



Synthese neuer Diaminoterephthalsäurederivate

Der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften
der Carl von Ossietzky-Universität Oldenburg
zur Erlangung des Grades und Titels einer Doktorin der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)
angenommene Dissertation

von

Nina Wache

geboren am 09.11.1984 in Nordenham

Juni 2012

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Anleitung von *Professor Dr. Jens Christoffers* von Juni 2009 bis Juni 2012 am Institut für Reine und Angewandte Chemie der Carl von Ossietzky-Universität Oldenburg angefertigt.

Gutachter: Professor Dr. Jens Christoffers

Zweitgutachter: Professor Dr. Jürgen Martens

Tag der Disputation: 20.07.2012

meiner Familie

Danksagung

Herrn *Professor Dr. Jens Christoffers* möchte ich für die interessante Themenstellung, das angenehme Arbeitsklima und die stets hilfsbereite Betreuung danken.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn *Professor Dr. Jürgen Martens* für die Übernahme des Zweitgutachtens und Herrn *Professor Dr. Karl-Wilhelm Koch* für das Mitwirken in der Prüfungskommission.

Den Mitarbeitern der zentralen Analytik möchte ich herzlich danken, da ohne sie die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Bedanken möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Arbeitskreises *Christoffers* für die freundliche, hilfsbereite und anregende Atmosphäre auch außerhalb des Labors: *Florian Behler, Matthias Bender, Verena Böttner, Francesco Fabretti, Pia Fangmann, Dr. Herbert Frey, Nicola Matthieu Mann, Miriam Penning, Birger Ruddigkeit, Marvin Schulz* und *Martina Würdemann*.

Auch allen früheren Mitarbeitern des Arbeitskreises gilt mein Dank, vor allem *Dr. Rebekka Sluiter, Dr. Heiko Schramm, Dr. Robert von Rönn, Dr. Sascha Norden* und *Dr. Thomas Muesmann*.

Meinen früheren Laborpartnern *Dr. Sascha Norden* und *Florian Behler*, sowie meinen Forschungspraktikanten *Till, Jennifer, Crispin* und *Jan* danke ich für die gute Arbeitsatmosphäre im Labor.

Der Arbeitsgruppe *Koch* danke ich für die freundliche Kooperation.

Mein Dank gilt außerdem allen aktuellen Doktoranden des Arbeitskreises für die Durchsicht dieser Arbeit.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden, die mich motiviert und auf andere Gedanken gebracht haben.

Inhaltsverzeichnis

I	Short Summary	1
II	Kurzzusammenfassung	4
1.	Einleitung	7
1.1	Fluoreszenzmarker für die Detektion von Thiolen	7
1.1.1	Physiologische Bedeutung von Thiolen	7
1.1.2	Marker mit Maleimiden als funktionelle Gruppen	9
1.1.2.1	Monomaleimid-Marker	9
1.1.2.2	Crosslinker	11
1.1.2.3	Der Quench-Prozess	13
1.2	2,5-Diaminoterephthalsäurederivate	15
1.3	Vorarbeiten im Arbeitskreis Christoffers	19
2.	Zielsetzung	24
3.	Durchführung	28
3.1	Syntheseplan der Terephthalsäurebausteine	28
3.1.1	Synthese der Succinylsuccinate	28
3.1.2	Optimierung der Ammonoylse	29
3.1.3	Einführung der Boc-Schutzgruppen	34
3.1.4	Einführung der Fmoc-Schutzgruppen	36
3.1.5	Abspaltung des Benzylesters	38
3.1.6	Selektive Monoverseifung	39
3.1.7	Kurze Zwischenzusammenfassung	40
3.1.8	Fluoreszenzeigenschaften der Terephthalsäurebausteine	42
3.2	Das Terephthalsäure-Oligomer	43

3.2.1	Kupplungsreaktion	44
3.2.2	Verseifungsversuche und Entfernen der Schutzgruppen	45
3.2.3	Fluoreszenz in Abhängigkeit vom pH-Wert	46
3.3	Festphasensynthese	48
3.3.1	Methodik und Analytik der Harze	50
3.3.2	Wahl des Linkers und Verknüpfung mit der festen Phase	51
3.3.3	Einführen des β -Alanin-Derivates an die feste Phase	53
3.3.4	Modellsysteme	54
3.3.5	Modellsystem I	55
3.3.6	Modellsystem II	57
3.3.7	Versuch mit einem Terephthalsäurebaustein	59
3.4	Synthese der Fluoreszenzmarker	60
3.4.1	Entwicklung der NiWa Blue-Farbstoffe	60
3.4.2	NiWa Blue in der Anwendung	65
3.4.3	Fluoreszenzlöschung beim NiWa Blue	70
3.4.4	Entwicklung von NiWa Orange	71
3.4.4.1	Darstellung vom Bis-Maleimid	71
3.4.4.2	Optimierungsversuche zur Synthese eines Bis-Maleimides	77
3.4.4.3	Entwicklung von weiteren NiWa Orange-Farbstoffen	84
3.4.5.1	NiWa Orange 46 in der Anwendung	89
3.4.5.2	NiWa Orange 94 und 98 in der Anwendung	93
3.5	Synthese von 2,3-Diaminoterephthalsäurederivaten	97
3.5.1	Darstellung von 2,6-Diaminoterephthalsäurederivaten	97
3.5.2	Die Synthese von 2,3-Diaminoterephthalsäurederivaten	98
3.5.3	Fluoreszenzeigenschaften von 2,3-Diaminoterephthalsäurederivaten	104
4.	Zusammenfassung und Ausblick	106

5.	Experimenteller Teil	113
5.1	Allgemeines	113
5.1.1	Analytik	113
5.1.2	Chromatographie	114
5.1.3	Arbeitstechnik	115
5.1.4	Chemikalien	115
5.2	Versuchsvorschriften	116
5.2.1	Synthese der Diaminoterephthalsäure-Bausteine	116
5.2.1.1	Bernsteinsäuredimethylester (52a)	116
5.2.1.2	Bernsteinsäuredibenzylester (52b)	117
5.2.1.3	Bernsteinsäurebenzylmethyldiester (52c)	118
5.2.1.4	Bernsteinsäuremonobenzylester (52d)	119
5.2.1.5	2,5-Dihydroxy-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäuredimethylester (17b)	120
5.2.1.6	2,5-Dihydroxy-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäure-1-benzylester-4-methylester (17d)	121
5.2.1.7	2,5-Dihydroxy-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäuredibenzylester (17e)	122
5.2.1.8	2,5-Diaminoterephthalsäuredimethylester (18b)	123
5.2.1.9	2,5-Diamino-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäure-1-benzylester-4-methylester (23c)	125
5.2.1.10	2,5-Diaminoterephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (18c)	126
5.2.1.11	2,5-Diamino-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäure-1,4-dibenzylester (23b)	127
5.2.1.12	2,5-Diaminoterephthalsäuredibenzylester (18d)	129
5.2.1.13	Die Umsetzung des Diaminodicarbonsäurebenzylmethyldiesters 18c mit Boc ₂ O	130
5.2.1.13.1	5-Amino-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (32b)	130
5.2.1.13.2	2-Amino-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (32a)	131

5.2.1.14	2-Amino-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)terephthalsäuredimethylester (32c)	132
5.2.1.15	2-Amino-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)terephthalsäuredibenzylester (32d)	134
5.2.1.16	2,5-Bis(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (56)	135
5.2.1.17	Umsetzung des Diaminodicarbonsäurebenzylmethyldiesters 18c mit Fmoc-O-Succinimid	136
5.2.1.17.1	5-Amino-2-[(9 <i>H</i> -fluoren-9-yl)carbonylamino]terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (55b)	137
5.2.1.17.2	2-Amino-5-[(9 <i>H</i> -fluoren-9-yl)carbonylamino]terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (55a)	138
5.2.1.18	5-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-2-[(9 <i>H</i> -fluoren-9-yl)carbonylamino]terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (51a)	139
5.2.1.19	5-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-2-[(9 <i>H</i> -fluoren-9-yl)carbonylamino]terephthalsäure-4-benzylester-1-methylester (51b)	140
5.2.1.20	Triethylammonium-[2,5-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-4-(methoxycarbonyl)benzoat] (39b)	141
5.2.1.21	2-Amino-4-(benzyloxycarbonyl)-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-benzoesäure (57b)	143
5.2.1.22	Triethylammonium-[2-amino-4-(benzyloxycarbonyl)-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)benzoat] (57c)	144
5.2.1.23	4-(Benzyloxycarbonyl)-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-2-[(9 <i>H</i> -fluoren-9-yl)methoxy]carbonylamino}benzoesäure (58b)	145
5.2.1.24	2-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-5-[(2,5-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-1-(methoxycarbonyl)]benzoyl}aminoterephthalsäuredimethylester (37)	147
5.2.1.25	2,5-Diamino- <i>N</i> -[2,5-diamino-4-(methoxycarbonyl)benzoyl]-terephthalsäuredimethylester (61)	148
5.2.2	Synthese der Modellsysteme für die Festphasensynthese	150
5.2.2.1	3-Aminopropansäuremethylester-Hydrochlorid (75)	150
5.2.2.2	3-(3,5-Dinitrobenzamido)propansäuremethylester (72a)	151
5.2.2.3	3-(3,5-Dinitrobenzamido)propansäure (74a)	152

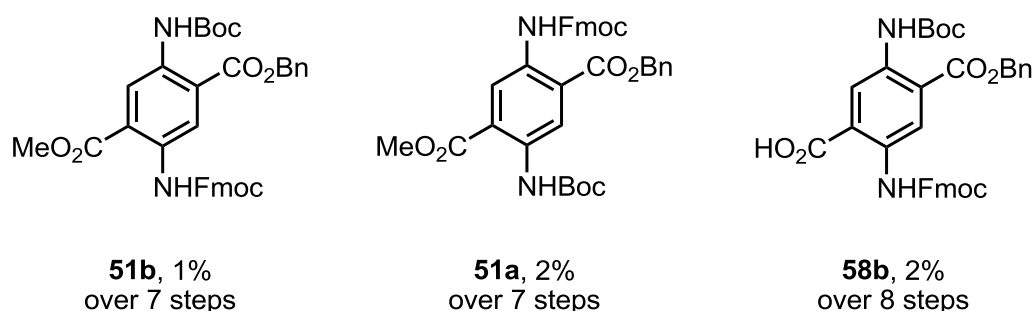
5.2.2.4	3-(2,2-Diphenylacetamido)propansäuremethylester (72b)	153
5.2.2.5	3-(2,2-Diphenylacetamido)propansäure (74b)	154
5.2.3	Synthese von Fluoreszenzmarker	155
5.2.3.1	2-(<i>N</i> - <i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)ethylamin (47a)	155
5.2.3.2	2-(<i>N</i> -Benzyloxycarbonylamino)ethylamin (47b)	156
5.2.3.3	2-(2,5-Dimethyl-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)- <i>N</i> -methylethanamin (90a)	157
5.2.3.4	2-[2-(Methylamino)ethyl]isoindolin-1,3-dion (90d)	158
5.2.3.5	<i>N</i> -(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)ethylcarbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (86)	159
5.2.3.6	[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)ethan ammonium]tri- fluoracetat (87)	160
5.2.3.7	Synthese der Verbindung 89a und des Enamins 88a	162
5.2.3.7.1	2,5-Bis(2- <i>tert</i> -butoxycarbonylamino)ethylaminoterephthalsäure- dimethylester (89a)	162
5.2.3.7.2	2,5-Bis(2- <i>tert</i> -butoxycarbonylamino)ethylamino-1,4-cyclohexadi- en-1,4-dicarbonsäuredimethylester (88a) (nicht isoliert)	164
5.2.3.8	Synthese der Cbz-geschützten Verbindung 89b und des Enamins 88b	164
5.2.3.8.1	2,5-Bis(2-benzyloxycarbonylamino)ethylaminoterephthalsäure- dimethylester (89b)	164
5.2.3.8.2	2,5-Bis(2-benzyloxycarbonylamino)ethylamino-1,4-cyclohexadi- en-1,4-dicarbonsäuredimethylester (88b) (nicht isoliert)	166
5.2.3.9	2,5-Bis(2-aminoethylamino)terephthalsäuredimethylester (93)	167
5.2.3.10	Umsetzung der Boc-Verbindung 89a mit TFA und Pivalinsäure- chlorid	168
5.2.3.10.1	2,5-Bis(2-pivalamidoethylamino)terephthalsäuredimethylester (89c)	169
5.2.3.10.2	[2,5-Bis(2-ammonioethylamino)terephthalsäuredimethylester]- trifluoracetat (97)	170
5.2.3.11	5-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> - pyrrol-1-yl)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (44a)	171
5.2.3.12	2-Acetamido-5-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)terephthal- säure-1,4-dimethylester (45)	172

5.2.3.13	2-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-5-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)terephthalsäuredibenzylester (44b)	174
5.2.3.14	2-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-5-(3-methyl-3-methoxycarbonyl-4-butanamid)terephthalsäuredimethylester (80)	175
5.2.3.15	2,5-Bis[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)ethylamino]-terephthalsäuredimethylester (46)	177
5.2.3.16	2-[2-(3-Acetoxy-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)ethylamino]-5-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)ethylamino]terephthalsäuredimethylester (94)	178
5.2.3.17	Umsetzung des Bismaleimids 46 mit Hexadecanthiol	180
5.2.3.17.1	2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-1-yl)ethylamino]-5-{2-[3-(hexadecylthio)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl]ethylamino}terephthalsäuredimethylester (98)	180
5.2.3.17.2	2,5-Bis[2-(3-hexadecylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)ethylamino]-terephthalsäuredimethylester (99)	182
5.2.3.18	2-(3-Benzylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-5-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (82)	183
5.2.3.19	2-Acetamido-5-(3-benzylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)terephthalsäuredimethylester (83)	185
5.2.3.20	2,5-Bis[2-(3-benzylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)ethylamino]-terephthalsäuredimethylester (100)	187
5.2.4	Synthese von 2,3-Diaminoterephthalaten	188
5.2.4.1	2,3-Dinitro- <i>p</i> -xylol (104a)	188
5.2.4.2	2,3-Dinitroterephthalsäure (105)	190
5.2.4.3	Bildung des 2,3-Dinitroterephthalsäuredimethylesters 107a und des Nebenproduktes 106	191
5.2.4.3.1	2,3-Dinitroterephthalsäuredimethylester (107a)	192
5.2.4.3.2	2-Chlor-3-nitroterephthalsäuredimethylester (106)	192
5.2.4.4	2,3-Dinitroterephthalsäuredibenzylester (107b)	193
5.2.4.5	2,3-Diaminoterephthalsäuredimethylester (109a)	194
5.2.4.6	2,3-Diaminoterephthalsäuredibenzylester (109b)	196
6.	Literaturverzeichnis	198

7.	Abkürzungsverzeichnis	204
8.	Veröffentlichungen	208
9.	Liste der synthetisierten Verbindungen	209
10.	Curriculum Vitae	213

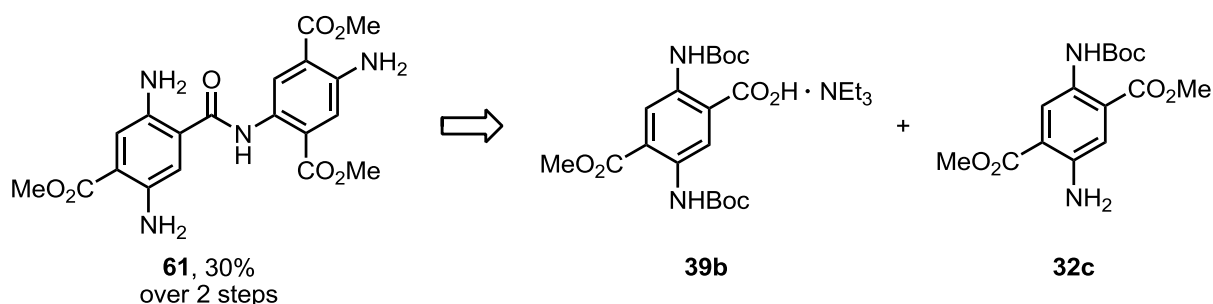
I Short Summary

In this dissertation, the terephthalate compounds **51b**, **51a** and **58b** (**Scheme I**) were synthesized from succinic anhydride. A threefold protected carboxylic acid was to be attached as a substrate molecule on the solid phase to improve the efficiency of a tetraamide synthesis. The combination of resin and linker, however, led to no result, regarding to carboxylic acid **58b** as well as two model systems.



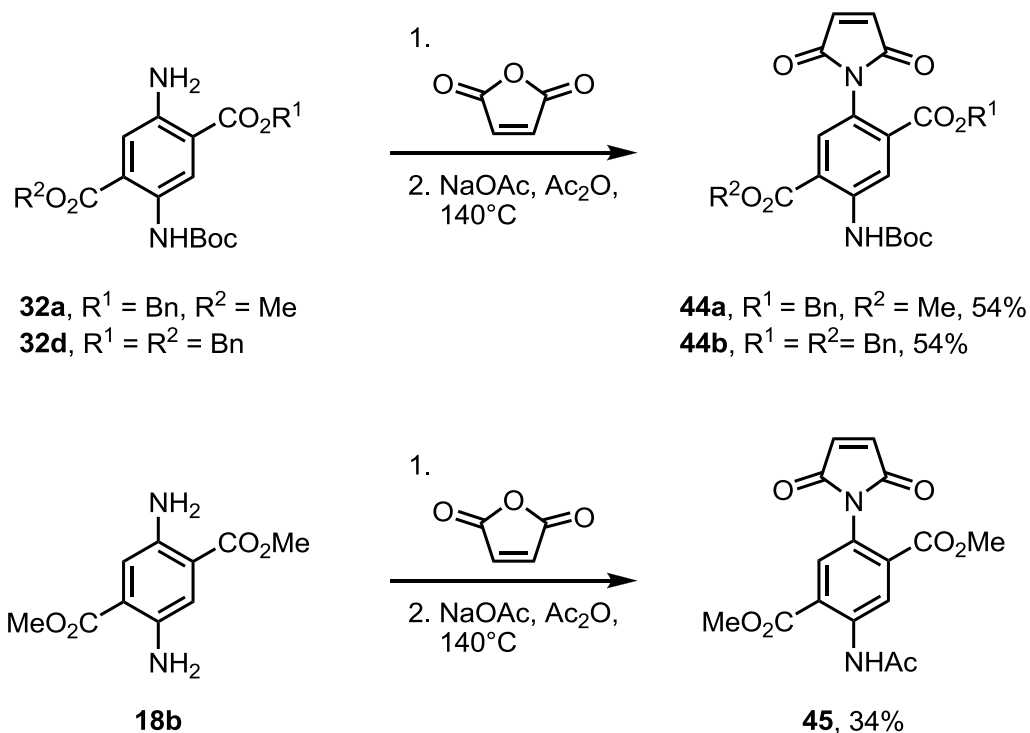
Scheme I: The three terephthalate compounds **51b**, **51a** and **58b**.

To test the pH-dependency of the fluorescence of terephthalate oligomers, the doubly protected salt **39b** and the symmetric Boc-methylester **32c** were coupled with DCC. The following removal of the Boc-protecting group formed the triamine **61** (**Scheme II**). The fluorescence measurements of the oligomer **61** showed a low pH-dependence of the absorption and emission.



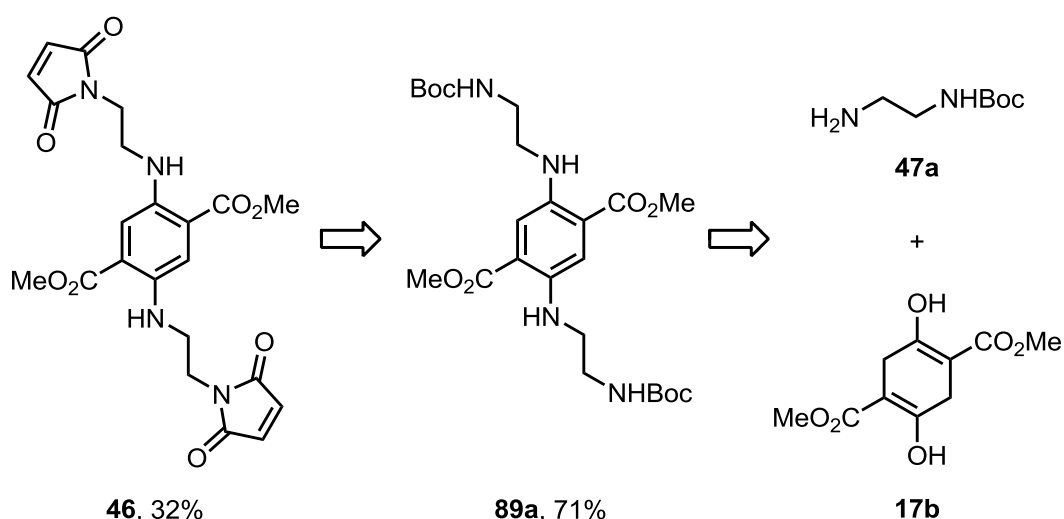
Scheme II: Retrosynthesis of the oligomer **61**.

The maleimide derivatives **44a**, **44b** and **45** were obtained from the respective amines. For that, maleic anhydride was first added to the amines **32a**, **32d** and **18b**. Then the intermediate was cyclized with NaOAc und Ac_2O (**Scheme III**). After addition of a thiol, the compounds showed fluorescence in the blue spectral area; therefore they were called NiWa Blue.



Scheme III: Synthesis of NiWa Blue compounds **44a**, **44b** and **45**.

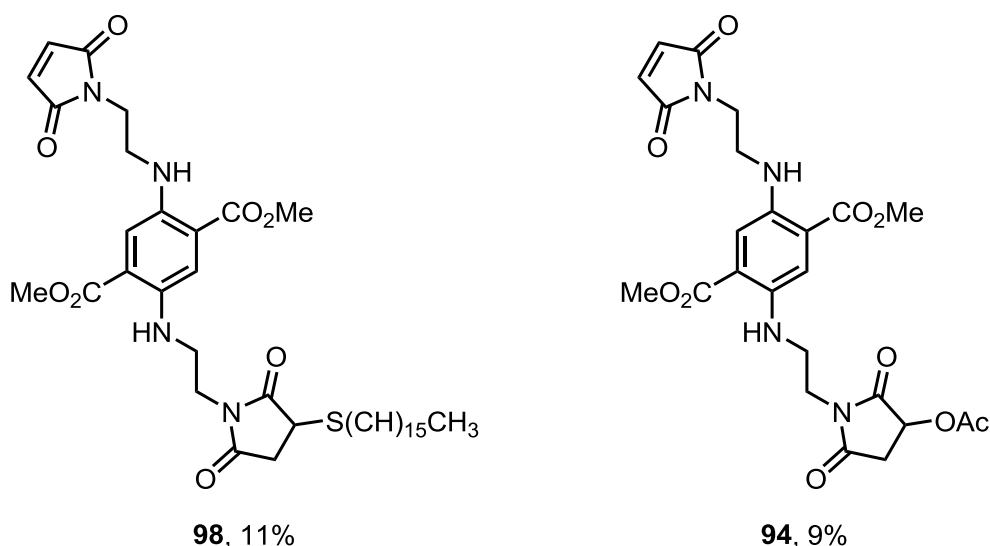
The NiWa Orange **46** was obtained in four steps. First, the *N*-Boc-ethylenediamin **47a** and the succinyl succinate **17b** were condensed and oxidized. After removing the Boc-protecting groups, the reaction with maleic anhydride led to the bis-maleimid **46** (**Scheme IV**), which emitted orange light after addition of two equivalents of thiol.



Scheme IV: Retrosynthesis of the bismaleimid **46**.

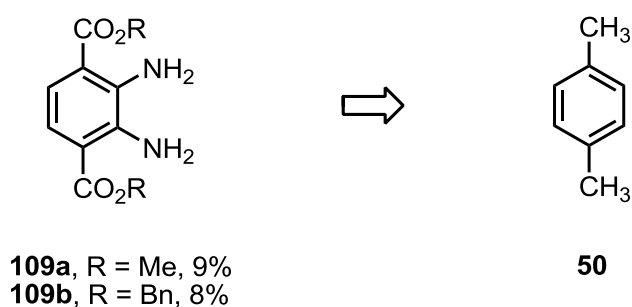
In order to establish whether the dyes emit light after addition of one equivalent of thiol, the compounds **94** and **98** were synthesized (**Scheme V**). The acetoxy-product

94 was obtained in 9% yield and the mono-addition product **98** was formed after addition of a hexadecanethiol-solution in 11% yield. The compounds **44a**, **45**, **46** and **94** were coupled to the Ca^{2+} -sensor protein recoverin, and fluorescence spectra were recorded. With the exception of **46**, FRET processes between tryptophan residues and the dye were detected, showing the Ca^{2+} -dependence of the conformational change of recoverin.



Scheme V: NiWa Orange **98** and **94**.

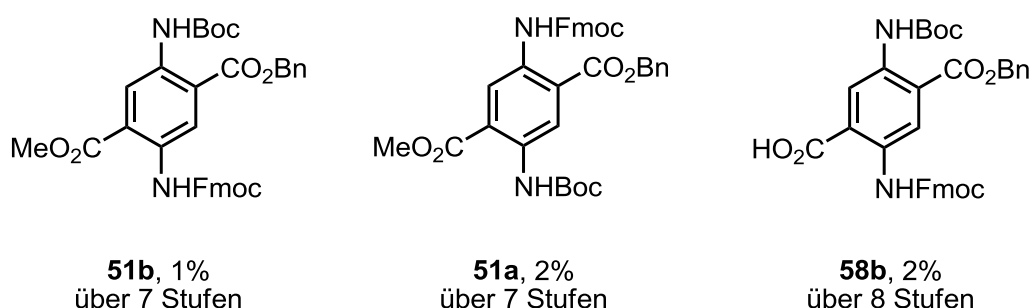
Furthermore, the 2,3-diaminoterephthalatediesters **109a** and **109b** were synthesized from *p*-xylene **50** in four steps (**Scheme VI**). In contrast to 2,5-diaminoterephthalate derivatives, the fluorescence wavelengths were found to be in the short-wave area.



Scheme VI: Retrosynthesis of the dimethyl 2,3-diaminoterephthalates **109a** and **109b**.

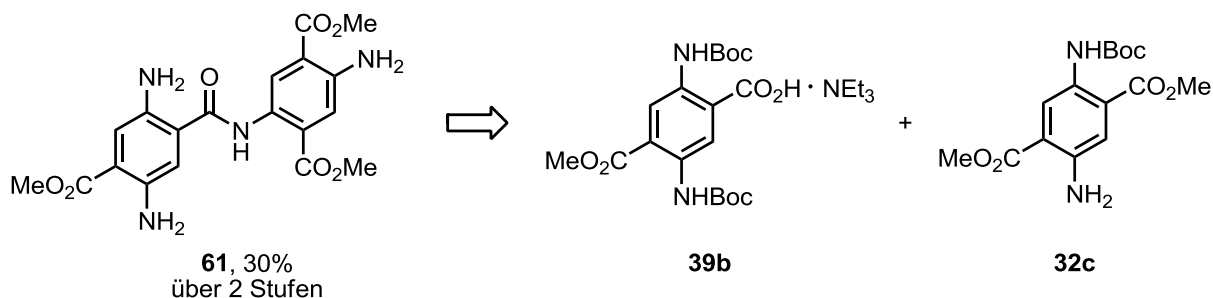
II Kurzzusammenfassung

In dieser Dissertation konnten u. a. die drei Terephthalsäurebausteine **51b**, **51a** und **58b** ausgehend vom Bernsteinsäureanhydrid synthetisiert werden (**Schema I**). Die dreifach geschützte Carbonsäure **58b** sollte als Substrat an die feste Phase gebracht werden, um die Effizienz einer Tetraamidsynthese zu verbessern. Die Kombination aus Harz und Linker führte allerdings bei zwei Modellsystemen und bei der Carbonsäure **58b** zu keinem Ergebnis.



Schema I: Die drei Terephthalsäurebausteine **51b**, **51a** und **58b**.

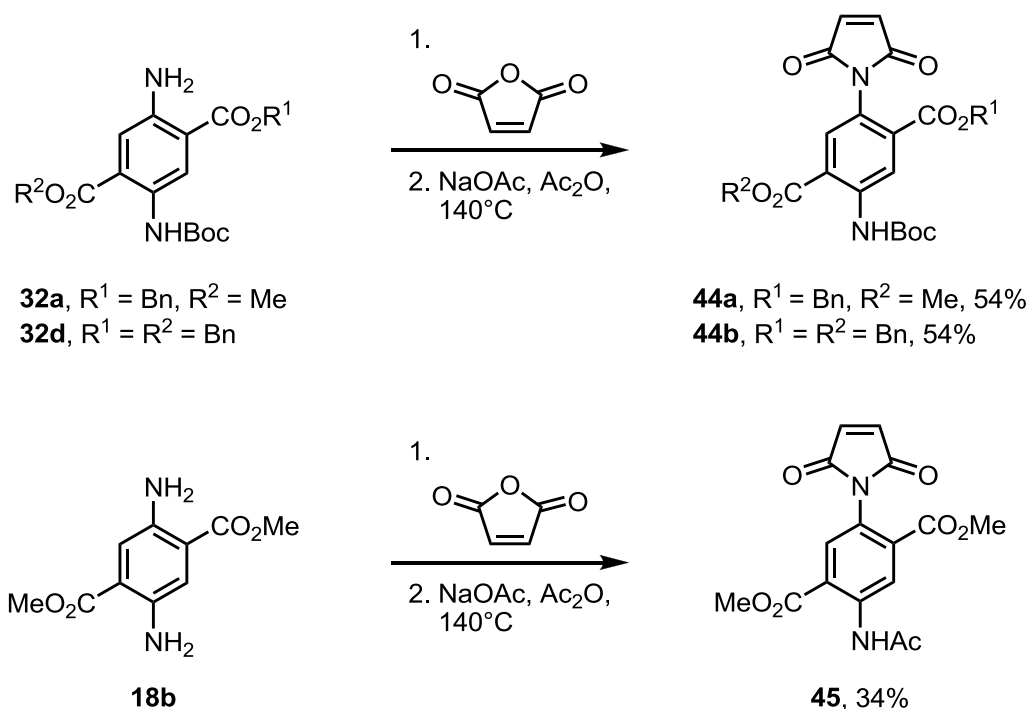
Um die pH-Abhängigkeit eines Terephthalsäureoligomers zu testen, wurde das zweifach geschützte Salz **39b** und der Boc-Methylester **32c** mit DCC gekuppelt. Die anschließende Entfernung der Boc-Schutzgruppe generierte das Triamin **61** (**Schema II**). Die Fluoreszenzmessungen des Oligomers **61** ergaben eine geringe pH-Abhängigkeit der Absorption und der Emission.



Schema II: Retrosynthese des Oligomers **61**.

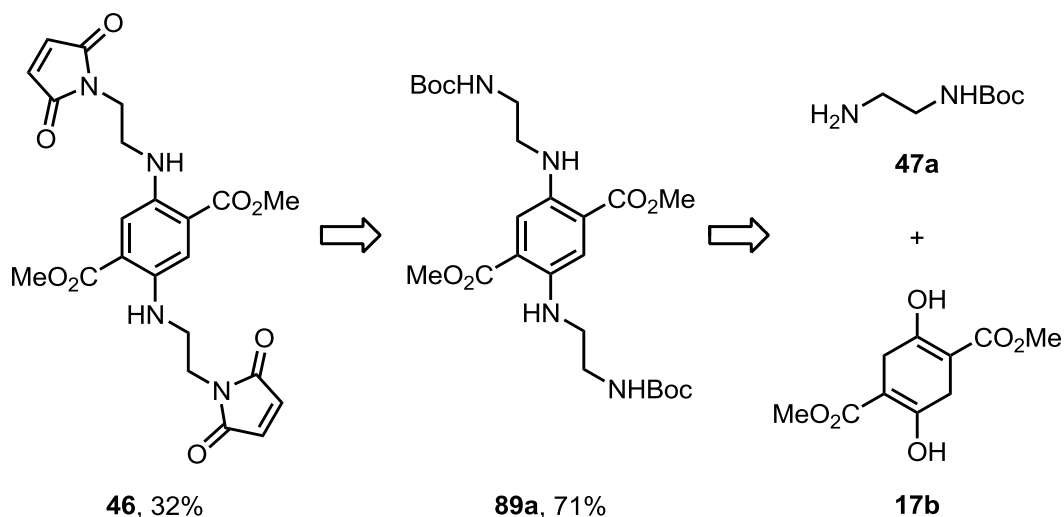
Die maleimidfunktionalisierten Derivate **44a**, **44b** und **45** konnten aus den jeweiligen Aminen hergestellt werden. Dazu wurden die Amine **32a**, **32d** und **18b** zunächst mit Maleinsäureanhydrid versetzt und anschließend mit NaOAc und Ac₂O cyclisiert

(**Schema III**). Nach Addition eines Thiols fluoreszieren diese Verbindungen im blauen Bereich, deshalb wurden diese Maleimide NiWa Blue genannt.



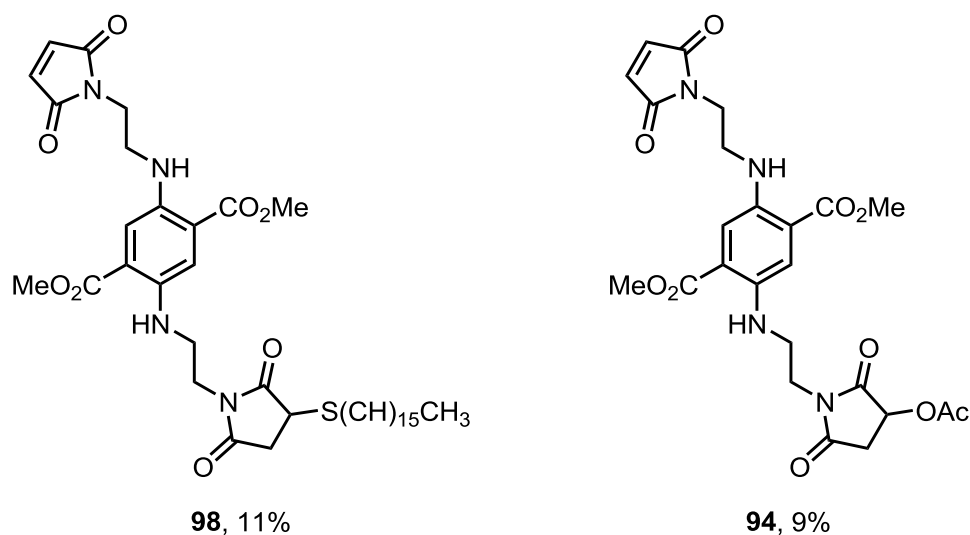
Schema III: Synthese der NiWa Blue-Verbindungen **44a**, **44b** und **45**.

Das NiWa Orange **46** konnte in vier Schritten erhalten werden. Zunächst wurde das Boc-*N*-Ethylendiamin **47a** und das Succinylsuccinat **17b** kondensiert und anschließend oxidiert. Nachdem die Boc-Schutzgruppe entfernt wurde, führte die Reaktion mit Maleinsäureanhydrid zum Bis-Maleimid **46** (**Schema IV**), welches erst bei Addition zweier Thiol-Äquivalente im orangenen Wellenlängenbereich emittiert.



Schema IV: Retrosynthese des Bismaleimid **46**.

Für die Herstellung eines Farbstoffes, welcher nach Addition nur eines Äquivalents Thiol fluoresziert, konnten die Verbindungen **94** und **98** isoliert werden. Das Acetoxy-Produkt **94** konnte als Nebenprodukt bei der Bis-Maleimidsynthese in 9% Ausbeute erhalten und das Mono-Additionsprodukt **98** konnte durch Zugabe einer Hexadecan-thiol-Lösung zur Verbindung **46** in 11% Ausbeute erhalten werden (**Schema V**). Die Verbindungen **44a**, **45**, **46** und **94** wurden an einem Ca^{2+} -bindenden Protein, dem Recoverin, geknüpft und deren Fluoreszenz gemessen. Mit Ausnahme von **46** gehen alle Verbindungen FRET-Prozesse mit einem Tryptophanrest des Recoverin ein, wodurch die Ca^{2+} -abhängige Konformationsänderung des Proteins gemessen werden konnte.



Schema V: NiWa Orange **98** und **94**.

Letztendlich konnten die 2,3-Diaminoterephthalsäurediester **109a** und **109b** aus *p*-Xylol **50** in 4 Stufen synthetisiert werden (**Schema VI**). Die Fluoreszenzwellenlängen dieser Verbindungen befinden sich im Vergleich zum 2,5-Diaminoderivat im kurzwelligeren Bereich.



Schema VI: Retrosynthese der 2,3-Diaminodimethylester **109a** und **109b**

1. Einleitung

1.1 Fluoreszenzmarker für die Detektion von Thiolen

1.1.1 Physiologische Bedeutung von Thiolen

In der Physiologie des Menschen spielen drei Thiol Derivate eine besondere Rolle. Die einfachste Verbindung ist in diesem Zusammenhang das Cystein (**Abbildung 1**, Verbindung **4**), welches nicht nur als einzige natürliche proteinogene α -Aminosäure in der (*R*)-Konfiguration vorkommt, sondern auch ein wichtiger Bestandteil von Co-faktoren (Thioredoxin und Glutathion) ist. Innerhalb des Proteins dient das Thiol oft als Stabilisator der tertiären und quartären Proteinstruktur, da inter- oder intramolekulare Disulfidbrücken und Metallcluster (z. B. Zn^{2+} -Cys₄-Komplexe) gebildet werden. Als Thioloxydoreductasen können Cysteinproteine toxische, aber auch nicht-toxische Verbindungen oxidieren oder reduzieren und Disulfidbrücken knüpfen und spalten. Außerdem besitzen sie regulatorische Eigenschaften, da sie posttranslationale Modifikationen an Enzymen durchführen können, welche die Proteinfunktion verändern.^[1] Ein erhöhter Cysteingehalt im Blutplasma ist zudem ein Risikofaktor für Präeklampsie, Bluthochdruck, Frühgeburt und geringes Geburtsgewicht.^[2]

Die Aminosäure Homocystein **2** ist ein Metabolit beim Abbau des essentiellen Methionins **1**, wodurch die Verfügbarkeit von Cystein im menschlichen Körper gewährleistet wird (**Abbildung 1**).^[3] Das Methionin **1** wird dafür zunächst durch ATP und einer Transferase zu *S*-Adenosylmethionin aktiviert. Das *S*-Adenosylmethionin ist ein Methyl donor und gibt die Methylgruppe an einen Azeptor ab, wodurch *S*-Adenosyl-Homocystein entsteht. Nachdem mittels einer Hydrolase und H₂O das Homocystein **2** gebildet wurde, kann die irreversible Kondensation der Aminosäure mit der Hydroxyaminosäure Serin stattfinden. Eine Lyase bewirkt den letzten Syntheseschritt, so dass das Cystein **4** nun für die weitere Umsetzung (zur Synthese von Glutathion oder der Aminosulfonsäure Taurin) zur Verfügung steht.

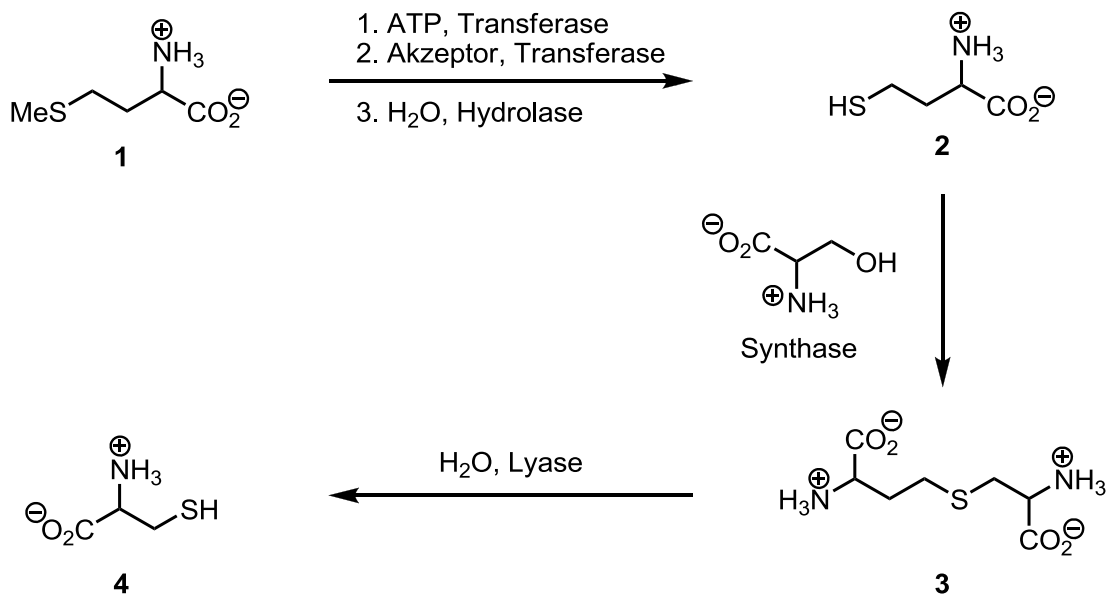


Abbildung 1: Synthese von Cystein 4 aus Methionin 1.

Wenn eine erhöhte Blutkonzentration von Homocystein nachgewiesen wird, besteht ein erhöhtes Risiko, bestimmte Krankheiten zu erwerben. Besonders Gefäßverkalkung, Thrombose, Herzinfarkt, Alzheimer und Demenz werden in diesem Kontext genannt.^[4]

Als ein weiteres und letztes Beispiel sei das Glutathion 5 genannt, welches ein Pseudotripeptid darstellt, da eine Amidbindung mit der Carboxygruppe in γ -Position zum Amin gebildet wird. Es besteht aus den drei Aminosäuren Glutaminsäure, Cystein und Glycin (**Abbildung 2**) und dient als Antioxidans, indem es direkt reaktive, oxidative Reagenzien (ROS, reactive oxygen species), wie $O_2^{\cdot-}$ (Hyperoxid), $\cdot OH$ (Hydroxyl-Radikale), $\cdot OOR$ (Peroxyl-Radikale) und $ROOH$ (Hydroperoxid) zu ungefährlicheren Verbindungen umsetzt.^[5]

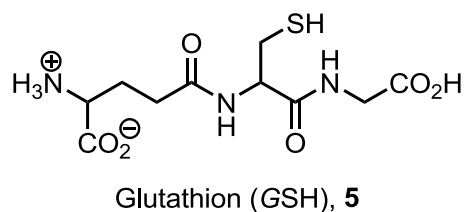


Abbildung 2: Das Pseudotripeptid Glutathion.

Indirekt kann das Thiol auch als Cosubstrat bei der Desaktivierung von Peroxiden eine wichtige Rolle spielen (**Abbildung 3**). Dabei wird das Glutathion zum Disulfid

oxidiert, während das Peroxid zu einem Alkohol und Wasser reduziert wird. Das oxidierte Glutathion kann wieder durch die Reduktase und durch den Verbrauch von $\text{NADPH} + \text{H}^+$ zurückgewonnen werden. Stehen zu wenig Antioxidantien, durch z. B. vermehrten Einfluss von UV-Licht, ionisierter Strahlung, Schwermetallen oder redoxaktive Chemikalien, zur Verfügung, können die ROS nicht mehr deaktiviert werden und das oxidative Potential innerhalb der Zelle steigt. Bei diesen oxidativen Stress werden Proteine, Lipide und DNA geschädigt, was zu Folgeschäden wie Alterungsprozessen und Erkrankungen führt.^[5]

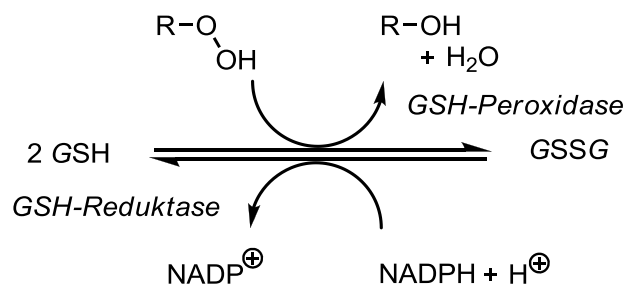


Abbildung 3: Die Desaktivierung des Hydroperoxids durch Peroxidasen.

1.1.2 Marker mit Maleimiden als funktionelle Gruppen

1.1.2.1 Monomaleimid-Marker

Das vorherige Kapitel macht deutlich, dass der Nachweis von thiofunktionalisierten Verbindungen und Proteinen in der Medizin und Biochemie von Bedeutung ist, da z. B. durch die Konzentration von Cystein und Homocystein Risikofaktoren für diverse Krankheiten erkannt werden. Aus diesem Grund gibt es ein weites Spektrum von Marker für Thiole. Ein prominentes Beispiel für einen Absorptionsmarker ist das Ellman's Reagens,^[6] auch eine Vielzahl von Fluoreszenzmarkern ist bekannt.^[7]

Die Auswahl eines geeigneten Markers ist von vielen Faktoren abhängig, wie z. B. dem pH-Wert, der Löslichkeit, der Photostabilität, der Absorption- und Emissionswellenlänge. Auch die Selektivität des Thiolangriffs in Gegenwart von Aminen muss gewährleistet sein. Aus diesem Grund hat sich u. a. die Maleimidfunktion durchgesetzt. Durch konjugierte Addition an die Doppelbindung, die bei Thiolen bevorzugt ist (HSAB-Konzept), wird diese Selektivität im Normalfall erfüllt. In **Abbildung 4** sind einige Beispiele solcher maleimidfunktionalisierter Verbindungen aufgeführt.

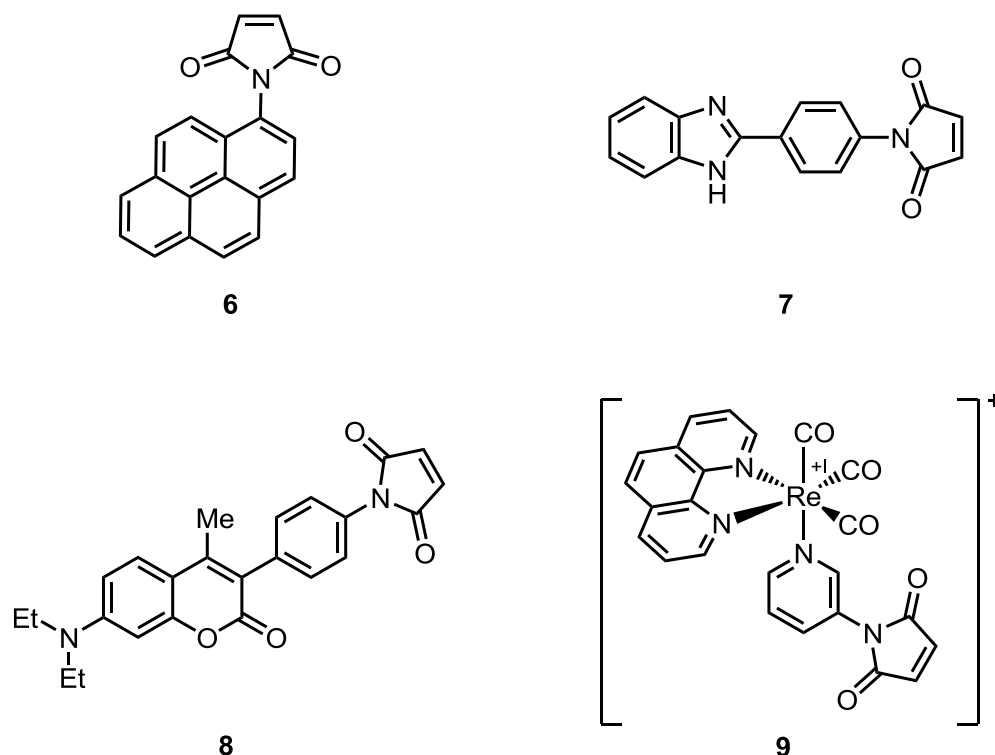


Abbildung 4: Beispiele einiger Fluoreszenzfarbstoffe mit Maleimid als reaktive Gruppe.

Die Lumineszenz-Marker besitzen alle das gleiche Aufbauprinzip: Ein Fluorophorkern ist mit einer Maleimidfunktion verknüpft. Bei Verbindung **6** stellt der fluoreszierende Kern ein Pyren-,^[8,9] bei **7** ein Benzimidazol-^[10] und bei **8** ein Coumarinbaustein^[11] dar. Einige Übergangsmetallkomplexe^[12] (z. B. Verbindung **9**) und Lanthanide^[13] als Zentralatom treten ebenfalls in Erscheinung. Letztere besitzen den Vorteil, eine lange Emissionslebensdauer, kaum Quencheffekte und eine gute Photostabilität zu besitzen.

Ausgangsverbindungen für die Synthese der Maleimid-funktionalisierten Farbstoffe sind fast immer die jeweiligen Amine **10**, die als Nucleophil an ein Maleinsäureanhydrid angreifen. Die entstandene Säure **11** kann dann auf verschiedene Arten cyclisiert werden (**Abbildung 5**): durch NaOAc und Ac₂O, durch NEt₃/Toluol,^[14] durch Lewis-Säuren oder auch durch HMDS,^[15] um nur die gängigsten Methoden zu nennen.

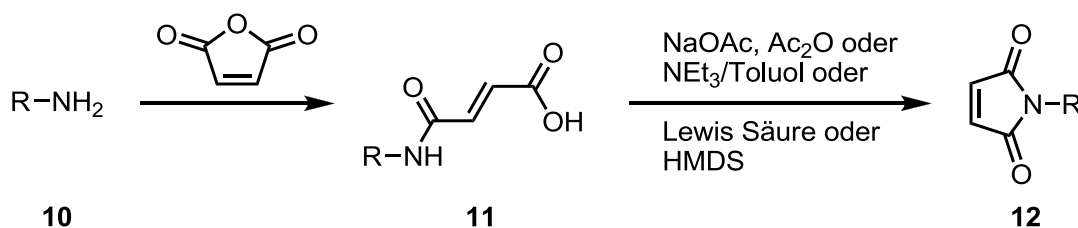


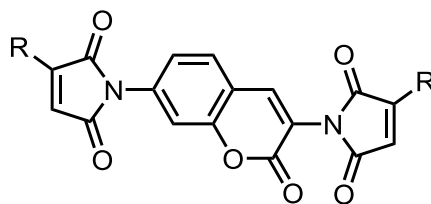
Abbildung 5: Synthese eines Maleimids **12** aus dem Amin **10**.

Wie schon erwähnt, spielt der pH-Wert bei der Wahl des Markers eine wichtige Rolle. Für den Angriff des Thiols wird ein neutrales bis alkalisches Milieu benötigt. Leider treten unter diesen Bedingungen auch oft Nebenreaktionen auf. Bei einer gewissen Orientierung von benachbarten Aminofunktionen wie z. B. bei Cystein oder BSA (Bovine Serum Albumin) kann eine intramolekulare Aminolyse den Ring des Maleimids öffnen und dadurch die Fluoreszenz beeinflussen.^[9] Außerdem kann im wässrigen Milieu bei besonders hohen pH-Werten eine Hydrolyse zu der offenkettigen Säure stattfinden.^[11,13]

Abgesehen von den unerwünschten Nebenreaktionen, die unter bestimmten Bedingungen auftreten, sind die Maleimide leicht herzustellen und zeigen durch Quenchprozesse in der Regel keine Fluoreszenz. Diese sogenannten „turn on probes“ können erst nach Addition von Thiolen eine Emission zeigen.^[16] Näheres dazu wird im Kapitel 1.1.2.3 erläutert.

1.1.2.2 Crosslinker

Wenn zwei funktionelle Gruppen an einem Fluoreszenzmarker binden, also der Marker als Crosslinker fungiert, können zusätzliche Anwendungsbereiche erschlossen werden. So können z. B. Verknüpfungen zwischen Enzymen, Oligonucleotiden und anderen Bausteinen geschaffen werden oder deren inter- und intramolekulare Wechselwirkungen und Abstände untersucht werden. Ein verwendeter fluoreszierender Farbstoff dieser Art ist das Coumarin-Derivat **13** (**Abbildung 6**).^[17]



13, R = H, CO₂Me, Me

Abbildung 6: Crosslinker **13** mit zwei Maleimidfunktionen.

Das Coumarin-Derivat **13** besitzt zwei Maleimidfunktionen und kann deshalb auch von zwei Thiolen angegriffen werden. Die funktionellen Gruppen können dabei von einem Molekül oder von zwei verschiedenen Molekülen stammen. Dabei sollte der Abstand innerhalb eines Moleküls genau dem Abstand der Maleimidfunktionen des Markers entsprechen. So besteht bei Verbindung **13** die Möglichkeit, zwei Äquivalente Mercaptoethan oder ein Äquivalent Bismercaptomethylbenzophenon (BMMB) anzugreifen zu lassen (**Abbildung 7**).

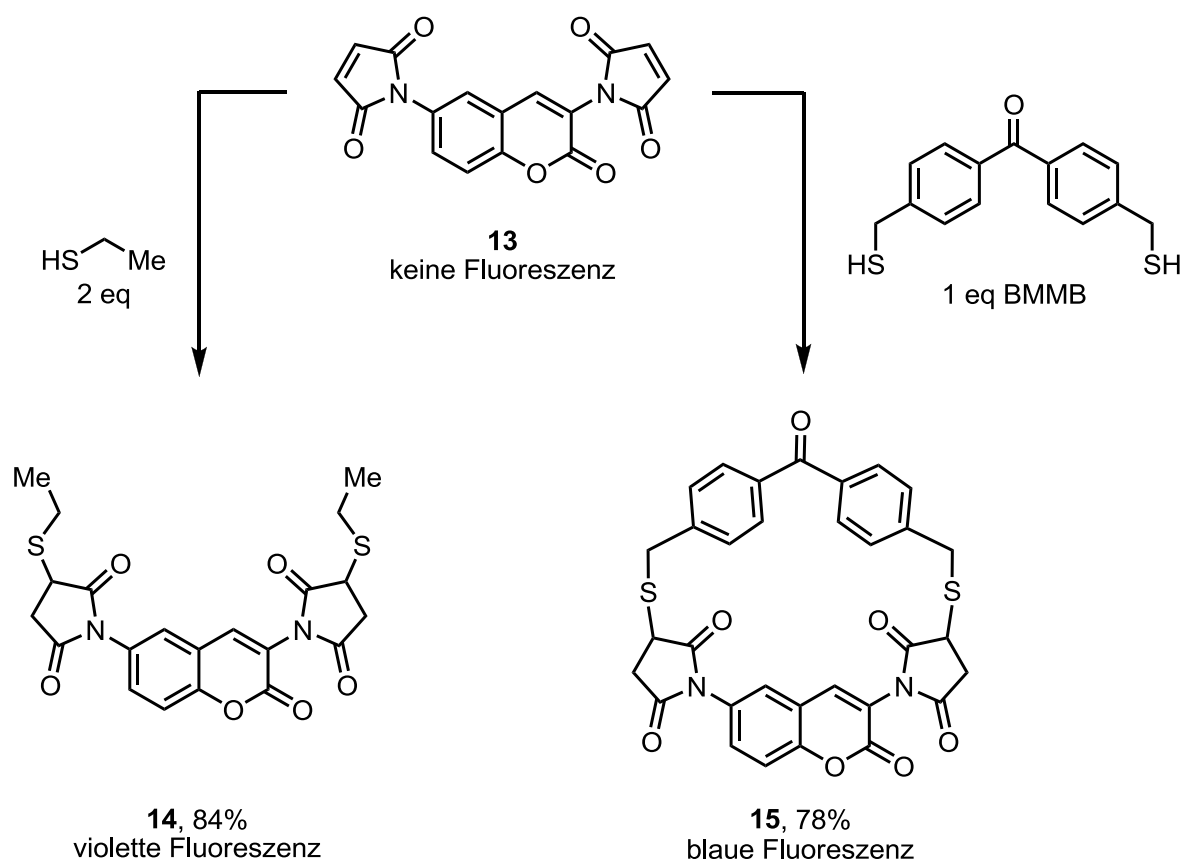


Abbildung 7: Addition von Mercaptoethan und BMMB an das Coumarin-Derivat **13**.

Es wurde zu diesem Zweck auch ein rekombinantes α -Helix-Protein, das zwei Cysteine beinhaltet, entwickelt und markiert. Verknüpfungen von zwei Proteinen an dem Marker konnten nicht beobachtet werden. Wie bei dem Monomaleimid zeigte der Crosslinker **13** erst nach komplettem Umsatz eine Fluoreszenz, bei Angriff einer Thiol-Gruppe trat keine Emission auf.

1.1.2.3 Der Quench-Prozess

Mit Ausnahme von wenigen Beispielen, wie z. B. dem Fluorescein-5-maleimid,^[15] tritt bei Markern mit Maleimidfunktion keine fluoreszierende Emission in Erscheinung. In den meisten aromatischen organischen Verbindungen wird die Fluoreszenz durch einen $^1(\pi \rightarrow \pi^*)$ Übergang verursacht, der durch quantenmechanische Auswahlregeln nicht verboten ist.^[9,10,17] Der angeregte elektronische Singulettzustand kann durch Abgabe vom emittierten Licht in den Grundzustand zurückkehren. Zunächst wurde postuliert, dass durch Konjugation der Carbonylgruppen und der Doppelbindung des Maleimids die Molekülorbitale (MO) der nichtbindenden Elektronenpaare des Sauerstoffs sich energetisch über die π -MOs des Fluorophors stellen. Sie fungieren nun als HOMO des Systems, die antibindenden π^* -MO erneut als LUMO. Es wurde weiter berichtet, dass bei der Anregung in den π^* -Singulettzustand ein Inter-System-Crossing-Prozess (ISC) zu einem Triplettzustand stattfindet. Der angeregte Triplettzustand kann nun nicht mehr in den Singulett-Grundzustand durch Abgabe von Strahlung zurückkehren, da dieser Vorgang quantenmechanisch verboten ist (**Abbildung 8**). Die Energie wird strahlungsfrei an die Umgebung abgegeben. Bei Addition einer Thiolgruppe fällt das MO der nichtbindenden Elektronen energetisch unter die MOs der aromatischen Komponente. Die Strahlung kann wieder abgegeben werden.

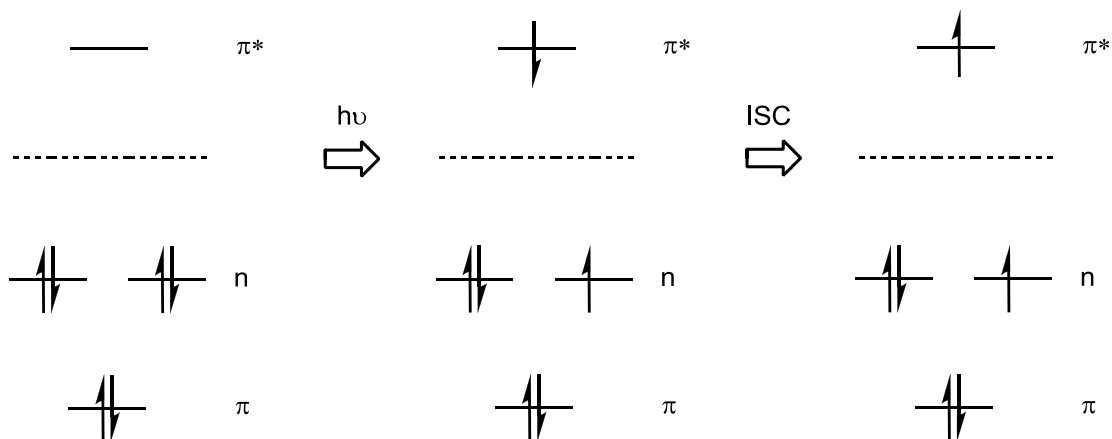


Abbildung 8: Übergang des Singulett-Zustandes in den Triplettzustand.

Keillor^[18] hat dieses Phänomen genauer untersucht und hat die obige These wiederlegt. Der Inter-System-Crossing-Prozess konnte durch Phosphoreszenz und Laser-Flash-Photolyse-Experimente ausgeschlossen werden, da ein Triplettzustand nicht nachgewiesen werden konnte. Dexter-Energie-Transfer und Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET), die auch als Ursache für Fluoreszenzlöschung in Frage kommen, konnten verworfen werden; zum einen durch Fehlen des Triplettzustandes und zum anderen durch fehlende Überlappung des Absorptionsspektrums des Maleimids mit dem Emissionsspektrums des Fluorophors. Es konnte hingegen durch die Stern-Vollmer-Gleichung und durch cyclische Voltammetrie bewiesen werden, dass ein PET (photoinduzierte Elektronen Transfer) für den Quenchprozess verantwortlich ist.

Auch *Nagano*^[19] hat diese These untermauert, indem er verschiedene substituierte BODIPY-Derivate synthetisiert und deren Quantenausbeute bestimmt hat (**Abbildung 9**). Da der PET abstandsabhängig ist, also mit wachsender Entfernung von Elektronendonator und Akzeptor abnimmt, tritt bei der *para*-Verbindung **16c** die größte Fluoreszenz auf, bei der *ortho*-Verbindung **16a** die niedrigste. Der Einfluss auf voneinander weitentfernte Fluorophor- und Maleimidgruppen wurde in der Literatur^[20] beschrieben. Sie üben nämlich keinen Einfluss aufeinander aus, da ein Energie- oder Elektronentransfer auf Grund der Distanz nicht möglich ist.

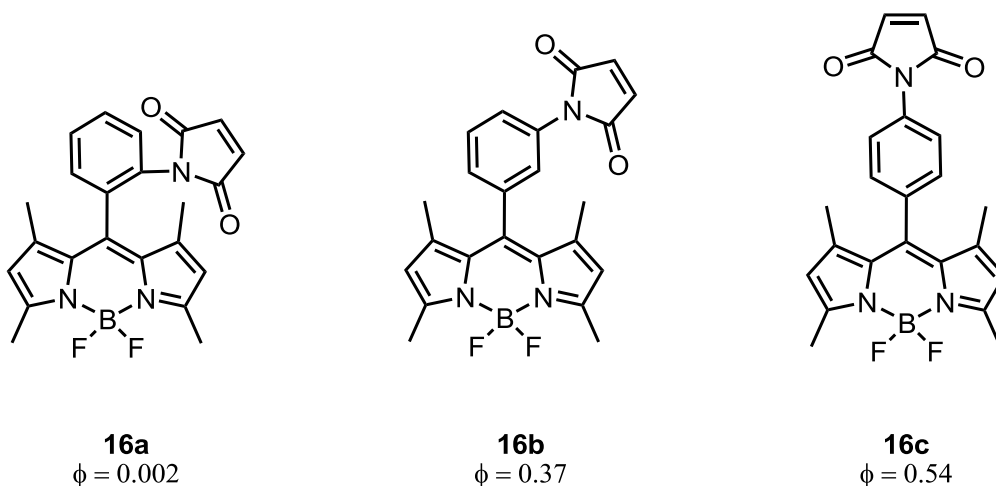


Abbildung 9: Synthetisierte BODIPY-Derivate und deren Quantenausbeute Φ .

1.2 2,5-Diaminoterephthalsäurederivate

Seit über einem Jahrhundert sind die stark fluoreszierenden Diaminoterephthalsäurederivate synthetisch verfügbar.^[21] Ausschlaggebend für die starke Fluoreszenz sind die elektronenziehenden Ester- und die elektronenschiebenden Amino-Funktionen. Die Aminogruppen fungieren als Auxochrome und verschieben das Absorptionsmaximum des aromatischen Chromophors in den langwelligen Bereich. Die Esterfunktionen dienen hingegen als Antiauxochrome, verstärken somit die Delokalisation der Elektronen im Aromaten und führen zu einer Verstärkung des bathochromen Effekts. Die Diaminoterephthalsäure-Derivate waren zunächst hauptsächlich aus der Schmelze von NH_4OAc und den entsprechenden Succinylsuccinaten **17a** und anschließender Oxidation mit Br_2 zugänglich (**Abbildung 10**).^[21]

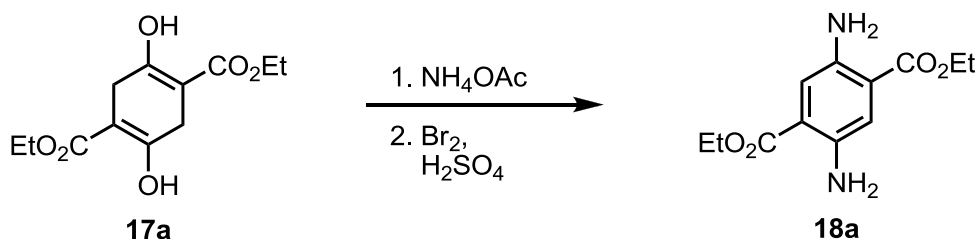


Abbildung 10: Synthese des Diaminoterephthalats **18a** nach *Baeyer*.

Die Aminoester konnten später auch aus den Terephthalsäurediestern **19** in mehreren Stufen erhalten werden (**Abbildung 11**).^[22] Nach einfachem Nitrieren und Reduzieren der Nitrogruppe konnte durch Schützen mit Essigsäureanhydrid die

Aminoterephthalsäure **20** erhalten werden. Die Einführung der Schutzgruppe sollte die Aminofunktion vor den drastischen Bedingungen der zweiten Nitrierung schützen. Nach dieser Nitrierung konnte die Acetylschutzgruppe wieder unter Erhitzen in $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$ abgespalten werden. Der erhaltene Aminonitroterephthalsäurediester **21** konnte mit HCl/ZnCl_2 reduziert werden, um die Zielverbindung **18b** zu erhalten.

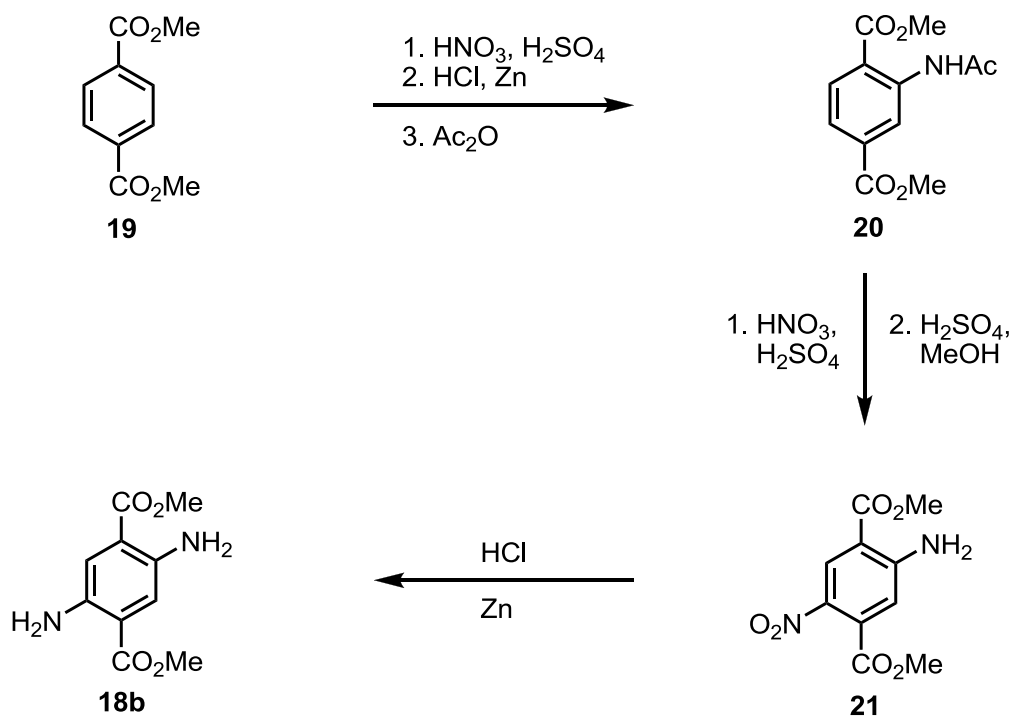


Abbildung 11: Synthese des 2,5-Diaminoterephthalsäuredimethylesters **18b** nach *Kauffmann und Weissel*.

Eine Alternative zur Synthese des stark-orangen fluoreszierenden Diaminoterephthalsäuredimethylesters **18b** stellte *Liebermann* im Jahre 1914 vor (**Abbildung 12**). Das Succinylsuccinat **17b** wurde mit 10% alkoholischen NH_3 mehrere Stunden bei 100°C in einem Einschlussrohr erhitzt, wodurch, laut *Liebermann*, zunächst das Diimin gebildet wurde. Nach längerem Stehen unter Lichteinfluss lagerte sich das Diimin **22** in das Dienamin **23a** um, welches durch Erhitzen und Zusatz rauchender Salzsäure oder Eisessig an der Luft zu dem orange-roten Diaminoterephthalsäuredimethylester **18b** oxidiert wurde.

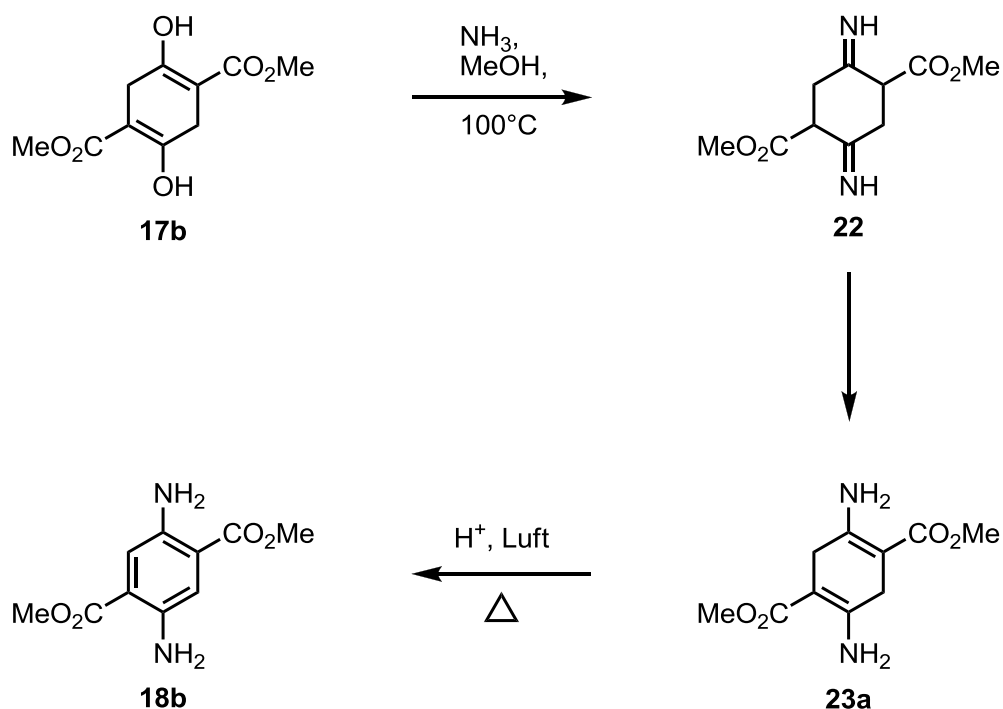


Abbildung 12: Liebermanns Synthese des Diaminoterephthalsäuredimethylesters **18b**.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass auch Reaktionen von primären aromatischen und aliphatischen Aminen mit dem Succinyldiester **17a** in Ethanol/Eisessig und anschließender Oxidation zu den Dialkyl- bzw. Diarylterephthalsäurediestern **25a–f** führen (**Abbildung 13**). Zur Oxidation hatten sich dabei drei Methoden bewährt. Diese konnte durch einfaches Erkalten an der Luft erfolgen, es konnte als Oxidationsmittel Iod zugesetzt werden oder man erwärmte die Dihydroterephthalsäurediester **24a–f** an der Luft bis hin zur Schmelze.^[23]

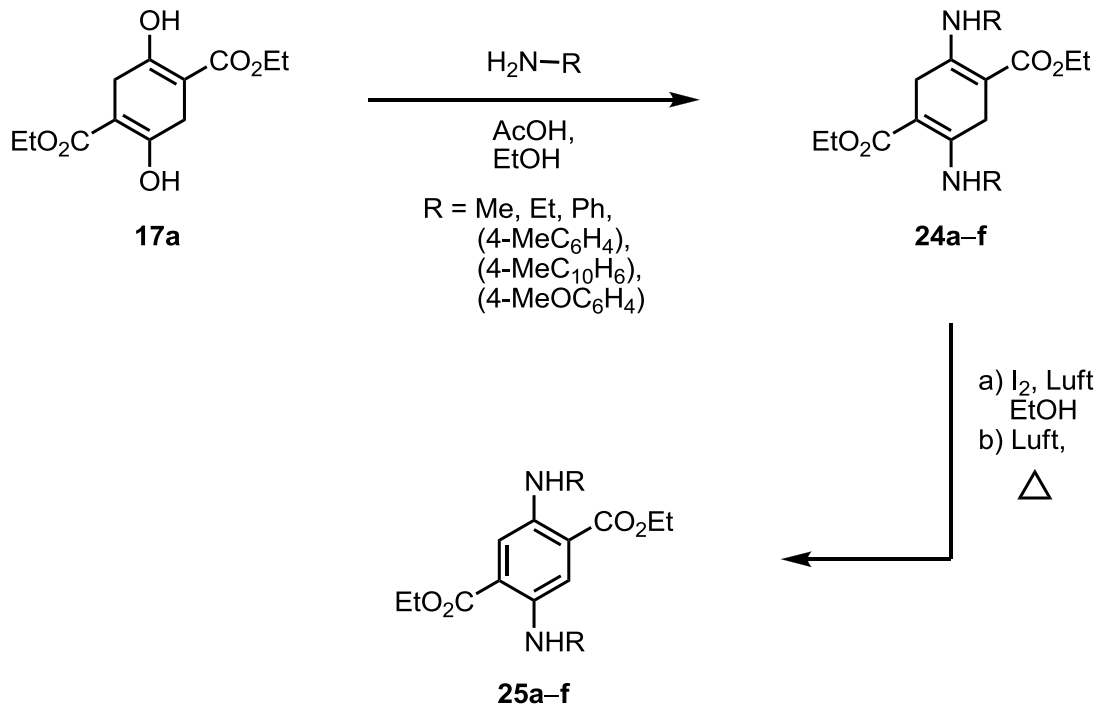


Abbildung 13: Synthese von den Dialkyl- und Diarylterephthalsäurediethylestern **25a-f**.

