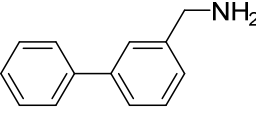
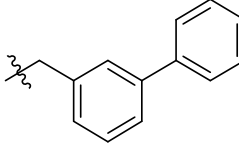
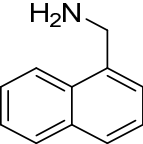
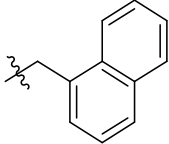
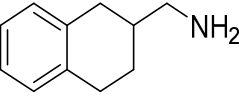
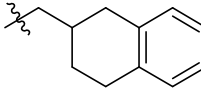
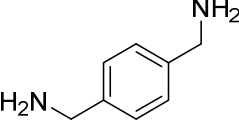
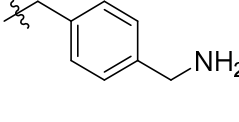
Abbildung 3.47: Exemplarische Reaktion zur Synthese der Derivate mit Veränderung an der Stelle des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems.

Die vollständige Liste aller Derivate ist in Tab. 3.5 aufgeführt. In der Regel fand eine Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Steigerung der Ausbeute nicht statt, da die synthetisierte Menge für alle biologischen Analysen ausreichte.

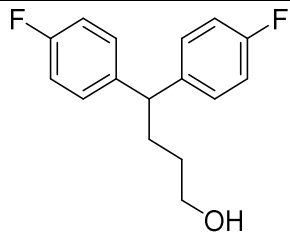
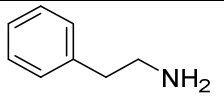
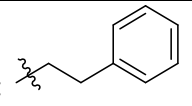
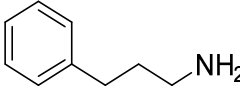
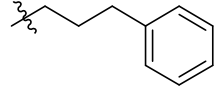
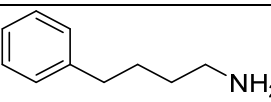
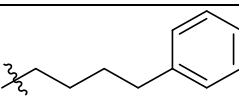
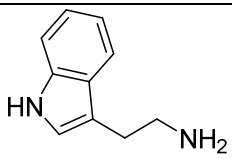
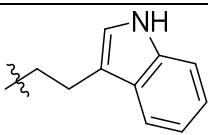
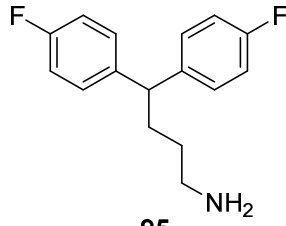
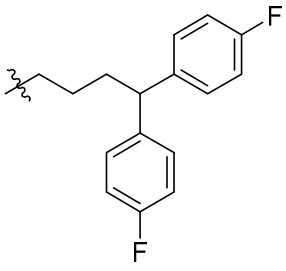
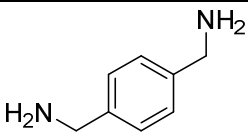
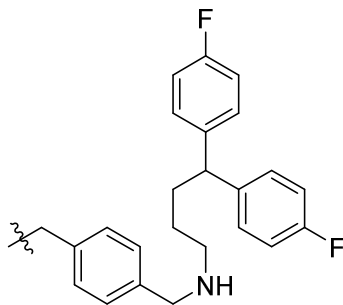
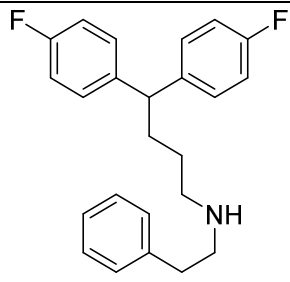
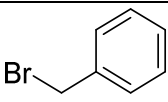
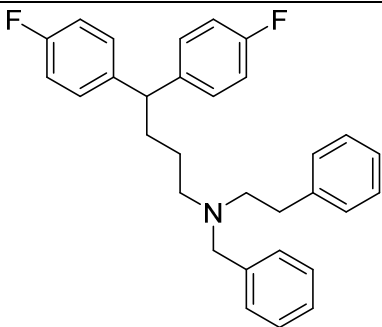
Tabelle 3.5: Synthetisierte Derivate mit Veränderung an der Stelle des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems.



Edukt	Reagenz	R	Ausbeute
<p><b>48</b></p>		<b>94a:</b>	86 %
		<b>94b:</b>	51 %
		<b>94c:</b>	82 %
		<b>94d:</b>	95 %
		<b>94e:</b>	87 %
		<b>94f:</b>	50 %
		<b>94g:</b>	36 %
		<b>94h:</b>	34 %
		<b>94i:</b>	42 %
		<b>94j:</b>	61 %
		<b>94k:</b>	79 %
		<b>94l:</b>	93 %

 <p><b>48</b></p>		 <p><b>94m:</b></p>	92 %
		 <p><b>94n:</b></p>	72 %
		 <p><b>94o:</b></p>	38 %
		 <p><b>94p:</b></p>	8 %
	 <p><b>30</b></p>	 <p><b>94q:</b></p>	17 %
		 <p><b>94r:</b></p>	40 %
		 <p><b>94s:</b></p>	43 %
		 <p><b>94t:</b></p>	22 %
		 <p><b>94u:</b></p>	55 %
		 <p><b>94v:</b></p>	99 %
	 <p><b>3-132</b></p>	 <p><b>94w:</b></p>	11 %
		 <p><b>94x:</b></p>	84 %



 <p><b>48</b></p>		<b>94y:</b> 	94 %
		<b>94z:</b> 	91 %
		<b>94aa:</b> 	87 %
		<b>94ab:</b> 	99 %
	 <p><b>95</b></p>	<b>94ac:</b> 	13 %
	<b>94ad:</b> 	5 %	
 <p><b>3-128</b></p>		 <p><b>3-144</b></p>	36 %

Da das für die Synthese von **94w** notwendige Reagenz **98** nicht kommerziell erhältlich war, wurde es ausgehend von 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphtoesäure (**96**) in 4 Stufen in einer Gesamtausbeute von 12 % hergestellt (vgl. Abb. 3.48).

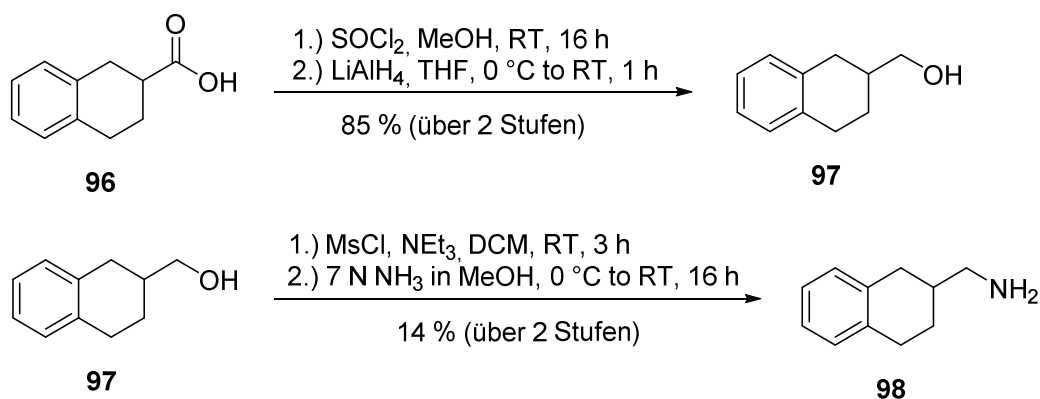


Abbildung 3.48: Syntheschema zur Herstellung von **98**.

Zur Synthese des Reagenzes **95** wurde der Alkohol **48** nach der Mesylierung mit Hilfe von Ammoniak in das primäre Amin überführt (vgl. Abb. 3.49).

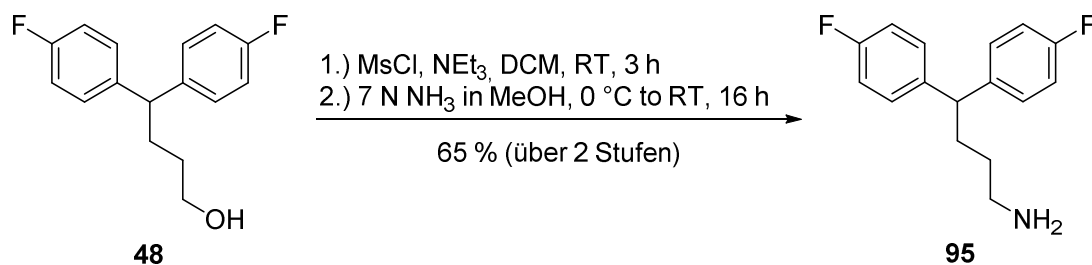


Abbildung 3.49: Synthese des Reagenzes **95**.

Um das Derivat **94ad** erfolgreich zu synthetisieren, wurden anstelle eines großen Überschusses *p*-Xylylendiamin nur 0.5 Äquivalente dieses Reagenzes eingesetzt. Zwar ist die Ausbeute aus der Reaktion mit 5 % sehr schlecht, aber die synthetisierte Menge reichte aus, um alle biochemischen Experimente durchzuführen.

### Biochemische Evaluation

Die synthetisierten Derivate zur Optimierung an der Stelle des Tetrahydrocarbazol -Systems wurden auf ihren inhibitorischen Effekt auf p97 analysiert. Diese Experimente wurden von Robert Pöhler aus der AG Meyer der Universität Duisburg-Essen durchgeführt und die Ergebnisse sind zusammen mit **41** und **40** als Vergleich in Tab. 3.6 dargestellt.

Tabelle 3.6: Inhibitorische Wirkung der synthetisierten Derivate auf p97 im Vergleich zu **41** und **40**. Es wurde die Restaktivität von p97 bei einer Inhibitorkonzentration von 100  $\mu$ M gemessen. Der Wert der DMSO-Kontrolle diente zur Normierung.

Molekül	Restaktivität von p97 bei 100 $\mu$ M Inhibitor [%]	Molekül	Restaktivität von p97 bei 100 $\mu$ M Inhibitor [%]
<b>41</b>	27	<b>94l</b>	17
<b>40</b>	19	<b>94m</b>	23
<b>94a</b>	27	<b>94n</b>	36
<b>94b</b>	60	<b>94o</b>	20
<b>94c</b>	74	<b>94p</b>	30
<b>94d</b>	66	<b>94q</b>	53
<b>94e</b>	60	<b>94r</b>	66
<b>94f</b>	41	<b>94s</b>	50
<b>94g</b>	31	<b>94t</b>	38
<b>94h</b>	57	<b>94u</b>	44
<b>94i</b>	71	<b>94v</b>	34
<b>94j</b>	30	<b>94ae</b>	80
<b>94k</b>	29		

Mit **94a**, **94g**, **94j**, **94k**, **94l**, **94m**, **94o**, **94v** konnten gleich einige Derivate gefunden werden, die eine ähnliche starke Aktivität wie die Vergleichsmoleküle **41** und **40** zeigen. Die meisten dieser aktiven Derivate besitzen einen Substituenten an der *para*-Position des Benzylrings. Da an dieser Stelle beim Ausgangsinhibitor **2** die anderen beiden Ringe verbunden sind, ist es nicht überraschend, dass Substituenten an dieser Position zu einer ähnlichen Aktivität führen wie **41** und **40**. Es kann angenommen werden, dass diese Substituenten aufgrund des vorhandenen Platzes, der nicht durch die beiden anderen Ringe eingenommen wird, nicht zur inhibitorischen Wirkung auf p97 beitragen. Insgesamt konnte allerdings kein Derivat gefunden werden, das eine bessere Aktivität als **41** und **40** besitzt.

Aufgrund der Tatsache, dass einige Derivate ungefähr dieselbe inhibitorische Wirkung auf p97 zeigen wie die Vergleichsmoleküle **41** und **40**, wurde bei allen folgenden Derivaten die IC<sub>50</sub>-Konzentration betrachtet. Da manche dieser Derivate strukturell deutlich unterschiedlich zu **41** und **40** sind, wurde auch der Ausgangsinhibitor **2** für einen Vergleich herangezogen (vgl. Tab. 3.7).

Tabelle 3.7: IC<sub>50</sub>-Konzentration der p97-Hemmung ausgewählter Derivate im Vergleich zu **2**, **41** und **40**.

Molekül	IC <sub>50</sub> -Konzentration für p97 [ $\mu$ M]
<b>2</b>	5.1
<b>41</b>	62
<b>40</b>	46
<b>94x</b>	33,8
<b>94w</b>	Unvollständige Inhibition
<b>94y</b>	24
<b>94z</b>	31.2
<b>94aa</b>	31.3
<b>94ab</b>	23.4
<b>94ac</b>	Unvollständige Inhibition
<b>94ad</b>	11.2

Fast alle Derivate sind in ihrer biochemischen Aktivität besser als **41** und **40**, aber schlechter als **2**. Bei den Derivaten **94y**, **94z**, **94aa** und **94ab** ist dies nicht überraschend, da durch den Ausgangsinhibitor **2** bekannt ist, dass größere Reste an dieser Stelle die Aktivität im Vergleich zu **40** verbessern. Das Derivat **94ad** weist zwar die beste Aktivität innerhalb dieser Serie auf, jedoch muss es aufgrund seiner Struktur mit **2** verglichen werden. Aufgrund der dabei schlechteren Wirkung kann vermutet werden, dass die Anwesenheit des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems einen größeren Beitrag zur Hemmung liefert als ein zweites Biphenyl-System.

### 3.2.4 Optimierung der Substituenten am Tetrahydrocarbazol-Ringsystem

Zur Optimierung des Ringsystems wurden verschiedene Substituenten am aromatischen System untersucht.

Die Synthese ging vom Derivat **94c** aus, bei dem das Ketal im sauren Bereich abgespalten wurde, so dass das entstehende Keton mit einem aromatischen Hydrazin in einer Fischer-Indol-Synthese zum gewünschten Tetrahydrocarbazol reagieren konnte. Eine exemplarische Reaktion ist in Abb. 3.50 gezeigt.

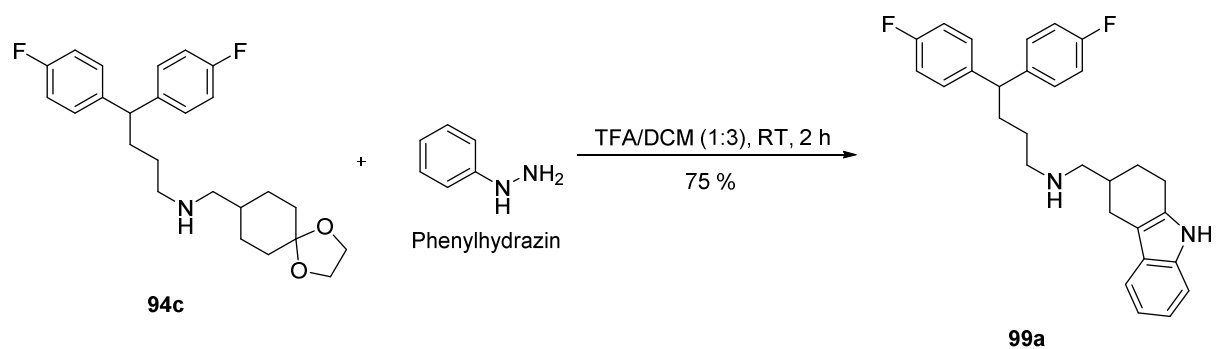
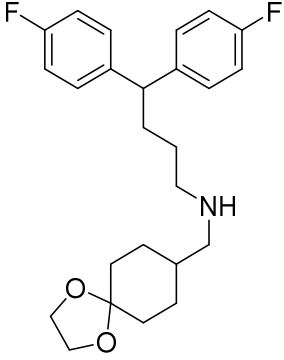
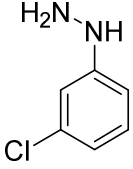
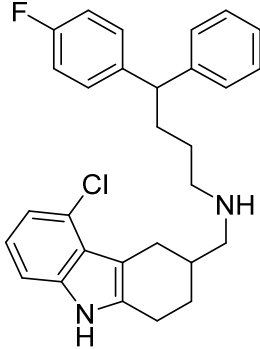
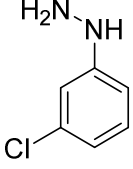
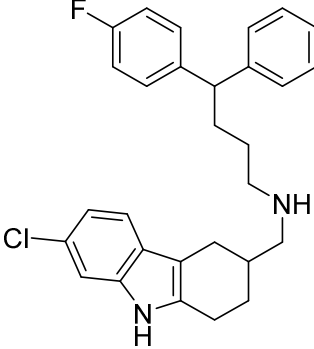
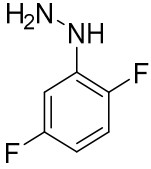
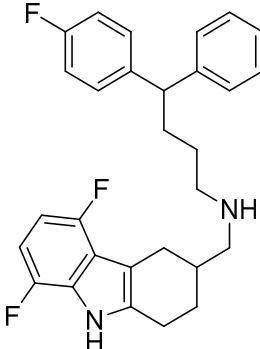
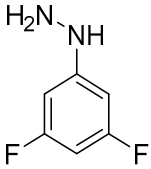
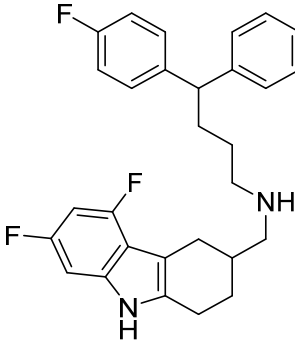


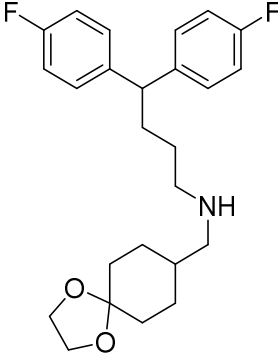
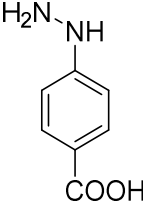
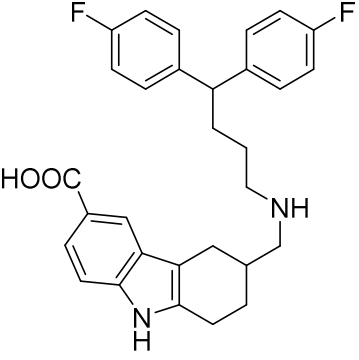
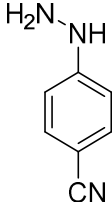
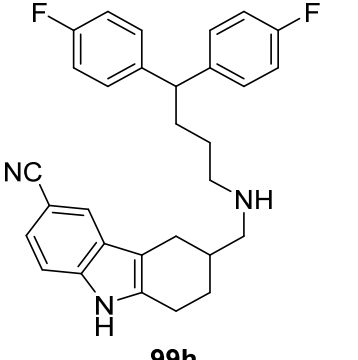
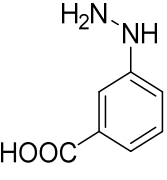
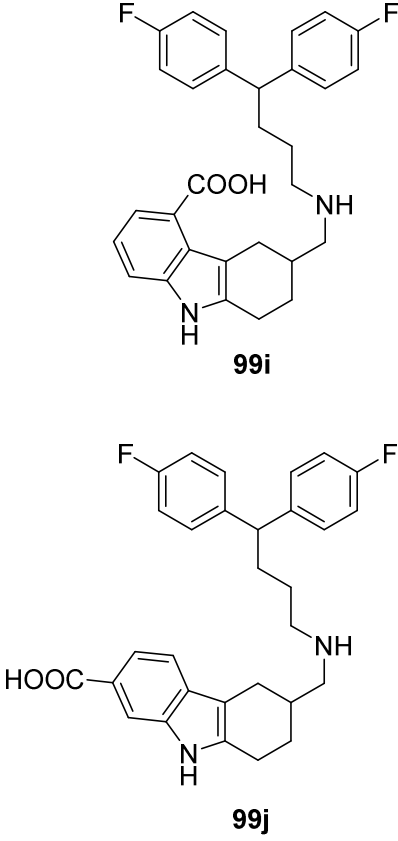
Abbildung 3.50: Exemplarische Reaktion zur Synthese der Tetrahydrocarbazol-Derivate.

Alle synthetisierten Derivate sind in Tab. 3.8 dargestellt.

Tabelle 3.8: Synthetisierte Derivate mit Substituenten am Tetrahydrocarbazol-Ringsystem.

Edukt	Reagenz	Produkt	Ausbeute
<p><b>94c</b></p>	<p><math>\text{H}_2\text{N}-\text{NH}</math></p>	<p><b>99a</b></p>	75 %
<p><b>94c</b></p>	<p><math>\text{H}_2\text{N}-\text{NH}</math> Cl</p>	<p><b>99b</b></p>	83 %

 <p><b>94c</b></p>		 <p><b>99c</b></p>	24 %
		 <p><b>99d</b></p>	34 %
		 <p><b>99e</b></p>	13 %
		 <p><b>99f</b></p>	27 %

 <p style="text-align: center;"><b>94c</b></p>		 <p style="text-align: center;"><b>99g</b></p>	34 %
		 <p style="text-align: center;"><b>99h</b></p>	50 %
		 <p style="text-align: center;"><b>99i</b></p> <p style="text-align: center;"><b>99j</b></p>	77 % (60:40 Mischung)

Die Synthese der beiden Difluoridderivate **99e** und **99f** lieferte trotz längerer Reaktionszeiten und Hitze die schlechtesten Ausbeuten in dieser Reihe. Bei der Umsetzung mit 3-Chlorphenylhydrazin konnten bei der Aufreinigung die beiden möglichen Produkte **99c** und

**99d** abgetrennt werden. Im Gegensatz dazu war dies bei der Reaktion mit 3-Hydrazinbenzoesäure nicht möglich (vgl. Tab. 3.8).

### Biochemische Evaluation

Die synthetisierten Derivate wurden auf ihre inhibitorische Wirkung auf p97 untersucht. Diese Experimente wurden von Robert Pöhler aus der AG Meyer der Universität Duisburg-Essen durchgeführt und die Ergebnisse sind zusammen mit **2** als Vergleich in Tab. 3.9. dargestellt.

Tabelle 3.9: IC<sub>50</sub>-Konzentrationen für p97 von den synthetisierten Derivaten und **2**.

Molekül	IC <sub>50</sub> -Konzentration für p97 [ $\mu$ M]
<b>2</b>	5.1
<b>99a</b>	14.1
<b>99b</b>	Unvollständige Inhibition
<b>99c</b>	15.0
<b>99d</b>	Unvollständige Inhibition
<b>99e</b>	8.5
<b>99f</b>	23.6
<b>99g</b>	25.0
<b>99h</b>	~30
<b>99i/99j</b>	Unvollständige Inhibition

Keines der synthetisierten Derivate zeigte eine bessere Aktivität auf p97 als der Ausgangsinhibitor **2**. Da das Derivat **99e** nur eine leicht schlechtere Wirkung besitzt wie **2** und ähnliche Derivate (zum Beispiel **99c**, **99d** und **99f**) eine deutlich schlechtere, kann vermutet werden, dass nur geringe Veränderungen an der Struktur möglich sind.

### 3.2.5 Synthese von chemischen Sonden

Nachdem Struktur-Wirkungsbeziehungen für den Ausgangsinhibitor **2** aufgestellt wurden, wurde als nächstes das Ziel verfolgt, eine chemische Sonde für weitere biochemische und biologische Studien herzustellen. Dazu sollte eine Reportergruppe in **2** eingeführt werden. Außerdem wurde die Synthese einer chemischen Sonde versucht, die sowohl eine geeignete Gruppe zur Click-Chemie als auch eine photoreaktive Gruppe zur Ausbildung einer kovalenten Bindung enthielt. Um eine breite Sammlung von Sonden zu besitzen, wurden sowohl vom



Ausgangsinhibitor **2** als auch von den vereinfachten Molekülen entsprechende Derivate hergestellt.

Die erste Idee war die Synthese einer Biotin-Sonde mit einer photoreaktiven Gruppe und hierfür wurde ein arylisches Azid gewählt. Analog zur Synthese des bekannten Diazids **32** wurde hierzu von der Vorstufe **35** eine der beiden Hydroxyl-Gruppen mit 1 eq. MsCl in eine gute Abgangsgruppe umgewandelt, die danach vom kommerziell erhältlichen 3,3-Diphenylpropylamin, das ähnlich zu dem vereinfachten Molekül **45** ist, zum Produkt **100** substituiert werden konnte. Um die andere Hydroxyl-Gruppe analog zu dieser Methode mit Hilfe von Ammoniak in ein primäres Amin zu überführen, musste das sekundäre Amin erst mit einer Boc-Gruppe geschützt werden. Sonst können bei Zugabe von MsCl stabile Methansulfonamide entstehen, die nur mit der Birch-Reduktion oder durch den Einsatz von Lithiumaluminiumhydrid wieder in das Amin transformiert werden können. Zum Schluss der Synthese wurden das primäre Amin **101** und Biotin mit Hilfe der bekannten Peptidkupplungsreagenzien EDC und HOBt miteinander verbunden und die Boc-Gruppe mit verdünnter HCl wieder abgespalten (vgl. Abb. 3.51).

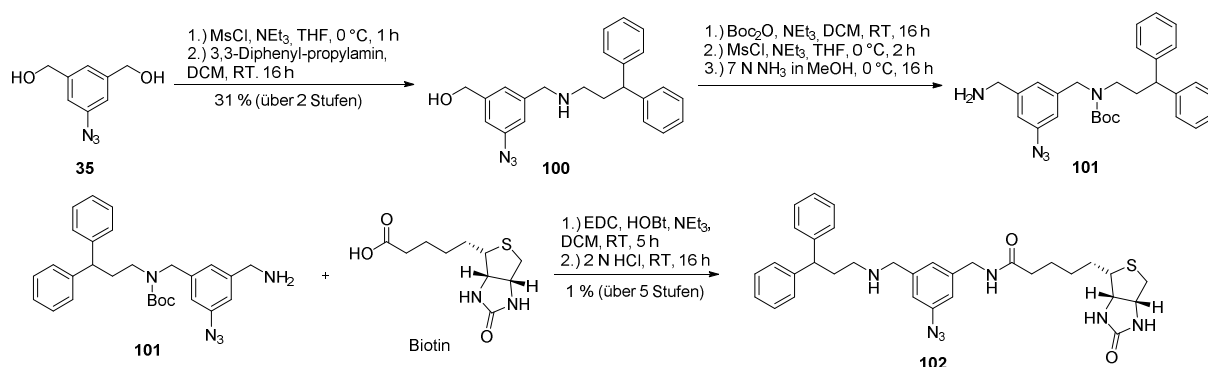


Abbildung 3.51: Synthese der chemischen Sonde **102**.

Auch wenn die Synthese nur einmal durchgeführt und somit die Reaktionsbedingungen nicht optimiert wurden, war die Ausbeute bei dieser so schlecht, dass die Synthese von Biotinderivaten nicht weiter verfolgt wurde. Stattdessen wurde eine Azid-Reportersonde dargestellt. Hierzu wurde die Kupplung des bekannten Diazids **37**, das ein aliphatisches Azid zur Click-Chemie und ein arylisches Azid als photoreaktive Gruppe besitzt (vgl. Kap. 3.1.9), mit 3,3-Diphenylpropylamin durchgeführt (vgl. Abb. 3.52 A). Nachdem dies erfolgreich gelang, wurde **48** nach der bereits beschriebenen Methode mit **32** verbunden, wodurch das Diazid **104** erhalten werden konnte (vgl. Abb. 3.52 B).

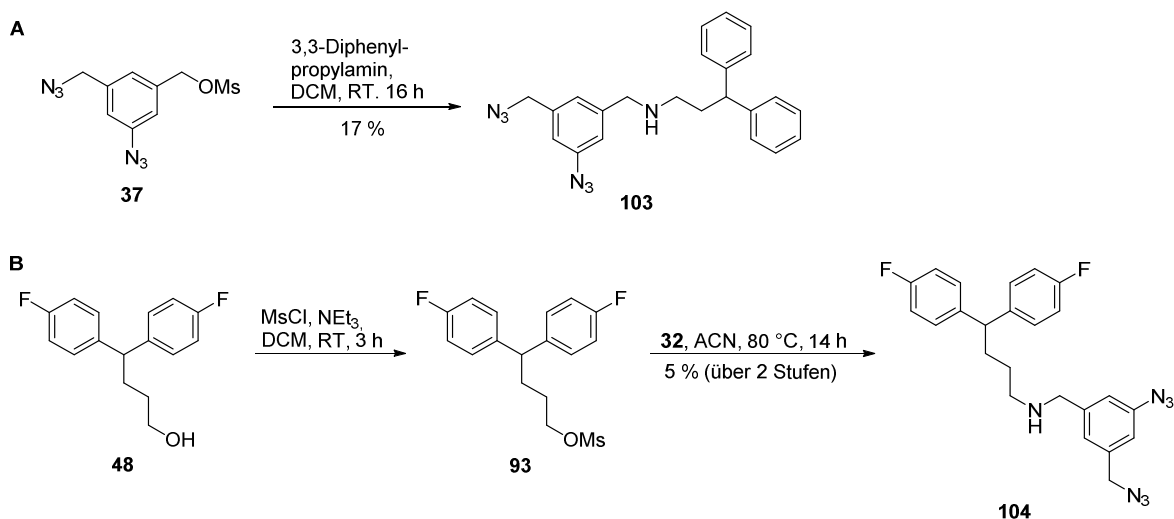


Abbildung 3.52: Synthese der beiden chemischen Sonden **103** und **104**.

Bei diesen beiden Synthesen konnte ebenfalls nur eine sehr schlechte Ausbeute erzielt werden. Daher wurde auch hier die Synthese anderer Derivate mit Diazid nicht weiter verfolgt. Nach der Synthese einiger kleinerer Sonden wurde die Synthese einer chemischen Sonde versucht, deren reaktive Gruppe möglichst ähnlich zum Ausgangsinhibitor **2** ist. Da bereits mit **99g** ein Derivat mit einer Carboxyl-Gruppe vorlag und dieses sich gut über eine Peptid-Kupplung mit einem Linker verbinden lässt, erschien die Einführung einer Reporter-Gruppe an einer dieser Stellen am sinnvollsten. Als Reportergruppe wurde Rhodamin ausgewählt und es wurden Sonden mit verschiedener Länge des Linkers hergestellt, da dieser auch einen Einfluss auf die biologische Aktivität der Sonde haben kann. Die synthetisierten Sonden sind in Abb. 3.53. gezeigt.

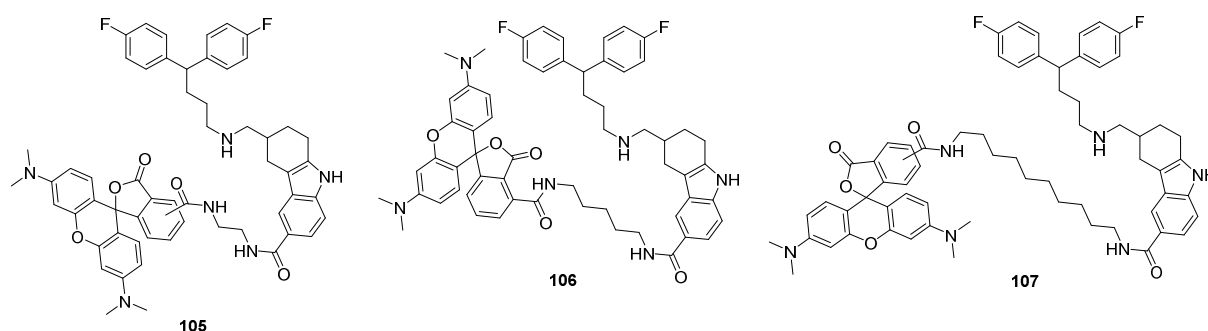


Abbildung 3.53: Struktur der Rhodamin-markierten chemischen Sonden **105**, **106** und **107**.

Zur Synthese wurde kommerziell erhältliches 5(6)-Carboxytetramethylrhodamin ebenfalls durch eine Peptidkupplung mit den Reagenzien EDC und HOBt mit einem Diamin, das zwischen den beiden terminalen Amin-Gruppen eine Alkylkette aus zwei, fünf oder zehn Kohlenstoffatomen besitzt, verknüpft. Während der Synthese zeigte sich, dass die Reaktion

deutlich besser ablief, wenn das Diamin vorher an einer Seite mit der Boc-Gruppe geschützt wurde. Nachdem die Boc-Gruppe mit HCl abgespalten wurde, konnte die Kupplung mit der Carboxyl-Gruppe von **99g** durchgeführt werden (vgl. Abb. 3.54). Bei der Synthese von **106** konnte Rhodamin, das bereits mit dem entsprechenden Linker verbunden war, kommerziell erworben werden, so dass für dieses Derivat nur die Kupplung mit **99g** durchgeführt werden musste.

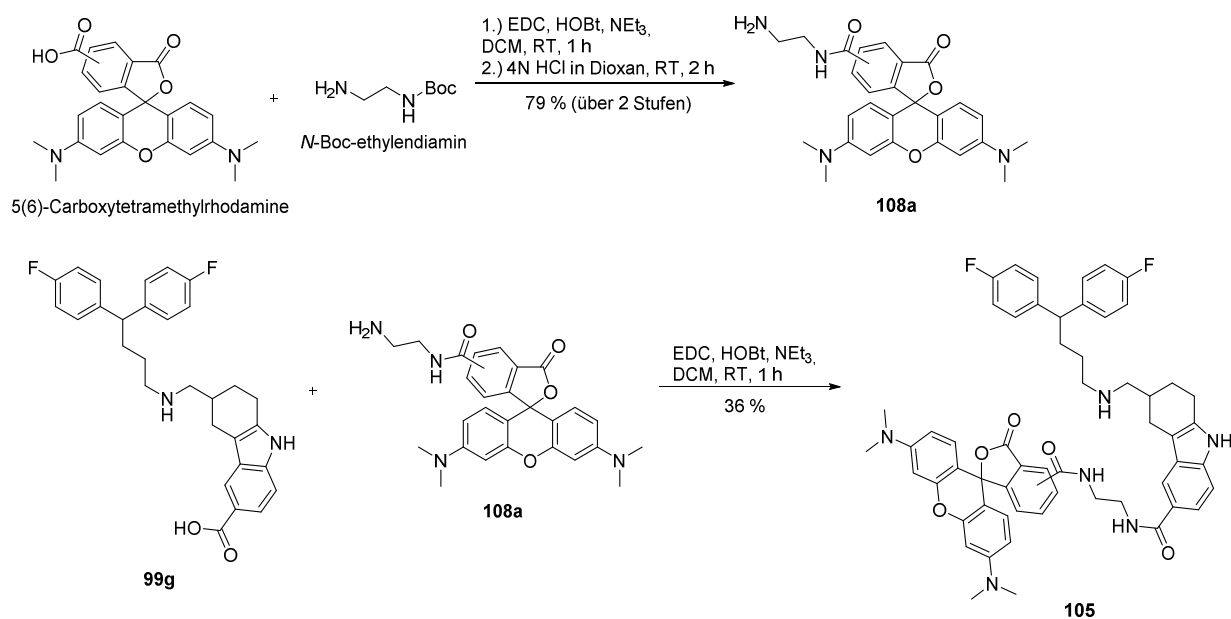


Abbildung 3.54: Exemplarische Synthese der chemischen Sonden **105**, **106** und **107**.

## Biochemische Evaluation

Die synthetisierten chemischen Sonden wurden auf ihren inhibitorischen Effekt auf p97 getestet. Diese Experimente wurden von Robert Pöhler aus der AG Meyer der Universität Duisburg-Essen durchgeführt und die Ergebnisse sind zusammen mit **2** als Vergleich in Tab. 3.10. dargestellt.

Tabelle 3.10: IC<sub>50</sub>-Konzentrationen für p97 von den synthetisierten chemischen Sonden und **2**.

Molekül	IC <sub>50</sub> -Konzentration für p97
<b>2</b>	5.1 µM
<b>102</b>	28.9 µM
<b>103</b>	23.5 µM
<b>104</b>	78 % Restaktivität bei 100 µM <b>2</b>
<b>105</b>	Unvollständige Inhibition
<b>107</b>	Nicht detektiert
<b>106</b>	Nicht detektiert

Es konnte keine chemische Sonde gefunden werden, die eine ähnliche starke inhibitorische Wirkung auf p97 besitzt wie **2**. Während **102** und **103** mit 28,9 µM bzw. 23,5 µM deutlich schwächer hemmen als **2**, zeigen **104** und **105** fast gar keine p97-Inhibition. Die IC<sub>50</sub>-Konzentration von **107** und **106** konnte nicht eindeutig bestimmt werden, da die Farbe der Rhodamin-Gruppe die Messung zu stark gestört hat.

### 3.2.6 Biologische Untersuchungen zu Vps4

Nachdem keine deutliche Verbesserung der Inhibierung von p97 gefunden werden konnte, wurde der Ausgangsinhibitor **2** zur Suche nach weiteren Zielproteinen benutzt. Dabei konnte festgestellt werden, dass die strukturell verwandte ATPase Vps4 von **2** mit einer IC<sub>50</sub>-Konzentration von 0.7 µM inhibiert wird. Da in der Literatur nur ein Inhibitor für Vps4 bekannt ist, wurden einige Derivate auf ihre Wirkung auf Vps4 untersucht. Diese Experimente wurden von Robert Pöhler aus der AG Meyer an der Universität Duisburg-Essen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 3.11 zusammen mit den entsprechenden Werten von **2** für die IC<sub>50</sub>-Konzentration für p97 und Vps4 zum Vergleich dargestellt.

Tabelle 3.11: IC<sub>50</sub>-Konzentrationen für p97 und Vps4 von ausgewählten synthetisierten Derivaten von **2**.

