

**Synthese von neuartigen  $\alpha$ -Aminosäuren  
sowie  
Analytik elektrochemisch erzeugter, trisubstituierter  
1,2,4-Triazole**

**Dissertation**

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

2003

vorgelegt von  
**Katrin Probst**

Tag der mündlichen Prüfung: 05.05.2003

Dekan: Prof. Dr. H. Probst

1. Berichterstatter Prof. Dr. G. Jung

2. Berichterstatter: Prof. Dr. B. Speiser

Die vorgelegte Arbeit wurde unter Anleitung von

Herrn Prof. Dr. Günther Jung

in der Zeit von Februar 1999 bis März 2003 am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen durchgeführt.

Der zweite Teil dieser Dissertation „Analytische Identifizierung elektrochemisch erzeugter trisubstituierter 1,2,4-Triazole“ wurde im Rahmen eines von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten Projektes „Kombinatorische Mikroelektrochemie“ in Kooperation mit den Gruppen Prof. Speiser, Tübingen und Prof. Schuhmann, Bochum, erstellt (DFG Az Ju 103/11-1 und Ju 103/11-2).

Hiermit erkläre ich, dass diese Arbeit von mir selbständig verfasst wurde und keine anderen als die aufgeführten Hilfsmittel verwendet wurden.

Tübingen, den 31.03.03

Katrin Probst



## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Günther Jung danke ich sehr herzlich für die intensive Förderung, die interessante Themenstellung, die hervorragenden Arbeitsbedingungen, die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit und sein mir entgegengebrachtes Vertrauen.

Besonders möchte ich mich bei Joachim Smerdka und Dr. Bernd Thern für die Hilfestellung, ihre kritischen Beiträge und ständige Diskussionsbereitschaft bedanken.

Ich bedanke mich sehr bei Wolfgang Märkle und Herrn Prof. Dr. Bernd Speiser für die freundliche Einarbeitung in die Elektrochemie und die Hilfestellung, die mir im Rahmen des durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft geförderten Kooperationsprojekts „Kombinatorische Mikroelektrochemie“ zuteil wurde.

Meinen Laborkollegen Dr. Hartmut Richter, Dr. Axel Trautwein, Stefan Gröschel, Dr. Hartmut Drechsel, Nicole Sessler und Ayse Torun sei herzlichst gedankt für die freundliche, oftmals sehr amüsante Zusammenarbeit und die vielen hilfreichen Diskussionen.

Mein Dank gilt Dr. Felix Reutter, Dr. Bernd Thern, Tobias Seyberth, Daniel Bischoff, Dr. Dietmar Schmid und ganz besonders Bojan Bister für die Aufnahme der zahlreichen Massenspektren. Meiner Kollegin Dr. Alexandra Hölzel danke ich für ihre wertvolle Hilfe bei der Strukturaufklärung mittels NMR-Spektroskopie, Frau Nguyen, Frau Lange und Herrn Maier für die Aufnahme von NMR-Spektren. Herrn Graham Nicholson gilt mein herzlichster Dank für die Einführung in den Umgang mit dem GC-MS-Gerät und die grosszügige Bereitstellung von Messzeit.

Frau Ursula Becker danke ich für ihre ständige Hilfsbereitschaft und freundliche Unterstützung in organisatorischen Fragen aller Art. Bei allen Kolleginnen und Kollegen möchte ich mich für das angenehme Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Freund Daniel Guth für seine Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.



Für Daniel





## Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeiner Teil – Kombinatorische Synthese	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Kombinatorische Chemie	3
1.2.1	Prinzipien der kombinatorischen Chemie	3
1.2.2	Festphasensynthese (Solid Phase Organic Synthesis, SPOS)	3
1.2.3	Synthese in Lösung	4
1.2.4	Bibliothekskonzepte	4
1.3	Trägermaterialien für die feste Phase	6
1.3.1	Polymere Trägermaterialien	6
1.3.2	Linker in der Festphasensynthese	7
1.3.3	Analytik in der kombinatorischen Festphasensynthese	9
1.4	Synthesebeispiele aus der Nitril-Chemie an fester Phase	10
1.4.1	Addition von Kohlenstoff-Nukleophilen	10
1.4.2	Addition an Stickstoff-Nukleophile	11
1.4.3	Addition an Schwefel-Nukleophile	13
1.4.4	Strecker-Drei-Komponenten Reaktion	14
1.5	Biologische und medizinische Bedeutung von Nitrilverbindungen	16
2	Aufgabenstellung - Kombinatorische Chemie	19
3	Diskussion der Ergebnisse – Kombinatorische Chemie	20
3.1	Die Strecker-Reaktion an fester Phase	20
3.1.1	Einleitung	20
3.1.2	Umsetzung der Strecker-Reaktion an der festen Phase	20
3.2	Strecker-Reaktion mit Amino-Komponente am Harz	21
3.2.1	Aminoacylfunktionalisierung von Wang-Harz	21
3.2.2	Strecker-Reaktion an fester Phase	22
3.2.3	Optimierungen der Reaktionsparameter	24
3.2.4	Bibliothekssynthese	27
3.2.5	Hofmann-Eliminierung mit verschiedenen Bromiden	30
3.3	Strecker-Reaktion mit Urethan-Linker	35
3.3.1	Beladung von Wang-Harz mit Piperazin über einen Urethan-Linker	35
3.3.2	Strecker-Reaktion über Urethan-Linker gebundene Edukte	35
3.4	Synthese und Analytik einer gemischten Bibliothek	40
3.5	Strecker-Reaktion mit der Carbonylkomponente am Harz	44
3.5.1	Carbonylkomponente am Harz	44

3.5.2	Strecker-Reaktion am Harz	45
3.6	Fmoc-geschützte neuartige $\alpha$ -Aminosäuren	48
3.6.1	Nitrilverseifung und Einführung der Fmoc-Schutzgruppe	48
3.6.2	Optimierung der Nitrilverseifung	48
3.6.3	$\alpha$ -Aminosäure-Kollektion	49
3.6.4	Einführung der Fmoc-Schutzgruppe für die Peptidsynthese	50
4	Zusammenfassung – Kombinatorische Chemie	52
5	Allgemeiner Teil – Analysen von Elektrosynthesen	53
5.1	Einleitung	53
5.2	Organische Elektrosynthese	54
5.2.1	Präparative Elektrosynthese	54
5.2.2	Elektrochemische CC-Verknüpfungen	54
5.2.3	Elektrochemische Gruppenumwandlungen	56
5.2.4	Mediator-vermittelte Elektrolysen	57
5.2.5	Kombinatorische Elektrosynthese	59
5.2.6	Elektrosynthese in Mikrotiterplatten	61
5.3	Chemische Synthesen von 1,2,4-Triazolen	62
5.4	Biologische Bedeutung und Synthese von 1,2,4-Triazol-Wirkstoffen	63
6	Aufgabenstellung	65
7	Diskussion der Ergebnisse – Analysen von Elektrosynthesen	66
7.1	Chemische Synthesen	66
7.1.1	Herstellung und Analytik einer Bibliothek von Benzaldehydphenylhydrazonen	66
7.1.2	Synthese von 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazolen als Referenzverbindungen	69
7.2	Elektrosynthesen und ihre Analytik	71
7.2.1	Ausgangssituation zu Beginn der analytischen Arbeiten	71
7.2.2	Die Nitrilkomponente und der Einsatz von HPLC-Analytik	72
7.2.3	Optimierung der Aufarbeitung	75
7.2.4	Gas-Chromatographie als optimale Analysemethode	77
7.2.5	Analytische Identifizierung weiterer Einzelverbindungen	78
7.2.6	Zeitlicher Verlauf der Elektrolyse	84
7.3	Quantifizierung der Produkte aus präparativen elektrochemischen Ansätzen	87
7.3.1	Quantifizierung mit Gaschromatographie	88
7.3.2	Quantifizierung mit GC-MS	88
7.3.3	Ergebnisse der Quantifizierung	89
7.3.4	Diskussion der Quantifizierung	90

7.4 Präparative kombinatorische Elektrochemie	93
7.4.1 Verwendung von mehreren Benzaldehydphenylhydrazonen - Analytik	93
7.4.2 Verwendung von mehreren Benzonitrilen	96
7.4.3 Zeitliche Verfolgung der Kombinatorischen Synthesen	96
7.5 Anwendungsbeispiele in Mikrotiterplatten und Versuche zur analytischen Identifizierung	103
8 Zusammenfassung – Analysen von Elektrosynthesen	106
9 Experimenteller Teil	107
9.1 Chemikalien und Lösungsmittel	107
9.2 Analytik	108
9.2.1 FT-ATR-IR-Spektroskopie	108
9.2.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	108
9.2.3 ESI-Massenspektrometrie	109
9.2.4 ESI-FT-ICR-Massenspektrometrie	109
9.2.5 HPLC-MS-Messungen	109
9.2.6 NMR-Spektroskopie	110
9.2.7 GC-Messungen	110
9.2.8 GC-EI-MS-Messungen	110
9.3 Syntheseprotokolle Kombinatorische Chemie	111
9.3.1 Beladung des Wang-Harzes mit Acrylsäurechlorid	111
9.3.2 Belegung des acylfunktionalisierten Harzes mit Piperazin	111
9.3.3 Strecker-Reaktion mit Cyclohexanon	111
9.3.4 Strecker-Reaktion mit Benzaldehyd (Optimierung)	111
9.3.5 Bibliothekssynthese	112
9.3.6 Funktionalisierung mit Allylbromid durch Hofmann-Eliminierung	113
9.3.7 Belegung des Wang-Harzes mit 4-Nitrophenylchloroformiat	114
9.3.8 Herstellung von Piperazincarbonat-Wang-Harz	115
9.3.9 Strecker-Reaktion mit Urethan-Linker (Bibliothek)	115
9.3.10 Bibliothek Split-Mix	116
9.3.11 Herstellung von 4-Hydroxybenzaldehyd-funktionalisiertem Wang-Harz	116
9.3.12 Herstellung von Chlor funktionalisiertem Wang-Harz	117
9.3.13 Herstellung von 4-Hydroxyacetophenon funktionalisiertem Wang-Harz	117
9.3.14 Streckerreaktion mit Carbonylkomponente	117
9.3.15 Hydrolyse der Nitril-Funktion zur Gewinnung von unnatürlichen $\alpha$ -Aminosäuren	117
9.3.16 Einführung der Fmoc-Schutzgruppe mit Fmoc-OSu bzw. Fmoc-Cl	118
9.4 Syntheseprotokolle Elektrochemie	119
9.4.1 Bibliothek von Benzaldehydphenylhydrazonen	119

9.4.2	Synthese der Benzaldehydhydrazonchloride	119
9.4.3	Synthese der substituierten Triazole	122
9.4.4	Aufarbeitung nach der Elektrolyse	123
9.4.5	Quantifizierung der präparativen Elektrolysen	123
9.4.6	Messdaten der Quantifizierung	125
10	Literaturverzeichnis	133
11	Anhang	141
11.1	FT-ATR-IR-Spekten	141
11.2	GC-MS-Analysen - Elektrochemie	143

**Abkürzungen**

a	Volumenmenge gelöste Standardverbindung ( <b>A</b> )
A	Standardverbindung
abs.	wasserfrei
ACN	Acetonitril
AcOH	Essigsäure
AS	Aminosäure
b	Responsefaktor (Steigung der Geraden)
BTMG	Betäubungsmittel-Gesetz
c	Konzentration
COMT	Catechol-O-methyltransferase
CPG	controlled pore glass
CV	Cyclovoltammetrie
d	Dublett (NMR-Spektroskopie)
D	Derivat
DBU	Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	Dichlormethan
DEAD	Azodicarbonsäurediethylester, Diethylazodicarboxylat
DIAD	Azodicarbonsäurediisopropylester, Diisopropylazodicarboxylat
DMA	N,N'-Dimethylacetamid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMS	Dimethylsulfid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DVB	Divinylbenzol
eq.	Äquivalent
Et <sub>2</sub> O	Diethylether
ESI	Elektrospray-Ionisation
ES-MS	Elektrospray-Massenspektrometrie
F	Standardfehler
F <sub>a</sub> / F <sub>r</sub>	Quotient der Peakflächen
FID	Flammenionisationsdetektor
Fmoc-OSu	9-Fluorenylmethoxycarbonyl-N-hydroxysuccinimid
FT-ATR-IR	Fourier-Transform-Attenuated-Total-Reflection-IR
FT-ICR-MS	Fourier-Transform-Ionen-Cyclotron-Resonanz-MS
GC	Gaschromatographie
HF	Flussäure
HFIP	Hexafluorisopropanol
HLADH	Horse liver alcohol dehydrogenase
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie
HTS	High Throughput Screening
IR	Infrarotspektroskopie
m	Multiplett (NMR-Spektroskopie)
MALDI-MS	Matrix-Assisted-Laser-Desorption-Massenspektrometrie
MAS	Magic Angle Spinning

MeOH	Methanol
mg A / mg R	Quotient der eingesetzte Mengen von A und R
MS	Massenspektrometrie
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduzierte Form
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidinon
NMR	Kernspinresonanz-Spektroskopie
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
P <sub>4</sub> -tBu	Phosphazenenbase P <sub>4</sub> -tBu: 1-tert-Butyl-4,4,4-tris(dimethylamino)-2,2-bis[tris-(dimethylamino)-phosphoranylidenamino]-2Λ <sup>5</sup> ,4Λ <sup>5</sup> -catenadi(phosphazenen)
PEG	Polyethylenglykol
PS	Polystyrol
r	Volumenmenge gelöste Referenzsubstanz ( <b>R</b> )
R	Referenzsubstanz
R <sup>•</sup>	Radikal
R <sup>+</sup>	Carbokation
RT	Retentionszeit
s	Singulett (NMR-Spektroskopie)
S	Standardabweichung
SAEP	Spatially Addressable Electrolysis Platform
SECM	Scanning Electrochemical Microscope
SIM	Selected Ion Monitoring
SPOS	Solid Phase Organic Synthesis (Organische Chemie an der festen Phase)
SPPS	Solid Phase Peptide Synthesis (Festphasensynthese von Peptiden)
TEMPO	Tetramethylpiperidin- <i>N</i> -oxid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
t-BuOH	tert.-Butanol
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIC	Total-Ionen-Chromatogramm
Tmof	Trimethylorthoformiat
TOF	Time of Flight
u	Volumenmenge gelöste Analysensubstanz
U	Analysensubstanz
UV	Ultraviolett
x	Volumenmenge der zu analysierenden Substanz ( <b>X</b> )
X	zu analysierende Lösung mit unbekannter Menge an Triazol
Z	Anzahl Datenpunkte
δ	chemische Verschiebung (NMR-Spektroskopie)
v	Wellenzahl (IR-Spektroskopie)

# 1 Allgemeiner Teil – Kombinatorische Synthese

## 1.1 Einleitung

Die kombinatorische Synthese ist eine jüngere Entwicklung, vor allem in der medizinischen Chemie. Sie hat einen großen Einfluss und wird seit zehn Jahren von vielen pharmazeutischen Firmen genutzt. Bei der Suche von Leitstrukturen zur Entwicklung neuer Medikamente wird auf Naturstoffe oder synthetische, organische Verbindungen zurückgegriffen [Böh 96]. An die Leitstruktursuche schließt sich eine Phase der Leitstrukturoptimierung an. Dies bedeutet, dass zunächst Analoga synthetisiert werden, welche wiederum in Bioassays getestet werden, mit dem Ziel, eine bestimmte Veränderung der Eigenschaften mit einer Veränderung in der Struktur in Korrelation zu bringen.

Dieser gesamte Prozess blieb jedoch lange Zeit auf eine relativ geringe Zahl an Verbindungen beschränkt, da weder die Kapazität der Testsysteme noch die für Leitstrukturoptimierung und Leitstruktursuche notwendige synthetische Kapazität gegeben war. Die Fortschritte in der Automatisierungstechnik erlaubten die Entwicklung von Robotersystemen, die in einer parallelen Betriebsweise innerhalb eines Tages Tausende von Verbindungen in einem Bioassay testen können. Dies wird als High-Throughput-Screening (HTS) zusammengefasst [Kri 97, Kyr 99].

Die klassische organische Synthese wird, bedingt durch die zumeist relativ geringen Möglichkeiten der Automatisierbarkeit, diesen Anforderungen nicht gerecht. Ein High-Throughput-Screening macht jedoch die Entwicklung einer High-Throughput-Synthese sinnvoll. Hier bietet die Kombinatorische Synthese einen Ausweg, da sie ein automatisierter Prozess ist, durch den eine große Anzahl von neuen Strukturen in kleinen Mengen durch Festphasensynthese hergestellt werden. Dieses Syntheseprinzip wurde in der Peptidsynthese bereits seit 1963 eingesetzt [Mer 63, Jun 92] und gewinnt seit Beginn der 90er Jahre in der Synthese niedermolekularer, nichtoligomerer Verbindungen zunehmend an Bedeutung. Der große Vorteil dieser Methodik ist der Wegfall aufwendiger Aufreinigungen von Zwischenprodukten (Abbildung 1). Allerdings erfordert die Anpassung von literaturbekannten Synthesen in Lösung auf die von der Festphasenchemie geforderten Bedingungen einen zum Teil erheblichen Entwicklungsaufwand.

Die kombinatorische Chemie schafft die Möglichkeit, gezielt Substanzpools schnell zu erzeugen [Gal 94, Jun 96, Jun 99, Frü 96, Her 96, Tho 96, Bal 96, Fen 96, Kom 97, Bro 97a]. Im Gegensatz zur klassischen Synthese, welche die Synthese einzelner, hochreiner, vollständig charakterisierter Verbindungen zum Ziel hat, werden in der kombinatorischen Chemie Verbindungskollektionen,

sogenannte Substanzbibliotheken synthetisiert, d. h. innerhalb kürzester Zeit werden gleichzeitig Hunderte oder Tausende von Verbindungen dargestellt, die als Einzelverbindungen oder aber als Mischungen vorliegen können, wenn die Synthesen in räumlich getrennten Kompartimenten durchgeführt wurden.

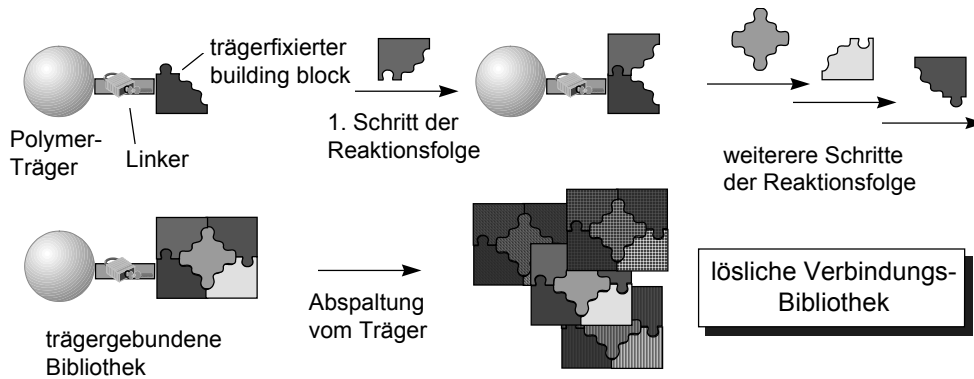


Abbildung 1: Aufbau von Bibliotheken durch Festphasensynthese [Jun 96].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die kombinatorische Chemie und mit ihr die Festphasensynthese als wichtige Unterstützung in der Leitstruktursuche und Leitstrukturoptimierung etabliert haben.

Ziel dieser Arbeit war es, Methoden für die kombinatorische Synthese von biologisch relevanten Substanzbibliotheken zu erarbeiten, die im Rahmen einer Leitstruktursuche bzw. von Leitstrukturoptimierungen genutzt werden sollten.



## 1.2 Kombinatorische Chemie

### 1.2.1 Prinzipien der kombinatorischen Chemie

Das Konzept der kombinatorischen Chemie entstammt der Natur, die durch Kombination von 20 natürlichen Aminosäuren eine unbeschränkte Anzahl von Peptiden und Proteinen aufzubauen vermag. Anstatt die Edukte zu einem einzelnen Produkt umzusetzen, werden bei der kombinatorischen Chemie verschiedene Sets analoger Edukte kombinatorisch miteinander umgesetzt, wodurch Verbindungsbibliotheken hergestellt werden, die eine große Anzahl von strukturell verschiedenen Einzelverbindungen enthalten.

Neben der klassischen Wirkstoffsuche kann die kombinatorische Chemie auch für andere Problemstellungen, die eine Optimierung von Moleküleigenschaften erfordern, eingesetzt werden. So wurde der Einsatz zur Verbesserung von Katalysatoren [Bur 96], Liganden [Liu 95] und Supraleitern [Hsi 96] publiziert. Auch die Anwendung in der Elektrochemie wurde mittlerweile getestet und schon erfolgreich angewandt [Siu 00a, Siu 00b, Yud 01]. Damit chemische Bibliotheken für eine Optimierungsaufgabe eingesetzt werden können, muss jedoch ein geeignetes Testsystem mit hohem Durchsatz vorhanden sein.

### 1.2.2 Festphasensynthese (Solid Phase Organic Synthesis, SPOS)

Bereits 1963 wurde von Merrifield [Mer 63] das Konzept der Festphasensynthese in die Peptidchemie eingeführt (SPPS, Solid Phase Peptide Synthesis) und wurde ursprünglich in der Synthese von Biooligomeren, wie Peptiden [Jun 96] und Nucleotiden eingesetzt. Seit der Veröffentlichung einer Festphasensynthese für eine Benzodiazepin-Bibliothek 1992 [Bun 92] wird sie zunehmend in der Synthese nichtoligomerer, niedermolekularer Verbindungen eingesetzt. Heute ist diese Methode (SPOS Solid Phase Organic Synthesis) die wichtigste Methode zur Herstellung chemischer Substanzbibliotheken [Frü 96, Jun 99]. Das Edukt ist an einen unlöslichen, leicht filtrierbaren, polymeren Träger kovalent gebunden, der von Lösungsmitteln und darin gelösten Reagenzien durchdrungen werden kann. Die Anbindung des Edukts, i.a. ein bifunktionelles Molekül, an den polymeren Träger erfolgt über einen sogenannten Linker, während die zweite funktionelle Gruppe für Reaktionen mit gelösten Edukten frei bleibt. Reaktionssequenzen können ausgehend von dieser immobilisierten Funktion durchgeführt werden, wobei die Zwischenprodukte der jeweiligen Reaktionstufe kovalent am Träger gebunden verbleiben. Im Regelfall wird das fertige Endprodukt abgespalten.

Der größte Vorteil der Festphasensynthese gegenüber der Synthese in Lösung liegt in den vereinfachten Syntheseabläufen, wobei die Reinigung nach jeder Synthesestufe durch Waschen der Harze mit Lösungsmitteln unterschiedlicher Polarität erfolgt, überschüssige Reagenzien und lösliche Nebenprodukte werden so abgetrennt. Der Einsatz von großen Eduktüberschüssen ist möglich, wodurch hohe Umsetzungen erzwungen werden. Auch mehrstufige Synthesen können bei guter Reinheit der Endprodukte durchgeführt werden.

Bei der Synthese an Trägermaterialien treten spezifische Probleme auf, so dass bereits etablierte Synthesen in Lösung in vielen Fällen nicht direkt auf die feste Phase übertragen werden können. Die Reaktionsbedingungen müssen sowohl mit dem Trägermaterial als auch mit dem Linker und dem immobilisierten Molekül kompatibel sein. Die verwendeten Reagenzien müssen die Phasengrenze zwischen Trägermaterial und Lösung überwinden können oder entsprechend angepasst werden. Reaktionen bei Temperaturen  $> 150\text{ °C}$  sind mit den üblicherweise verwendeten Trägermaterialien nicht möglich und weiterhin dürfen die Produkte durch die Abspaltbedingungen nicht zerstört werden. Für eine lückenlose Analytik der Synthesesequenz müssen oft Zwischenprodukte abgespalten werden, was jedoch nicht in allen Fällen möglich ist. Jede nicht absolut vollständige Umsetzung limitiert die Reinheit der Folgeprodukte, so dass es mit zunehmender Anzahl der Synthesestufen zur Akkumulation von Zwischen- und Nebenprodukten kommt [Bay 91].