In der Industrie werden heutzutage u. a. durch Kondensation von Succinyldiester **17** mit Anilin, Verseifung der entstandenen Diarylterephthalsäureester **26** und Kondensation mit Lewis-Säuren oder Polyphosphorsäure, die als Farbpigment bekannten, Chinacridone **27** synthetisiert (**Abbildung 14**). Je nach Kristallform und Substitution können dabei die Pigmente eine rote, violette oder eine rot-blaue Farbe annehmen.^[24] Chinacridone finden Anwendung in der Autolackindustrie, als Farbe für Tintenstrahldrucker und Anstreichmittel^[25] oder als OLEDs.^[26]

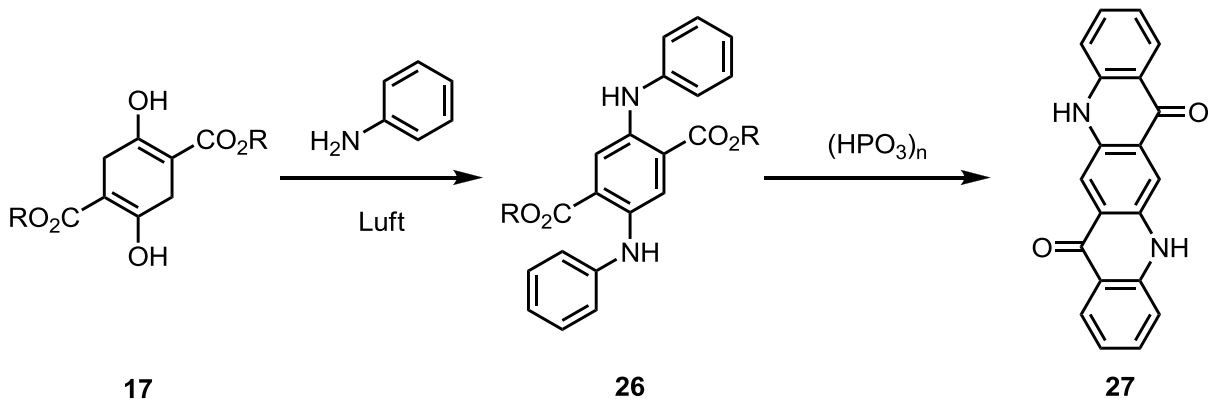


Abbildung 14: Industrielle Herstellung von Chinacridonen **27**.

1.3 Vorarbeiten im Arbeitskreis Christoffers

Das Thema der Diaminoterephthalsäurederivate wurde im Arbeitskreis *Christoffers* von *Zhang*^[27] aufgegriffen. Sie hat Phenylenverbindungen an Succinylsuccinate gebunden und rot bis violett fluoreszierende Farbstoffe erhalten. Oligophenylderivate eignen sich als gute Photovoltaik Elemente,^[28] lassen sich zu Nanofasern^[29] verarbeiten und zeigen eine polarisierte blaue Fluoreszenz.^[30] Jedoch lassen sich die aromatischen langkettigen Verbindungen nur sehr schlecht lösen. Durch die Synthese der Oligophenylderivate sollte dieses Problem behoben werden, da die eingeführten Amino- und Estergruppen zusätzliche polare Akzente setzen sollten, ohne die photochemischen Eigenschaften zu beeinflussen.

Es konnten im ersten Schritt die Aminophenylene **28a–c**, zum einen unsubstituiert zum anderen iodsubstituiert, mit den Diketonen **17a** und **17c** zu den Oligophenylderivaten **29a–f** umgesetzt werden (**Abbildung 15**). Dabei gab es zwei Möglichkeiten: In einigen Fällen erfolgte die Reaktion in Toluol unter Zugabe von Salzsäure bei leicht erhöhter Temperatur. In anderen Fällen wurden etwas drastischere Bedingungen benötigt, indem die Reaktion in AcOH bei 100°C durchgeführt wurde. Die während der Reaktion gebildeten Dienamine konnten dabei durch die eintretende Luft oxidiert werden.

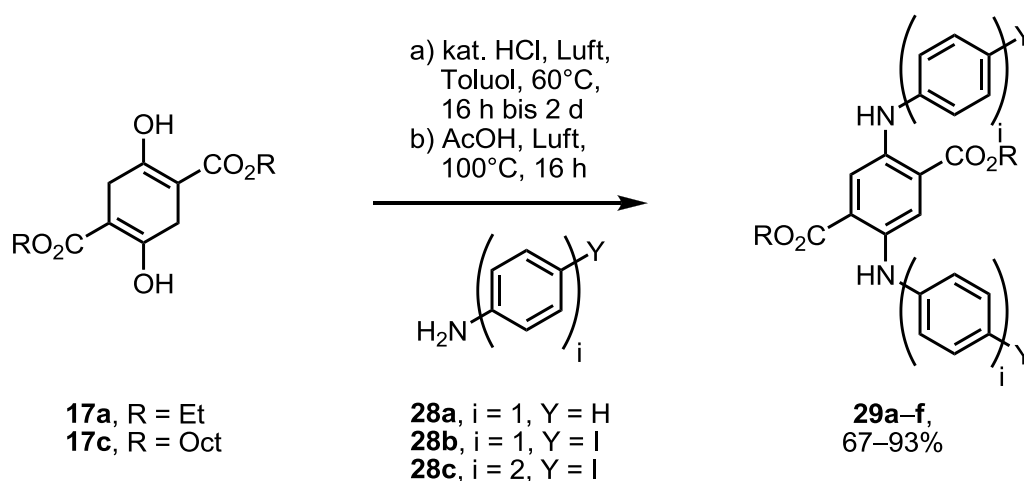


Abbildung 15: Synthese von Oligophenyldiaminoterephthalaten **29a–f** nach *Zhang*.

Um die aromatische Kette zu erweitern, wurden nun aus den Iodphenylen- und Iod-bisphenylderivaten **29c–f** mittels Suzuki-Kupplung die rot-violett fluoreszierenden

Oligophenylverbindungen **31a–m** gebildet (**Abbildung 16**). Die verwendeten Boronsäuren **30a–d** wurden mit verschiedenen Akzeptor- und Donor-Substituenten versehen, um die Emission in andere Wellenlängenbereiche zu verschieben. Das Ziel, die Löslichkeit von Oligophenylverbindungen zu erhöhen, konnte insofern erfüllt werden, da die Komponenten zumindest in einer großen Menge Lösungsmittel lösbar waren.

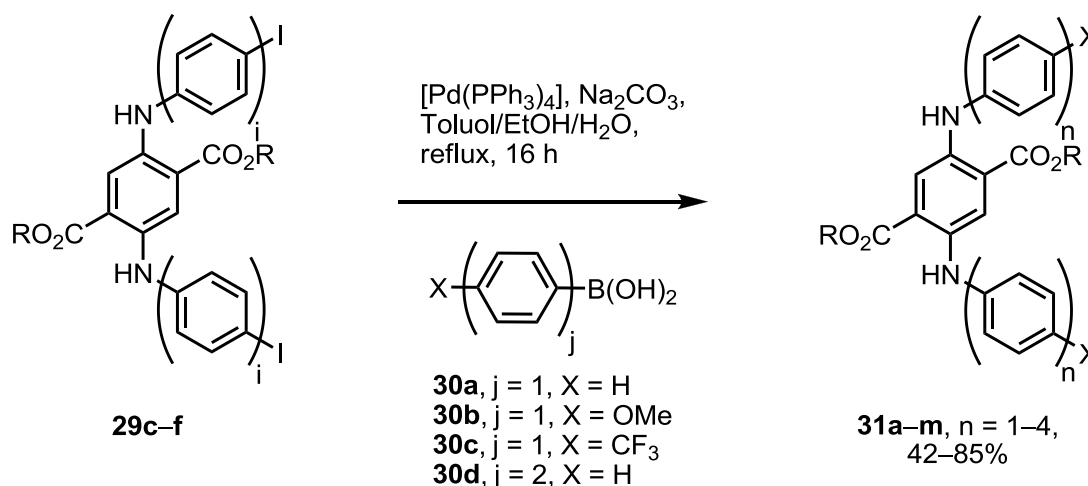


Abbildung 16: Suzuki-Reaktion zu den erweiterten Oligophenylterephthalsäurediestern **31a–m**.

Des Weiteren kann Terephthalsäure als Baustein für die kombinatorische Chemie verwendet werden, da es vier Verknüpfungstellen besitzt (**Abbildung 17**). So können z. B. durch Amidkupplungen vier verschiedene Aminosäuren gebunden werden. Voraussetzung für dieses Vorhaben ist die Schutzgruppenorthogonalität des Scaffolds. Es müssen daher vier unterschiedliche Schutzgruppen (zwei Aminoschutzgruppen und zwei Estergruppen) eingeführt werden, die dann unter verschiedenen Bedingungen abgespalten und amidiert werden können.

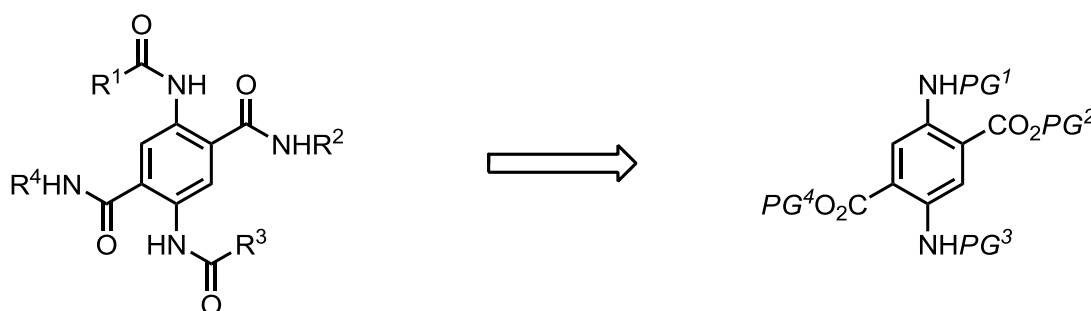


Abbildung 17: Orthogonalität der Schutzgruppen.

Dieses Vorhaben gelang *Pflantz*,^[31] indem sie zunächst das unsymmetrische Succinylsuccinat **17d** durch zweifache Einführung einer Estergruppe und einer anschließenden Dieckmann-Kondensation synthetisiert hat (**Abbildung 18**). Durch die Asymmetrie des Esters sind dabei drei cyclische Produkte entstanden, die allerdings chromatographisch getrennt werden konnten. In Analogie zu *Liebermann*^[23] wurde der Diester **17d** in einer alkoholischen NH_3 -Lösung erhitzt und anschließend konz. Salzsäure zugesetzt. Nach dem weiteren mehrtägigen Rühren bei erhöhter Temperatur und offenstehender Apparatur konnte der Diaminoterephthal-säurebenzylmethyldiester in 84% Ausbeute isoliert werden. Es erfolgte unter diesen Bedingungen keine Umesterung, jedoch bildeten sich geringe Mengen Hydrochinone und Aminophenole, die allerdings abgetrennt werden konnten. Nach selektive Einführung einer Boc-Schutzgruppe konnten die Regioisomere **32a** und **32b** erhalten werden, die in einem Verhältnis von 2.5 : 1 vorlagen. Die zweite Aminogruppe wurde aus praktischen Gründen nicht geschützt.

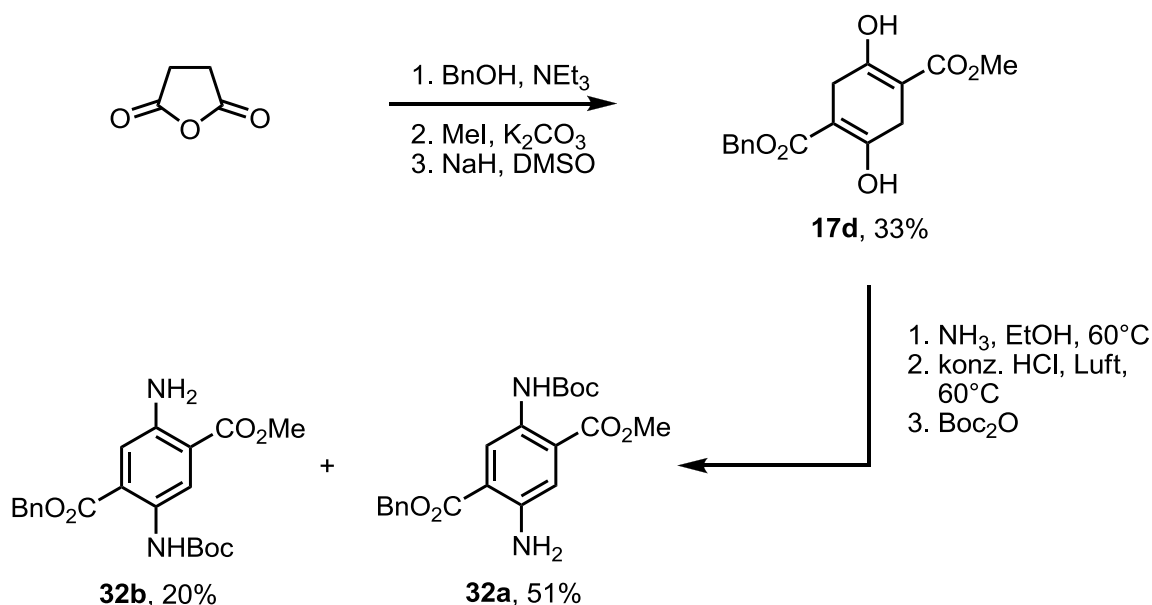


Abbildung 18: Herstellung des Succinats **17d**, dessen Ammonolyse und die Einführung einer Boc-Schutzgruppe.

Die nun vorliegende Plattform **32a** mit zwei unterschiedlichen Estern und einer carbamatgeschützten Aminofunktion konnte mit den Kupplungsreagenzien HOBt und DCC unter katalytischer Zugabe von DMAP mit einer Aminosäure (z. B. *N*-Fmoc- β -Alanin oder *N*-Fmoc-L-Prolin) zu den Monoamiden **33a** und **33b** umgesetzt werden (**Abbildung 19**). Dann erfolgte die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe, die im sauren

Milieu durchgeführt wurde. Die nächste Kupplung erfolgte mit der zweiten Aminosäure (z. B. *N*-Boc- β -Alanin oder *N*-Boc-L-Valin), die zu den Derivaten **35a** und **35b** führte. Nach weiterem Entschützen der Benzyl- und der Methylestergruppe und der anschließenden Kupplung konnten zwei verschiedene Tetraamidderivate **36a** und **36b** synthetisiert werden, die in dem Bereich von 230–250 nm absorbieren und im blauen sichtbaren Bereich (410–450 nm) emittieren. Die Verbindung **36c** wurde auf einer ähnlichen Weise hergestellt. Die Gesamtausbeute von den Verbindungen **36a**, **36b** und **36c** betrug über sieben Stufen 4–35% (**Abbildung 20**).

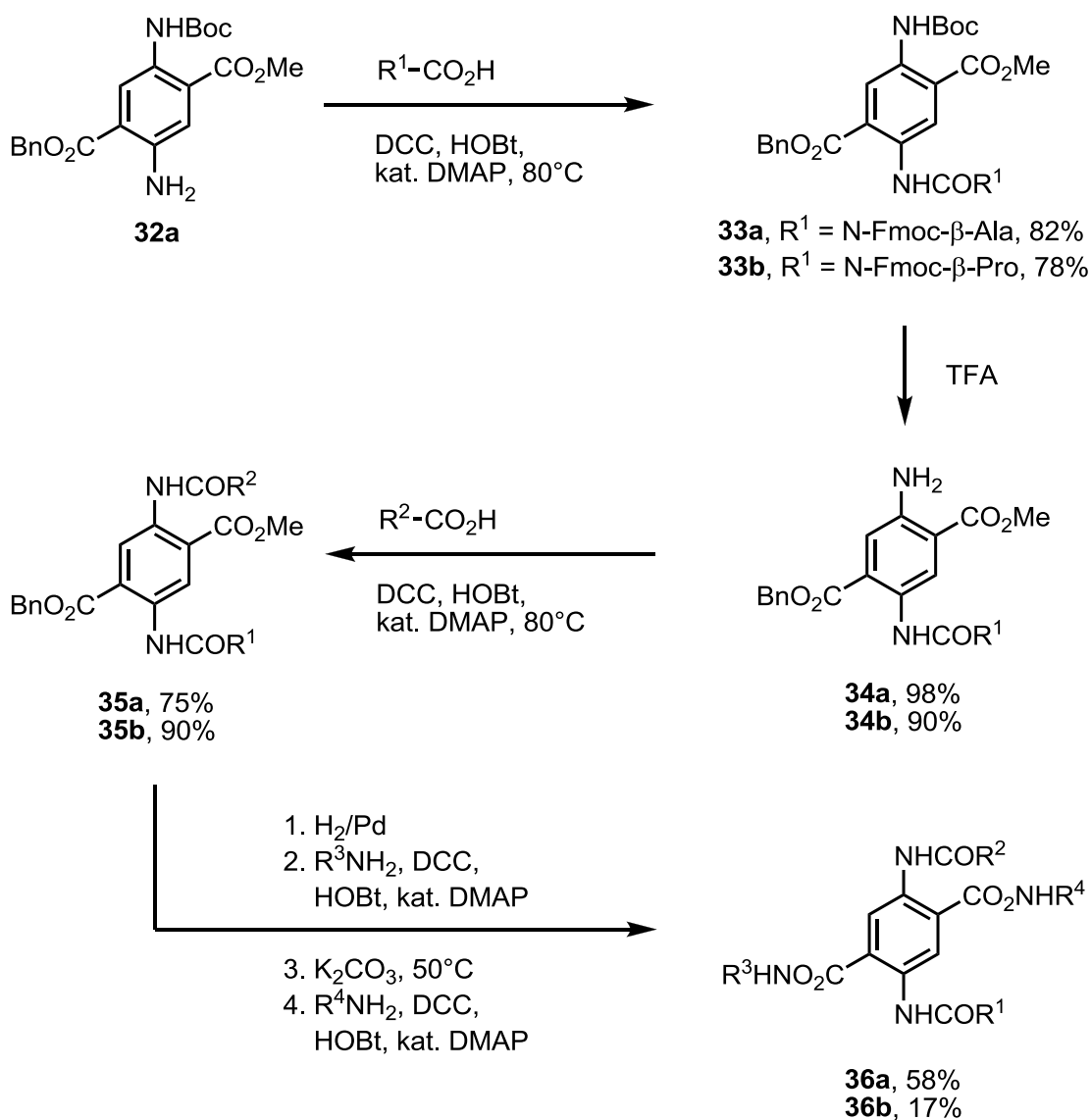


Abbildung 19: Synthese der Tetraamide **36a–b**.

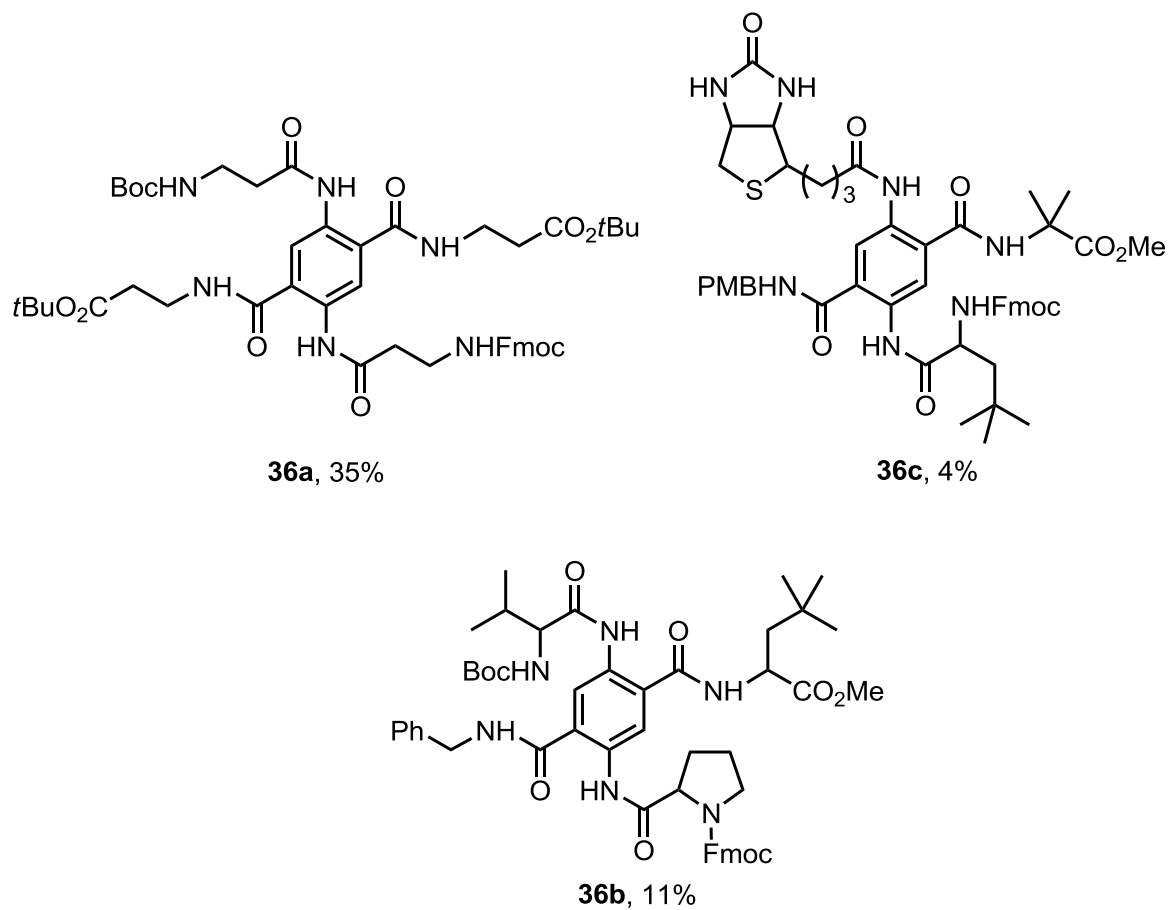


Abbildung 20: Die drei Tetraamide **36a–c**.

2. Zielsetzung

Die vorgelegte Dissertation behandelt die Synthese und Anwendung von Diaminoterephthalsäurederivaten. Im Detail werden vier Teilziele verfolgt: die Oligomersynthese aus Terephthalsäuremonomeren, die Verknüpfung der Verbindungen an die feste Phase, um die effiziente Synthese von Tetraamiden zu erschließen, die Darstellung von Fluoreszenzfarbstoffen als Biomarker und ein alternativer Syntheseweg zu Terephthalsäurederivaten.

Das erste Ziel war die Synthese eines Dimers aus zwei Terephthalsäurebausteinen (**Abbildung 21**). Dafür sollte zunächst die zweifach Boc-geschützte Carbonsäure **39a** mit dem Amin **32c** durch Kupplungsreagenzien wie DCC, HOBt und katalytischen Mengen DMAP umgesetzt werden. Vom isolierten Amid **37** sollte anschließend die Carbamatschutzgruppen abgespalten und die Ester verseift werden. Die anschließende pH-abhängige Fluoreszenzmessung der Triaminotricarbonsäure **38** sollte die Nutzbarkeit von mehrfach gekuppelten Terephthalsäurebausteinen als Polyelektrolyte überprüfen.

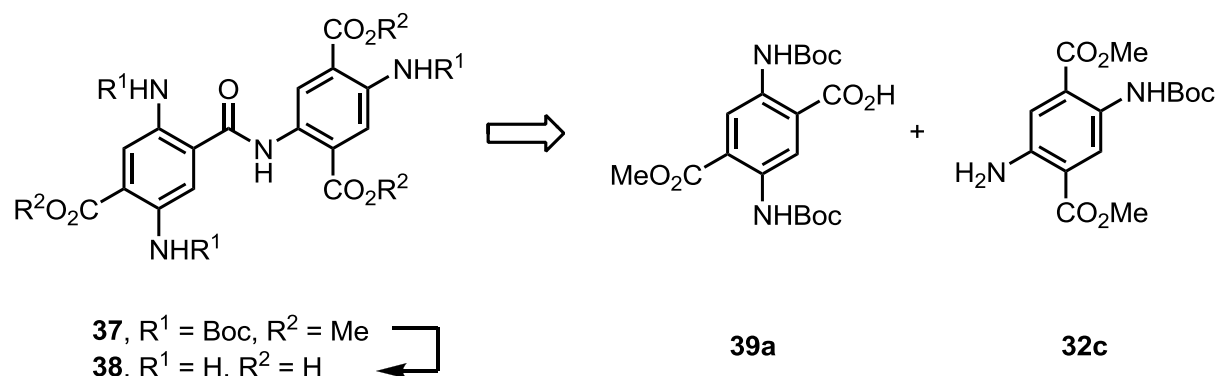


Abbildung 21: Synthese des Oligomers **38**.

Terephthalsäurederivate eignen sich als Plattform für die kombinatorische Chemie,^[31] jedoch ist die Synthese von Tetraamiden in flüssiger Phase mit einem zu hohen zeitlichen Aufwand verbunden. Zudem zeigen die Gesamtausbeuten einen hohen Verlust an Ausgangsmaterial. Deshalb sollte eine neue Methode an der festen Phase entwickelt werden, um das Verfahren zu automatisieren, die Effizienz zu steigern und den Verlust an Edukt zu minimieren (**Abbildung 22**). Als feste Phase sollte ein Merrifield-Harz und als Linker ein säurestabiler Diol-Linker dienen. Durch Amidkupplung

der Säure **43** und selektiver Entschützung, Amidkupplung und Abspaltung sollte ein Triamid **40** synthetisiert werden.

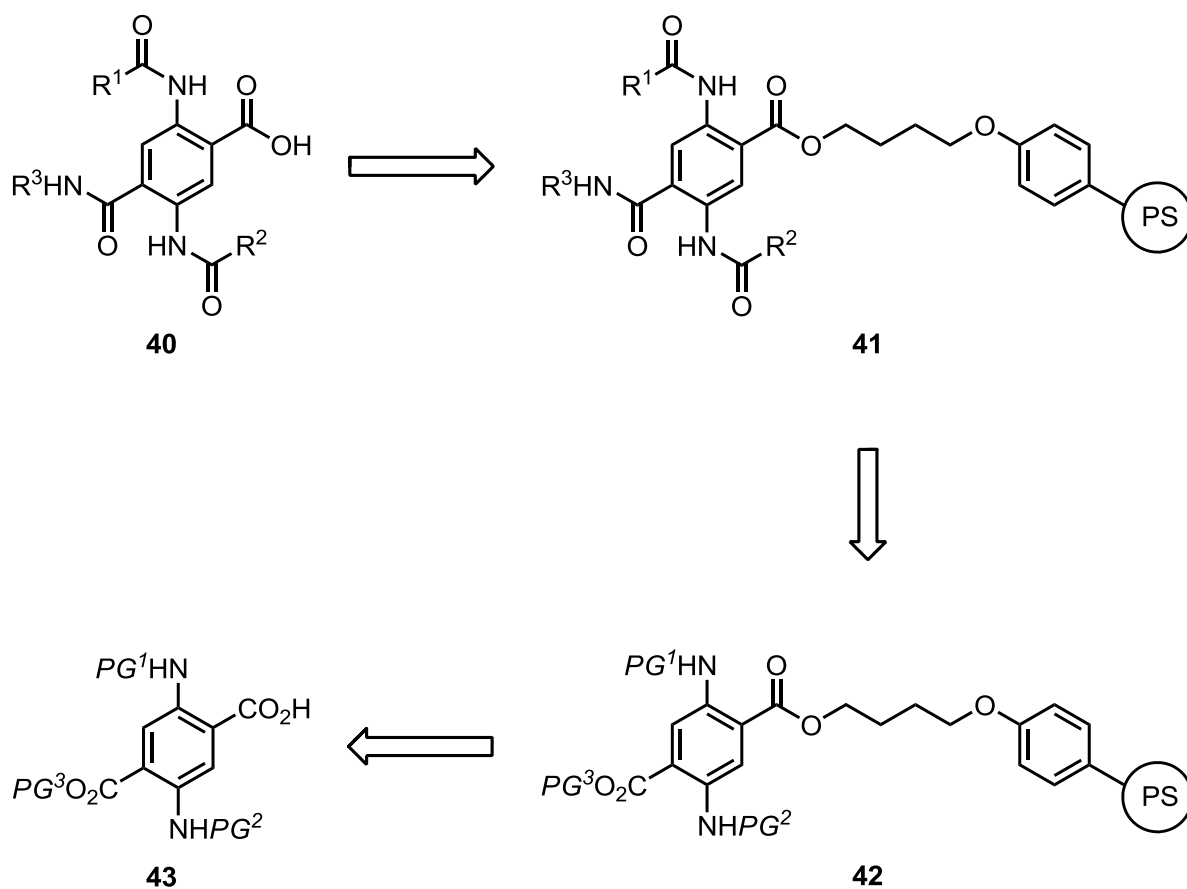


Abbildung 22: Synthese des Triamids **40** an der festen Phase.

Auf Grund der fluoreszierenden Eigenschaften der Terephthalsäurederivate sollten deren Nutzen als Biomarker erschlossen werden. Der Marker sollte eine reaktive Gruppe besitzen, die an einem Cysteinrest eines Proteins, wie Recoverin^[32,33] binden sollte. Aus Erfahrungen^[33] der Arbeitsgruppe Koch mit dem Fluoreszenzfarbstoff Alexa647 fiel die Wahl auf eine Maleimidgruppe. Die jeweiligen fluoreszierenden Verbindungen sollten aus den Ausgangsverbindungen **32a** sowie **18b** oder aus dem Succinylsuccinat **17b** und dem Boc-*N*-Ethylendiamin **47a** synthetisiert werden (**Abbildung 23**).

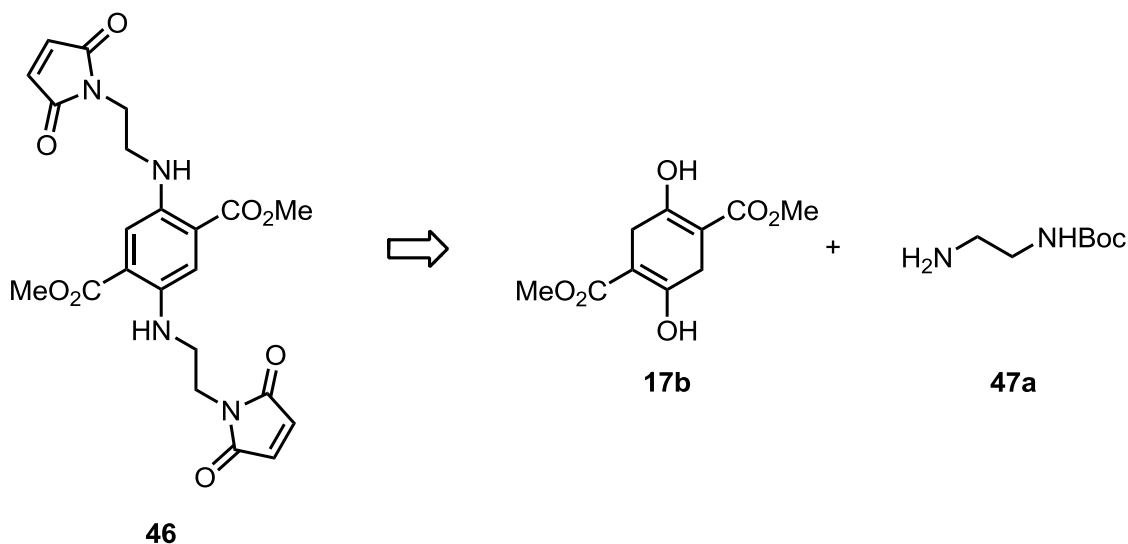
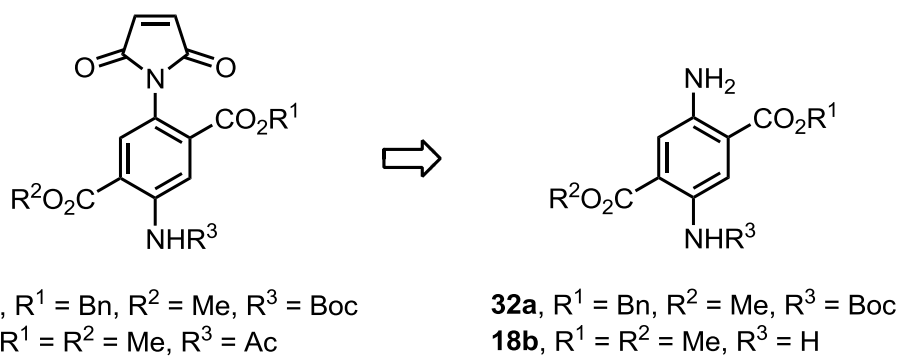


Abbildung 23: Maleimid-Marker.

Die entscheidenden Schritte für die Synthese von Terephthalsäurederivaten nach *Liebermann*^[23] und *Pflantz*^[31] sind die Dienaminbildung und die anschließende Oxidation an der Luft. Wenn allerdings die Reaktionsbedingungen nicht optimal gewählt werden, können eine Vielzahl Nebenreaktionen auftreten. Die unvollständige Reaktion mit NH_3 und die zu schnelle Oxidation des Eduktes und Zwischenproduktes führen zur Bildung von Hydrochinonen und Aminophenolen. Bei zu langen Reaktionszeiten treten Polymerisationen auf und die Kombination von HCl/EtOH führt zu Umesterungen. Außerdem kann nach Zugabe von Salzsäure das Dienamin wieder zum Succinat zerfallen. Da zunächst diese Synthese noch Optimierungsbedarf benötigte, sollte parallel dazu ein alternativer Syntheseweg erschlossen werden, ausgehend von der Terephthalsäure **49** und dem *para*-Xylol **50** (**Schema 24**). Eine Kombination aus Nitrierung, Veresterung und Reduktion sollte zum gewünschten 2,5-Diaminoterephthalsäureester **18b** führen, wobei die Syntheseroute mit *para*-Xylol **50** als Ausgangsmaterial um einen Oxidationsschritt erweitert werden muss.

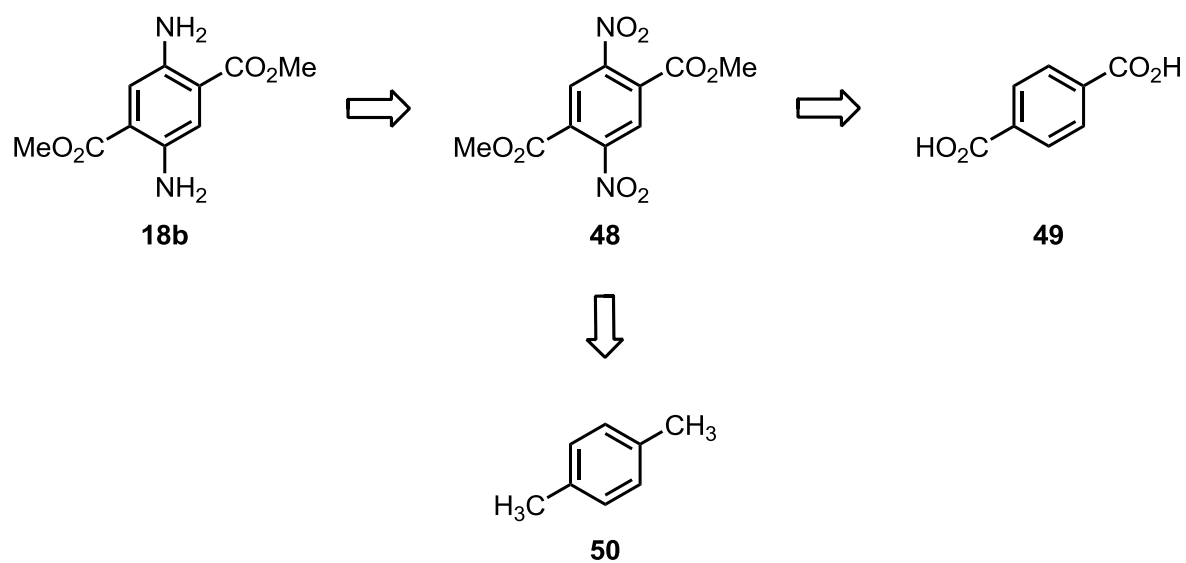


Abbildung 24: Alternative Syntheserouten zum 2,5-Diaminoterephthalsäuredimethylester **18b**.

3. Durchführung

3.1 Synthesepplan der Terephthalsäurebausteine

Um Terephthalsäurederivate durch Synthese an fester Phase zugänglich zu machen, sollte ein Baustein entwickelt werden, der eine Carbonsäure als Ankerpunkt und drei orthogonale Schutzgruppen besitzt, die unabhängig voneinander abgespalten werden können (**Abbildung 25**). Die gängigsten Schutzgruppen für Amine speziell in der Peptidsynthese sind Boc- (*tert*-Butyloxycarbonyl)^[34] und Fmoc-Gruppen (Fluorenylmethoxycarbonyl)^[35]. Die Boc-Schutzgruppe kann unter sauren Bedingungen, wie unter Zusatz von TFA oder HCl, abgespalten werden,^[36] während die Fluorenylmethylschutzgruppe unter Zugabe von Piperidin entfernt werden kann.^[37] Für die Carbonsäurefunktionen wurden eine Benzyl- bzw. eine Methylschutzgruppe ausgewählt. Durch hydrogenolytische Spaltung der Benzylschutzgruppe sollte die Carbonsäure regeneriert werden, die anschließend an einen Alkandiol-Linker gebunden werden sollte.

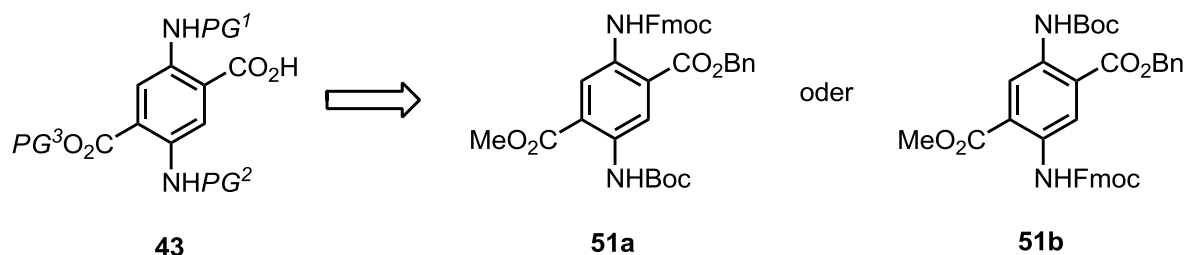


Abbildung 25: Bausteine für die Synthese an fester Phase.

3.1.1 Synthese der Succinylsuccinate

Für die Isolierung der Succinylsuccinate wurden die Vorschriften des Arbeitskreises verwendet.^[31,38] Es war vorab erforderlich, die entsprechenden Diester zu erhalten. Der Bernsteinsäuredibenzylester **52b** und der Dimethylester **52a** wurden aus Bernsteinsäureanhydrid über die Veresterung des Säurechlorids in guten Ausbeuten synthetisiert. Der Dimethylester **52a** wurde durch Umkristallisation und der Dibenzylester **52b** durch Chromatographie gereinigt. Der unsymmetrische Benzylmethylester **52c** wurde in zwei Schritten erhalten. Zunächst erfolgte die Ringöffnung des Bernsteinsäureanhydrids mit Benzylalkohol, wodurch der Monobenzylester gebildet

wurde. Dann schloss sich die nucleophile Substitution des im basischen Milieu gebildeten Carboxylats an Methylodid an (**Abbildung 26**).

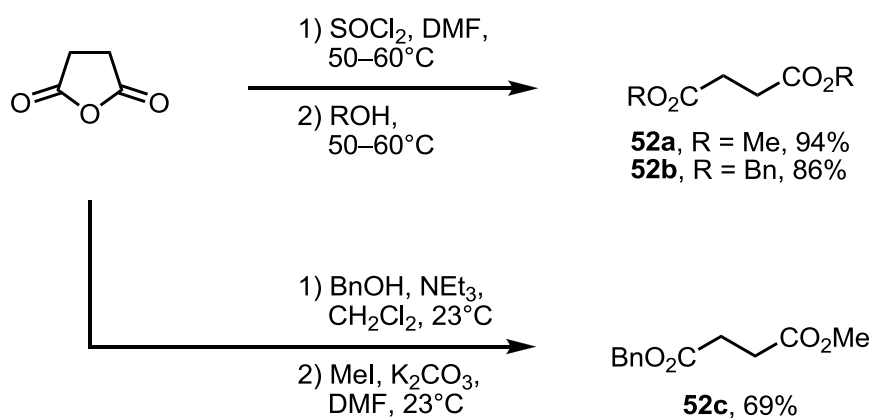


Abbildung 26: Darstellung der Bernsteinsäurediester **52a–c**.

Jeweils zwei Äquivalente der Diester **52a–c** wurden durch eine intermolekulare Claisen- und Dieckmann-Kondensation zu den cyclischen Succinaten **17b**, **17d** und **17e** umgesetzt (**Abbildung 27**). Diese Succinate liegen durch die Stabilisierung mit Wasserstoffbrückenbindungen komplett als Dienole vor und zeigen unter UV-Licht eine blaue Fluoreszenz. Wie schon *Pflantz*^[39] gezeigt hatte, treten bei der Reaktion mit dem unsymmetrischen Diester **17d** die Komponenten **17b** und **17e** (Ausbeuten nicht angegeben) als Nebenprodukte auf, die allerdings chromatographisch von der Verbindung **17d** getrennt werden konnten.

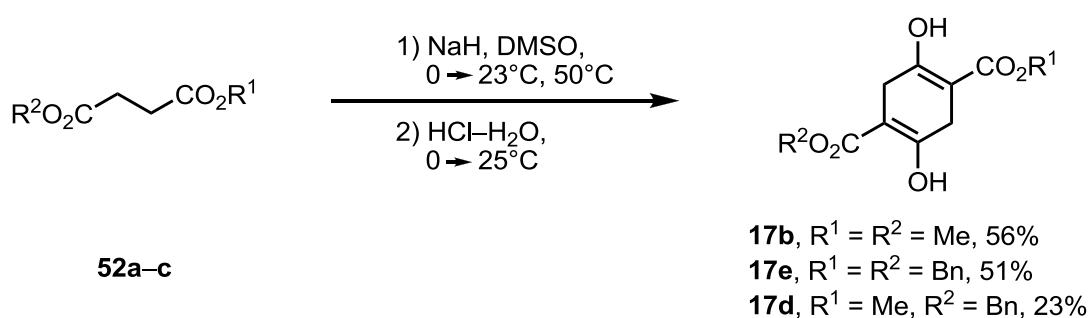


Abbildung 27: Claisen- und Dieckmann-Kondensation.

3.1.2 Optimierung der Ammonolyse

Schlüsselschritt bei der Synthese von Terephthalsäurederivaten ist die sogenannte Ammonolyse. Diverse Vorarbeiten haben gezeigt, dass durch Einwirkung von Lösungen von Ammoniak in Alkoholen auf Succinylsuccinate **17** orangefarbene

Lösungen entstehen, deren gelöste Komponenten sich als Diimin- oder Dienamin-derivate **23** oder als deren oxidierten aromatischen Verbindungen **18** herausstellten (**Abbildung 28**).

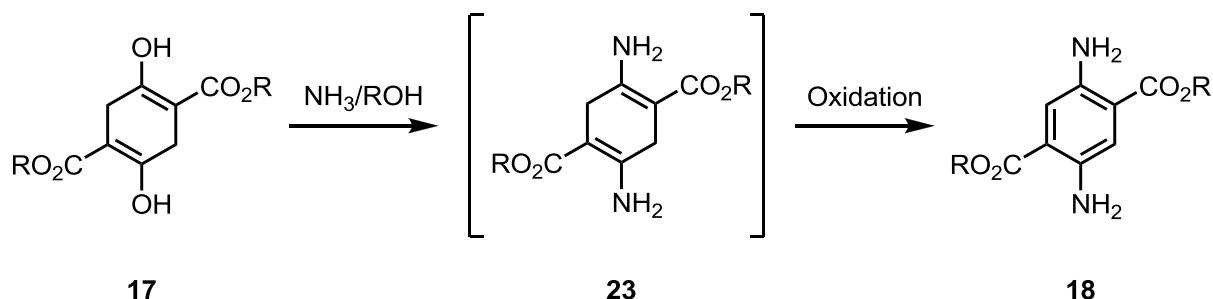


Abbildung 28: Ammonolyse von Succinylsuccinaten **17**.

Die Reproduzierbarkeit stellte sich aber als schwierig heraus, da genaue Reaktionsbedingungen eingehalten werden mussten. Die von *Pflantz*^[31] vorgeschlagene Prozedur, die Lösung von NH_3 in Alkohol durch das Einwirken von wässriger NH_3 -Lösung auf Ethanol in einem Exsikkator herzustellen, konnte nicht reproduziert werden, da die Konzentration des gelösten NH_3 um ein vierfaches geringer ($c = 3.9 \text{ mol l}^{-1}$) ausfiel, als bei der Versuchsvorschrift von *Pflantz* (**Tabelle 1**: Eintrag 1). Mit dieser Lösung konnten nur die Hydrochinone **53a** und **53b** isoliert werden. Somit war eine Änderung der Methode notwendig. Dazu wurde die Konzentration des Ammoniaks durch Einleiten von NH_3 -Gas vor und während des ersten Syntheseschritts erhöht (**Tabelle 1**: Eintrag 2 und 3). Außerdem wurde das Lösungsmittel variiert, um die Umesterung des Methylesters **18b** zu verhindern. Dabei stellte sich auf Grund der guten Löslichkeit des Eduktes MeOH als geeignet heraus, während *i*PrOH nicht die Eigenschaft zeigte, die Komponenten zu lösen und zu keinem positiven Ergebnis führte (**Tabelle 1**: Eintrag 5). Der zweite Syntheseschritt zur Einleitung der Oxidation, die Zugabe von konzentrierter Salzsäure, wurde zunächst beibehalten.

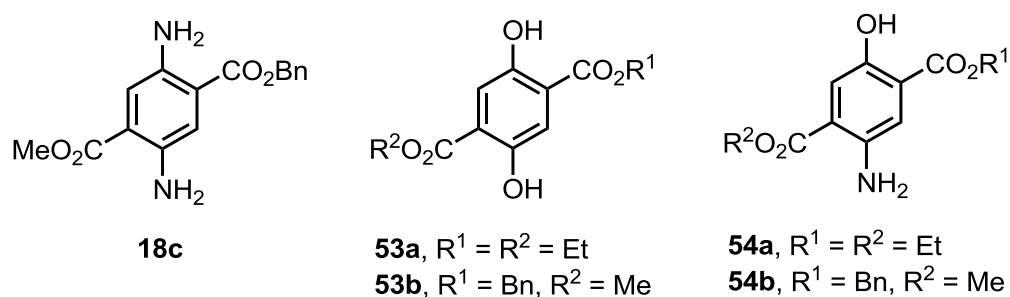


Abbildung 29: Produkt **18c** und mögliche Nebenprodukte bei der Ammonolyse.

Tabelle 1: Ammonolyseversuche

Eintrag	Reagenz	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Besonderheiten	Produkte (Ausbeute)
1	a) NH ₃ ^{a)}	EtOH	60°C	1 h	–	Hydrochinone 53a,b
	b) konz. HCl–H ₂ O	EtOH	60°C	3 d	–	
2	a) NH ₃ ^{b)}	MeOH	40°C	1 h	–	Produkt 18c ,
	b) konz. HCl–H ₂ O	MeOH	50°C	42 h	–	Dimethylester 18b
3	a) NH ₃ ^{b)}	MeOH	40°C	2 h	NH ₃ -Zufuhr	Produkt 18c (8%),
	b) konz. HCl–H ₂ O	MeOH	40°C	3 d	–	Dimethylester 18b (17%)
4	a) –	MeOH	50°C	45 min	NH ₃ -Zufuhr	Produkt 18c und Nebenprodukte
	b) konz. HCl–H ₂ O	MeOH	50°C	3 d	–	
	c) konz. HCl–H ₂ O	MeOH	50°C	6 h	Luft-Zufuhr	
5	a) –	<i>i</i> PrOH	80°C	40 min	NH ₃ -Zufuhr	–
	b) konz. HCl–H ₂ O	<i>i</i> PrOH	80°C	3 d	–	
6	a) –	THF	50°C	20 min	NH ₃ -Zufuhr,	–
	b) konz. HCl–H ₂ O	THF	50°C	16 h	Molsieb (4 Å)	

a) hergestellt im Exsikkator ($c = 3.9 \text{ mol l}^{-1}$ in EtOH); b) hergestellt durch Einleiten von NH₃-Gas ($c = 6.0 \text{ mol l}^{-1}$ in MeOH).

Trotz der Verbesserung im ersten Syntheseschritt konnten beim Einsatz des unsymmetrischen Esters **17d** nur minimale Ausbeuten erzielt werden, die Isolierung des Dimethylesters **18b** gelang mit immerhin 30% Ausbeute (**Abbildung 30**).

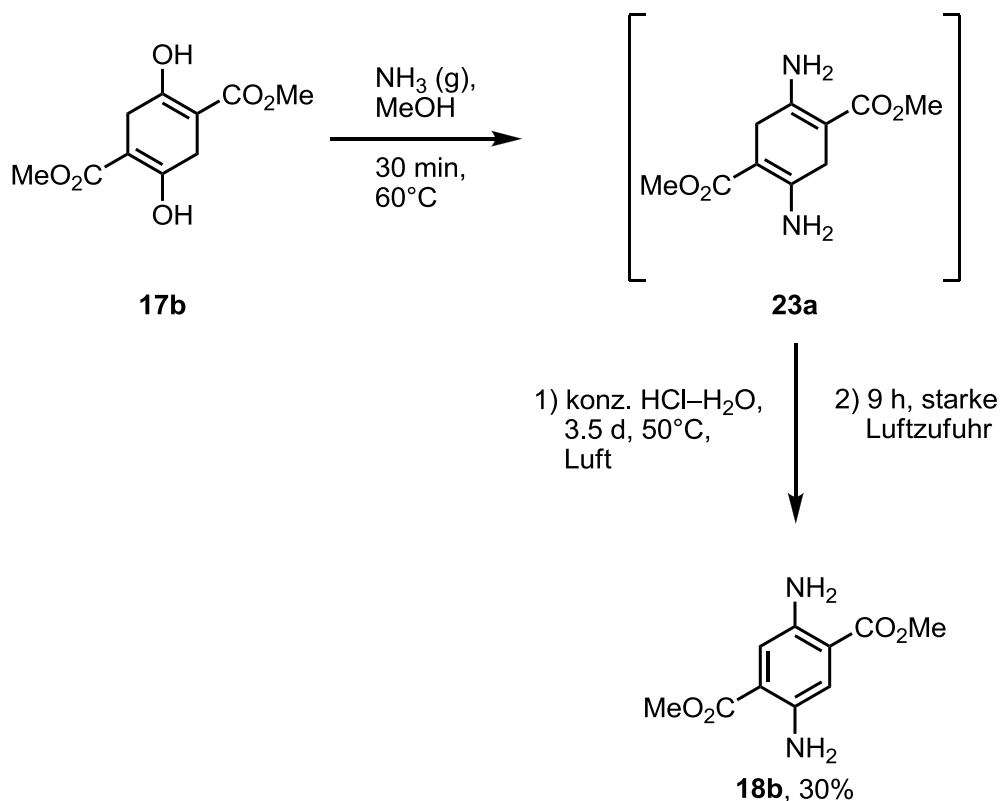


Abbildung 30: Ammonolyse des Dimethylesters **17b**.

Letztendlich führte die Methode aus der Bachelorarbeit von Würdemann^[38] zu einem Teilerfolg. In ihrer Arbeit wurde die erfolgreiche Isolierung des Dienamindibenzylesters **23b** beschrieben (Ausbeute: 72%), die anschließende Oxidation mit Benzochinon geschah allerdings eher in geringen Ausbeuten (32%). Entsprechend der Vorschrift konnten nun der Dimethyl- **17b**, der Dibenzyl- **17e** und der Benzylmethylester **17d** mit NH₄OAc in Toluol und Eisessig am Wasserabscheider kondensiert werden, wobei der Dimethylester schon im Wasserabscheider durch die eintretende Luft aufoxidiert wurde. Bei dem unsymmetrischen Ester **17d** trat ein Gemisch aus Dienamin **23c** und der aromatischen Verbindung **18c** in unterschiedlichen Verhältnissen auf, während beim Dibenzylester **17e** hauptsächlich das Dienamin **23b** vorlag. Die Enaminbildung mit NH₄Cl anstelle des Acetats fand unter gleichen Bedingungen nicht statt. Anschließend musste noch nach einem geeigneten Oxidationsschritt gesucht werden. Probleme stellten nach wie vor der Wassergehalt nach Zugabe von konzentrierter Salzsäure und die langen Reaktionszeiten von

mehreren Tagen dar, die entweder zum Edukt oder zu Polymerisationen führten. Deshalb wurde die Oxidation unter zur Hilfenahme von Eisessig oder von einem Überschuss an MnO_2 durchgeführt. Dabei wurden aber nur Edukt oder Zersetzungsprodukte erhalten. Nicht nur die Wahl des Oxidationsmittels stellte ein Hindernis dar, denn es musste ein alternatives Lösungsmittel gefunden werden, in dem sich Gase gut lösen und keine Umesterungen stattfinden. Schließlich wurde als Säurezusatz HCl in $i\text{PrOH}$ und als Lösungsmittel trockenes DMF gewählt (**Abbildung 31**). Dimethylformamid kann Luftsauerstoff und die Reaktionskomponenten in ausreichendem Maß lösen^[40] und die Chlorwasserstofflösung ist wasserfrei. Der sterisch gehinderte Alkohol führt außerdem in der Regel nicht zu einer Umesterung. Durch direktes Blasen von synthetischer Luft auf die Oberfläche der Reaktionslösung konnte zudem die Oxidationszeit auf 5–7 h reduziert werden. Diese Methode hat das Problem der schlechten Reproduzierbarkeit behoben und ist zudem auch noch auf andere Systeme (siehe Abschnitt 3.4.4.1) übertragbar.

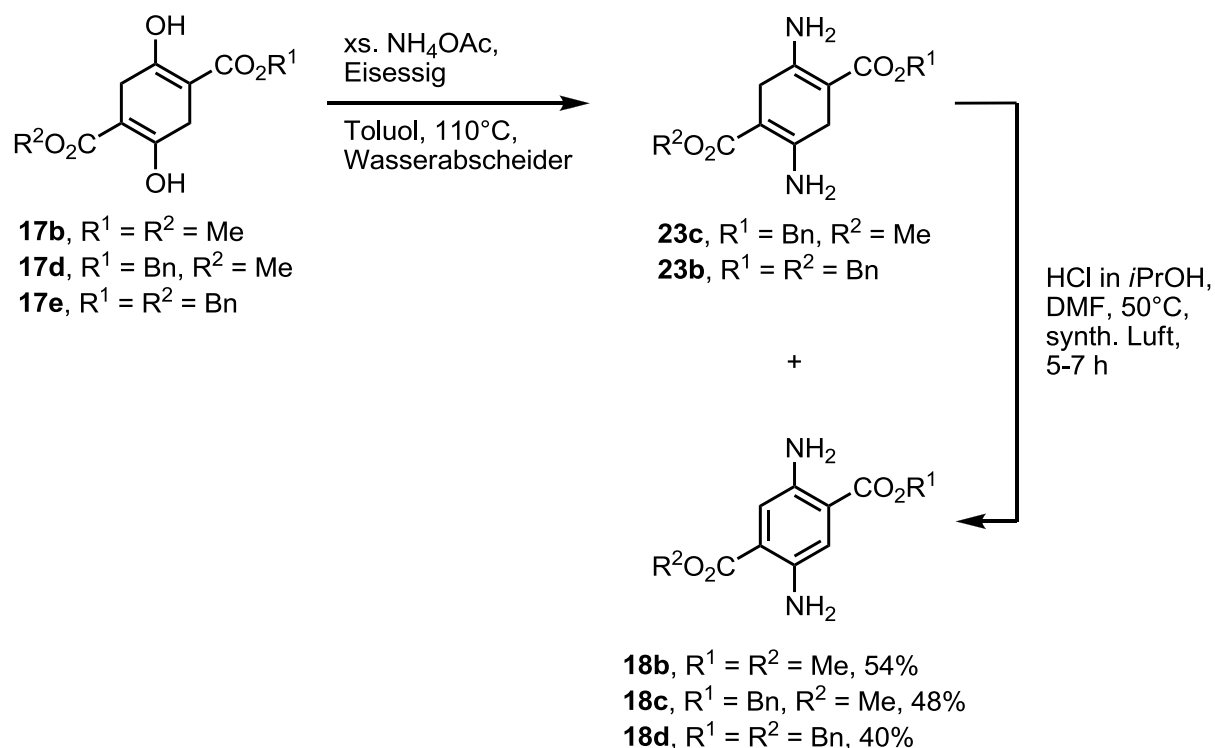


Abbildung 31: Optimierte Reaktionsbedingungen für die Synthese der Diamino-terephthalsäurederivate **18b–d**.

3.1.3 Einführung der Boc-Schutzgruppen

Die ersten Versuche zur selektiven einfachen Einführung einer Boc-Schutzgruppe an dem Diaminodimethylester **18b** wurden, den Vorarbeiten^[31] entsprechend, stark verdünnt in CH₂Cl₂ bei 23°C durchgeführt. Die Reaktionszeit musste jedoch auf mehrere Tage erweitert werden, da nach 16 h immer noch ein stark fluoreszierender oranger Spot in der Dünnschichtchromatographie zu erkennen war, der vom Edukt stammte. Erst nach zwei Tagen konnte kein weiterer Umsatz beobachtet werden und die Reaktion wurde beendet. Das Produkt wurde in Ausbeuten von 50–80% isoliert. Ein Problem bei dieser Reaktion ist der Lösungsmittelverlust, der durch den geringen Dampfdruck von CH₂Cl₂ und die relativ lange Reaktionszeit verursacht wird. Dementsprechend führt das Eindampfen zu einer erhöhten Konzentration und damit zur vermehrten Biscarbamatbildung. Es wurde deshalb ein anderes Lösungsmittel verwendet. Die Wahl von EE führte reproduzierbar nach 5 d zu einer Ausbeute von 84% und bei einer längeren Reaktionszeit von 17 d konnten sogar 93% Produkt erzielt werden. Unter ähnlichen Bedingungen wurden das Mono-Boc-geschützte Dibenzyl-derivat **32d** und die beiden Regioisomere **32a** und **32b**, ausgehend vom unsymmetrischen Benzylmethylester **18c**, isoliert (**Abbildung 32**).

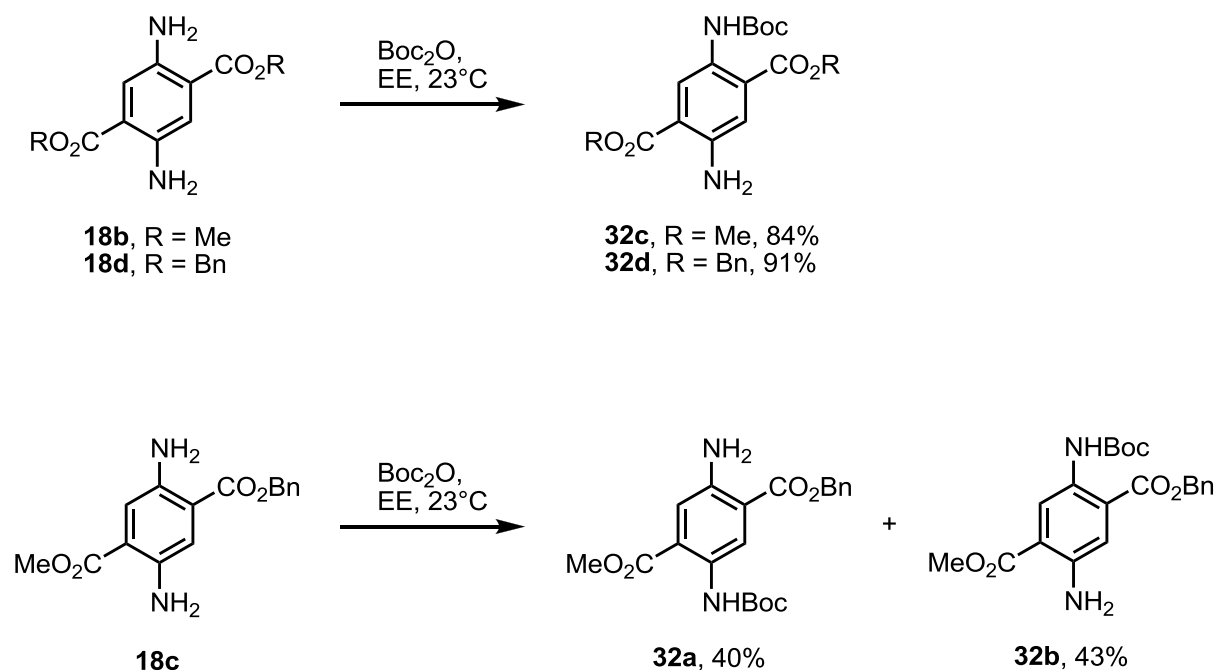


Abbildung 32: Selektive Einführung von nur einer Boc-Schutzgruppe.

Parallel zur Umsetzung mit einem Äquivalent Boc_2O wurde das Ziel verfolgt, den Benzylmethylester **18c** mit zwei Boc-Schutzgruppen zu versehen, damit dieser Baustein später selektiv am Benzylester entschützt und mit Verbindung **32c** zum Oligomer amidiert werden konnte. Nach anfänglichen Versuchen wurde auf einen Überschuss von Boc_2O verzichtet, da die Abtrennung des überschüssigen Pyrocarbonates durch Hydrolyse mit NH_4Cl -Lösung zwar möglich, aber in großen Mengen nicht vollständig durchführbar war. Das Anbringen von einer Schutzgruppe war, wie man auch im oberen Abschnitt erkennen kann, ohne weiteres bei 23°C durchführbar. Jedoch gelang die Einführung der zweiten Schutzgruppe nur bei erhöhter Temperatur. So konnte z. B. beim Rühren bei einer Reaktionstemperatur von 23°C in CH_2Cl_2 über 24 h nur das gewünschte Bis-Carbamat **56** in 17% Ausbeute und die Monoprodukte **32a** und **32b** in 72% erhalten werden. Bei der Erhöhung der Temperatur auf 50°C in einer sehr kleinen Menge von EE über mehrere Tage konnte das Produkt in 93% Ausbeute erhalten werden (**Abbildung 33**).

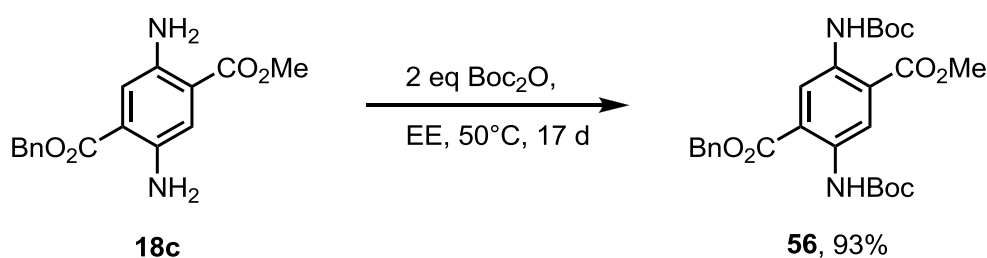


Abbildung 33: Das Einführen von zwei Boc-Schutzgruppen.

Die gleichen Ergebnisse konnten bei den Mono-Fmoc-geschützten Verbindungen **55a** und **55b** beobachtet werden. Hier war nicht nur eine erhöhte Temperatur erforderlich, sondern auch ein Überschuss an Boc_2O (**Abbildung 34**). Der Wechsel des Lösungsmittels zu 1,2-Dichlorethan, um das Gemisch über 70°C erwärmen zu können, führte zu keiner Verbesserung. Ein Faktor für die geringe Umsetzung kann der elektronische Einfluss der ersten Carbamatschutzgruppe sein, die Elektronendichte und so die Nucleophilie des Amins verringert. Es ist aber auch durchaus möglich, dass das Einführen der Boc-Schutzgruppe bei der Verbindung **55a** in ähnlichen Ausbeuten abläuft, wie beim Regioisomer **55b**. Aus zeitlichen Gründen konnte aber die Versuchsvorschrift nicht auf die anderen Komponenten übertragen werden. Ein weiterer möglicher Grund für den geringen Umsatz kann die geringere Reaktionszeit sein.

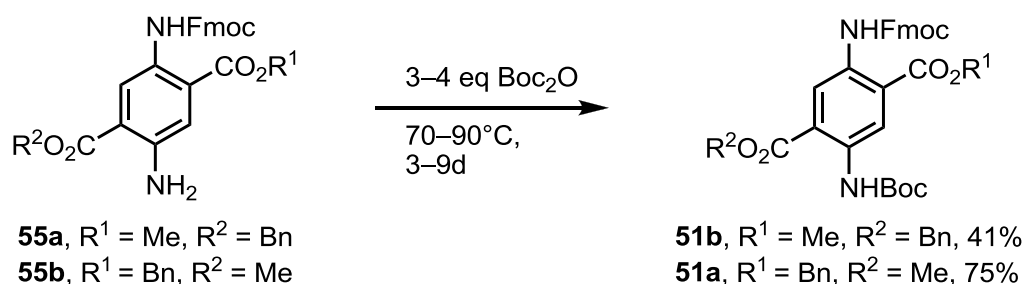


Abbildung 34: Das Einführen einer Boc-Schutzgruppe in Anwesenheit einer Fmoc-Schutzgruppe

3.1.4 Einführung der Fmoc-Schutzgruppen

Für die Einführung einer Fmoc-Schutzgruppe wurden zwei Reagenzien verwendet zum einen das Fmoc-O-Succinimid und zum anderen das reaktivere Fmoc-Cl. Während das Succinimid direkt an der Carboxyoxifunktion substituiert ist und nach dem Angriff des Amins abgespalten wird, entsteht beim Angriff des Amins am Fmoc-Cl nur HCl. Für das Anbringen einer Fmoc-Schutzgruppe an dem Diaminoterephthal-säurebenzylmethylester **18c** eignete sich das Fmoc-O-Succinimid, da bei 23°C keine zweifache Substitution beobachtbar war (**Abbildung 35**). Nach zweifacher Chromatographie konnten das Regioisomer **55a** und das Regioisomer **55b** isoliert werden. Diese Substanz kann wahrscheinlich aus elektronischen Gründen nur einmal selektiv an einer Aminogruppe die Fmoc-Schutzgruppe anbringen, da eine zweifache Substitution, zumindest bei 23°C nicht zu beobachten war. Der elektronenziehende-Effekt der Carbamatschutzgruppe führt dazu, dass die Nucleophilie der Aminofunktion abnimmt und diese dann nicht mehr in der Lage ist das Fmoc-O-Succinimid anzugreifen. Die Schutzgruppe wurde trotz Zugabe von NEt₃ in das Laufmittelgemisch bei der chromatographischen Reinigung nicht abgespalten.

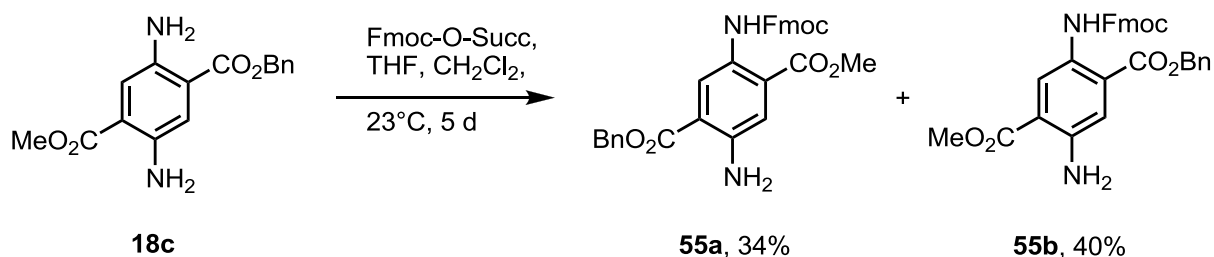


Abbildung 35: Selektive Einführung einer Fmoc-Schutzgruppe.

Die Einführung der Fmoc-Gruppe in Anwesenheit einer zweiten Carbamatschutzgruppe stellte sich wieder als problematisch heraus, denn unter Zusatz von Fmoc-O-Succ sind die Verbindungen **58a** und **58b** unter diversen Bedingungen, sei es bei erhöhter Temperatur, bei längerer Reaktionszeit oder unter Zusatz von unterschiedlichen Basen (**Tabelle 2**) nicht isolierbar. Das Fmoc-Cl besitzt im Vergleich zum Succinimid eine höhere Elektrophilie und somit eine höhere Reaktivität. Im geeigneten Lösungsmittel konnte durch Reaktion mit Fmoc-Cl die Verbindung **58b** unter milden Bedingungen in 62% Ausbeute erhalten werden, welches im weiteren Verlauf als Terephthalsäurebaustein an die feste Phase angebracht werden sollte.

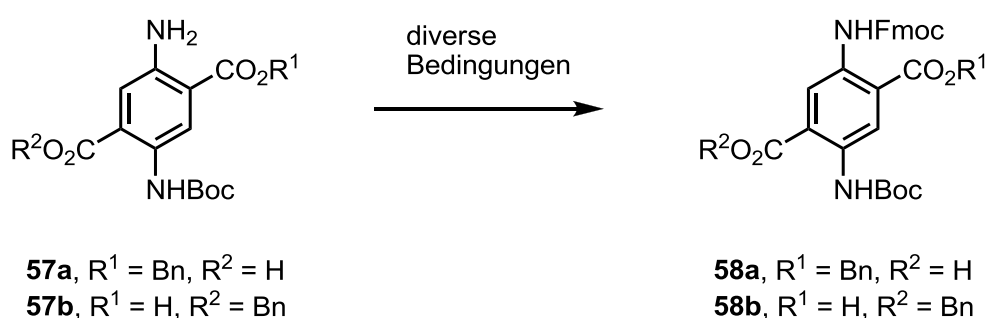


Tabelle 2: Diverse Bedingungen zur Einführung der Fmoc-Schutzgruppe.

Produkt	Zusatz	LM	T/°C	t/d	Ausbeute
58a	Fmoc-O-Succ	Dioxan	23	0.67	–
58a	Fmoc-O-Succ	Dioxan	23	7	–
58a	Fmoc-O-Succ, NaHCO ₃	Dioxan	50	5	–
58b	Fmoc-O-Succ, DMAP	Dioxan	23	6	–
58b	Fmoc-Cl, NaHCO ₃	Dioxan	0 → 23	1	–
58b	Fmoc-Cl	CH ₂ Cl ₂	0 → 23	0.67	62%

3.1.5 Abspaltung des Benzylesters

Die hydrogenolytische Spaltung der Benzylestergruppe der Verbindung **56** wurde in einer H₂-Atmosphäre in Anwesenheit von Pd-C (10 Massen-% Pd) durchgeführt. Der erste Versuch, diese Reaktion bei 23°C in EE über 16 h ablaufen zu lassen,^[31] zeigte keinen Erfolg. Erst der Wechsel zu einem Lösungsmittel, welches das Gas besser lösen konnte und leichtes Erhitzen auf 60–70°C führten zur Isolierung der Säure in 58% Ausbeute. Der Verlust an Substanz wurde eventuell durch die Aufarbeitungsmethode verursacht, denn bei der Filtration/Chromatographie über Kieselgel und die anschließende Elution mit EE blieben Rückstände auf der Säule liegen, die allerdings nicht durch weitere Zugabe von EE gelöst werden konnten. Der Wechsel zu polareren Lösungsmitteln wie MeOH führte zum Erhalt von verunreinigtem Produkt. Es hatte sich allerdings gezeigt, dass das Triethylammoniumsalz **39b** bessere lösliche Eigenschaften besitzt als die entsprechende Säure **39a**. Dementsprechend wurde die Chromatographie mit einem Lösungsmittelzusatz von NEt₃ durchgeführt und die Ausbeute konnte auf 95% verbessert werden (**Abbildung 36**).

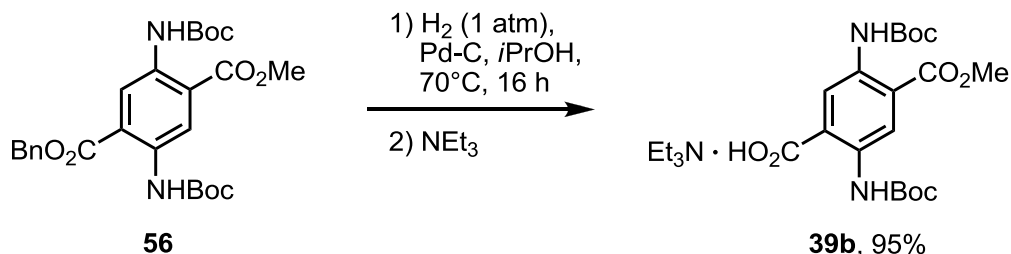


Abbildung 36: Abspaltung des Benzylesters.

Um zu den Zielmolekülen **58b** und **58d** zu gelangen, wurde der Versuch unternommen, die vierfach geschützten Bausteine **51a** und **51b** den Bedingungen einer hydrogenolytischen Spaltung zu unterwerfen (**Abbildung 37**). Die gewohnte Methodik, das Reaktionsgemisch mit Hilfe eines Pd-Katalysators unter Wasserstoffatmosphäre (1 atm) bei 70°C zu erhitzen, führte nicht nur zur Abspaltung des Benzylesters, sondern zusätzlich noch zur Abspaltung der Fmoc-Gruppe. Auch die Umsetzung mit Raney-Nickel in MeOH unter H₂ (1 atm) und als Additiv zugesetztes NiCl₂ · 6 H₂O und NaBH₄,^[41] die *in situ* Nickelborid bilden, führten zu keiner gewünschten Reaktion. Es konnten lediglich das Edukt oder Zerfallsprodukte isoliert werden.

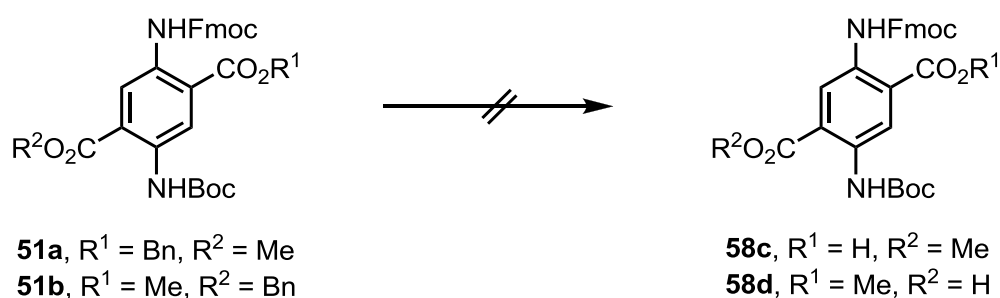


Abbildung 37: Erfolgreiche Versuche zur Abspaltung der Benzylgruppe bei den Verbindungen **51a** und **51b**.

3.1.6 Selektive Monoverseifung

Auf Grund der fehlgeschlagenen Hydrogenolyse des Benzylesters im Beisein der Fmoc-Schutzgruppe wurde nun die selektive Entschützung der Diester **32a** und **32b** angestrebt. Danach sollte das Anbringen der Fmoc-Schutzgruppe erfolgen (Abschnitt: 3.1.4). Für dieses Vorhaben wurde eine Vorschrift verwendet, in der symmetrische Diester monoverseift wurden.^[42] Dazu wurde zu einer Lösung von dem Diester in einem THF/Wasser-Gemisch unter Eiskühlung eine wässrige NaOH-Lösung ($c = 0.25 \text{ mol l}^{-1}$) getropft. Nachdem das Gemisch langsam auf 23°C erwärmt wurde, konnte nach Chromatographie die Säure **57b** und bei Zusatz von NEt_3 ein Addukt aus Carbonsäure und NEt_3 (**57c**) (1 : 1.33, nicht abgebildet) isoliert werden. Interessanterweise konnten bei der Reaktion der Verbindung **32b** nur die Komponente **57b** und ein wenig Disäure erhalten werden, während das Regioisomer **32a** beim Umsatz ein Gemisch aus der Verbindung **57a** und wenig **59** lieferte, die nicht voneinander getrennt werden konnten (**Abbildung 38**). Hier kann die Vermutung aufgestellt werden, dass die Boc-Schutzgruppe den benachbarten Ester abgeschirmt hatte und so die Reaktion eher an der zugänglicheren Position stattfand. Auch spielte hier die einfachere Abspaltung des Methylrestes in Gegenwart eines Benzylesters eine wichtige Rolle.