Molekül	IC <sub>50</sub> -Konzentration p97 [ $\mu$ M]	IC <sub>50</sub> -Konzentration Vps4 [ $\mu$ M]
<b>2</b>	5.1	0.7
<b>94c</b>	74 % Restaktivität bei 100 $\mu$ M <b>2</b>	Unvollständige Inhibition
<b>94q</b>	~100 $\mu$ M	Unvollständige Inhibition
<b>94x</b>	33.8	4.1
<b>94ab</b>	23.4	2.0
<b>94ad</b>	11.2	Unvollständige Inhibition
<b>99a</b>	14.1	1.6
<b>99b</b>	9.0	0.63
<b>99e</b>	8.5	0.76
<b>99f</b>	23.6	7.9
<b>99g</b>	25.0	20
<b>99h</b>	30	8.1
<b>99i</b>	Unvollständige Inhibition	Unvollständige Inhibition
<b>102</b>	28.9	4.8
<b>103</b>	23.5	2.7
<b>104</b>	78 % Restaktivität bei 100 $\mu$ M <b>2</b>	6.1
<b>105</b>	Unvollständige Inhibition	11
<b>106</b>	Nicht detektiert	1.9
<b>107</b>	Nicht detektiert	Unvollständige Inhibition

Die meisten Derivate hemmen im Vergleich zu **2** Vps4 schwächer. Die beiden Derivate **99b** und **99e**, bei denen die geringste IC<sub>50</sub>-Konzentration für p97 von allen Derivaten gemessen wurde, sind auch die besten Inhibitoren für Vps4. Beides ist aufgrund der bekannten IC<sub>50</sub>-Konzentration für p97 nicht überraschend. Allerdings zeigen die beiden Derivate **94ab** und **99a** eine relativ hohe IC<sub>50</sub>-Konzentration für p97 (23.4  $\mu$ M bzw. 14.1  $\mu$ M), jedoch eine vergleichsweise geringe bei Vps4 (2.0  $\mu$ M bzw. 1.6  $\mu$ M). Daher kann vermutet werden, dass diese beiden Inhibitoren etwas spezifischer sind als **2** und die anderen Derivate. Dies könnte für spätere biologische und chemisch-proteomische Experimente eventuell von Nutzen sein. Das Derivat **94ab** ist auffallend, da es wie die anderen aktiven Derivate nicht das vollständige Strukturgerüst von **2** besitzt, sondern ein deutlich kleineres Ringsystem. Damit könnte es eine

mögliche Ausgangsbasis für spätere Studien zur Optimierung eines spezifischen Inhibitors für Vps4 sein.

Bei dem Derivat **99f** ist im Vergleich zu **99e**, welches ähnlich aktiv wie **2** ist, nur die Position der beiden Fluoratome verändert, allerdings ist die inhibitorische Wirkung auf p97 und Vps4 deutlich geringer. Es ist das einzige der hier getesteten Derivate, welches eine stark verringerte Aktivität zeigt, so dass angenommen werden kann, dass die Position der Substituenten im Tetrahydrocarbazol-Ringsystem nicht sehr variabel ist.

Bei den chemischen Sonden, die die Rhodamin-Gruppe enthalten, ist deutlich eine Abhängigkeit von der Länge des Linkers zu beobachten. Während der längste Linker anscheinend inaktiv ist und der kürzeste Linker eine  $IC_{50}$ -Konzentration von 11  $\mu$ M für Vps4 besitzt, ist die  $IC_{50}$ -Konzentration bei dem Derivat mit mittlerer Linkerlänge **106** auffallend gut (1.9  $\mu$ M). Daraus kann gefolgert werden, dass dieses Derivat sich gut für weitere chemisch-proteomische Studien eignen könnte.

Durch diese Experimente konnten mehrere gute Inhibitoren für Vps4 gefunden werden. Dies könnte für zukünftige Studien sehr nützlich sein, da für Vps4 bis jetzt nur DBEq als Inhibitor bekannt ist. Gleichzeitig liegt mit **106** eine aktive chemische Sonde vor, mit der chemisch-proteomische Experimente in späteren Untersuchungen möglich sind, so dass dadurch möglicherweise neue Erkenntnisse über die Funktionsweise von Vps4 gewonnen werden können.

## 4. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Verbesserung der biologischen Aktivität von zwei bioaktiven Substanzen, 5-Iodotubercidin und **2**, durch chemische Synthese von Derivaten verfolgt. Außerdem sollten weiterführende biologische Studien mit ausgewählten Vertretern der synthetisierten Verbindungen durchgeführt werden.

Im ersten Projekt wurden Derivate von 5-Iodotubercidin synthetisiert, welches in vorherigen Studien als Inhibitor des Jasmonsäure-induzierten JAZ-Abbaus gezeigt werden konnte. Der Jasmonsäuresignalweg spielt eine wichtige Rolle bei der defensiven Antwort von Pflanzen auf biotischen und abiotischen Stress. 5-Iodotubercidin war vor Beginn der Arbeiten jedoch hauptsächlich als Inhibitor für viele Protein- und Adenosinkinassen bekannt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 17 Iodotubercidin-Derivate hergestellt und auf ihre biologische Aktivität untersucht. Hierzu wurden zwei unabhängige Testmethoden verwendet. Dabei konnte festgestellt werden, dass zwar einige Derivate beim primären Screen Aktivität zeigen, allerdings nicht beim sekundären. Bei den Derivaten, die beim Kontrollscreen einen Effekt aufwiesen, konnte im primären Screen keine Wirkung beobachtet werden (vgl. Kap. 3.1.10). Diese Ergebnisse sind widersprüchlich zueinander und erforderten dementsprechend weitere mechanistische Untersuchungen.

Daher wurden weitere biologische Untersuchungen vorgenommen, um bessere Aussagen über die biologische Aktivität treffen zu können. Hierzu wurden zuerst Pflanzenwachstumsexperimente durchgeführt.

Bei der Analyse der Wurzellängen nach Zugabe ausgewählter Substanzen zeigte sich, dass die Wurzeln in Anwesenheit von **3** ähnlich klein blieben wie bei dem für Pflanzen giftigen 5-Iodotubercidin. Allerdings war eine vollständige Erholung dieser Pflanzen innerhalb von 30 Tagen zu beobachten. Dieser Befund spricht dafür, dass der Effekt von **3** reversibel ist und dieses Derivat somit besser als 5-Iodotubercidin in weiterführenden biologischen Assays eingesetzt werden kann (vgl. Kap. 3.1.10).

Die Substanz **8** zeigte interessanterweise keinen Effekt mehr auf das Wurzelwachstum. Daher wurde diese anschließend in einer *full proteome analysis* analysiert und es konnten große Ähnlichkeiten mit dem bekannten Naturstoff Rotihibin A beobachtet werden. Von den 541 Proteinen, die durch **8** verändert wurden, waren 426 auch durch Rotihibin A signifikant verändert. Da auch die Richtung der Veränderung durch beide Stoffe bei allen Proteinen gleich war, kann somit angenommen werden, dass der Wirkmechanismus derselbe ist (vgl. Kap. 3.1.10). Dies ist interessant, da für Rotihibin A ein Effekt auf den Zuckermetabolismus in Pflanzen gezeigt werden konnte, so dass diese Studien auf einen möglichen Zusammenhang

zwischen Jasmonat- und Zuckersignalweg hinweisen können. Nichtsdestotrotz müssen die Daten aus diesen ersten Experimenten jedoch in diese Richtung noch mit weitergehenden, biologischen Studien bestätigt werden.

Für das zweite Projekt wurde versucht, die inhibitorische Wirkung des p97-Inhibitors **2** zu optimieren, der vor Beginn der Arbeiten extern mittels eines *High-Throughput-Screens* aufgefunden worden war und dessen Wirkung von einer kooperierenden Arbeitsgruppe im Vorfeld der Arbeiten bestätigt worden war. Das Protein p97 ist eines der häufigsten eukaryotischen Proteine und fungiert als ATP-abhängige Segregase. p97 übernimmt eine wichtige Rolle bei vielen biologischen Prozessen, zum Beispiel der Degradation von Ubiquitin-markierten Proteinen durch das Proteasom, zum Beispiel während der Regulation des Zellzyklus oder der Endocytose.

Um den inhibitorischen Effekt von **2** zu verbessern, wurde eine möglichst breite und große Bibliothek von 90 Derivaten erzeugt. Die Optimierung fand an verschiedenen Stellen im Molekül statt, so dass auch Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden konnten.

Eine Verkürzung der Alkylkette zwischen dem Biphenyl-System und dem Stickstoffatom führte zu einem starken bis vollständigen Verlust der Aktivität. Auch die Position des Stickstoffatoms konnte nur eingeschränkt verändert werden, ohne den inhibitorischen Einfluss auf p97 zu verlieren. Auch der Austausch der Alkylkette durch ein Ringsystem und der Einbau von Aminosäuren in die Alkylkette führten zu weniger aktiven Derivaten. Die Einführung einer Doppelbindung in die Alkylkette verringerte auch die inhibitorische Wirkung der Substanzen (vgl. Kap. 3.2.2).

Dabei zeigten die Struktur-Wirkungsbeziehungen, dass die beiden Fluoratome des Biphenyl-Systems für die biologische Aktivität von **2** wichtig sind. Eine weitere Derivatisierung des Biphenyl-Systems wurde jedoch nicht verfolgt, da die Synthese einzelner Derivate an dieser Stelle sehr zeitintensiv und aufwendig ist. Hier könnten zukünftige Studien eine einfachere und kürzere Synthesestrategie entwickeln und durch neue Derivate untersuchen, inwiefern die inhibitorische Wirkung verbessert werden kann (vgl. Kap. 3.2.1).

Durch verschiedene Veränderungen am strukturellen Gerüst des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems konnte keine starke Verbesserung der inhibitorischen Wirkung auf p97 beobachtet werden. (vgl. Kap. 3.2.3) Dies mag jedoch damit zusammenhängen, dass das strukturelle Gerüst in den meisten Fällen verkleinert wurde und somit kaum sterisch-bedingte Behinderungen zu erwarten waren. Der Austausch der Substituenten des aromatischen Indolsystems führte ebenfalls in fast allen Fällen zu einer deutlich schlechteren Aktivität (vgl. Kap. 3.2.4). Daher kann hier angenommen werden, dass prinzipiell nur wenig Veränderung am Molekülgerüst möglich ist, ohne den inhibitorischen Effekt zu verlieren. Es kann allerdings auch sein, dass die



Bindungstasche nicht mehr groß genug ist, um vergrößerte Derivate effizient zu binden. Weitere Derivate mit größeren Resten oder eine kristallographische Studie könnten diese Frage eventuell weiter klären.

Es konnte die Synthese von mehreren chemischen Sonden erfolgreich abgeschlossen werden, von denen aber keine eine im Vergleich zu **2** verbesserte inhibitorische Wirkung auf p97 zeigte (vgl. Kap. 3.2.5).

Die Untersuchung vom *vacuolar protein sorting 4* (Vps4) als mögliches Zielprotein von **2** ergab, dass **2** Vps4 besser inhibiert als p97. Zudem besitzen einige der Derivate ungefähr dieselbe Wirkung auf Vps4 wie **2**, darunter auch mehrere chemische Sonden. (vgl. Kap. 3.2.6) Mit Hilfe dieser könnten in späteren Studien eventuell neue Erkenntnisse über die Funktionsweise von Vps4 erhalten werden. Außerdem könnten durch Synthese weiterer geeigneter Derivate genauere Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden und dadurch vielleicht mehr Erkenntnisse über den molekularen Mechanismus von Vps4 gewonnen werden.

## 5. Summary and Outlook

In this PhD project the optimization of the biological activity of the two bioactive compounds 5-iodotubercidin and **2** via chemical synthesis of derivatives was pursued. In addition, initial experiments for understanding the molecular mechanism underlying their bioactivity were performed.

In the first subproject, derivatives of 5-iodotubercidin were synthesized. This compound was previously shown to act as an inhibitor of the jasmonic acid-induced degradation of JAZ proteins. The jasmonate signaling pathway plays an important role in the defense response to biotic and abiotic stress in plants. 5-Iodotubercidin is known as an inhibitor for many protein kinases and adenosine kinases and thus most probably is no jasmonate signaling-specific inhibitor. Consequently, in this thesis 17 derivatives were synthesized and tested for their biological activity to optimize the applicability of this inhibitor for biological applications. To this end, two different screening assays were used. Several derivatives were found to display promising activities in the primary screen, but unfortunately failed to display activity in the second control screen. In contrast, some derivatives that were active in the secondary screen did not display bioactivity in the primary screen. Overall, this indicates that the underlying molecular mechanism behind the bioactivity of the synthesized compounds is complex and difficult to grasp and requires further mechanistic studies.

Correspondingly, an analysis of the root growth after application of the selected 5-iodotubercidin derivatives was performed. The derivative **3** significantly reduced root growth, but if the compound was removed from the medium, a full recovery to a normal level was observed within 30 days. This indicates that the underlying effect of **3** is reversible, indicating that **3** might represent a promising probe for JA signaling research. The compound **8** did no longer display root growth inhibitory properties.

To better understand the molecular basis of this effect, a full proteome analysis of plants after **8** treatment was subsequently performed and surprisingly revealed a great similarity between **8** and the known natural compound Rotihibin A. From the 541 proteins, which were significantly changed by treatment with **8**, also 426 were significantly changed in a similar direction by treatment with Rotihibin A. These data may hint that both compounds have a similar molecular mechanism for their bioactivity. This is interesting because it is known that Rotihibin A has an effect on sugar signaling in plants. Correspondingly, these findings indicate a possible crosstalk between jasmonate and sugar signaling. Nevertheless, further experiments into this direction are still required to corroborate this interesting result.

In the second subproject the inhibitory potency of a structurally new p97 inhibitor, denoted as **2**, was optimized. **2** was found in a high-throughput-screen before beginning of this thesis. The protein p97 is one of the most abundant proteins in eukaryotes and works as an ATP-dependent segregase. p97 plays an important role in many biologic processes, for example degradation of ubiquitin marked proteins by the proteasome, e. g. during regulation of the cell cycle, or endocytosis.

To optimize the inhibitory potential of the p97 inhibitor a broad library of 90 derivatives was synthesized. Structural optimization was pursued at many different positions within the molecule resulting in profound structure-activity relationships.

These studies revealed that a truncation of the alkyl chain between the biphenyl system and the nitrogen atom led to a strong or total loss of activity. The position of the nitrogen atom within this chain can also only be slightly changed. The exchange of the alkyl chain with a ring system and with amino acids also resulted in less active derivatives. Finally, the introduction of a double bond into the alkyl chain also decreased the inhibitory effect of the compounds.

The structure-effect relationships furthermore showed that both fluorine atoms of the biphenyl system are important for the biological activity of **2**. Further derivatization of the biphenyl system was however not pursued within the time frame of this PhD thesis because their synthesis would have been very time consuming and work intensive.

Instead, variation at the tetrahydrocarbazole ring system was subsequently evaluated. No increase of the biochemical activity was observed by a variation of the scaffold of the tetrahydrocarbazole ring system. The exchange of the substitutes at the tetrahydrocarbazole ring system also did not lead to an increase of activity, but in most cases to a decrease. It therefore seems that the ring system is very sensitive to changes. This may indicate that the binding pocket is already fully occupied by the **2** derivative. For a better understanding of the molecular basis crystallographic analysis of the p97 binding mode would therefore be highly desirable.

After establishment of the structure-activity relationships several chemical probes were successfully synthesized, including fluorophore-labeled derivatives. Although none of them showed a better inhibitory effect for p97 compared to **2**, several of them displayed low micromolar inhibition values that turn them into promising tools for biological research.

Finally, enzymatic assays revealed that **2** displayed better inhibitory properties for the vacuolar protein sorting 4 (Vps4) than for p97. The same trend was observed for several **2** derivatives synthesized during this thesis, with some of them even showing an even better selectivity. These derivatives therefore may present promising chemical tools for studying the molecular function of Vps4. In addition, comparative studies between p97 and Vps4 with the synthesized

compounds may reveal novel findings on the molecular regulation of the enzymatic activity of these important proteins.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Geräte

Die verwendeten Reagenzien und Lösungsmittel wurden von Sigma Aldrich, Alfa Aesar, ABCR, Fluka, Merck, ChemPur, Iris Biotech, Riedel van Haen, Roth oder Thermo Fisher bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Die Trocknen Lösungsmittel wurden in höchster Qualität von denselben Anbietern benutzt. Bei Reaktionen unter Schutzgas wurde Argon verwendet.

#### **Dünnschichtchromatographie (DC)**

Dünnschichtchromatographien wurden auf DC-Kieselgelplatten von Merck (20 x 20 cm, 60F<sub>254</sub> auf Aluminiumfolie) durchgeführt. Die Spots wurden mit UV-Licht bei 254 nm sichtbar gemacht oder mit KMnO<sub>4</sub>-Lösung (1.5 g KMnO<sub>4</sub>, 10 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 1.25 mL einer 10 %igen NaOH-Lösung in 200 mL Wasser) sowie Hitze angefärbt. Laufmittel und R<sub>f</sub>-Werte werden bei den jeweiligen Experimenten angegeben.

#### **Säulenchromatographie mit Kieselgel**

Für säulenchromatographische Aufreinigungen wurde Kieselgel von Acros (Partikelgröße 35-70 µm) benutzt.

#### **Umkehrphase-Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS)**

Die LC-MS Analysen wurden an einem LC-MS-System von Thermo Scientific mit einer Eclipse XDB-C18-Säule (Partikelgröße 5 µm) von Agilent (Signaldetektion bei 210 nm) und einem Thermo-Scientific LCQ Fleet<sup>TM</sup> ESI-Spektrometer durchgeführt. Für Messungen im Positiv-Modus wurde ein linearer Gradient von Lösungsmittel B (0.1 % Ameisensäure in Acetonitril) und Lösungsmittel A (0.1 % Ameisensäure in Wasser) bei einer Flussrate von 1 mL/min verwendet.

Gradient für Positiv-Modus: 0 min / 10 % B → 1 min / 10 % B → 10 min / 100 % B → 12 min / 100 % B → 15 min / 10 % B

#### **Umkehrphase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)**

Zur Aufreinigung von Produkten wurde ein Shimadzu HPLC-System (Prominence UFLC) mit einer RP-C18-Säule von Phenomenex (Phenomenex Luna® 5 µm C18(2), 100 x 21.20 mm) und einer Signaldetektion bei 210 und 254 nm verwendet. Lineare Gradienten von

Lösungsmittel B (0.1 % TFA in Acetonitril) und Lösungsmittel A (0.1 % TFA in Wasser) wurden bei einer Flussrate von 25 mL/min benutzt.

### **Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)**

Die NMR-Spektren wurden an einem Bruker Avance II 400 System (400 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR und 101 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR) oder einem Bruker Avance II 700 System (700 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR und 176 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR) aufgenommen.  $^1\text{H}$ -NMR Spektren werden in folgender Art und Weise beschrieben: Chemische Verschiebung ( $\delta$ ) in ppm, bestimmt nach dem Restsignal des undeuterten Lösungsmittel, Multiplizität (s – Singulett, d – Dublett, t – Triplett, q – Quartett, dd – Dublett vom Dublett, m – Multiplett), Kopplungskonstante (J) in Hertz (Hz) und Anzahl der Protonen (H).

## **6.2. Generelle Methoden**

### **Generelle Methode A: Peptidkupplung**

Zu einer Lösung aus der Carbonsäure (1 eq.) und  $\text{NEt}_3$  (3 eq.) in DCM wurde HOBt (3 eq.) und EDC (3 eq.) gegeben. Nach 15 Minuten Rühren wurde das Amin hinzu gegeben und die resultierende Lösung wurde für die jeweilig angegebene Zeit gerührt. Nach Zugabe von gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung wurde die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte entweder säulenchromatographisch oder über HPLC.

### **Generelle Methode B: Zemplen-Reaktion**

Die Reaktion erfolgte analog zu einer in der Literatur bekannten Synthese.<sup>[103]</sup> Der acetylierte Alkohol wurde in MeOH gelöst und mit Eiswasser gekühlt. Nach Zugabe von NaOMe wurde die Suspension für 1 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  gestoppt und die Lösung wurde eingengt. Die Lösung wurde dreimal mit EA extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt über HPLC oder eine Kieselgelsäule aufgereinigt.

### **Generelle Methode C: Ketal-Schützung mit Dimethoxypropan**

Der Alkohol wurde in einer Mischung aus Aceton und Dimethoxypropan (1:1) gelöst, mit einer katalytischen Menge pTsoH (0.1 eq.) versetzt und bei 60 °C für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung beendet und die Lösung dreimal mit DCM extrahiert

und die vereinigten organischen Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels war keine weitere Aufreinigung notwendig.

#### **Generelle Methode D: Methylierung einer Carbonsäure**

Eine Lösung von der Carbonsäure (1 eq.) in MeOH wurde mit  $\text{SOCl}_2$  (2 eq.) versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe eingesetzt.

#### **Generelle Methode E: Alkylierung von Aminen mit Benzylbromid**

Das Amin (1 eq.) wurde in DCM gelöst und mit  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.) und Benzylbromid (1.5 eq.) versetzt. Nach Rühren bei RT für 1 h wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgetrennt.

#### **Generelle Methode F: Alkylierung von Aminen mit (2-Bromoethyl)benzol**

Zu einer Lösung aus dem Amin (1 eq.) und  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.) in THF wurde (2-Bromoethyl)benzol (1.5 eq.) gegeben und die Lösung für die jeweilige Zeit gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt.

#### **Generelle Methode G: Mesylierung eines Alkohols**

Eine Lösung des Alkohols (1 eq.) in DCM wurde mit  $\text{NEt}_3$  (2.5 eq.) und  $\text{MsCl}$  (2 eq.) versetzt und für 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  gestoppt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Produkt ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

#### **Generelle Methode H: Aminierung eines mesylierten Alkohols**

Das Mesylat wurde in ACN gelöst und mit einem Überschuss Amin versetzt. Nach Rühren über Nacht bei  $80\text{ }^\circ\text{C}$  wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt zu isolieren.

#### **Generelle Methode I: Grignard-Reaktion mit einem Methylester**

Eine Lösung aus dem Methylester (1 eq.) in trockenem THF wurde vorsichtig mit dem Grignard-Reagenz (5 eq.), welches in einem organischen Lösungsmittel gelöst war, versetzt und für 2 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  beendet und die Lösung dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das

Lösungsmittel entfernt. Nach Auftrennung mittels HPLC wurde das gewünschte Produkt erhalten.

### Generelle Methode J: Kondensation mit Schwefelsäure

Der Alkohol wurde in ACN/H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1:4) gelöst und für 1 h gerührt. Die Lösung wurde mit 2 N NaOH neutralisiert und dreimal mit EA extrahiert. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt mittels HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt zu isolieren.

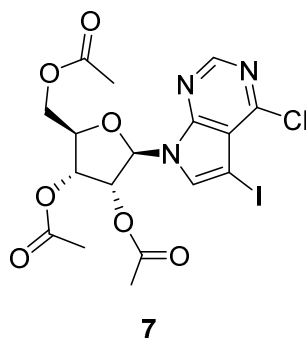
### Generelle Methode K: Fischer-Indol-Reaktion mit Ketal 94c

Das Ketal **94c** wurde in TFA/DCM (1:3) gelöst und mit einem Überschuss des Hydrazins versetzt. Nach Rühren für 2 h bei RT wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgetrennt.

## 6.3 Synthese von Derivaten von 5-Iodotubercidin

### 6.3.1 Synthese von Derivaten der freien Amin-Gruppe

#### Synthese von **7**



Die Reaktion erfolgte ausgehend von den Bausteinen **5** und **6** analog zu einer bekannten Literatursynthese von Song et al. mit einer Ansatzgröße von 0.358 mmol.<sup>[74]</sup> Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt in 39 % Ausbeute erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 8.70 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 6.41 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.81 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.43 – 4.34 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.01 (s, 3H).



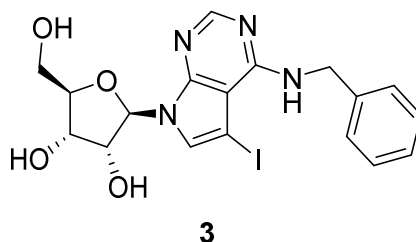
$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 169.95, 169.40, 169.18, 151.48, 150.97, 150.81, 133.79, 116.92, 85.41, 79.41, 72.34, 69.85, 62.86, 54.94, 20.52, 20.34, 20.13.$

**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f = 0.6.$

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 8.90$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClIN}_3\text{O}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 537.98, gef.: 538.15.

**Ausbeute:** 75.0 mg; 0.140 mmol; 39 %.

### Synthese von 3



Eine Lösung von 7 (1 eq.; 0.140 mmol; 75.0 mg) in Benzylamin (10 mL) wurde bei 80 °C für 2 h gerührt. Überschüssiges Benzylamin wurde im Hochvakuum entfernt und das Zwischenprodukt nach der generellen Methode B weiter umgesetzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt 3 (27.9 mg; 0.0579 mmol; 41 % über 2 Stufen) isoliert werden.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8.28$  (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.46 – 7.36 (m, 4H), 7.32 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 6.15 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.51 – 4.43 (m, 1H), 4.27 (dd,  $J = 5.2, 3.3$  Hz, 1H), 4.12 (q,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 3.89 – 3.72 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 154.66, 148.41, 147.45, 137.86, 131.01, 130.02, 129.01, 128.37, 105.00, 90.57, 87.39, 76.41, 72.22, 62.94, 52.27, 46.25.$

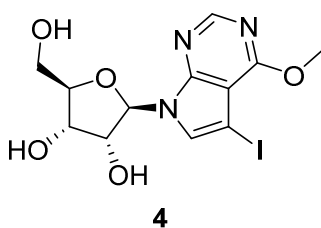
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.8.$

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6.36$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{IN}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 483.05, gef.: 482.93.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{IN}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 483.0524, gef.: 483.0552.

**Ausbeute:** 27.9 mg, 0.0579 mmol, 41 % über 2 Stufen.

## Synthese von 4



Die Reaktion wurde ausgehend von den Bausteinen **5** und **6** analog zu einer in der Literatur beschriebenen Methode mit einer Ansatzgröße von 3.57 mmol durchgeführt.<sup>[74]</sup> Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das Produkt nicht vollständig isoliert werden. Das erhaltene Produktgemisch wurde ohne weitere Aufreinigung weiter eingesetzt.

Mit dem Produktgemisch wurde nach genereller Methode B verfahren. Ein Teil des Rohproduktes (3.1 % m/m) wurde mittels HPLC aufgetrennt und lieferte das Produkt **4** (6.2 mg; 0.015mmol; 14 % über 2 Stufen) als weißes Pulver.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 8.37 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 6.14 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 4.60 – 4.50 (m, 1H), 4.28 (dd,  $J$  = 5.3, 3.2 Hz, 1H), 4.12 (s, 3H), 4.09 (q,  $J$  = 3.1 Hz, 1H), 3.88 – 3.70 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 164.47, 152.14, 152.11, 131.41, 121.31, 90.47, 87.13, 75.88, 72.31, 63.23, 54.29, 50.75.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.7.

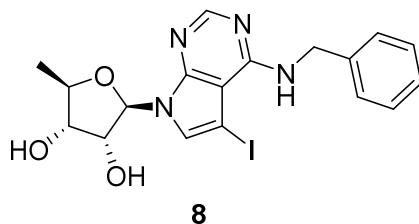
**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 5.49 min,  $m/z$  ber. für  $C_{12}H_{15}IN_3O_5$   $[M+H]^+$ : 408.00, gef.: 408.07.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{12}H_{15}IN_3O_5$   $[M+H]^+$ : ber.: 408.0051, gef.: 408.0043.

**Ausbeute**: 6.2 mg, 0.015 mmol 14 % (über 2 Stufen).

### 6.3.2 Synthese von Derivaten der Hydroxyl-Gruppe

## Synthese von 8



Eine Lösung von **11** (1 eq.; 0.048 mmol; 23 mg) in Benzylamin (5 mL) wurde bei 80 °C für 2 h gerührt. Überschüssiges Benzylamin wurde im Hochvakuum entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt **8** (18.3 mg; 0.039 mmol; 82 %) zu erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.22 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.40 – 7.35 (m, 3H), 7.34 (s, 1H), 7.26 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.02 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.41 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.95 – 3.88 (m, 1H), 3.88 – 3.84 (m, 1H), 1.28 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 149.55, 139.13, 128.42, 127.47, 126.99, 126.89, 103.19, 87.12, 79.42, 74.48, 73.39, 43.61, 19.05.

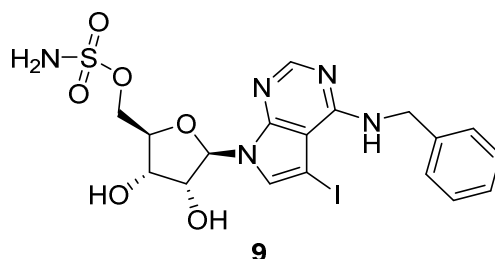
**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 7.27 min, *m/z* ber. für C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 467.05, gef.: 466.90.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 467.0575, gef.: 467.0597.

**Ausbeute**: 18.3 mg; 0.039 mmol; 82 %.

## Synthese von **9**



Zur Schützung des Alkohols **3** wurde nach der generellen Methode C mit einer Ansatzgröße von 0.0564 mmol vorgegangen. Das Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Das Zwischenprodukt wurde in ACN (3 mL) gelöst und bei 0 °C mit einer Lösung von Chlorosulfonylamin in ACN (2 N; 2 eq.; 56.4 µL), welche frisch aus Chlorosulfonyl-isocyanat und Ameisensäure hergestellt wurde, versetzt. Nach Rühren für 2 h bei dieser Temperatur wurde die Reaktion mit Hilfe von H<sub>2</sub>O beendet und das Lösungsmittel wurde entfernt.

Der Rückstand wurde in wenig DMF aufgenommen und 2 N HCl (aq.; 4 mL) wurden hinzugegeben. Die Lösung wurde für 2 h bei RT gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (12.7 mg; 0.0226 mmol) in 40 % Ausbeute über 3 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 8.21 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 7.36 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 7.28 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 6.22 (d,  $J$  = 5.5 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.43 (t,  $J$  = 5.4 Hz, 1H), 4.34 (m, 2H), 4.31 – 4.30 (m, 1H), 4.26 (t,  $J$  = 3.7 Hz, 1H), 4.11 (s, 1H).

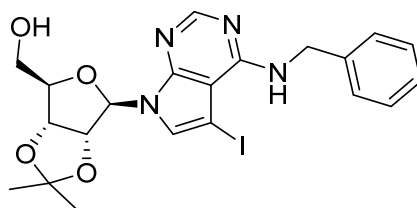
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.4

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.56 min,  $m/z$  ber. für  $C_{18}H_{21}IN_5O_6S$   $[M+H]^+$ : 562.02, gef.: 562.07.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{18}H_{21}IN_5O_6S$   $[M+H]^+$ : ber.: 562.0252, gef.: 562.0271.

**Ausbeute**: 12.7 mg; 0.0226 mmol; 40 % über 3 Stufen.

## Synthese von 12



**12**

Die Reaktion wurde ausgehend von den Bausteinen **5** und **6** analog zu einer in der Literatur beschriebenen Methode mit einer Ansatzgröße von 3.57 mmol durchgeführt.<sup>[74]</sup> Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das Zwischenprodukt nicht vollständig vom Baustein **6** isoliert werden. Das erhaltene Produktgemisch wurde ohne weitere Aufreinigung weiter eingesetzt.

Eine Lösung aus dem Produktgemisch in Benzylamin (10 mL) wurde für 2 h bei 80 °C gerührt. Überschüssiges Benzylamin wurde im Hochvakuum entfernt und die Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen erfolgte nach der generellen Methode B. Durch säulenchromatographische Aufreinigung konnte eine Verunreinigung nicht vom gewünschten Produkt abgetrennt werden. Das Gemisch wurde ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe verwendet.

Das Produktgemisch wurde in einer Mischung aus Aceton und Dimethoxypropan (1:1; 20 mL) gelöst, mit pTsOH (0.1 eq.) versetzt und bei 60 °C für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung beendet und die Lösung dreimal mit DCM extrahiert und über  $MgSO_4$  getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (CH/EA = 9:1  $\rightarrow$  2:1) aufgereinigt und das Produkt **12** (505.8 mg; 0.969 mmol) konnte in 27 % über 4 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.29 (s, 1H), 7.42 – 7.27 (m, 6H), 7.06 (s, 1H), 6.63 – 6.44 (m, 2H), 5.68 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.27 – 5.21 (m, 1H), 5.09 (dd, *J* = 6.0, 1.3 Hz, 1H), 4.93 – 4.80 (m, 2H), 4.48 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 3.95 (dd, *J* = 12.6, 1.3 Hz, 1H), 3.78 (t, *J* = 11.2 Hz, 1H), 1.62 (s, 3H), 1.36 (s, 3H).

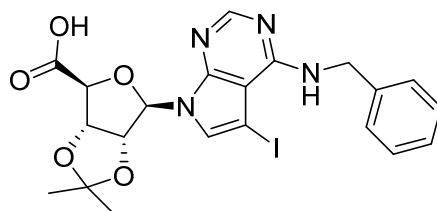
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 156.80, 152.25, 147.95, 129.10, 128.93, 127.64, 127.58, 114.00, 105.64, 96.39, 85.72, 82.91, 81.66, 63.61, 49.12, 44.70, 27.81, 25.42.

**DC** (EA/CH = 1:2): *R<sub>f</sub>* = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 9.21 min, *m/z* ber. für C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 523.08, gef.: 523.06.

**Ausbeute**: 505.8 mg; 0.969 mmol; 27 % über 4 Stufen.

### Synthese von 13



**13**

Die Reaktion wurde analog zu einer in der Literatur beschriebenen Methode durchgeführt.<sup>[100]</sup> Zu einer Lösung von **12** (1 eq.; 0.044 mmol; 23.2 mg) in DCM/H<sub>2</sub>O (1:5; 9 mL) wurde 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl (2 eq.; 0.088 mmol; 138 mg) und (Diacetoxyiodo)-benzol (2.5 eq.; 0.11 mmol; 35.4 mg) hinzu gegeben. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und die Reaktion durch Zugabe von gesättigter Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung gestoppt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (CH/EA = 1:1 → DCM/MeOH = 7:1) aufgetrennt, um das Produkt (22.2 mg; 0.414 mmol; 93 %) zu isolieren.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.32 (s, 1H), 7.34 (m, 6H), 7.13 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.32 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.76 (m, 2H), 1.62 (s, 3H), 1.37 (s, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 156.41, 151.70, 137.77, 128.97, 127.83, 127.72, 114.65, 104.83, 95.31, 85.27, 84.06, 83.73, 50.23, 45.04, 27.24, 25.25.

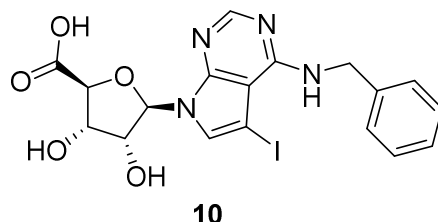
**DC** (DCM/MeOH = 7:1): *R<sub>f</sub>* = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 8.86 min, *m/z* ber. für C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 537.06, gef.: 537.13.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{21}H_{22}IN_4O_5$   $[M+H]^+$ : ber.: 537.0629, gef.: 537.0629.

**Ausbeute:** 22.2 mg; 0.0414 mmol; 93 %.

### Synthese von **10**



**13** (1 eq.; 0.0103 mmol; 5.5 mg) wurde in 2 N HCl (aq.; 1 mL) gelöst und für 3 h bei RT gerührt, bis laut LC-MS eine vollständige Umsetzung des Edukts zu erkennen war. Die Lösung wurde nach Zugabe von gesättigter  $KHSO_4$ -Lösung dreimal mit EA extrahiert und über  $MgSO_4$  getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt **10** (3.8 mg; 0.0077 mmol) in 74 % Ausbeute erhalten.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 8.25 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.41 – 7.30 (m, 4H), 7.25 (m, 1H), 7.15 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 0H), 6.25 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.40 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 4.34 (dd,  $J$  = 7.0, 4.6 Hz, 1H), 4.25 (dd,  $J$  = 4.5, 2.0 Hz, 1H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 172.06, 154.94, 150.62, 149.64, 139.01, 128.52, 127.54, 127.05, 103.21, 86.63, 82.46, 74.09, 73.29, 52.41, 43.79.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.6.

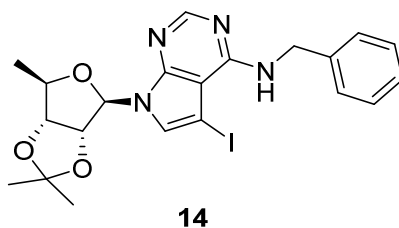
**LC-MS (ESI):**  $t_R$  = 6.33 min,  $m/z$  ber. für  $C_{18}H_{18}IN_4O_5$   $[M+H]^+$ : 497.03, gef.: 497.13.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{18}H_{18}IN_4O_5$   $[M+H]^+$ : ber.: 497.0316, gef.: 497.0327.

**Ausbeute:** 3.8 mg; 0.0077 mmol; 74 %.

### 6.3.3 Synthese von Derivaten von 8

#### Synthese von 14



Die Reaktion wurde ausgehend von **8** nach der generellen Methode C mit einer Ansatzgröße von 0.067 mmol durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt (3.1 mg; 0.0061 mmol; 11 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.39 (s, 1H), 7.38 (m, 4H), 7.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.47 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 6.13 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 5.22 (dd, *J* = 6.6, 2.8 Hz, 1H), 4.90 – 4.85 (m, 2H), 4.65 (dd, *J* = 6.6, 4.3 Hz, 1H), 4.26 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.38 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 1.36 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 155.93, 152.30, 149.39, 138.39, 128.92, 127.61, 126.91, 114.95, 104.26, 90.21, 85.28, 85.05, 82.18, 50.49, 44.98, 27.35, 25.59, 19.31.

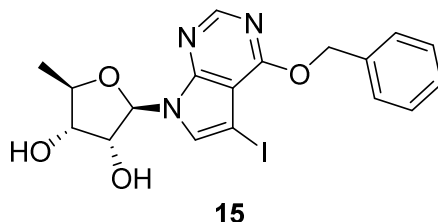
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.7.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 10.59 min, *m/z* ber. für C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 507.09, gef.: 506.65.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 507.0888, gef.: 507.0902.

**Ausbeute**: 3.1 mg; 0.0061 mmol; 11 %.

#### Synthese von 15



**11** (1 eq.; 0.073 mmol; 35 mg) wurde in Benzylalkohol (5 mL) gelöst und NaH (4 eq.; 0.29 mmol; 7.0 mg) wurde hinzu gegeben. Die Suspension wurde für 2 h bei 80 °C gerührt, bis mittels LC-MS eine vollständige Umsetzung des Edukts zu erkennen war. Das Lösungsmittel

wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um Produkt **15** (3.6 mg; 0.0077 mmol; 11 %) zu erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.46 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.41 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.33 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.08 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.36 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.14 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.46 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.96 – 3.91 (m, 1H), 3.87 (q, *J* = 5.0 Hz, 1H), 1.29 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 161.67, 152.07, 151.06, 136.63, 129.68, 128.39, 127.74, 127.34, 106.78, 87.33, 79.66, 74.51, 73.38, 67.22, 51.89, 19.11.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1): *R<sub>f</sub>* = 0.6.

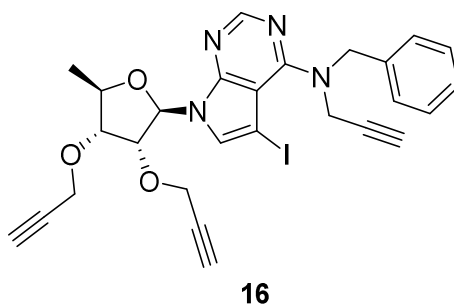
**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 8.45 min, *m/z* ber. für C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 468.04, gef.: 467.97.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 468.0415, gef.: 468.0414.

