

**Polymergebundene 1-Alkyl-3-aryltriazen
als Alkylierungsreagenzien in der
polymerunterstützten Lösungssynthese**

und

**Kombinatorische Festphasensynthese
von 1*H*-1,2,3-Triazolen und Heteroaryltriazen**

DISSERTATION

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

2003

vorgelegt von

Joachim Smerdka

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Mai 2003

Dekan: Prof. Dr. H. Probst

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Jung

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. E. Maier

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Anleitung von

Herrn Prof. Dr. Günther Jung

in der Zeit von Januar 1999 bis März 2003 am Institut für Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen durchgeführt.

Herrn PROF. DR. GÜNTHER JUNG danke ich sehr herzlich für seine intensive Förderung, die Freiheit bei der Bearbeitung des gestellten Themas und sein mir entgegengebrachtes Vertrauen.

Herrn DR. JÖRG RADEMANN gilt mein Dank für die erfolgreiche Zusammenarbeit im Rahmen des Triazen-Projektes.

Mein Dank gilt...

GERHARD SORG und DR. BERND THERN für ihre freundschaftliche Unterstützung und für viel Kurzweil in und besonders außerhalb 10M37.

allen Insassen des Labors 10M37 über die Jahre, insbesondere DR. FELIX REUTTER, DR. TERESA MUJICA-FERNAUD und TOBIAS SEYBERTH für die stets angenehme Arbeitsatmosphäre.

DR. PHILIPP GROSCHE für viele hilfreiche Diskussionen und für so manche sattelfeste Grenzerfahrung.

DR. DIETMAR SCHMID für seinen unermüdlichen Einsatz am FTICR-MS, viele HPLC-MS-Messungen und für seine freundschaftliche Unterstützung.

NILS CLAUSEN für viele Diskussionen über die Festphasenchemie und für gelegentliche Harzspenden.

DR. BERND THERN, DR. FELIX REUTTER und TOBIAS SEYBERTH für Routine-ES-MS-Messungen.

GERHARD SORG für seine Hilfe und seine unendliche Geduld bei allen Computerproblemen – „Gerhard, ich krieg die Diskette nicht aus dem Laufwerk...“

RAINER FISCHER und THOMAS ANDRÉ für MALDI-MS-Messungen.

NICOLE SESSLER für die Synthese von Peptiden und ihre Keksspenden - mampf.

ADEEB EL-DAHSHAN für die Mithilfe im Rahmen seines Wahlpflichtfach-Praktikums.

WOLFGANG BOCK für die Durchführung der Elementaranalysen.

GRAEME NICHOLSON für die Racemisierungsuntersuchungen.

URSULA BECKER-SANZENBACHER für ihre Übersicht im bürokratischen Chaos. Ihre herzliche Art ist maßgeblich für die gute Stimmung im Arbeitskreis verantwortlich.

der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT für die Finanzierung im Rahmen des Graduiertenkollegs „Identifizierung und Quantitative Analyse pharmazeutisch und biochemisch relevanter Substanzen (Analytische Chemie)“.

der FIRMA PERSONAL CHEMISTRY für die Überlassung des SmithSynthesizer™.

allen Kolleginnen und Kollegen, die nicht namentlich erwähnt worden sind, für das gute Klima im Arbeitskreis.

DR. BERND THERN und DR. PATRICIA LANGER danke ich herzlich für das kritische Korrekturlesen von Teilen des Manuskriptes.

Forscht, wo ihr was zu forschen findet.
Das Unerforschbare laßt unergründet.

E. Kästner, „Das fliegende Klassenzimmer“

Inhalt

1	ALLGEMEINER TEIL	1
1.1	EINLEITUNG	1
1.2	KOMBINATORISCHE CHEMIE	3
1.2.1	Prinzipien der kombinatorischen Chemie	3
1.2.2	Festphasenchemie	4
1.2.3	Synthese in Lösung	6
1.2.4	Polymerunterstützte Lösungssynthese (PASP-Synthese)	7
1.2.4.1	Prinzip der PASP-Synthese	7
1.2.4.2	Konzepte der PASP-Synthese	8
1.2.5	Konzepte zur Bibliothekssynthese	11
1.2.5.1	Parallelsynthese von Einzelverbindungen	11
1.2.5.2	Bibliotheken durch Kupplung von Mischungen	11
1.2.5.3	„Split-mix“-Methode	12
1.2.5.4	Genetische Algorithmen	12
1.2.6	Bibliothekssassays	13
1.2.6.1	Rekursive Dekonvolutionsstrategie	13
1.2.6.2	Positional-Scanning	14
1.2.6.3	Codierung von Bibliotheken	14
1.2.6.4	Assays mit trägergebundenen Bibliotheken	15
1.3	CHEMIE AN DER FESTEN PHASE	16
1.3.1	Polymere Trägermaterialien	16
1.3.2	Linker in der Festphasenchemie	19
1.3.3	Analytik in der Festphasenchemie	22
1.4	MIKROWELLENUNTERSTÜTZTE ORGANISCHE SYNTHESE	24
1.4.1	Physikalische Grundlagen	24
1.4.2	Mikrowellengeräte	25
1.4.3	Mikrowellenunterstützte Synthesechemie	26
1.4.4	Mikrowellenunterstützte Festphasensynthese	26
1.5	SYNTHESEBEISPIELE	28
1.5.1	Festphasensynthese von 1 <i>H</i> -1,2,3-Triazolen	28
1.5.2	Festphasensynthese von 1,3,4-Oxadiazolen	29
1.5.3	PASP-Synthese von Bicyclo[2.2.2]octanen	30
1.6	BIOLOGISCHE BEDEUTUNG VON 1,2,3-TRIAZOLEN	32
1.7	BIOLOGISCHE BEDEUTUNG VON 1,3,4-OXADIAZOLEN	33
2	AUFGABENSTELLUNG	34

3	POLYMERGEBUNDENE REAGENZIEN	35
3.1	FESTPHASENSYNTHESE VON 1-ALKYL-3-ARYLTRIAZENEN	35
3.1.1	Einleitung	35
3.1.2	Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen.....	38
3.1.3	„On-bead“ Synthesemonitoring mit FT-ATR-IR-Spektroskopie.....	43
3.1.4	Variation der Harzbeladung und der Aminkomponente	44
3.1.5	Lagerfähigkeit von Alkyltriazen-Harz	49
3.2	ALKYLTRIAZEN-HARZ ALS ALKYLIERUNGSREAGENZ IN DER PASP-SYNTHESE	50
3.2.1	Alkylierung von Carbonsäuren.....	51
3.2.1.1	Optimierung der Reaktionsbedingungen	51
3.2.1.2	Kinetische Untersuchungen der Methylierung.....	53
3.2.1.3	Isomerisierungsfreie Übertragung von <i>n</i> -Alkylresten	54
3.2.1.4	Alkylierungsergebnisse.....	58
3.2.1.5	Versuche zur Alkylierung von Alkoholen	64
3.2.2	Schutzgruppenübertragung auf Aminosäuren und Peptide	66
3.2.2.1	Optimierung der Reaktionsbedingungen	66
3.2.2.2	Ergebnisse der Aminosäurederivatisierung.....	68
3.2.2.3	Untersuchung auf Aminosäureracemisierung	70
3.2.2.4	Aminosäurealkylierung mit einer Alkyltriazen-Harz-Kollektion	72
3.2.2.5	Ergebnisse der Peptidderivatisierung	74
3.2.3	Alkylierung von Substanzbibliotheken	79
3.2.3.1	Alkylierung von Pyrazolcarbonsäurebibliotheken.....	79
3.2.3.2	Kombinatorische Festphasensynthese von Pyrazolcarbonsäuren	80
3.2.3.3	Alkylierung von Pyrazolcarbonsäurebibliothek A.....	80
3.2.3.4	Alkylierung von Pyrazolcarbonsäurebibliothek B.....	88
4	FESTPHASENSYNTHESEN	91
4.1	EINLEITUNG	91
4.2	FESTPHASENSYNTHESE VON 1 <i>H</i> -1,2,3-TRIAZOLEN.....	93
4.2.1	Synthese polymergebundener Azide.....	94
4.2.2	Cyclisierung zu 1 <i>H</i> -1,2,3-Triazolen	96
4.2.3	Automatisierte mikrowellenunterstützte Reaktionsoptimierung.....	98
4.2.4	Übertragung auf die konventionelle Festphasensynthese	102
4.3	POSTMODIFIKATIONEN AM TRIAZOL GRUNDGERÜST	107
4.3.1	Synthese von Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolen.....	108
4.3.1.1	Einleitung	108
4.3.1.2	Synthese von Bisoxadiazolyltriazolen an fester Phase	109
4.3.2	Synthese von Biscarbamoyltriazolen.....	114
4.3.3	Synthese von Triazoldicarbonensäuren	117
4.3.4	Synthese von Bis(hydroxymethyl)triazolen.....	119
4.3.4.1	Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid.....	120
4.3.4.2	Verseifung, Aktivierung und Reduktion	122
5	ZUSAMMENFASSUNG	124

6	EXPERIMENTELLER TEIL	127
6.1	CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL	127
6.2	GERÄTE UND ANALYTISCHE METHODEN	127
6.2.1	Kaiser-Test	127
6.2.2	Mikrowellenunterstützte Synthesen	128
6.2.3	FT-ATR-IR-Spektroskopie	128
6.2.4	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	128
6.2.5	ES-Quadrupol-Massenspektrometrie	129
6.2.6	Höchstaflösende ES-FTICR-Massenspektrometrie	129
6.2.7	GC-EI-MS-Untersuchungen zur Konfigurationsbestimmung von Aminosäuren	130
6.2.8	NMR-Spektroskopie	130
6.3	FESTPHASENSYNTHESEN	131
6.3.1	Allgemeine Vorschrift zur Fmoc-Abspaltung	131
6.3.2	Festphasensynthese von Aziden	131
6.3.3	Festphasensynthese von 1 <i>H</i> -1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säuredimethylestern	132
6.3.4	Darstellung von Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolen	134
6.3.5	Darstellung von Biscarbamoyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolen	135
6.3.6	Darstellung von 1 <i>H</i> -1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säuren	135
6.3.7	Darstellung von Bis(hydroxymethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolen	136
6.3.8	Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazolen	138
6.3.9	Upscaling der Synthese von Alkyltriazolen-Harzen	139
6.4	PASP-SYNTHESEN	140
6.4.1	Alkylierung von Carbonsäuren mit Alkyltriazolen-Harz	140
6.4.2	Methylierung von Phenolen	140
6.4.3	Alkylierung von Aminosäuren mit Alkyltriazolen-Harz	141
6.4.4	Alkylierung von Substanzbibliotheken	142
6.5	LÖSUNGSSYNTHESEN	143
6.5.1	Synthese von <i>ortho</i> -Azidobenzoessäure	143
7	LITERATUR	144

Abkürzungsverzeichnis

Für Aminosäuren wurde entsprechend der Vorschläge der IUPAC-IUB-Kommission für biologische Nomenklatur [*Eur. J. Biochem.* **1984**, 138, 9-37] der Ein- oder Dreibuchstaben-Code verwendet.

abs.	wasserfrei	EI-MS	Elektronenstoßionisations-MS
ACN	Acetonitril	eq.	Äquivalente
AcOH	Essigsäure	ES-MS	Electrospray-MS
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid	Et ₂ O	Diethylether
AS	Aminosäure	EtOH	Ethanol
a.i.	absorption intensity	exp.	experimentell
AM	Aminomethyl	Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl-
Boc	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonyl	FT-ATR-IR	Fourier-Transform-Attenuated- Total-Reflection-IR
Bzl	Benzyl	FTICR-MS	Fourier-Transform-Ion-Cyclotron Resonance-MS
CAA	Cyanacetamid	GC	Gaschromatographie
Chx	Cyclohexansäure	HIV	human immunodeficiency virus
d	chemische Verschiebung	HOBt	<i>N</i> -Hydroxybenzotriazol
Δ	mittlerer Messfehler	HPLC	High-Performance-Liquid- Chromatography
d	dublett	IR	Infrarot
DC	Dünnschichtchromatographie	kat.	katalytisch
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid	λ	Wellenlänge
DCM	Dichlormethan	m	Molalität
DEAD	Azodicarbonsäurediethylester	M	Molarität
DIAD	Azodicarbonsäurediisopropylester	Maldi-MS	Matrix-Assisted Desorption/Ionisation-MS
DIBAH	Diisobutylaluminiumhydrid	MAS-NMR	magic-angle-spinning-NMR
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid	MeOH	Methanol
DIEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin	MS	Massenspektrometrie
DMAD	Acetylendicarbonsäuredimethylester	Mts	Mesitylen-3-sulfonyl
DMAP	4-Dimethylaminopyridin	Mtt	4-Methyltrityl
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
DMSO	Dimethylsulfoxid	n.b.	nicht bestimmt
DVB	Divinylbenzol	NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
EA	Elementaranalyse	v	Wellenzahl
EC ₅₀	Effective Concentration 50 %	NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
EDC	<i>N</i> -(3-(Dimethylamino)propyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid		
EDDA	Ethylendiamin Diacetat		
e.e.	Enantiomeren-Überschuss		

NMR	Nuclear Magnetic Resonance	SPOS	Solid-Phase-Organic-Synthesis
OtBu	<i>tert.</i> -Butyloxy	SPPS	Solid-Phase-Peptide-Synthesis
Pam ₃ Cys-OH	<i>N</i> ^α -Palmitoyl-S-[2,3-bis-(palmitoyloxy)-(2 <i>RS</i>)-propyl]-(<i>R</i>)-cystein	t	Triplet
		t	Zeit
PASP	Polymer-Assisted-Solution-Phase	t _R	Retentionszeit
		tButhio	<i>tert.</i> -Butylthio
Pbf	2,2,5,7,8-Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl	TFA	Trifluoressigsäure
		TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
		TFMSA	Trifluormethansulfonsäure
PEG	Polyethylenglycol	theor.	theoretisch
ppm	parts per million	THF	Tetrahydrofuran
PS	Polystyrol	TIC	Total-Ionen-Chromatogramm
q	Quadruplett	TMS	Trimethylsilyl
R	Rest	TOF	time-of-flight
rel. int.	relative Intensität	Trt	Trityl
RT	Raumtemperatur	UV	Ultraviolett
s	Singulett	v	volume
SG	Schutzgruppe	Z	Benzyloxycarbonyl
SIMS	Sekundärionen-MS		

1 Allgemeiner Teil

1.1 Einleitung

Die Leitstruktursuche stellt den ersten Schritt in der Wirkstoff- und Arzneimittelforschung dar [Böh96]. Die starke Beschleunigung sowie die Miniaturisierung der Assaytechnologie auf der einen Seite als auch das beständige Anwachsen der Anzahl verfügbarer biologischer Targets auf der anderen Seite machen es möglich, viele Substanzen in kurzer Zeit auf bestimmte biologische Wirkungen zu testen. So sind heute vollautomatische Testsysteme etabliert, die es erlauben im sogenannten High-Throughput-Screening bis zu 100 000 Verbindungen pro Woche auf ihre biologische Wirkung zu untersuchen.

Neben Naturstoffen und bestehenden Substanzpools der Pharmafirmen werden in verstärktem Maße Kollektionen oder Bibliotheken eigens für ein bestimmtes Assaysystem hergestellter Verbindungen eingesetzt. Diese veränderten Rahmenbedingungen haben zu neuen Anforderungen an den synthetisch arbeitenden Chemiker geführt. Stand ursprünglich die Synthese einzelner Verbindungen im Vordergrund, so sind heute robuste Syntheseprotokolle gefragt, die es verlässlich ermöglichen, innerhalb kurzer Zeit eine große Anzahl möglichst diverser – also elektronisch und strukturell unterschiedlicher – Derivate einer Kernstruktur zu synthetisieren. Das jeweilige Syntheseprotokoll sollte idealerweise so optimiert worden sein, dass es unverändert für eine große Zahl an Eduktbausteinen übernommen werden kann. Diesen Anforderungen wird durch Parallelisierung, Automatisierung von Reaktionsabläufen sowie durch Kombination von Eduktbausteinen Rechnung getragen.

In der kombinatorischen Chemie werden entweder Bibliotheken als Verbindungsgemische hergestellt, oder es werden Sets von Einzelverbindungen in multiplen parallelen Reaktionsfolgen synthetisiert [Jun99, Jun96]. Die Anzahl der von einem Chemiker synthetisierbaren Verbindungen wächst hierdurch um ein Vielfaches. Zunächst wurden kombinatorische Prinzipien in der Synthese von Oligomeren wie Peptiden, Oligosacchariden und Peptoiden durch repetitive Reaktionsfolgen an fester Phase verwirklicht [Sch94, Jun92, Bea92]. Das Prinzip der Festphasensynthese (Solid-Phase-Organic-Synthesis; SPOS) wurde bereits 1963 von Merrifield vorgestellt [Mer63]. Die über Peptide gefundenen Leitstrukturen weisen in der Regel eine Reihe von Nachteilen

auf: Aufgrund ihrer Größe und Polarität ist ihre Bioverfügbarkeit schlecht. Sie sind zwar sehr selektiv, aber sie haben nur eine geringe metabolische Stabilität. Sie können in der anschließenden Leitstrukturoptimierung nur in einem zeitaufwändigen Prozess zum Arzneistoff abgewandelt werden. In den letzten 10 Jahren wurden deshalb vermehrt kleine organische Moleküle mit Hilfe kombinatorischer Methoden hergestellt. Diese sollten nach Kriterien der Medizinischen Chemie ausgewählt werden und u.a. der „Rule of Five“ gehorchen [Lip97]. Sie verfügen als „drug-like-molecules“ über eine bessere Bioverfügbarkeit und größere metabolische Stabilität. Bedingt durch die Fortschritte in der organischen Festphasensynthese wird in der jüngsten Zeit auch der Aufbau kombinatorischer Substanzbibliotheken, die auf komplexen Naturstoffen als Leitstrukturen basieren, als besonders erfolgversprechend angesehen [Bre02]. Diese sind evolutionär dafür ausgewählt worden, an Proteine zu binden und sollten so noch besser als „Core-Structures“ für die Suche nach Wirkstoffkandidaten geeignet sein. Bisher wurde bevorzugt an der festen Phase gearbeitet, jedoch wird in zunehmenden Maße auch kombinatorische Chemie in Lösung durchgeführt.

Die Nutzung von funktionalisierten Polymeren in der polymerunterstützten kombinatorischen Lösungssynthese (Polymer-Assisted-Solution-Phase Synthesis, PASP-Synthese) fand erstaunlicherweise zunächst wenig Beachtung, bietet sie doch die Möglichkeit zur automatisierten parallelen Synthese einer großen Anzahl potentieller Wirkstoffmoleküle in Lösung [She01, Ley00, Rad00, Wen99, Fly98, Ake81, Heu77].

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Teile. Der erste Teil beschäftigt sich mit der Entwicklung neuer Synthesewege an fester Phase zur Erzeugung organischer Substanzbibliotheken basierend auf dem 1*H*-1,2,3-Triazol Grundgerüst. Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese polymergebundener 1-Alkyl-3-aryltriazen und die Untersuchung auf ihre Verwendbarkeit als milde Alkylierungsreagenzien in der polymerunterstützten Lösungssynthese. Der Fokus lag hierbei auf Carbonsäurealkylierungen, Aminosäure- und Peptidderivatisierungen sowie dem Einsatz in der kombinatorischen PASP-Synthese.

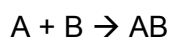
1.2 Kombinatorische Chemie

1.2.1 Prinzipien der kombinatorischen Chemie

Die Kombinatorik ist ein der Natur entlehntes Prinzip. Die Natur ist durch Kombination von lediglich 20 Grundbausteinen, den Aminosäuren, in der Lage, eine nahezu unbegrenzte Anzahl von Peptiden und Proteinen aufzubauen. Allein bei der Synthese eines Pentapeptides sind $20^5 = 3,2 \cdot 10^6$ unterschiedliche Kombinationen (= Verbindungen) denkbar.

Ähnlich verhält es sich in der kombinatorischen Chemie: Anstatt zwei Edukte (A, B) zu einem einzelnen Produkt umzusetzen, werden hier Gruppen von Eduktbausteinen, sogenannte „building blocks“ (A_m, B_n), miteinander kombiniert (Abb. 1). Wird hierbei in parallelen aber separaten Ansätzen jeder Eduktbaustein A_m einzeln mit jedem Eduktbaustein B_n umgesetzt, führt dies zu Arrays von Einzelverbindungen. Oder es werden definierte Mischungen der Eduktbausteine miteinander umgesetzt, und man erhält (Sub-)Bibliotheken oder Verbindungskollektionen. Auf die verschiedenen Synthesekonzepte wird in Kapitel 1.2.5 genauer eingegangen.

Klassische Synthese:



Kombinatorische Synthese:

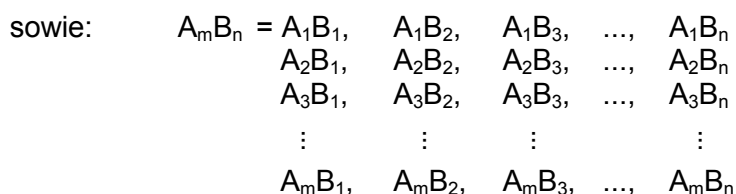
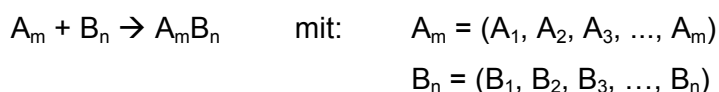


Abb. 1 Schematischer Vergleich der klassischen und der kombinatorischen Synthese. Erzeugung einer großen Anzahl von Verbindungen durch geeignete Kombination von Eduktbausteinen. A_m und B_n bezeichnen die jeweiligen Gruppen von „building blocks“.

1.2.2 Festphasenchemie

Das von Merrifield 1963 vorgestellte Prinzip der Festphasensynthese [Mer63] stellt heute die wichtigste Methode zur Herstellung von kombinatorisch erzeugten Substanzbibliotheken dar (Abb. 2) [Zar00, Bun98, Frü96, Tho96, Bal96]. Die anfangs nur in der Peptidchemie (Solid-Phase-Peptide-Synthesis; SPPS) und Oligonukleotidchemie eingesetzte Methode erfuhr Anfang der 90er Jahre mit der Veröffentlichung der Festphasensynthese von Benzodiazepin-Bibliotheken durch Bunin und Ellman eine Renaissance [Bun92]. Seither wird die Festphasensynthese mehr und mehr in der Synthese nichtoligomerer niedermolekularer Verbindungen eingesetzt.

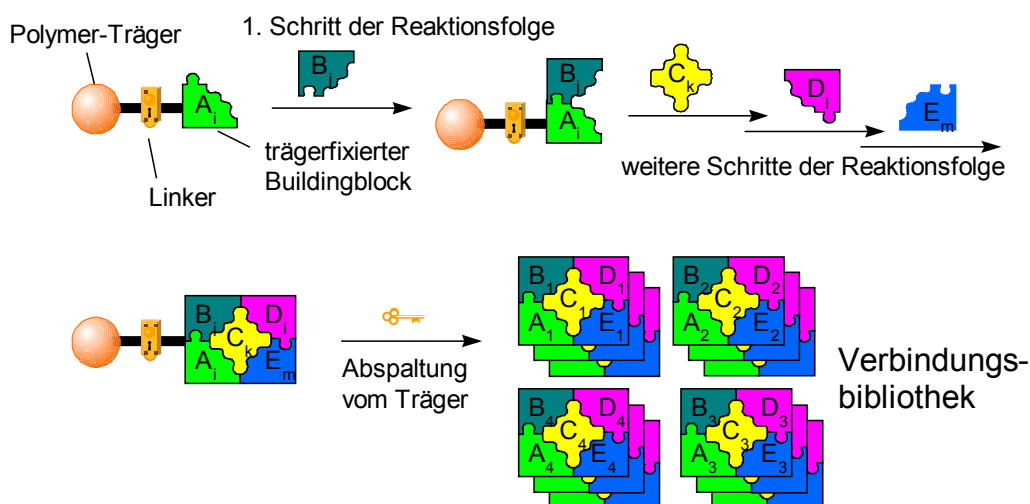


Abb. 2 Bibliothekssynthese an der festen Phase. Das Substrat ist über einen Linker an das Polymer gebunden, was eine spätere Abspaltung erlaubt.

Die Festphasensynthese basiert auf dem Prinzip, dass ein Substrat über einen sogenannten Linker (dt. „Anker“) an ein polymeres Trägermaterial kovalent gebunden ist. Die Bindungsstelle zum Substrat ist idealerweise inert gegenüber den Reaktionsbedingungen der nachfolgenden Reaktionssequenz, aber labil unter genau definierten Bedingungen. Dadurch wird die Abspaltung des Produktes vom Polymer zum gewünschten Zeitpunkt ermöglicht. Im Gegensatz hierzu sollte die Bindung zwischen Linkermolekül und Trägermaterial auch unter den Bedingungen der Abspaltung stabil sein.

Im Folgenden werden einige Vorteile der Festphasensynthese gegenüber der klassischen Synthese in Lösung aufgeführt:

Durch Verwendung hoher Reagenzienüberschüsse können Reaktionen beschleunigt und vollständige Umsetzungen erreicht werden. Durch einfaches Waschen des Polymers nach jedem Reaktionsschritt werden überschüssige Reagenzien sowie anfallende lösliche Nebenprodukte entfernt. Somit entfallen die in der Lösungssynthese üblichen aufwändigen Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte, und eine problemlose Automatisierung von Reaktionssequenzen wird ermöglicht. Durch die Immobilisierung der Substratmoleküle am polymeren Träger kommt zudem das Verdünnungsprinzip zum Tragen, sodass bei nicht zu hohen Harzbeladungen keine Interaktionen zwischen Substrat-Molekülen und keine Quervernetzungen stattfinden können. Letzteres bringt die Möglichkeit mit sich, symmetrische Moleküle mit zwei gleichen funktionellen Gruppen einzusetzen, ohne dass eine der funktionellen Gruppen geschützt werden muss.

Nachteile der vorgestellten Methode liegen in der Eingeschränktheit in Bezug auf die einsetzbaren Reagenzien und Reaktionsbedingungen – bedingt durch die Verwendung eines Trägers und eines Linkers. Beispiele für nicht durchführbare Reaktionen sind heterogen-katalysierte Reaktionen, Friedel-Crafts-Reaktionen an funktionalisierten Polystyrol-Harzen sowie Reaktionen bei Temperaturen über 150 °C für längere Zeit. In der Regel ist die Entwicklung einer Reaktionssequenz an der festen Phase zeitaufwändig, da die Protokolle aus der Lösungssynthese meist nicht unverändert übernommen werden können. In den letzten Jahren wurden bestehende Lücken jedoch zunehmend gefüllt, sodass mittlerweile für die meisten Probleme Standard-Syntheseprotokolle zur Verfügung stehen [Nic02, Per01, Dol02, Dol01, Dol00, Fra00, Boo98, Her97, Her96]. Einschränkungen bestehen noch immer bei den Möglichkeiten zur „on-bead“-Reaktionsverfolgung, da viele Routinemethoden aus der Lösungssynthese wie die Dünnschichtchromatographie oder die UV/VIS-Spektroskopie nicht eingesetzt werden können.

1.2.3 Synthese in Lösung

Kombinatorische Synthesen in Lösung haben in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen [Aus99, Bal00]. Dies liegt einerseits an der Entwicklung neuer Aufarbeitungs- und Automatisierungstechniken. Auf der anderen Seite spielt die Entwicklung polymergebundener Reagenzien und Scavenger als Synthesehilfsmittel eine große Rolle.

Unbestreitbare Vorteile der Lösungssynthese gegenüber der Festphasensynthese sind der Wegfall zweier Reaktionsschritte, nämlich der Substratimmobilisierung und der Produktabspaltung. Zudem muss bei der Wahl der Reaktionsbedingungen keine Rücksicht auf Stabilität und Reaktivität von Trägermaterial und/oder Linker genommen werden, der Einsatz teurer funktionalisierter Polymere wird vermieden, und im Allgemeinen ist ein einfaches Scale-up der Reaktionen in Lösung möglich. Als größter Vorteil ist zu nennen, dass Syntheseprotokolle nicht an die speziellen Erfordernisse der Festphase angepasst werden müssen. Bereits etablierte Reaktionen aus der klassischen Synthese können direkt übernommen werden. Auch die Auswahl an Reagenzien unterliegt keinen Beschränkungen. Heterogen-katalysierte Reaktionen sind ebenso durchführbar wie solche bei Reaktionstemperaturen $> 150\text{ °C}$. Schließlich kommen die Standardmethoden zur Reaktionsverfolgung wie Dünnschichtchromatographie und UV/VIS-Spektroskopie zum Einsatz.

Nachteile dieser Methode sind unvollständige Umsetzungsraten bei einzelnen Reaktionsschritten sowie die Notwendigkeit der Aufarbeitung der Zwischenprodukte nach jedem Reaktionsschritt (beispielsweise durch Flüssig-Flüssig-Extraktion). Der in der Festphasensynthese übliche Einsatz von Reagenzienüberschüssen ist automatisch mit einem deutlichen Mehraufwand in der Aufarbeitung verbunden. Für die letztgenannten Probleme bietet die Verwendung polymergebundener Reagenzien eine oft sinnvolle Lösung (Kapitel 1.2.4). Von der PASP-Synthese erhofft man sich zudem eine vereinfachte Automatisierung und Parallelisierung von Reaktionsabläufen, was in der kombinatorischen Chemie in Lösung noch ein Problem darstellt.

1.2.4 Polymerunterstützte Lösungssynthese (PASP-Synthese)

„The use of polymer-supported reagents and scavengers provides an attractive and practical method for the clean and efficient preparation of novel chemical libraries with potential application in the pharmaceutical or agrochemical industries” [Ley00].

Diese Aussage ist sicher mit Einschränkungen zu versehen. Tatsache ist jedoch, dass polymergebundene Reagenzien eine immer größere Verbreitung in der Lösungssynthese finden, was sich in den letzten Jahren in einer Flut von Veröffentlichungen neuer funktionalisierter Polymere für die PASP-Synthese niedergeschlagen hat. Die Einsatzbreite reicht dabei von einzelnen Reaktionsschritten bis hin zu kompletten Reaktionssequenzen zur stereoselektiven Synthese von Naturstoffen inklusive Produktisolierung und -aufreinigung. Einen umfassenden Überblick über den Fortschritt auf diesem Gebiet gibt der eingangs zitierte Übersichtsartikel von Ley et al., der allerdings wenig kritische Anmerkungen enthält. So sind Polymerreagenzien in der Regel keine preiswerte Alternative.

1.2.4.1 Prinzip der PASP-Synthese

In der PASP-Synthese dient das Polymer nicht als Ankermaterial für den Aufbau organischer Moleküle. Die Synthese geschieht in Lösung und das Substrat ist zu keiner Zeit dauerhaft an das Polymer gebunden. Das funktionalisierte Polymer kann hierbei als Reagenz oder als Katalysator verwendet werden. Es kann außerdem dazu dienen, überschüssiges Substrat, Nebenprodukte oder das gewünschte Produkt selektiv aus der Reaktionsmischung zu entfernen.

Die polymerunterstützte Lösungssynthese nutzt und verbindet somit die Vorteile der Fest- und der Flüssigphasenchemie. Die verschiedenen Konzepte der PASP werden in Kapitel 1.2.4.2 detailliert behandelt.

Die Anbindung aktiver Verbindungen an eine Polymermatrix reduziert deutlich die Toxizität besonders gefährlicher Verbindungen (z.B. Metallorganyle). Diese sind nicht mehr flüchtig und auch nicht mehr hautgängig. Flüchtige, feuchtigkeits- oder oxidationsempfindliche Reagenzien sind in immobilisierter Form leichter zu handhaben. Reagenzien, die in der klassischen Chemie in Lösung nur schwer vom Reaktionsgemisch abtrennbar sind, lassen sich in ihrer immobilisierten Form nach der Reaktion durch

einfaches Auswaschen und Filtrieren aus dem Reaktionsgemisch entfernen. Ein weiterer Vorteil, der hieraus resultiert, ist, dass die Reagenzien in deutlich höheren Überschüssen eingesetzt werden können als in der Lösungssynthese üblich. So besteht wie in der Festphasenchemie die Möglichkeit Reaktionen zu beschleunigen und vollständige Umsetzungen zu erreichen. In Bezug auf Effizienz und Selektivität unterscheiden sich viele Reaktionen in Lösung interessanterweise kaum von der entsprechenden Festphasenvariante [Kir01].

1.2.4.2 Konzepte der PASP-Synthese

Im Folgenden werden kurz die verschiedenen Konzepte der PASP-Synthese und die verschiedenen Einsatzgebiete vorgestellt. Einteilung und Definitionen entsprechen weitgehend den von Ley et al. [Ley00] vorgenommenen. Auf die Besonderheiten bei der Synthese an der festen Phase sowie die Trägermaterialien wird an anderer Stelle detailliert eingegangen (Kapitel 1.2.2 und 1.3). Es wird zudem darauf verzichtet, Beispiele für die verschiedenen Konzepte zu geben, da es mittlerweile für nahezu jedes chemische Problem eine Lösung mit Hilfe der PASP-Synthese gibt. Das PASP-Konzept wurde bereits vor über 30 Jahren von Patchornik und Fridkin erfunden [Fri66], seine Anwendungsmöglichkeiten wurden jedoch nur von wenigen erkannt [Heu77].

Polymerunterstützte Reagenzien

Es handelt sich hierbei um reaktive Spezies, die an ein Trägermaterial gebunden sind (Abb. 3). Sie wandeln ein Substrat in ein neues Produkt um, und verbrauchtes oder überschüssiges Reagenz kann durch Waschen und Filtrieren entfernt werden.

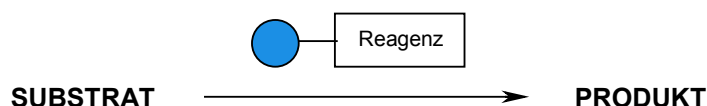


Abb. 3 Prinzip eines polymerunterstützten Reagenzes.

Wenn das verbrauchte polymergebundene Reagenz nach der Reaktion sehr sauber anfällt, bietet sich eine Regeneration an. So konnte IBX-Harz (polymergebundene Iodoxybenzoesäure), das nach erfolgter Reaktion in reduzierter Form am Träger vorliegt, ohne Verlust an Aktivität erneut oxidiert und wiederverwendet werden [Sor01].

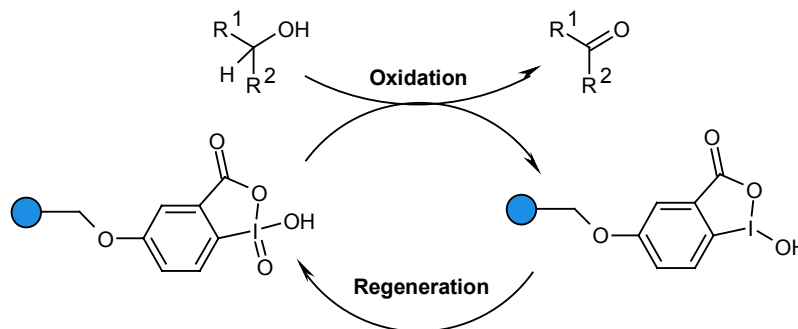


Abb. 4 Regeneration von verbrauchtem IBX-Harz (schematisch).

Polymerunterstützte Katalysatoren

Polymerunterstützte Katalysatoren sind reaktive Verbindungen, die an ein Trägermaterial gebunden sind und in katalytischen Mengen (< 1 eq.) eingesetzt werden (Abb. 5). Sie sind in der Lage, chemische Transformationen zu katalysieren und können durch Filtration entfernt werden. Im Unterschied zu Polymerreagenzien werden sie im Unterschuss eingesetzt und sind nach sorgfältigem Waschen im Idealfall ohne Regeneration wiederverwendbar.

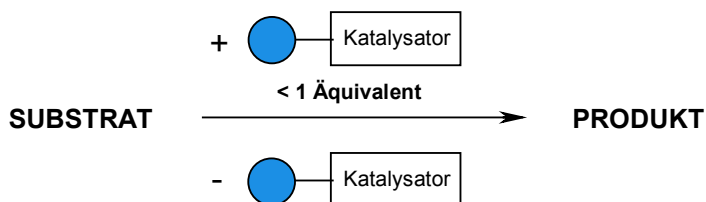


Abb. 5 Prinzip eines polymerunterstützten Katalysators.

Polymerunterstützte Scavenger

Polymerunterstützte Scavenger sind trägergebundene Verbindungen, die in der Lage sind, Reaktionen zu „quenchen“ oder Nebenprodukte, überschüssiges sowie nicht abreagiertes Ausgangsmaterial vom gewünschten Reaktionsprodukt abzutrennen (Abb. 6) [Eam01]. Sie können durch Waschen und Filtrieren aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden.

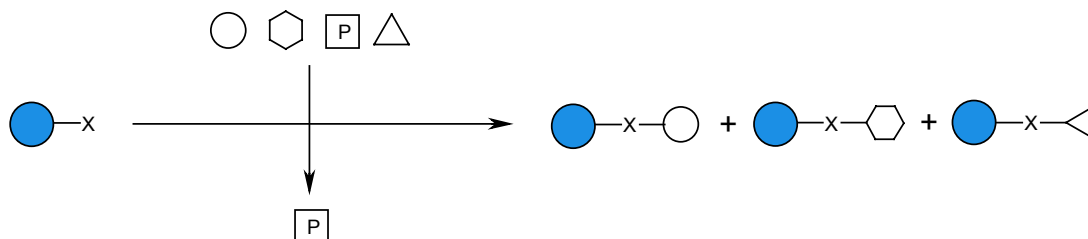


Abb. 6 Prinzip eines Scavenger-Harzes. Überschüssiges Substrat sowie Nebenprodukte werden aus der Reaktionsmischung entfernt; das Produkt „P“ verbleibt in Lösung.

„Catch and release“

„Catch and release“ (dt. „einfangen und freilassen“) bezeichnet eine Technik, um gezielt das gewünschte Produkt einer Flüssigphasenreaktion an ein funktionalisiertes Polymer zu binden und so aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen (Abb. 7). Nach dem Entfernen von Verunreinigungen durch Waschen und Filtrieren kann das Produkt vom Träger abgespalten werden.

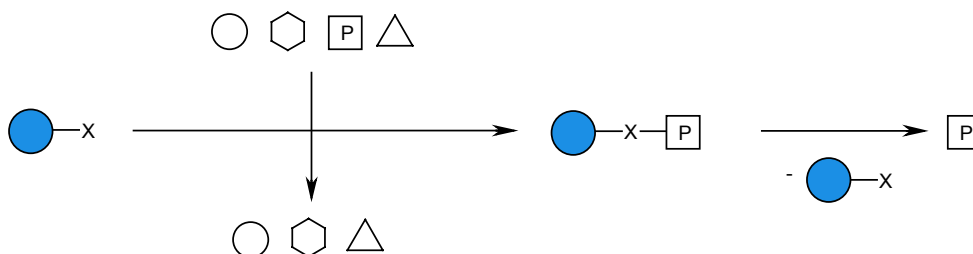


Abb. 7 „Catch and release“-Prinzip. Das Produkt „P“ wird selektiv aus der Reaktionsmischung entfernt und kann anschließend wieder vom Polymer abgetrennt werden.

1.2.5 Konzepte zur Bibliothekssynthese

1.2.5.1 Parallelsynthese von Einzelverbindungen

Bei der parallelen Synthese von Einzelverbindungen werden in n Reaktionsgefäßen n Einzelverbindungen dargestellt. Die automatisierte multiple, parallele Synthese auf Syntheserobotern hat hierbei die Synthese großer Verbindungszahlen überhaupt erst möglich gemacht. Die Zahl der auf diese Art darstellbaren Verbindungen ist bei dieser Methode jedoch aufgrund des apparativen Aufwandes auf Größenordnungen von wenigen tausend begrenzt.

Eine vereinfachte Analytik – oft nur der im Bio-Assay wirksamen Verbindungen – mittels IR, MS und NMR und eine bessere Evaluierbarkeit der Bio-Assays (keine falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnisse durch synergistische Effekte) sind die Vorteile dieser Methode.

Zum Aufbau kombinatorischer Substanzbibliotheken, gefolgt von Hochdurchsatz-Aufreinigungsverfahren wie HPLC-MS, ist dies die mit Abstand bedeutendste Methode.

1.2.5.2 Bibliotheken durch Kupplung von Mischungen

In jedem Reaktionsschritt wird das Substrat mit einer äquimolaren Mischung an Reaktand-Bausteinen umgesetzt. Rein rechnerisch kann man auf diese Art und Weise sehr schnell eine große Anzahl an Verbindungen darstellen. In der Praxis vermittelt sich jedoch ein anderes Bild, da das Produktverhältnis einer jeden Reaktionsstufe stark von den Geschwindigkeitskonstanten der einzelnen Reaktanden abhängt, die aus sterischen und/oder elektronischen Gründen stark variieren können. Somit ist eine Äquimolarität der Produkte, wie sie für biologische Assays von erheblicher Bedeutung ist, nicht gewährleistet.

Man versucht diese Effekte auszugleichen, indem man maximal dem Belegungsgrad entsprechende äquimolare Reaktandmischungen oder der Reaktivität angepasste Überschüsse einzelner Reaktanden einsetzt. Obwohl in der Peptid- [Ost94] und Nukleotidsynthese [Eck93] erfolgreich eingesetzt, besitzt diese Methode in der SPOS praktisch keine Bedeutung.

1.2.5.3 „Split-mix“-Methode

Bei dieser Methode zur Bibliothekssynthese können in kurzer Zeit komplexe Verbindungsbibliotheken erhalten werden [Fur88, Fur91]. Idealerweise liegen die Syntheseprodukte in der Mischung äquimolar vor. Jede Harzkugel enthält eine einzige Verbindung, weshalb man auch von der „one-bead-one-compound“-Strategie spricht.

Die eingesetzte Harzportion wird aliquotiert und jedes Aliquot mit einem Reaktanden umgesetzt. Die Reaktionsbedingungen können dem jeweiligen Reaktanden angepasst werden, was vollständigen Umsatz für jeden Reaktanden bringt. Anschließend werden die Harz-Aliquote wieder vereinigt und gemeinsam gewaschen. Für den nächsten Reaktionsschritt wird die gut vermischte Harzportion erneut aliquotiert und jedes Aliquot mit einem Reaktanden des nächsten Reaktionsschrittes umgesetzt. Dieser Zyklus wird wiederholt, so oft die Reaktionssequenz es zulässt. Man erhält auf diese Weise in kurzer Zeit große Substanzbibliotheken. Eine dreistufige Reaktion mit 20 Reaktanden pro Stufe ergibt auf diese Weise eine Bibliothek von 8 000 Verbindungen (oder, wenn nach dem letzten Syntheseschritt die Aliquote nicht wieder vereinigt werden, zwanzig Subbibliotheken à 400 Verbindungen).

1.2.5.4 Genetische Algorithmen

Mit Hilfe von genetischen Algorithmen lassen sich allgemein Multiparameter-Systeme optimieren [Wil95]. Man bedient sich der genetischen Prinzipien Replikation, Crossover, Mutation und kann so, ausgehend von einem Startsatz, neue Lösungssätze finden, die von Generation zu Generation verbesserte Eigenschaften aufweisen. Im Rahmen der kombinatorischen Chemie kann dieses Prinzip zur Optimierung der biologischen Aktivität von Verbindungen dienen. Gleichzeitig wird die Zahl der zu synthetisierenden Verbindungen klein gehalten. Dieses Prinzips bedienten sich Weber et al. bei der Suche nach Thrombin-Inhibitoren [Web95]. Aus einer theoretischen Bibliothek von 160 000 Verbindungen mussten auf diese Weise nur 400 Verbindungen synthetisiert werden. Die Autoren fanden in der zwanzigsten Generation Enzyminhibitoren mit einer 2 000fach höheren Aktivität als in der ersten Generation.

1.2.6 Bibliotheksassays

Beim Test von Substanzbibliotheken auf biologische Aktivität hängt die Vorgehensweise vom Format der eingesetzten Bibliothek ab. Wird eine Kollektion von Einzelsubstanzen auf Wirksamkeit hin getestet, so ergeben sich mit der Identifikation der jeweils aktiven Verbindungen keine Probleme. Werden trägergebundene Substanzbibliotheken getestet, so werden die Harzkugeln, die aktive Verbindungen tragen beispielsweise manuell ausgelesen und nach Abspaltung vom Polymer massenspektrometrisch untersucht („single-bead“ Analytik) [Ban00].

Die gängigen Methoden zur Analyse komplexer Substanzmischungen, wie sie die Produktbibliothek einer „split-mix“-Synthese darstellt [Fur91, Fur88], sind Dekonvolution und Positional Scanning.

1.2.6.1 Rekursive Dekonvolutionsstrategie

Dieses Verfahren – eine Variante der „split-mix“-Synthese – wurde von der Gruppe um Janda vorgestellt [Erb94]. Wird in einer Bibliothek eine Aktivität festgestellt, so werden für jeden Syntheseschritt Sets von Subbibliotheken synthetisiert, die ihrerseits jeweils definierte Bausteine an einer Position aufweisen. Die anderen Positionen bleiben variabel. Dies soll am Beispiel einer 3×3 -Bibliothek $A^x B^y C^z$ erklärt werden (Abb. 8), die im letzten Syntheseschritt 3 Subbibliotheken ergibt. In diesen 3 Subbibliotheken wird nun nach der aktivsten gesucht, im Beispiel sei dies die Subbibliothek $A^x B^y C^2$. Anschließend werden die Subbibliotheken $A^x B^y$, bei denen das B^y bekannt ist, mit C^2 umgesetzt. In den erhaltenen 3 Subbibliotheken $A^x B^y C^2$ wird nun ebenfalls die aktivste ermittelt, im Beispiel sei dies $A^x B^1 C^2$. Abschließend werden alle harzgebundenen Bausteine A^x mit $B^1 C^2$ umgesetzt und aus den 3 Verbindungen die aktivste ermittelt, im Beispiel: $A^2 B^1 C^2$. Insgesamt war zur Ermittlung der aktivsten Verbindung die Synthese von $x + y + z = 9$ Subbibliotheken nötig.

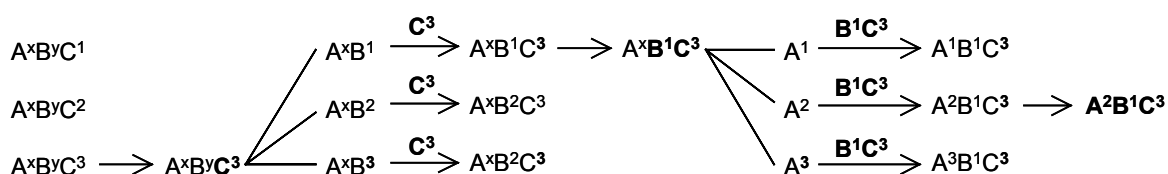


Abb. 8 Rekursive Dekonvolutionsstrategie am Beispiel einer 3×3 -Bibliothek $A^x B^y C^z$.

1.2.6.2 Positional-Scanning

Diese nicht-iterative Methode zur Bestimmung der aktivsten Verbindung einer Bibliothek wurde von Houghten et al. vorgestellt [Hou92]. Dies wird ebenfalls am Beispiel der 3x3-Bibliothek $A^x B^y C^z$ aus Kapitel 1.2.6.1 erläutert (Abb. 9). Im ersten Schritt werden $x + y + z = 9$ Subbibliotheken synthetisiert. Jede dieser Subbibliotheken enthält einen bekannten Baustein an definierter Position; die anderen Positionen sind variabel. Durch Screening aller Subbibliotheken kann für jede Position der aktivste Baustein ermittelt werden. So wird sich in unserem Beispiel für die Position A die Subbibliothek mit der Verbindung A^2 als die aktivste herausstellen, für die Position B die mit der Verbindung B^1 und für die Position C schließlich die Subbibliothek mit der Verbindung C^2 . Insgesamt ergibt sich also die Verbindung $A^2 B^1 C^2$ als die aktivste der gesamten Bibliothek.

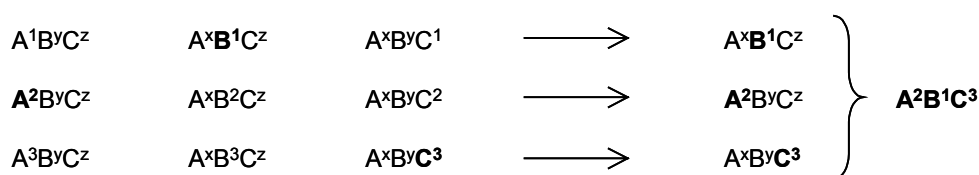


Abb. 9 Positional Scanning am Beispiel einer 3x3-Bibliothek $A^x B^y C^z$.

1.2.6.3 Codierung von Bibliotheken

Mit Hilfe der Codierung („Tagging“) von Bibliotheken kann die oftmals problematische Identifizierung kleinster Substanzmengen umgangen werden. Als Codierungsmethoden kommen chemisches Tagging sowie Radiofrequenzverschlüsselung in Frage.

Bei einer chemischen Codierung handelt es sich um sequenziell oder nicht-sequenziell aufgebaute molekulare Codes, die während der Synthese auf einem zweiten, orthogonalen Syntheseweg mitsynthetisiert werden. Nach einem positiven Test wird die aktive Substanz anhand des molekularen Codes identifiziert. Als chemische Codes werden Peptid- [Ker93] oder Nukleotidsequenzen [Nie93] verwendet. Dabei ist jedoch deren verhältnismäßig geringe chemische Stabilität ein Nachteil. Eine Verbesserung bieten polyhalogenierte Kohlenwasserstoffe [Bor94] wie auch halogenierte Arylalkoxyalkohole [Nes94], die nach Abspaltung mit GC und GC-MS aufwändig analysiert werden müssen. Eine Codierungs-Variante mit verschiedenartig substituierten

Fluorarylen und anschließender NMR-Identifizierung der von einer Harzkugel abgespaltenen aktiven Verbindungen wurde von Pirrung et al. am Beispiel einer Peptoid-Bibliothek veröffentlicht, die auf ihre Metallkomplexierungs- sowie autokatalytischen Eigenschaften getestet wurde [Pir02]. Diese Methode der chemischen Codierung stellt eine interessante Option dar, da die Identifizierung der Codes mit Hilfe von ^{19}F -NMR-Analytik vergleichsweise einfach durchzuführen ist. Die chemische Codierung findet jedoch in der Praxis wenig Verwendung, da die Synthese des chemischen Codes einen erheblichen Mehraufwand an Zeit, Chemikalienkosten und Instrumentierung darstellt.

Die Radiofrequenzverschlüsselung ist eine vielversprechende Codierungsmethode, die allerdings deutlich erhöhte technische Anforderungen stellt und hohe Verbrauchskosten mit sich bringt [Nic95, Mor95]. Die Synthese erfolgt in speziellen Mikroreaktoren, in die ein Speicherchip und das Trägermaterial eingebettet sind. Vor jedem einzelnen Reaktionsschritt werden die Mikroreaktoren individuell codiert, sodass am Ende der Reaktionssequenz jedes Syntheseprodukt durch ein Radiofrequenz-Etikett codiert wird. Mit einem geeigneten Empfänger können diese Etiketten ausgelesen und die Verbindungen identifiziert werden.

1.2.6.4 Assays mit trägergebundenen Bibliotheken

Allgemein lassen sich Verbindungen trägergebunden („on-bead“) nur in Form von „split-mix“-Bibliotheken auf Enzym-Spezifität testen. Nur so ist gewährleistet, dass sich auf jedem Bead nur eine Verbindung befindet. Eine weitere Voraussetzung ist, dass das Innere einer Harzkugel sowohl bei der Synthese für die in organischen Solventien gelösten Reagenzien als auch beim Assay für die in wässriger Phase vorliegenden biologischen Targetmoleküle zugänglich ist. Dabei ist im Fall von Enzymen deren Größe ein nicht zu unterschätzender Faktor. Gewöhnlich werden hierfür PEG-Harze (Polystyrol/Polyethylenglykol-Pfropfcopolymere) verwendet, die die oben genannten Voraussetzungen erfüllen [Leb95, Fle94]. Neuere Untersuchungen zur Enzym-Zugänglichkeit verschiedener polymerer Trägermaterialien mittels konfokaler Raman-Mikroskopie haben eine deutliche Überlegenheit von „Controlled-Pore-Glass“ (mit einer Porengröße von 100 nm) gegenüber anderen Trägermaterialien ergeben [Kre02].

1.3 Chemie an der festen Phase

In Kapitel 1.2 wurde das Grundprinzip der organischen Synthese an der festen Phase erläutert. In diesem Kapitel werden die hierzu verwendeten polymeren Trägermaterialien sowie Linker eingehender behandelt. Nach einem kurzen Abschnitt über spezielle Analysemethoden an der festen Phase werden zur Veranschaulichung noch Synthesebeispiele sowohl für die organische Festphasensynthese als auch für die polymerunterstützte Lösungssynthese gezeigt.

1.3.1 Polymere Trägermaterialien

Organische Festphasenreaktionen laufen anders als in der klassischen organischen Synthese in einem Zweiphasen-System ab. Aus diesem Grund kommt den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Trägermaterials besondere Bedeutung zu.

Kapazität: Sie bezeichnet die Anzahl der Anbindungsstellen für das Substrat bezogen auf die Masse an eingesetztem Trägermaterial in mmol/g. Die Kapazität beschränkt die Beladung und somit die theoretisch mögliche Produktausbeute. Eine hohe Beladung erhöht die Produktausbeute relativ zur eingesetzten Harzmenge und erleichtert die Analytik an fester Phase, während sich eine niedrige Beladung günstig auswirkt, wenn unerwünschte Wechselwirkungen zwischen den immobilisierten Molekülen oder Quervernetzung durch bifunktionelle Reagenzien auftreten können.

Quellbarkeit: Die Volumenänderung eines Trägermaterials in Abhängigkeit vom verwendeten Lösungsmittel wird als Quellbarkeit bezeichnet [San98]. Eine Volumenzunahme erleichtert die Zugänglichkeit der immobilisierten Moleküle („solvatisiertes Polymer“). Das Trägermaterial sollte so gewählt werden, dass die Kompatibilität zu den eingesetzten Lösungsmitteln über den gesamten Syntheseablauf gegeben ist. Die Quelleigenschaften des Trägermaterials werden zusätzlich durch den Linker wie auch durch die immobilisierten Moleküle bestimmt.

Leichte und vielseitige Funktionalisierbarkeit: Das Trägermaterial sollte mit vielen verschiedenen Linkern kombinierbar sein, wodurch eine höhere Kompatibilität des Trägermaterials für verschiedenste Reaktionssequenzen gegeben ist.

Stabilität der Trägermaterials: Sie ist wichtig für den Erhalt der Feinkörnigkeit des Harzes und damit die Filtrierbarkeit. Die Feinkörnigkeit wie auch eine einheitliche Beadgröße („Monodispersität“) sind insbesondere wichtig für die Herstellung von „one-bead-one-compound“-Bibliotheken.

Chemische Stabilität: Sie muss gegenüber allen in der Reaktionssequenz eingesetzten Chemikalien gewährleistet sein. Sie hängt neben der Art des Trägermaterials auch maßgeblich vom verwendeten Linkersystem ab.

Thermische Stabilität: Reaktionen sollten über einen möglichst großen Temperaturbereich durchführbar sein.

Druckstabilität: Die Beständigkeit des Trägermaterials gegenüber den bei Durchflussverfahren auftretenden hohen Drücken.

Tab. 1 Trägermaterialien in der Festphasensynthese.

Trägermaterial	Eigenschaften
Styrol/Divinylbenzol-Copolymer (Quervernetzungsgrad: 1 – 2 %) [Gut71, Mel92, Bay91].	<ul style="list-style-type: none"> - gute Quelleigenschaften in DCM, DMF, THF, DMSO, NMP, Pyridin, Dioxan; keine Quellung in Methanol, Wasser und Diethylether [San98]. - thermische Stabilität bis ca. 150 °C. - Beladung 0,5 – 4,5 mmol/g. - meistgenutztes Trägermaterial in der SPOS.
TentaGel, Pfropfcopolymer aus PS/DVB und Polyethylenglykol (PEG) [Bay91, Bay86, Bay85].	<ul style="list-style-type: none"> - polares Harz; gute Quelleigenschaften in DCM, DMF, THF, DMSO, NMP, Pyridin, Dioxan, Methanol und Wasser; keine Quellung in Ethanol und Diethylether. - Beladung 0,1 – 0,5 mmol/g. - schwierig von Wasser zu befreien.
POEPOP, POEPS; Copolymerisat aus PEG mit Epichlorhydrin (POEPOP) bzw. Vinylbenzylchlorid (POEPS) [Ren96, Rad99].	<ul style="list-style-type: none"> - hohe chemische und mechanische Stabilität. - Einsatz insbesondere bei enzymatischen Umsetzungen von polymergebundenen Substraten.

Tab. 1 Trägermaterialien in der Festphasensynthese (Fortsetzung).