In diesem Zusammenhang kann in weiteren Studien die Monoverseifung eines Mono-Boc geschützten symmetrischen Diesters untersucht werden. Ein kleiner Probeansatz mit der Dibenzylesterverbindung **32d** zeigte schon erste Erfolge mit nahezu quantitativen Ausbeuten.

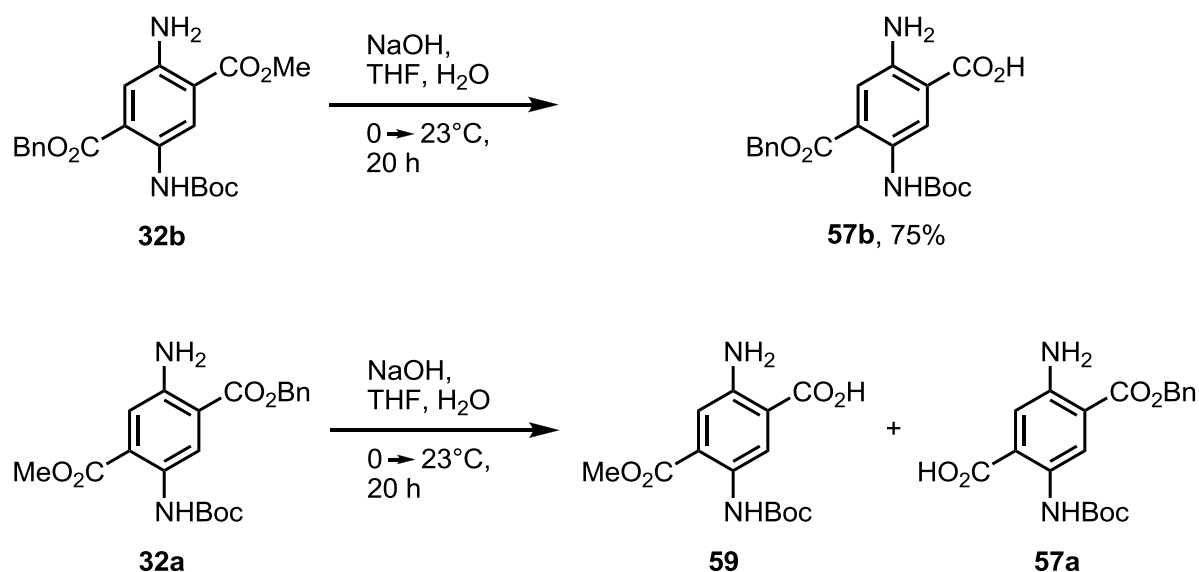
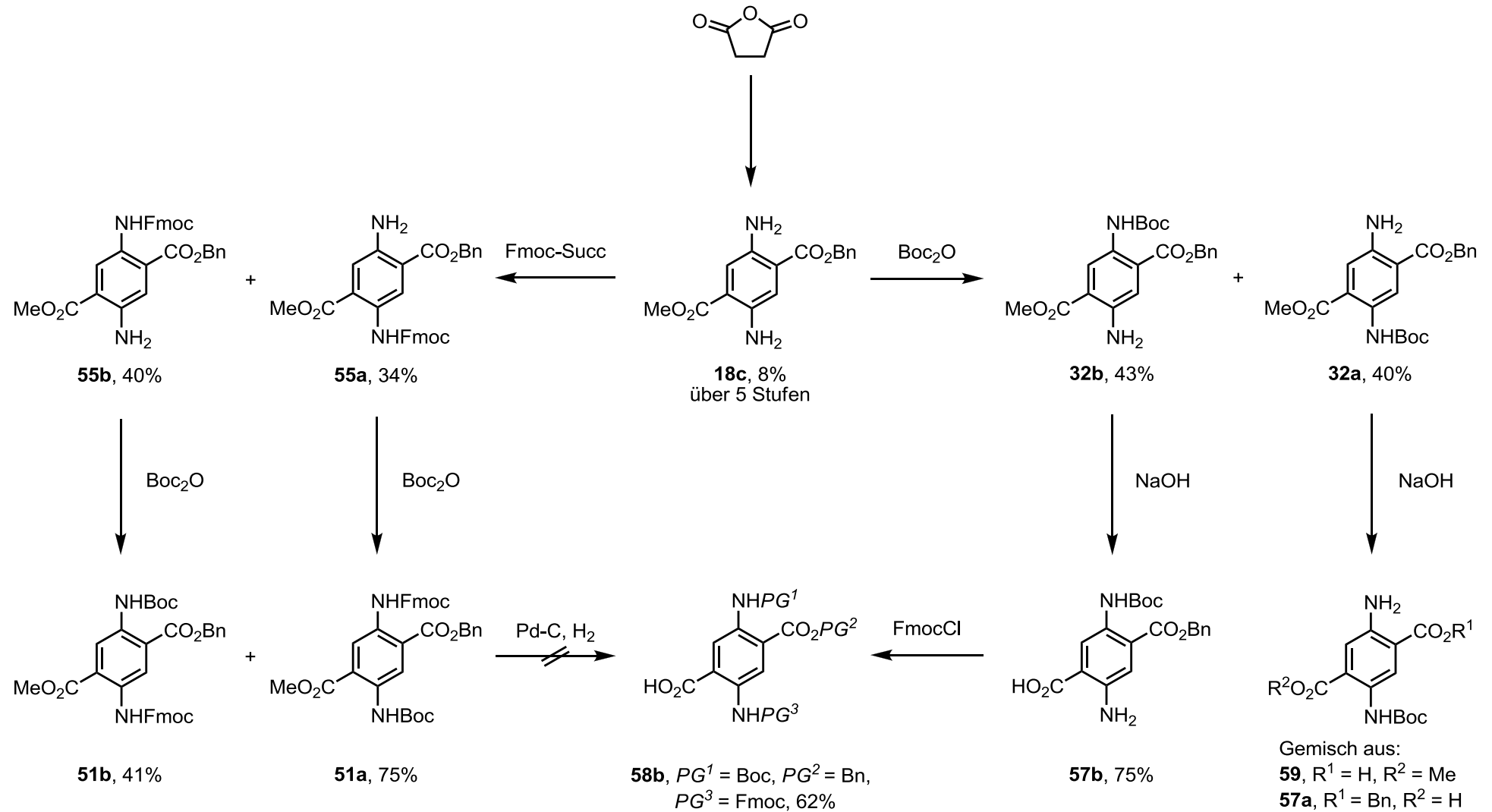


Abbildung 38: Monoverseifung der Diester **32a** und **32b**.

3.1.7 Kurze Zwischenzusammenfassung

Ausgehend vom Bernsteinsäureanhydrid konnte der dreifach geschützte Terephthalsäurebaustein **58b** in acht Stufen synthetisiert werden (**Abbildung 39**). Das Anhydrid wurde mit zwei unterschiedlichen Estergruppen ausgestattet, in der Claisen-Dieckmann-Kondensation cyclisiert und mit Ammoniumacetat ammonolysiert. Schließlich konnte das Diaminoterephthalsäurederivat **18c** über fünf Stufen in 8% Ausbeute erhalten werden. Für den weiteren Syntheseweg (**Abbildung 39**: linker Abschnitt) wurden zunächst eine Fmoc- und Boc-Schutzgruppe eingefügt, die zu den Verbindungen **51a** und **51b** führte. Die anschließende hydrogenolytische Spaltung der Benzylgruppe bewirkte zusätzlich die Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe, deshalb wurde eine andere Route verfolgt (**Abbildung 39**: rechter Abschnitt). Nach der Reaktion der Verbindung **18c** mit einem Äquivalent Boc₂O wurde selektiv ein Ester verseift. Dabei konnte nur das Regioisomer **32a** eine reine Verbindung liefern. Das Isomer **32b** führte zu einem Gemisch aus Methyl- und Benzylester **57a** und **59**, die nicht getrennt werden konnten. In dem letzten Schritt konnte der Baustein **58b** aus der Carbonsäure **57b** durch Zugabe von FmocCl erhalten werden.

Abbildung 39: Synthese des Terephthalsäurebausteins **58b**.

3.1.8 Fluoreszenzeigenschaften der Terephthalsäurebausteine

Substitution kann die fluoreszierenden Eigenschaften der Terephthalsäurebausteine beeinflussen. Dabei spielt es eine wichtige Rolle, ob die Gruppen einen elektronenziehenden oder einen schiebenden Effekt ausüben. Das Ausgangsmaterial für die Ammonolyse, das Succinat **17d**, zeigt schon eine geringe Fluoreszenz im blauen Bereich (**Abbildung 40**), da durch die beiden 1,3-Dicarbonylfragmente eine Konjugation gewährleistet ist. Die Derivate **18b** und **18c** zeigen eine deutliche Emission in gelbgrünen Bereich, konzentriert in Lösung erscheinen sie jedoch orange. Dabei spielt es keine Rolle, welche Alkylreste am Ester substituiert sind, da sie mit dem chromophoren Kern nicht wechselwirken. Beim Einführen einer Carbamatschutzgruppe, wie z. B. Boc, wird die Elektronendichte aus dem aromatischen fluoreszierenden Kern gezogen, die zu einer Verschiebung in den kurzwelligeren Bereich führt. Es ist dabei belanglos, welches Regioisomer vorliegt (Verbindung **32a** und **32b**). Entsprechend wird bei der Anwesenheit einer weiteren Carbamatschutzgruppe weitere Elektronendichte entzogen, wie man bei der Verbindung **56** erkennen kann. Dieses führt zu einer Emission von $\lambda_{\max} = 450 \text{ nm}$. Keinen großen Effekt übt die Verseifung eines zweifach carbamatgeschützten Carbonsäureesters auf die Verschiebung aus, die Carbonsäure **58b** zeigt immer noch eine Fluoreszenz im blauen Bereich.

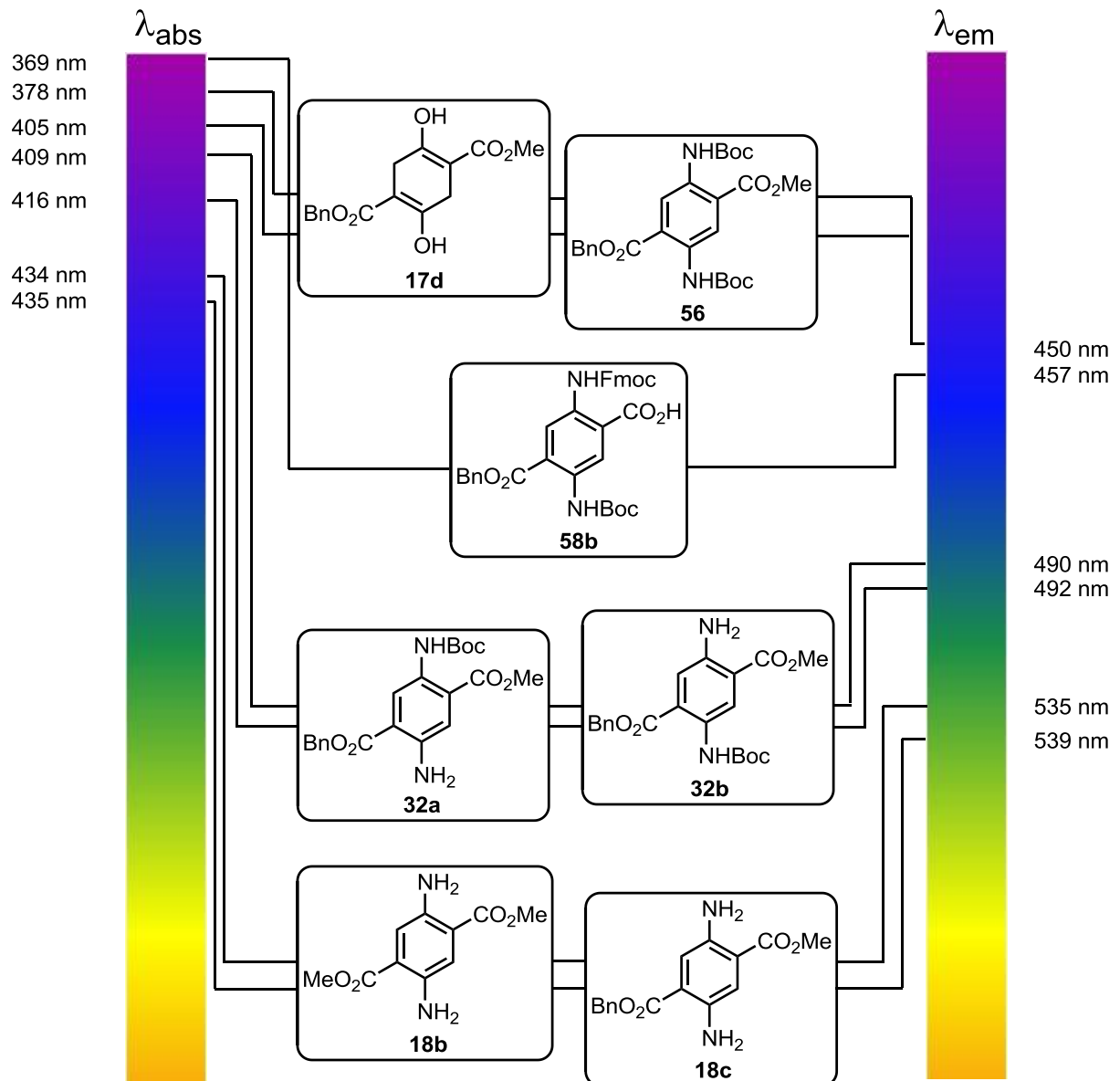


Abbildung 40: Wellenlängen der Fluoreszenz von Terephthalsäurebausteinen.

3.2 Das Terephthalsäure-Oligomer

Durch die Verknüpfung zweier Terephthalsäurebausteine durch eine Amidbindung können die optischen Eigenschaften der Terephthalsäurederivate beeinflusst werden, da sich das konjugierte aromatische System auf ein größeres Molekül ausbreiten kann (**Abbildung 41**). Die freiliegenden Amino- und Carboxylgruppen können außerdem je nach pH-Wert protoniert oder deprotoniert werden, dadurch wird das „push-pull“-System verändert. Daher wird vermutet, dass bei diesem System eine pH-abhängige Fluoreszenz zu Stande kommt.

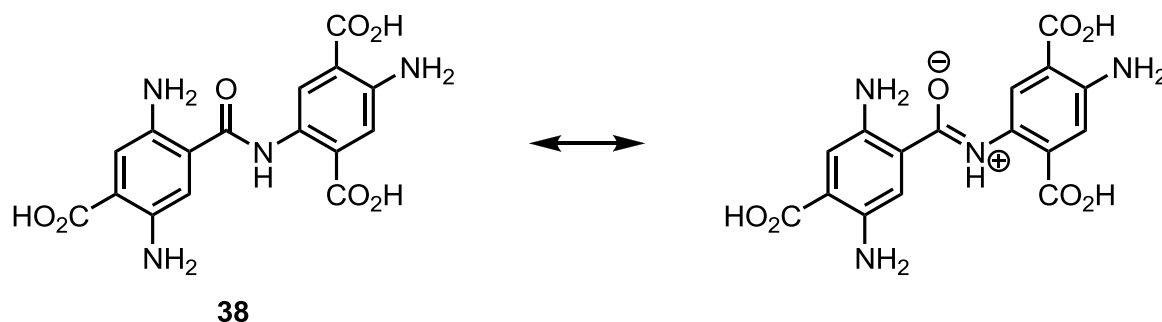


Abbildung 41: Angestrebtes Oligomer **38** und deren Grenzstruktur.

3.2.1 Kupplungsreaktion

Die zweifach Boc-geschützte Carbonsäure **39a** sollte zunächst mit dem Amin **32c** gekuppelt werden (**Abbildung 42** und **Tabelle 3**). Als Kupplungsreagenzien sollten hierfür DCC und HOBT dienen. Die Reaktion fand zunächst, ähnlich wie in den Vorarbeiten von *Pflantz*,^[31] in CH₂Cl₂ bei erhöhter Reaktionstemperatur in einem dicht verschlossenen Reaktionsgefäß statt. Leider konnten lediglich, auch nach Zusatz von DMAP, Nebenprodukte isoliert werden. Die Vermutung lag nahe, dass die geringe Löslichkeit der Carbonsäure für den schlechten Umsatz verantwortlich war. Beim Einsatz des Ammoniumsalzes **39b** unter ähnlichen Bedingungen konnte das Produkt leicht verunreinigt mit 27% Ausbeute isoliert werden. Eine Erhöhung der Temperatur in 1,2-Dichlorethan auf 80–100°C und die *in situ* Erzeugung des Salzes in der Reaktionsmischung durch NEt₃ führte zu Nebenprodukten oder zur Zersetzung. In Kombination wurde letztendlich das Oligomer **37** in 31% Ausbeute, ausgehend vom Salz **39b** und unter Zugabe von DMAP, isoliert.

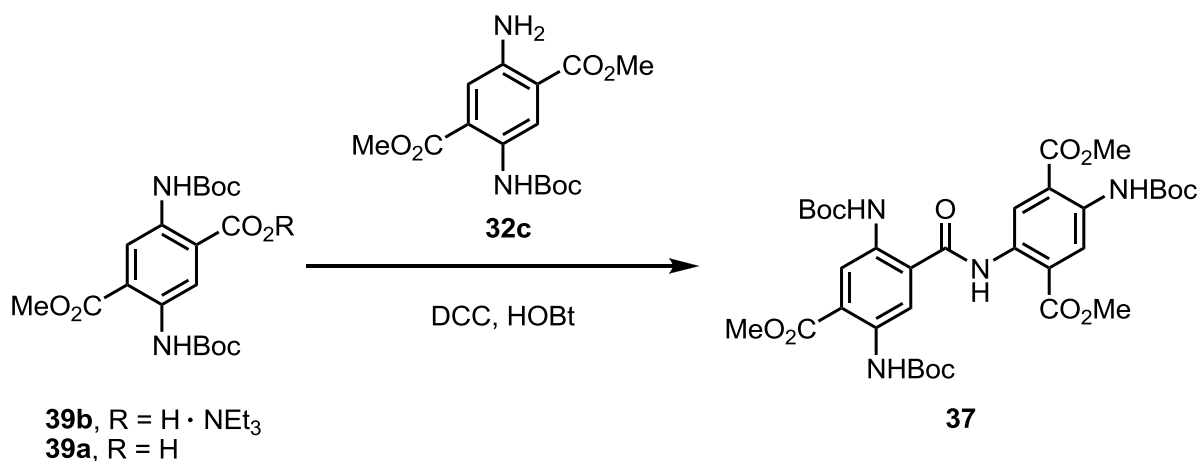


Abbildung 42: Kupplungsversuche der Verbindungen **39a** und **39b**.

Tabelle 3: Versuche zur Kupplungsreaktion.

Edukt	Zusatz	LM	T/°C	t/d	Ausbeute
39a	–	CH ₂ Cl ₂	80	3	–
39a	DMAP	CH ₂ Cl ₂	80	4.5	NP
39a	–	CH ₂ Cl ₂	80	2.5	ca. 27%
39b	–	C ₂ H ₄ Cl ₂	80–100	5	NP
39b	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	80	2.5	–
39b	DMAP	CH ₂ Cl ₂	80	2.5	31%

3.2.2 Verseifungsversuche und Entfernen der Schutzgruppen

Für die dreifache Verseifung des Kupplungsproduktes **37** (**Abbildung 43**) wurden zwei Reagenzien verwendet: zum einen eine wässrige 10%ige Natronlauge, zum anderen eine 40%ige Me₃NBnOH-Lösung in MeOH. Trotz Änderung der Reaktionsbedingungen, wie das Lösungsmittel oder die Temperatur, konnte die Tricarbonsäure **60** nicht erhalten werden. Der Grund für das Misslingen dieser Synthese lag sehr wahrscheinlich in der Aufarbeitung und der Isolierung der dreifachen Säure. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure oder wässriger Citronensäure konnte kein Niederschlag beobachtet werden und die Extraktion mit Lösungsmitteln (EE, CH₂Cl₂ und MTBE) führte auch nicht zum Erhalt der gewünschten Verbindung. Sie war nicht durch NMR nachweisbar, jedoch massenspektrometrisch detektierbar. Aus diesen Gründen wurde der Versuch unternommen, die Trisäure nicht zu isolieren, sondern TFA in das Reaktionsgemisch zu geben und anschließend das Zielmolekül **38** nach Extraktion der Reaktionslösung zu erhalten. Auch in diesem Fall konnte die Zielverbindung nicht isoliert werden. Deshalb wurde die inverse Syntheseroute verfolgt, indem erst das dreifach Boc-geschützte Derivat **37** in einer TFA/CH₂Cl₂-Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt konnte in einer Ausbeute von 96% nach chromatographischer Reinigung erhalten werden. Die folgende Verseifung des Triamins **61** führte jedoch erneut zu keinem sinnvollen Ergebnis.

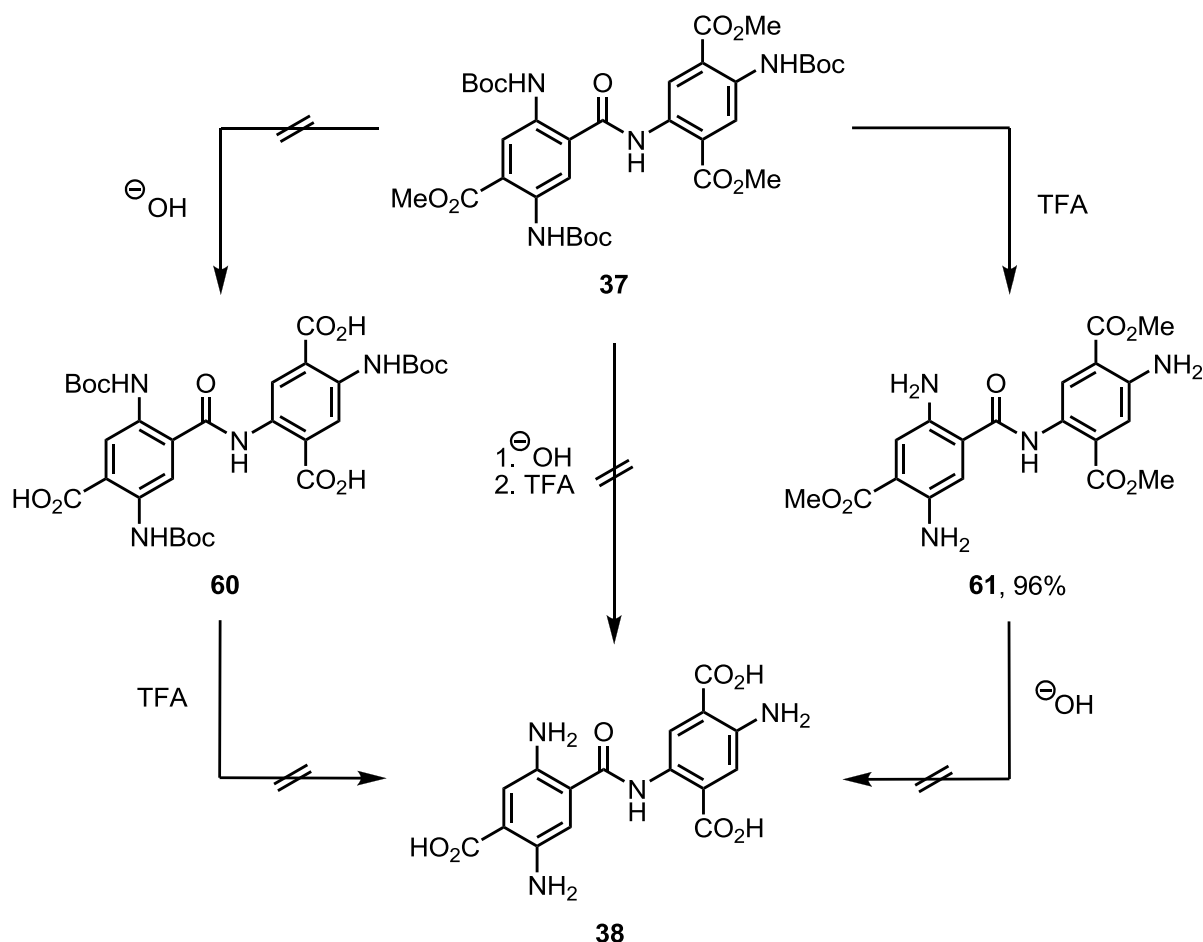


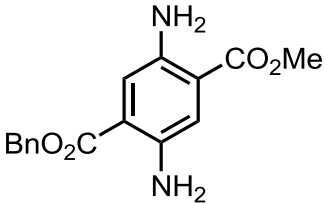
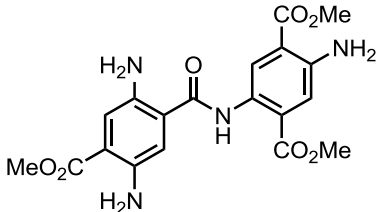
Abbildung 43: Syntheseveruche zur Darstellung des Oligomers **38**.

3.2.3 Fluoreszenz in Abhängigkeit vom pH-Wert

Um den Einfluss von Säuren und Basen auf das Monomer **18c** und das Oligomer **61** zu untersuchen, wurden die Verbindungen mit einem Überschuss an TFA oder NEt_3 versetzt (**Tabelle 4**). Es ist jeweils eine große Absorptionsbande im Bereich von 200–300 nm und eine bzw. zwei kleinere zu erkennen. Den Erwartungen entsprechend besitzen die Wellenlängen der UV-Absorption und Fluoreszenz im Basischen wie auch im Neutralen den gleichen Wert, da keine weiteren Deprotonierungen unter diesen Bedingungen möglich sind. Durch die Protonierung der Aminogruppen wird, sei es beim Monomer oder beim Oligomer, der Einfluss des Elektronendonors geschwächt. Folge der Schwächung ist eine Wellenlängenverschiebung in den kurzwelligen Bereich. Bei dem Oligomer **61** sind durch das konjugierte System zwei kleine Absorptionsbanden zu sehen. Die jeweiligen Absorptions- und Emissionsbanden liegen, im Vergleich zum Monomer **18c**, im kurzwelligeren Bereich. Wenn die Verbindung **61** mit den jeweiligen Absorptionsmaxima

angeregt werden, tritt als Emissionsmaximum, mit Ausnahme von $\text{pH} > 7$, nur eine Bande auf. Im basischen Milieu zeigt das Spektrum bei 479 nm eine kleine Schulter. Bei der Betrachtung des Stokes-Shift kann man die stärkste Verschiebung im Säuren beobachten werden.

Tabelle 4: Vergleich zwischen Monomer **18c** und Oligomer **61**.

Verbindung	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}^{\text{a)}$	Stokes-Shift/nm
 18c	435 (pH = 7)	539 (pH = 7)	104
	370 (pH < 7) ^{b)}	556 (pH < 7) ^{b)}	186 ^{b)}
	435 (pH > 7) ^{c)}	539 (pH > 7) ^{c)}	104 ^{c)}
 61	310, 416 (pH = 7)	490 (pH = 7)	180, 74
	338, 373 (pH < 7) ^{b)}	470 (pH < 7) ^{b)}	132, 97 ^{b)}
	309, 416 (pH > 7) ^{c)}	479, 486 (pH > 7) ^{c)}	170, 70 ^{c)}

$c = 10^{-4} - 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ in CH_2Cl_2 ; a) $\lambda_{\text{irr}} = \lambda_{\text{abs}}$; b) Zugabe von 100 eq TFA; c) Zugabe von 100 eq NEt_3 .

Abbildung 44 zeigt die Abhängigkeit der Wellenlänge nach der Zugabe von jeweils 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 150 und 200 eq TFA bei einer Probenkonzentration von $10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$. Auf Grund von Messungenauigkeiten kann an dieser Stelle nur der Einfluss der Säure auf die Wellenlänge abgeschätzt werden. So verschiebt sich die Emission mit zunehmender Konzentration in den kurzwelligeren Bereich. Im Bereich zwischen der Zugabe von 20 und 50 eq gibt es mit 6 nm Differenz die größte Verschiebung. Nach dieser Zugabe (ab 50 eq) erreicht die Kurve eine Sättigung. Die Wellenlängenverschiebung beträgt zwischen dem Zusatz von 1 und 200 eq in etwa 10 nm.

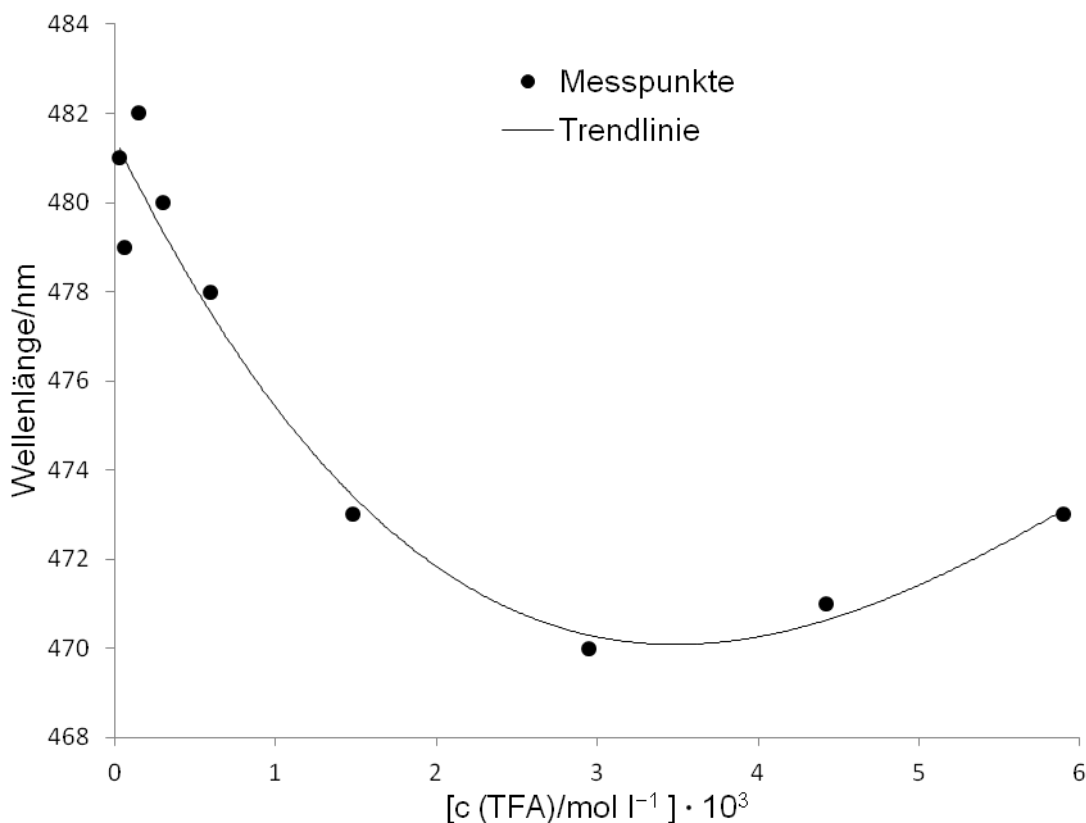


Abbildung 44: pH-Abhängigkeit der Emissionswellenlängen des Triamins **61** unter Zugabe von TFA; $c = 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ in CH_2Cl_2 .

3.3 Festphasensynthese

Für die Automatisierung der Synthese von Tetraamiden sollte der zuvor hergestellte Baustein **58b** an die feste Phase gebracht werden. Hierzu sollte ein Merrifield-Harz (MFH) mit einem basenlabilen Linker verknüpft und dieser mit der ersten Aminosäure versehen werden. Die eigentliche Bindungsstelle zwischen Baustein und Harz sollte aus der freien Aminogruppe der Aminosäure und der Carbonsäure des Bausteins bestehen. In den darauffolgenden Schritten sollten die jeweiligen Schutzgruppen schrittweise basisch, sauer und hydrogenolytisch entschützt und amidiert werden. Die Abspaltung vom Linker und vom Harz sollte dann durch Zugabe von LiOH- oder NaOH-Lösung erfolgen (**Abbildung 45**).

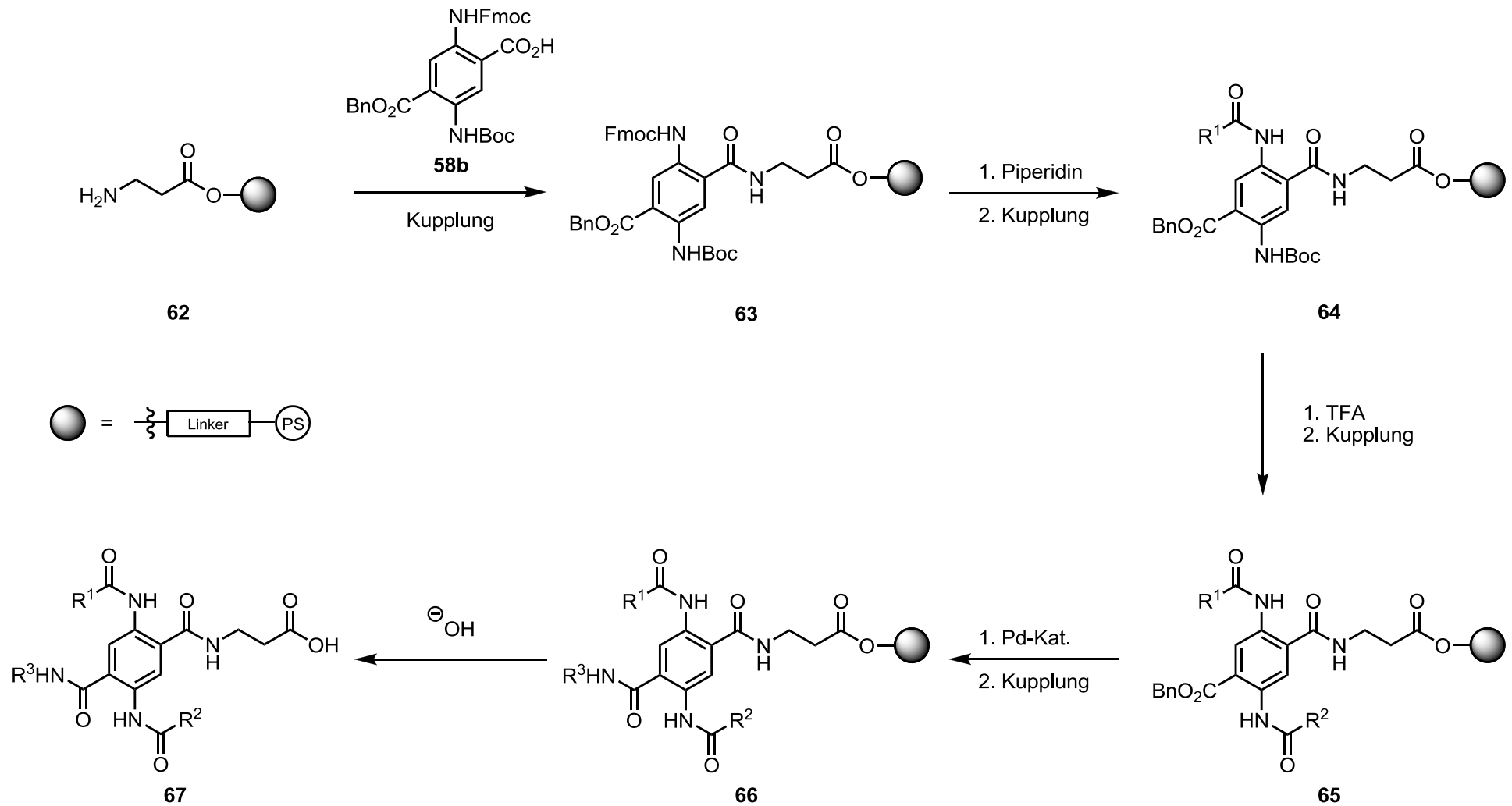


Abbildung 45: Geplante Synthese an der festen Phase.

3.3.1 Methodik und Analytik der Harze

Die Festphasensynthese unterscheidet sich in vielen Punkten von der Reaktion in flüssiger Phase. Durch den Überschuss an Reagenzien kann der Umsatz erhöht werden und durch die Bindung des Substrats an dem festen Träger wird die Reinigung erleichtert, indem die freien unerwünschten Verbindungen einfach von diesem Träger weggespült werden. Die Automatisierbarkeit wurde des Öfteren schon als Grund für das Arbeiten an der festen Phase in dieser Dissertation genannt und stellt eine wesentliche Vereinfachung der Synthese dar. Jedoch birgt die Synthese auch eine Vielzahl von Nachteilen. Durch den Einsatz von Reagenzien im großen Maßstab fällt, wenn die Substanzen nicht recycelt werden können, eine große Menge Abfälle an, die Atomökonomie ist also in diesem Fall schlecht. Des Weiteren können durch unvollständige Reaktionen an fester Phase weitere Nebenprodukte entstehen, die im späteren Abspaltungsprozess mit dem Endprodukt zusammen isoliert werden. Ein weiterer Punkt sind die eingeschränkten Reaktionsbedingungen. Das Merrifield-Harz besitzt z. B. nur eine geringe Thermostabilität. Ein weiterer Nachteil der Festphasensynthese sind die begrenzten Möglichkeiten, Analytik zu betreiben. Die Mittel, die während dieser Dissertation zur Verfügung standen, waren die Elementaranalyse, IR-FT (ATR) und gravimetrische Messungen. Die gravimetrischen Messungen konnten allerdings vernachlässigt werden, da bei den eingesetzten geringen Mengen eine Ausbeute durch den Verlust des Harzes an den Glaswänden nur schwer zu bestimmen war. Die Elementaranalyse zeigte bei den folgenden gezeigten Reaktionen nie quantitative Umsätze, deshalb wurde vor allem nur der Stickstoffgehalt verfolgt. Andere typische Methoden, wie die NMR-Spektroskopie oder die Massenspektrometrie konnten auf Grund der fehlenden Löslichkeit nicht angewendet werden. Festkörper-NMR-Spektroskopie oder matrixunterstützte Laserdesorptions-Flugzeit-MALDI-TOF-Massenspektrometrie standen nicht zur Verfügung.^[43]

Nicht nur die Analytik gestaltet sich anders, auch in der Versuchsdurchführung müssen Änderungen in Kauf genommen werden. Die Versuche wurden zunächst in einem Einhalskolben an einer Schüttelmaschine durchgeführt, da das Durchmischen mit einem Magnet- oder einem KPG-Rührer wegen der mechanischen Instabilität des Harzes nicht möglich war. Später wurde ein Rotationsmotor verwendet, der mit einem Aufsatz versehen war. Dieser Aufsatz bot zusätzlich die Möglichkeit, die Reaktion auch bei etwas erhöhter Temperatur und unter Schutzgas durchzuführen.

Bei Beendigung der Reaktion wurde das Harz mittels einer Umkehrfritte (bestückt mit einem Hahn zum Druckausgleich) abfiltriert und mit verschiedenen Lösungsmitteln gewaschen. Bei der Wahl der Lösungsmittel musste beachtet werden, dass das Harz bei dem Spülvorgang entweder aufquoll oder zusammenschrumpfte. Bei Lösungsmitteln wie H₂O und MeOH fand ein Zusammenziehen des Harzes statt, während bei CH₂Cl₂ und DMF das Harz sein Volumen vergrößerte.^[44] Das Harz in der Umkehrfritte wurde im Hochvakuum getrocknet und anschließend gewogen.

3.3.2 Wahl des Linkers und Verknüpfung mit der festen Phase

Die Auswahl des Linkers erwies sich als große Herausforderung, denn die Verknüpfung zwischen Substrat und Linker sollte den Bedingungen der nachfolgenden Schutzgruppen- und Kupplungsreaktionen standhalten. Die Wahl fiel auf eine Diolbrücke, die durch Anbringung an die feste Phase noch zusätzlich die Funktion eines Spacers, ähnlich wie in PEG-PS Harzen,^[44] einnehmen kann. Der Vorteil eines Spacers ist die bessere Erreichbarkeit des gebundenen Substrats für die eingesetzten Reagenzien, da die Entfernung zum Harz vergrößert wird. Anwendungsbeispiele für solche Linker (Propandiol und Butandiol) sind auch bekannt.^[45,46] In einem dieser Beispiele wurde das Substrat vom Linker reaktiv durch DIBAL zum Alkohol oder mit Ti(OEt)₄ und einem Alkohol durch Umesterung abgespalten. Im Rahmen dieser Dissertation sollte das Substrat jedoch durch Verseifung von der festen Phase entfernt werden.

Das Ziel war es zunächst, ein Hexandiol an einem chlormethylierten Polystyrolharz (100–200 mesh, 2.8 mmol/g oder 1.3 mmol/g) **68** mittels einer TBAI-katalysierten nucleophilen Substitution zu einem etherfunktionalisierten Harz **69a** und **69b** umzusetzen (**Abbildung 46** und **Tabelle 5**).

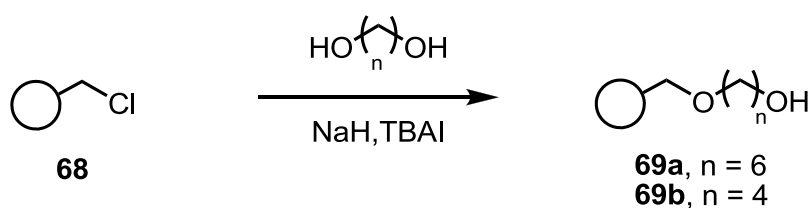


Abbildung 46: Einführung des Diol-Linkers.

Tabelle 5: Bedingungen zur Einführung des Diol-Linkers.

Eintrag	Diol	LM	t/°C	t/h
1	n = 6	THF, DMF	23	3 x 24
2	n = 6	THF, DMF	23	7 x 24
3	n = 6	THF, DMF	23	23 x 24
4	n = 4	DMF	23	18
5	n = 4	DMF	0	1.5
			50	25
6 ^{a)}	n = 4	DMF	0	1.5
			50	3 x 24
7 ^{a)}	n = 4	DMF	0	2
			50	14 x 24

a) unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt.

Zu diesem Zweck wurde unter Eiskühlung zu einer Suspension aus NaH in THF portionsweise das Diol gegeben. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde mit THF verdünnt. Das Gemisch wurde mit TBAI und dem aufgequollenen Harz durchmischt. Zum Abschluss erfolgte das Waschen mit H₂O, DMF, H₂O, MeOH, CH₂Cl₂ und Hexan. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde Butandiol statt Hexandiol und eine andere Reaktionsvorschrift verwendet.^[46] In dieser Vorschrift fand die Reaktion nur in DMF statt und das Harz wurde mit DMF, heißem H₂O (50°C), CH₂Cl₂ und Et₂O im Aufarbeitungsschritt gewaschen.

Die Elementaranalysen zeigten bei sämtlichen Harzen keinen quantitativen Umsatz, eine weitere Deutung war nicht möglich. IR-Spektren des Harzes zeigten hingegen erst in den letzten Reaktionen (**Tabelle 5:** Eintrag 5–7) eine kleine $\nu(\text{O-H})$ -Bande bei 3433–3448 cm⁻¹ und somit zumindest eine minimale Umsetzung. Es schien so, dass eine erhöhte Temperatur und eine Reaktionszeit von mehreren Tagen für den

Umsatz nötig sind. Schutzgas war in diesem Fall nicht unbedingt notwendig, da auch bei normaler Atmosphäre eine $\nu(\text{O-H})$ -Bande im IR zu sehen war.

Die fehlgeschlagenen Umsetzungen der Diole konnten noch andere Ursachen besitzen: so kann sich das Merrifield-Harz **68** mit der Zeit zersetzen (z. B. durch intramolekulare Friedel-Crafts-Alkylierung) oder Quervernetzungen zwischen dem Diol und zwei Chlorstyrolgruppen eingehen. Beweise für das Auftreten dieser Nebenreaktionen konnten auf Grund der Elementaranalyse nicht erbracht werden, da der Chlorgehalt mit dem Euro EA-CHNS nicht gemessen werden konnte. Ein anderes käuflich erworbenes Harz wurde erst bei der Umsetzung des Butandiols verwendet (**Tabelle 5**: Eintrag 4–7), da die Reaktionsbedingungen und auch die Wahl des Harzes den Bedingungen von *Nicolaou*^[46] angepasst worden sind.

3.3.3 Einführen des β -Alanin-Derivates an die feste Phase

Das Boc-geschützte β -Alanin wurde einmal durch Zusatz von EDC, NEt_3 in CH_2Cl_2 bei Raumtemperatur für 3 d mit dem Harz **69a** bzw. **69b** durchmischt und des Weiteren mit ges. NH_4Cl -Lösung oder Salzsäure (1 mol l^{-1}), MeOH, CH_2Cl_2 und Hexan gewaschen. Bei dem mit Butandiol versehenen Harz wurde statt EDC das preisgünstigere DCC verwendet, weil durch die vereinfachte Reinigung an der festen Phase das sonst störende Harnstoffderivat besser weggespült werden konnte und für die Kupplung kein Hindernis mehr darstellte (**Abbildung 47**). Die Elementaranalyse konnte nur minimale Spuren von Stickstoff detektieren. Das IR zeigte beim Butandiol-Linker eine sichtbare doppelte Carbonylbande um die 1715 cm^{-1} und eine kleinere Bande bei 3445 cm^{-1} , die von der nicht substituierten OH-Gruppe oder der NH-Gruppe stammen konnte.

Das Abspalten der Boc-Schutzgruppe wurde in einem Gemisch aus TFA/ CH_2Cl_2 (1 : 1) bei 23°C für 16 h durchgeführt. Für das Waschen wurde u. a. ein Gemisch aus $\text{NEt}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1 : 4) oder eine Lösung aus DBU/ CH_2Cl_2 (1 : 9) verwendet, um das an der festen Phase gebundene Ammoniumsalz zu deprotonieren und wegzuspülen. Es konnte beim Butandiolderivatisierten-Linker eine im Vergleich zum Edukt **70b** kleinere Carbonylbande (ca. 1729 cm^{-1}) nachgewiesen werden. Die Elementaranalyse zeigte erneut nur kleine Spuren von Stickstoff. Des Weiteren konnte das primäre Amin durch den Kaiser-Test^[47] nicht nachgewiesen werden.

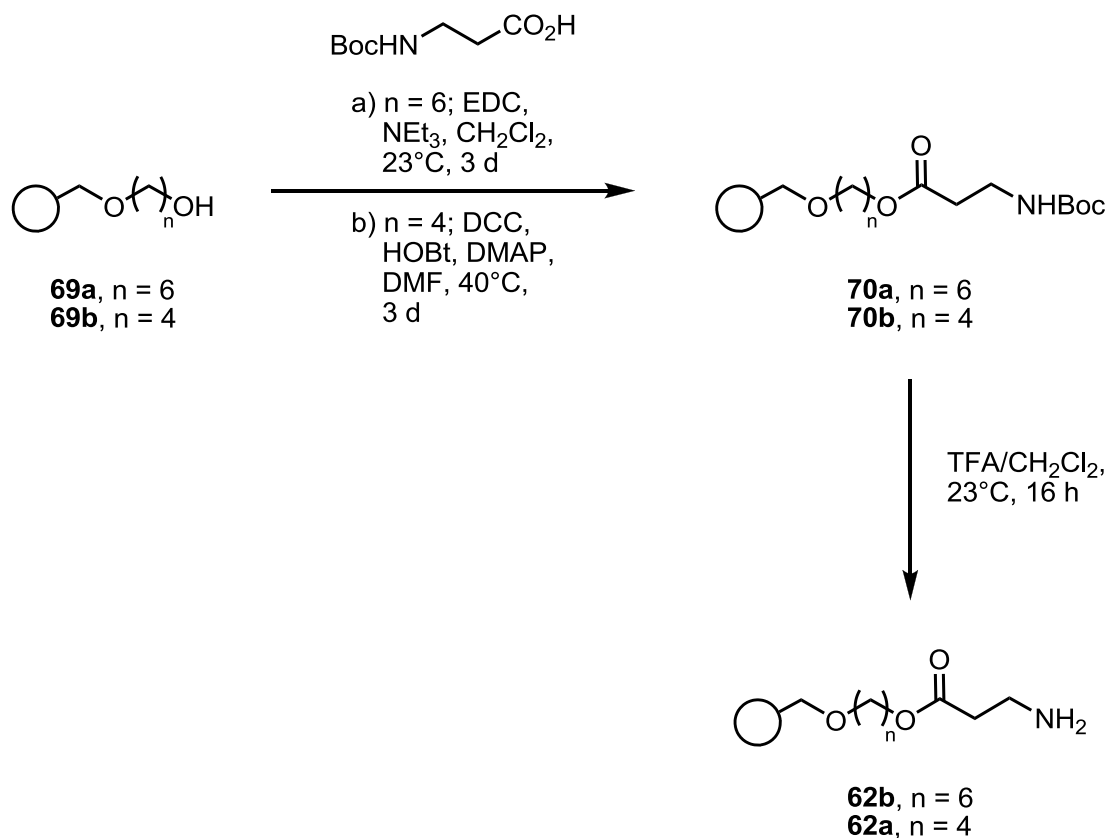


Abbildung 47: Verknüpfung des β -Alanin-Derivates an die feste Phase.

3.3.4 Modellsysteme

Die Synthese des Terephthalsäurederivates **58b** ist mit einem hohen synthetischen und zeitlichen Aufwand verbunden, deshalb wurde das Vorhaben auf einfache Modellsysteme getestet. Es wurde zunächst das Modellsystem mit β -Alanin und einer Carbonsäure in flüssiger Phase erprobt und die erzielten Ergebnisse anschließend auf die feste Phase übertragen. Die Carbonsäure sollte dabei eine ähnliche Struktur wie das Terephthalsäurederivat **58b** besitzen, deshalb wurden aromatische Carbonsäuren eingesetzt. Nach Kupplung der Aminoester **71** und **62** sollte das Zielmolekül **74** durch Verseifung abgespalten werden (**Abbildung 48**).

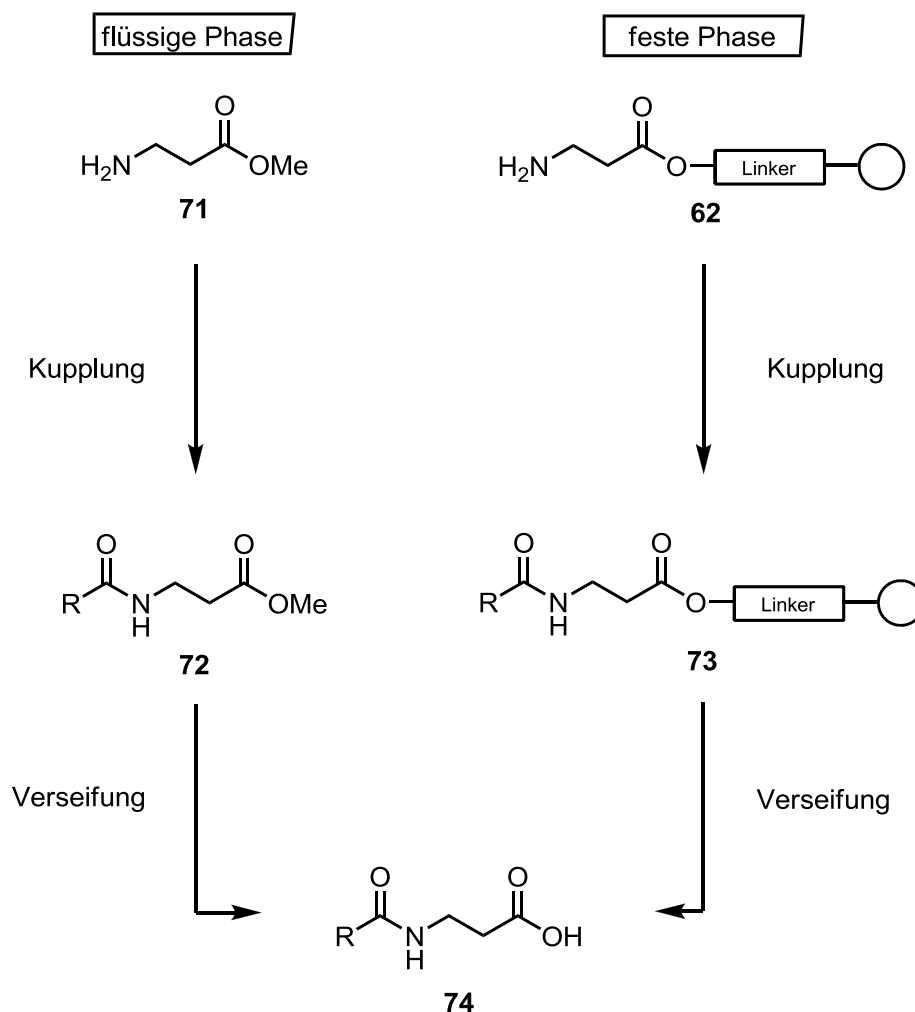


Abbildung 48: Synthese in flüssiger und fester Phase.

3.3.5 Modellsystem I

Für das erste Modellsystem wurde das Hydrochlorid **75** durch Kupplung mit 3,5-Dinitrobenzoesäure, EDC · HCl als Kupplungsreagenz und NEt₃ als Base zum Amid **72a** umgesetzt (**Abbildung 49**). Anschließend wurde der Ester **72a** in einer NaOH-Lösung verseift. Die Kupplungsreaktion verlief in flüssiger Phase nur mäßig gut. Es wurde angenommen, dass die Ausbeute bei der Reaktion bei der Festphasensynthese durch den Überschuss an Reagenzien einen höheren Wert erreichen würde.

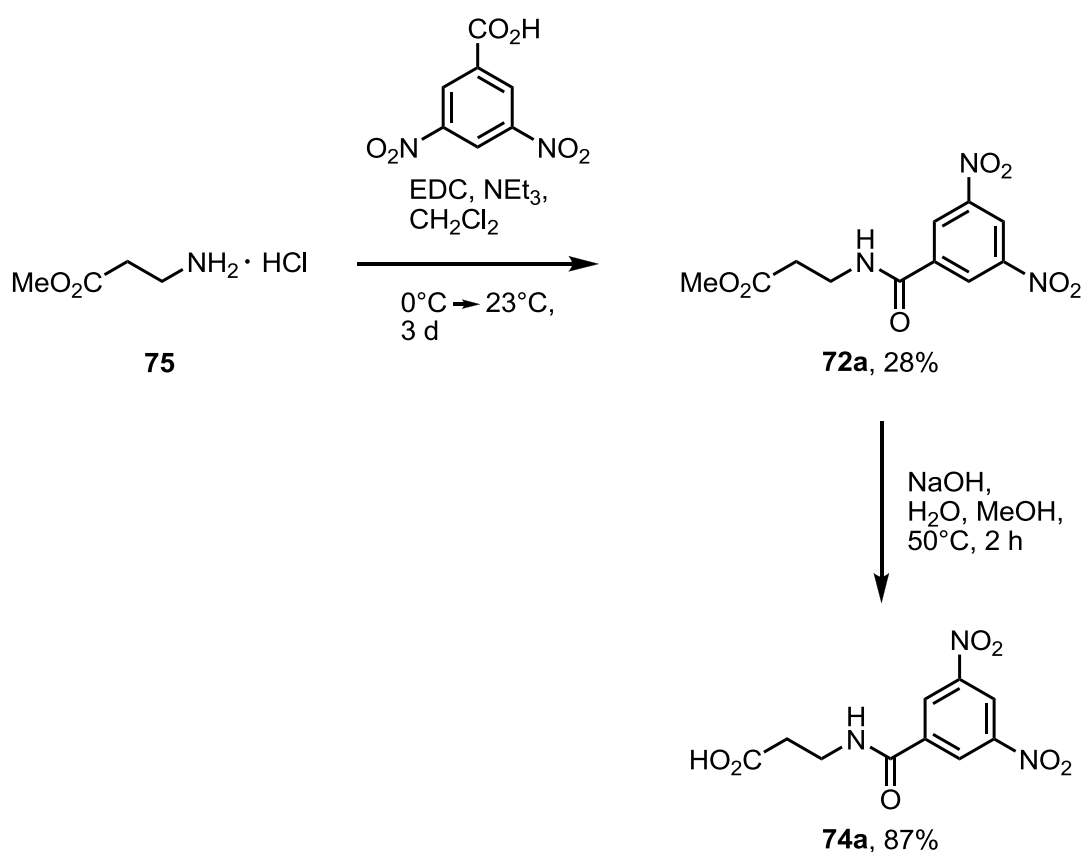


Abbildung 49: Modellsystem I in flüssiger Phase.

An der festen Phase wurde die Kupplung mit der aromatischen Carbonsäure in vergleichbarer Art und Weise durchgeführt, wie in der Reaktion in Lösung (**Abbildung 50**). Für den Waschvorgang wurden die Reagenzien verwendet, die auch bei der Verknüpfung des Boc- β -Alanins eingesetzt wurden. Auf die Analytik wurde in diesem Fall verzichtet und das Harz wurde direkt in dem darauffolgenden Schritt mit NaOH-Lösung in H₂O/THF verseift, dabei sollte im Idealfall das Peptid **74a** isoliert werden. Dazu wurde das Harz zunächst mit H₂O gewaschen, das Filtrat wurde mit Salzsäure (5 mol l⁻¹) angesäuert und mit EE extrahiert. Nach dem Trocknen wurde leider nur die Dinitrocarbonsäure erhalten, nicht nur der Ester schien verseift worden zu sein, sondern auch das Amid wurde gespalten. Der Einfluss des zweifach nitrosubstituierten Aromaten erhöhte wahrscheinlich die Elektrophilie der Carbonylverbindung und somit wurde das Ablaufen der Nebenreaktion gefördert. In der flüssigen Phase wurde diese Reaktion im Nachhinein bei längerer Reaktionszeit beobachtet. Abgesehen von der Amidspaltung wäre es außerdem möglich, dass bei den vorherigen Schritten eine unvollständige Reaktion abgelaufen war, so dass freie Chlormethylgruppen des Harzes und freie Hydroxygruppen des Linkers vorlagen.

Diese wurden dann mit der Carbonsäure verknüpft und die Säure wurde anschließend bei der Verseifung wieder abgespalten, die dann isoliert werden konnte. Die Reaktion mit dem Butandiol-Linker wurde nicht durchgeführt.

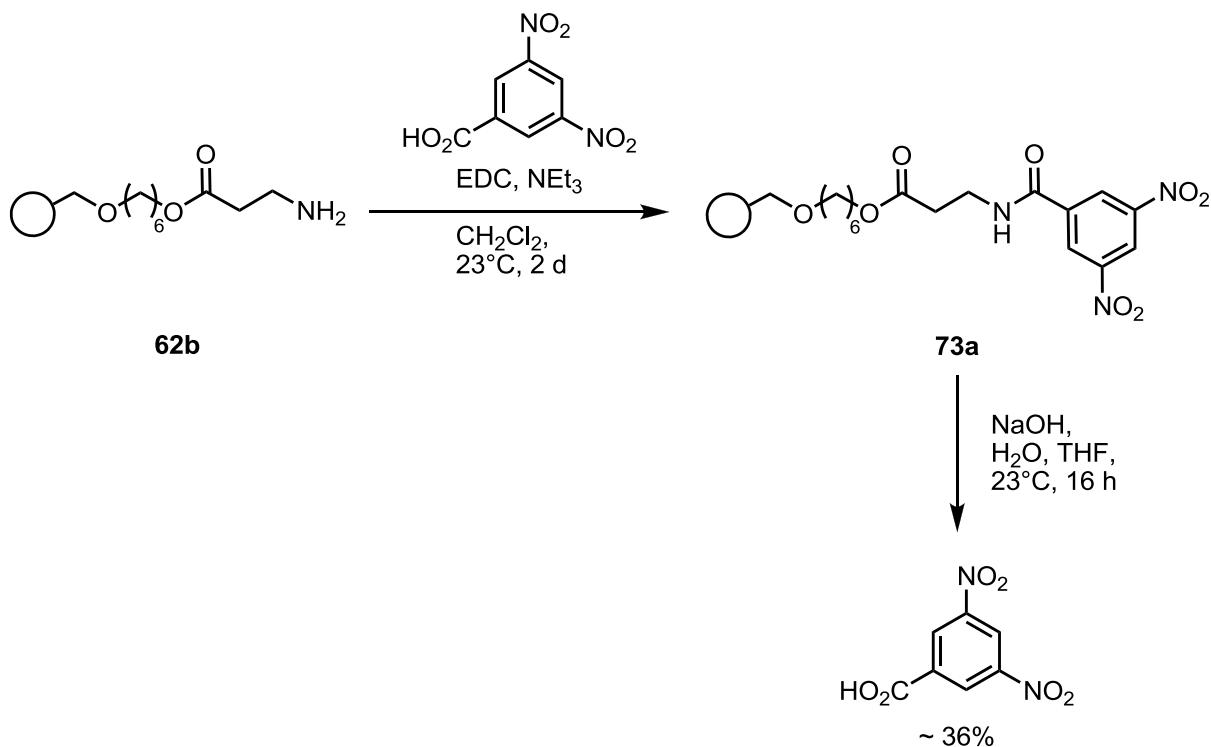


Abbildung 50: Modellsystem I in fester Phase.

3.3.6 Modellsystem II

Die Dinitrobenzoesäure hatte sich als nicht geeignet herausgestellt. Deshalb wurde im Modellsystem II nun die Diphenyllessigsäure zunächst gekuppelt und anschließend verseift (**Abbildung 51**). Wie im vorherigen Beispiel konnte bei der Kupplung erneut eine sehr geringe Ausbeute erzielt werden. Die Verseifung verlief ohne Schwierigkeiten in 77% Ausbeute. Auch bei längerem Rühren in Natronlauge wurde das Amid **74b** nicht gespalten.

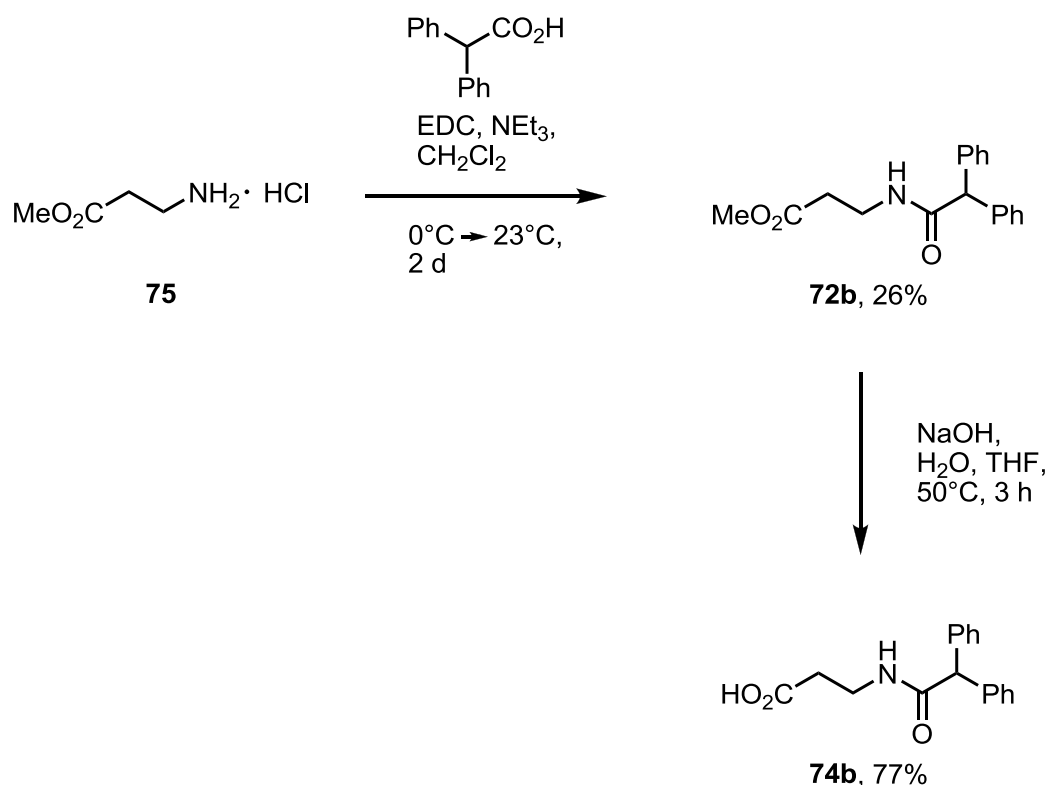


Abbildung 51: Modellsystem II in flüssiger Phase.

Für das zweite Modellsystem wurde das freie Amin **62a** bzw. **62b** am Harz mit der Diphenyllessigsäure unter Zusatz von EDC und NEt_3 oder mit DCC, HOBt und DMAP gekuppelt (**Abbildung 52**). Beim Hexandiol-Linker wurde das Harz ohne weitere Analytik zu betreiben weiter umgesetzt, während beim Butandiol-Linker im IR eine Carbonylgruppe und in der Elementaranalyse in Spuren Stickstoff nachweisbar waren. Bei der anschließenden Abspaltung durch LiOH-Lösung konnte beim hexandiol-linker-bestückten Harz keine Komponente und beim Butandiol die Diphenyllessigsäure isoliert werden. In der flüssigen Phase war dieses Mal, wie schon erwähnt, eine Amidspaltung nicht sichtbar. Es traten also eher die im vorherigen Kapitel (3.3.5) genannten Nebenreaktionen in Erscheinung, in der die vorliegenden Chlormethylfunktionen des Harzes und die freien Alkoholgruppen des Linkers mit der Carbonsäure reagiert hatten und die Säure später abgespalten wurde. Eine weitere Möglichkeit ist die unvollständige Entfernung der Boc-Schutzgruppe, die dazu führte, dass die Aminosäure für die Reaktion blockiert wurde. Vielleicht war aber auch die Amidgruppe für die nucleophilen Ionen durch die Abschirmung des Harzes besser erreichbar, als die Esterfunktion.

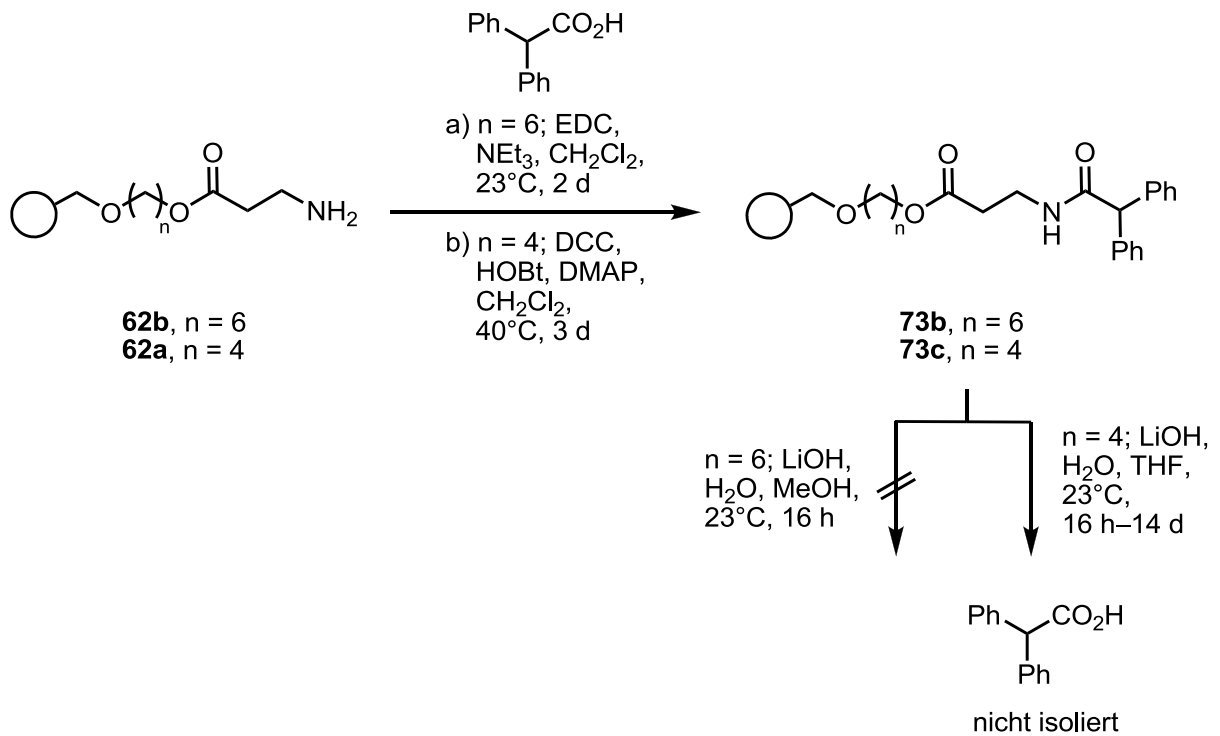


Abbildung 52: Modellsystem II in fester Phase.

3.3.7 Versuch mit einem Terephthalsäurebaustein

Das noch von vorherigen Versuchen verfügbare Ammoniumsalz **39b** wurde, um zumindest ein fluoreszierenden Baustein an das Harz zu binden, an die feste Phase gebracht (**Abbildung 53**). Als Linker wurde das vielversprechendere Butandiolderivat und als Kupplungsreagenzien DCC und HOBT verwendet. Nach 2 d Mischen bei leicht erhöhter Temperatur konnte das fluoreszierende Harz erhalten werden, welches im IR bei 1697 cm^{-1} eine zusätzliche Bande aufwies. Die Reaktion in einer LiOH-Lösung führte nach kompletter Einengung des ersten Filtrats (H_2O) zu einem Gemisch aus der Terephthalsäure **75** und LiOH. Die gleiche Beobachtung, wie bei den beiden Modellsystemen, konnte auch hier gemacht werden. Auf Grund des Zeitmangels wurde auf die weitere Bearbeitung des Themas verzichtet.

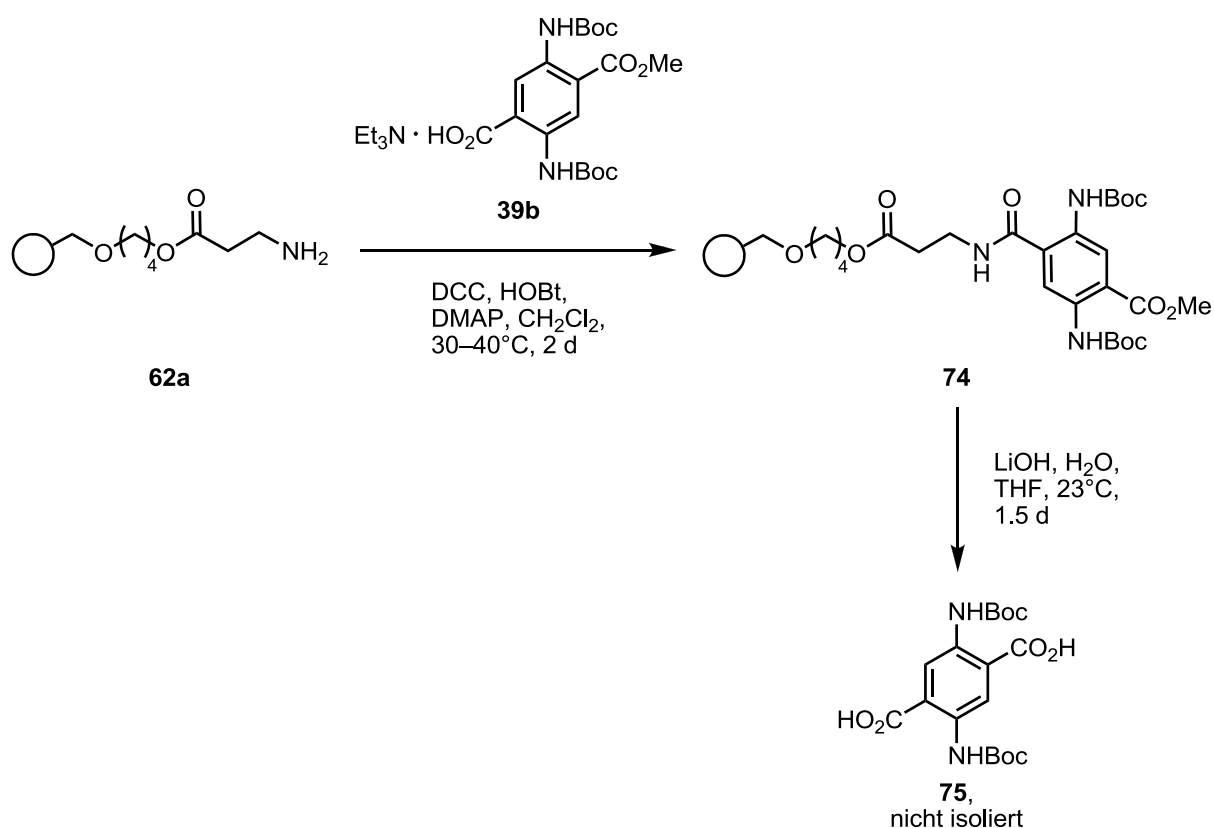


Abbildung 53: Syntheseversuch mit einem Terephthalsäurebaustein **39b**.

3.4 Synthese der Fluoreszenzmarker

Die fluoreszierenden Terephthalsäurebausteine sollten nun mit einer oder zwei Maleimidfunktionen versehen werden, um dort konjugiert Thiole zu addieren. Ziel war es, die Terephthalsäurederivate als Fluoreszenzmarker einzusetzen und diese dann an Cysteinreste in Proteinen zu binden.

3.4.1 Entwicklung der NiWa Blue-Farbstoffe

Zunächst wurden die dreifachgeschützten Plattformen **32a** und **32d** derivatisiert. Es wurde mit Maleinsäureanhydrid die offenkettige Säure gebildet und anschließend der Ring in Essigsäureanhydrid und Natriumacetat bei erhöhter Temperatur geschlossen (**Abbildung 54**). Dieser Vorgang ist eine gängige Maleimidsynthese und wurde des Öfteren in der Literatur^[8,17,48] genannt. Die Maleimide **44a** und **44b** zeigten entsprechend der Literatur^[9,11,17] wegen Quenchprozessen keine Fluoreszenz, sonst würde man durch den elektronenziehenden Einfluss des Maleimids am ehesten eine

blaue Fluoreszenz erwarten. Bei dem Angriff eines Thiols wurde die Doppelbindung gesättigt und es trat eine blaue Emission auf, deshalb wurden die Derivate **44a** und **44b** NiWa Blue genannt.^[49]

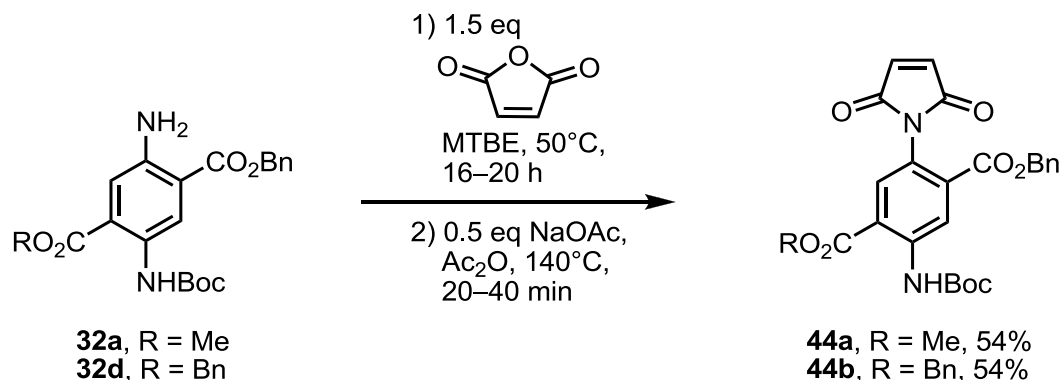


Abbildung 54: Darstellung von NiWa Blue **44a** und NiWa Blue **44b**.