**Ausbeute**: 3.6 mg; 0.0077 mmol; 11 %.

### 6.3.4 Synthese von Alkinderivaten

#### Synthese von **16**



Zu einer Lösung von **8** (1 eq.; 0.032 mmol; 15 mg) in DMF (2 mL) wurde NaH (2.5 eq.; 0.080 mmol; 1.9 mg) und ein Überschuss von Propargylbromid bei 0 °C gegeben. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 30 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von H<sub>2</sub>O gestoppt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde über HPLC aufgereinigt und lieferte das Produkt **16** (2.7 mg; 0.0047 mmol; 15 %) als weißen Feststoff.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD): δ = 8.38 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.31 (m, 5H), 6.30 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.88 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.68 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H), 4.54 (s, 1H), 4.39 – 4.32 (m, 4H), 4.26 – 4.16 (m, 4H), 2.94 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.76 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.67 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H), 1.44 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H).



<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 161.71, 153.41, 151.64, 138.42, 131.41, 129.75, 129.48, 128.53, 110.67, 88.35, 81.44, 80.68, 79.45, 76.68, 76.54, 75.05, 58.70, 58.48, 55.32, 53.31, 49.53, 44.08, 42.47, 40.42, 19.30.

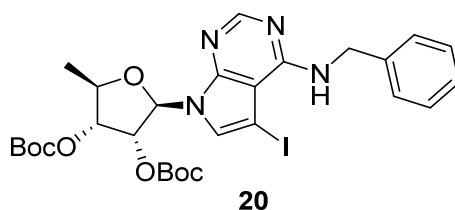
DC (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.7.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 10.54 min, m/z ber. für C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 581.10, gef.: 581.27.

HRMS (ESI): m/z für C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 581.1044, gef.: 581.1067.

Ausbeute: 2.7 mg; 0.0047 mmol; 15 %.

## Synthese von 20



**8** (1 eq.; 0.079 mmol; 37 mg) wurde in DCM/DMF (9:1; 5 mL) gelöst und es wurden nacheinander NaH (3 eq.; 0.24 mmol; 5.7 mg) und Boc<sub>2</sub>O (2.7 eq.; 0.21 mmol; 45.6 μL) hinzugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1) konnte das gewünschte Produkt (52 mg; 0.078 mmol; 99 %) erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 8.21 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.35 (m, 4H), 7.24 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 6.90 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 6.17 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 5.69 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.82 (m, 2H), 4.17 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.38 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.23 (s, 1H), 1.17 (s, 1H).

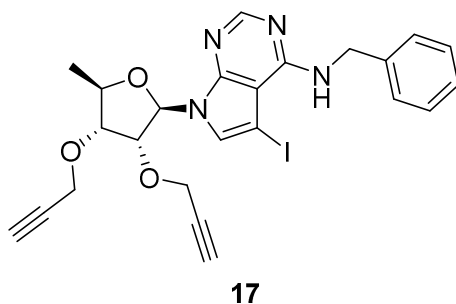
<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 155.81, 152.09, 151.78, 151.30, 149.70, 139.45, 128.33, 127.59, 127.01, 126.76, 103.49, 84.65, 82.77, 82.46, 76.98, 76.07, 74.80, 52.28, 43.37, 27.19, 27.04, 18.41.

DC (EA/CH = 1:5): R<sub>f</sub> = 0.5.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 11.67 min, m/z ber. für C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: 689.15, gef.: 689.69.

Ausbeute: 52 mg; 0.078 mmol; 99 %.

## Synthese von 17



Eine Lösung aus **20** (1 eq.; 0.130 mmol; 89.5 mg) in DMF (4 mL) wurde mit NaH (2.5 eq.; 0.325 mmol; 7.8 mg) und Propargylbromid (2.2 eq.; 0.286 mmol; 27.1  $\mu$ L) versetzt und für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H<sub>2</sub>O gestoppt und die Lösung mit DCM verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde über HPLC aufgereinigt und das Produkt **17** (5.3 mg; 0.0098 mmol) konnte in 8 % Ausbeute isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.54 (s, 1H), 7.48 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.42 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.37 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.20 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.63 – 4.54 (m, 1H), 4.46 – 4.38 (m, 2H), 4.38 – 4.30 (m, 2H), 4.30 – 4.26 (m, 1H), 4.06 – 3.99 (m, 1H), 2.49 (t,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 2.40 (t,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 1.47 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 147.66, 135.56, 129.39, 128.70, 128.62, 128.15, 103.27, 88.60, 79.80, 79.23, 78.98, 78.71, 78.38, 75.88, 75.73, 58.00, 57.67, 51.56, 47.69, 19.06.

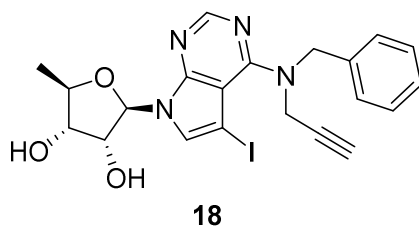
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.6.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 9.82 min,  $m/z$  ber. für C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 543.09, gef.: 543.48.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 543.0888, gef.: 543.0902.

**Ausbeute**: 5.3 mg; 0.0098 mmol; 8 %.

## Synthese von 18



**18**

Die Schützung des Alkohols **8** wurde nach der generellen Methode C mit einer Ansatzgröße von 0.225 mmol durchgeführt. Das Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Das Zwischenprodukt wurde in DMF (2 mL) gelöst und NaH (3 eq.; 0.675 mmol; 16.2 mg) und Propargylbromid (1.2 eq.; 0.270 mmol; 30  $\mu$ L) wurden bei 0 °C hinzu gegeben. Die Lösung wurde für 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt und über Nacht bei RT. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet und zur Trockne eingengt.

2 N HCl (aq.; 5 mL) wurden hinzu gefügt und die Lösung wurde bei RT für 1 h gerührt, bis eine vollständige Umsetzung nach LC-MS zu erkennen war. Die Lösung wurde mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung verdünnt und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (6.5 mg; 0.013 mmol; 6 % über 3 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.40 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.32 (d, J = 4.2 Hz, 4H), 7.26 (m, 1H), 6.11 (d, J = 5.5 Hz), 4.79 (m, 2H), 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 3.94 (m, 1H), 3.88 (t, J = 4.9 Hz, 1H), 3.23 (s, 1H), 1.29 (d, J = 6.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 161.72, 153.65, 151.58, 139.14, 131.48, 130.32, 129.72, 129.47, 128.96, 128.52, 110.61, 89.71, 81.25, 79.31, 76.36, 75.63, 75.03, 55.29, 49.53, 42.47, 19.33.

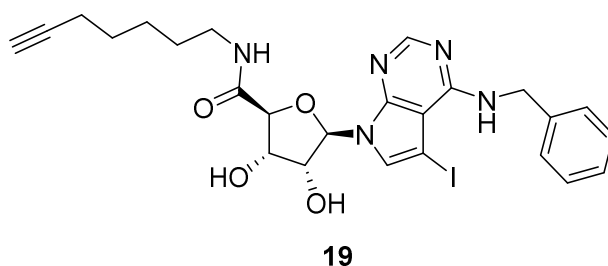
**DC** (DCM/MeOH = 30:1): R<sub>f</sub> = 0.4; (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 8.55 min, m/z ber. für C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 505.07, gef.: 505.37.

**HRMS (ESI)**: m/z für C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 505.0731, gef.: 505.0754.

**Ausbeute**: 6.5 mg; 0.013 mmol; 6 % über 3 Stufen.

## Synthese von **19**



Zu einer Lösung von 6-Heptynnitril (1 eq.; 0.93 mmol; 100 mg) in Trocknem THF (10 mL) wurde bei 0 °C vorsichtig LiAlH<sub>4</sub> (1.5 eq.; 1.4 mmol; 53.2 mg) hinzu gegeben. Die Suspension wurde bei dieser Temperatur für 1.5 h gerührt und die Reaktion durch vorsichtige Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet. Die Suspension wurde über Celite 535 abfiltriert und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und EA gewaschen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe eingesetzt.

Ein Teil des Rohproduktes (13.7 mg) wurde zu einer Lösung von **13** (1 eq.; 0.0207 mmol), NEt<sub>3</sub> (4 eq.; 0.0828 mmol; 11.6 µL), HOBt (4 eq.; 0.0828 mmol; 11.2 mg) und PyBOP (4 eq.; 0.0828 mmol; 43.1 mg) in DCM (5 mL), die für 15 Minuten bei RT gerührt wurde, gegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt und mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und gesättigter KHSO<sub>4</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufarbeitung für die nächste Stufe eingesetzt.

Das Zwischenprodukt wurde in 2 N HCl (aq.; 2 mL) gelöst und für 4 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde mit gesättigter KHSO<sub>4</sub>-Lösung verdünnt, dreimal mit EA extrahiert und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgetrennt, um das gewünschte Produkt (4.0 mg; 0.0068 mmol; 33 % über 2 Stufen) zu isolieren.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD): δ = 8.30 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.37 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.30 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.08 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.64 (dd, *J* = 7.2, 4.8 Hz, 1H), 4.46 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 4.30 (dd, *J* = 4.8, 1.8 Hz, 1H), 2.22 – 2.12 (m, 4H), 1.56 (m, 5H), 1.51 – 1.42 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD): δ = 172.51, 150.13, 139.02, 131.14, 129.86, 128.67, 128.40, 105.82, 85.90, 84.82, 74.95, 74.44, 69.66, 49.53, 45.73, 40.17, 29.95, 29.27, 27.01, 18.93.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1): R<sub>f</sub> = 0.7.

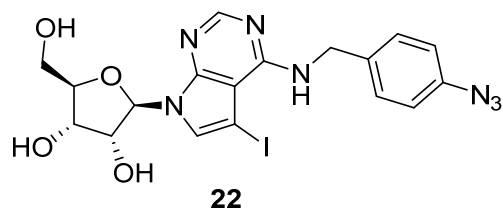
**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 8.32 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>IN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 590.13, gef.: 590.22.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>IN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 590.1259, gef.: 590.1270.

**Ausbeute**: 4.0 mg; 0.0068 mmol; 33 % (über 2 Stufen).

### 6.3.5 Synthese von Monoazidderivaten

#### Synthese von **22**



Die Kupplung zwischen dem acetylierten Zucker 1,2,3,5-Tetraacetyl- $\beta$ -D-ribofuranose (**5**) und dem Baustein 6-Chloro-7-iodo-7deazapurin (**6**) wurde analog zu einer in der Literatur bekannten Synthese durchgeföhrt.<sup>[74]</sup> Durch die säulenchromatographische Aufreinigung (CH/EA = 3:1  $\rightarrow$  2:1) konnten das gewünschte Produkt und der Baustein **6** nicht voneinander getrennt werden. Das Produktgemisch wurde ohne weitere Aufreinigung weiter eingesetzt.

Das Produktgemisch wurde in ACN (10 mL) gelöst und mit  $\text{NEt}_3$  (2 eq.; 7.14 mmol; 1 mL) und **27** (0.4 eq.; 1.43 mmol; 211 mg) versetzt und bei 80 °C für 4 d geröhrt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Die Abspaltung der Acetyl-Gruppen wurde nach der generellen Methode B durchgeföhrt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **22** (6.4 mg; 0.012 mmol; 0.3 % über 3 Stufen) isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 8.27 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.46 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.10 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.13 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 4.50 – 4.44 (m, 1H), 4.27 (dd,  $J$  = 5.2, 3.2 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.91 – 3.72 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 154.80, 147.58, 141.21, 134.90, 131.02, 130.10, 120.52, 105.10, 90.61, 87.42, 76.40, 72.25, 62.94, 52.23, 45.61.

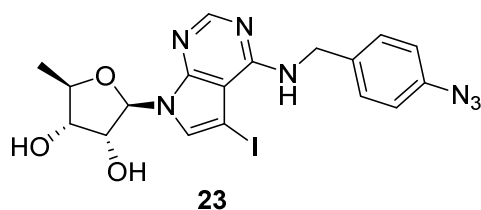
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.6.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.00 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{IN}_7\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 524.05, gef.: 524.08.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{IN}_7\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 524.0538, gef.: 524.0528.

**Ausbeute**: 6.4 mg; 0.0122 mmol; 0.3 % über 3 Stufen.

## Synthese von 23



Zu einer Lösung von **11** (1 eq.; 0.042 mmol; 20.1 mg) in ACN (3 mL) wurde ein Überschuss  $\text{NEt}_3$  (5 eq.; 0.21 mmol; 29  $\mu\text{L}$ ) und **27** (2 eq.; 0.084 mmol; 12.4 mg) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 3 d bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Die Acetyl-Schutzgruppen wurden nach der generellen Methode B entfernt und nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt (6.7 mg; 0.013 mmol; 31 % über 2 Stufen) isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 8.19 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.49 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 7.19 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.08 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.93 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 6.01 (d,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 4.79 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 4.40 (t,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 4.02 (d,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 3.93 – 3.87 (m, 2H), 3.87 – 3.82 (m, 2H), 1.27 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 155.53, 151.68, 149.87, 137.84, 136.69, 130.73, 128.79, 119.10, 103.31, 87.04, 79.37, 74.54, 73.39, 51.65, 42.91, 19.08.

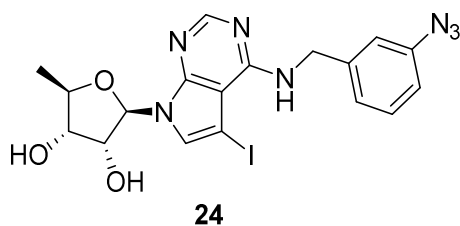
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f$  = 0.1.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.95 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{IN}_7\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 508.06, gef.: 507.91.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{IN}_7\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 508.0589, gef.: 508.0600.

**Ausbeute**: 6.7 mg; 0.013 mmol; 31 % über 2 Stufen.

## Synthese von 24



**11** (1 eq.; 0.031 mmol; 15 mg) wurde in ACN (10 mL) gelöst und mit NEt<sub>3</sub> (3 eq.; 13 µL) und **30** (2 eq.; 0.062 mmol; 9.2 mg) versetzt. Die Lösung wurde bei RT über Nacht gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Intermediat wurde ohne weitere Aufreinigung für den nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

Die Acetyl-Schutzgruppen wurden nach der generellen Methode B abgespalten und nach Aufreinigung über HPLC wurde das gewünschte Produkt **24** (3.7 mg; 0.0073 mmol; 23 % über 2 Stufen) erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.52 (s, 1H), 7.39 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.18 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.03 (m, 2H), 6.07 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.29 (m, 2H), 1.45 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 155.72, 147.94, 141.09, 138.67, 130.66, 127.24, 118.85, 118.36, 104.20, 91.08, 81.65, 76.19, 75.46, 50.53, 45.33, 19.19.

**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.1.

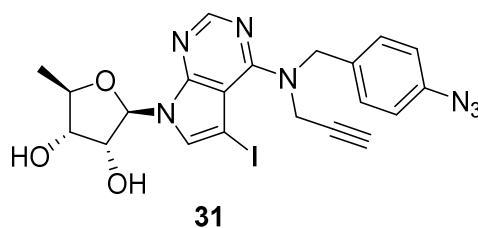
**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 7.97 min, *m/z* ber. für C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>7</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 508.06, gef.: 507.86.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>IN<sub>7</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 508.0589, gef.: 508.0593.

**Ausbeute**: 3.7 mg; 0.0073 mmol; 23 % über 2 Stufen.

### 6.3.6 Synthese der ersten chemischen Sonde

#### Synthese von **31**



Zur Schützung des Alkohols **23** wurde die generelle Methode C mit einer Ansatzgröße von 0.137 mmol verwendet.

Das Zwischenprodukt wurde in DCM (5 mL) gelöst und NaH (4 eq.; 0.548 mmol; 13.2 mg) und Propargylbromid (4 eq.; 0.548 mmol; 41.5 µL) wurden hinzu gegeben. Die sich bildende Suspension wurde über Nacht gerührt und die Reaktion wurde durch Zugabe von H<sub>2</sub>O abgebrochen. Nach Zugabe von gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten Phasen wurden über

MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung weiter eingesetzt.

Der Rückstand wurde in THF (5 mL) aufgenommen und mit 2 N HCl (aq.; 10 mL) versetzt. Die Lösung wurde für 1 h gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **31** (1.7 mg; 0.0024 mmol; 2 % über 3 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 8.38 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.03 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 6.20 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 4.49 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.31 – 4.17 (m, 2H), 4.11 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 4.10 – 4.07 (m, 1H), 4.02 – 3.97 (m, 1H), 2.69 (s, 1H), 1.41 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 161.54, 153.64, 151.50, 131.59, 131.37, 120.04, 110.72, 89.72, 81.27, 76.36, 75.63, 75.52, 67.57, 54.50, 49.53, 44.47, 19.32.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.8.

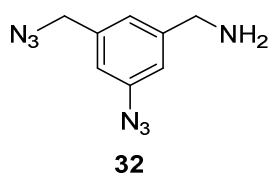
**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 9.18 min,  $m/z$  ber. für C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>IN<sub>7</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 546.07, gef.: 546.05.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>IN<sub>7</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 546.0745, gef.: 546.0735.

**Ausbeute**: 1.7 mg; 0.00239 mmol; 2 % (über 3 Stufen).

### 6.3.7 Synthese von Diazidderivaten

#### Synthese von **32**



**37** (1 eq.; 0.308 mmol; 86.8 mg) wurde bei 0 °C in 7 N NH<sub>3</sub> in MeOH (10 mL) gelöst und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in EA aufgenommen. Nach Zugabe von gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Es war keine weitere Aufreinigung notwendig und das gewünschte Produkt (59.1 mg; 0.291 mmol) wurde in 94 % Ausbeute erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.04 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.31 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 1.83 (s, 2H).

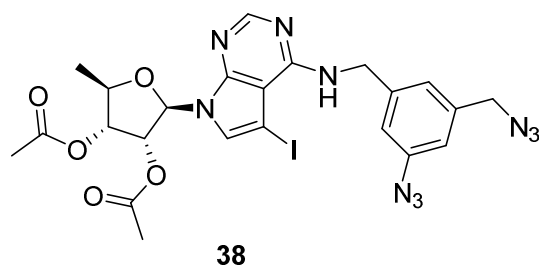
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 145.77, 140.92, 137.68, 123.35, 117.53, 117.10, 54.37, 45.90.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 4.43 min, m/z ber. für C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 204.09, gef.: 203.84.

**Ausbeute**: 59.1 mg; 0.291 mmol; 93 % über 2 Stufen.

### Synthese von **38**



Eine Lösung aus **32** (1 eq.; 0.083 mmol; 40 mg) und **11** (1.2 eq.; 0.10 mmol; 20.2 mg) in ACN wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (CH/EA = 9:1 → 5:1 → 2:1) aufgereinigt. Das gewünschte Produkt (12.3 mg; 0.019 mmol; 23 %) konnte als weißer Feststoff erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.35 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.49 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 6.33 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 4.88 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 4.34 (s, 2H), 4.26 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 2.21 (s, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.47 (d, *J* = 6.5 Hz, 4H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 169.99, 169.70, 152.75, 150.98, 150.19, 141.67, 141.31, 138.09, 132.14, 123.56, 117.95, 117.66, 104.38, 85.55, 78.07, 74.57, 73.55, 54.38, 51.48, 29.84, 20.78, 20.62, 19.21.

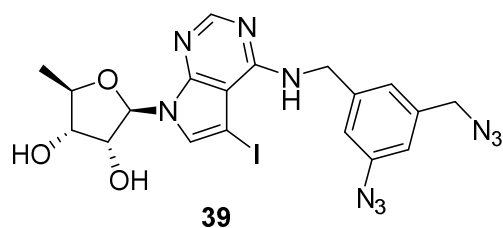
**DC** (EA/CH = 2:1): R<sub>f</sub> = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 10.34 min, m/z ber. für C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>IN<sub>10</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 647.10, gef.: 646.98.

**HRMS (ESI)**: m/z für C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>IN<sub>10</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 647.0970, gef.: 647.0960.

**Ausbeute**: 12.3 mg; 0.019 mmol; 23 %.

## Synthese von 39



Bei dieser Reaktion wurde ausgehend von **38** die generelle Methode B mit einer Ansatzgröße von 0.018 mmol eingesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das gewünschte Produkt (5.8 mg; 0.010 mmol; 57 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.17 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.18, (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.01 (m, 2H), 6.01 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.83 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.46 (s, 2H), 4.40 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 1.27 (d, J = 6.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 155.57, 151.75, 149.96, 144.71, 142.79, 139.78, 137.97, 127.25, 123.59, 117.25, 103.41, 87.03, 79.35, 74.54, 73.39, 52.96, 51.55, 42.97, 40.15, 19.08.

**DC** (EA/CH = 2:1): R<sub>f</sub> = 0.4.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 8.34 min, m/z ber. für C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>IN<sub>10</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 563.07, gef.: 563.00.

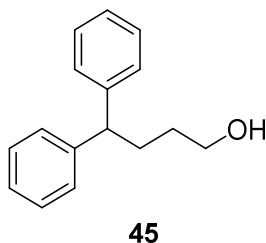
**HRMS (ESI)**: m/z für C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>IN<sub>10</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 563.0759, gef.: 563.0744.

**Ausbeute**: 5.8 mg; 0.010 mmol; 57 %.

## 6.4 Synthese von Derivaten vom p97-Inhibitor 2

### 6.4.1 Synthese von vereinfachten Derivaten

#### Synthese von 45 aus $\gamma$ -Phenyl- $\gamma$ -butyrolacton



Die Methylierung von **44** wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 6.38 mmol durchgeführt.

Das Zwischenprodukt wurde in trockenem THF (20 mL) gelöst und bei 0 °C vorsichtig LiAlH<sub>4</sub> (3 eq.; 19.1 mmol; 726 mg) zugegeben. Die sich bildende Suspension wurde über Nacht gerührt und die Reaktion vorsichtig durch Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet. Die Suspension wurde über Celite 535 abfiltriert und die Lösung dreimal mit EA extrahiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das gewünschte Produkt (1.27 g; 5.63 mmol) in 88 % Ausbeute erhalten werden.

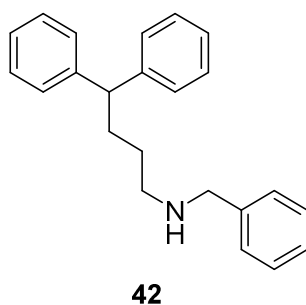
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.32 – 7.14 (m, 10H), 3.91 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.60 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 2.21 – 2.02 (m, 2H), 1.63 – 1.43 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 145.01, 128.51, 127.91, 126.22, 62.79, 51.20, 31.91, 31.30.

DC (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.5.

**Ausbeute:** 1.27 g; 5.63 mmol; 88 %.

#### Synthese von 42



Die Mesylierung des Alkohols **45** erfolgte nach der generellen Methode G in einer Ansatzgröße von 0.40 mmol.

Das Intermediat wurde in einer Mischung aus DCM und Benzylamin (1:1; 4 mL) gelöst und bei RT über Nacht gerührt. Die Lösung wurde bis zur Trockne eingedampft und säulenchromatographisch (CH/EA = 19:1 → 9:1) voraufgereinigt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (15.1 mg; 0.048 mmol; 12 % über 2 Stufen) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.43 – 7.39 (m, 3H), 7.35 (m, 7H), 7.25 (d, *J* = 6.4 Hz, 5H), 4.71 (s, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.86 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.85 (s, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.67 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.10, 130.20, 130.01, 129.67, 129.27, 128.72, 127.75, 126.57, 50.93, 50.75, 46.41, 32.36, 24.41.

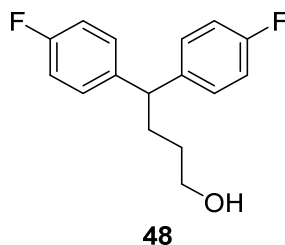
**DC** (EA/CH = 1:9): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.51 min, *m/z* ber. für C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 316.20, gef.: 316.13.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 316.2060, gef.: 316.2078.

**Ausbeute**: 15.1 mg; 0.048 mmol; 12 %.

## Synthese von **48**



Die Reaktion erfolgte analog zu einer in der Literatur bekannten Synthese.<sup>[123]</sup> Unter Argon-Atmosphäre wurde (3-Benzyloxypropyl)-triphenylphosphoniumbromid (1 eq.; 2.03 mmol; 1.00 g) in Trocknem THF (15 mL) gelöst und Kaulium-*tert*-butanolat (1.1 eq.; 2.23 mmol; 224 mg) wurde hinzugegeben. Die Lösung wurde für 3 h bei 70 °C gerührt und dann auf RT gekühlt. Nach Zugabe von 4,4'-Difluorobenzophenon (1 eq.; 2.03 mmol; 436 mg) wurde die Lösung für 6 h bei 70 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurde die Reaktion mit H<sub>2</sub>O gestoppt. Die Lösung wurde mit gesättigter NaCl-Lösung verdünnt und dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt

(CH/EA = 1:0 → 19:1), wobei das gewünschte Produkt nicht vollständig von allen Verunreinigungen abgetrennt werden konnte. Das Produktgemisch wurde ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

In einem ausgeheizten Kolben wurde unter Argon-Gegenstrom 10 % Palladium auf Aktivkohle (200 mg) gegeben. Der Kolben wurde vorsichtig evakuiert und mit Wasserstoff geflutet. Eine Lösung vom Produktgemisch in Trocknem EtOH (15 mL) wurde vorsichtig hinzu gegeben und die sich bildende Suspension wurde bei RT über Nacht gerührt. Der Kolben wurde für 30 Minuten geöffnet, damit überschüssiger Wasserstoff entweichen konnte. Die Suspension wurde über Celite 535 abfiltriert und mit EA gewaschen. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (CH/EA = 9:1 → 3:1) aufgereinigt, um das gewünschte Produkt (246.5 mg; 0.94 mmol; 46 % über 2 Stufen) zu erhalten.

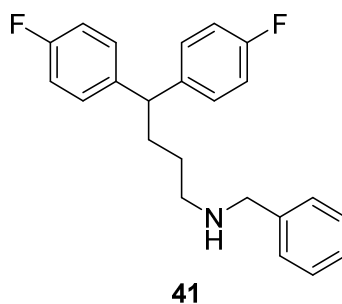
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.17 (m, 4H), 6.96 (t, *J* = 8.7 Hz, 4H), 3.88 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.64 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.07 (d, *J* = 7.9 Hz, 3H), 1.60 – 1.42 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.69, 160.26, 140.55, 129.17, 115.50, 115.29, 62.78, 49.68, 32.24, 31.21.

**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.4.

**Ausbeute:** 246.5 mg; 0.94 mmol; 47 % über 2 Stufen.

### Synthese von 41



Die Mesylierung des Alkohols **45** erfolgte nach der generellen Methode G in einer Ansatzgröße von 0.40 mmol.

Das Intermediat wurde in einer Mischung aus DCM und Benzylamin (2:1; 7.5 mL) gelöst und bei RT über Nacht gerührt. Die Lösung wurde bis zur Trockne eingedampft und nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **41** (80.7 mg; 0.230 mmol) in 84 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.56 – 7.45 (m, 3H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 7.30 – 7.20 (m, 4H), 7.09 (t, *J* = 8.7 Hz, 4H), 4.05 (s, 2H), 3.92 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.01 (s, 2H), 2.13 (q, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.72 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.84, 160.40, 139.57, 129.87, 129.37, 129.06, 128.98, 115.69, 115.48, 51.26, 49.21, 46.63, 32.51, 24.40.

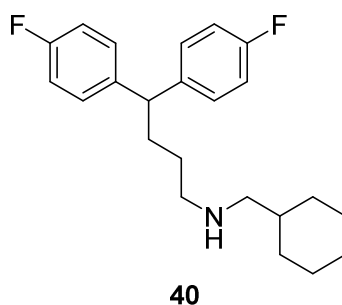
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.2.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.75 min, *m/z* ber. für C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 352.19, gef.: 352.12.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 352.1871, gef.: 352.1879.

**Ausbeute**: 80.7 mg; 0.230 mmol; 84 % über 2 Stufen.

### Synthese von 40



Die Mesylierung des Alkohols **45** wurde mit einer Ansatzgröße von 0.076 mmol nach der generellen Methode G und die darauffolgende Aminierung mit einem Überschuss an Cyclohexamethylamin (50 μL) nach der generellen Methode H durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (9.5 mg; 0.027 mmol; 35 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.11 (m, 4H), 6.95 (t, *J* = 8.5 Hz, 4H), 3.81 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 2.90 (s, 2H), 2.68 (s, 2H), 1.99 (s, 2H), 1.81 – 1.54 (m, 8H), 1.22 – 1.09 (m, 3H), 0.89 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.89, 160.44, 139.62, 129.13, 115.76, 115.55, 53.83, 49.30, 48.13, 34.87, 32.76, 30.49, 25.87, 25.36, 24.12.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1): R<sub>f</sub> = 0.6.

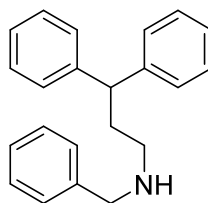
**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 7.08 min, *m/z* ber. für C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 358.23, gef.: 358.28.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 358.2341, gef.: 358.2355.

**Ausbeute**: 9.5 mg; 0.027 mmol; 35 %.

## 6.4.2 Synthese von Derivaten zur Optimierung der Alkylkette

### Synthese von 54



**54**

3,3-Diphenylpropylamin (1 eq.; 0.473 mmol; 100.0 mg) wurde in DCM (5 mL) gelöst und nacheinander mit  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.; 0.710 mmol; 98.4  $\mu\text{L}$ ) und Benzylchlorid (1.2 eq.; 0.568 mmol; 65.3  $\mu\text{L}$ ) versetzt. Die Lösung wurde für 1 h bei RT gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **54** (83.1 mg; 0.276 mmol) in 58 % Ausbeute erhalten werden.

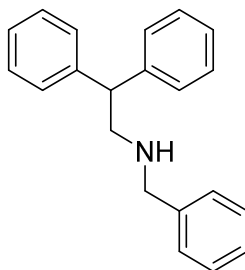
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 – 7.24 (m, 9H), 7.20 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.18 – 7.13 (m, 4H), 3.92 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 3.88 (s, 2H), 2.82 (s, 2H), 2.40 (q,  $J = 7.7$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 142.82, 130.17, 129.86, 129.68, 129.24, 128.94, 127.64, 126.93, 51.25, 48.57, 45.65, 31.46$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_{\text{R}} = 6.19$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 302.18, gef.: 302.21.

**Ausbeute**: 83.1 mg; 0.276 mmol ; 58 %.

### Synthese von 52



**52**

Zu einer Lösung von 2,2-Diphenylethylamin (1 eq.; 0.25 mmol; 50 mg) und einem großen Überschuss  $\text{NEt}_3$  (0.5 mL) in DCM (3 mL) wurde Benzylchlorid (1 eq.; 0.25 mmol; 29  $\mu\text{L}$ ) gegeben. Nach Rühren bei RT für 1 h wurde eine gesättigte  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung hinzu gegeben

und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt. Das gewünschte Produkt (43.3 mg; 0.15 mmol; 37 %) konnte erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.43 – 7.37 (m, 3H), 7.26 (m, 8H), 7.18 – 7.10 (m, 4H), 4.35 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.51 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 139.05, 130.09, 130.02, 129.77, 129.54, 129.35, 127.99, 127.79, 51.77, 50.35, 48.32.

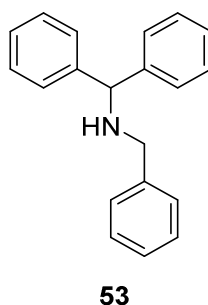
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 5.97 min, *m/z* ber. für C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 288.17, gef.: 288.05.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 288.1747, gef.: 288.1760.

**Ausbeute**: 43.3 mg; 0.15 mmol ; 37 %.

### Synthese von 53



Eine Lösung aus Benzhydrylamin (1 eq.; 0.58 mmol; 100 μL) in DCM (5 mL) wurde mit NEt<sub>3</sub> (1.5 eq.; 0.87 mmol; 120.7 μL) und Benzylchlorid (1.2 eq.; 0.70 mmol; 80 μL) versetzt und für 3 d bei RT gerührt. Es wurde eine gesättigte NaHCO<sub>3</sub>-Lösung hinzu gegeben und die Lösung wurde dreimal mit DCM extrahiert. Das Rohprodukt wurde über HPLC aufgereinigt und das gewünschte Produkt (47.6 mg; 0.174 mmol) konnte in 30 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.43 (m, 4H), 7.33 (m, 9H), 7.20 (m, 2H), 5.15 (s, 1H), 3.92 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 134.83, 130.20, 129.69, 129.63, 129.40, 129.21, 129.06, 127.65, 65.25, 49.92.

**DC** (EA/CH = 1:9): R<sub>f</sub> = 0.5.

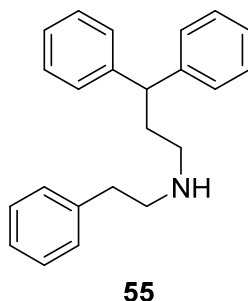
**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 5.91 min, *m/z* ber. für C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 274.16, gef.: 273.72.



**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{20}H_{20}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 274.1590, gef.: 274.1599.

**Ausbeute:** 47.6 mg; 0.174 mmol; 30 %.

### Synthese von **55**



Zu einer Lösung des 3,3-Diphenylpropylamin (1 eq.; 0.56 mmol; 100  $\mu$ L) und Phenylacetaldehyd (1.1 eq.; 0.62 mmol; 86  $\mu$ L) in Trocknem THF (7 mL) wurde  $NaBAc_3H$  (2 eq.; 1.12 mmol; 237 mg) hinzu gegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von  $H_2O$  beendet. Die Lösung wurde dreimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über  $MgSO_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das Produkt **55** (6.1 mg; 0.019 mmol; 3 %) zu isolieren.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 9.47 (s, 1H), 7.24 – 7.12 (m, 13H), 7.07 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 3.93 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 3.07 (s, 2H), 2.98 – 2.83 (m, 4H), 2.50 (s, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 142.79, 136.00, 129.03, 128.95, 128.74, 127.56, 127.38, 126.94, 49.31, 48.62, 46.95, 32.48, 31.54.

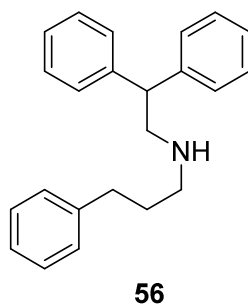
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.2

**LC-MS (ESI):**  $t_R$  = 6.64 min,  $m/z$  ber. für  $C_{23}H_{26}N$   $[M+H]^+$ : 316.21, gef.: 316.20.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{23}H_{26}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 316.2060, gef.: 316.2069.

**Ausbeute:** 6.1 mg; 0.019 mmol; 4 %.

## Synthese von 56



Eine Lösung von 2,2-Diphenylethylamin (1 eq.; 0.51 mmol; 100 mg) und Hydrozimaldehyd (1.1 eq.; 0.56 mmol; 74  $\mu$ L) in Trocknem THF (7 mL) wurde mit NaBAC<sub>3</sub>H (2 eq.; 1.02 mmol; 216 mg) versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet und die Lösung dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde über HPLC aufgereinigt und das Produkt **56** (12.1 mg; 0.0384 mmol; 8 %) konnte isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.62 (s, 2H), 7.68 – 6.90 (m, 15H), 4.35 (s, 1H), 3.56 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 2.91 (s, 2H), 2.57 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 2.09 – 1.75 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 139.45, 139.20, 129.39, 128.91, 128.29, 128.01, 127.77, 126.76, 52.03, 48.16, 48.00, 32.57, 27.08.

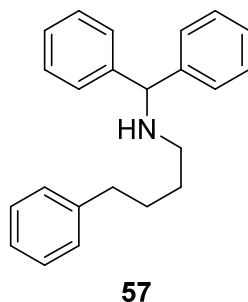
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.4.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.57 min,  $m/z$  ber. für C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 316.21, gef.: 316.11.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 316.2060, gef.: 316.2080.

**Ausbeute**: 12.1 mg; 0.0384 mmol; 8 %.

## Synthese von 57



Zu einer Lösung aus Benzhydrylamin (1 eq.; 0.58 mmol; 100  $\mu$ L) und  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.; 0.87 mmol; 121  $\mu$ L) in ACN (5 mL) wurde 1-Bromo-4-phenylbutan (1 eq.; 0.58 mmol; 120  $\mu$ L) gegeben und bei 80  $^\circ\text{C}$  für 7 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das Produkt **57** (66 mg; 0.21 mmol; 36 %) zu erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.37$  (d,  $J = 6.5$  Hz, 4H), 7.32 – 7.23 (m, 6H), 7.18 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.10 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.00 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 3.37 (s, 1H), 2.77 (s, 2H), 2.42 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 1.70 – 1.22 (m, 4H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 141.30, 135.11, 129.48, 129.35, 128.57, 128.37, 127.64, 126.20, 66.68, 46.91, 35.01, 28.35, 24.90$ .

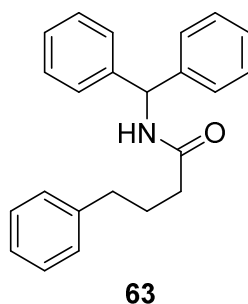
**DC** (EA/CH = 1:9):  $R_f = 0.4$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.46$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 316.21, gef.: 315.86.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 316.2060, gef.: 316.2067.

**Ausbeute**: 66 mg; 0.21 mmol; 36 %.

### Synthese von **63**



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode A mit Benzhydrylamin (1 eq.; 0.58 mmol; 100  $\mu$ L) und 4-Phenylbutansäure (1.5 eq.; 0.87 mmol; 143 mg) und einer Reaktionszeit von 16 h verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **63** (28.9 mg; 0.088 mmol; 15 %) isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.41 - 7.15$  (m, 15H), 6.31 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.06 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 2.69 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.29 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.13 – 1.98 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 171.84, 141.67, 141.52, 128.80, 128.63, 128.53, 127.60, 127.53, 126.11, 56.98, 35.97, 35.26, 27.20$ .

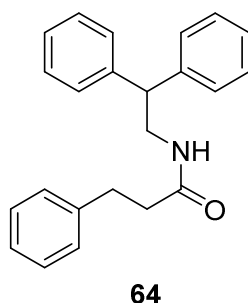
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.6$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 9.61$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{23}H_{24}NO$   $[M+H]^+$ : 330.17, gef.: 329.87.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{23}H_{23}NONa$   $[M+Na]^+$ : ber.: 352.1672, gef.: 352.1682.