Trägermaterial	Eigenschaften
Fractogel, Copolymer aus Methylacrylat und Vinylalkohol [Red94].	<ul style="list-style-type: none"> - stabil im Bereich $1 < \text{pH} < 14$. - druckstabil bis 7 bar. - thermisch stabil bis 100 °C. - Beladung 0,01 – 0,125 mmol/g.
PolyHIPE (High Internal Phase Emulsion), Copolymer aus PS/DVB und Polydimethylacrylamid [Sma89].	<ul style="list-style-type: none"> - druckstabil, Einsatz in Durchfluss-Peptid-Synthesen. - Beladung bis 5,0 mmol/g.
Pepsyn K oder Macrosorb SPR, Polydimethylacrylamid in Kieselgurmatrix [Ath81, Dry86].	<ul style="list-style-type: none"> - druckstabil, Einsatz in Durchfluss-Peptid-Synthesen. - Beladung 0,05 – 0,2 mmol/g.
PEGA, Polyacrylamid-PEG Copolymer [Mel92].	<ul style="list-style-type: none"> - quellbar auch in polaren Lösungsmitteln - Verwendung für SPOS, Enzym-katalysierte Reaktionen [Mel94] sowie „on-bead“ Enzym-Assays [Hil98]. - Beladung 0,2 – 0,8 mmol/g.
ULTRA-hochbeladene Harze, Copolymer aus Polyethylenimin und Terephthalaldehyd [Rad02].	<ul style="list-style-type: none"> - sehr gutes Quellverhalten in Wasser und in organischen Lösungsmitteln. - hohe Kapazität und Atomökonomie.
CPG (controlled pore glass), LCAA-CPG (long chain Alkylamine CPG), Silica.	<ul style="list-style-type: none"> - keinerlei Quellung, aber erhältlich in Porengrößen von 25 – 300 nm. - hoher Preis. - sehr hydrophil, daher schwer zu trocknen. - geringe Beladung (LCAA-CPG bis 0,1 mmol/g).

Weitere Trägermaterialien sind in den Büchern über Kombinatorische Chemie aufgeführt.

Die weitaus größte Bedeutung in der organischen Festphasensynthese besitzt das bereits von Merrifield in der Festphasen-Peptidsynthese eingesetzte und mit 1 – 5 % Divinylbenzol quervernetzte Polystyrol. Den besten Kompromiss zwischen hohem Quellvermögen und mechanischer Stabilität stellt hierbei das mit 1 % Divinylbenzol (DVB) quervernetzte Polystyrol dar. Dem Nachteil des fehlenden Quellvermögens in protischen Lösungsmitteln wie Alkoholen und Wasser und der dadurch behinderten Zugänglichkeit durch Reagenzien kann durch den Zusatz von Co-Solventien, in denen das Polymer ein hohes Quellvermögen aufweist, begegnet werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Festphasensynthesen wurden an mit 1 % DVB quervernetzten Polystyrol-Harzen mit unterschiedlichen Beladungen und verschiedenen Linkern durchgeführt.

1.3.2 Linker in der Festphasenchemie

Als Linker bezeichnet man die Verbindungsstelle zwischen dem Polymergerüst und dem immobilisierten Substrat [Jam99]. Ein Linker ist in der Regel ein bifunktionelles Molekül. Über die eine Funktionalität wird die Verbindung zum Polymer hergestellt. Die zweite Funktionalität dient der reversiblen Substratanbindung.

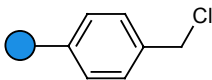
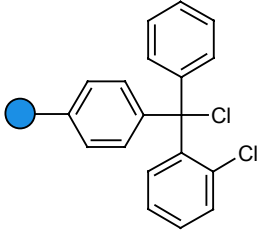
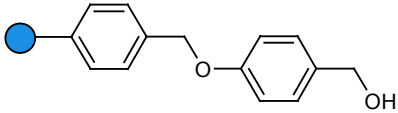
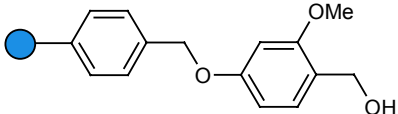
An einen geeigneten Linker werden eine Reihe physikochemischer Anforderungen gestellt. So sollte eine einfache Substratimmobilisierung ebenso gewährleistet sein wie die Stabilität gegenüber den in der Reaktionssequenz herrschenden Reaktionsbedingungen. Es sollte also weder eine ungewollte chemische Modifikation des Linkers noch eine verfrühte Abspaltung des Substrats vom Polymer erfolgen. Nach Beendigung der Reaktionssequenz muss das Produkt vom Linker abspaltbar sein ohne dabei zerstört zu werden. Da die o.g. Anforderungen in Abhängigkeit von der durchgeführten Synthese teilweise stark variieren, kommt der Auswahl des geeigneten Linkers in der Festphasenchemie eine zentrale Rolle zu. In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl an Linkern entwickelt, die sich sowohl in den Bedingungen zur Substratimmobilisierung und Produktabspaltung als auch in ihrer Toleranz gegenüber verschiedenen Reaktionsbedingungen unterscheiden. Teilweise wurden Linker sogar auf die Erfordernisse einer bestimmten Reaktion hin entwickelt.

Eine Einteilung der Linker erfolgt gewöhnlich nach den Abspaltbedingungen in

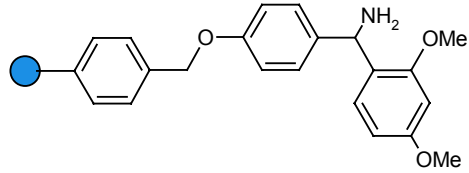
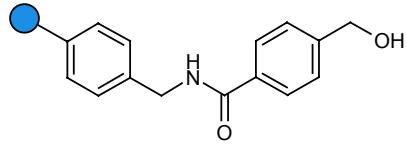
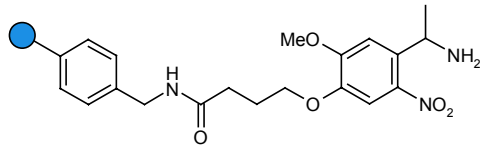
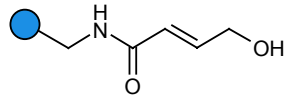
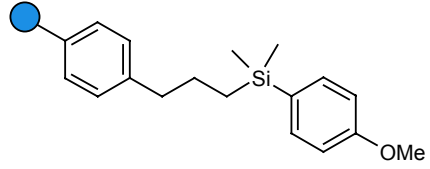
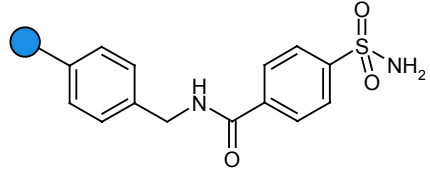
- säurelabile Linker (Abspaltung unter sauren Bedingungen)
- basenlabile Linker (Abspaltung unter basischen Bedingungen)
- photolabile Linker (erlauben eine Abspaltung durch Bestrahlung mit UV-Licht geeigneter Wellenlänge)
- Allyl-Linker (Abspaltung mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$)
- Silyl-Linker (erlauben eine Abspaltung ohne Verbleib einer Funktionalität am Produkt; sog. „traceless“-Linker)
- „Safety-Catch“-Linker (müssen erst chemisch modifiziert, d.h. aktiviert werden, bevor das Produkt abgespalten werden kann)

In Tab. 2 sind einige Vertreter der oben genannten Klassen an Linkern aufgeführt. Weitere Linker sind in den Büchern über Kombinatorische Chemie gezeigt.

Tab. 2 Linker in der Festphasenchemie.

Linker	Eigenschaften
 <p>Chlormethyl-Linker [Fei74]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren, Phenolen. - Abspaltung mit HF, TFMSA, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.
 <p>2-Chlortritylchlorid-Linker [Bar89, Bar89a]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Aminen, Alkoholen, Carbonsäuren, Hydrazinen, Phenolen, Thiolen. - Abspaltung mit 1 – 10 % TFA/DCM, Eisessig, Hexafluorisopropanol.
 <p>WANG-LINKER [WAN73]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren, Phenolen. - Abspaltung mit 20% TFA/DCM.
 <p>SASRIN-Linker (Super Acid Sensitive Resin) [She82]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren, Phenolen. - Abspaltung mit 0,5 % TFA/DCM.

Tab. 2 Linker in der Festphasenchemie (Fortsetzung).

Linker	Eigenschaften
	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren, Sulfonsäuren. - Abspaltung mit 20 – 95% TFA/DCM zum entsprechenden Carbonsäure- bzw. Sulfonamid.
Rink-Amid-Linker [Rin87]	
	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Abspaltung mit Nucleophilen wie Aminen, Hydrazinen, Alkoholaten als entsprechendes Carbonsäurederivat.
HMBA (Hydroxymethylbenzoesäure)-Linker [Ath81a]	
	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Stabil gegenüber Piperidin und TFA. - Abspaltung durch Bestrahlung mit UV-Licht ($\lambda = 365 \text{ nm}$) als Carbonsäureamid.
Aminoethyl-Photolinker [Hol95]	
	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Abspaltung mit Pd(PPh₃)₄.
HYCRAM (Hydroxycrotonylamido)-Linker [Kun88]	
	<ul style="list-style-type: none"> - Aktivierung mit HCl zu R₃SiCl. - Immobilisierung von Lithiumorganylen. - Abspaltung mit Bu₄NF, TFA.
Silyl-Linker [Woo97]	
	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Nach Aktivierung mit Diazomethan oder Iodacetonitril Abspaltung durch Nucleophile als entsprechendes Carbonsäurederivat.
4-Sulfamylbenzoyl-Linker [Ken71, Bac96, Bac94]	

1.3.3 Analytik in der Festphasenchemie

In der Lösungssynthese kann nach jedem Reaktionsschritt das Zwischenprodukt isoliert und mit einfachen Analysemethoden wie DC, HPLC, Gravimetrie oder Beurteilung des Aussehens Aussagen über den Verlauf oder die Ausbeute der Reaktion gemacht werden. An der festen Phase erfolgt normalerweise nach jedem Reaktionsschritt eine Abspaltung von einer kleinen Harzmenge, und das abgespaltene Produkt wird analysiert. Dies ist jedoch sehr zeitaufwändig, und teilweise sind die Zwischenprodukte den Abspaltbedingungen gegenüber auch nicht stabil.

Auf dem Gebiet der Peptidsynthese und auch der Oligonukleotidsynthese existieren mittlerweile standardisierte Methoden zur Bestimmung der Umsetzung durch UV-spektrometrische Quantifizierung des Fmoc- beziehungsweise des Trt-Abspaltungsproduktes der zuletzt gekuppelten Aminosäure oder des zuletzt gekuppelten Nukleotids. Auch Edman-Sequenzierungen sind am polymeren Träger möglich.

Mittlerweile gibt es eine Reihe von Untersuchungsmethoden, die eine schnelle und zuverlässige „on-bead“-Analytik erlauben:

Elementaranalyse: Sie wird überwiegend zur Analyse von Stickstoff, Schwefel und Halogenen eingesetzt [Str97]. Man benutzt sie zur Beladungsbestimmung oder zum Nachweis beispielsweise der Vollständigkeit einer Halogensubstitution.

Farbreaktionen: Die gebräuchlichste Farbreaktion ist der Kaiser-Test, eine Reaktion von Ninhydrin mit primären Aminen, die zu einem tiefblauen Farbstoff führt [Kai70]. Er wird besonders in der SPPS zur Überprüfung der Vollständigkeit eines Acylierungsschrittes eingesetzt. Weitere Tests beispielsweise auf sekundäre Amine [Voj95], Alkohole [Att00, Att01], Aldehyde [Váz01] und Carbonsäuren [Att00a] finden weniger Verwendung.

FT-ATR-IR-Spektroskopie: Sie ist eine schnelle und einfache Methode zur qualitativen Bestimmung einer Reihe funktioneller Gruppen mit charakteristischen Absorptionen am polymeren Träger [Ban99, Haa97]. Durch FT-ATR-IR-Spektroskopie und FT-IR-Mikroskopie ist darüber hinaus die Vermessung einzelner Harzkugeln möglich [Haa98, Yan96, Yan95]. Bei der ATR-Technik müssen keine KBr-Presslinge hergestellt werden. Durch Bildung von Differenzspektren von belegtem und unbelegtem Harz können störende Polymerbanden beseitigt werden.

NMR-Spektroskopie: Bei der Gelphasen-NMR-Spektroskopie wird das Harz in einem geeigneten Lösungsmittel suspendiert und wie eine flüssige Probe vermessen [Gir84, Bay90]. Diese Methode erlaubt die Untersuchung von Kernen mit großer chemischer Verschiebung wie ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P . ^1H -NMR-Spektren sind wegen der starken Linienverbreiterung schlecht interpretierbar. Mit ^1H - und ^{13}C -MAS-NMR werden besser aufgelöste Spektren erhalten [And95, Gar96, Kei96, Weh96]. Unter optimalen Bedingungen sind ^1H -NMR-Spektren von guter Qualität erhältlich.

MALDI-TOF-Massenspektrometrie: Bei Verwendung photolabiler Linker kann eine direkte MS-Analytik polymergebundener (Zwischen)Produkte mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie erfolgen [Ruh98]. Nicht photolabil angebundene Substrate können mittels TOF-SIMS direkt analysiert werden [Nic98].

Gravimetrische Analyse: Sie wird vor allem zur Beladungsbestimmung herangezogen, ist jedoch bei kleinen Harzmengen eine eher ungenaue Methode.

UV/VIS-Spektroskopie: Bei Kupplung von Fmoc-geschützten Aminosäuren kann nach Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe über eine photometrische Bestimmung des Fmoc-Gehaltes die Beladung bestimmt werden.

Die vollständige „on-bead“-Charakterisierung eines Festphasen-Syntheseproduktes durch die kombinierte Anwendung von FT-IR, ^1H -NMR und ^{13}C -NMR, wie sie von Grice et al. beschrieben wurde, zeigt eindrucksvoll den Fortschritt in diesem analytischen Sektor [Gri00].

Üblicherweise werden die vom Polymer abgespaltenen Syntheseprodukte mit HPLC und ES-MS analysiert. Obwohl selbst mit Einzelbeads und im Durchflussverfahren NMR-Analysen möglich sind [Pur96], ist in der Regel eine NMR-Analytik aufgrund des großen Probenaufkommens in der kombinatorischen Chemie nicht mehr für jede einzelne Verbindung realisierbar. Stattdessen wird nur von einigen repräsentativen Verbindungen eine NMR-Analytik durchgeführt. An die Stelle der Elementaranalyse tritt in zunehmendem Maße die hochauflösende und extrem massengenaue ES-FTICR-MS [Sch01a, Sch02].

Bei der Analytik von Verbindungsmischungen kommt die Hochdurchsatz-HPLC-MS-Kopplung zum Einsatz [Bau02, Lee02, Zha00, Jun99, Süß99].

1.4 Mikrowellenunterstützte Organische Synthese

1.4.1 Physikalische Grundlagen [Göp94, Min91]

Setzt man Materie einem elektromagnetischem Feld aus, so wird sie polarisiert. Die Gesamtpolarisation setzt sich dabei aus zwei Teilen zusammen: $P_{ges} = P_V + P_O$. P_V bezeichnet die Verschiebungspolarisation, hervorgerufen durch eine Verschiebung der Elektronenwolke gegenüber den Atomrümpfen (Elektronenpolarisation), der Atomrümpfe gegeneinander (Atompolarisation) und in Ionenkristallen durch die Verschiebung der positiven und negativen Ionen gegeneinander (Ionenpolarisation). Die Orientierungspolarisation P_O entsteht durch die Ausrichtung permanenter Dipole in einem angelegten elektromagnetischen Feld.

In elektromagnetischen Wechselfeldern wechselt die Polarisation mit der Oszillation des Feldes ihre Richtung. Dabei spielt der Beitrag der Verschiebungspolarisation für den mikrowelleninduzierten Heizvorgang keine Rolle, da die Zeitskala der Elektronen- und der Atompolarisation deutlich kleiner als die Mikrowellenfrequenz ist. Auch die Ionenpolarisation spielt in Flüssigkeiten keine Rolle.

Einen Einfluss auf den mikrowelleninduzierten Heizvorgang in Flüssigkeiten hat die Orientierungspolarisation, die wie oben beschrieben durch ein permanentes Dipolmoment in den Flüssigkeitsmolekülen hervorgerufen wird. Bei elektromagnetischen Wechselfeldern mit Frequenzen im Mikrowellenbereich ($\nu = 0,3 - 300$ GHz) entspricht die Frequenz, mit der das Feld oszilliert, in etwa der Antwortzeit der Dipole. In Flüssigkeiten kann jedoch anders als in Gasen (vgl. Rotationsspektroskopie) keine Rotation der Moleküle stattfinden. Stattdessen tritt eine „Reibung“ der Flüssigkeitsmoleküle bei ihrer Umorientierung im elektrischen Feld auf. Diese „Reibung“ führt zum Erwärmen der Flüssigkeit.

Ein Maß für die Polarisierbarkeit von Materie ist die Dielektrizitätskonstante (DK), ϵ_r . Da die Polarisation mit einer Phasenverschiebung auf das Wechselfeld reagiert, ist sie eine komplexe Größe. Die Heizrate in Flüssigkeiten wird durch den Quotienten aus Real- und Imaginärteil der DK beschrieben. Der Realteil der DK (ϵ'_r) sagt aus, wie leicht Materie durch ein äußeres elektromagnetisches Feld polarisiert wird. Der Imaginärteil (ϵ''_r) ist ein Maß für die Effizienz, mit der die elektromagnetische Strahlung in Wärme umgewandelt wird. Beide Größen sind temperatur- und frequenzabhängig.

1.4.2 Mikrowellengeräte

Im Jahr 1975 erschien die erste Veröffentlichung über die Verwendung eines Mikrowellenofens in der chemischen Analytik [Abu75]. Chemiker begannen in den Folgejahren damit, herkömmliche Haushalts-Mikrowellengeräte in der Synthesechemie zu verwenden. Das erste Mikrowellen-Laborgerät, ein Multi-Mode-Gerät (Abb. 10 (a)), kam 1985 auf den Markt. Die hauptsächlichen Verbesserungen gegenüber Haushaltsgeräten lagen im Sicherheitsbereich. Das erste eigens entwickelte und auf den Laborbedarf zugeschnittene Single-Mode-Mikrowellengerät (Abb. 10 (b)) wurde 1986 vorgestellt. In Multi-Mode-Geräten können durch Feld-Inhomogenitäten „hot-spots“ entstehen, die zu einem inhomogenen Heizvorgang und damit zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen oder im schlimmsten Fall zu lokalen Überhitzungen und verbunden damit zu Sicherheitsrisiken führen können. Im Gegensatz dazu wird die Mikrowellenstrahlung bei Single-Mode-Geräten durch einen Wellenleiter fokussiert. Dadurch erfolgt die Erwärmung der Probe einheitlich, reproduzierbar und vor allem kontrollierbar. Die alternativen Bauprinzipien für Mikrowellengeräte zeigt Abb. 10.

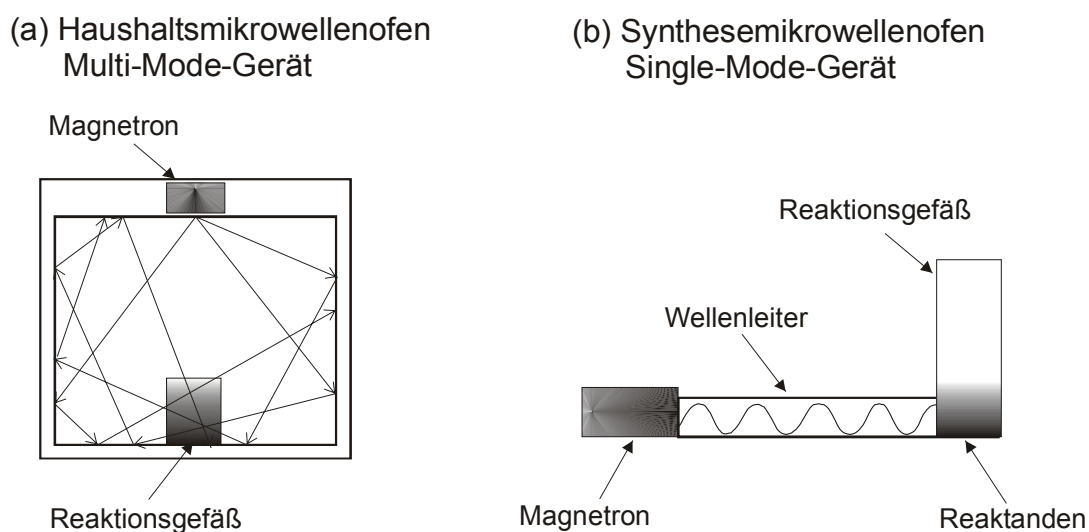


Abb. 10 Schematischer Vergleich von (a) Haushaltsmikrowellengerät (Multi-Mode) und (b) Synthesemikrowellengerät (Single-Mode) (Abbildung nach [Kuh02]).

Als weitere Eigenschaften kamen 1989 sowie 1992 Druckkontrolle und Temperaturkontrolle hinzu. Im Jahr 1995 entwickelte die Milestone Corp., Pittsburgh, USA einen Mikrowellen-Autoklaven, der das Arbeiten unter extremen Reaktionsbedingungen von 200 bar Druck und einer Temperatur von bis zu 350 °C erlaubt.

1.4.3 Mikrowellenunterstützte Synthesechemie

Die zunehmende Bedeutung der mikrowellenunterstützten Synthesechemie wird durch die ständig steigende Zahl an Veröffentlichungen zu diesem Thema dokumentiert [Kin97]. So sind seit der ersten Veröffentlichung 1975 weit über 1 200 Arbeiten zu diesem Thema erschienen [Pil01]. Den weitaus größten Anteil daran haben organisch-synthetische Arbeiten. In den letzten zehn Jahren hat sich die mikrowellenunterstützte Synthesechemie als Alternative zur konventionellen Methode zum Heizen von Reaktionsmischungen etabliert. Beim Einsatz von Mikrowellenstrahlung werden häufig drastisch erhöhte Reaktionsgeschwindigkeiten bei deutlich höheren Ausbeuten beobachtet. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass kein nicht-thermischer Mikrowelleneffekt beobachtet wird, wie in den letzten Jahren durch direkten Vergleich zwischen Mikrowellen-Reaktionsbedingungen und konventionellen thermischen Bedingungen wiederholt gezeigt wurde [Kuh02, Ran93].

1.4.4 Mikrowellenunterstützte Festphasensynthese

Lange Reaktionszeiten bei hohen Reaktionstemperaturen führen in der Festphasenchemie häufig zur Bildung von Nebenprodukten, die aus der Instabilität des Polymers unter den drastischen Reaktionsbedingungen zum einen und der thermischen Labilität des Linkersystems zum anderen resultieren. Andere Reaktionen wiederum können nicht durchgeführt werden, weil das geeignete Lösungsmittel eine zu niedrige Siedetemperatur besitzt.

Die mikrowellenunterstützte Synthese bietet den Vorteil eines sehr effizienten und reproduzierbaren Heizvorgangs. Beim Aufheizen wird direkt das Lösungsmittel erhitzt; es muss nicht erst eine Wärmeübertragung vom Wäremereservoir durch eine Gefäßwand in die Reaktionsmischung erfolgen. Der Abkühlvorgang erfolgt durch Druckluft ebenfalls sehr schnell. Somit können Hochtemperatur-Festphasen-Reaktionen unter stark erhöhten Temperaturen in kurzen, genau definierten und vor allem reproduzierbaren Zeitintervallen durchgeführt werden. Dies ermöglicht Reaktionsführung auch bei Temperaturen, bei denen sonst das Polymer oder das Linkersystem Schaden nehmen. Moderne Mikrowellengeräte ermöglichen zudem die Durchführung von Reaktionen unter erhöhtem Druck. Lösungsmittel können also weit über ihre Siedetemperatur bei

Normaldruck hinaus erhitzt werden. Reaktionen in MeOH/THF (1:1; v:v) lassen sich beispielsweise bei Temperaturen von 150 °C durchführen, wobei ein Druck von etwa 16 bar erreicht wird. Eine konventionelle Reaktionsdurchführung ist unter diesen Bedingungen nur mit hohem apparativem Aufwand möglich.

Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit der automatisierten Reaktionsführung durch die Verwendung eines Autosamplers. Versuche zur Optimierung beispielsweise der Reaktionszeit bei verschiedenen Temperaturen können so mit geringem apparativen und zeitlichen Aufwand erfolgen.

Mit der Möglichkeit zur Automation durch eine computergestützte Pipettiereinheit geht zudem ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit einher, da aus vorgelegten Maßlösungen genau vorgegebene Mengen an Reagenz direkt vor der Reaktion in das Reaktionsgefäß pipettiert werden können.

Leider bieten die heutigen Single-Mode-Geräte noch keine Möglichkeit zur Parallelisierung von Reaktionsabläufen, was insbesondere in der Festphasenchemie ein sehr wichtiger Aspekt ist. Aus diesem Grund wurden die im Rahmen dieser Arbeit mikrowellenunterstützt optimierten Reaktionsabläufe auf die „konventionelle“ Festphasenchemie übertragen.

Die übliche Limitierung in Bezug auf Reagenzien, Lösungsmittel und Temperatur (Kapitel 1.2.2) bleibt auch in der mikrowellenunterstützten Festphasensynthese bestehen.

Im Folgenden sind die Merkmale des in dieser Arbeit verwendeten Mikrowellenreaktors kurz zusammengefasst:

- Reaktionen bei Temperaturen bis zu 250 °C und bis 20 bar Druck möglich
- Schnelles Aufheizen der Reaktionslösung, schnelles Abkühlen (genau definierte Reaktionsbedingungen)
- Automation möglich (Reihenversuche zur Optimierung von Reaktionsbedingungen)
- Pipettieren von Reagenzien möglich
- Keine Parallelisierung möglich
- Limitierung durch Lösungsmittel und Temperatur bleibt bestehen
- Unmögliches wird nicht möglich (kein „magischer“ Mikrowelleneffekt)

1.5 Synthesebeispiele

Im Folgenden werden einige Beispiele für organische Festphasensynthesen (SPOS) sowie für polymerunterstützte Lösungssynthesen (PASP-Synthesen) gezeigt.

1.5.1 Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen

Zaragoza et al. veröffentlichten eine Triazolsynthese ausgehend von polymergebundenen Enaminonen, die mit Tosylazid zu den entsprechenden Triazolen cyclisiert wurden [Zar96]. Diese Reaktionsführung stellte sicher, dass nur eine Orientierung der Substituenten möglich ist.

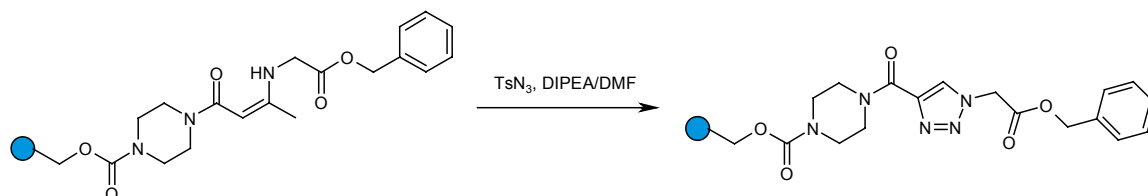


Abb. 11 Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen ausgehend von polymergebundenen Enaminonen.

Von Guoault et al. stammt eine Veröffentlichung, in der polymergebundene Azide durch elektrophile Ringöffnung eines Epoxids mit Natriumazid erhalten wurden [Gou00]. Diese wurden mit Acetylenen thermisch zu den entsprechenden 1*H*-1,2,3-Triazolen cyclisiert. Die Triazolsynthese dient hier der Einführung einer weiteren Diversitätskomponente, und es wurden keine Postmodifikationen am Triazol-System durchgeführt. Auch wurde bei dieser Synthese jeweils ein Gemisch beider Regioisomere erhalten.

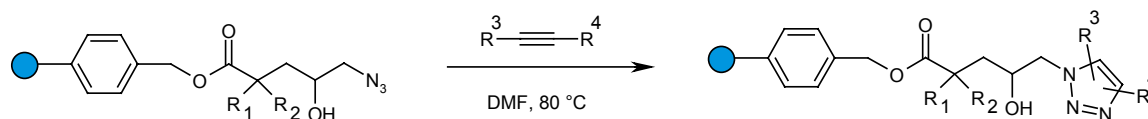


Abb. 12 Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen ausgehend von polymergebundenen Aziden.

Im Jahr 2002 wurde eine weitere Synthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen über die 1,3-dipolare Cycloaddition von polymergebundenen Aziden mit verschiedenen substituierten Alkinen veröffentlicht [Bla02]. Bromacylierung des Wang-Linkers gefolgt von Brom-Substitution mit NaN₃ in DMA führte zu den Aziden. Die Cyclisierung verlief regiospezifisch, wenn elektronenarme Acetylen-carbonsäuremonomethylester verwendet wurden.

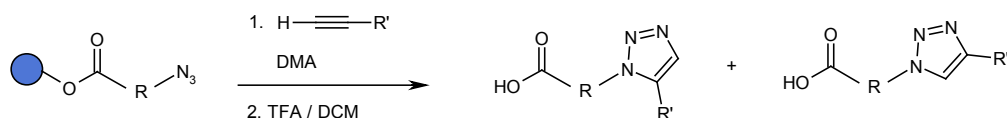


Abb. 13 Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen durch [2+3]-Cycloaddition von substituierten Alkinen an polymergebundene Azide.

1.5.2 Festphasensynthese von 1,3,4-Oxadiazolen

Kilburn et al. veröffentlichten eine Festphasen-Oxadiazolsynthese [Kil01]. Als Linker wurde der SASRIN-Linker verwendet. Sie erzeugten Isothiocyanate an der festen Phase durch Umsetzung der primären Aminofunktion einer als Ester immobilisierten Aminosäure mit Bis(2-pyridyl)thiocarbonyl. An diese wurden verschiedene Hydrazide addiert, und die entstandenen *N*-Acylthiosemicarbazide konnten mit EDC*HCl zu den entsprechenden 1,3,4-Oxadiazolen cyclisiert werden.

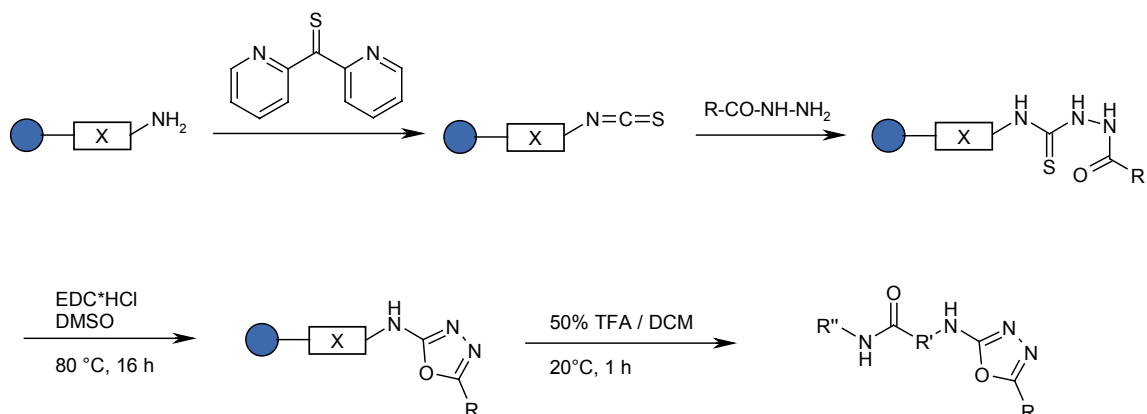


Abb. 14 Festphasensynthese von 1,3,4-Oxadiazolen ausgehend von polymergebundenen Isothiocyanaten.

1.5.3 PASP-Synthese von Bicyclo[2.2.2]octanen

Die hier vorgestellte Synthese von Bicyclo[2.2.2]octanen illustriert die Einsatzbreite der polymerunterstützten Lösungssynthese aus zwei Gründen besonders gut [Ley00, Ley00a]. Zum einen wurde die Lösungssynthese [Lee73] bereits 1995 auf die feste Phase übertragen [Ley95], sodass die erhaltenen Ergebnisse einen direkten Vergleich mit den Ergebnissen der SPOS-Darstellung in Hinblick auf Ausbeuten und Reinheiten der erhaltenen Produkte, Möglichkeiten zur Postmodifikation als auch bezüglich des Zeitaufwandes der Synthese erlauben. Zudem wurde jeder Synthese- und Aufreinigungsschritt ausschließlich mit polymergebundenen Reagenzien und Scavengern durchgeführt. Es wurde also auf jegliche konventionelle Aufreinigung (Chromatographie, Flüssig-Flüssig-Extraktion, o.ä.) während des Syntheseverlaufs verzichtet (Abb. 16).

Die Synthese ging von kommerziell erhältlichen Cyclohexenonen aus. Durch Behandlung mit Lithium-Diisopropylamid (LDA) wurde das Lithium-Enolat erhalten, das mit substituierten Acrylaten in einer Tandem-Michael-Reaktion zu den entsprechenden Bicyclo[2.2.2]octanononen cyclisiert werden konnte. Nachfolgende Postmodifikationen erbrachten Bibliotheken, deren Diversitätselemente in Abb. 15 schematisch gezeigt sind.

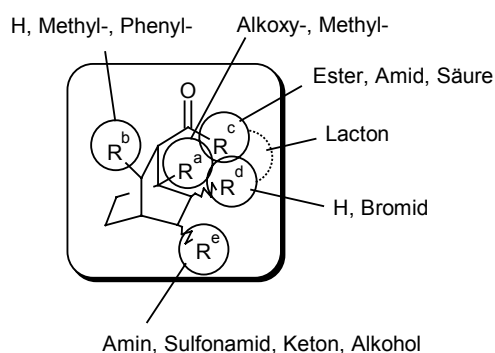


Abb. 15 Substitutionsmuster der Bicyclo[2.2.2]octan-Bibliotheken nach Ley et al. [Ley00].

Mit Hilfe der PASP-Synthese wurde eine Bibliothek mit im Vergleich zur SPOS-Synthese höherer Diversität erhalten. Zudem wird von den Autoren besonders der im Vergleich zur SPOS deutlich geringere Zeitaufwand zur Optimierung der Reaktionsschritte hervorgehoben. Die Reinheiten Produkte lagen nach Angaben der Autoren sämtlich über 90 %, während für die Ausbeuten Werte zwischen 71 % und 98 % angegeben wurden.

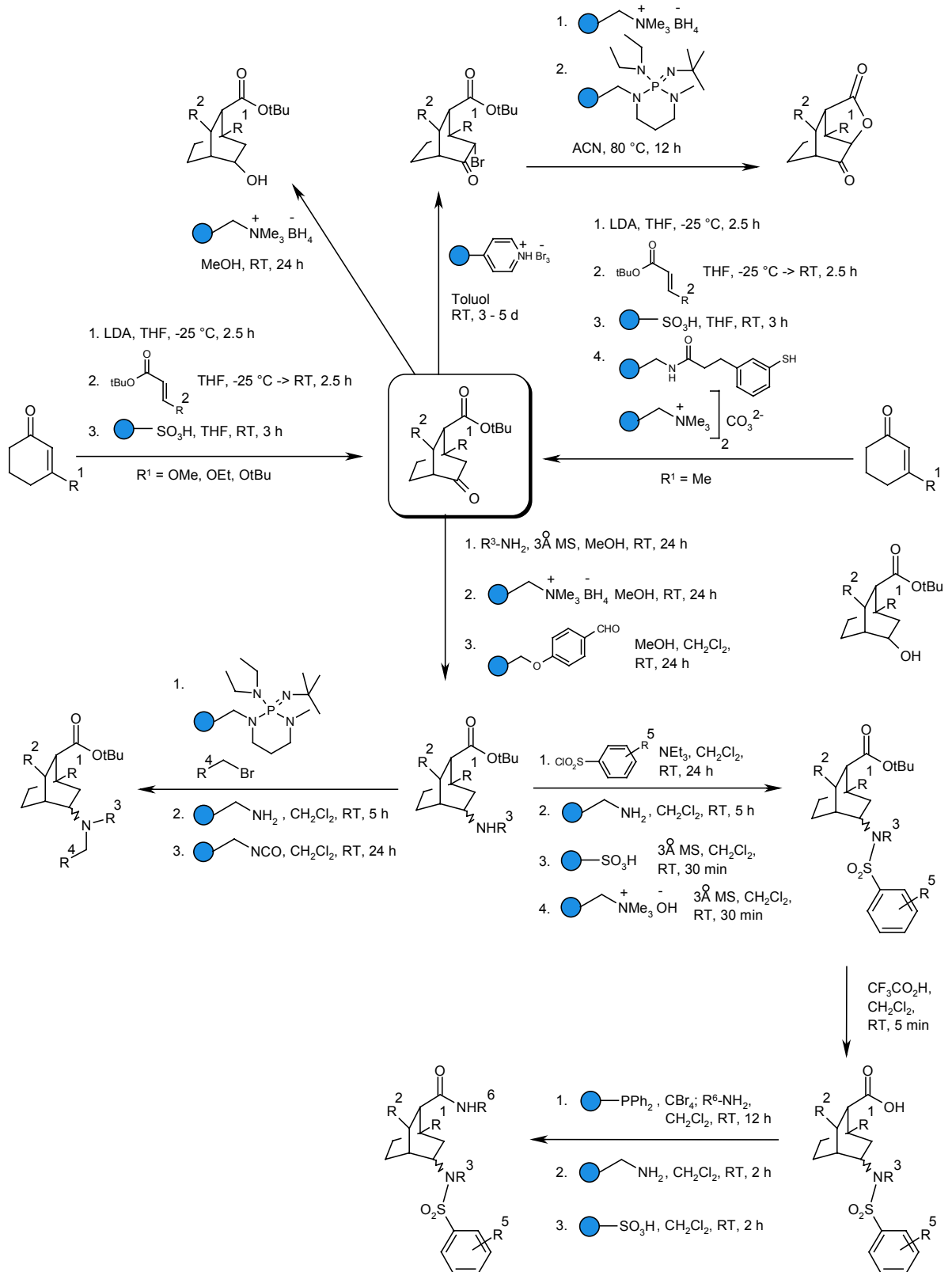


Abb. 16 PASP-Synthese von Bicyclo[2.2.2]octan-Bibliotheken nach Ley et al. [Ley00].

1.6 Biologische Bedeutung von 1,2,3-Triazolen

Funktionalisierte 1,2,3-Triazole sind Teil zahlreicher biologisch interessanter Verbindungen, auch wenn es keine Naturprodukte mit 1,2,3-Triazol-Struktur zu geben scheint [Wam84]. In Abb. 17 sind Beispiele solcher als biologisch aktiv identifizierter Verbindungen gezeigt. Verbindung **1** (Cefatricin, ein Cephalosporin-Derivat) ist ein Beispiel für ein Antibiotikum mit einer hohen Wirksamkeit gegen Erreger von Infektionen der Atemwege, des Bindegewebes und der Haut [Fas78, Böh81]. Verbindung **2** zeigt ausgeprägt antikonvulsive Eigenschaften [Por98]. Bei Verbindung **3** handelt es sich um einen potenten HIV-1-Inhibitor (für $R^1, R^2 = H, \text{Methyl}$; $EC_{50} = 56 - 520 \text{ nm}$) [Alv94], während die Leitstruktur **4** als Glycogen-Synthase-Kinase 3 Inhibitor wirkt [Ole02]. Die Glycogen-Synthase-Kinase 3 spielt u.a. eine Rolle bei der Alzheimer-Krankheit und bei Typ I- und Typ II-Diabetes.

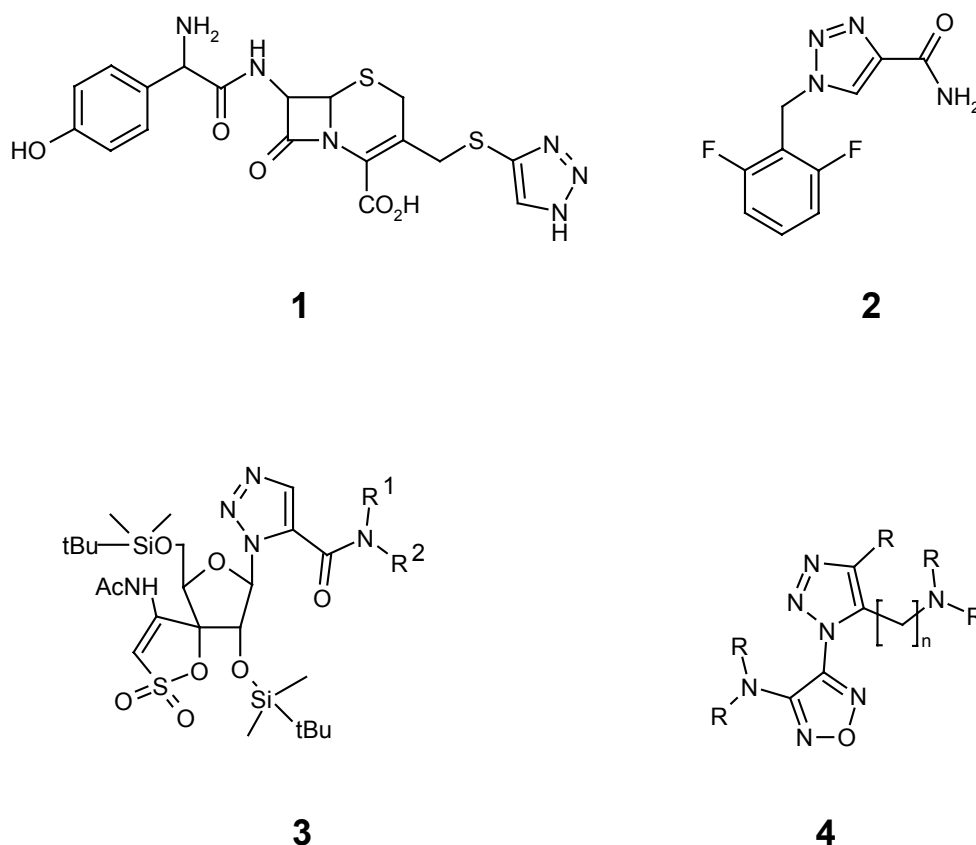


Abb. 17 Strukturen biologisch aktiver 1,2,3-Triazole.

1.7 Biologische Bedeutung von 1,3,4-Oxadiazolen

1,3,4-Oxadiazole haben eine große praktische Bedeutung vor allem im pharmazeutischen Bereich, dem Pflanzenschutzsektor, in der Synthese von thermostabilen Polymeren, als Szintillatoren und Lichtschutzmittel sowie in der Fotografie und der Farbstoffindustrie. Abb. 18 zeigt einige pharmakologisch aktive Verbindungen. Verbindung **1** (Vadrin[®]) ist ein Arzneimittel mit tuberculo- und leprostatischer Wirkung [Wil62]. Bei Verbindung **2** (Eudormil[®]) handelt es sich um ein Hypnoticum [Vin62], und Verbindung **3** (SC27166[®]) ist ein Antidiarrhoicum [Neg78].

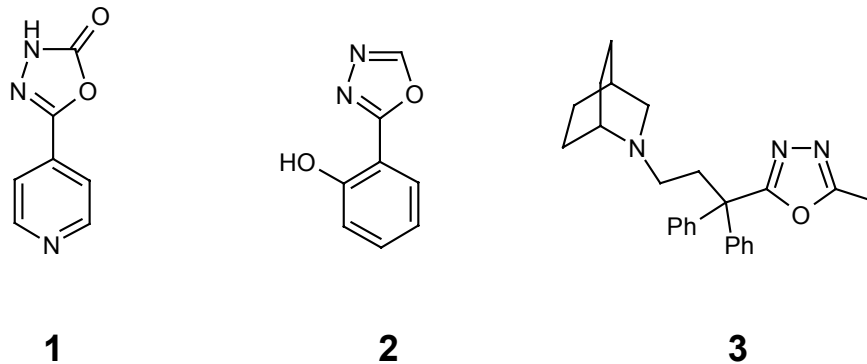


Abb. 18 Strukturen biologisch aktiver 1,3,4-Oxadiazole.

2 Aufgabenstellung

Im ersten Teil der Arbeit sollte die Synthese polymergebundener 1-Alkyl-3-aryltriazenen ausgearbeitet und deren Einsatzmöglichkeiten als Alkylierungsreagenzien in der polymerunterstützten Lösungssynthese untersucht werden. Harze mit verschiedenen hohen Ausgangsbeladungen sollten eingesetzt und die für die Synthese optimale Harzbeladung ermittelt werden. Eine hohe Diversität an Alkylresten in Bezug auf die sterischen und elektronischen Eigenschaften sollte hierbei erzielt werden. Anschließend sollten die polymergebundenen Triazene zur Alkylierung von Carbonsäuren eingesetzt werden. Außerdem sollten Versuche zur Veretherung von Alkoholen angestellt werden.

Am Beispiel der C-terminalen Alkylierung von Aminosäuren und Peptiden und der Veresterung von kombinatorisch erzeugten Substanzbibliotheken sollte die chemische Bandbreite des Reagenzes ermittelt werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollten verschiedene Heterocyclensynthesen an der festen Phase ausgearbeitet werden. Ausgangspunkt sollte die Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäureestern durch 1,3-dipolare Cycloaddition polymergebundener Azide mit Acetylendicarbonsäuredimethylester (DMAD) sein. Mit Hilfe der automatisierten mikrowellenunterstützten Reaktionsführung sollten die Reaktionsbedingungen optimiert werden. Modifikationen der Esterfunktion sollten Ausgangsstoffe für Postmodifikationen an diesem Grundgerüst erzeugen. Exemplarisch sollte die Synthese von Bisoxadiazolyl-triazolen an der festen Phase etabliert werden.

3 Polymergebundene Reagenzien

3.1 Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen

3.1.1 Einleitung

Die ersten Arbeiten, die sich mit der Darstellung und den Eigenschaften von Triazenen¹ beschäftigten, wurden bereits in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts von Baeyer [Bae75] und Goldschmidt [Gol88] durchgeführt. Die Darstellung erfolgte durch Umsetzung von Aryldiazoniumverbindungen mit primären oder sekundären Aminen. Dimroth beschreibt in seinen „Mittheilungen über Synthesen mit Aziden“ eine alternative Synthesemethode, nach der sich insbesondere solche Triazene gut darstellen lassen, die einen primären aliphatischen und einen aromatischen Rest tragen [Dim05]. Er setzte dazu Arylazide mit Alkylmagnesiumhalogeniden um. Weitere Methoden gehen von Nitroso-Verbindungen sowie anderen Triazenen aus [Sül65, Eng90].

Als heute gängige Synthesemethode für aromatische Triazene hat sich die Umsetzung von Aryldiazoniumverbindungen mit Alkylaminen oder Anilinen durchgesetzt.

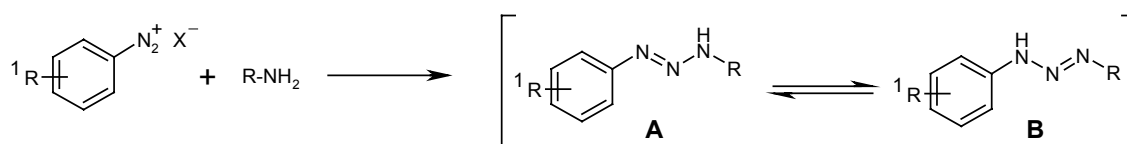


Abb. 19 Syntheschema zur Darstellung von 1-Alkyl-3-aryltriazenen aus Aryldiazoniumverbindungen und Alkylaminen in Lösung. A und B kennzeichnen die beiden Tautomeren.

Bei Raumtemperatur ist Tautomer A (Abb. 19) deutlich begünstigt. Gleiches gilt für in *para*-Stellung elektronenakzeptorsubstituierte Alkylaryltriazenen. Das Gleichgewicht zwischen den beiden Tautomeren wird auch durch das Lösungsmittel beeinflusst. Die Natur des Alkylrestes hat dagegen einen vernachlässigbaren Einfluss auf das Gleichgewicht [Lai89, Kel82].

¹ In früheren Veröffentlichungen werden Triazene auch als Diazoamino- bzw. Diazoamidoverbindungen bezeichnet.

Aromatische Triazene sind meist feste, kristalline, farblose bis orangefarbige Verbindungen. Sie sind bei Raumtemperatur stabil, zersetzen sich aber beim Erhitzen oft explosionsartig [Eng90].

Unter basischen Bedingungen sind aromatische Triazene stabil, zerfallen jedoch rasch unter der Einwirkung von Säuren [Wal86]. Dabei kommen abhängig von der Struktur des Triazens unterschiedliche Mechanismen zum Tragen. Diaryltriazen sowie 1-Aryl-3,3-dialkyltriazen zerfallen unter (Rück-)Bildung der Aryldiazoniumverbindung und der entsprechenden Anilinium- bzw. Dialkylammoniumverbindung. Mit Halogenwasserstoffsäuren entstehen in einer Sandmeyer-ähnlichen Reaktion die entsprechenden Arylhalogenide [Mer88, Fos80].

1-Alkyl-3-aryltriazen sind bereits Anfang der 60er Jahre als reaktive und milde Alkylierungsreagenzien beschrieben worden [Whi61]. Mit Säuren reagieren sie unter Freisetzung von Stickstoff und Alkylierung des entsprechenden Säureanions. Bei der Umsetzung von 1-Alkyl-3-aryltriazenen mit Carbonsäuren erhält man Carbonsäureester

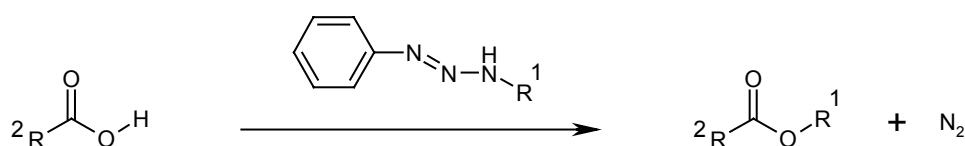


Abb. 20 Alkylierung von Carbonsäuren mit 1-Alkyl-3-aryltriazenen.

Diese Methode zur Veresterung fand in den letzten Jahren in der Lösungssynthese vielfach Verwendung, insbesondere bei empfindlichen Carbonsäuren wie beispielsweise Cephalosporin [Man78]. Sie wurde auch erfolgreich zur Alkylierung vinyloger Carboxygruppen angewendet [Sam89, Dup98]. Einen Überblick über die synthetische Bandbreite von Triazenverbindungen geben Kimball und Haley [Kim02].

Abhängig von der Art des Alkylrestes werden zwei unterschiedliche Reaktionsmechanismen diskutiert [Lai89, Whi69]. Bei der Übertragung von primären Alkylresten liegt demnach ein konzertierter Reaktionsverlauf ohne Ausbildung eines Carbeniumion-Intermediates vor (Abb. 21 (a)). Im Falle von sekundären, tertiären und benzyllischen Alkylgruppen entsteht hingegen intermediär ein Carbenium-Ion, das mit dem Säureanion über ein enges Ionenpaar zum Carbonsäureester reagiert (Abb. 21 (b)).

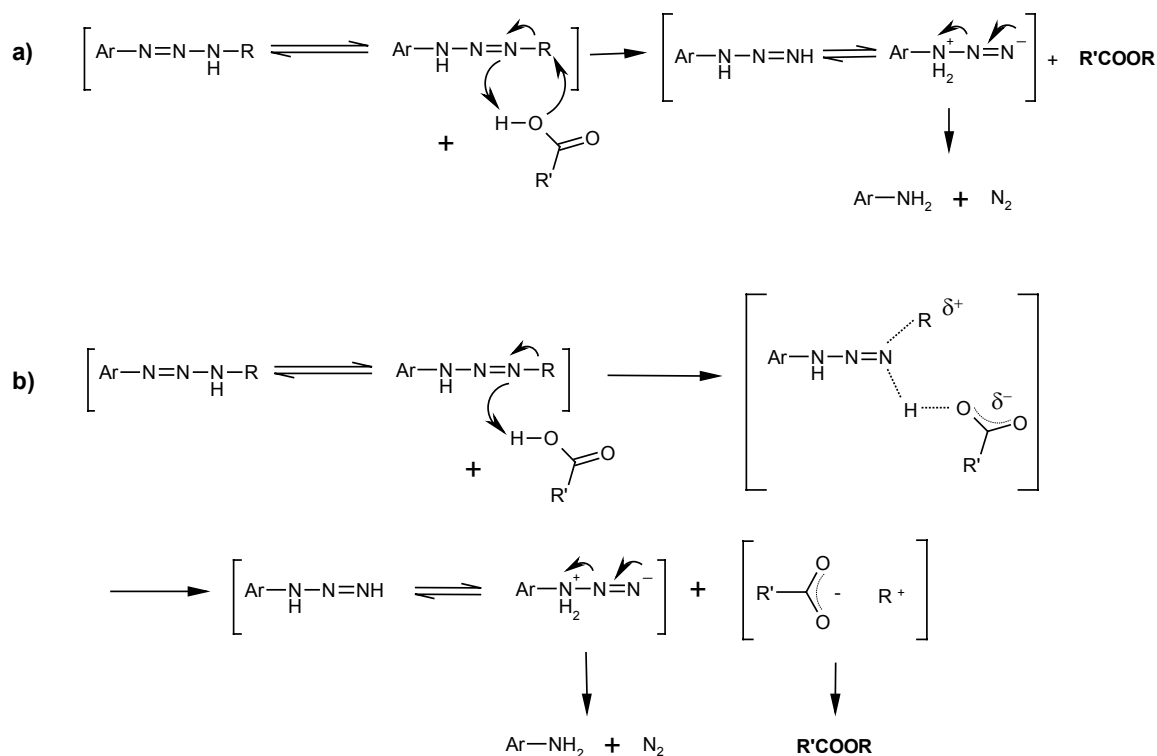


Abb. 21 Reaktionsmechanismen für die Alkylierung von Carbonsäuren: (a) Übertragung primärer Alkylreste: konzertierter Reaktionsverlauf ohne Ausbildung eines Carbenium-Ions. (b) Übertragung von sekundären und tertiären Alkylresten sowie benzylicen Resten: intermediär wird ein Carbenium-Ion ausgebildet, das über ein enges Ionenpaar mit dem Carboxylat-Anion zum Ester reagiert.

Anhand eines Vergleichs der Geschwindigkeitskonstanten für die Umsetzung von *para*-substituierten 1-Alkyl-3-aryltriazenen mit Phenylelessigsäure wurde gezeigt, dass elektronenschiebende *para*-Substituenten wie Methyl- oder Methoxygruppen die Reaktionsgeschwindigkeit erhöhen, während elektronenziehende Reste den gegenteiligen Effekt bewirken [Lai89].

In diesem Teil der vorliegenden Arbeit wird die Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen beschrieben und deren Einsatzbreite in der PASP-Synthese von Carbonsäureestern (Einzelverbindungen und Verbindungskollektionen) untersucht. Weiterhin wurde der Frage nachgegangen, ob sich Alkohole mit polymergebundenen Triazenen alkylieren lassen.

Polymergebundene 1-Alkyl-3-aryltriazene werden im Folgenden als *Alkyltriazene-Harze* bezeichnet.

3.1.2 Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen

Die Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen ging von polymergebundenem *para*-Nitrophenol aus. Anschließend wurde die aromatische Nitrogruppe reduziert und das erhaltene Anilin-Hydrochlorid diazotiert. Die Umsetzung mit aliphatischen Aminen ergab schließlich polymergebundene 1-Alkyl-3-aryltriazene, die zur Alkylierung von Carbonsäuren und anderen Nukleophilen eingesetzt wurden [Rad01, Rad01a].

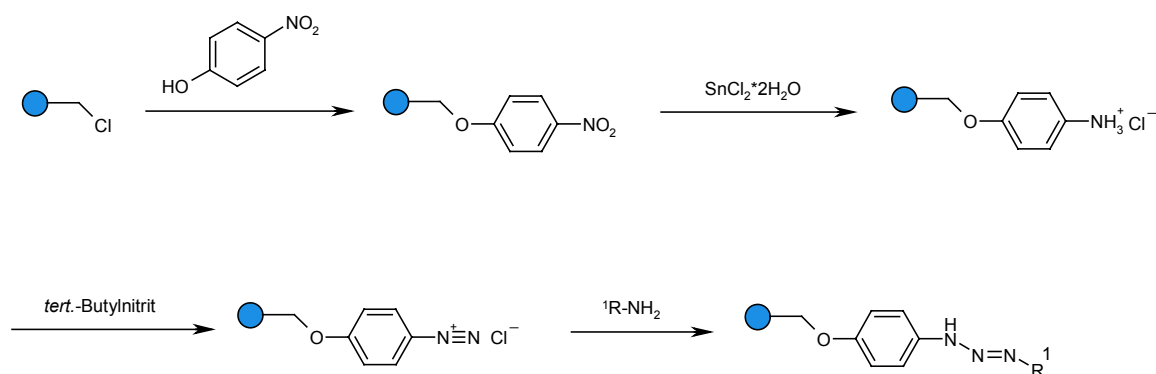


Abb. 22 Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-(*para*-benzyloxyphenyl)triazenen.