Von großem Interesse war es außerdem, die Diaminoterephthalsäure **18b** mit zwei Maleimidgruppen zu versehen. Der doppelte Einsatz von dem Maleimid führte allerdings hauptsächlich nur zu einem Gemisch aus einfach substituiertem Produkt **45** und dem Bismaleimid-Derivat **76**, welches im Unterschuss vorlag (**Abbildung 55**). Beim Mono-Addukt **45** trat zusätzlich noch der Effekt auf, dass die freie Aminogruppe durch das Anhydrid acetylgeschützt wurde.

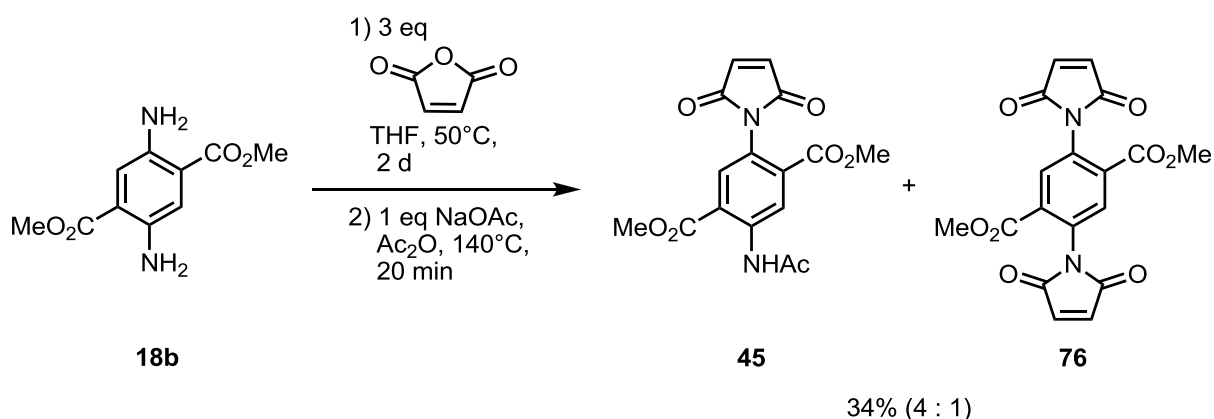


Abbildung 55: Syntheseversuche zum Bismaleimid **76**.

Da die Monosubstitution bevorzugt war, kam die Idee auf, das Diaminoderivat **18b** unter diesen Bedingungen umzusetzen, um ein anderes monosubstituiertes Derivat zu erhalten. Der Vorteil dieses Vorganges ist, im Vergleich zu der oberen Verbindung **32a**, dass ein Syntheseschritt, nämlich das Einführen einer Boc-Schutzgruppe

wegfällt. Die optimierte Reaktion ist in **Abbildung 56** skizziert. Die Ausbeute betrug in diesem Fall nur 34%, denn auch hier trat das Bisprodukt **76** als Nebenprodukt auf, welches chromatographisch und vor allem durch Erwärmen in einem Hexan/EE-Gemisch entfernt wurde. Der synthetisierte Fluoreszenz-Marker emittierte bei Addition eines Thiols blaues Licht, deshalb wurde der Farbstoff **45** ebenfalls NiWa Blue^[49] genannt.

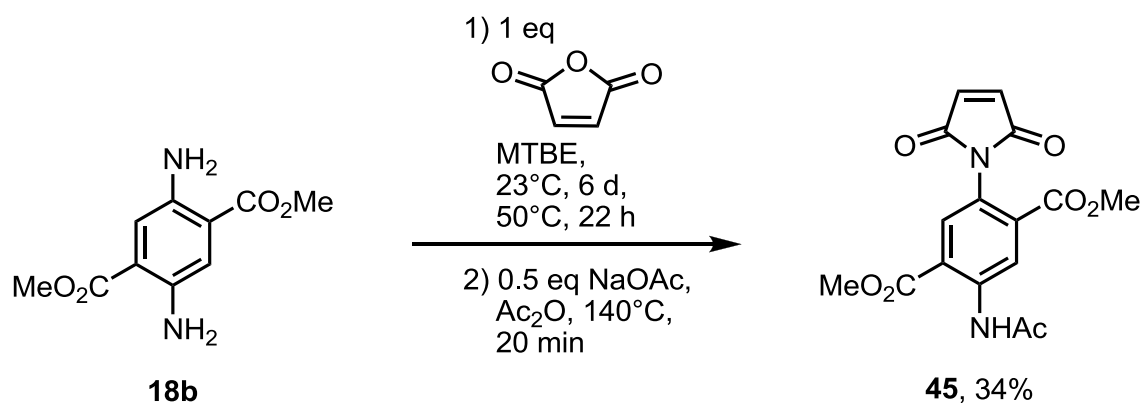


Abbildung 56: Synthese des Derivates **45**.

Das Ziel war es, ein Protein mit den Maleimid-Verbindungen zu markieren, deshalb sollten die Marker im besten Fall komplett oder zumindest teilweise wasserlöslich sein. Die synthetisierten Komponenten **44a**, **44b** und **45** zeigten jedoch keine Wasserlöslichkeit. Um dieses zu gewährleisten, sollte eine oder besser noch zwei Estergruppen verseift werden (**Abbildung 57**). Hierzu wurde die gleiche Verdünnung der Natronlauge wie für die Monoverseifung (Abschnitt 3.1.6) verwendet. Die Reaktion führte allerdings nicht zur Zielverbindung, sondern zur offenkettigen Tricarbonsäure **78**, der Ring sollte nach Isolation der Säure anschließend wieder mit Natriumacetat und dem Acetanhydrid geschlossen werden. Der Ring wurde gebildet und die Boc-Schutzgruppe wurde durch eine Acetylgruppe ersetzt. Der erste Versuch wurde mit einem Ansatz von 10 mg Ausgangsmaterial durchgeführt und konnte auf Grund der Messungenauigkeit der Waage nicht quantitativ ausgewertet werden.

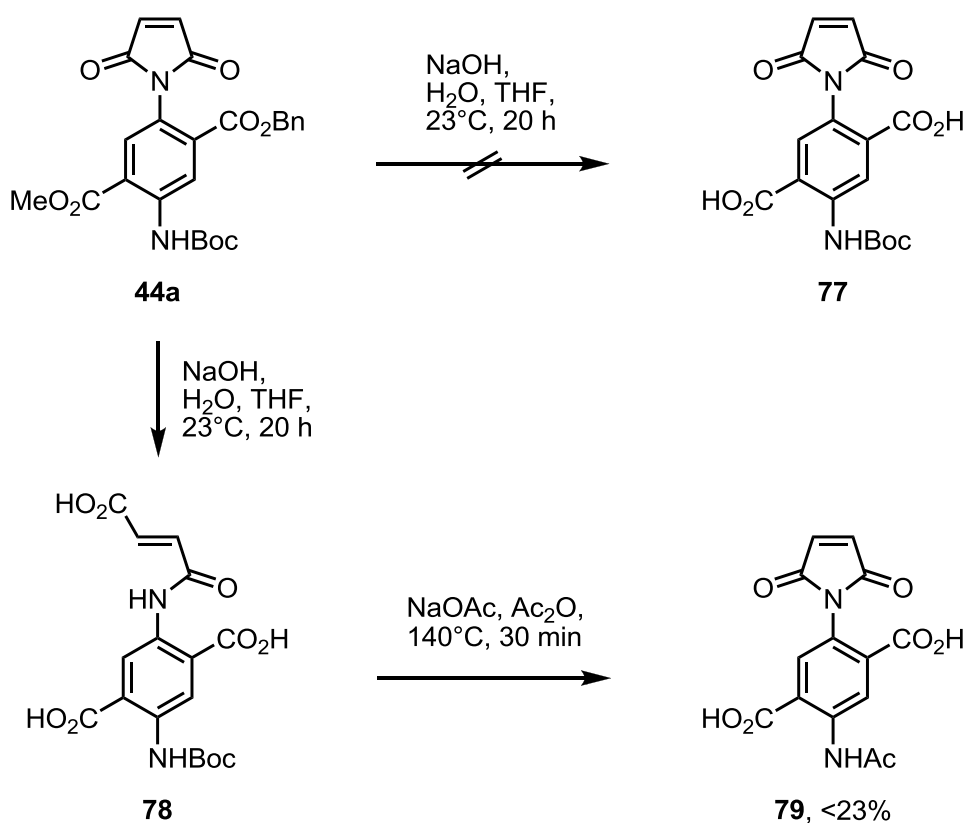


Abbildung 57: Verseifungsversuch vom Maleimid **44a**.

Bei der Reproduktion der Reaktion reichte die stark verdünnte Natronlauge nicht aus, die Verbindung vollständig zu verseifen, welches an den Spots in der Dünnschichtchromatographie zu sehen war. Nach weiterem Zusatz von Lauge, Isolation der Trisäure **79** und anschließender Cyclisierung wurde die Verbindung verunreinigt mit einer Ausbeute von <23% erhalten. Auch sie zeigte eine blaue Fluoreszenz [$c = 6.3 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ in H_2O und 2 eq NaHCO_3 ; $\lambda_{\text{abs}1} = 262 \text{ nm}$ ($\epsilon = 6918 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$), $\lambda_{\text{abs}2} = 309 \text{ nm}$ ($\epsilon = 309 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$); $\lambda_{\text{em}1} = 417 \text{ nm}$ ($\lambda_{\text{irr}} = 262 \text{ nm}$), $\lambda_{\text{em}2} = 419 \text{ nm}$ ($\lambda_{\text{irr}} = 309 \text{ nm}$)]. Die Reinigung der dreifachen Säure **79** gestaltete sich schwer, deshalb wurde noch eine mildere Methode ausprobiert, indem die Verbindung **44a** mit K_2CO_3 und MeOH versetzt wurde (**Abbildung 58**). Der geringe Wassergehalt des Methanols sollte dabei vom Carbonat deprotoniert werden.

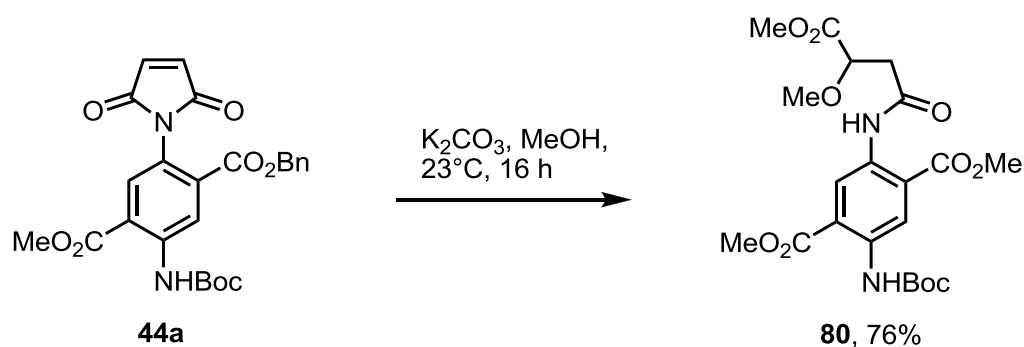


Abbildung 58: Umsetzung des Maleimids **44a** mit MeOH und einem Carbonat.

Die Verbindung konnte nicht verseift werden. Das Edukt wurde vielmehr an einer Stelle umgeestert und es trat eine Ringöffnung auf, die durch *in situ* gebildete Methanolat-Ionen verursacht wurden. Des Weiteren konnte ein weiteres Ion eine konjugierte Addition mit der ungesättigten Carbonylverbindung eingehen (**Abbildung 59**).

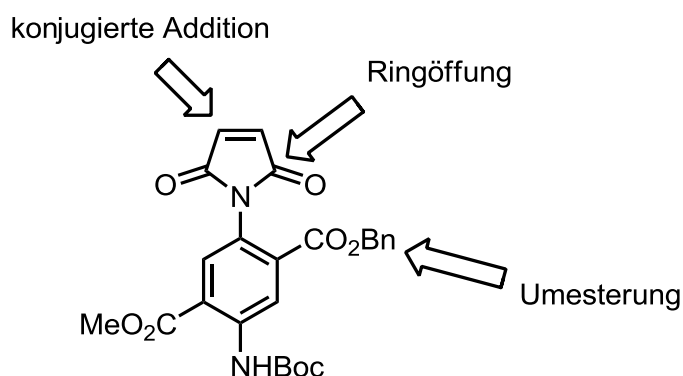


Abbildung 59: Nebenreaktionen bei dem Versuch Verbindung **44a** zu verseifen.

Die offenkettige Komponente zeigte eine starke blaue Fluoreszenz, welche auch bei diesem Substitutionsmuster zu erwarten war. Die Verseifung bei Anwesenheit einer Maleimidgruppe ist also nicht möglich oder nur schwer zu gestalten. Die Strategie wurde geändert: Es sollte nun erst die Dicarbonsäure **81** gebildet werden und anschließend das Maleimid eingeführt werden (**Abbildung 60**). Die Verseifung des Diesters **32a** verlief ohne weitere Probleme über Nacht bei 23°C. Das Produkt **81** wurde nach Ansäuern, Extraktion und Trocknen erhalten. In den beiden folgenden Reaktionen konnten die erwünschte Maleimid-Disäure **77** nicht erhalten werden. In der ersten Variante wurde im ersten Schritt ohne Zusatz von Base und in der zweiten Variante mit Hydrogencarbonat gearbeitet.

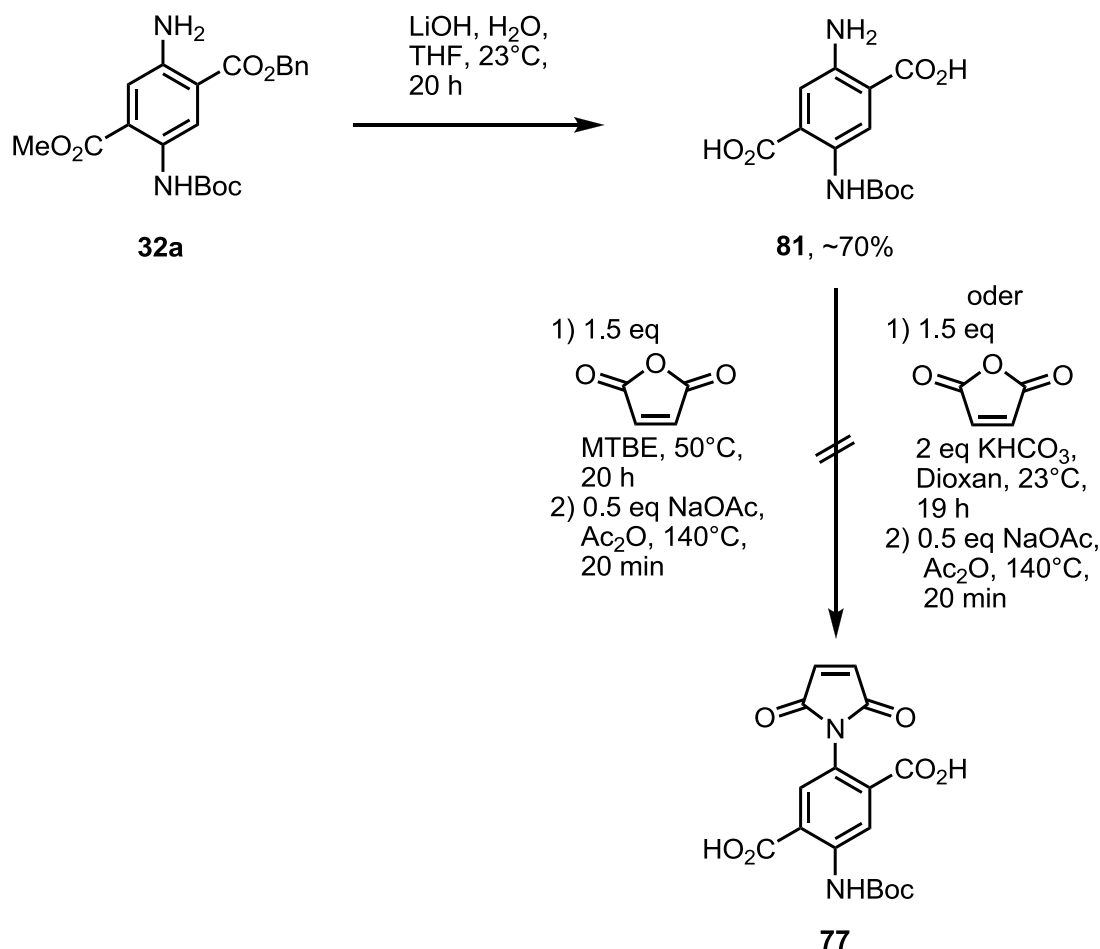


Abbildung 60: Alternativer Syntheseversuch zur Isolierung der Disäure **77**.

3.4.2 NiWa Blue in der Anwendung

Die Farbstoffe sollten an Cysteingruppen eines Proteins gebunden werden. Doch bevor diese Experimente ihren Lauf nehmen sollten, wurde eine Testreaktion mit einem kleineren Thiol, in diesem Fall Benzylmercaptan, durchgeführt.^[49] Nach Zugabe von NEt₃ als Basenzusatz zeigte sich schon nach einigen Minuten eine intensive blaue Fluoreszenz. Es war dabei nicht unbedingt erforderlich, die Reaktion länger als ein paar Stunden laufen zu lassen. Die Umsetzung erfolgte schnell und das Produkt war auch mehrere Tage in Lösung stabil. Nach Chromatographie konnten die Thiol Addukte **150** und **151** von NiWa Blue **44a** und **45** erhalten und deren optische Eigenschaften gemessen werden (**Tabelle 6**).

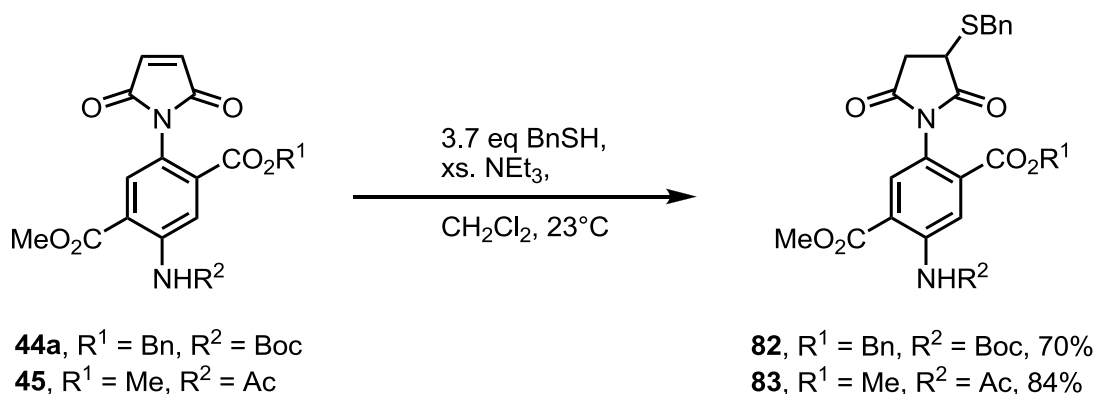


Tabelle 6: Fluoreszenzeigenschaften von NiWa Blue **44a** und **45** nach der Addition von Benzylmercaptan.

Verbindung	Reaktionszeit	$\epsilon/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	$\Phi^{\text{c)}$
82	1.5 d	3371 ^{a)}	338 ^{a)}	396 ^{a)}	0.47
83	1 h	4881 ^{b)}	333 ^{b)}	391 ^{b)}	0.59

a) $c = 4.13 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ in CH_2Cl_2 , b) $c = 1.49 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ in CH_2Cl_2 , c) gemessen mit Fluorescein-Standard in Natronlauge (0.1 mol l^{-1}) zum Vergleich.

Die Absorption und die Emission besitzen bei beiden Verbindungen ungefähr den gleichen Wert, die Schutzgruppen üben keinen Effekt aus. Der Stokes-Shift besitzt einen Wert von >50 nm, was die Bedingung zur Anwendung als Fluoreszenzmarker für z. B. Immunoassays erfüllt.^[50] Zu den üblichen Messungen wurde auch noch die Quantenausbeute bestimmt. Dazu wurde zunächst die Emission von Fluorescein in Natronlauge (0.1 mol l^{-1}) gemessen und die detektierte Fläche mit der Fläche der Emissionsspektren von **82** und **83** verglichen. Für die modifizierte *Parker-Rees-Methode*^[51] wurde folgende Gleichung verwendet:

$$Q_x = Q_s \left(\frac{n_x}{n_s} \right)^2 \left(\frac{\int I_x dv}{\int I_s dv} \right) \left(\frac{1 - 10^{-\epsilon_s dc_s}}{1 - 10^{-\epsilon_x dc_x}} \right)$$

Abbildung 61: Gleichung für die abgewandelte *Parker-Rees-Methode*; Q_x = Quantenausbeute der Probe, Q_s = Quantenausbeute des Standards, n_x = Brechungsindex des Probenlösungsmittels, n_s = Brechungs-

index des Standardlösungsmittels, $\int I_x dv$ = Emissionsfläche der Probe, $\int I_s dv$ = Emissionsfläche des Standards, ϵ_s = molarer Absorptionskoeffizient des Standards, ϵ_x = molarer Absorptionskoeffizient der Probe, d = Messküvettenbreite, c_s = Konzentration des Standards, c_x = Konzentration der Probe.

Da die Addition des Benzylmercaptan erfolgreich getestet wurde, konnte das NiWa Blue **44a** an ein Protein gekuppelt werden. Die Arbeitsgruppe *Koch* untersucht in der Biochemie das Protein Recoverin,^[32,33,52] welches in der Retina zu finden ist und in den Vorgang der Hell-Dunkel-Adaption des Auges eingebunden ist. Das Protein besitzt vier Ca^{2+} -Bindungsstellen (EF-hands) und die Fettsäure Myristin, die an einem Ende gebunden ist und die Anheftung an einer Membran ermöglicht. Von den vier Bindungsstellen sind nur zwei in der Lage, Ca^{2+} zu binden. Bei der Bindung wird die Konformation des Recoverins verändert und das Protein drifft auseinander. Bisher wurde für die Markierung des Proteins das fluoreszierende Alexa657 verwendet, welches als funktionellen Anker ein Maleimid besitzt. Diese Ankergruppe kann an dem Cys39 des Recoverins geknüpft werden.

An Stelle des Alexa-Farbstoffes wurden nun NiWa Blue **44a** und **45** in einem Puffer (pH = 7.5, HEPES-KOH Puffer, KCl, DTT) mit dem unmyristolierten Recoverin erfolgreich markiert.^[49] Wenn die Wellenlänge von 338 nm eingestrahlt wurde, war eine Emission von ca. 440 nm erkennbar (**Abbildung 62**). Die Differenz des Emissionsspektrums von dem thiolsubstituierten NiWa Blue **44a** zum markierten Protein besaß eine Verschiebung von ca. 50 nm, welches am Einfluss des Proteins lag. Interessanterweise konnte bei dem Zusatz von CaCl_2 zusätzlich ein leichter Anstieg der Intensität beobachtet werden, der für eine konformativen Strukturänderung spricht.

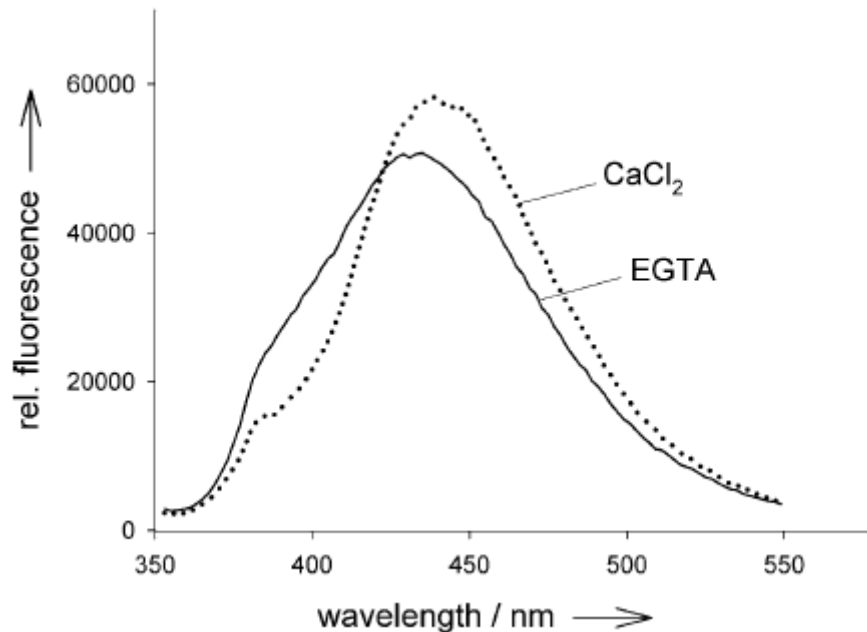


Abbildung 62: Emission des markierten Recoverin mit und ohne Ca^{2+} , $\lambda_{\text{irr}} = 338 \text{ nm}$.

In Nachbarschaft zur Cysteingruppe (Position 39) befindet sich ein Tryptophan in Position 31 und noch zwei weitere in den Positionen 102 und 154. Durch Anregung dieser aromatischen Reste konnte zusätzlich zur Emissionswellenlänge des Tryptophans (ca. 330 nm) eine zweite Fluoreszenzbande detektiert werden, die vom Fluoreszenzfarbstoff herrührt. Bei Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration veränderte sich das Intensitätsverhältnis. Die Intensität des Tryptophans nahm zu und die des Fluoreszenzfarbstoffes ab (**Abbildung 63**). Dieser Vorgang wurde durch einen FRET-Prozess verursacht, der abstandsabhängig ist, also bei weiter Entfernung von Energiedonor und -akzeptor abnimmt. Das bedeutet, dass bei niedrigen Ca^{2+} -Konzentrationen die beiden funktionellen Gruppen sich in großer Nähe zueinander befinden und Energie ausgetauscht werden kann. Bei der Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration entfernen sich die Gruppen voneinander, so dass keine Wechselwirkungen mehr zwischen ihnen auftreten können und die Energie in Form von der Emission des Tryptophans abgegeben wird, was in der Intensitätserhöhung bei 330 nm zu sehen ist. Ein Titrationsversuch zeigte bei einer Konzentration von 180 nM eine halb-maximale Änderung der Konformation (**Abbildung 64**).^[49]

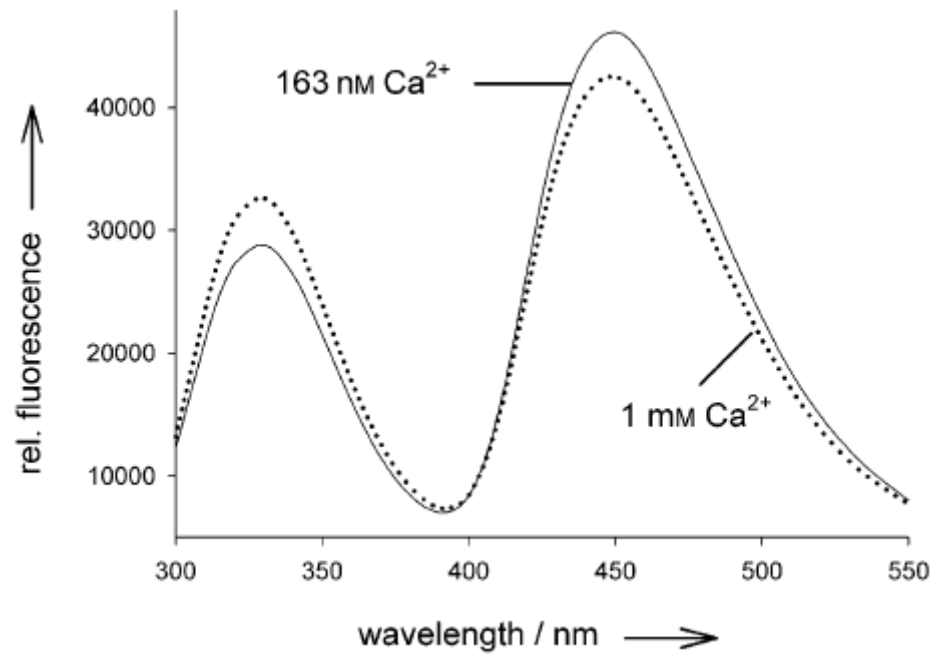


Abbildung 63: FRET-Studie beim markierten Recoverin, $\lambda_{irr} = 280$ nm.

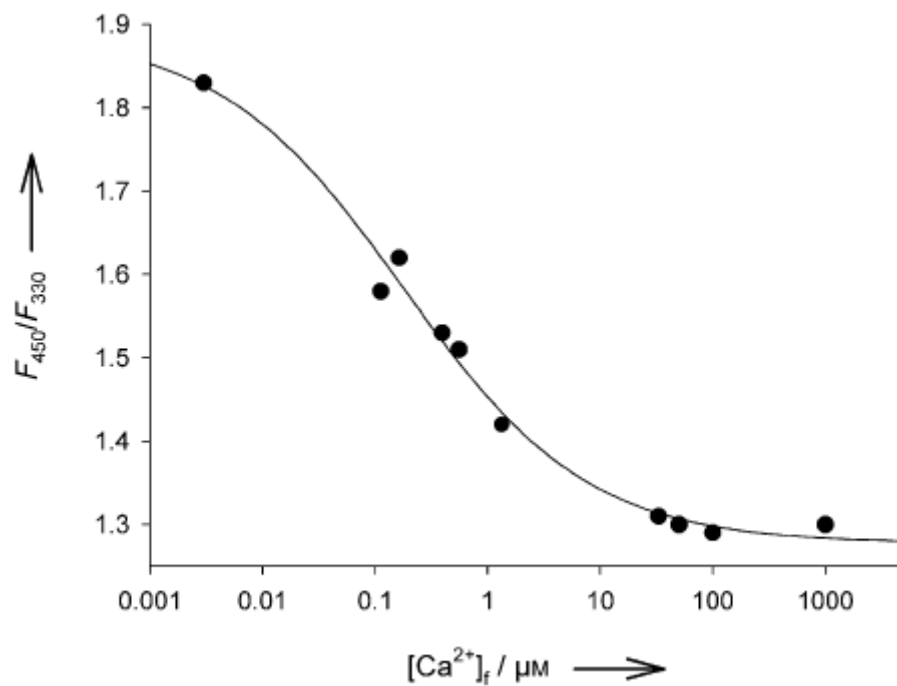


Abbildung 64: Funktion des Emissionsverhältnis von 450 und 330 nm in Abhängigkeit der Ca²⁺-Konzentration.

3.4.3 Fluoreszenzlöschung beim NiWa Blue

Zahlreiche Thesen in der Literatur wurden für den Quenchvorgang geäußert (siehe Abschnitt 1.1.2.3).^[9,11,13] Entsprechend dazu sollten quantenchemische Berechnungen im Arbeitskreis Klüner für das NiWa Blue-System durchgeführt werden, um das Ausbleiben der Fluoreszenz zu erklären.^[53] Die DFT-Rechnungen wurden mit dem Programm *Molden* auf dem PBE0/6-31+G* Niveau erstellt und zeigen die HOMO und LUMOs von dem NiWa Blue-Modell **84** (**Abbildung 65**) und dem Modell des Methylthiol-Additionsproduktes **85** (**Abbildung 66**). Wie man deutlich erkennen kann, erstreckt sich das HOMO des NiWa Blue im gesamten aromatischen System, während das LUMO im Maleimid zu finden ist. Bei einem „normalen“ Chromophor befinden sich sowohl das HOMO als auch das LUMO im aromatischen Kern, in denen auch die Anregung und auch die Desaktivierung stattfinden, so ein System kann man beim Additionsprodukt **85** erkennen.

Man kann sich den Ablauf der Fluoreszenzlöschung in etwa so vorstellen: ein Elektron wandert bei Anregung zunächst in das π^* -LUMO+1 des aromatischen Systems und wird dann in das energieärmere LUMO des Maleimids übertragen (**Abbildung 67**). Von dort ist der Übergang zum HOMO des aromatischen Systems verboten. Die Energie wird strahlungsfrei abgegeben (z. B. an andere benachbarte Teilchen).

Wenn ein Thiol konjugiert an dem Farbstoff angreift wird das π -System des Maleimids gestört und so auch das Energieniveau des LUMOs verändert. In Folge dessen wird das Elektron nun wieder in das π^* -LUMO des aromatischen Systems angeregt. Die Desaktivierung in das π -HOMO kann wieder durch Abgabe von Strahlung ablaufen, da diese nicht verboten ist.

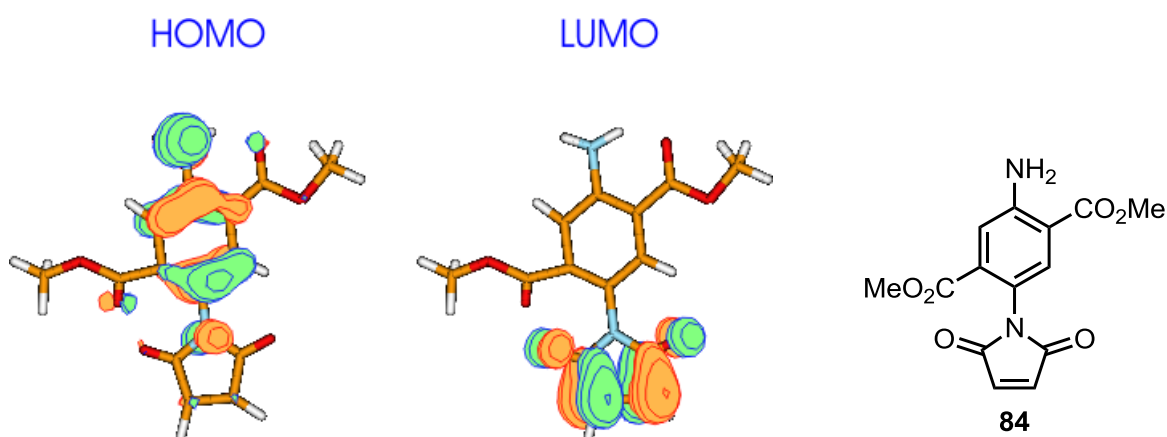


Abbildung 65: Berechnetes HOMO und LUMO vom NiWa Blue Modell **84**

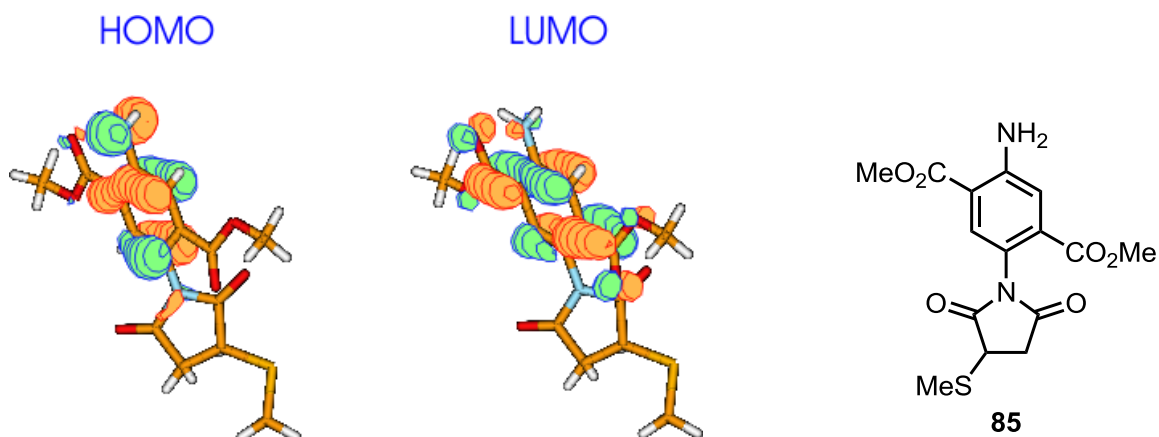


Abbildung 66: Berechnetes HOMO und LUMO vom Modell 85.

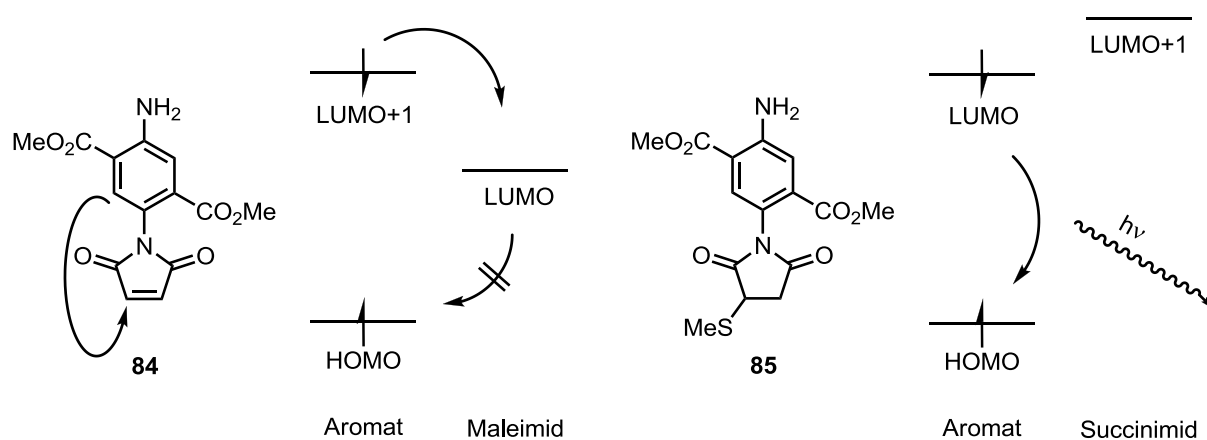


Abbildung 67: Elektronen- oder Energietransfer des NiWa Blue bei Anregung.

3.4.4 Entwicklung von NiWa Orange

Die NiWa Blue-Verbindungen emittieren nach Addition eines Substrats im kurzwelligen Bereich. Es sollte nun ein Farbstoff entwickelt werden, der im langwelligen, energieärmeren Bereich fluoresziert. Am optimalsten sind dabei Wellenlängen im Bereich von 500–700 nm, da z. B. in dieser Region Proteine oder Bestandteile wie NADPH keine Eigenfluoreszenz besitzen und die Auswertung der Spektren nicht erschwert wird.^[50]

3.4.4.1 Darstellung vom Bis-Maleimid

Die Emissionswellenlänge kann durch die Substitution der Aminogruppen beeinflusst werden. Bisher führten die Carbamatschutzgruppen zu einem Verlust an Elektronendichte im aromatischen Chromophor, was die Wellenlänge in kurzwelligere Bereiche

verschob. Nun sollten Alkylgruppen eingeführt werden, um die Elektronendichte zu erhöhen. Zusätzlich sollten die Maleimidgruppen vom Chromophor isoliert werden, um gegenfalls den Quenchprozess zu unterbinden.

Der erste Syntheseversuch sollte mit dem symmetrischen Succinylsuccinat **17b** beginnen, das mit dem Linker **87** zum doppelten Enamin umgesetzt und daraufhin mit Luft oxidiert werden sollte (**Tabelle 7**). Für das selektive Einführen der Carbamat-schutzgruppe wurde unter Eiskühlung und hoher Verdünnung das Boc_2O in THF zu einer Lösung des Diamins getropft (**Abbildung 68**).^[54] Das Carbamat wurde dabei im Überschuss zugegeben, um die Bildung des zweifach geschützten Diamins zu unterbinden. Die Bildung des Bisadduktes konnte aber nicht vollständig verhindert werden, die Entstehung konnte jedoch durch die Zutropfgeschwindigkeit und die Reinheit des Diamins gesteuert werden. Die Trennung des Bisadduktes vom Monoaddukt **47a** stellte kein Problem dar, da durch die Wasserlöslichkeit des einfach geschützten Boc-Derivates die beiden Produkte durch Extraktion und Filtration voneinander isoliert werden konnten. Die Maleimidgruppe wurde nach der gängigen Methode angebracht. Verbindung **86** wurde durch Zugabe eines Überschusses an TFA entschützt. Das Salz **87** konnte in 79% Ausbeute gewonnen werden.

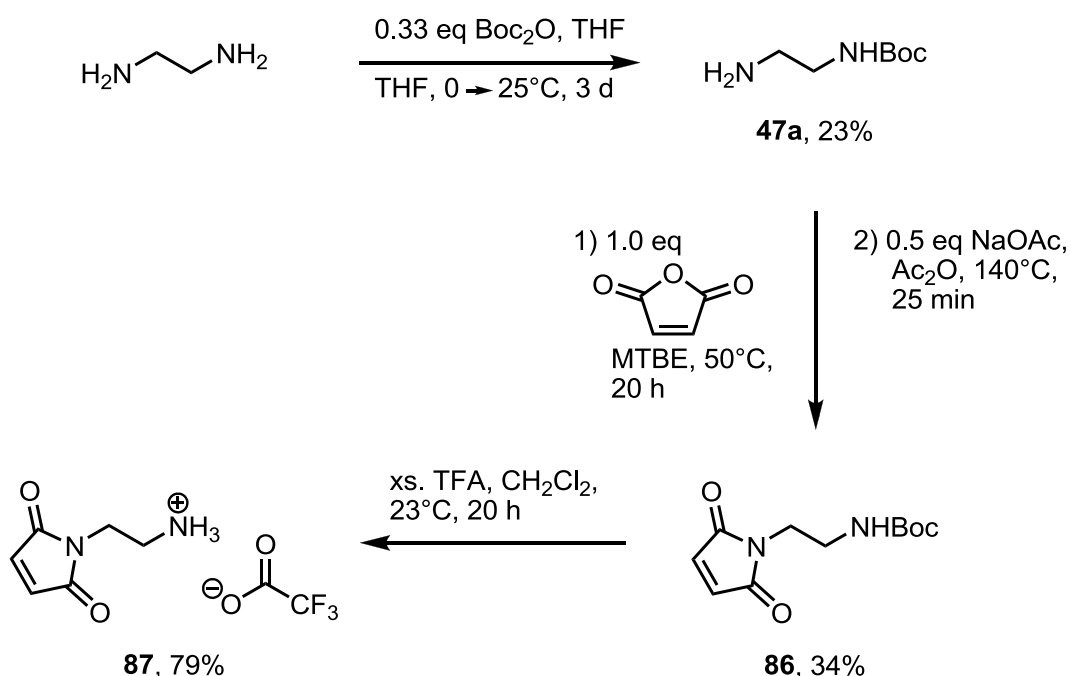


Abbildung 68: Synthese der Linkerverbindung **87**.

Bei der entscheidenden Reaktion wurde zunächst nach einer leicht abgewandelten Vorschrift von *Zhang* gearbeitet.^[27] Der Linker **87** wurde mit dem Succinat **17b** in

Toluol und AcOH für mehrere Tage erwärmt, was keine Produktbildung zeigte. Des Weiteren wurde die Reaktion an einem Wasserabscheider durchgeführt, um das Gleichgewicht zum Produkt hin zu verschieben. Es konnte dabei im DC nur das Edukt erkannt werden. Auch die Reaktion am Wasserabscheider unter Zusatz von HCl in *i*PrOH führte nicht zum gewünschten Ziel (**Tabelle 7**). Die Protolyse des Ammonium-Ions fand scheinbar nur schwer unter diesen Bedingungen statt. Auf die Zugabe einer starken Base wurde aber verzichtet, da das erzeugte Amin in der Lage ist, intermolekular mit der Maleimidfunktion zu reagieren.

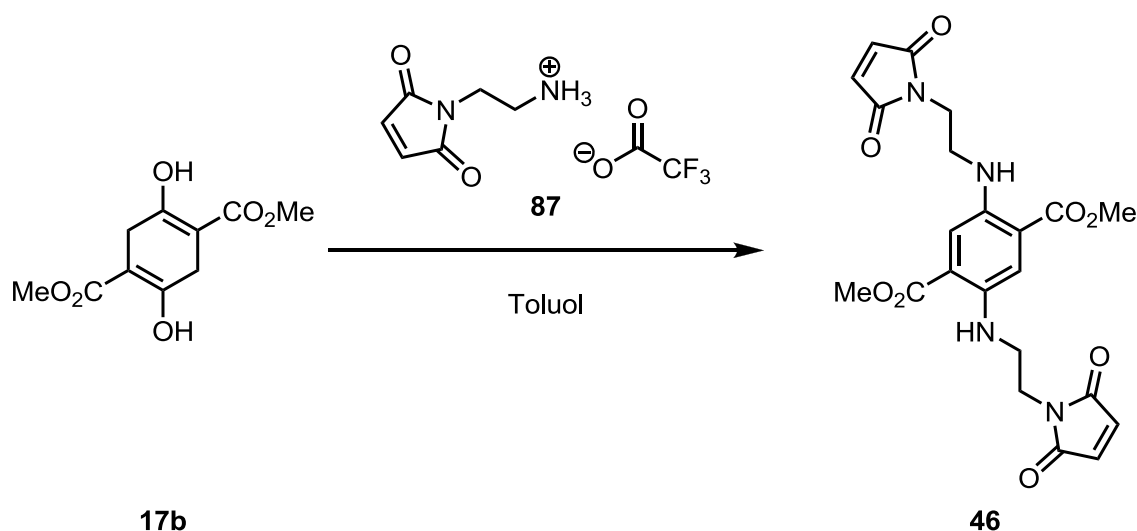


Tabelle 7: Syntheseversuche der Verbindung **46** mit dem Linker **87**.

Salz (eq)	Wasserabscheider	Säure	T/°C	t/d
2 x 5	Nein	AcOH	60–80	3
16	Ja	AcOH	110	3
10	Ja	HCl in <i>i</i> PrOH	110	0.67

Ziel war es jetzt ein unprotoniertes Amin einzusetzen, indem erst das einfach geschützte Diamin in dieser Reaktion eingesetzt, die Schutzgruppe entfernt und das Maleimid eingeführt werden sollte. Das zuvor synthetisierte Mono-Boc-Amin **47a** wurde direkt unter den in **Abbildung 69** gezeigten Bedingungen mit dem Succinat **17b** zur Reaktion gebracht, was in diesem Fall ohne weitere Probleme funktionierte.^[53] Dabei entstand ein Gemisch aus dem Dienamin **88a** und dem

Produkt **89a**. Dieses Gemisch wurde dann direkt bei den schon im oberen Abschnitt 3.1.2 erläuterten Bedingungen umgesetzt, wobei das Enamin zum Aromaten oxidiert wurde. Die isolierte Verbindung **89a** zeigte eine orange Fluoreszenz im Bereich von 579 nm. Im Vergleich zum Diaminoterephthalsäurederivat **18** verschob sich die Wellenlänge wie erwartet in den langwelligeren Bereich.

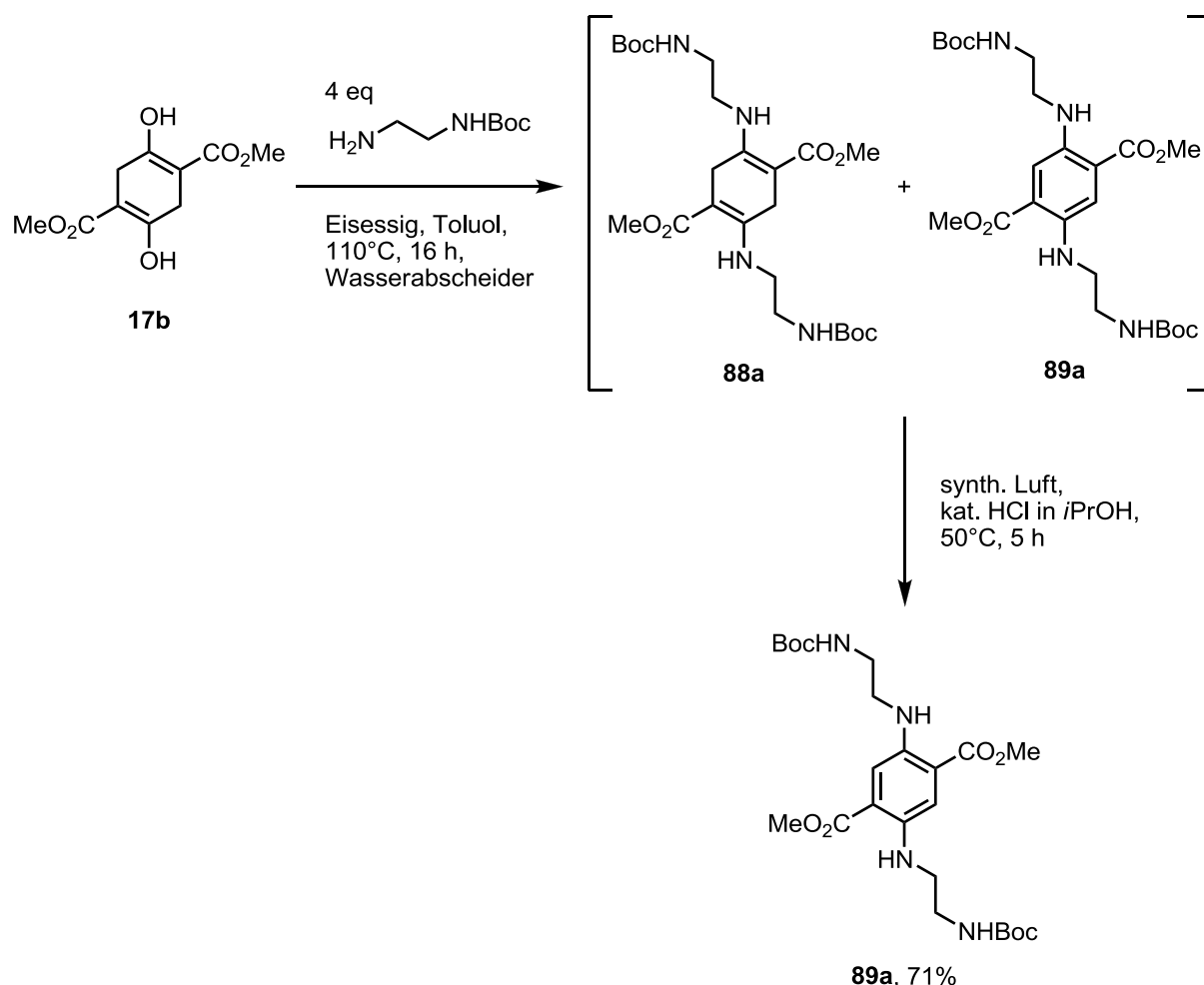


Abbildung 69: Vorstufe **89a** für NiWa Orange.

Nun sollten die Boc-Schutzgruppen entfernt werden. Dieses gelang ohne weitere Schwierigkeiten, indem eine ausreichende Menge TFA zugeführt wurde. Das Einführen des Maleimids erwies sich als kompliziert (**Abbildung 70** und **Tabelle 8**). In den ersten Experimenten wurde versucht das Anhydrid zu substituieren und dann den Ring mit NaOAc und Ac_2O zu schließen (**Tabelle 8**: Einträge a–c). Zunächst sollte die Substitution in Essigsäure ablaufen, da sie durch ihre Polarität in der Lage war, das zuvor hergestellte Salz zu lösen. Nach der Zugabe von Natriumacetat und Essigsäureanhydrid, die die Cyclisierung einleiten sollten, wurde nur ein polarer Spot

in der Dünnschichtchromatographie beobachtet, der nicht vom Produkt **46** herkam, sondern von Nebenprodukten. Ähnlich verlief es mit den nächsten Versuchen, in denen ein wenig zusätzliches NaOAc als Puffer oder NEt_3 als Base zugesetzt wurde. Weitere Experimente am Wasserabscheider, ob basenkatalysiert oder nicht, führten zu keinem großen Erfolg (**Tabelle 8**: Einträge e und f). Eintrag g stellt die Ergebnisse einer Reaktion dar, die eine Patentversuchsvorschrift^[55] als Inspiration besaß, in der die Autoren *para*-Toluolsulfonsäure Monohydrat als Katalysator verwendeten, um bei einem Ammoniumsalz die Maleimidfunktion anzubringen. Leider war diese Methode nicht auf das hier verwendete Salz anwendbar. Anteilige Erfolge konnten bei der Addition von Maleinsäureanhydrid in Eisessig unter Rückfluss und dem anschließenden Wasserentzug erzielt werden, das Produkt war immerhin im $^1\text{H-NMR}$ nachweisbar, jedoch noch stark verunreinigt (Eintrag e in **Tabelle 8**).

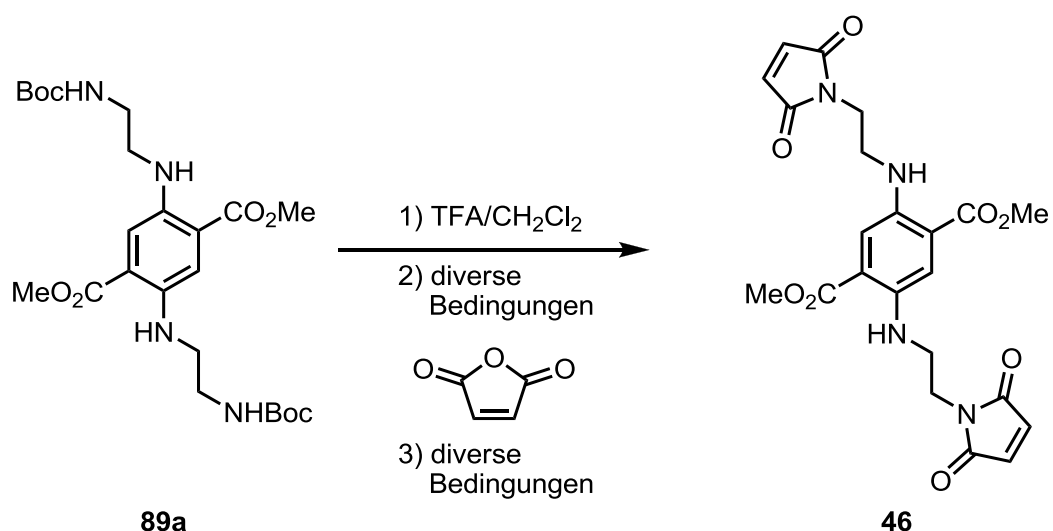


Abbildung 70: Erfolgslose Versuche zur Synthese des Bismaleimids **46**.

Tabelle 8: Erfolgreiche Versuche der Bismaleimidsynthese (2. und 3. Syntheseschritt).

Eintrag	Zusatz	LM	T/°C	Wasserabscheider	Ergebnis	
a)	2. Schritt	–	Eisessig	118	nein	
	3. Schritt	NaOAc	Ac ₂ O	140	nein	0%
b)	2. Schritt	NaOAc	THF	23 → 50	nein	
	3. Schritt	NaOAc	Ac ₂ O	140	nein	0%
c)	2. Schritt	NEt ₃	EE	23 → 50	nein	
	3. Schritt	NaOAc	Ac ₂ O	140	nein	< 1%
d)	2. Schritt	NEt ₃	Toluol	110	Nein	0 %
e)	2. Schritt	-	Eisessig	119	nein	
	3. Schritt	NEt ₃	Toluol	110	ja	< 15 %
f)	2. Schritt	-	CHCl ₃	61	ja	
	3. Schritt	NaOAc	Ac ₂ O	140	nein	0 %
g)	2. Schritt	<i>p</i> -TosOH · H ₂ O	THF	66	Nein	0 %

Es wurde ergänzend zu den oben angebenen Reaktionen auch noch der Versuch unternommen nach der Bildung des Salzes mit NaOAc/DMF-Lösung einen pH-Wert von 6–7 einzustellen und danach die Addition durchzuführen. Als Zwischenprodukt konnte auch ein Additionsprodukt, die offenkettige Säure, im NMR nachgewiesen werden, Versuche zum Ringschluss führten allerdings zu Zersetzungsprodukten. Des Weiteren wurde das Bis-Boc-Amin **89a** und das Anhydrid im Verhältnis 1 : 2 in einem Reagenzglas bis hin zur Schmelze ($>150^{\circ}\text{C}$) erhitzt, wodurch wahrscheinlich schwerlösliche Polymere entstanden sind und nicht das erhoffte Produkt.

In **Tabelle 8** Eintrag e) konnte durch das Erhitzen in Essigsäure zumindest das Produkt in einer geringen Menge gebildet werden. Es war daher nicht überraschend, dass nach Optimierung der Aufarbeitungsmethode, die Chromatographiesäule wegen der Anheftung der Verbindung **46** nicht zu hoch zu packen, die Zielverbindung **46** in zumindest 32% zu erhalten (**Abbildung 71**).^[53]

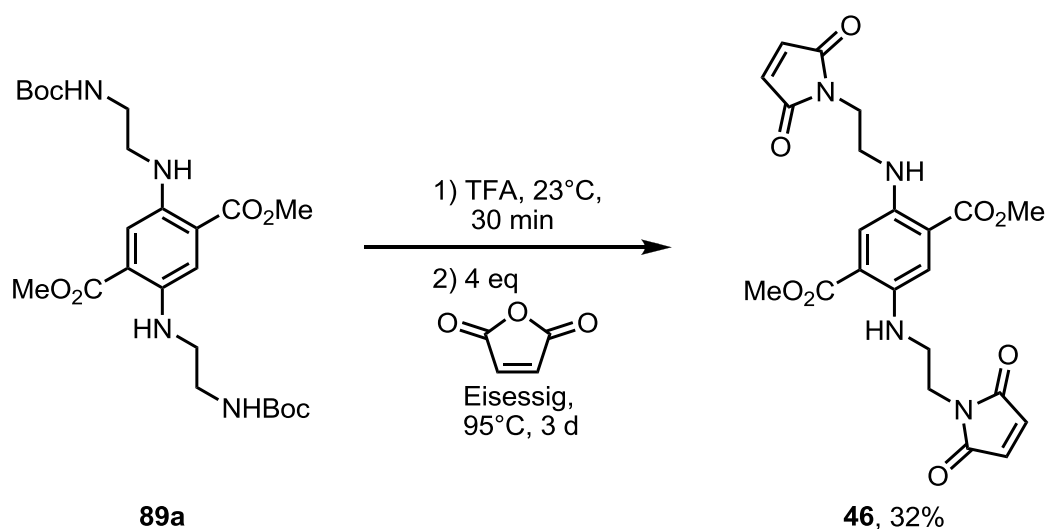


Abbildung 71: Synthese von NiWa Orange **46**.

3.4.4.2 Optimierungsversuche zur Synthese eines Bis-Maleimides

Zahlreiche Nebenreaktionen sind bei der Herstellung der Verbindung **46** möglich. Das erste Problem, das hier als Problem A definiert wird, stellt die intermolekulare Reaktion eines primären oder sekundären Amins der Verbindung **46** an einer Maleimidfunktion der gleichen benachbarten Verbindung dar. Diese Oligomerbildung läuft auch in Eisessig ab, was Literaturbeispiele^[56] belegen. Dabei kann, wie schon bei NiWa Blue erwähnt, der Ring geöffnet oder die konjugierte Reaktion an dem ungesättigten Carbonylverbindung stattfinden. Die jeweiligen Nebenprodukte

konnten wegen der Unlöslichkeit nicht isoliert werden, jedoch wurde im Roh-¹H-NMR-Spektrum noch nicht umgesetztes Salz beobachtet, was das Problem B darstellt. Bei der Verlängerung der Reaktionszeit konnte allerdings auch nicht mehr Produkt erhalten werden. Zudem führten die Verringerung der Äquivalente des Maleinsäureanhydrids zu einer unvollständigen Umsetzung und die Erhöhung der Äquivalente zu einer Verschlechterung der Ausbeute. Es hat sich außerdem gezeigt, dass das vorherige Trocknen der Essigsäure über MgSO₄ das Ergebnis verbesserte. Das Sulfat schien sich in der Säure zu lösen und entzog das bei der Reaktion anfallende Wasser aus der Lösung. Bei Verwendung größerer Mengen führte das aber zu keiner Steigerung des Umsatzes. Es spielte auch keine Rolle, ob das Salz vorher isoliert und dann weiter umgesetzt wurde oder ob das Maleinsäureanhydrid direkt in die TFA-Lösung gegeben wurde.

Zur Behebung des Problems A wurde zumindest versucht, das sekundäre Amin des NiWa Orange **89a** durch ein tertiäres Amin zu ersetzen (**Abbildung 72**). Tertiäre Amine sind dann nicht mehr in der Lage, Additions- oder Substitutionsreaktionen mit dem Maleimid einzugehen. Fraglich ist aber, ob überhaupt das Produkt **91** gebildet wird, denn die Stabilisierung des Enamins, als erste Zwischenstufe, fällt durch die fehlende Wasserstoffbrückenbindung des Esters zum Wasserstoffatom desamins weg. Die Bildung des Enamins wird wahrscheinlich verhindert, dafür wird die Bildung des Imins als Zwischenprodukt bevorzugt.

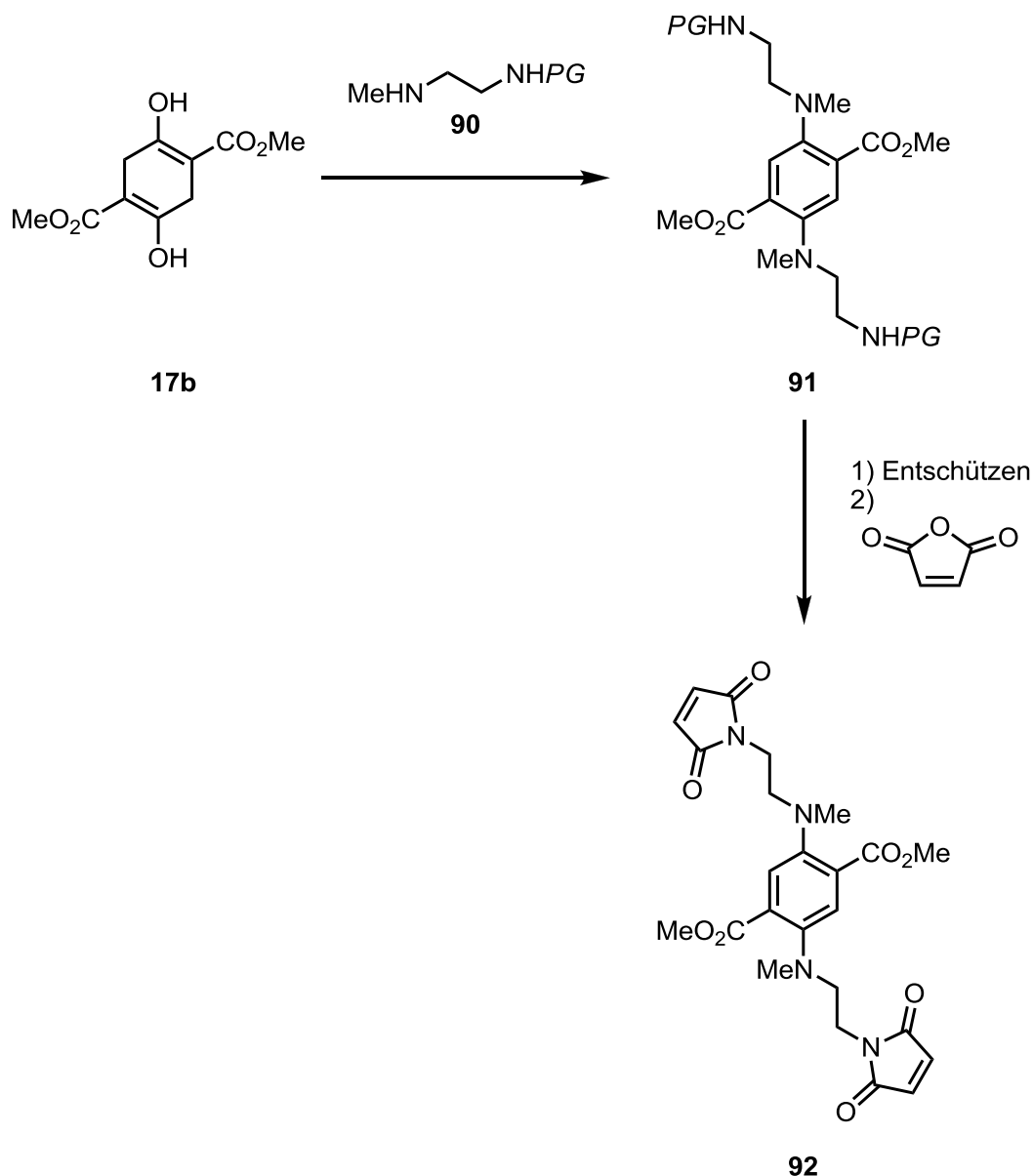


Abbildung 72: Synthesepfad für die Verbindung **92**.

Es gibt nur wenige Möglichkeiten, ein primäres Amin in Gegenwart eines sekundärenamins selektiv einfach zu schützen. Bei dem Versuch das *N*-Methylethyldiamin selektiv mit einer Boc-Schutzgruppe zu versehen, entsteht in der Regel hauptsächlich das Carbamat am sekundären Amin.^[57] Durch strikte pH-Kontrolle ist es auch möglich, ein Gemisch aus dem *N*-Boc-*N*-Methylethyldiamin und dem *N'*-Boc-*N*-Methylethyldiamin im Verhältnis von 1 : 1 zu erhalten, die jedoch in der Literatur nicht voneinander getrennt wurden.^[58] Es besteht ebenfalls die Möglichkeit zwei verschiedene Schutzgruppen einzuführen und dann eine selektiv zu entfernen. Da ein zusätzlicher Syntheseschritt dafür notwendig ist, sollte diese Route nicht eingeschlagen werden.

In **Abbildung 73** sind die Synthesversuche von vier geschützten primären Aminen abgebildet, von denen nur zwei realisiert werden konnten. Das Erhitzen von 2,5-Hexandion am Wasserabscheider unter Zugabe von AcOH führte zum Dimethylpyrrol **90a** in 74% Ausbeute^[59] und das Erhitzen von Phthalsäureanhydrid in Wasser führte zum Phthalimid **90d** leicht verunreinigt in 11% Ausbeute. Im Gegensatz zur Literatur^[60] waren beim letzteren Versuch stark polare oder nur schwerlösliche Nebenprodukte im DC zu erkennen, die wahrscheinlich von Zwischenprodukten oder vom falsch substituierten Produkt stammten. Bei der Einführung der Trifluoracetamid-Gruppe verursachte der Einsatz von dem Trifluoressigsäureanhydrid durch die starke Reaktivität im Normalfall keine Selektivität. Durch die Bildung des unsymmetrischen Diesters aus dem Anhydrid und EtOH sollte die Reaktivität abgemildert und die Bildung des primär geschützten Derivates **90b** bevorzugt sein.^[61] Es wurde deshalb der Diester *in situ* durch Zugabe von einem Äquivalent Anhydrid in einem Äquivalent EtOH erzeugt und die Lösung dann zum *N*-Methylethylendiamin getropft. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte allerdings nur ein wildes Gemisch aus verschiedenen Produkten. Auch die Synthese vom 4,5-Diphenyl-3-oxazolin-2-on **90c** zeigte im NMR ein Produktgemisch. Diese Gruppe besitzt den Vorteil, dass sie fluoresziert und so leicht unter UV-Licht detektiert werden kann. Sie sollte dann bei der später durch Hydroxylamin abgespalten werden.^[62]

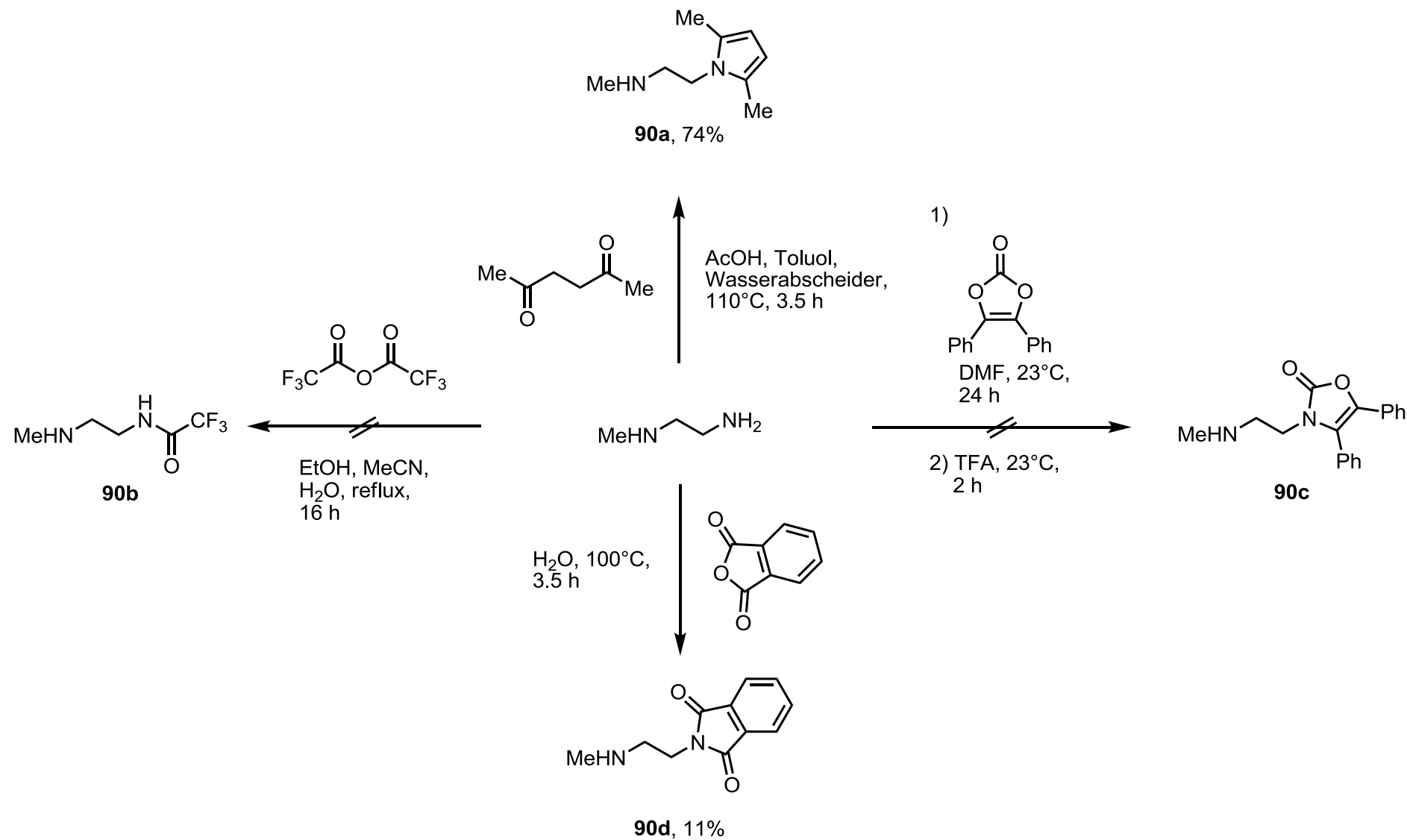


Abbildung 73: Versuche zur selektiven Einführung einer Schutzgruppe am primären Amin.

Nach dem Erhalt der beiden Linker **90a** und **90d** sollte nun der nächste Schritt erfolgen. Nach der Bildung des Imins oder Enamins und der anschließenden Aminolyse sollten die Schutzgruppen des Dimethylpyrrols **91a** hydrogenolytisch und des Phthalimids **91d** unter Zusatz von Hydrazin abgespalten werden. Die Linker wurden in dem ersten Syntheseschritt in Toluol und Eisessig unter Rückfluss am Wasserabscheider für mehrere Stunden erhitzt (**Abbildung 74**). Per DC-Kontrolle und im Roh-NMR konnten nur das Edukt oder Zersetzungsprodukte erkannt werden. Die Synthese von Terephthalsäurederivaten mit einem sekundären Amin scheint unter der gängigen Methode nicht möglich zu sein.

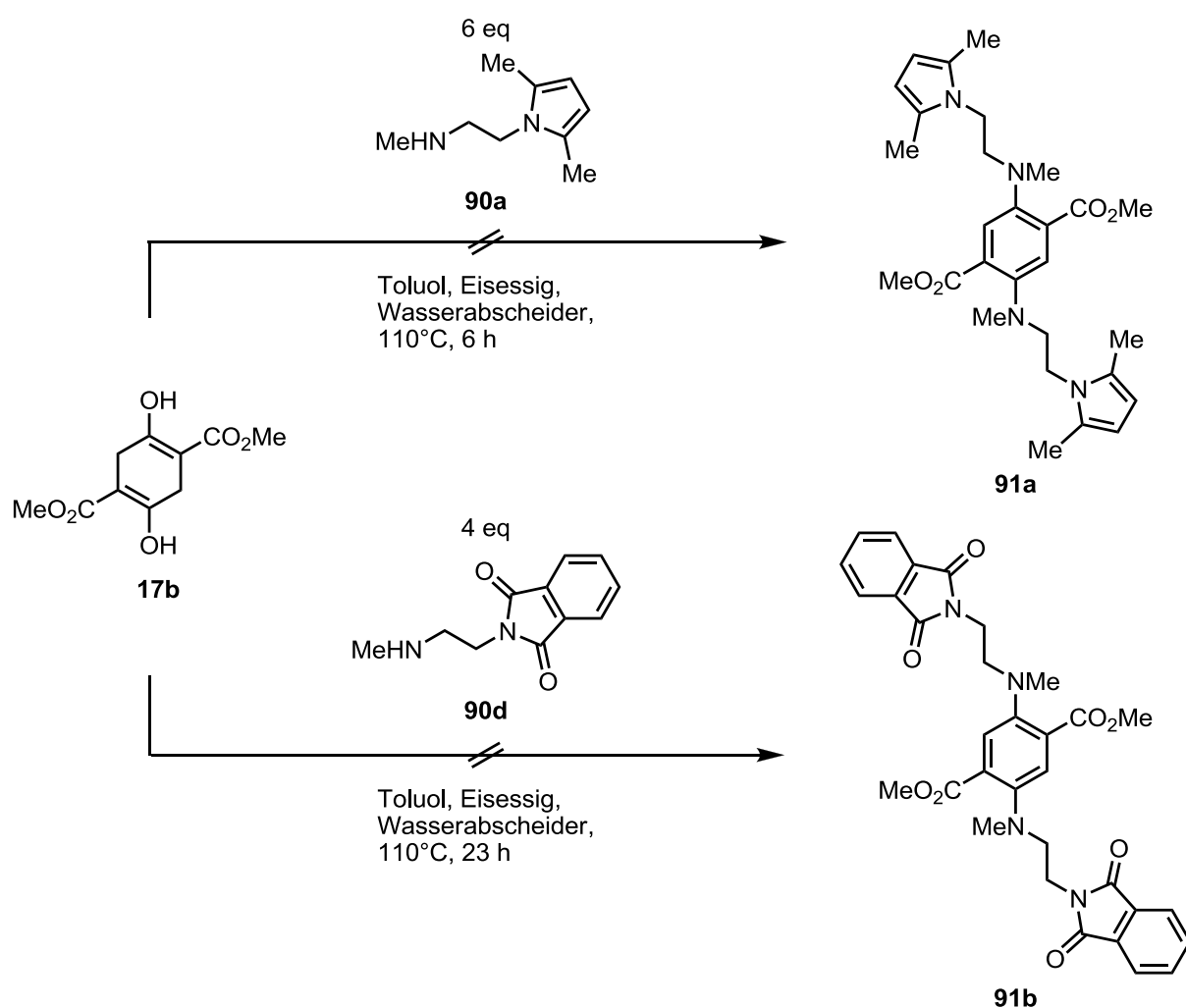


Abbildung 74: Syntheserversuch mit den zweifach substituierten Linkern **91a** und **91b**.