**Ausbeute:** 28.9 mg; 0.088 mmol; 15 %.

### Synthese von 64



Die Reaktion wurde ausgehend von 2,2-Diphenylethylamin (1 eq.; 0.507 mmol; 100 mg) und 3-Phenylpropionsäure (1.5 eq.; 0.765 mmol; 115 mg) nach der generellen Methode A mit einer Reaktionszeit von 16 h durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (161.4 mg; 0.49 mmol) in 96 % Ausbeute erhalten werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 7.42 - 7.17$  (m, 16H), 5.48 (s, 1H), 4.17 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 4.08 – 3.80 (m, 2H), 2.96 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 2.44 (t,  $J = 7.7$  Hz, 3H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 172.25, 141.89, 140.82, 128.80, 128.60, 128.39, 128.11, 126.91, 126.32, 50.61, 43.86, 38.43, 31.67$ .

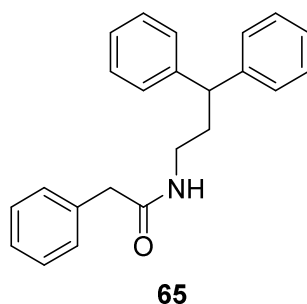
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.5$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 9.35$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{23}H_{24}NO$   $[M+H]^+$ : 330.19, gef.: 330.07.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{23}H_{24}NO$   $[M+H]^+$ : ber.: 330.1864, gef.: 330.1852.

**Ausbeute:** 161.4 mg; 0.49 mmol ; 96 %.

### Synthese von 65



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode A mit 3,3-Diphenylpropylamin (1 eq.; 0.56 mmol; 100  $\mu$ L) und Phenylelessigsäure (1 eq.; 0.56 mmol; 64.5 mg) und einer Reaktionszeit von 16 h verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **65** (172.9 mg; 0.525 mmol) in 94 % Ausbeute erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.64 – 7.18 (m, 15H), 5.54 (s, 1H), 3.92 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.61 (s, 2H), 3.35 – 3.19 (m, 2H), 2.46 – 2.15 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 171.36, 144.10, 134.94, 129.58, 129.20, 128.70, 127.78, 127.54, 126.52, 49.06, 43.84, 38.69, 35.04.

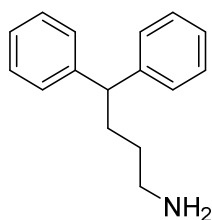
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.5.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 9.29 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 330.19, gef.: 330.12.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 330.1852, gef.: 330.1859.

**Ausbeute**: 172.9 mg; 0.525 mmol; 94 %.

## Synthese von **58**



**58**

Die Mesylierung des Alkohols wurde ausgehend von **45** nach der generellen Methode G in einer Ansatzgröße von 0.20 mmol durchgeführt.

Zu dem Zwischenprodukt wurde 7 N  $\text{NH}_3$  (7 mL) bei 0 °C gegeben und die Lösung wurde über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 9:1) aufgereinigt, um das gewünschte Produkt (40.5 mg; 0.180 mmol; 90 % über 2 Stufen) zu erhalten.

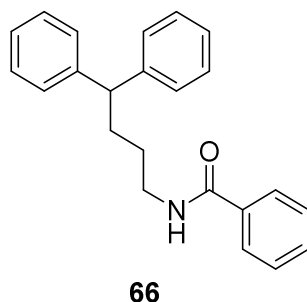
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.42 – 7.04 (m, 9H), 3.97 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.04 – 2.83 (m, 2H), 2.31 – 2.06 (m, 2H), 1.64 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 145.89, 129.55, 128.82, 127.36, 52.21, 40.74, 33.35, 27.43.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.1.

**Ausbeute**: 40.5 mg; 0.180 mmol; 90 % über 2 Stufen.

## Synthese von 66



Die Reaktion wurde ausgehend von **58** (1 eq.; 0.083 mmol; 18.7 mg) und Benzoesäure (1 eq.; 0.083 mmol; 8  $\mu$ L) nach der generellen Methode A mit einer Reaktionszeit von 16 h durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (25.0 mg; 0.076 mmol; 92 %) isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.73 - 7.68$  (m, 2H), 7.50 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.42 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 7.32 – 7.22 (m, 8H), 7.18 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 6.13 (s, 1H), 3.93 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 3.53 – 3.44 (m, 2H), 2.25 – 2.08 (m, 2H), 1.60 (p,  $J = 7.7$  Hz, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 168.44, 144.74, 134.33, 131.83, 128.80, 128.69, 127.92, 126.99, 126.44, 51.16, 40.29, 33.04, 28.32$ .

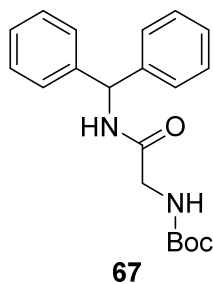
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.6$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 9.64$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 330.19, gef.: 330.11.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 330.1856, gef.: 330.1852.

**Ausbeute**: 25 mg; 0.076 mmol; 92 %.

## Synthese von 67



Die Kupplung von Benzhydrylamin (1 eq.; 0.580 mmol; 100  $\mu$ L) mit der Aminosäure Boc-Gly-OH (2 eq.; 1.16 mmol; 203 mg) wurde nach der generellen Methode A mit einer Reaktionsdauer von 16 h durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurde das Produkt **67** (188.2 mg; 0.553 mmol; 95 %) erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.37 – 7.10 (m, 10H), 6.98 (s, 1H), 6.28 – 6.07 (m, 1H), 5.21 (s, 1H), 3.78 (d,  $J$  = 4.5 Hz, 2H), 1.39 (s, 9H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 168.83, 156.45, 128.77, 127.60, 127.48, 80.49, 56.92, 44.89, 28.37.

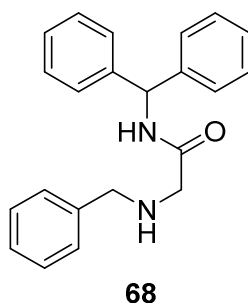
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.3.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 8.60 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 341.19, gef.: 340.59.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 341.1860, gef.: 341.1863.

**Ausbeute**: 188.2 mg; 0.553 mmol; 95 %.

## Synthese von **68**



Eine Lösung aus **67** (1 eq.; 0.553 mmol; 188.2 mg) in 4 N HCl in Dioxan (4 mL) wurde für 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Zwischenprodukt am Hochvakuum getrocknet.

Das Zwischenprodukt wurde in DCM gelöst und mit  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.; 0.83 mmol; 115  $\mu$ L) und Benzylchlorid (1 eq.; 0.553 mmol; 63.6  $\mu$ L) versetzt. Nach Rühren bei RT für 3 d wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das Produkt (30.5 mg; 0.092 mmol; 17 % über 2 Stufen) zu isolieren.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.45 (s, 5H), 7.39 – 7.21 (m, 10H), 6.22 (s, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.88 (s, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 165.44, 142.55, 132.04, 131.14, 130.82, 130.33, 129.65, 128.58, 128.51, 58.46, 51.99, 48.20.

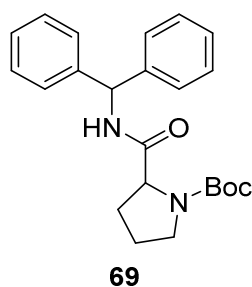
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.8$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 5.86$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{22}H_{23}N_2O$   $[M+H]^+$ : 331.18, gef.: 330.96.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{22}H_{23}N_2O$   $[M+H]^+$ : ber.: 331.1805, gef.: 331.1814.

**Ausbeute**: 30.5 mg; 0.092 mmol; 17 % über 2 Stufen.

### Synthese von 69



Die Kupplung von Benzhydrylamin (1 eq.; 0.580 mmol; 100  $\mu$ L) mit der Aminosäure Boc-Pro-OH (2 eq.; 1.16 mmol; 250 mg) wurde nach der generellen Methode A mit einer Reaktionsdauer von 16 h durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurde das gewünschte Produkt (199.8 mg; 0.525 mmol; 91 %) erhalten.

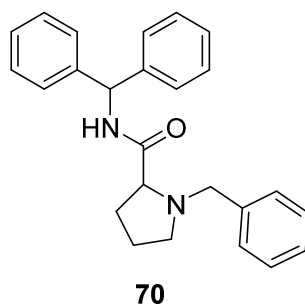
**$^1H$  NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.95 (s, 1H), 7.37 – 7.15 (m, 10H), 6.22 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.38 (m, 2H), 2.31 (m, 1H), 1.87 (s, 3H), 1.45 (s, 9H).

**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.7$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 9.27$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{23}H_{29}N_2O_3$   $[M+H]^+$ : 380.21, gef.: 380.67.

**Ausbeute**: 199.8; 0.525 mmol; 91 %.

### Synthese von 70





**69** (1 eq.; 0.525 mmol; 199.8 mg) wurde in 4 N HCl in Dioxan (5 mL) gelöst und für 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Zwischenprodukt im Hochvakuum getrocknet.

Das Zwischenprodukt wurde in DCM gelöst und  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.; 0.788 mmol; 109  $\mu\text{L}$ ) und Benzylchlorid (1 eq.; 0.525 mmol; 60.4  $\mu\text{L}$ ) wurden hinzu gegeben. Nach Rühren bei RT für 3 d wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das Produkt (30.5 mg; 0.092 mmol; 17 % über 2 Stufen) zu erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 9.17$  (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.48 – 7.20 (m, 15H), 7.15 – 7.08 (m, 4H), 5.77 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.33 (s, 2H), 3.09 (s, 2H), 2.68 (s, 1H), 2.30 (d,  $J = 38.8$  Hz, 1H), 2.00 (s, 1H), 1.88 (s, 1H), 1.60 (s, 1H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 167.79, 140.66, 139.58, 130.71, 130.63, 129.60, 129.01, 128.95, 128.10, 127.89, 127.37, 126.63, 66.95, 58.83, 54.85, 30.16, 23.36$ .

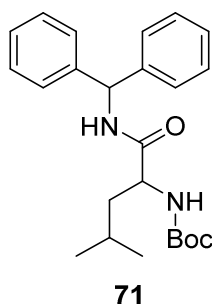
**DC** (CH/EA = 2:1):  $R_f = 0.3$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.02$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 371.21, gef.: 370.99.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 371.2118, gef.: 371.2143.

**Ausbeute**: 153.3 mg; 0.414 mmol; 79 % über 2 Stufen.

## Synthese von 71



Die Kupplung von Benzhydrylamin (1 eq.; 0.580 mmol; 100  $\mu\text{L}$ ) mit der Aminosäure Boc-Leu-OH (2 eq.; 1.16 mmol; 289 mg) wurde nach der generellen Methode A mit einer Reaktionsdauer von 16 h durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurde das gewünschte Produkt (221.8 mg; 0.560 mmol; 97 %) erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.42 - 7.18$  (m, 10H), 7.14 (s, 1H), 6.24 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.21 (s, 1H), 1.73 (m, 2H), 1.53 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 0.95 (t,  $J = 6.2$  Hz, 6H).

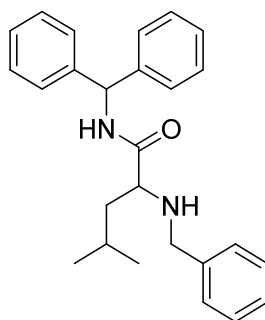
$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 171.63, 156.07, 141.63, 141.51, 128.73, 128.68, 127.54, 127.41, 80.29, 56.92, 53.24, 40.53, 28.38, 24.86, 22.99$ .

**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.7$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 10.06$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 397.24, gef.: 396.68.

**Ausbeute**: 221.8 mg; 0.560 mmol; 97 %.

## Synthese von 72



**72**

**71** (1 eq.; 0.560 mmol; 221.8 mg) wurde in 4 N HCl in Dioxan (5 mL) gelöst und für 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Zwischenprodukt im Hochvakuum getrocknet.

Das Zwischenprodukt wurde in DCM gelöst und mit  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.; 0.84 mmol; 116  $\mu\text{L}$ ) und Benzylchlorid (1 eq.; 0.560 mmol; 64.4  $\mu\text{L}$ ) versetzt. Nach Rühren bei RT für 3 d wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das Produkt (17.2 mg; 0.045 mmol; 8 % über 2 Stufen) zu isolieren.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8.30$  (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.32 – 6.98 (m, 15H), 6.16 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 4.19 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 3.95 (d,  $J = 12.4$  Hz, 1H), 3.65 (d,  $J = 12.3$  Hz, 1H), 1.70 (t,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 1.62 – 1.28 (m, 2H), 0.74 (m, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 167.37, 140.55, 130.24, 129.98, 129.85, 129.33, 128.96, 128.94, 127.99, 127.40, 127.34, 60.36, 57.97, 50.42, 39.43, 24.77, 23.32, 21.42$ .

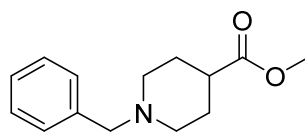
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.5$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.66$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 387.24, gef.: 387.06.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 387.2431, gef.: 387.2448.

**Ausbeute**: 17.2 mg; 0.045 mmol; 8 % über 2 Stufen.

## Synthese von 74a



**74a**

Bei der Methylierung von Isonipecotinsäure wurde die generelle Methode D mit einer Ansatzgröße von 7.78 mmol verwendet und das entstehende Zwischenprodukt wurde nach der generellen Methode E weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 2:1) konnte das gewünschte Produkt (1.81 g; 7.76 mmol) in 99 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.31 (d, *J* = 4.5 Hz, 5H), 3.67 (s, 3H), 3.49 (s, 2H), 2.96 – 2.77 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 2.03 (m, 2H), 1.88 (m, 2H), 1.83 – 1.70 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 175.75, 138.47, 129.16, 128.29, 127.08, 63.34, 53.01, 51.69, 41.20, 28.40.

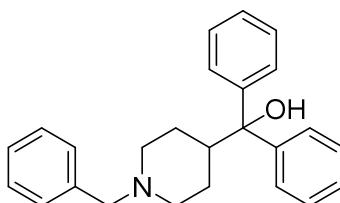
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.2.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 3.77 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.15, gef.: 234.08.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 234.1489, gef.: 234.1511.

**Ausbeute**: 1.81 g; 7.76 mmol; 99 % über 2 Stufen.

## Synthese von 75a



**75a**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode I mit dem Methylester **74a** (1 eq.; 1.07 mmol; 249.5 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **75a** (379.3.2 mg; 1.06 mmol) in 99 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.56 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.41 (m, 7H), 7.22 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H), 7.12 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.19 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 3.45 (s, 2H), 2.74 (d, *J* = 10.0 Hz, 2H), 2.57 (t, *J* = 11.5 Hz, 1H), 2.25 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H), 1.61 (d, *J* = 14.1 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 145.30, 131.70, 130.20, 129.33, 128.43, 126.82, 125.62, 78.88, 60.82, 52.59, 42.43, 23.82.

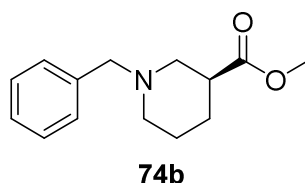
**DC** (DCM/MeOH = 9:1): R<sub>f</sub> = 0.7.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 5.79 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 358.22, gef.: 358.16.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 358.2165, gef.: 358.2180.

**Ausbeute**: 379.3 mg; 1.06 mmol; 99 %.

### Synthese von 74b



Die Methylierung von (R)-(-)-3-Piperidincarbonsäure wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 2.32 mmol durchgeführt.

Zur weiteren Umsetzung des entstehenden Zwischenprodukts wurde die generelle Methode E verwendet. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 3:1) konnte das gewünschte Produkt (351.5 mg; 1.51 mmol) in 65 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.27 (m, 4H), 7.24 – 7.17 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.54 – 3.40 (m, 2H), 2.90 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 2.69 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 2.56 (m, 1H), 2.17 (t, *J* = 10.6 Hz, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 1.74 – 1.63 (m, 1H), 1.61 – 1.51 (m, 1H), 1.44 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.77, 138.33, 129.14, 128.27, 127.09, 63.35, 55.44, 53.71, 51.62, 41.94, 27.05, 24.64.

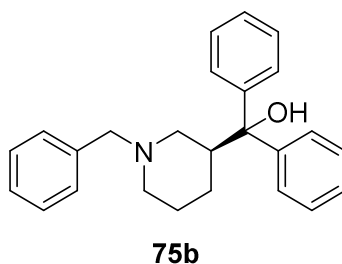
**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 3.93 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.15, gef.: 234.05.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 234.1489, gef.: 234.1503.

**Ausbeute**: 351.5 mg; 1.51 mmol; 65 %.

## Synthese von 75b



Die Reaktion wurde nach der generellen Methode I mit dem Methylester **74b** (1 eq.; 0.265 mmol; 61.8 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **75b** (70.2 mg; 0.197 mmol) in 74 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.66 – 7.11 (m, 16H), 4.18 (s, 2H), 3.90 – 3.76 (m, 1H), 3.68 (t, *J* = 11.1 Hz, 1H), 3.43 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.26 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 2.76 (q, *J* = 10.9 Hz, 1H), 2.45 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 2.23 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 1.77 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 1.65 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 1.37 (q, *J* = 11.9 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.75, 144.16, 131.40, 130.05, 129.28, 128.86, 128.50, 128.31, 127.31, 127.12, 125.81, 125.63, 79.30, 61.49, 55.06, 51.78, 40.88, 23.50, 22.35.

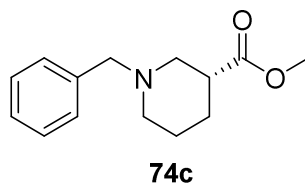
**DC** (EA/CH = 1:2): *R<sub>f</sub>* = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 6.04 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 358.22, gef.: 358.22.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 358.2165, gef.: 358.2181.

**Ausbeute**: 70.2 mg; 0.197 mmol; 74 %.

## Synthese von 74c



Bei der Methylierung von (S)-(+)-3-Piperidincarbonsäure wurde die generelle Methode D mit einer Ansatzgröße von 2.32 mmol verwendet und das entstehende Zwischenprodukt wurde nach der generellen Methode E weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 3:1 → 1:2) konnte das gewünschte Produkt (511.4 mg; 2.19 mmol) in 95 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.27 (m, 4H), 7.24 – 7.17 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.53 – 3.41 (m, 2H), 2.90 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 2.69 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 2.56 (m, 1H), 2.17 (t, *J* = 10.6 Hz, 1H), 2.07 – 1.95 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.62 – 1.49 (m, 1H), 1.42 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.78, 138.38, 129.13, 128.27, 127.08, 63.36, 55.45, 53.71, 51.62, 41.95, 27.05, 24.65.

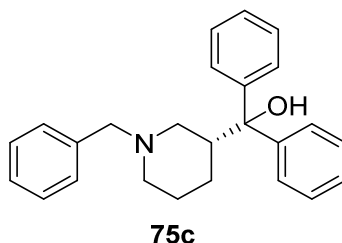
**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 3.88 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.15, gef.: 234.05.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 234.1489, gef.: 234.1504.

**Ausbeute**: 511.4 mg; 2.19 mmol; 95 %.

### Synthese von 75c



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methylester **74c** (1 eq.; 0.365 mmol; 85.1 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **75c** (90.4 mg; 0.253 mmol; 69 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.43 – 7.26 (m, 13H), 7.26 – 7.19 (m, 2H), 4.25 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.49 (t, *J* = 13.6 Hz, 2H), 3.19 (t, *J* = 11.9 Hz, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.04 – 1.85 (m, 2H), 1.78 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 1.40 – 1.19 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.13, 143.57, 131.01, 130.48, 129.49, 128.90, 128.77, 127.80, 127.63, 127.57, 125.54, 125.30, 79.13, 61.93, 54.97, 52.59, 41.68, 23.53, 22.52.

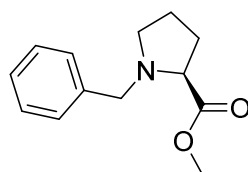
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 5.97 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 358.22, gef.: 358.21.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 358.2165, gef.: 358.2181.

**Ausbeute**: 90.4 mg; 0.253 mmol; 69 %.

## Synthese von 74d



**74d**

Bei der Methylierung von (L)-Prolin wurde die generelle Methode D mit einer Ansatzgröße von 4.35 mmol verwendet.

Das Zwischenprodukt wurde nach der generellen Methode E weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 3:1) konnte das Produkt **74d** (604.1 mg; 2.76 mmol; 63 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.40 – 7.08 (m, 5H), 3.84 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.52 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.20 (dd, *J* = 8.9, 6.3 Hz, 1H), 3.06 – 2.92 (m, 1H), 2.34 (q, *J* = 8.3 Hz, 1H), 2.08 (m, 1H), 2.01 – 1.79 (m, 2H), 1.79 – 1.65 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.59, 138.31, 129.33, 128.26, 127.20, 65.36, 58.80, 53.35, 51.79, 29.45, 23.07.

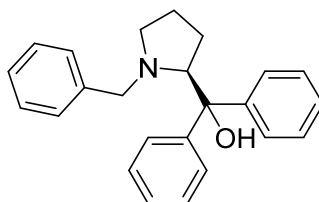
**DC** (EA/CH = 1:1): *R<sub>f</sub>* = 0.6.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 3.75 min, *m/z* ber. für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 220.13, gef.: 219.98.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 220.1332, gef.: 220.1342.

**Ausbeute**: 604.1 mg; 2.76 mmol; 63 %.

## Synthese von 75d



**75d**

Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methylester **74d** (1 eq.; 0.25 mmol; 55.1 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **75d** (61.5 mg; 0.179 mmol; 72 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.70 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.46 – 7.17 (m, 10H), 7.12 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.78 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.70 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.30 – 3.06 (m, 1H), 2.23 (m, 2H), 2.03 (m, 1H), 1.98 – 1.83 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.01, 142.80, 130.63, 130.48, 129.58, 129.37, 129.13, 128.94, 128.47, 127.91, 125.65, 125.35, 78.44, 75.57, 60.59, 55.78, 28.11, 22.92.

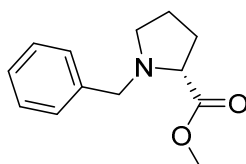
**DC** (EA/CH = 1:9): R<sub>f</sub> = 0.6.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.03 min, *m/z* ber. für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 343.20, gef.: 344.12.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 344.2009, gef.: 344.2024.

**Ausbeute**: 61.5 mg; 0.179 mmol; 72 %.

### Synthese von 74e



**74e**

Die Methylierung von (D)-Prolin wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 4.35 mmol durchgeführt.

Zur weiteren Umsetzung des entstehenden Zwischenprodukts wurde die generelle Methode E verwendet. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 3:1) konnte das gewünschte Produkt (695.5 mg; 3.17 mmol) in 73 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.50 – 6.96 (m, 5H), 3.83 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.52 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.20 (dd, *J* = 8.9, 6.3 Hz, 1H), 3.06 – 2.95 (m, 1H), 2.34 (q, *J* = 8.3 Hz, 1H), 2.14 – 2.01 (m, 1H), 1.96 – 1.78 (m, 2H), 1.77 – 1.65 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.62, 138.36, 129.31, 128.25, 127.18, 65.38, 58.82, 53.35, 51.78, 29.45, 23.08.

**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.6.

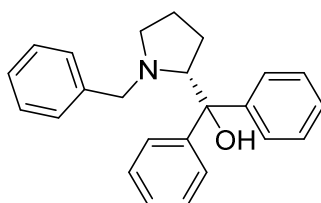
**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 3.56 min, *m/z* ber. für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 220.13, gef.: 219.98.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 220.1332, gef.: 220.1349.

**Ausbeute**: 695.5 mg; 3.17 mmol; 73 %.



## Synthese von 75e



**75e**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode I mit dem Methylester **74e** (1 eq.; 0.23 mmol; 50.0 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (57.9 mg; 0.169 mmol; 73 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.69 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.51 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.45 – 7.18 (m, 10H), 7.13 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.78 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.85 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.69 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.62 – 3.47 (m, 1H), 3.16 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 2.32 – 2.18 (m, 2H), 2.11 – 1.97 (m, 1H), 1.92 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.15, 142.90, 130.66, 130.45, 129.56, 129.32, 129.18, 128.90, 128.40, 127.83, 125.63, 125.34, 78.38, 75.42, 60.51, 55.71, 28.05, 22.82.

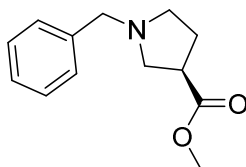
**DC** (EA/CH = 1:9): *R<sub>f</sub>* = 0.6.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 6.00 min, *m/z* ber. für C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 344.20, gef.: 344.12.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 344.2009, gef.: 344.2025.

**Ausbeute**: 57.9 mg; 0.169 mmol; 73 %.

## Synthese von 74f



**74f**

Die Methylierung von (*R*)-(-)-Pyrrolidin-3-carbonsäure wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 1.09 mmol durchgeführt.

Die weitere Umsetzung des entstehenden Zwischenprodukts wurde nach der generellen Methode E durchgeführt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (CH/EA = 9:1 → 3:1 → 1:2), um das gewünschte Produkt (112.5 mg; 0.51 mmol) in 71 % Ausbeute über 2 Stufen zu isolieren.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.25 (d, *J* = 2.9 Hz, 4H), 7.21 – 7.14 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 3.06 – 2.92 (m, 1H), 2.86 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.72 – 2.61 (m, 1H), 2.61 – 2.54 (m, 1H), 2.47 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H), 2.05 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 175.49, 138.75, 128.86, 128.33, 127.10, 60.10, 56.69, 53.76, 51.90, 42.02, 27.70.

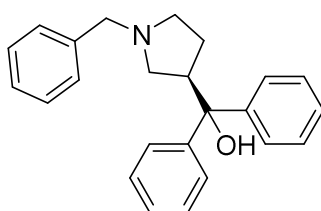
**DC** (EA/CH = 1:1): *R<sub>f</sub>* = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 3.75 min, *m/z* ber. für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 220.13, gef.: 220.08.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 220.1332, gef.: 220.1349.

**Ausbeute**: 112.5 mg; 0.51 mmol; 71 %.

### Synthese von **75f**



**75f**

Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methyl ester **74f** (1 eq.; 0.0917 mmol; 20.1 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **75f** (31.1 mg; 0.0907 mmol) in 99 % Ausbeute isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.45 – 7.14 (m, 15H), 4.31 – 4.09 (m, 2H), 3.82 – 3.62 (m, 2H), 3.54 (s, 1H), 2.99 (m, 2H), 2.35 – 1.89 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 145.78, 145.38, 145.26, 130.63, 130.41, 130.23, 130.21, 129.64, 129.61, 129.52, 128.93, 128.91, 128.80, 128.63, 127.72, 127.66, 127.37, 127.20, 125.71, 125.46, 125.33, 78.96, 78.84, 58.62, 58.51, 54.83, 54.38, 54.26, 53.84, 45.65, 45.01, 25.52.

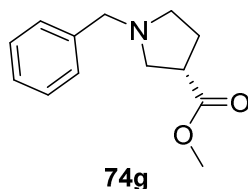
**DC** (EA/CH = 1:2): *R<sub>f</sub>* = 0.4.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 6.03 min, *m/z* ber. für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 344.20, gef.: 344.19.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{24}H_{25}NO$   $[M+H]^+$ : ber.: 344.2009, gef.: 344.2007.

**Ausbeute:** 31.1 mg; 0.091 mmol; 99 %.

### Synthese von 74g



Bei der Methylierung von (*S*)-(+)-Pyrrolidin-3-carbonsäure wurde die generelle Methode D mit einer Ansatzgröße von 1.09 mmol verwendet und das entstehende Zwischenprodukt wurde nach der generellen Methode E weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 3:1 → 1:2) konnte das gewünschte Produkt (210.9 mg; 0.963 mmol) in 89 % Ausbeute isoliert werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 7.34 – 7.08 (m, 5H), 3.62 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 3.06 – 2.92 (m, 1H), 2.90 – 2.81 (m, 1H), 2.71 – 2.61 (m, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.51 – 2.42 (m, 1H), 2.08 – 1.99 (m, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 175.58, 138.84, 128.92, 128.40, 127.16, 60.19, 56.78, 53.84, 51.97, 42.09, 27.77.

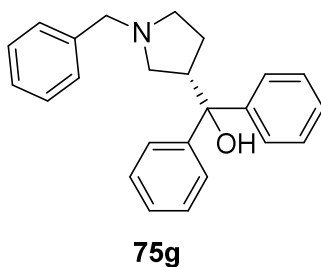
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f$  = 0.2.

**LC-MS (ESI):**  $t_R$  = 5.34 min,  $m/z$  ber. für  $C_{13}H_{18}NO_2$   $[M+H]^+$ : 220.13, gef.: 220.01.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{13}H_{18}NO_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 220.1332, gef.: 220.1347.

**Ausbeute:** 210.9 mg; 0.963 mmol; 89 %.

### Synthese von 75g



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methylester **74g** (1 eq.; 0.149 mmol; 32.6 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **75g** (45.9 mg; 0.134 mmol; 90 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.41 – 7.00 (m, 15H), 4.23 – 3.92 (m, 2H), 3.69 – 3.45 (m, 2H), 3.39 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 3.02 – 2.69 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 2.00 – 1.80 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 145.98, 145.48, 145.44, 145.32, 130.57, 130.30, 130.25, 130.09, 129.81, 129.56, 129.46, 129.10, 128.88, 128.75, 128.57, 127.64, 127.59, 127.27, 127.09, 125.71, 125.50, 125.33, 78.94, 78.65, 58.52, 58.44, 54.68, 54.27, 54.16, 53.63, 45.79, 45.04, 25.62, 25.50.

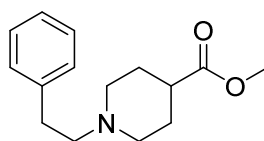
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.4.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 5.95 min, *m/z* ber. für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 344.20, gef.: 344.09.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 344.2009, gef.: 344.2024.

**Ausbeute**: 45.9 mg; 0.134 mmol; 90 %.

## Synthese von **74h**



**74h**

Bei der Methylierung von Isonipecotinsäure wurde die generelle Methode D mit einer Ansatzgröße von 7.45 mmol verwendet.

Das Zwischenprodukt wurde nach der generellen Methode E weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 3:1 → 1:1 → 1:2) konnte das Produkt **74h** (133.3 mg; 0.944 mmol; 12 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.32 – 7.24 (m, 2H), 7.23 – 7.16 (m, 3H), 3.68 (s, 3H), 2.99 (d, *J* = 11.8 Hz, 2H), 2.91 – 2.76 (m, 2H), 2.73 – 2.54 (m, 2H), 2.45 – 2.26 (m, 1H), 2.17 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 1.92 – 1.72 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 175.39, 140.18, 128.79, 128.51, 126.19, 60.54, 52.76, 51.76, 40.84, 33.39, 27.99.

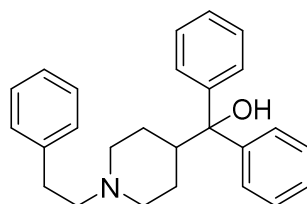
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.1.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 4.48 min, *m/z* ber. für C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 248.16, gef.: 248.09.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{15}H_{22}NO_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 248.1645, gef.: 248.1655.

**Ausbeute:** 133.3 mg; 0.944 mmol; 12 %.

### Synthese von 75h



**75h**

Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methylester **74h** (1 eq.; 0.236 mmol; 58.3 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **75h** (55.1 mg; 0.148 mmol; 63 %) isoliert werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 7.46 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 4H), 7.30 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 6H), 7.25 – 7.14 (m, 5H), 3.71 (d,  $J$  = 11.4 Hz, 2H), 3.19 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 3.12 – 2.97 (m, 2H), 2.72 (s, 2H), 2.63 (t,  $J$  = 12.1 Hz, 1H), 2.09 (m, 2H), 1.72 (d,  $J$  = 14.6 Hz, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 144.88, 135.84, 129.22, 128.74, 128.63, 127.59, 127.19, 125.63, 78.85, 58.87, 53.79, 42.53, 30.63, 23.99.

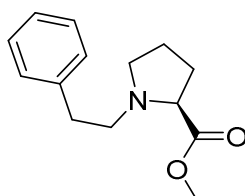
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.7.

**LC-MS (ESI):**  $t_R$  = 6.36 min,  $m/z$  ber. für  $C_{26}H_{30}NO$   $[M+H]^+$ : 372.23, gef.: 372.19.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{26}H_{30}NO$   $[M+H]^+$ : ber.: 372.2322, gef.: 372.2325.

**Ausbeute:** 55.1 mg; 0.148 mmol; 63 %.

### Synthese von 74i



**74i**

Bei der Methylierung von (L)-Prolin wurde die generelle Methode D mit einer Ansatzgröße von 4.35 mmol verwendet.

Das Zwischenprodukt wurde nach der generellen Methode E mit einer Reaktionszeit von 16 h weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 3:1) konnte das Produkt **3-67** (542.7 mg; 2.33 mmol; 54 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.17 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 3.00 – 2.90 (m, 1H), 2.83 (m, 2H), 2.73 – 2.61 (m, 1H), 2.46 (q, *J* = 8.3 Hz, 1H), 2.14 (m, 1H), 2.05 – 1.91 (m, 2H), 1.90 – 1.77 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.76, 140.20, 128.70, 126.12, 66.03, 56.86, 53.65, 51.92, 35.41, 29.51, 23.34.

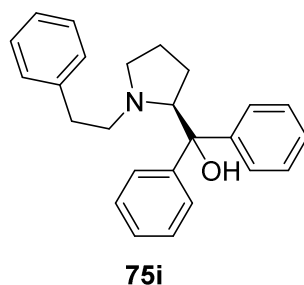
**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 4.07 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.15, gef.: 233.99.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 234.1489, gef.: 234.1505.

**Ausbeute**: 542.7 mg; 2.33 mmol; 54 %.

### Synthese von **75i**



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methylester **74i** (1 eq.; 0.232 mmol; 54.1 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **75i** (81.5 mg; 0.228 mmol; 98 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.66 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.49 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.36 (m, 4H), 7.27 (m, 5H), 6.88 (m, 2H), 4.62 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.29 – 3.11 (m, 1H), 2.97 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.86 (m, 3H), 2.25 (m, 2H), 2.16 – 1.97 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 144.08, 142.81, 135.21, 129.21, 129.05, 128.85, 128.51, 128.25, 127.81, 127.50, 125.53, 125.38, 78.26, 76.75, 58.36, 56.25, 31.67, 27.95, 23.38.

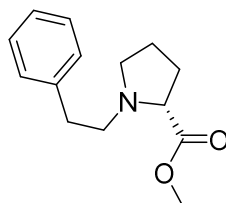
**DC** (EA/CH = 1:9): R<sub>f</sub> = 0.4.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.13 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 358.22, gef.: 358.25.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 358.2165, gef.: 358.2187.

**Ausbeute:** 81.5 mg; 0.228 mmol; 98 %.

### Synthese von 74j



**74j**

Die Methylierung von (D)-Prolin wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 4.35 mmol durchgeführt.

Zur weiteren Umsetzung des entstehenden Zwischenprodukts wurde die generelle Methode E mit einer Reaktionszeit von 16 h verwendet. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 3:1) konnte das gewünschte Produkt (627.5 mg; 2.69 mmol) in 62 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.19 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.10 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.21 – 3.11 (m, 2H), 2.89 – 2.77 (m, 1H), 2.73 (m, 2H), 2.63 – 2.52 (m, 1H), 2.36 (q, *J* = 8.3 Hz, 1H), 2.03 (m, 1H), 1.93 – 1.81 (m, 2H), 1.82 – 1.67 (m, 1H).

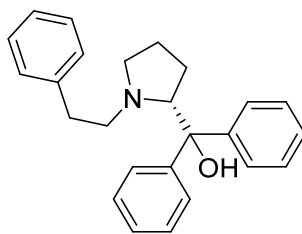
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.76, 140.20, 128.71, 128.43, 126.13, 66.03, 56.86, 53.65, 51.93, 35.41, 29.51, 23.34.

**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.5.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 3.92 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.14, gef.: 234.00.

**Ausbeute:** 627.5 mg; 2.69 mmol; 62 %.

### Synthese von 75j



**3-72**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode I mit dem Methylester **74j** (1 eq.; 0.240 mmol; 56.0 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **75j** (83.0 mg; 0.232 mmol) in 97 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.64 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.47 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.35 (m, 5H), 7.29 – 7.23 (m, 4H), 6.87 (m, 2H), 4.75 – 4.54 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 3.29 – 3.16 (m, 1H), 2.98 (m, 1H), 2.90 – 2.73 (m, 3H), 2.32 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.13 – 1.97 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 143.81, 142.67, 135.03, 129.28, 129.09, 128.90, 128.50, 128.32, 127.93, 127.56, 125.51, 125.39, 78.29, 76.95, 58.47, 56.32, 31.73, 27.98, 23.49.

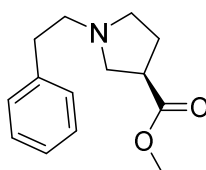
**DC** (EA/CH = 1:9): R<sub>f</sub> = 0.4.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.17 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 358.21, gef.: 358.24.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 358.2165, gef.: 358.2189.

**Ausbeute**: 83 mg; 0.232 mmol; 97 %.

### Synthese von **74k**



**74k**

Die Methylierung von (R)-(-)-Pyrrolidin-3-carbonsäure wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 1.09 mmol durchgeführt.

Zur weiteren Umsetzung des entstehenden Zwischenprodukts wurde die generelle Methode E mit einer Reaktionszeit von 6 h verwendet. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1 → 1:2 → 1:4) konnte das gewünschte Produkt (147.3 mg; 0.672 mmol; 46 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.14 – 3.03 (m, 1H), 2.99 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 2.82 (m, 3H), 2.78 – 2.69 (m, 3H), 2.58 (q, *J* = 7.9 Hz, 1H), 2.12 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 175.46, 140.29, 128.75, 128.52, 126.24, 57.90, 56.84, 54.00, 52.07, 42.04, 35.55, 27.79.

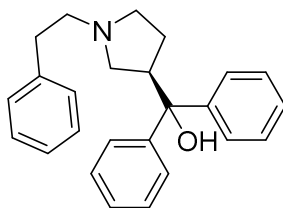
**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.1.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 4.37 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.14, gef.: 234.14.



**Ausbeute:** 147.3 mg; 0.672 mmol; 46 %.

### Synthese von 75k



**75k**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode I mit dem Methylester **74k** (1 eq.; 0.135 mmol; 31.5 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **75k** (22.6 mg; 0.063 mmol) in 47 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.43 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.37 – 7.23 (m, 11H), 7.14 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.06 – 3.58 (m, 3H), 3.31 (d, *J* = 35.2 Hz, 2H), 3.11 – 2.78 (m, 4H), 2.32 – 1.92 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 145.62, 145.21, 145.08, 144.99, 135.56, 129.24, 129.15, 129.03, 128.93, 128.70, 128.66, 127.89, 127.77, 127.69, 127.62, 127.53, 127.33, 125.64, 125.45, 125.26, 79.09, 79.00, 57.51, 56.79, 56.17, 55.88, 55.56, 55.10, 45.89, 45.04, 32.24, 32.16, 25.70

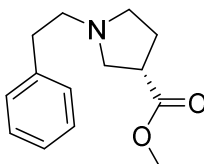
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.3.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6.37 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 358.22, gef.: 358.22.