### **1.2.3 Synthese in Lösung**

Ebenso wie an der Festphase ist auch die kombinatorische Synthese in Lösung möglich, sie spielt eine zunehmende Rolle. Da direkt mit den aus der klassischen Lösungssynthese bekannten Bedingungen und Reaktionsfolgen gearbeitet werden kann, entfällt die Entwicklungsarbeit, was gegenüber der Festphasensynthese ein Vorteil ist. Problematisch sind jedoch vor allem die unvollständige Umsetzungen einzelner Syntheseschritte und die dadurch notwendige Aufreinigung der jeweiligen Zwischenprodukte, wobei vor allem Flüssig-Flüssig-Extraktion, Festphasenextraktion und der Einsatz von Scavenger-Harzen und auch Polymerreagentien verwendet werden [Aus 99].

### **1.2.4 Bibliothekskonzepte**

Bei paralleler Synthese von Einzelverbindungen wird jeweils eine Verbindung pro Reaktionsgefäß synthetisiert. Der Vorteil dieser Methode liegt in der besseren Evaluierbarkeit der Ergebnisse aus Bioassays und der einfacheren Analytik. Die parallele Synthese von Einzelverbindungen stellt heute die wichtigste Methode zur kombinatorischen Synthese von Verbindungskollektionen dar.

Die Pre-Mix-Methode ist die Bibliothekenherstellung durch Kupplung von Reaktandmischungen, hierbei wird in jeder Stufe ein gesamtes Set an Edukten mit dem jeweiligen Substrat umgesetzt [Wie 96, Gey 86]. In der Theorie erhält man schon nach wenigen Reaktionsschritten hoch komplexe Bibliotheken. Tatsächlich ist die genaue Zahl an gewünschten Verbindungen im äquimolaren Verhältnis nicht zu erreichen, da das Produktverhältnis von den Geschwindigkeitskonstanten der einzelnen Reaktanden abhängt, wodurch sterisch gehinderte oder elektronisch desaktivierte Reaktanden unter Umständen nicht abreagieren. Die Pre-Mix-Methode wird hauptsächlich bei der Synthese von Peptidbibliotheken eingesetzt [Wie 96], wo sie exzellente Ergebnisse liefert.

In kurzer Zeit können komplexe Bibliotheken mit der Split-Mix-Methode erhalten werden, die alle Komponenten äquimolar enthalten. Dabei enthält jedes Harzpartikel (Bead) als kleinste, nicht teilbare Einheit nur eine einzige Verbindung in vielfacher Kopie. Diese Methode wird daher auch als „one bead – one compound“-Strategie bezeichnet. Das Problem konkurrierender Kupplungsreaktionen kann durch Aufteilung des Trägermaterials in räumlich getrennte Aliquote und anschließende Umsetzung jedes Aliquots mit jeweils einer Komponente aus dem Set vermieden werden. Nach der Reaktion wird das gesamte Trägermaterial vermischt und vor der nächsten Umsetzung erneut aufgeteilt. In diesen Aliquoten liegen alle trägergebundenen Reaktanden statistisch verteilt vor. Bei sehr großen Bibliotheken müssen auch statistische Einschränkungen der Split-Mix-Methode bedacht werden. So kann die Zahl der Komponenten einer Bibliothek die Zahl der Harz-Beads nicht überschreiten. Aus statistischen Gründen muss die Zahl der Beads die der Komponenten mindestens um den Faktor 10 übersteigen, damit jede Komponente in der Bibliothek enthalten ist. Soll die Äquimolarität der Komponenten erreicht werden, muss der Faktor sogar größer 100 sein. Durch statistische Berechnungen konnte jedoch gezeigt werden, dass Bibliotheken mit  $< 10^5$  Komponenten mit ca. 1 g Träger-Harz praktikabel zu realisieren sind [Bur 94, Zho 95].

## 1.3 Trägermaterialien für die feste Phase

### 1.3.1 Polymere Trägermaterialien

Da in der Festphasensynthese immer in einem Zwei-Phasen-System gearbeitet wird, müssen die Eigenschaften des Trägermaterials berücksichtigt werden. Die wichtigsten Kriterien sind:

1. Die **Beladung**, d. h. die Anzahl der potentiellen Anbindungsstellen für die zu immobilisierenden Moleküle pro Einheit an Trägermaterial. Sie beschränkt die Ausbeute an Produkt pro eingesetzter Menge an Trägermaterial. Eine hohe Beladung erleichtert die Analytik an fester Phase, während bei niedriger Beladung weniger unerwünschte Wechselwirkungen zwischen den immobilisierten Molekülen auftreten.
2. Die **Quelleigenschaften**, d. h. die Volumenänderung in Abhängigkeit vom eingesetzten Lösungsmittel. Eine Volumenzunahme erleichtert die Zugänglichkeit der immobilisierten Moleküle.
3. Die **Stabilität** gegenüber allen in der Reaktionssequenz eingesetzten Chemikalien sowie den während der Synthese auftretenden mechanischen und thermischen Belastungen. Ist dies nicht gewährleistet, kann es zu Problemen bei der Filtration des Trägermaterials kommen, wie auch Störungen beim Aufbau von „one bead – one compound“-Bibliotheken.
4. Die **vielseitige Funktionalisierbarkeit** des Trägermaterials, d. h. es sollte mit vielen verschiedenen Linkern kombinierbar sein, wodurch eine höhere Kompatibilität für verschiedene Reaktionssequenzen gegeben ist. Die wichtigsten Trägermaterialien sind in Tabelle 1 dargestellt.

Die weitaus größte Bedeutung in der organischen Festphasensynthese besitzt das bereits von Merrifield [Mer 63] in der Peptidsynthese eingesetzte, mit 1 – 5 % Divinylbenzol (DVB) quervernetzte, Polystyrol [Mel 92, Bay 91]. Den besten Kompromiss zwischen hohem Quellvermögen und mechanischer Stabilität stellt das mit 1 % DVB quervernetzte Polystyrol dar. Diese Polymere lassen sich auch relativ leicht in verschiedenster Weise funktionalisieren. Ein großer Nachteil ist das fehlende Quellvermögen in protischen Lösungsmitteln wie Alkoholen und Wasser, wodurch Reaktionen in diesen Lösungsmitteln in vielen Fällen schlecht oder gar nicht ablaufen. Diesem Problem kann durch den Zusatz von Cosolventien, in denen das Polymer ein hohes Quellvermögen aufweist, entgegengewirkt werden. Allerdings ist ein hohes Quellvermögen des eingesetzten Polymers weder eine absolut notwendige noch eine hinreichende Bedingung für eine erfolgreiche Umsetzung an fester Phase (Tabelle 1).

Tabelle 1: Die Trägermaterialien in der Festphasensynthese.

Trägermaterial	Eigenschaften
Polystyrol / Divinylbenzol-Copolymer (1 - 5 % DVB) [Mel 92, Bay 91]	- gute Quelleigenschaften in DCM, DMF, THF, DMSO, NMP, Pyridin, Dioxan, - keine Quellung in MeOH, Wasser und Et <sub>2</sub> O - thermische Stabilität bis ca. 140 °C - Beladung 0,5 – 3,5 mmol / g
TentaGel, Pfropfcopolymer aus PS / DVB und Polyethylenglykol (PEG) [Bay 91, Bay 86]	- polares Harz; gute Quelleigenschaften in DCM, DMF, THF, DMSO, NMP, Pyridin, Dioxan, MeOH und Wasser - keine Quellung in EtOH und Et <sub>2</sub> O - druckstabil
Pepsyn K, Polydimethylacrylamid in Kieselgurmatrix [Ath 81]	- druckstabil, Einsatz in continuous-flow-Peptid-Synthesen - Beladung 0,05 – 0,2 mmol / g
PolyHIPE (High Internal Phase Emulsion), Copolymer aus PS / DVB und Polydimethylacrylamid [Sma 89]	- druckstabil, Einsatz in continuous-flow-Peptid-Synthesen - Beladung bis 5,0 mmol / g
Fractogel, Copolymer aus Methylacrylat und Vinylalkohol [Red 94]	- stabil im pH-Bereich 1 – 14 - druckstabil bis 7 bar - thermisch stabil bis 100 °C - Beladung 0,01 – 0,125 mmol / g
CPG (controlled pore glass) [Alb 89]	- keinerlei Quellung, aber erhältlich in verschiedenen Porengrößen

### 1.3.2 Linker in der Festphasensynthese

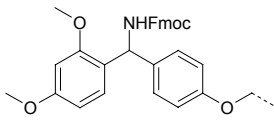
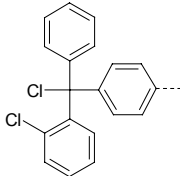
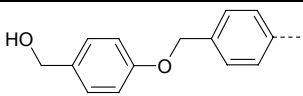
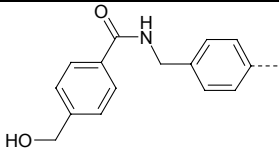
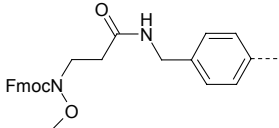
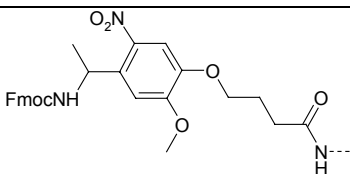
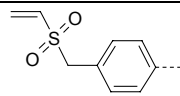
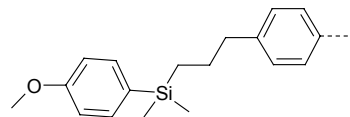
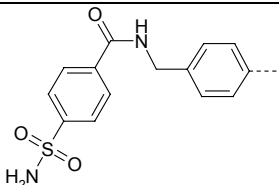
Der Linker oder Anker stellt während der Synthese das Verbindungsglied bzw. bei der Abspaltung die „Sollbruchstelle“ zwischen dem Polymerrückgrat und dem immobilisierten Molekül dar [War 99a]. Er wird im einfachsten Fall durch direkte Funktionalisierung des Polymers erhalten. Für spezifischere Anforderungen muss jedoch das funktionalisierte Polymer mit einem bifunktionellen Molekül umgesetzt werden, eine Funktion wird für die Immobilisierung benötigt, während die andere Funktion für Umsetzungen mit den eigentlichen Synthesebausteinen frei bleibt. Die Wahl des richtigen Linkers ist für eine erfolgreiche Festphasensynthese oft entscheidend. Der Linker muss zu den Reaktionsbedingungen kompatibel sein, wobei als Hauptproblem die vorzeitige Abspaltung des immobilisierten Moleküls auftreten kann. Es kann aber auch zu chemischen Modifikationen am Linker kommen, die eine spätere Abspaltung verhindern.

Die Linker werden anhand der jeweils benötigten Abspaltbedingungen klassifiziert:

- Säurelabile Linker
- Baselabile bzw. nucleophil spaltbare Linker
- Reduktiv spaltbare Linker
- Photolabile Linker
- Alkenyl-Linker, abspaltbar durch Eliminierung
- Silyl-Linker, Abspaltung ohne Verbleib einer Funktionalität am Zielmolekül (traceless-Linker).
- Safety-Catch-Linker, durch chemische Modifikation nach Abschluss der Synthese abspaltbar

In Tabelle 2 ist eine Auswahl gebräuchlicher Linker dargestellt. Die ersten vier gehören zur Gruppe der säurelabilen Linker.

Tabelle 2: Eine Auswahl von gebräuchlichen Linkern

Linker	Eigenschaften
	Rink-Amid-Linker; zur Immobilisierung von Carbonsäuren; Abspaltung mit 95 % TFA als Carbonsäureamid [Rin 87]
	2-Chlorotrityl-Chlorid-Linker; zur Immobilisierung von Carbonsäuren, Phenolen, Alkoholen und Aminen; Abspaltung mit TFA (1 % - 50 %) oder HFIP [Bar 89, Sha 98, Car 95, Bol 94]
	Wang-Linker; zur Immobilisierung von Phenolen und Carbonsäuren; Abspaltung mit TFA (15 % - 95 %) [Wan 73, Ric 94, Wan 97, Kis 97]
	4-Hydroxymethylbenzoesäure-Linker; zur Immobilisierung von Carbonsäuren; Abspaltung durch verschiedene Nucleophile als entsprechendes Carbonsäurederivat [She 82, Ath 89, Ste 84]
	Weinreb-Linker; zur Immobilisierung von Carbonsäuren, die durch LiAlH <sub>4</sub> bzw. Grignard-Reagenzien als Aldehyd oder Keton abgespalten werden. [Feh 95, Din 96]
	Aminoethyl-Photolinker; zur Immobilisierung von Carbonsäuren; Abspaltung mit UV-Licht (365 nm) als Carbonsäureamid [Hol 95]
	Vinylsulfonyl-Linker; zur Immobilisierung von primären und sekundären Aminen; Abspaltung durch Quarternisierung und Eliminierung als tertiäre Amine [Kro 97]
	4-Methoxyphenyl-dimethylsilylpropyl-Linker; nach Aktivierung mit HCl unter Bildung des Silylchlorids zur Immobilisierung von Aromaten (als Aryllithium); Abspaltung mit HF oder TFA (elektronenreiche Aromaten) bzw. TBAF (elektronenarme Aromaten) [Woo 97]
	4-Sulfamylbenzoyl-Linker; zur Immobilisierung von Carbonsäuren; Nach Aktivierung mit Diazomethan oder Iodacetonitril Abspaltung durch Nucleophile als entsprechende Carbonsäurederivate [Ken 71, Bac 96, Bac 94]

### 1.3.3 Analytik in der kombinatorischen Festphasensynthese

Die einfachste Methode zur Kontrolle von Reaktionsabläufen ist die Abspaltung der immobilisierten Moleküle nach jeder Umsetzung und anschließende Analyse z. B. mit MS, NMR, HPLC und GC. Dies ist mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden und oftmals sind die Zwischenprodukte bei den notwendigen Abspaltbedingungen nicht stabil. Deshalb werden auch Analysemethoden angewandt, die die Analyse an fester Phase erlauben.

- **FT-IR-spektroskopische Methoden an fester Phase;** [Yan 96, Ban 99, Haa 97] im Falle charakteristischer IR-Absorptionen erlaubt die FT-IR-Spektroskopie eine schnelle qualitative Bewertung des Umsetzungserfolgs.
- **$^{13}\text{C}$ -Gelphasen-NMR-Spektroskopie;** [Gir 84, Bay 90, Sch 93a] das Trägermaterial wird in einem geeigneten Lösungsmittel gequollen und als Gelphase vermessen.
- **$^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -NMR-MAS-Spektroskopie;** [And 95, Gar 96, Kei 96, Weh 96, War 99b]
- MALDI-TOF-Massenspektrometrie [Egn 95]
- **Elementaranalyse der Harze;** diese Methode liefert bei niedrigen Belegungsgraden ungenaue Ergebnisse.
- **Gravimetrie;** diese Methode liefert oft ungenaue Ergebnisse
- **UV/Vis-Spektroskopie;** bei der Verwendung Fmoc-geschützter Aminosäuren lässt sich nach Abspaltung der Fmoc-Gruppe die Beladung mittels UV/Vis-Spektroskopie anhand des Fmoc-Gehalts in der Abspalllösung ermitteln.

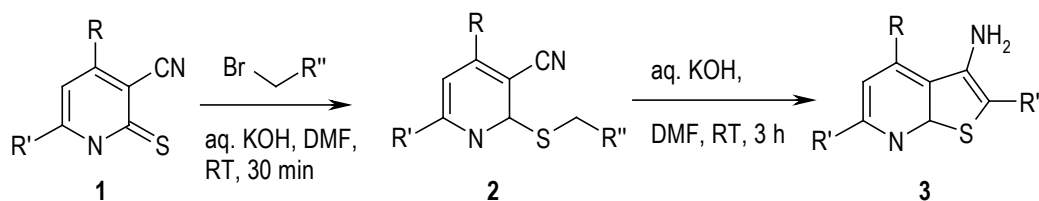
Die vom polymeren Träger abgespaltenen Produkte werden im allgemeinen durch HPLC-Analyse mit UV-Detektion und Elektrospray-MS charakterisiert [Jun 96, Jun 99]. Im Idealfall wird die Charakterisierung jedoch mittels HPLC-MS durchgeführt. Dies erlaubt auch die Analyse komplexer Bibliotheken, wobei die HPLC-FT-ICR-Massenspektrometrie die derzeit mit Abstand höchstauflösende Technik ist [Sch 99, Sch 01, Sch 02].

## 1.4 Synthesebeispiele aus der Nitril-Chemie an fester Phase

Heute stehen verschiedene Harze mit Nitrilfunktionalität als Ausgangsmaterial zur Verfügung, wie z.B. Cyanessigsäure-2-chlortrityl-Harz [Bol 94, Zar 97], 4-Cyanbenzoesäure-2-chlortrityl-Harz [Bol 94] und Cyanacetyl-Wang-Harz [Zar 97, Sim 98], die bei Händlern bezogen werden können. Die meisten Reaktionen unter Beteiligung von Cyaniden führen zu stickstoffhaltigen Heterozyklen.

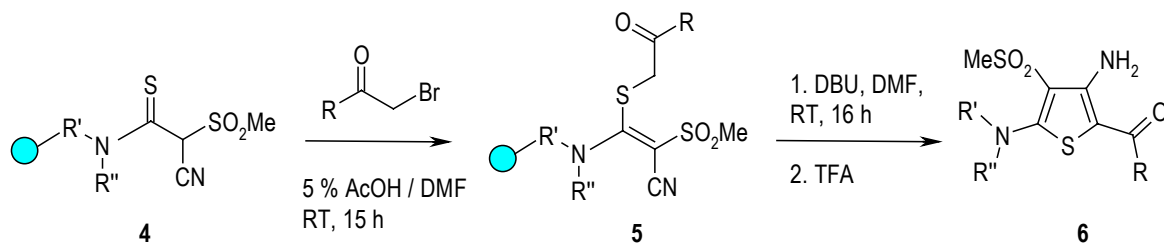
### 1.4.1 Addition von Kohlenstoff-Nukleophilen

Nitrile können durch CH-azide Verbindungen angegriffen werden, was die Festphasensynthese von Aminothienopyridinen zeigt [Shu 98, She 00]. Bei der Behandlung von 3-Cyanopyridin-2-thionen (**1**) mit akzeptor-substituierten Bromomethylen-Verbindung und wässriger KOH in DMF resultiert eine S-Alkylierung (Schema 1). Die Cyclisierung wurde mit wässriger Base durchgeführt, wodurch man Aminothienopyridine (**3**) erhält.



Schema 1: Festphasensynthese von Aminothienopyridinen (**3**) [Shu 98, She 00].

In einer ähnlichen Reaktion wurden  $\alpha$ -Cyanothioamide (**4**) als Edukte zur Bildung von Aminothiophenen (**6**) genutzt.  $\alpha$ -Cyanothioamide (**4**) können leicht aus Isothiocyanaten und akzeptor-substituierten Acetonitrilen erhalten werden (Schema 2). Die Behandlung der Thioamide (**4**) mit  $\alpha$ -Bromoketon liefert eine S-Alkylierung. Unter basischen Bedingungen (DBU in DMF) erfolgt die Zyklisierung des Intermediats (**5**) mit dem Nitril unter Bildung von 3-Aminothiophenen (**6**) in guter Ausbeute [Zar 96, Ste 97].

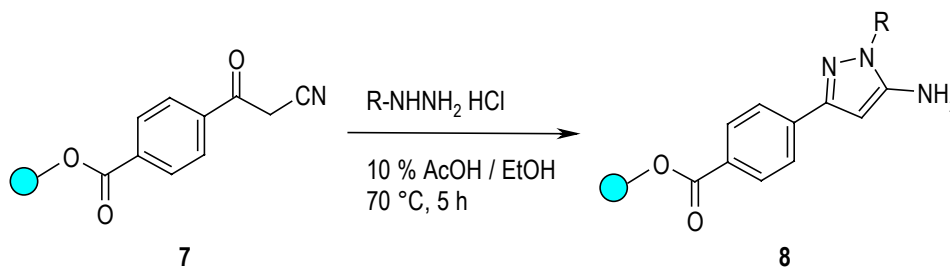


Schema 2: Festphasensynthese von 3-Aminothiophenen (**6**) [Zar 96, Ste 97].



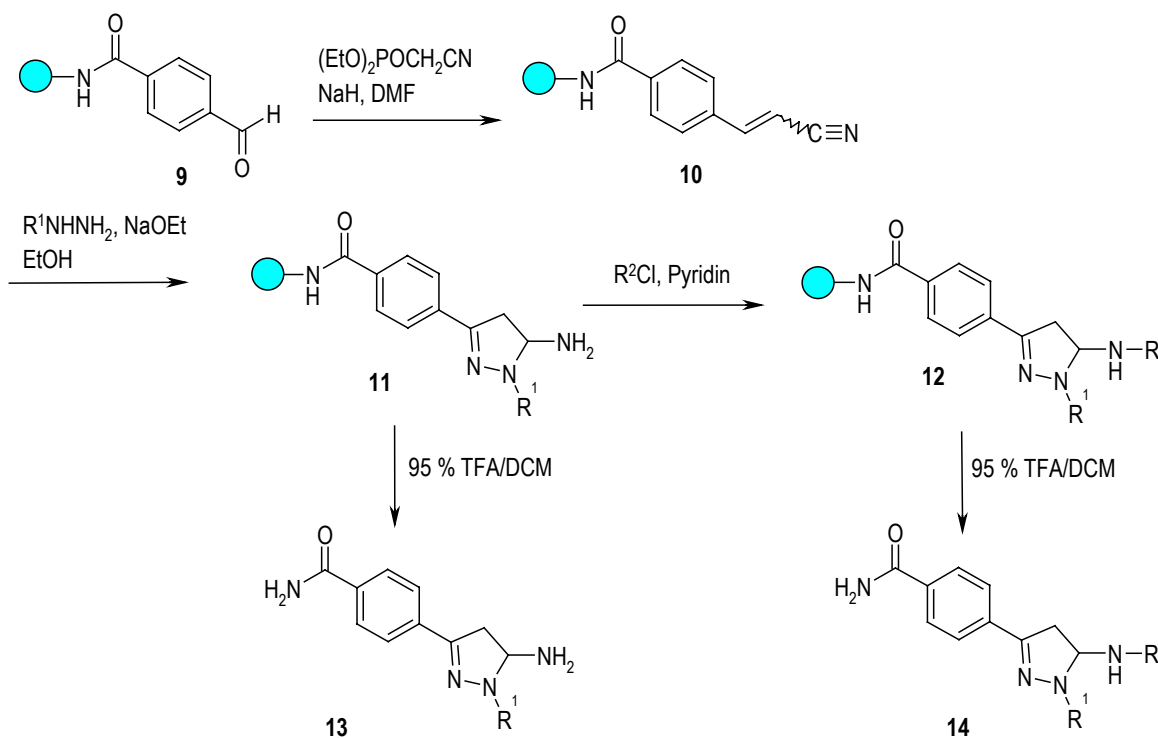
### 1.4.2 Addition an Stickstoff-Nukleophile

Mehrere Additionen von N-Nukleophilen an Nitrile wurden bereits an der festen Phase durchgeführt. Ein frühes Beispiel ist die Reaktion von festphasengebundenen Phthalonitrilen mit Ammoniak und NaOMe, wodurch 1,3-Diiminoisoindole erhalten werden, die noch weiter in Phthalocyanide [Lez 91] umgewandelt werden können (Schema 3). Die Reaktion von  $\beta$ -Oxonitrilen mit Hydrazin ist regioselektiv und liefert 5-Aminopyrazole (**8**). Polymergebundene  $\beta$ -Ketonitrile [Wat 97] und  $\alpha$ -Formylnitrile [Wil 98], können als Substrate eingesetzt werden.



Schema 3: Festphasensynthese von 5-Aminopyrazolen [Lez 91].