Diese Synthesemethode wurde gegenüber der Umsetzung polymergebundener Azide mit Grignard-Reagenzien (Kapitel 3.1.1) bevorzugt, da Amine in deutlich größerer Zahl als Alkyl-Grignard-Verbindungen kommerziell erhältlich sind.

Die Synthese wurde an Merrifield-PS-Harz als polymerem Träger durchgeführt (*para*-chloromethyliertes PS/DVB-Copolymer). Auf diese Weise wurden 1-Alkyl-3-(*para*-benzyloxyphenyl)triazene erhalten, die wie im vorigen Kapitel beschrieben eine besonders hohe Reaktivität gegenüber Säuren besitzen. Darüberhinaus ist der durch Verwendung des Merrifield-Linkers erhaltene Phenylbenzylether sehr temperatur-, basen- und säurebeständig. Letzteres ist im Hinblick auf die Verwendung als polymergebundenes Reagenz zur Umsetzung von Säuren von besonderer Bedeutung, da unter allen Umständen Verunreinigungen durch vom Polymer abgespaltene Verbindungen vermieden werden sollen.

Merrifield-PS-Harz ist in hohen Beladungen (bis etwa 4,5 mmol/g) erhältlich und in der Anschaffung sehr günstig. Dies sind zwei weitere wichtige Gesichtspunkte, die im

Hinblick auf eine Verwendung als polymeres Trägermaterial in der PASP-Synthese von Bedeutung sind.

Die Forderung nach einer Anbindung an das Polymer, die auch gegen starke Säuren stabil ist, machte eine zerstörungsfreie „off-bead“-Analytik der Zwischenprodukte der Triazensynthese unmöglich. Deshalb erfolgte ein Synthesemonitoring mit Hilfe der FT-ATR-IR-Spektroskopie. Die IR-Analytik der Reaktionszwischenstufen und des Endproduktes werden in Kapitel 3.1.3 ausführlich diskutiert, in den beiden folgenden Abschnitten werden deshalb nur die synthetischen Aspekte behandelt.

Darstellung von harzgebundenem *para*-Benzyloxyanilin

Im ersten Schritt der Synthese wurde durch Anbindung von *para*-Nitrophenol an Merrifield-PS-Harz ein immobilisierter Benzyl-(*para*-nitrophenyl)ether erzeugt. Versuche zur Anbindung von *para*-Aminophenol führten vermutlich wegen der hohen Oxidationsempfindlichkeit dieser Verbindung zu keinem zufriedenstellenden Ergebnis. *meta*-Aminophenol, das von Bräse et al. zur Triazensynthese verwendet wurde, lässt sich zwar gut immobilisieren, jedoch geht hierbei der Vorteil der hohen Reaktivität *para*-alkyloxysubstituierter Triazene verloren [Brä00].

Zur Darstellung eines immobilisierten Benzyl-(*para*-nitrophenyl)ethers bieten sich verschiedene Möglichkeiten an, unter anderem die Anbindung von *para*-Nitrophenol an Hydroxymethyl-Harz unter Mitsunobu-Bedingungen (PPh₃, DEAD/DIAD) oder an Merrifield-Harz mit Natriumhydrid als Base. Die Methode der Wahl war die Immobilisierung eines fünffachen Überschusses *para*-Nitrophenol an Merrifield-Harz mit Cäsiumcarbonat (2 eq.) in DMF bei 80 °C für 3 h. Cäsiumcarbonat erzeugt das *para*-Nitrophenolatanion, das anschließend das Chlor nukleophil substituiert. Die Reaktion wurde FT-ATR-IR-spektroskopisch verfolgt. Bei einer Reaktionszeit von drei Stunden wurde eine quantitative Harzbeladung erhalten, was durch Stickstoff-Elementaranalyse bestätigt wurde. Diese Reaktion ist eine in der Festphasensynthese etablierte Methode, die zudem den Vorteil hat, dass die Gasentwicklung nicht so stark ausfällt wie bei Verwendung von Natriumhydrid als Base. Im letzteren Fall entweicht nach Abstraktion des phenolischen Protons Wasserstoff, was ein starkes Aufschäumen der Reaktionslösung insbesondere bei hohen Harzbeladungen zur Folge hat.

Überschüssiges Cäsiumcarbonat wurde nach Beendigung der Reaktion durch zweimaliges Behandeln des Harzes mit DMF/AcOH (3:1; v:v) für jeweils 2 min entfernt. Die Reduktion der aromatischen Nitrogruppe erfolgte mit einem hohen Überschuss Zinnchlorid-Dihydrat (2 M in DMF oder THF). Die Wahl des Lösungsmittels hatte keinen messbaren Einfluss auf den Verlauf der Reaktion. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Reduktion in DMF bei Raumtemperatur für 18 h durchgeführt (Abb. 23).

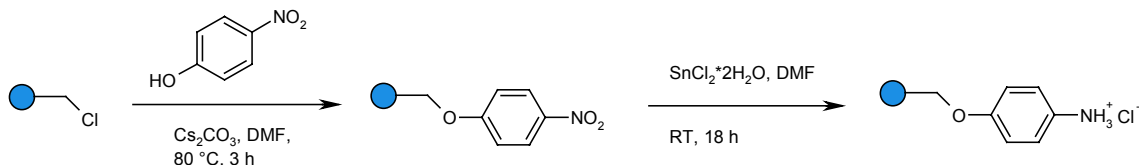


Abb. 23 Darstellung von harzgebundenem *para*-Benzyloxylanilin.

Nach der Reduktion lag ein polymergebundenes Anilin-Hydrochlorid vor. Bei der Diazotierung wird zur Erzeugung des Nitrosyl-Kations aus *tert.*-Butylnitrit ein Äquivalent Säure benötigt, das im Anilin-Hydrochlorid bereits vorliegt. Aus diesem Grund wurde kein basischer Waschriff zur Freisetzung der aromatischen Aminofunktion an die Reduktion angeschlossen.

Diazotierung und Umsetzung zu 1-Alkyl-3-(*para*-benzyloxyphenyl)triazenen

Die Diazotierung aromatischer Amine erfolgt in Lösung in der Regel mit Natriumnitrit in salzsaurer Lösung. In der Festphasenchemie verwendet man wegen der schlechten Löslichkeit von Natriumnitrit in organischen Solventien üblicherweise organische Salpetrigsäureester wie *tert.*-Butylnitrit. Der erste Schritt ist auch hier die säureinduzierte Freisetzung des Nitrosylkations, das die aktive Spezies bei der Diazotierung darstellt. Bräse et al. diazotierten immobilisierte Arylamine mit *tert.*-Butylnitrit unter Zugabe von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ zu den entsprechenden Aryldiazoniumtetrafluorboraten [Brä00]. Im Anilin-Hydrochlorid liegt ein Äquivalent Salzsäure bereits gebunden vor, sodass auf eine Säurezugabe bei der Diazotierung verzichtet werden konnte. Die Diazotierung des polymergebundenen Anilin-Hydrochlorids wurde mit einem zehnfachen Überschuss *tert.*-Butylnitrit in DCM durchgeführt.

Zur Verbesserung des Umsetzungsgrades bei der Diazotierung wurden verschiedene Experimente durchgeführt. Zum einen wurde der Diazotierung ein saurer Waschriff

mit HCl (4 M in Dioxan) vorgeschaltet. Damit sollte eventuell vorliegendes freies Anilin zum Anilin-Hydrochlorid umgesetzt werden. Zum anderen wurde HCl (4 M in Dioxan) zum Diazotierungsgemisch gegeben. Ein Kontrollansatz wurde ohne sauren Waschschrift oder Säurezugabe durchgeführt. Nach Diazotierung wurde das Harz sorgfältig gewaschen und mit Methylamin (2 M in THF) direkt zu Methyltriazen-Harz umgesetzt. Vom gewaschenen und getrockneten Harz wurde mittels Stickstoff-Elementaranalyse die Ausbeute an Methyltriazen bestimmt. Es hat sich jedoch keine reproduzierbare Verbesserung der Triazen-Ausbeute durch die Säurezugabe bei der Diazotierung ergeben, sodass im Weiteren darauf verzichtet wurde.

Aufgrund der Exothermie der Diazotierungsreaktion und die vergleichsweise geringe thermische Stabilität von Diazoniumchloriden im Vergleich zu Diazoniumtetrafluoroboraten wurde die Reaktion unter Kühlung durchgeführt [Col99]. Diazotierungsversuche bei Raumtemperatur führten zur Zersetzung des Substrats, was deutlich am Entweichen von Stickstoff erkennbar war. Zur Diazotierung wurde das Harz in DCM gequollen, die Suspension auf $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und vorgekühltes *tert.*-Butylnitrit zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 0,5 h bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ und im Anschluss 2,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt (Abb. 24).

Die Diazoniumverbindung wurde im Anschluss an einen letzten Waschschrift mit wasserfreiem THF bei Raumtemperatur mit einer Lösung des entsprechenden Amins in THF zum Alkyltriazen-Harz umgesetzt. Die Amine wurden in 15fachem Überschuss eingesetzt.

Im Allgemeinen verläuft die Triazen-Bildung sehr schnell, jedoch war bei Verwendung von Methylamin in einigen Fällen eine verlängerte Reaktionszeit zur vollständigen Umsetzung erforderlich. Um einheitliche Reaktionsbedingungen zu gewährleisten, wurde generell eine Reaktionszeit von 18 h eingehalten. Das Reaktionsschema der Diazotierung und der nachfolgenden Umsetzung mit Aminen zu Alkyltriazen-Harz ist in Abb. 24 gezeigt.

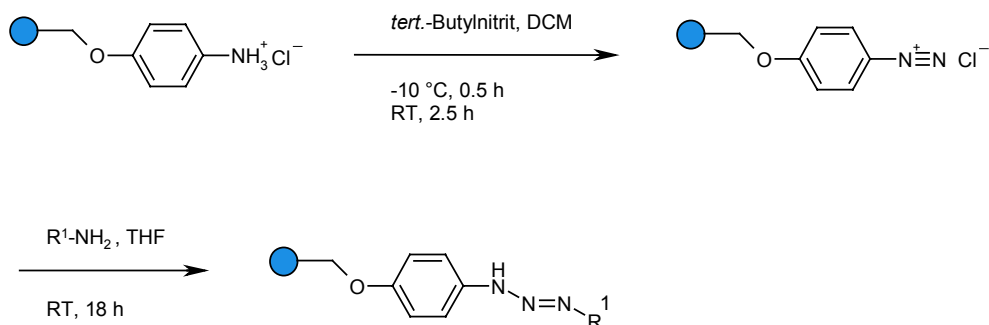


Abb. 24 Diazotierung und Umsetzung mit aliphatischen Aminen zu 1-Alkyl-3-(*para*-benzyloxyphenyl)triazenen.

Die Beladungsbestimmung der gewaschenen und vom Lösungsmittel befreiten Alkyltriazen-Harze erfolgte durch Stickstoff-Elementaranalyse. Zur Berechnung der veränderten Harzbeladung nach einem Reaktionsschritt vgl. Kapitel 8.1.

Die Ergebnisse der Synthese von Methyl-, *n*-Butyl-, *tert.*-Butyl- und Benzyltriazen auf Merrifield-Harz mit einer Ausgangsbeladung von 1,07 mmol/g sind in Tab. 3 gezeigt.

Die Synthese auf Merrifield-Harzen mit höheren Ausgangsbeladungen wird in Kapitel 3.1.3 beschrieben.

Tab. 3 Ergebnisse der Triazensynthese auf Merrifield-Harz (1,07 mmol/g) Die Werte in Klammern geben jeweils die theoretisch mögliche Maximalbeladung an.

Pos.	Alkylrest	Harzbeladung Alkyltriazen-Harz [mmol/g] *	Ausbeute an Triazen [%] **
1	Methyl	0,69 (0,95)	72
2	<i>n</i> -Butyl	0,6 (0,92)	65
3	<i>tert.</i> -Butyl	0,37 (0,92)	40
4	Benzyl	0,64 (0,89)	71

* Bestimmt durch Stickstoff-Elementaranalyse

** Bezogen auf die Ausgangsbeladung des Harzes mit Chlor

3.1.3 „On-bead“ Synthesemonitoring mit FT-ATR-IR-Spektroskopie

Da eine zerstörungsfreie Abspaltung von Synthese-Zwischenprodukten bei der Darstellung von Alkyltriazen-Harz nicht möglich war, wurde die gesamte Synthesesequenz mit Hilfe der FT-ATR-IR-Spektroskopie „on-bead“ verfolgt. In Abb. 25 sind die IR-Spektren der Reaktionssequenz gezeigt.

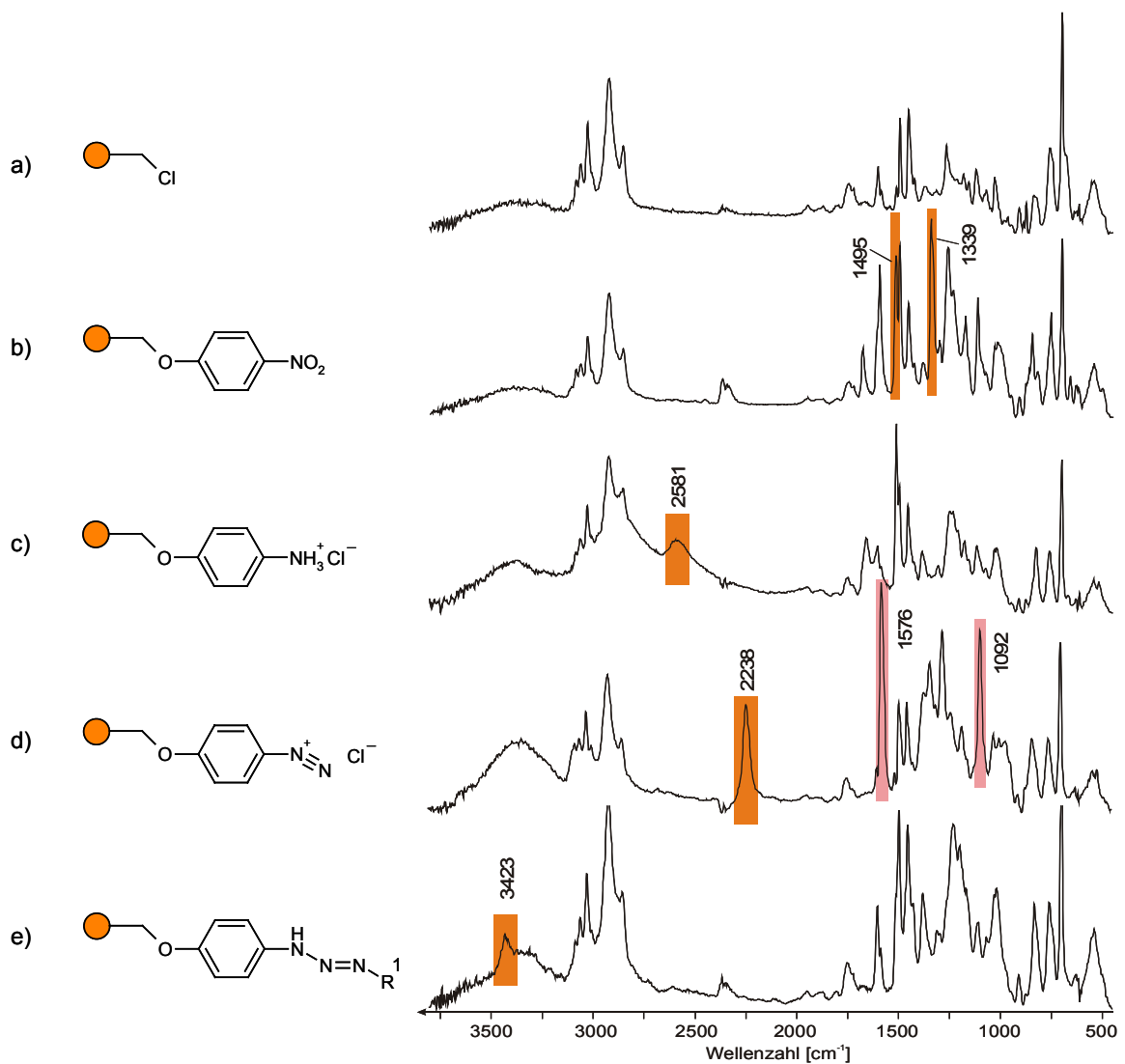


Abb. 25 „On-bead“ Synthesemonitoring der Reaktionssequenz zur Darstellung von Methyltriazen-Harz mit FT-ATR-IR-Spektroskopie. Die für einen Reaktionsschritt charakteristischen Schwingungsbanden sind jeweils grau unterlegt.

Abb. 25 (a) zeigt das Spektrum von unbelegtem Merrifield-PS-Harz mit einer Ausgangsbeladung von 1,7 mmol/g.

Spektrum (b) gehört zu polymergebundenem *para*-Nitrophenol. Die charakteristischen Absorptionsbanden sind die der aromatischen Nitrogruppe bei $\nu = 1339$ und 1495 cm^{-1} .

Im IR-Spektrum (c) von harzgebundenem *para*-Benzyloxyanilin-Hydrochlorid erkennt man die breite Bande der $-\text{NH}_3^+$ -Absorption bei $\nu = 2581 \text{ cm}^{-1}$. Das Fehlen der charakteristischen Absorptionen der symmetrischen und der asymmetrischen Valenzschwingung der N-O-Bindung bei $\nu = 1339$ und 1495 cm^{-1} zeigt die Vollständigkeit der Reduktion an.

Nach der Diazotierung sieht man in Spektrum (d) die isoliert auftretende $-\text{N}_2^+$ -Absorptionsbande bei $\nu = 2238 \text{ cm}^{-1}$. Gleichzeitig erkennt man das Auftreten zweier intensiver Banden bei $\nu = 1576$ und 1092 cm^{-1} . Diese Banden deuten auf eine unvollständige Diazotierung hin. Es handelt sich vermutlich um die Banden der N=O- sowie der N-N-Streckschwingung der bei unvollständiger Reduktion auftretenden *N*-Nitrosoverbindung. Vermutlich kondensiert die *N*-Nitrosoverbindung mit dem Amin zum Triazen, sodass diese unvollständige Diazotierung nicht zu einem Ausbeuteverlust führt.

Die erfolgreiche Umsetzung zu Methyltriazen-Harz erkennt man in Spektrum (e) zum einen am Verschwinden der $-\text{N}_2^+$ -Absorptionsbande und zum anderen am Auftreten der Bande der N-H-Schwingung bei $\nu = 3423 \text{ cm}^{-1}$.

3.1.4 Variation der Harzbeladung und der Aminkomponente

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse vorgestellt, die bei Variation der Ausgangsbeladung des Syntheseharzes sowie bei Variation der Amin-Komponente im letzten Schritt der Alkyltriazen-Harz-Synthese erhalten wurden.

Eine Steigerung der Harzbeladung ist insbesondere aus ökonomischen Gründen (mehr reaktive Zentren bezogen auf die gleiche Harzmenge) wünschenswert. Versuche hierzu wurden an Merrifield-Harzen mit Beladungen zwischen 1,07 und 4,4 mmol/g gemacht. Bei der höchsten untersuchten Ausgangsbeladung von 4,4 mmol/g traten zum einen Probleme mit der Quellbarkeit des Harzes und damit der Zugänglichkeit der reaktiven Zentren im Inneren der Harzkugeln für das Reagenz auf. Auch wurden keine reproduzierbaren Diazotierungs-Ergebnisse mehr erhalten. Nach Zugabe von *tert.*-

Butylnitrit wurde eine heftige Gasentwicklung beobachtet, die auf eine Zerstörung der Diazoniumverbindung hindeutete. Offenbar wurde durch die hohe Beladung und die damit verbundene lokale Substratkonzentration soviel Reaktionswärme frei, dass trotz Kühlung eine Zerstörung der Diazoniumverbindung unter Freisetzung von Stickstoff erfolgte. Auch die Durchführung der Diazotierung bei noch tieferen Temperaturen, eine portionsweise Zugabe von *tert.*-Butylnitrit sowie eine Verringerung der *tert.*-Butylnitrit-Konzentration führte zur Zerstörung des Substrates am Harz.

Syntheseversuche auf Harzen mit Belegungen bis etwa 3 mmol/g hingegen waren erfolgreich. Die Ausbeute an Triazen lag sogar noch über derjenigen, die bei Merrifield-Harz mit einer Ausgangsbeladung von 1,07 mmol/g erhalten worden war (vgl. Tab. 3). Die Synthese wurde ohne Modifikation der Vorschrift für niedrig beladenes Merrifield-PS-Harz durchgeführt.

In Tab. 4 sind die Ergebnisse der Methyltriazen-Harz-Synthese an verschiedenen hoch belegten Merrifield-PS-Harzen gezeigt. Bei Merrifield-Harz mit einer Ausgangsbeladung von 2,0 mmol/g wurde mit 94 % die beste Ausbeute erhalten. Bei noch höherer Beladung nahm die Ausbeute wieder ab, was möglicherweise durch die abnehmende Quellbarkeit des Polymers zu erklären ist. Syntheseversuche an hochbeladenem Merrifield-Harz (4,4 mmol/g) führten wie bereits oben beschrieben zu keinem Ergebnis.

Tab. 4 Synthese von Methyltriazen-Harz. Erhaltene Beladungen bei Variation der Ausgangs-Harzbeladung. Die Werte in Klammern geben die jeweils theoretisch mögliche Maximalbeladung an.

Pos.	Ausgangsbeladung des Harzes [mmol/g]	Harzbeladung Methyltriazen-Harz [mmol/g] *	Ausbeute an Triazen [%] **
1	1,07	0,69 (0,95)	72
2	1,40	0,88 (1,24)	71
3	1,70	1,23 (1,42)	87
4	2,00	1,54 (1,63)	94
5	2,60	1,69 (1,98)	85
6	2,99	1,88 (2,23)	84
7	4,40	--- (2,93)	---

* Bestimmt durch Stickstoff-Elementaranalyse

** Bezogen auf die Ausgangsbeladung des Harzes

In Tab. 5 sind die Ergebnisse der Alkyltriazen-Harz-Synthese bei Variation der Aminkomponente gezeigt. Auch hier wurde mit Merrifield-Harzen unterschiedlicher Ausgangsbeladung gearbeitet. In der Tabelle sind die jeweils besten Ergebnisse für die verschiedenen Amine aufgeführt.

Tab. 5 Synthese von Alkyltriazen-Harzen. Erhaltene Beladungen bei Variation der Aminkomponente. Die Werte in Klammern geben jeweils die theoretisch mögliche Maximalbeladung an.

Pos.	Alkylrest	Ausgangsbeladung des Harzes [mmol/g]	Alkyltriazen- Harzbeladung [mmol/g] *	Ausbeute an Triazen [%] **
1	Methyl	2,00	1,54 (1,63)	94
2	<i>n</i> -Butyl	1,70	1,21 (1,34)	90
3	<i>tert.</i> -Butyl	1,07	0,37 (0,92)	40
4	<i>n</i> -Dodecyl	1,07	0,53 (0,83)	64
5	<i>n</i> -Pentadecyl	2,90	1,02 (1,53)	67
6	<i>n</i> -Octadecyl	1,07	0,51 (0,78)	65
7	Allyl	2,00	0,96 (1,60)	60
8	Benzyl	2,99	1,68 (1,90)	88
9	2-Phenylethyl	2,99	1,64 (1,85)	89
10	Cyclopropyl	2,99	1,52 (2,0)	76
11	13-Amino-4,7,10-trioxa-1-tridecyl	2,00	0,84 (1,24)	68
12	4-Amino-1-butyl	2,00	1,30 (1,49)	87
13	2-(2-Pyridyl)ethyl	2,00	1,39 (1,42)	98
14	2-(1-Pyrrolidinyl)ethyl	2,99	1,64 (1,88)	87
15	2-(<i>N,N</i> -Diethylamino)ethyl	2,00	1,34 (1,43)	94
16	2-(1-Morpholinyl)ethyl	2,99	1,66 (1,79)	93

* Bestimmt durch Stickstoff-Elementaranalyse

** Bezogen auf die Ausgangsbeladung des Harzes

Bei den hier beschriebenen Triazensynthesen wurde die oben beschriebene Vorschrift ohne Modifikation übernommen. Lediglich beim letzten Syntheseschritt, der Umsetzung der polymergebundenen Aryldiazoniumverbindung mit dem jeweiligen Amin, wurde für Amine, die in reinem DCM nicht oder nur schlecht löslich sind, bis zu 20 Vol-% MeOH bzw. THF zugegeben. Bei Umsetzungen mit langkettigen Alkylaminen erfolgte nach der Synthese ein ausgiebiger Waschschrift im Lösungsmittel des letzten Reaktionsschrittes, um ein restloses Auswaschen des Amins aus dem Harz zu gewährleisten. Die eingesetzten Diamine mit zwei primären Aminofunktionen – 1,4-Diaminobutan sowie 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridecan – wurden in 40fachem Überschuss verwendet, um eine Quervernetzung zu verhindern. In den entsprechenden Alkylierungsprodukten müsste man im Falle einer Quervernetzung zweifach acylierte Produkte finden (Abb. 26). Dies war nicht der Fall, eine Quervernetzung hat also nicht stattgefunden.

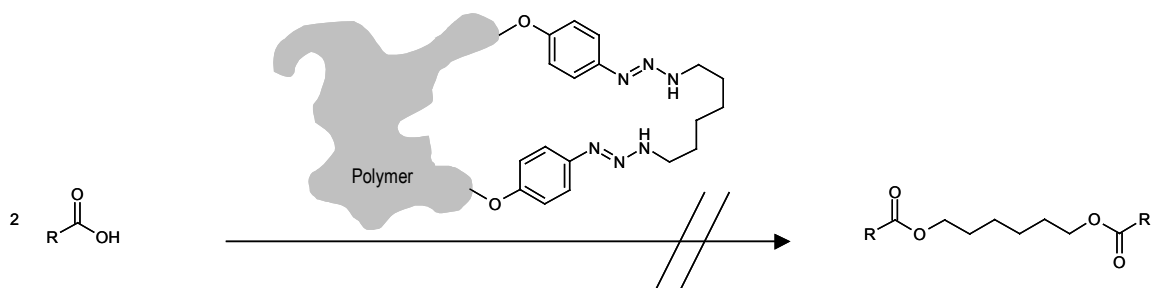


Abb. 26 Eine zweifache Acylierung, wie sie im Falle von Quervernetzung bei der Triazensynthese mit Diaminen zu erwarten wäre, ist nicht zu beobachten.

Upscaling der Synthese von Alkyltriazen-Harzen

Die in den vorigen Abschnitten beschriebene Synthese beschränkte sich auf Ansatzgrößen bis maximal 1 mmol Triazen. In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse beschrieben, die beim Upscaling der Synthese von Alkyltriazen-Harzen auf bis zu 25 mmol erhalten wurden. Beispielsweise ergab die Synthese von Methyltriazen-Harz ausgehend von 10,00 g Merrifield-Harz (2,58 mmol/g) 11,82 g Methyltriazen-Harz (91 %) mit einer Beladung von 1,69 mmol/g. Die Versuchsvorschrift konnte hierfür nahezu unverändert übernommen werden. Lediglich der saure Waschschrift nach der Harzbelegung zum Entfernen von überschüssigem Cs_2CO_3 wurde unter Zugabe von Eisessig zur Reaktionslösung und Rühren für 0,5 h durchgeführt. Bei der Diazotierung musste zudem darauf geachtet werden, dass eine gute Abführung der Reaktionswärme

gewährleistet war, da in erheblich größeren Volumina gearbeitet wurde. Die Kühlung wurde bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ in einer Eis/Kochsalz-Mischung durchgeführt, und auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ vorgekühltes *tert.*-Butylnitrit wurde so langsam zur Reaktionsmischung gegeben, dass zu keiner Zeit eine Erwärmung des Reaktionsgemisches stattfand. Danach wurde die Temperatur noch für 0,5 h bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gehalten und anschließend langsam durch Entfernen der Kältemischung auf Raumtemperatur erwärmt. Die erhaltenen Ausbeuten an Triazen – bestimmt durch Stickstoff-Elementaranalyse – waren vergleichbar mit den im Milligramm-Maßstab erhaltenen und sind in Tab. 6 aufgeführt.

Tab. 6 Alkyltriazen-Harz-Synthese an Merrifield-PS-Harz (2,58 mmol/g) im Gramm-Maßstab. Die Werte in Klammern geben jeweils die theoretisch mögliche Maximalbeladung an.

Pos.	Alkylrest	Alkyltriazen-Harzbeladung [mmol/g] *	Ausbeute an Triazen [%] **
1	Methyl	1,69 (1,99)	85
2	Ethyl	1,48 (1,93)	77
3	<i>n</i> -Butyl	1,57 (1,84)	85
4	<i>n</i> -Dodecyl	1,49 (1,52)	>95
5	Allyl	1,54 (1,93)	80
6	Benzyl	1,41 (1,73)	82
7	4-Amino-1-butyl	1,37 (1,78)	77
8	13-Amino-4,7,10-trioxa-1-tridecyl	1,17 (1,54)	76
9	2-(<i>N,N</i> -Diethylamino)ethyl	1,46 (1,70)	86

* Bestimmt durch Stickstoff-Elementaranalyse

** Bezogen auf die Ausgangsbeladung des Harzes

3.1.5 Lagerfähigkeit von Alkyltriazen-Harz

Zur Bestimmung der Lagerfähigkeit von Alkyltriazen-Harzen wurde von Alkyltriazen-Harzen nach verschiedenen Lagerzeiten unter unterschiedlichen Bedingungen die Beladung bestimmt. Alle Proben wurden unter Lichtausschluss aufbewahrt, da Triazene photolabil sind [Eng90]. In Tab. 7 ist die Abnahme der Beladung verschiedener Chargen Alkyltriazen-Harz dokumentiert. Langzeituntersuchungen zur Lagerung bei 4 °C stehen noch aus. Nach neun Monaten Lagerung ist für Methyltriazen-Harz zwischen Lagerung bei Raumtemperatur und 4 °C kein signifikanter Unterschied in der Beladungsabnahme zu erkennen (Pos. 1 und Pos. 5 in Tab. 7). Diese Beobachtung steht im Einklang mit früheren Untersuchungen zur Temperaturstabilität von Triazenen [Eng90]. Lichtausschluss ist bei der Lagerung deutlich wichtiger als Kühlung.

Weiterhin wurde beobachtet, dass die Dauer der Lagerung keinen Einfluss auf die Reinheit der Alkylierungsprodukte hatte.

Tab. 7 Abnahme der Beladung von Alkyltriazen-Harzen nach Lagerung bei Raumtemperatur.

Pos.	Alkylrest	Temperatur [°C]	Dauer der Lagerung	Beladung nach Synthese [mmol/g]*	Beladung nach Lagerung [mmol/g]*
1	Methyl	RT	9 Monate	0,88	0,84 (95 %)
2	Methyl	RT	12 Monate	1,05	0,82 (78 %)
3	Methyl	RT	18 Monate	1,49	0,95 (64 %)
4	Methyl	RT	30 Monate	1,13	0,71 (63 %)
5	Methyl	4 °C	9 Monate	1,69	1,58 (94 %)
6	Allyl	4 °C	9 Monate	1,54	1,23 (80 %)
7	Benzyl	4 °C	9 Monate	1,41	1,31 (93 %)

* Bestimmt durch Stickstoff-Elementaranalyse

3.2 Alkyltriazen-Harz als Alkylierungsreagenz in der PASP-Synthese

Nachdem im letzten Kapitel ausführlich auf die Ausarbeitung der Synthesevorschrift für Alkyltriazen-Harz eingegangen und die Ergebnisse für unterschiedliche Harzbeladungen sowie bei Variation der Aminkomponente vorgestellt wurden, behandelt dieses Kapitel die Verwendung von Alkyltriazen-Harz als Alkylierungsreagenz in der PASP-Synthese (Abb. 27).

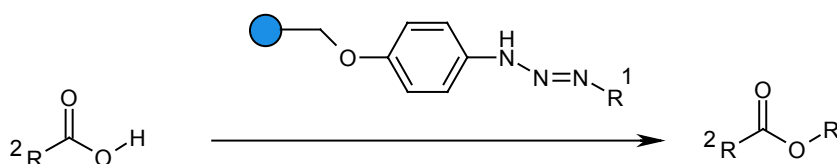


Abb. 27 Alkylierung von Carbonsäuren mit Alkyltriazen-Harz.

Zunächst wird anhand ausgewählter Beispiele die Optimierung der Reaktionsbedingungen beschrieben. Nach einer Beschreibung der Kinetik der Methylierungsreaktion wird gezeigt, dass die vorgestellte Methode bei der Übertragung primärer Alkylreste isomerisierungsfrei verläuft. Es folgen die Ergebnisse der Alkylierung ausgewählter Carbonsäuren sowie Abschnitte über Aminosäure- und Peptidderivatisierung. Ein abschließendes Kapitel beschäftigt sich mit der Alkylierung kombinatorischer Substanzkollektionen. Alle Rohprodukte wurden aus *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1) gefriergetrocknet und mit HPLC analysiert. Durch Vergleich der Peakflächen bei einer Detektionswellenlänge von $\lambda = 214$ nm wurde die Produktreinheit bestimmt. Anhand ausgewählter Beispiele erfolgte die Produktidentifikation NMR-spektroskopisch sowie durch ES-(FTICR)-MS, EI-MS oder MALDI-MS.

3.2.1 Alkylierung von Carbonsäuren

Zur Alkylierung von Carbonsäuren wurde eine Lösung der entsprechenden Carbonsäure in DCM, DCM/MeOH (bis 20 Vol-% MeOH) oder DCM/THF (beliebiges Verhältnis) zum Alkyltriazen-Harz gegeben. Die Bildung von Stickstoff während der Reaktion zeigt das Fortschreiten der Reaktion an. Für die Optimierung der Reaktionsbedingungen musste den unterschiedlichen Reaktivitäten der Triazene Rechnung getragen werden. Methyltriazen-Harz beispielsweise hat sich als deutlich reaktiver als Allyl- oder Benzyltriazen-Harz erwiesen. Um eine einheitliche Reaktionsführung definieren zu können, wurden in Bezug auf eingesetzte Äquivalente und Reaktionsdauer jeweils die Werte für das unreaktivste Triazen als Bezugsgröße genommen.

Bei den Säurekomponenten musste die deutlich geringeren Reaktivität von Aminosäuren im Vergleich zu „normalen“ Carbonsäuren sowie die Tatsache, dass bei langen Reaktionszeiten Nebenprodukte auftraten, berücksichtigt werden. Die Alkylierung von Aminosäuren und Peptiden wird in Kapitel 3.2.1.5 ausführlich behandelt.

3.2.1.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen

Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen wurden sowohl die eingesetzten Überschüsse als auch die Reaktionszeit für verschiedene Alkyltriazen-Harz systematisch variiert. Als Säurekomponente wurden Benzilsäure und 4-Nitrophenylessigsäure verwendet. Diese Säuren haben sich beide als sehr reaktiv bei der Umsetzung mit Triazenen gezeigt.

Variation des Alkyltriazen-Harz-Überschusses

Methyltriazen- und Benzyltriazen-Harz wurden in verschiedenen Überschüssen mit einer Lösung von Benzilsäure (1 m in DCM) versetzt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch Abfiltrieren der Reaktionslösung beendet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Durch Vergleich der HPLC-Peakflächen von Edukt und Produkt wurde der Umsetzungsgrad bestimmt. In Tab. 8 sind die bei Variation der eingesetzten Äquivalente an Methyl- bzw. Benzyltriazen-Harz zur Alkylierung von Benzilsäure erhaltenen Ergebnisse gezeigt. Die „krummen“ Äquivalente-Werte in Pos. 5 – 9 erklären sich durch

eine lagerungsbedingte Abnahme der Harzbeladung. Die Beladung wurde nach erfolgter Reaktionsoptimierung elementaranalytisch neu bestimmt.

Tab. 8 Optimierung der Alkyltriazen-Harz-Äquivalente am Beispiel der Alkylierung von Benzilsäure. Die Reinheiten sind HPLC-Reinheiten ($\lambda = 214$ nm).

Pos.	Methyltriazen-Harz-Äquivalente	Ester / Säure HPLC [%]	Pos.	Benzyltriazen-Harz-Äquivalente	Ester / Säure HPLC [%]
1	1,25	52 / 48	5	0,93	18 / 81
2	1,5	57 / 42	6	1,86	38 / 61
3	1,75	74 / 24	7	1,78	61 / 38
4	2	100 / 0	8	3,72	72 / 26
			9	4,65	87 / 9
			10	5	95 / 0

Während ein zweifacher Überschuss Methyltriazen-Harz (Pos. 1 – 4) bereits eine quantitative Umsetzung brachte, waren im Falle des weniger reaktiven Benzyltriazen-Harz fünf Äquivalente zur vollständigen Umsetzung nötig (Pos. 5 – 10).

Für weniger reaktive Säurekomponenten war auch bei Verwendung von Methyltriazen-Harz mit einem zweifachen Überschuss noch keine quantitative Umsetzung erreicht. So ergab die Umsetzung von 4-Nitrobenzoesäure mit einem zweifachen Überschuss Methyltriazen-Harz ein Gemisch aus Säure (24 %) und Ester (75 %). Eine Erhöhung des Überschusses auf fünf Äquivalente ergab das Produkt 4-Nitrobenzoesäuremethylester in 97 % HPLC-Reinheit.

Da eine einheitliche Reaktionsvorschrift ausgearbeitet werden sollte, die den unterschiedlichen Reaktivitäten sowohl der Triazene als auch der Säuren Rechnung trägt, wurden in den folgenden Experimenten jeweils fünf Äquivalente Alkyltriazen-Harz eingesetzt.

Variation der Reaktionszeit

Der eingesetzte Triazen-Überschuss hat einen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Aus diesem Grund wurde die Reaktionszeit für fünffachen Überschuss an Alkyltriazen-Harz optimiert. Die Optimierung wurde mit 4-Nitrophenylelessigsäure in DCM durchgeführt. Die Substratkonzentration betrug 1 mg/ml. Die Aufarbeitung der

Reaktionsmischung und die Ermittlung des Umsetzungsgrades erfolgte wie im vorigen Abschnitt beschrieben. Die Alkylierung mit *n*-Alkyltriazen-Harzen verläuft deutlich schneller als die Übertragung von Resten wie Allyl oder Benzyl. Auch der pK_s-Wert der zu alkylierenden Säure hat einen merklichen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Die Methylierung von 4-Nitrophenyl-essigsäure war bereits nach zwei Stunden beendet, während die Benzylierung derselben Säure erst nach 16 h abgeschlossen war. Im Folgenden wurde generell eine Reaktionsdauer von 16 h eingehalten. Bei der Alkylierung von Aminosäuren und Peptiden wurde ein zehnfacher Überschuss Triazen-Harz verwendet. Dadurch konnte in diesen Fällen die Reaktionszeit auf 8 h verringert werden. Hierauf wird in Kapitel 3.2.2.1 genauer eingegangen.

3.2.1.2 Kinetische Untersuchungen der Methylierung

Anhand der Umsetzung von 4-Nitrophenylessigsäure mit Methyltriazen-Harz zu 4-Nitrophenylessigsäuremethylester konnte Aufschluss über die Kinetik der Methylierungsreaktion gewonnen werden.

Es wurden parallele Ansätze gemacht, die nach definierten Zeiten durch Filtrieren der Reaktionslösung abgebrochen wurden. Die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte und die Ermittlung des Umsetzungsgrades erfolgte wie in Kapitel 3.2 beschrieben. Die Daten wurden dreifach bestimmt und entsprechend einer Reaktionskinetik erster sowie zweiter Ordnung in einem Diagramm gegen die Reaktionszeit aufgetragen. Die Ergebnisse für eine Kinetik zweiter Ordnung sind als Diagramm in Abb. 28 gezeigt. Die Auftragung des Mittelwertes des Quotienten aus Reaktionszeit und Esterkonzentration gegen die Reaktionszeit zeigt in sehr guter Näherung einen linearen Verlauf. Die Gerade in der Abbildung zeigt den linearen Fit ($R = 0,997$). Dies deutet auf eine Reaktionskinetik zweiter Ordnung hin und bestätigt die von Laila in Lösung gemachten Untersuchungen [Lai89]. Aufgrund der geringen zeitlichen Verzögerung zwischen der Entnahme des Reaktionsgefäßes und dem Abfiltrieren der Reaktionslösung (Beendigung der Reaktion) ist die Ausgleichsgerade keine Ursprungsgerade. Es resultiert aber lediglich eine Parallelverschiebung der Ausgleichsgeraden.

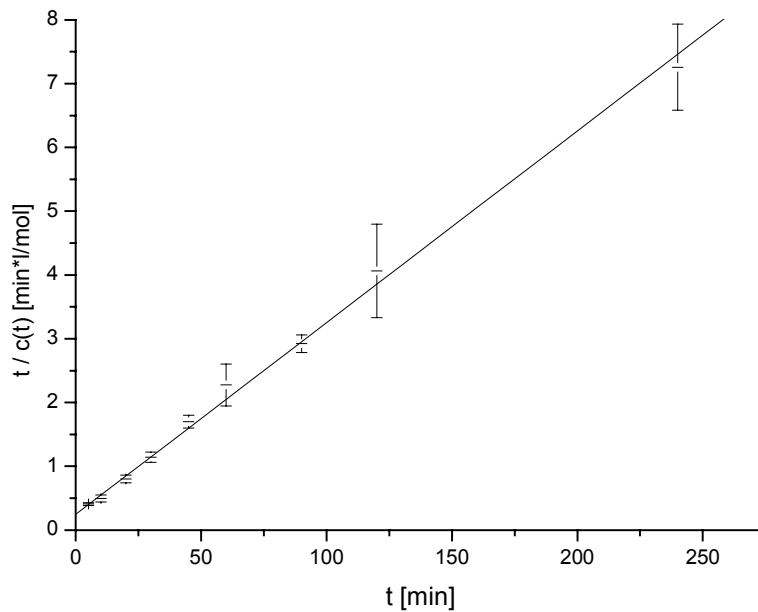


Abb. 28 Die Auftragung des Quotienten aus Reaktionszeit und Esterkonzentration gegen die Reaktionszeit weist auf eine Reaktionskinetik 2. Ordnung hin.

3.2.1.3 Isomerisierungsfreie Übertragung von *n*-Alkylresten

Am Beispiel der Alkylierung von Benzilsäure mit *n*-Butyltriazin-Harz wurde untersucht, ob die Übertragung von primären Alkylgruppen isomerisierungsfrei verläuft, oder ob sich intermediär ein primäres Carbeniumion ausbildet, das über eine Hydridverschiebung zum *sec.*-Butyliumion und eine anschließende Wagner-Meerwein-Umlagerung zum *tert.*-Butyliumion umlagern kann (Abb. 29). Freie *n*-Butyliumionen sind bekanntermaßen extrem instabil, und sie lagern sofort und quantitativ zum *tert.*-Butyliumion um [Smi01]. Somit lässt das erhaltene Produkt Rückschlüsse auf den Reaktionsmechanismus zu.

Der von Laila vorgeschlagene Mechanismus für die Übertragung primärer Alkylreste verläuft konzertiert ohne intermediäre Ausbildung eines Carbeniumions [Lai89]. Entsprechend sollte keine Isomerisierung beobachtet werden können. Träte hingegen eine Isomerisierung auf, so wäre dies ein Hinweis auf einen Reaktionsverlauf, bei dem intermediär ein Carbeniumion entsteht.

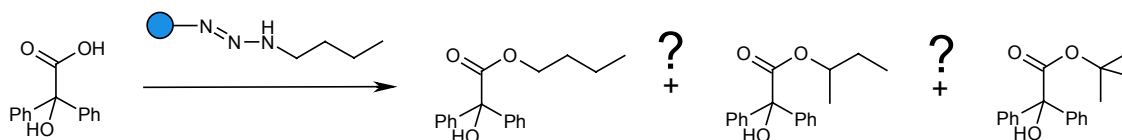


Abb. 29 Darstellung von Benzilsäure-*n*-butylester und mögliche Nebenprodukte durch Isomerisierung eines *n*-Butyliumions.

Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie wurde untersucht, ob es sich um den *n*-Butylester, den *sec.*-Butylester, den *tert.*-Butylester oder ein Gemisch der drei Verbindungen handelt. Als Säurekomponente wurde Benzilsäure ausgewählt. Zum einen verläuft die Umsetzung mit Alkyltriazen-Harzen sehr gut (Tab. 11), und zum anderen liegen im Edukt nur aromatische Protonen vor, deren Signale im ^1H -NMR-Spektrum nicht mit den Signalen des übertragenen Butylrestes überlagern.

Das Rohprodukt der Umsetzung (Ansatzgröße: 50 μM) wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum einmal aus *tert.*-Butylalkohol/ H_2O (4:1, v:v) gefriergetrocknet. Anschließend wurde das Produkt in CDCl_3 aufgenommen und direkt ^1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopisch vermessen. Das ^1H -NMR-Spektrum zeigt eine Produktreinheit >98 % an (Abb. 95 in Kapitel 8.2).

^1H -NMR-Spektrum:

Es handelt sich nicht um ein Produktgemisch, und die vier Signalgruppen aliphatischer Protonen schließen das Vorhandensein eines *tert.*-Butylesters aus, da man in diesem Fall ein einzelnes Singulettsignal erwarten würde.

Sowohl anhand der chemischen Verschiebung als auch über das Aufspaltungsmuster kann eine Aussage zugunsten des *n*-Butylesters getroffen werden. Würde das intermediär entstehende *n*-Butyliumion zum *sec.*-Butyliumion umlagern, so würden im Endprodukt zwei Methyl-, eine Methylen- und eine Methylidengruppe vorliegen – im Gegensatz zu drei Methylen- und einer Methylgruppe im *n*-Butylrest. Die in beiden Fällen erwarteten und die experimentell beobachteten Signalaufspaltungen sind in Tab. 9 aufgeführt. Die beiden mittleren Signale sind in ihrem Aufspaltungsmuster nicht aufzuschlüsseln.

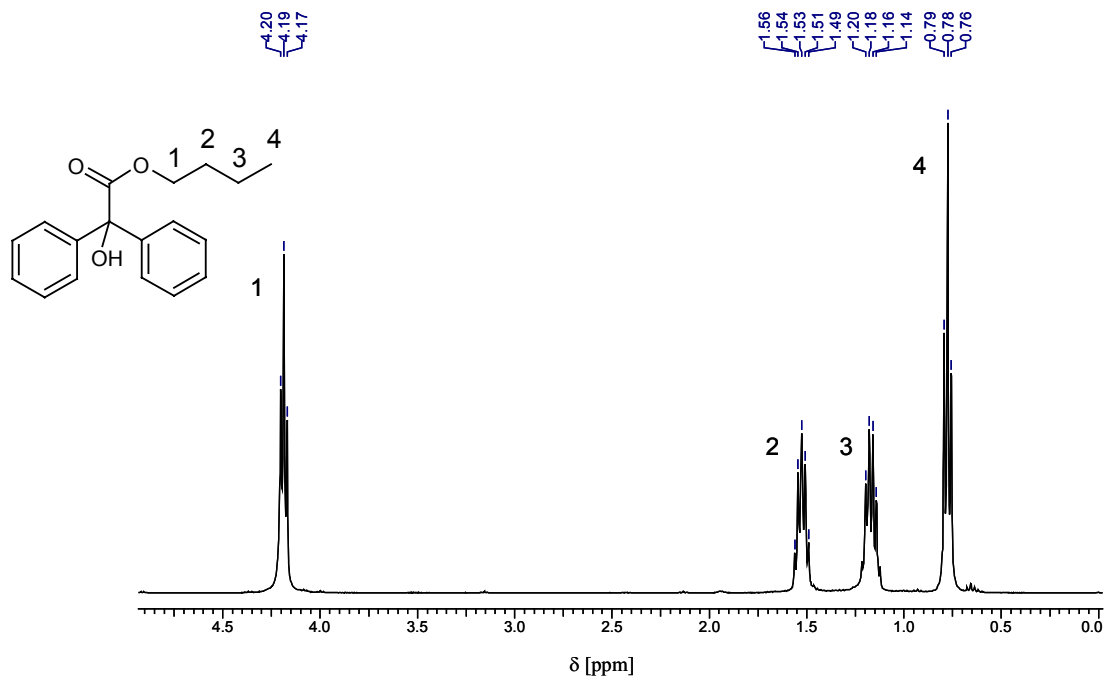


Abb. 30 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Ausschnitt) des Rohproduktes der Umsetzung von Benzilsäure mit *n*-Butyltriazinen-Harz und Zuordnung der Signalgruppen der aliphatischen Protonen.

Tab. 9 Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erhaltene Signale (links) und erwartetes Aufspaltungsmuster für einen *n*-Butyl- (Mitte) und einen *sec.*-Butylrestes (rechts).

erhaltene Signale δ [ppm]	<i>n</i> -Butyl	Aufspaltungsmuster	<i>sec.</i> -Butyl	Aufspaltungsmuster
4,19 (t, 2H)	-CH ₂ -	t	CH ₃ -	d
1,54 (m, 2H)	-CH ₂ -	tt	-CH-	tq
1,19 (m, 2H)	-CH ₂ -	tq	-CH ₂ -	dq
0,78 (t, 3H)	-CH ₃	t	-CH ₃	t

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt anhand der Verschiebungswerte, dem Aufspaltungsmuster der Signale und den Integralverhältnissen, die das Protonenverhältnis widerspiegeln, dass keine Isomerisierung stattgefunden hat. Diese Beobachtung wurde durch das ^{13}C - und das $^{13}\text{C-DEPT135-NMR}$ -Spektrum bestätigt.

^{13}C - und ^{13}C -DEPT135-NMR-Spektren:

Im ^{13}C -Spektrum sieht man vier Signale im Bereich aliphatischer C-Atome (Abb. 95 in Kapitel 8.2), was ebenfalls bestätigt, dass ein einheitliches Produkt vorliegt. Dass es sich um den *n*-Butylester handelt, wurde durch das ^{13}C -DEPT135-NMR-Spektrum bestätigt. Methylen- und Methyl-Kohlenstoffatome zeigen im ^{13}C -DEPT135-NMR-Spektrum ein negatives Signal, während Methylen-Kohlenstoffatome ein positives Signal erzeugen. Quartäre Kohlenstoffatome erzeugen kein Signal. Die drei negativen Signale im Spektrum (Abb. 31) zeigen drei CH_2 -Gruppen an und das positive Signal bei $\delta = 13,92$ ppm eine CH- oder CH_3 -Gruppe, wobei nur das Vorliegen einer CH_3 -Gruppe strukturell Sinn macht. Es handelt sich also sicher um den *n*-Butylester der Benzilsäure. Am Beispiel der *n*-Butylierung von 4-Nitrophenylessigsäure wurde gezeigt, dass Veresterungen von Carbonsäuren mit polymergebundenen *n*-Alkyltriazinen isomerisierungsfrei verlaufen. Zusammen mit dem Ergebnis der kinetischen Untersuchungen (eine Reaktionskinetik 2. Ordnung) lässt sich feststellen, dass die PASP-Variante der Alkylierung von Carbonsäuren mit 1-Alkyl-3-aryltriazinen nach demselben Mechanismus zu verlaufen scheint, wie er für die entsprechende Reaktion in Lösung diskutiert wird.

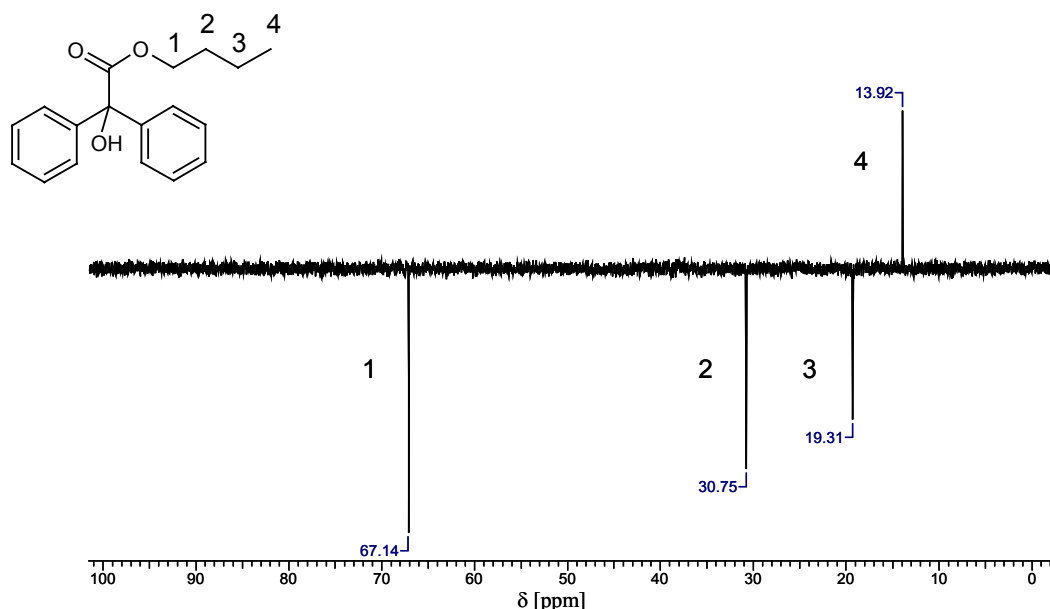


Abb. 31 ^{13}C -DEPT135-NMR-Spektrum (Ausschnitt) des Rohproduktes der Umsetzung von Benzilsäure mit *n*-Butyltriazin-Harz. Zuordnung der aliphatischen Signale. Die drei negativen Signale zeigen das Vorliegen von Methylengruppen. Das positive Signal bei $\delta = 13,92$ ppm zeigt das Vorliegen einer Methylen- oder Methylgruppe.

3.2.1.4 Alkylierungsergebnisse

Mit den optimierten Reaktionsbedingungen wurden Carbonsäurealkylierungen durchgeführt. Die Säuren (1 m in DCM, DCM/MeOH oder THF) wurden mit einem fünffachem Überschuss Alkyltriazen-Harz bei Raumtemperatur für 16 h umgesetzt. Durch systematische Variation der Säurekomponente wie auch des übertragenen Alkylrestes konnte die Vielseitigkeit der Methode gezeigt werden.

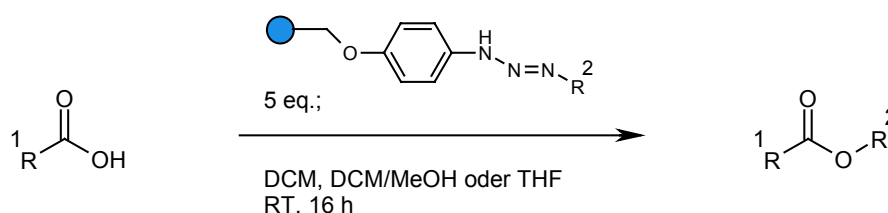


Abb. 32 Alkylierung von Carbonsäuren mit Alkyltriazen-Harz.

Besonderes Augenmerk wurde auf die strukturelle und elektronische Diversität sowohl der Säuren als auch der übertragenen Alkylreste gelegt. Neben „gewöhnlichen“ Carbonsäuren wurden auch Aminosäuren und Peptide (Kapitel 3.2.1.5) sowie Bibliotheken von „drug-like-molekules“ mit sehr guten Ergebnissen zu den entsprechenden Estern umgesetzt (Kapitel 1.1.1).

Auch in Bezug auf den zu übertragenden Alkylrest unterliegt die Methode nur wenigen Einschränkungen. Versuche mit *sek.*- und *tert.*-Alkyltriazen-Harz führten zu keinen zufriedenstellenden Ergebnissen, im Fall von *tert.*-Butyltriazen-Harz konnte überhaupt kein Alkylierungsprodukt nachgewiesen werden. Bei der Übertragung primärer Alkylreste hingegen gab es für nahezu alle untersuchten Alkylierungsharze vergleichbar gute Ergebnisse. So wurden aliphatische Reste von Methyl bis *n*-Pentadecyl, funktionalisierte Alkylreste, Allyl und Benzyl erfolgreich übertragen. Auch die Alkylierung mit Resten, die einen heterocyclischen Ring tragen, waren erfolgreich. Hier ist insbesondere die Alkylierung mit dem 2-(1-Morpholinyl)ethyl-Rest zu erwähnen. Dieser Rest wird häufig zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Pharmakophoren eingesetzt.

In Tab. 10 sind die Ergebnisse der Umsetzung von 4-Nitrophenylessigsäure mit verschiedenen Alkyltriazen-Harzen gezeigt und Abb. 33 illustriert die Variabilität an übertragbaren Alkylresten. Die angegebenen Reinheiten sind Rohproduktreinheiten.