**HRMS (ESI):** *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 358.2165, gef.: 358.2201.

**Ausbeute:** 22.6 mg; 0.063 mmol; 47 %.

### Synthese von 74l



**74l**

Die Methylierung von (S)-(+)-Pyrrolidin-3-carbonsäure wurde nach der generellen Methode D mit einer Ansatzgröße von 1.09 mmol durchgeführt.

Die weitere Umsetzung des entstehenden Zwischenprodukts wurde nach der generellen Methode E mit einer Reaktionszeit von 5 h durchgeführt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (CH/EA = 9:1 → 3:1), um das gewünschte Produkt (93.2 mg; 0.425 mmol; 39 % über 2 Stufen) zu erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.29 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.12 – 3.02 (m, 1H), 2.98 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.87 – 2.79 (m, 2H), 2.79 – 2.66 (m, 4H), 2.63 – 2.52 (m, 1H), 2.17 – 2.07 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 175.46, 140.25, 128.73, 128.50, 126.21, 57.90, 56.86, 54.02, 52.04, 42.03, 35.59, 27.78.

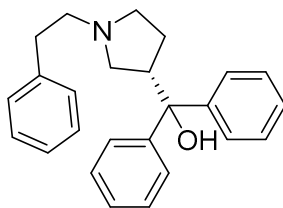
**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.1.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 4.32 min, *m/z* ber. für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 234.15, gef.: 234.05.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 234.1489, gef.: 234.1498.

**Ausbeute**: 93.2 mg; 0.425 mmol; 39 %.

## Synthese von 75I



**75I**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode I mit dem Methylester **74I** (1 eq.; 0.052 mmol; 11.5 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **75I** (10.5 mg; 0.029 mmol) in 59 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.49 (m, 2H), 7.40 – 7.21 (m, 11H), 7.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.98 – 3.54 (m, 3H), 3.38 – 3.12 (m, 2H), 3.04 (m, 2H), 2.96 – 2.78 (m, 2H), 2.43 – 2.19 (m, 1H), 2.14 – 1.90 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 146.13, 145.44, 145.34, 145.19, 135.98, 129.19, 129.10, 129.02, 128.85, 128.71, 127.86, 127.72, 127.58, 127.49, 125.71, 125.59, 125.53, 125.32, 79.10, 78.50, 77.36, 57.46, 56.58, 55.71, 55.54, 55.21, 54.66, 46.22, 45.03, 32.21, 32.15, 25.82, 25.76.

DC (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.3$ .

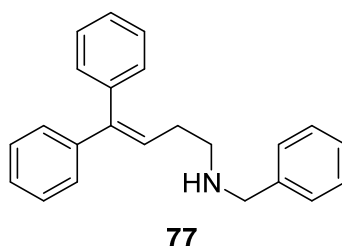
LC-MS (ESI):  $t_R = 6.31$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{25}H_{28}NO$   $[M+H]^+$ : 358.22, gef.: 358.13.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $C_{25}H_{28}NO$   $[M+H]^+$ : ber.: 358.2165, gef.: 358.2171.

Ausbeute: 10.5 mg; 0.029 mmol; 59 %.

### 6.4.3 Synthese von Derivaten mit Doppelbindung in der Alkylkette

#### Synthese von 77



Die Mesylierung des Alkohols erfolgte nach der generellen Methode G in einer Ansatzgröße von 0.248 mmol.

Das Intermediat wurde in einer Mischung aus DCM und Benzylamin (2:1; 7.5 mL) gelöst und bei RT über Nacht gerührt. Die Lösung wurde bis zur Trockne eingedampft und nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt 77 (14.0 mg; 0.045 mmol; 18 % über 2 Stufen) erhalten werden.

$^1\text{H-NMR}$  (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 9.67$  (s, 1H), 7.29 (t,  $J = 7.2$  Hz, 6H), 7.24 (s, 2H), 7.20 (d,  $J = 7.4$  Hz, 3H), 7.14 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 7.03 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 5.96 – 5.84 (m, 1H), 3.81 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.46 – 2.29 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 145.46, 141.76, 139.11, 130.43, 130.08, 129.53, 129.50, 129.16, 128.58, 128.28, 127.59, 127.37, 122.34, 50.73, 46.00, 26.26$ .

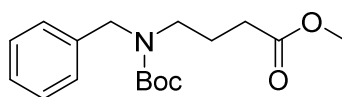
DC (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.7$ .

LC-MS (ESI):  $t_R = 6.76$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{23}H_{24}N$   $[M+H]^+$ : 314.19, gef.: 314.16.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $C_{23}H_{24}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 314.1903, gef.: 314.1915.

Ausbeute: 14.0 mg; 0.045 mmol; 18 % über 2 Stufen.

## Synthese von 79



79

$\gamma$ -Aminobutansäure (1 eq.; 19.4 mmol; 2 g) wurde nach der generellen Methode D in den Methylester überführt.

Das Zwischenprodukt wurde in THF (20 mL) gelöst und  $\text{NEt}_3$  (2.5 eq.; 48.5 mmol; 6.73 mL) und Benzaldehyd (1 eq.; 19.4 mmol; 2 mL) versetzt. Die Lösung wurde für 5 Minuten gerührt und nacheinander wurden  $\text{Boc}_2\text{O}$  (1.2 eq; 23.3 mmol; 5.35 mL) und  $\text{NaBAc}_3\text{H}$  (2 eq.; 38.8 mmol; 8.2 g) hinzu gegeben. Nach Rühren über Nacht wurde die Lösung mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung verdünnt, dreimal mit EA extrahiert und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 19:1  $\rightarrow$  9:1  $\rightarrow$  2:1) konnte das gewünschte Produkt (3.22 g; 10.5 mmol; 54 %) isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.43 - 7.17$  (m, 5H), 4.44 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.25 (s, 2H), 2.31 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.48 (d,  $J = 20.1$  Hz, 9H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta = 194.15, 175.15, 135.62, 130.65, 130.14, 129.55, 128.29, 81.31, 52.05, 47.06, 31.87, 28.68$ .

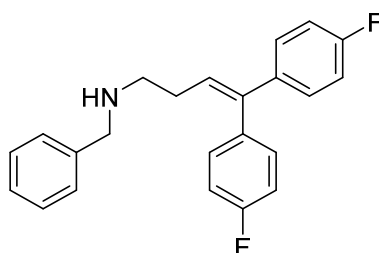
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.7$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 9.81$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 330.17, gef.: 330.02.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber.: 330.1676, gef.: 330.1689.

**Ausbeute**: 3.22 g; 10.5 mmol; 54 %.

## Synthese von 81



81

Eine Lösung aus **79** (1 eq.; 52.1 mg; 0.170 mmol) in Trocknem THF (4 mL) wurde mit einem Überschuss von 4-Fluoro-phenylmagnesiumbromid (5 eq.; 1 M in THF; 800  $\mu$ L) versetzt und für 4 h bei RT gerührt. Nach Zugabe von H<sub>2</sub>O wurde die Lösung mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung verdünnt und dreimal mit EA extrahiert. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel entfernt.

Das Zwischenprodukt wurde in 4 N HCl in Dioxan (3 mL) gelöst und die Lösung für 2 h bei RT gerührt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **81** (18.8 mg; 0.054 mmol; 32 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.43 (s, 5H), 7.28 – 7.11 (m, 6H), 7.00 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 6.04 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.18 – 3.06 (m, 2H), 2.52 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 144.79, 139.33, 136.54, 132.64, 132.56, 132.41, 130.93, 130.68, 130.28, 130.15, 130.07, 123.96, 119.45, 116.65, 116.55, 116.43, 116.09, 115.87, 52.26, 47.85, 27.70.

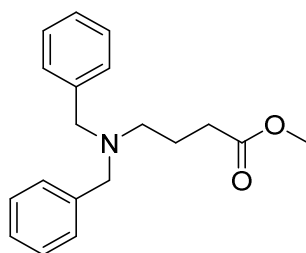
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.4.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.66 min,  $m/z$  ber. für C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 350.16, gef.: 350.08.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 350.1715, gef.: 350.1729.

**Ausbeute**: 18.8 mg; 0.054 mmol; 32 %.

## Synthese von **82**



**82**

Die Methylierung von  $\gamma$ -Aminobutansäure (1 eq.; 14.6 mmol; 1.5 g) wurde nach der generellen Methode D durchgeführt.

Das Intermediat wurde nach der generellen Methode E weiter umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH/EA = 9:1  $\rightarrow$  3:1) konnte das Produkt **82** (1.436 g; 4.83 mmol; 33 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.33 – 7.23 (m, 8H), 7.21 – 7.15 (m, 2H), 3.55 (s, 3H), 3.51 (s, 4H), 2.40 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.90 – 1.70 (m, 2H).

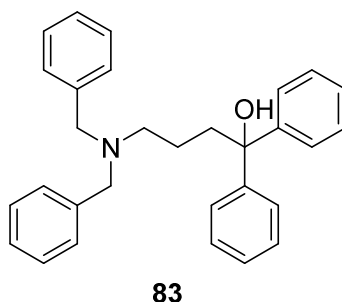
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.11, 139.65, 128.82, 128.21, 126.86, 58.27, 52.33, 51.44, 31.66, 22.35.

**DC** (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.8.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 5.21 min, *m/z* ber. für C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 298.17, gef.: 298.13.

**Ausbeute**: 1.436 g; 4.83 mmol; 33 %.

### Synthese von **83**



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode I mit dem Methylester **82** (1 eq.; 0.894 mmol; 265 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **83** (179.1 mg; 0.425 mmol; 48 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.50 – 7.45 (m, 4H), 7.42 (d, *J* = 6.8 Hz, 4H), 7.37 (t, *J* = 7.3 Hz, 5H), 7.33 – 7.29 (m, 6H), 7.22 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.56 (s, 4H), 2.55 – 2.42 (m, 2H), 2.30 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 1.71 – 1.60 (m, 2H).

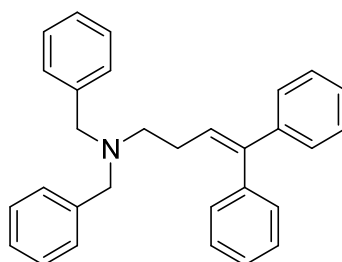
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 148.01, 129.79, 128.43, 128.05, 127.38, 126.50, 126.47, 74.40, 58.13, 53.90, 41.37, 21.69.

**DC** (EA/CH = 1:9): R<sub>f</sub> = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.88 min, *m/z* ber. für C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 422.24, gef.: 422.26.

**Ausbeute**: 179.1 mg; 0.425 mmol; 48 %.

## Synthese von **84**



**84**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **83** (1 eq.; 0.32 mmol; 143.9 mg) durchgeführt. Das Rohprodukt wurde über HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt **84** (32.0 mg; 0.079 mmol; 25 %) zu erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.51 – 7.35 (m, 10H), 7.33 – 7.20 (m, 8H), 7.20 – 7.06 (m, 4H), 5.85 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 2.92 (m, 2H), 2.67 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 145.95, 141.21, 139.17, 131.09, 130.25, 129.64, 129.57, 128.82, 128.38, 128.32, 127.88, 127.26, 121.45, 56.50, 49.46, 24.17.

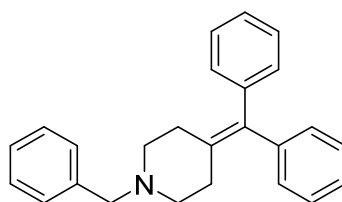
**DC** (EA/CH = 1:9):  $R_f$  = 0.8.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 8.00 min,  $m/z$  ber. für C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 404.24, gef.: 404.28.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 404.2373, gef.: 404.2399.

**Ausbeute**: 32.0 mg; 0.079 mmol; 25 %.

## Synthese von **85a**



**85a**

Die Reaktion wurde nach der generellen Methode J mit dem Alkohol **75a** (1 eq.; 0.104 mmol; 37.2 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (22.2 mg; 0.0654 mmol) in 63 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.58 - 7.43$  (m, 5H),  $7.36 - 7.29$  (m, 4H),  $7.25$  (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H),  $7.14$  (m, 4H),  $4.34$  (s, 2H),  $3.52$  (d,  $J = 11.8$  Hz, 2H),  $3.09$  (t,  $J = 12.1$  Hz, 2H),  $2.78$  (d,  $J = 15.0$  Hz, 2H),  $2.48$  (t,  $J = 12.2$  Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta = 142.49, 141.55, 132.32, 131.32, 130.47, 130.42, 130.36, 129.47, 129.14, 128.32, 61.54, 54.37, 29.35$ .

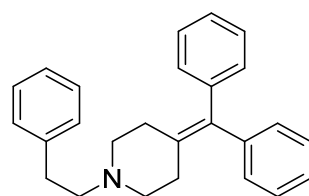
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f = 0.7$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.85$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{25}H_{26}N$   $[M+H]^+$ : 340.21, gef.: 340.22.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{25}H_{26}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 340.2060, gef.: 340.2077.

**Ausbeute**: 22.2 mg; 0.0654 mmol; 63 %.

### Synthese von **85b**



**85b**

Bei der Reaktion wurde die generelle Methode J mit dem Alkohol **75h** (1 eq.; 0.074 mmol; 24.6 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **85b** (17.2 mg; 0.0487 mmol; 66 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.41 - 7.22$  (m, 11H),  $7.16$  (m, 4H),  $3.70$  (d,  $J = 11.5$  Hz, 2H),  $3.45 - 3.34$  (m, 2H),  $3.20 - 3.01$  (m, 4H),  $2.82$  (d,  $J = 15.9$  Hz, 2H),  $2.63 - 2.44$  (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta = 142.47, 141.62, 137.45, 130.38, 130.06, 129.79, 129.48, 129.02, 128.37, 58.91, 54.79, 31.52, 29.57$ .

**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f = 0.8$ .

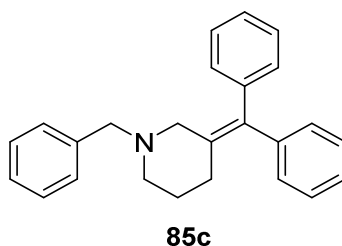
**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 7.18$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{26}H_{27}N$   $[M+H]^+$ : 354.22, gef.: 354.27.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{26}H_{27}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 354.2216, gef.: 354.2222.

**Ausbeute**: 17.2 mg (0.0487 mmol); 66 %.



## Synthese von 85c



Die Reaktion wurde nach der generellen Methode J mit dem Alkohol **75c** (1 eq.; 0.126 mmol; 45.2 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (17.6 mg; 0.0519 mmol; 41 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.46 – 7.25 (m, 8H), 7.22 – 7.15 (m, 3H), 7.13 (m, 2H), 6.98 (m, 2H), 4.41 (d,  $J$  = 13.0 Hz, 1H), 4.18 (d,  $J$  = 13.0 Hz, 1H), 4.04 (d,  $J$  = 13.1 Hz, 1H), 3.63 (d,  $J$  = 12.9 Hz, 2H), 3.25 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 2.68 (d,  $J$  = 14.3 Hz, 1H), 2.32 (t,  $J$  = 11.1 Hz, 1H), 2.09 (d,  $J$  = 14.2 Hz, 1H), 1.91 (d,  $J$  = 12.2 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 145.59, 141.88, 141.14, 131.96, 131.16, 130.34, 130.29, 130.13, 130.08, 129.54, 129.45, 128.73, 128.69, 126.96, 61.10, 55.42, 54.55, 28.94, 24.39.

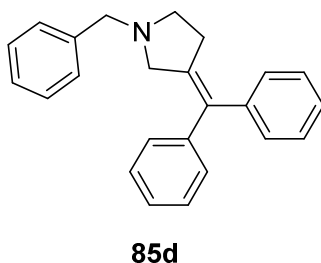
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f$  = 0.8.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.73 min,  $m/z$  ber. für  $C_{25}H_{26}N$   $[M+H]^+$ : 340.21, gef.: 340.15.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{25}H_{26}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 340.2060, gef.: 340.2072.

**Ausbeute**: 17.6 mg; 0.0519 mmol; 41 %.

## Synthese von 85d



Die Reaktion wurde nach der generellen Methode J mit dem Alkohol **75g** (1 eq.; 0.067 mmol; 23.0 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (13 mg; 0.040 mmol; 60 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.36 – 7.25 (m, 9H), 7.24 – 7.16 (m, 4H), 7.17 – 7.11 (m, 2H), 3.68 (s, 2H), 3.39 (s, 2H), 2.75 – 2.66 (m, 2H), 2.62 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 142.42, 129.09, 128.87, 128.50, 128.25, 126.67, 71.27, 60.69, 54.14, 31.94.

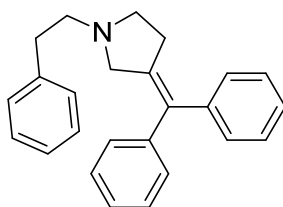
**DC** (EA/CH = 1:2): *R<sub>f</sub>* = 0.7.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 6.46 min, *m/z* ber. für C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 326.19, gef.: 326.14.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 326.1903, gef.: 326.1911.

**Ausbeute**: 13 mg; 0.040 mmol; 60 %.

### Synthese von **85e**



**85e**

Bei der Reaktion wurde die generelle Methode J mit dem Alkohol **75k** (1 eq.; 0.0276 mmol; 9.9 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **85e** (8.9 mg; 0.026 mmol; 94 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD): δ = 7.40 – 7.24 (m, 11H), 7.23 – 7.14 (m, 4H), 4.16 (s, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.87 (s, 1H), 3.51 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.03 (d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 2.92 (s, 1H), 2.84 (s, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD): δ = 142.13, 139.96, 137.50, 130.42, 130.02, 129.75, 129.73, 129.70, 129.60, 129.54, 128.84, 128.67, 128.39, 58.69, 56.75, 55.14, 32.95, 30.06.

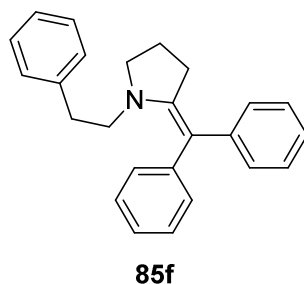
**DC** (EA/CH = 1:2): *R<sub>f</sub>* = 0.6.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 6.94 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 340.21, gef.: 340.16.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 340.2060, gef.: 340.2063.

**Ausbeute**: 8.9 mg; 0.026 mmol; 94 %.

## Synthese von 85f



Bei der Reaktion wurde die generelle Methode J mit dem Alkohol **75j** (1 eq.; 0.116 mmol; 41.5 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **85f** (21.2 mg; 0.0625 mmol; 55 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.44 – 7.36 (m, 6H), 7.32 (m, 3H), 7.08 – 7.01 (m, 4H), 6.97 (m, 2H), 5.36 (s, 1H), 4.40 (s, 2H), 4.11 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.02 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.77 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.33 – 2.19 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 136.16, 135.69, 129.88, 129.48, 129.10, 128.74, 128.66, 127.97, 61.34, 53.16, 52.12, 41.01, 32.44, 18.52.

**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.7.

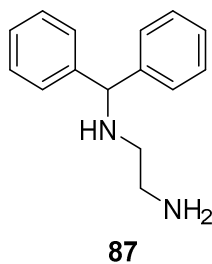
**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 6.96 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 340.21, gef.: 340.30.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 340.2060, gef.: 340.2071.

**Ausbeute**: 21.2 mg; 0.0625 mmol; 55 %.

## 6.4.4 Synthese weiterer Derivate zur Optimierung der Alkylkette

### Synthese von 87



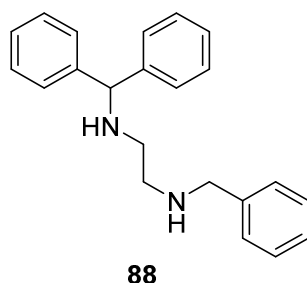
Chlordiphenylmethan (1 eq.; 1.13 mmol; 200  $\mu$ L) wurde in einem Überschuss Diethylamin (3 mL) gelöst und die Lösung wurde für 2 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde bis zur Trockne am Hochvakuum eingedampft. Es war keine weitere Aufreinigung notwendig.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.28 - 7.23$  (m, 4H),  $7.17 - 7.11$  (m, 4H),  $7.11 - 6.99$  (m, 2H),  $4.67$  (s, 1H),  $2.66$  (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H),  $2.49$  (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 144.28, 128.60, 128.52, 128.12, 127.83, 127.34, 127.03, 67.50, 45.07, 42.17$ .

**Ausbeute:** 207.4 mg; 0.917 mmol; 81 %.

### Synthese von **88**



Eine Lösung aus **87** (1 eq.; 0.917 mmol; 207.4 mg) und  $\text{NEt}_3$  (2 eq.; 1.834 mmol; 254  $\mu$ L) in DCM/MeOH (1:1; 5 mL) wurde für 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt. Das gewünschte Produkt **88** (14.4 mg; 0.455 mmol; 5 %) konnte isoliert werden.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.44$  (d,  $J = 6.6$  Hz, 4H),  $7.37$  (m, 11H),  $5.21$  (s, 1H),  $4.08$  (s, 2H),  $3.34$  (s, 4H).

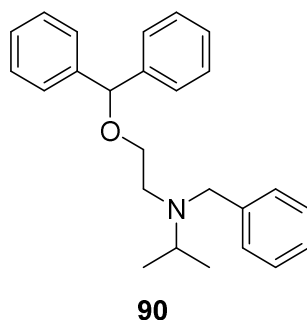
$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 134.37, 130.24, 130.06, 129.75, 129.71, 129.58, 129.28, 127.70, 68.08, 52.34, 43.35, 43.24$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5.04$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 317.19, gef.: 316.92.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 317.2012, gef.: 317.2016.

**Ausbeute:** 14.4 mg; 0.455 mmol; 5 %.

## Synthese von 90



Die Reaktion wurde nach der generellen Methode E mit dem Amin **89** (1 eq.; 0.0639 mmol; 19.5 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (11.2 mg; 0.031 mmol; 49 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.63 – 7.12 (m, 15H), 5.40 (s, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.83 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 2H), 3.78 – 3.68 (m, 1H), 3.44 – 3.07 (m, 2H), 1.36 (m, 6H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 141.02, 130.97, 130.14, 129.52, 129.14, 128.72, 128.04, 127.06, 84.69, 77.36, 63.99, 55.43, 55.03, 48.94.

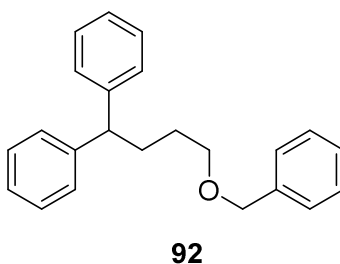
**DC** (EA/CH = 1:9):  $R_f$  = 0.5.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.92 min,  $m/z$  ber. für C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 360.23, gef.: 360.02.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 360.2322, gef.: 360.2336.

**Ausbeute**: 11.2 mg; 0.031 mmol; 49 %.

## Synthese von 92



Zu einer Lösung von **45** (1 eq.; 1.41 mmol; 319 mg) in DCM (15 mL) wurde NaH (2 eq.; 2.82 mmol; 68 mg) gegeben und für 30 Minuten gerührt. Die Lösung wurde mit Benzylbromid (2 eq.; 2.82 mmol; 335  $\mu$ L) versetzt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (CH/EA = 1:0  $\rightarrow$  19:1) aufgereinigt. Das

erhaltene Edukt-Produkt-Gemisch wurde mittels HPLC aufgetrennt und das gewünschte Produkt (96.3 mg; 0.305 mmol; 22 %) konnte isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.40 (m, 4H), 7.38 – 7.28 (m, 9H), 7.27 – 7.21 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.98 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.56 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.23 (m, 2H), 1.68 (m, 2H).

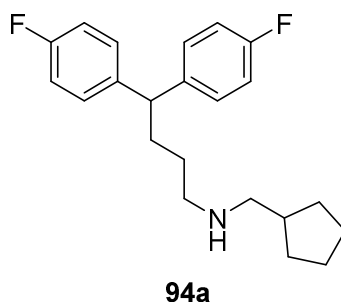
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 145.06, 138.56, 128.50, 128.45, 127.96, 127.75, 127.63, 126.19, 72.92, 70.26, 51.22, 32.30, 28.33.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1): *R<sub>f</sub>* = 0.7.

**Ausbeute:** 96.3 mg; 0.305 mmol; 22 %.

### 6.4.5 Synthese von Derivaten des Tetrahydrocarbazol-Ringsystems

#### Synthese von **94a**



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.0275 mmol; 7.2 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit Cyclopentylmethylamin (50 μL) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94a** (8.1 mg; 0.0236 mmol; 86 % über 2 Stufen) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.11 (m, 4H), 6.95 (t, *J* = 8.6 Hz, 4H), 3.80 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 2.88 (s, 2H), 2.77 (s, 2H), 2.17 – 2.03 (m, 1H), 1.99 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.78 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.60 (s, 4H), 1.52 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.13 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.86, 160.42, 139.70, 129.15, 115.73, 52.74, 49.32, 47.97, 36.89, 32.78, 30.77, 25.10, 24.09.

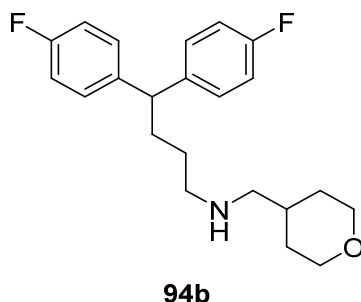
**DC** (DCM/MeOH = 9:1): *R<sub>f</sub>* = 0.5.

**LC-MS (ESI):** *t<sub>R</sub>* = 6.91 min, *m/z* ber. für C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 344.22, gef.: 344.28.

**HRMS (ESI):** *m/z* für C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>F<sub>2</sub>N [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 344.2184, gef.: 344.2197.

**Ausbeute:** 8.1 mg; 0.0236 mmol; 86 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94b



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 4-Aminomethyl-tetrahydrofuran (30  $\mu$ L) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94b** (6.9 mg; 0.0192 mmol; 51 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.11 (m, 4H), 6.96 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 4H), 3.96 (m, 2H), 3.82 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H), 2.96 (s, 2H), 2.78 (s, 2H), 2.02 (q,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 1.64 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 4H), 1.39 – 1.22 (m, 3H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 162.93, 160.49, 139.41, 129.07, 115.84, 115.63, 66.99, 53.52, 49.31, 48.55, 32.66, 32.52, 30.14, 24.25.

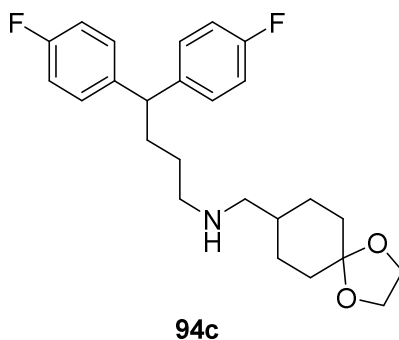
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.3.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.17 min, ber.  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 360.21, gef.: 360.28.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 360.2133, gef.: 360.2146.

**Ausbeute**: 6.9 mg; 0.0192 mmol; 51 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94c



Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.305 mmol; 80 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94c** (103.3 mg; 0.249 mmol) in 82 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.21 – 7.04 (m, 4H), 6.95 (t, *J* = 8.6 Hz, 4H), 3.90 (m, 3H), 3.81 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 3.01 – 2.88 (m, 2H), 2.83 (s, 1H), 2.80 – 2.69 (m, 1H), 2.40 – 2.12 (m, 2H), 2.12 – 1.94 (m, 3H), 1.81 – 1.53 (m, 5H), 1.53 – 1.34 (m, 2H), 1.27 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD): δ = 162.86, 161.64, 161.26, 160.42, 139.51, 129.01, 115.75, 115.54, 107.98, 64.48, 64.38, 53.04, 49.26, 48.25, 39.70, 33.75, 32.65, 27.65, 24.13.

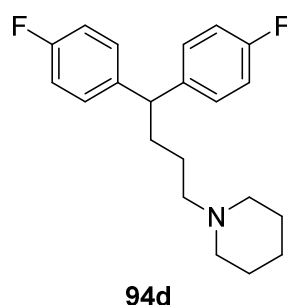
**DC** (DCM/MeOH = 9:1): *R<sub>f</sub>* = 0.3.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 6.42 min, *m/z* ber. für C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 416.24, gef.: 416.31.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 416.2396, gef.: 416.2394.

**Ausbeute**: 103.3 mg; 0.249 mmol; 82 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94d**



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit Piperidin (30 μL) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94d** (21.8 mg; 0.066 mmol; 87 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.12 (m, 4H), 6.96 (t, *J* = 8.7 Hz, 4H), 3.85 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.60 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 3.04 (m, 2H), 2.59 (s, 2H), 2.02 (m, 2H), 1.86 (s, 5H), 1.75 – 1.56 (m, 2H), 1.50 – 1.28 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.92, 160.49, 139.40, 129.06, 128.98, 115.79, 115.58, 57.51, 53.87, 49.33, 32.59, 22.91, 22.50, 21.89.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1): *R<sub>f</sub>* = 0.3.

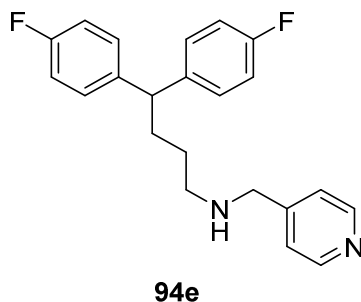


**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6.34$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{21}H_{26}F_2N$   $[M+H]^+$ : 330.20, gef.: 330.31.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{21}H_{25}F_2N$   $[M+H]^+$ : ber.: 330.2028, gef.: 330.2039.

**Ausbeute:** 21.8 mg; 0.066 mmol; 87 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94e**



Die Mesylierung erfolgte nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 4-(Aminomthyl)-pyridin (30  $\mu$ L). Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94e** (23.3 mg; 0.066 mmol; 87 % Ausbeute über 2 Stufen) isoliert werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 8.84$  (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 7.93 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 7.28 (m, 4H), 7.01 (t,  $J = 8.8$  Hz, 4H), 4.44 (s, 2H), 3.99 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 3.25 – 3.12 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.79 – 1.61 (m, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta = 164.15, 161.73, 146.23, 141.60, 130.39, 127.71, 116.35, 116.13, 50.61, 50.54, 49.39, 33.56, 25.97$ .

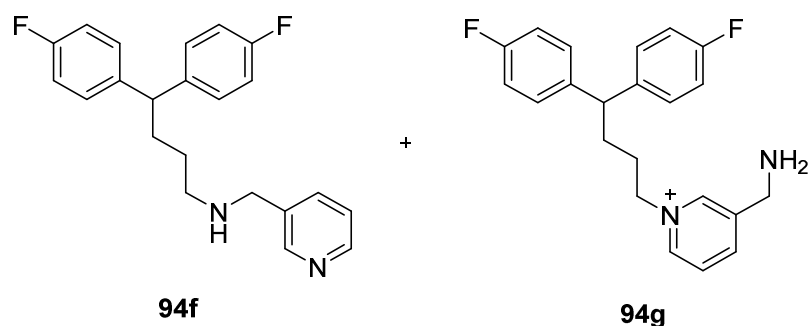
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.8$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5.61$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{22}H_{23}F_2N_2$   $[M+H]^+$ : 353.18, gef.: 353.19.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{22}H_{23}F_2N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 353.1824, gef.: 353.1828.

**Ausbeute:** 23.3 mg; 0.066 mmol; 87 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94f und 94g



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 3-(Aminomthyl)-pyridin (30  $\mu$ L) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnten die beiden Produkte **94f** (13.5 mg; 0.038 mmol; 50 % über 2 Stufen) und **94g** (9.7 mg; 0.0275 mmol; 36 % über 2 Stufen) voneinander getrennt werden.

### 94f:

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 9.16 (s, br, 2H), 8.55 (d,  $J$  = 14.5 Hz, 2H), 7.84 (s, 1H), 7.10 (m, 4H), 6.92 (t,  $J$  = 8.5 Hz, 4H), 4.37 (s, 2H), 3.83 (s, 1H), 3.14 (s, 2H), 2.06 (s, 2H), 1.69 (s, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 162.83, 160.40, 147.18, 142.24, 139.55, 129.12, 129.04, 115.70, 115.49, 49.26, 48.79, 48.06, 32.52, 24.67.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.9.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 5.78 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 353.18, gef.: 353.15.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 353.1824, gef.: 353.1832.

**Ausbeute**: 13.5 mg; 0.038 mmol; 50 % über 2 Stufen.

### 94g:

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 9.14 (s, 1H), 9.02 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 8.66 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.22 – 8.09 (m, 1H), 7.27 (m, 4H), 7.00 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 4H), 4.75 – 4.61 (m, 2H), 4.40 (s, 2H), 4.00 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 2.21 – 2.10 (m, 2H), 1.98 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 162.27, 161.73, 147.41, 141.47, 136.25, 130.43, 130.35, 129.65, 116.37, 116.16, 63.24, 50.58, 40.68, 33.16, 31.24.

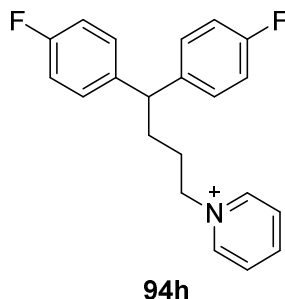
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.6.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 4.77 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_2$   $[\text{M}]^+$ : 353.18, gef.: 353.24.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{22}H_{23}F_2N_2 [M]^+$ : ber.: 353.1824, gef.: 353.1833.

**Ausbeute:** 9.7 mg; 0.0275 mmol; 36 % über 2 Stufen.

### Synthese von 94h



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit Pyridin (30  $\mu$ L) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94h** (8.7 mg; 0.026 mmol; 34 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 9.05 (d,  $J$  = 5.5 Hz, 2H), 8.59 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 8.30 – 8.05 (m, 2H), 7.30 (m, 4H), 7.10 (t,  $J$  = 8.9 Hz, 4H), 4.62 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 4.01 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 3H), 2.00 (q,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 1.80 (m, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 161.92, 159.51, 145.50, 144.72, 140.56, 129.29, 129.21, 128.15, 115.31, 115.10, 60.55, 48.24, 31.16, 29.46.

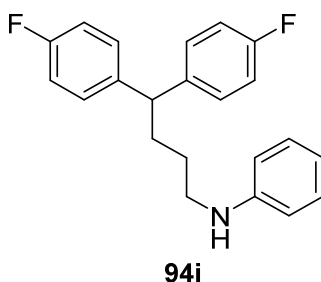
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.1.

**LC-MS (ESI):**  $t_R$  = 6.22 min,  $m/z$  ber. für  $C_{21}H_{20}F_2N [M]^+$ : 324.16, gef.: 324.19.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{21}H_{20}F_2N [M]^+$ : ber.: 324.1558, gef.: 324.1566.

**Ausbeute:** 8.7 mg; 0.026 mmol; 34 % über 2 Stufen.

### Synthese von 94i



Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.048 mmol; 12.5 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit Anilin (25  $\mu$ L) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94i** (6.6 mg; 0.020 mmol) in 42 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.50 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.41 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.34 – 7.23 (m, 6H), 7.00 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 4H), 3.97 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 3.46 – 3.35 (m, 2H), 2.14 (m, 2H), 1.65 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 164.12, 161.70, 141.65, 131.37, 130.45, 130.38, 122.49, 116.30, 116.09, 52.00, 50.49, 33.51, 26.05.

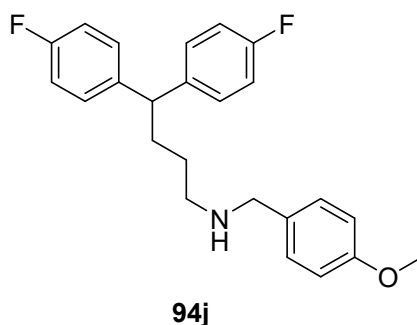
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.7.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 10.67 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 338.17, gef.: 338.11.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 338.1715, gef.: 338.1719.

**Ausbeute**: 6.6 mg; 0.020 mmol; 42 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94j**



Die Mesylierung erfolgte nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 4-Methoxybenzylamin (30  $\mu$ L). Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94j** (17.8 mg; 0.047 mmol) in 61 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.16 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 7.07 (m, 4H), 6.92 (t,  $J$  = 8.6 Hz, 4H), 6.83 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.75 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.81 (s, 2H), 1.96 (q,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 1.64 – 1.47 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 162.85, 160.78, 160.41, 139.57, 131.38, 129.08, 129.00, 121.72, 115.71, 115.50, 114.72, 55.37, 50.82, 49.23, 46.38, 32.53, 24.46.

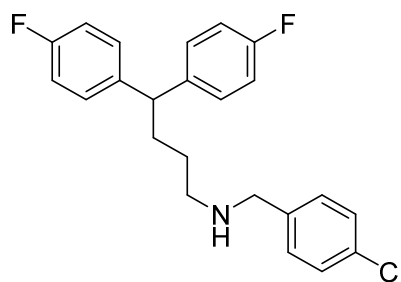
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.6$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6.77$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{24}H_{26}F_2NO$   $[M+H]^+$ : 382.20, gef.: 381.95.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{24}H_{25}F_2NO$   $[M+H]^+$ : ber.: 382.1977, gef.: 382.1985.

**Ausbeute:** 17.8 mg; 0.047 mmol; 61 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94k**



**94k**

Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 4-Chlorobenzylamin (30  $\mu$ L) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94k** (23.0 mg; 0.060 mmol; 79 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 7.30$  (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.07 (m, 4H), 6.93 (t,  $J = 8.6$  Hz, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.75 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 2.82 (s, 2H), 1.96 (q,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 1.53 (m, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 162.88, 160.44, 139.47, 136.30, 131.30, 129.66, 129.06, 128.98, 128.28, 115.75, 115.54, 50.56, 49.20, 46.75, 32.50, 24.41$ .

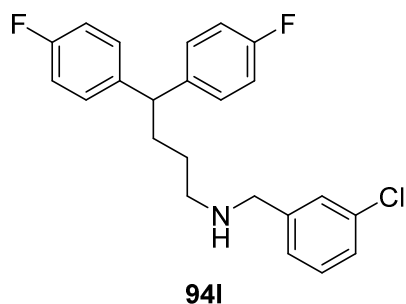
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.8$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6.99$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{23}H_{23}ClF_2N$   $[M+H]^+$ : 386.15, gef.: 386.19.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{23}H_{23}ClF_2N$   $[M+H]^+$ : ber.: 386.1482, gef.: 386.1483.