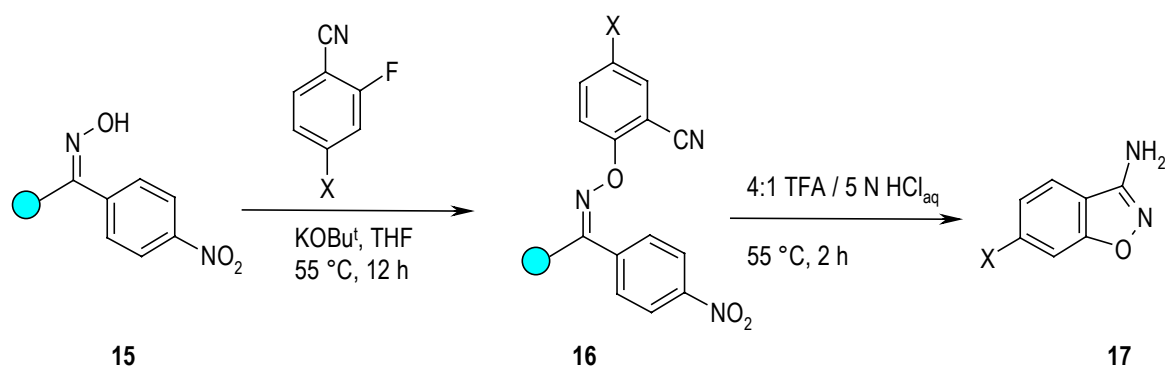
$\alpha$ -Formylnitril (**7**) ist durch Reaktion von harzgebundenem Benzylnitril mit dem Brederecke Reagenz zugänglich (Schema 4). Die Cyclisierung erfolgt durch Behandlung mit Hydrazin unter Erwärmung auf 70 °C in 10 % AcOH/EtOH für 5 h, wodurch 5-Aminopyrazole (**8**) in hoher Ausbeute erhalten werden können.



Schema 4: Festphasensynthese von 3-Amino-2-pyrazolinen [Lyn 98].

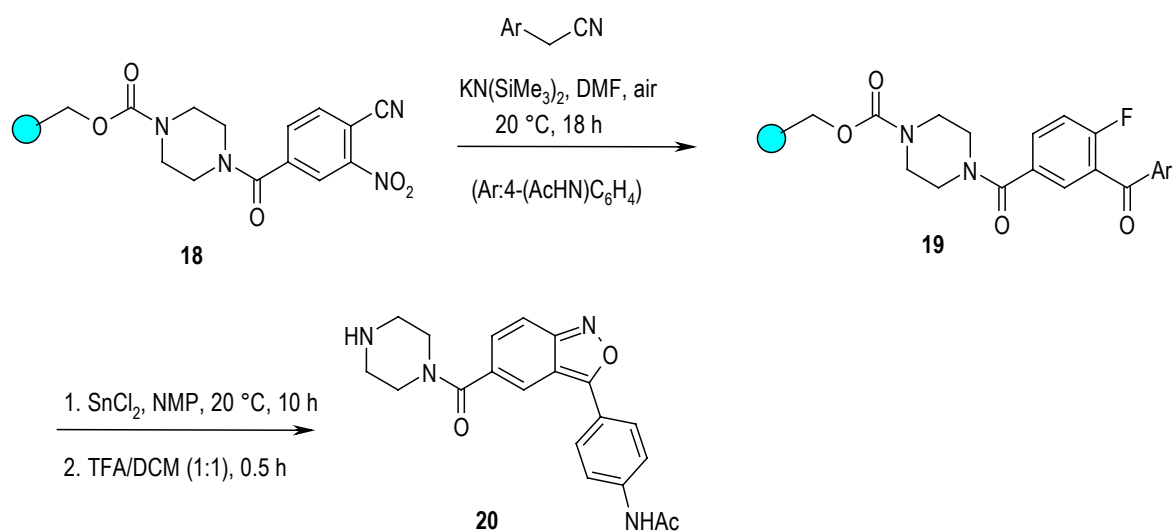
In einer ähnlichen Vorgehensweise werden  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Nitrile (**10**) cyclisiert mit Hydrazin und NaOEt als Base, wodurch 3-Amino-2-pyrazoline (**13**, **14**) in hoher Reinheit erhalten werden [Lyn 98].

Kaiser-Oxim-Harz (**15**) wurde für die Synthese einer Aminobenzisoxazol-Bibliothek (**17**) verwendet (Schema 5). Das Harz wurde mit 4-Halogen-2-fluorbenzonitril und Kalium-tert.-butylat in THF bei 55 °C behandelt, wobei das Fluor nukleophil substituiert wurde. Die Abspaltung des Hydroxylamines (**16**) und die Cyclisierung wurden in einem Schritt mit TFA / 5 N HCl durchgeführt, wodurch 3-Aminobenzisoxazole (**17**) in hoher Reinheit erhalten wurden [Lep 99, Lep 00].



Schema 5: Festphasensynthese von 2-Amino-1-hydroxyindolen [Lep 99, Lep 00].

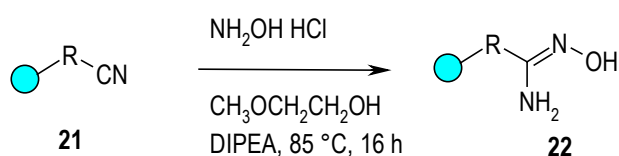
Ein Beispiel mit in situ Erzeugung des Hydroxylamin-Nucleophils ist die Reduktion eines polymergebundenen 2-Nitrobenzylnitril mit Zinn-(II)-Chlorid-Dihydrat (Schema 6). Das Hydroxylamin als Intermediat der Reduktion, wird durch Zyklisierung mit dem Nitril abgefangen, wodurch 2-Amino-1-hydroxyindole (**20**) erhalten werden [Ste 99].



Schema 6: Festphasensynthese von 2-Amino-1-hydroxyindolen [Ste 99].

Guanidine werden ebenfalls als N-Nukleophile gebraucht, was an einer Festphasensynthese von 2,4-Diaminoquinazolinen gezeigt wurde. Die Guanidine wurden durch Reaktion eines Acylisothiocyanat-Harzes mit 2-Aminobenzonitril erhalten. Die Abspaltung und Zyklisierung erfolgte bei der Behandlung mit TFA / H<sub>2</sub>O (95 : 5) bei 80 °C während 16 h [Wil 01].

Es gibt nur wenige Beispiele für die nukleophile Umwandlung von Nitrilen ohne Zyklisierung (Schema 7). Ein Beispiel ist die Aminolyse von polymergebundenen Nitrilen (**21**) mit Hydroxylamin Hydrochlorid und DIPEA in 2-Methoxyethanol bei 85 °C für 16 h, wodurch Amidoxime (**22**) in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Diese Produkte können für die Synthese von Oxadiazolen verwendet werden [Heb 99].

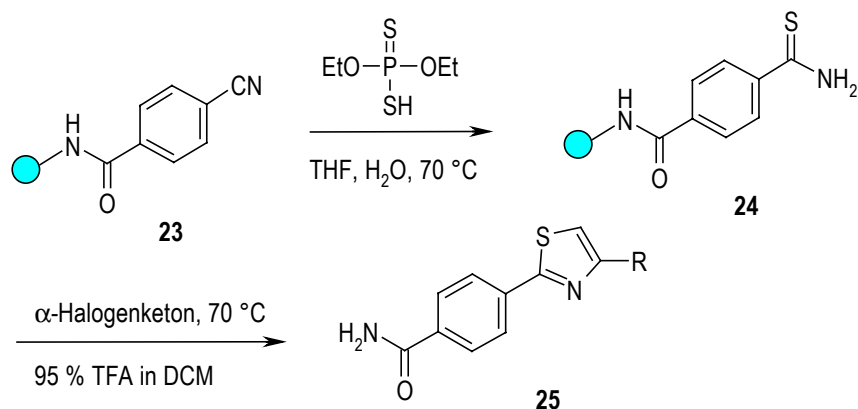


Schema 7: Festphasensynthese von Amidoxinen [Heb 99].

Eine andere Möglichkeit stellt die Reaktion von  $\alpha$ -(Benzotriazol-1-yl)-acetonitril mit Aminen in 2-Methoxyethanol bei 75 - 80 °C dar. Die gebildeten Amidine wurden nicht isoliert, sondern direkt mit harzgebundenen Chalconen umgesetzt wodurch Aminopyridine in hoher Reinheit nach Abspaltung erhalten wurden.

### 1.4.3 Addition an Schwefel-Nukleophile

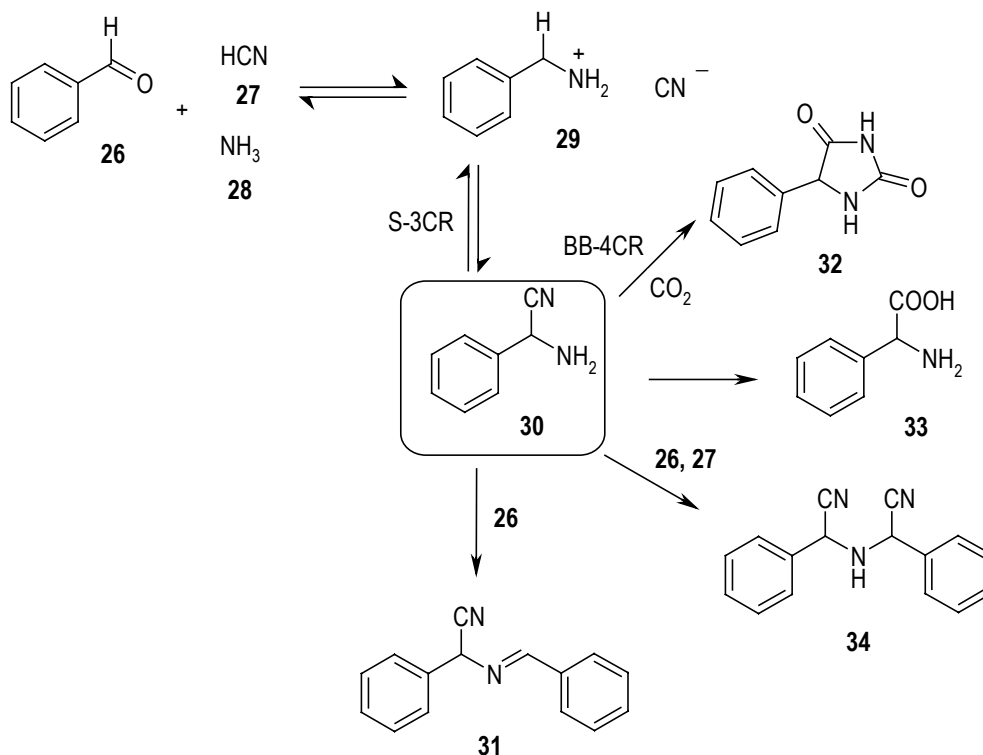
Polymergebundene Nitrile (**23**) können mit Hilfe von Dithiophosphorsäure-O,O-diethylester in THF / H<sub>2</sub>O bei 70 °C in Thioamide umgewandelt werden [Boo 97] wie Schema 8 zeigt. Disubstituierte Thiazole (**25**) wurden durch Reaktion des harzgebundenen Thioamids (**24**) mit  $\alpha$ -Halogenketonen und anschließender Abspaltung vom polymeren Träger mit 95 % TFA in DCM erhalten [Gof 99].



Schema 8: Festphasensynthese von Thiazolen [Boo 97, Gof 99].

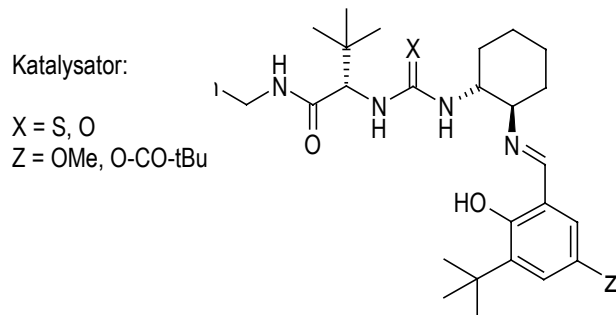
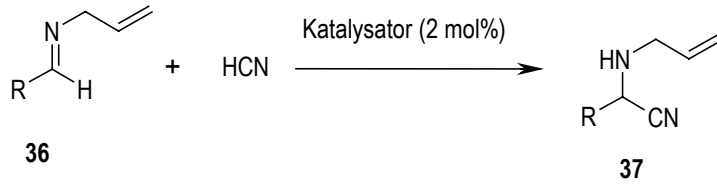
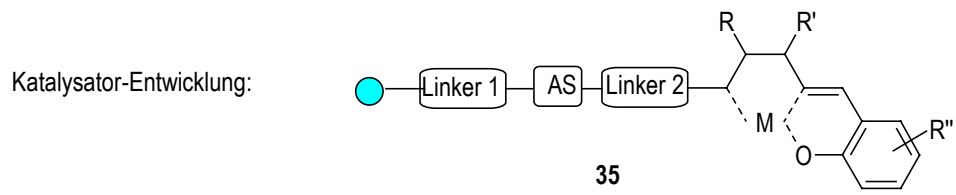
#### 1.4.4 Strecker-Drei-Komponenten Reaktion

1838 begann die präparative Chemie der Mehrkomponenten-Reaktionen durch eine Reaktion von Laurent und Gerhardt (Schema 9), bei der sie Bittermandelöl (enthält Benzaldehyd **26**) und Ammoniak (**28**) in Gegenwart von HCN (**27**) umwandelten und dabei ein kristallines Produkt (**30**) erhielten [Lau 38]. Dieses primäre Produkt kann nochmals mit Benzaldehyd (**26**) reagieren, wobei man (Benzyliden-amino)-phenylacetonitril (**31**) erhält [Hel 60].  $\alpha$ -Aminonitrile (**30**) sind auch das Produkt der Strecker-Drei-Komponenten Reaktion (S-3CR) [Str 50]. Im allgemeinen ist die Ausbeute sehr gering und oft werden giftige Nebenprodukte (**34**) gebildet. 1929 gelang Bergs und Bucherer durch Addition (BB-4CR) von  $\text{CO}_2$  zur S-3CR die Bildung von Hydantoin-Derivaten (**32**) in hoher Ausbeute [Ber 29, Buc 34]. Mittlerweile werden  $\alpha$ -Aminosäuren (**33**) vorallem durch saure Hydrolyse der Hydantoinen (**32**) gewonnen.



Schema 9: Generierung und Verwendung von  $\alpha$ -Aminonitrilen.

Die Strecker-Reaktion fand bisher nur geringe Anwendung in der kombinatorischen Chemie, wobei sie vor allem zur Entwicklung von geeigneten Katalysatoren für eine asymmetrische Synthese diente (Schema 10). Jacobson et al. verwendete einen Schiff-Base-Katalysator (**35**), wobei die eingebaute Aminosäure, die Stereochemie des Diamins und die Substituenten des Salicylaldehyd-Derivates entscheidend für die Stereochemie der Produkte waren [Sig 98, Vac 00].

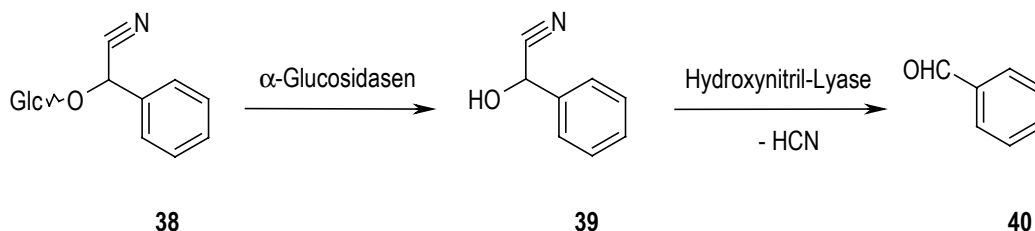


Schema 10: Asymmetrische Strecker-Synthese an Fester Phase [Sig 98, Vac 00].

## 1.5 Biologische und medizinische Bedeutung von Nitrilverbindungen

In der Natur sind cyanogene Glykoside weitverbreitet, wobei es sich um Cyanhydrinverbindungen ( $\alpha$ -Hydroxynitrile) handelt, die glykosidisch mit einem oder zwei Zuckerresten verknüpft sind [Fro 97]. Ihre Toxizität beruht auf der Freisetzung von Cyanwasserstoff (Blausäure), welches ein schweres Zellgift ist und zur kompetitiven Hemmung am  $\text{Fe}^{\text{III}}$  der Hämgruppe führen kann. Wenn auch HCN zweifellos einer der gefährlichsten Giftstoffe für den Menschen ist (1 mg / kg Körpergewicht gilt für den Menschen als letale Dosis), so werden die cyanogenen Glykoside in ihrer toxikologischen Bewertung insofern meist überschätzt, als sie vielfach nur in relativ geringen Mengen in Pflanzen vorkommen und die Freisetzung von Blausäure außerdem allmählich und keineswegs vollständig erfolgt. In den Pflanzen selbst wird die Freisetzung von Blausäure durch Enzyme katalysiert, die nach Zerstörung der zellulären Struktur mit ihrem Substrat in Kontakt treten können. Die durch  $\beta$ -Glykosidasen und Oxynitrilasen gebildete Blausäure kann dann als Fraßschutz wirksam werden [Pou 90].

Die zur Freisetzung von Blausäure führenden Reaktionen sind die Glykosidspaltung durch den Einfluß von  $\alpha$ -Glucosidasen. Der Zerfall der dabei entstehenden  $\alpha$ -Hydroxynitrile (Cyanhydrine, **39**) in eine Carbonylverbindung (**40**) und in freie Blausäure wird durch Hydroxynitril-Lyasen katalysiert, wie im Schema 11 am Beispiel von Prunasin (**38**) gezeigt ist.



Schema 11: Freisetzung von Blausäure aus Prunasin (**38**) [Pou 90].

Diese Reaktionen laufen unter geeigneten pH-Bedingungen mit und ohne Beteiligung von Enzymen ( $\beta$ -Glykosidasen, Lyasen) ab, die bereits in den pflanzlichen Organen vorhanden sind und nach Zerstörung der Gewebestruktur mit ihren Substraten in Kontakt treten. Allerdings sind bei peroraler Aufnahme von cyanogenen Glykosiden für eine HCN-Freisetzung in der Regel keine optimalen Bedingungen gegeben, weder im Magen (zu sauer) noch im Dünndarm (zu alkalisch). Hinzu kommt, dass körpereigene Entgiftungsmechanismen etwa 30-60 mg  $\text{CN}^-$  / Stunde in das wesentlich weniger toxische Rhodanid (Thiocyanat) oder  $\beta$ -glykosidische Bindung an Zuckerreste umzuwandeln vermögen. Daher werden für den menschlichen Organismus gefährliche Blausäurekonzentrationen nur bei massiver Einnahme solcher Pflanzenteile erreicht, die hohe Gehalte an cyanogenen

Verbindungen aufweisen (letale Dosis bei peroraler Aufnahme liegt zwischen 0,5 und 3,5 mg HCN / kg Körpergewicht [Con 78]).

Von den über 2000 Pflanzenarten (auf etwa 100 Familien verteilt), in denen bisher Cyanhydrinverbindungen nachgewiesen sind [Sei 76, Sei 77], beanspruchen in erster Linie einige Rosengewächse, insbesondere deren Samen toxikologische Interesse (Rosaceae). Manche, in tropischen Regionen als Nahrungsmittel geschätzte Pflanzenteile enthalten cyanogene Glykoside und sind daher erst nach entsprechender Vorbehandlung (Erhitzen, Wässern) zum Verzehr geeignet. Dies gilt z.B. für die Manokknollen von *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) oder die Samen der Mondbohne, *Phaseolus lunatus* (Fabaceae).

Bei Amfetaminil (**41**, AN 1<sup>®</sup>) handelt es sich um ein Psychoanaleptikum, das die psychische Aktivität steigert und das Gefühl der Müdigkeit unterdrückt (Abbildung 2). Es wird zur Behandlung des hyperkinetischen Syndroms im Kindesalter oder Narkolepsie (Schlammersucht) eingesetzt, leider gibt es auch die missbräuchliche Nutzung als "Aufputzmittel". Amfetaminil fällt nicht unter das Betäubungsmittel-Gesetz (BTMG) [Kra 02].

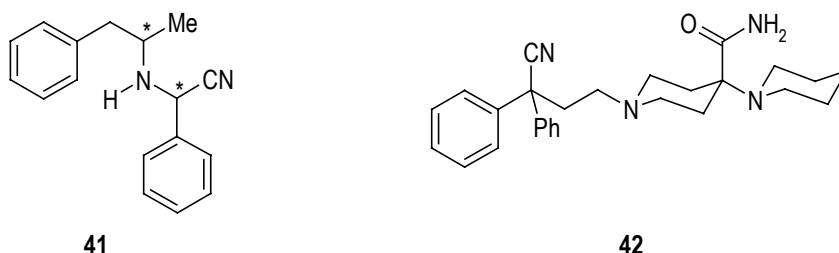


Abbildung 2: Strukturformeln von Amfetaminil (**41**) und Piritramid (**42**).

Piritramid (**42**, Dipidolor<sup>®</sup>) wird als Analgetikum bei starken und stärksten Schmerzen als Injektion angewandt (Abbildung 2). Es bindet an die Opioidrezeptoren und löst die typischen Wirkungen der Opioide aus. Chemisch ist es mit Levomethadon verwandt, bzgl. der Wirkung ist es mit Morphin zu vergleichen. Die Anwendung führt zur Sedierung, jedoch auch zur Euphorie und Wahrnehmungsstörungen, es besteht die Gefahr der Abhängigkeit [DeCa 79].

Bunitrolol (**43**, Stresson<sup>®</sup>) wurde 1976 als  $\beta$ -Blocker auf den Markt gebracht (Abbildung 3).  $\beta$ -Blocker werden als Antihypertensiva, Antianginosa und Antiarrhythmika verwendet [Tra 80].

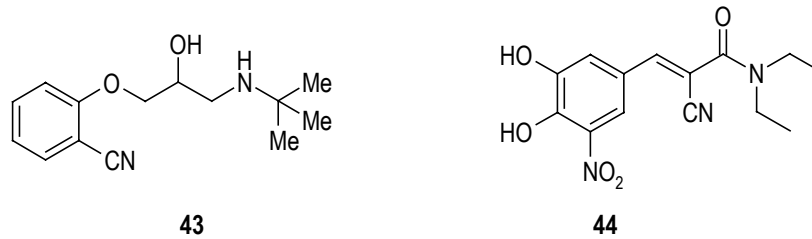


Abbildung 3: Strukturformel von Bunitrolol (**43**) und Entacapon (**44**).

Entacapon (**44**, Comtess<sup>®</sup>), ein COMT-Hemmer für die Parkinsontherapie mit ausschließlich peripherer Wirkung, das als Add-on-Therapeutikum verabreicht wird (Abbildung 3). Es erhöht die Bioverfügbarkeit des L-Dopa und erhöht die zentrale Verfügbarkeit des Dopamins, so dass L-Dopa niedriger dosiert werden kann. Bei Patienten mit Fluktuationen der Beweglichkeit zeigt es eine Zunahme der On-Phasen sowie eine qualitative Verbesserung des On-Zustandes [Naj 01].

Nilvadipin (**45**, Escor<sup>®</sup>) ist ein Calciumagonist, der bei primärem, also beim essentiellen Bluthochdruck eingesetzt wird (Abbildung 4). Es wirkt vorwiegend gefäßerweiternd, es kommt also an den Gefäßen des Herzens, aber auch an den Gefäßen des Körpers zur Wirkung [Per 93].

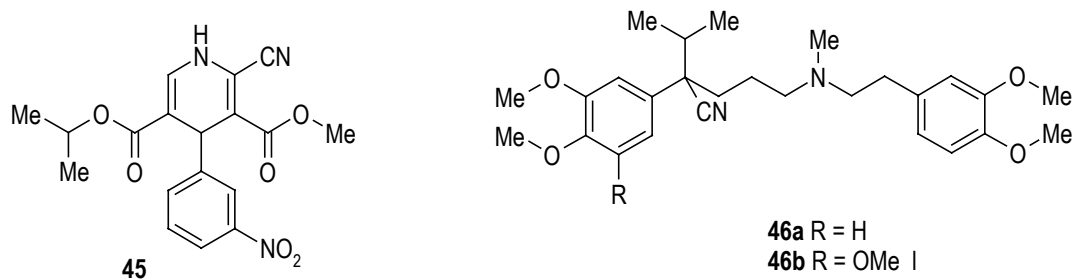


Abbildung 4: Strukturformel von Nilvadipin (**45**), Verapamil (**46a**) und Gallopamil (**46b**).