Bis auf die Umsetzung mit 6-Hydroxy-1-hexyltriazen-Harz konnte in keinem Fall mehr Edukt im Rohproduktgemisch nachgewiesen werden. Die erhaltenen HPLC-Rohproduktreinheiten liegen alle über 80 %, in einigen Fällen sogar deutlich über 95 %. Pos. 8 in Tab. 10 wurde durch Alkylierung von 4-Nitrophenylelessigsäure mit Triazen-Harz erhalten, zu dessen Synthese *O,O'*-Bis(2-aminopropyl)-PEG 500 eingesetzt worden war. Mit $m/z = 764$ liegt die Masse des Produktes jedoch 17 m/z -Einheiten unter der für das Produkt erwarteten. Aufschluss brachte eine Untersuchung des Eduktes. Schon der Geruch wies auf ein Entweichen von Ammoniak hin, was durch ES-FTICR-Massenspektrometrie bestätigt wurde. Im Edukt lag also bereits eine Verbindungsgemisch vor, das durch Eliminierung von ein oder zwei NH_3 -Molekülen entstanden war. Da das Produkt der einfachen Eliminierung noch zum Triazen reagieren konnte, wurde im ES-Massenspektrum des Alkylierungsproduktes die entsprechende Produktmasse von $m/z = 764$ gefunden (Abb. 33).

Tab. 10 Ergebnisse der Umsetzung von 4-Nitrophenylelessigsäure mit verschiedenen Alkyltriazen-Harzen. Der Wert in Klammern bei Pos. 6 bezeichnet nicht umgesetztes Edukt.

Pos.	Alkylrest	HPLC [%]
1	Methyl	>98
2	Ethyl	>98
3	<i>n</i> -Butyl	>98
4	<i>tert.</i> -Butyl	----
5	<i>n</i> -Dodecyl	>98
6	6-Hydroxy-1-hexyl	63 (33)
7	13-Amino-4,7,10-trioxa-1-tridecyl	85
8	<i>O</i> -(2-Propenyl)-PEG-500	92
9	Allyl	97
10	Benzyl	96
11	2-(2-Pyridyl)ethyl	92
12	2-(Diethylamino)ethyl	91
13	2-(2-Thienyl)ethyl	89
14	2-(1-Morpholinyl)ethyl	81

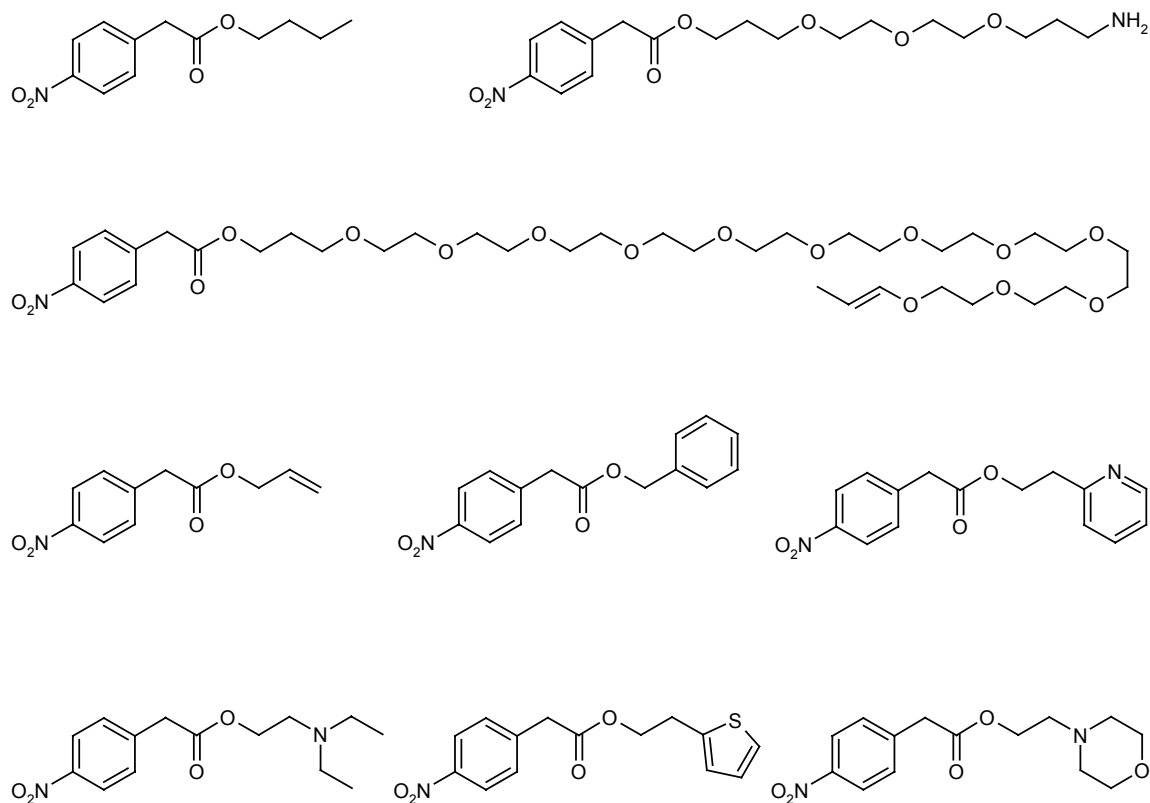


Abb. 33 Beispielverbindungen der Alkylierung von 4-Nitrophenylessigsäure.

In der folgenden Aufstellung sind die Ergebnisse der Alkylierung strukturell und elektronisch unterschiedlicher Carbonsäuren gezeigt (Tab. 11). Auch die hier angegebenen Reinheiten sind Rohproduktreinheiten.

Sowohl bei Benzilsäure – Hydroxydiphenylessigsäure – als auch bei 4-Benzoylbuttersäure, die in Keto-Enol-Tautomerie mit 5-Hydroxy-5-phenyl-4-pentensäure steht, wurde keine Veretherung beobachtet (siehe hierzu auch Kapitel 3.2.1.5). Auch α,β -ungesättigte Carbonsäuren zeigten sehr gute Alkylierungsergebnisse. Lediglich die Umsetzung ungeschützter Aminosäuren führte zu keinem Alkylierungsprodukt. Darauf wird in Kapitel 1.1.1 genauer eingegangen. In Abb. 34 sind einige Beispielverbindungen der Alkylierung bei Variation der Säurekomponente und der Alkylreste gezeigt.

Tab. 11 Carbonsäureester: Alkylierungsergebnisse bei Variation der Säurekomponente und des übertragenen Alkylrestes.

Pos.	Säurekomponente	HPLC-Reinheiten der Alkylierungs-Rohprodukte [%]			
		Methyl	<i>n</i> -Butyl	2-(2-Pyridyl)ethyl	weitere Reste
1	Benzilsäure	>98	>98	94	96 (<i>n</i> -Pentadecyl)
2	2-(6-Methoxy-2-naphthyl)propansäure	>98	91	91	
3	4-Benzoylbuttersäure	86	87	76	
4	4-Nitrobenzoesäure	97	>98	72	
5	3-(Trifluormethyl)-zimsäure	>98	86	92	
6	3-Nitrozimsäure	95	89	91	

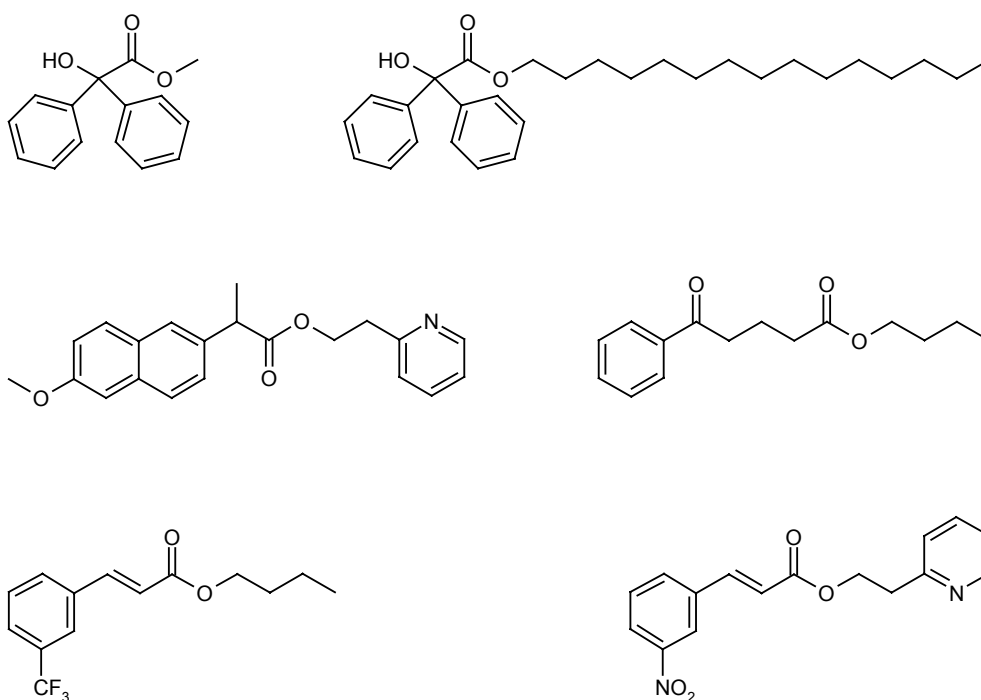


Abb. 34 Beispielverbindungen der Alkylierung von Carbonsäuren.

Abb. 35 zeigt die HPLC-Chromatogramme der drei Alkylierungsprodukte 4-Nitrophenyl-essigsäuremethylester (>98 %), Benzilsäure-*n*-butylester (96 %) und 3-Nitrozimsäure-2-(2-pyridyl)ethylester (91 %). Die angegebenen Reinheiten sind Rohproduktreinheiten.

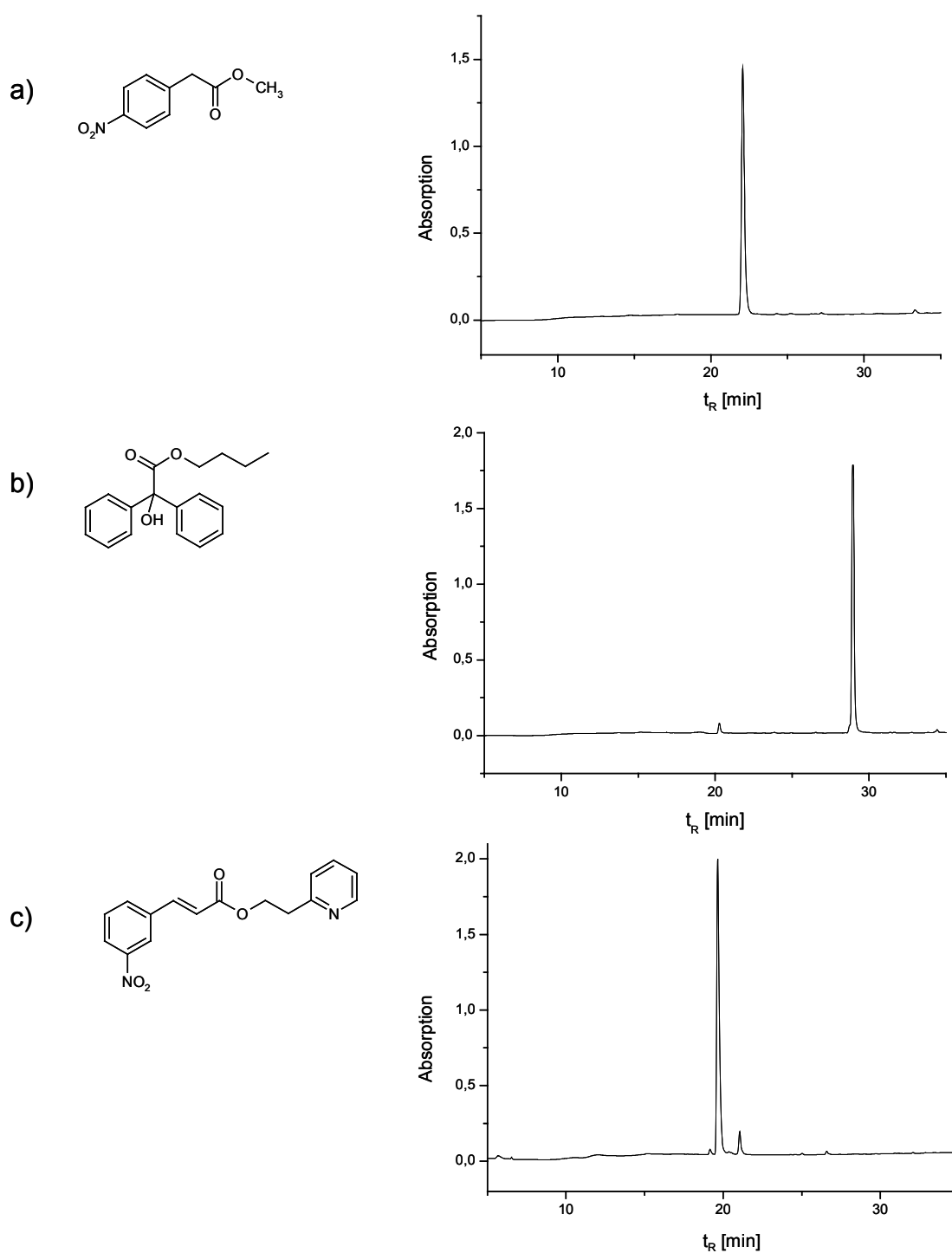


Abb. 35 HPLC-Chromatogramme (Rohprodukte) von: a) 4-Nitrophenylessigsäuremethylester (HPLC-Reinheit: >98 %) b) Benzilsäure-*n*-butylester (HPLC-Reinheit: 96 %) c) 3-Nitrozimtsäure-2-(2-pyridyl)ethylester (HPLC-Reinheit: 91 %).

Abb. 36 zeigt das ES-FTICR-Massenspektrum von Benzilsäure-2-(2-pyridyl)ethylester. Indiziert wurden der $[M+H]^+$ -Peak mit $m/z = 334,14$, das Natrium-Addukt mit $m/z = 356,12$ sowie der $[M+H-H_2O]^+$ -Peak mit $m/z = 316,13$. Die Produktreinheit beträgt nach HPLC 92 %.

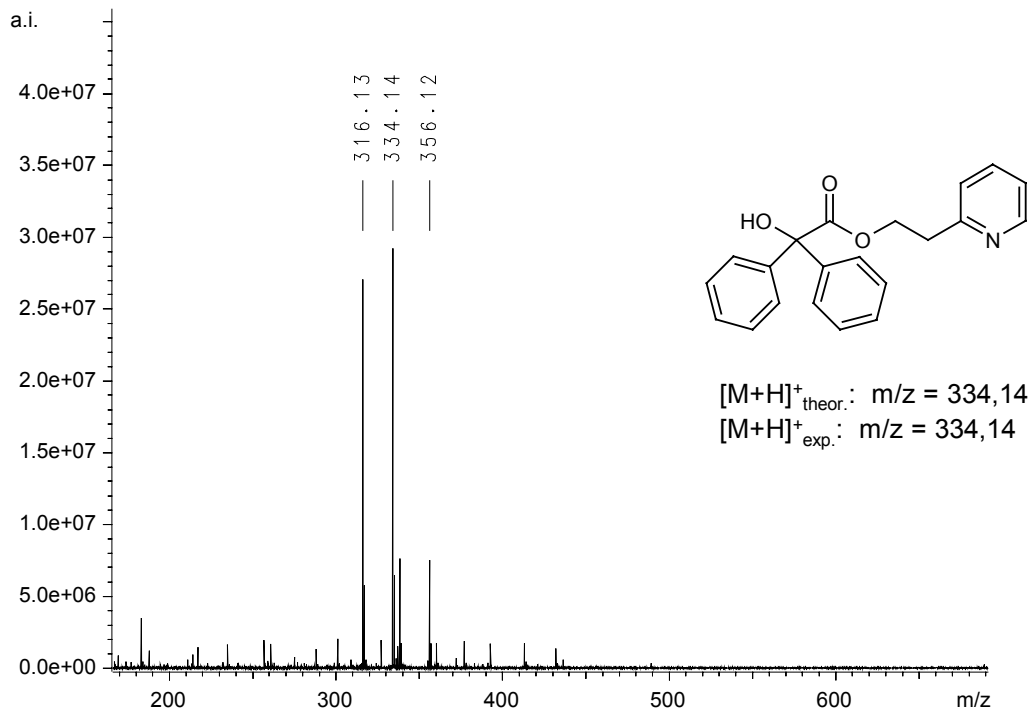


Abb. 36 ES-FTICR-MS von Benzilsäure-2-(2-pyridyl)ethylester ($[M+H]^+_{\text{theor.}}$: $m/z = 334,14$).

3.2.1.5 Versuche zur Alkylierung von Alkoholen

In diesem Abschnitt werden die Versuche zur Alkylierung von Alkoholen mit Alkyltriazen-Harzen beschrieben. Die in Kapitel 3.2.1.4 beschriebenen Umsetzungen von Substraten, die Hydroxygruppen trugen, hatten zu keiner Alkylierung am Hydroxy-Sauerstoff geführt. Auch die Zugabe von Trifluormethansulfonsäure, einer starken Brönstedt-Säure, deren Anion praktisch keine nukleophilen Eigenschaften besitzt, führte zu keiner Alkylierung am Hydroxy-Sauerstoff. Vermutlich reicht einerseits die Acidität eines Alkohols nicht zur Triazen-Aktivierung aus, und zum anderen könnte durch die Zugabe von Trifluormethansulfonsäure zwar die Aktivierung des Triazens erfolgen. In diesem Fall wäre aber kein alkylierbares Nukleophil an Ort und Stelle.

Phenole hingegen lassen sich alkylieren, allerdings erfolgt die Alkylierung sehr langsam und führt nicht zu hohen Produktreinheiten.

Pentafluorphenol ($pK_s = 5,3$) [Cas99] reagiert mit Methyltriazen in 65 % Reinheit (HPLC, $\lambda = 214$ nm) zum entsprechenden Methylether. Bei dem weniger aciden 4-Nitrophenol ($pK_s = 7,16$) [Wea85] führt die Methylierung mit fünffachem Überschuss Methyltriazen immerhin zu 45 % 4-Methoxynitrophenol. Weder eine verlängerte Reaktionszeit noch eine Erhöhung des Triazen-Überschusses führten zu einer Erhöhung des Umsetzungsgrades. Abb. 37 zeigt das Reaktionsschema der Methylierungsreaktion.

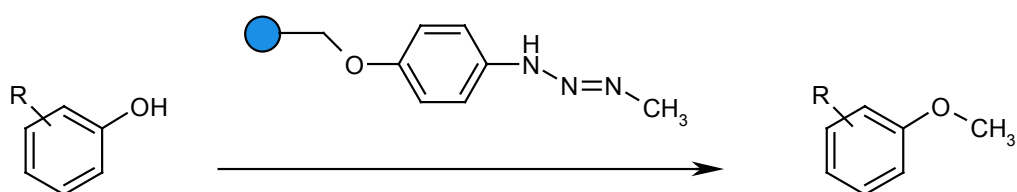


Abb. 37 Methylierung von Phenolen mit Alkyltriazen-Harz.

Die Ergebnisse der Alkylierung von Phenole zeigt Tab. 12. Elektronenziehende Substituenten am aromatischen Rest begünstigen erwartungsgemäß die Alkylierung durch eine Erhöhung der Acidität des Phenols. Phenole, die elektronenschiebende Substituenten wie Methoxy oder Methylendioxy tragen, lassen sich nicht alkylieren.

Tab. 12 Ergebnisse der Alkylierung von Phenolen mit Alkyltriazen-Harzen.

Pos.	Phenol	HPLC [%]		EI-MS
		Produkt	Edukt	
1	Pentafluorphenol	65	35	198
2	2,6-Dibromphenol	50	50	266
3	4-Nitrophenol	45	55	153
4	2-Methyl-1-naphthol	35	58	172
5	3-Hydroxyxanthon	12	88	226
6	4-Methoxyphenol	0	100	---
7	3,4-Methylendioxyphenol	0	100	---

3.2.2 Schutzgruppenübertragung auf Aminosäuren und Peptide

In der Peptidsynthese, in Lösung oder an der Festphase, spielt die Wahl der Schutzgruppen eine entscheidende Rolle, um Fehlsequenzen zu verhindern und somit im Hinblick auf Ausbeute und Reinheit der Syntheseprodukte [Gre99]. Wichtige C-terminale Schutzgruppen in diesem Zusammenhang sind die Methyl-, Allyl- und die Benzylgruppe. In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Übertragung dieser drei Schutzgruppen auf Aminosäuren und Peptide beschrieben. In Vorversuchen zur Alkylierung ungeschützter Aminosäuren und Peptide wurde erwartungsgemäß kein Alkylierungsprodukt erhalten. Vermutlich lag dies einerseits an der schlechten Löslichkeit freier Aminosäuren in den für Alkyltriazen-Harze in Frage kommenden Lösungsmitteln. Abhilfe schaffen könnte hier ein Wechsel zu Trägermaterialien, die mit Wasser kompatibel sind. Außerdem liegen diese ungeschützten Spezies als inneres Salz vor, und die Säurestärke der Ammoniumgruppe ist offensichtlich nicht ausreichend zur Aktivierung der Triazene. Das Reaktionsschema der Alkylierung von *N*-geschützten Aminosäuren und Peptiden ist in Abb. 38 gezeigt.

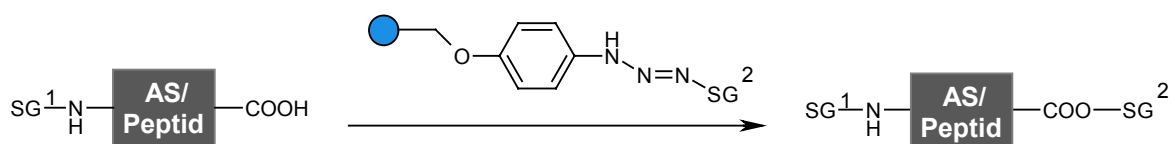


Abb. 38 Übertragung von Schutzgruppen (SG^2) auf den C-Terminus von *N*-geschützten Aminosäuren (AS) und Peptiden durch Alkylierung mit Alkyltriazen-Harz.

3.2.2.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen

Zur Evaluation der Verwendbarkeit polymergebundener Triazene zur Aminosäure- und Peptidderivatisierung wurden in ersten Versuchen *N*-terminal Fmoc-geschützte Aminosäuren eingesetzt, die mit Methyl-, Allyl- und Benzyltriazen-Harz alkyliert wurden [Sme01]. Diese drei Alkylgruppen stellen gängige Vertreter C-terminaler Schutzgruppen für Aminosäuren und Peptide dar. Als Aminosäuren wurden Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, und Fmoc-Asp(OtBu)-OH ausgewählt. In ersten Versuchen wurden die Triazene in 2,5-fachem Überschuss und die Aminosäuren in einer Konzentration von

1 mg/ml in DCM eingesetzt. Die Reaktionsbedingungen waren 16 h bei Raumtemperatur. Die HPLC-Chromatogramme der Produkte zeigten, dass diese Umsetzungen unvollständig waren, und dass zudem Verunreinigungen bzw. Nebenprodukte auftraten. Vergleichsumsetzungen derselben Harzchargen mit den Carbonsäuren Benzilsäure und 4-Nitrophenyllessigsäure unter gleichen Bedingungen führten zwar im Fall von Allyl- und Benzyltriazen-Harz ebenfalls zu unvollständiger Umsetzung, jedoch waren in den entsprechenden HPLC-Chromatogrammen nur die Peaks von Edukt und Produkt zu sehen. Offenbar handelte es sich bei den Verunreinigungen bei der Alkylierung von Aminosäuren nicht um solche, die aus dem Harz ausgewaschen worden waren, sondern um Nebenprodukte der Alkylierungsreaktion. Diese Nebenproduktbildung konnte durch eine auf 8 h verkürzte Reaktionszeit bei gleichzeitiger Erhöhung des eingesetzten Alkyltriazen-Harz-Überschusses auf 10 Äquivalente unterdrückt werden, sodass auf die Aufklärung der Natur der Nebenprodukte verzichtet wurde. Die Ergebnisse der Umsetzungen zur Reaktionsoptimierung sind in Tab. 13 dokumentiert.

Tab. 13 C-terminale Alkylierung von Aminosäuren. Optimierung der Reaktionsbedingungen bei Verwendung von Methyl-, Allyl- und Benzyltriazen-Harz.

Pos.	Aminosäure	Alkylrest	Reaktionsbedingungen	
			2,5 eq., 16 h	10 eq., 8 h
1	Fmoc-Phe-OH	Methyl	96	>98
2		Allyl	16	89
3		Benzyl	20	98
7	Fmoc-Arg(Pbf)-OH	Methyl	37	91
8		Allyl	5	85
9		Benzyl	13	85
13	Fmoc-Asp(OtBu)-OH	Methyl	63	95
14		Allyl	11	94
15		Benzyl	17	98

3.2.2.2 Ergebnisse der Aminosäurederivatisierung

Anhand der Umsetzung ausgewählter *N*-terminal Fmoc- und Boc-geschützter Aminosäuren wurde untersucht, ob die Alkylierung mit Alkyltriazen-Harz kompatibel mit den gängigen Schutzgruppen in der Peptidchemie ist. Es wurden zu diesem Zweck sowohl in der Seitenkette ungeschützte als auch geschützte Aminosäuren eingesetzt. Auch *N*- und *C*-terminal geschützte Asparaginsäure und Glutaminsäure konnten in der Seitenkette erfolgreich alkyliert werden. Als Alkyltriazen-Harz wurden wiederum Methyl-, Allyl- und Benzyltriazen-Harz verwendet. Bis auf wenige Ausnahmen (Allylierung und Benzylierung von Fmoc-Trp-OH, Fmoc-Met-OH sowie Fmoc-Cys(tButhio)-OH) wurden gute bis exzellente Rohproduktreinheiten erhalten. Auch im Hinblick auf die verwendeten Schutzgruppen wurden keine Inkompatibilitäten festgestellt. Die Ergebnisse dieser Umsetzungen sind in Tab. 14 aufgeführt. Zur Alkylierung der proteinogenen Aminosäuren siehe Kapitel 3.2.2.2.

Tab. 14 Ergebnisse der Aminosäurederivatisierung mit Methyl-, Allyl- und Benzyltriazen-Harz.

Pos.	Aminosäure	HPLC [%]		
		Methyl	Allyl	Benzyl
1	Fmoc-Gly-OH	>98	90	87
2	Fmoc-Ile-OH	93	96	98
3	Fmoc-Aib-OH	98	90	90
4	Fmoc-1-Amino-Chx-OH	98	80	73
5	Boc-Phe-OH	>98	89	95
6	Fmoc-Ser-OH	95	80	72
7	Boc-Ser(Bzl)-OH	85	92	93
8	Boc-Tyr-OH	>98	79	80
9	Fmoc-Trp-OH	>98	64	68
10	Fmoc-Met-OH	97	66	51
11	Boc-Arg(Mts)-OH	98	88	87
12	Fmoc-Lys(Boc)-OH	>98	93	97
13	Fmoc-Lys(Mtt)-OH	94	93	95
14	Boc-Lys(Fmoc)-OH	98	97	98
15	Fmoc-Glu(OtBu)-OH	98	96	80
16	Fmoc-Asp(OH)-OtBu	>98	92	96
17	Fmoc-Glu(OH)-OtBu	97	84	88
18	Fmoc-Cys(Trt)-OH	98	70	61
19	Fmoc-Cys(tButhio)-OH	98	88	85

Abb. 39 zeigt die HPLC-Chromatogramme der Produkte der Umsetzungen von Boc-Arg(Mts)-OH mit Methyltriazen-Harz, Fmoc-Asp(OH)-OtBu mit Allyltriazen-Harz und Boc-Lys(Fmoc)-OH mit Benzyltriazen-Harz. Abb. 97 in Kapitel 8.2 zeigt das ^1H - und das ^{13}C -NMR-Spektrum von Boc-Phenylalaninmethylester.

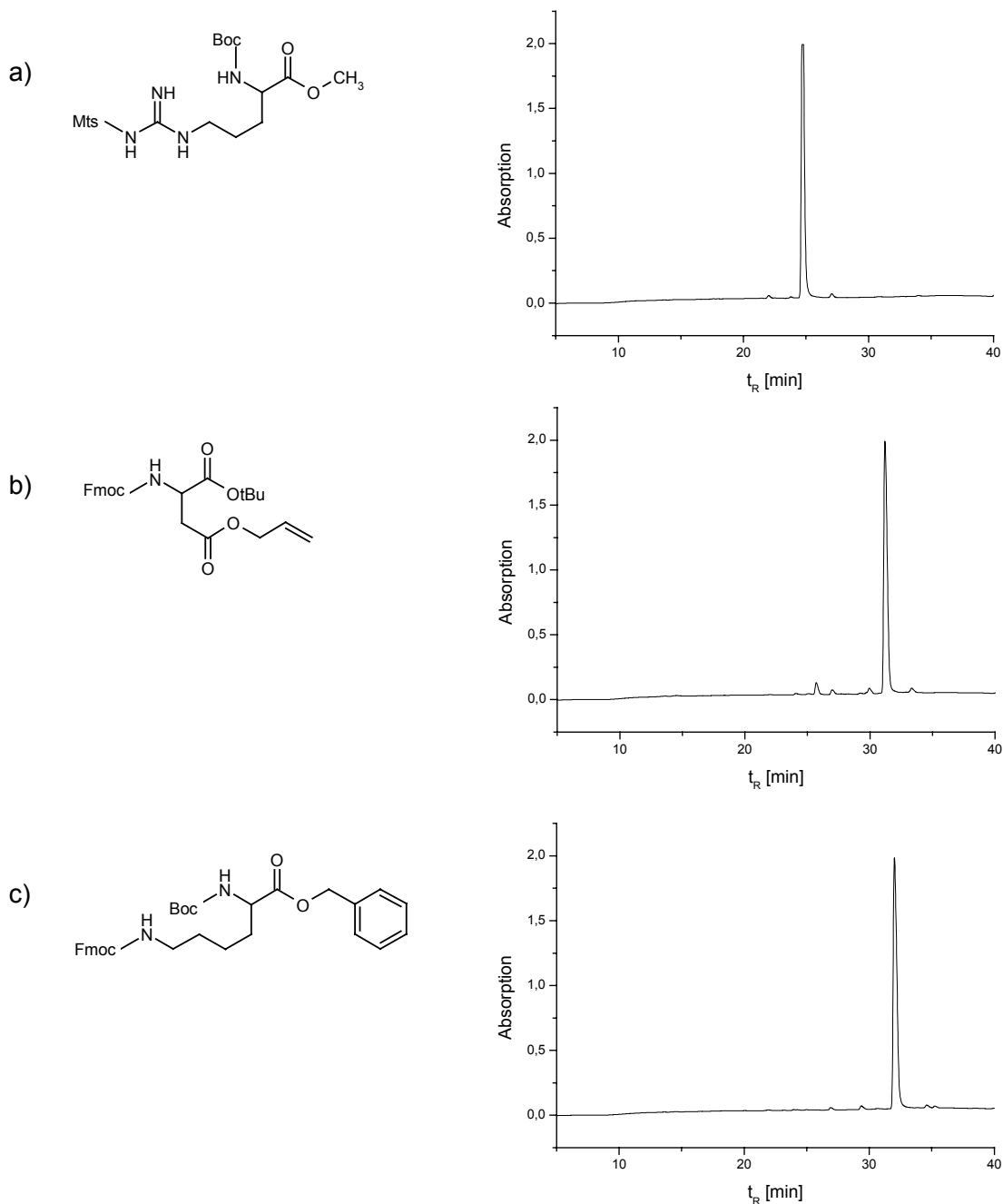


Abb. 39 HPLC-Chromatogramme (Rohprodukte) von: a) Boc-Arg(Mts)-OMe (HPLC-Reinheit: 98 %) b) Fmoc-Asp(OAll)-OtBu (HPLC-Reinheit: 92 %) c) Boc-Lys(Fmoc)-OBzl (HPLC-Reinheit: 98 %).

Die Aminosäure Fmoc-Phe-OH wurde exemplarisch mit weiteren Resten alkyliert. So konnten längerkettige aliphatische Reste ebenso wie heterocyclische Reste und PEG-enthaltende Reste erfolgreich auf diese Aminosäure übertragen werden. Tab. 15 zeigt die Ergebnisse dieser Umsetzungen.

Tab. 15 Ergebnisse der Umsetzung von Fmoc-Phe-OH mit Alkyltriazen-Harzen bei Variation des Alkylrestes.

Pos.	Alkylrest	HPLC [%]
1	Methyl	>98
2	Ethyl	>98
3	<i>n</i> -Butyl	86
4	Benzyl	98
5	Allyl	89
6	13-Amino-4,7,10-trioxa-1-tridecyl	79
7	2-(2-Pyridyl)ethyl	80

3.2.2.3 Untersuchung auf Aminosäureracemisierung

Der Erhalt der Konfiguration bei der Alkylierung von Aminosäuren und Peptiden ist von besonderer Bedeutung. Aus diesem Grund wurden alle 19 chiralen proteinogenen Fmoc-L-Aminosäuren mit Ethyltriazen-Harz in die entsprechenden Ethylester überführt und mit chiraler GC auf Racemisierung untersucht. Hierzu wurde ein zehnfacher Überschuss Ethyltriazen-Harz mit der Aminosäure (1 m in DCM/MeOH (10:1; v:v)) bei Raumtemperatur für 8 h umgesetzt. Die Rohprodukte der Umsetzungen, die entsprechenden Aminosäureethylester, wurden einmal aus *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC analysiert. Für die Racemisierungstests wurden die Fmoc-Aminosäureester mit Piperidin/DCM Fmoc-entschützt, anschließend wurde mit 2M HCl/Ethanol behandelt. Hierbei werden die Seitenkettenschutzgruppen abgespalten und Asparaginsäure sowie Glutaminsäure verestert. Nachfolgend wurden die Proben mit TFAA/DCM behandelt, wobei die *N*-Termini wie auch freie Seitenkettenschutzgruppen trifluoracetyliert wurden. Histidin wurde an der Seitenkette methoxycarbonyliert. Diese *N*-terminal als Trifluoracetamid,

C-terminal als Ethylester derivatisierten Aminosäuren wurden im GC über eine Kapillarsäule mit chiraler stationärer Phase getrennt. Als chirale stationäre Phase wurde Lipodex-E (30 % in Dimethylpolysiloxan) oder Chirasil-Val verwendet [Fra78]. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 16 gezeigt. Fmoc-Gly-OH ist als nichtchirale Aminosäure der Vollständigkeit halber mit in die Tabelle aufgenommen worden.

Tab. 16 HPLC-Reinheiten der AS-Ethylester und Ergebnis der Untersuchung auf Racemisierung mittels chiraler GC-MS.

Pos.	Aminosäureester	HPLC [%]	L-Form / D-Form [%]		e.e. [%]	Säulenmaterial *
1	Fmoc-Ala-OEt	98	99,39	0,61	98,78	a
2	Fmoc-Cys(Trt)-OEt	96	98,44	1,56	96,88	a
3	Fmoc-Asp(OtBu)-OEt	>98	99,74	0,26	99,48	b
4	Fmoc-Glu(OtBu)-OEt	>98	99,13	0,87	98,26	b
5	Fmoc-Phe-OEt	>98	99,86	0,14	99,72	b
6	Fmoc-Gly-OEt	>98	---	---	---	---
7	Fmoc-His(Trt)-OEt	85	99,96	0,04	99,92	b
8	Fmoc-Ile-OEt	>98	99,67	0,33	99,34	a
9	Fmoc-Lys(Boc)-OEt	96	99,73	0,27	99,46	a
10	Fmoc-Leu-OEt	98	99,61	0,39	99,22	a
11	Fmoc-Met-OEt	98	99,86	0,14	99,72	a
12	Fmoc-Asn(Trt)-OEt	95	99,47	0,53	98,94	a
13	Fmoc-Pro-OEt	97	99,59	0,41	99,18	a
14	Fmoc-Gln(Trt)-OEt	90	99,77	0,23	99,54	a
15	Fmoc-Arg(Pbf)-OEt	95	n.b.	n.b.	n.b.	b
16	Fmoc-Ser(tBu)-OEt	>98	99,09	0,91	98,18	b
17	Fmoc-Thr(tBu)-OEt	98	99,61	0,39	99,22	a
18	Fmoc-Val-OEt	98	99,86	0,14	99,72	a
19	Fmoc-Trp(Boc)-OEt	77	99,73	0,27	99,46	b
20	Fmoc-Tyr(tBu)-OEt	98	99,62	0,38	99,24	a

* a: Lipodex-E (30 % in Dimethylpolysiloxan), b: Chirasil-Val.

Bis auf Cystein liegen die Racemisierungsraten unter 1 %. Die Aminosäure Arginin war der GC-Untersuchung leider nicht zugänglich, weshalb in diesem Fall keine Aussage über den Enantiomeren-Überschuss gemacht werden kann. Da Arginin aber nicht als besonders racemisierungsfreudig bekannt ist, kann davon ausgegangen werden, dass auch hier nur in sehr geringem Umfang eine Racemisierung stattgefunden hat. Eine Quantifizierung mit GC-MS ist Gegenstand weiterführender Untersuchungen.

3.2.2.4 Aminosäurealkylierung mit einer Alkyltriazen-Harz-Kollektion

Fmoc-geschütztes Phenylalanin wurde mit einem äquimolaren Gemisch von fünf Alkyltriazen-Harzen (2 eq. pro Alkyltriazen-Harz) in DCM umgesetzt (Abb. 40). Als polymergebundene Triazene wurden Methyl-, *n*-Butyl-, Benzyl-, 2-(2-Pyridyl)ethyl- und 2-(1-Morpholinyl)ethyltriazen-Harz verwendet.

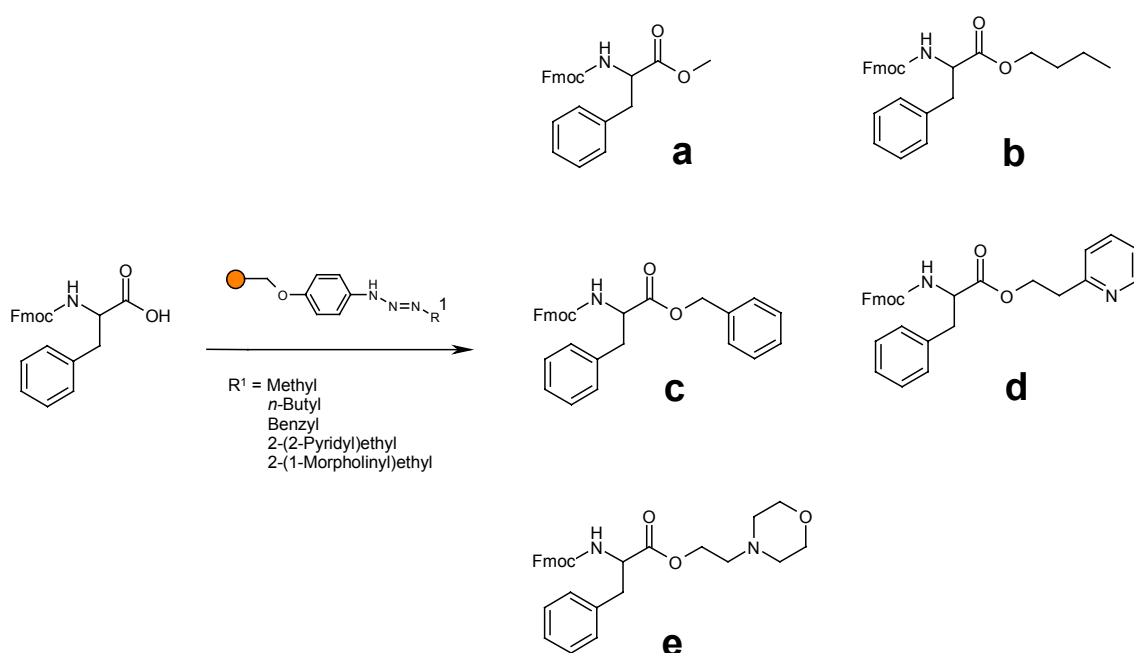


Abb. 40 Syntheschema der Umsetzung von Fmoc-Phe-OH mit einer Kollektion von fünf Triazenen.

Das Reaktionsprodukt, eine Mischung der entsprechenden fünf Ester, wurde – nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum – ohne weitere Aufreinigung mit Mikro-HPLC-ES-FTICR-Massenspektrometrie analysiert. Abb. 41 zeigt den Kontourplot (HPLC-Retentionszeit gegen das m/z -Verhältnis) der Produktkollektion. Der Vergleich der Peakflächen der Produkte im UV-Chromatogramm zeigt vergleichbare Umsetzungsraten für die jeweiligen Alkylreste. Im Kontourplot der HPLC-MS-Kopplung zeigen die Verbindungen d und e deutlich stärkere Signalintensitäten als die Verbindungen a, b und c. Dies liegt an der höheren Protonierungswahrscheinlichkeit durch die stickstoffhaltigen 2-(2-Pyridyl)ethyl- und 2-(1-Morpholinyl)ethylreste. Mit dieser Umsetzung konnte erfolgreich gezeigt werden, dass auch Umsetzungen mit Mischungen von Alkyltriazen-Harzen ohne eine starke Diskriminierung in Bezug auf die übertragenen Alkylreste möglich ist.

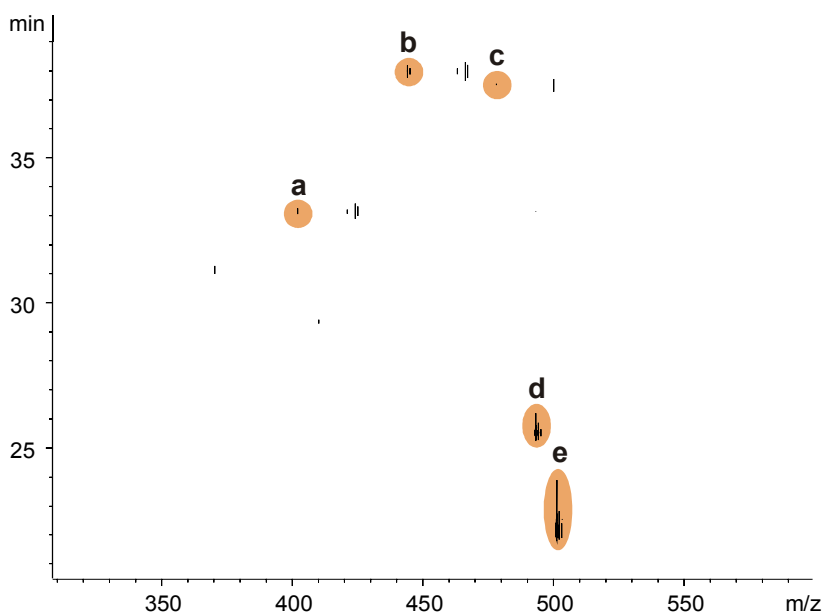


Abb. 41 Ausschnitt aus dem Konturplot (m/z gegen t_R) der Umsetzung von Fmoc-Phe-OH mit einer Kollektion von fünf Triazenen und Zuordnung der Signale (vgl. Abb. 40). Die Verbindungen d und e zeigen aufgrund der basischen Substituenten deutlich intensivere Signale als a, b und c.

3.2.2.5 Ergebnisse der Peptidderivatisierung

Die für die Alkylierung von Aminosäuren optimierten Bedingungen wurden zur Derivatisierung von Peptiden verwendet. Aus naheliegenden Gründen (bereits aus den 20 proteinogenen Aminosäuren lassen sich 400 Dipeptide, 8 000 Tripeptide, usw. synthetisieren) konnte nur eine willkürliche Auswahl an Peptiden getroffen werden. Es wurden Peptide ausgewählt, die sich in Kettenlänge, Sequenz und Schutzgruppen und damit in ihren sterischen und elektronischen Eigenschaften unterscheiden. Damit erfolgte die Evaluation der Methode. Die Peptide wurden jeweils in DCM bzw. DCM/MeOH (bis 20 Vol-% MeOH) zu 10 eq. des entsprechenden Alkyltriazin-Harzes gegeben und bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde die Reaktionslösung filtriert und wie weiter oben beschrieben aufgearbeitet und analysiert. Die Ergebnisse dieser Umsetzungen sind in Tab. 17 gezeigt. Bei den Peptiden handelt es sich um Zwischenprodukte bei der Synthese längererkettiger Peptide, die vor der Alkylierung nicht aufgereinigt und als Rohprodukte eingesetzt wurden.

Tab. 17 Ergebnisse der C-terminalen Alkylierung von Peptiden mit Alkyltriazin-Harz.

Pos.	Peptid	Alkylrest	[M+H] ⁺	HPLC [%]*
1	Fmoc-Ala-Ala-OH	Methyl	397	90
2	Fmoc-Ala-Ala-OH	Allyl	423	51 (47)
3	Fmoc-Ala-Ala-OH	Benzyl	473	52 (44)
4	Fmoc-Ile-Gly-OH	Methyl	425	81
5	Fmoc-Ile-Gly-OH	Allyl	451	54 (39)
6	Fmoc-Ile-Gly-OH	Benzyl	501	52 (39)
7	Fmoc-Gly-Gly-Gly-OH	Methyl	426	94
8	Fmoc-Gly-Gly-Gly-OH	Allyl	452	49(49)
9	Fmoc-Gly-Gly-Gly-OH	Benzyl	502	38(62)
10	Boc-Ala-Aib-OH	Methyl	289	82
11	Fmoc-Arg-Leu-OH	Methyl	510	62
12	Boc-Pro-Val-Aib-Aib-OH	Methyl	499	77
13	Boc-(Ala-Aib) ₂ -Ala-Lys(Z)-OH	Methyl	778	84
14	Boc-(Aib-Ala) ₅ -OH	Methyl	899	48

* Die Werte in Klammern bezeichnen nicht umgesetztes Edukt (HPLC).

Die hervorragenden Ergebnisse der Aminosäurederivatisierung wurden bei der Peptidalkylierung nicht erreicht. Dies zeigte sich durch deutlich geringere Umsetzungsraten und vermehrte Nebenproduktbildung. So ergab die Methylierung von Fmoc-Ile-Gly-OH das Produkt in einer HPLC-Reinheit von 81 %, während die Benzylierung desselben Peptides nur zu einer Produktreinheit von 52 % bei 39 % nicht umgesetztem Edukt führte. Eine auf 18 h verlängerte Reaktionszeit brachte trotz erhöhten Umsatzes –noch 25 % restliches Edukt – nur eine geringe Erhöhung der Produktreinheit auf 54 %. Die zusätzliche Erhöhung des Überschusses an Alkyltriazen-Harz auf 15 eq. bei einer auf 18 h verlängerten Reaktionszeit brachte zwar eine Erhöhung des Umsetzungsgrades, jedoch traten vermehrt Verunreinigungen auf, sodass die Produktreinheit mit 59 % bei 11 % nicht umgesetztem Edukt nur geringfügig erhöht werden konnte.

In den folgenden Unterkapiteln sind zwei Umsetzungen genauer ausgeführt. Darunter auch Alkylierungen von N^α -Palmitoyl-S-[2,3-bis(palmitoyloxy)-(2*RS*)-propyl]-(*R*)-cystein (Pam₃Cys-OH), einem Analogon des *N*-Terminus des Lipoproteins aus *Escherichia coli* [Wie83].

Methylierung von Boc-(Ala-Aib)₂-Ala-Lys(Z)-OH

Das Eduktpeptid (1 mg; HPLC-Reinheit 87 %) wurde in DCM (1 ml) gelöst und mit Methyltriazen-Harz versetzt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur für 16 h durchgeführt.

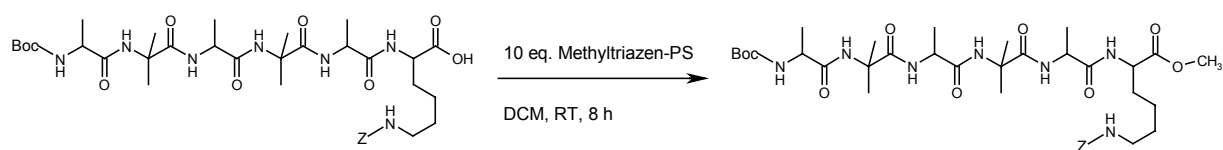


Abb. 42 Methylierung des Hexapeptids Boc-(Ala-Aib)₂-Ala-Lys(Z)-OH.

Das HPLC-Chromatogramm des Produkts zeigt die Umsetzung des Peptids zum entsprechenden Methylester, der bei einem Umsetzungsgrad von nahezu 100 % in einer Reinheit von 85 % erhalten wurde. Abb. 43 zeigt die HPLC-Chromatogramme von Edukt und Produkt. Die Peaks jeweils links neben dem Hauptpeak gehören zu einem

Diastereomer, das durch partielle Racemisierung des L-Alanins in Position 5 bei der klassischen Segmentkupplung zur *N*-Boc-Hexapeptidsäure entstanden ist [Kur89]. In Abb. 44 ist das ES-FTICR-MS des Produktes gezeigt. Man sieht den $[M+H]^+$ -Peak bei $m/z = 778,43$ und den ungewöhnlich intensiven Peak des Natrium-Adduktes bei $m/z = 800,41$.

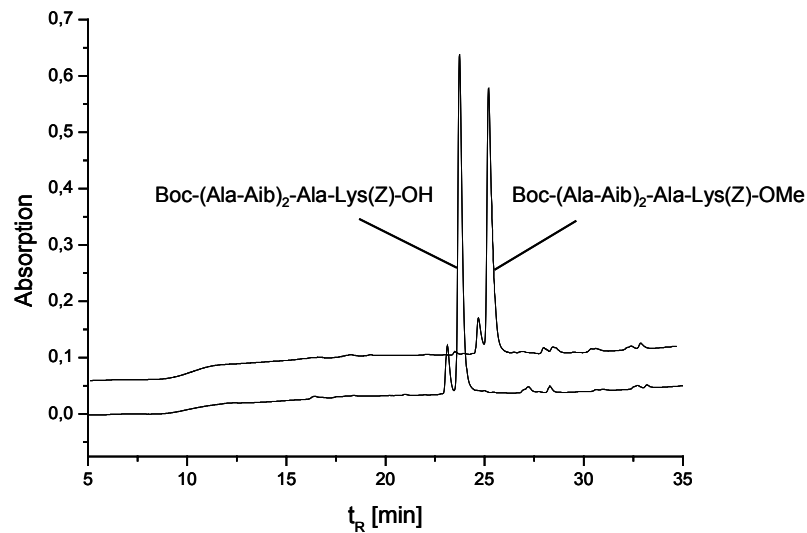


Abb. 43 HPLC-Chromatogramm von Edukt und Produkt der Umsetzung von Boc-(Ala-Aib)₂-Ala-Lys(Z)-OH mit Methyltriazen-Harz (Rohprodukt; Reinheit 85 %).

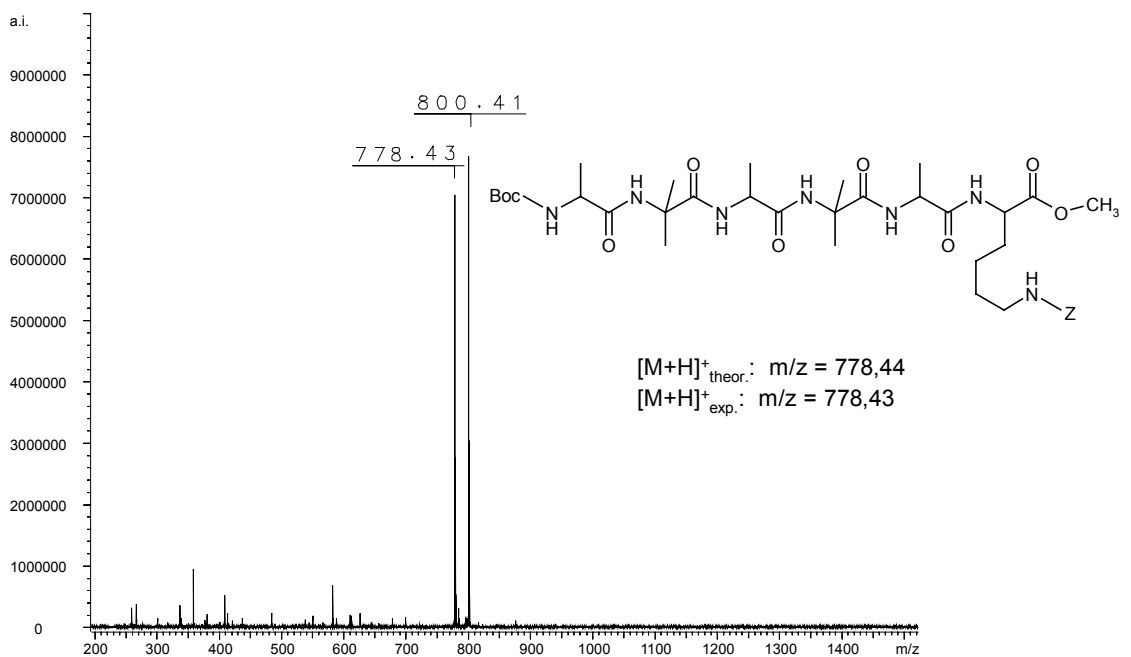


Abb. 44 ES-FTICR-MS von Boc-(Ala-Aib)₂-Ala-Lys(Z)-OMe ($[M+H]^+_{\text{theor.}}: m/z = 778,44$).

Alkylierung von Pam₃Cys-OH

Pam₃Cys-OH, ein Palmitinsäure-Analogon des *N*-Terminus des Lipoproteins von *Escherichia coli* mit immunstimulierender Wirkung wurde Anfang der 1980er Jahre erstmals synthetisch dargestellt [Wie83]. Es wurde für kurze synthetische Lipopeptide die gleiche immunologische Aktivität wie für das Lipoprotein nachgewiesen [Lex86]. Seit dieser Zeit werden Pam₃Cys-Derivate und -Analoga intensiv beforscht, zumal es jetzt als biologisches Target für den Toll-Like-Rezeptor 2 (TLR2) bekannt wurde. Eine Verbesserung der Löslichkeit dieser extrem lipophilen Verbindung und damit auch eine Verbesserung der Bioverfügbarkeit kann durch hydrophile Spacer wie kurze polare Peptidketten oder PEG-Einheiten erreicht werden. Eine Derivatisierung mit Diaminoalkanen führt zu einer Umfunktionalisierung des *C*-Terminus zu einem *N*-Terminus.

Alkyltriazen-Harze eignen sich aufgrund der guten Löslichkeit von Pam₃Cys-OH in DCM hervorragend zu dessen *C*-terminaler Modifikation. Die Umsetzungen erfolgten ohne Modifikation der obigen Vorschrift. Die nach Abfiltrieren und Lyophilisieren erhaltenen Rohprodukte wurden ES-FTICR-massenspektrometrisch untersucht. Tab. 18 zeigt die Ergebnisse der Umsetzung von Pam₃Cys-OH mit Methyl-, 4-Amino-1-butyl- und 13-Amino-4,7,10-trioxa-1-tridecyltriazen-Harz.

Tab. 18 Massenspektrometrische Analyse (ES-FTICR-MS) der Alkylierungsprodukte von Pam₃Cys-OH.

Pos.	Alkylrest	Summenformel	[M+H] ⁺ theor.	[M+H] ⁺ gef.
1	Methyl	C ₅₅ H ₁₀₆ NO ₇ S	924,769	924,768
2	4-Amino-1-butyl	C ₅₈ H ₁₁₃ N ₂ O ₇ S	981,83	981,83
3	13-Amino-4,7,10-trioxa-1-tridecyl	C ₆₄ H ₁₂₅ N ₂ O ₁₀ S	1113,905	1113,911

In Abb. 45 ist das im Breitbandmodus gemessene FTICR-MS der Umsetzung von Pam₃Cys-OH mit 4-Amino-1-butyltriazen-Harz gezeigt. Der Peak mit $m/z = 981,81$ ist der $[M+H]^+$ -Peak des Alkylierungsproduktes, der Peak mit $m/z = 910,75$ gehört zu nicht umgesetztem Edukt. Die Protonierungswahrscheinlichkeit des Aminobutylesters (primäres Amin) ist deutlich höher als die des freien Pam₃Cys-OH (Carbonsäure). Man erkennt dennoch deutlich, dass die Umsetzung nahezu quantitativ verlaufen ist. HPLC-Reinheitskontrollen mit Hilfe von polarem Säulenmaterial sind Gegenstand weiterführender Untersuchungen ebenso wie die biologische Untersuchung auf TLR2-Aktivierung.