**Ausbeute:** 23.0 mg; 0.060 mmol; 79 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94l



Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.028 mmol; 7.2 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 3-Chlorobenzylamin (20  $\mu$ L) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94l** (9.8 mg; 0.025 mmol) in 93 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.34 - 7.27$  (m, 2H), 7.16 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.07 (m, 4H), 6.92 (t,  $J = 8.7$  Hz, 4H), 3.82 (s, 2H), 3.74 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 2.79 (s, 2H), 1.96 (q,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 1.55 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 162.85, 160.42, 139.54, 135.26, 131.92, 130.68, 130.09, 129.08, 129.00, 128.07, 115.75, 115.54, 50.44, 49.24, 46.59, 35.52, 24.43$ .

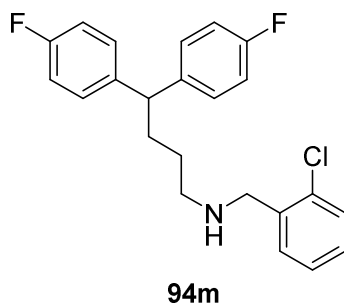
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.8$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 7.14$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClF}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 386.15, gef.: 386.32.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClF}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 386.1482, gef.: 386.1487.

**Ausbeute**: 9.8 mg; 0.0254 mmol; 93 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94m



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 2-Chlorobenzylamin

(20  $\mu$ L) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94m** (13.2 mg; 0.0348 mmol; 92 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.39 (m, 4H), 7.28 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.09 (m, 4H), 6.94 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 4H), 4.18 (s, 2H), 3.80 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 2.98 (s, 2H), 2.02 (q,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 1.65 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 162.89, 160.45, 139.48, 134.75, 132.26, 131.81, 130.31, 129.08, 129.00, 128.07, 127.89, 115.77, 115.56, 49.36, 48.59, 47.27, 32.58, 24.68.

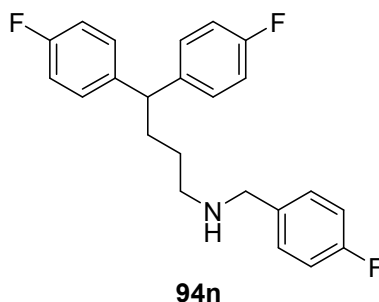
**DC** (CH/EA = 2:1):  $R_f$  = 0.3.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.93 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClF}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 386.15, gef.: 386.33.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClF}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 386.1482, gef.: 386.1488.

**Ausbeute**: 13.4 mg; 0.0348 mmol; 92 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94n**



Die Mesylierung erfolgte nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 4-Fluorobenzylamin (30  $\mu$ L). Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94n** (20.2 mg; 0.055 mmol) in 72 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.47 (m, 2H), 7.27 (m, 4H), 7.17 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.01 (m, 4H), 4.14 (s, 2H), 3.97 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.10 – 2.99 (m, 2H), 2.11 (m, 2H), 1.70 – 1.57 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 166.04, 164.12, 161.70, 141.62, 133.32, 133.23, 130.44, 130.36, 128.61, 117.17, 116.95, 116.32, 116.10, 51.50, 50.52, 33.61, 25.87.

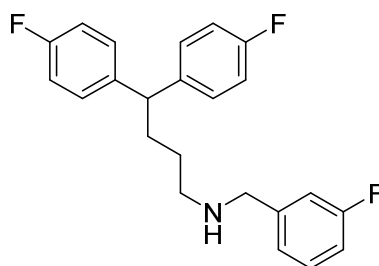
**DC** (EA/CH = 1:2):  $R_f$  = 0.2.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.71 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 370.18, gef.: 370.10.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 370.1777, gef.: 370.1789.

**Ausbeute:** 20.2 mg; 0.055 mmol; 72 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94o**



**94o**

Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 3-Fluorobenzylamin (20  $\mu$ L) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94o** (5.3 mg; 0.014 mmol; 38 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.87 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 1H), 7.28 (m, 5H), 7.01 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 4H), 4.17 (s, 2H), 3.97 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.12 – 3.00 (m, 2H), 2.12 (q,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 1.65 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 164.15, 163.09, 161.72, 141.60, 134.87, 133.84, 132.89, 132.31, 130.44, 126.81, 123.37, 117.82, 117.66, 117.60, 117.45, 116.34, 116.13, 51.64, 50.52, 37.98, 33.60, 25.89.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.8.

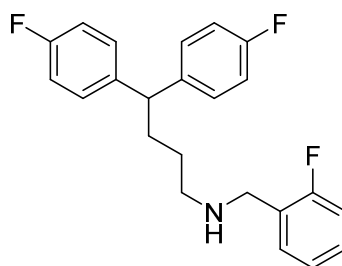
**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.83 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 370.18, gef.: 370.20.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 370.1777, gef.: 370.1785.

**Ausbeute:** 5.3 mg; 0.014 mmol; 38 % über 2 Stufen.



## Synthese von 94p



**94p**

Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.305 mmol; 80 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 2-Fluorobenzylamin (120  $\mu$ L) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94p** (9.8 mg; 0.025 mmol) in 93 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.32 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.12 – 7.02 (m, 7H), 6.91 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 3H), 3.96 (s, 2H), 3.77 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 2.82 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.05 – 1.93 (m, 2H), 1.60 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  162.68, 139.52, 132.03, 128.97, 128.89, 124.99, 124.57, 117.52, 116.03, 115.55, 115.34, 49.19, 46.34, 43.76, 32.49, 24.33.

15:

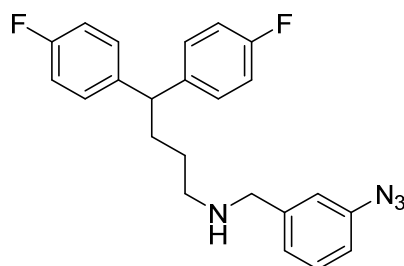
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.2.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.78 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 370.18, gef.: 370.20.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 370.1777, gef.: 370.1784.

**Ausbeute**: 9.1 mg; 0.025 mmol; 8 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94q



**94q**

Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit **30** (2 eq.; 0.152 mmol; 22.6 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94q** (5.1 mg; 0.013 mmol; 17 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 9.37 (s, 1H), 7.31 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.07 (m, 5H), 7.03 – 6.84 (m, 6H), 3.83 (s, 2H), 3.75 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 2.78 (s, 2H), 1.97 (q, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.59 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.31, 160.92, 141.46, 139.53, 131.91, 130.81, 129.08, 129.03, 126.18, 120.50, 120.29, 115.70, 115.57, 50.61, 49.29, 46.48, 32.59, 24.50.

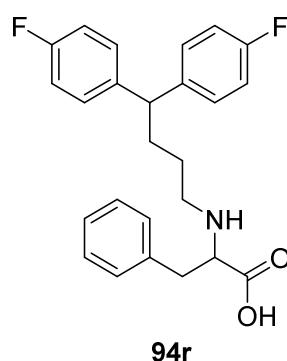
**DC** (EA/CH = 1:2): R<sub>f</sub> = 0.2.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 7.05 min, *m/z* ber. für C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>F<sub>2</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 393.19, gef.: 393.04.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>2</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 393.1885, gef.: 393.1886.

**Ausbeute**: 5.1 mg; 0.013 mmol; 17 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94r**



Die Mesylierung erfolgte nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit Phenylalanin (2 eq.; 0.152 mmol; 25 mg). Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94r** (12.3 mg; 0.030 mmol) in 40 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD): δ = 7.43 – 7.20 (m, 9H), 7.01 (t, *J* = 8.8 Hz, 4H), 4.23 – 4.16 (m, 1H), 3.95 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.29 – 3.14 (m, 2H), 3.10 – 2.99 (m, 2H), 2.07 (m, 2H), 1.62 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD): δ 170.54, 164.14, 161.72, 141.59, 135.31, 130.40, 130.04, 128.88, 116.33, 116.12, 62.16, 50.44, 48.04, 36.62, 33.52, 25.79.

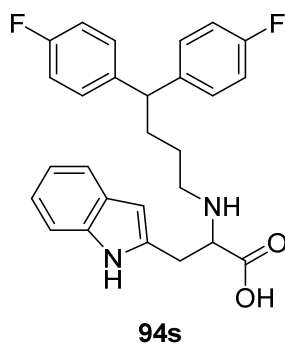
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.5$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.98$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{25}H_{26}F_2NO_2$   $[M+H]^+$ : 410.19, gef.: 410.18.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{27}H_{26}F_2N_2O_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 410.1926, gef.: 410.1922.

**Ausbeute**: 12.3 mg; 0.030 mmol; 40 % über 2 Stufen.

### Synthese von 94s



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.076 mmol; 20.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit Tryptophan (2 eq.; 0.152 mmol; 31 mg) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt (14.8 mg; 0.033 mmol; 43 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.59$  (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.38 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.25 – 7.18 (m, 5H), 7.18 – 7.12 (m, 1H), 7.09 – 7.03 (m, 1H), 6.99 (m, 4H), 4.21 (t,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 3.86 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 3.52 – 3.37 (m, 2H), 3.07 – 2.97 (m, 2H), 1.99 (q,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 1.56 (m, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta = 171.20, 164.10, 161.68, 141.53, 138.26, 130.42, 130.34, 128.30, 125.49, 122.97, 120.37, 119.03, 116.29, 116.08, 112.65, 107.61, 61.45, 50.38, 47.84, 33.47, 26.86, 25.63$ .

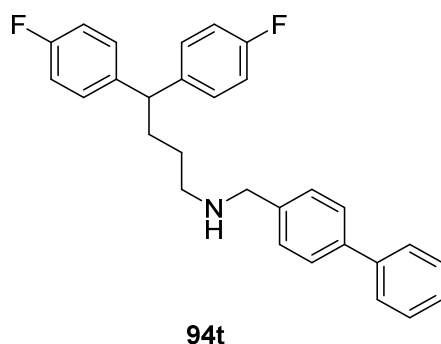
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.5$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.98$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{27}H_{27}F_2N_2O_2$   $[M+H]^+$ : 449.20, gef.: 449.09.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{27}H_{26}F_2N_2O_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 449.2035, gef.: 449.2031.

**Ausbeute**: 14.8 mg; 0.033 mmol; 43 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94t



Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 4-Phenylbenzylamin (20 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94t** (3.5 mg; 0.0082 mmol) in 22 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.55 – 7.29 (m, 9H), 7.02 (m, 4H), 6.90 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 4H), 3.83 (s, 2H), 3.70 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 2.79 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 2H), 1.92 (q,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 1.66 – 1.48 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 162.82, 160.38, 142.64, 139.86, 139.62, 130.47, 129.10, 129.05, 129.03, 128.04, 127.88, 127.14, 115.68, 115.47, 50.69, 49.16, 46.36, 32.50, 24.38.

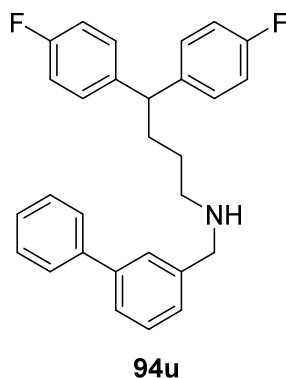
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.8.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.56 min,  $m/z$  ber. für C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 428.22, gef.: 428.09.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>2</sub>N [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 428.2184, gef.: 428.2185.

**Ausbeute**: 3.5 mg; 0.0082 mmol; 22 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94u



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 3-Phenylbenzylamin (40 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94u** (8.8 mg; 0.021 mmol; 55 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.64 – 7.48 (m, 4H), 7.49 – 7.32 (m, 4H), 7.22 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.03 (m, 4H), 6.90 (t, *J* = 8.7 Hz, 4H), 3.95 (s, 2H), 3.71 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.85 (s, 2H), 1.94 (q, *J* = 7.9 Hz, 2H), 1.56 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.83, 160.39, 142.38, 139.68, 139.53, 130.53, 129.87, 129.14, 129.06, 128.98, 128.59, 128.52, 128.14, 127.07, 115.70, 115.49, 51.29, 49.21, 46.68, 32.51, 24.44.

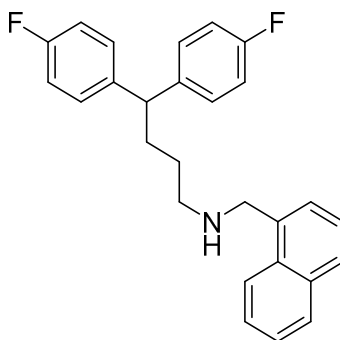
**DC** (DCM/MeOH = 9:1): R<sub>f</sub> = 0.6.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 7.52 min, *m/z* ber. für C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 428.22, gef.: 428.23.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 428.2184, gef.: 428.2187.

**Ausbeute**: 8.8 mg; 0.021 mmol; 55 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94v**



**94v**

Die Mesylierung erfolgte nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.028 mmol; 7.2 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 1-Naphtylmethylamin (20 µL). Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94v** (10.9 mg; 0.0272 mmol) in 99 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.91 – 7.76 (m, 3H), 7.62 – 7.47 (m, 2H), 7.46 – 7.33 (m, 2H), 7.01 (m, 4H), 6.88 (t, *J* = 8.7 Hz, 4H), 4.26 (s, 2H), 3.68 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.82 (s, 2H), 1.90 (q, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.63 – 1.43 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 162.81, 160.37, 139.55, 133.88, 131.29, 130.93, 129.85, 129.04, 128.96, 127.70, 126.79, 125.79, 125.40, 122.22, 115.68, 115.47, 49.23, 47.90, 46.96, 32.49, 24.56.

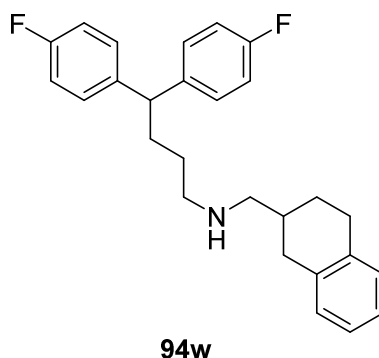
DC (CH/EA = 2:1): R<sub>f</sub> = 0.3.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 7.15 min, m/z ber. für C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 402.20, gef.: 402.18.

HRMS (ESI): m/z für C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 402.2028, gef.: 402.2040.

Ausbeute: 10.9 mg 0.0272 mmol; 99 % über 2 Stufen.

### Synthese von 94w



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit **98** (4.5 eq.; 0.171 mmol; 27.6 mg) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt (1.7 mg; 0.004 mmol; 11 % über 2 Stufen) erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.33 – 7.23 (m, 4H), 7.11 – 6.95 (m, 8H), 4.00 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 3.11 – 3.03 (m, 2H), 2.99 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 2.95 – 2.79 (m, 3H), 2.52 (m, 1H), 2.12 (m, 3H), 2.06 – 1.95 (m, 1H), 1.74 – 1.60 (m, 2H), 1.54 – 1.42 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 163.64, 162.26, 141.62, 136.78, 135.36, 130.45, 130.40, 130.03, 129.86, 127.20, 126.95, 116.30, 116.18, 116.05, 115.93, 62.73, 54.12, 50.53, 34.23, 33.52, 32.11, 29.09, 27.92, 25.87.

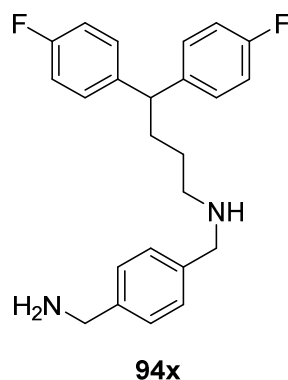
DC (EA/CH = 1:1): R<sub>f</sub> = 0.1.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 7.47 min, m/z ber. für C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: 406.23, gef.: 406.41.

HRMS (ESI): m/z für C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 406.2341, gef.: 406.2346.

Ausbeute: 1.7 mg; 0.004 mmol; 11 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94x



Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit *p*-Xylylendiamin (3 eq.; 0.114 mmol 15.5 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94x** (12.2 mg; 0.032 mmol) in 84 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.53 (s, 4H), 7.27 (m, 4H), 7.01 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 4H), 4.18 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 3.97 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.14 – 3.01 (m, 2H), 2.11 (m, 2H), 1.65 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 164.13, 161.71, 141.62, 135.95, 133.52, 131.68, 130.74, 130.44, 130.36, 116.32, 116.11, 51.73, 50.53, 49.28, 43.78, 33.64, 25.84.

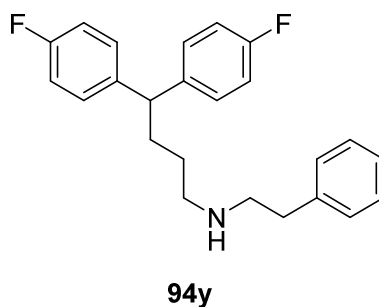
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.1.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 5.02 min,  $m/z$  ber. für  $C_{24}H_{27}F_2N_2$   $[M+H]^+$ : 381.21, gef.: 381.16.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{24}H_{27}F_2N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 381.2137, gef.: 381.2138.

**Ausbeute**: 12.2 mg; 0.032 mmol; 84 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94y



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.0458 mmol; 12.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit Phenethylamin (50  $\mu$ L) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94y** (15.7 mg; 0.043 mmol; 94 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.33 - 7.22$  (m, 4H), 7.13 – 7.01 (m, 6H), 6.91 (t,  $J = 8.7$  Hz, 4H), 3.76 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 3.17 – 3.02 (m, 2H), 3.02 – 2.84 (m, 4H), 2.00 (q,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 1.61 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 162.86, 160.42, 139.50, 135.70, 129.20, 129.06, 128.98, 128.68, 127.66, 115.74, 115.53, 49.26, 49.20, 47.91, 32.59, 32.41, 24.43$ .

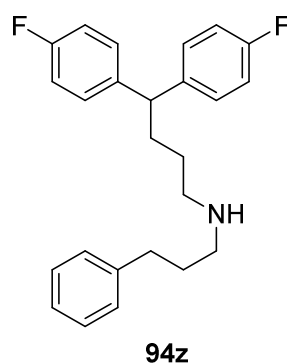
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.7$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 7.01$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 366.20, gef.: 366.29.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 366.2028, gef.: 366.2045.

**Ausbeute**: 15.7 mg; 0.0430 mmol; 94 % über 2 Stufen.

### Synthese von **94z**



Die Mesylierung erfolgte nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit 3-Phenylpropylamin (50  $\mu$ L). Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94z** (13.1 mg; 0.0345 mmol) in 91 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.25$  (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 7.18 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.10 – 7.01 (m, 6H), 6.93 (t,  $J = 8.7$  Hz, 4H), 3.72 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 2.89 – 2.72 (m, 4H), 2.55 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 1.91 (m, 7.8 Hz, 4H), 1.53 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 162.85, 160.41, 139.58, 129.10, 129.02, 128.87, 128.28, 126.72, 115.72, 115.51, 53.57, 49.18, 47.67, 47.19, 32.53, 27.31, 24.26$ .



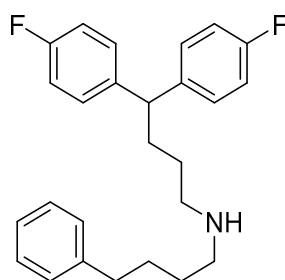
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.6$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 7.16$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{25}H_{28}F_2N$   $[M+H]^+$ : 380.22, gef.: 380.36.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{25}H_{28}F_2N$   $[M+H]^+$ : ber.: 380.2184, gef.: 380.2201.

**Ausbeute:** 13.1 mg; 0.0345 mmol; 91 % über 2 Stufen.

### Synthese von 94aa



**94aa**

Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.038 mmol; 10.0 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit 4-Phenylbutylamin (50  $\mu$ L) benutzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (13.0 mg; 0.033 mmol; 87 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.32 - 7.23$  (m, 6H), 7.21 - 7.15 (m, 3H), 7.01 (t,  $J = 8.8$  Hz, 4H), 3.97 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 3.04 - 2.86 (m, 4H), 2.65 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.10 (q,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 1.77 - 1.48 (m, 6H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta = 164.13, 161.71, 142.72, 141.62, 130.45, 130.37, 129.46, 127.07, 116.32, 116.11, 50.50, 48.70, 36.11, 33.55, 29.29, 26.69, 25.94$ .

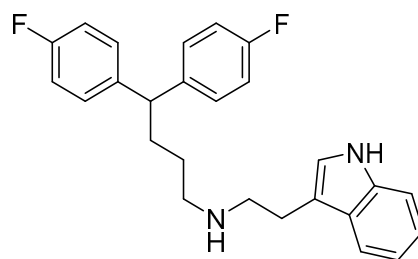
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f = 0.1$ .

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 7.44$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{26}H_{29}F_2N$   $[M+H]^+$ : 394.23, gef.: 394.37.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  für  $C_{26}H_{29}F_2N$   $[M+H]^+$ : ber.: 394.2341, gef.: 394.2348.

**Ausbeute:** 13.0 mg; 0.033 mmol; 87 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94ab



**94ab**

Die Mesylierung wurde nach der generellen Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.0382 mmol; 10.0 mg) und die Aminierung nach der generellen Methode H mit Tryptamin (50 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94ab** (15.3 mg; 0.0379 mmol) in 99 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.47 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.37 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.23 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 7.13 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (m, 4H), 6.92 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 4H), 3.70 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 3.28 (s, 2H), 3.14 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 2.97 (s, 2H), 1.89 (q,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 1.54 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 162.87, 161.32, 160.93, 160.43, 139.36, 136.70, 129.01, 128.93, 126.28, 123.72, 123.00, 120.24, 117.99, 115.73, 115.52, 111.92, 108.71, 49.20, 48.18, 48.10, 32.34, 24.40, 22.51.

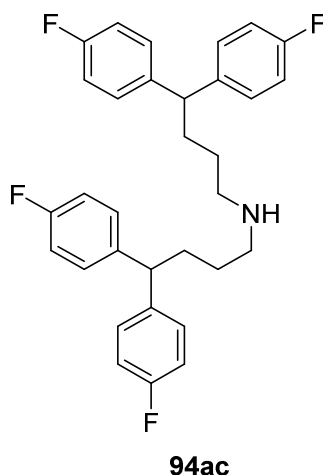
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.6.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.96 min,  $m/z$  ber. für C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 405.21, gef.: 405.16.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 405.2137, gef.: 405.2150.

**Ausbeute**: 15.3 mg; 0.0379 mmol; 99 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94ac



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.036 mmol; 9.4 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit **95** (2.5 eq.; 0.0725 mmol; 19.4 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **94ac** (2.4 mg; 0.0048 mmol; 13 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.29 (m, 8H), 7.03 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 8H), 3.97 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 3.02 – 2.94 (m, 4H), 2.10 (m, 4H), 1.58 (m, 4H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 162.22, 160.84, 140.16, 129.01, 128.96, 128.05, 114.89, 114.77, 49.10, 48.12, 32.13, 24.54.

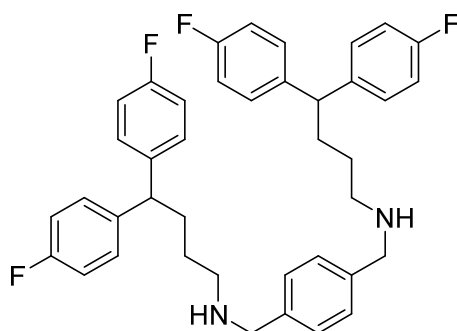
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.7.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 8.05 min,  $m/z$  ber. für  $C_{32}H_{32}F_4N$   $[M+H]^+$ : 506.25, gef.: 506.48.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{32}H_{32}F_4N$   $[M+H]^+$ : ber.: 506.2465, gef.: 506.2463.

**Ausbeute**: 2.4 mg; 0.00475 mmol; 13 %.

## Synthese von 94ad



**94ad**

Der Alkohol **48** (2 eq.; 0.763 mmol; 20.0 mg) wurde nach der generellen Methode G in das entsprechende Mesylat überführt.

Das Mesylats wurde in ACN (5 mL) gelöst und *p*-Xylylendiamin (1 eq.; 0.038 mmol; 5.2 mg) hinzugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei 80 °C gerührt und das Lösungsmittel entfernt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **94ad** (2.6 mg; 0.00416 mmol; 5 % über 2 Stufen) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.52 (s, 4H), 7.27 (m, 8H), 7.01 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 8H), 4.18 (s, 4H), 3.97 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 3.11 – 3.01 (m, 4H), 2.11 (q,  $J$  = 7.9 Hz, 4H), 1.64 (m, 4H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 163.63, 162.24, 141.54, 134.01, 131.70, 130.41, 130.36, 116.18, 51.70, 50.54, 33.63, 25.87.

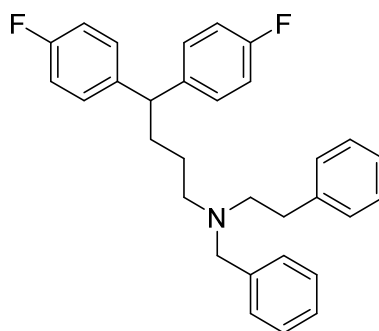
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.1.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.39 min,  $m/z$  ber. für  $C_{40}H_{41}F_4N_2$   $[M+H]^+$ : 625.32, gef.:625.18.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{40}H_{41}F_4N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 625.3200, gef.:625.3197.

**Ausbeute**: 2.6 mg; 0.00416 mmol; 5 % über 2 Stufen.

## Synthese von 94ae



**94ae**

**94y** (1 eq.; 6.9 mg; 0.019 mmol) wurde in ACN (4 mL) gelöst, mit einem Überschuss Benzylbromid (1 mL) versetzt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt (3.1 mg; 0.0068 mmol; 36 %) zu erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.56 – 7.50 (m, 3H), 7.47 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 7.34 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.30 (m, 5H), 7.17 – 7.14 (m, 2H), 7.05 (s, 4H), 7.01 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 4.47 – 4.34 (m, 2H), 4.02 – 3.97 (m, 1H), 3.29 – 3.23 (m, 3H), 3.05 – 2.92 (m, 2H), 2.11 – 2.04 (m, 2H), 1.71 (m, 2H), 1.38 – 1.27 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 163.66, 162.28, 141.47, 137.21, 132.00, 131.42, 130.68, 130.60, 130.45, 130.41, 130.07, 129.72, 128.46, 116.38, 116.26, 116.07, 115.95, 58.58, 54.78, 53.49, 50.29, 33.41, 30.73, 23.35.

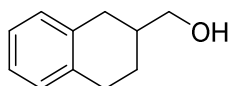
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f$  = 0.9.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.79 min,  $m/z$  ber. für  $C_{31}H_{32}F_2N$   $[M+H]^+$ : 456.25, gef.: 456.47.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{31}H_{32}F_2N$   $[M+H]^+$ : ber.: 456.2497, gef.: 456.2499.

**Ausbeute**: 3.1 mg; 0.0068 mmol; 36 %.

## Synthese von 97



**97**

Die Methylierung von 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphtoesäure (1 eq.; 1.42 mmol; 250 mg) wurde nach der generellen Methode D durchgeführt.

Das Zwischenprodukt wurde in Trocknen THF (10 mL) gelöst und es wurde bei 0 °C vorsichtig LiAlH<sub>4</sub> (3 eq.; 4.2 mmol; 162 mg) hinzu gegeben. Die sich bildende Suspension wurde für 1 h gerührt und die Reaktion durch Zugabe von H<sub>2</sub>O gestoppt. Die Suspension wurde über Celite 535 abfiltriert und dreimal mit EA extrahiert. Die Lösung wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Es war keine weitere Aufreinigung notwendig und das Produkt **97** (192.8 mg; 1.19 mmol) konnte in 85 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

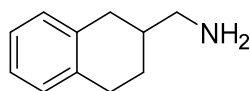
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.11 (d, *J* = 1.3 Hz, 4H), 3.64 (dd, *J* = 6.3, 2.2 Hz, 2H), 2.96 – 2.81 (m, 3H), 2.53 (dd, *J* = 16.6, 10.7 Hz, 1H), 2.06 – 1.94 (m, 2H), 1.89 (s, 1H), 1.52 – 1.39 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 136.85, 136.04, 129.33, 128.94, 125.72, 125.71, 67.77, 37.15, 32.51, 28.82, 26.01.

**HRMS (ESI)**: für C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>O [M+H]<sup>+</sup>: *m/z* ber.: 163.1117, gef.: 163.1130.

**Ausbeute**: 192.8 mg; 1.19 mmol; 85 % über 2 Stufen.

### Synthese von **98**



**98**

Der Alkohol **97** wurde nach der generellen Methode G mit einer Ansatzgröße von 1.19 mmol in ein Mesylat überführt.

Das Intermediat wurde mit 7 N NH<sub>3</sub> in MeOH versetzt und bei 0 °C über Nacht gerührt. Die Kühlung wurde entfernt und die Lösung für 1 h stehen gelassen, um überschüssiges Ammoniak entweichen zu lassen. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 9:1 → 3:1) aufgetrennt. Das Produkt (27.6 mg; 0.171 mmol) konnte in 14 % Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.03 (s, 4H), 2.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.66 (s, 4H), 1.54 – 1.38 (m, 1H), 1.32 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 136.94, 135.63, 130.07, 129.81, 127.06, 126.86, 45.67, 39.45, 34.38, 34.09, 29.22, 27.73.

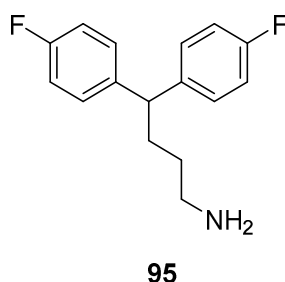
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.3$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 4.52$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{11}H_{16}N$   $[M+H]^+$ : 162.13, gef.: 161.94.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{11}H_{16}N$   $[M+H]^+$ : ber.: 162.1277, gef.: 162.1278.

**Ausbeute**: 27.6 mg; 0.171 mmol; 14 % über 2 Stufen.

### Synthese von **95**



Der Alkohol **48** wurde nach der generellen Methode G mit einer Ansatzgröße von 0.114 mmol in ein Mesylat überführt.

Das Zwischenprodukt wurde mit 7 N  $NH_3$  in MeOH versetzt und bei 0 °C über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 9:1  $\rightarrow$  3:1) aufgetrennt. Das Produkt **95** (19.4 mg; 0.074 mmol) konnte in 65 % Ausbeute über 2 Stufen isoliert werden.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.39 - 7.23$  (m, 4H), 7.01 (t,  $J = 8.0$  Hz, 4H), 3.99 (t,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 2.95 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 2.12 (q,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 1.60 (m, 2H).

**$^{13}C$ -NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta = 164.08, 161.66, 141.76, 130.49, 130.41, 116.26, 116.05, 50.55, 40.64, 35.53, 27.22$ .

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.1$ .

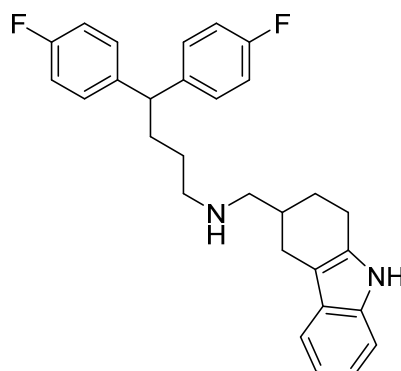
**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 5.86$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{16}H_{18}F_2N$   $[M+H]^+$ : 262.14, gef.: 262.06.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{16}H_{18}F_2N$   $[M+H]^+$ : ber.: 262.1402, gef.: 262.1405.

**Ausbeute**: 19.4 mg; 0.074 mmol; 65 % über 2 Stufen.

## 6.4.6 Synthese von Derivaten mit Substituenten am Tetrahydrocarbazol-Ringsystem

### Synthese von 99a



**99a**

Bei dieser Reaktion wurde die generelle Methode K mit einer Ansatzgröße von 0.023 mmol zusammen mit dem Reagenz Phenylhydrazin (2 eq.; 0.046 mmol; 4.4  $\mu$ L) verwendet. Nach Auftrennung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **99a** (7.7 mg; 0.0173 mmol; 75 %) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.35 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.32 – 7.26 (m, 4H), 7.24 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.02 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 5H), 6.95 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 4.00 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.08 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 4H), 2.93 (dd,  $J$  = 15.4, 5.2 Hz, 1H), 2.83 (s, 2H), 2.49 – 2.37 (m, 1H), 2.27 – 2.02 (m, 4H), 1.75 – 1.60 (m, 3H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 164.15, 161.73, 141.65, 137.94, 134.51, 130.47, 130.39, 128.64, 121.73, 119.51, 118.06, 116.34, 116.13, 111.58, 107.61, 54.02, 50.53, 33.90, 33.61, 28.08, 26.23, 25.83, 22.82.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.8.

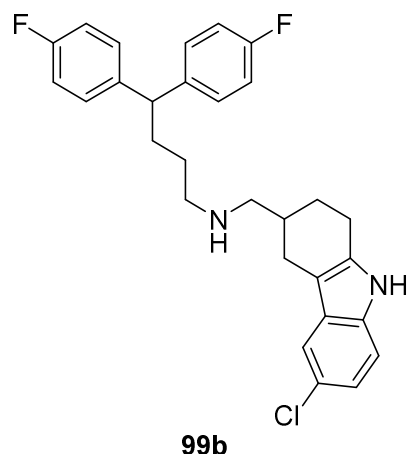
**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.28 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{F}_2\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 445.25, gef.: 445.36.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{F}_2\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 445.2450, gef.: 445.2451.

**Ausbeute**: 7.7 mg; 0.0173 mmol; 75 %.



## Synthese von **99b**



Die Reaktion wurde nach der generellen Methode K mit einer Ansatzgröße von 0.023 mmol und dem Reagenz 4-Chloro-phenylhydrazin (2 eq.; 0.046 mmol; 9 mg) durchgeführt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **99b** (9.1 mg; 0.019 mmol) in 83 % Ausbeute erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.30 (m, 5H), 7.20 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.01 (m, 5H), 4.00 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.13 – 3.04 (m, 4H), 2.88 (dd,  $J$  = 15.1, 4.6 Hz, 1H), 2.82 (s, 2H), 2.48 – 2.31 (m, 1H), 2.12 (m, 4H), 1.75 – 1.57 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 164.15, 161.73, 141.64, 136.55., 136.28, 130.47, 130.39, 129.77, 125.25, 121.68, 117.59, 116.34, 116.13, 112.69, 107.61, 53.92, 50.53, 33.77, 33.61, 27.93, 26.00, 25.84, 22.82.

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.6.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.57 min, ber.  $m/z$  für  $C_{29}H_{30}ClF_2N_2$   $[M+H]^+$ : 479.21, gef.: 479.45.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{29}H_{30}ClF_2N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 479.2060, gef.: 479.2066.

**Ausbeute**: 9.1 mg; 0.019 mmol; 83 %.



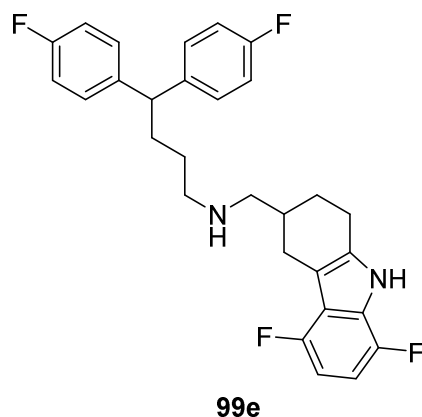
DC (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.5$ .

LC-MS (ESI):  $t_R = 7.72$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{29}H_{30}ClF_2N_2$   $[M+H]^+$ : 479.21, gef.: 479.43.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $C_{29}H_{30}ClF_2N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 479.2060, gef.: 479.2053.

Ausbeute: 3.7 mg; 0.0077 mmol; 34 %.

### Synthese von 99e



Zu einer Lösung aus **94c** (1 eq.; 0.025 mmol; 10.3 mg) in TFA/THF (1:3; 4 mL) wurde 2,5-Difluorophenylhydrazin (2 eq.; 0.050 mmol; 9 mg) gegeben und die Lösung für 3 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt zu erhalten.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta = 7.30$  (m, 4H), 7.02 (t,  $J = 8.7$  Hz, 4H), 6.70 – 6.62 (m, 1H), 6.56 – 6.49 (m, 1H), 4.00 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 3.17 – 3.03 (m, 5H), 2.87 – 2.80 (m, 2H), 2.58 (m, 1H), 2.26 – 2.04 (m, 4H), 1.73 – 1.59 (m, 3H).

**$^{13}C$ -NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta = 163.64, 162.26, 154.48, 153.13, 147.77, 146.41, 141.62, 135.91, 130.40, 116.30, 116.18, 107.13, 106.12, 106.07, 106.01, 105.96, 103.91, 103.87, 103.79, 103.74, 53.92, 50.52, 49.53, 33.84, 33.62, 27.61, 27.37, 25.84, 22.71$ .

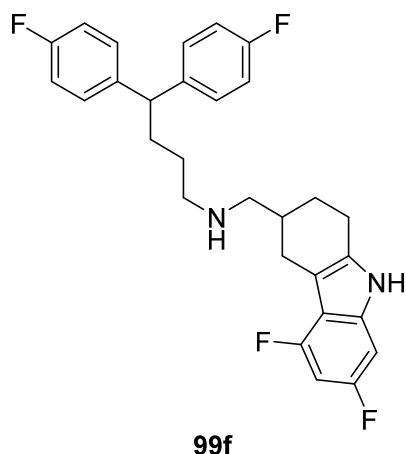
DC (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.6$ .

LC-MS (ESI):  $t_R = 7.56$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{29}H_{29}F_4N_2$   $[M+H]^+$ : 481.23, gef.: 481.40.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $C_{29}H_{29}F_4N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 481.2261, gef.: 481.2262.

Ausbeute: 1.6 mg; 0.0033 mmol; 13 %.

## Synthese von 99f



Zu einer Lösung aus **94c** (1 eq.; 0.025 mmol; 10.3 mg) in TFA/DCM (1:3; 4 mL) wurde 3,5- Difluorophenylhydrazin (2 eq.; 0.050 mmol; 9 mg) gegeben und die Lösung für 3 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels HPLC aufgereinigt, um das gewünschte Produkt in 27 % Ausbeute zu erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.30 (m, 4H), 7.02 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 4H), 6.79 (dd,  $J$  = 9.4, 2.0 Hz, 1H), 6.48 (m, 1H), 4.00 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 3.08 (m, 5H), 2.79 (s, 2H), 2.56 (dd,  $J$  = 15.5, 9.7 Hz, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.14 (q,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 2.06 (d,  $J$  = 13.4 Hz, 1H), 1.75 – 1.58 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 163.64, 162.26, 160.61, 160.54, 159.27, 159.20, 157.76, 157.68, 156.37, 156.29, 141.62, 139.49, 135.56, 135.06, 130.45, 116.30, 116.18, 106.02, 94.72, 94.59, 94.56, 94.42, 94.32, 94.30, 94.17, 94.15, 53.94, 50.52, 49.53, 33.87, 33.62, 27.68, 27.45, 25.83, 22.67.