Angewendet werden Verapamil (**46a**, Isoptin<sup>®</sup>) und auch Gallopamil (**46b**, Procorum<sup>®</sup>) als Monopräparate zur Behandlung verschiedener Formen der koronaren Herzkrankheit und zur Blutdrucksenkung (Abbildung 4). Zusätzlich zur gefäßerweiternden Wirkung an den Gefäßen des Herzens und des gesamten Körpers, hat es auch eine direkte Wirkung am Herzen. Es führt zu einer Senkung der Herzfrequenz und zu einer verminderten Kontraktilität des Herzmuskels, es setzt die Fähigkeit des Herzmuskels herab sich zusammenzuziehen, wodurch in Folge der Sauerstoffbedarf des Herzens abnimmt, und der Blutdruck sinkt [McAl 83, Fle 92].



## 2 Aufgabenstellung - Kombinatorische Chemie

Im Rahmen des vorliegenden ersten Teiles dieser Arbeit sollte die Strecker-Reaktion an der festen Phase ausgearbeitet werden. Hierfür sollten verschiedene funktionalisierte Harze dargestellt werden, um daraus  $\alpha$ -Aminonitrile als polymergebundene Ausgangsverbindungen für weitere Reaktionen zu erhalten. Durch die große Vielfalt der kommerziell erhältlichen Aldehyde sollte eine allgemein verwendbare Synthesevorschrift zur Herstellung der  $\alpha$ -Aminonitrile an den verschiedenen Harzen entworfen werden.

Durch Variation der Abspaltungsbedingungen sollten unterschiedlich substituierte  $\alpha$ -Aminonitrile erhalten werden. Aus den  $\alpha$ -Aminonitrilen sollten durch Verseifung der Nitrilgruppe die entsprechenden  $\alpha$ -Aminosäuren generiert werden und Bedingungen zu deren Einbau in Peptiden evaluiert werden.

Die Festphasensynthesen sollten optimiert und anschließend jeweils die synthetische Bandbreite der Reaktion bezüglich der Verwendbarkeit verschiedener Bausteine in Bibliothekssynthesen ermittelt werden. Der Schwerpunkt sollte auf der Synthese von Einzelverbindungen liegen. Außerdem sollte an einem Beispiel eine Bibliothekssynthese nach der „Split-Mix“-Methode durchgeführt und die Bibliothek mit verschiedenen massenspektroskopischen Methoden sowie mit HPLC-MS charakterisiert werden.

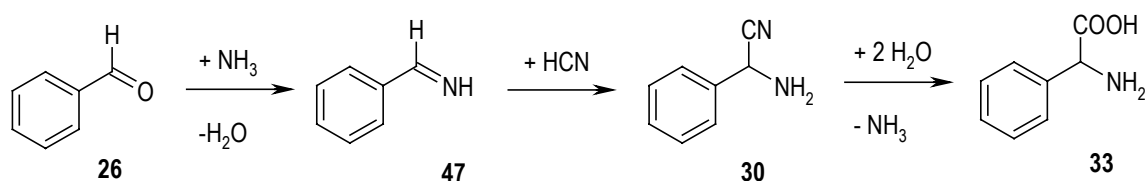
Ziel dieser Synthesen sollte es sein, das noch sehr begrenzte Spektrum an Festphasen-Reaktionen mit Nitrilen zu erweitern. Dabei sollten auch Aminosäure-Bausteine, die bisher in Lösung noch nicht synthetisiert wurden, erhalten werden, die für die kombinatorische Synthese von Peptidmimetika interessant sein könnten.

### 3 Diskussion der Ergebnisse – Kombinatorische Chemie

#### 3.1 Die Strecker-Reaktion an fester Phase

##### 3.1.1 Einleitung

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Synthesen sollten polymergebundene  $\alpha$ -Aminonitrile [End 00] durch die Strecker-Drei-Komponenten-Reaktion aus Aminen, Benzaldehyd (**26**) und Blausäure dargestellt werden (Schema 12). Die Strecker-Reaktion ist ein Spezialfall der Mannichreaktion, bei der durch die Addition von Ammoniak an den Aldehyd (**26**) zunächst das Aldimin (**47**) entsteht. Dessen Cyanhydrin-Reaktion ergibt anschließend das asymmetrische  $\alpha$ -Aminonitril (**30**), das zur  $\alpha$ -Aminosäure (**33**) hydrolysiert wird.



Schema 12: Mechanismus der 3 Komponenten Strecker-Reaktion.

Von den zahlreichen chemischen Aminosäure-Synthesemethoden haben sich nur wenige für die technische Großproduktion durchgesetzt, wie z.B. die Herstellung der Glutaminsäure. Als Variante der Strecker-Reaktion wird die Bucherer-Bergs-Reaktion eingesetzt. Die technische Bedeutung dieser chemischen Aminosäuresynthesen wird allerdings durch die Tatsache eingeschränkt, dass stets Racemate entstehen. In jüngster Zeit ist das Interesse an asymmetrischen  $\alpha$ -Aminosäuresynthesen gestiegen. Katalytische-asymmetrische Strecker-Synthesen bieten hierbei einen günstigen Zugang zu  $\alpha$ -Aminosäurederivaten [Wil 89, Wil 92, Dut 94, Are 99].

##### 3.1.2 Umsetzung der Strecker-Reaktion an der festen Phase

Zunächst musste die Wahl einer Komponente getroffen werden, die an die feste Phase gebunden werden soll. Hierfür kommen die Amino- oder die Carbonylkomponente in Betracht. Desweiteren musste eine geeignete Möglichkeit der Zugabe und die Auswahl eines Cyanid-Reagenzes getroffen werden. Als Blausäure generierende Reagenzien stehen mehrere zur Auswahl wie *t*-Butyldimethylsilylcyanid, Trimethylsilylcyanid, Diethylaluminiumcyanid, Blausäure, Kaliumcyanid, Natriumcyanid, Tetraethylammoniumcyanid, Zinkcyanid oder Acetoncyanhydrin. Die Wahl fiel auf Acetoncyanhydrin [Kob 86, Mor 90], welches als Flüssigkeit vorliegt, bei Erwärmung in Blausäure und Aceton zufällt und deshalb für die Anwendung an der festen Phase als am geeignetsten erschien.

## 3.2 Strecker-Reaktion mit Amino-Komponente am Harz

### 3.2.1 Aminoacylfunktionalisierung von Wang-Harz

Als polymerer Träger wurde das säurelabile Wang-Harz mit p-Benzyloxybenzylalkohol-Linker (**48**), [Wan 73] verwendet (Abbildung 5). Es gewährleistet zum einen die direkte Anbindung von Aminen oder ermöglicht eine vorgeschaltete Reaktion und anschließende Anknüpfung des Amins. Zum anderen ist dadurch eine spätere Funktionalisierung auch im Bereich des Linkers möglich.

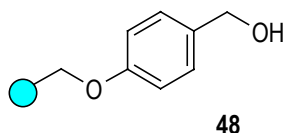
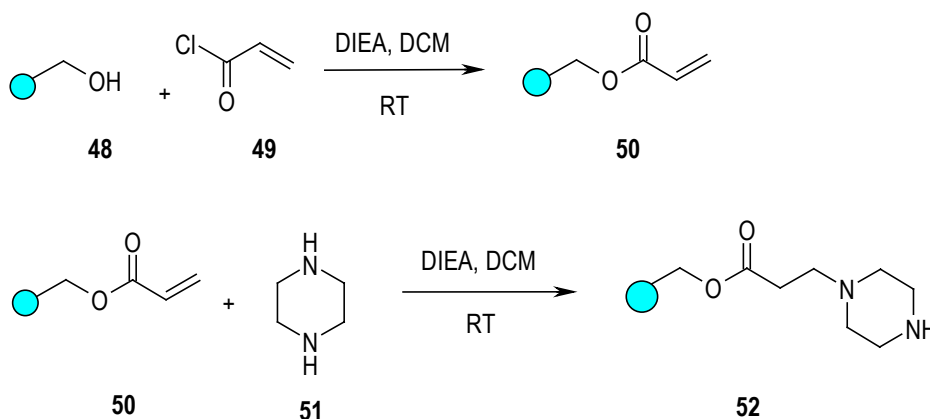


Abbildung 5: Struktur von Wang-Harz [Wan 73].

Die Hydroxyfunktion wurde zunächst funktionalisiert durch Reaktion mit Acrylsäurechlorid (**49**) und DIEA. Diese Umsetzung ist bei Raumtemperatur nach 4 h abgeschlossen, wobei das Reaktionsgemisch geschüttelt wurde (Schema 13). Das Reaktionsergebnis wurde mit FT-ATR-IR-Messung des acylierten Harzes überprüft (Anhang 11.1) und eine deutlich sichtbare Absorptionsbande der CO-Valenzschwingung des aliphatischen Esters ( $1724\text{ cm}^{-1}$ ) beobachtet. Um eine Aminofunktion an diesem acylierten Wang-Harz (**50**) zu erhalten, wurde es mit Piperazin (**51**) in einer Michael-Addition umgesetzt, wodurch ein harzgebundenes sekundäres Amin (**52**) erhalten wurde [Bro 97b]. Auch hier konnte der Reaktionsverlauf durch FT-ATR-IR-Spektroskopie gut verfolgt werden (Anhang 11.1). Die bereits deutlich sichtbare Absorptionsbande der CO-Valenzschwingung des aliphatischen Esters wird durch die weitere Funktionalisierung etwas verschoben ( $1733\text{ cm}^{-1}$ ).

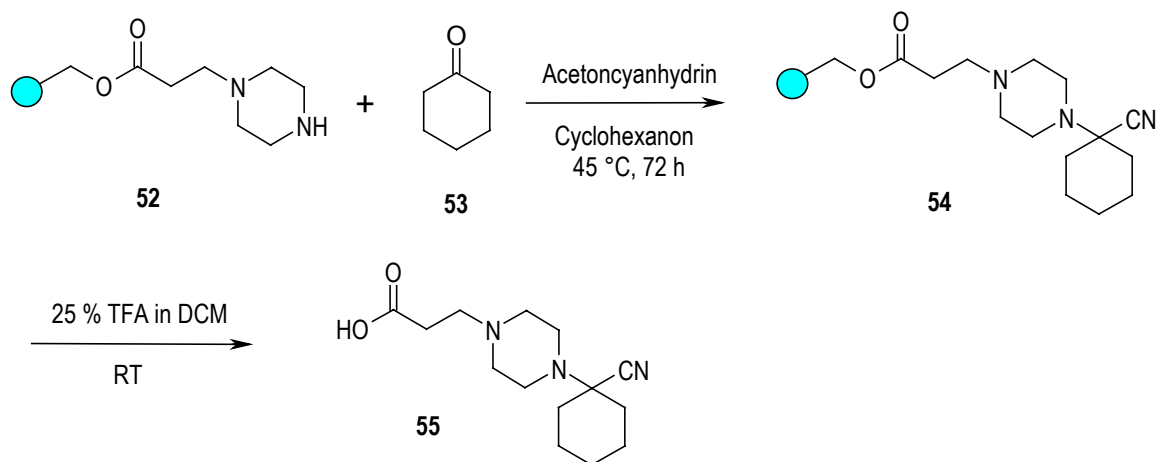


Schema 13: Funktionalisierung mit Acrylsäurechlorid (**49**) und Piperazin (**51**) [Bro 97b].

Alle im weiteren Verlauf angegebenen HPLC-Reinheiten wurden mittels UV-Detektion bei  $\lambda = 214\text{ nm}$  ermittelt.

### 3.2.2 Strecker-Reaktion an fester Phase

Im ersten Schritt der Strecker-Synthese (Cyanhydrin-Reaktion) wurde das aminoacylierte Wang-Harz (**52**) mit Cyclohexanon (**53**), Acetoncyanhydrin und wasserentziehenden Mitteln in verschiedenen Lösungsmitteln bei 45 °C für 72 h zur Reaktion gebracht, in Anlehnung an die Literaturvorschrift für die Lösungssynthese [Cod 93]. Als Lösungsmittel wurden DMA, Dioxan, DMF und DMSO, sowie die Trocknungsmittel Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Trimethylorthoformiat (Tmof) und MgSO<sub>4</sub> verwendet (Schema 14). Die eingesetzten Äquivalente der Reaktionspartner wurden ebenfalls variiert, da von der Lösungssynthese nicht ohne weiteres auf die optimalen Verhältnisse für eine Festphasensynthese geschlossen werden kann.



Schema 14: Strecker-Reaktion an der festen Phase [Cod 93].

Bei dieser Reaktion wird eine aliphatische Nitrilgruppe generiert. Normalerweise sind vor allem aromatische Nitrilbanden gut in IR-Spektren im Bereich von 2200 cm<sup>-1</sup> zu sehen. Jedoch konnte diese Eigenschaft im vorliegenden Falle nicht zur Reaktionskontrolle mittels FT-ATR-IR-Spektroskopie herangezogen werden, da keine CN-Bande zu beobachten war (Abbildung 6). Durch die Reaktion erfolgte eine geringfügige Verschiebung der Absorptionsbande der CO-Valenzschwingung (1738 cm<sup>-1</sup>) gegenüber dem Acylamino-Harz (**52**). Die Absorptionsbanden oberhalb von 3000 cm<sup>-1</sup> für C-H-Valenzschwingungen nahmen deutlich ab, wie auch die Absorptionsbande für die C=C-Valenzschwingungen (1600cm<sup>-1</sup>). Dies lässt auf eine Zunahme der aliphatischen C-Atome am Harz schließen, wie es durch die Reaktion auch erfolgt.

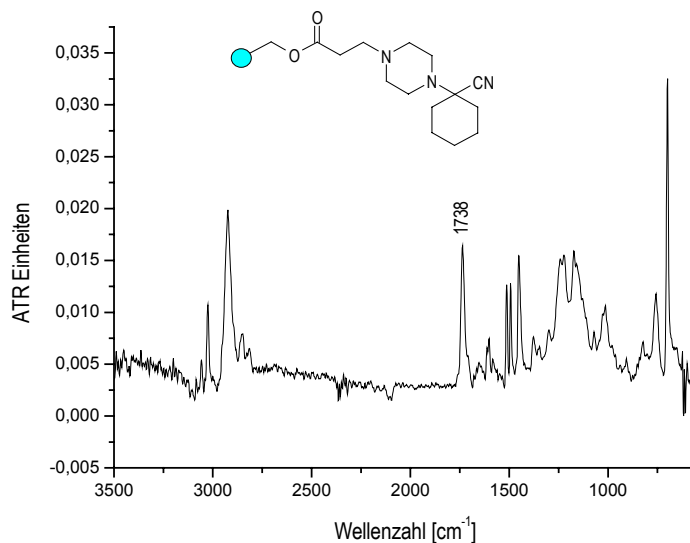


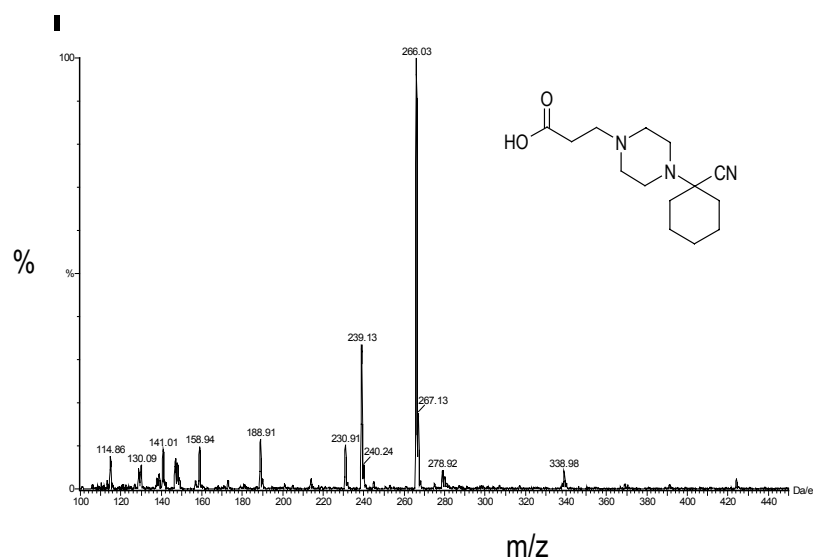
Abbildung 6: FT-ATR-IR-Spektrum von 3-[4-(1-Cyano-cyclohexyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**54**).

Beim Vergleich der erzielten Ergebnisse stellte sich DMA in Kombination mit allen eingesetzten Trocknungsmitteln als ungeeignet heraus, da entweder das Produkt 3-[4-(1-Cyano-cyclohexyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**55**) gar nicht oder nur in geringer Menge bzw. Reinheit gebildet wurde. Dies gilt auch für Dioxan und DMSO und alle Kombinationen an Trocknungsmitteln (Tabelle 3). Das beste Ergebnis hinsichtlich erzielter Reinheit und Ausbeute lieferte die Kombination Tmof (6 eq.) mit Cyclohexanon (40 eq.), Acetoncyanhydrin (10 eq.) sowie DMF als Lösungsmittel.

Tabelle 3: Zusammenstellung der verwendeten Kombinationen zur Syntheseoptimierung (in DMF).

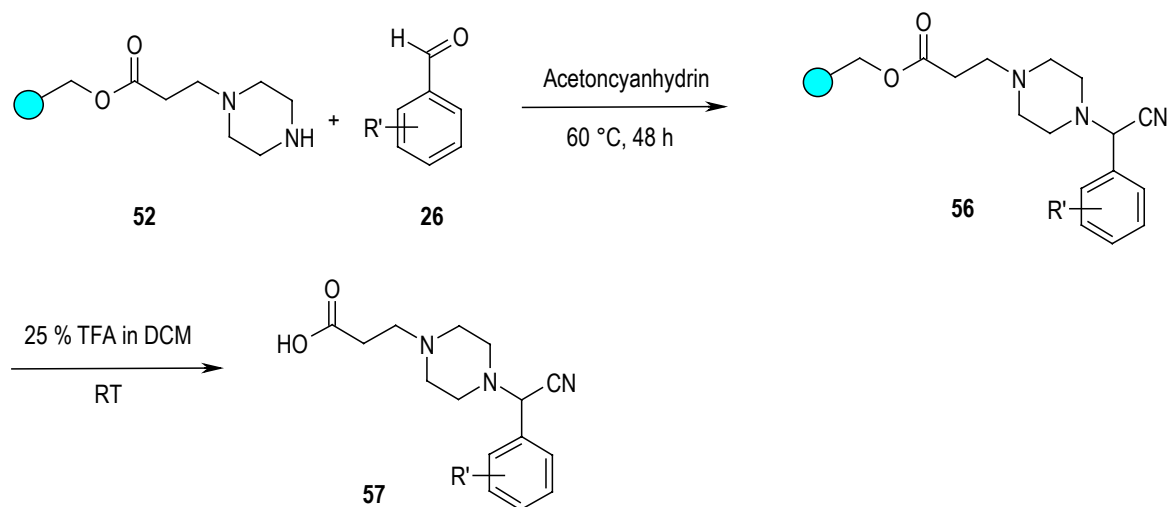
Trocknungsmittel [mg / eq.]	Cyclohexanon [ $\mu$ l / eq.]	Acetoncyanhydrin [ $\mu$ l / eq.]	MS [M+H] <sup>+</sup>
11 / 3 MgSO <sub>4</sub>	63 / 20	14 / 5	-
22 / 6 MgSO <sub>4</sub>	126 / 40	25 / 10	-
13 / 3 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	63 / 20	14 / 5	266
25 / 6 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	126 / 40	25 / 10	266
10 $\mu$ l / 3 Tmof	63 / 20	14 / 5	-
19.5 $\mu$ l / 6 Tmof	126 / 40	25 / 10	266

Wegen der geringen UV-Aktivität der erhaltenen Verbindungen, wodurch keine HPLC-Detektion des Produktes 3-[4-(1-Cyano-cyclohexyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**55**) möglich ist, wurden für weitere Reaktionen aromatische Aldehyde als Carbonylkomponente bei der Strecker-Reaktion getestet.

Abbildung 7: ES-MS-Spektrum von 3-[4-(1-Cyano-cyclohexyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**55**).

### 3.2.3 Optimierungen der Reaktionsparameter

Zur einfacheren Verfolgung der Umsetzung wurden für die weitere Optimierung der Reaktion der Einsatz substituierter Benzaldehyde (**26**) getestet. Die bereits evaluierten Reaktionsbedingungen konnten ohne Probleme übernommen werden (Abschnitt 3.2.2).

Schema 15: Strecker-Reaktion mit substituierten Benzaldehyden (**26**).

Die Reaktionsverfolgung sollte mit FT-ATR-IR-Analyse erfolgen (Abbildung 8), leider konnte bei der Verwendung von Benzaldehyd (**26**,  $R' = H$ ) kaum eine Veränderung bzw. Verschiebung der Absorptionsbanden im Vergleich mit dem Acylaminowang-Harz (**52**, Anhang 11.1) beobachtet werden; auch findet sich keinerlei CN-Bande im Bereich von  $2200\text{ cm}^{-1}$  als Hinweis auf die Produkte (**56**).

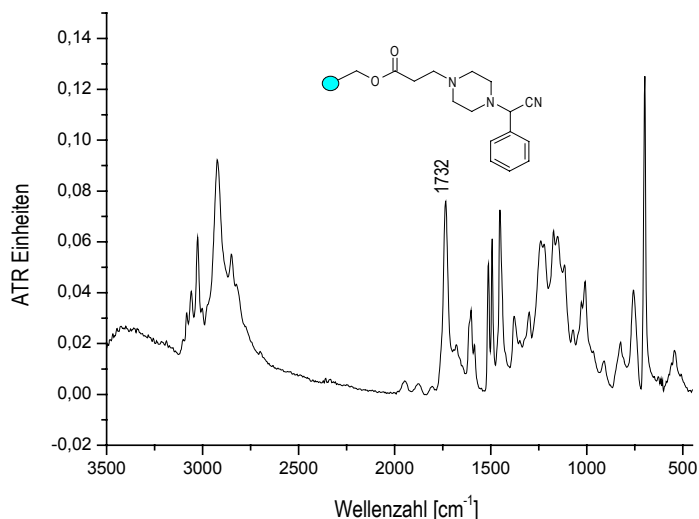


Abbildung 8: FT-ATR-IR-Spektrum von polymergebundener 3-[4-(Cyanophenylmethyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**56**).

Zunächst wurde der Einfluss der Reaktionstemperatur und der -dauer untersucht. Man wählte als Temperatur 45 °C und 60 °C. Die Reaktion wurde nach 24 h, 48 h und 72 h abgebrochen und das Produkt vom Harz mit 25 % TFA in DCM abgespalten und analytisch untersucht. Beim Vergleich der erhaltenen Ergebnisse erzielte die Kombination von 60 °C Reaktionstemperatur und 48 h Reaktionszeit (Position 4, Tabelle 4) die beste Umsetzung.

Tabelle 4: Einfluß der Reaktionstemperatur und Reaktionszeit auf die Produktbildung (**57**).

Position	Temperatur	Reaktionszeit	HPLC [RT]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	45 °C	24 h	13,35 min	89	274
2	60 °C	24 h	13,08 min	85	274
3	45 °C	48 h	14,85 min	91	274
4	60 °C	48 h	14,07 min	95	274
5	45 °C	72 h	12,53 min	94	274
6	60 °C	72 h	13,23 min	> 99	274

Der Nachweis der erfolgreichen Reaktion bei Verwendung von Benzaldehyd (**26**, R' = H) gelang nach der Abspaltung vom polymeren Träger und analytischen Charakterisierung des erhaltenen Produkts (**57**, R' = H). Das aufgenommene HPLC-Chromatogramm zeigt einen einzigen Peak bei einer Retentionszeit von 14,12 min (Abbildung 9). Erst die Aufnahme eines MS-Spektrums (Abbildung 10) brachte den Beleg für die Identität des Produkts 3-[4-(Cyano-phenyl-methyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**57**, R' = H).