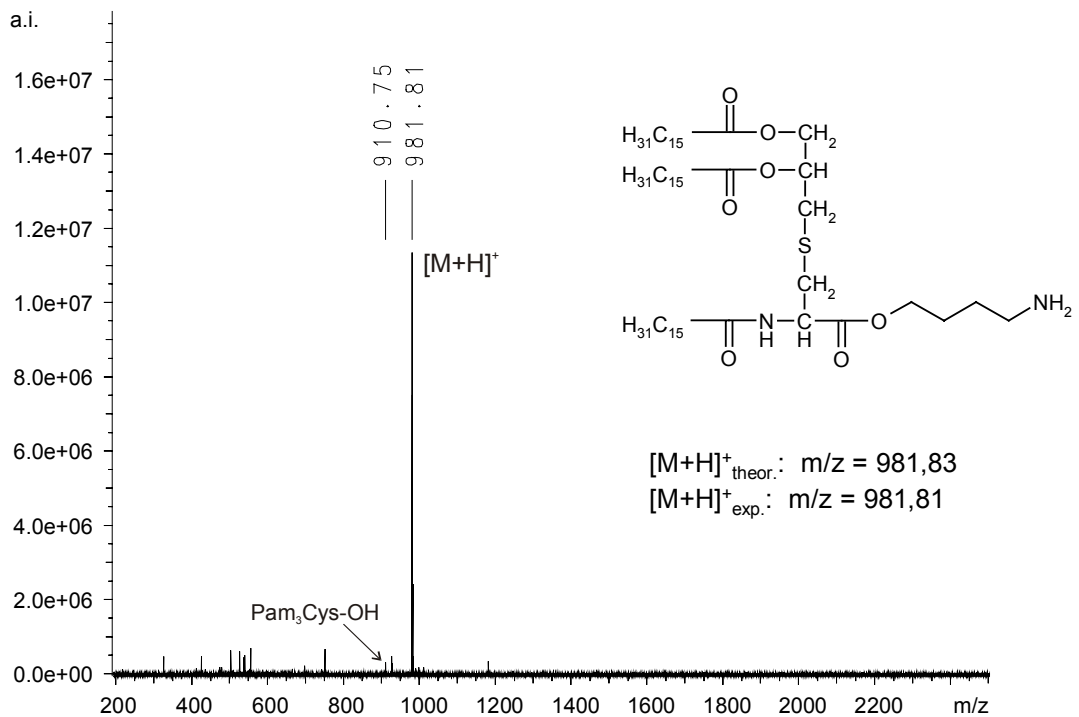


Abb. 45 ES-FTICR-MS des Produktes der Umsetzung von Pam₃Cys-OH mit 4-Amino-1-butyltriazen-Harz ($[M+H]^+_{\text{theor.}}: m/z = 981,83$).

3.2.3 Alkylierung von Substanzbibliotheken

Durch die Umsetzung von Substanzmischungen mit Alkyltriazen-Harzen konnte die Anwendbarkeit des Reagenzes in der kombinatorischen Chemie gezeigt werden. Somit besteht die Möglichkeit, einfach und effizient Postmodifikationen an Produkten aus kombinatorischen Synthesen durchzuführen. Versuche hierzu wurden an Pyrazolcarbonsäuren durchgeführt, die das Ergebnis kombinatorischer Synthesen im Rahmen einer Leitstruktursuche oder -optimierung sein könnten.

3.2.3.1 Alkylierung von Pyrazolcarbonsäurebibliotheken

Zwei Modellbibliotheken von Pyrazol-4-carbonsäuren wurden eingesetzt. Mit der Veresterung der Carboxygruppe am Pyrazolring gelang die Einführung eines vierten variablen Substituenten, wodurch die Diversität der Produkte deutlich erhöht werden konnte. Durch Umsetzung einer Bibliothek aus 20 Verbindungen mit beispielsweise zehn verschiedenen Triazenen ist man so mit minimalem Aufwand in der Lage, 200 Verbindungen zu erhalten.

Bibliothek A bestand aus fünf Subbibliotheken à vier Verbindungen. Die polymergebundenen Pyrazolcarbonsäuren trugen wegen der leichteren Protonierbarkeit alle einen 3-Pyridylsubstituenten an Position 3. Die Bibliothek wurde mit Methyl- sowie 2-(2-Pyridyl)ethyltriazen-Harz zu den entsprechenden Pyrazolcarbonsäureestern umgesetzt. Auf diese Weise wurden zwei Subbibliotheken mit je 20 Verbindungen erhalten, die mit HPLC-ES-FTICR-Massenspektrometrie analysiert wurden.

Bei **Bibliothek B** handelte es sich um eine Bibliothek aus 24 Verbindungen, die ihrerseits eine Unterbibliothek einer 144er Bibliothek darstellt [Sch01]. In diesem Fall wurde für die Synthese der Gesamtbibliothek an allen drei Diversitätsstellen der Substituent variiert. Bei der eingesetzten Subbibliothek befand sich an Position 1 ein Phenylrest. Die Bibliothek wurde mit 2-(1-Pyrrolidinyl)ethyl-, 2-(*N,N*-Diethylamino)ethyl- und 2-(1-Morpholinyl)ethyltriazen-Harz umgesetzt, und es wurden drei Pyrazolcarbonsäureester-Subbibliotheken à 24 Verbindungen erhalten, die mit HPLC-ES-(FTICR)-MS-Analytik untersucht wurden.

3.2.3.2 Kombinatorische Festphasensynthese von Pyrazolcarbonsäuren

Die Pyrazolsynthese ging von acetoacetyliertem Wang-PS-Harz aus. Über eine Knoevenagel-Kondensation mit Aldehyden wurden harzgebundene Alkyliden- bzw. Aryliden- β -Ketoester erhalten, die schließlich durch Umsetzung mit Phenylhydrazinen zu den entsprechenden harzgebundenen Pyrazolcarbonsäuren cyclisierten [Gro99]. Das Syntheschema für Bibliothek A ist in Abb. 46 gezeigt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgte mit 25 % TFA/DCM. Die Rohprodukte wurden mehrfach aus *tert.*-Butylalkohol/H₂O gefriergetrocknet und anschließend ohne weitere Aufarbeitung weiterverarbeitet.

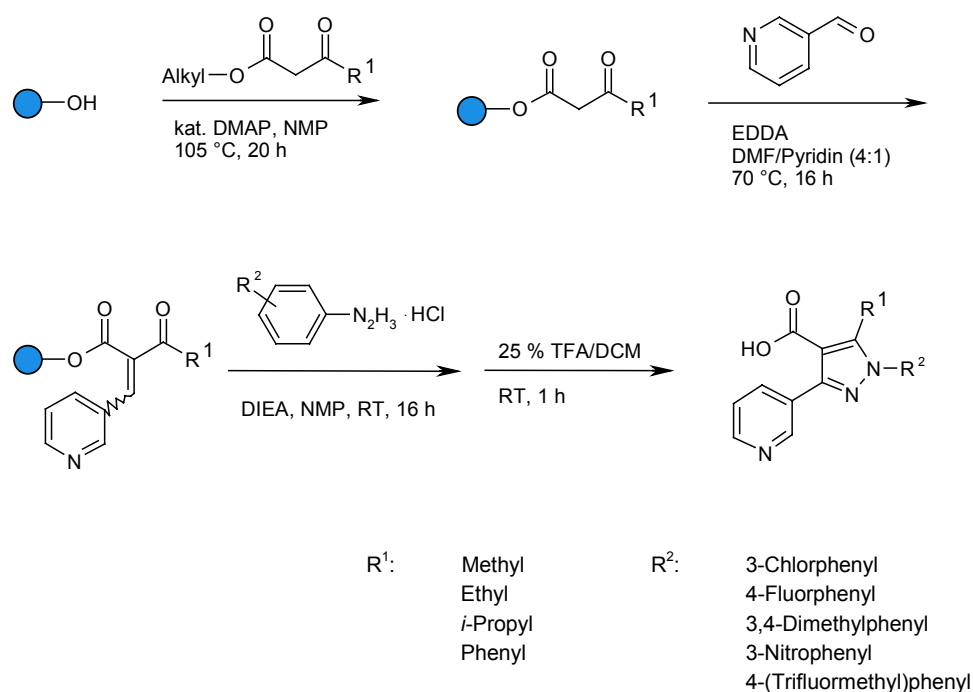


Abb. 46 Festphasensynthese von Pyrazolcarbonsäuren nach Grosche et al. [Gro99]. Kombination der Reste R^1 und R^2 ergab die 20 Verbindungen der Eduktbibliothek A in fünf Subbibliotheken. Bei der Synthese von Bibliothek B wurde auch die Benzaldehyd-Komponente variiert.

3.2.3.3 Alkylierung von Pyrazolcarbonsäurebibliothek A

Zur Veresterung der Bibliothek wurde eine Lösung aller 20 Pyrazolcarbonsäuren in Dichlormethan (jeweils in einer Konzentration von 0,025 mg/ml) zu Methyltriazen-Harz (Beladung nach EA: 1,1 mmol/g) bzw. 2-(2-Pyridyl)ethyltriazen-Harz (Beladung nach EA: 0,8 mmol/g) gegeben und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt (Abb. 47). Die

Produktbibliotheken, also die Gemische der Methyl- bzw. 2-(2-Pyridyl)ethylester, wurden nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum ohne weitere Aufarbeitungs- oder Reinigungsschritte direkt mit Mikro-HPLC-ES-FTICR-MS analysiert. Die MS-Spektren der Edukt- sowie der Produktbibliotheken sind in Abb. 48, Abb. 49 und Abb. 53 dargestellt.

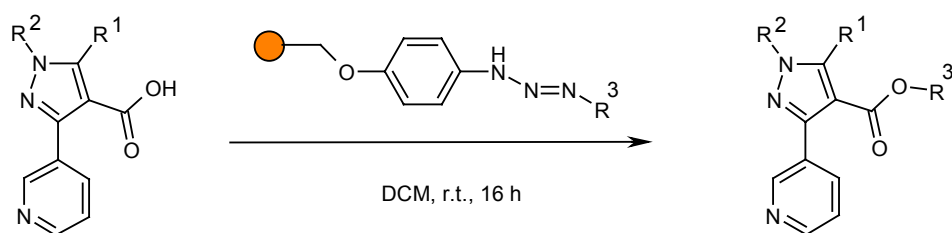


Abb. 47 Syntheschema der Umsetzung von Bibliothek A mit Alkyltriazen-Harz.

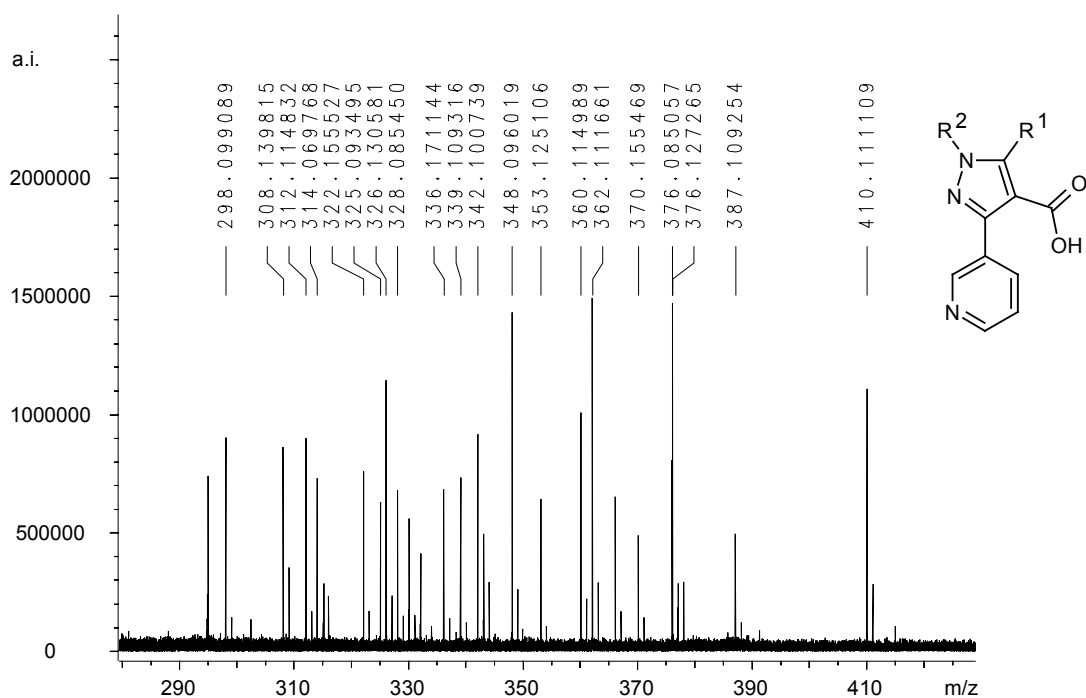


Abb. 48 ES-FTICR-MS von Eduktbibliothek A.

Die Interpretation der Messdaten zeigt einen mittleren relativen Messfehler von 1,5 ppm (im Gegensatz zu einer üblichen Messgenauigkeit eines Quadrupol-ES-Massenspektrometers in der Größenordnung von 50 – 100 ppm).

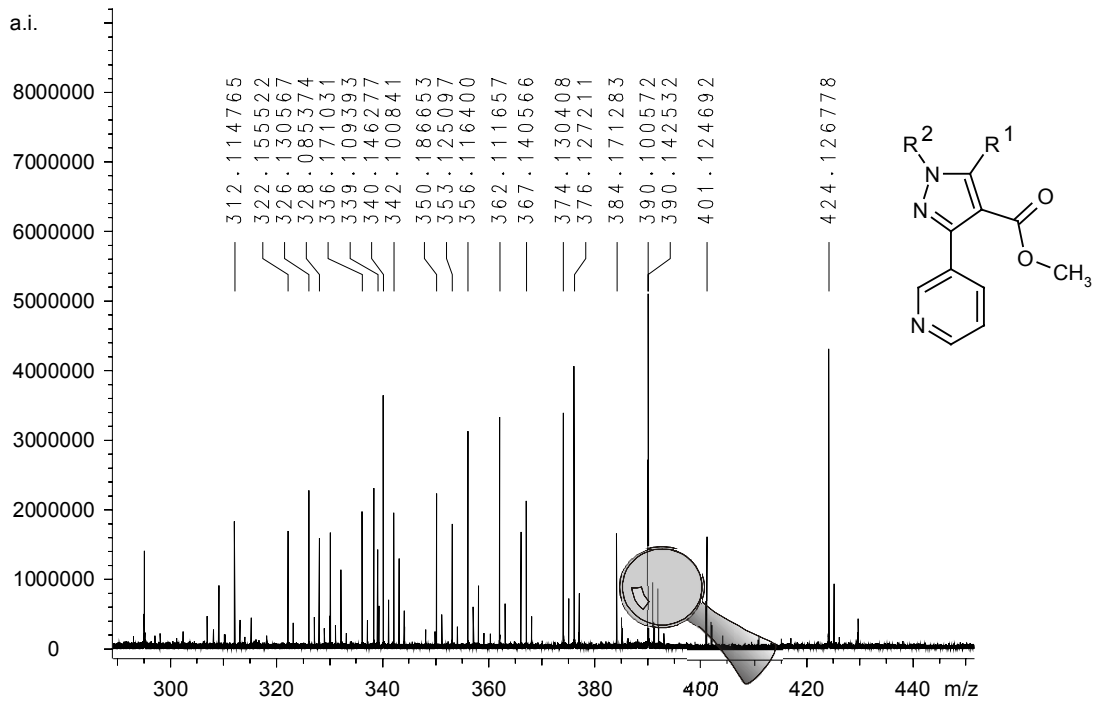


Abb. 49 ES-FTICR-MS der Methylester-Produktbibliothek A.

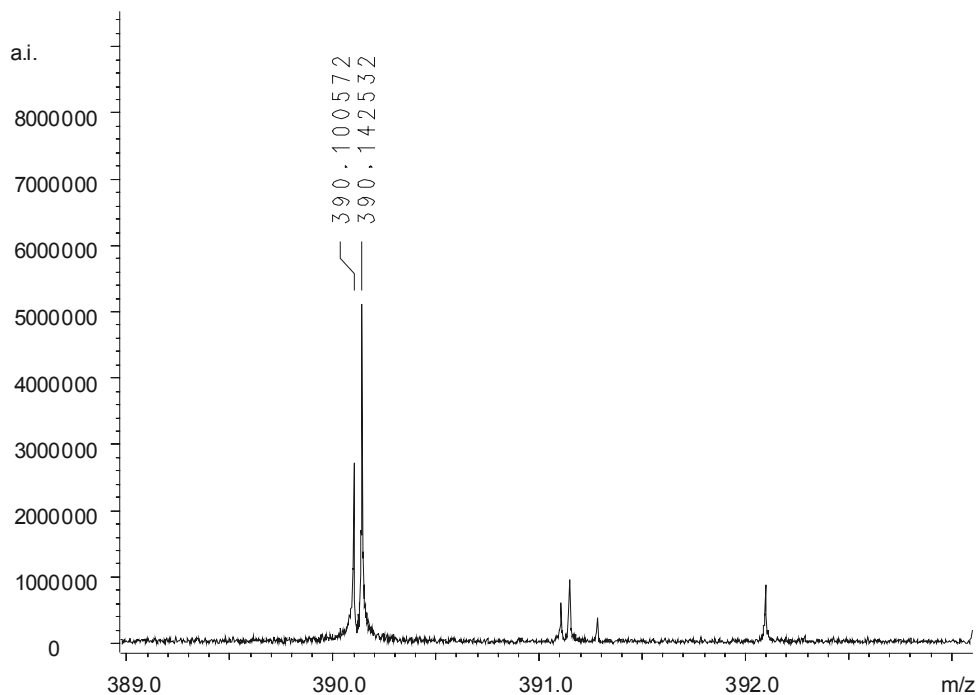


Abb. 50 Ausschnitt aus dem in Abb. 49 gezeigten Spektrum. Vergrößert dargestellt sind die Peaks der beiden Verbindungen d und t (Tab. 19).

Abb. 50 zeigt einen Ausschnitt aus dem Spektrum der Methylester-Produktbibliothek. Hier lässt sich die Trennung zweier Moleküle (Verbindungen d und t in Tab. 19) zeigen, deren Massen sich lediglich um 0,042 m/z -Einheiten unterscheiden. Indiziert worden sind

nur die monoisotopischen Peaks. Der Peak bei $m/z = 390,101$ gehört zu 1-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-5-phenyl-3-(3-pyridyl)pyrazol-4-carbonsäuremethylester, der Peak bei $m/z = 390,143$ zu 1-(3-Chlorphenyl)-5-phenyl-3-(3-pyridyl)pyrazol-4-carbonsäuremethylester.

Tab. 19 zeigt die Ergebnisse der FTICR-MS-Untersuchung der Methylester-Produktbibliothek und führt den im Folgenden verwendeten Buchstabencode für die einzelnen Verbindungen ein.

Tab. 19 Buchstabencode, Substitutionsmuster sowie berechnete und gefundene Massen der Methylester-Produktbibliothek. Der mittlere Messfehler beträgt 1,30 ppm.

Code	R ¹	R ²	[M+H] ⁺ theor.	[M+H] ⁺ exp.	Δ [ppm]
a	Methyl	3-Chlorphenyl	328,084731	328,085374	1,96
b	Ethyl	3-Chlorphenyl	342,100381	342,100841	1,34
c	<i>i</i> -Propyl	3-Chlorphenyl	356,116031	356,116400	1,04
d	Phenyl	3-Chlorphenyl	390,100381	390,100572	0,49
e	Methyl	4-Fluorphenyl	312,114281	312,114765	1,55
f	Ethyl	4-Fluorphenyl	326,129931	326,130567	1,95
g	<i>i</i> -Propyl	4-Fluorphenyl	340,145581	340,146277	2,05
h	Phenyl	4-Fluorphenyl	374,129931	374,130408	1,27
i	Methyl	3,4-Dimethylphenyl	322,155003	322,155522	1,61
k	Ethyl	3,4-Dimethylphenyl	336,170653	336,171031	1,12
l	<i>i</i> -Propyl	3,4-Dimethylphenyl	350,186303	350,186653	1,00
m	Phenyl	3,4-Dimethylphenyl	384,170653	384,171283	1,64
n	Methyl	3-Nitrophenyl	339,108781	339,109393	1,80
o	Ethyl	3-Nitrophenyl	353,124431	353,125097	1,89
p	<i>i</i> -Propyl	3-Nitrophenyl	367,140082	367,140566	1,32
q	Phenyl	3-Nitrophenyl	401,124431	401,124692	0,65
r	Methyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	362,111088	362,111657	1,57
s	Ethyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	376,126738	376,127211	1,26
t	<i>i</i> -Propyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	390,142388	390,142532	0,37
u	Phenyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	424,126738	424,126778	0,09

Die Eduktbibliothek wie auch die Methylester-Produktbibliothek wurden mit Mikro-HPLC-ES-FTICR-MS-Kopplung untersucht. Die Trennung erfolgte über eine analytische HPLC-Säule mit UV-Detektion. Anschließend wurden die Produkte „on-line“ massenspektrometrisch detektiert. Das Ergebnis der HPLC-MS-Kopplung ist in Abb. 51 gezeigt. Neben dem Chromatogramm der UV-Detektion (UV-Spur) erhält man über das Massenspektrometer ein Signal, das die Zahl der im Analysator eintreffenden Ionen in Abhängigkeit von der Zeit zeigt (TIC). Die Unterschiede in der relativen Signalhöhe einer detektierten Verbindung in TIC und UV-Spur sind darin begründet, dass im TIC die Ionisierungswahrscheinlichkeit der Verbindung, für die UV-Spur hingegen der Extinktionskoeffizient die maßgebliche Größe ist. Die Zuordnung der HPLC-Signale erfolgt in Tab. 20.

Tab. 20 Peakzuordnung der HPLC-MS-Kopplung der Methylester-Produktbibliothek.

Pos.	t_R [min]	Code	$[M+H]^+$	Pos.	t_R [min]	Code	$[M+H]^+$
1	14,4	e	312	11	18,8	h	374
2	14,8	g	340	12	18,9	k	336
3	16,0	f	326	13	19,3	q	401
4	16,3	o	353	14	19,7	s	376
5	16,6	a	328	15	19,8	c	356
6	17,4	i	322	16	20,6	l	350
7	17,6	n	339	17	21	t	390
8	17,9	p	367	18	21,0	m	384
9	18,2	b	342	19	21,2	d	390
10	18,3	r	362	20	22,2	u	424

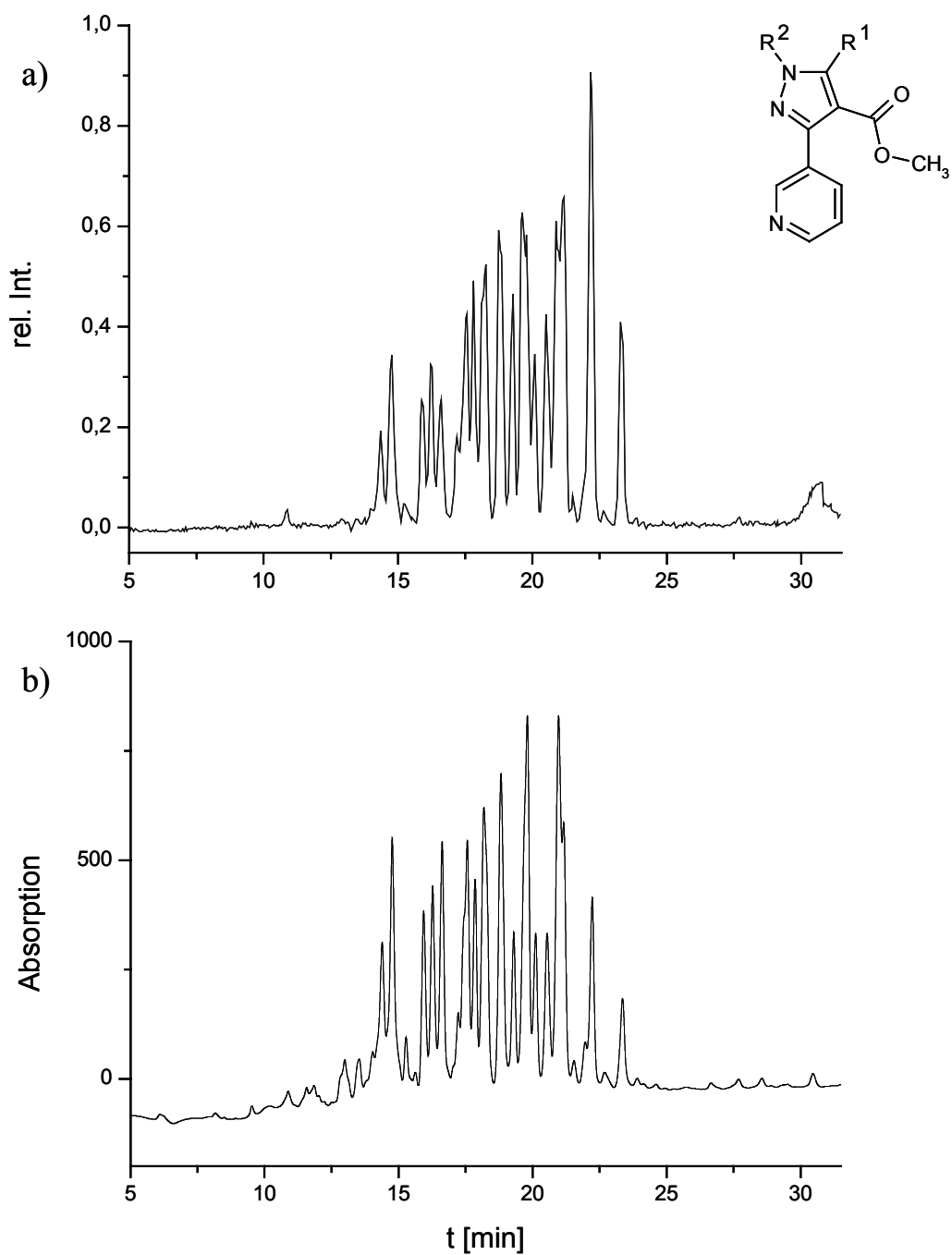


Abb. 51 HPLC-MS-Analyse der Methylesterbibliothek - Total-Ionen-Chromatogramm TIC (a) und UV-Spur ($\lambda = 214 \text{ nm}$) (b).

Ein Ausschnitt aus dem Kontourplot (HPLC-Retentionszeit gegen das m/z -Verhältnis) der HPLC-MS-Untersuchungen der Methylester-Bibliothek ist in Abb. 52 dargestellt. Alle 20 Pyrazolcarbonsäuremethylester wurden detektiert, es konnte kein Edukt mehr nachgewiesen werden. Die monoisotopischen Peaks der Verbindungen d und t sind vergrößert dargestellt.

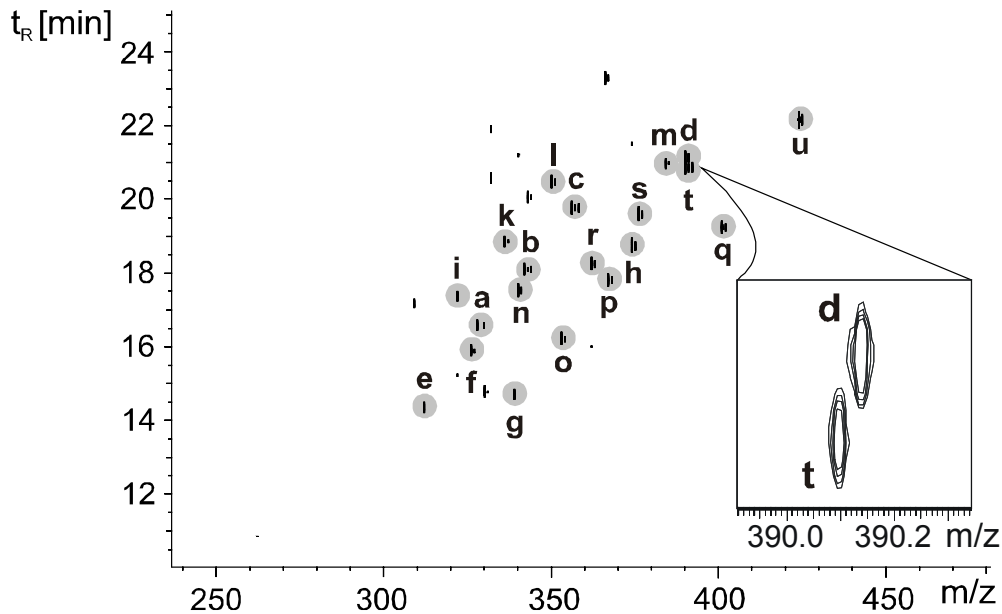


Abb. 52 Ausschnitt aus dem Kontourplot (m/z gegen t_R) der Methylester-Produktbibliothek. Der vergrößerte Bereich zeigt die Verbindungen d und t mit einer Massendifferenz von lediglich 0,042 m/z -Einheiten. Im hochauflösenden Messmodus ist eine problemlose Unterscheidung der beiden Verbindungen möglich. Zur Erklärung des Buchstabencodes vgl. Tab. 19.

Die 2-(2-Pyridyl)ethylester-Produktbibliothek wurde ebenfalls mit ES-FTICR-Massenspektrometrie untersucht. Die Umsetzung erfolgte nahezu quantitativ, lediglich geringe Reste an Edukt wurden detektiert. Der in Abb. 53 gezeigte Ausschnitt aus dem Massenspektrum zeigt die Signale der einfach positiv geladenen Molekülonen. Die Analytik der 2-(2-Pyridyl)ethylesterbibliothek ist in Tab. 21 aufgeführt.

Durch diese Umsetzung konnte gezeigt werden, dass die Methode sich zur Alkylierung von Substanzkollektionen mit basischen und heterocyclischen Resten eignet, die ihrerseits nicht alkyliert werden. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Alkylierung von Bibliothek B diskutiert.

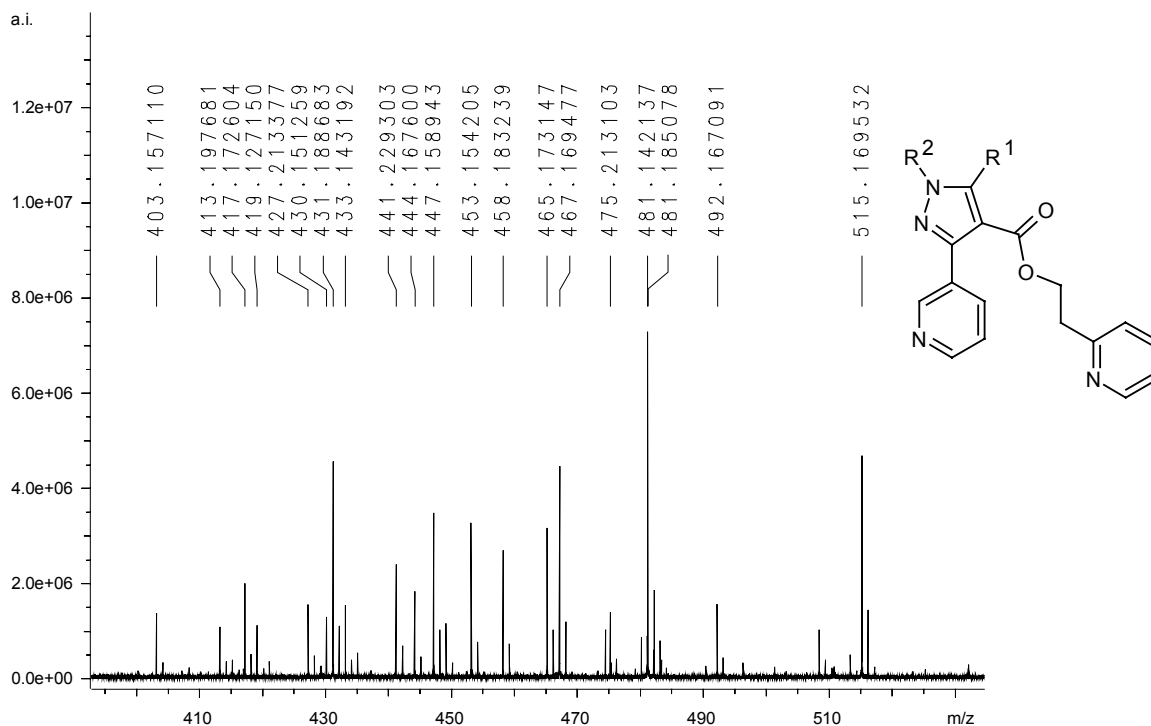


Abb. 53 ES-FTICR-MS der 2-(2-Pyridyl)ethylester-Produktbibliothek A.

Tab. 21 Substitutionsmuster sowie berechnete und gefundene Massen der 2-(2-Pyridyl)ethylester-Produktbibliothek. Der mittlere Messfehler beträgt 1,28 ppm.

Pos.	R ¹	R ²	[M+H] ⁺ theor.	[M+H] ⁺ exp.	Δ [ppm]
1	Methyl	3-Chlorphenyl	419,126930	419,127150	0,52
2	Ethyl	3-Chlorphenyl	433,142580	433,143192	1,41
3	<i>i</i> -Propyl	3-Chlorphenyl	447,158230	447,158943	1,59
4	Phenyl	3-Chlorphenyl	481,142580	481,142137	-0,92
5	Methyl	4-Fluorphenyl	403,156481	403,157110	1,56
6	Ethyl	4-Fluorphenyl	417,172131	417,172604	1,13
7	<i>i</i> -Propyl	4-Fluorphenyl	431,187781	431,188683	2,09
8	Phenyl	4-Fluorphenyl	465,172131	465,173147	2,18
9	Methyl	3,4-Dimethylphenyl	413,197202	413,197681	1,16
10	Ethyl	3,4-Dimethylphenyl	427,212853	427,213377	1,23
11	<i>i</i> -Propyl	3,4-Dimethylphenyl	441,228503	441,229303	1,81
12	Phenyl	3,4-Dimethylphenyl	475,212853	475,213103	0,53

Tab. 21 MS-Analytik der 2-(2-Pyridyl)ethylester-Produktbibliothek (Fortsetzung).

Pos.	R ¹	R ²	[M+H] ⁺ theor.	[M+H] ⁺ exp.	Δ [ppm]
13	Methyl	3-Nitrophenyl	430,150981	430,151259	0,65
14	Ethyl	3-Nitrophenyl	444,166631	444,167600	2,18
15	<i>i</i> -Propyl	3-Nitrophenyl	458,182281	458,183239	2,09
16	Phenyl	3-Nitrophenyl	492,166631	492,167091	0,93
17	Methyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	453,153287	453,154205	2,03
18	Ethyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	467,168937	467,169477	1,16
19	<i>i</i> -Propyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	481,184587	481,185078	1,02
20	Phenyl	4-(Trifluormethyl)phenyl	515,168937	515,169532	1,15

3.2.3.4 Alkylierung von Pyrazolcarbonsäurebibliothek B

Die Übertragung basischer und heterocyclischer Reste auf Substanz-Bibliotheken wurde am Beispiel der Alkylierung der aus 24 Verbindungen bestehenden Eduktbibliothek B von 4-Pyrazolcarbonsäuren mit drei verschiedenen basischen und/oder heterocyclischen Gruppen gezeigt. Verwendet wurden hierzu 2-(1-Pyrrolidinyl)ethyl-, 2-(1-Morpholinyl)ethyl- sowie 2-(*N,N*-Diethylamino)ethyltriazen-Harz. Alle drei übertragenen Reste sind Stickstoffbasen, und insbesondere die Übertragung des Morpholinringes ist aus pharmakologischer Sicht sehr interessant. Die drei Produktbibliotheken wurden mit ES-FTICR-MS im Breitbandmodus bzw. ES-MS analysiert. Lediglich im Falle der 2-(1-Pyrrolidinyl)ethylester-Bibliothek war die Umsetzung nicht quantitativ. Hier wurden noch deutliche Reste an nicht umgesetzten Eduktbausteinen detektiert. Bei den beiden anderen Produktbibliotheken konnten nur Spuren einzelner Edukte nachgewiesen werden. In Abb. 54 ist exemplarisch das ES-FTICR-Massenspektrum der Morpholinyl-ester-Produktbibliothek gezeigt.

Die Ergebnisse der Umsetzung von Bibliothek B mit den drei Triazen-Harzen sind in Tab. 22 gezeigt. Es konnten in jedem Fall alle Produkte eindeutig zugeordnet werden.

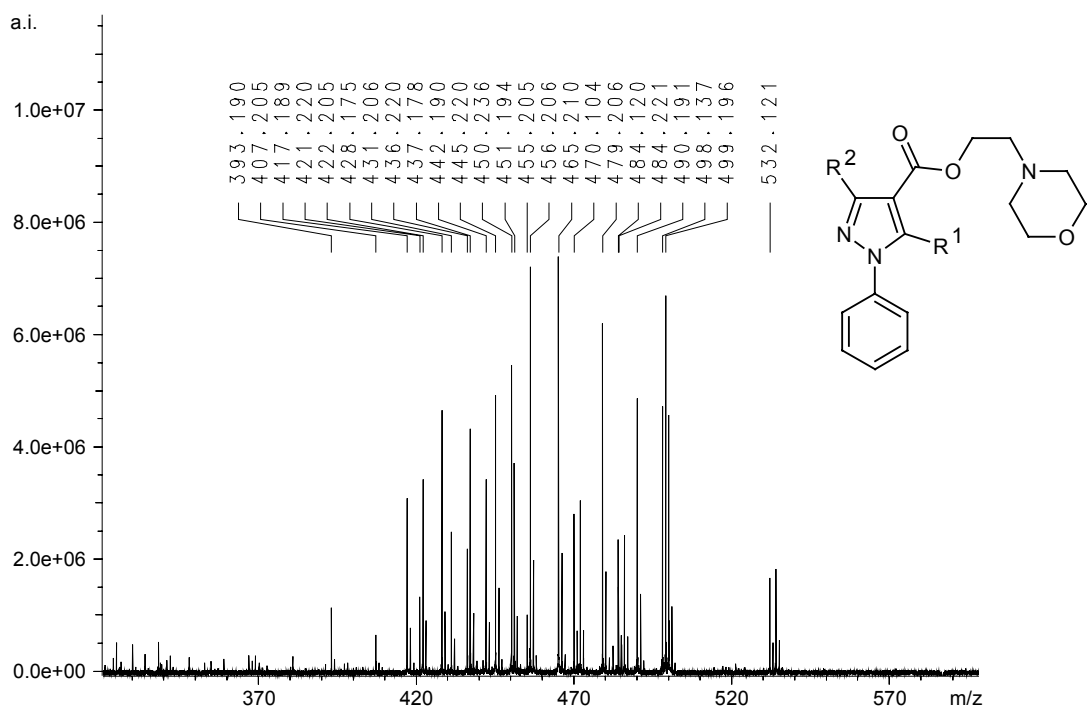


Abb. 54 ES-FTICR-MS der Morpholinylesterbibliothek. Nur Spuren von Edukt sind detektierbar, und alle Produkte konnten eindeutig zugeordnet werden.

Tab. 22 Ergebnisse der Umsetzung von Bibliothek B mit 2-(1-Pyrrolidinyl)ethyl- (Pyrr.), 2-(1-Morpholinyl)ethyl- (Morph.) sowie 2-(*N,N*-Diethylamino)ethyltriazen-Harz (Dieth.).

Pos.	R ¹	R ²	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺
			Eduktbib.	Pyrr.	Morph.	Dieth.
1	Methyl	Nitrophenyl	324	421	437	423
2	Ethyl	Nitrophenyl	338	435	451	437
3	<i>n</i> -Propyl	Nitrophenyl	352	449	465	451
4	Phenyl	Nitrophenyl	386	483	499	485
5	Methyl	4-Bromphenyl	357	454	470	456
6	Ethyl	4-Bromphenyl	371	468	484	470
7	<i>n</i> -Propyl	4-Bromphenyl	385	482	498	484
8	Phenyl	4-Bromphenyl	419	516	532	518

Tab. 22 Ergebnisse der Umsetzung von Bibliothek B (Fortsetzung).

Pos.	R ¹	R ²	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺
			Eduktbib.	Pyrr.	Morph.	Dieth.
9	Methyl	3-Pyridyl	280	377	393	379
10	Ethyl	3-Pyridyl	294	391	407	393
11	<i>n</i> -Propyl	3-Pyridyl	308	405	421	407
12	Phenyl	3-Pyridyl	342	439	455	441
13	Methyl	3,4-Difluorphenyl	315	412	428	414
14	Ethyl	3,4-Difluorphenyl	329	426	442	428
15	<i>n</i> -Propyl	3,4-Difluorphenyl	343	440	456	442
16	Phenyl	3,4-Difluorphenyl	377	474	490	476
17	Methyl	4-Cyanophenyl	304	401	417	403
18	Ethyl	4-Cyanophenyl	318	415	431	417
19	<i>n</i> -Propyl	4-Cyanophenyl	332	429	445	431
20	Phenyl	4-Cyanophenyl	366	463	479	465
21	Methyl	3-Methoxyphenyl	309	406	422	408
22	Ethyl	3-Methoxyphenyl	323	420	436	422
23	<i>n</i> -Propyl	3-Methoxyphenyl	337	434	450	436
24	Phenyl	3-Methoxyphenyl	371	468	484	470

4 Festphasensynthesen

4.1 Einleitung

1,2,3-Triazole wurden erstmals 1888 von Hans von Pechmann, später Professor in Tübingen, synthetisiert und in ihrer ringförmigen Struktur richtig beschrieben [Pec88]. Seit dieser Zeit sind viele Synthesevorschriften für 1,2,3-Triazole und deren Derivate entwickelt worden [Fin80], von denen die wichtigsten der Aufbau aus C-C- und N-N-N-, C-N und C-N-N- Synthesebausteinen sowie die Ringschlussreaktion eines N-C-C-N-N-Bausteins sind [Deh94]. Unsubstituierte 1,2,3-Triazole kommen in zwei tautomeren Formen vor, wobei das Gleichgewicht auf der Seite des 2*H*-Tautomeren liegt [Rou69].

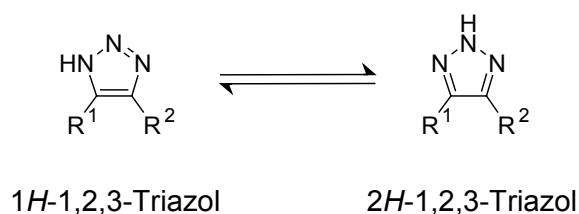


Abb. 55 Tautomere Formen bei 1,2,3-Triazolen.

Die gängige Methode zur Darstellung von 1*H*-1,2,3-Triazolen besteht in der 1,3-dipolaren Cycloaddition eines Azids mit einem Alkin. Besonders gute Umsetzungsraten werden erhalten, wenn das Alkin akzeptorsubstituiert ist. Das populärste Beispiel stellt Dimethylacetylendicarbonsäure (DMAD) dar [Hui65]. Als Azid-Komponente kommen Alkyl- oder Arylazide, Azidotrimethylsilan, Sulfonyl- oder Alkoxy-carbonylazide sowie Natriumazid in Frage (Abb. 56). Bei Verwendung von substituierten Alkinen wird normalerweise ein Regioisomerengemisch erhalten. Dabei treten elektronenziehende Gruppen bevorzugt in der 4-Position auf, elektronenschiebende Substituenten hingegen in der 5-Position. Sterisch anspruchsvolle Gruppen wie Trimethylsilyl nehmen bevorzugt die sterisch weniger gehinderte 4-Position ein.

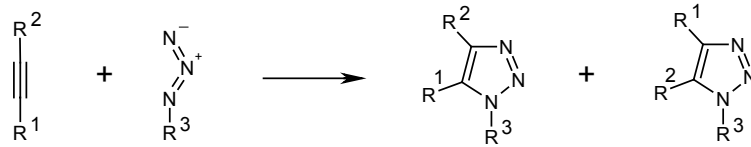


Abb. 56 Synthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen durch 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden mit Acetylenen.

Eine weitere Darstellungsmöglichkeit für 1*H*-1,2,3-Triazole ist die basenkatalysierte Cyclisierung organischer Azide mit aktivierten Methylenverbindungen, wie aktivierten Acetonitrilderivaten oder 1,3-Dicarbonylverbindungen (Abb. 57).

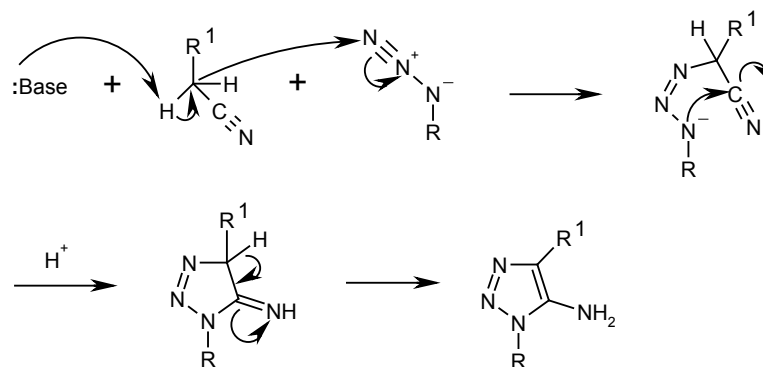


Abb. 57 Mechanismus der basenkatalysierten Cyclisierung von Aziden mit aktivierten Acetonitrilderivaten zur Darstellung von 1*H*-1,2,3-Triazolen.

Diese Reaktion, die erstmals 1927 von Dimroth beschrieben wurde [Dim27], verläuft regiospezifisch unter Ausbildung des 5-aminosubstituierten Produkts und ermöglicht so die Synthese unsymmetrisch substituierter Triazole. In Übereinstimmung mit dem formulierten Mechanismus (nukleophiler Angriff des Carbanions am endständigen N-Atom) verläuft die Reaktion am leichtesten mit Aziden, die elektronenziehende Gruppen tragen. Elektronenschiebende Substituenten erschweren hingegen die Reaktion.

Im Rahmen dieses Teils der vorliegenden Arbeit wurden Cycloadditionen an polymergebundenen Aziden mit DMAD sowie diverse Postmodifikationen (Umfunktionalisierung und Synthesen von Heteroaryltriazolen) durchgeführt. Die Bedingungen der Cyclisierungsreaktion wurden sowohl unter konventionellen Bedingungen als auch mikrowellenunterstützt optimiert.

4.2 Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazolen

Im ersten Schritt der Triazolsynthese wurde ein polymergebundenes Azid an Rink-Amid-Aminomethyl-PS-Harz erzeugt. Dies wurde entweder durch Acylierung des Harzes mit einer Bromcarbonsäure gefolgt von nukleophiler Substitution des Broms mit Natriumazid durchgeführt (Variante A). Oder Azidobenzooesäuren wurden direkt an das Harz gekuppelt (Variante B). Beide Synthesewege sind in Abb. 58 gezeigt.

Weitere Möglichkeiten zur Erzeugung polymergebundener Azide sind die nukleophile Öffnung eines Epoxids mit Natrium- oder TMS-Azid, die Diazotransferreaktion auf Amine mit Tosylazid sowie die Mesitylierung/Tosylierung von aliphatischen Alkoholen gefolgt von nukleophiler Substitution mit Natrium- oder TMS-Azid. Diese Möglichkeiten zur Erzeugung polymergebundener Azide wurden im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht untersucht.

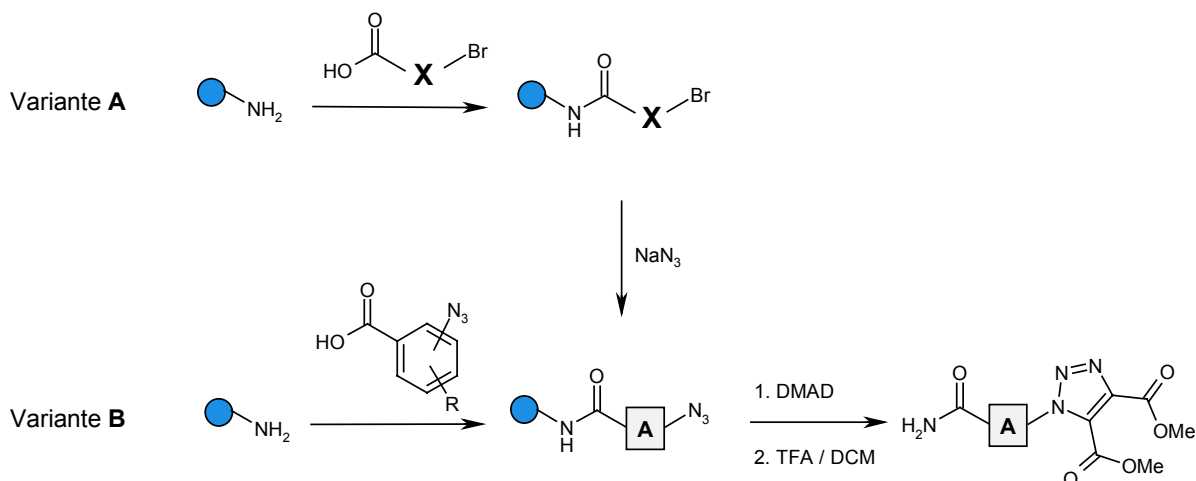


Abb. 58 Synthese von 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylestern an der festen Phase.

Die Cyclisierungsreaktion mit DMAD erfolgte thermisch, wobei aufgrund des symmetrischen Substitutionsmusters am Acetylen kein Regioisomerengemisch entstehen konnte. Die Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger erfolgte mit 20 % TFA/DCM bei Raumtemperatur, und es wurden 1-[Carbamoylalkyl/aryl]-1*H*-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester erhalten. Die angegebenen HPLC-Reinheiten sind Rohproduktreinheiten und beziehen sich auf UV-Detektion bei $\lambda = 214 \text{ nm}$ und Vergleich der HPLC-Peakflächen.

Die Synthesen in diesem Teil der vorliegenden Arbeit wurden an Polystyrol-Harz mit Rink-Amid-AM-Linker durchgeführt. Dieser Linker ist sehr gut zur Immobilisierung von Carbonsäuren geeignet. Die so erzeugten Carbonsäureamide sind stabil gegenüber der Behandlung mit Nukleophilen wie Aminen, Hydrazin oder OH^- . Außerdem weist der Linker eine ausreichend hohe Temperaturstabilität gegenüber den Bedingungen der thermischen Cyclisierungsreaktion auf. Die Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger erfolgt mit 20 – 95 % TFA/DCM.

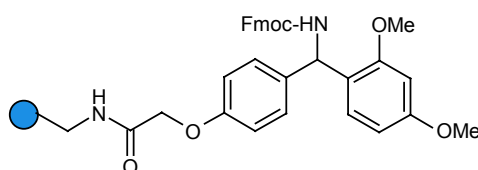


Abb. 59 Struktur des Rink-Amid-AM-Linkers.

4.2.1 Synthese polymergebundener Azide

Die Synthese polymergebundener Alkylazide nach Variante A (Abb. 58) erfolgte durch Acylierung des Fmoc-entschützten Rink-Linkers (20 % Piperidin in DMF, Raumtemperatur, 2×20 min) mit Bromcarbonsäuren (5 eq.) unter DIC-Aktivierung (2,5 eq.) in DMF bei Raumtemperatur für 3 h. Die DIC-Aktivierung basiert auf der Bildung des Anhydrids der zu kuppelnden Säure, sodass relativ zum Säureüberschuss genau der halbe Überschuss an DIC zugesetzt wird. Der Vorteil bei der Verwendung DIC liegt in der Ausbildung von löslichem Diisopropylharnstoff, der mit der Reaktionslösung aus dem Harz gewaschen werden kann, während sich bei Verwendung von DCC der schwer lösliche Dicyclohexylharnstoff bildet. Zudem wurde die Carbonsäure zur vollständigen Anhydridbildung 15 min lang mit DIC aktiviert, bevor sie zum Harz gegeben wurde. Die Vollständigkeit der Acylierung wurde mittels Kaiser-Test überprüft und gegebenenfalls die Kupplung wiederholt. Bei unvollständiger zweiter Kupplung wurden freie Linkerpositionen durch Zugabe einer Capping-Lösung (DMF/DIEA/ Ac_2O ; 8:2:1) bei Raumtemperatur für 0,5 h acetyliert.

Die nachfolgende Brom-Substitution wurde mit Natriumazid (5 eq.) in DMSO bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Geschwindigkeit der Substitutionsreaktion ist

naturgemäß stark substratabhängig. So war bei Verwendung von α -Bromcarbonsäuren wie auch bei benzylich gebundenem Brom bereits nach einer halben Stunde eine vollständige Brom-Substitution erreicht. Im Falle von langkettigen ω -Bromcarbonsäuren verläuft die Substitution deutlich langsamer, und es war zur vollständigen Substitution eine auf 2 h verlängerte Reaktionszeit nötig. Zur Vereinheitlichung der Reaktionsbedingungen wurde substratunabhängig eine Reaktionszeit von 2 h eingehalten.

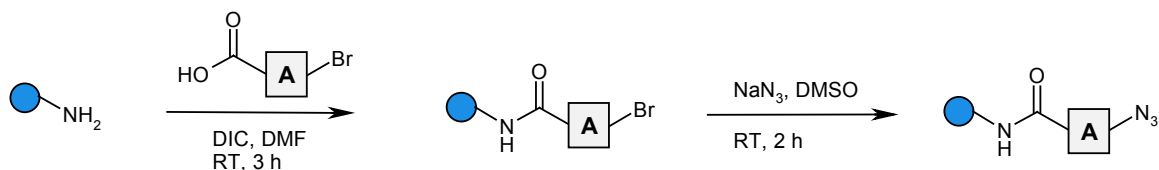


Abb. 60 Synthese polymergebundener Alkylazidocarbonsäuren (Variante A).

Die Optimierung der Reaktion erfolgte via FT-ATR-IR-Monitoring der intensiven und isoliert bei $\nu \approx 2100 \text{ cm}^{-1}$ auftretenden N₃-Bande.

Zusätzlich wurden polymergebundene Arylazide nach Variante B (Abb. 58) durch Benzoylierung des Fmoc-entschützten Rink-Linkers mit Azidobenzoensäuren (5 eq.) unter Benzoylierung des Fmoc-entschützten Rink-Linkers mit Azidobenzoensäuren (5 eq.) unter DIC-Aktivierung (2,5 eq.) in DMF bei Raumtemperatur für 3 h erhalten (Abb. 61). Auch hier wurden die Carbonsäuren 15 min lang aktiviert, bevor sie zum Harz gegeben wurde.

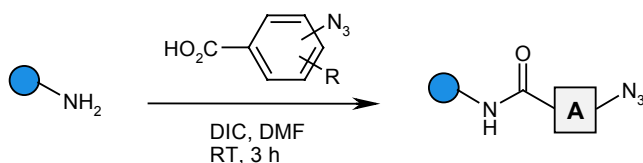


Abb. 61 Synthese polymergebundener Arylazidocarbonsäuren (Variante B).

In den nachfolgenden Reaktionsschemata zur Erzeugung polymergebundener Azide wird nur Variante A gezeigt, was stellvertretend für beide Synthesewege steht.

Abb. 62 zeigt das FT-ATR-IR-Spektrum von polymergebundener *para*-Azidobenzoesäure (Synthesevariante B). Man erkennt die charakteristische Absorptionsbande der N₃-Gruppe bei $\nu = 2119 \text{ cm}^{-1}$. Die Schulter rechts davon zeigt ansatzweise die für Arylazide typische Aufspaltung des Signals in ein Dublett.

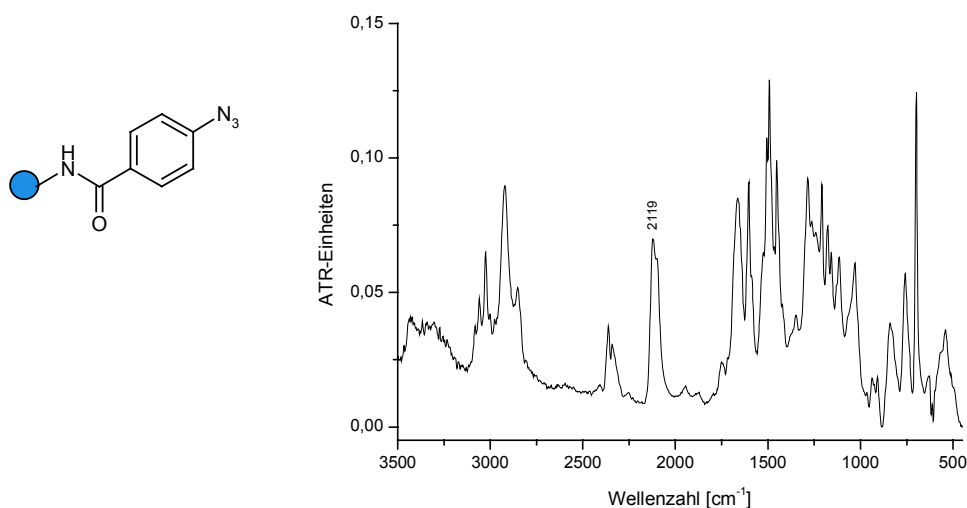


Abb. 62 FT-ATR-IR-Spektrum von polymergebundener *para*-Azidobenzoesäure.

4.2.2 Cyclisierung zu 1*H*-1,2,3-Triazolen

Die 1,3-dipolare Cycloaddition polymergebundener Azide mit Dimethylacetylen-dicarboxylat (Acetylendicarbonsäuredimethylester, DMAD) wurde zur Evaluierung der Methode zunächst analog der Vorschrift von Gouault et al. bei 80 °C durchgeführt [Gou00]. Dazu wurde polymergebundenes Azid mit DMF bzw. Toluol versetzt und anschließend DMAD in zehnfachem Überschuss zugegeben. Es wurden zwei Optimierungsreihen durchgeführt, da aromatische Azide bei der thermischen Cyclisierung deutlich weniger reaktiv sind als aliphatisch gebundene. Die Optimierung der Reaktionszeit erfolgte anhand polymergebundener Azidoessigsäure sowie *ortho*-Azidobenzoesäure. Als optimal im Fall von Azidoessigsäure hat sich eine Reaktionszeit von 18 h ergeben, während bei *ortho*-Azidobenzoesäure erst eine zweifache Umsetzung für jeweils 20 h zur vollständigen Cyclisierung führte. Das verwendete Lösungsmittel (DMF bzw. Toluol) hatte – wie für 1,3-dipolare Cycloadditionen berichtet [Kad73] – keinen messbaren Einfluss auf die Geschwindigkeit der Reaktion oder auf die

Produktreinheiten. Die Abspaltung der Cyclisierungsprodukte vom polymeren Träger erfolgte mit 20 % TFA in DCM.