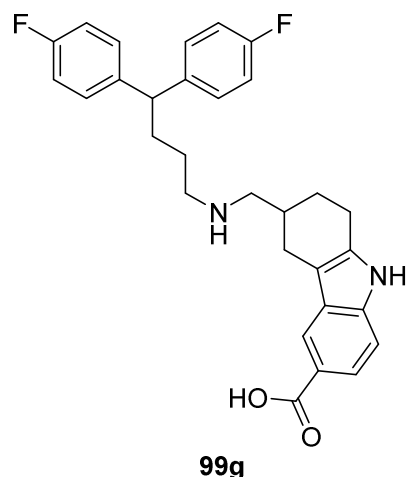
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.3.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.60 min,  $m/z$  ber. für  $C_{29}H_{29}F_4N_2$   $[M+H]^+$ : 481.23, gef.: 481.39.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{29}H_{29}F_4N_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 481.2261, gef.: 481.2257.

**Ausbeute**: 3.3 mg; 0.00687 mmol; 27 %.

## Synthese von 99g



**94c** (1 eq.; 0.419 mmol; 174 mg) wurde in THF/TFA (3:1; 4 mL) gelöst und 4-Hydrazinbenzoesäure (2 eq.; 0.838 mmol; 127 mg) wurde hinzu gegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 70 °C für 1 h gerührt, auf RT abgekühlt und bis zur Trockne eingedampft. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (70.2 mg; 0.144 mmol; 34 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD):  $\delta$  8.15 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1H), 7.76 (dd,  $J$  = 8.5, 1.6 Hz, 1H), 7.35 – 7.25 (m, 5H), 7.02 (m, 4H), 4.00 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.16 – 3.05 (m, 4H), 2.98 (dd,  $J$  = 15.0, 4.8 Hz, 1H), 2.85 (m, 2H), 2.47 (dd,  $J$  = 15.1, 9.5 Hz, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.13 (m, 3H), 1.76 – 1.64 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 171.67, 163.64, 162.25, 141.61, 140.80, 136.52, 130.45, 130.40, 128.30, 123.63, 121.80, 121.36, 116.30, 116.18, 111.21, 109.18, 53.91, 50.53, 49.49, 33.75, 33.62, 27.94, 25.96, 25.86, 22.76.

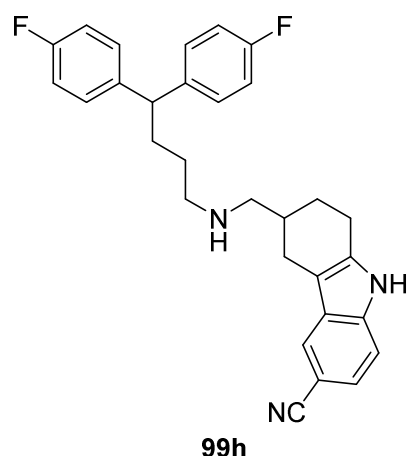
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f$  = 0.3.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.54 min,  $m/z$  ber. für  $C_{30}H_{31}F_2N_2O_2$   $[M+H]^+$ : 489.23, gef.: 489.29.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{30}H_{31}F_2N_2O_2$   $[M+H]^+$ : ber.: 489.2348, gef.: 489.2337.

**Ausbeute**: 70.2 mg; 0.144 mmol; 34 %.

## Synthese von 99h



**94c** (1 eq.; 0.062 mmol; 25.8 mg) wurde in THF/TFA (3:1; 4 mL) gelöst und 4-Cyanophenyl-hydrazin-hydrochlorid (3 eq.; 0.19 mmol; 32.2 mg) wurde hinzu gegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei 80 °C gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (14.7 mg; 0.031 mmol; 50 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.79 – 7.75 (m, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.35 – 7.26 (m, 5H), 7.02 (t, *J* = 8.7 Hz, 4H), 4.00 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.21 (m, 1H), 3.14 – 3.04 (m, 4H), 2.94 (dd, *J* = 15.3, 5.0 Hz, 1H), 2.86 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 2.43 (dd, *J* = 15.2, 9.6 Hz, 1H), 2.16 – 2.11 (m, 2H), 1.75 – 1.63 (m, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 164.15, 161.72, 141.65, 139.82, 137.83, 130.47, 130.39, 128.60, 124.78, 123.66, 122.10, 116.34, 116.13, 112.68, 108.96, 102.00, 53.84, 50.54, 49.50, 33.62, 27.76, 25.86, 25.80, 22.73, 9.19.

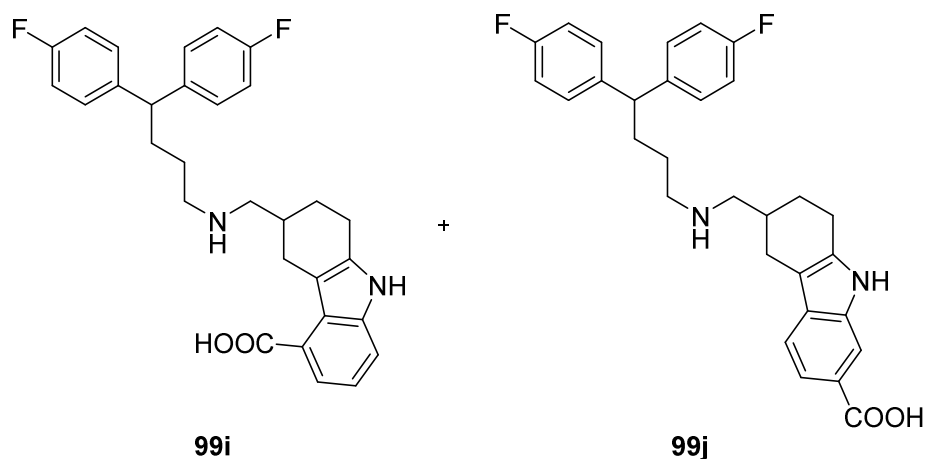
**DC** (DCM/MeOH = 9:1): R<sub>f</sub> = 0.4.

**LC-MS (ESI)**: t<sub>R</sub> = 7.06 min, *m/z* ber. für C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 470.24, gef.: 470.29.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 470.2402, gef.: 470.2415.

**Ausbeute**: 14.7 mg; 0.031 mmol; 50 %.

## Synthese von **99i** und **99j**



Eine Lösung von **94c** (1 eq.; 0.062 mmol; 25.8 mg) in TFA/ACN (1:3; 4 mL) wurde mit 3-Hydrazinbenzoesäure (3 eq.; 0.19 mmol; 27.3 mg) versetzt und über Nacht bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt. Es konnte eine Mischung aus den beiden Isomeren **99i** und **99j** (60:40 laut <sup>1</sup>H-NMR; 23.2 mg; 0.048 mmol; 77 %) erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.99 (s, 1H), 7.67 (dd,  $J$  = 8.3, 1.3 Hz, 1H), 7.62 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 7.47 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.40 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 7.28 (m, 4H), 7.09 – 7.04 (m, 1H), 7.01 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 4H), 4.04 – 3.92 (m, 1H), 3.19 (m, 1H), 3.12 – 3.00 (m, 4H), 2.87 (m, 2H), 2.62 (dd,  $J$  = 15.8, 9.8 Hz, 1H), 2.42 (dd,  $J$  = 15.0, 9.7 Hz, 1H), 2.16 – 2.08 (m, 3H), 1.67 (m, 2H), 1.38 – 1.23 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 172.14, 171.64, 164.11, 161.69, 141.64, 139.05, 137.72, 137.07, 132.33, 130.53, 130.37, 126.94, 123.52, 123.36, 121.14, 120.47, 117.61, 116.31, 116.10, 114.14, 108.57, 108.15, 53.89, 47.88, 34.18, 33.74, 29.72, 27.79, 26.06, 22.96, 9.16.

DC (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.4.

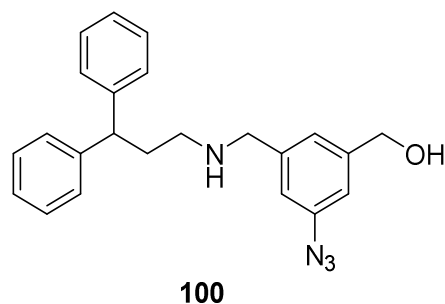
LC-MS (ESI):  $t_R$  = 6.69 min,  $m/z$  ber. für C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 489.23, gef.: 489.26.

HRMS (ESI):  $m/z$  für C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 489.2348, gef.: 489.2349.

Ausbeute: 23.2 mg; 0.048 mmol; 77 %.

## 6.4.7 Synthese von chemischen Sonden

### Synthese von 100



Eine Lösung aus **35** (1 eq.; 4.33 mmol; 775.7 mg) und  $\text{NEt}_3$  (1.5 eq.; 6.50 mmol; 901  $\mu\text{L}$ ) in THF (10 mL) wurde bei 0 °C mit  $\text{MsCl}$  (1.5 eq.; 6.50 mmol; 503  $\mu\text{L}$ ) versetzt und bei dieser Temperatur für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  gestoppt und die Lösung wurde dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und bis zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung für den nächsten Schritt verwendet.

Das Rohprodukt wurde in DCM (10 mL) gelöst und mit 3,3-Diphenylpropylamin (2 eq.; 13.0 mmol; 578  $\mu\text{L}$ ) versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (CH/EA = 5:1  $\rightarrow$  3:1  $\rightarrow$  2:1) aufgereinigt, um das Produkt (248 mg; 0.666 mmol; 31 % über 2 Stufen) zu erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.30 – 7.22 (m, 8H), 7.18 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 6.98 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.00 (s, 1H), 3.65 (s, 2H), 2.62 – 2.56 (m, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.26 (m, 2H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 144.69, 143.58, 142.24, 140.36, 128.58, 127.84, 126.33, 122.93, 117.63, 115.93, 64.25, 53.45, 49.16, 47.93, 35.65.

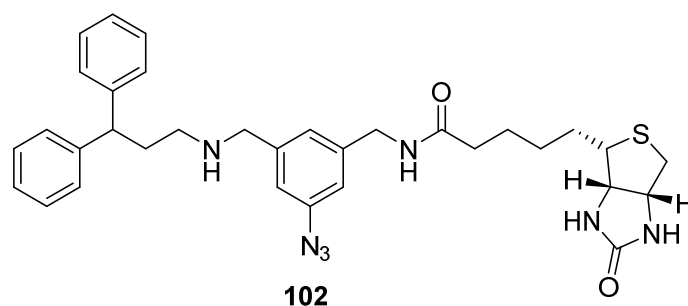
**DC** (EA/CH = 1:1):  $R_f$  = 0.2.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.15 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 373.20, gef.: 373.07.

**Ausbeute**: 248 mg; 0.666 mmol; 31 % über 2 Stufen.



## Synthese von 102



Zu einer Lösung von **100** (1 eq.; 0.269 mmol; 100 mg) und NEt<sub>3</sub> (3 eq.; 0.806 mmol; 112  $\mu$ L) in DCM (10 mL) wurde Boc<sub>2</sub>O (3 eq.; 0.806 mmol; 185  $\mu$ L) hinzu gegeben und die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt wurde über eine Kieselgelsäule (CH/EA = 19:1  $\rightarrow$  9:1  $\rightarrow$  5:1) aufgereinigt. Dabei konnte eine unbekannte Verunreinigung nicht abgetrennt werden und das Produktgemisch wurde ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Das Produktgemisch wurde in THF (5 mL) gelöst und bei 0 °C mit NEt<sub>3</sub> (2 eq.; 0.538 mmol; 75  $\mu$ L) und MsCl (1.5 eq.; 0.404 mmol; 31  $\mu$ L) versetzt. Die Lösung wurde für 2 h gerührt und die Reaktion wurde durch Zugabe von H<sub>2</sub>O gestoppt. Die Lösung wurde dreimal mit EA extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt benutzt.

Das Rohprodukt wurde bei 0 °C in 7 N NH<sub>3</sub> in MeOH gelöst und die Lösung wurde über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 9:1) aufgereinigt. Eine nicht identifizierbare Verunreinigung konnte nicht vom Produkt **101** abgetrennt werden und das Produktgemisch wurde ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Reaktion benutzt.

Die Kupplung zwischen dem Produktgemisch und Biotin (1.5 eq.; 0.404 mmol; 99 mg) erfolgte nach der generellen Methode A mit einer Reaktionszeit von 5 h. Das Rohprodukt wurde ohne Aufreinigung weiter verwendet.

Eine Lösung des Intermediats in 4 N HCl (4 mL) wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und nach Auftrennung über HPLC konnte das Produkt **102** (1.8 mg; 0.0030 mmol; 1 % über 5 Stufen) erhalten werden.

<sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 9.85 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 7.30 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 4H), 7.22 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 6H), 7.17 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.49 – 4.43 (m, 2H), 4.30 (d,

$J = 12.7$  Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 4.06 – 4.01 (m, 1H), 3.99 – 3.96 (m, 1H), 3.86 (s, 2H), 3.80 – 3.77 (m, 1H), 3.11 – 3.04 (m, 1H), 2.96 (s, 1H), 2.91 (m, 1H), 2.67 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H), 2.54 – 2.49 (m, 1H), 2.36 (m, 2H), 1.81 (s, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.52 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 1.37 (s, 1H), 1.32 (m, 1H).

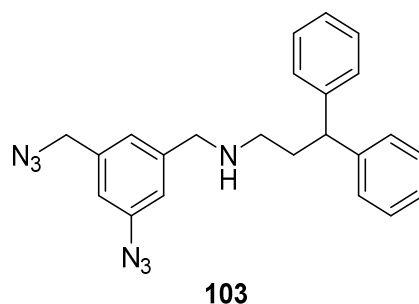
$^{13}\text{C}$  NMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.38, 164.08, 142.65, 142.51, 141.32, 140.91, 132.43, 128.87, 127.53, 127.46, 126.96, 126.90, 120.42, 119.45, 67.07, 62.35, 55.62, 51.73, 48.63, 47.24, 43.30, 40.84, 34.61, 31.47, 27.10, 26.81, 24.41.

LC-MS (ESI):  $t_R = 6.09$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 598.30, gef.: 598.25.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 598.2959, gef.: 598.2950.

Ausbeute: 1.8 mg (0.0030 mmol); 5 % über 4 Stufen.

### Synthese von 103



Zu einer Lösung aus **37** (1 eq.; 0.50 mmol; 140 mg) in DCM (7 mL) wurde ein großer Überschuss 3,3-Diphenylpropylamin (1 mL) gegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt und bis zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (CH/EA = 5:1  $\rightarrow$  2:1) voraufgereinigt und nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt **103** (33.5 mg; 0.084 mmol; 17 %) isoliert werden.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.23$  (d,  $J = 7.5$  Hz, 4H), 7.15 (m, 6H), 6.99 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.91 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 2.81 (s, 2H), 2.39 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 142.66$ , 142.07, 138.95, 132.64, 128.97, 127.56, 127.01, 125.42, 120.09, 119.45, 53.79, 50.61, 48.39, 45.66, 31.63.

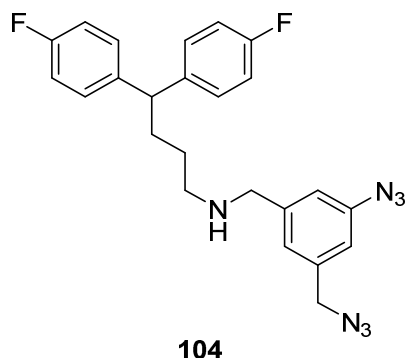
DC (EA/CH = 1:1):  $R_f = 0.4$ .

LC-MS (ESI):  $t_R = 6.88$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 398.21, gef.: 398.05.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 398.2088, gef.: 398.2098.

Ausbeute: 33.5 mg; 0.084 mmol; 17 %.

## Synthese von 104



Bei der Reaktion wurde zur Mesylierung die generelle Methode G mit dem Alkohol **48** (1 eq.; 0.0196 mmol; 5.1 mg) und zur Aminierung die generelle Methode H mit **32** (3 eq.; 0.0588 mmol; 11.9 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **104** (0.4 mg; 0.9  $\mu$ mol; 5 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 7.33 – 7.19 (m, 5H), 7.15 (d,  $J$  = 1.3 Hz, 1H), 7.06 – 6.95 (m, 5H), 4.57 (s, 3H), 4.38 (s, 1H), 4.11 (s, 1H), 3.00 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 2.17 – 2.04 (m, 2H), 1.77 – 1.57 (m, 2H).

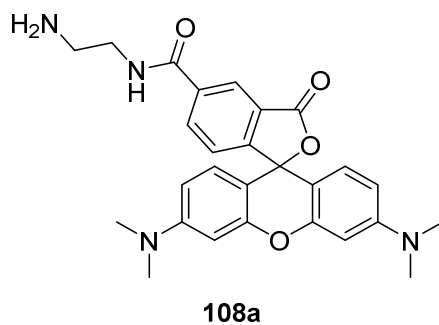
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.8.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 7.42 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 448.21, gef.: 448.14.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 448.2056, gef.: 448.2059.

**Ausbeute**: 0.4 mg; 0.9  $\mu$ mmol; 5 %.

## Synthese von 108a



Zu einer Lösung von 5(6)-Carboxy-tetramethylrhodamin (1 eq.; 0.093 mmol; 40 mg) und  $\text{NEt}_3$  (3 eq.; 0.28 mmol; 39  $\mu\text{L}$ ) in DCM (5 mL) wurden HOBt (3 eq.; 0.28 mmol; 38 mg) und EDC (3 eq.; 0.28 mmol; 53 mg) hinzu gegeben. Nach Rühren für 15 Minuten bei RT wurde die Lösung mit *N*-Boc-ethylendiamin (3 eq.; 0.28 mmol; 44.8 mg) versetzt, für 1 h bei RT gerührt und mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt.

Der Rückstand wurde in 4 N HCl in Dioxan (3 mL) aufgenommen und bei RT für 2 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über HPLC aufgereinigt. Das Produkt **108a** (34.5 mg; 0.073 mmol; 79 % über 2 Stufen) konnte isoliert werden.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, MeOD):  $\delta$  = 8.83 (d,  $J$  = 1.7 Hz, 1H), 8.31 (dd,  $J$  = 8.0, 1.8 Hz, 1H), 7.55 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.12 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 2H), 7.06 (m, 2H), 6.99 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 2H), 3.76 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 3.32 – 3.30 (m, 12H), 3.25 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz, MeOD):  $\delta$  = 167.31, 160.53, 159.09, 159.06, 158.99, 137.02, 132.90, 132.48, 132.02, 131.98, 131.85, 131.50, 115.57, 114.88, 114.70, 97.49, 40.93, 40.77, 38.92.

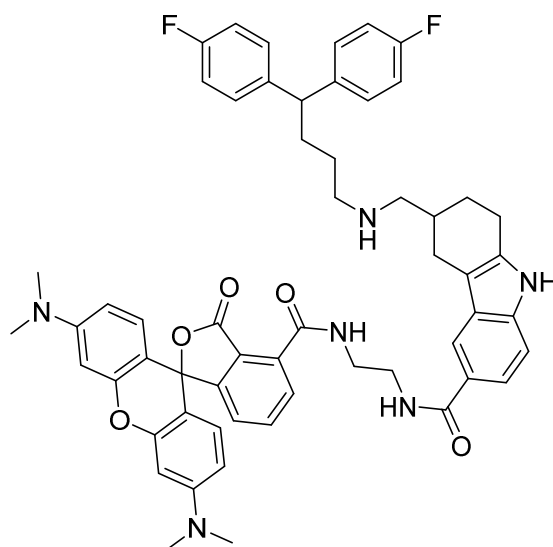
DC (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.1.

LC-MS (ESI):  $t_R$  = 4.31 min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 473.22, gef.: 473.41.

HRMS (ESI):  $m/z$  für  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 473.2183, gef.: 473.2178.

Ausbeute: 34.5 mg; 0.073 mmol; 79 % über 2 Stufen.

## Synthese von 105



**105**

Für diese Reaktion wurde die generelle Methode A mit der Carbonsäure **99g** (1 eq.; 0.014 mmol; 10.0 mg) und einer Reaktionszeit von 1 h benutzt, jedoch wurde nur ein leichter Überschuss **108a** (1.3 eq.; 0.018 mmol; 8.7 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das gewünschte Produkt (4.8 mg; 0.0051 mmol; 36 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD):  $\delta = 8.80$  (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 8.26 (m, 1H), 7.99 (d,  $J = 1.3$  Hz, 1H), 7.58 (m, 1H), 7.51 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.32 – 7.27 (m, 5H), 7.13 (d,  $J = 9.5$  Hz, 2H), 7.06 – 6.98 (m, 8H), 3.98 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 3.90 – 3.86 (m, 1H), 3.72 (m, 4H), 3.12 – 3.05 (m, 4H), 2.99 (m, 1H), 2.88 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 2.84 (s, 2H), 2.48 (m, 1H), 2.21 (s, 1H), 2.13 (m, 4H), 1.88 (m, 1H), 1.73 – 1.62 (m, 6H), 1.30 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.28 – 1.24 (m, 1H), 1.18 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta = 168.73, 163.61, 162.23, 158.98, 141.60, 139.92, 138.11, 137.63, 136.53, 132.19, 131.90, 131.36, 130.40, 128.40, 125.73, 120.95, 118.61, 116.31, 116.19, 115.53, 114.73, 111.34, 109.01, 101.39, 97.46, 83.91, 50.51, 49.53, 47.94, 45.49, 40.92, 39.43, 33.75, 33.60, 27.90, 26.08, 25.85, 22.78$ .

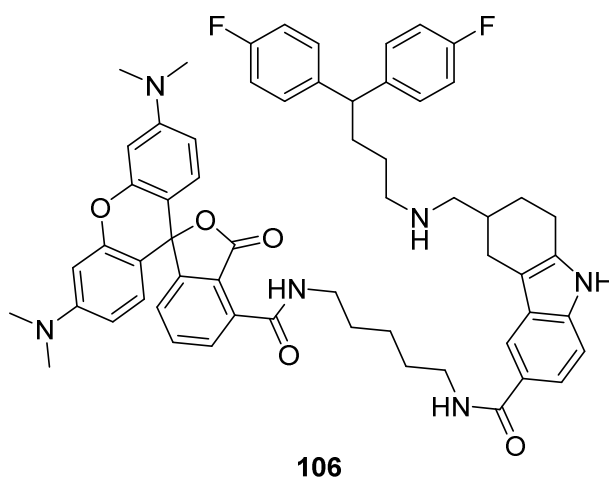
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.5$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 6.22$  min,  $m/z$  ber. für  $C_{57}H_{57}F_2N_6O_5$   $[M+H]^+$ : 943.44, gef.: 943.61.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{57}H_{57}F_2N_6O_5$   $[M+H]^+$ : ber.: 943.4353, gef.: 943.4339.

**Ausbeute**: 4.8 mg; 0.0051 mmol; 36 %.

## Synthese von 106



Bei der Reaktion wurde nach der generellen Methode A mit einer Reaktionszeit von 16 h vorgegangen. Allerdings wurden in diesem Fall 1 Äquivalent Amin (0.019 mmol; 10 mg) und

1.4 Äquivalente **99g** (0.026 mmol; 12.7 mg) eingesetzt. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **106** (3.4 mg; 0.0035 mmol; 18 %) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD):  $\delta$  = 8.77 (d,  $J$  = 1.7 Hz, 1H), 8.23 (m, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 1.3 Hz, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.48 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.33 – 7.25 (m, 5H), 7.12 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 2H), 7.08 – 6.96 (m, 8H), 4.00 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 3.50 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 3.45 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 3.21 (m, 1H), 3.09 (m, 4H), 2.97 (m, 1H), 2.83 (m, 2H), 2.66 (s, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.21 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 2.12 (m, 3H), 1.94 (s, 1H), 1.76 (m, 4H), 1.68 (m, 3H), 1.55 (m, 2H), 1.39 (m, 1H), 1.35 – 1.24 (m, 7H), 0.95 – 0.82 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (176 MHz, MeOD):  $\delta$  = 171.89, 168.17, 167.35, 163.62, 162.24, 160.69, 159.07, 158.99, 141.62, 139.82, 138.02, 137.85, 136.46, 132.84, 132.26, 131.92, 131.28, 130.45, 130.40, 128.39, 126.05, 120.81, 118.52, 116.31, 116.18, 115.56, 114.72, 111.29, 108.94, 97.46, 53.86, 50.54, 49.53, 47.94, 41.16, 40.93, 33.75, 33.61, 30.43, 30.18, 27.90, 26.07, 25.88, 25.49, 22.77, 9.21.

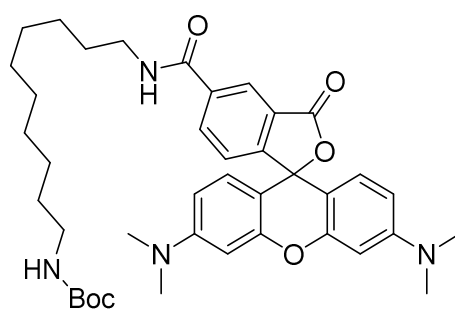
**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f$  = 0.5.

**LC-MS (ESI)**:  $t_R$  = 6.38 min,  $m/z$  ber. für  $C_{60}H_{63}F_2N_6O_5$   $[M+H]^+$ : 985.48, gef.: 985.62.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $C_{60}H_{63}F_2N_6O_5$   $[M+H]^+$ : ber.: 985.4823, gef.: 985.4805.

**Ausbeute**: 3.4 mg; 0.0035 mmol; 18 %.

### Synthese von **108b**



**108b**

Bei dieser Reaktion wurde die generelle Methode A mit der Carbonsäure 5(6)-Carboxy-tetramethylrhodamin (1 eq.; 0.086 mmol; 37.0 mg) und dem Amin 1-Boc-1,10-diaminodecan (3 eq.; 0.258 mmol; 70 mg), das zuvor aus 1,10-Diaminodecan und Boc<sub>2</sub>O hergestellt wurde, einer Reaktionsdauer von 16 h angewendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **108b** (28.8 mg; 0.042 mmol; 49 %) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.56 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.01 (s, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.72 – 6.60 (m, 4H), 3.53 – 3.41 (m, 1H), 3.33 (m, 1H), 3.16 (d, *J* = 6.2 Hz, 11H), 3.13 – 3.01 (m, 3H), 1.42 (m, 12H), 1.29 (m, 17H).

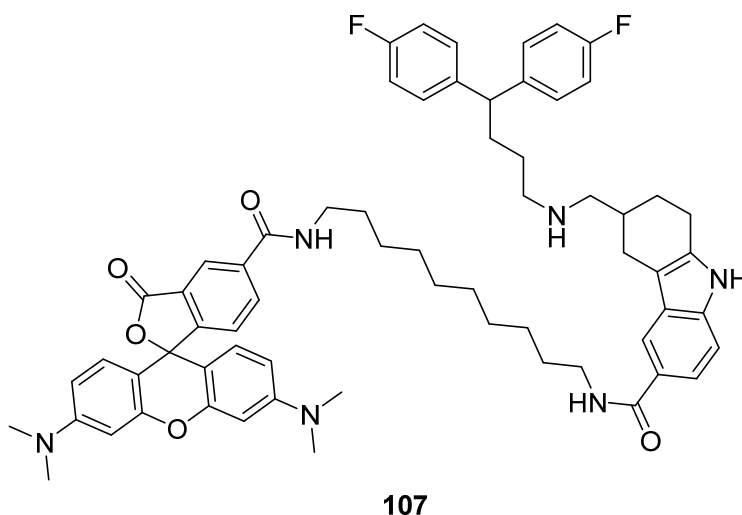
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 172.52, 166.39, 156.66, 156.16, 134.26, 131.41, 131.24, 131.06, 128.66, 127.92, 127.87, 112.98, 112.44, 112.30, 96.92, 40.79, 40.76, 40.72, 40.55, 30.14, 30.11, 29.81, 29.77, 29.58, 29.54, 29.51, 29.42, 29.37, 29.35, 29.32, 28.55, 27.15, 27.12.

**LC-MS (ESI)**: *t<sub>R</sub>* = 7.73 min, *m/z* ber. für C<sub>40</sub>H<sub>53</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 685.40, gef.: 685.39.

**HRMS (ESI)**: *m/z* für C<sub>40</sub>H<sub>53</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 685.3960, gef.: 685.3995.

**Ausbeute**: 28.8 mg; 0.042 mmol; 49 %.

### Synthese von 107



**108b** (1 eq.; 0.021 mmol; 14.4 mg) wurde in einer Mischung aus TFA und DCM (1:9; 2 mL) gelöst und für 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, das Produkt wurde am Hochvakuum getrocknet und ohne weitere Aufreinigung in der nächste Stufe benutzt.

Bei der Reaktion wurde die generelle Methode A mit einer Reaktionszeit von 16 h benutzt, jedoch wurden in dieser Reaktion 1 Äquivalent Amin (0.021 mmol; 12.3 mg) und 1.2 Äquivalente **99g** (0.026 mmol; 12.7 mg) verwendet. Nach Aufreinigung über HPLC konnte das Produkt **107** (6.2 mg; 0.0059 mmol; 28 % über 2 Stufen) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (700 MHz, MeOD): δ = 8.77 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.40 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.19 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 14.6 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.54 – 7.46 (m, 1H), 7.28 (m, 5H), 7.13 (m, 2H), 7.05 – 6.99 (m, 6H), 6.97 (m, 2H), 4.04 – 3.94 (m, 1H), 3.46 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.39 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.35 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H),

3.30 (m, 10H), 3.21 (m, 1H), 3.12 – 3.05 (m, 4H), 2.95 (m, 1H), 2.87 – 2.80 (m, 2H), 2.50 – 2.40 (m, 1H), 2.21 (s, 1H), 2.13 (m, 3H), 2.03 (s, 1H), 1.94 (s, 1H), 1.73 – 1.65 (m, 4H), 1.65 – 1.56 (m, 3H), 1.37 (d,  $J = 10.3$  Hz, 6H), 1.31 (m, 6H), 0.90 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (176 MHz, MeOD):  $\delta = 171.78, 171.67, 168.11, 167.86, 167.36, 167.34, 163.61, 162.23, 160.68, 160.58, 159.06, 158.97, 158.95, 141.62, 139.77, 139.58, 138.02, 137.89, 136.44, 135.55, 132.83, 132.25, 132.01, 131.93, 131.27, 130.45, 130.40, 130.27, 129.92, 128.35, 126.05, 126.01, 120.77, 118.44, 116.30, 116.18, 115.56, 115.53, 114.87, 114.73, 111.26, 108.93, 97.45, 53.87, 50.54, 49.53, 41.26, 41.07, 41.01, 40.92, 33.75, 33.61, 30.68, 30.61, 30.59, 30.44, 30.43, 30.40, 30.38, 30.30, 30.29, 30.26, 28.13, 28.09, 27.97, 27.96, 27.89, 26.08, 25.86, 22.77, 9.20.$

**DC** (DCM/MeOH = 9:1):  $R_f = 0.5$ .

**LC-MS (ESI)**:  $t_R = 7.01$  min,  $m/z$  ber. für  $\text{C}_{65}\text{H}_{73}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 1055.56, gef.: 1055.69.

**HRMS (ESI)**:  $m/z$  für  $\text{C}_{65}\text{H}_{73}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 1055.5605, gef.: 1055.5586.

**Ausbeute**: 6.2 mg; 0.0059 mmol; 28 % über 2 Stufen.



## 7. Literaturverzeichnis

- 1) Wetzel, S., Bon, R. S., Kumar, K. & Waldmann, H., Biology-Oriented Synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 10800-10826.
- 2) Speers, A.E. & Cravatt, B. F., Chemical Strategies for Activity-Based proteomics. *ChemBioChem.*, **2004**, *5*, 41-47.
- 3) Wilhelm M., Schlegl, J., Hahne, H., Gholami, A. M., Lieberenz, M., Savitski, M. S., Ziegler, E., Butzmann, L., Gessulat, S., Marx, H., Mathieson, T., Lemeer, S., Schnatbaum, K., Reimer, U., Wenschuh, H., Mollenhauer, M., Slotta-Huspenina, J., Boese, J.-H., Bantscheff, M., Gerstmair, A., Faerber, F. & Kuster, B., Mass-spectrometry-based draft of the human proteome, *Nature*, **2014**, *509*(7502), 582-587.
- 4) Kim, M.-S., Pinto, S. M., Getnet, D., Nirujogi, R. S., Manda, S. S., Chaerkady, R., Madugundu, A. K., Kelkar, D. S., Isserlin, R., Jain, S., Thomas, J. K., Muthusamy, B., Leal-Rojas, P., Kumar, P., Sahasrabudde, N. A., Balakrishnan, L., Advani, J., Geroge, B., Renuse, S., Selvan, L. D. N., Patil, A. H., Nanjappa, V., Radhakrishnan, A., Prasad, S., Subbaannayya, T., Raju, R., Kumar, M., Sreenicasamurthy, S. K., Marimuthu, A., Sathe, G. J., Chavan, S., Datta, K. K., Subbannayya, Y., Sahu, A., Yelamanchi, S. D., Jayaram, S., Rajagopalan, P., Sharma, J., Murthy, K. R., Syed, N., Goel, R., Khan, A. A., Ahmad, S., Dey, G., Mudgal, K., Chatterjee, A., Huang, T.-C., Zhong, J., Wu, X., Shaw, P. G., Freed, D., Zahari, M. S., Mukherjee, K. K., Shankar, S., Mahadevan, A., Lam, H., Mitchell, C. J., Shankar, S. K., Satishchandra, P., Schroeder, J. T., Sirdeshmukh, R., Maitra, A., Leach, S. D., Drake, C. G., Halushka, M. K., Keshava Prasad, T. S., Hruban, R. H., Kerr, C. L., Bader, G. D., Iacobuzio-Donahue, C. A., Gowda, H. & Pandey, A., A draft map of the human proteome, *Nature*, **2014**, *509*(7502), 575-581.
- 5) Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., Sivertsson, A., Kampf, C., Sjöstedt, E., Asplund, A., Olsson, I., Edlund, K., Lundberg, E., Navani, S., Szgyarto, C. A., Odeberg, J., Djureinovic, D., Takanen, J. O., Hober, S., Alm, T., Edqvist, P.-H., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., Rockberg, J., Nilsson, P., Schwenk, J. M., Hamsten, M., von Feilitzen, K., Forsberg, M., Persson, L., Johansson, F., Zwahlen, M., von Heijne, G., Nielsen, J. & Pontén, F., Tissue-based map of the human proteome, *Science*, **2015**, *347*(6220): 1260419.

- 6) Stockwell, B. R., Chemical genetics: Ligand-based discovery of gene function, *Nat. Rev. Genet.*, **2000**, *1*(2), 116-125.
- 7) Schreiber, S. L., Chemical Genetics Resulting from a Passion for Synthetic Organic Chemistry, *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, *6*, 1127-1152.
- 8) Stockwell, B. R., Exploring biology with small organic molecules, *Nature*, **2004**, 432(7019), 846-854.
- 9) Maier, M. E., Design and synthesis of analogues of natural products, *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, *13*, 5302-5343.
- 10) Terstappen, G. C., Schlüpen, C., Raggiaschi, R. & Gaviraghi, G., Target deconvolution strategies in drug discovery, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2007**, *6*(11), 891-903.
- 11) Altmann, K.-H., Chemical Tools from Biology-Oriented Synthesis, *Chem. & Biol.*, **2007**, 347-349.
- 12) Chin, Y.-W., Balunas, M. J., Chai, H. B. & Kinghorn, A.D., Drug Discovery From Natural Sources, *The AAPS Journal*, **2006**, *8*(2), 239-253.
- 13) Newman, D.J., Cragg, G. M. & Snader K. M., Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002, *J. Nat. Prod.*, **2003**, *66*, 1022-1037.
- 14) Butler, M., S., Natural Products to drugs: natural products derived compounds in clinical trials, *Nat. Prod. Rep.*, **2005**, *22*, 162-195.
- 15) Li, J. W.-H. & Vederas, J. C., Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier?, *Science*, **2009**, *325*, 161-165.
- 16) Paterson, I. & Anderson, E.A., The renaissance of Natural Products as Drug Candidates, *Science*, **2005**, *310*, 451-453.
- 17) Geysen, H. M., Schoenen, F., Wagner, D., Wagner & R., Combinatorial compound libraries for drug discovery: an ongoing challenge, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2003**, *2*, 222-230.

- 18) Meesters, C., Functional analysis of small bioactive modules in jasmonate signaling, Dissertation, Universität zu Köln, 2012.
- 19) McCourt, P. & Desveaux, D., Plant chemical genetics, *New Phytol.*, **2010**, *185*, 15-26.
- 20) Toth, R. & van der Hoorn, R. A. L., Emerging principles in plant chemical genetics, *Trends Plant Sci.*, **2010**, *15*(2), 81-88.
- 21) Meesters, C. & Kombrink, E., Screening of Bioactive Small Molecules by In Vivo Monitoring of Luciferase-Based Reporter Gene Expression in *Arabidopsis thaliana*, In: Plant Chemical Genomics: Methods and Protocols, herausgegeben von Hicks, G. R. & Robert, S., **2014**, Springer, New York Heidelberg Dordrecht London, S. 19ff.
- 22) Kidd, D., Liu, Y. & Cravatt, B. F., Profiling Serine Hydrolase Activities in Complex Proteomes, *Biochemistry*, **2001**, *40*, 4005-4015.
- 23) Speers, A. E. & Cravatt, B. F., Profiling Enzyme Activities In Vivo Using Click Chemistry Models, *Chem. & Biol.*, **2004**, *11*, 535-546.
- 24) Geurink, P. P., Prely, L. M., von der Marel, G. A., Bischoff, R. & Overkleeft, H. S., Photoaffinity Labeling in Activity-Based Protein Profiling, In: Activity-Based Protein Profiling, herausgegeben von Sieber, S. A., **2012**, Springer Verlag, New York Heidelberg Dordrecht London, S. 85ff.
- 25) Verhelst, S. H. L. & Bogoy, M., Chemical Proteomics Applied in Target Identification and Drug Discovery, 2005, *BioTechniques*, **2005**, *38*(2), 1-3.
- 26) Ursu, A. & Waldmann, H., Hide and seek: Identification and confirmation of small molecule protein targets, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2015**, *25*, 3079-3086.
- 27) Kalesh, K. A., Shi, H., Ge, J. & Yao, S. Q., The use of click chemistry in the emerging field of catalomics, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 1749-1762.
- 28) Jeffery, D. A. & Bogoy, M., Chemical proteomics and its application to drug discovery, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2003**, *14*(1), 87-95.