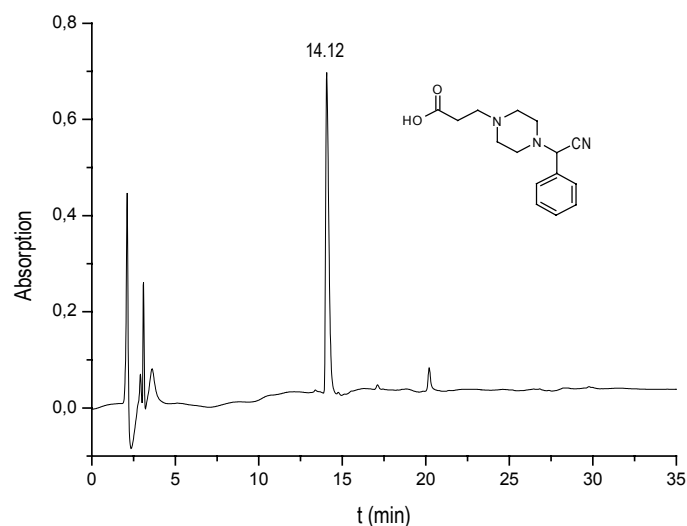


Abbildung 9: HPLC-Chromatogramm von 3-[4-(Cyanophenylmethyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**57**, R' = H).

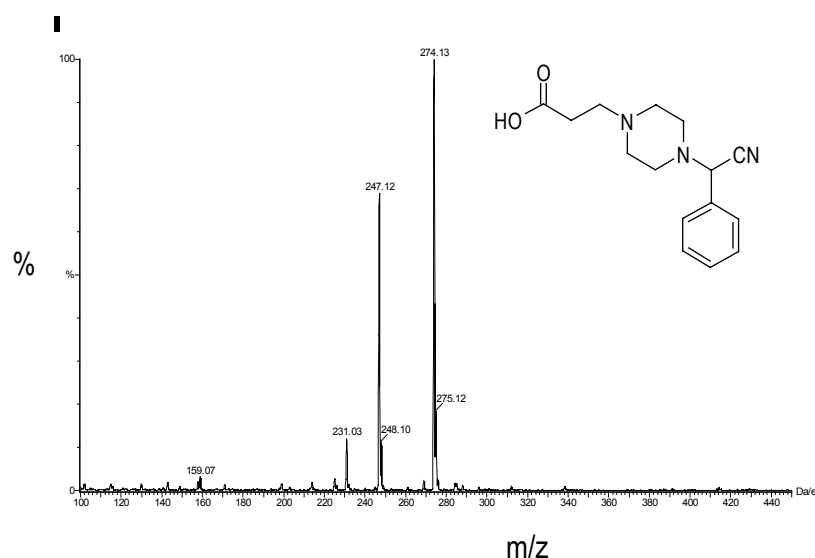


Abbildung 10: ES-MS-Spektrum von 3-[4-(Cyano-phenyl-methyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure (**57**, R' = H).

Bei der näheren Untersuchung der Reaktionsabfolge wurden die eingesetzten Äquivalente der Reaktionspartner (Aldehyd, Acetoncyanhydrin und Tmof) sowie die Reihenfolge ihrer Zugabe zum Reaktionsgemisch variiert. Zunächst wurden zwei der Reaktionspartner mit dem Aminoacylwang-Harz (**52**) gemischt, für 48 h bei 60 °C umgesetzt und nach Abspaltung vom Harz analytisch untersucht. Bei der Wiederholung dieser Versuchsdurchführung wurde der dritte Reaktionspartner nach 48 h der Reaktionsmischung zugesetzt.



Aus den erhaltenen Ergebnissen folgte, dass die Strecker-Reaktion auch ohne Zusatz von Tmf abläuft, weshalb in allen folgenden Experimenten auf den Zusatz von Tmf verzichtet wurde. Es konnte hieraus auch gezeigt werden, dass die Reaktion über die Iminbildung abläuft, und das Aldimin mit der generierten Blausäure reagiert.

### 3.2.4 Bibliothekssynthese

Im Anschluß an die Etablierung der Synthese von  $\alpha$ -Aminonitrilen (**57**) wurde die Einsatzbreite bzw. die Limitierung der Reaktion bzgl. der Eduktauswahl untersucht. Hierzu wurden eine große Anzahl substituierter Benzaldehyde (**26**) bei Konstanzhaltung der anderen Synthesebausteine unter den oben genannten Reaktionsbedingungen (Abschnitt 3.2.2 und 3.2.3) getestet. Tabelle 5 zeigt die erzielten Ergebnisse.

Tabelle 5: Variation der eingesetzten Aldehyde (**26**) in der Strecker-Reaktion.

Position	Eingesetzter Aldehyd ( <b>26</b> )	HPLC [min]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	14,12	94	274
2	3-Phenylpropionaldehyd	17,37	70	302
3	3-Hydroxybenzaldehyd	12,72	88	290
4	2-Chlorbenzaldehyd	13,88	83	276
5	3-Carboxybenzaldehyd	9,90	93	318
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	18,60	93	342
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	15,20	95	364
8	4-Hydroxybenzaldehyd	12,42	83	290
9	4-Methoxybenzaldehyd	15,57	88	304
10	4-Cyanobenzaldehyd	13,17	70	299
11	3-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	17,48	90	342
12	3-Brombenzaldehyd	16,52	90	352
13	4-Brombenzaldehyd	16,42	92	352
14	4-Chlorbenzaldehyd	16,65	96	308
15	p-Tolualdehyd	15,60	90	288
16	4-Fluorbenzaldehyd	14,38	86	292
17	3-Chlor-4-fluorbenzaldehyd	16,82	82	326
18	3,4-Difluorbenzaldehyd	16,37	86	310
19	2,4-Dichlorbenzaldehyd	18,13	75	342
20	3-[3-(Trifluormethyl)-phenoxy]benzaldehyd	21,92	93	434
21	5-Iodvanillin	16,55	89	446
22	4-Hydroxy-3-nitrobenzaldehyd	15,05	94	335
23	3-Methoxy-4-(4-nitrobenzyloxy)-benzaldehyd	19,92	95	455
24	4-Chlor-3-fluorbenzaldehyd	17,72	97	326
25	5-Brom-o-anisaldehyd	16,87	84	382

Alle erhaltenen Verbindungen der Bibliothek wurden massenspektrometrisch auf ihre Identität und mit HPLC auf ihre Reinheit untersucht. Trug der verwendete Benzaldehyd (**26**) einen Substituenten

in der 2-Position erfolgte nur eine geringe Umsetzung oder gar keine Reaktion (Position 4, Tabelle 5). Auch aliphatische Aldehyde eignen sich für diese Reaktionsbedingungen nicht, mit Ausnahme von 3-Phenylpropionaldehyd (Position 2, Tabelle 5). Jedoch war die Reinheit mit 70 % niedriger als bei den meisten verwendeten aromatischen Aldehyden.

Die MS-Spektren aller  $\alpha$ -Aminonitrile (**57**) zeigten das Molekül-Ion, zumeist als Basis-Peak. Als weiteres Charakteristikum wurden bei allen ein MS-Signal bei  $\Delta m/z = 27$  ( $[M+H-27]^+$ ) beobachtet, was dem Verlust von HCN entspricht (Abbildung 11).

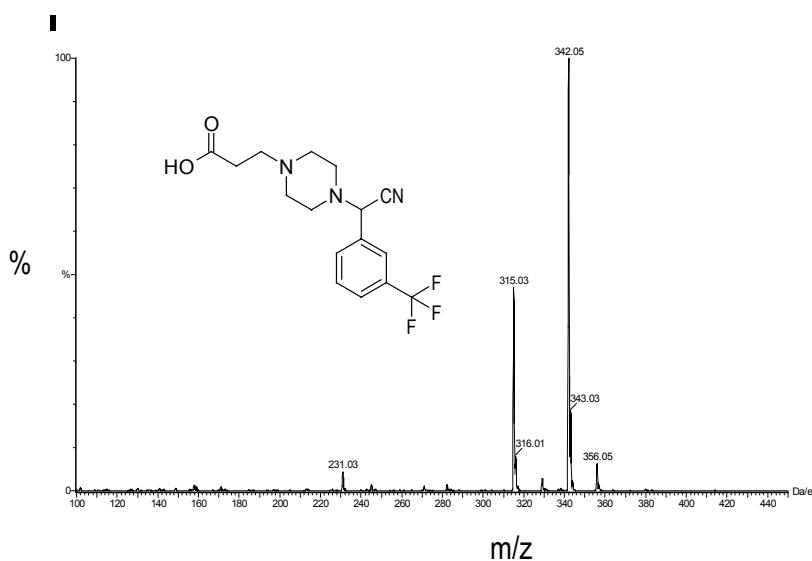


Abbildung 11: ES-MS-Spektrum von 3-{4-[Cyano-(3-trifluoromethyl-phenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure.

Im Rahmen dieser Reaktionsserie wurden auch Ketone als Carbonylkomponente getestet. Leider erhielt man nur mit 5-Brom-2-hydroxyacetophenon ein befriedigendes Ergebnis mit 85 % Ausbeute im HPLC-Chromatogramm (Retentionszeit 24,30 min). Das ES-MS-Spektrum von 3-{4-[Cyano-(2-hydroxy-5-methyl-phenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure zeigt Abbildung 12.

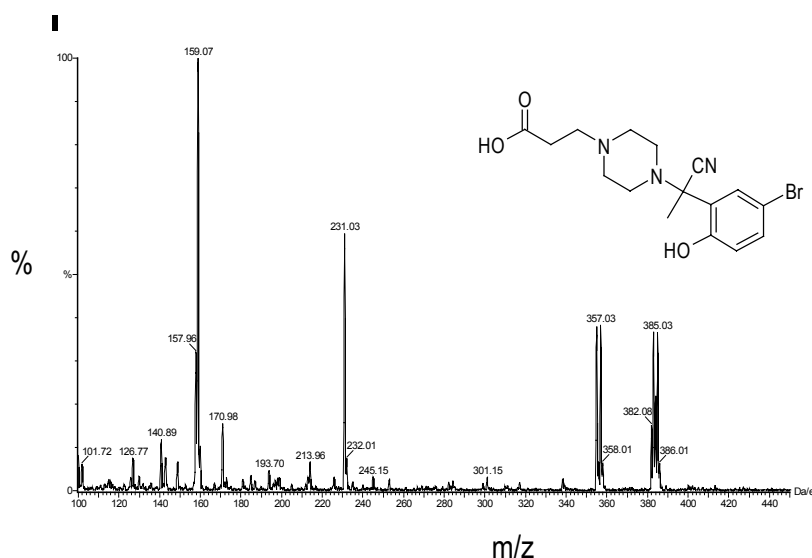


Abbildung 12: ES-MS-Spektrum von 3-{4-[Ciano-(2-hydroxy-5-methyl-phenyl)-methyl-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure.

Für eine Auswahl an  $\alpha$ -Aminonitrilen (**57**) mit elektronenziehenden wie -schiebenden Substituenten (Positionen 1-7, Tabelle 5) wurde die Ausbeute bestimmt. Diese lagen zumeist höher als 80 % mit Ausnahme von 3-[[4-(2-Carboxyethyl)-piperazin-1-yl]-cyanomethyl]-benzoesäure (**57**, R' = COOH).

Tabelle 6: Ausgewählte  $\alpha$ -Aminonitrile (**57**) mit Ausbeutebestimmung.

Position	Eingesetzter Aldehyd ( <b>26</b> )	$\alpha$ -Aminonitrile ( <b>57</b> )	Ausbeute [%]*
1	Benzaldehyd	3-[4-(Cyanophenylmethyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure	89
2	3-Phenylpropionaldehyd	3-[4-(1-Cyano-3-phenylpropyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure	97
3	3-Hydroxybenzaldehyd	3-{4-[Ciano-(3-hydroxyphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure	83
4	2-Chlorbenzaldehyd	3-{4-[(2-Chlorphenyl)-cyanomethyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure	99
5	3-Carboxybenzaldehyd	3-[[4-(2-Carboxyethyl)-piperazin-1-yl]-cyanomethyl]-benzoesäure	51
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	3-[4-[Ciano-(4-trifluoromethylphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl]-propionsäure	95
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	3-[4-[Ciano-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl]-propionsäure	82

\*bezogen auf die anfängliche Beladung.

Nach Aufreinigung durch eine präparative HPLC-Anlage wurden auch für diese sieben  $\alpha$ -Aminonitrile (**57**) NMR-Spektren aufgenommen (Abbildung 13). Die entsprechenden NMR-Daten befinden sich im Experimentellen Teil (Abschnitt 9.3.5).

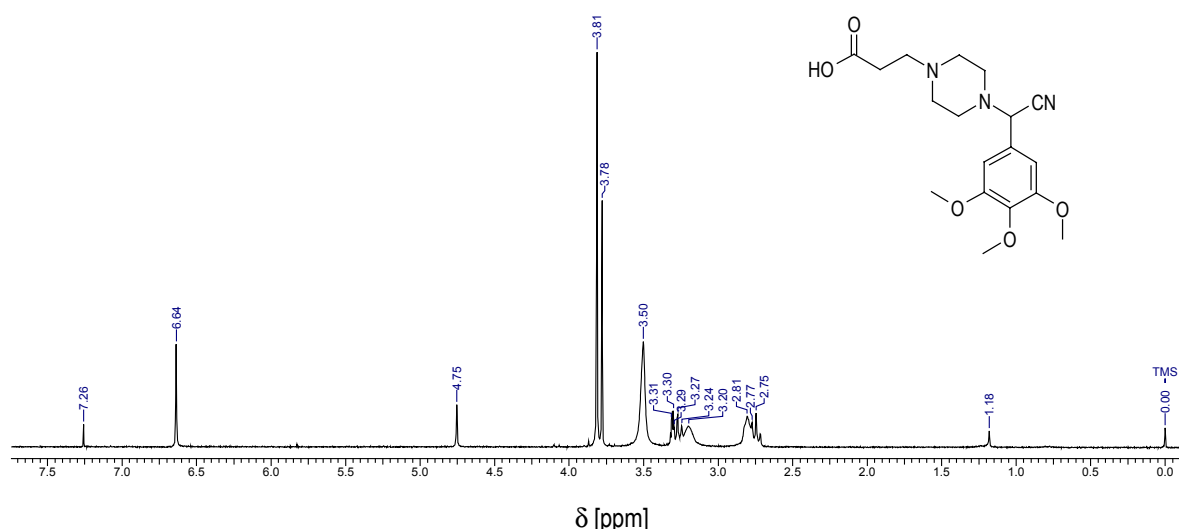
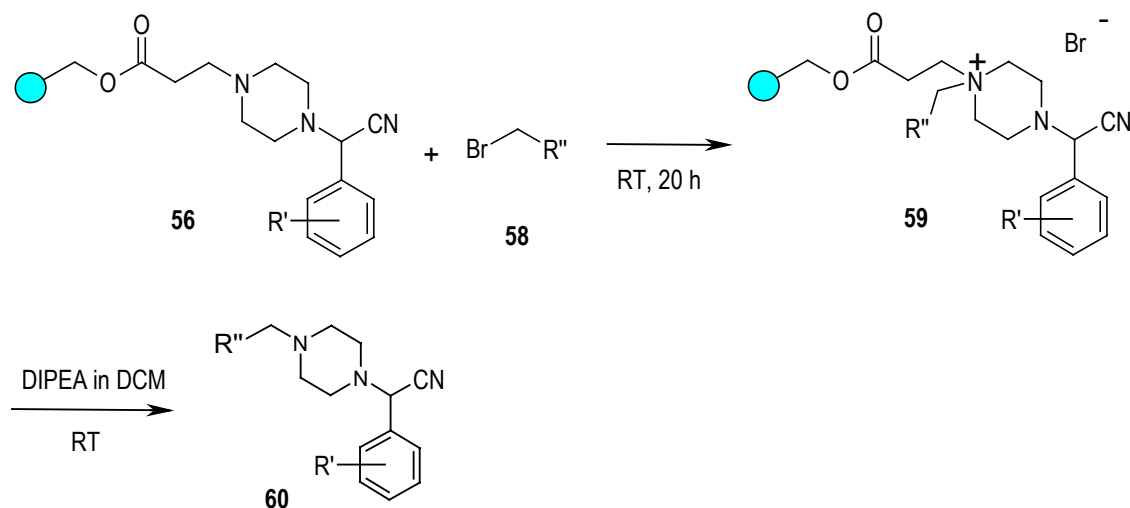


Abbildung 13:  $^1\text{H-NMR}$  von 3-{4-[Cyano-(3,4,5-trimethoxy-phenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure in  $\text{CDCl}_3-d_1$ .

### 3.2.5 Hofmann-Eliminierung mit verschiedenen Bromiden

Eine Möglichkeit der Abspaltung der erhaltenen  $\alpha$ -Aminonitrile (**57**) ist die Quarternisierung am Stickstoff mit verschiedenen Benzyl- oder Allylbromiden (**58**) und anschließende eine Hofmann-Eliminierung durch Diisopropylethylamin (DIPEA).



Schema 16: Abspaltung der polymergebundenen  $\alpha$ -Aminonitrile (**56**) durch Hofmann-Eliminierung.

Zunächst wurde Allylbromid (**58**,  $\text{R}' = \text{CH}=\text{CH}_2$ ) eingesetzt (Schema 16). Die Quarternisierung konnte mit FT-ATR-IR-Spektrometrie verfolgt werden, was an einer ausgeprägten „Schulter“ bei  $3393\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen ist (Abbildung 14).

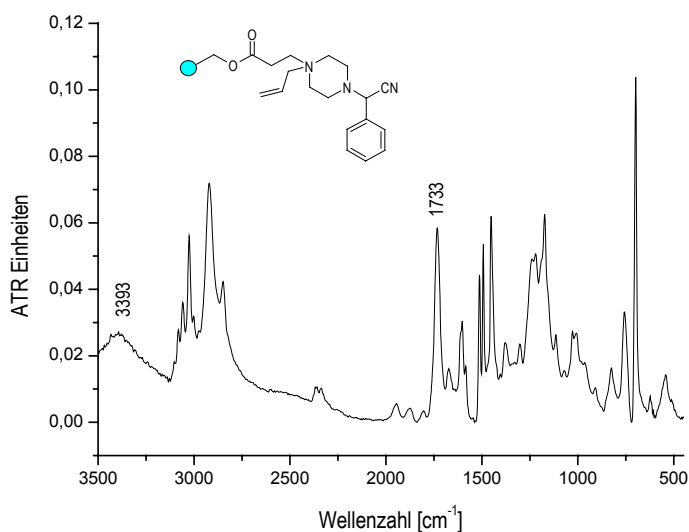


Abbildung 14: FT-ATR-IR-Spektrum von polymergebundenem (4-Allylpiperazin-1-yl)-phenylacetonitril (**60**,  $R' = \text{CH}=\text{CH}_2$ ).

Wieder wurden sieben repräsentative  $\alpha$ -Aminonitrile (**56**) mit Allylbromid (**58**,  $R' = \text{CH}=\text{CH}_2$ ) umgesetzt. Ein Übersicht der Abspaltungsprodukte zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Variation der Aldehyd der Hofmann-Eliminierungsprodukte mit Allylbromid **58**,  $R' = \text{CH}=\text{CH}_2$ .

Position	Aldehyd ( <b>26</b> )	HPLC [min]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	14,95	93	242
2	3-Phenylpropionaldehyd	20,05	90	270
3	3-Hydroxybenzaldehyd	13,50	95	258
4	2-Chlorbenzaldehyd	19,95	55	276
5	3-Carboxybenzaldehyd	14,25	75	259
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	19,25	99	310
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	18,45	86	332

Wieder zeigt sich der Einfluss von ortho-Substituenten (Position 4, Tabelle 7) durch eine deutlich geringere Reinheit. Bei den sonstigen Aldehyden sind die erzielten Rohproduktreinheiten exzellent und liegen in fast allen Fällen > 85 %. Selbst der aliphatische Aldehyd (3-Phenylpropionaldehyd, Position 2, Tabelle 7) lieferte ein hervorragendes Ergebnis.

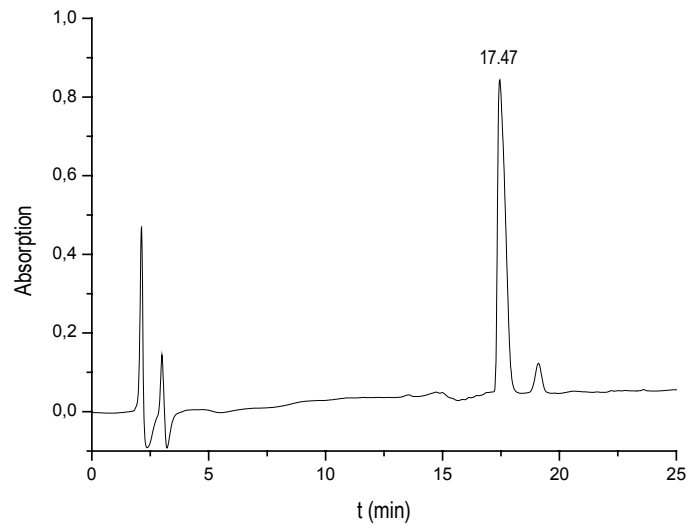


Abbildung 15: HPLC-Chromatogramm von 2-(4-Allyl-piperazin-1-yl)-4-phenylbutyronitril.

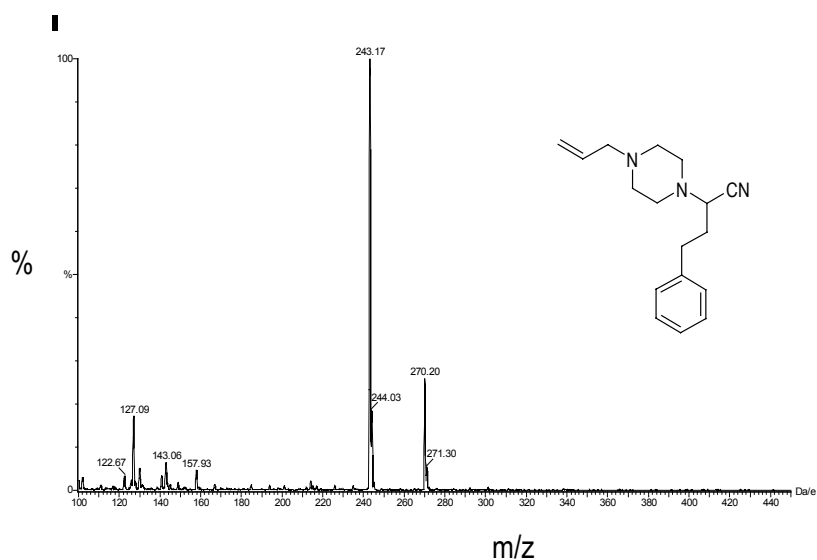


Abbildung 16: ES-MS-Spektrum von 2-(4-Allyl-piperazin-1-yl)-4-phenylbutyronitril.

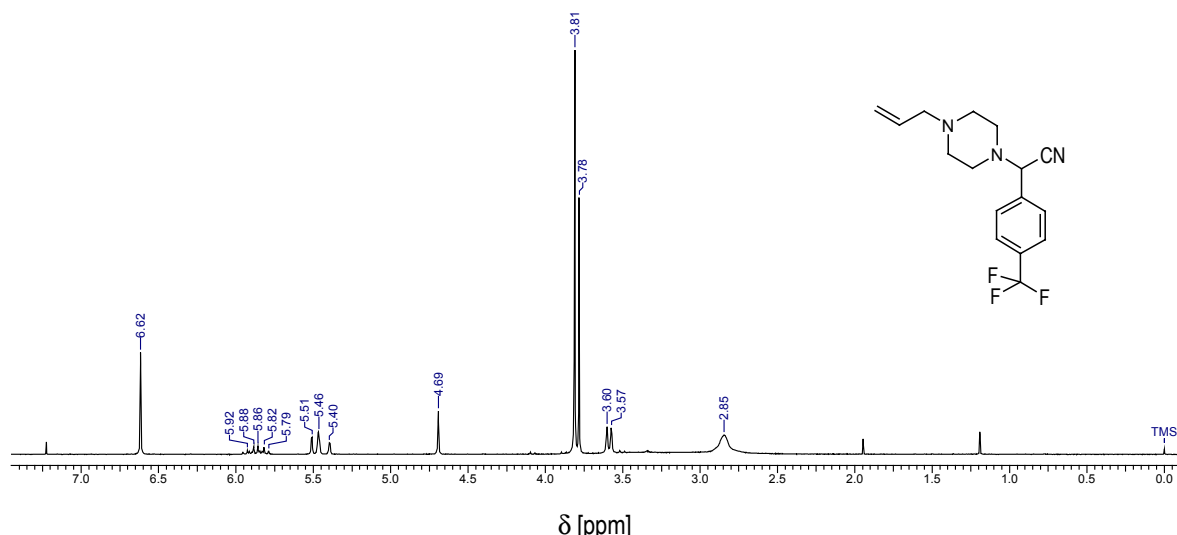
Eine Ausbeutebestimmung wurde für die durch den Einsatz substituierter Benzaldehyde mit elektronenziehenden wie -schiebenden Substituenten (Tabelle 8) erhaltenen Produkte (**60**) vorgenommen. Die Ergebnisse lagen zwischen 53 und 76 % bezogen auf die ursprüngliche Harzbelegung.