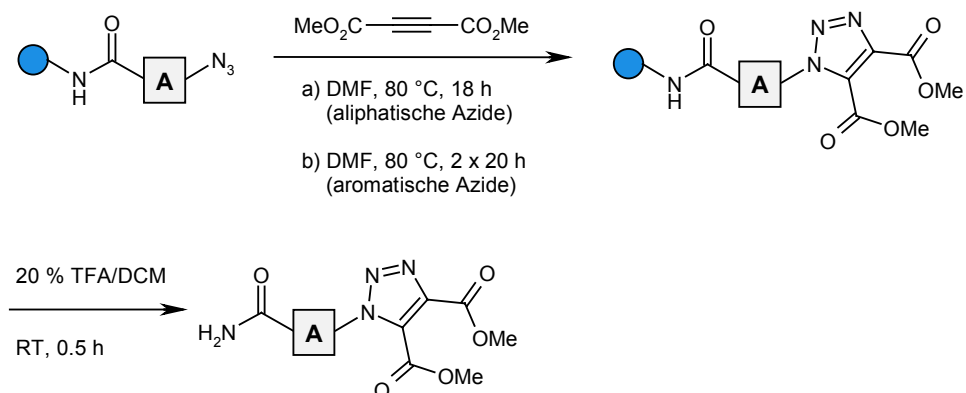


Abb. 63 1,3-Dipolare Cycloaddition polymergebundener Azide mit DMAD zu 1*H*-1,2,3-Triazolen.

Der Reaktionsfortschritt wurde mit Hilfe der FT-ATR-IR-Spektroskopie verfolgt. Charakteristisch ist das Verschwinden der N_3 -Absorptionsbande bei $\nu \approx 2100 \text{ cm}^{-1}$ sowie das Auftreten der Ester-Bande bei $\nu \approx 1740 \text{ cm}^{-1}$. Abb. 64 zeigt das IR-Spektrum von polymergebundener 4-[4,5-Bis(methoxycarbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]benzoesäure.

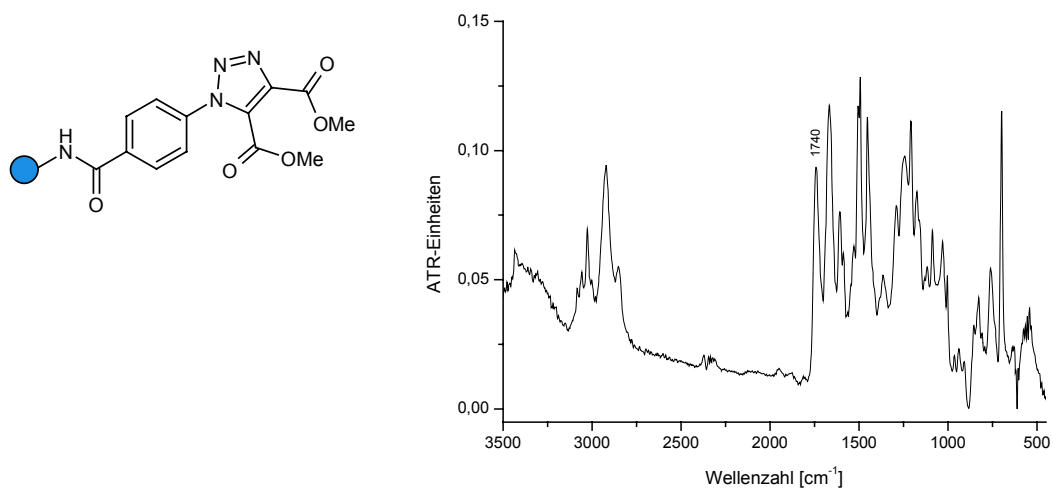


Abb. 64 FT-ATR-IR Spektrum von polymergebundener 4-[4,5-Bis(methoxycarbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-benzoesäure.

Die bei Variation der Säurekomponente erhaltenen Ergebnisse der 1,3-dipolaren Cycloaddition mit DMAD in DMF bei 80 °C sind in Tab. 23 aufgeführt. Bei Pos. 1 – 10 handelt es sich um Cyclisierungen an aliphatischen Aziden. Pos. 11 – 13 sind Cyclisierungen an aromatischen Aziden.

Tab. 23 Ergebnisse der 1,3-dipolaren Cycloaddition polymergebundener Azide mit DMAD in DMF bei 80 °C bei Variation der Säurekomponente. Pos. 1 – 10 sind aliphatische Azide, Pos. 11 – 13 aromatische Azide.

Pos.	Säurekomponente	[M+H] ⁺	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	243	84
2	2-Bromisobuttersäure	271	79
3	2-Brombuttersäure	271	88
4	6-Bromhexansäure	299	>98
5	8-Bromoctansäure	327	>98
6	11-Bromundecansäure	369	86
7	2-Bromtetradecansäure	411	63
8	4-(Brommethyl)phenyllessigsäure	333	86
9	4-(Brommethyl)-3-nitrobenzoesäure	364	>98
10	4-(Brommethyl)benzoesäure	319	96
11	5-Azido-2-nitrobenzoesäure	350	96
12	<i>para</i> -Azidobenzoessäure	305	97
13	<i>ortho</i> -Azidobenzoessäure	305	97

4.2.3 Automatisierte mikrowellenunterstützte Reaktionsoptimierung

Mit Hilfe der automatisierten mikrowellenunterstützten Reaktionsoptimierung wurde nach modifizierten Reaktionsbedingungen gesucht, die vergleichbare Ergebnisse unter drastischeren Reaktionsbedingungen und entsprechend verkürzten Reaktionszeiten ermöglichen sollten. Insbesondere die extrem langen Reaktionszeiten bei Verwendung aromatischer Azide sind in der kombinatorischen Chemie wenig wünschenswert und sollten so vermieden werden.

Die Reaktionsansätze wurden in speziellen, druckstabilen Reaktionsgefäßen aus Glas durchgeführt, die mit einem Magnetkern ausgestattet und mit einem Septum, bestehend

aus einem Gummi-Dichtring und einer Verschlusskappe aus Aluminium, verschlossen waren (Abb. 65). Durch das Septum konnten zum einen Reagenzlösungen hinzupipettiert und zum anderen der Druck im Inneren des Reaktionsgefäßes gemessen werden.

Bei dem verwendeten Mikrowellenreaktor handelte es sich um ein Single-Mode Gerät, ausgestattet mit einem automatischen Probengeber und einer Pipettiereinheit. Einzelheiten zur Gerätespezifikation sind der Beschreibung in Kapitel 6.2.2 zu entnehmen.

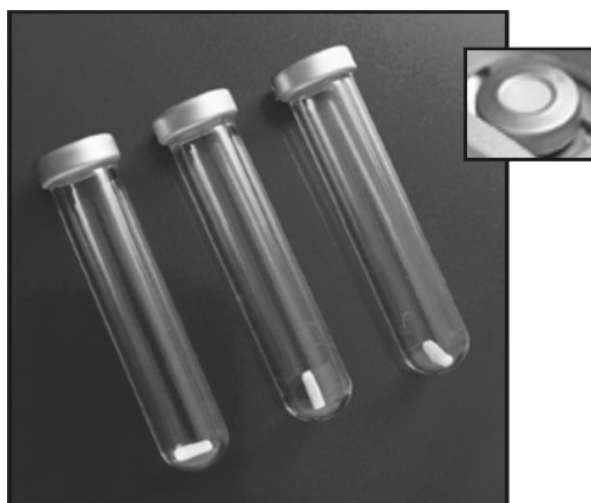


Abb. 65 Reaktionsgefäße für den verwendeten Mikrowellenreaktor (großes Bild) und Aufsicht auf die Verschlusskappe mit Gummidichtung (kleines Bild).

Die Reaktionsoptimierung erfolgte anhand polymergebundener 11-Azidoundecansäure, 4-(Azidomethyl)-3-nitrobenzoesäure sowie *para*-Azidobenzoessäure als Vertretern je eines aliphatischen, benzylichen und aromatischen Azids. Sowohl die Reaktionstemperatur als auch die Reaktionszeit wurden systematisch variiert. Als maximale Reaktionstemperatur wurde 150 °C gewählt, da oberhalb dieser Temperatur vermehrt Nebenprodukte auftraten durch die zunehmende Labilität des Rink-Linkers und des polymeren Trägermaterials. Bis 150 °C wurden nach Abspaltung vom Polymer sehr reine Reaktionsprodukte erhalten. Der Reaktionsfortschritt wurde auch hier mit Hilfe der FT-ATR-IR Spektroskopie über das Verschwinden der bei $\nu \approx 2100 \text{ cm}^{-1}$ liegenden N_3 -Bande verfolgt und mit Hilfe von HPLC-Untersuchungen quantifiziert. Die Ergebnisse der Optimierungsversuche für *para*-Azidobenzoessäure sind in Tab. 24 gezeigt.

Tab. 24 Optimierung der mikrowellenunterstützten Cycloaddition von DMAD an polymergebundene *para*-Azidobenzoessäure.

Pos.	Reaktionsbedingungen	HPLC [%]
1	75 °C / 15 min	17
2	100 °C / 15 min	42
3	125 °C / 15 min	76
4	150 °C / 15 min	94
5	150 °C / 20 min	96

Die Reaktionszeiten bei diesen für die Festphasenchemie ungewöhnlich hohen Temperaturen sind naturgemäß sehr kurz. Die Cyclisierung aliphatischer Azide war bereits nach 15 min abgeschlossen. Im Fall der weniger reaktiven aromatischen Azide war eine nur geringfügig längere Reaktionszeit von 20 min nötig (Abb. 66).

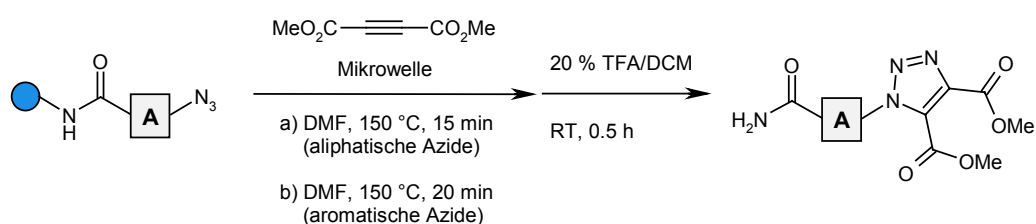


Abb. 66 Mikrowellenunterstützte Cycloaddition von polymergebundenen Aziden mit DMAD.

Während die Cyclisierungsergebnisse im Fall von aliphatischen Aziden über oder im Bereich der im vorigen Abschnitt gezeigten Ergebnisse der Reaktionsführung bei 80 °C lagen, wurden für aromatische Azide schlechtere Produktreinheiten erhalten. Das durch Cycloaddition mit polymergebundener 11-Azidoundecansäure erhaltene Produkt zeigte eine deutlich verbesserte Reinheit. Edukt konnte in keinem Fall mehr nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der mikrowellenunterstützten Cycloaddition bei Variation der Säurekomponente sind in Tab. 25 gezeigt. Abb. 67 zeigt das ES-Massenspektrum von 1-(4-Carbamoylphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester.

Tab. 25 Ergebnisse der mikrowellenunterstützten Cycloaddition von DMAD an polymergebundene Azide. Die Reaktionsbedingungen im Falle aliphatischer Azide (Pos. 1 – 7) waren 150 °C für 15 min, im Falle aromatischer Azide (Pos. 8 – 10) 150 °C für 20 min.

Pos.	Säurekomponente	[M+H] ⁺	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	243	81
2	6-Bromhexansäure	299	97
3	8-Bromoctansäure	327	96
4	11-Bromundecansäure	369	96
5	4-(Brommethyl)phenyllessigsäure	333	86
6	4-(Brommethyl)-3-nitro-benzoesäure	364	97
7	4-(Brommethyl)benzoesäure	319	95
8	5-Azido-2-nitrobenzoesäure	350	87
9	<i>para</i> -Azidobenzoesäure	305	97
10	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	305	84

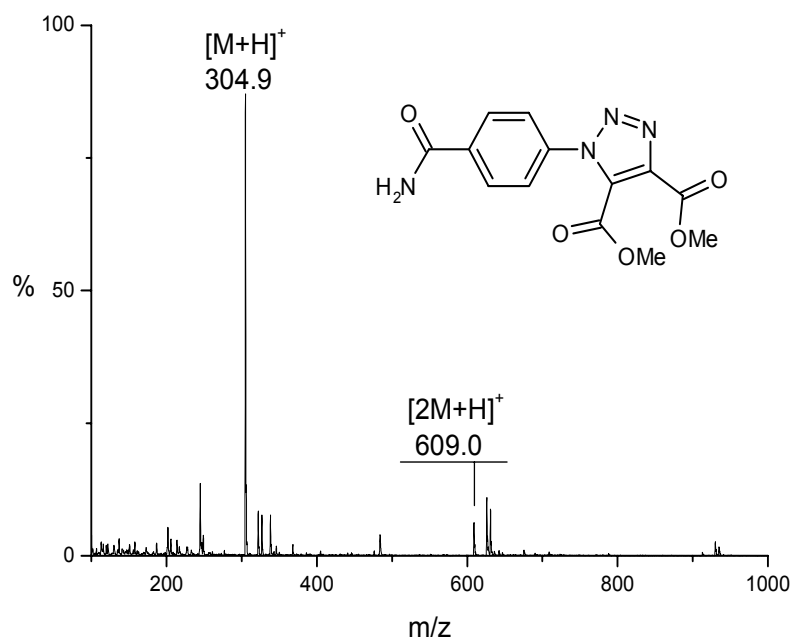


Abb. 67 ES-MS von 1-(4-Carbamoylphenyl)-1H-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester.

Wie bereits erwähnt ist der besondere Vorteil der mikrowellenunterstützten Festphasensynthese im vorliegenden Fall insbesondere in der Möglichkeit zur Automatisierung sowie der hohen Geschwindigkeit und Effizienz des Heizvorgangs zu

sehen. Daraus resultiert ein besonders hohes Maß an Reproduzierbarkeit der experimentellen Bedingungen. Abb. 68 zeigt den gemessenen Temperaturverlauf beim mikrowelleninduzierten Heizen einer DMF-Probe auf 150 °C für 15 min. Das Heizprofil verläuft nahezu rechteckig und illustriert sehr gut die hervorragenden Heiz-Eigenschaften des verwendeten Mikrowellengerätes.

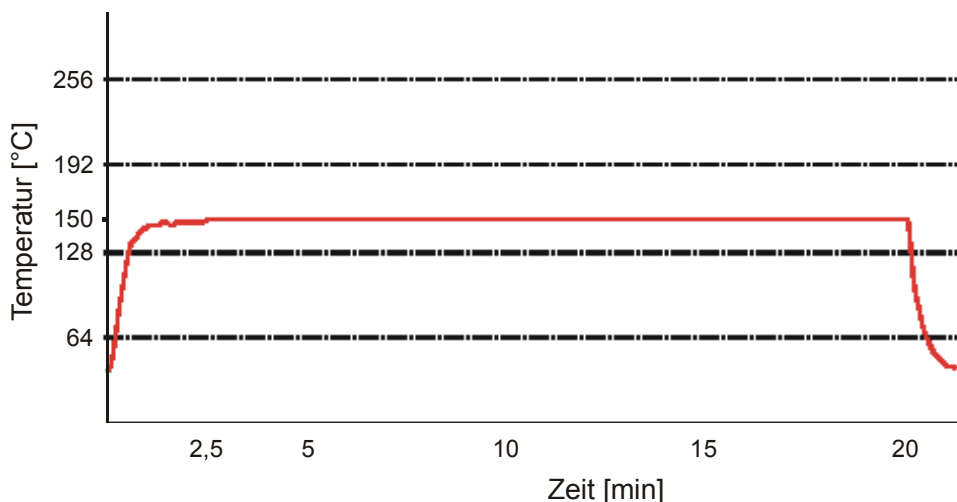


Abb. 68 Temperaturverlauf beim mikrowelleninduzierten Aufheizen von DMF auf 150 °C für 20 min. Die Soll-Temperatur von 150 °C ist nach etwa 2,5 min erreicht. Nach 20 min wird das Reaktionsgefäß im Druckluftstrom abgekühlt.

Ein deutlicher Nachteil im Hinblick auf die Anwendung in der kombinatorischen Festphasenchemie ist die fehlende Möglichkeit zur Parallelisierung von Reaktionsabläufen, weshalb nachfolgend die optimierten Reaktionsbedingungen auf die konventionelle Festphasensynthese übertragen und parallelisiert wurden.

4.2.4 Übertragung auf die konventionelle Festphasensynthese

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Übertragung der Reaktionsbedingungen der mikrowellenunterstützten Cyclisierung auf die konventionelle Festphasensynthese beschrieben. Die Versuche hierzu wurden in dicht verschlossenen Glasgefäßen in auf 150 °C thermostatisierten Heizblöcken aus Aluminium mit passgenauen Bohrungen durchgeführt. Ansätze in kleinen Volumina sollten annähernd 1:1 übertragbar sein, da hier ein schneller Temperaturübertrag stattfinden kann.

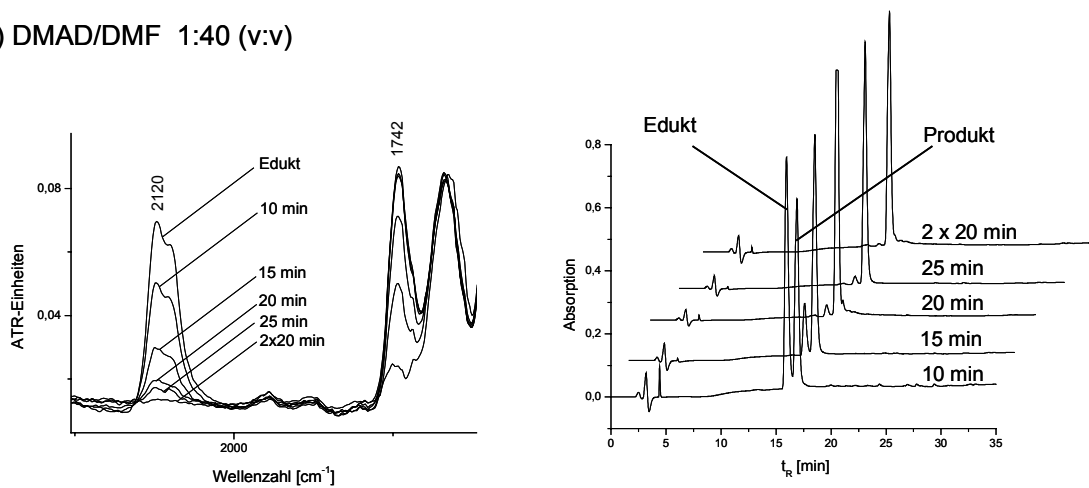
Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse der mikrowellenunterstützten Synthese mit der konventionellen Synthese zu gewährleisten und um sicherzustellen, dass die

Reaktionszeit durch ein zu langsames Abkühlen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur nicht verlängert wird, wurden die Reaktionsgefäße analog zum verwendeten Mikrowellengerät nach beendeter Reaktion im Druckluftstrom schnellstmöglich auf Raumtemperatur abgekühlt. Der Reaktionsfortschritt wurde qualitativ mittels IR-Monitoring verfolgt. Die Reinheit der Produkte wurde nach Abspaltung der Cyclisierungsprodukte vom polymeren Träger mit TFA (20 % in DCM) mit Hilfe der HPLC-Analytik ermittelt.

Für aliphatische Azide konnten die mikrowellenunterstützt optimierten Reaktionsbedingungen ohne Modifikation übernommen werden. Für aromatische Azide mussten die Bedingungen geringfügig modifiziert werden. Insbesondere hat sich hier der Einfluss der DMAD-Konzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit als limitierender Faktor erwiesen. Untersuchungen hierzu erfolgten am Beispiel der Cycloaddition von DMAD an polymergebundene *para*-Azidobenzoesäure. In Abb. 69 sind links jeweils Ausschnitte der IR-Spektren der Umsetzungen und rechts die zugehörigen HPLC-Chromatogramme dargestellt.

Abb. 69 (a) zeigt die IR-Spektren der Cycloaddition bei 150 °C unter Verwendung einer Reaktionsmischung im Volumenverhältnis von DMAD zu DMF von 1:40 (v:v). An der Höhe der N₃-Absorptionsbande bei $\nu \approx 2120 \text{ cm}^{-1}$ sowie der Bande der Ester-Absorption bei $\nu \approx 1742 \text{ cm}^{-1}$ erkennt man, dass erst durch zweimalige Umsetzung für jeweils 20 min die Reaktion vollständig ist. Diese qualitativen Beobachtungen wurden durch HPLC-Untersuchungen quantifiziert und bestätigt. Eine Konzentrationserhöhung auf 1:20 (v:v) bei gleichem Lösungsmittelvolumen und entsprechend doppelter Harzmenge ergibt nach 25 min eine vollständige Umsetzung. Dies ist am Verschwinden der N₃-Bande im zugehörigen IR-Spektrum in Abb. 69 (b) gut erkennbar. Auch hier erfolgte eine Quantifizierung mit Hilfe der HPLC-Analytik. Die Ergebnisse der Optimierungsexperimente für aromatische Azide sind in Tab. 26 gezeigt. Dass im Fall der aromatischen Azide eine etwas längere Reaktionszeit nötig ist, liegt vermutlich in der Tatsache begründet, dass die Wärmetübertragung beim konventionellen Heizen doch deutlich langsamer erfolgt als beim mikrowelleninduzierten Aufheizen der Reaktionslösung. Die deutlich höhere Reaktivität aliphatischer Azide macht eine verlängerte Reaktionszeit unnötig.

a) DMAD/DMF 1:40 (v:v)



b) DMAD/DMF 1:20 (v:v)

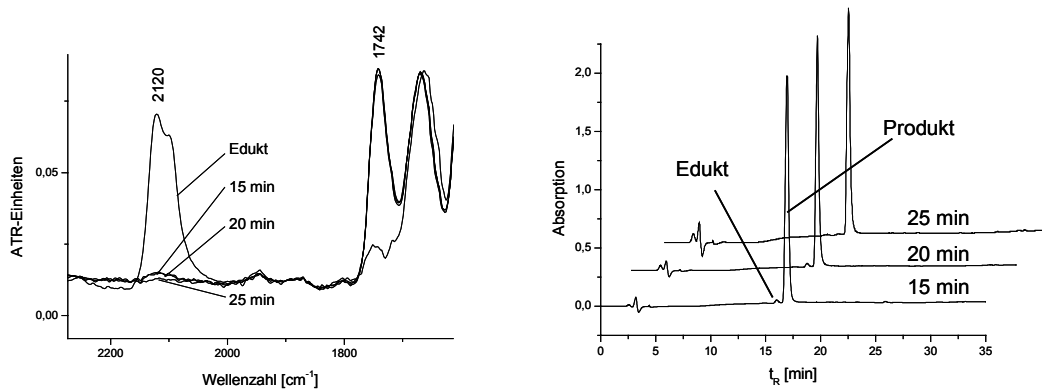


Abb. 69 FT-ATR-IR-Spektren (Ausschnitte; links) und HPLC-Chromatogramme (rechts) der Optimierung der Cycloaddition von DMAD an polymergebundene *para*-Azidobenzoesäure nach unterschiedlichen Reaktionszeiten: (a) Verwendung von DMAD/DMF 1:40 (v:v) (b) Verwendung von DMAD/DMF 1:20 (v:v).

Tab. 26 Optimierung der Cyclisierung für *para*-Azidobenzoesäure bei 150 °C.

Pos.	Reaktionsbedingungen		HPLC [%]
1	DMAD:DMF = 1:40 (v:v)	10 min	45
2		15 min	82
3		20 min	94
4		25 min	97
5		2×20 min	100
6	DMAD:DMF = 1:20 (v:v)	15 min	98
7		20 min	99
8		25 min	100

Mit den gegenüber der mikrowellenunterstützten Synthese leicht modifizierten Reaktionsbedingungen wurde nun erneut eine Kollektion an 1H-1,2,3-Triazolen unter Variation der Säurekomponente synthetisiert (Abb. 70).

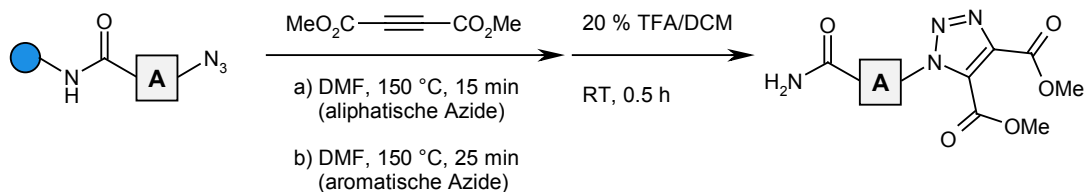


Abb. 70 Cycloaddition von DMAD an polymergebundene Azide bei 150 °C.

Die Ergebnisse, die bei Variation der Säurekomponente erhalten wurden, sind in Tab. 27 aufgeführt. In Klammern sind zum Vergleich die bei 80 °C erhaltenen Reinheiten angegeben. Mit Hilfe der automatisierten mikrowellenunterstützten Reaktionsoptimierung konnte eine deutliche Verkürzung der Reaktionsdauer für die 1,3-dipolare Cycloaddition polymergebundener Azide an DMAD unter wesentlich drastischeren Reaktionsbedingungen ausgearbeitet werden. Nach geringfügiger Modifizierung konnte die Bedingungen erfolgreich auf die konventionelle Festphasenchemie übertragen werden. Im Vergleich zur Reaktionsführung bei 80 °C liegen die Produktreinheiten bei der Cyclisierung aliphatischer Azide zum Teil deutlich höher, während die Werte für aromatische und benzyliche Azide leicht unter den bei 80 °C erhaltenen liegen.

Tab. 27 Ergebnisse der Triazolsynthese unter konventionellen Reaktionsbedingungen bei 150 °C. Die Werte in Klammer geben zum Vergleich die Reinheiten an, die bei 80 °C erhalten wurden.

Pos.	Säurekomponente	[M+H] ⁺	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	243	97 (84)
2	6-Bromhexansäure	299	98 (>98)
3	8-Bromoctansäure	327	>98 (>98)
4	11-Bromundecansäure	369	97 (86)
5	2-Bromtetradecansäure	411	93 (63)
6	4-(Brommethyl)phenyllessigsäure	333	80 (86)
7	4-(Brommethyl)benzoesäure	319	86 (96)
8	5-Azido-2-nitrobenzoesäure	350	91 (96)
9	<i>para</i> -Azidobenzoessäure	305	>98 (97)
10	<i>ortho</i> -Azidobenzoessäure	305	91 (97)

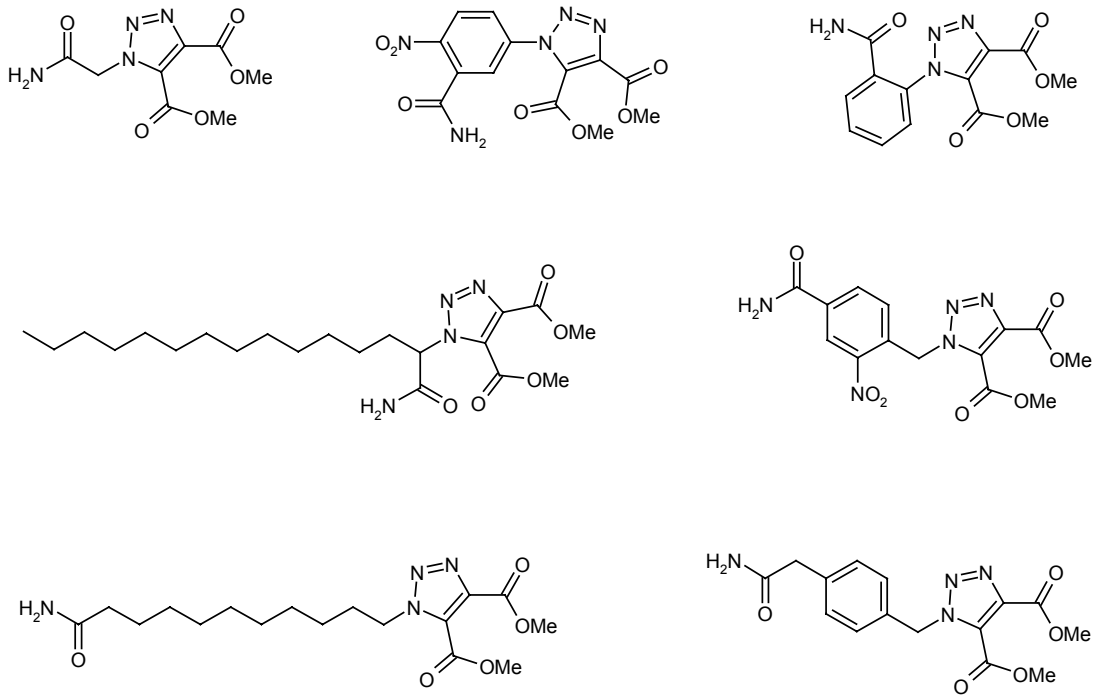


Abb. 71 Beispielverbindungen der 1H-1,2,3-Triazolsynthese.

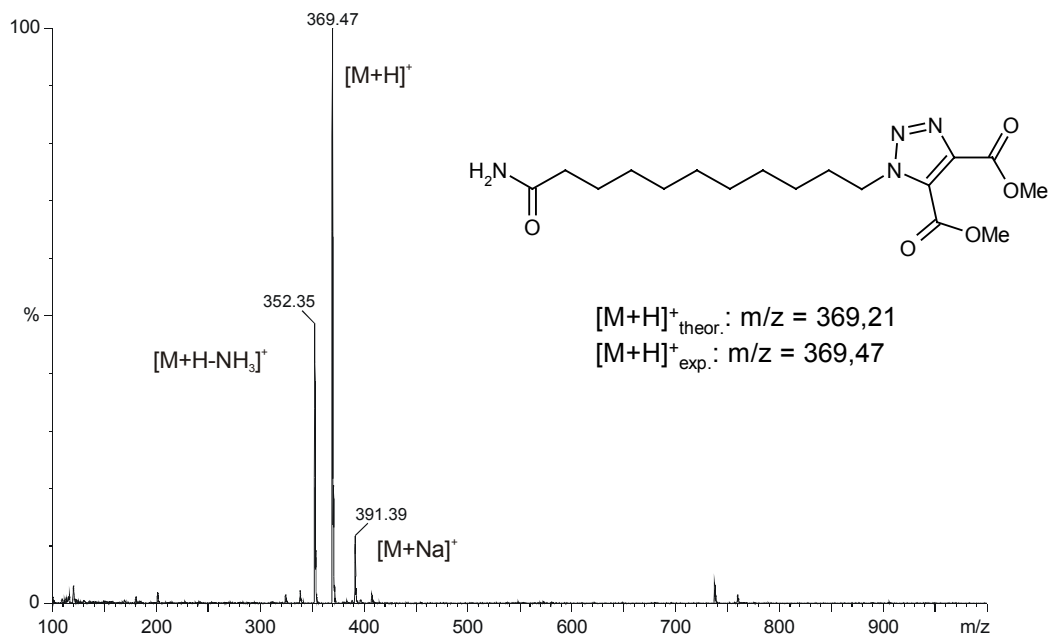


Abb. 72 ES-MS von 1-(10-Carbamoyldecyl)-1H-1,2,3-triazol-4,5-dicarbon säuredimethylester
 ($[M+H]^+_{\text{theor.}}: m/z = 369,21$).

4.3 Postmodifikationen am Triazol Grundgerüst

Im Folgenden werden verschiedene Umfunktionalisierungen am Methylester beschrieben und so die Grundlage für weitere Postmodifikationen geschaffen. Es wurden Bishydrazidotriazole (durch Esterhydrazinolyse), Biscarbamoyltriazole (durch Esterammonolyse), Biscarboxytriazole (durch Esterverseifung) und Bis(hydroxymethyl)triazole (durch Reduktion des Methylesters) synthetisiert (Abb. 73). Diese veränderten Kernstrukturen bieten jeweils verschiedene Derivatisierungsmöglichkeiten und stellen so wertvolle Ausgangsstoffe für weiterführende Synthesen dar. Am Beispiel der Bishydrazidotriazole wurde exemplarisch eine Postmodifikation – die Synthese von Bisoxadiazolyltriazolen – durchgeführt.

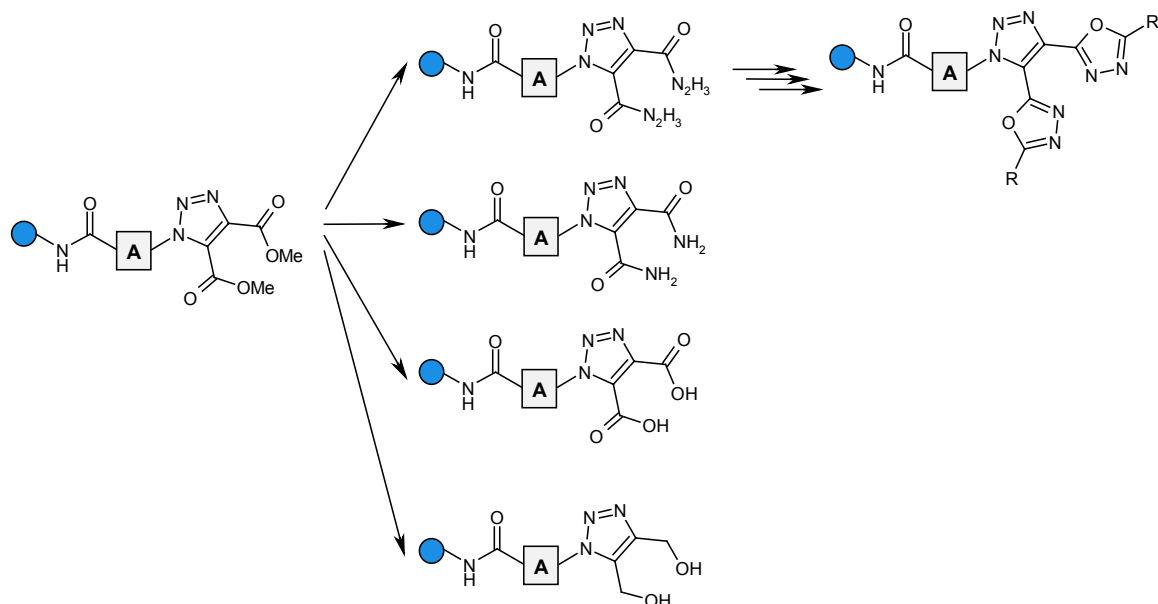


Abb. 73 Übersicht über die in diesem Kapitel beschriebenen Postmodifikationen.

Alle in diesem Kapitel angegebenen Reagenzienüberschüsse beziehen sich auf die Anzahl immobilisierter Substratmoleküle, sind also in Bezug auf die Anzahl funktioneller Gruppen zu halbieren. Wird ein zehnfacher Überschuss verwendet, bedeutet dies entsprechend einen fünffachen Überschuss pro Methylestergruppe.

4.3.1 Synthese von Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazolen

4.3.1.1 Einleitung

Zur Darstellung von 1,3,4-Oxadiazolen in Lösung sind zahlreiche Methoden bekannt [Het94] wie die Umsetzung von O-C-N-N-Synthesebausteinen mit C1-Bausteinen, beispielsweise von Säurehydraziden mit Phosgen zu 2-Oxo-1,3,4-oxadiazolen oder die Ringumwandlung von Tetrazolen. Man stellt sie auch aus einem vorgebildeten Oxadiazol-Skelett dar durch cyclisierende Dehydratisierung von *N*-Acylhydraziden oder oxidativen Ringschluss von Aldehyd-acylhydrazonen (Abb. 74).

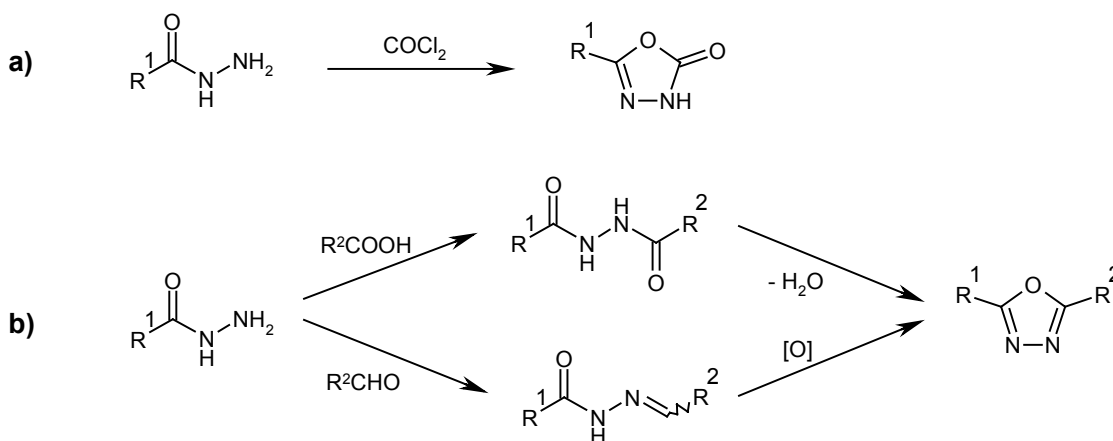


Abb. 74 Synthesemöglichkeiten von 1,3,4-Oxadiazolen ausgehend von Säurehydraziden. (a) Cyclisierung mit Phosgen (b) cyclisierende Dehydratisierung von *N*-Acylhydraziden (oben) bzw. oxidativer Ringschluss von Aldehyd-acylhydrazonen (unten).

Ziel war die Festphasensynthese von Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazolen ausgehend von polymergebundenen 1*H*-1,2,3-Triazoldicarbonsäuredimethylestern.

Eine Lösungssynthese von 4,5-Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazolen wurde von Theocharis et al. veröffentlicht [The90, The90a]. Sie stellten ausgehend von 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylestern durch Hydrazinolyse das Bishydrazid dar, welches mit Benzoylchlorid benzyliert und anschließend mit SOCl_2 cyclisiert wurde. Diese Methode zur Cyclisierung ist an der festen Phase nicht durchführbar, da mit SOCl_2 eine Abspaltung des Substrates vom Polymer erfolgen würde. Kangani et al. beschrieben die Möglichkeit zur Cyclisierung mit Carbodiimiden [Kan98], die von Kilburn et al. auf die feste Phase übertragen wurde [Kil01]. Diese Methode wurde auch in der vorliegenden Arbeit zur Cyclisierung von polymergebundenen *N*-Acylthiosemicarbaziden verwendet.

4.3.1.2 Synthese von Bisoxadiazolyltriazolen an fester Phase

Ausgehend von den in Kapitel 3.2 beschriebenen polymergebundenen 1*H*-1,2,3-Triazol-dicarbon säuredimethylestern wurden durch Hydrazinolyse des Methylesters die entsprechenden Bishydrazide dargestellt, an Arylisothiocyanate addiert, und die so erhaltenen *N*-Acylthiosemicarbazide wurden zu 1,3,4-Oxadiazolen cyclisiert. Die in Kapitel 1.5.2 beschriebene Festphasensynthese von 1,3,4-Oxadiazolen ging von polymergebundenen Isothiocyanaten aus, die mit Säurehydraziden umgesetzt und anschließend cyclisiert wurden. Im Gegensatz dazu wurde im vorliegenden Fall ein polymergebundenes Hydrazid erzeugt und das *N*-Acylthiosemicarbazid somit vom anderen Ende her aufgebaut. Anschließend erfolgte die Cyclisierung zu den entsprechenden 1,3,4-Oxadiazolen. Das Reaktionsschema dieser Synthese ist in Abb. 75 gezeigt.

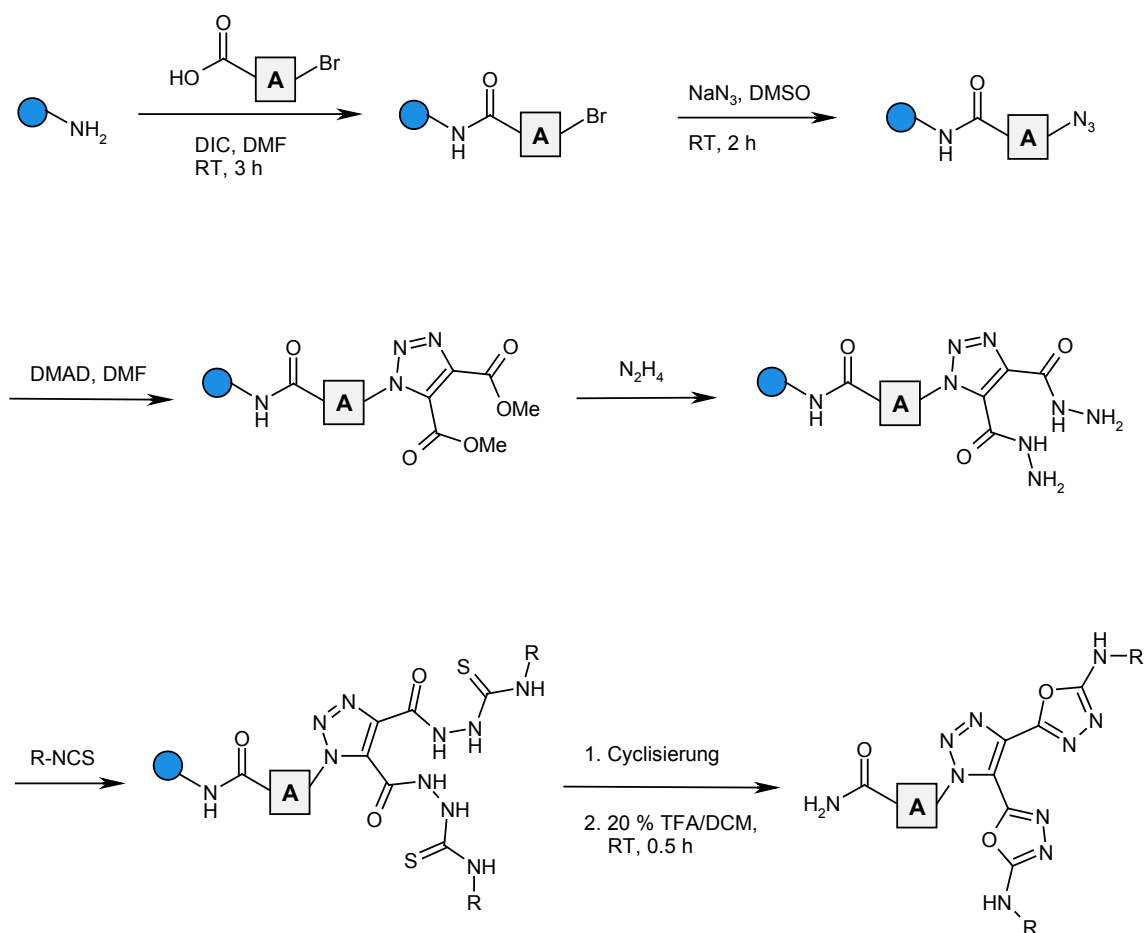


Abb. 75 Festphasensynthese von Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazolen.

Hydrazinolyse

Die Hydrazinolyse des Dimethylesters (Abb. 76) wurde mit einem zehnfachen Überschuss Hydrazin-Monohydrat in Methanol/Dioxan (1:1; v:v) bei Raumtemperatur für 16 h durchgeführt.

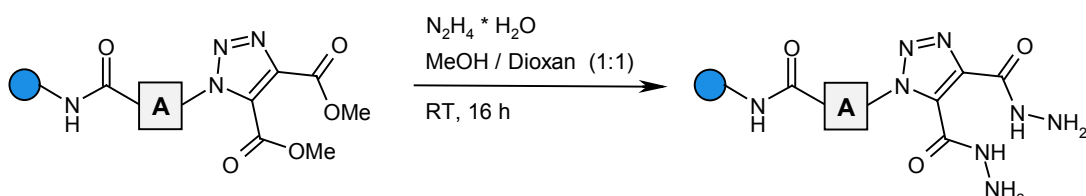


Abb. 76 Hydrazinolyse polymergebundener 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester.

Die HPLC-Analytik der Bishydrazide erwies sich als schwierig, da einige der Verbindungen auch bei sehr flachen Gradienten mit dem Einspritzpeak eluierten. Die Massendifferenz zwischen dem Dimethylester und dem Bishydrazid beträgt zudem lediglich 0,0213 m/z -Einheiten. Die massenspektrometrische Identifizierung des Produktes erfolgte deshalb mit Hilfe der ES-FTICR-Massenspektrometrie. Im hochauflösenden Modus ist hier problemlos eine Unterscheidung zwischen Ester und Hydrazid möglich. Abb. 77 zeigt einen Ausschnitt aus dem Massenspektrum des Produktes der Umsetzung von 1-Carbamoylmethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester mit Hydrazin-Monohydrat in Methanol/Dioxan. Das simulierte Spektrum für den Ester (gestrichelt, $m/z = 243,0724$) wurde über das Spektrum des Produktes (durchgezogene Linie, $m/z = 243,0943$ (der exakte Wert liegt bei $m/z = 243,0949$)) gelegt. Man sieht, dass es sich um das Hydrazid handelt und die Hydrazinolyse somit quantitativ verläuft.

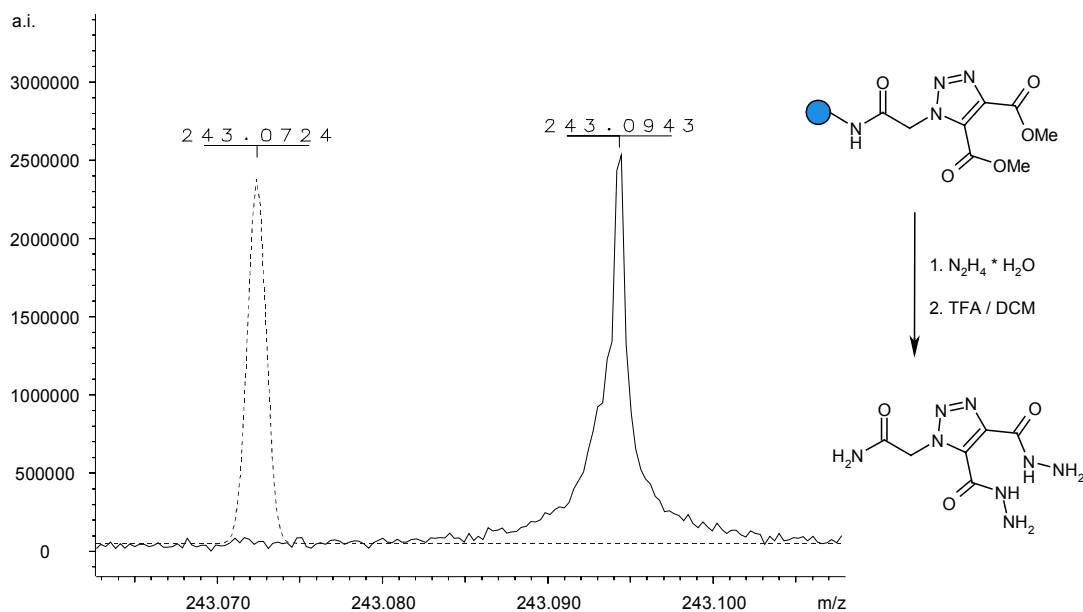


Abb. 77 ES-FT-ICR-MS von 2-[4,5-Bis(hydrazinocarbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]acetamid (durchgezogen, $[M+H]^+$ _{theor.}: $m/z = 243,0949$) und das simulierte Spektrum des Diesters (gestrichelt, $m/z = 243,0724$).

Addition von Isothiocyanaten und Cyclisierung

Die nukleophile Addition der polymergebundenen Bishydrazide an Arylisothiocyanate wurde bei Raumtemperatur in NMP für 18 h durchgeführt. Dazu wurde ein zehnfacher Überschuss Isothiocyanat eingesetzt.

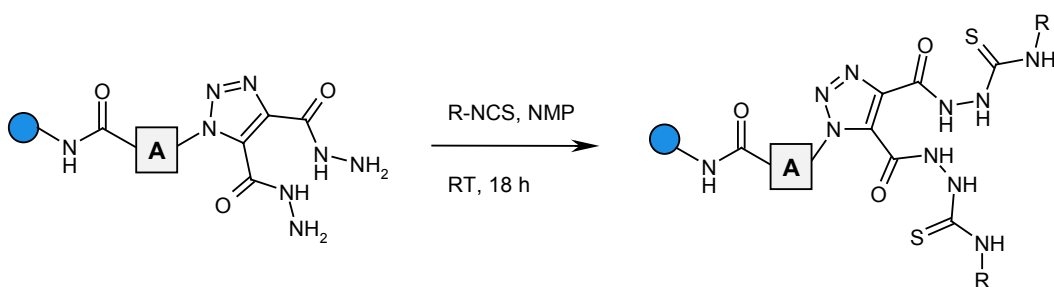


Abb. 78 Synthese polymergebundener *N*-Acylthiosemicarbazide durch Addition polymergebundener Hydrazide an Isothiocyanate.

Die Cyclisierung der *N*-Acylthiosemicarbazide zu den entsprechenden 1,3,4-Oxadiazolen erfolgte analog der Methode von Kilburn et al. mit zehnfachem Überschuss EDC·HCl in DMSO bei 80 °C für 18 h [Kil01]. Zum Entfernen des DMSO wurde das Harz besonders ausgiebig gewaschen. Die Abspaltung der Cyclisierungsprodukte vom polymeren Träger erfolgte mit 20 % TFA in DCM. Abb. 79 zeigt das Reaktionsschema der Cyclisierung.

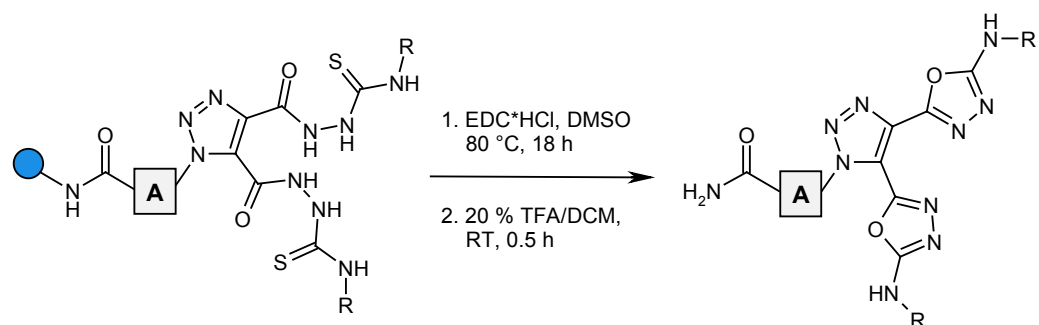


Abb. 79 Cyclisierung polymergebundener *N*-Acylthiosemicarbazide zu 1,3,4-Oxadiazolen.

Die Ergebnisse bei Variation der Säure- und Isothiocyanat-Komponenten sind in Tab. 28 aufgeführt. In Abb. 80 sind einige Beispielstrukturen der Synthese gezeigt.

Tab. 28 Festphasensynthese von Bis(5-anilino-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazolen. Ergebnisse bei Variation der Säure-Komponente und des Isothiocyanats.

Pos.	Säurekomponente	Isothiocyanat	[M+H] ⁺	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	Phenylisothiocyanat	445	81
2	Bromessigsäure	4-Nitrophenylisothiocyanat	535	67
3	Bromessigsäure	4-Chlor-3-nitrophenylisothiocyanat	603	66
4	Bromessigsäure	4-Methoxyphenylisothiocyanat	505	65
5	Bromessigsäure	4-Methylphenylisothiocyanat	473	79
6	6-Bromhexansäure	Phenylisothiocyanat	501	68
7	6-Bromhexansäure	4-Nitrophenylisothiocyanat	591	64
8	6-Bromhexansäure	4-Chlor-3-nitrophenylisothiocyanat	659	43
9	6-Bromhexansäure	4-Methoxyphenylisothiocyanat	561	59
10	6-Bromhexansäure	4-Methylphenylisothiocyanat	529	64
11	11-Bromundecansäure	Phenylisothiocyanat	571	60
12	11-Bromundecansäure	4-Nitrophenylisothiocyanat	661	59
13	11-Bromundecansäure	4-Chlor-3-nitrophenylisothiocyanat	729	73
14	11-Bromundecansäure	4-Methoxyphenylisothiocyanat	631	50
15	11-Bromundecansäure	4-Methylphenylisothiocyanat	599	51
16	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	Phenylisothiocyanat	507	75
17	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	4-Nitrophenylisothiocyanat	597	69
18	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	4-Chlor-3-nitrophenylisothiocyanat	665	80
19	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	4-Methoxyphenylisothiocyanat	567	58
20	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	4-Methylphenylisothiocyanat	535	81

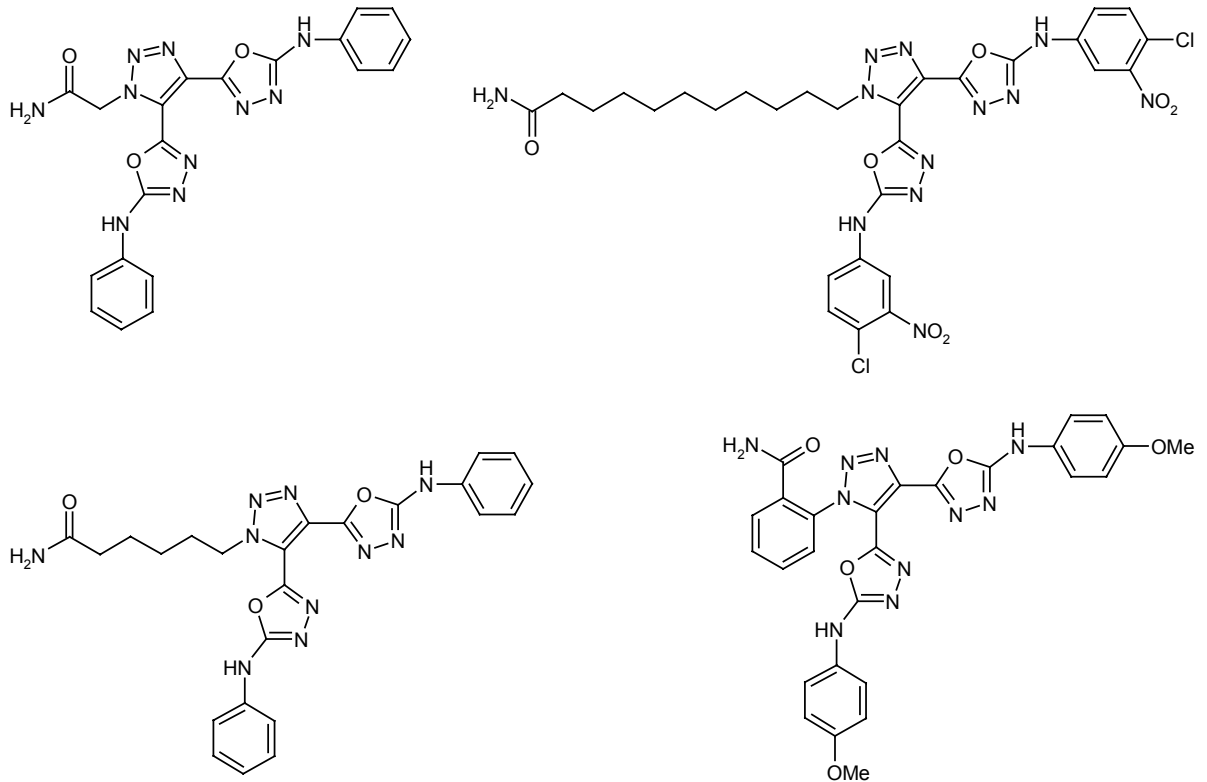


Abb. 80 Beispielverbindungen der Bis(5-anilino-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1H-1,2,3-triazolsynthese.