Zur Behebung des Problems B wurde die Nucleophilie des Linkers erhöht, indem nicht das Ammoniumsalz, sondern ein primäres Amin eingesetzt wurde (**Abbildung 76**). Hierfür wurde das Diamin selektiv Cbz-geschützt (**Abbildung 75**) und mit dem

Succinylsuccinat **17b** zu einem Gemisch aus dem pinkfarbenen Dienamin und der aromatischen Verbindung **89b** umgesetzt. Das Dienamin im Gemisch wurde oxidiert, wodurch die rot fluoreszierende Verbindung **89b** isoliert werden konnte. Die Ausbeute ist mit 35% Ausbeute über zwei Stufen recht gering, was mit der Schwerlöslichkeit des Enamins zu tun hat, welches zum einen für die Chromatographie nicht vollständig gelöst werden konnte und zum anderen auf der Chromatographiesäule teilweise liegen blieb. Die folgende Hydrierung führte zum Diamin **93**, welches nur in viel Lösungsmittel gelöst werden konnte und sehr polare Eigenschaften besaß. Es zeigte beim Lagern bei 23°C keine Polymerisationsreaktion, bei der das freie Amin mit dem Methylester eine Amidbindung bilden kann. Der entscheidende Schritt, das Bis-Maleimid **46** zu bilden, zeigte keinen Erfolg. Im ersten Versuch sollte erst das Anhydrid substituiert und anschließend der Ring in AcOH geschlossen werden. Auch das Erhitzen in Eisessig blieb erfolglos. Leider wurden die hier geschilderten beiden Probleme A und B nicht umgangen. Es war dennoch möglich genug Material von NiWa Orange **46** zu isolieren, um dieses der Biochemie zur Verfügung zu stellen oder weitere Reaktionen damit durchzuführen (Abschnitt 3.4.4.3).

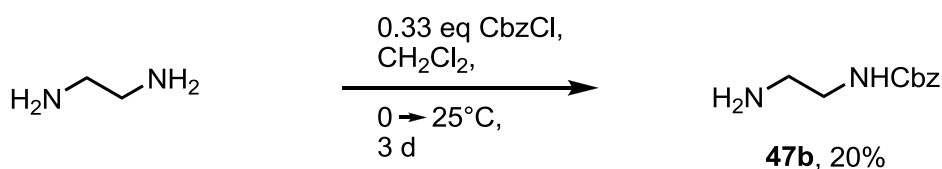


Abbildung 75: Selektive Einführung einer Cbz-Schutzgruppe.

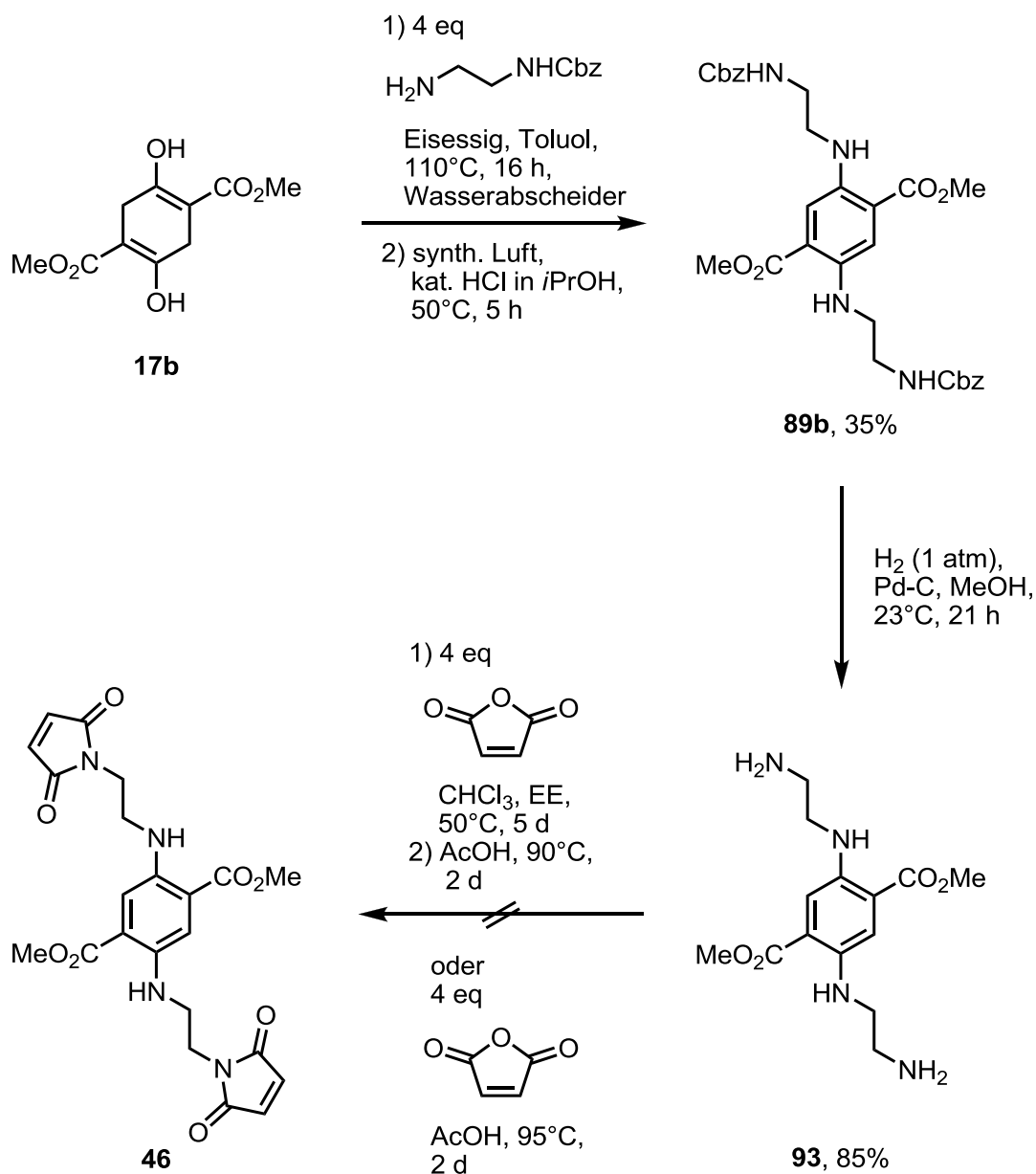


Abbildung 76: Erfolgslose Synthese des Bis-Maleimids **46** über das Diamin **93**.

3.4.4.3 Entwicklung von weiteren NiWa Orange-Farbstoffen

Zwei Thiol-Gruppen sind notwendig um die Fluoreszenz von NiWa Orange **46** anzuschalten. Es sollte nun ein Farbstoff im roten Bereich entwickelt werden, der nur eine Maleimid-Gruppe besitzt, um nach der Addition eines Thiols zu emittieren. Es war daher besonders praktisch, dass bei der etwas modifizierten Reaktion für den Erhalt von NiWa Orange **46**, das NiWa Orange **94** als Nebenprodukt aufgetreten war (**Abbildung 77**).^[53] Entscheidend dafür war wahrscheinlich die Verdünnung im ersten Schritt. Wenn der Anteil von TFA weiter gesenkt wurde, konnte keine Verschiebung des Produktverhältnisses beobachtet werden. Die Acetoxygruppe schien säurekataly-

lytisch an nur eine Maleimidgruppe addiert worden zu sein, als Reagenz für diesen Vorgang diente die im zweiten Schritt eingeführte Essigsäure. Für die chromatographische Trennung musste eine optimale Menge an Kieselgel (Höhe 6–8 cm) und ein Lösungsmittelgradient verwendet werden, da sonst die Trennleistung nicht ausreichte oder die Verbindungen auf der Chromatographiesäule hängen blieben.

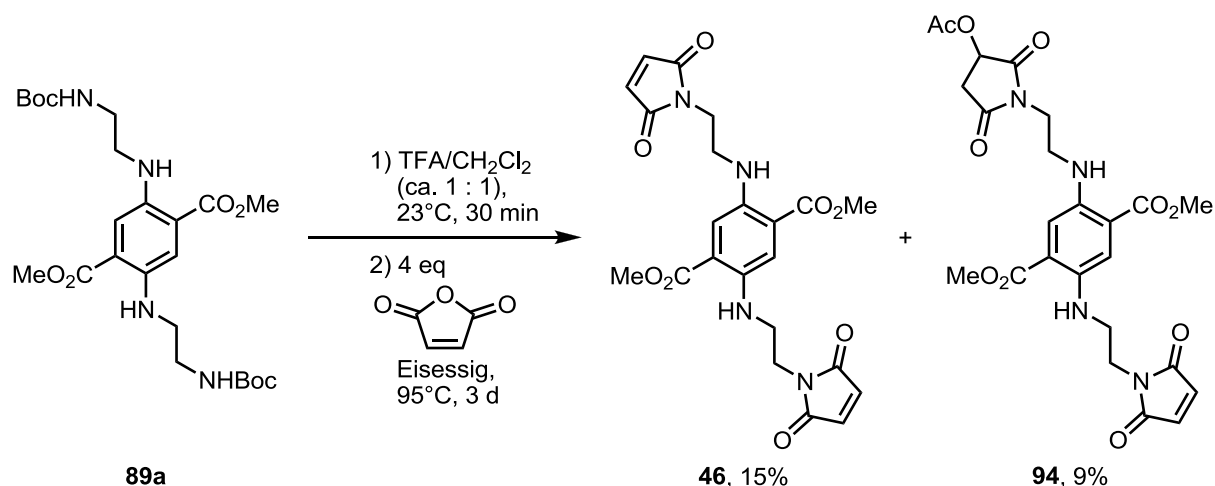


Abbildung 77: Synthese von NiWa Orange **94**.

Die Synthese der Acetoxyverbindung **94** war nicht immer reproduzierbar, deshalb sollte eine andere Methode entwickelt werden, um zu einem Monomaleimid zu gelangen. Zunächst wurde der Versuch unternommen, die Acetoxygruppe direkt an die Verbindung **46** anzubringen. Dazu wurde ein Überschuss an NaOAc zum Dimaleimid in DMF gegeben. Das Gemisch wurde zunächst bei 23°C, dann bei 70°C gerührt. Es konnte dabei nicht das erhoffte Produkt **94** erhalten werden. Deshalb wurde nach der Zugabe von TFA nur ein Äquivalent Maleimid zugegeben, um nur das einfach substituierte Maleimidderivat **95b** zu erhalten (**Abbildung 78**). Auch dieses gelang ohne Erfolg. Die selektive Entfernung einer Boc-Gruppe konnte in bis zu 38% Ausbeute durch Zugabe einer verdünnten TFA/CH₂Cl₂-Lösung durchgeführt werden. Die Substanz **95a** war jedoch nicht längere Zeit lagerbar, da sie in der Lage ist sich selber zu entschützen. Bei der Kombination aus Mono-Entschützen und der nachfolgenden Anbringung der Maleimidgruppe konnte leider auch kein Monoaddukt erhalten werden.

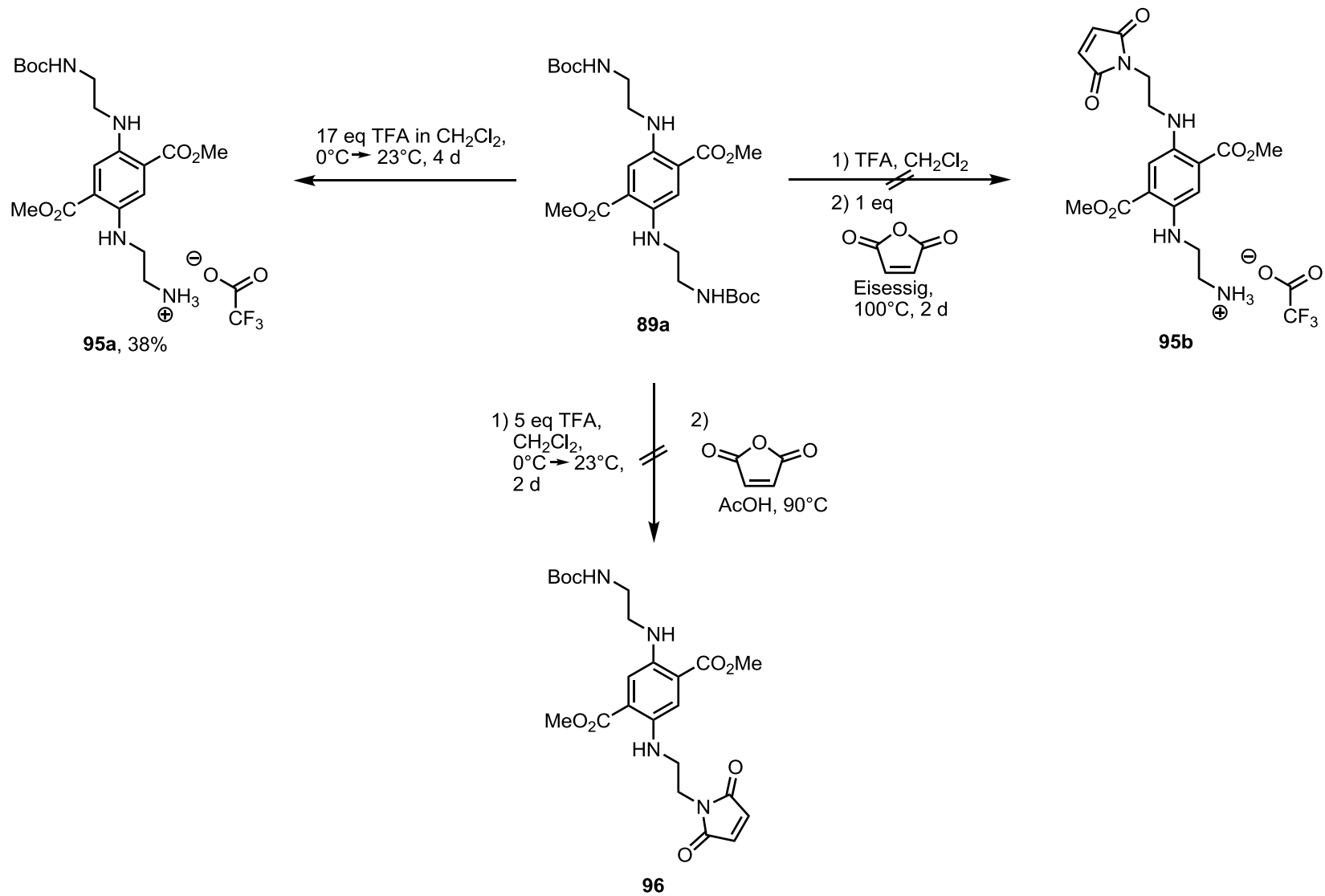


Abbildung 78: Einführung einer einzigen Maleimidfunktion.

Des Weiteren wurde die Verbindung **89a** mit TFA entschützt und mit einem Äquivalent Pivalinsäurechlorid versetzt, um das einfache Amid **95c** zu erhalten, was jedoch nicht gelang. Das zweifache Salz **97** und das Bis-Pivalinsäureamid **89c** konnten lediglich isoliert werden (**Abbildung 79**).

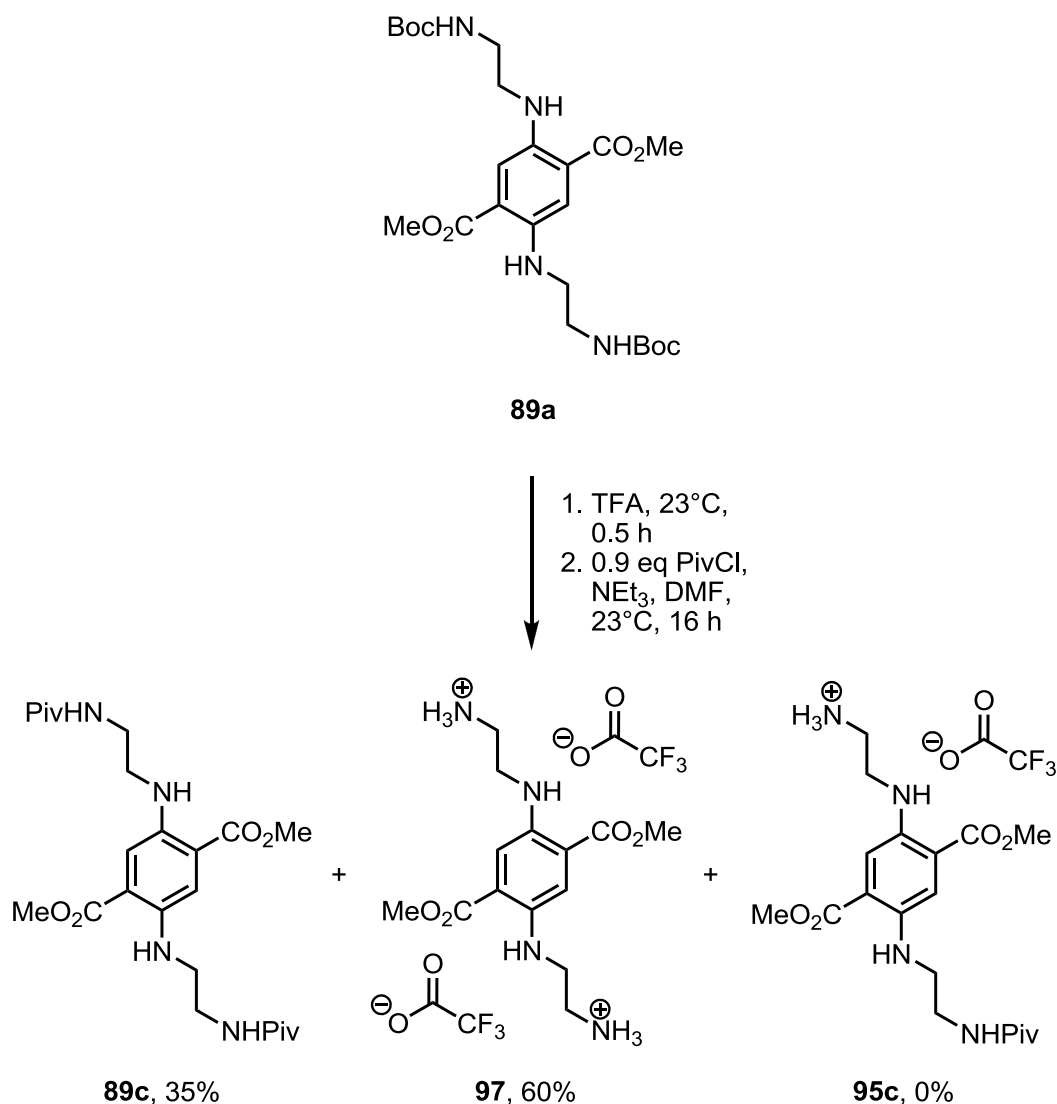


Abbildung 79: Syntheseversuch um das Salz **95c** zu erhalten.

Da sämtliche Versuche nur eine Maleimidfunktion einzuführen zu keinem Ergebnis geführt haben, sollte nun einer dieser Gruppen durch die Addition eines Thiols blockiert werden. Es wurde erst nur ein Äquivalent des Benzylmercaptans mit starker Verdünnung eingesetzt, wodurch das Mono- und das Bis-Produkt erhalten wurde, die durch Chromatographie nicht getrennt werden konnten, weil die Polarität der Verbindungen eine zu starke Ähnlichkeit aufwies. Deshalb wurde nun ein langkettiges aliphatisches und unpolares Thiol verwendet. Die Wahl fiel auf das Hexadecanthiol,

welches in einer Lösung mit einer Konzentration von 0.015 mol l^{-1} eingesetzt wurde (**Abbildung 80**). Das Dimaleimid **46** wurde ebenfalls stark verdünnt und die Thiol-lösung wurde unter Eiskühlung langsam zugetropft. Es trat erst eine Umsetzung nach Zugabe einer Base, wie NEt_3 , auf. Es entstand dabei ein Gemisch aus Edukt **46** (19%), dem gewünschten NiWa Orange **98** (11%) und Bis-Addukt **99** (8%). Auffällig bei dieser Reaktion war der Verlust an Substanz. Interessanterweise konnte ein Gemisch nur bei 0.50 eq des Thiols isoliert werden, beim Einsatz von 0.75 eq oder höher konnte einzig das Bis-Addukt **99** erhalten werden, was eigentlich auf Grund der Stöchiometrie nicht möglich ist. Die Erklärung dafür könnte ein DC-Spot auf der Startlinie der Chromatographiefolie liefern, der auch beim Rühren des Eduktes in CH_2Cl_2 und NEt_3 beobachtbar war. Die schon häufig angesprochenen Nebenreaktionen konnten hier auch wieder aufgetreten sein, die durch die Base erst katalysiert wurden. Speziell besteht hier der Verdacht, dass das sekundäre Amin mit der Maleimidfunktion intermolekular reagiert hat und diese Oligomere dann der Reaktionslösung entzogen wurden. Letztendlich würden dann weniger Maleimidfunktionen für den Thiolangriff zur Verfügung stehen. Genaue Belege für diese Vermutung konnten dafür allerdings nicht erbracht werden.

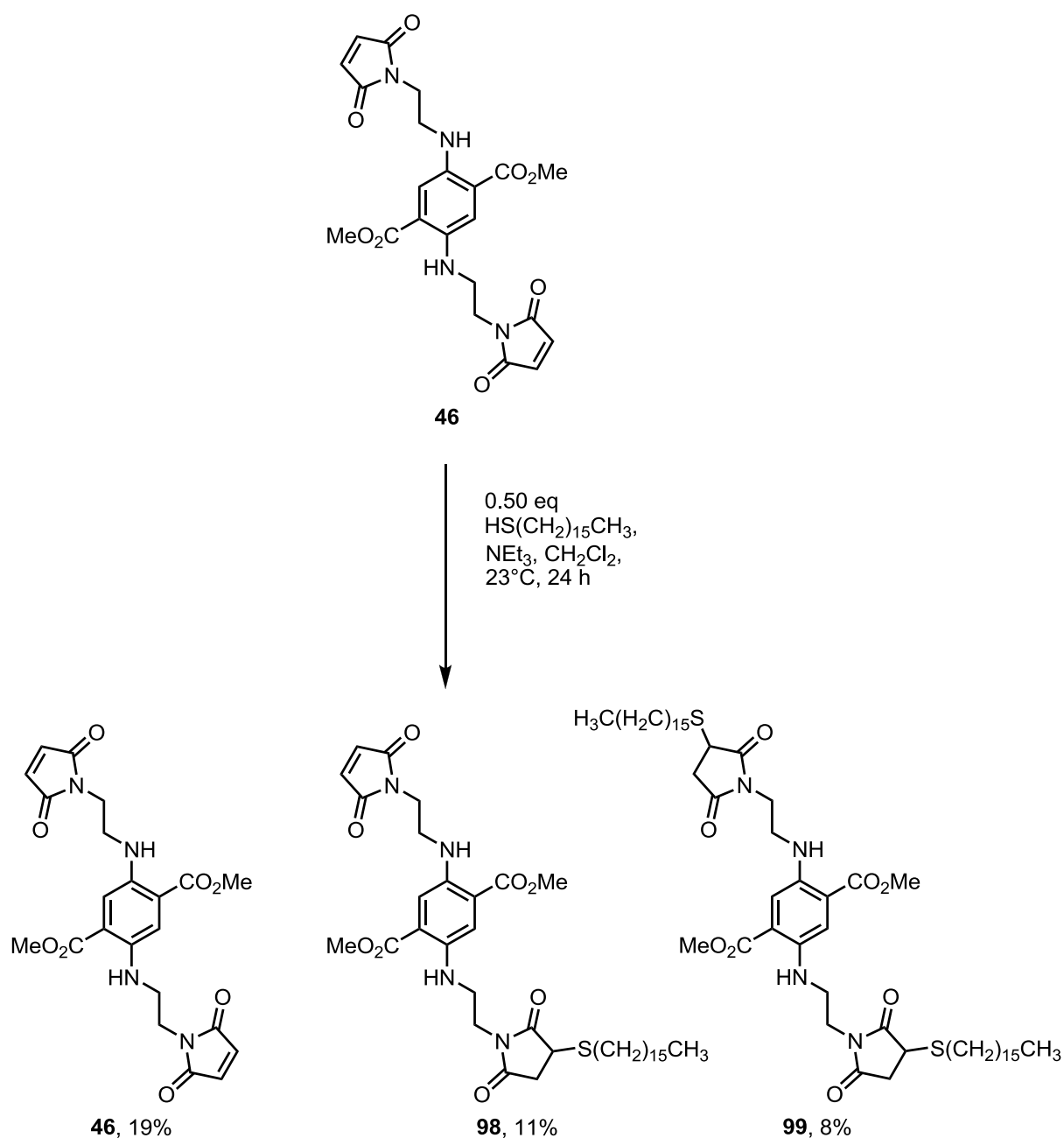


Abbildung 80: Addition des Hexadecanthiols am Bis-Maleimid **46**.

3.4.5.1 NiWa Orange 46 in der Anwendung

Analog zum NiWa Blue zeigt das NiWa Orange keine fluoreszierenden Eigenschaften. Die Vermutung liegt nahe, dass auch hier ein Quenchvorgang durch Elektronen- oder Energietransfer verantwortlich ist. Die Länge des Linkers müsste also noch weiter verlängert werden um die Fluoreszenz „anzuschalten“. Trotz dieser Tatsache wurde ein Überschuss an Thiol in Anwesenheit von NEt_3 zugegeben um zu

prüfen, ob durch die Addition die Verbindung durch Anregung emittiert (**Abbildung 81**).^[53]

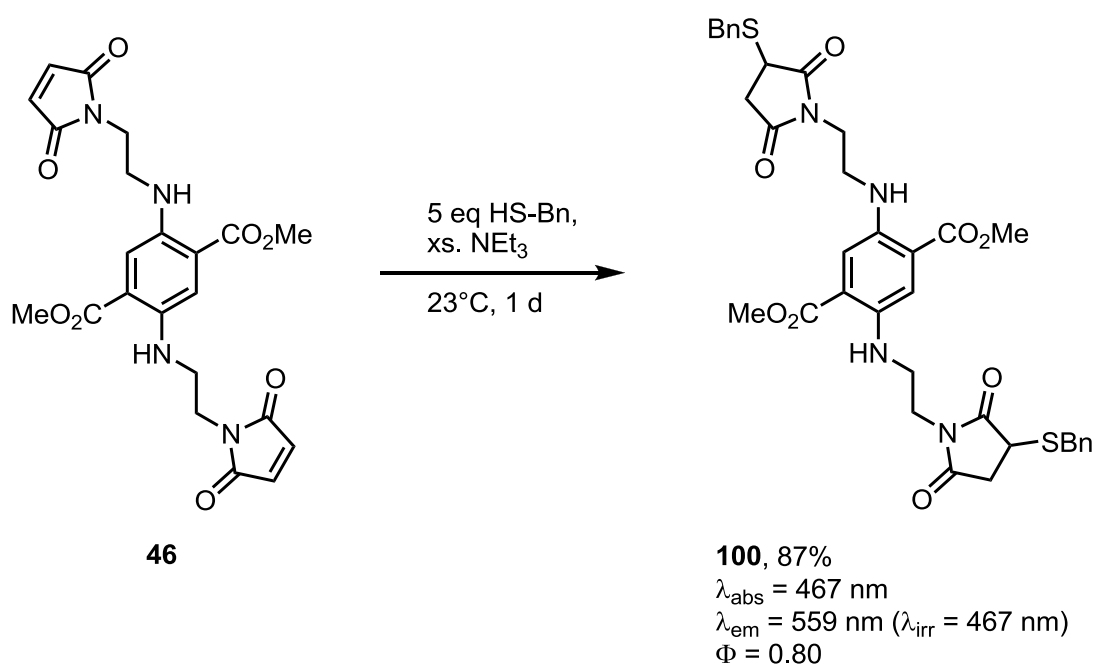


Abbildung 81: Addition von Benzylmercaptan an NiWa Orange **46**.

Die Verbindung erzeugte wie erwartet eine Emission im sichtbaren orangen Bereich. Die Bildung des Monoaddukts konnte bei der Reaktion nicht beobachtet werden. Zusätzlich zu der Absorption und der Emission wurde erneut die Quantenausbeute mit Fluorescein als Standard bestimmt.

Die biochemischen Untersuchungen mit der Verbindung **46** und dem Recoverin gaben unerwartete Ergebnisse. In der Gelelektrophorese konnten an Hand der Molekularmasse keine Proteindimerbildung und auch nicht die einfache Verknüpfung des NiWa Orange **46** mit dem Protein beobachtet werden. Vielmehr zeigte es eine andere Molekularmasse, die durch eine nicht erwartete Konformationsänderung des Proteins verursacht wurde. Des Weiteren wurde bei der Anregungswellenlänge von 445 nm eine Fluoreszenz detektiert (**Abbildung 82**), die wahrscheinlich auf eine Ab-sättigung der beiden Maleimid-Doppelbindungen hindeutet. Denn es wurde angenommen, dass bei dem Mono-Additionsprodukt durch das Vorhandensein einer Maleimidfunktion die Fluoreszenzlöschung in Erscheinung tritt.

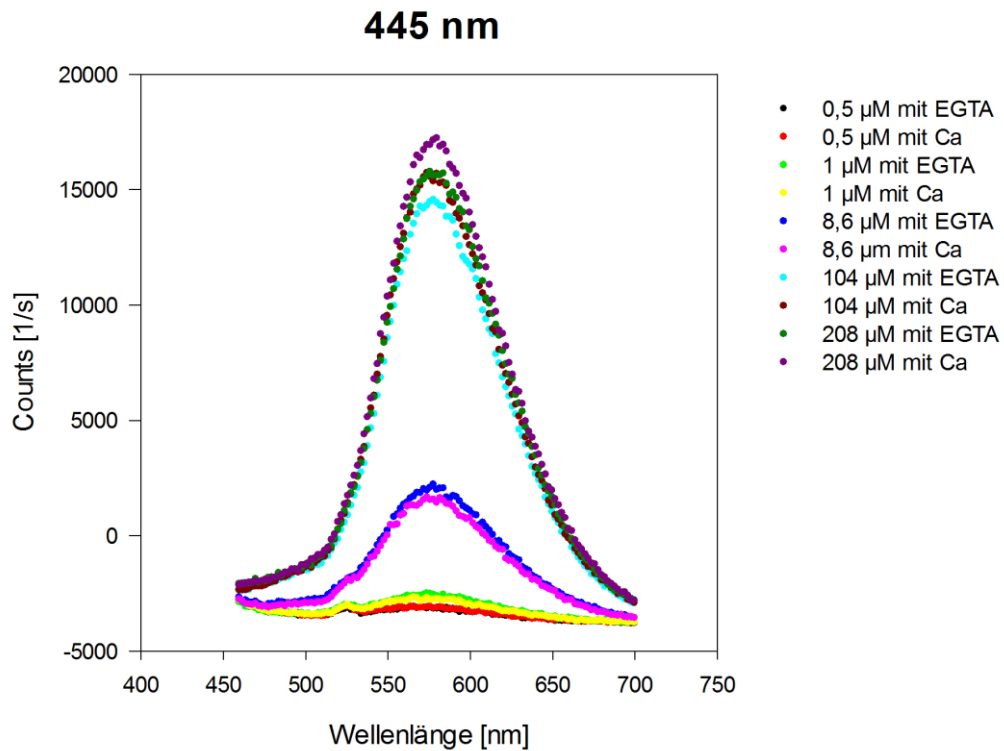


Abbildung 82: Nicht-myristolisiertes Recoverin gebunden an NiWa Orange **46** bei verschiedenen Konzentrationen in Anwesenheit und in Abwesenheit von Ca^{2+} , $\lambda_{\text{irr}} = 445 \text{ nm}$.

FRET-Prozesse wurden dieses Mal nicht detektiert (**Abbildung 83**), was an der fehlenden Emission im Bereich von 550–600 nm erkennbar war (der spitze Peak bei ca. 575 nm in **Abbildung 83** stellt ein Artefakt dar). Das Fehlen des FRET-Vorganges kann so gedeutet werden, dass die Tryptophanreste durch einen ausreichenden Abstand nicht in Wechselwirkung zum Chromophor standen.

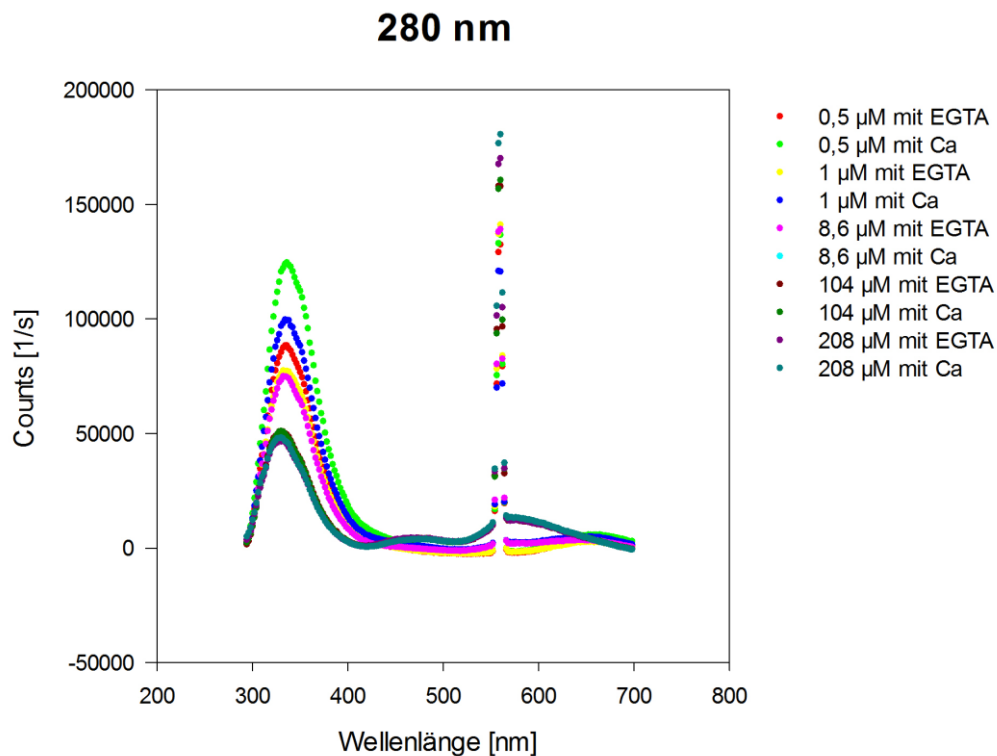


Abbildung 83: FRET-Untersuchung, nicht-myristolisiertes Recoverin gebunden an NiWa Orange **46** bei verschiedenen Konzentrationen in Anwesenheit und in Abwesenheit von Ca^{2+} , $\lambda_{\text{irr}} = 280 \text{ nm}$.

Diverse Untersuchungen^[11] in der vergangenen Zeit haben belegt, dass bei Abwesenheit eines reaktiven Thiols das Amin nach einer gewissen Zeit eine konjugierte Addition mit dem Maleimid eingeht. Es kann daher in Betracht gezogen werden, dass ein benachbartes Amin im Protein neben dem Cysteinrest mit dem NiWa Orange **46** eine Verknüpfung gebildet hat (**Abbildung 84**). Der Vorgang war nur intramolekular beobachtbar, da die Dimerbildung durch die Elektrophorese ausgeschlossen werden konnte.

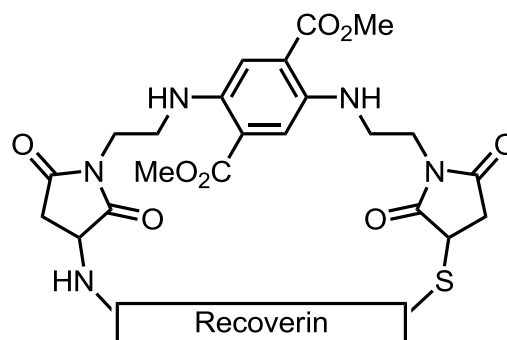


Abbildung 84: Mögliche Verknüpfung zwischen der Verbindung **46** und dem Recoverin.

3.4.5.2 NiWa Orange 94 und 98 in der Anwendung

Dieses Mal wurden die gequenchten Chromophore **94** und **98** an Glutathion (GSH) geknüpft.^[53] Dazu wurden die Verbindungen **94** und **98** (1 mg) jeweils mit 1 ml des entsprechenden Lösungsmittels, 10 μ l *N*-Methylmorpholin (NMM) oder NaHCO₃ (9.6 %, als gesättigte Lösung) und einem Überschuss an GSH (10 mg) für 20–30 min bei 23°C gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf 10 ml verdünnt und es wurden UV-Vis, Fluoreszenz und massenspektrometrische Untersuchungen durchgeführt. Die Produkte wurden nicht isoliert, aber durch ESI-MS-Hochauflösung nachgewiesen. Die Ergebnisse sind der **Tabelle 9** zu entnehmen.

Tabelle 9: Markierungsversuche an Glutathion.

Verbindung	LM	Base	λ_{abs}	λ_{em}	MS
94	CH ₃ CN	–	462 nm	–	Edukt
	CHCl ₃	–	382 nm	–	–
	H ₂ O	–	-	–	GSH
	DMSO	–	469 nm	568 nm	GSH, Addukt
94	CH ₃ CN	NMM	477 nm	–	Edukt
	CHCl ₃	NMM	392, 460 nm	–	Edukt
	H ₂ O	NaHCO ₃	398 nm	–	–
	DMSO	NMM	469 nm	566 nm	GSH, Addukt
98	CH ₃ CN	–	464 nm	–	Edukt
	CHCl ₃	–	382 nm	–	–
	H ₂ O	–	–	–	GSH
	DMSO	–	469 nm	565 nm	GSH, Addukt

98	CH ₃ CN	NMM	467 nm	–	Edukt
	CHCl ₃	NMM	370, 468 nm	–	Edukt
	H ₂ O	NaHCO ₃	–	–	–
	DMSO	NMM	471 nm	568 nm	GSH, Addukt

Bei den durchgeführten Untersuchungen waren die Löslichkeitseigenschaften auffällig. In den verschiedenen Lösungsmitteln löste sich entweder das NiWa Orange **94** und **98** oder das GSH. Dieses wurde auch an Hand der Massenspektrometrie zum größten Teil bestätigt. Nur in DMSO konnte eine Fluoreszenz und das GSH-Additionsprodukt nachgewiesen werden, da es in der Lage war beide Komponenten zu lösen. Interessanterweise war die Basenkatalyse in diesem Reaktionssystem nicht erforderlich. Eine zusätzliche Anomalität konnte bei den Absorptionsbanden in Chloroform beobachtet werden, weil zwei Banden beobachtet wurden. Eine mögliche Ursache könnte eine teilweise Hydrolyse sein, die durch den Wassergehalt des Chloroforms und dem Basenzusatz verursacht wurde. Im Allgemeinen zeigte das unpolarere NiWa Orange **98** eine geringere Löslichkeit als das NiWa Orange **94**, was durch die lange aliphatische Alkylkette verursacht wurde. Zudem zeigten beide Addukte in DMSO die gleiche Absorptions- und Emissionswellenlänge.

Die Untersuchungen^[53] an NiWa Orange **94** als Marker für Recoverin zeigen beim myristylierten Protein bei der Anregung von 440 nm nur in der „Schulter“ der Kurve eine calciumabhängige Kurvenveränderung (**Abbildung 85**). Die Detektion der Konformationsänderung des Proteins kann durch die Anregung bei 280 nm, also durch den FRET-Prozess, verdeutlicht werden (**Abbildung 86**).

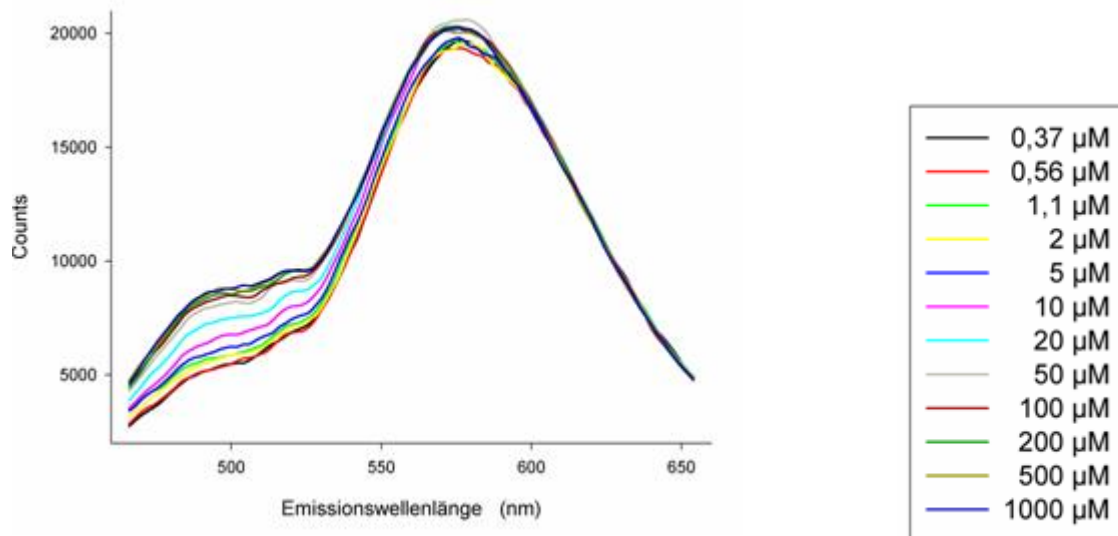


Abbildung 85: Fluoreszenzspektrum des NiWa Orange **94** am myristylierten Recoverin bei verschiedenen Ca^{2+} -Konzentrationen, $\lambda_{\text{irr}} = 440 \text{ nm}$.

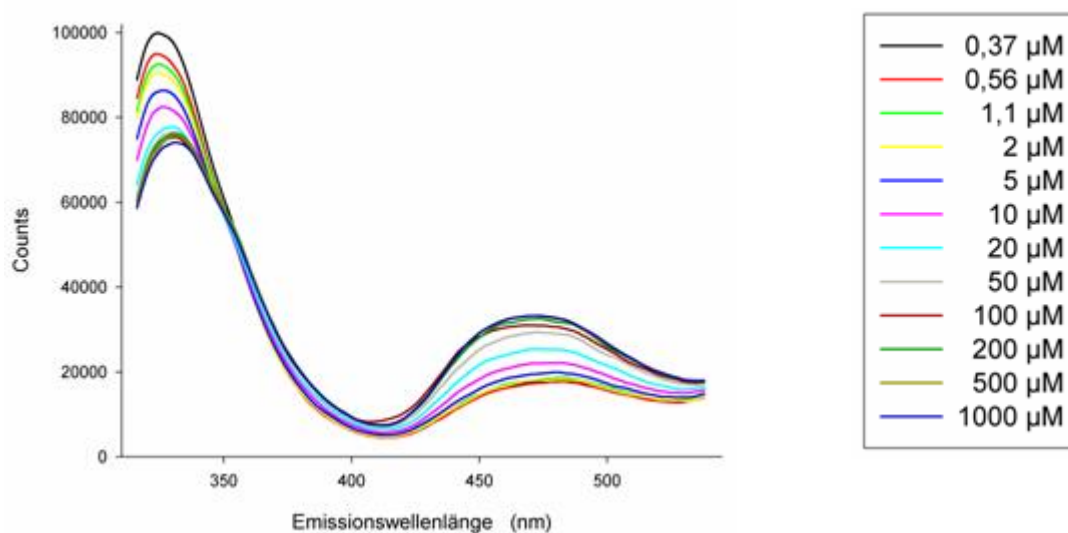


Abbildung 86: Fluoreszenzspektrum des NiWa Orange **94** am myristylierten Recoverin bei verschiedenen Ca^{2+} -Konzentrationen, $\lambda_{\text{irr}} = 280 \text{ nm}$.

Die halbmaximale Änderung der Konformation des myristylierten Recoverins liegt bei ca. 18 μmol (**Abbildung 87**), zwei ganze Zehnerpotenzen über den Wert des nicht-myristylierten Recoverins (ca. 0,3 μmol , **Abbildung 88**). Die Fettsäure hält das Protein davon ab sich bei kleineren Calcium-Konzentrationen zu verändern, dafür sind größere Konzentrationen notwendig. Bei der Betrachtung der Auswirkung des FRET-Prozesses beim nicht myristylierten Protein ist im Vergleich zum myristylierten die Strukturveränderung kaum zu erkennen (**Abbildung 89**).

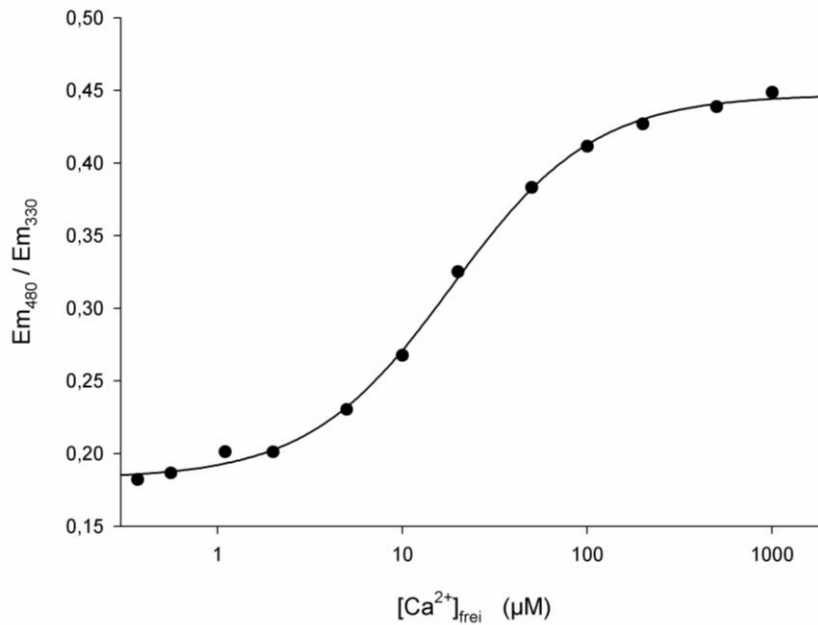


Abbildung 87: Funktion des Emissionsverhältnis von 480 und 330 nm in Abhängigkeit der Ca^{2+} -Konzentration bei dem markierten myristylierten Recoverin.

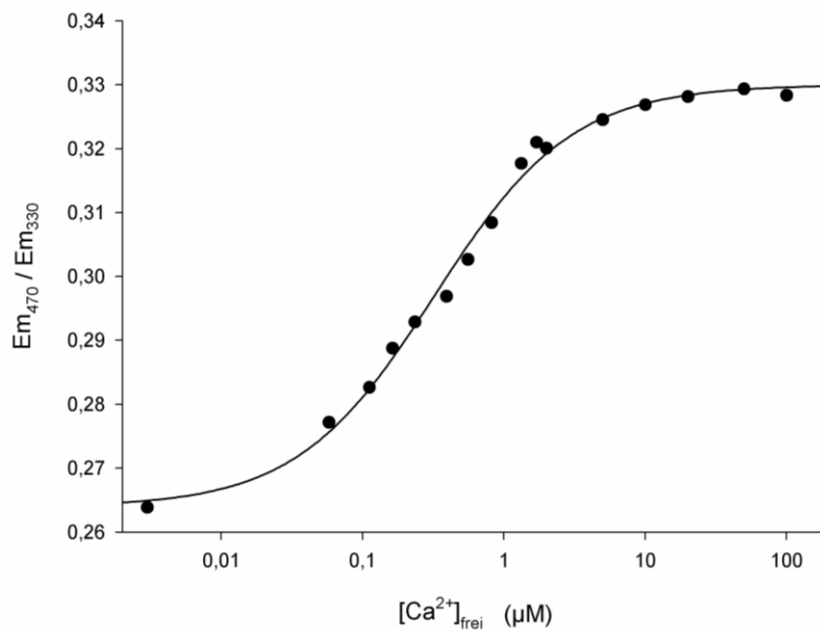


Abbildung 88: Funktion des Emissionsverhältnis von 470 und 330 nm in Abhängigkeit der Ca^{2+} -Konzentration bei dem markierten nicht-myristylierten Recoverin.

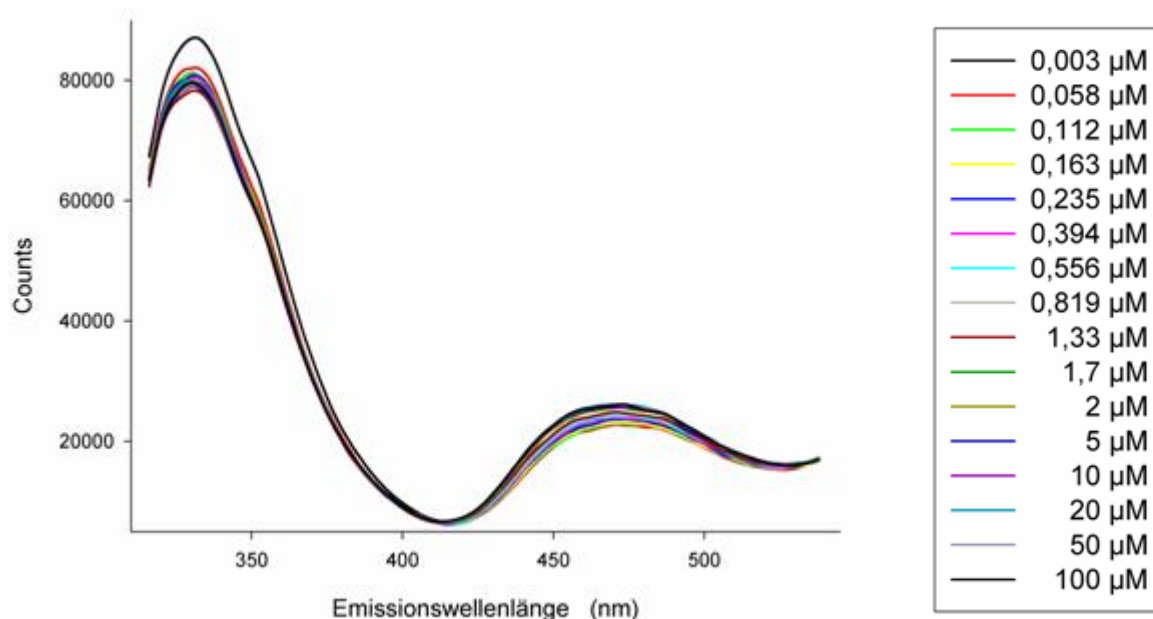


Abbildung 89: Fluoreszenzspektrum des NiWa Orange **94** am nicht-myristolierten Recoverin bei verschiedenen Ca^{2+} -Konzentrationen, $\lambda_{\text{irr}} = 280 \text{ nm}$.

3.5 Synthese von 2,3-Diaminoterephthalsäurederivaten

3.5.1 Darstellung von 2,6-Diaminoterephthalsäurederivaten

Es wurde der Versuch unternommen, eine alternative Syntheseroute zu entwickeln, die zu 2,5-Diaminoterephthalsäurederivaten führt, um die Effizienz zu steigern. Zunächst wurde eine ähnliche Vorgehensweise wie bei *Kaufmann*^[22] gewählt, in der die Terephthalsäure **49** erst doppelt nitriert werden sollte, was durch eine zweistufige Synthese gelang (**Abbildung 90**). Durch langsames Zutropfen der Terephthalsäure **49** zu einer Nitriersäure aus 100%iger Salpeter- und konzentrierter Schwefelsäure konnte nach Erwärmen der Suspension die Verbindung **101** in sehr guten Ausbeuten isoliert werden. Bei der zweiten Nitrierung musste durch den desaktivierenden Effekt der Substituenten die Mischung auf 150°C erwärmt werden. Auf Grund der drastischen Bedingungen konnte die Dinitroterephthalsäure **102** nun in geringen Ausbeuten und leicht verunreinigt erhalten werden. Die zweifache Nitrierung in einer Eintopfreaktion führte zu keinem guten Ergebnis. Die anschließende Veresterung führte durch den Angriff der deprotonierten Dicarbonsäure **102** an Methyljodid zum entsprechenden Dimethylester **103**. Es sollte der erhaltende Diester **103** durch Reduktion der Nitrogruppen zum Diamin umgesetzt werden. Anhand des Protonen-NMR-Spektrums des Dimethylesters **103** konnte jedoch nachgewiesen werden, dass

die zweite Nitrierung zum falschen Regioisomer geführt hatte, weil zwei unterschiedliche Estergruppen zu sehen waren. Die Carbonsäuregruppe und der Einfluss der Nitrogruppen könnten dazu geführt haben, dass das 2,6-Dinitroderivat gebildet wurde. Des Weiteren ist die Verbindung durch die drei Substituenten stark deaktiviert, so dass nur reaktivere Reagenzien und eine erhöhte Temperatur zu einer zweiten Nitrierung geführt haben, was wiederum den Umsatz und somit die Effizienz minimierte. An diesem Punkt wurde der Synthesepfad verworfen.

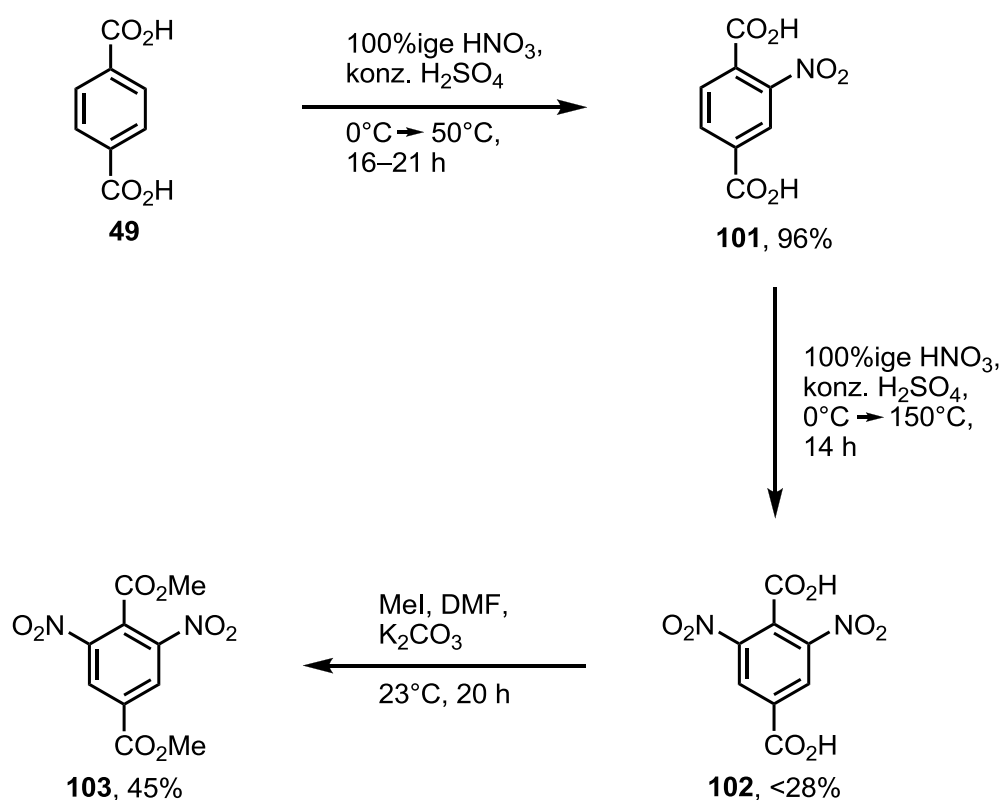


Abbildung 90: Erste alternative Syntheseroute.

3.5.2 Die Synthese von 2,3-Diaminoterephthalsäurederivaten

Die Strategie wurde geändert. Nun sollte *para*-Xylol **50** als Ausgangsmaterial dienen. Dieses wurde unter Eiskühlung mit Nitriersäure versetzt (**Abbildung 91**). Dabei entstand ein Gemisch aus 2,3-; 2,6- und 2,5-Dinitro-*p*-xylol (**104a–c**). Durch Umkristallisierungs- und Chromatographieversuche konnte nur die 2,3-Komponente isoliert werden. Die anderen beiden Verbindungen **104b** und **104c** konnten nicht voneinander getrennt werden.

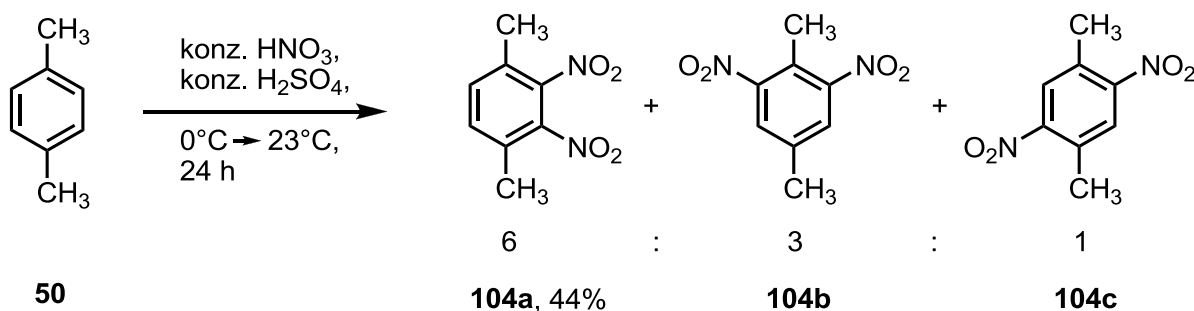


Abbildung 91: Nitrierung von *para*-Xylol **50**.

Die Unterscheidung zwischen dem 2,3- und dem 2,5-Dinitro-*p*-xylol (**104a** und **104c**) gestaltet sich durch ^1H -NMR- und entkoppelte ^{13}C -NMR-Spektroskopie als schwierig. Aus diesen Grund wurde an Hand einer gated-decoupled $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messung die Substanz **104a** als richtiges Regioisomer identifiziert. Die Kopplung zwischen den Kohlenstoff und den Protonen können durch diese Methode gemessen werden. Das Kohlenstoffatom an der Position 5 (**Abbildung 84**, weißer Pfeil) zeigt ein signifikantes ddq-Signal, welches nur bei diesem Regioisomer vorzufinden ist. Eine zusätzliche Bestätigung liefert die Schmelztemperatur von 90°C , die mit der Literatur übereinstimmt.^[63]

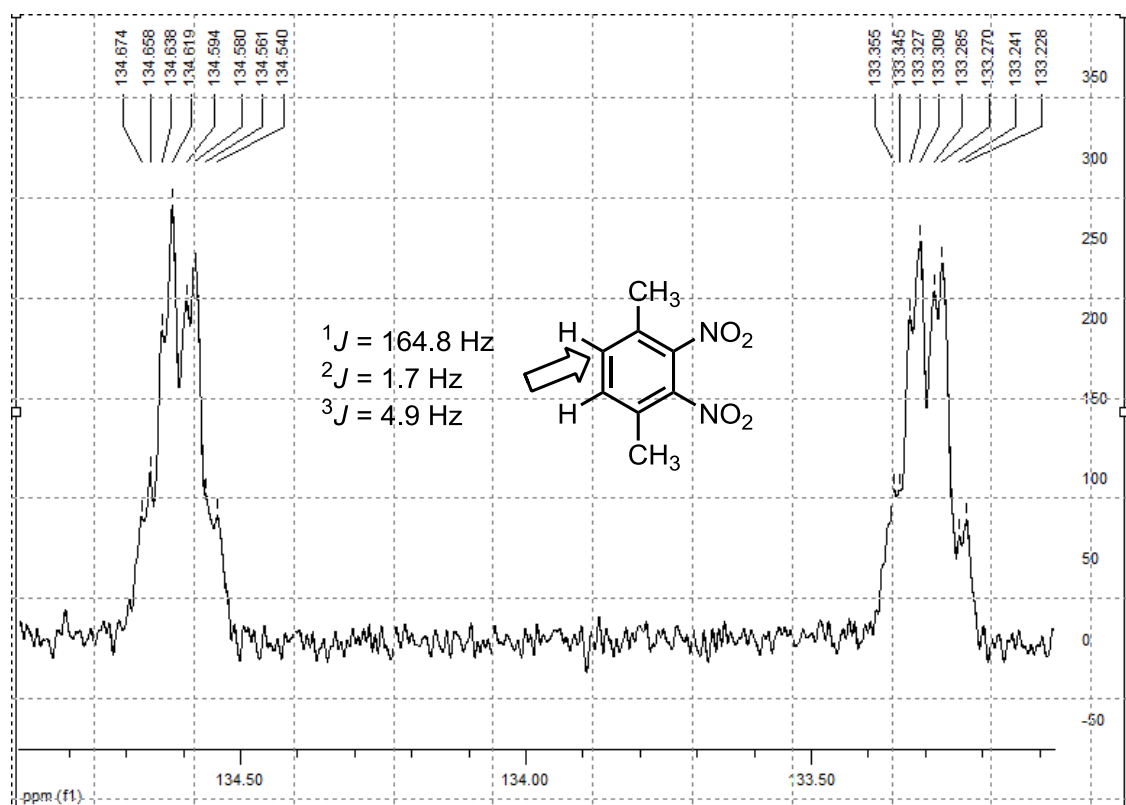


Abbildung 92: Das entscheidende C-5, ddq-Signal bei der gated-decoupled $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ Messung.

Trotz des Erhalts des falschen Regioisomers wurde die Syntheseroute weiter verfolgt, um die fluoreszierenden Eigenschaften vom 2,3- und 2,5-Regiosomer zu vergleichen. Die Oxidation der aromatischen Methylgruppe wurde in KMnO_4 und (*N*-Methyl-*N,N*-dioctyloctan-1-ammonium)chlorid (Aliquat 339) in H_2O unter Rückfluss durchgeführt. Als Vorteil hat sich bei der Aufarbeitung die heiße Filtration über Kieselgur oder Blaubandfilter erwiesen. Ein großer Teil des Produktes blieb wahrscheinlich trotz ausreichendem Spülen im gebildeten Braunstein hängen. Nach Ansäuern konnte die doppelte Carbonsäure **105** ohne weitere Aufarbeitung in bis zu 35% Ausbeute erhalten werden.

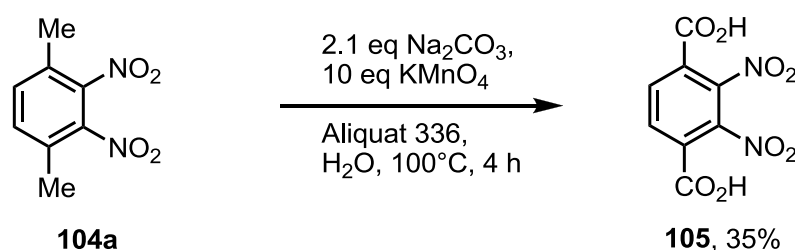


Abbildung 93: Oxidation zur Dicarbonsäure **105**.

Für die Veresterung zum Methyl ester wurden zwei Methoden verwendet (**Abbildung 94**). Als erstes wurde der zweifache Ester über das Säurechlorid hergestellt. Die Verbindung **107a** konnte in bis zu 61% Ausbeute erhalten werden. Als Nebenprodukt wurde das chloresubstituierte Derivat **106** gebildet. Das anfallende Nebenprodukt **106** konnte dabei auch in größerer Menge zu Ungunsten des Hauptproduktes **107a** synthetisiert werden. Durch den stark desaktivierenden Effekt der vier Substituenten schien das Chlorid-Ion nucleophil genug zu sein, um eine nucleophile aromatische Substitution durchzuführen und eine Nitrogruppe zu verdrängen. Die zweite Methode ist die klassische Variante, in der die Ausgangsverbindung **105** in Methanol mit katalytisch H_2SO_4 unter Rückfluss erhitzt wurde. Als wasserentziehendes Mittel wurde MgSO_4 zugesetzt, was einen zufriedenstellenden Umsatz und 85% Ausbeute lieferte.

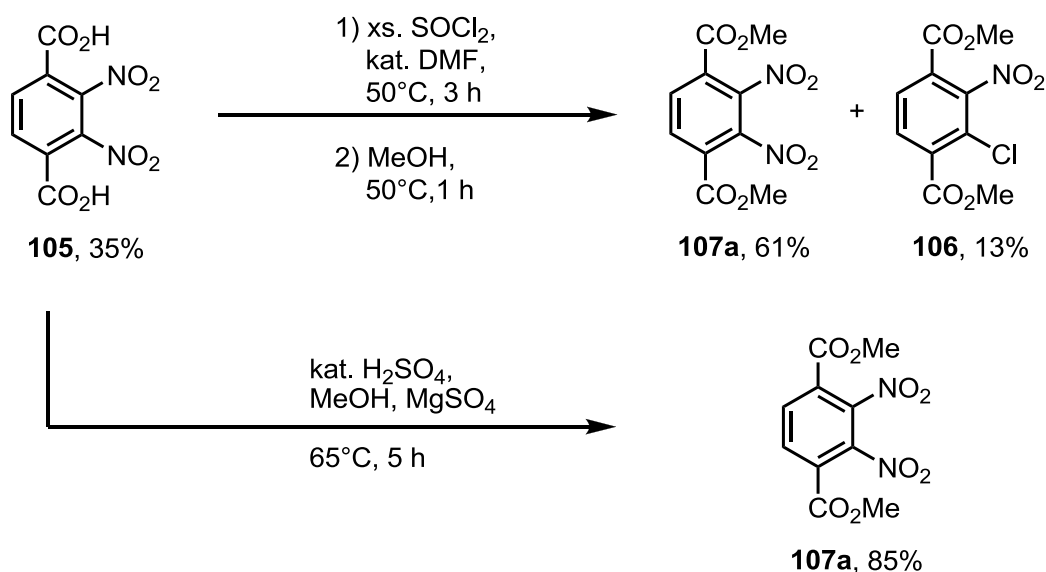


Abbildung 94: Veresterungen der Dicarbonsäure **105**.

Für die Synthese des Dibenzylesters **107b** wurde zunächst die Carbonsäure **105** mit Kaliumcarbonat und Benzylbromid in Aceton für 16 h erwärmt. Da kein Produkt isoliert werden konnte, wurden nun zwei Literaturvorschriften^[64] kombiniert und leicht abgewandelt. Das Produkt wurde mit Methanol und NEt₃ versetzt um das Ammonium-Salz zu erhalten, dann wurde das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde anschließend mit Benzylbromid unter katalytischen Zusatz von TBAB in DMF für 6 h bei 100°C gerührt. Die Zielverbindung **107b** wurde in 36% Ausbeute erhalten. Die Verwendung von THF im zweiten Syntheseschritt und deren leichte Erwärmung auf 50°C für 16 h konnten die Ausbeute bei diesen mildereren Bedingungen auf bis zu 83% steigern (**Abbildung 95**).

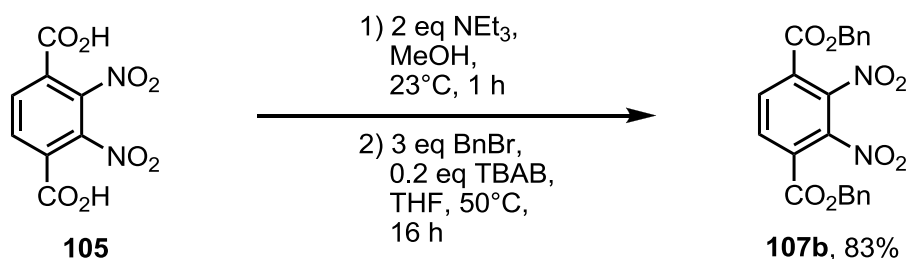


Abbildung 95: Synthese des Dibenzylesters **107b**.

Des Weiteren wurden Versuche unternommen, die einfach veresterte Verbindung zu erhalten (**Tabelle 10**). Nach einer Literaturvorschrift^[65] wurde mittels NaH das Carboxylat gebildet, welches anschließend mit dem Benzylbromid reagieren sollte.

Dieses führte, wie beim Einsatz von NEt_3 und Benzylchlorid, auch zu keinem Ergebnis. Wenn Methyljodid als Reagenz zur Methylesterbildung verwendet wurde, konnte lediglich der Dimethylester **107a** isoliert werden.

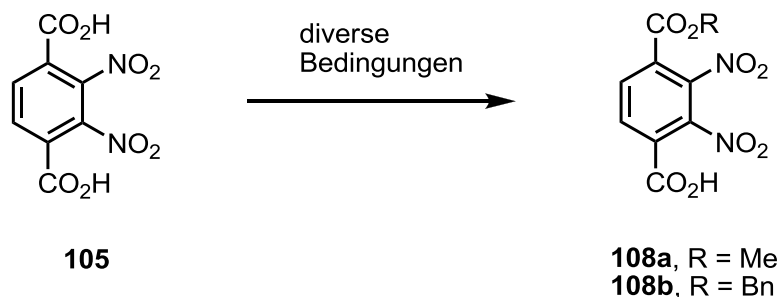


Tabelle 10: Monoveresterungsversuche.

Produkt	Reagens	Base	LM	T/°C	t/h	Ergebnis
108b	1 eq BnBr	1.05 eq NaH	DMF	0 → 23	4	–
108b	1.1 eq BnCl	2 eq NEt_3	EtOH	78	14	–
108a	1.1 eq MeI	1.1 eq K_2CO_3	MeOH	0 → 23	16	–
108a	1.8 eq MeI	1.1 eq K_2CO_3	MeOH	23	16	35 % Ester 107a

Die Reduktion der Dinitroterephthalsäuredimethylester **107a** stellte keine Probleme dar, da sie in einer Suspension aus Pd-C und MeOH unter Wasserstoffatmosphäre durchgeführt werden konnte (**Abbildung 96**).

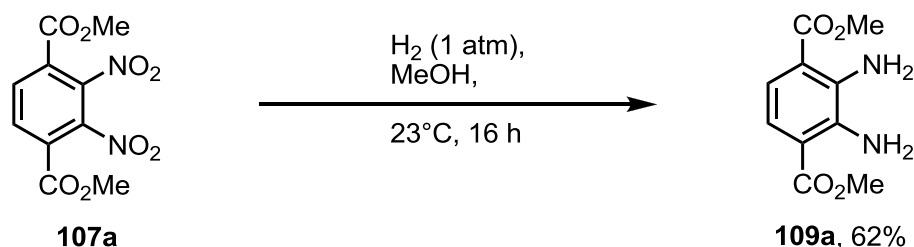


Abbildung 96: Reduktion der Nitrogruppen beim Dimethylester **107a**.

Unter diesen Bedingungen kann allerdings die Benzylfunktion des Esters **107b** abgespalten werden, deshalb musste die Nitrogruppen unter milderer Bedingungen

reduziert werden. Die durchgeführten Experimente sind übersichtshalber in **Tabelle 11** aufgeführt. Die Reduktion einer Nitrogruppe mit Fe/HCl ^[66] oder Zn in AcOH ^[67] ist literaturbekannt und die Reduktion der zweiten Nitrofunktion ist nur selten in Veröffentlichungen zu finden.^[68] Angewendet auf die Dinitroverbindung **107b** konnte nur ein Gemisch erhalten werden, das kaum getrennt werden konnte (**Abbildung 97**).

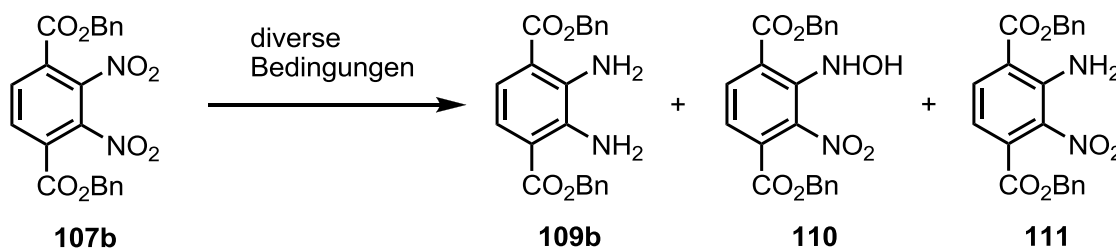


Abbildung 97: Reduktion der Nitrogruppen.

Das Protonen NMR-Spektrum zeigte zumindest die Reduktion einer Nitrogruppe zur Hydroxylamin- **110** oder zur Aminofunktion **111**. Die Massenspektren (ESI) konnten auf Grund der sonst unüblichen, aber für diese Verbindungen öfters auftretenden, starken Fragmentierung nicht ausgewertet werden. Andere Reduktionsverfahren, wie der Einsatz vom Hydrazin-Hydrat und Eisen(II)sulfat Heptahydrat in Ethanol^[69] oder vom Disulfid Na_2S_2 , welches in situ aus Natriumsulfid Hydrat und Schwefel gebildet wurde,^[70] führte zur Abspaltung der Benzylfunktion des Esters oder zu Nebenprodukten. An dieser Stelle wurde mit Pt-Katalysatoren gearbeitet, die die Firma *Evonik* zur Verfügung gestellt hat: einen Pt (F 105R/W 5%), einen Pt/Fe (CF 105XR/W 5% Pt + 1% Fe) und einen Pt/V (CF 1082RV/W 3% Pt + 0.6% V)-Katalysator. Das Trägermaterial der Katalysatoren war Aktivkohle. Die Reduktion wurde zunächst in H_2 (1 atm) bei 23°C durchgeführt, aber die Zielverbindung **109b** konnte nur beim Einsatz des einfachen Pt-C Katalysators in minimalen Spuren nachgewiesen werden. Die Erwärmung des Gemisches auf 70°C führte bei allen Ansätzen, in denen ein Pt-Katalysator zugesetzt wurde, zu einem detektierbaren Umsatz. Da die eingesetzte Menge zu niedrig war, konnte keine ausreichende Menge isoliert werden, um eine repräsentative Ausbeute zu erzielen. Die Durchführung in einem größeren Maßstab führte bei Pt (5%)/Fe (5%)-C zu einer Ausbeute von 64%. Es ist durchaus möglich, dass die anderen Katalysatoren zu einem ähnlichen Ergebnis führen. Aus zeitlichen Gründen wurden diese Versuche nicht durchgeführt.

Tabelle 11: Doppelte Nitroreduktion des Dibenzylesters **106b**.

Reagenz	LM	T/°C	t/h	Ergebnis
Fe, HCl	H ₂ O/THF	Δ	3	110 und/oder 111
Fe, HCl	H ₂ O/THF	Δ	21	110 und/oder 111
Zn	HOAc	100	2	110 und/oder 111
FeSO ₄ · 7 H ₂ O, N ₂ H ₄ · H ₂ O (80%ig)	H ₂ O/EtOH	80	16	Säure(n), nicht isoliert
Na ₂ S ₂	H ₂ O	100	3.5	Säure(n), nicht isoliert
Pt (5 %)/Fe (5 %)	EE	23	16	–
Pt (5 %)/V (2.5 %)	EE	2	16	–
Pt (5 %)	EE	23	16	in Spuren 109b + 110 und/oder 110
Pt (5 %)/Fe (5 %)	EE	70	16	in Spuren 109b
Pt (5 %)/V (2.5 %)	EE	70	16	in Spuren 109b
Pt (5 %)/Fe (5%)	EE	70	20	64%

3.5.3 Fluoreszenzeigenschaften von 2,3-Diaminoterephthalsäure- diestern

Kauffman und *Weisse*^[22] konnten im Jahr 1912 den Einfluss der 2,5- und der 2,4-Substitution des Diaminoterephthalsäureesters auf die Fluoreszenz untersuchen.