Tabelle 8: Ausgewählte allylfunktionalisierte  $\alpha$ -Aminonitrile (**60**) mit Ausbeutebestimmung.

Position	Eingesetzter Aldehyd ( <b>26</b> )	allylfunktionalisierte $\alpha$ -Aminonitrile ( <b>60</b> )	Ausbeute [%]*
1	Benzaldehyd	(4-Allylpiperazin-1-yl)-phenylacetonitril	64
2	3-Phenylpropionaldehyd	2-(4-Allylpiperazin-1-yl)-4-phenylbutyronitril	60
3	3-Hydroxybenzaldehyd	(4-Allylpiperazin-1-yl)-(3-hydroxyphenyl)-acetonitril	76
4	2-Chlorbenzaldehyd	(4-Allylpiperazin-1-yl)-(2-chlorphenyl)-acetonitril	63
5	3-Carboxybenzaldehyd	3-[(4-Allylpiperazin-1-yl)-cyanomethyl]-benzoesäure	53
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	(4-Allylpiperazin-1-yl)-(4-trifluormethy-phenyl)-acetonitril	58
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	(4-Allylpiperazin-1-yl)-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-acetonitril	53

\*bezogen auf die anfängliche Beladung.

Nach Aufreinigung dieser Auswahl von Verbindungen (Tabelle 8) durch präparative HPLC-Chromatographie wurden NMR-Spektren aufgenommen. Alle aufgenommenen Daten befinden sich im Experimentellen Teil (Abschnitt 9.3.5). Als Beispiel ist in Abbildung 17 das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (4-Allylpiperazin-1-yl)-(4-trifluormethylphenyl)-acetonitril abgebildet.

Abbildung 17:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von (4-Allylpiperazin-1-yl)-(4-trifluormethylphenyl)-acetonitril in  $\text{CDCl}_3-d_1$ .

4-Brombenzylbromid (**58**,  $\text{R} = \text{p-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-Br}$ ) wurde als weiteres Bromid zur Funktionalisierung der verschiedenen polymergebundenen  $\alpha$ -Aminonitrile (**56**) eingesetzt (Schema 16). Alle Produkte konnten erhalten werden, jedoch mit erheblich schlechteren Reinheiten (Tabelle 9). Besonders bei Verwendung der mit 3-Phenylpropionaldehyd und 3-Carboxybenzaldehyd generierten Produkten liegen die Reinheiten unter 30% (Position 2 und 5, Tabelle 9).

Tabelle 9: Variation der eingesetzten Aldehyde in der Hofmann-Eliminierung mit 4-Brombenzylbromid.

Position	Aldehyd	HPLC [min]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	26,70	63	372
2	3-Phenylpropionaldehyd	19,42	26	400
3	3-Hydroxybenzaldehyd	25,77	58	388
4	2-Chlorbenzaldehyd	28,74	67	406
5	3-Carboxybenzaldehyd	21,87	28	416
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	30,23	70	440
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	26,90	61	462

Auch die Eignung von Benzylbromid (**58**, R = -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) wurde anhand mehrerer Synthesen untersucht (Schema 16) und die Reinheiten der erhaltenen Produkte (**60**) waren geringfügig besser (Tabelle 10).

Tabelle 10: Variation der eingesetzten Aldehyde in der Hofmann-Eliminierung mit Benzylbromid.

Position	Aldehyd	HPLC [min]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	21,40	54	292
2	3-Phenylpropionaldehyd	23,98	40	320
3	3-Hydroxybenzaldehyd	14,82	67	308
4	2-Chlorbenzaldehyd	22,26	55	326
5	3-Carboxybenzaldehyd	17,98	50	336
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	23,77	43	360
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	20,17	73	382

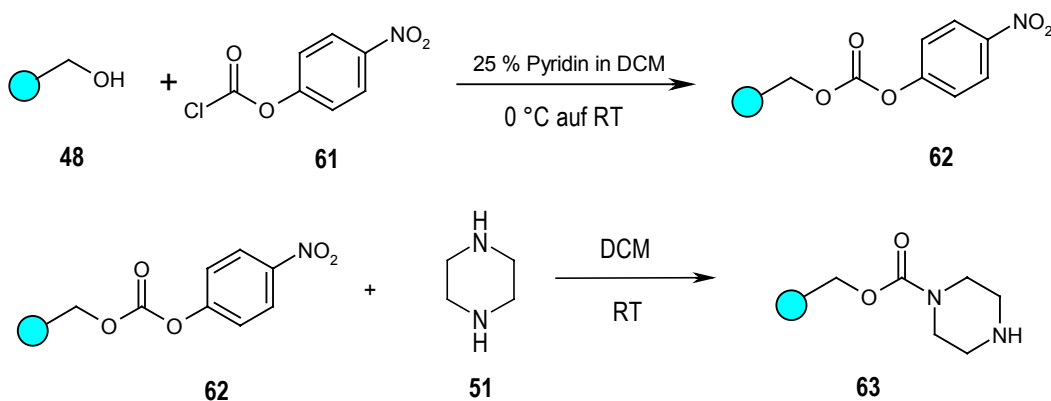
Zusammenfassend zeigen diese Experimente, dass Allylbromid sich durch seine erhöhte Reaktivität besser für eine Quarternisierung eignet als die 4-Brombenzylbromid bzw. Benzylbromid. Grund hierfür ist die Mesomeriestabilisierung des Allylkations.



### 3.3 Strecker-Reaktion mit Urethan-Linker

#### 3.3.1 Beladung von Wang-Harz mit Piperazin über einen Urethan-Linker

Um auch eine weitere Variation im Aminoteil der  $\alpha$ -Aninonitrile zu erreichen, wurde Wang-Harz (**48**) zunächst mit 4-Nitrophenylchloroformiat (**61**) aktiviert und danach Piperazin (**51**) über einen generierten Urethan-Linker angeknüpft [Kal 95]. Hierdurch können die im Verlauf der Festphasensynthese entstandenen Produkte mit einem freien Piperazin-Stickstoff erhalten werden und stehen einer weiteren Funktionalisierung am Stickstoff in Lösung zu Verfügung (Schema 17).

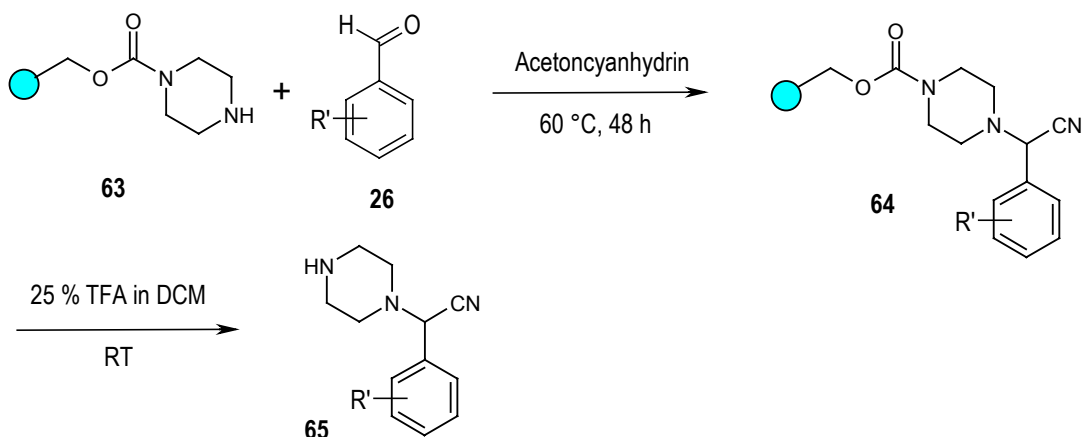


Schema 17: Beladung von Wang-Harz (**48**) mit 4-Nitrophenylchloroformiat (**61**) und Piperazin (**51**).

Die Harzbelegung konnte anhand von FT-ATR-IR-Messungen gut verfolgt werden und diente auch als Reaktionskontrolle (Abschnitt 11.1). Nach der Umsetzung des unbelegten Wang-Harzes mit 4-Nitrophenylchloroformiat (**61**) ist bei 1767  $\text{cm}^{-1}$  eine deutliche Absorptionsbande der CO-Valenzschwingung zu sehen. Nach der Zugabe von Piperazin (**51**) ist diese Absorptionsbande der CO-Valenzschwingung zu 1696  $\text{cm}^{-1}$  verschoben.

#### 3.3.2 Strecker-Reaktion über Urethan-Linker gebundene Edukte

Die bereits zuvor ausgetesteten Bedingungen für die Strecker-Reaktion (Abschnitt 3.2.2 und 3.2.3) wurden ohne weitere Evaluierungsexperimente auf die Verwendung von Piperazin-beladenes Wang-Harz mit Urethan-Linker (**63**) übertragen. Wieder wurden verschiedene aliphatische und aromatische Aldehyde (**26**) zur Herstellung einer entsprechenden Substanzbibliothek (**65**) eingesetzt (Schema 18). Auf die Verwendung von Ketonen als Carbonylkomponente wurde verzichtet.



Schema 18: Strecker-Reaktion mit Piperazin-beladenem Wang-Harz mit Urethan-Linker.

Die Reaktion liess sich nur eingeschränkt mit FT-ATR-IR-Spektroskopie verfolgen, da die Entstehung einer charakteristischen CN-Absorptionsbande nicht beobachtet werden konnte (Abbildung 18).

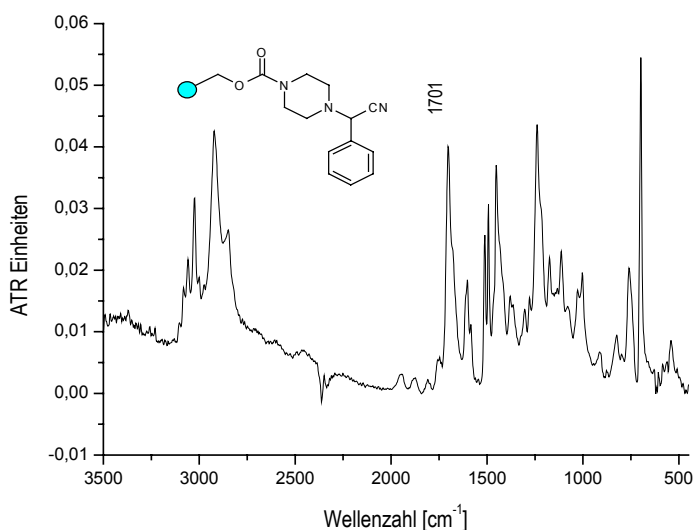


Abbildung 18: FT-ATR-IR-Spektrum von polymergebundenem Phenylpiperazin-1-yl-acetonitril.

Nach der Abspaltung der Produkte (**65**) vom polymeren Träger wurden die einzelnen Verbindungen der Bibliothek analytisch untersucht. Beim Einsatz aromatischer Aldehyde wurden exzellente Reinheiten erreicht, wie die Daten in Tabelle 11 zeigen. Abbildung 19 zeigt das HPLC-Chromatogramm von Phenylpiperazin-1-ylacetonitril was mit einer Reinheit von 93 % erhalten werden konnte. Im MS-Spektrum dieser Verbindung ist wieder eine Abspaltung von HCN aus dem Molekül-Ion zu beobachten (Abbildung 20).

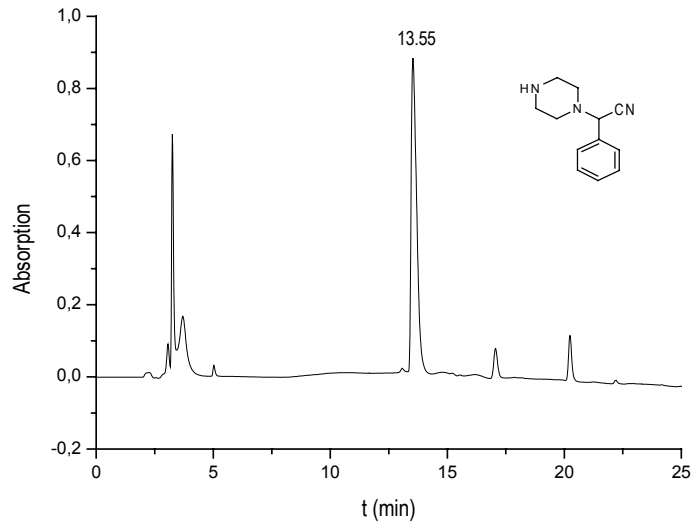


Abbildung 19: HPLC-Chromatogramm von Phenyl-piperazin-1-yl-acetonitril.

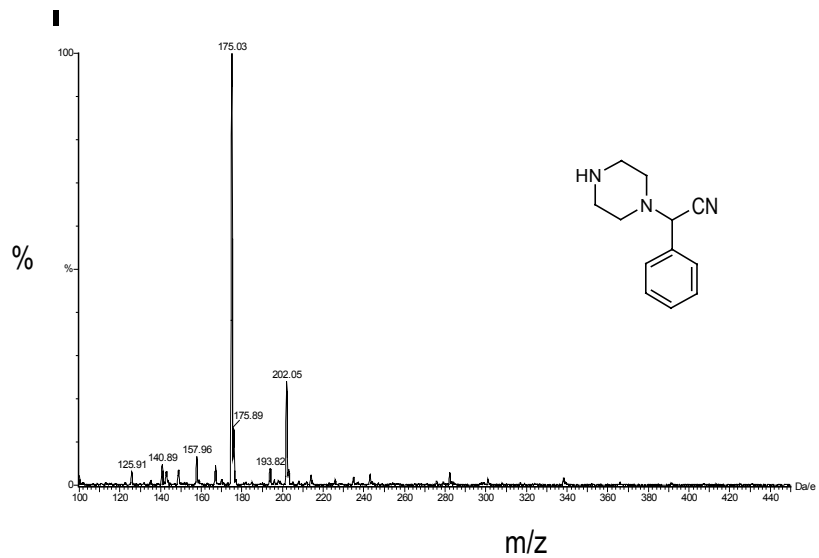


Abbildung 20: ES-MS-Spektrum von Phenyl-piperazin-1-yl-acetonitril.

Bei der Verwendung aliphatischer Aldehyde (Position 2, Tabelle 11) traten im HPLC-Chromatogramm mehrere Peaks auf.

Tabelle 11: Variation der eingesetzten Aldehyde in der Strecker-Reaktion.

Position	Aldehyd	HPLC [min]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	13,55	93	202
2	3-Phenylpropionaldehyd	16,20	28	230
3	3-Hydroxybenzaldehyd	11, 32	92	218
4	2-Chlorbenzaldehyd	22,37	94	236
5	3-Carboxybenzaldehyd	12,33	86	246
6	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	18,78	91	270
7	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	14,43	95	292
8	4-Hydroxybenzaldehyd	9,37	77	218
9	4-Methoxybenzaldehyd	15, 13	77	232
10	4-Chlorbenzaldehyd	17,43	82	236
11	3-Carboxybenzaldehyd	12,33	75	246
12	p-Tolualdehyd	16,82	83	216
13	2,5-Dimethylbenzaldehyd	17,55	78	230
14	5-Brom-o-anisaldehyd	17,85	67	312
15	5-Iodvanilin	15,57	73	374
16	3-Hydroxy-4-nitrobenzaldehyd	8,05	90	252
17	3-Methoxy-4-(4-nitrobenzyloxy)-benzaldehyd	19,88	91	383

Für einige Verbindungen dieser Bibliothek (**65**) wurde die Ausbeute bestimmt (Tabelle 12). In den meisten Fällen lag sie zwischen 40 - 60 %. Bei Verwendung von 4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd bzw. 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd war die Ausbeute mit 31 bzw. 26 % unbefriedigend (Position 5 bzw. 6, Tabelle 12) jedoch war die Reinheit mit 91 bzw. 95 % sehr hoch.

Tabelle 12: Ausgewählte  $\alpha$ -Aminonitrile (**65**) mit Ausbeutebestimmung.

Position	Eingesetzter Aldehyd ( <b>26</b> )	allylfunktionalisierte $\alpha$ -Aminonitrile ( <b>60</b> )	Ausbeute [%]*
1	Benzaldehyd	Phenylpiperazin-1-yl-acetonitril	58
2	3-Hydroxybenzaldehyd	(3-Hydroxyphenyl)-piperazin-1-yl-acetonitril	40
3	2-Chlorbenzaldehyd	(2-Chlorphenyl)-piperazin-1-yl-acetonitril	55
4	3-Carboxybenzaldehyd	3-(Cyanopiperazin-1-ylmethyl)-benzoesäure	59
5	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	Piperazin-1-yl-(4-trifluoromethyl-phenyl)-acetonitril	31
6	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	Piperazin-1-yl-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-acetonitril	26

\*bezogen auf die anfängliche Beladung.

Nach Aufreinigung über eine präparative HPLC-Anlage wurden von diesen  $\alpha$ -Aminonitrilen (**65**) zur vollständigen Charakterisierung NMR-Spektren aufgenommen (Abbildung 21). Die entsprechenden Daten befinden sich im Experimentellen Teil (Abschnitt 9.3.5).

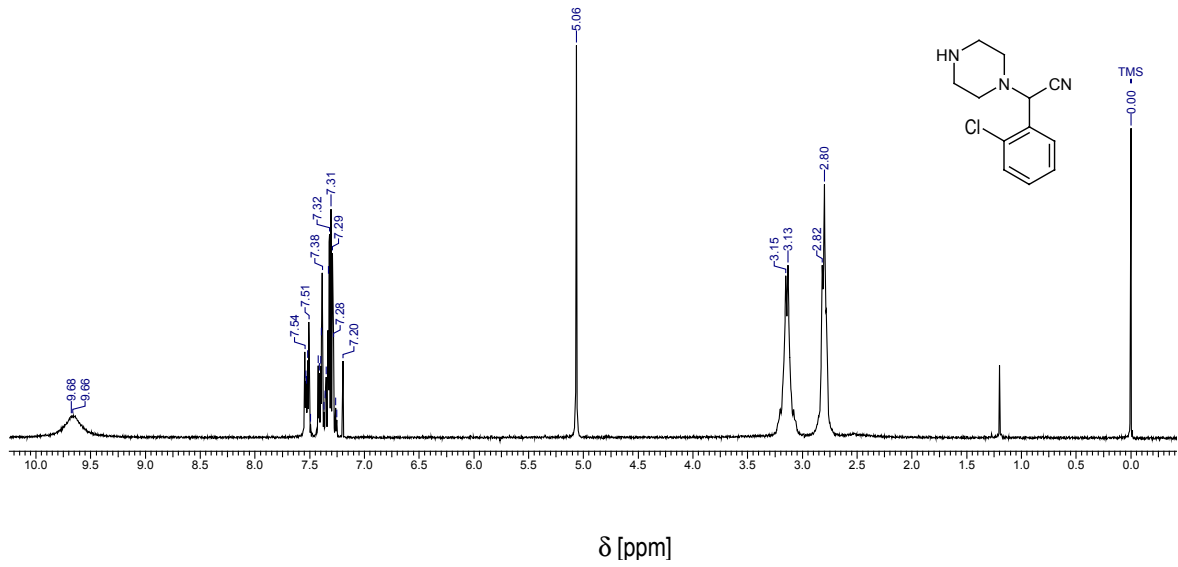


Abbildung 21:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von (2-Chlorphenyl)-piperazin-1-ylacetonitril in  $\text{CDCl}_3-d_1$ .

### 3.4 Synthese und Analytik einer gemischten Bibliothek

Nach der Etablierung der  $\alpha$ -Aminonitril-Synthese an fester Phase und Evaluierung der Ergebnisse erster Versuche wurde nach der „Split-Mix-Methode“ eine kleine aus 12 Verbindungen bestehende Kollektion synthetisiert und analysiert. Hierfür wurden je 250 mg Acylaminowang-Harz (**52**) und mit Piperazin beladenes Wang-Harz mit Urethan-Linker (**63**) miteinander gemischt und eine Mischung von sechs substituierten Benzaldehyden (**26**, insgesamt 1,2 eq.) zugegeben und unter den optimierten Reaktionsbedingungen umgesetzt (Abschnitt 3.2.2 und 3.2.3). Danach wurden die Verbindungen vom Träger mit 25 % TFA in DCM abgespalten.

Substituierte Benzaldehyde (**26**), die für die Bibliothekssynthese verwendet wurden:

- Benzaldehyd (**a**),
- 3-Hydroxybenzaldehyd (**b**),
- 2-Chlorbenzaldehyd (**c**),
- 3-Carboxybenzaldehyd (**d**),
- 4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd (**e**),
- 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd (**f**).

Die kleine Kollektion wurde anschließend mit HPLC-ES-MS-Kopplung untersucht. Die Verbindungen wurden über eine analytische HPLC-Säule getrennt und on-line UV-spektroskopisch ( $\lambda = 214 \text{ nm}$ ) und massenspektrometrisch untersucht.

Man erhält zwei Chromatogramme. Das Total-Ionen-Chromatogramm (TIC), gibt die Zahl der im Analysator des MS-Spektrometers eintreffenden Ionen in Abhängigkeit von der Zeit an. Zusätzlich erhält man noch das Chromatogramm der UV-Detektion (Abbildung 22). Man kann deutlich die unterschiedlichen Peak-Intensitätsverhältnisse der Verbindungen in den beiden Chromatogrammen erkennen, da im TIC die Ionisierungswahrscheinlichkeit einer Verbindung, bei der UV-Detektion hingegen der Extinktionskoeffizient entscheidend für die Intensität ist.

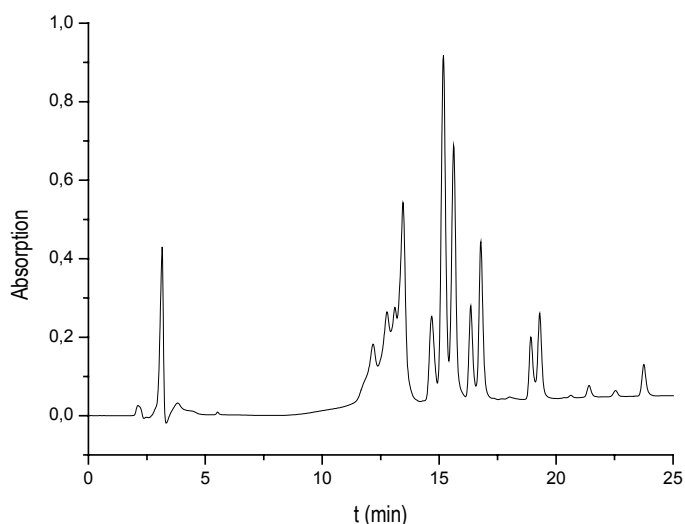


Abbildung 22: UV-Spur ( $\lambda = 214 \text{ nm}$ ) der Kollektion aus 12 substituierten  $\alpha$ -Aminonitrilen.

Die HPLC-ES-MS-Kopplungsergebnisse zu den in der Bibliothek enthaltenen Verbindungen sind in Tabelle 13 dargestellt. Dabei sind die Retentionszeiten, der Molekül-Ionen sowie der Benzaldehyde aus dem die jeweilige Verbindung hervorgeht, gezeigt.

Tabelle 13: Zuordnung der Peaks der LC-MS-Kopplung in Abbildung 22.