- 29) Rostovtsev, V.V., Green, L.G., Fokin, V.V. & Sharpless, K. B., A stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41(14), 2596–2599.
- 30) Yang, Y., Yang, X. & Verhelst, S. H. L., Comparative Analysis of Click Chemistry Mediated Activity-Based Protein Profiling in Cell Lysates, *Molecules*, **2013**, 18, 12599-12608.
- 31) Tornøe, C. W., Christensen, C. & Meldal, M., Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3057-3064.
- 32) Chan T. R., Hilgraf, R., Sharpless, K. B. & Fokin, V. V., Polytriazoles as Copper(I)-Stabilizing Ligands in Catalysis, *Org. Lett.*, **2004**, 6(17), 2853-2855.
- 33) Cavallier-Smith, T., A revised six-kingdom system of life, *Biol. Rev.*, **1998**, 73, 203-266.
- 34) Hicks, G. R. & Raikhel, N. V., Opportunities and challenges in plant chemical biology, *Nat. Chem. Biol.*, **2009**, 5(5), 268-272.
- 35) Carneiro, J. M. T., Chacón-Madrid, K., Maciel, B. C. M. & Zezzi, M. A., *Arabidopsis thaliana* and omics approaches: a review, *J. Int. OIMICS*, **2015**, 5(1), 1-16.
- 36) Meinke, D. W., Cherry, J. M., Dean, C., Rounsley, S. D. & Koornneef, M., *Arabidopsis thaliana*: A Model Plant for Genome Analysis, *Science*, **1998**, 282, 662-682.
- 37) Al-Shehbaz, I. A. & O'Kane Jr., S. L., Taxonomy and Phylogeny of *Arabidopsis* (Brassicaceae), *The Arabidopsis Book*, **2002**, e0001.
- 38) Somerville, C. & Koornneef, M., A fortunate choice: the history of *Arabidopsis* as a model plant, *Nat. Rev. Genet.*, **2002**, 3, 883-889.
- 39) Laibach, F., *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. als Objekt für genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen, *Bot. Archiv.*, **1943**, 44, 439–455.

- 40) Meyerowitz, E. M., Prehistory and History of Arabidopsis Research, *Plant Physiol.*, **2001**, *125*(1), 15-19.
- 41) Koenig, D. & Weigel, D., Beyond the thale: comparative genomics and genetics of *Arabidopsis* relatives, *Nat. Rev. Genet.*, **2015**, *16*, 285-298.
- 42) Nordborg, M. & Weigel, D., Next-generation genetics in plants, *Nature*, **2008**, *456*, 720-723.
- 43) The Arabidopsis Genome Initiative, Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*, *Nature*, **2000**, *408*(6814), 796-815.
- 44) Bennett, M. D., Leitch, I. J., Price, H. J., & Johnston, J. S., Comparisons with *Caenorhabditis* (~100 Mb) and *Drosophila* (~175 Mb) Using Flow Cytometry Show Genome Size in *Arabidopsis* to be ~157 Mb and thus 25% Larger than the Arabidopsis Genome Initiative Estimate of ~125 Mb, *Ann. Bot.*, **2003**, *91*(5), 547–557.
- 45) Mann, G. W., Joshi, H. J., Petzhold, C. J. & Heazlewood, J. L., Proteome coverage of the model plant *Arabidopsis thaliana*: Implications for shotgun proteomic studies, *J Proteomics*, **2013**, *79*, 195-199.
- 46) Swarbreck, D., Wilks, C., Lamesch, P., Berardini, T.Z., Garcia-Hernandez, M., Foerster, H., Li, D., Meyer, T., Muller, R., Ploetz, L., Radenbaugh, A., Singh, S., Swing, V., Tissier, C., Zhang, P. & Huala, E., The Arabidopsis Information Resource (TAIR): gene structure and function annotation, *Nucleic Acids Res.*, **2008**, *36*, 1009–14.
- 47) Blackwell, H. E. & Zhao, Y., Chemical Genetic Approaches to Plant Biology, *Plant Physiol.*, **2003**, *133*, 448-455.
- 48) Kombrink, E., Chemical and genetic exploration of jasmonate biosynthesis and signaling paths, *Planta*, **2012**, *236*, 1351-1366.
- 49) Halim, V. A., Vess, A., Scheel, D. & Rosahl, S., The Role of Sacylic Acid and Jasmonic Acid in Pathogen Defence, *Plant Biol.*, **2006**, *8*, 307-313.

- 50) Wasternack, C., Jasmonates: An Update on Biosynthesis, Signal Transduction and Action in Plant Stress Response, Growth and Development, *Ann. Botany*, **2007**, *100*, 681-697.
- 51) Demole, E., Lederer, E., Mercier, D., Isolement et détermination de la structure du jasmonate de méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jasmin., *Helv. Chim. Acta*, **1962**, *45*, 675-685.
- 52) Creelman, R. A. & Mullet, J. E., Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1995**, *92*(10), 4114-4119.
- 53) Sheard, L. B., Tan, X., Mao, H., Withers, J., Ben-Nissan, G., Hinds, T. R., Kobayashi, Y., Hsu, F.-F., Sharon, M., Browse, J., He, S. Y., Rizo, J., Howe, G. A. & Zheng, N., Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor, *Nature*, **2010**, *468*, 400-405.
- 54) Vick, B. A. & Zimmermann, D. C., Biosynthesis of Jasmonic Acid by Several Plant Species, *Plant Physiol.*, **1984**, *75*, 458-461.
- 55) Vick, B. A. & Zimmermann, D. C., Pathways of Fatty Acid Hydroperoxide Metabolism in Spinach Leaf Chloroplasts, *Plant Physiol.*, **1987**, *85*, 1073-1078.
- 56) Fonseca, S., Chini, A., Hamberg, M., Adie, B., Porzel, A., Kramell, R., Miersch, O., Wasternack, C. & Solano, R., (+)-7-*iso*-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate, *Nat. Chem. Biol.*, **2009**, *5*(5), 344-350.
- 57) Lyons, R., Manners, J. M. & Kazan, K., Jasmonate biosynthesis and signaling in monocots: a comparative overview, *Plant Cell. Rep.*, **2013**, *32*, 815-827.
- 58) Suza, W. P. & Staswick, P. E., The role of JAR1 in Jasmonoyl-L-isoleucine production during *Arabidopsis* wound response, *Planta*, **2008**, *227*, 1221-1232.
- 59) Santner, A. & Estelle, M., Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling, *Nature*, **2009**, *459*, 1071-1078.

- 60) Turner, J. G., Ellis, C. & Devoto, A., The Jasmonate Signal Pathway, *Plant Cell*, **2002**, 153-164.
- 61) Westfall, C. S., Muehler, A. M. & Jez, J. M., Enzyme Action in the Regulation of Plant Hormone Responses, *J. Biol. Chem.*, 2013, 288(27), 19304-19311.
- 62) Pauwels, L. & Gossens, A., The JAZ Proteins: A Crucial Interface in the Jasmonate Signaling Cascade, *The Plant Cell*, **2011**, 23, 3089-3100.
- 63) Karaman, M. W., Herrgard, S., Treiber, D. K., Gallant, P., Atteridge, C. E., Campbell, B. T., Chan, K. W., Ciceri, P., Davis, M. I., Edeen, P. T., Faraoni, R., Floyd, M., Hunt, J. P., Lockhart, D. J., Milanov, Z. V., Morrison, M. J., Pallares, G., Patel, H. K., Prichard, S., Wodicka, L. M. & Zarrinkar, P. P., A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity, *Nat. Biotechnol.*, **2008**, 26(1), 127-132.
- 64) Larsson, L.-I., Novel actions of tyrphostin AG879: inhibition of RAF-1 and HER-2 expression combined with strong antitumoral effects on breast cancer cells, *Cell. Moll. Life Sci.*, **2004**, 61, 2624-2631.
- 65) Rende, M., Pistilli, A., Stabile, A. M., Terenzi, A., Cattaneo, A., Ugolini, G. & Sanna, P., Role of nerve growth factor and its receptors in non-nervous cancer growth: efficacy of a tyrosine kinase inhibitor (AG879) and neutralizing antibodies antityrosine kinase receptor A and antinerve growth factor: an in-vitro and in-vivo study, *Anticancer Drugs*, **2006**, 17, 929-941.
- 66) Ugarkar, B. G., DaRe, J. M., Kopcho, J. J., Browne C. E., Schanzer, J. M., Wiesner J. B. & Erion, M. D., Adenosine Kinase Inhibitor. 1. Synthesis, Enzyme Inhibition, and Antiseizure Activity of 5-Iodotubercidin Analogues, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 2883-2893.
- 67) Zhang, X., Jia, D., Liu, H., Zhu, N., Zhang, W., Feng, J., Yin, J., Hao, B., Cui, D., Deng, Y., Xie, D., He, L. & Li, B., Identification of 5-Iodotubercidin as a Genotoxic Drug with Anti-Cancer Potential, *PLoS One*, **2013**, 8(5), e62527.

- 68) Massillon, D., Stalmans, W., van de Werve, G. & Bollen, M., Identification of the glycogenic compound 5-iodotubercidin as a general protein kinase inhibitor, *Biochem J.*, **1994**, *299*, 123-128.
- 69) Hayashi, K.-I., Kamio, S., Oono, Y., Townsend, L. B. & Nozaki, H., Toyocamycin specifically inhibits auxin signaling mediated by SCF<sup>TIR1</sup> pathway, *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 190-197.
- 70) Tolman, R. L., Robins, R. K. & Townsend, L. B., Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine Nucleoside Antibiotics. Total Synthesis and Structure of Toyocamycin, Unamycin B, Vengicide, Antibiotic E-212, and Sangivamycin (BA-90912), *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*(2), 524-526.
- 71) Cook, A. F. & Holman, M. J., Synthesis of the Natural Product 5'-Deoxy-5-iodotubercidin and Related Halogenated Analogs, *Nucleosides Nucleotides*, **1984**, *3*(4), 401-411.
- 72) Ugarkar, B. G., Castellino, A. J., DaRe, J. S., Ramirez-Weinhouse, M., Kopcho, J. J., Rosengren, S. & Erion, M. D., Adenosine Kinase Inhibitors. 3. Synthesis, SAR, and Antiinflammatory Activity of a Series of L-Lyxofuranosyl Nucleosides, *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 4750-4760.
- 73) Inokawa, S., Kitagawa, H., Seo, K., Yoshida, H. & Ogata, T., Sugars containing a carbon-phosphorus bond, *Carbohydr. Res.*, **1973**, *30*, 127-132.
- 74) Song, Y., Ding, H., Dou, Y., Yang, R., Sun, Q., Xiao, Q. & Ju, Y., Efficient and Practical Synthesis of 5'-Deoxytubercidin and Its Analogues via Vorbrüggen Glycosylation, *Synthesis*, **2011**, *9*, 1442-1446.
- 75) Niedballa, U. & Vorbrüggen, H., A General Synthesis of *N*-Glycosides. 6. On the Mechanism of the Stannic Chloride Catalyzed Silyl Hilbert-Johnson Reaction, *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*(12), 2084-2086.
- 76) Wendler, P., Ciniawsky, S., Kock, M. & Kube, S., Structure and function of the AAA+ nucleotide binding pocket, *Biochim Biophys Acta.*, **2012**, *1823*, 2-14.
- 77) Fröhlich, K.-U., An AAA family tree, *J. Cell Sci.*, **2001**, *114*(9), 601.



- 78) Snider, J., Thibault, G. & Houry, W. A., The AAA<sup>+</sup> superfamily of functionally diverse proteins, *Genome Biol.*, **2008**, 9(4), 216.
- 79) Hanson, P. I. & Whiteheart, S. W., AAA<sup>+</sup> proteins: have engine, will work, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2005**, 6(7), 519-529.
- 80) Grimm, I., Erdmann, R. & Girzalsky, W., Role of AAA<sup>+</sup>-proteins in peroxisome biogenesis and function, *Biochim. Biophys. Acta*, **2016**, 1863(5), 828-837.
- 81) Meyer, H., Bug, M. & Bremer, S., Emerging functions of the VCP/p97 AAA-ATPase in the ubiquitin system, *Nat. Cell Biol.*, **2012**, 14(2), 117-123.
- 82) Meyer, H., p97 complexes as signal integration hubs, *BMC Biol.*, **2012**, 10, 48.
- 83) Schubert, C. & Buchberger, A., UBX domain proteins: major regulators of the AAA ATPase Cdc48/p97, *Cell. Mol. Life Sci.*, **2008**, 65, 2360-2371.
- 84) Meyer, H. & Wiehl, C. C., The VCP/p97 system at a glance: connecting cellular function to disease pathogenesis, *J. Cell Sci.*, **2014**, 127, 3877-3883.
- 85) Chapman, E., Maksim, N., de la Cruz, F. & La Clair, J. J., Inhibitors of AAA<sup>+</sup> Chaperone p97, *Molecules*, **2015**, 20, 3027-3049.
- 86) Anderson, D. J., Moigne, R. L., Djakovic, S., Kumar, B., Rice, J., Wong, S., Wang, J., Yao, B., Valle, E., Kiss von Soly, S., Madriaga, A., Soriano, F., Menon, M.-K., Wu, Z. Y., Kampmann, M., Chen, Y., Weissmann, J. S., Aftab, B. T., Yakes, F. M., Shawver, L., Zhou, H.-J., Wustrow, D. & Rolfe, M., Targeting the AAA ATPase p97 as an Approach to Treat Cancer through Disruption of Protein Homeostasis, *Cancer Cell*, **2015**, 28(5), 653-665.
- 87) Chapman, E., Fry, A. N. & Kang, M. J., The complexities of p97 function in health and disease, *Mol. Biosyst.*, **2011**, 7(3), 700-710.
- 88) Valle, C. W., Min, T., Bodas, M., Mazur, S., Begum, S., Tang, D. & Vij, N., Critical Role of VCP/p97 in the Pathogenesis and Progression of Non-Small Cell Lung Carcinoma, *PLoS One*, **2011**, 6(12), e29073.

- 89) Adell, M. A. Y., Migliano, S. M. & Teis, D., ESCRT-III and Vps4: a dynamic multipurpose tool for membrane budding and scission, *FEBS J.*, **2016**, *in press*.
- 90) Monroe, N. & Hill, C. P., Meiotic Clade AAA ATPases: Protein Polymer Disassembly Machines, *J. Mol. Biol.*, **2016**, *428*(9 Pt B), 1897-1911.
- 91) Monroe, N., Han, H., Gonciarz, M. D., Eckert, D. M., Karren, M. A., Whitby, F. G., Sundquist, W. I. & Hill, C. P., The oligomeric state of the active Vps4 AAA ATPase, *J. Mol. Biol.*, **2014**, *426*(3), 510-525.
- 92) Schmidt, O. & Teis, D., The ESCRT machinery, *Curr. Biol.*, **2012**, *22*(4), R116-120.
- 93) Yang, B., Stjepanovic, G., Shen, Q., Martin, A. & Hurley, J. H., Vps4 disassembles an ESCRT-III filament by global unfolding and processive translocation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2015**, *22*(6), 492-498.
- 94) von Schwedler U. K., Stuchell, M., Müller, B., Ward, D. M., Chung, H. Y., Morita, E., Wang, H. E., Davis, T., He, G. P., Cimborra, D. M., Scott, A., Kräusslich, H. G., Kaplan, J., Morham, S. G. & Sundquist, W. I., The protein network of HIV budding, *Cell*, 2003, *114*(6), 701-713.
- 95) Strack, B., Calistri, A., Craig, S., Popova, E. & Gottlinger, H. G., AIP1/ALIX is a binding partner for HIV-1 p6 and EIAV p9 functioning in virus budding, *Cell*, **2003**, *114*(6), 689-699.
- 96) Chou, T.-F., Li, K., Frankowski, K. J., Schoenen, F. J. & Deshaies, R. J., Structure-Activity Relationship Study Reveals ML240 and ML241 as Potent and Selective Inhibitors of p97 ATPase, *ChemMedChem.*, **2013**, *8*(2), 297-312.
- 97) Chou, T.-F., Brown, S. J., Minond, D., Nordin, B. E., Li, K., Jones, A. C., Chase, P., Porubsky, P. R., Stoltz, B. M., Schoenen, F. J., Patricelli, M. P., Hodder, P., Rosen, H. & Deshaies, R. J., Reversible inhibitor of p97, DBE-Q, impairs both ubiquitin-dependent and autophagic protein clearance pathways, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **2011**, *108*(12), 4834-4839.

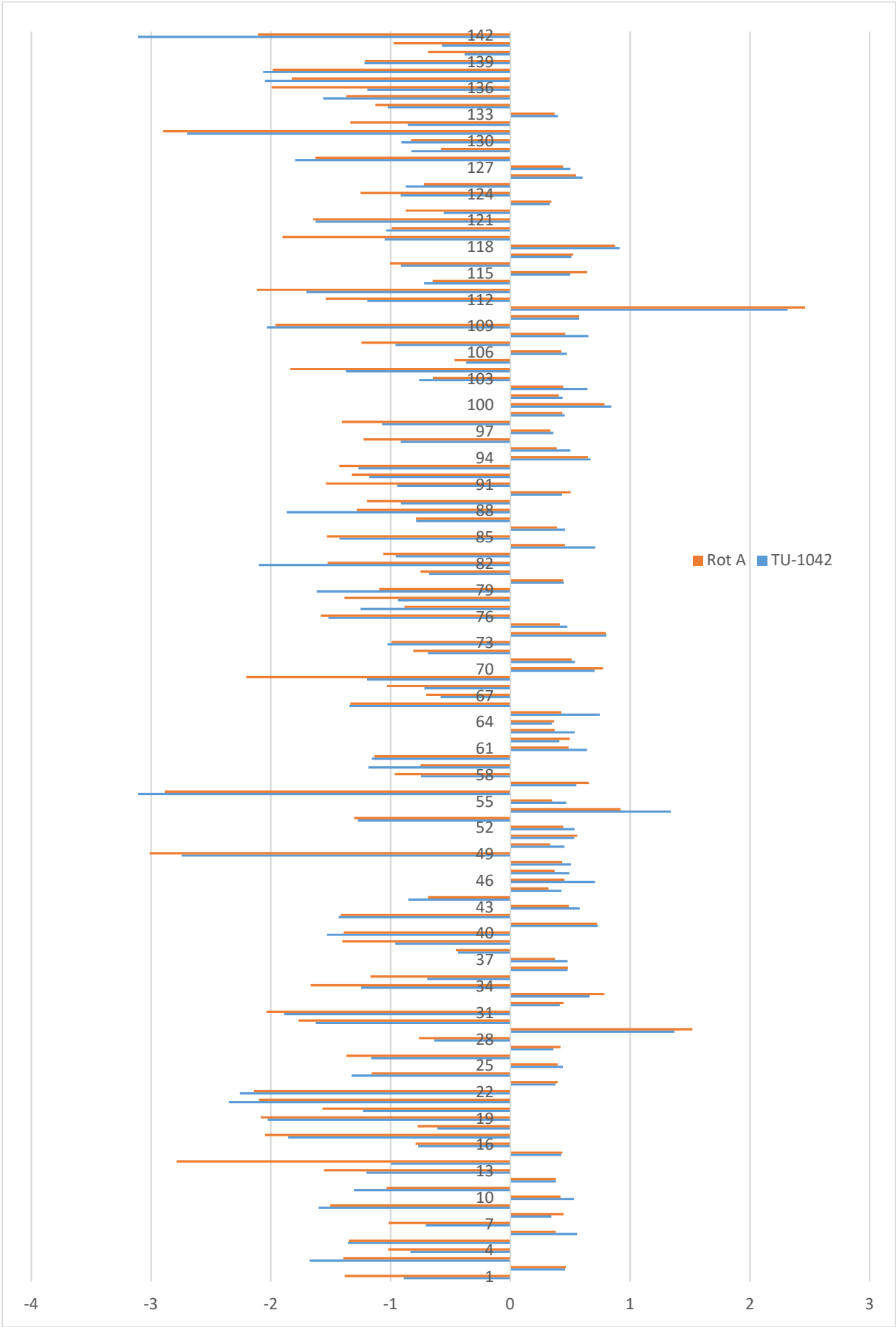
- 98) Magnaghi, P., D'Alessio, R., Valsasina, B., Avanzi, N., Rizzi, S., Asa, D., Gasparri, F., Cozzi, L., Cucchi, U., Orrenius, C. Polucci, P., Ballinari, D., Perrera, C., Leone, A., Cervi, G., Casale, E., Xiao, Y., Wong, C., Anderson, D. J., Galvani, A., Donati, D., O'Brien, T., Jackson, P. K. & Isacchi, A., Covalent and allosteric inhibitors of the ATPase VCP/p97 induce cancer cell death, *Nat. Chem. Biol.*, **2013**, 9(9), 548-556.
- 99) Zhang, Y., Li, W., Chu, W., Chen, H., Yu, H., Fang, C., Sun, N., Wang, Q., Luo, T., Luo, K., She, X., Zhang, M. & Yang, D., The AAA ATPase Vps4 Plays Important Roles in *Candida albicans* Hyphal Formation and is Inhibited by DBE1, *Mycopathologia*, **2016**, 181, 329-339.
- 100) Van den Bos, L. J., Codée, J. D. C., van der Toorn, J. C., Boltje, T. J., van Boom, J. H., Overkleeft, H. S. & van der Marel, G. A., Thioglycuronides: Synthesis and Application in the Assembly of Acidic Oligosaccharides, *Org. Lett.*, **2004**, 6(13), 2165-2168.
- 101) Thines, B., Katsir, L., Melotto, M., Niu, Y., Mandaokar, A., Liu, G., Nomura, K., He, S. Y., Howe, G. A. & Browse, J., JAZ repressor proteins are targets of the SCF<sup>COII</sup> complex during jasmonate signaling, *Nature*, **2007**, 448(7154), 661-665.
- 102) Jefferson, R. A., Assaying Chimeric Genes in Plants: The GUS Gene Fusion System, *Plant Mol. Biol. Report.*, **1987**, 5(4), 387-405
- 103) Zemplén, G. & Pacsu, E., Über die Verseifung acetylierter Zucker und verwandter Substanzen, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1929**, 62(6), 1613-1614.
- 104) Maryanoff, B. E., Costanzo, M. J., Nortey, S. O., Greco, M. N., Shank, R. P., Schupsky, J. J., Ortegón, M. P. & Vaught, J. L., Structure-Activity Studies on Anticonvulsant Sugar Sulfamates Related to Topiramate. Enhanced Potency with Cyclic Sulfate Derivatives, *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 1315-1343.
- 105) Cisar, J. S. & Tan, D. S., Small molecule inhibition of microbial natural product biosynthesis – an emerging antibiotic strategy, *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, 37, 1320-1329.
- 106) Alajarín, M., López-Leonardo, C. & Berná, J., New macrobicyclic triphosphazides and triphosphazenes formed by self-assembly of tripodal triazides with triphosphanes, *Tetrahedron*, **2006**, 62, 6190-6202.

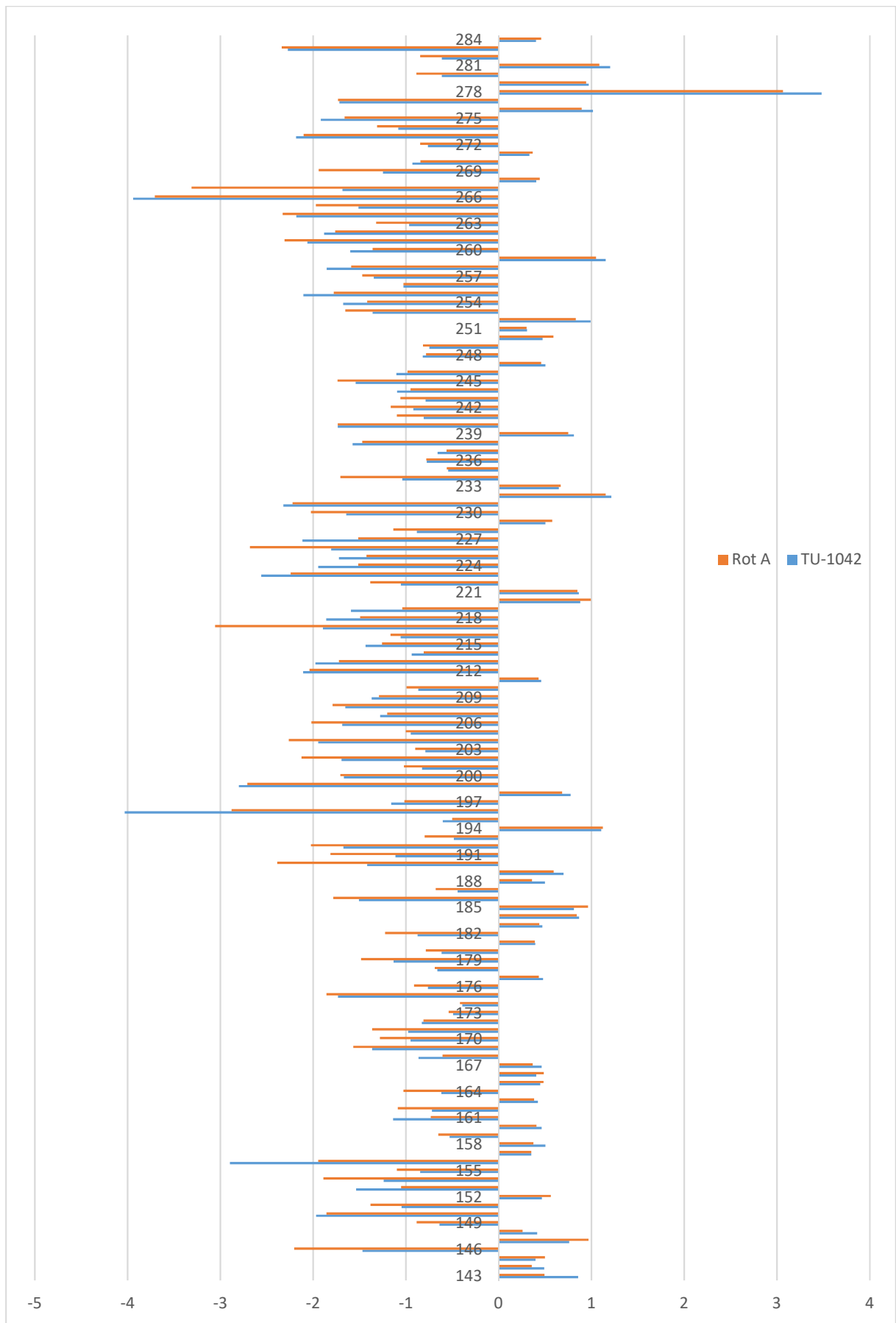
- 107) Hong, L., Lin, W., Zhang, F., Liu, R. & Zhou, X., Ln[N(SiMe<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-catalyzed cycloaddition of terminal alkynes to azides to 1,5-disubstituted 1,2,3-triazoles: new mechanistic features, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 5589-5591.
- 108) Klapötke, T. M., Krumm, B., Piotrowski, H., Polborn, K. & Holl, G., Synthesis and Structures of Trifluoromethyl-, Fluoro-, and Azido-Substituted Hexabenzylhexaazaisowurtzitanes and Isolation of a Novel Hexaazaisowurtzitane-Based Polycycle, *Chem. Eur. J.*, **2003**, 9(3), 687-694.
- 109) Hosoya, T., Hiramatsu, T., Ikemoto, T., Nakanishi, M., Aoyama, H., Hosoya, A., Iwata, T., Maruya, K., Endo, M. & Suzuki, M., Novel bifunctional probe for radioisotope-free photoaffinity labeling: compact structure comprised of photospecific ligand ligation and detectable tag anchoring units, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 637-641.
- 110) Hosoya, T., Hiramatsu, T., Ikemoto, T., Aoyama, H., Ohmae, T., Endo, M. & Suzuki, M., Design of dantrolene-derived probes for radioisotope-free photoaffinity labeling of proteins involved in the physiological Ca<sup>2+</sup> release from sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15(5), 1289-1294.
- 111) Neelarapu, R., Holzle, D. L., Velaparthi, S., Bai, H., Brunsteiner, M., Blond, S. Y. & Petukhov, P. A., Design, Synthesis, Docking, and Biological Evaluation of Novel Diazide-Containing Isoxazole- and Pyrazole-Based Histone Deacetylase Probes, *J. Med. Chem.*, **2011**, 54, 4350-4364.
- 112) Guerineau, F., Benjdia, M. & Zhou, D. X., A jasmonate-responsive element within *A. thaliana* vsp1 promoter, *J. Exp. Bot.*, **2003**, 54(385), 1153-1162.
- 113) Halder, V. & Kombrink, E., Facile high-throughput forward chemical genetic screening by *in situ* monitoring of glucuronidase-based reporter gene expression in *Arabidopsis thaliana*, *Front. Plant Sci.*, **2015**, 6: 13.
- 114) Staswick, P. E., Su, W. & Howell, S. H., Methyl jasmonate inhibition of root growth and induction of a leaf protein are decreased in an *Arabidopsis thaliana* mutant, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1992**, 89(15), 6837-6840.

- 115) Abramoff, M. D., Magelhaes, P. J. & Ram, S. J., Image processing with ImageJ, *Biophotonics International*, **2004**, *11*, 36-42.
- 116) Fukuchi, N., Furihata, K., Takayama, S. Isogai, A. & Suzuki, A., Rotihibin A, a Novel Plant Growth Regulator, from *Streptomyces* sp., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **1992**, *56*(5), 840-841.
- 117) Fukuchi, N., Furihata, K., Nakayama, J., Goudo, T., Takayama, S. Isogai, A. & Suzuki, A., Rotihibins, Novel Plant Growth Regulators from *Streptomyces graminofaciens*, *J. Antibiot.*, **1995**, *48*(9), 1004-1010.
- 118) Oeljeklaus, J., Development and chemical synthesis of natural product-derived as well as rationally designed small molecule probes for plant biology research, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, 2013.
- 119) Thelander, M., Olsson, T. & Ronne, H., Snf1-related protein kinase 1 is needed for growth in a normal day-night light cycle., *EMBO J.*, **2004**, *23*(8), 1900–1910.
- 120) Baena-González, E. & Sheen, J., Convergent energy and stress signaling, *Trends Plant. Sci.*, **2008**, *13*(9), 474-482.
- 121) Emanuelle, S., Hossain, M. I., Moller, I. E., Pedersen, H. L., van de Meene, A., M. L., Doblin, M. S., Koay, A., Oakhill, J. S., Scott, J. W., Willats, W. G. T., Kemp, B. E., Bacic, A., Gooley, P. R. & Stapleton, D. I., SnRK1 from *Arabidopsis thaliana* is an atypical AMPK, *Plant J.*, **2015**, *82*, 183-192.
- 122) Miyano, S., Tatsuoka, T., Suzuki, K., Imao, K., Satoh, F., Isihara, T., Hirotsu, I., Kihara, T., Hatta, M., Horikawa, Y. & Sumoto, K., The Synthesis and Antilipidperoxidation Activity of 4,4-Diarylbutylamines and 4,4-Diarylbutanamides, *Chem. Pharm. Bull.*, **1990**, *38*(6), 1570-1574.
- 123) Ng, H. P., May, K., Bauman, J. G., Ghannam, A., Islam, I., Liang, M., Horuk, R., Hesselgesser, J., Snider, R. M., Perez, H. D. & Morrissey, M. M., Discovery of Novel Non-Peptide CCR1 Receptor Antagonists, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4680-4694.

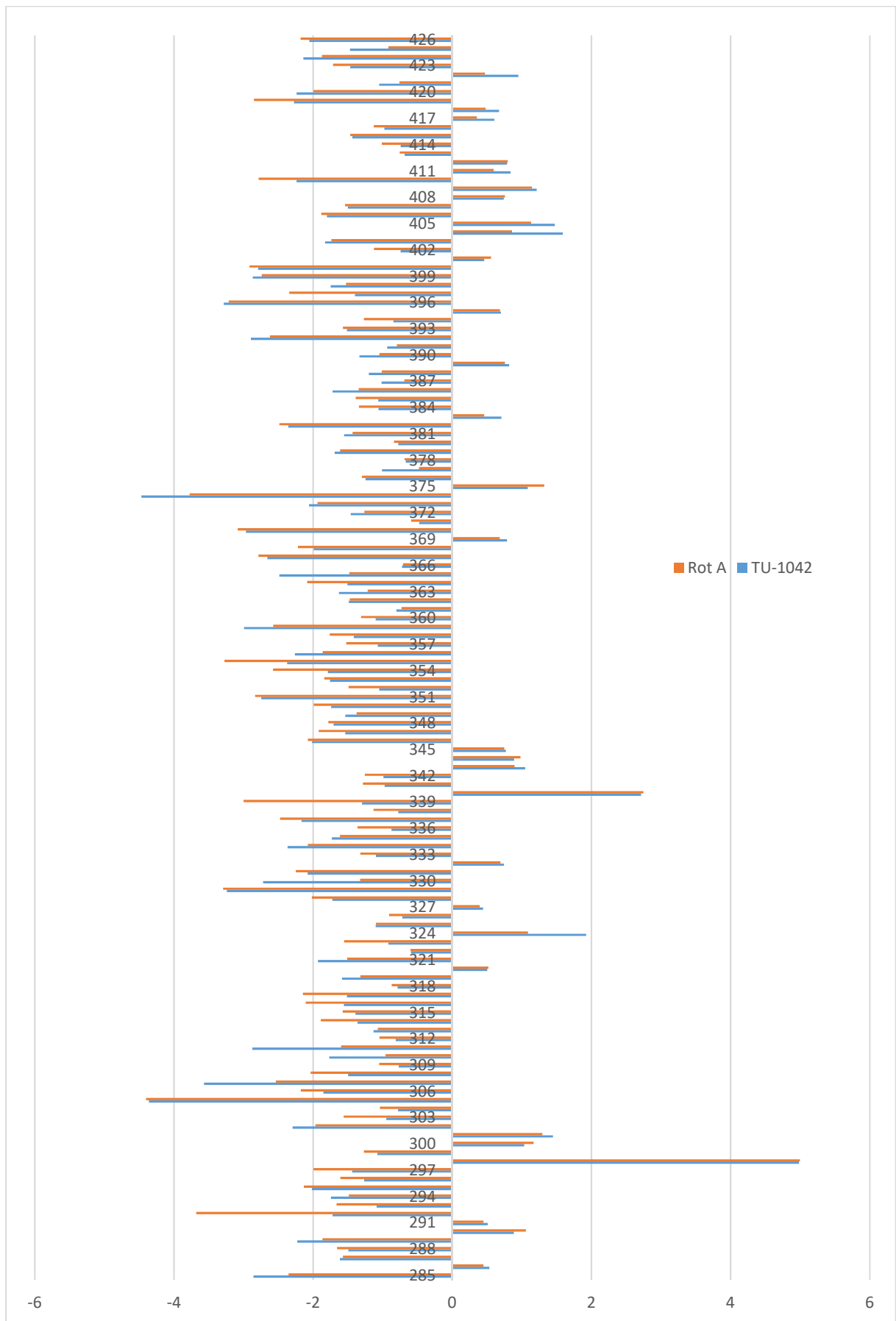
124) Neelapapu, R. & Petukhov, P. A., A one-pot selective synthesis of *N*-Boc protected secondary amines: tandem direct reductive amination/*N*-Boc protection, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 7056-7062.

# 8. Anhang









## 9. Danksagung

Zuerst möchte ich mich besonders bei meinem Betreuer und Mentor Prof. Markus Kaiser dafür bedanken, dass er mir die Promotion in einem spannenden interdisziplinären Gebiet zwischen Chemie und Biologie ermöglicht hat. Außerdem hatte er immer ein offenes Ohr für meine Fragen und sehr viele gute Anregungen, falls es mal ein Problem gab.

Ich möchte mich auch sehr bei der Erich Kombrink Gruppe, vor allem Christian Meesters und Dr. Mohamed Suliman, bedanken, die zusammen mit mir am Projekt 5-Iodotubercidin gearbeitet haben und die biologischen Untersuchungen durchgeführt haben.

Für die gute Kooperation im Projekt p97 bedanke ich mich sehr bei Robert Pöhler aus der AG Meyer. Für mich war dieses Projekt ein schönes Beispiel, wie Chemie und Biologie gut zusammen arbeiten können.

Bei Daniel Krahn möchte ich mich sehr herzlich bedanken für die vielen ertragreichen Gespräche und für sein außerordentlich geduldiges Beantworten der gefühlt 20.000 Fragen, die im Laufe meiner Promotionszeit immer wieder aufkamen. Von allen Kollegen habe ich von ihm am meisten gelernt.

Ebenso möchte ich mich bei Dr. Julian Oeljeklaus bedanken, der in seiner Laborzeit immer für eine gute Arbeitsatmosphäre gesorgt hat. Auch hat er mir in meiner Anfangszeit immer geduldig und ausführlich jede Frage beantwortet, die ich ihm gestellt habe, so dass ich auch von ihm viel gelernt habe.

Andreas Sprengel möchte ich danken für die sehr gute Zusammenarbeit im letzten Drittel meiner Promotionszeit.

Dem Rest der Arbeitsgruppe danke ich für die Unterstützung und Hilfe, die ich vor allem im ersten Jahr meiner Promotionszeit bekam.

Zuletzt möchte ich der AG Bayer dafür danken, dass mir direkter Zugang zu ihren NMR-Geräten gewährt wurde. So konnte ich an den vielen Abenden, wenn es mal wieder später wurde, noch NMR-Messungen starten und mit den Ergebnissen am nächsten Morgen direkt weiter arbeiten.

## 10. Eidesstattliche Erklärungen

### Erklärung:

Hiermit erkläre ich, gem. § 6 Abs. (2) f) der Promotionsordnung vom 04.02.2010 der Fakultäten für Biologie, Chemie und Mathematik zur Erlangung der Dr. rer. Nat., dass ich das Arbeitsgebiet, dem das Thema „Chemische Synthese von niedermolekularen Wirkstoffen zur Untersuchung des Jasmonsäure-Signalweges und zur Etablierung einer neuen Inhibitor-Klasse für die ATPase p97“ zuzuordnen ist, in Forschung und Lehre vertrete und den Antrag von Jan Henrik Krahn befürworte und die Betreuung auch im Falle eines Weggangs, wenn nicht wichtige Gründe dem entgegenstehen, weiterführen werde.

Essen, den \_\_\_\_\_

Unterschrift eines Mitglieds der Universität Duisburg-Essen

### Erklärung:

Hiermit erkläre ich, gem. § 7 Abs. (2) c) + e) der Promotionsordnung vom 04.02.2010 der Fakultäten für Biologie, Chemie und Mathematik zur Erlangung der Dr. rer. Nat., dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und mich keiner anderen als der angegebenen Hilfsmittel bedient habe.

Essen, den \_\_\_\_\_

Unterschrift des Doktoranden

### Erklärung:

Hiermit erkläre ich, gem. § 7 Abs. (2) d) + f) der Promotionsordnung vom 04.02.2010 der Fakultäten für Biologie, Chemie und Mathematik zur Erlangung der Dr. rer. Nat., dass ich keine anderen Promotionen bzw. Promotionsversuche in der Vergangenheit durchgeführt habe und dass diese Arbeit von keiner anderen Fakultät/Fachbereich abgelehnt worden ist.

Essen, den \_\_\_\_\_

Unterschrift des Doktoranden

## **Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.