Jedoch war es damals nicht möglich, das 2,3-Regioisomer in reiner Form zu erhalten. Durch die chromatographische Reinigung konnten in dieser Dissertation die 2,3-Derivate **109a** und **109b** sauber isoliert werden, um diese Untersuchung fortzusetzen. Die Messergebnisse sind der **Tabelle 12** zu entnehmen.

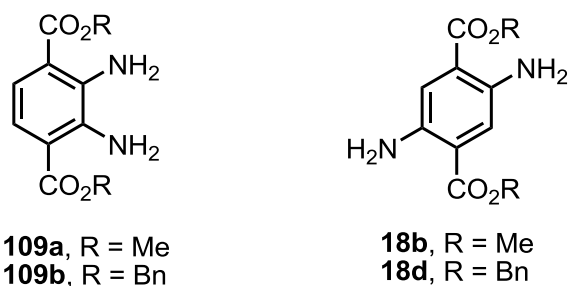


Tabelle 12: Vergleich der Fluoreszenzeigenschaften der 2,3- und der 2,5-Regioisomere.

Verbindung	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$	$\epsilon/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}^{\text{a)}$	Stokes-Shift/nm
109a	385	4137	463	78
109b	391	3802	471	80
18b	434	2773	535	101
18d	438 ^[38]	6158 ^[38]	542 ^[38]	104 ^[38]

c = 10^{-5} – 10^{-4} mol l⁻¹; a) $\lambda_{\text{irr}} = \lambda_{\text{abs}}$.

Die Differenz der Wellenlängen zwischen den Regioisomeren beträgt 40–50 nm. Man kann erkennen, dass auch hier der Verteilungssatz seine Gültigkeit besitzt: „dass bei fluoreszierenden Verbindungen, welche Auxochrome und Chromophore an gleichen Benzolring enthalten, die zueinander *para*-ständige Auxochrome die Fluoreszenz stärker vertiefen, also dem roten Ende des Spektrums mehr zuschieben als die zueinander *meta*- oder *ortho*-ständigen“.^[22] Die Wirkung des Estersubstituenten auf die Fluoreszenz ist hier, wie beim 2,5-Derivat, nicht zu erkennen. Zusammenfassend verschiebt sich die Wellenlänge in den kurzwelligeren Bereich, da die Verteilung der Elektronen über das Molekül geringer ausfällt.

4. Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Dissertation wurden der dreifach geschützte Terephthalsäurebaustein **58b** und die vierfach geschützten Bausteine **51a** und **51b**, ausgehend vom Bernstein-säureanhydrid in sieben bzw. acht Stufen synthetisiert (**Abbildung 98**).

Das Anhydrid wurde hierfür zunächst in den Bernsteinsäurebenzylmethylester **52c** transformiert und mittels einer Claisen-Dieckmann-Kondensation cyclisiert. Die anschließende Ammonolyse führte reproduzierbar zum Diaminoterephthalsäurediester **18c**, der wiederum mit einer Boc- und einer Fmoc-Schutzgruppe versehen wurde. Die Benzylgruppen der erhaltenden Terephthalsäurederivate **51a** und **51b** konnten mittels einer hydrogenolytischen Spaltung nicht entfernt werden. Die Carbonsäure **58b** konnte auf einen anderen Weg durch selektive Verseifung eines Methylesters erhalten werden. Die anfallenden Nebenprodukte konnten chromatographisch von den gewünschten Produkten getrennt werden und wurden in einigen Fällen für weitere spätere Synthesen (bei den Fluoreszenzmarkern und den Oligomeren) verwendet.

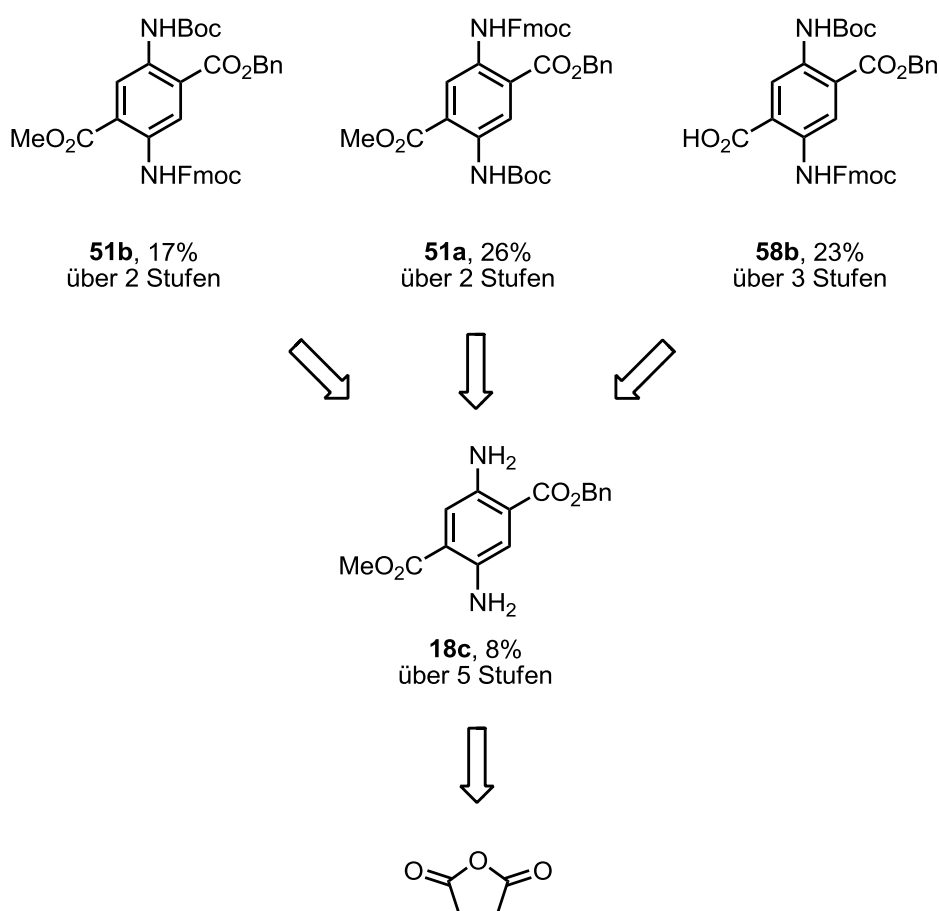


Abbildung 98: Überblick über die Synthese der Verbindungen **51a**, **51b** und **58b**.

Des Weiteren konnte das Oligomer **61** durch Amidkupplung aus dem Di-Boc-geschützten Ammoniumsalz **39b** und dem einfach Boc-geschützten Diaminodimethylester **32c** erhalten werden (**Abbildung 99**). Die Entfernung der Boc-Schutzgruppe gelang in nahezu quantitativer Ausbeute und führte zum Erhalt der Verbindung **61**. Bei der folgenden Verseifung konnte die Tricarbonsäure **38** nicht isoliert werden. In zukünftigen Arbeiten kann das Carboxylat eventuell durch die Bildung eines in Wasser schwerlöslichen Salzes gefällt und isoliert werden. Möglicherweise kann die Übertragung der Syntheseroute auf die feste Phase die Reinigung erleichtern und die Ausbeute erhöhen.

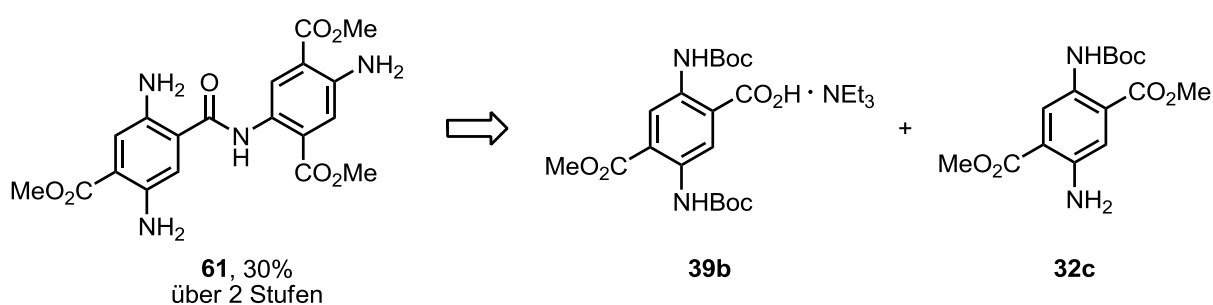


Abbildung 99: Synthese des Oligomers **61**.

Die Darstellung eines Tetraamids an der festen Phase gelang, trotz Variation des Merrifield-Harzes und des Diol-Linkers, nicht. Der Versuch, zunächst nur eine Aminosäure einzuführen und diese anschließend von der festen Phase abzuspalten, führte lediglich zur Verbindung **75** (**Abbildung 100**). Für die Kupplungsversuche wurden entweder DCC und HOBt oder EDC verwendet. Zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe wurde ein Gemisch von TFA und CH₂Cl₂ verwendet. Das erhoffte Amid aus der Säure **39b** und dem β-Alanin konnte nicht isoliert werden.

Es ist leider nicht nachzuvollziehen, ob der Grund für den Erhalt der Carbonsäure **75** eine Amidspaltung oder die fehlgeschlagene Substitution des β-Alanins ist. Daher wäre bei weiteren Untersuchungen die Verwendung einer anderen Aminosäure, eines anderen Harzes oder eines anderen Linkers sinnvoll.

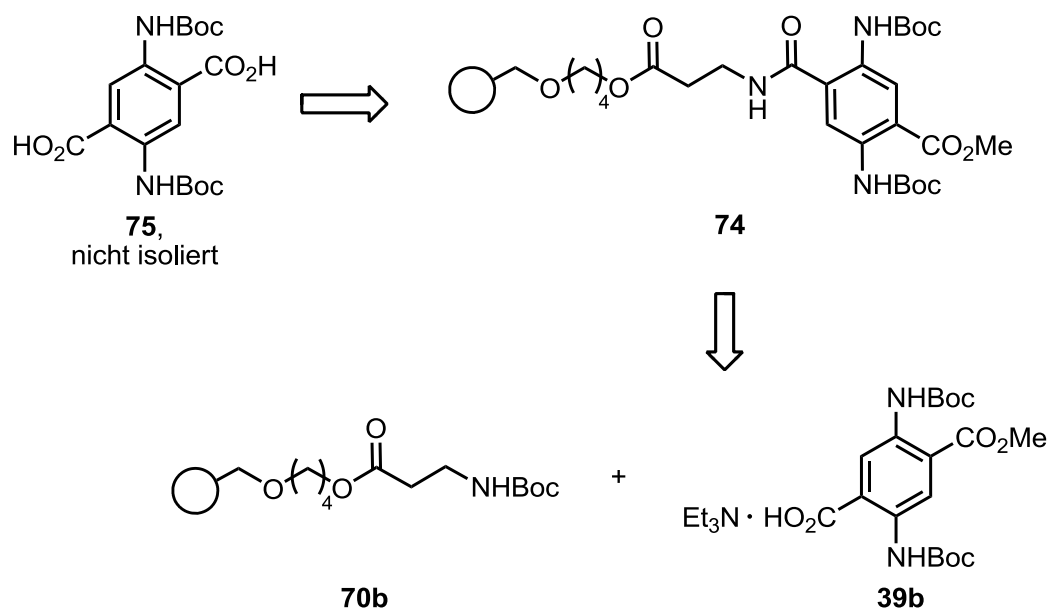


Abbildung 100: Kupplungsversuch der Verbindung **39b** an die festen Phase und Abspaltung der Disäure **75**.

In dieser Arbeit konnten außerdem drei Fluoreszenzfarbstoffe hergestellt werden, die nach Addition einer Thiolgruppe blaues Licht emittieren. Die Maleimide **44a**, **44b** und **45** konnten aus den jeweiligen Aminen durch Zugabe von Maleinsäureanhydrid und anschließender Cyclisierung mit NaOAc und Ac_2O hergestellt werden (**Abbildung 101**). In biochemischen Untersuchungen mit Recoverin konnten FRET-Prozesse zwischen dem Tryptophan des Proteins und dem Farbstoff detektiert werden.

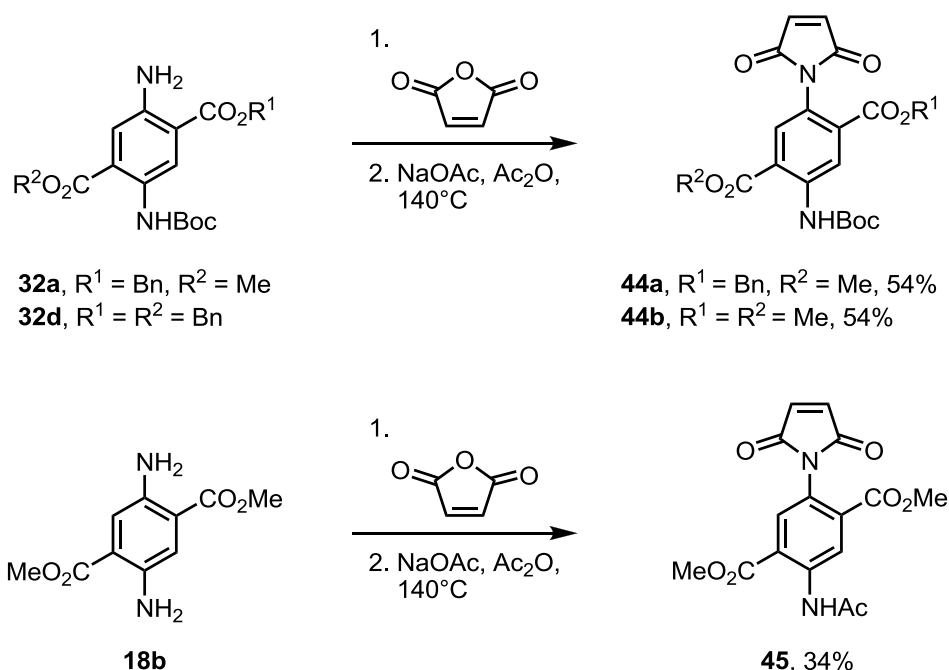


Abbildung 101: Synthese der Verbindungen **44a**, **44b** und **45**.

In der Zukunft wäre es auch denkbar, die offenkettige Säure **112a** oder den Ester **112b**, die durch die Ringöffnung des Maleimids entstehen, als Marker einzusetzen (**Abbildung 102**). Solche Verbindungen können die Eigenschaft besitzen, auch vor der Addition eines Thiols zu fluoreszieren. Ähnliche Verbindungen sind ebenfalls in der Literatur zu finden.^[71]

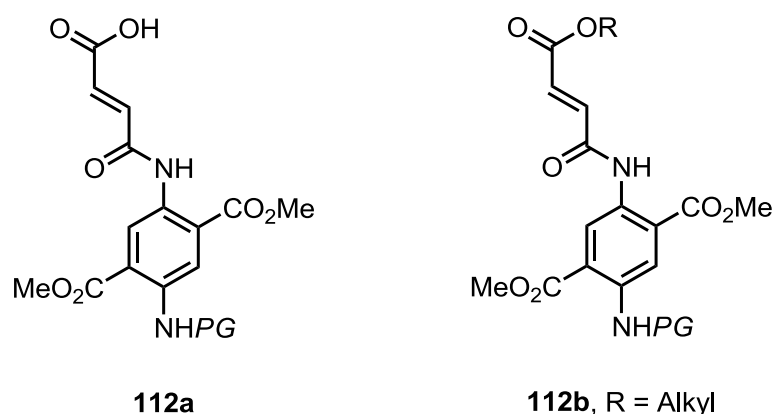


Abbildung 102: Offenkettige fluoreszierende Säure **112a** oder Ester **112b**.

Die Darstellung orange-fluoreszierender Farbstoffe gelang ausgehend von dem Succinylsuccinat **17b** und dem Mono-Boc-geschützten Ethylendiamin **47a** (**Abbildung 103**). Die Entfernung der Boc-Schutzgruppe mit TFA und das anschließende Erhitzen mit dem Acetanhydrid und Eisessig führten zu dem Bismaleimid **46** in 32% Ausbeute (Variante A), das erst nach Addition von zwei Äquivalenten Thiol sichtbares Licht emittierte. FRET-Prozesse bei der Markierung von Recoverin waren hier nicht zu beobachten. Bei der Bis-Maleimid-Synthese konnte auch durch Zugabe von CH_2Cl_2 im ersten Schritt (Variante B) das Acetoxy-Produkt **94** als Nebenprodukt isoliert werden, das im Gegensatz zur Verbindung **46**, nur ein Thiol benötigt um zu emittieren. Die Untersuchung an Recoverin ergab erneut einen FRET zwischen dem Protein und dem Farbstoff. Es konnte selektiv ein Hexadecanmercaptan an die Verbindung **46** addiert werden. Das Mono-Additionsprodukt **98** wies nach Reaktion mit GSH eine Fluoreszenz im orangen Bereich auf.

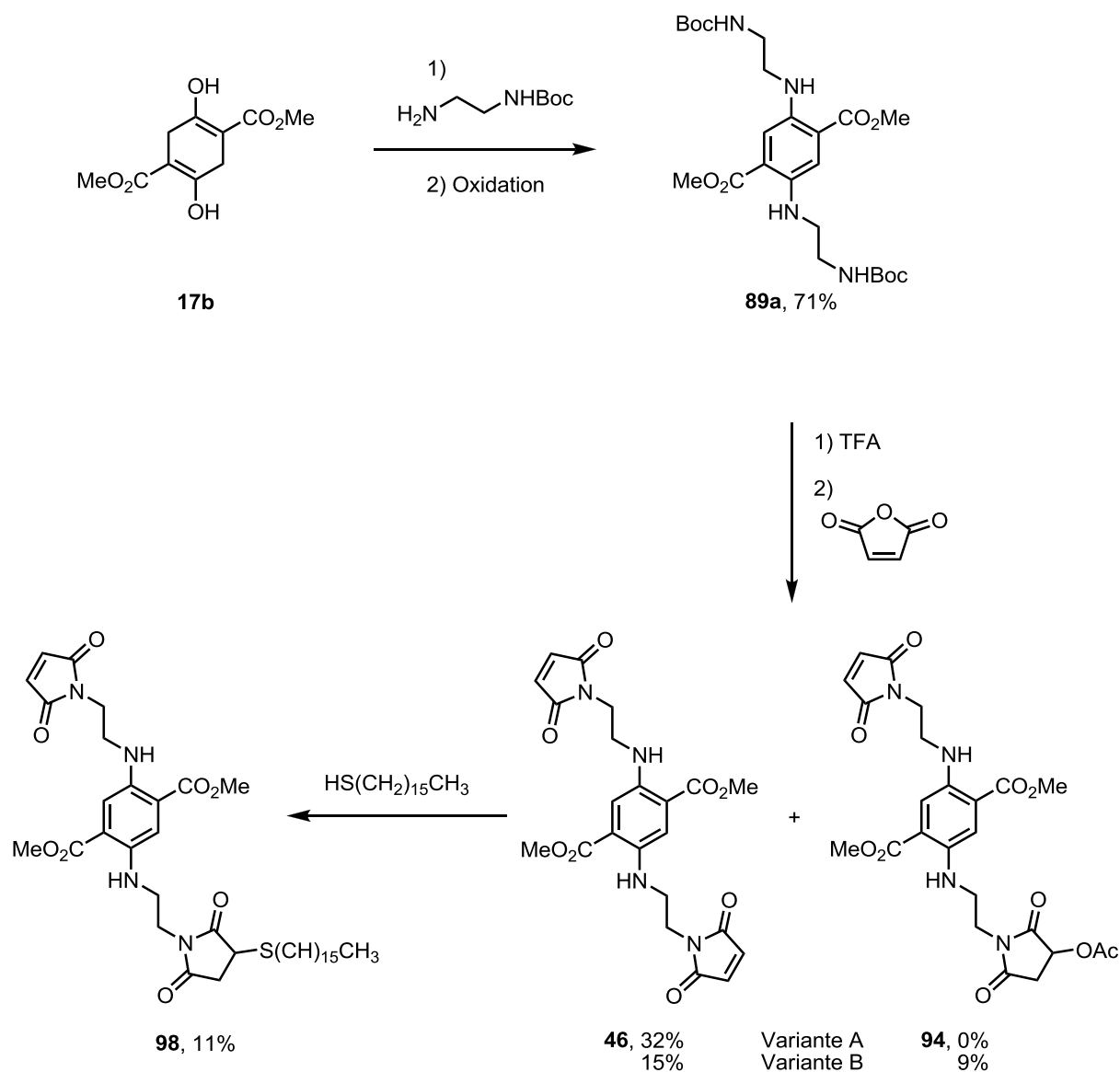


Abbildung 103: Synthese des Bismaleimids **46** der Verbindungen **94** und **98**.

Die monofunktionalisierten Derivate konnten nur in geringen Mengen erfolgreich isoliert werden. Es ist daher sinnvoll in späteren Synthesen die Maleimidfunktion durch eine Amidkupplung anzubringen. Dazu müsste das Carbonsäure-Derivat **113** synthetisiert und mit dem Salz **114** gekuppelt werden (**Abbildung 104**). Es wäre in diesem Zusammenhang auch der Einfluss der aliphatischen Kettenlänge des Amins auf die Fluoreszenzlöschung interessant, da die Maleimidgruppe einen größeren Abstand zum Chromophor besitzen und der Elektronen- oder Energietransfer damit unterbrochen würde.

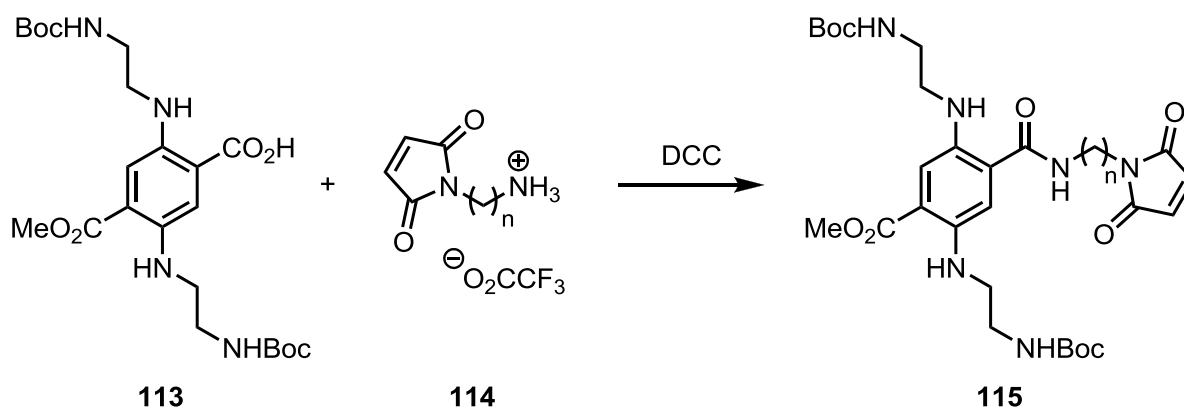


Abbildung 104: Alternative zur Synthese eines orange fluoreszierenden Mono-Maleimids.

Eine andere Syntheseroute zur Gewinnung von 2,5-Diaminoterephthalsäurediestern konnte nicht gefunden werden. Jedoch gelang die Synthese der beiden 2,3-Diaminoterephthalsäurediester **109a** und **109b** (**Abbildung 105**). Das *para*-Xylol **50** wurde hierfür zunächst doppelt nitriert und die beiden Alkylgruppen wurden zur Dicarbonsäure **105** oxidiert. Die Veresterung erfolgte entweder mit Methanol oder Benzylbromid, die zu den Diestern **107a** und **107b** führte. Durch die folgende doppelte Reduktion der Nitrogruppen wurden die blau fluoreszierenden 2,3-Diaminoterephthalsäurederivate **109a** und **109b** erhalten.

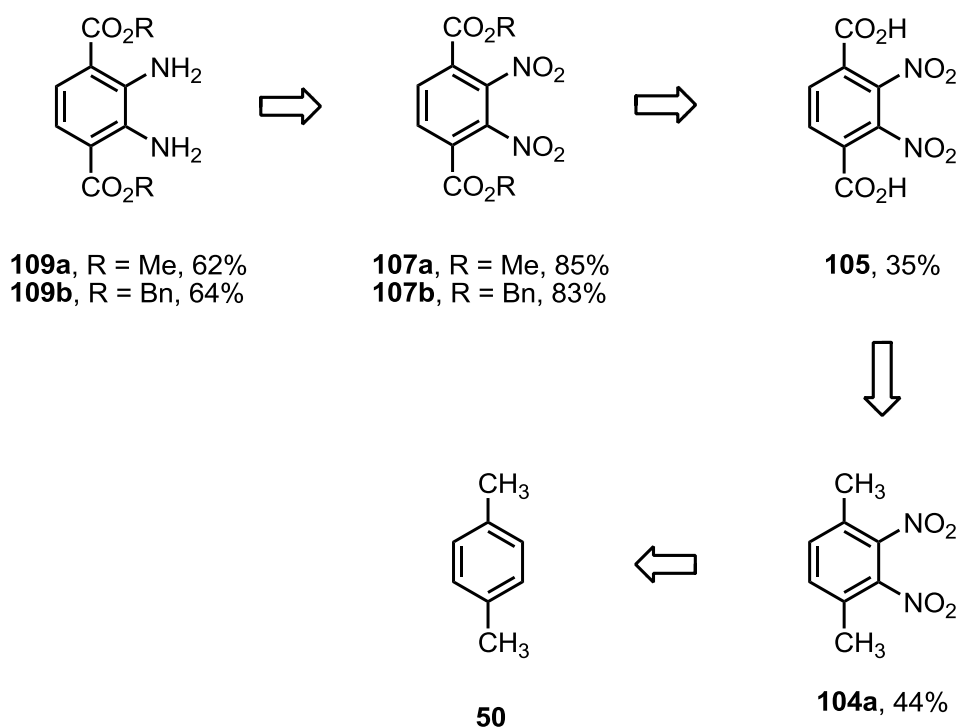
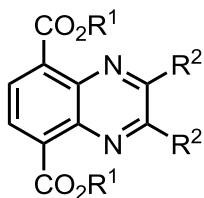


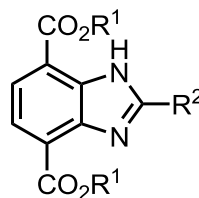
Abbildung 105: Synthese der 2,3-Diaminodiester **109a** und **109b**.

Die Diester **109a** und **109b** sind literaturunbekannt, dementsprechend wäre es von großem Interesse Derivate von diesen Verbindungen zu synthetisieren. Durch das Vorhandensein zweier benachbarter Aminofunktionen bietet sich die Darstellung von Heterocyclen, wie Chinoxalinen^[72] **116** und Imidazolen^[73] **117**, an (**Abbildung 106**).



116a, R¹ = Me

116b, R¹ = Bn



117a, R¹ = Me

117b, R¹ = Bn

Abbildung 106: Derivate der 2,3-Diaminoterephthalsäurediester.

5. Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines

5.1.1 Analytik

NMR-Spektroskopie: ^1H -NMR-Spektren wurden mit den Geräten *Avance 300* (300 MHz) und *Avance 500* (500 MHz) der Firma Bruker bei Zimmertemperatur oder bei der jeweils angegebenen Temperatur aufgenommen. Chemische Verschiebungen (δ) sind in ppm angegeben und auf Tetramethylsilan (TMS, $\delta = 0$ ppm) als inerten Standard bezogen. Die Kopplungskonstanten J sind als Frequenz in Hertz (Hz) angegeben. Für die Signalmultiplizitäten wurden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), m (Multipllett). Breite Signale sind zusätzlich mit br (breit) gekennzeichnet. ^1H -Entkoppelte ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit dem Bruker *Avance 500* (125 MHz) gemessen. Zusätzlich wurden DEPT135-Messungen durchgeführt und die entsprechenden Signale den Kohlenstoff-Atomen wie folgt zugeordnet: CH_3 (primäres), CH_2 (sekundäres), CH (tertiäres), C (quartäres). Die Zuordnung der H- und C-Signale wurde in komplizierteren Fällen durch 2D Spektren bestätigt.

IR-Spektroskopie: Infrarot-Spektren wurden mit dem IR-Spektrometer Tensor 27 der Firma Bruker mit *MKII Golden Gate Single Reflection Diamond* ATR-System aufgenommen. Die Lagen der Absorptionsbanden sind in Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben. Die auftretenden Intensitäten sind durch folgende Abkürzungen charakterisiert: vs (very strong, sehr stark), s (stark), m (mittel), w (weak, schwach), br (breites Signal).

UV/Vis- und Fluoreszenz-Spektroskopie: Absorptions-Spekten wurden mit dem UV/Vis-Spektrometer *PERKIN ELMER LS 50* und die Fluoreszenzmessungen wurden mit einem *Shimadzu RF-5301PC* gemessen. Für die Bestimmung der Quantenausbeute wurde die *Parker-Rees-Methode* mit Fluorescein (10^{-4} mol l^{-1}) in Natronlauge (0.1 mol l^{-1}) als Referenz verwendet.^[51] Folgende Werte wurden für die Referenzwerte eingesetzt: $Q_s(\text{Fluorescein}) = 0.95$, $n_s(\text{Fluorescein}) = 2.33$,

$\epsilon_s dc_s(\text{Fluorescein}) = 2.0778$. Die Proben wurden in dem jeweils angegebenen Lösungsmittel gelöst und anschließend in einer Quatzküvette vermessen.

Massenspektrometrie: Niederaufgelöste (MS) und hochaufgelöste (HR-MS) Massenspektren mit Elektronenstoß- (EI) und Chemischer Ionisation (CI) wurden an einem *Finnigan MAT 95* gemessen. Die Ionisierungsenergie beträgt 70 eV bei der Elektronenstoßionisation. Niederaufgelöste und hochaufgelöste Massenspektren durch Elektrospray-Ionisation (ESI) wurden an einem *Q-TOF Premier* der Firma *Waters* aufgenommen. Die Angabe der Peakintensitäten erfolgt für EI- und CI-Spektren in Prozent der jeweiligen Basispeaks.

Elementaranalysen: Die Elementaranalysen im Mikro- bzw. Ultramikromaßstab wurden mit dem *Euro EA-CHNS* Messgerät der Firma *HEKAtech* gemessen.

Schmelzpunkte: Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mittels eines *Gallenkamp Melting Point* Messgerätes. Die Werte sind unkorrigiert.

5.1.2 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie: Dünnschichtchromatogramme wurden an DC-Fertigfolien der Firma *Merck* mit Fluoreszenzindikator (Kieselgel Typ 60, F_{254}) entwickelt. Das verwendete Laufmittelgemisch ist mit dem R_f -Wert der entsprechenden Verbindung angegeben. Die Detektion erfolgte mit einer UV-Lampe bei 254 nm oder 366 nm Wellenlänge. Als Anfärbereagenz wurde Cer-Molybdato-phosphat genutzt. Dieses wurde aus 5.0 g Molybdato-phosphorsäure Monohydrat ($\text{HMo}_{12}\text{O}_{39}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$) und 2.0 g Cer(IV)-sulfat [$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$] in 16 ml konzentrierter Schwefelsäure und 184 ml Wasser durch Rühren über Nacht hergestellt. Zur optimalen Fleckenausbildung wurden die DC-Folien zusätzlich erhitzt.

Säulenchromatographie: Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel der Firma *Merck* (Typ 60, Korndurchmesser 0.035 mm bis 0.070 mm) verwendet.

5.1.3 Arbeitstechnik

Beim Hydrieren wurde das Lösungsmittel durch dreimaliges Einfrieren mit Flüssigstickstoff, Evakuieren und Auftauen entgast und anschließend unter H₂-Atmosphäre (1 atm) gerührt.

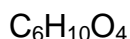
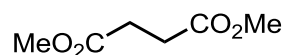
5.1.4 Chemikalien

Die Lösungsmittel für die Chromatographie (EE und Hexan) und CH₂Cl₂ wurden destilliert. Die verwendeten Chemikalien wurden bei den gängigen Chemikalienfirmen (u. a. Aldrich, TCI, Fluka, Carl Roth) erworben.

5.2 Versuchsvorschriften

5.2.1 Synthese der Diaminoterephthalsäure-Bausteine

5.2.1.1 Bernsteinsäuredimethylester (52a)^[74]



$$M = 146.14 \text{ g mol}^{-1}$$

Bernsteinsäureanhydrid (4.00 g, 40.0 mmol) wurde mit SOCl_2 (14.4 ml) und einer katalytischen Menge DMF (100 mg, 1.37 mmol) versetzt und die Mischung wurde für 18 h auf 50°C erwärmt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde unter Eiskühlung mit MeOH (7.69 g, 240 mmol) versetzt. Das Gemisch wurde 4 h auf 50°C erwärmt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und es wurde die Titelverbindung **52a** (5.46 g, 37.4 mmol, 94%), als eine farblose Flüssigkeit erhalten.

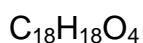
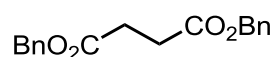
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.64$ (s, 4 H), 3.70 (s, 6 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.92$ (2 CH_2), 51.82 (2 CH_3), 172.72 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 169 (100) [$\text{M} + \text{Na}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 169.0477 (für $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NaO}_4$),
gef. 169.0480 [$\text{M} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 2999$ (w), 2956 (m), 2850 (w), 1731 (vs), 1438 (m), 1361 (m), 1324 (m), 1269 (m), 1203 (s), 1156 (vs), 1068 (w), 1027 (m), 998 (m), 957 (w), 846 (m) cm^{-1} .

5.2.1.2 Bernsteinsäuredibenzylester (52b)^[75]

$$M = 298.33 \text{ g mol}^{-1}$$

Bernsteinsäureanhydrid (2.00 g, 20.0 mmol) wurde mit SOCl_2 (7.2 ml) und einer katalytischen Menge DMF (50 mg, 0.684 mmol) versetzt und die Mischung wurde für 4 h auf 60°C erwärmt. Das SOCl_2 wurde größtenteils im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde unter Eiskühlung mit BnOH (8.76 g, 81.0 mmol) versetzt. Nach 1.5 h Rühren bei 50°C wurde die Lösung im Vakuum eingeeengt und anschließend chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1). Es wurde die Verbindung **52b** (5.13 g, 17.2 mmol, 86%) als farbloses Öl erhalten, dass langsam zu einem farblosen Feststoff auskristallisierte.

$$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.69.$$

Smp.: 42°C (Lit.: 46°C).^[75b]

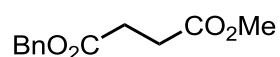
¹H-NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.71$ (s, 4 H), 5.12 (s, 4 H), 7.31–7.38 (m, 10 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 29.15$ (2 CH_2), 66.55 (2 CH_2), 128.21 (4 CH), 128.26 (2 CH), 128.55 (4 CH), 135.72 (2 C), 172.03 (2 C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 91 (7), 119 (8), 181 (35), 271 (7), 299 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 298.1205 (für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4$),
gef. 298.1205 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3066$ (w), 3033 (w), 2960 (w), 2900 (w), 1727 (vs), 1498 (w), 1456 (m), 1403 (m), 1347 (m), 1296 (w), 1249 (m), 1206 (s), 1153 (vs), 1083 (m), 1027 (m), 996 (m), 964 (s), 922 (m), 976 (m), 822 (m), 811 (m), 751 (vs), 704 (vs) cm^{-1} .

5.2.1.3 Bernsteinsäurebenzylmethyldiester (52c)^[31,76] $C_{12}H_{14}O_2$ $M = 222.24 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Lösung aus dem Bernsteinsäuremonobenzylester (**52d**) (30.0 g, 144 mmol) in DMF (210 ml) wurde nacheinander mit MeI (22.5 g, 159 mmol) und K_2CO_3 (19.9 g, 144 mmol) versetzt. Nach 3.5 h Rühren bei 23°C wurde die Reaktionslösung mit EE (100 ml) verdünnt und mit H_2O (200 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit EE (2 x 100 ml) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet und filtriert. Auf Grund von DMF-Rückständen wurde der Waschvorgang noch einmal mit einer ges. wässrigen NaCl-Lösung (100 ml) und H_2O (2 x 50 ml) mit anschließender Trocknung und Filtration wiederholt. Das Produkt **52c** (24.3 g, 109 mmol, 76%) wurde nach dem Trocknen im Vakuum als farblose Flüssigkeit erhalten.

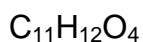
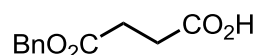
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 2.64\text{--}2.70$ (m, 4 H), 3.68 (s, 3 H), 5.14 (s, 2 H), 7.31–7.38 (m, 5 H) ppm.

$^{13}C\{^1H\}$ -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 28.89$ (CH_2), 29.16 (CH_2), 51.85 (CH_3), 66.56 (CH_2), 128.23 (2 CH), 128.27 (CH), 128.56 (2 CH), 135.76 (C), 172.12 (C), 172.70 (C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 91 (10), 115 (14), 181 (7), 223 (100) [$M + H^+$].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 222.0892 (für $C_{12}H_{14}O_4$),
gef. 222.0898 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3034$ (w), 2953 (w), 1731 (vs), 1498 (w), 1455 (m), 1438 (m), 1413 (m), 1353 (m), 1316 (m), 1264 (m), 1211 (s), 1151 (vs), 1067 (w), 1027 (m), 995 (m), 916 (w), 846 (m), 804 (w), 739 (m), 698 (s) cm^{-1} .

5.2.1.4 Bernsteinsäuremonobenzylester (52d)^[77]

$$M = 208.21 \text{ g mol}^{-1}$$

Benzylalkohol (25.9 g, 240 mmol) und NEt_3 (24.3 g, 240 mmol) wurden unter Eiskühlung zu einer Suspension aus Bernsteinsäureanhydrid (20.0 g, 200 mmol) in CH_2Cl_2 (100 ml) gegeben. Das Gemisch wurde 16 h bei $23^\circ C$ gerührt. Es wurde ges. wässrige $NaHCO_3$ -Lsg (125 ml) zugefügt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Salzsäure (ca. 60 ml, 5 mol l^{-1} , $pH < 2$) versetzt und mit EE (2 x 150 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde die Verbindung **52d** (37.8 g, 182 mmol, 91%) als ein farbloses Öl erhalten, welches langsam als farbloser Feststoff auskristallisierte.

Smp.: $57^\circ C$ (Lit.: 56–57).^[77a]

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 2.67$ – 2.73 (m, 4 H), 5.15 (s, 2 H), 7.31–7.38 (m, 5 H) ppm; das Proton der Carbonsäure ist nicht erkennbar.

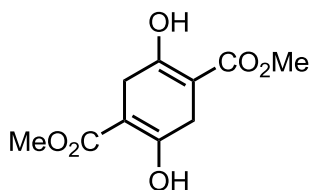
$^{13}C\{^1H\}$ -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 28.86$ (2 CH_2), 66.65 (CH_2), 128.20 (2 CH), 128.29 (CH), 128.56 (2 CH), 135.65 (C), 171.95 (C), 177.98 (C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 91 (85), 108 (13), 119 (4), 181 (27), 209 (100) [$M + H^+$].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 208.0736 (für $C_{11}H_{12}O_4$),
gef. 208.0739 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3070$ – 2550 (br. m), 3061 (m), 3027 (m), 2929 (m), 2759 (m), 2679 (m), 2574 (m), 1728 (s), 1691 (vs), 1501 (w), 1455 (m), 1423 (m), 1390 (m), 1360 (vs), 1302 (w), 1259 (s), 1248 (s), 1215 (w), 1173 (vs), 1069 (m), 1032 (w), 1009 (m), 999 (m), 970 (s), 943 (vs), 914 (s), 895 (s), 848 (m), 734 (vs), 698 (vs), 679 (m) cm^{-1} .

5.2.1.5 2,5-Dihydroxy-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbon säuredimethylester (17b)^[78]



$C_{10}H_{12}O_6$

$M = 228.20 \text{ g mol}^{-1}$

Der Dimethylester **52a** (3.90 g, 26.7 mmol) wurde unter Eiskühlung zu einer Suspension aus NaH (2.30 g, 57.5 mmol, 60%ig in Paraffinöl) in 10 ml DMSO gegeben. Nach 30 min Rühren unter Eiskühlung wurde die Suspension mit 10 ml DMSO verdünnt und auf 50°C für 2 h erwärmt. Unter Eiskühlung wurde Salzsäure (ca. 40 ml, 1 mol Γ^{-1} , pH < 3) zugetropft. Nach weiteren 30 min Rühren wurde der ausfallende Feststoff abgesaugt und mit H_2O (ca. 100 ml) gewaschen. Es wurde nach Umkristallisation aus Hexan/EE (70 ml, 4 : 3) das Produkt **17b** (1.71 g, 7.49 mmol, 56%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 153°C (Lit.: 153°C).^[78a]

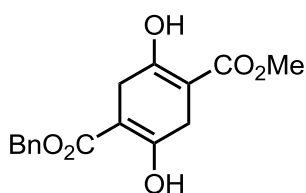
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 3.18$ (s, 4 H), 3.79 (s, 6 H), 12.12 (s, 2 H) ppm.

$^{13}C\{^1H\}$ -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 28.44$ (2 CH_2), 51.77 (2 CH_3), 93.09 (2 C), 168.48 (2 C), 171.60 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 251 (100) [$M + Na^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 251.0538 (für $C_{10}H_{12}NaO_6$),
gef. 251.0532 [$M + Na^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3040$ (br. m), 2995 (m), 2954 (m), 2917 (m), 2899 (m), 2822 (w), 1667 (s), 1639 (s), 1442 (s), 1420 (m), 1338 (s), 1205 (vs), 1118 (s), 1065 (vs), 951 (m), 794 (vs), 767 (vs) cm^{-1} .

5.2.1.6 2,5-Dihydroxy-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäure-1-benzylester-4-methylester (17d)^[31] $C_{16}H_{16}O_6$ $M = 304.29 \text{ g mol}^{-1}$

Der Diester **52c** (10.0 g, 45.0 mmol) wurde unter Eiskühlung zu einer Suspension aus NaH (3.96 g, 49.0 mmol, 60%ig in Paraffinöl) in 50 ml DMSO gegeben. Nach 30 min Rühren unter Eiskühlung wurde die Suspension mit 20 ml DMSO verdünnt und 5.5 h bei 23°C gerührt. Unter Eiskühlung wurde Salzsäure (ca. 20 ml, 5 mol l⁻¹, pH < 3) zugetropft. Das Gemisch wurde bei 23°C für 30 min gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgesaugt, mit H₂O (ca. 75 ml) gewaschen und in einem Gemisch aus Hexan/CH₂Cl₂ (100 ml, 9 : 1) für 1 h auf 50°C erwärmt. Der verbliebene Feststoff (hauptsächlich der Dibenzylester **17e**) wurde abgesaugt und das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt. Nach chromatographischer Reinigung des Filtratrückstandes (SiO₂, Toluol) wurde in der ersten Fraktion [R_f(SiO₂, Toluol) = 0.51] der Dibenzylester **17e**, in der zweiten Fraktion die Titelverbindung **17d** (1.57 g, 5.16 mmol, 23%) [R_f(SiO₂, Toluol) = 0.38] und in der dritten Fraktion der Dimethylester **17b** [R_f(SiO₂, Toluol) = 0.28] als farblose Feststoffe erhalten. Die Ausbeute der ersten und der dritten Fraktion wurde nicht bestimmt.

 $R_f(\text{SiO}_2, \text{Toluol}) = 0.47.$ **Smp.:** 125°C (Lit.: 127°C).^[31]

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3.19–3.23 (m, 4 H), 3.80 (s, 3 H), 5.24 (s, 2 H), 7.31–7.41 (m, 5 H), 12.11 (s, 2 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 28.55 (2 CH₂), 51.75 (CH₃), 66.30 (CH₂), 93.12 (C), 93.16 (C), 128.02 (2 CH), 128.38 (CH), 128.64 (2 CH), 135.57 (C), 168.49 (C), 168.93 (C), 170.95 (C), 171.59 (C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 91 (5), 171 (5), 239 (3), 287 (6), 305 (100) [M + H⁺].

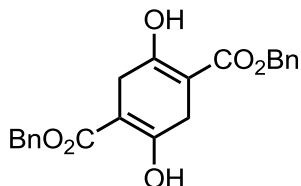
HR-MS (EI, 70 eV): ber. 304.0947 (für C₁₆H₁₆O₆),
gef. 304.0955 [M⁺].

IR (ATR): λ^{-1} = 3034 (w), 2952 (w), 2899 (w), 1663 (s), 1632 (m), 1496 (w), 1456 (w), 1442 (m), 1426 (m), 1386 (m), 1324 (s), 1213 (vs), 1146 (m), 1124 (s), 1059 (vs), 1025 (m), 956 (m), 933 (m), 914 (m), 867 (m), 799 (s), 774 (vs), 756 (s), 738 (m), 702 (s) cm⁻¹.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} (ϵ) = 378 (657 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 450 nm (λ_{irr} = 378 nm).

5.2.1.7 2,5-Dihydroxy-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbon säuredibenzylester (17e)^[79]



C₂₂H₂₀O₆

M = 380.39 g mol⁻¹

Der Dibenzylester **52b** (3.00 g, 10.1 mmol) wurde unter Eiskühlung zu einer Suspension aus NaH (664 mg, 16.6 mmol, 60%ig in Paraffinöl) in 16 ml DMSO gegeben. Das Gemisch wurde bei 23°C für 2 h gerührt. Unter Eiskühlung wurde Salzsäure (ca. 15 ml, 5 mol l⁻¹, pH < 3) zugetropft. Das Gemisch wurde auf 23°C erwärmt und dann 2.5 h gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgesaugt, mit H₂O (ca. 50 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus Hexan/Toluol/CH₂Cl₂ (50 ml, 5 : 7 : 10) wurde die Verbindung **17e** (980 mg, 2.58 mmol, 51%) als ein farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 172°C (Lit.: 169°C).^[79a]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.24$ (s, 4 H), 5.23 (s, 4 H), 7.33–7.40 (m, 10 H), 12.10 (s, 2 H) ppm.

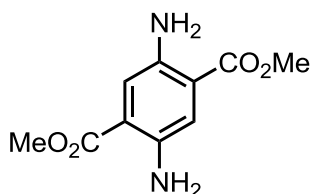
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.57$ (2 CH_2), 66.32 (2 CH_2), 93.16 (2 C); 128.02 (4 CH), 128.38 (2 CH), 128.63 (4 CH), 135.55 (2 C), 168.87 (2 C), 170.94 (2 C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 381 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$], 761 (17) [$2\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (CI, Isobutan): ber. 381.1333 (für $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{O}_6$),
gef. 381.1349 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3036$ (w), 2897 (w), 2827 (w), 1651 (s), 1621 (s), 1498 (w), 1456 (w), 1423 (m), 1396 (m), 1337 (vs), 1268 (w), 1214 (vs), 1178 (s), 1161 (s), 1143 (m), 1068 (s), 1029 (m), 1002 (m), 970 (m), 952 (m), 914 (w), 883 (w), 851 (s), 802 (vs), 774 (m), 751 (s), 735 (vs), 694 (vs) cm^{-1} .

5.2.1.8 2,5-Diaminoterephthalsäuredimethylester (18b)^[22,23]



$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$

$M = 224.21 \text{ g mol}^{-1}$

Versuchsvorschrift 1: Der Dimethylester **17b** (112 mg, 0.491 mmol) wurde mit 4.5 ml MeOH versetzt. Es wurde ein Blasenähler auf die Apparatur gesetzt und $\text{NH}_3(\text{g})$ eingeleitet und die Suspension wurde dabei auf 60°C für 30 min erwärmt. Die Gaszufuhr wurde unterbrochen und es wurde langsam Salzsäure (0.8 ml, 10 mol l^{-1}) zuge tropft. Anschließend wurde bei 50°C für 9 h Luft in die Lösung eingeleitet und nochmals ohne Luftzufuhr bei 50°C weitergerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und es wurde CH_2Cl_2 (20 ml) und H_2O (20 ml) zugesetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (3 x 20 ml) extra-

hiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Chromatographie (SiO_2 , Toluol/EE = 7 : 1, + 1 Vol% NEt_3) wurde die Verbindung **18b** (34 mg, 0.15 mmol, 31%) als ein oranger Feststoff erhalten.

Versuchsvorschrift 2: Der Dimethylester **17b** (875 mg, 3.83 mmol) wurde mit NH_4OAc (5.91 g, 76.7 mmol), Eisessig (0.5 ml) und Toluol (15 ml) versetzt und am Wasserabscheider unter Rückfluss für 16 h erwärmt. Es wurde mit EE (100 ml) und ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (100 ml) verdünnt. Nach Trennung der Phasen wurde die wässrige mit EE (100 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und filtriert. Der Rückstand wurde zweimal chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 2 : 1, + 1 Vol% NEt_3) um Verbindung **18b** (460 mg, 2.05 mmol, 54%) als orangen Feststoff zu erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 2 : 1) = 0.27$.

Smp.: 181°C (Lit.: 185°C).^[22,23]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.88$ (s, 6 H), 5.06 (br. s, 4 H), 7.28 (s, 2 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 51.89$ (2 CH_3), 117.55 (2 C), 118.87 (2 CH), 140.55 (2 C), 167.61 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 123$ (100), 150 (55), 193 (60), 225 (25) $[\text{M} + \text{H}^+]$.

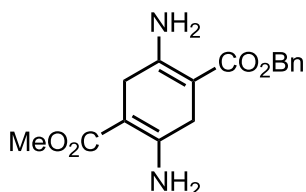
HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 225.0875 (für $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4$),
gef. 225.0880 $[\text{M} + \text{H}^+]$.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3469$ (s), 3366 (s), 3066 (w), 2956 (m), 2923 (m), 2852 (m), 1681 (s), 1575 (s), 1502 (m), 1485 (m), 1438 (s), 1331 (w), 1281 (s), 1211 (vs), 1104 (vs), 955 (m), 903 (m), 854 (w), 789 (s) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 434$ ($2773 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): $\lambda_{em} = 535 \text{ nm}$ ($\lambda_{irr} = 434 \text{ nm}$).

5.2.1.9 2,5-Diamino-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäure-1-benzylester-4-methylester (23c)



C₁₆H₁₈N₂O₄

M = 302.33 g mol⁻¹

Synthese des Enamins: Der Diester **17d** (1.00 g, 3.29 mmol) wurde mit NH₄OAc (5.07 g, 65.8 mmol), Eisessig (0.5 ml) und Toluol (30 ml) am Wasserabscheider unter Rückfluss erhitzt. Es wurde in einem zeitlichen Abstand von 16 h und 7.5 h weiteres NH₄OAc (2 x 1 g, 2 x 1.30 mmol) zugegeben und die Mischung wurde weiter refluxiert. Nach weiteren 12.5 h wurde EE (20 ml) und H₂O (50 ml) zugegeben und die wässrige Phase wurde nach Phasentrennung mit EE (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach der chromatographischen Aufarbeitung (SiO₂, NEt₃, Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt₃) wurde das orange-rote Enamin **23c** (851 mg, 2.81 mmol, 85%) erhalten.

R_f(SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.20.

Smp.: 100°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.11\text{--}3.13$ (m, 2 H), $3.15\text{--}3.17$ (m, 2 H), 3.70 (s, 3 H), 5.17 (s, 2 H), 7.29–7.32 (m, 1 H), 7.34–7.37 (m, 4 H) ppm; die Protonen der Amingruppen sind nicht erkennbar.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 30.18$ (CH₂), 30.29 (CH₂), 50.56 (CH₃), 64.97 (CH₂), 86.40 (C), 86.44 (C), 127.77 (2 CH), 127.82 (CH), 128.45 (2 CH), 137.00 (C), 155.53 (C), 155.97 (C), 168.34 (C), 169.02 (C) ppm.

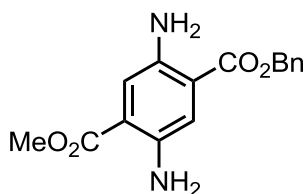
MS (ESI, neg. Modus): $m/z = 301$ (100) $[M - H^+]$.

HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 301.1188 (für $C_{16}H_{17}N_2O_4$),
gef. 301.1195 $[M - H^+]$.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3442$ (m), 3330 (m), 3030 (w), 2948 (w), 2888 (w), 2826 (w), 1661 (s), 1610 (s), 1540 (s), 1497 (m), 1431 (m), 1372 (w), 1337 (w), 1270 (s), 1208 (vs), 1083 (s), 1003 (m), 963 (m), 907 (m), 864 (m), 820 (m), 778 (s), 751 (m), 734 (m), 697 (s) cm^{-1} .

Synthese des Gemisches aus Enamin 23c und dem Terephthalsäurederivat 18c: Unter ähnlichen Bedingungen konnte auch ein Gemisch aus Enamin **23c** und dem oxidierten Produkt **18c** isoliert werden. Dabei konnte z. B. bei dem Einsatz von 1 g (3.29 mmol) Edukt **17d** und 9.07 g (118 mmol) NH_4OAc in 30 ml Toluol und 0.5 ml Eisessig ein Gemisch (395 mg, Enamin **23c**/Terephthalat **18c** = 1 : 2) erhalten werden.

5.2.1.10 2,5-Diaminoterephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (**18c**)^[31]



$C_{16}H_{16}N_2O_4$

$M = 300.31 \text{ g mol}^{-1}$

Das Enamin **23c** (200 mg, 0.662 mmol) oder das Enamin/Diaminoterephthalsäure-Gemisch wurde mit wasserfreiem DMF (10 ml) und mit katalytisch HCl (0.5 ml, 5–6 $mol\ l^{-1}$ in $iPrOH$) versetzt. Es wurde ein Blasenähler auf die Apparatur gesetzt, synthetische Luft eingeleitet und die Lösung wurde dabei auf 50°C für 7.5 h gerührt. Die Gaszufuhr wurde gestoppt und es wurde weiter erwärmt. Nach 14.5 h wurde EE (50 ml) und H_2O (40 ml) zugefügt. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EE (2 x 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand

wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt₃) und es wurde die Verbindung **18c** (114 mg, 0.380 mmol, 57%) als ein rotes Öl isoliert.

R_f(SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.30.

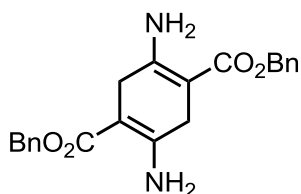
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3.88 (s, 3 H), 5.11 (br. s, 4 H), 5.32 (s, 2 H), 7.28 (s, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 7.36–7.44 (m, 5 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 51.92 (CH₃), 66.58 (CH₂), 177.33 (C), 177.60 (C), 118.86 (CH), 128.24 (2 CH), 128.36 (CH), 128.60 (CH), 128.66 (2 CH), 135.81 (C), 140.50 (C), 140.72 (C), 166.94 (C), 167.58 (C) ppm.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (ε) = 435 (3545 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 539 nm (λ_{irr} = 435 nm).

5.2.1.11 2,5-Diamino-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäure-1,4-dibenzylester (**23b**)^[38]



C₂₂H₂₂N₂O₄

M = 378.42 g mol⁻¹

Der Dibenzylester **17e** (880 mg, 2.31 mmol) wurde mit NH₄OAc (3.57 g, 46.3 mmol), Eisessig (0.5 ml) und Toluol (15 ml) am Wasserabscheider für 20 h refluxiert. Die Reaktionslösung wurde mit EE (75 ml) und ges. wässriger NaHCO₃-Lsg (75 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit EE (75 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1 → 1 : 1, + 1 Vol% NEt₃) und es wurde ein orange-roter Feststoff **23b** (805 mg, 2.13 mmol, 92%) erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.44.$

Smp.: 158°C (Lit.: 158–159°C).^[38]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.18$ (s, 4 H), 5.17 (s, 4 H), 7.30–7.34 (m, 2 H), 7.34–7.37 (m, 8 H) ppm; die Protonen der Amingruppen sind nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 30.31$ (2 CH_2), 65.05 (2 CH_2), 88.46 (2 C); 127.83 (4 CH), 127.88 (2 CH), 128.50 (4 CH), 137.04 (2 C), 155.95 (2 C), 168.39 (2 C) ppm.

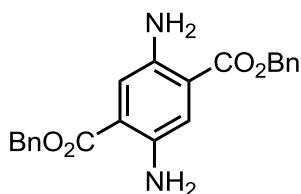
MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 261$ (70), 305 (90), 349 (30), $[\text{M} - 2 \text{NH}_2 + \text{H}^+]$, 401 (55) $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 401.1477 (für $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{NaO}_4$),
gef. 401.1469 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3474$ (m), 3414 (m), 3333 (m), 2946 (w), 2890 (w), 2827 (w), 1655 (s), 1605 (s), 1538 (s), 1498 (m), 1455 (m), 1427 (m), 1393 (w), 1374 (w), 1337 (w), 1275 (m), 1214 (vs), 1088 (s), 1028 (m), 912 (m), 878 (m), 810 (m), 779 (s), 748 (vs), 738 (vs), 697 (vs), 652 (m) cm^{-1} .

Synthese des Gemisches aus Enamin 23b und dem Terephthalsäurederivates

18d: Unter ähnlichen Bedingungen konnte auch ein Produktgemisch isoliert werden. Es konnte zum Beispiel bei einem Ansatz von 880 mg Edukt (2.31 mmol) **17e**, 3.57 g NH_4OAc (46.3 mmol) in 15 ml Toluol und 0.4 ml Eisessig eine Mischung aus Enamin **23b**/Terephthalat **18d** (413 mg, 1 : 1) erhalten werden.

5.2.1.12 2,5-Diaminoterephthalsäuredibenzylester (18d)^[38] $C_{22}H_{20}N_2O_4$ $M = 376.41 \text{ g mol}^{-1}$

Der Dibenzylester **23b** (880 mg, 2.33 mmol) oder das Produktgemisch von **23b** und **18d** wurde mit DMF (10 ml) und katalytisch HCl (0.5 ml, 5–6 mol l⁻¹ in *i*PrOH) versetzt. Es wurde ein Blasenzähler auf die Apparatur gesetzt und synthetische Luft eingeleitet. Nach 6 h Rühren bei 50°C wurde die Lösung abgekühlt und EE (50 ml) und wässrige ges. NaHCO₃-Lösung (50 ml) zugesetzt. Die Phasen wurden voneinander getrennt und die wässrige Phase wurde mit EE (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 2 : 1, + 1 Vol% NEt₃). Es wurde die Titelverbindung **18d** (387 mg, 1.03 mmol, 44%) als ein orange-roter Feststoff erhalten.

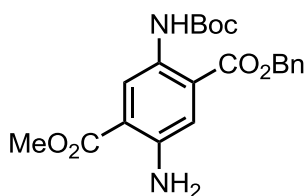
 $R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 2 : 1) = 0.67.$ **Smp.:** 121°C (Lit.: 132–133 °C).^[38]**¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.08$ (br. s, 4 H), 5.32 (s, 4 H), 7.31 (s, 2 H), 7.34–7.44 (m, 10 H) ppm.**¹³C{¹H}-NMR** (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 66.59$ (2 CH₂), 117.51 (2 C); 118.86 (2 CH), 128.23 (4 CH), 128.34 (2 CH), 128.65 (4 CH), 135.87 (2 C), 140.72 (2 C), 166.93 (2 C) ppm.**MS** (ESI, pos. Modus): $m/z = 377$ (100) [M + H⁺].**HR-MS** (ESI, pos. Modus): ber. 377.1501 (für C₂₂H₂₁N₂O₄),
gef. 377.1477 [M + H⁺].

IR (ATR): λ^{-1} = 3435 (m), 3372 (m), 3336 (m), 3063 (w), 3033 (w), 2961 (w), 1687 (s), 1578 (m), 1498 (m), 1450 (m), 1425 (w), 1377 (w), 1286 (s), 1199 (vs), 1091 (vs), 1028 (m), 945 (m), 915 (m), 883 (m), 823 (m), 789 (m), 726 (m), 693 (vs) cm^{-1} .

5.2.1.13 Die Umsetzung des Diaminodicarbonsäurebenzylmethyldiesters **18c** mit **Boc₂O**

Boc₂O (364 mg, 1.67 mmol) wurde zu einer Lösung aus Benzylmethyldiester **18c** (374 mg, 1.25 mmol) in EE (16 ml) gegeben. Nach 7 d Rühren bei 23°C wurde das Gemisch mit ges. wässriger NH_4Cl -Lösung (50 ml) versetzt und 10 min bei 23°C gerührt. Nach der Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EE (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt_3) und es wurden das Regioisomer **32b** (202 mg, 0.504 mmol, 40%) in der ersten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2$, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.50] und das Regioisomer **32a** (214 mg, 0.534 mmol, 43%) in der zweiten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2$, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.40] als gelb-orange Feststoffe isoliert.

5.2.1.13.1 5-Amino-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (**32b**)^[31]



$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$

$M = 400.43 \text{ g mol}^{-1}$

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.50$.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.53$ (s, 9 H), 3.89 (s, 3 H), 5.46 (s, 2 H), 5.47 (br. s, 2 H), 7.36–7.44 (m, 6 H), 8.83 (s, 1 H), 9.50 (s, 1 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.41$ (3 CH_3), 51.96 (CH_3), 67.26 (CH_2), 80.15

(C), 115.89 (C), 118.67 (CH), 120.72 (C), 122.01 (CH), 128.31 (2 CH), 128.58 (CH), 128.74 (2 CH), 130.92 (C), 135.32 (C), 144.21 (C), 153.08 (C), 166.84 (C), 167.85 (C) ppm.

MS (Cl, Isobutan): m/z (%) = 301 (75) [$M - 2 \text{CO}_2t\text{Bu} + \text{H}^+$], 345 (100), 401 (75) [$M + \text{H}^+$], 801 (40) [$(2 M)^+$].

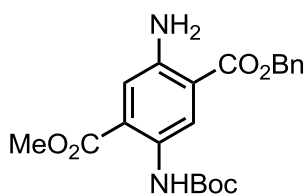
HR-MS (EI, 70 eV): ber. 400.1634 (für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$),
gef. 400.1627 [M^+].

IR (ATR): λ^{-1} = 3478 (m), 3368 (m), 3327 (m), 2975 (w), 1693 (s), 1626 (w), 1569 (m), 1529 (s), 1500 (m), 1454 (m), 1438 (m), 1422 (m), 1392 (w), 1368 (m), 1317 (m), 1296 (m), 1270 (m), 1226 (vs), 1212 (vs), 1155 (vs), 1107 (vs), 1044 (m), 1022 (m), 986 (m), 906 (m), 870 (w), 838 (m), 790 (s), 748 (m), 730 (s), 692 (s) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 416 (9303 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): λ_{em} = 492 nm (λ_{irr} = 416 nm).

5.2.1.13.2 2-Amino-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (32a)^[31]



$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$

$M = 400.43 \text{ g mol}^{-1}$

R_f (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1) = 0.40.

Smp.: 142°C (Lit.: 146°C).^[31]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.51$ (s, 9 H), 3.91 (s, 3 H), 5.38 (s, 2 H), 5.47 (br. s, 2 H), 7.32–7.33 (m, 2 H), 7.36–7.39 (m, 2 H), 7.46–7.47 (m, 2 H), 8.88 (s, 1 H), 9.41 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.41$ (3 CH_3), 52.40 (CH_3), 66.42 (CH_2), 80.16 (C), 115.88 (C), 118.64 (CH), 121.11 (C), 122.50 (CH), 127.91 (2 CH), 128.08 (CH), 128.56 (2 CH), 130.87 (C), 136.20 (C), 144.29 (C), 153.08 (C), 167.18 (C), 167.49 (C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 301 (80) [$\text{M} - 2 \text{CO}_2t\text{Bu} + \text{H}^+$], 345 (100), 401 (80) [$\text{M} + \text{H}^+$], 801 (6) [$(2 \text{M})^+$].

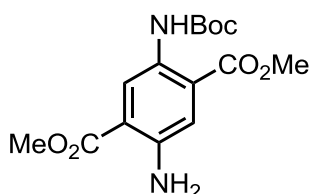
HR-MS (EI, 70 eV): ber. 400.1634 (für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$),
gef. 400.1629 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3481$ (m), 3370 (m), 3339 (m), 3004 (w), 2981 (w), 2955 (w), 1698 (s), 1628 (w), 1569 (m), 1530 (s), 1454 (m), 1440 (m), 1421 (m), 1385 (w), 1370 (m), 1319 (m), 1297 (m), 1274 (m), 1245 (vs), 1215 (vs), 1158 (vs), 1110 (vs), 1047 (m), 1024 (m), 987 (m), 906 (m), 840 (m), 790 (s), 771 (m), 751 (m), 733 (s), 687 (s) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 409 (4384 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 490$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 409$ nm).

5.2.1.14 2-Amino-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)terephthalsäuredimethylester (32c)



$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$

$M = 324.33 \text{ g mol}^{-1}$

Boc₂O (631 mg, 2.89 mmol) wurde zu einer Lösung aus dem Diester **18b** (648 mg, 2.89 mmol) in EE (27 ml) gegeben. Die Lösung wurde 5.5 d bei 23°C gerührt und die Mischung wurde anschließend mit EE auf 50 ml verdünnt. Es wurde mit ges. wässriger NH₄Cl-Lösung (50 ml) gewaschen und nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EE (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt₃) und es wurde die Verbindung **32c** (785 mg, 2.42 mmol, 84%) als ein oranger Feststoff erhalten.

R_f(SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.35.

Smp.: 116–120°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.51 (s, 9 H), 3.87–3.89 (m, 6 H), 5.48 (br. s, 2 H), 7.30 (s, 1 H), 8.78 (s, 1 H), 9.49 (s, 1 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 28.33 (3 CH₃), 51.94 (CH₃), 52.36 (CH₃), 80.07 (C), 115.58 (C), 118.58 (CH), 120.57 (C), 121.75 (CH), 130.65 (C), 144.20 (C), 153.04 (C), 167.48 (C), 167.80 (C) ppm.

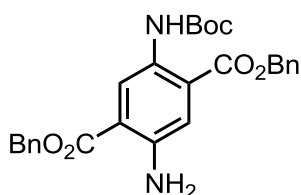
MS (ESI, neg. Modus): m/z = 323 (100) [M – H⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 347.1219 (für C₁₅H₂₀N₂NaO₆),
gef. 347.1222 [M + Na⁺].

IR (ATR): λ⁻¹ = 3477 (m), 3368 (m), 2952 (w), 2925 (w), 2851 (w), 1690 (s), 1623 (w), 1565 (m), 1521 (s), 1436 (m), 1417 (m), 1390 (w), 1364 (m), 1314 (m), 1266 (m), 1221 (vs), 1154 (vs), 1101 (vs), 1072 (s), 1044 (s), 1020 (s), 966 (m), 904 (m), 872 (w), 787 (s), 747 (m), 679 (m) cm⁻¹.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (ε) = 404 (4563 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 490 nm (λ_{irr} = 404 nm).

5.2.1.15 2-Amino-5-(tert-butoxycarbonylamino)terephthalsäuredibenzylester (32d) $C_{27}H_{28}N_2O_6$ $M = 476.52 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Lösung aus Boc₂O (268 mg, 1.23 mmol) in EE (6 ml) wurde zu einer Lösung aus dem Diaminodiester **18d** (420 mg, 1.12 mmol) in EE (6 ml) getropft. Nach 18 d Rühren bei 23°C wurde ges. wässrige NH₄Cl-Lösung (25 ml) zugegeben und die Mischung wurde 20 min gerührt. Es wurde mit EE auf 50 ml verdünnt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EE (25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde nach Chromatographie (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt₃) Verbindung **32d** (485 mg, 1.02 mmol, 91%) als ein gelber Feststoff erhalten.

 $R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.47.$ **Smp.:** 137°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.51$ (s, 9 H), 5.34 (s, 2 H), 5.38 (s, 2 H), 5.45 (br. s, 2 H), 7.26–7.47 (m, 11 H), 8.89 (s, 1 H), 9.43 (s, 1 H) ppm.

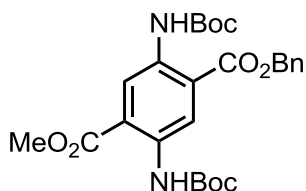
¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 28.36$ (3 CH₃), 66.37 (CH₂), 67.28 (CH₂), 80.16 (C), 115.75 (C), 118.65 (CH), 120.84 (C), 122.27 (CH), 127.86 (2 CH), 128.06 (CH), 128.34 (2 CH), 128.53 (2 CH), 128.61 (CH), 128.74 (2 CH), 130.87 (C), 135.22 (C), 136.11 (C), 144.27 (C), 153.02 (C), 166.81 (C), 167.15 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 499$ (100) [M + Na⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 499.1845 (für $C_{27}H_{28}N_2NaO_6$),
gef. 499.1847 $[M + Na^+]$.

IR (ATR): λ^{-1} = 3467 (m), 3360 (m), 3325 (m), 3067 (w), 3038 (w), 2976 (w), 2934 (w), 2879 (w), 1693 (s), 1626 (w), 1572 (m), 1530 (s), 1499 (m), 1452 (m), 1424 (m), 1394 (w), 1368 (m), 1316 (m), 1271 (m), 1226 (vs), 1161 (vs), 1114 (vs), 1048 (m), 1025 (m), 962 (m), 895 (m), 833 (m), 787 (s), 751 (m), 725 (s), 688 (vs) cm^{-1} .

5.2.1.16 2,5-Bis(*tert*-butoxycarbonylamino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (**56**)^[39]



$C_{26}H_{32}N_2O_8$

$M = 500.54 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Lösung aus dem Diamin **18c** (186 mg, 0.619 mmol) in EE (1 ml) wurde mit Boc_2O (1.24 mmol, 271 mg) versetzt und die Mischung wurde für 17 d bei $50^\circ C$ gerührt. Anschließend wurde ges. wässrige NH_4Cl -Lösung (3 ml) zugegeben und 15 min bei $23^\circ C$ gerührt. Es wurde mit EE auf 20 ml verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. NH_4Cl -Lösung (20 ml) gewaschen, die Phasen wurden getrennt und die wässrige wurde noch einmal mit EE (20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1 \rightarrow EE) und es wurde die Verbindung **56** (288 mg, 0.575 mmol, 93%) als gelber Feststoff erhalten.

$R_f(SiO_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.64$.

Smp.: $175^\circ C$ (Lit.: $182^\circ C$).^[39]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.49$ (s, 9 H), 1.50 (s, 9 H), 3.92 (s, 3 H), 5.39 (br. s, 2 H), 5.47 (br. s, 2 H), 7.92–7.32 (m, 1 H), 7.35–7.38 (m, 2 H), 7.44–7.45 (m, 1 H), 9.00 (s, 1 H), 9.10 (s, 1 H), 9.85 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.36$ (3 CH_3), 28.38 (3 CH_3), 52.66 (CH_3), 67.14 (CH_2), 80.61 (C), 80.66 (C), 119.62 (C), 119.62 (C), 121.13 (CH), 121.55 (CH), 127.90 (2 CH), 128.33 (CH), 128.66 (2 CH), 135.36 (C), 135.40 (C), 135.56 (C), 152.84 (C), 152.90 (C), 167.12 (C), 167.85 (C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 301 (40) [$\text{M} - 2 \text{CO}_2\text{tBu} + \text{H}^+$], 345 (55), 389 (100), 401 (80) [$\text{M} - \text{CO}_2\text{tBu} + \text{H}^+$], 445 (95), 500 (100) [M^+], 1001 (18) [$(2 \text{M})^+$].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 500.2159 (für $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$),
gef. 500.2153 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3304$ (m), 3138 (w), 3007 (w), 2973 (m), 2929 (w), 1722 (s), 1695 (s), 1542 (s), 1453 (m), 1434 (m), 1412 (m), 1391 (m), 1365 (m), 1321 (m), 1241 (vs), 1220 (vs), 1152 (vs), 1104 (vs), 1053 (vs), 1027 (s), 963 (m), 918 (m), 853 (m), 788 (m), 768 (w), 743 (m), 727 (w), 693 (m) cm^{-1} .

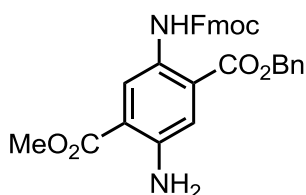
UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 404 (7073 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 450$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 404$ nm).

5.2.1.17 Umsetzung des Diaminodicarbonsäurebenzylmethyldiesters **18c** mit Fmoc-O-Succinimid

Eine Mischung aus Fmoc-O-Succinimid (536 mg, 1.59 mmol) in CH_2Cl_2 (7 ml) wurde zu einer Lösung aus dem Diamin **18c** (477 mg, 1.59 mmol) in THF (7 ml) getropft. Nach 5 d Rühren bei 23°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde zweifach chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt_3) um Regioisomer **55b** (330 mg, 0.632 mmol, 40%) in der ersten Fraktion [(SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1) = 0.47] und Regioisomer **55a** (283 mg, 0.542 mmol, 34%) in der zweiten Fraktion [(SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1) = 0.37] als gelbe Feststoffe zu erhalten.

5.2.1.17.1 5-Amino-2-[(9H-fluoren-9-yl)carbonylamino]terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (55b)



$C_{31}H_{26}N_2O_6$

$M = 522.55 \text{ g mol}^{-1}$

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.47.$

Smp: 146°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.90$ (s, 3 H), 4.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 4.43 (d, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 5.39 (s, 2 H), 5.54 (br. s, 2 H), 7.32–7.35 (m, 2 H), 7.39–7.44 (m, 6 H), 7.46–7.48 (m, 2 H), 7.65–7.67 (m, 2 H), 7.77–7.79 (m, 2 H), 8.87 (s, 1 H), 9.92 (s, 1 H) ppm.

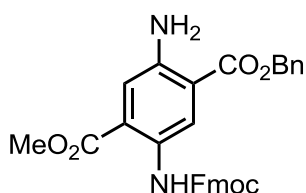
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 47.14$ (CH), 52.06 (CH_3), 67.32 (CH_2), 67.47 (CH_2), 115.71 (C), 118.72 (CH), 119.99 (2 CH), 121.02 (C), 122.27 (C), 125.27 (2 CH), 127.14 (2 CH), 127.73 (2 CH), 128.45 (2 CH), 128.70 (CH), 128.79 (2 CH), 130.48 (C), 135.19 (C), 141.31 (2 C), 143.93 (2 C), 144.75 (C), 153.71 (C), 166.92 (C), 167.75 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 523$ (100) [$\text{M} + \text{H}^+$], 545 (10) [$\text{M} + \text{Na}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 545.1689 (für $\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{NaO}_6$),
gef. 545.1682 [Na^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3477$ (s), 3364 (s), 3327 (br. m), 3065 (w), 3027 (w), 2945 (m), 1716 (m), 1692 (vs), 1633 (w), 1592 (m), 1562 (m), 1532 (s), 1499 (m), 1435 (s), 1373 (w), 1358 (w), 1304 (m), 1265 (s), 1242 (s), 1212 (s), 1189 (s), 1107 (s), 1089 (s), 1069 (m), 1041 (m), 1003 (m), 992 (m), 980 (m), 950 (w), 905 (m), 873 (w), 843 (w), 806 (w), 793 (m), 783 (m), 768 (m), 759 (m), 737 (vs), 696 (m), 639 (m) cm^{-1} .