Position	Benzaldehyd	Linker	HPLC [min]	[M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	Acylamino <b>(52)</b>	15,68	274
2	3-Hydroxybenzaldehyd		13,46	290
3	2-Chlorbenzaldehyd		15,23	308
4	3-Carboxybenzaldehyd		12,13	318
5	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd		18,92	342
6	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd		16,88	364
7	Benzaldehyd	Urethan <b>(63)</b>	14,65	202
8	3-Hydroxybenzaldehyd		12,72	218
9	2-Chlorbenzaldehyd		23,73	236
10	3-Carboxybenzaldehyd		13,15	246
11	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd		19,28	270
12	3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd		16,28	262

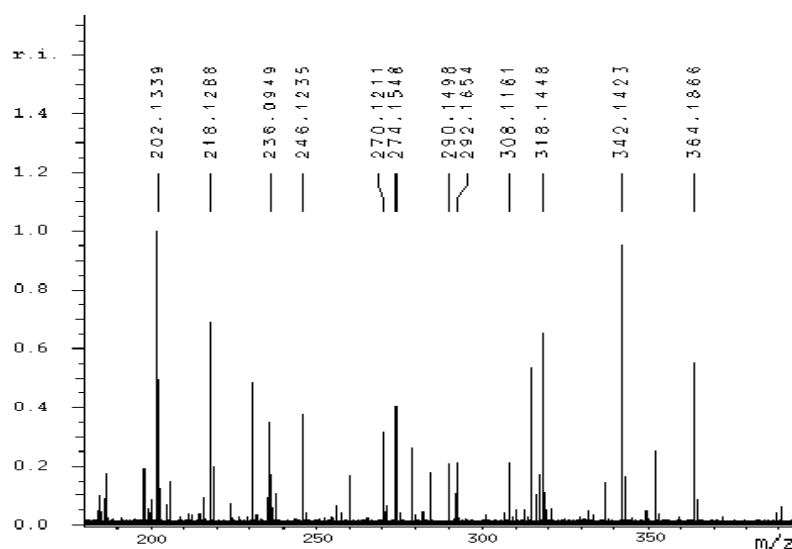
Zusätzlich wurde eine Charakterisierung mittels ES-FT-ICR-Massenspektrometrie durchgeführt. Diese Methode bietet den Vorteil einer sehr hohen Auflösung und Massengenauigkeit. Mit dieser Analysenmethode lassen sich monoisotopische Molekülionenpeaks bestimmen, aus denen sich Summenformeln errechnen lassen. Daher entsprechen die Ergebnisse dieser Methode denen einer Elementaranalyse. In Abbildung 23 ist das ES-FT-ICR-MS-Spektrum der Bibliothek gezeigt.

Ebenfalls gezeigt sind zwei Ausschnitte der Größe  $\Delta (m/z) = 1.4$  aus diesem Spektrum, der die sehr hohe Auflösung dieses Verfahrens verdeutlichen (Abbildung 24 und 25). Die Zuordnung der detektierten Massen zu den in der Bibliothek enthaltenen Verbindungen ist in Tabelle 14 zusammengefasst; alle erwarteten Produkte wurden gefunden.

Tabelle 14: Zuordnung der Peaks des ES-FT-ICR-MS-Spektrums aus Abbildung 23.

Position	Linker - Benzaldehyd	Masse berechnet [M+H] <sup>+</sup>	Masse gefunden [M+H] <sup>+</sup>	$\Delta$ Masse <sup>(a,b)</sup>	$\delta$ [ppm] <sup>(c)</sup>	Treffer	Vorschlag für die Summenformel
1	<b>52-a</b>	274.155003	274.156153	0.000115	0.42	2	<b>C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub></b> , H <sub>16</sub> N <sub>15</sub> O <sub>3</sub>
2	<b>52-b</b>	290.149918	290.149942	0.000024	0.08	3	<b>C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub></b> , H <sub>16</sub> N <sub>15</sub> O <sub>3</sub> , C <sub>1</sub> H <sub>12</sub> N <sub>19</sub>
3	<b>52-c</b>	308.116031	308.116151	0.000120	0.39	2	<b>C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Cl</b> , H <sub>15</sub> N <sub>15</sub> O <sub>3</sub> Cl
4	<b>52-d</b>	318.144833	318.144930	0.000097	0.30	2	<b>C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub></b> , C <sub>1</sub> H <sub>16</sub> N <sub>15</sub> O <sub>15</sub>
5	<b>52-e</b>	342.142388	342.142273	0.000115	0.34	2	<b>C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>F<sub>3</sub></b> , C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>9</sub> O <sub>2</sub>
6	<b>52-f</b>	364.186697	364.186456	0.000241	0.66	3	<b>C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub></b> , H <sub>14</sub> N <sub>25</sub> , C <sub>3</sub> H <sub>22</sub> N <sub>15</sub> O <sub>6</sub>
7	<b>63-a</b>	202.133874	202.133923	0.000049	0.24	1	<b>C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub></b>
8	<b>63-b</b>	218.128789	218.128863	0.000074	0.34	1	<b>C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O</b>
9	<b>63-c</b>	236.094902	236.094886	0.000016	0.07	1	<b>C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>Cl</b>
10	<b>63-d</b>	246.123703	246.123653	0.000050	0.20	1	<b>C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub></b>
11	<b>63-e</b>	270.121259	270.121191	0.000068	0.25	2	<b>C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>F<sub>3</sub></b> , C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>9</sub>
12	<b>63-f</b>	292.165568	292.165503	0.000065	0.22	2	<b>C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub></b> , C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>9</sub>

(a) mean value: 0.000135; (b) standard deviation: 0.0002232; (c) mean value: 0.47

Abbildung 23: ES-FT-ICR-MS-Spektrum der gesamten Kollektion von 12 substituierten  $\alpha$ -Aminonitrilen.



Bei allen Verbindungen sind auch die  $^{13}\text{C}$ -Isotopenpeaks eindeutig detektiert, als Beispiele sind Cyano-(4-trifluormethylphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl)-propionsäure in Abbildung 24 und Phenylpiperazin-1-yl-acetonitril in Abbildung 25 abgebildet.

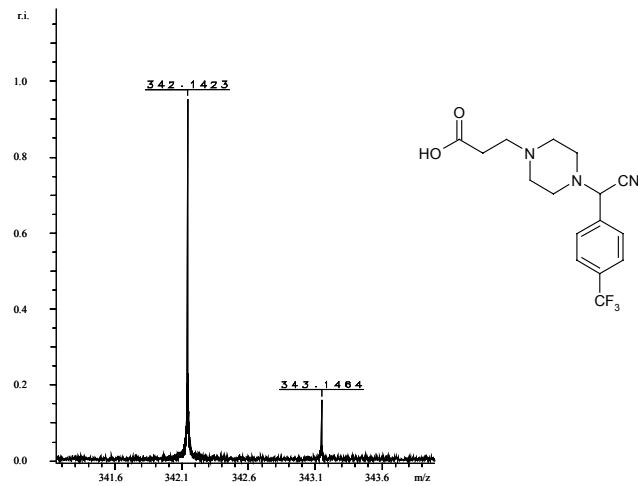


Abbildung 24: ES-FT-ICR-MS-Spektrum von 3-{4-[Cyano-(4-trifluormethylphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure.

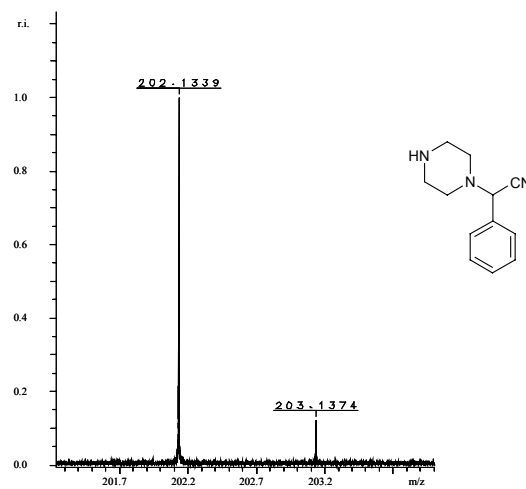
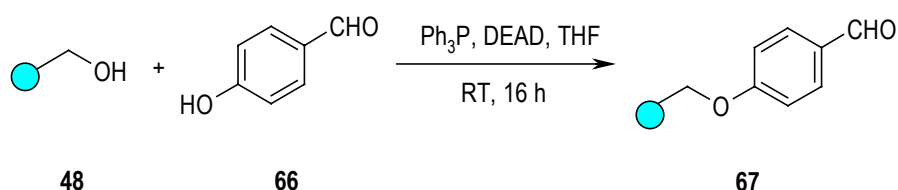


Abbildung 25: ES-FT-ICR-MS-Spektrum von Phenylpiperazin-1-yl-acetonitril.

### 3.5 Strecker-Reaktion mit der Carbonylkomponente am Harz

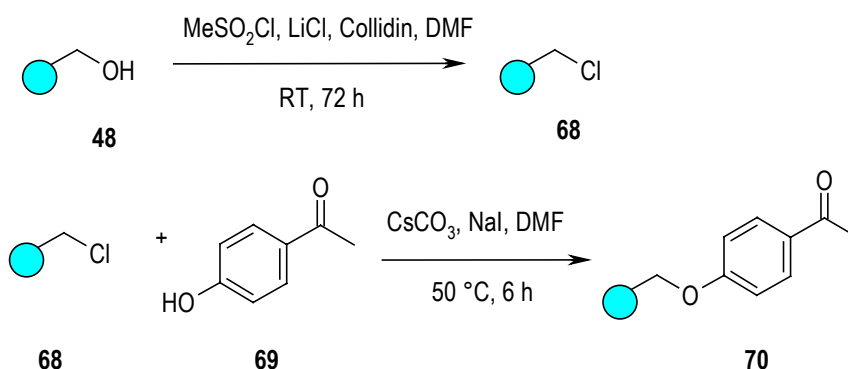
#### 3.5.1 Carbonylkomponente am Harz

Als weitere Variante wurde der Einsatz einer harzgebundenen Carbonylkomponenten in der Strecker-Reaktion untersucht. Als Carbonylkomponente sollten Aldehyde und auch Ketone eingesetzt werden (Schema 19). Hierfür wurde zunächst 4-Hydroxybenzaldehyd (**66**) durch eine Mitsunobu-Reaktion unter Verwendung von Triphenylphosphin und Diethylazodicarboxylat (DEAD) an Wang-Harz (**48**) gekuppelt [Ham 96].



Schema 19: Mitsunobu-Reaktion zur Anknüpfung von 4-Hydroxybenzaldehyd (**66**) an Wang-Harz (**48**) [Ham 96].

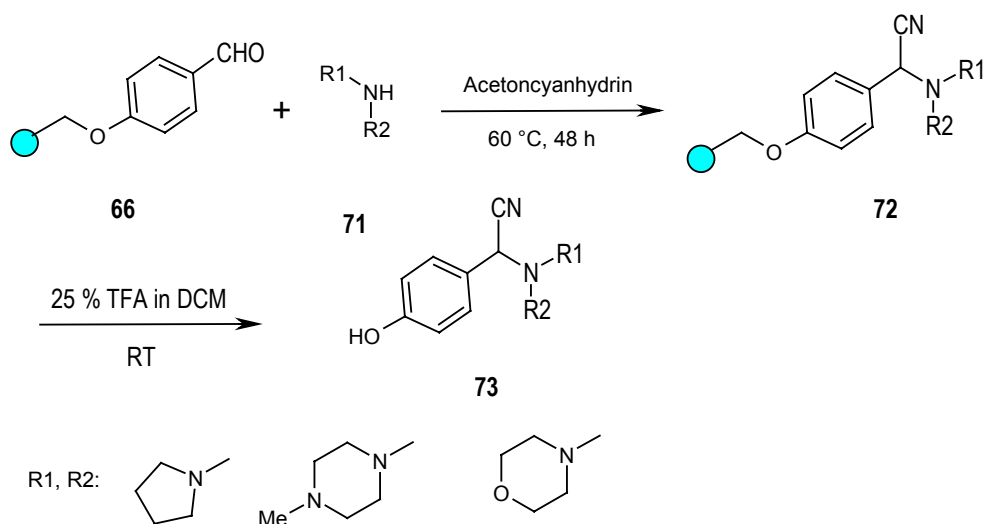
Für weitere Versuche sollten Ketone als polymergebundene Edukte dienen. Zunächst wurde aus kommerziellem Wang-Harz mit p-Benzyloxybenzalkohol-Linker (**48**) das entsprechende chlorfunktionalisierte Wang-Harz (**68**) hergestellt (Schema 20), durch Reaktion mit Methylsulfonsäurechlorid und Lithiumchlorid, wobei Collidin als Base diente [Col 97]. Zur eigentlichen Beladung wurde dieses aktivierte Harz (**68**) mit 4-Hydroxyacetophenon (**69**) in Gegenwart von Cäsiumchlorid und Natriumiodid in DMF bei Raumtemperatur umgesetzt [Chi 99], wodurch ein harzgebundenes Acetophenon (**70**) erhalten wurde.



Schema 20: Aktivierung von Wang-Harz mit Methylsulfonsäurechlorid und Belegung mit 4-Hydroxybenzophenon (**69**).

### 3.5.2 Strecker-Reaktion am Harz

Die beiden vorbelegten carbonylfunktionalisierten Harze (**66**) wurden unter den bereits ausgearbeiteten Reaktionsbedingungen (Abschnitt 3.2.2 und 3.2.3) mit verschiedenen Aminen (**71**) in Gegenwart von Acetoncyanhydrin in DMF umgesetzt (Schema 21). Als Aminkomponente (**71**) wurden Pyrrolidin (**a**), 1-Methylpiperazin (**b**) und Morpholin (**c**) in je 4 Äquivalenten eingesetzt [Cod 93].



Schema 21: Strecker-Reaktion mit harzgebundenem Benzaldehyd.

Ein besonders gutes Reaktionsergebnis wurde bei der Verwendung von Morpholin (**71c**) erhalten. Bereits die Reaktionsverfolgung im FT-ATR-IR-Spektroskopie (Abbildung 26) zeigt eine deutliche Abnahme der Absorptionsbande bei  $1691\text{ cm}^{-1}$  für die aromatische Aldehyd-Gruppe (Anhang 11.1).

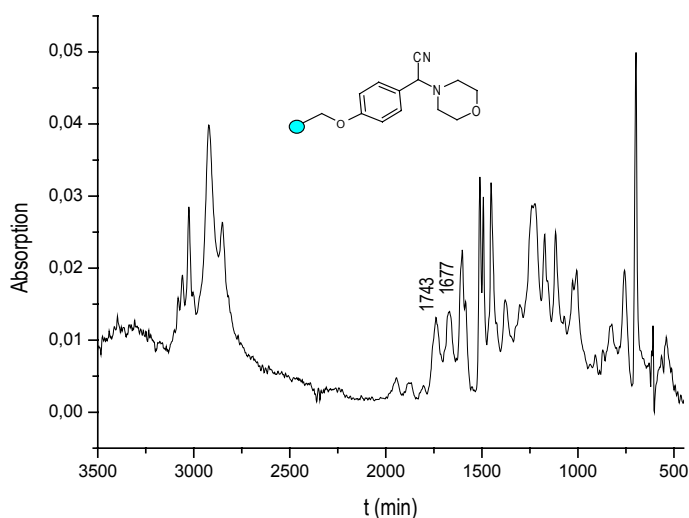


Abbildung 26: FT-ATR-IR-Spektrum von (4-Hydroxyphenyl)-morpholin-4-yl-acetonitril.

Tabelle 15: Strecker-Reaktion mit harzgebundenem Benzaldehyd.

Position	Aminokomponente	HPLC [min]	HPLC [%]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Pyrrolidin	12.250	85	-
2	1-Methylpiperazin	12.400	59	232
3	Morpholin	13.483	84	219

Das Produkt (4-Hydroxyphenyl)-morpholin-4-ylacetonitril (**73c**) konnte eindeutig nach der Abspaltung vom Harz analytisch mit HPLC (Abbildung 27) und MS (Abbildung 28) identifiziert werden. Einen Überblick der erhaltenen Ergebnisse zeigt Tabelle 15.

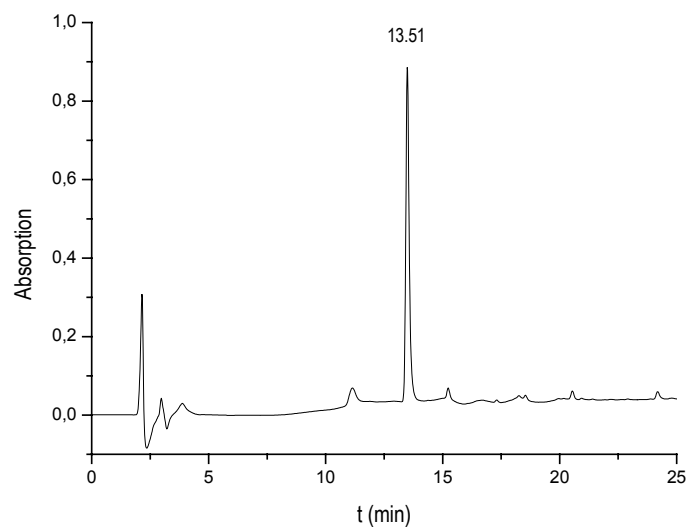


Abbildung 27: HPLC-Chromatogramm von (4-Hydroxyphenyl)-morpholin-4-yl-acetonitril.

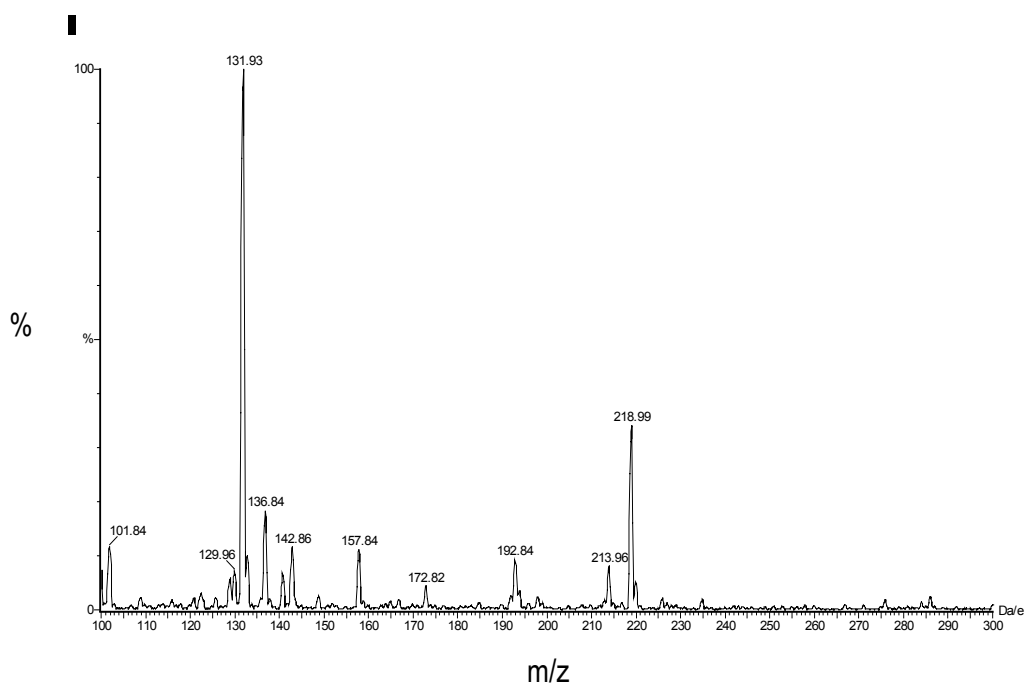


Abbildung 28: ES-MS-Spektrum von (4-Hydroxyphenyl)-morpholin-4-yl-acetonitril.

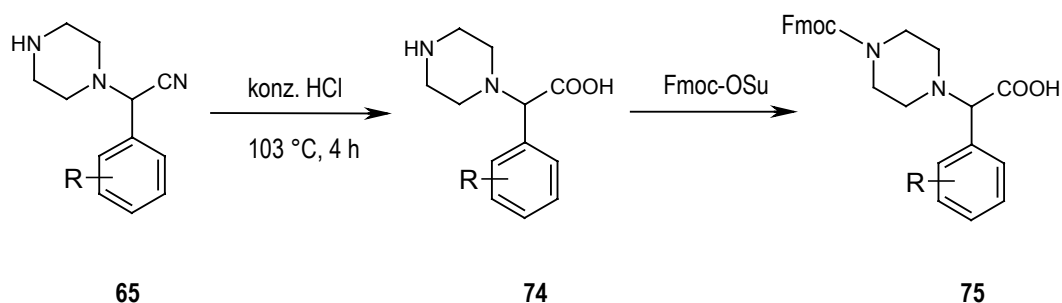
Bei der Verwendung von harzgebundenem Acetophenon (**70**) als polymergebundenes Edukt der Strecker-Reaktion konnten keine Produkte erhalten werden.

### 3.6 Fmoc-geschützte neuartige $\alpha$ -Aminosäuren

#### 3.6.1 Nitrilverseifung und Einführung der Fmoc-Schutzgruppe

Die  $\alpha$ -Aminonitrile eignen sich zur Herstellung von vielen ungewöhnlichen  $\alpha$ -Aminosäuren. Vor allem die Verbindungsbibliothek (**65**) mit freiem Stickstoff im Piperazinring kommt hierfür in Betracht. Gängige Methoden zur Verseifung von Nitrilen sind die Erhitzung mit konzentrierter Salzsäure über mehrere Stunden.

Leider ist diese Methode nicht für die Durchführung an fester Phase geeignet, da unter den jeweiligen Bedingungen eine vorzeitige Abspaltung vom Harz eintritt. Deshalb entschied man sich die Verseifung der  $\alpha$ -Aminonitrile (**65**) nach der Abspaltung vom Harz in Lösung durchzuführen.



Schema 22: Verseifung von  $\alpha$ -Aminonitrilen (**65**) und Erzeugung von Fmoc-geschützten  $\alpha$ -Aminosäuren (**75**).

#### 3.6.2 Optimierung der Nitrilverseifung

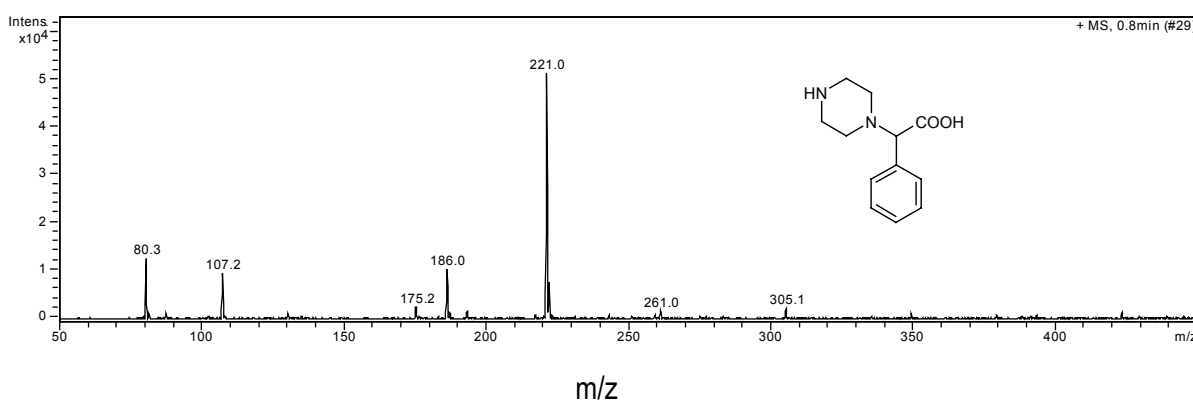
In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Nitrilverseifung beschrieben, die halbkonzentrierte oder konzentrierte Salzsäure zur Verseifung benutzen. Auch die verwendeten Temperaturangaben schwanken erheblich zwischen 60 und 103 °C. Deshalb wurde in einer kleinen Versuchsreihe die Reaktionszeit für die Nitrilverseifung bei Verwendung von konz. Salzsäure bei 103 °C untersucht.

Die Reaktion wurde nach 2 h, 4 h und 8 h abgebrochen und das Produkt analytisch mit HPLC-MS untersucht. Beim Vergleich der erhaltenen Ergebnisse erzielte die Kombination von 103 °C Reaktionstemperatur und 8 h Reaktionszeit (Position 3 bzw. 6, Tabelle 16) bei beiden untersuchten  $\alpha$ -Aminonitrilen (**65**, R = H, CN) die besten Umsetzungen.

Tabelle 16: Einfluß der Reaktionszeit auf die Nitrilverseifung (**74**).