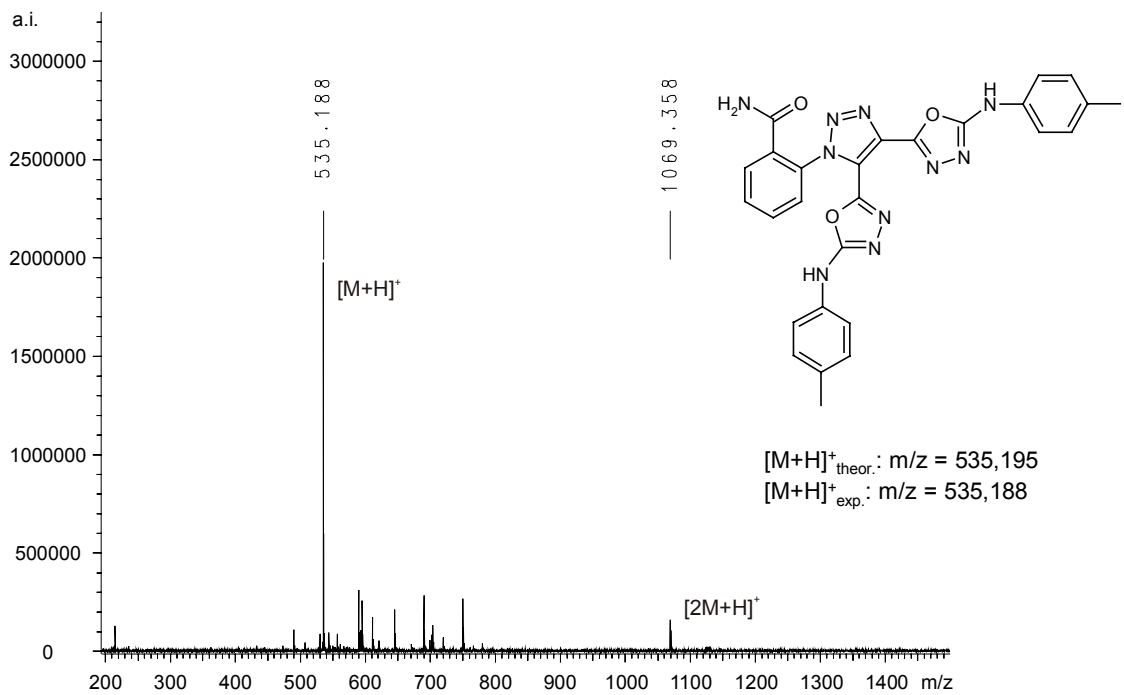


Abb. 81 ES-FTICR-MS von 2-{4,5-Bis[5-(4-methylanilino)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]-1H-1,2,3-triazol-1-yl}-benzamid ([M+H]⁺_{theor.}: m/z = 535,195).

4.3.2 Synthese von Biscarbamoyltriazenen

Die Synthese von Biscarbamoyltriazenen erfolgte durch Ammonolyse der Methylester. Versuche zur Aminolyse mit Alkylaminen brachten zwar in Einzelfällen sehr gute Ergebnisse, wie bei der Umsetzung polymergebundener 2-[4,5-Bis(methoxy-carbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]essigsäure mit *n*-Butylamin, bei der die Optimierung der Reaktionsbedingungen zu einer Produktreinheit von 98 % führte. Die ausgearbeiteten Reaktionsbedingungen der Aminolyse mit Alkylaminen führten jedoch nur in wenigen Fällen zu zufriedenstellenden Ergebnissen, sodass hierauf im Folgenden nicht näher eingegangen werden soll.

Ammonolyse der Esterfunktion

Die Synthese ging von den in Kapitel 4.2.2 beschriebenen polymergebundenen 1*H*-1,2,3-Triazoldicarbonsäuredimethylestern aus. Diese wurden durch Ammonolyse der Esterfunktionen mit einer Lösung von Ammoniak in Methanol/Dioxan in die entsprechenden Biscarbamoyl-1*H*-1,2,3-triazole überführt. Die Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger erfolgte mit 20 % TFA in DCM. Abb. 82 zeigt das Reaktionsschema der Umsetzung.

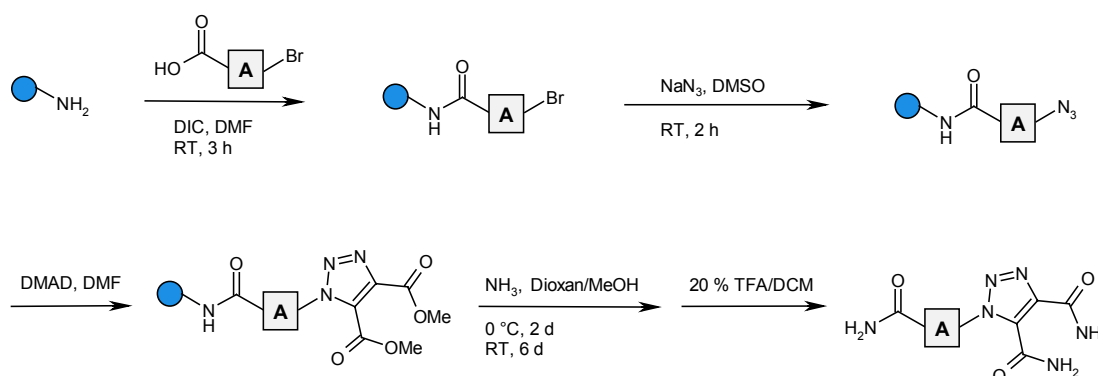


Abb. 82 Festphasensynthese von Biscarbamoyl-1*H*-1,2,3-triazolen.

Die Ammonolyse wurde mit hohem NH_3 -Überschuss in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Dioxan im Verhältnis 1:1 (v:v) für 48 h bei 0 °C und anschließend noch 6 d bei Raumtemperatur durchgeführt. Kürzere Reaktionszeiten führten in einigen Fällen zu unvollständiger Ammonolyse. Eine denkbare Nebenreaktion, die Cyclisierung zum

Imid, ließ sich durch die Verwendung hoher Ammoniak-Überschüsse und Durchführung der Reaktion bei niedrigen Temperaturen vermeiden. Zudem ist die anfängliche Kühlung auf 0 °C nötig, um ein Entweichen von Ammoniak zu verhindern. Ein deutlicher Nachteil dieser Synthese ist die sehr lange Reaktionszeit, die zur vollständigen Ammonolyse notwendig ist.

Die bei Variation der Säurekomponente durch Umsetzung mit Ammoniak erhaltenen Ergebnisse sind in Tab. 29 aufgelistet. Abb. 83 zeigt einige Beispielstrukturen der Synthese.

Tab. 29 Ergebnisse der Biscarbamoyl-1*H*-1,2,3-triazolsynthese bei Variation der Säurekomponente.

Pos.	Säurekomponente	[M+H] ⁺	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	213	93
2	6-Bromhexansäure	269	90
3	11-Bromundecansäure	339	90
4	4-(Brommethyl)-3-nitrobenzoesäure	334	73
5	4-(Brommethyl)benzoesäure	289	99
6	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	275	79

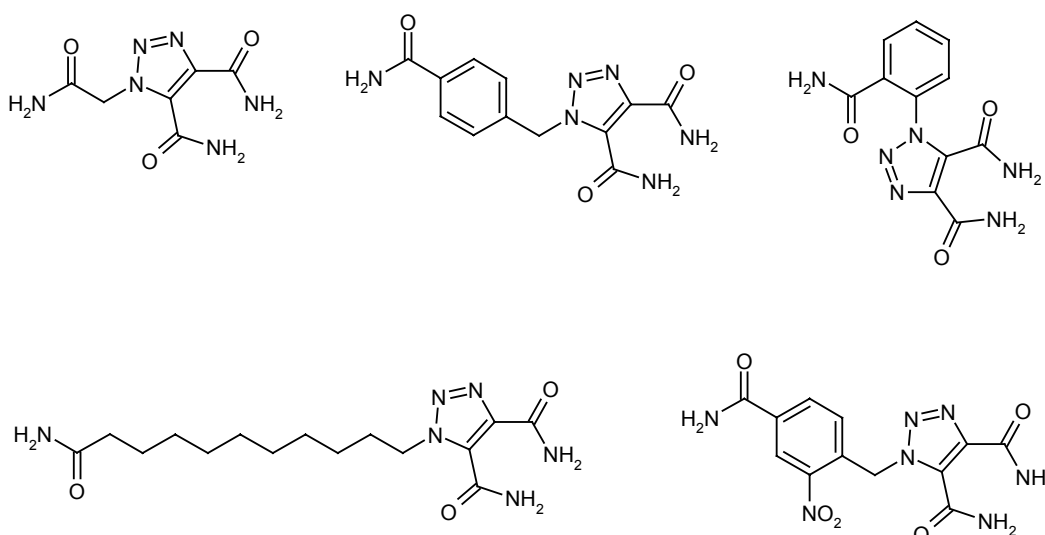


Abb. 83 Beispielverbindungen der Biscarbamoyl-1*H*-1,2,3-triazolsynthese.

Abb. 84 zeigt das ES-FTICR-Massenspektrum von 4-(4,5-Biscarbamoyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-ylmethyl)benzoesäureamid. Indiziert wurden der $[M+H]^+$ -Peak mit $m/z = 289,1$, die Peaks des Natrium-Adduktes ($m/z = 311,1$) und des Kalium-Adduktes ($m/z = 327,1$) sowie der $[2M+H]^+$ -Peak mit $m/z = 577,2$.

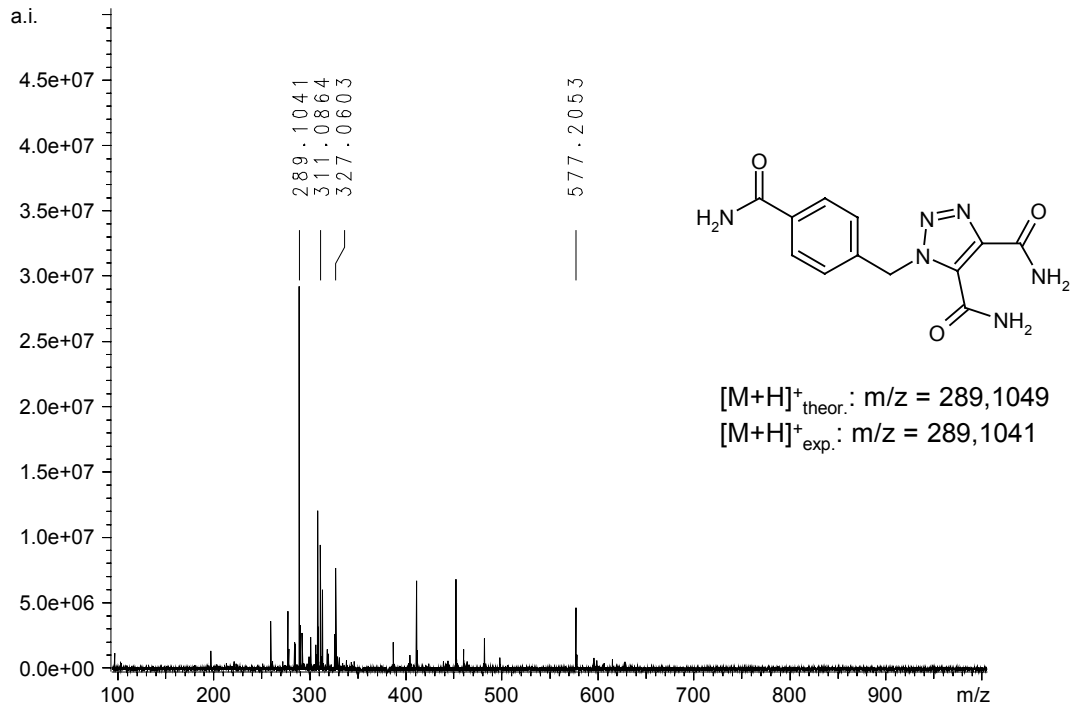


Abb. 84 ES-FTICR-MS von 4-(4,5-Biscarbamoyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-ylmethyl)benzoesäureamid ($[M+H]^+_{\text{theor.}}: m/z = 289,1049$).

4.3.3 Synthese von Triazoldicarbonsäuren

Die Verseifung eines Methylesters kann an der festen Phase auf verschiedene Arten erfolgen. Entweder basisch mit Alkalihydroxiden [Kim98, Yu99, Bil98] oder durch Umesterung mit KOSiMe_3 in THF gefolgt von einer sauren Hydrolyse des Silylesters [Hoe97]. Diese Möglichkeiten wurden systematisch untersucht, wobei die Methode der Umesterung und anschließenden sauren Hydrolyse insbesondere bei Azidobenzoesäuren als Säurekomponente zu unvollständiger Umsetzung und zur partiellen Zerstörung des Substrates am Polymer geführt hat. Zur basischen Verseifung wurden verschiedene Methoden und unterschiedliche Reaktionsbedingungen untersucht.

Die Verwendung von NaOH (0,5 M in Dioxan/ H_2O) (1:1; v:v) bei 60 °C für 18 h hat sich als am besten geeignet herausgestellt. Im Anschluss an die Reaktion wurde das Harz bei Raumtemperatur für 0,5 h in AcOH (25 % in DMF) geschüttelt. Die Reaktionsoptimierung erfolgte „on-bead“ FT-ATR-IR-spektroskopisch und „off-bead“ nach Abspaltung vom polymeren Träger mit Hilfe von HPLC und ES-MS.

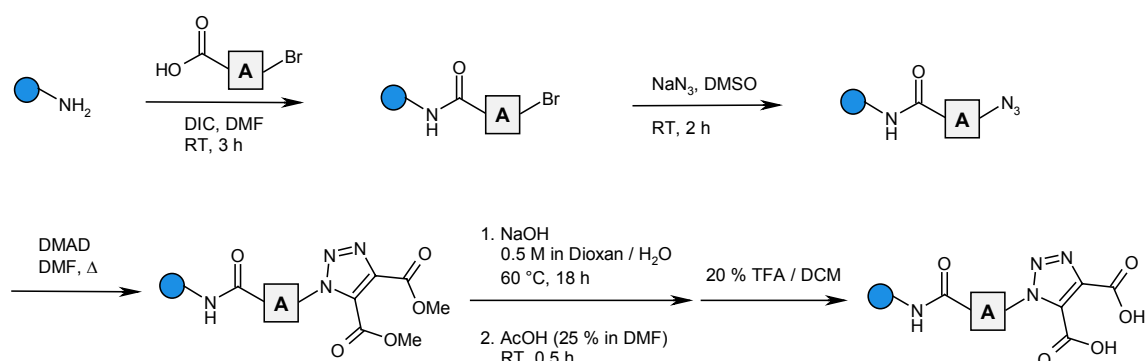


Abb. 85 Festphasensynthese von 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuren.

Die Ergebnisse der Methylesterverseifung zeigen, dass keine einheitlich guten Produktreinheiten resultieren Tab. 30. Im Fall des aromatisch substituierten Triazols (Pos. 7) war kein Produkt detektierbar.

Tab. 30 Ergebnisse der Methylesterverseifung mit NaOH in Dioxan/H₂O.

Pos.	Säurekomponente	[M+H] ⁺	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	215	87
2	6-Bromhexansäure	271	49
3	8-Bromoctansäure	299	96
4	11-Bromundecansäure	341	75
5	4-(Brommethyl)-3-nitro-benzoessäure	336	90
6	4-(Brommethyl)benzoessäure	291	64
7	<i>ortho</i> -Azidobenzoessäure	---	---

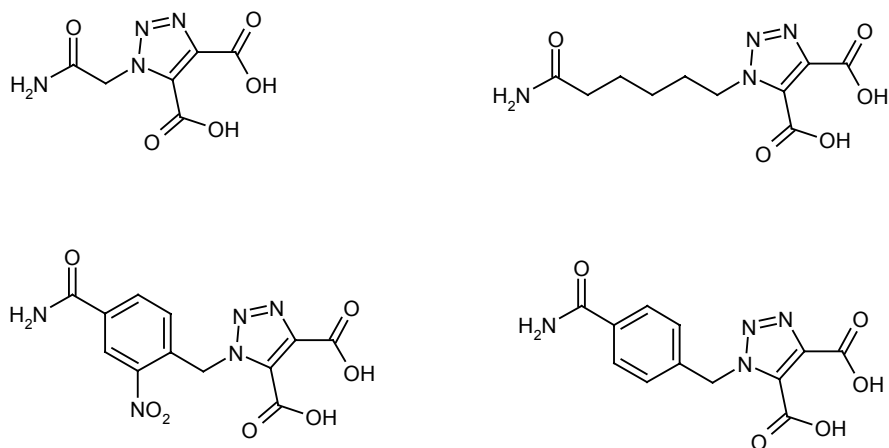


Abb. 86 Beispielverbindungen der 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuresynthese.

4.3.4 Synthese von Bis(hydroxymethyl)triazolen

Bis(hydroxymethyl)triazole stellen einen variabel einsetzbaren Synthesebaustein zur Postmodifikation dar. So kann beispielsweise unter Mitsunobu-Bedingungen verestert oder verethert werden; die Hydroxygruppe kann tosyliert und anschließend nukleophil substituiert werden, oder zu den entsprechenden Dialdehyden oxidiert und nachfolgend reaktiv alkyliert oder unter Wittig-Bedingungen olefiniert werden. Die Oxidation zum Dialdehyd wurde in Lösung – nach Abspaltung der Alkohole vom polymeren Träger – mit IBX-Harz durchgeführt. Über die Oxidationsergebnisse wird an anderer Stelle berichtet [Sor03].

Zur Darstellung bieten sich an der festen Phase zwei Reaktionswege an: Zum einen die direkte Reduktion des Methylesters mit komplexen Übergangsmetallhydriden wie Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH_4) [Cha98] oder Diisobutylaluminiumhydrid (DIBALH) [Han98]. Eine andere Möglichkeit stellt die Verseifung des Methylesters und die anschließende Aktivierung der Carbonsäure beispielsweise mit Chlorameisensäureisobutylester zum gemischten Anhydrid dar gefolgt von der Reduktion mit Natriumborhydrid (Abb. 87) [Gay97].

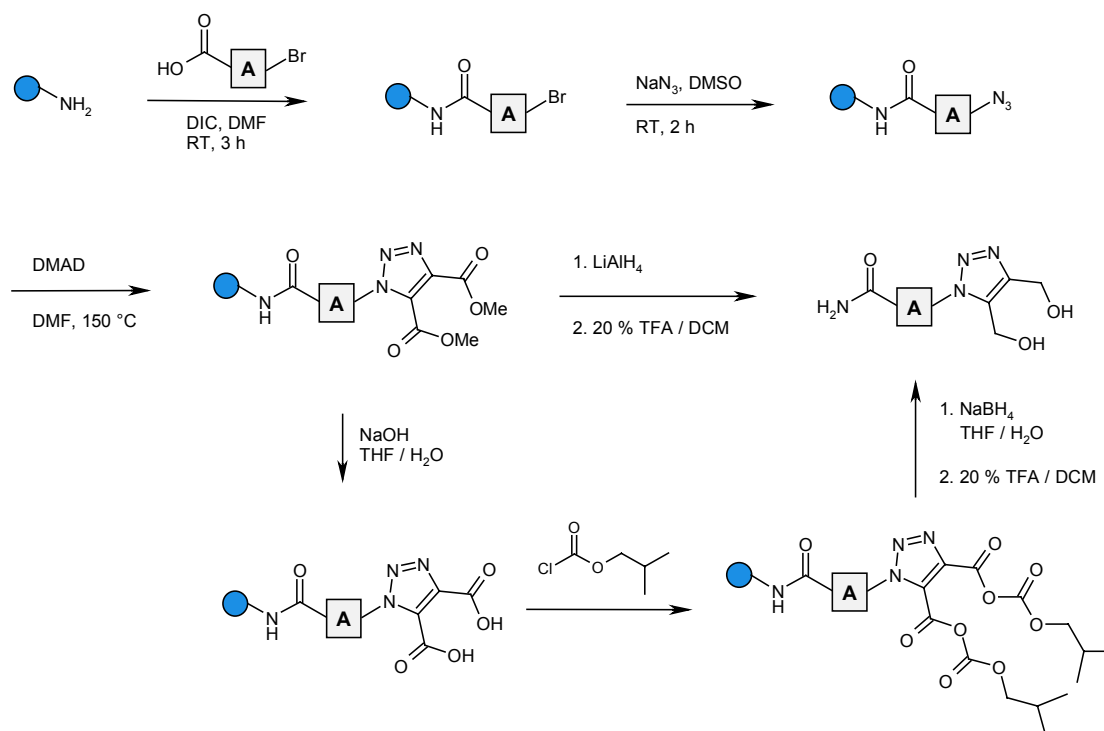


Abb. 87 Darstellung von Bis(hydroxymethyl)triazolen an fester Phase.

Ein Nachteil der letztgenannten Methode (Verseifung, Aktivierung, Reduktion) ist, dass ausgehend vom Methylester drei Reaktionsschritte erforderlich sind, was einen erhöhten Zeitbedarf wie auch einen erhöhten Chemikalienverbrauch mit sich bringt.

4.3.4.1 Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid

Versuche zur direkten Reduktion des Methylesters wurden mit DIBAH in Heptan sowie mit LiAlH_4 in THF durchgeführt. Bei der Verwendung von DIBAH konnte keine Reaktion beobachtet werden, im HPLC-Chromatogramm des Abspaltungsproduktes wurde lediglich nicht umgesetztes Edukt gefunden. Erfolgreich war die Reduktion des Dimethylesters mit LiAlH_4 (1 M in THF) bei Raumtemperatur zum Dialkohol (Abb. 88).

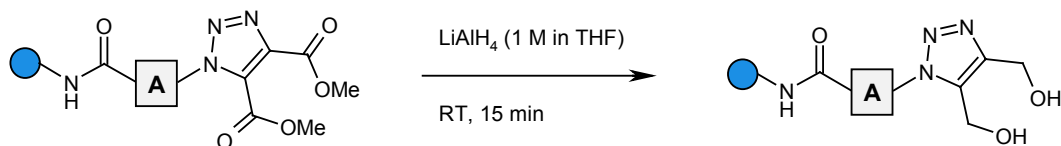


Abb. 88 Reduktion polymergebundener Triazolidicarbonsäuredimethylester mit LiAlH_4 .

Reduktionen mit komplexen Übergangsmetallhydriden verlaufen generell sehr schnell, und Optimierungsversuche mit IR-Monitoring des Reaktionsfortschritts und anschließender HPLC-Quantifizierung ergaben mit 15 min eine sehr kurze Reaktionszeit zur vollständigen Reduktion. Abb. 89 zeigt das FT-ATR-IR-Spektrum polymergebundener 4-{{[4,5-Bis(hydroxymethyl)]triazol-1-yl}benzoesäure. Der Fortschritt der Reaktion lässt sich gut am Verschwinden der charakteristischen Absorptionsbande des Methylesters bei $\nu = 1740 \text{ cm}^{-1}$ verfolgen.

Die Ergebnisse der Reduktion sind in Tab. 31 gezeigt. Sie waren für aliphatische Azide sehr gut (Pos. 1 – 4). Lediglich für aromatische Azide (Pos. 5 – 6) waren die Ergebnisse deutlich schlechter. Im Fall von *para*-Azidobenzoesäure als Säurekomponente wurde kein Produkt erhalten.

In Abb. 90 sind Beispielverbindungen der Bis(hydroxymethyl)-1*H*-1,2,3-triazolsynthese abgebildet und Abb. 91 zeigt das ES-FTICR-MS von 4-{{[4,5-Bis(hydroxymethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]methyl}benzamid.

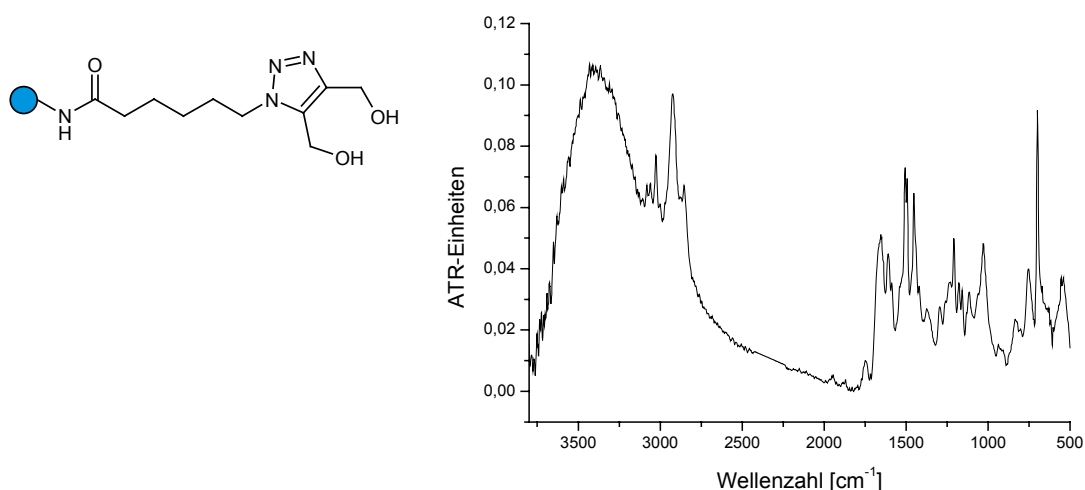


Abb. 89 FT-ATR-IR-Spektrum von polymergebundenem 6-[4,5-Bis(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-hexansäureamid.

Tab. 31 Ergebnisse der Methylester-Reduktion mit LiAlH_4 bei Variation der Säurekomponente.

Pos.	Säurekomponente	$[\text{M}+\text{H}]^+$	HPLC [%]
1	Bromessigsäure	187	89
2	6-Bromhexansäure	243	90
3	8-Bromoctansäure	271	>98
4	11-Bromundecansäure	313	91
5	4-(Brommethyl)benzoesäure	263	93
6	<i>ortho</i> -Azidobenzoesäure	249	57
7	<i>para</i> -Azidobenzoesäure	---	---

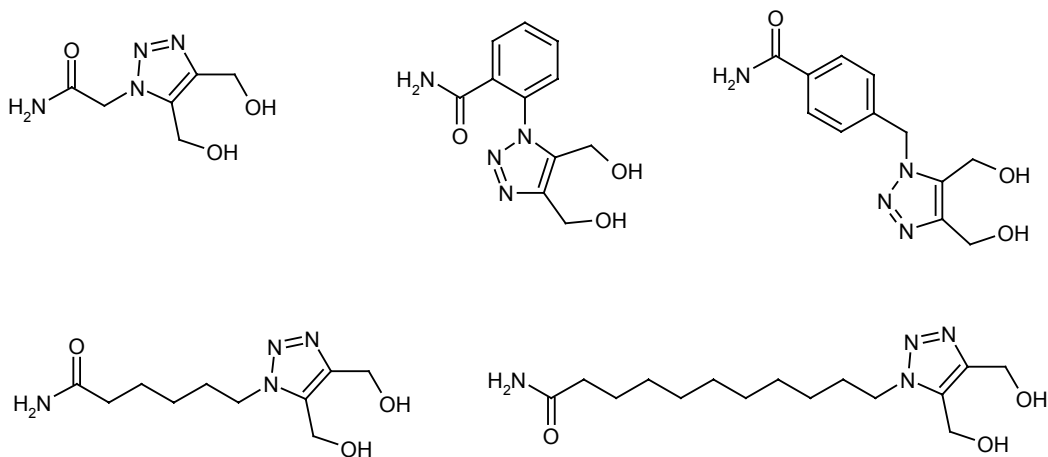


Abb. 90 Beispielverbindungen der Bis(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazolsynthese.

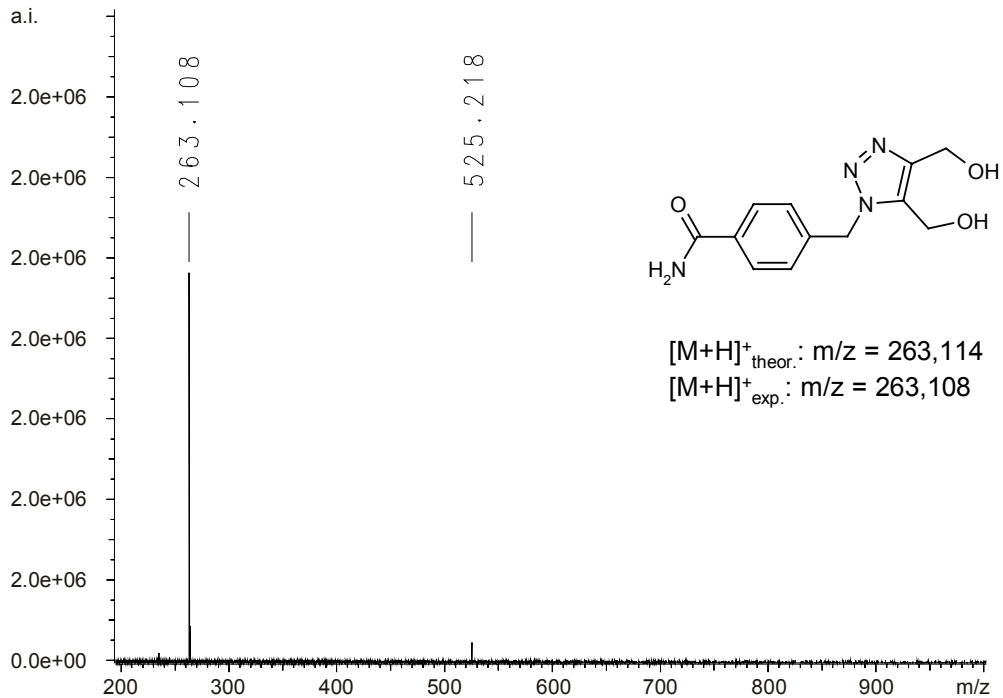


Abb. 91 ES-FTICR-MS von 4-[(4,5-Bis(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl]benzamid
 ($[M+H]^+$ _{theor.}: m/z = 263,114).

4.3.4.2 Verseifung, Aktivierung und Reduktion

Die Aktivierung der analog Kapitel 4.3.3 erhaltenen 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuren wurde nach einem Standardprotokoll mit Chlorameisensäureisobutylester und NMM als Base durchgeführt. Das so erzeugte gemischte Anhydrid wurde anschließend direkt mit Natriumborhydrid (NaBH₄) in THF/H₂O (1:1) zum Alkohol reduziert (Abb. 92).

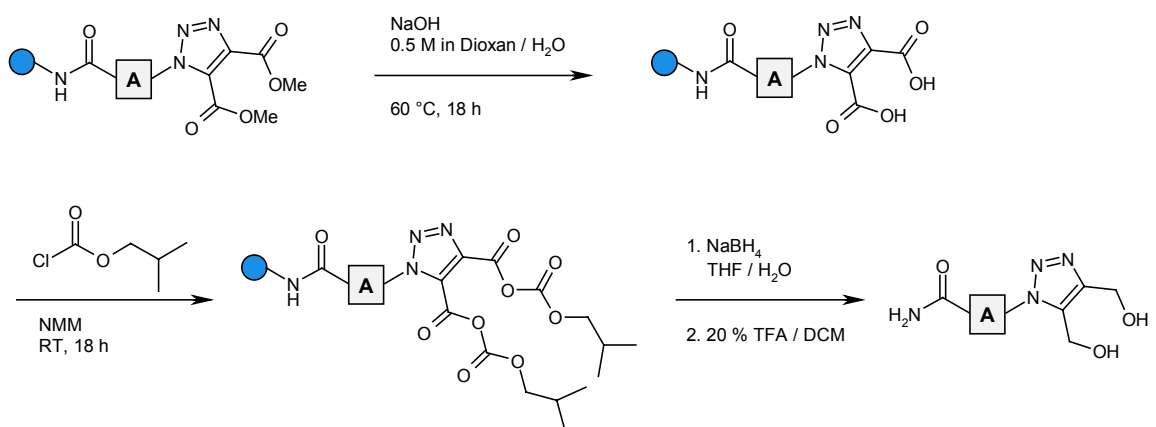


Abb. 92 Syntheschema zur Darstellung von Bis(hydroxymethyl)triazolen durch Methylesterverseifung, Aktivierung und Reduktion mit NaBH₄.

Die Ergebnisse der Synthese nach der Methode der Esterverseifung, gefolgt von Aktivierung mit Chlorameisensäureisobutylester und nachfolgender Reduktion mit Natriumborhydrid, sind anhand zweier Beispiele in Tab. 32 gezeigt. Die direkte Reduktion des Methylesters ist präparativ interessanter, da hier zwei Reaktionsschritte wegfallen, was eine kürzere Reaktionszeit und einen geringeren Chemikalienverbrauch bedeutet. Aus diesem Grund wurde die hier beschriebene Methode nicht weiter optimiert. In Tab. 32 sind die Ergebnisse der beiden exemplarisch durchgeführten Reduktionen mit NaBH_4 gezeigt.

Tab. 32 Ergebnisse der Bis(hydroxymethyl)triazolsynthese durch Methylesterverseifung, Aktivierung und Reduktion mit NaBH_4 .

Pos.	Säurekomponente	$[\text{M}+\text{H}]^+$	HPLC [%]
1	2-Bromessigsäure	187	87
2	11-Bromundecansäure	313	59

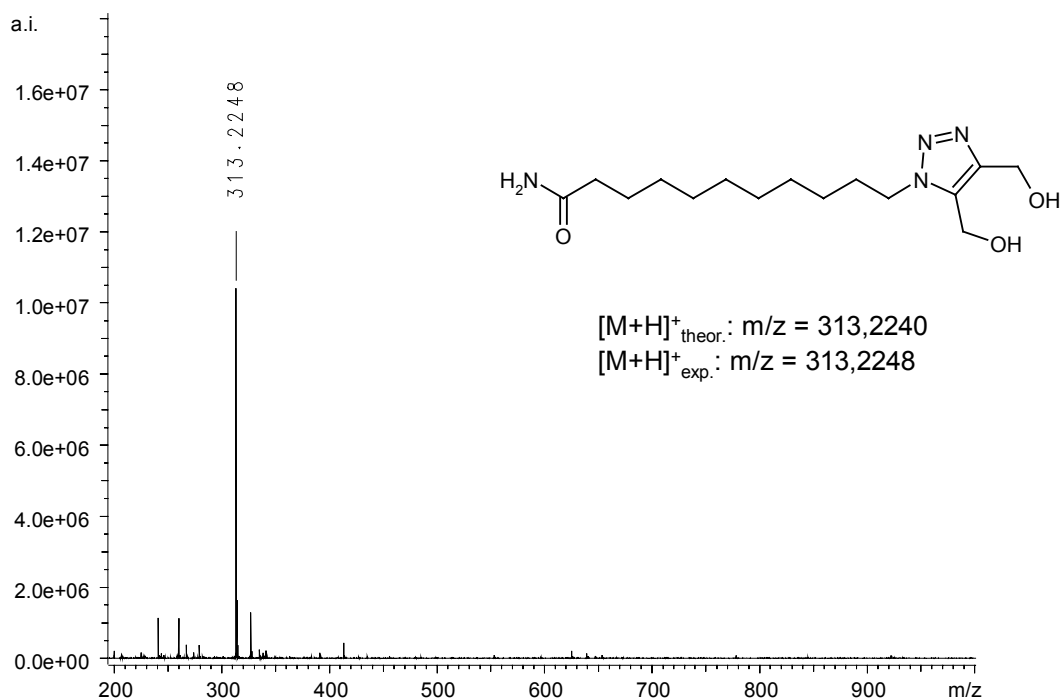


Abb. 93 ES-FTICR-MS von 11-[4,5-Bis(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]undecansäureamid

$([\text{M}+\text{H}]^+_{\text{theor.}}: m/z = 313,2240)$

5 Zusammenfassung

Der erste Teil der Dissertation beschreibt die Festphasensynthese und die Verwendung polymergebundener 1-Alkyl-3-aryltriazen (Alkyltriazen-Harz) als Alkylierungsmittel in der polymerunterstützten Lösungssynthese (PASP-Synthese).

Zunächst wurde ein Syntheseprotokoll zur Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen an Merrifield-PS-Harz entwickelt und optimiert. Nach Immobilisierung von 4-Nitrophenol und Reduktion wurde das Anilin-Hydrochlorid diazotiert und mit Aminen zu Alkyltriazen-Harzen umgesetzt. Durch Variation der eingesetzten Amin-Komponente wurde eine breite Auswahl an Alkylierungs-Harzen erhalten. Die Ausbeuten lagen zwischen 65 % für *n*-Octadecyltriazen-Harz und über 95 % für 2-(2-Pyridyl)ethyltriazen-Harz bezogen auf die Ausgangsbeladung des Harzes.

Zur PASP-Alkylierung von Carbonsäuren wurde Alkyltriazen-Harz mit einer Lösung der Säure in DCM, DCM/MeOH oder THF versetzt. Alkylierungen mit primären und benzylicischen Alkylresten führten zu guten bis hervorragenden Produktreinheiten, während Alkylierungen mit *sek.*- und *tert.*-Alkyltriazen-Harzen keine zufriedenstellenden Ergebnisse brachten. Kinetische Untersuchungen der Methylierung von 4-Nitrophenyl-essigsäure zeigten eine Reaktionskinetik 2. Ordnung, was Untersuchungen in Lösung bestätigt. NMR-Untersuchungen der Benzilsäurereaktion mit *n*-Butyltriazen-Harz zeigten eine isomerisierungsfreie Alkylierungsreaktion.

Am Beispiel der Alkylierung von 4-Nitrophenyl-essigsäure wurde eindrucksvoll die Diversität der übertragenen Alkylreste demonstriert. Aliphatische Reste von C₁ bis C₁₅, Benzyl und Allyl wurden genauso erfolgreich übertragen wie die basischen Reste 2-(2-Pyridyl)ethyl, 2-(*N,N*-Diethylamino)ethyl, 2-(1-Morpholinyl)ethyl und freie Aminogruppen tragende Reste wie 4-Aminobutyl oder 13-Amino-4,7,10-trioxatridecyl.

Auch die Säurekomponente wurde im Hinblick auf elektronische und sterische Diversität erfolgreich variiert. Alkohole ließen sich nicht verethern, die Umsetzung von Phenolen mit Methyltriazen-Harz führte zwar zu den gewünschten Methoxybenzolderivaten, jedoch waren die Ausbeuten nicht zufriedenstellend.

Ein interessantes Einsatzgebiet für polymergebundene Triazene ist die Übertragung von Methyl-, Benzyl- und Allylresten als Schutzgruppen auf Aminosäuren und Peptide. Die Alkylierung von Fmoc- und Boc-Aminosäuren führte racemisierungsfrei in guten bis exzellenten Reinheiten zu den Produkten. Aus Fmoc-Phenylalanin wurde durch

Umsetzung mit einer Mischung aus fünf Alkyltriazen-Harzen eine Mischung von fünf Estern erhalten. Eine Einschränkung in Bezug auf Seitenkettenschutzgruppen wurde ebensowenig beobachtet wie Probleme mit Seitenketten-ungeschützten Aminosäuren Fmoc-Ser-OH, Boc-Tyr-OH und Fmoc-Trp-OH. Auch Peptid-Säuren wurden erfolgreich umgesetzt.

Die Anwendbarkeit der Alkyltriazen-Harze in der kombinatorischen Chemie konnte durch Alkylierung zweier „split-mix“-Kollektionen aus 20 und 24 Pyrazolcarbonsäuren gezeigt werden, die den Ausgangsbibliotheken ein weiteres Diversitätselement hinzufügte. Die analytische Charakterisierung der Produktbibliotheken erfolgte mit höchstauflösender Mikro-HPLC-ES-FTICR-Massenspektrometrie und die „on-bead“-Analytik mit FT-ATR-IR.

Mit den Alkyltriazen-Harzen steht ein vielseitig verwendbares Polymerreagenz für die Alkylierung von Carbonsäuren in Lösung zur Verfügung. Durch die große Vielfalt an kommerziell erhältlichen Alkylaminen ist eine hohe Diversität an Alkyltriazen-Harzen zugänglich. Dies wird insbesondere für die Postmodifikation von Substanzkollektionen von Bedeutung sein. Eine weitere wichtige Einsatzmöglichkeit stellen Durchflussanwendungen oder die Probenvorbereitung für die GC-MS-Analytik dar.

Der zweite Teil der Dissertation beschreibt die Festphasensynthese (SPOS) von 1*H*-1,2,3-Triazoldicarbonsäuredimethylestern und Postmodifikationen. Polymergebundene Azide wurden nach Acylierung des Rink-Linkers mit Bromcarbonsäuren durch nukleophile Substitution mit NaN₃ oder durch Acylierung mit Azidobenzoesäuren dargestellt. Die thermische 1,3-dipolare Cycloaddition mit Dimethylacetylendicarboxylat führte zu polymergebundenen 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylestern.

Mit Hilfe der mikrowellenunterstützten Reaktionsoptimierung wurde eine Reaktionsvorschrift für die schnelle Cyclisierung unter drastischen Bedingungen (150 °C) erarbeitet, wobei Reaktionszeiten von 20 h auf 20 min verkürzt wurden. Die Ergebnisse dieser Optimierung wurden erfolgreich auf die „konventionelle“ Festphasensynthese übertragen. Die Triazole wiesen alle sehr gute Rohproduktreinheiten auf, wobei für aliphatische Azide die besten Cyclisierungsergebnisse erhalten wurden. Aromatische Azide ergaben die saubersten Cyclisierungsprodukte bei einer Reaktionstemperatur von 80 °C.

Umfunktionalisierung der Methylestergruppe am Harz durch Verseifung mit NaOH in H₂O/THF ergab Triazoldicarbonsäuren. Die Ammonolyse führte zu

Biscarbamoyltriazenen, die Reduktion mit LiAlH_4 zu Bis(hydroxymethyl)triazenen. Durch Umsetzung mit Hydrazin-Monohydrat wurden Bishydrazide erhalten, deren Addition an Isothiocyanate und die anschließende Cyclisierung ergab Bisoxadiazolyltriazenole in mäßigen bis guten Reinheiten.

Die vorgestellten Festphasensynthesen bieten Zugang zu neuartigen heterocyclischen Verbindungen und stellen eine vielversprechende Grundlage für weitere Postmodifikationen am Triazolgerüst dar.

6 Experimenteller Teil

6.1 Chemikalien und Lösungsmittel

Die Lösungsmittel wurden von den Firmen Fluka (Neu-Ulm), Merck (Darmstadt), Riedel de Haen (Seelze) in p.a. Qualität bezogen. Die wasserfreien Lösungsmittel ACN, DCM, Dioxan, DMF, DMSO, NMP, THF, Toluol wurden von Fluka (Neu-Ulm) und wasserfreies Ethanol von Aldrich (Steinheim) bezogen. Für die HPLC wurden Acetonitril und Methanol der Reinheit LiChrosolv Gradient Grade der Firma Merck (Darmstadt) eingesetzt. Trifluoressigsäure der Reinheit Uvasol stammte ebenfalls von der Firma Merck (Darmstadt). Entionisiertes Wasser wurde über eine Filtrationsanlage von Millipore (Eschborn) aufgereinigt.

Alle Chemikalien und Reagenzien wurden von Aldrich (Steinheim), Fluka (Neu-Ulm), Maybridge (Trevillet, UK), Lancaster (Mühlheim am Main) und Merck (Darmstadt) bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Rink-Amid-AM-PS-Harz wurde von der Firma Rapp Polymere (Tübingen), Merrifield-PS-Harze von den Firmen Nova-Biochem (Läufelfingen, Schweiz), Aldrich (Steinheim) sowie PepChem (Tübingen) bezogen.

6.2 Geräte und analytische Methoden

6.2.1 Kaiser-Test

Mit Hilfe des Kaiser-Tests zum Nachweis primärer Amine mit Ninhydrin wurde „on-bead“ auf vollständige Acylierung freier Aminofunktionen an fester Phase untersucht.

Für den Kaiser-Test wurden folgende Reagenzlösungen verwendet:

Kaiser I: 50 µl einer 0,01 M wässrigen KCN-Lösung werden mit Pyridin auf 25 ml aufgefüllt.

Kaiser II: 5 g Ninhydrin werden in 100 ml *n*-Butylalkohol gelöst.

Kaiser III: 80 g Phenol werden in 20 ml *n*-Butylalkohol gelöst.

Zur Durchführung werden wenige Harzkugeln in einem Eppendorf-Cup mit je einem Tropfen der drei Reagenzlösungen versetzt und die Suspension 5 min bei 110 °C erhitzt. Tritt dabei keine intensive Blaufärbung des Harzes oder der Lösung auf, so liegen keine freien Aminogruppen vor.

6.2.2 Mikrowellenunterstützte Synthesen

Mikrowellenunterstützte Synthesen wurden auf einem SmithSynthesizer™ der Firma Personal Chemistry, Uppsala, Schweden durchgeführt. Dieses Single-Mode Gerät ist mit einem automatischen Probengeber und einer Pippettiereinheit ausgestattet, deren Steuerung softwareunterstützt erfolgen. Das zulässige Probenvolumen beträgt zwischen 0,5 und 5 ml in mit Septen verschlossenen druckstabilen Reaktionsgefäßen. Ein Magnetron mit einer Leistung von 15–300 W erzeugt die zum Aufheizen der Reaktionsmischung benötigte Mikrowellenstrahlung mit einer Frequenz von $\nu = 2,45$ GHz. Der Temperaturbereich erstreckt sich von 60–250 °C bei einer Heizrate von 2–5 °C/sec. Der zulässige Maximaldruck im Inneren der Reaktionsgefäße betrug 20 bar. Während der Reaktion wird die Temperatur im Reaktionsgefäß durch Mikrowellenpulse konstant gehalten. Nach der Reaktion wird das Reaktionsgefäß im Duckluftstrom schnellstmöglich auf Raumtemperatur abgekühlt.

6.2.3 FT-ATR-IR-Spektroskopie

FT-ATR-IR-Spektren der Harze bzw. polymergebundener Verbindungen wurden mit einem Bruker Vector 22 aufgenommen. Das Gerät ist mit einer SplitPea® ATR-Einheit der Firma Harrick versehen. Die Harze wurden direkt durch Aufpressen auf einen Si-Kristall vermessen. Die Spektren wurden mit 16-32 Scans aufgenommen, und es wurde jeweils eine automatische ATR-Korrektur durchgeführt.

6.2.4 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Für analytische HPLC-Trennungen wurde eine Anlage der Firma Waters (Eschborn), bestehend aus einer Steuerungseinheit 600 S, Pumpeneinheit 626, UV-Detektor 486 sowie einem 712 WISP Autosampler, eingesetzt. Die Anlage ist mit einer analytischen Trennsäule Nucleosil C18 (5 µm Korngröße, 250 x 2 mm, Grom, Herrenberg) ausgestattet. Für die Trennungen wurde ein Gradient von Wasser / 0,1 % TFA (v/v) (Laufmittel A) und Acetonitril / 0,1 % TFA (v/v) (Laufmittel B) bei einer Flussrate von 0,3 ml/min gefahren. Es wurden, je nach Trennproblem, folgende Gradienten eingesetzt:

- 0 % B auf 100 % B innerhalb 30 min, 100 % B für 5 min

- 10 % B auf 100 % B innerhalb 30 min, 100 % B für 5 min
- 10 % B auf 100 % B innerhalb 30 min, 100 % B für 10 min.

Die UV-Detektion erfolgte bei $\lambda = 214$ nm und die Reinheit der Produkte wurde anhand der Peakflächen errechnet. Eine absolute Gehaltsangabe ist jedoch aufgrund der unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten der Verbindungen nicht möglich.

6.2.5 ES-Quadrupol-Massenspektrometrie

ES-MS-Analysen wurden auf einem Quattro II Tripel-Quadrupol-Massenspektrometer der Firma Micromass (Altrincham/UK) in Verbindung mit einer HPLC-Anlage INTEGRAL™ der Firma Perseptive Biosystems (Weiterstadt) durchgeführt. Das HPLC-System wurde so eingestellt, dass während der gesamten Dauer der Analysenserie ein konstanter Fluss von 60 $\mu\text{l}/\text{min}$ Acetonitril/Wasser (1:1) (mit 0,1 % Ameisensäure) zum Injektor des GILSON 232X Probengebers der Firma Abimed (Langenfeld) geliefert wurde. Alle 2 min wurden jeweils 10 μl einer Probe (Konzentration ca. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) injiziert, die durch den konstanten Lösungsmittelfluss zur Quelle des Quattro II ES-MS transportiert wurden. Die Messungen am MS wurden durch Kontaktschluss des Probengebers gestartet. Die Messparameter jeder Probe (Massenbereich, Messrate, Cone-Spannung (üblicherweise 30-40 V)) wurden zuvor in einer Probenliste der Steuersoftware (MassLynx, Version 2.2, Firma Micromass, Altrincham/UK) des MS editiert. Die Proben wurden in Methanol oder Acetonitril gelöst.

6.2.6 Höchstaflösende ES-FTICR-Massenspektrometrie

Für ES-FTICR-MS-Messungen wurde ein passiv abgeschirmtes 4.7 Tesla APEX™ II Spektrometer mit zylindrischer „infinity-cell“ [Car91] (Bruker Daltonik, Bremen) verwendet, dessen Grundvakuum von $2,5 \times 10^{-10}$ mbar mit Hilfe von Turbomolekularpumpen (Edwards, Sussex, UK) erzeugt wird. Die Aufnahme und Prozessierung der Daten erfolgte mit Hilfe der XMASS Software (Version 5.0.10) auf einer Silicon Graphics O2 Workstation. Die Zufuhr der in Acetonitril/Wasser (1 % AcOH) gelösten Proben erfolgte über eine 74300 Series Spritzenpumpe (Cole-Parmer Instruments) mit einer Flussrate von 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Zur Erzeugung des Sprays wurde eine geerdete Kapillarnadel verwendet. Es wurde kein Vernebelungsgas benutzt. Die

Messungen erfolgten im „positive ion“- Modus. Als mobile Phase wurde ein Wasser/Acetonitril-Gemisch (40:60) (0,1 % Ameisensäure) verwendet. Die Messzeit betrug jeweils 30 s bei 16 aufsummierten Scans.

Für HPLC-MS-Messungen wurde eine HPLC-Anlage HP 1100 der Firma Hewlett-Packard, die mit einer Gromsil C18-Säule (5 µm Korngrösse, 100 x 2 mm, Grom, Herrenberg) verbunden war, eingesetzt. Als Flussrate wurden 50 µl/min verwendet, wobei der Fluss direkt der ES-Quelle des Massenspektrometers zugeführt wurde.

6.2.7 GC-EI-MS-Untersuchungen zur Konfigurationsbestimmung von Aminosäuren

Die Gaschromatographie-Elektronenstossionisations-Massenspektrometrie wurde an einer HP 6890/5973 GC-EI-MS-Anlage von Hewlett Packard (Waldstetten) zur quantitativen Bestimmung der Konfiguration von Aminosäuren durchgeführt. Zur quantitativen Konfigurationsanalyse der proteinogenen Aminosäuren wurde zunächst die Fmoc-Schutzgruppe mit Piperidin (10 % in DCM) abgespalten und anschließend mit 2M HCl/Ethanol bei 110 °C für 30 min behandelt. Hierbei werden die Seitenkettenschutzgruppen abgespalten und Asparaginsäure sowie Glutaminsäure verestert. Nachfolgend wurden die Proben mit TFAA/DCM behandelt, wobei die *N*-Termini wie auch freie Seitenkettenschutzgruppen trifluoracetyliert wurden. Histidin wurde an der Seitenkette methoxycarboxyliert. Diese *N*-terminal als Trifluoracetamid und *C*-terminal als Ethylester derivatisierten Aminosäuren wurden im GC über eine Kapillarsäule mit chiraler stationärer Phase getrennt und mit SIM-EI-Massenspektrometrie detektiert. Als chirale stationäre Phase wurde Lipodex-E (30 % in Dimethylpolysiloxan) oder Chirasil-Val verwendet.

6.2.8 NMR-Spektroskopie

Eindimensionale ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren wurden an einem Bruker AC 250 MHz Spektrometer oder einem Bruker AMX 400 MHz Spektrometer (Bruker Analytik, Bremen) aufgenommen. Die Spektren wurden in MeOH-d₄, DMF-d₇ oder CDCl₃ vermessen.

Zweidimensionale NMR-Experimente wurden am Bruker AMX 400 MHz Spektrometer durchgeführt.

6.3 Festphasensynthesen

6.3.1 Allgemeine Vorschrift zur Fmoc-Abspaltung

Das polymergebundene Fmoc-geschützte Amin wird mit Piperidin (20 % in DMF) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird nun dreimal mit DMF gewaschen und erneut mit Piperidin (20 % in DMF) versetzt. Nach weiteren 20 min Schütteln wird das Harz besonders gründlich (mindestens zehnmals) mit DMF und mehrfach mit DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

6.3.2 Festphasensynthese von Aziden

Bromacylierung von Rink-Amid-PS-Harz

Rink-Amid-PS-Harz (50 mg; Beladung 0,74 mmol/g; 0,037 mmol) wird nach der allgemeinen Vorschrift Fmoc-entschützt. Anschließend wird eine Lösung der Bromcarbonsäure (5 eq.; 0,185 mmol) in 1 ml DMF mit DIC (2,5 eq.; 0,093 mmol; 32 μ l) versetzt, gut vermischt und 15 min zur Bildung des Anhydrids stehen gelassen. Die Lösung wird zum Harz gegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet. Mittels Kaiser-Test wird die Vollständigkeit der Beladung überprüft und gegebenenfalls die Kupplung wiederholt. Bei positivem Kaiser-Test nach wiederholter Kupplung wird das Harz mit einer Capping-Lösung (DMF/Ac₂O/DIEA; 8 : 2 : 1) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet.

Substitution zu polymergebundenen Aziden

Immobilisierte Bromcarbonsäure (0,037 mmol) wird mit einer Lösung von Natriumazid (5 eq.; 0,185 mmol; 12,03 mg) in DMSO abs. (1 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird mehrmals mit DMSO, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet.

Acylierung von Rink-Amid-Harz mit Azidobenzoesäuren

Die Acylierung von Rink-Amid-Harz mit Azidobenzoesäuren erfolgt nach derselben Vorschrift wie die Bromacylierung. Anstelle der Bromcarbonsäure wird die entsprechende Azidobenzoesäure eingesetzt.

6.3.3 Festphasensynthese von 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylestern**Cycloaddition mit Acetylendicarbonsäuredimethylester (DMAD) bei 80 °C**

Das polymergebundene Azid (0,037 mmol) wird in DMF (1 ml) suspendiert und mit DMAD (10 eq.; 0,37 mmol; 45,5 µl) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird im Falle von aliphatischen Aziden 18 h bei 80 °C gerührt. Für aromatische Azide erfolgt eine zweimalige Umsetzung für 20 h bei 80 °C. Anschließend wird mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspatlösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingeeengt. Die so erhaltenen Rohprodukte werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

Mikrowellenunterstützte Cycloadditionsreaktion

Das polymergebundene Azid (0,037 mmol) wird in DMF (1 ml) suspendiert und mit DMAD (10 eq.; 0,37 mmol; 45,5 µl) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 15 min (20 min für aromatische Azide) bei 150 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, Et₂O gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspatlösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingeeengt. Die so erhaltenen Rohprodukte werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

Cycloaddition mit DMAD bei 150 °C

Das polymergebundene Azid (0,037 mmol) wird in einem Glasgefäß in DMF (1 ml) suspendiert und mit DMAD (10 eq.; 0,37 mmol; 45,5 µl) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 15 min (30 min für aromatische Azide) bei 150 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch im Druckluftstrom auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Harz wird mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspalllösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingeeengt. Die so erhaltenen Rohprodukte werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

NMR-Daten für 1-[2-(Carbamoylphenyl)]-1H-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.68 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 7.83 (m, 4H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, DMSO-d₆): δ = 51.48, 52.14, 126.97, 127.40, 129.67, 129.84, 131.38, 131.64, 132.17, 137.03, 156.67, 159.07, 165,50.

NMR-Daten für 1-(Carbamoylmethyl)-1H-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 3.84 (s, 6H), 5.34 (s, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 53.57, 54.15, 132.57, 141.28, 160.20, 162.34, 169.67.

NMR-Daten für 1-(7-Carbamoyl-1-heptyl)-1H-1,2,3-triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 1.37 (m, 6H), 1.61 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 2.20 (m, 2H), 3.95 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 4.62 (t, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 27.10, 27.59, 30.02, 30.39, 31.4, 36.8, 52.02, 53.56, 54.45, 132.03, 140.99, 160.61, 162.35, 179.68.

6.3.4 Darstellung von Bis(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazolen

Die Synthese polymergebundener Azide erfolgt wie in Kapitel 6.3.2 beschrieben.

Die Synthese polymergebundener 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säuredimethylester erfolgt wie in Kapitel 6.3.3 beschrieben.

Darstellung polymergebundener 1*H*-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säurehydrazide

Der polymergebundene Triazoldicarbon säuredimethylester (0,037 mmol) wird mit einer Lösung von Hydrazin-Monohydrat (10 eq.; 0,37 mmol; 18 μ l) in einem Lösemittelgemisch aus MeOH und Dioxan (1:1; v:v) (1 ml) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird anschließend mehrmals mit Dioxan, THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Umsetzung mit Isothiocyanaten zu *N*-acylierten Thiosemicarbaziden

Das polymergebundene Bishydrazid (0,037 mmol) wird mit einer Lösung des Isothiocyanats (10 eq.; 0,37 mmol) in NMP (1 ml) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz mehrfach mit NMP, DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Cyclisierung mit EDC*HCl zu Bisoxadiazolyltriazolen

Das polymergebundene Bis-*N*-acylthiosemicarbazid (0,037 mmol) wird mit einer Lösung von EDC-Hydrochlorid (10 eq.; 0,37 mmol; 70,9 mg) in DMSO abs. (1 ml) versetzt und 18 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wird das Harz mehrfach mit DMSO, DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspalllösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingengt. Die so erhaltenen Rohprodukte werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

NMR-Daten für 4,5-Bis(5-anilino-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-ylacetamid:

¹H-NMR (400,16 MHz, DMSO-d₆): δ = 5.43 (s, 2H), 6.97 (t, 2H), 7.30 (m, 4H), 7.54 (m, 4H), 10,79 (s, 1H), 10.87 (s, 1H).