5.2.1.17.2 2-Amino-5-[(9*H*-fluoren-9-yl)carbonylamino]terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (55a)



$C_{31}H_{26}N_2O_6$

$M = 522.55 \text{ g mol}^{-1}$

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/ EE} = 3 : 1) = 0.37.$

Smp.: 134°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.96$ (s, 3 H), 4.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 4.43 (d, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 5.37 (s, 2 H), 5.54 (br. s, 2 H), 7.31–7.44 (m, 10 H), 7.65–7.66 (m, 2 H), 7.77–7.78 (m, 2 H), 8.92 (s, 1 H), 9.84 (s, 1 H) ppm.

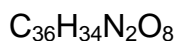
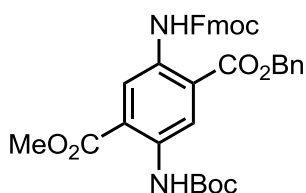
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 47.11$ (CH), 52.60 (CH_3), 66.51 (CH_2), 67.31 (CH_2), 115.61 (C), 118.72 (CH), 119.97 (2 CH), 121.26 (C), 122.50 (C), 125.28 (2 CH), 127.11 (2 CH), 127.72 (2 CH), 127.94 (2 CH), 128.13 (CH), 128.57 (2 CH), 129.96 (C), 135.99 (C), 141.31 (2 C), 143.94 (2 C), 144.88 (C), 153.67 (C), 167.07 (C), 167.52 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 523$ (18) $[\text{M} + \text{H}^+]$, 545 (100) $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 545.1689 (für $\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{NaO}_6$),
gef. 545.1688 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3470$ (s), 3359 (s), 3281 (br. m), 3064 (w), 2942 (m), 2884 (w), 1711 (s), 1690 (vs), 1631 (w), 1593 (s), 1500 (m), 1440 (s), 1371 (w), 1277 (s), 1245 (s), 1232 (s), 1204 (vs), 1104 (vs), 1093 (vs), 1063 (m), 1038 (m), 991 (w), 969 (m), 937 (w), 905 (m), 891 (w), 867 (w), 848 (w), 821 (w), 788 (m), 777 (m), 738 (vs), 697 (s), 637 (w) cm^{-1} .

5.2.1.18 5-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-2-[(9*H*-fluoren-9-yl)carbonylamino]-terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (51a)



$$M = 622.66 \text{ g mol}^{-1}$$

Eine Mischung aus Fmoc-Diester **55b** (0.191 mmol, 100 mg), EE (3 ml) und Boc_2O (0.23 mmol, 50 mg) wurde für 9 d bei 70°C gerührt. Es wurde zwischenzeitlich weiteres Boc_2O (0.33 mmol, 73 mg) zugesetzt und so viel EE zugefügt, dass der Lösungsmittelstand von ca. 3 ml erhalten blieb. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 (10 ml) aufgenommen, mit ges. wässriger NH_4Cl -Lösung (2 x 20 ml) 40 min gerührt und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger NH_4Cl -Lösung (2 x 20 ml) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Chromatographie (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt_3) wurde das Produkt **51a** (89 mg, 0.14 mmol, 75%) als weiß-gelblicher Feststoff isoliert.

$$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.65.$$

Smp.: 159°C.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.56$ (s, 9 H), 3.95 (s, 3 H), 4.33 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 4.46 (d, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 5.48 (s, 2 H), 7.33–7.38 (m, 3 H), 7.41–7.44 (m, 4 H), 7.53–7.54 (m, 2 H), 7.66–7.67 (m, 2 H), 7.78–7.79 (m, 2 H), 9.08 (s, 1 H), 9.20 (s, 1 H), 9.97 (s, 1 H), 10.32 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.29$ (3 CH_3), 47.00 (CH), 52.67 (CH_3), 67.27 (CH_2), 67.47 (CH_2), 80.67 (C), 119.37 (C), 119.85 (C), 119.98 (2 CH), 121.32 (CH), 121.40 (CH), 125.18 (2 CH), 127.12 (2 CH), 127.74 (2 CH), 127.99 (2 CH), 128.37 (CH), 128.63 (2 CH), 134.48 (C), 135.38 (C), 135.99 (C), 141.26 (2 C), 143.74 (2 C), 152.74 (C), 153.50 (C), 167.11 (C), 167.63 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 523$ (28) $[M - \text{CO}_2t\text{Bu} + \text{H}^+]$, 645 (100) $[M + \text{Na}^+]$.

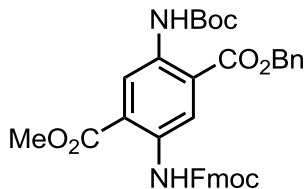
HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 645.2213 (für $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{NaO}_8$),
gef. 645.2214 $[M + \text{Na}^+]$.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3303$ (m), 2982 (m), 2954 (m), 1720 (s), 1692 (s), 1541 (vs), 1477 (w), 1450 (m), 1438 (m), 1412 (m), 1392 (w), 1367 (w), 1324 (m), 1217 (vs), 1152 (vs), 1109 (s), 1051 (s), 987 (m), 965 (m), 920 (w), 845 (w), 789 (w), 751 (m), 737 (s), 699 (m), 670 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 379$ ($4900 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 452$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 379$ nm).

5.2.1.19 5-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-2-[(9*H*-fluoren-9-yl)carbonylamino]-terephthalsäure-4-benzylester-1-methylester (**51b**)



$\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$

$M = 622.66 \text{ g mol}^{-1}$

Boc_2O (0.23 mmol, 50 mg) wurde zu einer Lösung aus dem Fmoc-Diester **55a** (0.191 mmol, 100 mg) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$ (4 ml, 1 : 1) gegeben. Die Mischung wurde auf 90°C erhitzt. Dabei wurde noch Boc_2O (0.25 mmol, 55 mg) und Lösungsmittel zugegeben, so dass das Lösungsmittelvolumen von 4 ml erhalten blieb. Nach 3 d wurde die Reaktionslösung auf 23°C abgekühlt, mit CH_2Cl_2 auf 10 ml verdünnt und mit ges. wässriger NH_4Cl -Lösung (20 ml) ca. 25 min gerührt. Nach Phasentrennung wurde die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach chromatographischer Aufarbeitung (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt_3) wurde das Produkt **51b** (49 mg, 79 μmol , 41%) leicht verunreinigt als weiß-gelblicher Feststoff isoliert.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.56$.

Smp.: 140°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.54$ (s, 9 H), 4.00 (s, 3 H), 4.30 (t, $J = 7.7$ Hz, 1 H), 4.44 (d, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 5.40 (s, 2 H), 7.32–7.45 (m, 9 H), 7.65–7.67 (m, 2 H), 7.77–7.79 (m, 2 H), 9.11 (s, 1 H), 9.16 (s, 1 H), 9.95 (s, 1 H), 10.33 (s, 1 H) ppm.

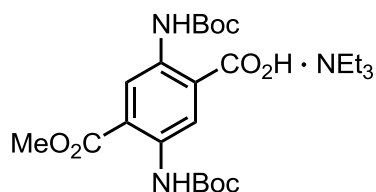
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.35$ (3 CH_3), 47.03 (CH), 52.87 (CH_3), 67.26 (CH_2), 67.53 (CH_2), 80.79 (C), 119.41 (C), 119.92 (C), 120.01 (2 CH), 121.14 (CH), 121.61 (CH), 125.25 (2 CH), 127.15 (2 CH), 127.78 (2 CH), 127.96 (2 CH), 128.40 (CH), 128.68 (2 CH), 134.58 (C), 135.35 (C), 136.03 (C), 141.31 (2 C), 143.82 (2 C), 152.88 (C), 153.51 (C), 166.99 (C), 167.88 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): $m/z = 645$ (100) [$\text{M} + \text{Na}^+$], 1267 (42) [$2\text{M} + \text{Na}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 645.2213 (für $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$),
gef. 645.2194 [$\text{M} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3296$ (m), 3141 (w), 2980 (m), 2955 (m), 1721 (s), 1692 (vs), 1546 (vs), 1502 (w), 1449 (m), 1437 (w), 1410 (s), 1388 (w), 1367 (w), 1321 (m), 1231 (vs), 1203 (vs), 1149 (vs), 1113 (s), 1076 (m), 1049 (s), 989 (m), 955 (w), 918 (w), 901 (w), 881 (w), 865 (w), 848 (w), 813 (w), 788 (m), 756 (m), 738 (s), 725 (s), 691 (s), 646 (m) cm^{-1} .

5.2.1.20 Triethylammonium-[2,5-bis(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxycarbonyl)benzoat] (39b)



$\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_8$

$M = 511.61 \text{ g mol}^{-1}$

Der Benzylester **56** (573 mg, 1.14 mmol) wurde mit *i*PrOH (30 ml) und Pd-C (50 mg, 10 Massen-% Pd) versetzt. Die Suspension wurde durch dreimaliges Einfrieren (N₂), Evakuieren und Auftauen entgast und unter H₂-Atmosphäre (1 atm, Ballon) bei einer Temperatur von 70°C für 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und es wurde EE (3 ml) und NEt₃ (1 ml) zugegeben. Das Gemisch wurde chromatographiert (SiO₂, EE → CH₂Cl₂ → EE/MeOH = 3 : 1 → 1 : 1, + 1 Vol% NEt₃). Es wurde das Salz **39b** (550 mg, 1.08 mmol, 95%) als gelblich-weißer Feststoff erhalten.

R_f(SiO₂, EE) = 0.13.

Smp.: >180°C (langsame Zersetzung).

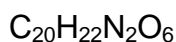
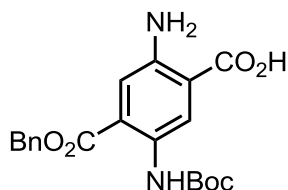
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.29–1.32 (m, 9 H), 1.46 (s, 9 H), 1.47 (s, 9 H), 3.08–3.14 (m, 6 H), 3.88 (s, 3 H), 8.90 (s, 1 H), 8.97 (s, 1 H), 9.84 (s, 1 H) 11.36 (s, 1 H), 13.19 (br. s, 1 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 8.53 (3 CH₃), 28.25 (3 CH₃), 28.38 (3 CH₃), 45.43 (3 CH₂), 52.19 (CH₃), 79.26 (C), 79.72 (C), 116.83 (C), 119.73 (CH), 121.91 (CH), 127.35 (C), 134.66 (C), 135.01 (C), 152.67 (C), 153.31 (C), 168.46 (C), 171.66 (C) ppm.

MS (ESI, neg. Modus): m/z (%) = 409 (100) [M – H⁺].

HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 409.1611 (für C₁₉H₂₅N₂O₈),
gef. 409.1622 [M – NEt₃ + H⁺].

IR (ATR): λ⁻¹ = 3315 (w), 2980 (m), 1714 (m), 1693 (m), 1632 (w), 1529 (s), 1408 (m), 1391 (m), 1364 (m), 1246 (s), 1225 (vs), 1150 (vs), 1076 (m), 1049 (s), 1026 (m), 958 (w), 929 (w), 850 (m), 804 (m), 791 (m), 768 (m), 739 (m) cm⁻¹.

5.2.1.21 2-Amino-4-(benzyloxycarbonyl)-5-(tert-butoxycarbonylamino)-benzoesäure (57b)

$$M = 386.40 \text{ g mol}^{-1}$$

Natronlauge (2.0 ml, 0.25 mol l⁻¹) wurde langsam unter Eiskühlung zu einer Lösung aus dem Benzylmethylester **32b** (205 mg, 0.512 mmol) in THF (2 ml) getropft. Die Lösung wurde auf 23°C erwärmt und 20 h gerührt. Es wurde mit ges. wässriger NaCl-Lösung (40 ml) verdünnt und mit EE (4 x 40 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1 → EE → EE/MeOH = 1 : 10). Es wurde die Säure **57b** (148 mg, 0.383 mmol, 75%) als ein gelblich-weißer Feststoff erhalten.

$$R_f(\text{SiO}_2, \text{EE/MeOH} = 4 : 1) = 0.15.$$

Smp.: 178°C.

¹H-NMR (300 MHz, d₆-DMSO): δ = 1.40 (s, 9 H), 5.34 (s, 2 H), 6.35 (br. s, 2 H), 7.35–7.46 (m, 6 H), 8.54 (s, 1H), 11.51 (br. s, 1H) ppm; das Proton der Carbonsäure ist nicht erkennbar.

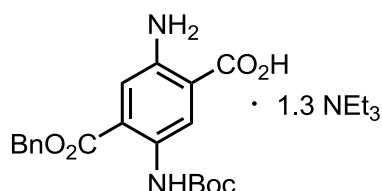
¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ = 28.78 (3 CH₃), 67.25 (CH₂), 80.98 (C), 114.33 (C), 120.77 (CH), 122.50 (CH), 129.12 (2 CH), 129.16 (CH), 129.61 (2 CH), 130.37 (C), 133.14 (C), 137.97 (C), 147.05 (C), 155.18 (C), 168.79 (C) 174.44 (C) ppm.

MS (ESI, neg. Modus): m/z = 385 (100) [M – H⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 431.1195 (für $C_{20}H_{21}N_2Na_2O_6$),
gef. 431.1186 [$M - H^+ + 2 Na^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3476$ (w), 3353 (m), 2979 (m), 2932 (w), 1999 (m), 1627 (m), 1572 (m), 1514 (s), 1426 (m), 1366 (s), 1291 (m), 1229 (vs), 1207 (s), 1154 (vs), 1118 (m), 1066 (s), 1017 (m), 906 (m), 878 (w), 844 (w), 810 (m), 786 (m), 768 (m), 737 (m), 695 (s), 637 (m) cm^{-1} .

5.2.1.22 Triethylammonium-[2-amino-4-(benzyloxycarbonyl)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)benzoat] (**57c**)



$C_{20}H_{22}N_2O_6 \cdot 1.3 NEt_3$

$M = 520.98 \text{ g mol}^{-1}$

Der Mono-Boc-Diester **32b** (248 mg, 0.619 mmol) wurde mit THF (10 ml) und H_2O (8 ml) versetzt. Unter Eiskühlung wurde langsam Natronlauge (2.5 ml, 0.25 mol l^{-1}) zutropft. Nach 3 h Rühren unter Eiskühlung wurde die Lösung auf 23°C erwärmt und 1.5 d gerührt. Die Reaktionslösung wurde anschließend mit MTBE (50 ml) und H_2O (50 ml) verdünnt. Da keine Phasentrennung zu erkennen war, wurde noch EE (100 ml) und ges. wässrige NaCl-Lösung (100 ml) zugefügt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EE (4 x 150 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1 \rightarrow MeOH, + 1 Vol% NEt_3). Es wurde das Salz **57c** (241 mg, 0.463 mmol, 75%) als gelblicher Feststoff erhalten.

$R_f(SiO_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.07$.

Smp.: 161°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 1.34$ (t, $J = 7.3$ Hz, 1.3×9 H), 1.52 (s, 9 H), 3.31 (q, $J = 7.3$ Hz, 1.3×6 H), 5.40 (s, 2 H), $7.34\text{--}7.37$ (m, 1 H), $7.41\text{--}7.44$ (m, 3 H), $7.51\text{--}7.53$ (m, 2 H), 8.66 (s, 1H) ppm; die Protonen der Carbonsäure und der Aminofunktionen sind im Lösungsmittel nicht erkennbar.

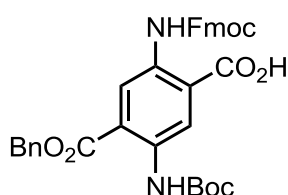
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): $\delta = 9.28$ (1.3×3 CH_3), 28.83 (3 CH_3), 47.89 (1.3×3 CH_2), 67.06 (CH_2), 80.58 (C), 113.20 (C), 120.63 (CH), 121.69 (CH), 129.10 (3 CH), 129.60 (2 CH), 130.13 (C), 132.33 (C), 138.11 (C), 147.07 (C), 155.25 (C), 169.02 (C) 173.80 (C) ppm.

MS (ESI, neg. Modus): $m/z = 267$ (40), 311 (100), 385 (40) [$\text{M} - \text{NEt}_3 - \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 385.1400 (für $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$),
gef. 385.1389 [$\text{M} - \text{H}^+ - \text{NEt}_3$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3475$ (w), 3311 (m), 2976 (m), 1707 (m), 1683 (m), 1638 (w), 1598 (m), 1510 (s), 1454 (m), 1419 (s), 1392 (m), 1366 (m), 1334 (m), 1249 (s), 1221 (vs), 1198 (vs), 1156 (vs), 1091 (s), 1066 (vs), 1043 (m), 1017 (m), 917 (m), 838 (m), 813 (m), 791 (vs), 749 (s), 695 (m), 618 (m) cm^{-1} .

5.2.1.23 4-(Benzyloxycarbonyl)-5-(tert-butoxycarbonylamino)-2-[[*(9H* fluoren-9-yl)methoxy]carbonylamino}benzoesäure (**58b**)



$\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$

$M = 608.64$ g mol^{-1}

Fmoc-Cl (200 mg, 0.773 mmol) wurde unter Eiskühlung zu einer Lösung aus der Säure **57b** (211 mg, 0.546 mmol) in CH_2Cl_2 (2 ml) gegeben. Die Mischung wurde unter N_2 -Atmosphäre bei 23°C für 16 h gerührt. Anschließend wurde mit CH_2Cl_2 (15 ml) verdünnt und das Gemisch mit wässriger ges. NaHCO_3 -Lösung (15 ml)

gewaschen. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (2 x 15 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet. Nach dem Filtrieren und dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand zweifach chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1 \rightarrow 1 : 1 \rightarrow 2 : 1 \rightarrow EE/MeOH = 1 : 4). Es wurde die Titelverbindung **58b** (207 mg, 0.340 mmol, 62%) als ein farbloser Feststoff erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{EE}) = 0.04$.

Smp.: 188°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 1.54$ (s, 9 H), 4.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 4.42 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 5.47 (s, 2 H), 7.33–7.36 (m, 2 H), 7.42–7.45 (m, 5 H), 7.55–7.56 (m, 2 H), 7.67–7.68 (m, 2 H), 7.84–7.85 (m, 2 H), 8.90 (s, 1H), 9.00 (s, 1H) ppm; die Protonen der Säure und der Aminofunktionen sind in CD_3OD als Lösungsmittel nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CD_3OD): $\delta = 28.43$ (3 CH_3), 68.04 (CH_2), 48.04 (CH), 68.15 (CH_2), 81.35 (C), 109.20 (C), 121.04 (2 CH), 121.66 (CH), 124.27 (CH), 125.23 (C), 126.23 (2 CH), 128.26 (2 CH), 128.92 (2 CH), 129.36 (2 CH), 129.43 (CH), 129.71 (2 CH), 135.10 (C), 136.70 (C), 137.27 (C), 142.64 (2 C), 145.20 (2 C), 154.77 (C), 155.20 (C), 168.71 (C), 178.67 (C) ppm.

MS (ESI, neg. Modus): m/z (%) = 607 (100) [$\text{M} - \text{H}^+$].

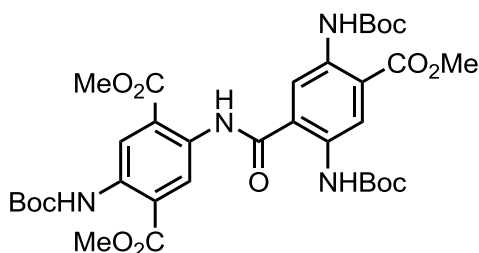
HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 653.1876 (für $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$),
gef. 653.1877 [$\text{M} - \text{H}^+ + 2 \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3285$ (w), 3065 (w), 2951 (w), 1789 (s), 1731 (s), 1712 (s), 1696 (s), 1633 (m), 1633 (w), 1539 (s), 1500 (m), 1449 (m), 1413 (m), 1383 (w), 1328 (m), 1215 (vs), 1163 (s), 1096 (s), 1053 (m), 999 (s), 913 (w), 789 (w), 754 (s), 737 (vs), 696 (s), 652 (m), 621 (w) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 369 (4645 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): $\lambda_{em} = 457 \text{ nm}$ ($\lambda_{irr} = 369 \text{ nm}$).

5.2.1.24 2-(tert-Butoxycarbonylamino)-5-[(2,5-bis(tert-butoxycarbonylamino)-1-(methoxycarbonyl)]benzoylaminoterephthalsäuredimethylester (37)



C₃₄H₄₄N₄O₁₃

M = 716.73 g mol⁻¹

Eine Lösung aus DMAP (0.213 mmol, 26 mg) und DCC (0.228 mmol, 47 mg) in CH₂Cl₂ (0.3 ml) wurde zu einer Lösung aus dem Salz **39b** (107 mg, 0.209 mmol) in CH₂Cl₂ (0.3 ml) getropft. Es wurde HOBt (31 mg, 0.229 mmol) zugegeben und es wurde noch mehr CH₂Cl₂ (0.1 ml) zugesetzt. Nachdem ein trüber Niederschlag zu sehen war (ca. 1–2 min), wurden das Amin **32c** (100 mg, 0.308 mmol) und CH₂Cl₂ (0.2 ml) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 2.5 d bei 80°C in einem dichtverschlossenem Gefäß gerührt. Das Gemisch wurde mit EE (15 ml) und einer wässrigen ges. NH₄Cl-Lösung (15 ml) verdünnt. Nach der Phasentrennung wurde die organische Phase jeweils mit wässriger ges. NaHCO₃-Lösung (20 ml) und H₂O (20 ml) gewaschen. Nach der Trocknung über MgSO₄, der Filtration und dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1, + 1 Vol% NEt₃). Es wurde das Dimer **37** (47 mg, 66 µmol, 31%) isoliert, welcher als gelblicher Feststoff vorlag.

R_f(SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.56.

Smp.: >207°C (langsame Zersetzung).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.52$ (s, 9 H), 1.53 (s, 9 H), 1.55 (s, 9 H), 3.96 (s, 3 H), 3.97 (s, 3 H), 4.00 (s, 3 H), 8.93 (s, 1 H), 9.00 (s, 1 H), 9.17 (s, 1 H), 9.25 (s, 1 H), 9.57 (s, 1 H), 10.10 (s, 1 H), 10.15 (s, 1 H), 11.58 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.30$ (3 CH_3), 28.32 (3 CH_3), 28.35 (3 CH_3), 52.68 (CH_3), 52.91 (CH_3), 53.08 (CH_3), 80.52 (C), 80.52 (C), 80.96 (C), 117.46 (CH), 117.72 (C), 118.56 (C), 120.94 (CH), 121.67 (C), 122.19 (CH), 122.19 (C), 123.36 (CH), 133.32 (2 C), 136.49 (C), 137.49 (C), 152.73 (C), 152.90 (C), 153.02 (C), 166.61 (C), 167.66 (C), 167.82 (C), 167.93 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 739 (100) [$\text{M} + \text{Na}^+$].

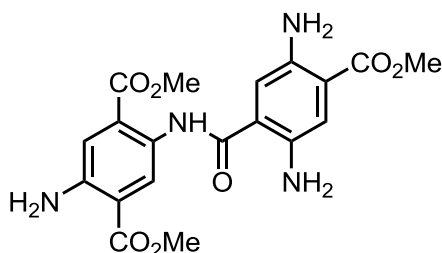
HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 739.2817 (für $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{NaO}_{13}$),
gef. 739.2803 [$\text{M} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3305$ (m), 2979 (m), 2930 (m), 1721 (m), 1694 (m), 1632 (w), 1544 (s), 1437 (m), 1408 (m), 1391 (m), 1365 (m), 1324 (m), 1222 (vs), 1153 (vs), 1108 (s), 1071 (m), 1052 (s), 1027 (m), 978 (w), 916 (w), 880 (w), 842 (w), 811 (w), 788 (m), 742 (m), 694 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 380 (7381 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 470$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 380$ nm).

5.2.1.25 2,5-Diamino-*N*-[2,5-diamino-4-(methoxycarbonyl)benzoyl]-terephthalsäuredimethylester (61)



$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_7$

$M = 416.38 \text{ g mol}^{-1}$

Das Dimer **37** (58 mg, 81 μmol) wurde mit CH_2Cl_2 (5 ml) und TFA (0.81 mmol, 92 mg) versetzt und die Mischung wurde für 16 h bei 50°C erwärmt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (SiO_2 , Hexan/EE = 1 : 1 \rightarrow EE, + Vol% NEt_3). Es wurde das Triamin **61** (32 mg, 77 μmol , 96%) als ein oranger Feststoff erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 1) = 0.27$.

Smp.: 212°C .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.89$ (s, 3 H), 3.93 (s, 3 H), 3.94 (s, 3 H), 4.90 (br. s, 2 H), 5.24 (br. s, 2 H), 5.66 (s, 2 H), 7.01 (s, 1 H), 7.31 (s, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 9.18 (s, 1 H), 11.04 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 51.84$ (CH_3), 52.16 (CH_3), 52.80 (CH_3), 115.10 (C), 115.38 (C), 115.52 (CH), 118.69 (CH), 119.36 (CH), 121.69 (C), 123.79 (CH), 124.60 (C), 138.73 (C), 141.72 (C), 143.45 (C), 145.47 (C), 166.43 (C), 167.73 (C), 167.78 (C), 167.81 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 417 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (CI, Isobutan): ber. 417.1410 (für $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_7$),
gef. 417.1418 [$\text{M} + \text{H}^+$].

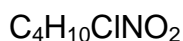
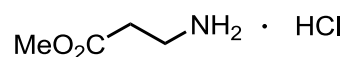
IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3443$ (m), 3417 (w), 3344 (m), 3291 (m), 3197 (m), 2950 (w), 1697 (s), 1658 (m), 1626 (m), 1576 (m), 1521 (s), 1438 (s), 1412 (s), 1354 (m), 1303 (m), 1267 (m), 1206 (vs), 1112 (s), 979 (m), 925 (w), 904 (m), 888 (m), 788 (s), 748 (s), 694 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 310 (9662), 416 (11275 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 470$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 310, 416$ nm).

5.2.2 Synthese der Modellsysteme für die Festphasensynthese

5.2.2.1 3-Aminopropansäuremethylester-Hydrochlorid (**75**)^[80]



$$M = 139.58 \text{ g mol}^{-1}$$

SOCl_2 (7.34 ml) wurde unter Eiskühlung langsam zu einer Suspension von β -Alanin (3.00 g, 33.7 mmol) in MeOH (13.7 ml) getropft. Nach 5 min Rühren wurde das Gemisch 16 h unter Rückfluss erwärmt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und es wurde das Hydrochlorid **75** (4.70 g, 33.7 mmol, 99%) als spektroskopisch-reiner farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 79°C (Lit.: 89–90°C).^[80b]

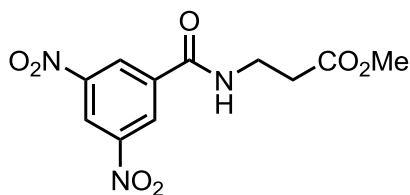
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 2.70\text{--}2.77$ (m, 2 H), 3.15–3.20 (m, 2 H), 3.70 (s, 3 H) ppm; die Protonen der Aminofunktion und der Carbonsäure sind nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 32.13$ (CH_2), 36.52 (CH_2), 52.70 (CH_3), 172.62 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 126 (52) [$\text{M} - \text{HCl} + \text{Na}^+$], 207 (100) [$2 \text{M} - 2 \text{HCl} + \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 126.0531 (für $\text{C}_4\text{H}_9\text{NNaO}_2$),
gef. 126.0538 [$\text{M} - \text{HCl} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 2941$ (br. s), 1736 (vs), 1597 (m), 1570 (m), 1523 (s), 1473 (w), 1446 (m), 1424 (m), 1392 (m), 1345 (s), 1215 (vs), 1155 (m), 1115 (m), 1003 (s), 958 (m), 891 (w), 797 (s), 706 (m) cm^{-1} .

5.2.2.2 3-(3,5-Dinitrobenzamido)propansäuremethylester (72a) $C_{11}H_{11}N_3O_7$ $M = 297.22 \text{ g mol}^{-1}$

Die Dinitrobenzoesäure (1.07 g, 5.04 mmol) wurde mit CH_2Cl_2 (6 ml), NEt_3 (437 mg, 4.32 mmol) und EDC · HCl (964 mg, 5.03 mmol) versetzt. Es wurde unter Eiskühlung ein Gemisch aus dem Hydrochlorid **75** (500 mg, 3.58 mmol) und NEt_3 (437 mg, 4.32 mmol) in CH_2Cl_2 (6 ml) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf 23°C erwärmt und für 3 d gerührt. Anschließend wurde mit CH_2Cl_2 auf 50 ml verdünnt und die organische Phase wurde mit ges. wässriger NH_4Cl (50 ml), ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (50 ml) und H_2O (50 ml) gewaschen. Es wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1 → EE) und es wurde die Verbindung **72a** (296 mg, 1.00 mmol, 28%) als ein farbloser Feststoff erhalten

 $R_f(\text{SiO}_2, \text{EE}) = 0.43.$ **Smp.:** 112°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.72$ (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 3.75 (s, 3 H), 3.80 (q, $J = 5.8$ Hz, 2 H) 7.16–7.20 (m, 1 H), 8.93–8.95 (m, 2 H), 9.16–9.18 (m, 1 H) ppm.

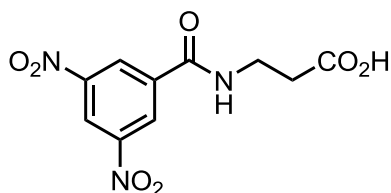
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 33.18$ (CH_2), 35.92 (CH_2), 52.15 (CH_3), 121.13 (CH), 127.16 (2 CH), 137.83 (C), 148.68 (2 C), 162.64 (C), 173.30 (C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 298 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (CI, Isobutan): ber. 298.0675 (für $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_7$),
gef. 298.0674 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): λ^{-1} = 3329 (m), 3111 (m), 2959 (w), 1709 (s), 1668 (s), 1633 (m), 1530 (s), 1451 (m), 1428 (w), 1345 (vs), 1288 (vs), 1200 (m), 1187 (m), 1112 (w), 1088 (m), 1051 (m), 1017 (m), 959 (m), 923 (m), 911 (m), 848 (w), 824 (w), 729 (s), 718 (vs) 657 (m), 619 (m) cm^{-1} .

5.2.2.3 3-(3,5-Dinitrobenzamido)propansäure (**74a**)^[81]



$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_7$

$M = 283.19 \text{ g mol}^{-1}$

Der Methylester **72a** (150 mg, 0.505 mmol) wurde mit MeOH (1 ml) und mit Natronlauge (0.25 mol l^{-1} , 2.2 ml) versetzt und die Mischung für 2 h auf 50°C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in 15 ml H_2O gelöst und mit Salzsäure (3 Tropfen, 5 mol l^{-1} , pH > 3) versetzt. Es wurde mit EE (2 x 15 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde die Verbindung **74a** (125 mg, 0.441 mmol, 87%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 190°C (Lit.: 202.5 °C).^[81]

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): δ = 2.63 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 3.64 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 9.00–9.01 (m, 2 H), 9.07–9.09 (m, 1H) ppm; die Protonen der Aminogruppe und der Carbonsäure sind nicht erkennbar.

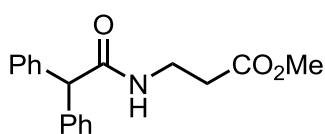
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ = 34.33 (CH_2), 37.50 (CH_2), 122.02 (CH), 128.50 (2 CH), 138.82 (C), 150.11 (2 C), 165.44 (C), 175.21 (C) ppm.

MS (ESI, neg. Modus): m/z (%) = 282 (100) [$\text{M} - \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 282.0362 (für C₁₀H₈N₃O₇),
gef. 282.0359 [M – H⁺].

IR (ATR): λ^{-1} = 3374 (m), 3089 (m), 1708 (s), 1646 (s), 1631 (s), 1589 (w), 1561 (m), 1536 (vs), 1440 (m), 1418 (m), 1398 (m), 1373 (w), 1342 (vs), 1306 (m), 1284 (m), 1203 (vs), 1114 (w), 1095 (m), 1081 (m), 1039 (w), 1002 (w), 922 (m), 913 (m), 877 (m), 836 (m), 804 (m), 729 (s), 716 (vs), 649 (m), 625 (m) cm⁻¹.

5.2.2.4 3-(2,2-Diphenylacetamido)propansäuremethylester (**72b**)



C₁₈H₁₉NO₃

M = 297.35 g mol⁻¹

Eine Suspension aus Diphenyllessigsäure (300 mg, 1.41 mmol), NEt₃ (215 mg, 2.12 mmol) und EDC · HCl (380 mg, 1.98 mmol) in CH₂Cl₂ (1 ml) wurde zu einer Suspension aus dem Hydrochlorid **75** (275 mg, 1.97 mmol) in CH₂Cl₂ (1 ml) und NEt₃ (215 mg, 2.12 mmol) gegeben. Es wurde mit CH₂Cl₂ (1 ml) nachgespült und die Mischung 2 d bei 23°C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit CH₂Cl₂ auf 10 ml verdünnt und die organische Phase wurde mit wässriger ges. NH₄Cl-Lösung (20 ml), wässriger ges. NaHCO₃-Lösung (20 ml) und H₂O (20 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde über Kieselgel (ca. 3 cm hoch, 40 ml EE) filtriert. Das Amid **72b** (107 mg, 0.360 mmol, 26%) wurde als farbloser Feststoff isoliert.

R_f(SiO₂, EE) = 0.83.

Smp.: 106°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 2.54 (t, *J* = 6.0 Hz, 2 H), 3.54 (q, *J* = 6.0 Hz, 2 H), 3.62 (s, 3 H), 4.89 (s, 1 H), 6.19 (br. s, 1 H), 7.23–7.28 (m, 6 H), 7.29–7.35 (m, 4 H) ppm.

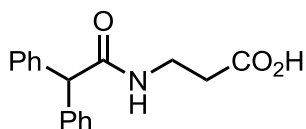
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 35.74$ (CH_2), 35.24 (CH_2), 51.65 (CH_3), 59.09 (CH), 127.18 (2 CH), 128.67 (4 CH), 128.79 (4 CH), 139.33 (2 C), 171.84 (C), 172.64 (C) ppm.

MS (Cl, Isobutan): m/z (%) = 130 (20), 168 (20), 298 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (Cl, Isobutan): ber. 298.1438 (für $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_3$),
gef. 298.1436 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3259$ (m), 3077 (m), 3032 (w), 3006 (w), 2952 (m), 1740 (s), 1642 (s), 1600 (m), 1556 (s), 1496 (m), 1435 (m), 1341 (s), 1255 (s), 1230 (s), 1189 (w), 1161 (s), 1152 (s), 1067 (m), 1032 (s), 985 (w), 958 (w), 923 (w), 897 (w), 881 (w), 840 (w), 821 (w), 746 (s), 734 (s), 721 (m), 699 (vs), 637 (m), 612 (w) cm^{-1} .

5.2.2.5 3-(2,2-Diphenylacetamido)propansäure (**74b**)^[82]



$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$

$M = 283.32 \text{ g mol}^{-1}$

Natronlauge (0.25 mol l^{-1} , 1.6 ml) wurde zu einer Lösung aus dem Methylester **72b** (110 mg, 0.370 mmol) in THF (15 ml) getropft. Das Gemisch wurde bei 50°C für 3 h erwärmt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit H_2O (15 ml) verdünnt und mit Salzsäure (2 Tropfen, 5 mol l^{-1} , $\text{pH} > 3$) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit EE (2 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Säure **74b** (74 mg, 0.26 mmol, 71%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

$R_f(\text{EE}/\text{MeOH} = 4 : 1) = 0.43$.

Smp.: 102°C (Lit.: $110\text{--}112^\circ\text{C}$).^[82a]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 2.39$ (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H), 3.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H), 4.79 (br. s, 1 H), 7.03–7.13 (m, 2 H), 7.13–7.20 (m, 8 H) ppm; die Protonen der Aminofunktion und der Carbonsäure sind nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 24.65$ (CH_2), 36.74 (CH_2), 59.08 (CH), 128.06 (2 CH), 129.49 (4 C), 129.91 (4 C), 141.10 (2 C), 174.84 (C), 175.36 (C) ppm.

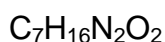
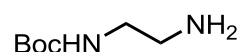
MS (ESI, neg. Modus): m/z (%) = 282 (100) [$\text{M} - \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 282.1130 (für $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}_3$),
gef. 282.1133 [$\text{M} - \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3317$ (m), 3081 (m), 3029 (m), 2956 (m), 1699 (s), 1671 (m), 1642 (s), 1583 (w), 1551 (s), 1492 (m), 1452 (m), 1438 (m), 1403 (m), 1351 (m), 1314 (w), 1282 (m), 1261 (m), 1244 (s), 1226 (m), 1197 (m), 1080 (m), 1053 (m), 1030 (m), 1015 (m), 958 (m), 919 (w), 892 (w), 877 (w), 854 (w), 801 (m), 777 (w), 741 (m) 723 (m), 701 (vs), 633 (s) cm^{-1} .

5.2.3 Synthese von Fluoreszenzmarker

5.2.3.1 2-(*N*-*tert*-Butoxycarbonylamino)ethylamin (**47a**)^[54,83]



$M = 160.21 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Lösung aus Boc_2O (12.1 g, 55.4 mmol) in THF (80 ml) wurde unter Eiskühlung zu einer Lösung aus Ethylendiamin (10.0 g, 166 mmol) in THF (160 ml) getropft. Die Lösung wurde langsam auf 23°C erwärmt und noch 3 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in 75 ml H_2O aufgenommen, filtriert und das Filtrat mit CH_2Cl_2 (3 x 100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde die Titelverbindung **47a** (6.12 g, 38.2 mmol, 69%) als ein leicht gelbliches Öl isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.24$ (br. s, 2 H), 1.45 (s, 9 H), 2.80 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H), 3.17 (q, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 4.83 (br. s, 1 H) ppm.

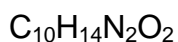
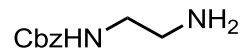
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.41$ (3 CH_3), 41.91 (CH_2), 43.48 (CH_2), 79.26 (C), 156.19 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 161 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 161.1290 (für $\text{C}_7\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2$),
gef. 161.1286 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3362$ (m), 2976 (m), 2932 (m), 2869 (w), 1687 (s), 1519 (m), 1454 (w), 1391 (w), 1365 (m), 1273 (m), 1249 (s), 1166 (vs), 1043 (w), 953 (w), 871 (w), 779 (w) cm^{-1} .

5.2.3.2 2-(*N*-Benzyloxycarbonylamino)ethylamin (**47b**)^[84]



$$M = 194.23 \text{ g mol}^{-1}$$

Eine Lösung aus CbzCl (2.00 g, 11.7 mmol) in CH_2Cl_2 (35 ml) wurde langsam unter Eiskühlung zu einer Lösung aus Ethylendiamin (2.11 g, 35.1 mmol) in CH_2Cl_2 (35 ml) getropft. Die Lösung wurde langsam auf 23°C erwärmt und noch 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in 30 ml H_2O aufgenommen, filtriert und das Filtrat wurde mit CH_2Cl_2 (3 x 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde die Titelverbindung **47b** (1.36 g, 7.00 mmol, 60%) als ein farbloses Öl isoliert, welches nach kurzer Zeit zu einem farblosen Feststoff auskristallierte.

Smp.: 96°C (Lit.: $80\text{--}82^\circ\text{C}$).^[84b]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.18$ (br. s, 2 H), 2.83 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 3.25 (q, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 5.10 (br. s, 3 H), 7.31–7.37 (m, 5 H) ppm.

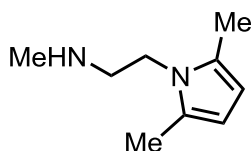
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 41.67$ (CH_2), 43.81 (CH_2), 66.67 (CH_2), 128.10 (3 CH), 128.51 (2 CH), 136.54 (CH), 156.62 (C) ppm.

MS (Cl, Isobutan): m/z (%) = 151 (15), 195 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$], 345 (8), 389 (27) [$2\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (Cl, Isobutan): ber. 195.1134 (für $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$),
gef. 195.1128 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3320$ (m), 3034 (w), 2941 (m), 1698 (vs), 1533 (m), 1456 (m), 1407 (w), 1333 (w), 1249 (vs), 1137 (m), 1005 (m), 914 (m), 776 (m), 738 (s), 698 (vs), 607 (m) cm^{-1} .

5.2.3.3 2-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methylethanamin (**90a**)^[85]



$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2$

$M = 152.24 \text{ g mol}^{-1}$

N-Methylethylendiamin (200 mg, 2.70 mmol) wurde mit dem 2,5-Hexandion (339 mg, 2.97 mmol), Eisessig (0.1 ml) und Toluol (2 ml) am Wasserabscheider für 3.5 h refluxiert. Es wurde anschließend EE (7 ml) zugefügt und die organische Phase wurde mit wässriger ges. NaHCO_3 -Lösung (10 ml) und wässriger ges. NaCl -Lösung (10 ml) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden mit EE (20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde die Verbindung als **90a** (306 mg, 2.01 mmol, 74%) eine leicht gelbe Flüssigkeit erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.24$ (s, 6 H), 2.45 (s, 3 H), 2.80 (t, $J = 6.9$ Hz, 2 H), 3.89 (t, $J = 6.9$ Hz, 2 H), 5.77 (s, 2 H) ppm; das Proton der Aminofunktion ist nicht erkennbar.

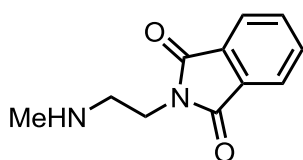
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 12.60$ (2 CH_3), 36.61 (CH_3), 43.54 (CH_2), 52.15 (CH_2), 105.31 (2 CH), 127.70 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 153 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 153.1392 (für $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_2$),
gef. 153.1395 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3311$ (w), 3104 (w), 2934 (m), 2852 (m), 2795 (m), 1651 (m), 1576 (w), 1521 (w), 1475 (m), 1446 (m), 1409 (vs), 1357 (m), 1302 (s), 1216 (w), 1146 (w), 1116 (w), 1021 (w), 1001 (w), 977 (w), 747 (vs), 639 (m) cm^{-1} .

5.2.3.4 2-[2-(Methylamino)ethyl]isoindolin-1,3-dion (90d)^[61]



$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$

$M = 204.23 \text{ g mol}^{-1}$

N-Methylethylendiamin (200 mg, 2.70 mmol) wurde mit dem Phthalsäureanhydrid (799 mg, 5.39 mmol) und H_2O (4 ml) unter Rückfluss 3.5 h erwärmt. Die Lösung wurde anschließend mit ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (20 ml) verdünnt und mit EE (3 x 25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde aus EE (5 ml) umkristallisiert. Es wurde die Verbindung **90d** (62 mg, 0.30 mmol, 11%), als nahezu reiner weiß-gelblicher Feststoff erhalten.

Smp.: 139°C (Lit.: 187–189°C).^[61]

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.56$ (br. s, 1 H), 2.45 (s, 3 H), 2.89 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H), 3.82 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H), 7.69–7.70 (m, 2 H), 7.82–7.84 (m, 2 H) ppm.

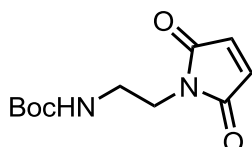
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 36.04$ (CH_3), 37.61 (CH_2), 50.01 (CH_2), 123.21 (2 CH), 132.23 (2 C), 133.84 (2 CH), 168.48 (2 C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 205 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

HR-MS (CI, Isobutan): ber. 205.0977 (für $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2$),
gef. 205.0981 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3307$ (m), 2933 (m), 1773 (w), 1709 (s), 1622 (vs), 1595 (s), 1576 (m), 1538 (vs), 1495 (s), 1433 (m), 1397 (s), 1357 (m), 1299 (s), 1188 (w), 1119 (w), 1070 (m), 1044 (w), 973 (w), 915 (w), 870 (w), 777 (m), 719 (vs), 665 (s), 636 (m) cm^{-1} .

5.2.3.5 ***N*-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethylcarbaminsäure-*tert*-butylester (86)^[86]**



$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$

$M = 240.26 \text{ g mol}^{-1}$

Das einfach geschützte Diamin **47a** (3.70 g, 23.1 mmol), MTBE (50 ml) und das Maleinsäureanhydrid (2.27 g, 23.1 mmol) wurden 4 h bei 23°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mit NaOAc (947 mg, 11.5 mmol) und Ac_2O (37 ml) für 25 min unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eiswasser (ca. 200 g) gegossen und die wässrige Phase wurde mit EE (2 x 200 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus heißem EE unter Zugabe von Hexan auskristallisiert, wobei die erste

schwarze Fraktion abfiltriert und verworfen wurde. Es wurde die Titelverbindung **86** (1.87 g, 7.78 mmol, 34%) als farbloser Feststoff isoliert.

Smp.: 122°C (Lit.: 116 °C).^[86]

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.39 (s, 9 H), 3.29–3.35 (m, 2 H), 3.64 (t, *J* = 5.6 Hz, 2 H), 4.75 (br. s, 1 H), 6.70 (s, 2 H) ppm.

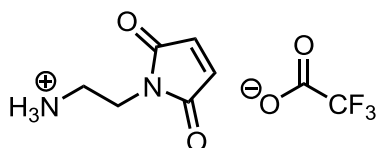
¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 28.29 (3 CH₃), 37.97 (CH₂), 39.37 (CH₂), 79.49 (C), 134.14 (2 CH), 155.91 (C), 170.75 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): *m/z* (%) = 141 (26) [M + H⁺ – Boc], 207 (57), 263 (100) [M + Na⁺], 503 (21) [2 M + Na⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 263.1008 (für C₁₁H₁₆N₂NaO₄),
gef. 263.1000 [M + Na⁺].

IR (ATR): λ⁻¹ = 3348 (m), 3089 (m), 2982 (m), 2935 (w), 1699 (vs), 1679 (vs), 1517 (s), 1434 (m), 1405 (m), 1361 (m), 1322 (m), 1288 (m), 1251 (s), 1166 (vs), 1104 (w), 1958 (w), 1040 (w), 1015 (w), 944 (m), 879 (m), 843 (s), 807 (w), 784 (m), 764 (w), 741 (w), 691 (vs), 602 (s) cm⁻¹.

5.2.3.6 [2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethan ammonium]trifluoracetat (**87**)^[86]



C₈H₉F₃N₂O₄

M = 254.16 g mol⁻¹

TFA (9.83 ml, 127 mmol) wurde unter Eiskühlung zu einer Lösung aus dem Maleimid **86** (1.09 g, 4.54 mmol) in CH₂Cl₂ (19 ml) getropft. Die Mischung wurde 20 h bei 23°C gerührt. Der Rückstand wurde mit Toluol als Schlepptmittel (ca. 10 ml) versetzt und

im Vakuum entfernt, um restliche TFA zu entfernen. Das Rohprodukt wurde in MeOH (ca. 20 ml) unter Rückfluss erhitzt. Das Produkt wurde durch Zugabe von Et₂O (ca. 10 ml) ausgefällt. Die erste schwarze Fraktion wurde abfiltriert und verworfen. Die farblosen Kristalle der zweiten Fraktion wurden abfiltriert und im Vakuum getrocknet, um das Salz **87** (908 mg, 3.57 mmol, 79%) zu erhalten.

Smp.: 124°C (Lit.: 127°C).^[86]

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ = 3.21 (t, J = 5.7 Hz, 2 H), 3.87 (t, J = 5.9 Hz, 2 H), 6.94 (s, 2 H) ppm; die Protonen der Carbonsäure und der Aminofunktion sind nicht erkennbar.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ = 36.29 (CH₂), 39.90 (CH₂), 135.81 (2 CH), 172.39 (2 C) ppm; das Trifluoracetat ist nicht erkennbar.

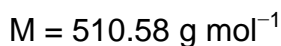
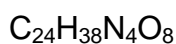
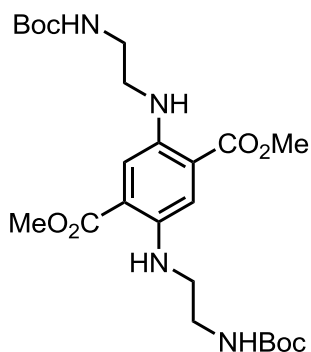
MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 141 (100) [M + H⁺ - C₂F₃O₂⁻].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 141.0664 (für C₆H₉N₂O₂),
gef. 141.0665 [M + H⁺ - C₂F₃O₂⁻].

IR (ATR): λ^{-1} = 3030 (m), 2927 (m), 2843 (m), 2742 (m), 2655 (w), 2549 (w), 1708 (vs), 1670 (vs), 1626 (m), 1536 (m), 1465 (w), 1440 (m), 1413 (s), 1395 (m), 1370 (m), 1331 (m), 1175 (vs), 1119 (vs), 1061 (m), 1041 (w), 1022 (m), 948 (w), 902 (w), 849 (m), 829 (vs), 799 (m), 719 (s), 697 (vs), 640 (w), 609 (w), 598 (w) cm⁻¹.

5.2.3.7 Synthese der Verbindung 89a und des Enamins 88a

5.2.3.7.1 2,5-Bis(2-*tert*-butoxycarbonylamino)ethylaminoterephthalsäure-dimethylester (89a)



Synthese eines Gemisches mit dem Enamin 88a: Eine Suspension aus dem Dimethylsuccinat **17b** (367 mg, 1.61 mmol), Boc-Ethylendiamin **47a** (1.03 g, 6.43 mmol) und Eisessig (0.8 ml) in Toluol (8 ml) wurde am Wasserabscheider unter Rückfluss für 16 h erhitzt. Das Gemisch wurde anschließend mit EE (75 ml) versetzt und mit ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (75 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit EE (75 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet. Nach der Filtration und dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 2 : 1, + 1 Vol% NEt_3). Es wurde ein Produktgemisch aus dem Enamin **88a** und dem oxidierten Produkt **89a** in verschiedenen Verhältnissen (z. B. 662 mg, 1 : 2) erhalten.

Oxidation des Gemisches: Eine Lösung aus dem Produktgemisch (662 mg) in getrocknetem DMF (10 ml) wurde mit katalytisch HCl in *i*PrOH (0.5 ml, 5–6 mol l^{-1}) versetzt. Die Apparatur wurde mit einem Blasenähler ausgestattet. Während synthetische Luft eingeleitet wurde, wurde die Lösung bei 50°C für 5 h gerührt. Dann wurde die Gaszufuhr gestoppt und die Reaktionsmischung auf 23°C abgekühlt. Es wurde ges. wässrige NaHCO_3 -Lösung (50 ml) und EE (50 ml) zugesetzt. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase noch einmal mit EE (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert

(SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1 → 2 : 1, + 1 Vol% NEt₃) und es wurde die Titelverbindung **89a** (581 mg, 1.14 mmol, 71%) als roter Farbstoff erhalten.

R_f(SiO₂, Hexan/EE = 2 : 1) = 0.25.

Smp.: 154°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.43 (s, 18 H), 3.32 (t, *J* = 5.6 Hz, 4 H), 3.38–3.42 (m, 4 H), 3.89 (s, 6 H), 4.80 (br. s, 2 H), 6.90 (br. s, 2 H), 7.33 (s, 2 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 28.32 (6 CH₃), 39.88 (2 CH₂), 43.61 (2 CH₂), 51.85 (2 CH₃), 79.28 (2 C), 114.15 (2 CH), 116.91 (2 C), 140.99 (2 C), 155.96 (2 C), 168.16 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): *m/z* (%) = 235 (100), 511 (53) [M + H⁺], 533 (30) [M + Na⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 511.2768 (für C₂₄H₃₈N₄O₈),
gef. 511.2779 [M + H⁺].

Elementaranalyse: ber. C 56.46%, H 7.50%, N 10.97%;
gef. C 56.18%, H 7.81%, N 11.17%.

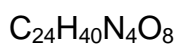
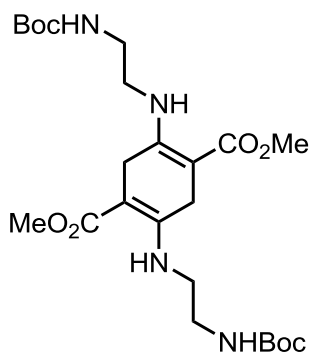
IR (ATR): λ⁻¹ = 3362 (s), 2968 (m), 2948 (m), 1687 (vs), 1522 (vs), 1467 (m), 1439 (m), 1420 (m), 1392 (w), 1366 (w), 1332 (w), 1291 (m), 1272 (m), 1207 (vs), 1160 (vs), 1119 (vs), 1092 (s), 1037 (m), 998 (m), 969 (m), 907 (w), 872 (m), 849 (w), 788 (s), 759 (w) cm⁻¹.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (ε) = 469 (5607 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 569 nm (λ_{irr} = 469 nm).

5.2.3.7.2 2,5-Bis(2-*tert*-butoxycarbonylamino)ethylamino-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäuredimethylester (88a) (nicht isoliert)

Das Enamin **88a** wurde als Gemisch in der oben genannten Reaktion erhalten.



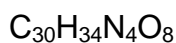
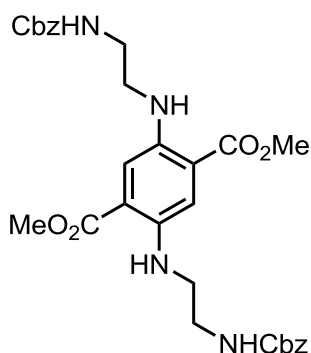
$$M = 512.60 \text{ g mol}^{-1}$$

$$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 2 : 1) = 0.13.$$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.45$ (s, 18 H), 3.20 (s, 4 H), 3.27–3.35 (m, 4 H), 3.36–3.42 (m, 4 H), 3.69 (s, 6 H), 4.80 (s, 2 H), 8.92–8.97 (m, 2 H) ppm.

5.2.3.8 Synthese der Cbz-geschützten Verbindung 89b und des Enamins 88b

5.2.3.8.1 2,5-Bis(2-benzyloxycarbonylamino)ethylaminoterephthalsäuredimethylester (89b)



$$M = 578.61 \text{ g mol}^{-1}$$

Synthese des Gemisches mit dem Enamin 88b: Eine Suspension aus dem Dimethylsuccinat **17b** (216 mg, 0.947 mmol), Cbz-Ethylendiamin **47b** (734 mg, 3.78 mmol) und Eisessig (0.3 ml) in Toluol (3 ml) wurde am Wasserabscheider unter Rückfluss für 24 h erhitzt. Das Gemisch wurde anschließend mit EE (50 ml) versetzt und mit ges. wässriger NaHCO₃-Lösung (50 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (2 x 50 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Nach der Filtration und dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2 → MeOH → CH₂Cl₂, + 1 Vol% NEt₃). Es wurde ein Produktgemisch aus dem Enamin **88b** und dem oxidierten Produkt **89b** in verschiedenen Verhältnissen erhalten (z. B. 331 mg, 1 : 1).

Oxidation des Gemisches aus 88b und 89b: Eine Lösung aus dem Produktgemisch (331 mg) in getrocknetem DMF (10 ml) wurde mit HCl in *i*PrOH (0.5 ml, 5–6 mol l⁻¹) versetzt. Die Apparatur wurde mit einem Blasenähler ausgestattet. Während synthetische Luft eingeleitet wurde, wurde die Lösung bei 50°C für 6 h gerührt. Die Gaszufuhr wurde beendet und die Reaktion auf 23°C abgekühlt. Es wurde ges. wässrige NaHCO₃-Lösung (50 ml) und EE (50 ml) zugesetzt. Nach Phasentrennung wurde die organische Phase über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 1 : 1 → 1 : 2 → EE, + 1 Vol% NEt₃) und die Titelverbindung **89b** (190 mg, 0.328 mmol, 35%) wurde als roter Feststoff erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 1) = 0.37.$

Smp.: 161°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.35$ (t, $J = 5.3$ Hz, 4 H), 3.47 (q, $J = 5.5$ Hz, 4 H), 3.87 (s, 6 H), 5.07 (br. s, 2 H), 5.12 (s, 4 H), 6.92 (br. s, 2 H), 7.28–7.37 (m, 12 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 40.62$ (2 CH₂), 43.64 (2 CH₂), 51.91 (2 CH₃), 66.80 (2 CH₂), 114.42 (2 CH), 117.25 (2 C), 128.04 (4 CH), 128.07 (2 CH), 128.50 (4 CH), 136.59 (2 CH), 141.08 (2 C), 156.51 (2 C), 168.19 (2 C).

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 77 (17), 79 (25), 91 (90), 108 (30), 205 (8), 217 (18), 249 (20), 274 (93), 306 (23), 362 (15), 414 (65), 428 (16), 470 (38), 578 (100) [M^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 578.2365 (für $C_{30}H_{34}N_4O_8$),
gef. 578.2377 [M^+].

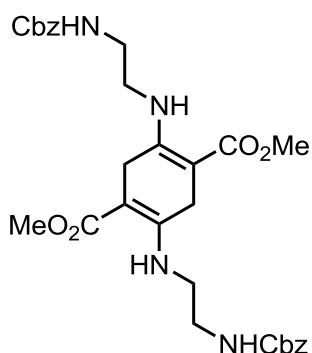
IR (ATR): λ^{-1} = 3359 (s), 3063 (w), 3037 (w), 2953 (m), 2887 (w), 2856 (w), 1682 (vs), 1524 (vs), 1468 (m), 1455 (m), 1435 (s), 1358 (w), 1332 (w), 1289 (m), 1259 (s), 1207 (vs), 1142 (s), 1118 (vs), 1092 (s), 1014 (s), 963 (m), 905 (m), 869 (w), 789 (s), 773 (m), 751 (s), 695 (vs) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 469 (3971 $mol^{-1} dm^3 cm^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): λ_{em} = 565 nm (λ_{irr} = 469 nm).

5.2.3.8.2 2,5-Bis(2-benzyloxycarbonylamino)ethylamino-1,4-cyclohexadien-1,4-dicarbonsäuredimethylester (**88b**) (nicht isoliert)

Das Enamin **88b** wurde als Gemisch in der oben genannten Reaktion erhalten.



$C_{30}H_{36}N_4O_8$

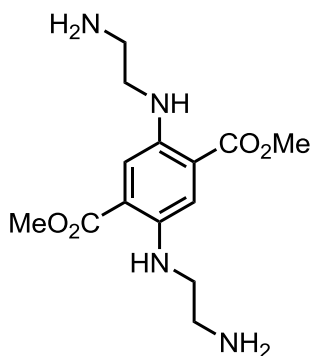
$M = 580.63 g mol^{-1}$

$R_f(SiO_2, Hexan/EE = 1 : 1) = 0.24$.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.19 (s, 4 H), 3.37–3.40 (m, 8 H), 3.68 (s, 6 H), 5.05–5.15 (m, 6 H), 7.28–7.38 (m, 10 H), 8.91–8.96 (m, 2 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 26.77$ (2 CH_2), 41.68 (2 CH_2), 42.40 (2 CH_2), 50.55 (2 CH_3), 66.87 (2 CH_2), 84.99 (2 CH_2), 128.05 (4 CH), 128.10 (2 CH), 128.49 (4 CH), 136.46 (2 C), 156.40 (2 C), 157.63 (2 C), 169.66 (2 C) ppm.

5.2.3.9 2,5-Bis(2-aminoethylamino)terephthalsäuredimethylester (93)



$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$

$M = 310.35 \text{ g mol}^{-1}$

Das zweifach Cbz-geschützte Derivat **89b** (127 mg, 0.219 mmol) wurde mit MeOH (4 ml) und Pd-C (20 mg, 10 Massen-% Pd) versetzt, entgast und die Apparatur mit einem H_2 -Ballon versehen. Nach 21 h Rühren bei 23°C wurde der Katalysator über eine Fritte (Porengröße 4) abfiltriert und der Rückstand mit MeOH (50 ml) gewaschen. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde, wurde das Diamin **93** (57 mg, 0.18 mmol, 84%) als nahezu reiner roter Feststoff isoliert.

Smp.: 159°C.

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.48$ (br. s, 4 H), 2.98 (t, $J = 6.0$ Hz, 4 H), 3.25 (t, $J = 6.0$ Hz, 4 H), 3.87 (s, 6 H), 6.97 (br. s, 2 H), 7.31 (s, 2 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 41.40$ (2 CH_2), 46.77 (2 CH_2), 51.81 (2 CH_3), 114.34 (2 CH), 116.99 (2 C), 141.37 (2 C), 168.35 (2 C) ppm.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 91 (33), 131 (18), 131 (19), 187 (57), 205 (39), 248 (60), 280 (100), 310 (85) [H^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 310.1641 (für C₁₄H₂₂N₄O₄),
gef. 310.1650 [M⁺].

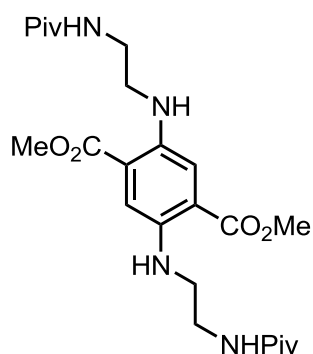
IR (ATR): λ^{-1} = 3382 (m), 3313 (w), 2947 (m), 2911 (m), 2841 (m), 1678 (s), 1526 (s), 1475 (m), 1435 (s), 1417 (m), 1331 (w), 1206 (vs), 1105 (vs), 966 (m), 894 (m), 868 (m), 812 (m), 783 (vs), 730 (m), 700 (w), 600 (w) cm⁻¹.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} (ϵ) = 478 nm (2965 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹).

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 571 nm (λ_{irr} = 478 nm).

5.2.3.10 Umsetzung der Boc-Verbindung **89a** mit TFA und Pivalinsäurechlorid

Eine Lösung des zweifach Boc-geschützten Derivats **89a** (94 mg, 0.18 mmol) in CH₂Cl₂ (2 ml) wurde mit TFA (0.5 ml) versetzt. Nach 30 min Rühren bei 23°C wurden die flüchtigen Bestandteile durch eine azeotrope Destillation (Schleppmittel: Toluol/EE = 1 : 1, 2 x 8 ml) entfernt. Der Rückstand wurde in trockenem DMF (2 ml) gelöst und mit NEt₃ (82 mg, 0.810 mmol) versetzt. Eine Lösung aus Pivalinsäurechlorid (20 mg, 0.16 mmol) in DMF (1 ml) wurde zur Lösung getropft und die Mischung wurde 16 h bei 23°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde chromatographiert (SiO₂, + 1 Vol% NEt₃, EE → EE/MeOH = 10 : 1 → MeOH). Es wurde die Verbindung **89c** (31 mg, 65 μ mol, 35%) in der ersten Fraktion [R_f (SiO₂, EE) = 0.43] und das Salz **97** (59 mg, 110 μ mol, 60%) in der zweiten Fraktion [R_f (SiO₂, MeOH) = 0.03] beide, als orange Feststoffe erhalten.

5.2.3.10.1 2,5-Bis(2-pivalamidoethylamino)terephthalsäuredimethylester (89c) $C_{24}H_{38}N_4O_6$ $M = 478.58 \text{ g mol}^{-1}$ $R_f(\text{SiO}_2, \text{EE}) = 0.43.$ **Smp.:** 209°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.18$ (s, 18 H), 3.36 (t, $J = 5.7$ Hz, 4 H), 3.51 (q, $J = 5.6$ Hz, 4 H), 3.59 (s, 6 H), 5.92–5.97 (m, 2 H), 6.94 (br. s, 2 H), 7.36 (s, 2 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 27.54$ (6 CH_3), 38.72 (2 CH), 39.00 (2 CH_2), 43.25 (2 CH_2), 52.00 (2 CH_3), 114.63 (2 CH), 117.22 (2 C), 141.19 (2 C), 168.23 (2 C), 179.78 (2 C) ppm.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 480 (100) [$\text{M} + \text{H}^+$].

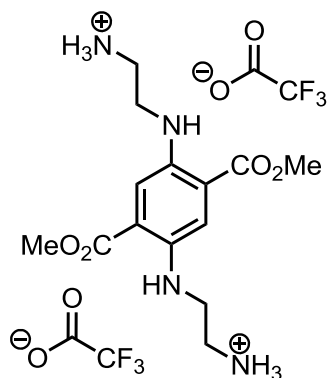
HR-MS (CI, Isobutan): ber. 479.2870 (für $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_6$),
gef. 479.2870 [$\text{M} + \text{H}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3371$ (m), 3311 (m), 3067 (w), 2947 (m), 2849 (w), 1694 (s), 1635 (s), 1530 (vs), 1474 (w), 1442 (m), 1417 (m), 1398 (w), 1360 (w), 1333 (w), 1306 (w), 1190 (vs), 1153 (m), 1118 (s), 1093 (m), 972 (w), 955 (w), 897 (w), 864 (w), 799 (w), 786 (m), 689 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 469 nm (3121 $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$).

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): $\lambda_{em} = 567 \text{ nm}$ ($\lambda_{irr} = 469 \text{ nm}$).

5.2.3.10.2 [2,5-Bis(2-ammonioethylamino)terephthalsäuredimethylester]tri-fluoracetat (97)



C₁₈H₂₄F₆N₄O₈

M = 536.40 g mol⁻¹

R_f(SiO₂, MeOH) = 0.03.

Smp: 236°C.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): $\delta = 3.00\text{--}3.08$ (m, 4 H), $3.40\text{--}3.46$ (m, 4 H), 3.85 (s, 6 H), 7.25 (s, 2 H), 7.80–8.10 (m, 6 H) ppm; die Protonen des sekundären Amins sind nicht sichtbar.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CD₃OD): $\delta = 37.68$ (2 CH₂), 40.38 (2 CH₂), 51.96 (2 CH₃), 113.63 (2 CH), 117.21 (2 CH), 139.63 (2 CH), 167.13 (2 C) ppm; die Trifluoracetatgruppen sind nicht erkennbar.

MS (CI, Isobutan): m/z (%) = 85 (45), 310 (77) [M⁺ – 2 H⁺ – 2 CF₃CO₂⁻], 311 (100) [M – H⁺ – 2 CF₃CO₂⁻].

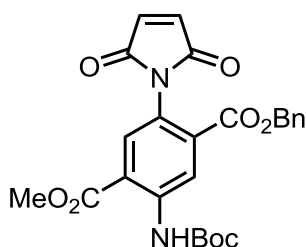
HR-MS (CI, Isobutan): ber. 311.1714 (für C₁₄H₂₃N₄O₄),
gef. 311.1722 [M – H⁺ – 2 CF₃CO₂⁻].

IR (ATR): λ^{-1} = 3399 (m), 3012 (m), 2896 (m), 1668 (vs), 1537 (s), 1506 (s), 1440 (m), 1421 (m), 1392 (w), 1365 (m), 1340 (m), 1297 (w), 1228 (s), 1193 (vs), 1174 (vs), 1109 (vs), 1030 (m), 996 (m), 968 (w), 881 (w), 858 (w), 833 (m), 791 (s), 755 (m), 720 (s), 601 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (H₂O): λ_{max} (ϵ) = 442 nm (3518 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$).

Fluoreszenz (H₂O): λ_{em} = 570 nm (λ_{irr} = 442 nm).

5.2.3.11 5-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (**44a**)



$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8$

$M = 480.47 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Suspension aus dem Diaminoterephthalsäure-Derivat **32a** (285 mg, 712 μmol), Maleinsäureanhydrid (104 mg, 1.06 mmol) und MTBE (2.8 ml) wurde bei 50°C für 20 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und NaOAc (30 mg, 0.366 mmol) und Ac₂O (11 ml) wurden zugefügt. Die Lösung wurde unter Rückfluss 40 min erhitzt. Anschließend wurde die Lösung auf Eiswasser (12 g) gegossen und die wässrige Phase wurde mit EE (2 x 15 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1). Es wurde die Verbindung **44a** als ein farbloser Feststoff (186 mg, 387 μmol , 54%) isoliert.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.37$.

Smp.: 152°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.55 (s, 9 H), 3.84 (s, 3 H), 5.36 (s, 2 H), 6.86 (s, 2 H), 7.35–7.45 (m, 5 H), 7.93 (s, 1 H), 9.20 (s, 1 H), 10.33 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ = 28.67 (3 CH_3), 53.25 (CH_3), 68.11 (CH_2), 81.88 (C), 117.79 (C), 122.23 (CH), 123.21 (C), 128.96 (2 CH), 129.04 (CH), 129.21 (2 CH), 133.29 (CH), 133.40 (C), 135.02 (2 CH), 135.25 (C), 143.47 (C), 152.81 (C), 164.98 (C), 166.75 (C), 170.28 (2 C) ppm.

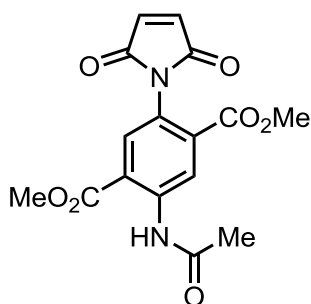
MS (ESI, neg. Modus): m/z (%) = 479 (100) [$\text{M} - \text{H}^+$].

HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 479.1454 (für $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_8$),
gef. 479.1455 [$\text{M} - \text{H}^+$].

IR (ATR): λ^{-1} = 3312 (m), 3091 (m), 2980 (w), 1717 (vs), 1699 (vs), 1578 (m), 1519 (s), 1452 (w), 1432 (m), 1417 (s), 1393 (w), 1370 (w), 1319 (m), 1298 (w), 1232 (vs), 1146 (vs), 1153 (vs), 1062 (m), 1041 (w), 1081 (m), 978 (w), 944 (w), 921 (w), 897 (w), 861 (w), 828 (m), 808 (w), 788 (m), 726 (m), 709 (m), 687 (s) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 338 nm (9750 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$).

5.2.3.12 2-Acetamido-5-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)terephthalsäure-1,4-dimethylester (45)



$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$

$M = 346.29 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Suspension aus dem Diaminoterephthalsäure-Derivat **18b** (196 mg, 874 μmol), Maleinsäureanhydrid (86 mg, 0.88 mmol) und MTBE (3 ml) wurde bei 23°C für 6 d gerührt und anschließend 22 h bei 50°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im

Vakuum entfernt und NaOAc (36 mg, 0.44 mmol) und Ac₂O (5 ml) wurden zugefügt. Die Lösung wurde unter Rückfluss 20 min erhitzt. Anschließend wurde die Lösung auf Eiswasser (10 g) gegossen und die wässrige Phase wurde mit EE (2 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO₂, CH₂Cl₂/EE = 10 : 1). Das Rohprodukt wurde mit Hexan/EE (30 ml, 2 : 1) versetzt und die Mischung wurde auf 50°C für 5 min erwärmt und heiß filtriert. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet, um Verbindung **45** (116 mg, 335 µmol, 38%) als farblosen Feststoff zu erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EE} = 10 : 1) = 0.55.$

Smp.: 227°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 2.23 (s, 3 H), 3.80 (s, 3 H), 3.90 (s, 3 H), 6.83 (s, 2 H), 7.91 (s, 1 H), 9.39 (s, 1 H), 10.10 (s, 1 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 25.40 (CH₃), 52.75 (CH₃), 52.83 (CH₃), 117.97 (C), 123.21 (CH), 124.64 (C), 132.64 (CH), 133.00 (C), 134.58 (2 CH), 141.88 (C), 164.45 (C), 167.14 (C), 169.09 (C), 169.61 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 347 (15) [M + H⁺], 369 (100) [M + Na⁺], 715 (15) [2 M + Na⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 369.0699 (für C₁₆H₁₄N₂NaO₇),
gef. 369.0698 [M + Na⁺].

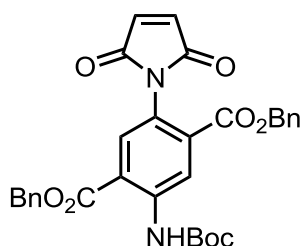
Elementaranalyse: ber. C 55.49%, H 4.07%, N 8.09%,
gef. C 55.05%, H 4.09%, N 8.11%.

IR (ATR): λ⁻¹ = 3295 (w), 3261 (m), 3127 (w), 3091 (m), 3008 (w), 2957 (w), 1705 (vs), 1693 (vs), 1615 (w), 1582 (m), 1519 (m), 1440 (m), 1412 (s), 1371 (m), 1319 (m), 1300 (m), 1267 (s), 1242 (vs), 1196 (s), 1153 (s), 1110 (vs), 1056 (m), 1041 (m),

1015 (m), 960 (m), 915 (m), 840 (s), 805 (m), 790 (m), 751 (m), 714 (m), 689 (s), 660 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 333 (4185 $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) nm.

5.2.3.13 2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)terephthalsäuredibenzylester (**44b**)



$\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$

$M = 556.56 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Mischung von dem Diaminoterephthalsäure-Derivat **32d** (250 mg, 0.525 mmol), Maleinsäureanhydrid (77 mg, 0.79 mmol) und MTBE (6 ml) wurde bei 50°C für 18 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und NaOAc (21 mg, 0.26 mmol) und Ac_2O (8 ml) wurden zugefügt. Die Lösung wurde unter Rückfluss für 20 min erhitzt. Anschließend wurde die Lösung auf Eiswasser (10 g) gegossen und die wässrige Phase wurde mit EE (2 x 25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde zweifach chromatographisch gereinigt (SiO_2 , Hexan/EE = 4 : 1 und Hexan/EE = 6 : 1 \rightarrow 5 : 1 \rightarrow 4 : 1). Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet, um Verbindung **44b** (159 mg, 0.286 mmol, 54%) als farblosen Feststoff zu erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 6 : 1) = 0.18$.

Smp.: 114°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.45 (s, 9 H), 5.15 (s, 2 H), 5.26 (s, 2 H), 6.49 (s, 2 H), 7.21–7.34 (m, 10 H), 7.81 (s, 1 H), 9.16 (s, 1 H), 10.17 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): δ = 28.20 (3 CH_3), 67.47 (CH_2), 67.60 (CH_2), 81.38 (C), 117.38 (C), 122.28 (CH), 123.10 (C), 128.38 (CH), 128.45 (2 CH), 128.55 (2 CH), 128.56 (2 CH), 128.67 (CH), 128.73 (2 CH), 132.80 (CH), 133.43 (C), 134.01 (2 CH), 134.85 (C), 135.13 (C), 142.98 (C), 152.22 (C), 163.99 (C), 166.26 (C), 169.63 (2 C) ppm.

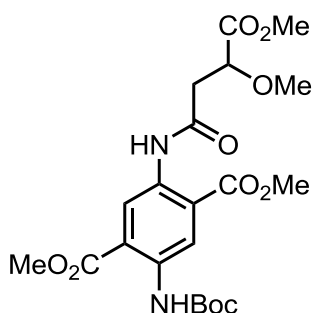
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 456 (100) [$\text{M}^+ - \text{Boc}$], 501 (10), 556 (10) [M^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 556.1846 (für $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$),
gef. 556.1852 [M^+].