6.3.5 Darstellung von Biscarbamoyl-1H-1,2,3-triazolen

Die Synthese polymergebundener Azide erfolgt wie in Kapitel 6.3.2 beschrieben.

Die Synthese polymergebundener 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säuredimethylester erfolgt wie in Kapitel 6.3.3 beschrieben.

Aminolyse mit Ammoniak

Der polymergebundene Triazoldicarbon säuredimethylester wird bei 0 °C mit einem Gemisch einer Lösung von Ammoniak in Dioxan (0,5 M, 1 ml) und einer Lösung von Ammoniak in Methanol (2 M; 1 ml) versetzt, 2 d bei 0 °C gerührt und anschließend 6 d bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird anschließend mehrmals mit Dioxan, THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspatlösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingengt. Die so erhaltenen Rohprodukte werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

NMR-Daten für 4,5-Biscarbamoyl-1H-1,2,3-triazol-1-ylacetamid:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 5.44 (s, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 50.36, 119.74, 134.42, 160.79, 162.30, 170.25.

6.3.6 Darstellung von 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säuren

Die Synthese polymergebundener Azide erfolgt wie in Kapitel 6.3.2 beschrieben.

Die Synthese polymergebundener 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbon säuredimethylester erfolgt wie in Kapitel 6.3.3 beschrieben.

Verseifung des Methylesters

Der polymergebundene Triazoldicarbonsäuredimethylester wird bei Raumtemperatur mit einem Gemisch aus NaOH (1M in H₂O) und Dioxan (1:1; v:v; 1 ml) versetzt und 12 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wird das Harz jeweils zweimal mit Dioxan und DMF gewaschen, mit AcOH (1 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspalllösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und Et₂O (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingengt. Die so erhaltenen Rohprodukte werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

NMR-Daten für 4,5-Biscarboxy-1H-1,2,3-triazol-1-ylacetamid:

¹H-NMR (400,16 MHz, CDCl₃): δ = 5.32 (s, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, CDCl₃): δ = 50.42, 133.46, 143.37, 161.76, 163.46, 171.21.

6.3.7 Darstellung von Bis(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazolen

Die Synthese polymergebundener Azide erfolgt wie in Kapitel 6.3.2 beschrieben.

Die Synthese polymergebundener 1H-1,2,3-Triazol-4,5-dicarbonsäuredimethylester erfolgt wie in Kapitel 6.3.3 beschrieben.

Variante A - Reduktion des Methylesters mit Lithiumaluminiumhydrid

Der polymergebundene Triazoldicarbonsäuredimethylester wird bei Raumtemperatur mit einer Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in THF (1 M, 2 ml) versetzt und 15 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz mehrmals mit THF, MeOH, H₂O, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zur Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger wird das Harz mit 20 % TFA/DCM (1,5 ml) versetzt und 0,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Abspalllösung wird abfiltriert und das Harz mit DCM und Et₂O (jeweils 0,5 ml) nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden am Vakuum zur Trockene eingengt. Die so erhaltenen Rohprodukte

werden mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt, gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC und ES-MS analysiert.

NMR-Daten für 4,5-Bis(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yloctansäureamid:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 1.24 (m, 4H), 1.48 (m, 4H), 1.81 (tt, 2H), 2.08 (t, 2H), 3.69 (s, 2H), 4.25 (t, 2H), 4.58 (s, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 24.98, 25.87, 28.14, 28.43, 29.45, 30.51, 50.69, 51.43, 54.68, 131.01, 137.29, 173.55.

Variante B - Verseifung, Aktivierung und Reduktion

Verseifung des Methylesters

a) vgl. Kapitel 6.3.6.

b) Der polymergebundene Triazoldicarbonsäuredimethylester wird bei Raumtemperatur mit einem Gemisch aus NaOMe (30 % in MeOH) und THF (1:1; v:v; 1 ml) versetzt und 12 h bei 60 °C gerührt. Das Harz wird nun mehrmals mit Dioxan, THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

c) Der polymergebundene Triazoldicarbonsäuredimethylester wird mit einer gesättigten Lösung von KOSiMe₃ in THF abs. (1,5 ml) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz mehrfach mit THF, DCM, MeOH und THF gewaschen, mit THF/AcOH (4:1; v:v) (1,5 ml) versetzt und 5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird mehrfach mit THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH, THF gewaschen und die Prozedur einmal wiederholt. Nach der zweiten Durchführung wird das Harz mit THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Umsetzung zum gemischten Anhydrid

Die polymergebundene Triazoldicarbonsäure wird mit THF abs. (1 ml), Chlorameisensäureisobutylester (20 eq.; 0,74 mmol; 96,8 µl) und NMM (20 eq.; 0,74 mmol; 81,9 µl) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz mehrmals mit THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Reduktion mit Natriumborhydrid

Das polymergebundene gemischte Anhydrid wird mit einer frisch hergestellten Lösung von NaBH₄ (40 eq.; 1,48 mmol; 56 mg) in THF/H₂O (1:1; 1 ml) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Während der Reaktion sollte das Reaktionsgefäß wegen der starken Gasentwicklung offen bleiben. Anschließend wird das Harz mehrmals mit THF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

6.3.8 Festphasensynthese von 1-Alkyl-3-aryltriazenen**Immobilisierung von *para*-Nitrophenol an Merrifield-PS-Harz**

Zu Merrifield-PS-Harz (50 mg; Beladung 1,7 mmol/g; 0,085 mmol) wird Cs₂CO₃ (2 eq.; 0,17 mmol; 55,4 mg) gegeben. Nach Zugabe einer Lösung von *para*-Nitrophenol (5 eq.; 0,425 mmol; 59,1 mg) in DMF (1 ml) wird 3 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wird bei Raumtemperatur mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet.

Reduktion zu polymergebundenem Anilin-Hydrochlorid

Das polymergebundene Nitrophenol (0,085 mmol) wird mit Zinndichlorid-Dihydrat (1 ml; 2M in DMF) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird das Harz besonders gründlich mit DMF und anschließend noch mehrmals mit DMF, DCM, MeOH, DCM, MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Diazotierung zu polymergebundenem Aryldiazoniumchlorid

Das polymergebundene Anilinhydrochlorid (0,085 mmol) wird in 1 ml DCM suspendiert und auf -10 °C gekühlt. Anschließend wird mit kaltem *tert.*-Butylnitrit (10 eq.; 0,85 mmol; 100 µl) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 0,5 h bei -10 °C gerührt und anschließend 2,5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird mehrmals mit DCM, MeOH, THF, MeOH, THF gewaschen und direkt weiter umgesetzt.

Umsetzung zu polymergebundenen 1-Alkyl-3-aryltriazenen

Zu polymergebundenem Aryldiazoniumchlorid wird eine Lösung der Aminkomponente (15 eq.; 1,275 mmol) in THF (1 ml) gegeben (im Fall von Methylamin wird mit

Methylamin (2 M in THF) (23,5 eq.; 1 ml; 2 mmol) versetzt), und die Reaktionsmischung wird 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird mehrmals mit THF, DCM, MeOH, DCM, Et₂O gewaschen und das Harz im Vakuum getrocknet. Bei Verwendung längerkettiger aliphatischer Amine wird das Harz nach dem ersten MeOH-Waschschritt mit DCM (1 ml) versetzt und 18 h geschüttelt. Anschließend wird das Harz mit DCM, MeOH und Et₂O gewaschen und im Vakuum getrocknet.

6.3.9 Upscaling der Synthese von Alkyltriazen-Harzen

Immobilisierung von *para*-Nitrophenol an Merrifield-PS-Harz

In einem 250 ml Rundkolben wird Merrifield-PS-Harz (10 g; Beladung 2,58 mmol/g; 25,8 mmol) und Cäsiumcarbonat (2 eq.; 51,6 mmol; 16,8 g) in DMF (90 ml) suspendiert. Dazu wird eine Lösung von *para*-Nitrophenol (5 eq.; 129 mmol; 17,9 g) in DMF (30 ml) gegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wird auf 60 °C gekühlt, 50 ml Eisessig zugegeben und 0,5 h gerührt (Vorsicht: heftige Gasentwicklung möglich!). Das Harz wird mit DMF, DCM, MeOH/H₂O (4:1; v:v) und DMF gewaschen und direkt weiter umgesetzt.

Reduktion zu polymergebundenem Anilin-Hydrochlorid

Zur Reduktion der aromatischen Nitrogruppe wird das Harz in einem 250 ml Rundkolben mit einer Lösung von SnCl₂*2H₂O (0,2 mol; 45 g) in DMF (100 ml) (entspricht einer 2 molaren Lösung) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird anschließend mit DMF, DCM, MeOH/H₂O (4:1; v:v) sowie MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Diazotierung zu polymergebundenem Aryldiazoniumchlorid

Zur Diazotierung wird das getrocknete Harz in DCM (110 ml) suspendiert, auf -18 °C gekühlt und unter starkem Rühren gekühltes *tert.*-Butylnitrit (10 eq.; 30,6 ml) langsam (0,5 h) zugetropft. Nach 1 h wird die Reaktionstemperatur auf 0 °C eingestellt und während 3 h auf 15 °C erhöht. Nach beendeter Reaktion wird das Harz mit DCM, MeOH/H₂O (4:1; v:v) sowie THF gewaschen und direkt weiter umgesetzt.

Umsetzung zu polymergebundenen Alkyltriazenen

a) Methyl- und Ethyltriazen-Harz

Zur Triazenbildung wird das Harz bei 0 °C mit Methylamin (2M in THF) (7,75 eq.; 100 ml; 200 mmol) versetzt, 0,5 h bei 0 °C gerührt und anschließend 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach der Reaktion wird das Harz mit THF, DCM, MeOH/H₂O (4:1; v:v) sowie MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Beladungsbestimmung erfolgt mittels Elementaranalyse auf Stickstoff.

b) weitere Alkyltriazen-Harze

Das Harz wird bei 0 °C mit einer Lösung des entsprechenden Amins (10 eq.; 258 mmol) in THF abs. (100 ml) versetzt, 0,5 h bei 0 °C gerührt und anschließend 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach der Reaktion wird das Harz mit THF, DCM, MeOH/H₂O (4:1; v:v) sowie MeOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Beladungsbestimmung erfolgt mittels Elementaranalyse auf Stickstoff.

6.4 PASP-Synthesen

6.4.1 Alkylierung von Carbonsäuren mit Alkyltriazen-Harz

Eine Lösung der Carbonsäure (0,5 mg) in DCM (0,5 ml) oder bei schlechter Löslichkeit DCM/MeOH (9:1, v:v) (0,5 ml) wird zum entsprechenden Triazen-Harz (5 eq.) gegeben, und das Reaktionsgemisch wird 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz jeweils zweimal mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC, ES-(FTICR)-MS und/oder NMR analysiert.

6.4.2 Methylierung von Phenolen

Eine Lösung des Phenols (10 mg) in DCM (5 ml) oder bei schlechter Löslichkeit DCM/MeOH (9:1, v:v) (5 ml) wird zum entsprechenden Triazen-Harz (5 eq.) gegeben, und das Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird

die Reaktionslösung abfiltriert, das Harz jeweils zweimal mit DCM und MeOH gewaschen, und die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend werden die Produkte mit HPLC und NMR analysiert.

NMR-Daten für 4-Methoxy-1-nitrobenzol:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 4.02 (s, 3H), 6.88 (d, 2H), 8.15 (d, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 54.25, 114.21, 127.74, 141.03, 165.89.

6.4.3 Alkylierung von Aminosäuren mit Alkyltriazen-Harz

Eine Lösung der Aminosäure (1 mg) in DCM (1 ml) oder bei schlechter Löslichkeit DCM/MeOH (9:1, v:v) (1 ml) wird zum entsprechenden Triazen-Harz (10 eq.) gegeben, und das Reaktionsgemisch wird 8 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz jeweils zweimal mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC, ES-(FTICR)-MS und/oder NMR analysiert.

NMR-Daten für para-Nitrophenyllessigsäuremethylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 3.72 (s, 3H), 3.84 (s, 2H), 7.55 (d, 2H), 8.21 (d, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 41.54, 53.13, 124.9, 132.2, 143.77, 150.22, 173.12.

NMR-Daten für para-Nitrophenyllessigsäure-n-dodecylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 0.81 (t, 3H), 1.20 (m, 18H), 1.54 (m, 2H), 3.65 (s, 2H), 4.04 (t, 2H), 7.39 (d, 2H), 8.12 (d, 2H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 14.09, 22.67, 25.81, 29.16, 29.33, 29.48, 29.53, 29.61, 31.90, 41.12, 65.56, 123.72, 130.26, 141.49, 147.20, 170.19.

NMR-Daten für Benzilsäuremethylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 3.8 (s, 3H), 7.34 (m, 10H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOH-d₄): δ = 53.64, 83.16, 128.94, 129.29, 129.37, 144.56, 176.10.

NMR-Daten für Benzilsäure-n-butylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, CDCl₃): δ = 0.78 (t, 3H), 1.19 (m, 2H), 1.54 (m, 2H), 4.19 (t, 2H), 7.26 (m, 6H), 7.36 (m, 4H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, CDCl₃): δ = 13.92, 19.31, 30.75, 67.15, 81.38, 127.82, 128.38, 128.44, 142.44, 174.99.

NMR-Daten für N-tert.-Butyloxycarbonyl-Phenylalaninmethylester:

¹H-NMR (400,16 MHz, CDCl₃): δ = 1.33 (s, 9H), 3.00 (qd, 2H), 3.63 (s, 3H), 4.51 (qd, 2H), 4.89 (d, 1H), 7.03-7.23 (m, 5H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, CDCl₃): δ = 28.68, 38.75, 52.61, 54.80, 80.32, 127.42, 128.94, 129.69, 136.39, 153.29, 172.76.

6.4.4 Alkylierung von Substanzbibliotheken

Umsetzung von Pyrazolcarbonsäurebibliothek A mit Methyltriazin-Harz

Die 20er Bibliothek wird in einer Konzentration von 0,5 mg/l in DCM gelöst (entsprechend einer Konzentration von ca. 1/40 mg/l pro Einzelverbindung) und 1 ml der Lösung in einem Glasgefäß vorgelegt. Zu dieser Lösung gibt man Methyltriazin-Harz (Beladung: 1,05 mmol/g) (15 eq. bezogen auf ein mittleres Molgewicht der Pyrazolcarbonsäuren von $M \approx 350$ g/mol, 21,4 μmol, 20,4 mg) und das Reaktionsgemisch wird 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (je zweimal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet und mit (HPLC)-ES-FTICR-MS charakterisiert.

6.5 Lösungssynthesen

6.5.1 Synthese von *ortho*-Azidobenzoessäure

Zu einer Suspension von Anthranilsäure (63,5 mmol; 8,7 g) in Salzsäure (6N; 250 ml) wird bei Raumtemperatur langsam eine Lösung von Natriumnitrit (1,06 eq.; 67,2 mmol; 4,64 g) in Wasser (100 ml) zugetropft. Die entstandene Lösung wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die resultierende klare Lösung wird bei Raumtemperatur in ein Gemisch aus Natriumacetat (25 eq.; 1,6 mol; 130 g) und Natriumazid (1,06 eq.; 67,2 mmol; 4,37 g) in Wasser (250 ml) getropft. Es bildet sich sofort ein farbloser Niederschlag. Die Suspension wird noch 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Niederschlag abfiltriert, mehrfach mit Wasser gewaschen und anschließend in *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1; v:v) (50 ml) aufgenommen und gefriergetrocknet. Das Produkt wird in Form farbloser, NMR-reiner Kristalle erhalten.

Ausbeute: 6,7 g (65 % der Theorie).

MS (ES): $m/z = 162$ [M-H]⁻

HPLC ($\lambda = 214$ nm): 100 %

¹H-NMR (400,16 MHz, MeOD): $\delta = 7.24$ (dd, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.51 (dd, 1H), 7.88 (d, 1H).

¹³C-NMR (400,16 MHz, MeOD): $\delta = 121.74, 124.91, 126.18, 133.24, 134.9, 141.6, 169.17$.

7 Literatur

- [Abu75] A. Abu-Samra, J.S. Morris, S.R. Koirtyohann, *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 1475-1477.
- [Ake81] A. Akelah, D.C. Sherrington, *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 557-587.
- [Alv94] R. Alvarez, S. Velásquez, A. San-Félix, S. Aquaro, E. De Clerq, C.-F. Perno, A. Karlsson, J. Balzarini, M.J. Camarasa, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4185-4194.
- [And95] R.C. Anderson, M.A. Jarema, M.J. Shapiro, J.P. Stokes, M.J. Ziliox, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2650-2651.
- [Ath81] E. Atherton, E. Brown, R.C. Sheppard, A.J. Rosevar, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1981**, 1151-1552.
- [Ath81a] E. Atherton, C.J. Logan, R.C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Perk. Trans. I* **1981**, 538-546.
- [Att01] M.E. Attardi, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2927 (Corrigendum zu [Att00]).
- [Att00] M.E. Attardi, A. Falchi, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7395-7399.
- [Att00a] M.E. Attardi, G. Porcu, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7391-7394.
- [Aus00] V. Austel, „Solution-Phase Combinatorial Chemistry“ in G. Jung (Ed.), „Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening“, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, 77-124.
- [Bac96] B.J. Backes, A.A. Virgilio, J.A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3055-3056.
- [Bac94] B.J. Backes, J.A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11171-11172.
- [Bae75] A. Baeyer, C. Jaeger, *Chem. Ber.* **1875**, *8*, 148-150.
- [Bal00] C. Baldino, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 89-103.
- [Bal96] F. Balkenhohl, C. v. d. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436-2488.
- [Ban00] H. Bandel, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2000**, 92-97.
- [Ban99] H. Bandel, W. Haap, G. Jung, in G. Jung (Ed.), „Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening“, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, 479-498.
- [Bar89] K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiou, P. Sotiriu, Y. Wenqing, W. Schäfer, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3943-3946.

- [Bar89a] K. Barlos, D. Gatos, S. Kapolos, C. Poulos, G. Papaphotiou, W. Schäfer, Y. Wenqing, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3947-3950.
- [Bau02] M. Bauser, *J. Chromatogr. Sci.* **2002**, *40*, 292-296.
- [Bay91] E. Bayer, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 117-133.
- [Bay90] E. Bayer, K. Albert, H. Willisch, W. Rapp, B. Hemmasi, *Macromolecules* **1990**, *23*, 1937-1940.
- [Bay86] E. Bayer, W. Rapp, *Chem. Pept. Prot.* **1986**, *3*, 3-8.
- [Bay85] E. Bayer, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1985**, *25*, 178-186.
- [Bea92] S.F. Beaucage, R.P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311.
- [Bil98] M.T. Bilodeau, A.M. Cunningham, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2800-2801.
- [Bla02] B.E. Blass, K.R. Coburn, A.L. Faulkner, C.L. Hunn, M.G. Natchus, M.S. Parker, D.E. Portlock, J.S. Tullis, R. Wood, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4059-4061.
- [Böh96] H.-J. Böhm, G. Klebe, H. Kubinyi, „Wirkstoffdesign“, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1996**.
- [Böh81] R. Böhm, C. Karow, *Pharmazie* **1981**, *36*, 243-247.
- [Boo98] S. Booth, P.H.H. Hermkens, H.C.J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15385-15443.
- [Bor94] A. Borchert, W.C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 373-374.
- [Brä00] S. Bräse, J. Köbberling, D. Enders, R. Lazny, M. Wang, S. Brandtner, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2105-2108.
- [Bre02] R. Breinbauer, I.R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3002-3015.
- [Bun98] B.A. Bunin (Ed.), „The Combinatorial Index“, Academic Press, San Diego, **1998**.
- [Bun92] B.A. Bunin, J.A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10997-10998.
- [Car91] P. Caravatti, M. Allemann, *Org. Mass Spectrom.* **1991**, *26*, 514.
- [Cas99] E.A. Castro, P. Pavez, J.G. Santos, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2310-2313.
- [Cha98] S. Chandrasekhar, M.B. Padmaja, *Synthetic Commun.* **1998**, *28*, 3715-3720.
- [Col99] C. Colas, M. Goeldner, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1357-1366.
- [Deh94] H. Dehne „1,2,3-Triazole“, in E. Schaumann (Ed.), „Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Heterene III“, Bd. E8d, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1994**, 305-405.
- [Dim27] O. Dimroth, W. Michalis, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1927**, *459*, 39-46.

- [Dim05] O. Dimroth, *Chem. Ber.* **1905**, 38, 670-688.
- [Dol02] R.E. Dolle, *J. Comb. Chem.* **2002**, 4, 369-418.
- [Dol01] R.E. Dolle, *J. Comb. Chem.* **2001**, 3, 1-41.
- [Dol00] R.E. Dolle, *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 383-433.
- [Dry86] A. Dryland, R.C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Perk. Trans. I* **1986**, 125-137.
- [Dup98] A.J. Duplantier, C.J. Andresen, J.B. Cheng, V.L. Cohan, C. Decker, F.M. DiCapua, K.G. Kraus, K.L. Johnson, C.R. Turner, J.P. UmLand, J.W. Watson, R.T. Wester, A.S. Williams, J.A. Williams, *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 2268-2277.
- [Eam01] J. Eames, M. Watkinson, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1213-1224.
- [Eck93] D.J. Ecker, T.A. Vickers, R. Hanecak, V. Driver, K. Anderson, *Nucleic Acids Rs.* **1993**, 37, 1853-1856.
- [Eng90] A. Engel, „Triazene“ in D. Klamann (Ed.), „Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Organische Stickstoffverbindungen“, Bd. E16a, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1990**, 1182-1226.
- [Erb94] E. Erb, K.D. Janda, S. Brenner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 11422-11426.
- [Fas78] R.J. Fass, R.B. Prior, *Curr. Ther. Res.* **1978**, 24, 352-364.
- [Fei74] R.S. Feinberg, R.B. Merrifield, *Tetrahedron* **1974**, 30, 3209-3212.
- [Fin80] K.T. Finley, J.A. Montgomery (Vol. Ed.) „Triazoles: 1,2,3“ in A. Weissberger, E.C. Taylor (Eds.), „The Chemistry of Heterocyclic Compounds“, John Wiley & Sons, New York, **1980**.
- [Fle94] B. Fleckenstein, K.-H. Wiesmüller, M. Brich, G. Jung, *LIPS* **1994**, 117-126.
- [Fly98] D.L. Flynn, R.V. Devraj, W. Naing, J.J. Parlow, J.J. Weidner, S.L. Yang, *Med. Chem. Res.* **1998**, 8, 219-243.
- [Fos80] N.I. Foster, N.D. Heindel, H.D. Burns, W. Muhr, *Synthesis* **1980**, 572-573.
- [Fra78] H. Frank, G.J. Nicholson, E. Bayer, *J. Chromatogr. Sci.* **1977**, 15, 174-176.
- [Fra00] R. Franzén, *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 195-214.
- [Fri66] M. Fridkin, A. Patchornik, E. Katchalski, *J. Am. Chem. Soc.* 1966, 88, 3164-3165.
- [Frü96] J.S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, 35, 17-42; *Angew. Chem.* **1996**, 108, 19-46.
- [Fur91] A. Furka, F. Sebestyen, M. Asgedom, G. Dibo, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1991**, 37, 487-493.

- [Fur88] A. Furka F. Sebestyén, M. Asgedom, G. Dibo, Abstr. 14th Int. Congr. Biochem., Prague, Czechoslovakia **1988**, 5, 47-49.
- [Gar96] R.S. Garigipati, B. Adams, J.L. Adams, S.K. Sarkar, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2911-2914.
- [Gay97] L.M. Gayo, M.J. Suto, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 211-214.
- [Gir84] E. Giralt, J. Rizo, E. Pedroso, *Tetrahedron* **1984**, 40, 4141-4152.
- [Göp94] W. Göpel, C. Ziegler (Eds.), „Struktur der Materie: Grundlagen, Mikroskopie und Spektroskopie“, B.G. Teubner Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1994**.
- [Gol88] H. Goldschmidt, J. Holm, *Chem. Ber.* **1888**, 21, 1016-1026.
- [Gou00] N. Gouault, J.-F. Cupif, A. Sauleau, M. David, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 7293-7297.
- [Gre99] T.W. Greene, P.G.M. Wuts (Eds.), „Protective Groups in Organic Chemistry“, John Wiley & Sons, New York, **1999**.
- [Gri00] P. Grice, A.G. Leach, S.V. Leach, A. Massi, D.M. Mynett *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 491-495.
- [Gro99] P. Grosche, A. Hölzel, T. B. Walk, A. W. Trautwein, G. Jung, *Synthesis* **1999**, 1961-1970.
- [Gut71] B. Gutte, R.B. Merrifield, *J. Biol. Chem.* **1971**, 246, 1922-1941.
- [Haa97] W.J. Haap, T. Redemann, J.S. Früchtel, G. Jung, *GIT Special „Prof. Bayer“* **1997**, 4, 94-97.
- [Haa98] W.J. Haap, T.B. Walk, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 3311-3314; *Angew. Chem.* **1998**, 110, 3506-3509.
- [Han98] S. Hanessian, F. Xie, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 737-740.
- [Her97] P.H.H. Hermkens, H.C.J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1997**, 53, 5643-5678.
- [Her96] P.H.H. Hermkens, H.C.J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, 52, 4527-4554.
- [Het94] A. Hetzmann, „1,3,4-Oxadiazole“, in E. Schaumann (Ed.), „Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Heterene III“, Bd. E8c, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1994**, 526-647.
- [Heu77] G. Heusel, G. Bovermann, W. Goehring, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1975**, 14, 817-818; *Angew. Chem.* **1977**, 89, 680-682.
- [Hil98] P.M. St. Hilaire, T.L. Lowary, M. Meldal, K. Bock, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 13312-13320.
- [Hoe97] W.J. Hoekstra, M.N. Greco, S.C. Yabut, B.L. Hulshizer, B.E. Maryanoff, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2629-2632.

- [Hol95] C.P. Holmes, D.G. Jones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2318-2319.
- [Hou92] R.A. Houghten, J.R. Appel, S.E. Blondelle, J.H. Cuervo, C.T. Dooley, C. Pinilla, *BioTechniques* **1992**, *13*, 412-421.
- [Hui65] R. Huisgen, R. Knorr, L. Möbius, G. Szeimies, *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 4014-4021.
- [Jam99] I.W. James, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 4855-4946.
- [Jun99] G. Jung (Ed.), „Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening”, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [Jun96] G. Jung (Ed.), „Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries”, Wiley-VCH, Weinheim, **1996**.
- [Jun92] G. Jung, A.G. Beck-Sickinger, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 375-391.
- [Kad73] P.K. Kadaba, *Synthesis* **1973**, 71-84.
- [Kai70] E. Kaiser, R.L. Colescott, C.D. Bossinger, P.I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- [Kan98] C.O. Kangani, H.E. Master, *Indian J. Chem.* **1998**, *37B*, 778-782.
- [Kei96] P.A. Keifer, L. Baltusis, D.M. Rice, A.A. Tymiak, J.N. Shoolery, *J. Magn. Res. A* **1996**, *119*, 65-75.
- [Kel82] M.A. Kelly, M. Murray, M.L. Sinnott, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1982**, 1649-1654.
- [Ken71] G.W. Kenner, J.R. McDermott, R.C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1971**, 636-637.
- [Ker93] J.M. Kerr, S.C. Banville, R.N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2529-2531.
- [Kil01] J. Kilburn, J. Lau, R.C.F. Jones, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2583-2586.
- [Kim02] D.B. Kimball, M.M. Haley, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3484-3498.
- [Kim98] S.W. Kim, C.Y. Hong, K. Lee, E.J. Lee, J.S. Koh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 735-738.
- [Kin97] H.M. Kingston, S.J. Haswell, „Microwave-enhanced Chemistry“, American Chemical Society, Washington, USA, **1997**.
- [Kir01] A. Kirschning, H. Monenschein, R. Wittenberg, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 670-701.
- [Kre02] J. Kress, R. Zanaletti, A. Amour, M. Ladlow, J.G. Frey, M. Bradley, *Chem. Eur J.* **2002**, *8*, 3769-3772.
- [Kuh02] N. Kuhnert, *Angew. Chem.*, **2002**, *114*, 1943-1946.
- [Kun88] H. Kunz, B. Dombo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 711-713; *Angew. Chem.*, **1988**, *100*, 732-734.

- [Kur89] H.H. Kurth, *Diplomarbeit*, Universität Tübingen, **1989**.
- [Lai89] A.A.R. Laila, *Gazz. Chim. Ital.* **1989**, *119*, 453-456.
- [Leb95] M. Lebl, V. Krchnak, N.F. Sepetov, B. Seligmann, P. Strop, S. Felder, K.S. Lam, *Biopolymers (Peptide Science)* **1995**, *37*, 177-198.
- [Lee02] M.S. Lee, *Practical Spectroscopy* **2002**, *32*, 187-210.
- [Lee73] R.A. Lee, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 3333-3336.
- [Lex86] A. Lex, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, W.G. Bessler, *J. Immunol.* **1986**, *137*, 2676-2681.
- [Ley95] S.V. Ley, D.M. Mynett, W.-J. Koot, *Synlett* **1995**, 1017-1019.
- [Ley00] S.V. Ley, I.R. Baxendale, R.N. Bream, P.S. Jackson, A.G. Leach, D.A. Longbottom, M. Nesi, J.S. Scott, R.I. Storer, S.J. Taylor, *J. Chem. Soc. Perk. Trans. I* **2000**, 3815-4195.
- [Ley00a] S.V. Ley, A. Massi, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 104-107.
- [Lip97] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3-25.
- [Man78] A. Mangia, A. Scandroglio, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 5219-5220.
- [Mel94] M. Meldal, F.-I. Auzanneau, O. Hindsgaul, M.M. Palcic, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1994**, 1849-1850.
- [Mel92] M. Meldal, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3077-3080.
- [Mer88] E.B. Merkushev, *Synthesis* **1988**, 923-937.
- [Mer63] R.B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [Min91] D.M.P. Mingos, D.R. Baghurst, *Chem. Soc. Rev.* **1991**, *20*, 1-37.
- [Mor95] E.J. Moran, S. Sarhar, J.F. Cargill, M.M. Shabaz, A. Lio, A.M.M. Mjalli, R.W. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10787-10788.
- [Neg78] M. Negwer, „Organisch-chemische Arzneimittel und ihre Synonyma“, Bd. II, N° 6598, Akademieverlag, Berlin, **1978**.
- [Nes94] H.P. Nestler, P.A. Bartlett, W.C. Still, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4723-.
- [Nic02] K.C. Nicolaou, R. Hanko, W. Hartwig (Eds.), „Handbook of Combinatorial Chemistry - Drugs, Catalysts, Materials“, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [Nic98] K.C. Nicolaou, J. Pastor, S. Barluenga, N. Winssinger, *Chem. Commun.* **1998**, *63*, 1947-1948.
- [Nic95] K.C. Nicolaou, X.-Y. Xiao, Z. Parandoosh, A. Senyei, M.P. Nova, *Angew. Chem.* **1985**, *107*, 2476-2479.

- [Nie93] J. Nielsen, S. Brenner, K.D. Janda, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9812-9813.
- [Ole02] P.H. Olesen, P. Kurtzhals, H. Worsaae, B.F. Hansen, A.R. Sørensen, A.N. Bowler, WO 02/32896.
- [Ost94] J.M. Ostresh, J.H. Winkle, V.T. Hamashin, R.A. Houghten, *Biopolymers* **1994**, *34*, 1681-1689.
- [Pec88] H. v. Pechmann, *Chem. Ber.* **1888**, *21*, 2756-2762.
- [Per01] In *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* erschienen im Rahmen der „Perkin I Abstracts“ bis Ende 2001 regelmäßig Übersichtsartikel über die SPOS-Literatur.
- [Pil01] P. Pilotti, Vortrag im Rahmen des GDCh-Fortbildungskurses „Kombinatorische Chemie – Methoden, Anwendungen und Perspektiven“, Universität Tübingen, **2001**.
- [Pir02] M.C. Pirrung, K. Park, L.N. Tumej, *J. Comb. Chem.* **2002**, *4*, 329-344.
- [Por98] R. Portmann, U.C. Hofmeier, A. Burkhard, W. Scherrer, M. Szelagiewicz, WO 98/56773.
- [Pur96] M. Pursch, G. Schlotterbeck, L.-H. Tseng, K. Albert und W. Rapp, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 2867-2868.
- [Rad02] J. Rademann, M. Barth, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3087-3090.
- [Rad02a] J. Rademann, J. Smerdka, G. Jung, WO 02/055486.
- [Rad01] J. Rademann, J. Smerdka, G. Jung, P. Grosche, D. Schmid, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 381-385; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 390-393.
- [Rad00] J. Rademann, W. Kraas, B. Dörner, *Nachrichten Chem.* **2000**, *48*, 280-283.
- [Rad99] J. Rademann, M. Meldal, K. Bock, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1218-1225.
- [Ran93] K.D. Raner, C.R. Strauss, F. Vyskoc, L. Mokbel, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 950-953.
- [Rau71] R. Raulison, E. Es, F. Tupp, M. El-Pu, *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 10-21.
- [Red94] P.M. Reddy, M.A. Michael, F. Farooqui, S. Girgis, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5771-5774.
- [Ren96] M. Renil, M. Meldal, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6185-6188.
- [Rin87] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787-3790.
- [Rou69] M.L. Roumestant, P. Viallefont, J. Elguero, R. Jacquier, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *6*, 495-498.
- [Ruh98] T. Ruhland, K. Anderson, H. Pederson, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9204-9211.

- [Sam89] S.M. Sami, W.A. Remers, W.T. Bradner, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 703-708.
- [San98] R. Santini, M.C. Griffith, M. Qi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8951-8954.
- [Sch02] D.G. Schmid, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2002**.
- [Sch01a] D.G. Schmid, P. Grosche, H. Bandel, G. Jung, *Biotech. Bioeng. (Combinatorial Chemistry)* **2001**, *71*, 149-161.
- [Sch01] D.G. Schmid, P. Grosche, G. Jung, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, *15*, 341-347.
- [Sch94] M. Schuster, P. Wang, J.C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1135-1138.
- [She82] R.C. Sheppard, B.J. Williams, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1982**, *20*, 451-454.
- [She01] D.C. Sherrington, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2001**, *39*, 2346-2377.
- [Sma89] P.W. Small, D.C. Sherrington, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1989**, 1589-1591.
- [Sme01] J. Smerdka, T. Seyberth, D.G. Schmid, G. Jung, J. Rademann, in M. Lebl, R. Houghten (Eds.): „Peptides: The Wave of the Future“, American Peptide Society, San Diego, USA, **2001**, 267-268.
- [Smi01] M.B. Smith, J. March (Eds.): „March's Advanced Organic Chemistry – Reactions, Mechanisms, and Structure“, 5th Ed., Wiley-Interscience, New York, USA, **2001**, 218-227.
- [Sor01] G. Sorg, A. Mengel, G. Jung, J. Rademann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4395-4397; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4532-4535.
- [Sor03] G. Sorg, persönliche Mitteilung.
- [Str97] B.R. Stranix, J.P. Gao, R. Barghi, J. Salha, G.D. Darling, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8987-8993.
- [Sül65] C. Süling, „Methoden zur Darstellung und Umwandlung von aromatischen Triazenen und höheren Azahomologen“ in R. Stroh (Ed.), „Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Stickstoffverbindungen I“, Bd. X/3, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1965**, 695-744.
- [Süß99] R.D. Süßmuth, G. Jung, *J. Chromatogr. B, Biomed. Sci Appl.* **1999**, *725*, 49-65.
- [The90] A.B. Theocharis, N.E. Alexandrou, A. Terzis, *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, *27*, 1741-1744.
- [The90a] A.B. Theocharis, N.E. Alexandrou, *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, *27*, 1695-1688.
- [Tho96] L.A. Thompson, J.A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555-600.
- [Váz01] J. Vázquez, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6691-6693.

- [Vin62] M. Vincent, J. Maillard, M. Bernard, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1962**, 1580-1584.
- [Voj95] T. Vojkovsky, *Pept. Res.* **1995**, 8, 236-237.
- [Wal86] O. Wallach, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1886**, 235, 233-255.
- [Wam84] H. Wamhoff in A.R. Katritzky, C.W. Rees (Eds.), *Comprehensive Heterocyclic Chemistry: The Structure, Reactions, Synthesis and Uses of Heterocyclic Compounds*, Vol. 5, Part 4A, Pergamon Press, Oxford · New York · Toronto · Sydney · Paris · Frankfurt, **1984**, 669-732.
- [Wan73] S.S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 1328-1333.
- [Wea85] R.C. Weast (Ed.), *„CRC-Handbook of Chemistry and Physics“*, 66th Edition, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA, **1985-1995**, D-162.
- [Web95] L. Weber, S. Wallbaum, C. Broger, K. Gubernator, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 2452-2454.
- [Weh96] T. Wehler, J. Westman, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4771-4774.
- [Wen99] P. Wentworth Jr., K.D. Janda, *Chem. Commun.* **1999**, 1917-1924.
- [Whi61] E.H. White, H. Scherrer, *Tetrahedron Lett.* **1961**, 21, 758-762.
- [Whi69] E.H. White, H. Maskill, D.J. Woodcock, M.A. Schroeder, *Tetrahedron Lett.* **1969**, 11, 1713-1716.
- [Wie83] K.-H. Wiesmüller, W.G. Bessler, G. Jung, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1983**, 364, 593-606.
- [Wil95] P. Willett, *Trends Biotechnol.* **1995**, 13, 516-521.
- [Wil62] A.E. Wilder Smith, *Arzneim.-Forsch.* **1962**, 12, 275-282.
- [Woo97] F.X. Woolard, J. Paetsch, J.A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6102-6103.
- [Yan96] B. Yan, J.B. Fell, G. Kumaravel, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 7467-7472.
- [Yan95] B. Yan, G. Kumaravel, H. Anjaria, A. Wu, R.C. Petter, C.F. Jewell Jr., J.R. Wareing, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5736-5738.
- [Yu99] K.L. Yu, R. Civiello, D.G.M. Roberts, S.M. Seiler, N.A. Meanwell, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 663-666.
- [Zar00] F. Zaragoza Dörwald, *„Organic Synthesis on Solid Phase“*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [Zar96] F. Zaragoza, S.V. Peterson, *Tetrahedron* **1996**, 52, 10823-10826.
- [Zha00] H. Zhang, K. Heinig, J. Henion, *J. Mass Spectrom.* **2000**, 35, 423-431.

8 Anhang

8.1 Berechnung der Harzbeladung nach einem Syntheseschritt

Mit der Beladung eines Harzes bezeichnet man die Anzahl reaktiver Zentren in Millimol bezogen auf die Masse der Harzportion in Gramm.

Sei B_{vor} die Beladung des Harzes vor dem Syntheseschritt in mmol/g und m_{vor} die Masse vor der Reaktion in g. Die Anzahl der reaktiven Zentren beträgt also

$$n_{\text{vor}} = m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \quad (1)$$

Nach einem Syntheseschritt (unter der Annahme, dass die Umsetzung vollständig verläuft) hat sich die Masse der umgesetzten Harzportion um

$$\Delta m = n_{\text{vor}} \frac{\Delta M}{1000} = m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \quad (2)$$

auf

$$\begin{aligned} m_{\text{nach}} &= m_{\text{vor}} + \Delta m = m_{\text{vor}} + m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \\ &= m_{\text{vor}} \left(1 + m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \right) \end{aligned} \quad (3)$$

geändert. Δm ist hierbei die Massenänderung der Harzportion in g; ΔM die Änderung des Molgewichts der an der Ankergruppierung immobilisierten Spezies in g/mol. Der Faktor 1000 ergibt sich aus den unterschiedlichen Dimensionen der Einheiten von Beladung (mmol/g) und Molgewicht (g/mol).

Die Zahl der reaktiven Zentren bleibt konstant, das heißt die Anzahl an Produktmolekülen nach der Reaktion, n_{nach} , ist gleich der Anzahl an Eduktmolekülen, n_{vor} . Also gilt

$$n_{\text{nach}} = n_{\text{vor}} = \text{const.} \quad (4)$$

Somit ist auch

$$m_{\text{nach}} B_{\text{nach}} = m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \quad (5)$$

Die Beladung des Harzes nach der Reaktion beträgt also

$$B_{\text{nach}} = \frac{m_{\text{vor}} B_{\text{vor}}}{m_{\text{nach}}} \quad (6)$$

Diese Formel ist insbesondere von Bedeutung bei der Berechnung der theoretischen Harzbeladungen der Alkyltriazin-Harze (vgl. Kapitel 3.1).

8.2 NMR-Analytik

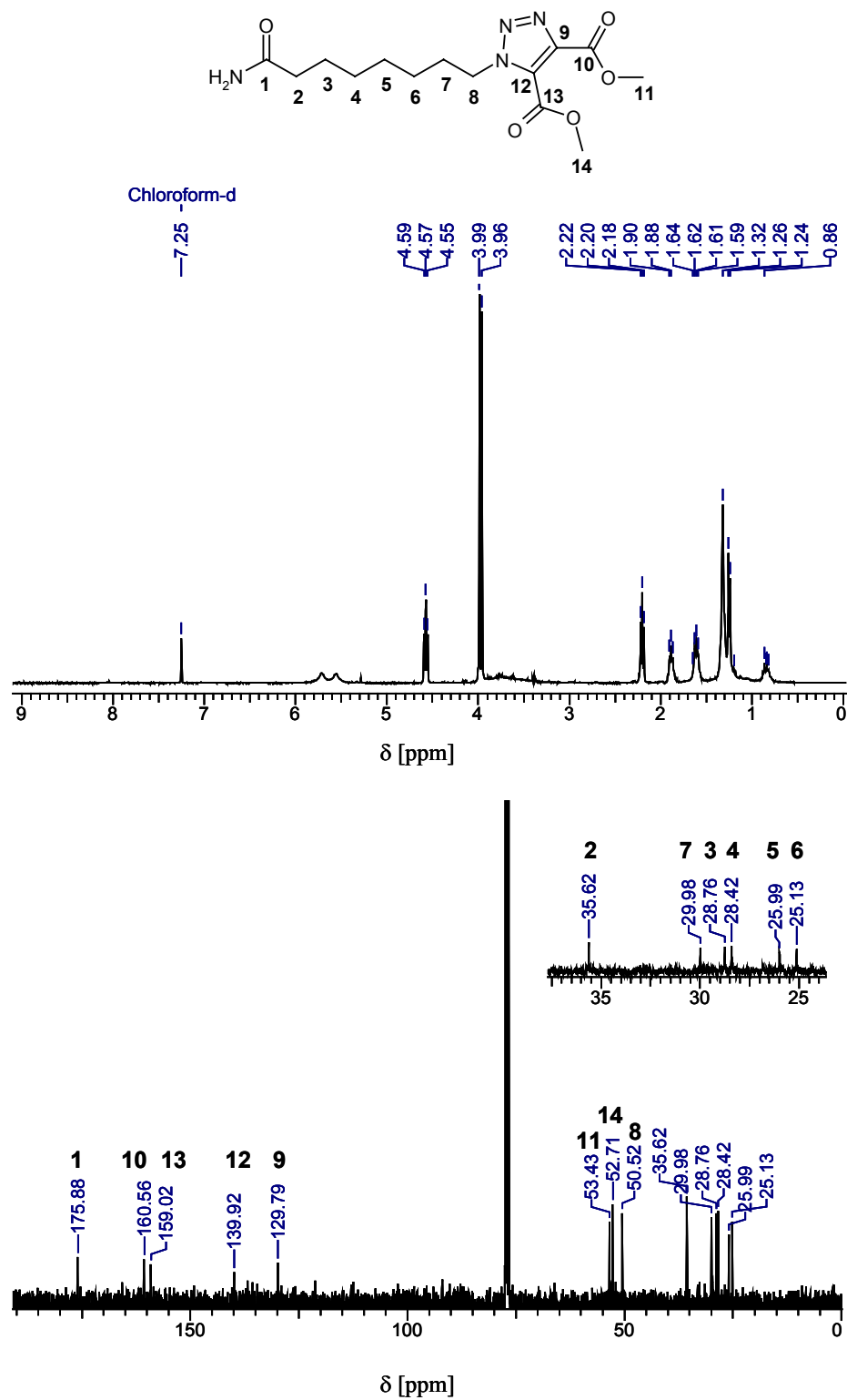
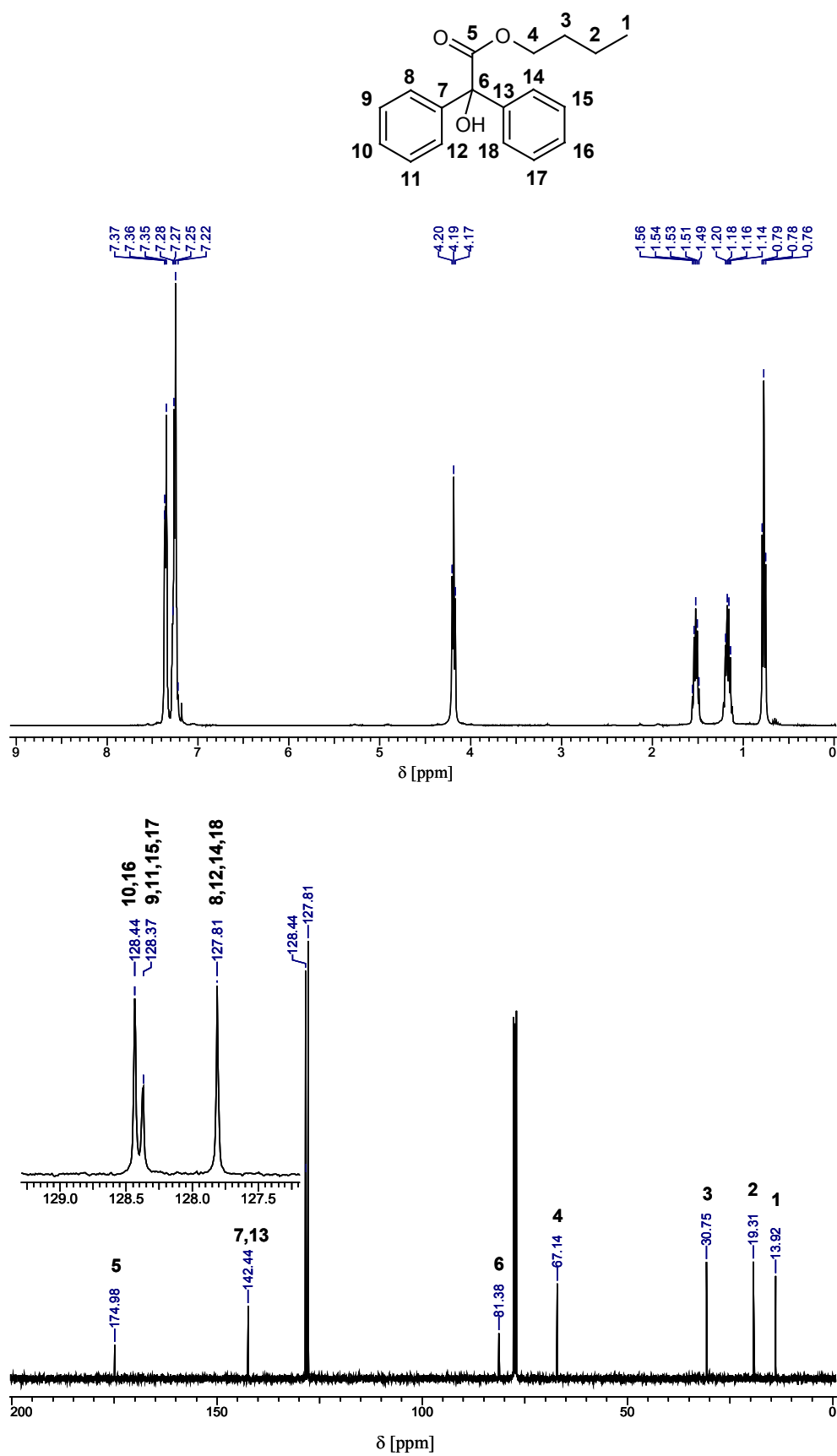
8-[4,5-Bis(methoxycarbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]octansäureamid

Abb. 94 ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von 8-[4,5-Bis(methoxycarbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]octansäureamid (Rohprodukt).

Benzilsäure-*n*-butylesterAbb. 95 ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von Benzilsäure-*n*-butylester (Rohprodukt).

4-Nitrophenyllessigsäure-*n*-dodecylester

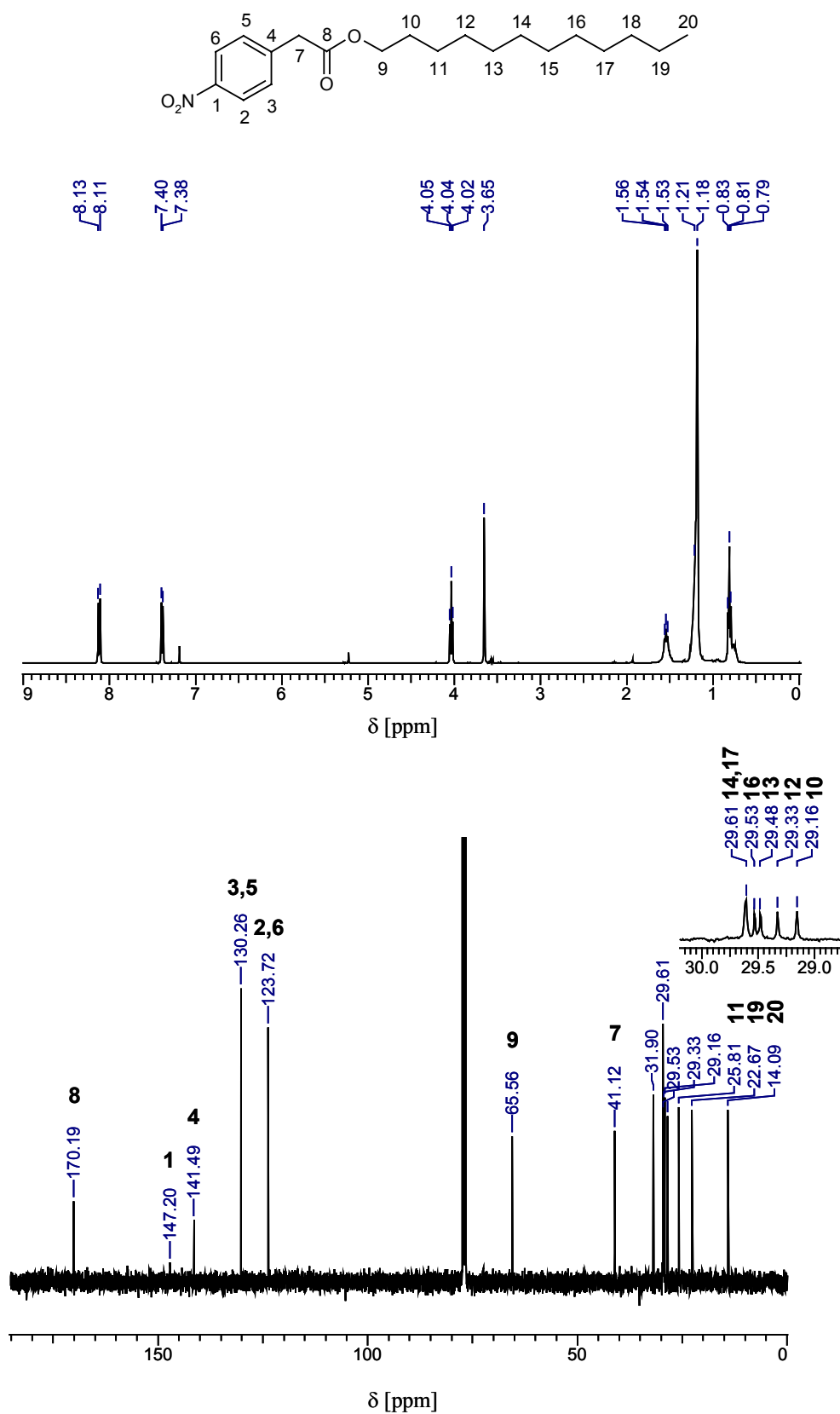
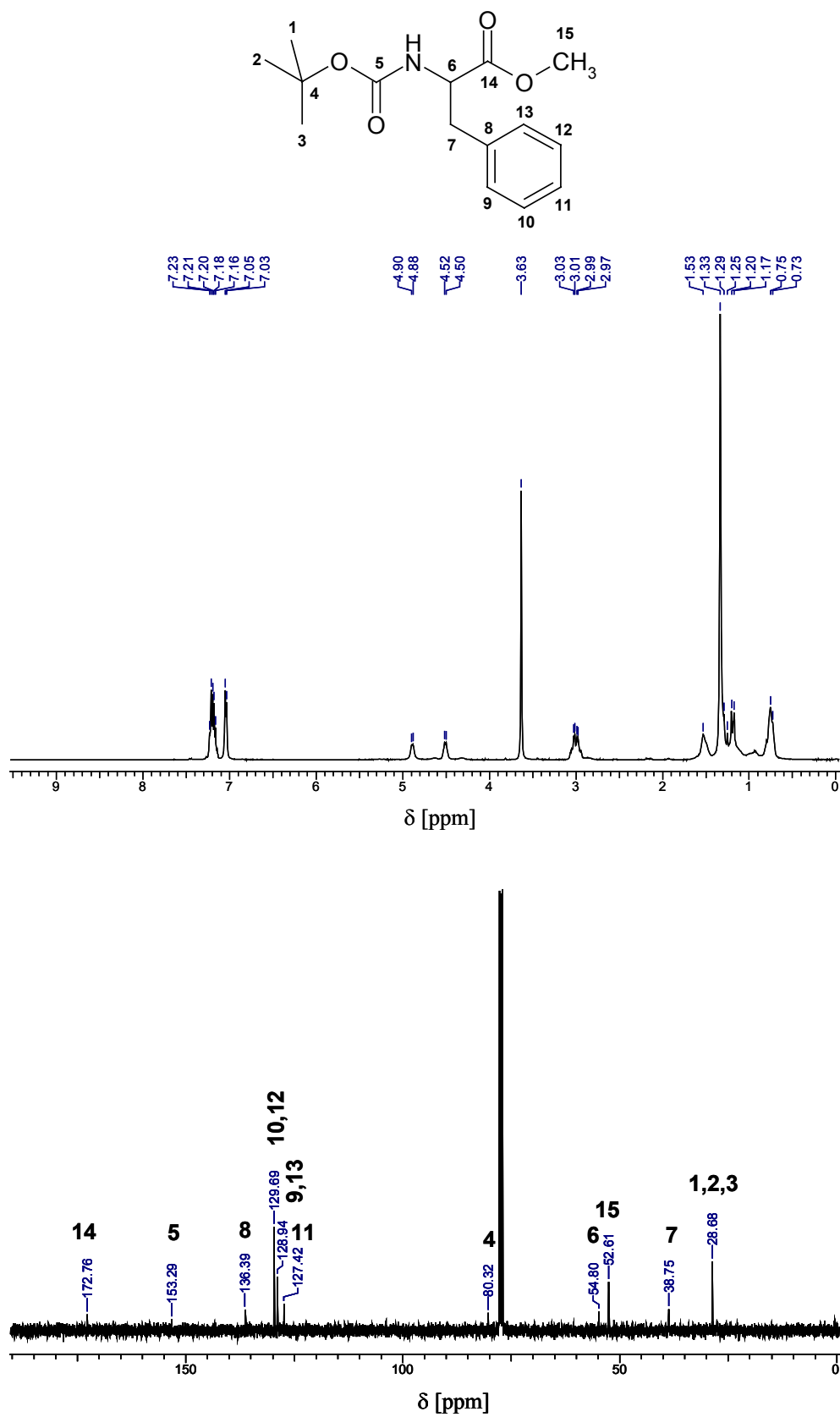


Abb. 96 ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von 4-Nitrophenyllessigsäure-*n*-dodecylester (Rohprodukt).

Boc-Phenylalaninmethylester

Abb. 97 ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von Boc-Phenylalaninmethylester (Rohprodukt).

Meine akademischen Lehrer waren:

U. Abram, K. Albert, E. Bayer†, D. Christen, H. Eckstein, G. Gauglitz, W. Göpel†, P. Grathwohl, G. Häfelinger, M. Hanack, V. Hoffmann, G. Jung, S. Kemmler-Sack†, W. Koch, B. Koppenhöfer, K.-A. Kovar, D. Krug, N. Kuhn, H. Liebich, E. Lindner, M. E. Maier, H.-J. Meyer, U. Nagel, W. Nakel, H. Oberhammer, D. Oelkrug, G. Pausewang, H. Pommer, V. Schurig, E. Schweda, F.F. Seelig, J. Strähle, H.-D. Wiemhöfer, K.-P. Zeller, C. Ziegler.