IR (ATR): λ^{-1} = 3318 (w), 3066 (w), 3036 (w), 2980 (w), 1716 (vs), 1578 (m), 1519 (m), 1444 (w), 1420 (m), 1393 (w), 1369 (m), 1315 (m), 1225 (vs), 1148 (vs), 1105 (s), 1061 (w), 1039 (w), 1017 (m), 961 (m), 908 (s), 825 (m), 791 (w), 728 (vs), 691 (vs), 648 (w), 625 (w) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 339 (533 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

5.2.3.14 2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-5-(3-methyl-3-methoxycarbonyl-4-butanamid)terephthalsäuredimethylester (**80**)



$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{10}$

$M = 468.45 \text{ g mol}^{-1}$

Das Maleimid **44a** (31 mg, 65 μmol), K_2CO_3 (18 mg, 0.13 mmol) und MeOH wurden 16 h bei 23°C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit H_2O (30 ml) und MTBE (30 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es wurde die Titelverbindung **80** (24 mg, 51 μmol , 76%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 217°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.53 (s, 9 H), 2.77 (dd, J = 8.5 Hz, J = 16.4 Hz, 1 H), 2.97 (dd, J = 3.7 Hz, J = 16.4 Hz, 1 H), 3.61 (s, 3 H), 3.72 (s, 3 H), 3.94 (s, 3 H), 3.97 (s, 3 H), 4.24 (dd, J = 3.7 Hz, J = 8.5 Hz, 1 H), 9.12 (s, 1 H), 9.39 (s, 1 H), 10.08 (s, 1 H), 11.69 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ = 28.30 (3 CH_3), 37.71 (CH_2), 51.96 (CH_3), 52.75 (CH_3), 52.92 (CH_3), 59.67 (CH_3), 79.25 (CH), 80.86 (C), 118.80 (C), 120.85 (C), 121.00 (CH), 122.55 (CH), 133.30 (C), 137.01 (C), 152.79 (C), 167.46 (C), 167.72 (C), 170.31 (C), 170.99 (C) ppm.

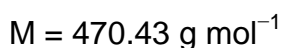
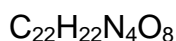
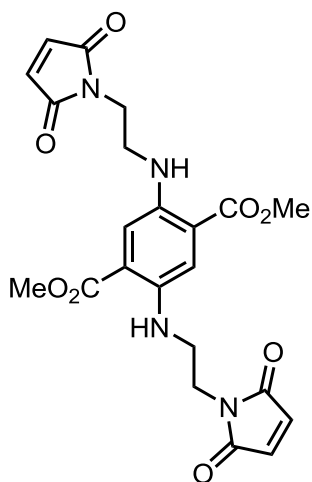
MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 491 (100) [$\text{M} + \text{Na}^+$], 959 (18) [$2\text{M} + \text{Na}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 491.1642 (für $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{NaO}_{10}$),
gef. 491.1628 [$\text{M} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): λ^{-1} = 3306 (m), 3244 (w), 2974 (m), 2840 (w), 1739 (m), 1731 (m), 1697 (m), 1682 (m), 1538 (vs), 1434 (m), 1408 (m), 1395 (m), 1369 (m), 1323 (w), 1238 (vs), 1216 (vs), 1120 (s), 1104 (vs), 1069 (s), 1019 (m), 1002 (m), 957 (m), 940 (w), 916 (w), 897 (w), 862 (m), 808 (m), 790 (m), 752 (m), 692 (m), 667 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 373 (5659 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): λ_{em} = 443 nm (λ_{irr} = 373 nm).

5.2.3.15 2,5-Bis[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethylamino]-terephthalsäuredimethylester (46)

Eine Mischung des Biscarbamats **89a** (894 mg, 1.75 mmol) und TFA (5 ml) wurde bei 23°C für 30 min gerührt. Es wurde Eisessig (3 ml) und Maleinsäureanhydrid (687 mg, 7.01 mmol) zugefügt und das Gemisch für 3 d bei 95°C erwärmt. Nachdem das Reaktionsgemisch mit EE (75 ml) und ges. wässriger NaHCO₃-Lösung (75 ml) verdünnt wurde, wurde die wässrige Phase mit EE (2 x 75 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2 → EE) um das Bis-Maleimid **46** (262 mg, 0.577, 32%) als oranger Feststoff zu erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 2) = 0.41$.

Smp.: 223°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3.40–3.65 (m, 4 H), 3.80 (t, J = 6.2 Hz, 4 H), 3.90 (s, 6 H), 6.69 (s, 4 H), 6.89 (s br., 2 H), 7.34 (s, 2 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 37.11$ (2 CH_2), 41.94 (2 CH_2), 51.96 (2 CH_3), 114.20 (2 CH), 117.26 (2 C), 134.15 (4 CH), 140.67 (2 C), 168.08 (2 C), 170.62 (4 C) ppm.

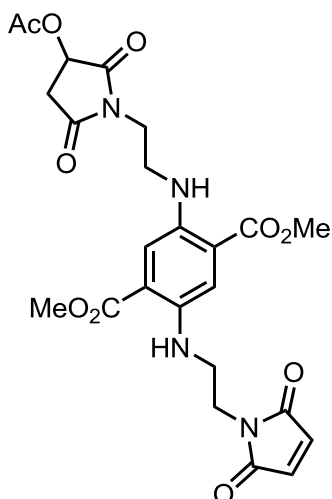
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 44 (100), 84 (23), 195 (21), 232 (17), 260 (18), 285 (58), 317 (27), 328 (20), 427 (10), 470 (20) [M^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 470.1438 (für $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_8$),
gef. 470.1429 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3354$ (m), 3118 (w), 2953 (w), 2922 (m), 2849 (m), 1690 (vs), 1592 (w), 1533 (m), 1467 (w), 1439 (m), 1406 (m), 1360 (m), 1333 (m), 1258 (m), 1209 (vs), 1158 (m), 1110 (vs), 1089 (m), 1057 (m), 998 (m), 962 (m), 912 (m), 874 (w), 853 (w), 834 (vs), 787 (s), 721 (w), 696 (vs) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 462 (2935 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

5.2.3.16 2-[2-(3-Acetoxy-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)ethylamino]-5-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethylamino]terephthalsäuredimethylester (94)



$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{10}$

$M = 530.48 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Lösung aus dem Dicarbammat **89a** (410 mg, 0.803 mmol) in CH_2Cl_2 (4 ml) wurde mit TFA (5 ml) versetzt und bei 23°C für 30 min gerührt. Es wurde Eisessig (3 ml) und Maleinsäureanhydrid (315 mg, 3.21 mmol) zugefügt und das Gemisch wurde für 2 d bei 90°C erwärmt. Nachdem das Reaktionsgemisch mit EE (90 ml) und H_2O (40 ml) verdünnt wurde, wurde die wässrige Phase mit H_2O (40 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 2 : 1 \rightarrow 1 : 1 \rightarrow 1 : 2) und es wurde das Bis-Maleimid **46** (56 mg, 0.12 mmol, 15%) in der ersten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 2) = 0.43$] und das Acetoxy-Produkt **94** (40 mg, 75 μmol , 9%) in der zweiten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 2) = 0.33$], beide als orange Feststoffe erhalten.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 2) = 0.29$.

Smp.: 128°C .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.14$ (s, 3 H), 2.64 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 18.2$ Hz, 1 H), 3.15 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 18.3$ Hz, 1 H), 3.40–3.51 (m, 4 H), 3.78–3.82 (m, 2 H), 3.82–3.86 (m, 2 H), 3.90 (s, 3 H), 3.91 (s, 3 H), 5.43 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 6.70 (s, 2 H), 7.39 (s, 1 H), 7.40 (s, 1 H) ppm; die beiden Protonen der NH-Gruppe sind nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3 , 330 K): $\delta = 20.38$ (CH_3), 35.72 (CH_2), 37.23 (CH_2), 38.47 (CH_2), 41.11 (CH_2), 42.02 (CH_2), 51.91 (2 CH_3), 67.50 (CH), 114.46 (CH), 114.60 (CH), 117.46 (C), 117.74 (C), 134.16 (2 CH), 140.50 (C), 140.93 (C), 168.02 (C), 168.11 (C), 169.64 (C), 170.54 (2 C), 173.05 (C), 173.31 (C) ppm.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 328 (58), 388 (35), 470 (18), 530 (100) [M^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 530.1649 (für $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{10}$),
gef. 530.1641 [M^+].

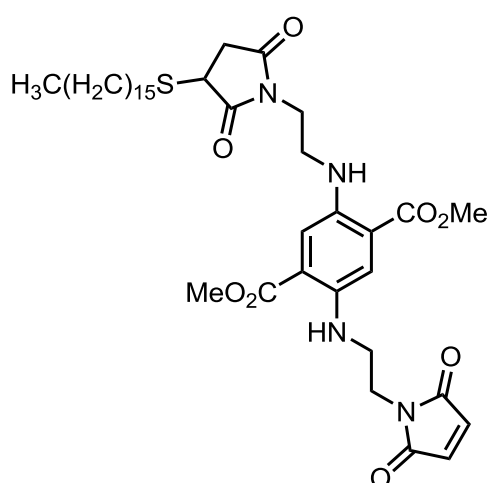
IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3355$ (w), 3111 (w), 2953 (w), 2848 (w), 1693 (vs), 1601 (w), 1533 (m), 1438 (m), 1405 (m), 1358 (m), 1335 (m), 1213 (vs), 1110 (s), 1040 (m), 997 (w), 964 (w), 913 (m), 873 (w), 830 (m), 788 (m), 728 (m), 696 (s), 648 (w) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 446$ ($6710 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) nm.

5.2.3.17 Umsetzung des Bismaleimids **46** mit Hexadecanthiol

Unter Eiskühlung wurde zu einer Lösung aus dem Bismaleimid **46** (114 mg, 0.242 mmol) und NEt_3 (100 mg, 0.988 mmol) in CH_2Cl_2 (4 ml) eine Lösung aus 1-Hexadecanthiol (8.1 ml, 0.015 mol l^{-1} in CH_2Cl_2) getropft. Das Gemisch wurde bei einer Temperatur von 23°C für 24 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/ CH_2Cl_2 /EE = 2 : 1 : 1 \rightarrow 1 : 1 : 1 \rightarrow CH_2Cl_2 /EE = 1 : 1) um das Bis-Thioladdukt **99** (18 mg, 18 μmol , 8%) in der ersten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan}/\text{EE} = 1 : 1) = 0.53$], das Mono-Thioladdukt **98** (20 mg, 27 μmol , 11%) in der zweiten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan}/\text{EE} = 1 : 1) = 0.30$] und das Edukt **46** (22 mg, 47 μmol , 19%) in der dritten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan}/\text{EE} = 1 : 2) = 0.11$], alle als rote Feststoffe zu erhalten.

5.2.3.17.1 2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethylamino]-5-{2-[3-(hexadecylthio)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl]ethylamino}terephthalsäuredimethylester (**98**)



$\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$

$M = 728.94 \text{ g mol}^{-1}$

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 1) = 0.30$.

Smp.: 186°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.88$ (t, $J = 6.9$ Hz, 3 H), 1.22–1.30 (m, 23 H), 1.32–1.39 (m, 2 H), 1.54–1.66 (m, 3 H), 2.52 (dd, $J = 3.6$ Hz, $J = 18.6$ Hz, 1 H), 2.71 (ddd, $J = 6.8$ Hz, $J = 8.3$ Hz, $J = 15.0$ Hz, 1 H), 2.85 (ddd, $J = 6.3$ Hz, $J = 8.7$ Hz, $J = 14.4$ Hz, 1 H), 3.14 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 18.8$ Hz, 1 H), 3.43 (q, $J = 6.5$ Hz, 4 H), 3.72 (dd, $J = 3.6$ Hz, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 3.79–3.83 (m, 4 H), 3.90 (s, 3 H), 3.91 (s, 3 H), 6.70 (s, 2 H), 7.37 (s, 1 H), 7.42 (s, 1 H) ppm; die beiden Protonen der NH-Gruppen sind nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 14.05$ (CH_3), 22.67 (CH_2), 28.83 (CH_2), 29.10 (CH_2), 29.20 (CH_2), 29.35 (CH_2), 29.50 (CH_2), 29.59 (2 CH_2), 29.66 (2 CH_2), 29.69 (4 CH_2), 31.77 (CH_2), 31.93 (CH_2), 36.27 (CH_2), 37.11 (CH_2), 38.23 (CH_2), 39.33 (CH), 42.11 (CH_2), 51.98 (CH_3), 52.03 (CH_3), 114.52 (2 CH), 117.39 (2 C), 134.18 (2 CH), 141.05 (2 C), 168.00 (2 C), 170.56 (2 C), 174.76 (C), 176.59 (C) ppm.

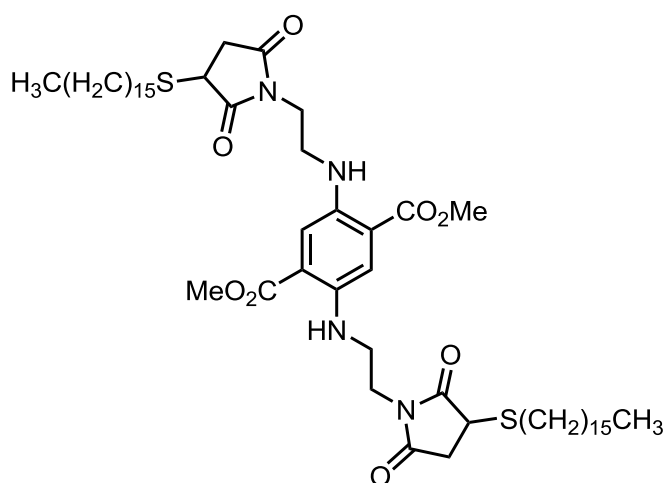
MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 328 (17), 728 (100) [M^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 728.3819 (für $\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$),
gef. 728.3806 [M^+].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3357$ (w), 2919 (m), 2850 (m), 1692 (vs), 1537 (m), 1439 (m), 1404 (m), 1360 (m), 1336 (m), 1220 (vs), 1112 (vs), 963 (w), 911 (w), 874 (w), 838 (m), 788 (s), 721 (w), 697 (s) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 468 (2541 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

5.2.3.17.2 2,5-Bis[2-(3-hexadecylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)ethylamino]-terephthalsäuredimethylester (99)



$C_{54}H_{90}N_4O_8S_2$

$M = 987.44 \text{ g mol}^{-1}$

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 1) = 0.53.$

Smp.: 165°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 328 K): $\delta = 0.89$ (t, $J = 6.8$ Hz, 6 H), 1.24–1.33 (m, 48 H), 1.33–1.45 (m, 4 H), 1.56–1.69 (m, 4 H), 2.51 (dd, $J = 3.6$ Hz, $J = 18.5$ Hz, 2 H), 2.70–2.76 (m, 2 H), 2.85 (ddd, $J = 6.3$ Hz, $J = 8.06$ Hz, $J = 18.7$ Hz, 2 H), 3.09 (dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 18.5$ Hz, 2 H), 3.45 (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H), 3.68 (dd, $J = 3.7$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 2 H), 3.77–3.82 (m, 4 H), 3.91 (s, 6 H), 7.37 (s, 2 H) ppm; die beiden NH-Gruppen sind nicht erkennbar.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3 , 328 K): $\delta = 14.00$ (2 CH_3), 22.67 (2 CH_2), 28.83 (2 CH_2), 29.15 (2 CH_2), 29.20 (2 CH_2), 29.34 (2 CH_2), 29.50 (2 CH_2), 29.59 (2 CH_2), 29.69 (4 CH_2), 29.69 (6 CH_2), 31.80 (2 CH_2), 31.93 (2 CH_2), 36.29 (2 CH_2), 38.39 (2 CH_2), 39.39 (2 CH), 42.22 (2 CH_2), 51.90 (2 CH_3), 114.53 (2 CH), 117.60 (2 C), 140.75 (2 C), 168.07 (2 C), 174.62 (2 C), 176.57 (2 C) ppm; zwei CH_2 -Gruppen sind nicht erkennbar.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 196 (28), 987 (100) [M^+].

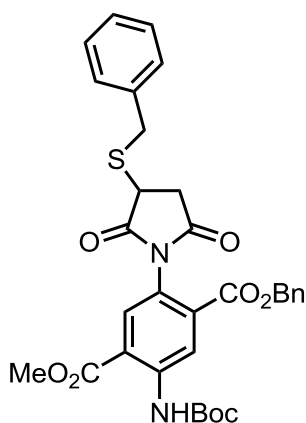
HR-MS (EI, 70 eV): ber. 986.6200 (für C₅₄H₉₀N₄O₈S₂),
gef. 986.6209 [M⁺].

IR (ATR): λ^{-1} = 3372 (w), 2917 (s), 2850 (m), 1769 (w), 1692 (vs), 1539 (m), 1467 (m), 1439 (m), 1401 (m), 1342 (m), 1220 (s), 1203 (s), 1116 (s), 949 (w), 873 (w), 788 (m), 720 (w), 694 (w) cm⁻¹.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} (ϵ) = 467 (4191 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 561 nm (λ_{irr} = 467 nm).

5.2.3.18 2-(3-Benzylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)terephthalsäure-1-benzylester-4-methylester (**82**)



C₃₂H₃₂N₂O₈S

M = 604.67 g mol⁻¹

Eine Lösung aus dem Maleimid **44a** (25 mg, 52 μ mol), NEt₃ (30 mg, 0.30 mmol) und BnSH (23 mg, 0.19 mmol) in 0.5 ml CH₂Cl₂ wurde für 1 h bei 23°C gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1). Die Titelverbindung **82** (22 mg, 0.19 mmol, 70%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

R_f(SiO₂, Hexan/EE = 3 : 1) = 0.37.

Smp.: 96°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 320 K): $\delta = 1.56$ (s, 9 H), 2.55–2.65 (m, 1 H), 3.15 (dd, $J = 18.6$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 3.70–3.75 (m, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.93 (d, $J = 12.2$ Hz, 1 H), 4.23 (d, $J = 13.6$ Hz, 1 H), 5.38 (s, 2 H), 7.25–7.45 (m, 10 H), 7.89 (s, 1 H), 9.21 (s, 1 H), 10.28 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.25$ (3 CH_3), 36.00 (CH_2), 36.13 (CH_2), 38.23 (CH), 52.81 (CH_3), 67.69 (CH_2), 81.47 (C), 117.42 (C), 121.92 (CH), 123.72 (C), 127.55 (CH), 128.56 (2 CH), 128.71 (2 CH), 128.75 (CH), 128.78 (2 CH), 129.21 (2 CH), 131.99 (CH), 134.87 (C), 136.81 (C), 143.27 (C), 152.35 (C), 164.39 (C), 166.28 (C), 174.10 (C), 174.14 (C) ppm; ein quartäres Kohlenstoffatom ist nicht erkennbar.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 527 (35) [$\text{M} - \text{Boc} + \text{Na}^+$], 571 (92), 627 (100) [$\text{M} + \text{Na}^+$].

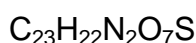
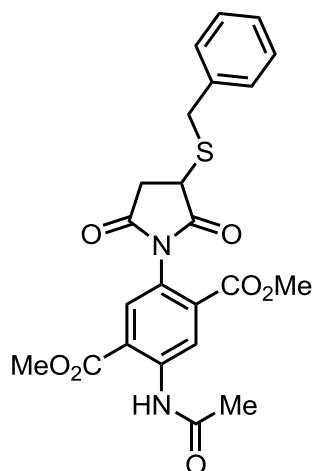
HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 627.1777 (für $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{NaO}_8\text{S}$),
gef. 627.1776 [$\text{M} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3312$ (m), 2978 (w), 1785 (w), 1714 (vs), 1578 (m), 1520 (m), 1454 (w), 1437 (w), 1415 (m), 1383 (w), 1369 (w), 1316 (w), 1232 (vs), 1148 (vs), 1103 (vs), 1072 (m), 1042 (w), 1016 (m), 964 (w), 911 (w), 867 (w), 810 (w), 790 (w), 731 (m), 697 (s), 648 (w), 619 (w) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 338 (4881 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 396$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 338$ nm).

5.2.3.19 2-Acetamido-5-(3-benzylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)terephthalsäuredimethylester (**83**)



$$M = 470.50 \text{ g mol}^{-1}$$

Eine Lösung aus dem Maleimid **45** (72 mg, 0.21 mmol), NEt_3 (57 mg, 0.56 mmol) und BnSH (96 mg, 0.77 mmol) in 2 ml CH_2Cl_2 wurde für 1.5 d bei 23°C gerührt. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde, wurde das Rohprodukt chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 1 : 1 \rightarrow EE/MeOH = 10 : 1 \rightarrow CH_2Cl_2). Des Weiteren wurde der isolierte Feststoff mit einer Lösung aus Hexan/EE/ CH_2Cl_2 (10 ml, 10 : 1 : 1) versetzt und auf 50°C für 30 min erwärmt. Der Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Das Additionsprodukt **83** (83 mg, 0.18 mmol, 84%) wurde als farbloser, fluoreszierender Feststoff isoliert.

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 1 : 1) = 0.27$.

Smp.: 241°C .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 330 K): $\delta = 2.27$ (s, 3 H), 2.58–2.67 (m, 1 H), 3.18 (dd, $J = 18.6$ Hz, $J = 9.3$ Hz, 1 H), 3.74 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.93–3.97 (m, 1 H), 3.97 (s, 3 H), 4.25 (d, $J = 13.5$ Hz, 1 H), 7.28–7.30 (m, 1 H), 7.33–7.36 (m, 2 H), 7.41–7.44 (m, 2 H), 7.90 (s, 1 H), 9.45 (s, 1 H), 10.10 (s, 1 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3 , 330 K): $\delta = 25.32$ (CH_3), 36.18 (CH_2), 36.30 (CH_2), 38.56 (CH), 52.71 (CH_3), 52.78 (CH_3), 118.14 (C), 123.45 (CH), 125.77 (C), 127.60 (CH), 128.76 (2 CH), 129.25 (2 CH), 131.88 (CH), 132.65 (C), 136.92 (C), 142.28 (C), 164.34 (C), 167.21 (C), 168.98 (C), 173.77 (C), 175.77 (C) ppm.

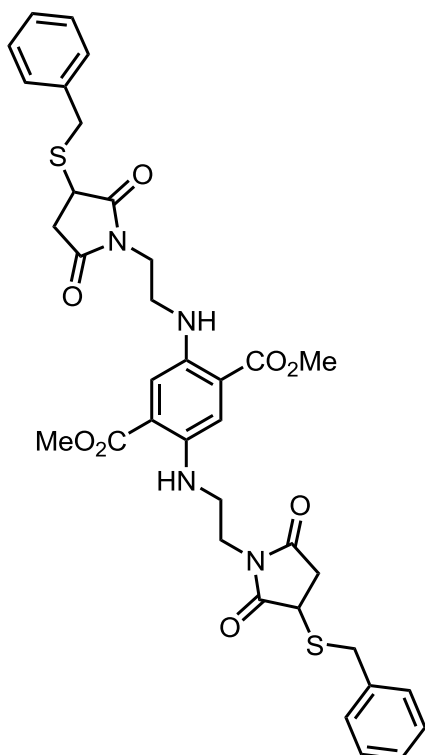
MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 369 (100), 407 (70), 451 (40), 493 (95) [$\text{M} + \text{Na}^+$].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 493.1045 [$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{NaO}_7\text{S}$],
gef. 493.1056 [$\text{M} + \text{Na}^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3332$ (m), 3136 (w), 2959 (w), 17.82 (w), 1709 (vs), 1692 (vs), 1619 (w), 1582 (m), 1529 (m), 1452 (m), 1434 (m), 1412 (s), 1368 (w), 1316 (m), 1299 (m), 1265 (vs), 1239 (vs), 1190 (vs), 1173 (s), 1103 (vs), 1072 (m), 1031 (m), 957 (m), 915 (m), 885 (w), 837 (w), 807 (w), 792 (m), 763 (s), 724 (m), 704 (s), 678 (s), 660 (s) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 333 (3371 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{em}} = 391$ nm ($\lambda_{\text{irr}} = 333$ nm).

5.2.3.20 2,5-Bis[2-(3-benzylthio-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)ethylamino]-terephthalsäuredimethylester (100) $C_{36}H_{38}N_4O_8S_2$ $M = 718.84 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Lösung aus dem Maleimid **46** (25 mg, 53 μmol) in CH_2Cl_2 (2 ml) wurde mit NEt_3 (19 mg, 0.19 mmol) und BnSH (32 mg, 0.26 mmol) versetzt und für 1 d bei 23°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 2 : 1 \rightarrow 1 : 1 \rightarrow EE). Es wurde Verbindung **100** (33 mg, 46 μmol , 87%) als roter Feststoff erhalten.

 $R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 2 : 1) = 0.09.$ **Smp.:** 70°C .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 330 K): $\delta = 2.43$ (dd, $J = 18.6 \text{ Hz}$, $J = 3.9 \text{ Hz}$, 2 H), 2.96 (dd, $J = 18.6 \text{ Hz}$, $J = 9.2 \text{ Hz}$, 2 H), 3.47 (t, $J = 6.1 \text{ Hz}$, 4 H), 3.54 (dd, $J = 9.2 \text{ Hz}$, $J = 3.9 \text{ Hz}$, 2 H), 3.77–3.84 (m, 4 H), 3.88 (d, $J = 13.4 \text{ Hz}$, 2 H), 3.91 (s, 6 H), 4.19 (d, $J =$

13.5 Hz, 2 H), 6.87 (br. s, 2 H), 7.27–7.30 (m, 2 H), 7.31–7.36 (m, 4 H), 7.37–7.41 (m, 6 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3 , 330 K): δ = 35.66 (2 CH_2), 36.00 (2 CH_2), 37.95 (2 CH), 38.41 (2 CH_2), 41.13 (2 CH_2), 51.87 (2 CH_3), 114.43 (2 CH), 117.56 (2 C), 127.53 (2 CH), 128.69 (4 CH), 129.16 (4 CH), 136.94 (2 C), 140.79 (2 C), 168.07 (2 C), 174.48 (2 C), 176.52 (2 C) ppm.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 91 (35), 452 (18), 718 (100) [M^+].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 718.2131 [$\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2$],
gef. 718.2148 [M^+].

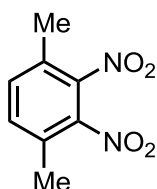
IR (ATR): λ^{-1} = 3373 (m), 3060 (w), 3030 (w), 2951 (m), 2859 (w), 1177 (w), 1698 (vs), 1604 (w), 1578 (w), 1532 (s), 1497 (w), 1456 (m), 1437 (m), 1420 (m), 1397 (s), 1359 (m), 1336 (m), 1216 (vs), 1175 (s), 1116 (s), 1074 (m), 1031 (w), 991 (w), 920 (w), 874 (w) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (ϵ) = 467 (3426 $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): λ_{em} = 559 nm (λ_{irr} = 467 nm).

5.2.4 Synthese von 2,3-Diaminoterephthalaten

5.2.4.1 2,3-Dinitro-*p*-xylol (104a)^[63]



$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$

$M = 196.16 \text{ g mol}^{-1}$

Eine Mischung von HNO_3 (65%ig, 3.83 g, 39.5 mmol) und H_2SO_4 (3.4 ml) wurde unter Eiskühlung zu einer Lösung von *p*-Xylol (2.00 g, 18.8 mmol) in konz. H_2SO_4 (30

ml) getropft. Das Gemisch wurde langsam auf 23°C erwärmt und für 24 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser (ca. 75 g) gegossen und mit H₂O (200 ml) verdünnt. Der Feststoff wurde mittels einer Glasfritte (Porengröße 3) abgesaugt, mit H₂O (2 x 30 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde chromatographiert (SiO₂, Hexan/EE = 6 : 1). Es wurde in der ersten Fraktion ein Regioisomerengemisch aus **104b** und **104c** (1.24 g) erhalten, welches sich nicht trennen lies. In der zweiten Fraktion wurde das gewünschte Produkt **104a** (1.61 g, 8.23 mmol, 44%) als farbloser Feststoff erhalten

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 6 : 1) = 0.37$.

Smp.: 90°C (Lit. 92–93°C).^[63c]

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 2.43$ (s, 6 H), 7.39 (s, 2 H) ppm.

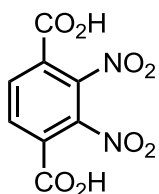
¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 17.91$ (2 CH₃), 130.65 (2 C), 133.87 (2 CH) ppm; zwei quartäre Kohlenstoffatome sind nicht erkennbar.

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 149 (100), 179 (95), 196 (45) [M⁺].

HR-MS (EI, 70 eV): ber. 196.0484 [C₈H₈N₂O₄],
gef. 196.0483 [M⁺].

Elementaranalyse: ber. C 48.98%, H 4.11%, N 14.28%;
gef. C 48.84%, H 4.27%, N 14.04%.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3081$ (w), 2998 (w), 2942 (w), 2887 (w), 1533 (vs), 1488 (s), 1464 (m), 1404 (m), 1395 (m), 1360 (vs), 1289 (m), 1269 (w), 1173 (w), 1151 (w), 1048 (m), 938 (w), 918 (w), 835 (s), 800 (vs), 773 (w), 712 (m) cm⁻¹.

5.2.4.2 2,3-Dinitroterephthalsäure (105)^[87]

$$M = 256.13 \text{ g mol}^{-1}$$

Eine Mischung von Dinitroxylol **104a** (2.55 mmol, 500 mg), Na_2CO_3 (2.55 mmol, 500 mg), KMnO_4 (25.5 mmol, 4.03 g), (*N*-Methyl-*N,N*-dioctyloctan-1-ammonium)chlorid (ca. 0.1 ml) und H_2O (15 ml) wurde unter Rückfluss für 4 h erhitzt. Anschließend wurde das ausgefallene MnO_2 über Kieselgur abfiltriert und mit warmen Wasser (75 ml) nach gewaschen. Das Filtrat wurde unter Eiskühlung mit Salzsäure (13 ml, 5 mol l^{-1} , pH < 3) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit EE (3 x 75 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Es wurde die Disäure **105** (226 mg, 0.882 mmol, 35%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: >180°C (langsame Zersetzung) [Lit.: 290°C (Zersetzung)].^[87]

¹H-NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 8.24$ (s, 2 H) ppm; die Protonen der beiden Carbonsäuregruppen sind in diesem Lösungsmittel nicht sichtbar.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.91$ (2 CH_3), 130.73 (2 C), 134.58 (2 CH), 164.18 (2 C) ppm.

MS (ESI, neg. Modus): m/z (%) = 210 (65) [$\text{M} - \text{H}^+ - \text{NO}_2$], 254 (100) [$\text{M} - \text{H}^+$].

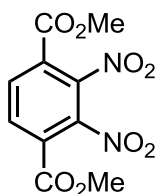
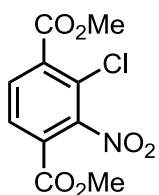
HR-MS (ESI, neg. Modus): ber. 254.9889 [$\text{C}_8\text{H}_3\text{N}_2\text{O}_8$],
gef. 254.9889 [$\text{M} - \text{H}^+$].

IR (ATR): λ^{-1} = 3200–2400 (br. m), 2904 (m), 2648 (m), 2553 (m), 1702 (vs), 1615 (w), 1556 (vs), 1488 (m), 1408 (m), 1353 (s), 1260 (vs), 1199 (m), 1129 (w), 899 (s), 873 (s), 806 (m), 760 (m), 733 (w), 692 (s), 640 (w), 617 (w), 594 (w), 559 (w) cm^{-1} .

5.2.4.3 Bildung des 2,3-Dinitroterephthalsäuredimethylesters **107a** und des Nebenproduktes **106**

Versuchsvorschrift 1: Die Dinitrodisäure **105** (253 mg, 0.988 mmol) wurde mit SOCl_2 (4 ml) und DMF (0.27 mmol, 20 mg) bei 50°C für 3 h erwärmt. Die flüchtigen Bestandteile wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde unter Eiskühlung mit MeOH (5 ml) versetzt und erneut auf 50°C erwärmt. Nach 1 h wurde das MeOH im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mit EE (50 ml) und ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (50 ml) versetzt. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EE (100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produktgemisch wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 3 : 1 \rightarrow 1 : 1), um das Nebenprodukt **106** (35 mg, 0.13 mmol, 13%) in der ersten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.32$] und die Verbindung **107a** (171 mg, 0.602 mmol, 61%) in der zweiten Fraktion [$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.15$] als farblose Feststoffe zu erhalten.

Versuchsvorschrift 2: Die Dinitrodisäure **105** (200 mg, 0.781 mmol) wurde mit MeOH (15 ml), konz. H_2SO_4 (0.6 ml) und MgSO_4 (300 mg) 3 d unter Rückfluss erhitzt. Es wurde weiteres MgSO_4 (200 mg) zugesetzt und das Gemisch wurde 5 h refluxiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mit ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (30 ml) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit EE (3 x 25 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet. Nach der Filtration wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde chromatographiert (SiO_2 , Hexan/EE = 1 : 2). Es wurde die Titelverbindung **107a** (188 mg, 0.662 mmol, 85%) als farbloser Feststoff erhalten.

5.2.4.3.1 2,3-Dinitroterephthalsäuredimethylester (107a)^[88] $C_{10}H_8N_2O_8$ $M = 284.18 \text{ g mol}^{-1}$ $R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.15.$ **Smp.:** 141°C (Lit.: 173–174°C).^[88]**¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.95$ (s, 6 H), 8.16 (s, 2 H) ppm.**¹³C{¹H}-NMR** (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 54.00$ (2 CH₃), 128.76 (2 C), 133.03 (2 CH), 142.63 (2 C), 161.82 (2 C) ppm.**MS** (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 307 (100) [M + Na⁺].**HR-MS** (ESI, pos. Modus): ber. 307.0178 [C₈H₃N₂NaO₈],
gef. 307.0177 [M + Na⁺].**IR** (ATR): $\lambda^{-1} = 3098$ (w), 2964 (w), 1733 (vs), 1619 (w), 1545 (vs), 1484 (m), 1435 (m), 1355 (m), 1286 (vs), 1202 (m), 1144 (w), 1118 (s), 972 (m), 892 (m), 867 (m), 819 (s), 774 (s), 754 (s), 727 (m), 701 (m), 628 (w) cm⁻¹.**5.2.4.3.2 2-Chlor-3-nitroterephthalsäuredimethylester (106)** $C_{10}H_8ClNO_6$ $M = 273.63 \text{ g mol}^{-1}$

$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.32.$

Smp.: 102°C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.94$ (s, 3 H), 3.99 (s, 3 H), 7.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 8.03 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H) ppm.

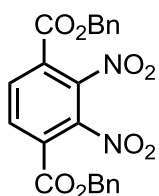
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 53.27$ (CH_3), 53.57 (CH_3), 125.90 (C), 126.15 (C), 129.26 (CH), 131.61 (CH), 135.82 (C), 150.07 (C), 161.86 (C), 163.98 (C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 296 (100) $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 295.9938 $[\text{C}_{10}\text{H}_8\text{ClNNaO}_6]$,
gef. 295.9929 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3104$ (w), 2960 (m), 2915 (w), 2850 (w), 1730 (vs), 1604 (w), 1548 (s), 1477 (m), 1450 (m), 1433 (m), 1397 (w), 1365 (m), 1282 (s), 1265 (vs), 1198 (s), 1172 (s), 1146 (m), 1104 (s), 995 (w), 971 (m), 893 (w), 866 (m), 854 (m), 818 (m), 799 (w), 764 (s), 754 (s), 740 (m), 706 (m), 610 (w) cm^{-1} .

5.2.4.4 2,3-Dinitroterephthalsäuredibenzylester (107b)



$\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$

$M = 436.37 \text{ g mol}^{-1}$

Die Disäure **105** (289 mg, 1.13 mmol) wurde mit MeOH (1 ml) und NEt_3 (240 mg, 2.37 mmol) für 1 h bei 23°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde mit THF (3 ml), BnBr (580 mg, 3.39 mmol) und TBAB (73 mg, 0.23 mmol) versetzt. Das Gemisch wurde 16 h bei 50°C erwärmt. Anschließend wurde mit EE auf 50 ml verdünnt und die organische Phase wurde mit ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (50 ml) gewaschen. Nach Phasentrennung wurde die wässrige

Phase noch mit EE (25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Hexan (20 ml) auf 50°C für 30 min erwärmt. Der verbleibende Feststoff wurde abgesaugt, mit Hexan (30 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es wurde die Titelverbindung **107b** (410 mg, 0.940 mmol, 83%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 112°C .

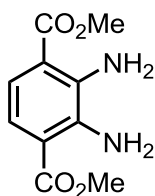
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 5.35 (s, 4 H), 7.32–7.40 (m, 10 H), 8.14 (s, 2 H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ = 69.36 (2 CH_2), 128.63 (2 C), 128.75 (4 CH), 128.80 (4 CH), 129.09 (2 CH), 133.03 (2 CH), 133.72 (2 C), 142.69 (2 C), 161.25 (2 C) ppm.

Elementaranalyse: ber. C 60.55%, H 3.70%, N 6.42%,
gef. C 60.11%, H 4.13%, N 6.39%.

IR (ATR): λ^{-1} = 3115 (w), 3094 (w), 3065 (w), 3037 (w), 2895 (w), 1726 (vs), 1651 (w), 1615 (w), 1551 (vs), 1497 (w), 1482 (m), 1455 (m), 1407 (w), 1379 (m), 1356 (s), 1276 (vs), 1210 (w), 1190 (s), 1118 (s), 1083 (m), 1027 (w), 994 (w), 948 (m), 937 (m), 912 (m), 885 (w), 866 (w), 847 (w), 804 (m), 784 (w), 770 (w), 747 (s), 670 (vs), 646 (w), 620 (w), 587 (m) cm^{-1} .

5.2.4.5 2,3-Diaminoterephthalsäuredimethylester (109a)



$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$

$M = 224.21 \text{ g mol}^{-1}$

Der Dinitrodiester **107a** (144 mg, 0.507 mmol) wurde mit Pd/C (40 mg, 10 Massen-% Pd) und MeOH (5 ml) versetzt. Nach der Entgasung und dem Aufsetzen eines H₂-Ballons (1 atm) wurde das Gemisch 16 h bei 23°C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Katalysator wurde durch Filtration mit Kieselgur entfernt. Der Filtrerrückstand wurde noch mit CH₂Cl₂ (50 ml) gewaschen und das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt und getrocknet. Es wurde die Diaminoverbindung **109a** (71 mg, 0.32 mmol, 62%) als oranger Feststoff erhalten.

Smp.: 122°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3.89 (s, 6 H), 7.31 (s, 2 H) ppm; die vier Protonen der beiden Aminogruppen sind nicht erkennbar.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 51.88 (2 CH₃), 114.19 (2 C), 118.34 (2 CH), 140.84 (2 C), 168.60 (2 C) ppm.

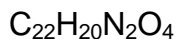
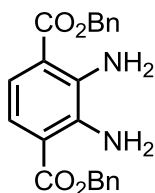
MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 225 (100) [M + H⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 225.0871 [C₁₀H₁₃N₂O₄],
gef. 225.0875 [M + H⁺].

IR (ATR): λ⁻¹ = 3444 (m), 3351 (m), 2957 (m), 2922 (m), 2854 (m), 1688 (s), 1621 (m), 1607 (m), 1528 (m), 1433 (s), 1374 (w), 1319 (m), 1273 (m), 1226 (vs), 1180 (s), 1102 (s), 1022 (m), 976 (m), 904 (w), 809 (m), 737 (s) cm⁻¹.

UV/Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (ε) = 385 (4137 mol⁻¹ dm³ cm⁻¹) nm.

Fluoreszenz (CH₂Cl₂): λ_{em} = 463 nm (λ_{irr} = 385 nm).

5.2.4.6 2,3-Diaminoterephthalsäuredibenzylester (109b)

$$M = 376.41 \text{ g mol}^{-1}$$

Der Dinitrodiester **107b** (45 mg, 0.10 mmol) wurde mit einem Pt/Fe-Katalysator (CF 105XR/W 5% Pt + 1% Fe) der Firma *Evonik* und EE (3 ml) versetzt und entgast. Ein H₂-Ballon (1 atm) wurde auf die Apparatur gesetzt. Das Gemisch wurde bei 70°C für 20 h erwärmt. Der Katalysator wurde über Kieselgur abfiltriert und der Rückstand wurde mit CH₂Cl₂ (20 ml) gewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt und anschließend erneut mit CH₂Cl₂ verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger NaHCO₃-Lösung und H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Titelverbindung **109b** (24 mg, 64 µmol, 64%) wurde als oranger Feststoff erhalten.

$$R_f(\text{SiO}_2, \text{Hexan/EE} = 3 : 1) = 0.48.$$

Smp.: 102°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 5.35 (s, 4 H), 5.59 (br. s, 4 H), 7.34–7.40 (m, 8 H), 7.43–7.44 (m, 2 H), 7.31 (s, 2 H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 66.42 (2 CH₂), 114.24 (2 C), 118.45 (2 CH), 127.98 (4 CH), 128.22 (2 CH), 128.61 (4 CH), 136.02 (2 C), 141.02 (2 C), 167.92 (2 C) ppm.

MS (ESI, pos. Modus): m/z (%) = 279 (80), 308 (10) [M – Bn + Na⁺], 377 (47), 399 (100) [M + Na⁺].

HR-MS (ESI, pos. Modus): ber. 399.1321 [$C_{22}H_{20}N_2NaO_4$],
gef. 399.1324 [$M + Na^+$].

IR (ATR): $\lambda^{-1} = 3410$ (m), 3323 (m), 3038 (w), 2955 (w), 1683 (s), 1587 (m), 1528 (m), 1499 (m), 1478 (w), 1454 (m), 1383 (m), 1302 (m), 1277 (s), 1226 (vs), 1112 (vs), 1006 (s), 966 (s), 850 (w), 793 (m), 737 (vs), 694 (s), 665 (m) cm^{-1} .

UV/Vis (CH_2Cl_2): $\lambda_{max} (\epsilon) = 391$ ($3802 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) nm.

Fluoreszenz (CH_2Cl_2): $\lambda_{em} = 471$ nm ($\lambda_{irr} = 391$ nm).

6. Literaturverzeichnis

- [1] a) S. M. Marino, V. N. Gladyshev, *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 4419–4425; b) L. E. S. Netto, M. A. de Oliveira, G. Monteiro, A. P. D. Demasi, J. R. R. Cussiol, K. F. Discola, M. Demasi, G. M. Silva, S. V. Alves, V. G. Faria, B. B. Horta, *Comp. Biochem. Physiol., C: Comp. Toxicol. Pharmacol.* **2007**, *146*, 180–193.
- [2] a) L. El-Khariy, S. E. Vollset, H. Refsum, P. M. Ueland, *Am. J. Clin. Nutr.* **2003**, *77*, 467–472; b) M. H. Stipanuk, *Annu. Rev. Nutr.* **2004**, *24*, 539–577.
- [3] J. Selhub, *Annu. Rev. Nutr.* **1999**, *19*, 217–246.
- [4] a) H. Refsum, P. M. Ueland, O. Nygard, S. E. Vollset, *Annu. Rev. Medicine* **1998**, *49*, 31–62; b) S. Seshadri, A. Beiser, J. Selhub, P. F. Jaques, I. H. Rosenberg, R. B. D'Agostino, P. W. F. Wilson, P. A. Wolf, *N. Engl. J. Med.* **2002**, *346*, 476–483.
- [5] a) T. P. Dalton, H. G. Shertzer, A. Puga, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, *39*, 67–101; b) I. A. Cotgreave, P. Moldéus, S. Orrenius, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1988**, *28*, 189–212.
- [6] G. L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.* **1959**, *82*, 70–77.
- [7] X. Chen, Y. Zhou, X. Peng, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2120–2135.
- [8] J. K. Weltman, R. P. Szaro, A. R. Frackelton, R. M. Dowben, *J. Biolog. Chem.* **1973**, *248*, 3173–3177.
- [9] C.-W. Wu, L. R. Yarbrough, F. Y. H. Wu, *Biochemistry* **1976**, *15*, 2864–2868.
- [10] Y. Kanaoka, M. Machida, K. Ando, T. Sekine, *Biochim. Biophys. Acta.* **1970**, *207*, 269–277.
- [11] a) T. O. Sippel, *J. Histochem. Cytochem.* **1981**, *29*, 314–316; b) T. O. Sippel, *J. Histochem. Cytochem.* **1981**, *29*, 1377–1381.
- [12] a) K. K.-W. Lo, W.-K. Hui, D. C.-M. Ng, K.-K. Cheung, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 40–46; b) J. Weh, A. Duerkop, O. S. Wolfbeis, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 122–128.
- [13] P. Ge, P. R. Selvin, *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 870–876.
- [14] U. Beyer, M. Krüger, P. Schumacher, C. Unger, F. Kratz, *Monatsh. für Chem.* **1997**, *128*, 91–102.
- [15] P. Y. Reddy, S. Kondo, S. Fujita, T. Toru, *Synthesis* **1998**, 999–1002.

- [16] a) X. Zhang, X. Ren, Q.-H. Xu, K. P. Loh, Z.-K. Chen, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1257–1260; b) L. Peng, G. Zhang, D. Zhang, J. Xiang, R. Zhao, Y. Wang, D. Zhu, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4014–4017; c) H. S. Jung, K. C. Ko, G.-H. Kim, A.-R. Lee, Y.-C. Na, C. Kang, J. Y. Lee, J. S. Kim, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1498–1501; d) S.-Y. Lim, S. Lee, S. B. Park, H.-J. Kim, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3902–3904; e) X.-D. Jiang, J. Zhang, X. Shao, W. Zhao, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 1966–1968.
- [17] S. Girouard, M.-H. Houle, A. Grandbois, J. W. Keillor, S. W. Michnick, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 559–566.
- [18] J. Guy, K. Caron, S. Dufresne, S. W. Michnick, W. G. Skene, J. W. Keillor, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11969–11977.
- [19] T. Matsumoto, Y. Urano, T. Shoda, H. Kojima, T. Nagano, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3375–3377.
- [20] H. Y. Song, M. H. Ngai, Z. Y. Song, P. A. MacAry, J. Hobley, M. J. Lear, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3400–3406.
- [21] A. Baeyer, *Chem. Ber.* **1886**, *19*, 428–433.
- [22] H. Kauffmann, L. Weissel, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1912**, *393*, 1–29.
- [23] H. Liebermann, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1914**, *404*, 272–321.
- [24] S. S. Labana, L. L. Labana, *Chem. Rev.* **1967**, *67*, 1–18.
- [25] W. Herbst, K. Hunger, *Industrial Organic Pigments*, 3. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, 452–472.
- [26] E. M. Gross, J. D. Anderson, A. F. Slaterbeck, S. Thayumanavan, S. Barlow, Y. Zhang, S. R. Marder, H. K. Hall, M. F. Nabor, J.-F. Wang, E. A. Mash, N. R. Armstrong, R. M. Wightman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4972–4979.
- [27] Y. Zhang, P. Starynowicz, J. Christoffers, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 3488–3495.
- [28] C. Li, M. Liu, N. G. Pschirer, M. Baumgarten, K. Müllen, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6817–6855.
- [29] a) F. Balzer, H.-G. Rubahn, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *79*, 3860–3862; b) S. Yagai, S. Kubota, T. Iwashima, K. Kishikawa, T. Nakanishi, T. Karatsu, A. Kitamura, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 5246–5257; c) S. R. Bull, L. C. Palmer, N. J. Fry, M. A. Greenfield, B. W. Messmore, J. Meade, S. I. Stupp, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2742–2743.
- [30] H. Yanagi, S. Okamoto, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, *71*, 2563–2564.

- [31] R. Pflantz, J. Christoffers, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 2200–2209.
- [32] O. H. Weiergräber, I. I. Senin, E. Y. Zernii, V. A. Churumova, N. A. Kovaleva, A. A. Nazipova, S. E. Permyakov, E. A. Permyakov, P. P. Philippov, J. Granzin, K.-W. Koch, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 37594–37602;
- [33] T. Gensch, K. E. Komolov, I. I. Senin, P. P. Philippov, K.-W. Koch, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, *66*, 492–499.
- [34] F. Z. Dörwald, *Organic Synthesis on Solid Phase*, 2. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**, 288ff.
- [35] a) F. Z. Dörwald, *Organic Synthesis on Solid Phase*, 2. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**, 291f; b) G. B. Fields, *Methods in Enzymology: Vol. 289*, Academic Press, **1997**, 1–780.
- [36] P. G. M. Wuts, T. W. Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, 725ff.
- [37] P. G. M. Wuts, T. W. Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, 711ff.
- [38] M. Würdemann, „Studien zu neuen Fluoreszenzfarbstoffen“, *Bachelorarbeit*, Universität Oldenburg, **2009**.
- [39] R. Pflantz, „Synthese neuer Scaffolds für die Kombinatorische Chemie“, *Dissertation*, Universität Oldenburg, **2009**.
- [40] J. M. Achord, C. L. Hussey, *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 601–602.
- [41] J. M. Khurana, R. Arora, *Synthesis* **2009**, 1127–1130.
- [42] S. Niwayama, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5834–5836.
- [43] a) J. S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19–46; b) F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2091–2158.
- [44] E. Bayer, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 117–133.
- [45] L. F. Tietze, A. Steinmetz, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 682–683.
- [46] K. C. Nicolaou, J. Pastor, N. Winssinger, F. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5132–5133.
- [47] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595–598.
- [48] T. Tao, M. Lamkin, C. J. Scheiner, *Arch. Biochem. Biophys.* **1985**, *240*, 627–634.
- [49] N. Wache, C. Schröder, K.-W. Koch, J. Christoffers, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 993–998.

- [50] A. Mayer, S. Neuenhofer, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1097–1126.
- [51] a) C. A. Parker, W. T. Rees, *Analyst* **1960**, *85*, 587–600; b) J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3. Auflage, Springer, New York, **2006**, 54f; c) G. Weber, F. W. J. Teale, *Trans. Faraday Soc.* **1957**, *53*, 646–655; d) S. J. Wawilos, *Z. Physik* **1927**, *42*, 311–318.
- [52] I. I. Senin, K.-W. Koch, M. Akhtar. P. P. Philippov, *Adv. Exp. Med. Biol.* **2003**, *514*, 69–99.
- [53] N. Wache, A. Scholten, T. Klüner, K.-W. Koch, J. Christoffers, unveröffentlichte Ergebnisse, **2012**.
- [54] Z. Xu, J. C. DiCesare, P.W. Baures, *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 248–254.
- [55] F. Dolle, US 20050249662 A1, **2005**.
- [56] R. N. Ram, K. Varsha, *Synth. Commun.* **1991**, *21*, 121–126.
- [57] a) T. Glinka, O. Rodney, K. A. Bostian, D. M. Wallace, T. I. Higuchi, C. Chow, C. C. Mak, G. Hirst, B. Eastman, US 2010152098, **2010**; b) Y. Liu, T. M. Reinke, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 316–325.
- [58] D. J. Coleman, J. J. Naleway, US 2010233744 A1, **2010**.
- [59] a) S. P. Bruekelman, S. E. Leach, G. D. Meakins. M. D. Tirel, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1* **1984**, 2801–2807; b) J. E. Marcor, B. L. Chenard, R. J. Post, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7496–7498.
- [60] T. E. Jenkins, C. O. Husfeld, J. D. Seroogy, J. W. Wray, WO 2011031350 A1, **2010**.
- [61] H. Li, M.-A. Hao, L. Wang, W. Liang, K. Chen, *Org. Prep. Proced. Int.* **2009**, *41*, 301–307.
- [62] a) J. C. Sheehan, F. S. Guziec, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 3034–3040; b) S. V. Pansare, J. C. Vederas, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4804–4810.
- [63] a) E. Lellmann, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1885**, *228*, 250–153; b) L. Yang-Hong, Z. Tong-Lai, Z. Jian-Guo, G. Jin-Yu, Y. Kai-Bei, *Molecules* **2005**, *10*, 978–989; c) J. G. Smith, E. M. Levi, *J. Organometal. Chem.* **1972**, *36*, 215–226.
- [64] a) D. R. Reed, M. Hare, S. R. Kass, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10689–10696; b) J. Barry, G. Bram, G. Decodts, A. Loupy, C. Orange, A. Petit, J. Sansoulet, *Synthesis* **1985**, 40–45.
- [65] Z.-Q. Wu, X.-K. Jiang, S.-Z. Zhu, Z.-T. Li, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 229–232.

- [66] a) A. Agrawal, P. G. Tratnyek, *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30*, 153–160; b) C. L. Diedrich, D. Haase, J. Christoffers, *Synthesis* **2008**, 2199–2210; c) A. Aronov, U. K. Bandarage, K. Cottrell, R. Davies, E. Krueger, M. Ledeboer, B. Ledford, A. Le Tiran, Y. Liao, D. Messersmith, T. Wang, J. Xu, WO 2010096389 A1, **2010**.
- [67] a) R. Siles, J. F. Ackley, M. B. Hadimani, J. J. Hall, B. E. Mugabe, R. Guddneppanavar, K. A. Monk, J.-C. Chapuis, G. R. Pettit, D. J. Chaplin, K. Edvardsen, M. L. Trawick, C. M. Garner, K. G. Pinney, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 313–320; b) H. Hopff, A. Maggi, B. K. Manukian, *Helv. Chim. Acta* **1961**, *44*, 367–379.
- [68] J.-F. Eckert, G. Marck, O. Mueller, WO 2008145225 A2, **2008**.
- [69] U. Sharma, P. K. Verma, N. Kumar, V. Kumar, M. Bala, B. Singh, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 5903–5907.
- [70] J. H. Boyer, R. S. Buriks, *Org. Synth.* **1960**, *40*, 96; *Coll. Vol.* **1973**, *5*, 1067.
- [71] L. Yi, H. Li, L. Sun, L. Liu, C. Zhang, Z. Xi, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4094–4097.
- [72] a) B. E. Kornberg, S. S. Nikam, M. F. Rafferty, *J. Heterocyclic Chem.* **1999**, *36*, 1271–1277; b) A. Zall, D. Bensinger, B. Schmidt, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 1439–1447.
- [73] a) Y. Abraham, H. Salman, K. Suwinska, Y. Eichen, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 6087–6089; b) T. Fekner, J. Gallucci, M. K. Chan, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 223–236; c) D. Yang, D. Fokas, J. Li, L. Yu, C. M. Baldino, *Synthesis* **2005**, 47–56.
- [74] a) J. D. Cauwood, W. E. S. Turner, *J. Chem. Soc. Trans.* **1915**, *107*, 276–282; b) Y. Tachibana, T. Masuda, M. Funabashi, M. Kunioka, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 2760–2765; c) M. Colonna, C. Berti, M. Fiorini, E. Binassi, M. Mazzacurati, M. Vannini, S. Karanam, *Green Chem.* **2011**, *13*, 2543–2548.
- [75] a) W. Müller, DE 1251324 C2, **1967**; b) J. Krc, *Anal. Chem.* **1952**, *24*, 1070–1071.
- [76] A. A. Poeylout-Palena, S. A. Testero, E. G. Mata, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1565–1567.

- [77] a) T. Nishimura, K. Yamada, T. Takebe, S. Yokoshima, T. Fukuyama, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2601–2604; b) E. H. Volwiler, E. B. Vliet, *J. Am. Chem. Soc.* **1921**, *43*, 1672–1676.
- [78] a) C. M. Moorhoff, *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 2925–2936; b) A. B. Padias, H. K. Hall, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5417–5419.
- [79] a) Y. Zhang, J. Christoffers, *Synthesis* **2007**, 3061–3067; b) L. Hintermann, K. Suzuki, *Synthesis* **2008**, 2303–2306.
- [80] a) J. Li, Y. Sha, *Molecules* **2008**, *13*, 1111–1119; b) E. Juaristi, D. Quintana, B. Lamatsch, D. Seebach, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2553–2557.
- [81] B. C. Saunders, *J. Chem. Soc.* **1938**, 1397–1402.
- [82] a) A. Kolbe, H. R. Schütte, *J. Prakt. Chem.* **1981**, *323*, 311–318; b) H. Nagatomi, K. Ando, M. Kawasaki, B. Yasui, Y. Miki, S. Takemura, *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, *27*, 1021–1029.
- [83] J. P. Holland, V. Fisher, J. A. Hickin, J. M. Peach, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 48–58.
- [84] a) L. Huang, J. C. Quada, J. W. Lown, *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 21–33; b) S. J. Krivickas, E. Tamanini, M. H. Todd, M. Watkinson, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8280–8289.
- [85] K. Joutsiniemi, P. Leppälä, P. Vainiotalo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1998**, *12*, 231–238.
- [86] C. Antczak, B. Bauvois, C. Monneret, J.-C. Florent, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2843–2848.
- [87] C. Haeussermann, E. Martz, *Chem. Ber.* **1893**, *26*, 2982–2985.
- [88] P. Ruggli, W. Theilheimer, *Helv. Chim. Acta* **1941**, *24*, 899–912.

7. Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström
Ac	Acetyl
Ala	Alanin
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (IR)
ber.	berechnet
BMMB	Bismercaptopmethylbenzophenon
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
BODIPY	boron-dipyrrromethane
br.	breit (NMR, IR)
BSA	Bovine Serum Albumin
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CI	Chemische Ionisierung (MS)
Cys	Cystein
d	Dublett (NMR)
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer (NMR)
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DTT	Dithiothreitol
EA	Elementaranalyse
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EE	Essigsäureethylester
EGTA	ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid

EI	Elektronenstoß Ionisierung (MS)
eq	Äquivalent
ESI	Elektro-Spray Ionisierung (MS)
Et	Ethyl
Fmoc	(9-Fluorenylmethyl)oxycarbonyl
FRET	Förster-Resonanz-Energie-Transfer
FT	Fourier-Transformation
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
GSH	Glutathion (reduziert)
GSSG	Glutathion (oxidiert)
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)ethansulfonsäure
HMDS	Hexamethyldisilazan
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOMO	highest occupied molecular orbital
HR-MS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie
HSAB	hard and soft acids and bases
<i>i</i>	iso
ISC	inter-system-crossing
IR	Infrarot-Spektroskopie
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Kat.	Katalysator
kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
Lit.	Literatur
LM	Lösungsmittel
LUMO	lowest unoccupied molecular orbital
M	molare Masse
m	Multiplett (NMR), mittel (IR)
m/z	Masse/Ladung (MS)
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorptions-Ionisierung
Me	Methyl
MFH	Merrifield-Harz
MO	Molekülorbital

MTBE	<i>tert</i> -Butylmethylether
NADP ⁺	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
neg.	negativ
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	Kernresonanz Spektroskopie
NP	Nebenprodukt
Oct	Octyl
OLED	organic light emitting diode
<i>p</i>	para
PEG	Polyethylenglykol
PET	photoinduzierter Elektronen-Transfer
PG	Schutzgruppe
Ph	Phenyl
Piv	Pivaloyl
PMB	<i>p</i> -Methoxybenzyl
pos.	positiv
Pro	Prolin
PS	Polystyrol
Q	Quartett (NMR)
rel.	relativ
R _f	Laufstreckenverhältnis (DC)
ROS	reactive oxygen species
KPG	kerngezogenes Präzisions-Glasgerät
S	Singulett (NMR), stark (IR)
Smp.	Schmelzpunkt
Succ	Succinimid
synth.	synthetisch
t	Triplett (NMR), Zeit, tertiär
T	Temperatur
<i>tert</i>	tertiär
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran

TOF-MS	Flugzeitmassenspektrometrie
UV	Ultraviolett
vs	sehr stark (IR)
w	schwach (IR)
xs.	Überschuss
δ	chemische Verschiebung (NMR)
ε	Extinktionskoeffizient
λ	Wellenlänge
λ^{-1}	Wellenlängenzahl
λ_{abs}	Absorptionswellenlänge
λ_{em}	Emissionswellenlänge
λ_{irr}	Anregungswellenlänge
λ_{max}	maximale Absorption- oder Emissionswellenlänge
Φ	Quantenausbeute

8. Veröffentlichungen

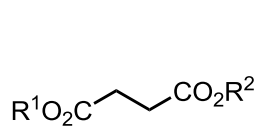
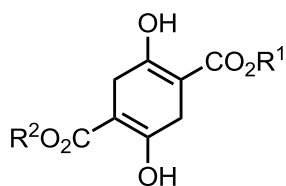
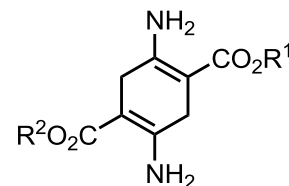
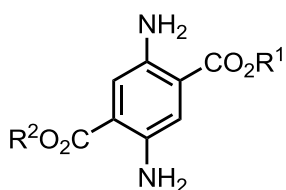
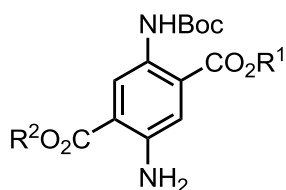
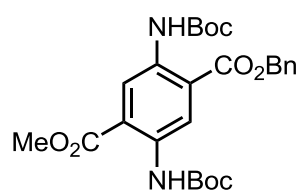
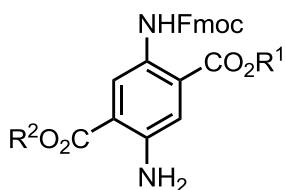
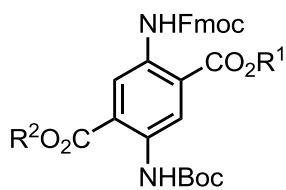
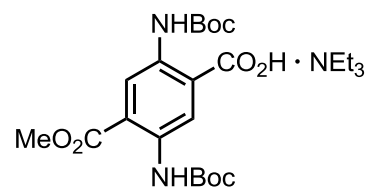
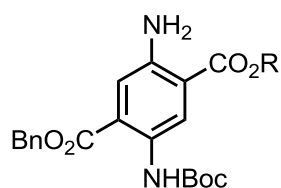
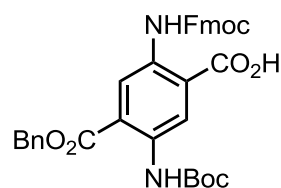
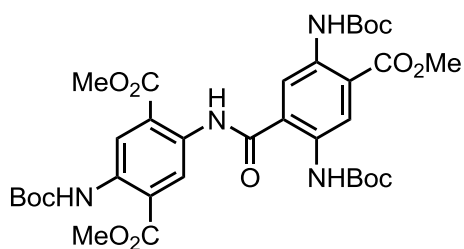
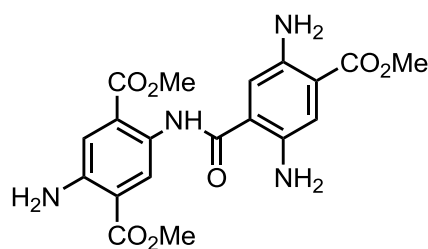
Im Rahmen dieser Dissertation sind folgenden Veröffentlichungen entstanden:

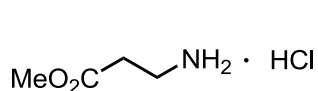
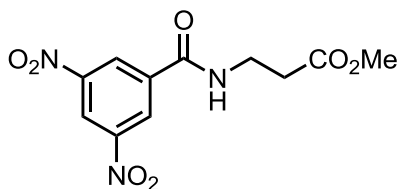
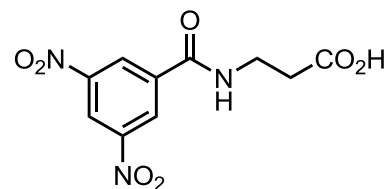
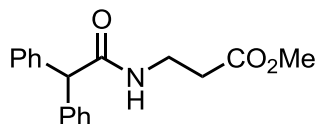
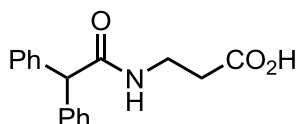
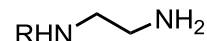
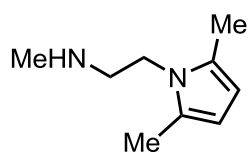
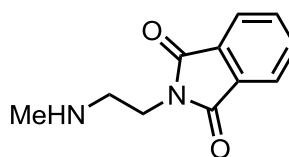
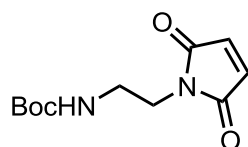
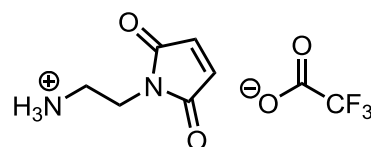
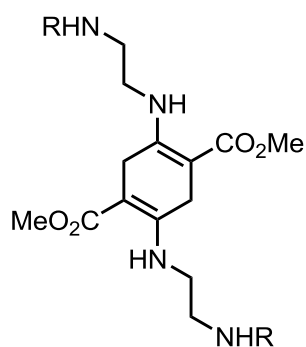
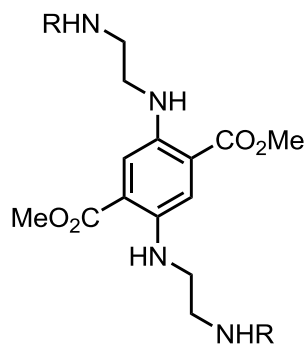
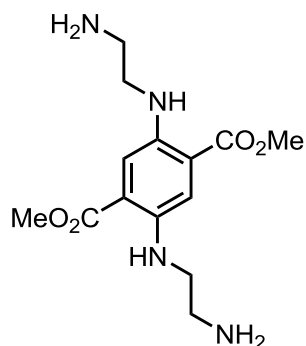
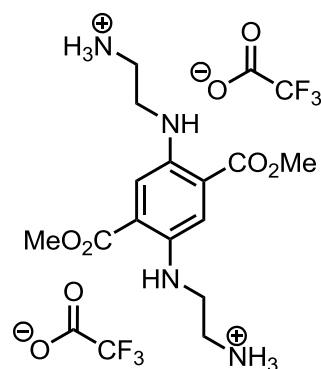
1. „Diaminoterephthalate Turn-On Fluorescence Probes for Thiols–Tagging of Recoverin and Tracking of its Conformational Change”
N. Wache, C. Schröder, K.-W. Koch, J. Christoffers, *ChemBioChem* **2012**, 13, 993–998.

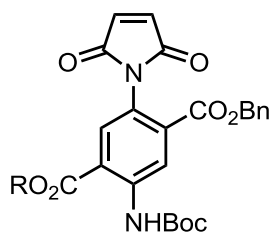
Poster

1. „*Synthesis of New Fluorescent Diaminoterephthalates*”
N. Wache, M. Würdemann, J. Christoffers, Wissenschaftsforum Chemie, 4.–7. September **2011**, Bremen.
2. „*Synthesis of New Turn-On Fluorescent Dyes – Terephthalate Derivatives for Staining Proteins*”
N. Wache, C. Schröder, K.-W. Koch, J. Christoffers, Innovationsforum und Kontaktbörse: Funktionelle Farbstoffe - Innovation in Medizin und Technik, 31. Mai–1. Juni **2012**, Bitterfeld-Wolfen.

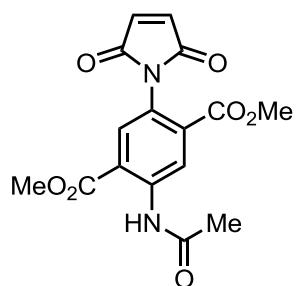
9. Liste der synthetisierten Verbindungen

**52a**, R¹ = R² = Me, S. 116**52b**, R¹ = R² = Bn, S. 117**52c**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 118**52d**, R¹ = Bn, R² = H, S. 119**17b**, R¹ = R² = Me, S. 120**17d**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 121**17e**, R¹ = R² = Bn, S. 122**23c**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 125**23b**, R¹ = R² = Bn, S. 127**18b**, R¹ = R² = Me, S. 123**18c**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 126**18d**, R¹ = R² = Bn, S. 129**32b**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 130**32a**, R¹ = Me, R² = Bn, S. 131**32c**, R¹ = R² = Me, S. 132**32d**, R¹ = R² = Bn, S. 134**56**, S. 135**55b**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 137**55a**, R¹ = Me, R² = Bn, S. 138**51a**, R¹ = Bn, R² = Me, S. 139**51b**, R¹ = Me, R² = Bn, S. 140**39b**, S. 141**57b**, R = H, S. 143**57c**, R = H · 1.3 NEt₃, S. 144**58b**, S. 145**37**, S. 147**61**, S. 148

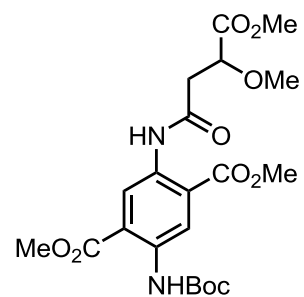
**75**, S. 150**72a**, S. 151**74a**, S. 152**72b**, S. 153**74b**, S. 154**47a**, R = Boc, S. 155
47b, R = Cbz, S. 156**90a**, S. 157**90d**, S. 158**86**, S. 159**87**, S. 160**88a**, R = Boc, S. 164
88b, R = Cbz, S. 166**89a**, R = Boc, S. 162
89b, R = Cbz, S. 164
89c, R = Piv, S. 169**93**, S. 167**97**, 170



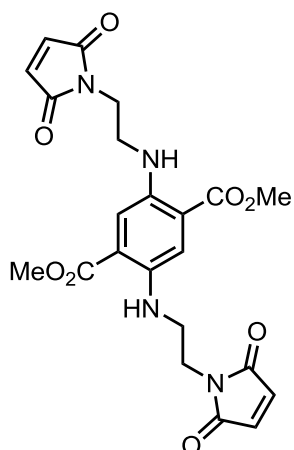
44a, R = Me, S. 171
44b, R = Bn, S. 174



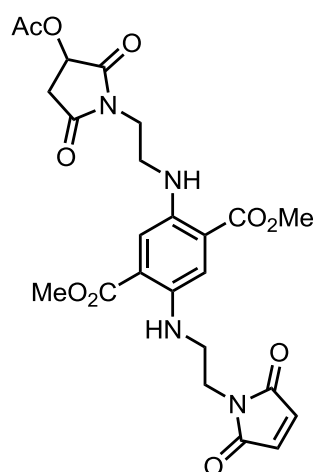
45, S. 172



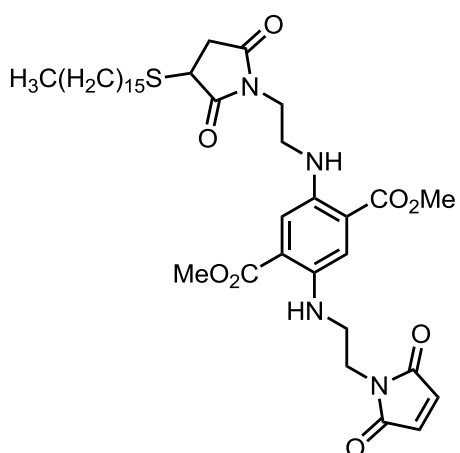
80, S. 175



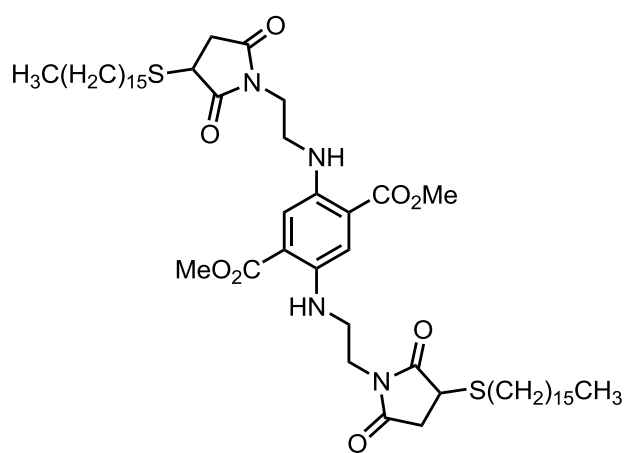
46, S. 177



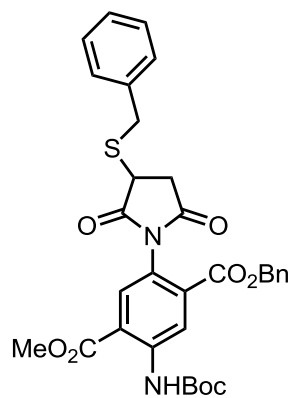
94, S. 178



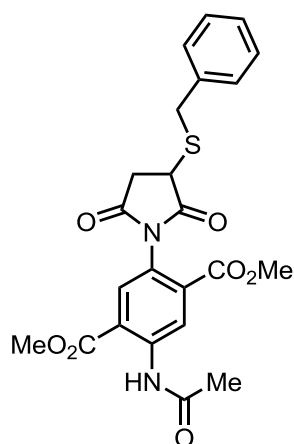
98, S. 180



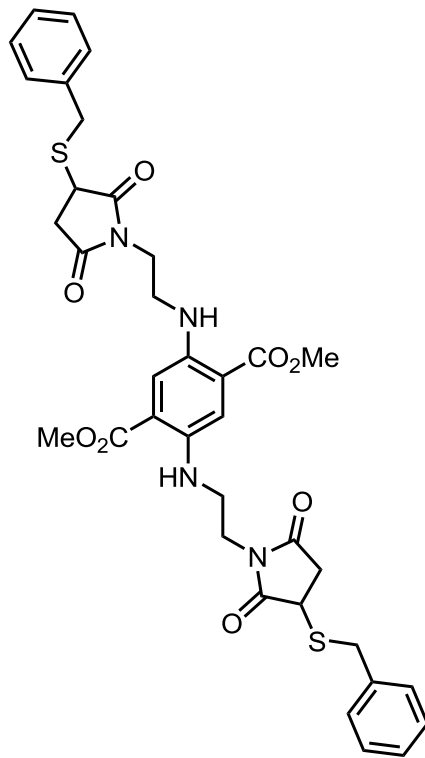
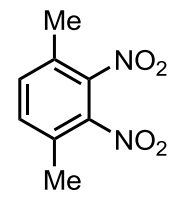
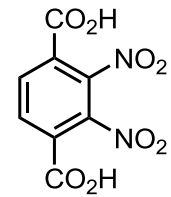
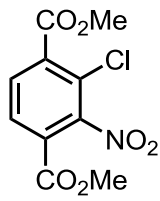
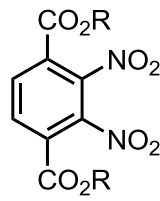
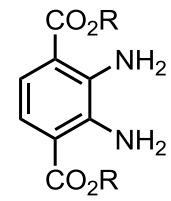
99, S. 182



82, S. 183



83, S. 185

**100**, S. 187**104a**, S. 188**105**, S. 190**106**, S. 192**107a**, R = Me, S. 192
107b, R = Bn, S. 193**109a**, R = Me, S. 194
109b, R = Bn, S. 196

10. Curriculum Vitae**Persönliche Daten**

Name Nina Wache
Anschrift Carl von Ossietzky-Str. 3b, 26129 Oldenburg
Geburtsdaten 09.11.1984 in Nordenham
Familienstand ledig

Schulische Ausbildung

08/1991–06/1995 Grundschule Süd Nordenham
08/1995–07/1997 Orientierungsstufe Süd Nordenham
08/1997–06/2001 Realschule I Nordenham
08/2001–04/2004 Gymnasium Nordenham

Studium

10/2004–10/2008 Chemiestudium, Universität Oldenburg
10/2008–05/2009 Diplomarbeit bei Prof. J. Christoffers,
Organische Chemie, Universität Oldenburg,
Thema: „Synthese neuer Octahydro[3,4-
b]carbazol-Derivate“

Promotion

seit 06/2009 Doktorarbeit bei Prof. J. Christoffers,
Organische Chemie, Universität Oldenburg,
Thema: „Synthese neuer
Diaminoterephthalsäurederivate“

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebene Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Oldenburg, den 11.06.2012

Nina Wache