Position	$\alpha$ -Aminonitrilen ( <b>65</b> )	Reaktionszeit	HPLC [RT]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Phenylpiperazin-1-ylacetonitril (R = H)	2 h	0,7 min	-
2		4 h	0,7 min	221
3		8 h	0,7 min	221
4	4-(Cyanopiperazin-1-ylmethyl)- benzonnitril (R = CN)	2 h	0,7 min	-
5		4 h	0,7 min	265
6		8 h	0,7 min	265

Unter den verwendeten Einstellungen für die HPLC-MS-Messungen eluierten beide Produkte (**74**) im Einspritzpeak, weshalb auf eine Abbildung eines HPLC-Chromatogrammes verzichtet wird. Ein ESI-MS-Spektrum von Phenylpiperazin-1-yllessigsäure (**74**, R = H) zeigt Abbildung 29.

Abbildung 29: ESI-MS-Spektrum von Phenylpiperazin-1-yllessigsäure (**74**, R = H).

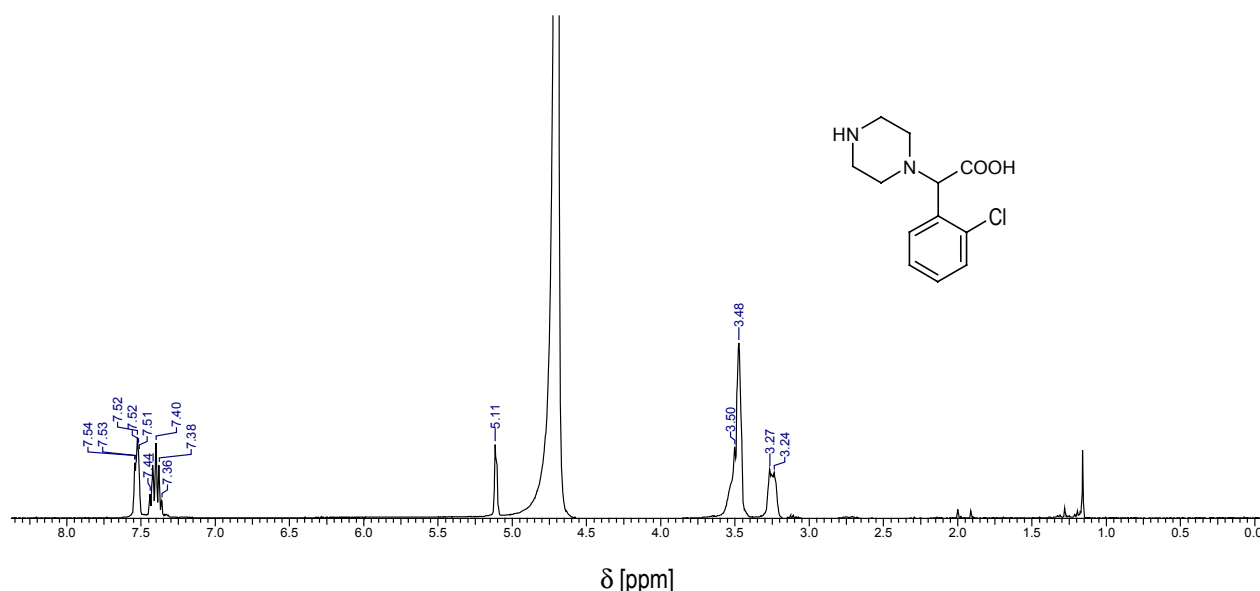
### 3.6.3 $\alpha$ -Aminosäure-Kollektion

Im Anschluß an die Etablierung der Verseifung von  $\alpha$ -Aminosäuren (**74**) wurde die Einsatzbreite bzw. die Limitierung der Reaktion bzgl. der Eduktauswahl untersucht. Hierzu wurden eine große Anzahl  $\alpha$ -Aminonitrile (**65**) unter den oben genannten Reaktionsbedingungen (Abschnitt 3.6.2) getestet. Tabelle 17 zeigt die erzielten Ergebnisse.

Alle erhaltenen Verbindungen der Kollektion wurden mit HPLC-MS-Analytik auf ihre Identität untersucht. Nach Aufreinigung über eine präparative HPLC-Anlage wurden von diesen  $\alpha$ -Aminonitrilen (**74**) zur vollständigen Charakterisierung NMR-Spektren aufgenommen. Die entsprechenden Daten befinden sich im Experimentellen Teil (Abschnitt 9.3.15).

Tabelle 17: Variation der zur Verseifung eingesetzten  $\alpha$ -Aminonitrile (**65**).

Position	eingesetzte $\alpha$ -Aminonitrile ( <b>65</b> ) bzw. Benzaldehyd	HPLC [RT]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Benzaldehyd	0,7 min	221
2	3-Hydroxybenzaldehyd	0,7 min	237
3	2-Chlorbenzaldehyd	1,5 min	255
4	3-Carboxybenzaldehyd	0,7 min	265
5	4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	2,4 min	289
6	4-Hydroxybenzaldehyd	0,7 min	237
7	4-Methoxybenzaldehyd	0,7 min	251
8	4-Cyanobenzaldehyd	0,7 min	265
9	3-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	2,4 min	289
10	3-Brombenzaldehyd	2,1 min	300
11	4-Brombenzaldehyd	2,3 min	300
12	4-Chlorbenzaldehyd	1,3 min	255
13	p-Tolualdehyd	0,7 min	235
14	3-[3-(Trifluormethyl)-phenoxy]-benzaldehyd	3,5 min	381

Abbildung 30: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von (2-Chlorphenyl)-piperazin-1-yllessigsäure in D<sub>2</sub>O-d<sub>2</sub>.

### 3.6.4 Einführung der Fmoc-Schutzgruppe für die Peptidsynthese

Um die erhaltenen unnatürlichen  $\alpha$ -Aminosäuren in der Peptide-Synthese einsetzen zu können ist es nötig die freie Aminogruppe mit einer sogenannten temporären Schutzgruppe zu versehen. Hierfür bietet sich die Fluorenylmethoxycarbonyl- (Fmoc) und die tert.-Butyloxycarbonyl- (Boc) Gruppe an. Die Fmoc-Gruppe wird unter milden, basischen Bedingungen (z.B. mit Piperidin) abgespalten, die Abspaltung des Peptides erfolgt anschließend meistens durch Säure (z. B. Trifluoressigsäure, TFA). Ein gebräuchlicher Linker für die Fmoc-Strategie ist z. B. der Wang-Linker, der das Peptid durch eine Esterbindung an das Polystyrolharz bindet. Durch Protonierung mit



starken Säuren wird die Esterbindung wieder gespalten. Die Boc-Gruppe ist TFA-labil, die Linkergruppe wird für die Boc-Strategie so gewählt, dass sie erst durch stärker saure Bedingungen (z.B. HF) spaltbar wird [Bod 93, Cha 00, Sew 02].

Da die erhaltenen unnatürlichen  $\alpha$ -Aminosäuren bei der in unserer Gruppe verwendeten Peptidsynthese Anwendung finden sollen und diese nach der Fmoc-Strategie erfolgt, wurden die Aminogruppen mit einer Fmoc-Schutzgruppe versehen. Die Fmoc-Schutzgruppe kann unter basischen Bedingungen mit 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-N-hydroxysuccinimid (Fmoc-OSu) oder Fmoc-Cl am sekundären Stickstoff des Piperazinrings eingeführt werden (Schema 22) und wurde bereits in zahlreichen Publikationen beschrieben [Mam 01, Fer 02].

Phenylpiperazin-1-yllessigsäure (**74**, R = H) wurde [Fer 02] mit Fmoc-OSu und 4-(Carboxy-piperazin-1-yl-methyl)-benzoesäure (**74**, R = COOH) mit Fmoc-Cl [Mam 01] unter Standardbedingungen zu den entsprechenden Fmoc-geschützten  $\alpha$ -Aminosäuren (**75**) umgesetzt.

Tabelle 18: HPLC-MS-Analytik für Fmoc-geschützten  $\alpha$ -Aminosäuren (**75**).

Position	Fmoc-geschützten $\alpha$ -Aminosäuren ( <b>75</b> )	HPLC [RT]	MS [M+H] <sup>+</sup>
1	Fmoc-Phenylpiperazin-1-yllessigsäure	4,3 min	443
2	Fmoc-4-(Carboxy-piperazin-1-yl-methyl)-benzoesäure	3,8 min	487

Beide Produkte 4-(Carboxyphenylmethyl)-piperazin-1-carbonsäure-9H-fluoren-9-ylmethylester (**75**, R = H) bzw. 4-[Carboxy-(4-carboxyphenyl)-methyl]-piperazin-1-carbonsäure-9H-fluoren-9-ylmethylester (**74**, R = COOH) konnten eindeutig durch HPLC-MS-Messung (Abbildung 31) der entsprechenden Rohprodukte identifiziert werden.

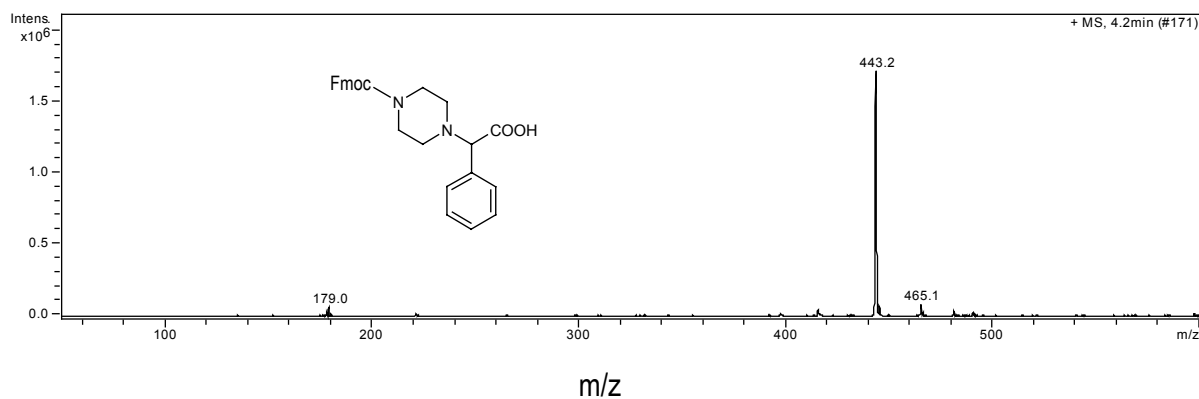


Abbildung 31: ES-MS-Spektrum von 4-(Carboxyphenylmethyl)-piperazin-1-carbonsäure-9H-fluoren-9-ylmethylester.

## 4 Zusammenfassung – Kombinatorische Chemie

$\alpha$ -Aminonitrile sind wichtige Bausteine für eine Reihe von Synthesen wie z.B. die Strecker-Drei-Komponenten-Reaktion (S-3CR) zur Herstellung von  $\alpha$ -Aminosäuren.

Nach der Optimierung einer Festphasensynthese wurden eine Reihe verschiedener Kollektionen von  $\alpha$ -Aminonitrile durch Umsetzung von festphasengebundenem Piperazin mit verschiedenen aliphatischen und aromatischen Aldehyden hergestellt. Zwei verschiedene Linker-Modelle wurden untersucht:

- a) Ein Acrylaminowang-Harz lieferte durch Abspaltung mit 25 % TFA Propionsäure-Derivate mit einer Reinheit der Rohprodukte zwischen 70 - 97 %.
- b) Durch Quarternisierung des Acrylaminowang-Harzes mit verschiedenen Bromiden wurde eine N-Alkylierung des Piperazinrings erreicht. Hierfür wurden verschiedene Bromide verwendet. Mit Allylbromid wurden Reinheiten von 75 – 99 % der Rohprodukte erreicht.
- c) Bei Verwendung eines Urethan-Linkers wurden durch Abspaltung mit 25 % TFA der freie Stickstoff erhalten. Die erhaltenen Reinheiten der Rohprodukte bewegten sich hier zwischen 73 –95 % für aromatische Aldehyde.
- d) Durch die Verseifung der Nitrilfunktion wurden neuartige  $\alpha$ -Aminosäuren erhalten, die mit einer Fmoc-Schutzgruppe versehen werden können, wodurch sie als Bausteine für die Peptidsynthese eingesetzt werden können.

## 5 Allgemeiner Teil – Analysen von Elektrosynthesen

### 5.1 Einleitung

Der zweite Teil dieser Dissertation „Analytische Identifizierung elektrochemisch erzeugter triphenylsubstituierter 1,2,4-Triazole“ wurde im Rahmen eines von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten Projektes „Kombinatorische Mikroelektrochemie“ in Kooperation mit den Gruppen Prof. Speiser, Tübingen und Prof. Schuhmann, Bochum, erstellt (DFG Az Ju 103/11-1 und Ju 103/11-2). Hierbei war die Aufgabe, Analyseverfahren und gegebenenfalls Aufarbeitungstechniken zu finden, die eine problemlose analytische Identifizierung von elektrochemisch dargestellten Verbindungen ermöglichen sollten.

Elektrochemische Methoden sind in der kombinatorischen Chemie immer noch kaum verbreitet. Vor der Erstellung dieser Dissertation hatten nur zwei Gruppen begonnen, elektrochemische Ansätze mit parallelen Verfahren zu verknüpfen [Red 98, Siu 00a, Siu 00b, Siu 01, Yud 01].

Da mit Elektronentransfers verknüpfte Reaktionsschritte angewendet werden sollen, benötigt man redoxaktive Verbindungen. Obwohl dies zu einer Einschränkung bei der Auswahl möglicher Substrate führt, ist die Elektrosynthese dennoch eine flexible und durch die Potentialwahl bei potentiostatischer Durchführung auch eine selektive Methode. Sie würde damit das Arsenal der kombinatorischen Synthesemethoden, das auch klassische Redoxreaktionen umfasst [Sti 99], ergänzen und neue Synthesestrategien mit der dazugehörigen analytischen Identifizierung möglich machen.

Außerdem soll die kombinatorische Synthese von organischen Verbindungsbibliotheken und deren Analyse parallelisiert werden und damit erstmals elektrochemische Synthese- und Analysetechniken für die automatische kombinatorische Chemie integrierbar machen. Bisher nicht zugängliche Bibliotheken organischer Verbindungen werden synthetisierbar sein und zu einer Automatisierung führen, wofür eine schnelle parallele Analyseverfahren entwickelt werden soll.

## 5.2 Organische Elektrosynthese

Die organische Elektrochemie eignet sich zur Herstellung vieler interessanter reaktiver Zwischenstufen, wie Radikale, Carbanionen und Carbokationen, die durch Elektronenübertragungen sauber und einfach erzeugt werden können. Diese Elektronenübertragungen bilden die Basis der organischen Elektrochemie, wodurch selektive und chemisch nützliche Umsetzungen möglich sind [Lun 01].

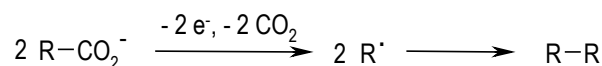
### 5.2.1 Präparative Elektrosynthese

Das Ziel einer präparativen Elektrosynthese ist die Umsetzung einer grösseren Substanzmenge durch eine Elektrodenreaktion. Dazu wird an eine Elektrode mit größtmöglicher Oberfläche ein Potential im Grenzstrombereich angelegt. Das Potential wird bis zu einem definierten Abbruchkriterium (z.B. CV, Zeit, Strom sinkt auf bestimmten Wert ab) gehalten und der Stromfluß aufgezeichnet. Während der Elektrolyse wird der Elektrolyt gerührt, um den Transport von Molekülen an die Elektroden zu beschleunigen. Am Ende der Elektrosynthese können die Produkte der elektrochemischen Reaktion in makroskopischen Mengen isoliert werden [Kis 96].

### 5.2.2 Elektrochemische CC-Verknüpfungen

Beispiele für elektrochemische CC-Verknüpfungen sind Dimerisierungen, Additionen an Doppelbindungen oder ionische Reaktionen mit C-Elektrophilen bzw. C-Nucleophilen. Ein besonderes Syntheseprinzip stellt die Redox-Umpolung dar, bei der sich Bausteine gleicher Reaktivität, die üblicherweise nicht miteinander reagieren, über eine vorgeschaltete Elektronenübertragung miteinander verknüpfen lassen [Utl 97].

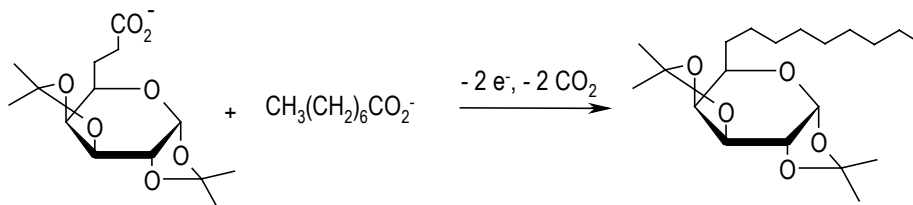
Die Kolbe-Elektrolyse und die Elektrohydrodimerisation sind bereits etablierte elektrosynthetische Prozesse, bei denen unter einfachen Bedingungen eine CC-Verknüpfung erfolgt. Bei ersteren werden Carbonsäureanionen oxidiert und unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung Radikale gebildet (Schema 23), die für Homo- und Heterokupplungen oder Additionen genutzt werden können [Wee 60].



Schema 23: Mechanismus der Kolbe-Elektrolyse [Wee 60].

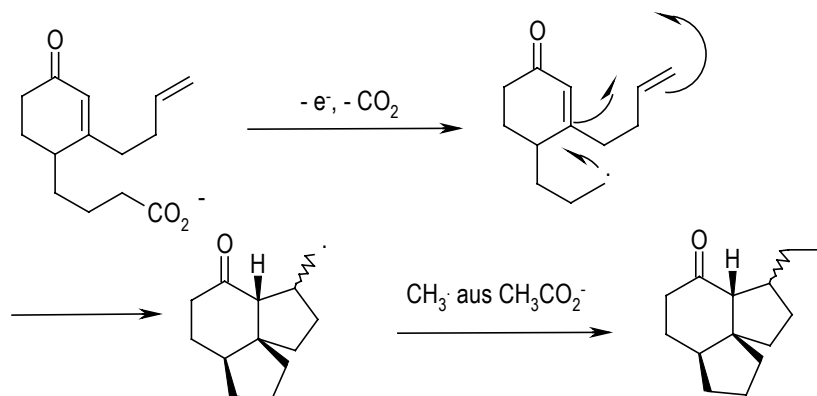
Durch Homokupplung von Radikalen aus Adamantancarbonsäuren und analogen, konformativ rigiden Carbonsäuren gelang es, stäbchenförmige Moleküle größerer molekularer Dimension herzustellen [Nud 96]. Durch anodische Heterokupplung, z.B. von Kohlenhydratcarbonsäuren mit

Alkansäuren, können C-Glycoside und C-Disaccharide erhalten werden (Schema 24), die potentielle Enzyminhibitoren sind [Har 96b].



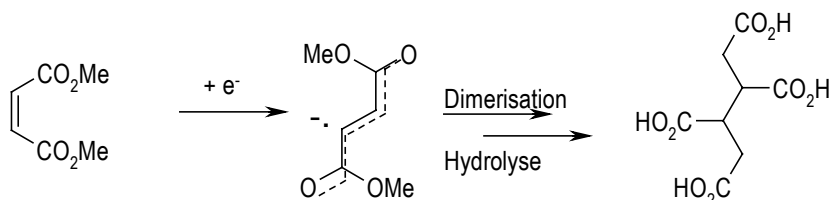
Schema 24: Elektrochemische Derivatisierung von C-Glycosiden [Har 96b].

Anodisch hergestellte Radikale lassen sich auch inter- oder intramolekular an Doppelbindungen addieren. Synthetisch besonders nützlich sind dabei Kombinationen von radikalischen Kupplungen und Additionen, sogenannte Tandem-Reaktionen (Schema 25). Durch geschickte Verknüpfung von Reaktanden unterschiedlicher Polarität und eine abschließende Heterokupplung gelang es, komplexe polycyclische Strukturen einstufig zugänglich zu machen [Mat 95].



Schema 25: Elektrochemisch generierte Tandem-Reaktion [Mat 95].

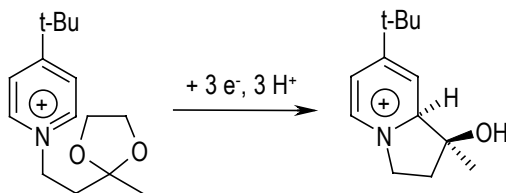
Radikale lassen sich auch durch anodische Oxidation von Carbanionen gewinnen (Schema 26). Auf diese Weise gelang, es 1,4-Dicarbonylverbindungen zu Dimeren mit quartären Kohlenstoffatomen zu kuppeln, die auf anderem Weg nicht oder nur schwer zugänglich sind [Cas 93].



Schema 26: Elektrochemisch induzierte Dimerisation [Cas 93].

Kathodische CC-Verknüpfungen sind durch Reduktion von Carbokationen zu Radikalen möglich, wodurch z.B. aus Oxoalkylpyridiniumsalzen in saurem Medium in hoher Chemo- und Diastereo-

selektivität Azabicyclen gewonnen werden können (Schema 27). Solche Strukturen finden sich auch in biologisch wirksamen Alkaloiden als Grundgerüste [Gor 95].

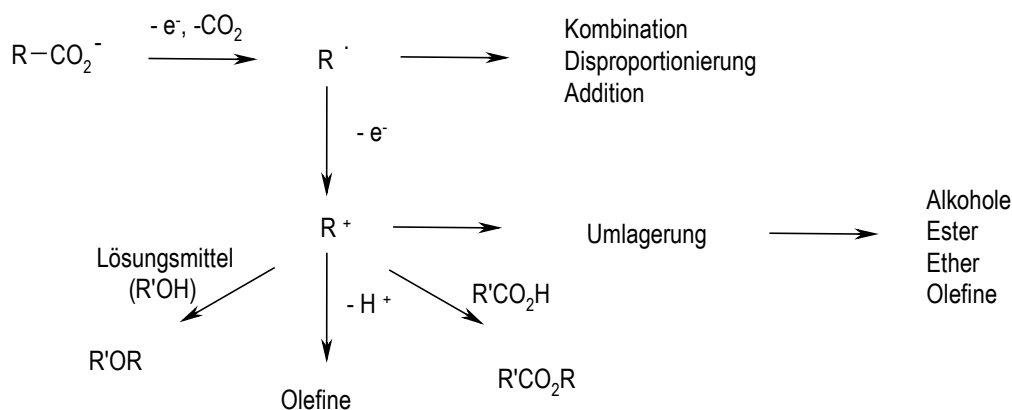


Schema 27: Kathodische C-C-Verknüpfung [Gor 95].

### 5.2.3 Elektrochemische Gruppenumwandlungen

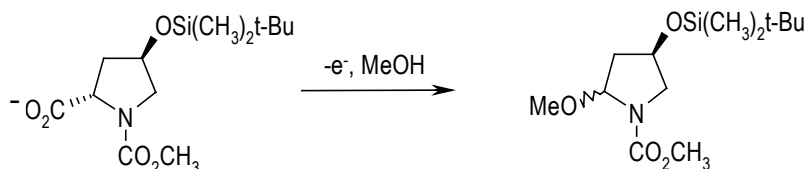
Die Einführung oder die Veränderung funktioneller Gruppen geschieht elektrochemisch durch Erzeugung einer reaktiven Zwischenstufe, die mit Protonen, elektrophilen oder nukleophilen Heteroatomen reagieren kann. Einfache Beispiele sind die Oxidation eines Alkohols oder die Hydrierung einer Doppelbindung [Utl 97].

Die bei der Kolbe-Elektrolyse gebildeten Radikale lassen sich zu Carbokationen weiteroxidieren, wenn sie durch elektronenliefernde Gruppen stabilisiert werden (Schema 28). Diese Carbokationen können dann mit einer Vielzahl von Nucleophilen, teilweise mit einer vorgeschalteten Umlagerung oder Fragmentierung, reagieren [Sch 90a].



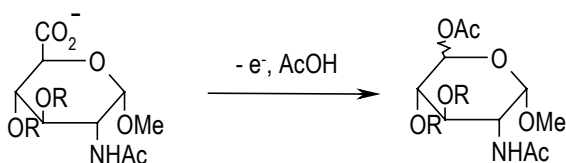
Schema 28: Carbokationen-Reaktionen nach Generierung mittels Kolbe-Elektrolyse [Sch 90a].

Auf diesem Wege können Aminosäuren durch anodische Decarboxylierung methoxyliert werden (Schema 29). Eine alternative Reaktion zum gleichen Produkttyp gelingt durch Oxidation von N-Acylaminen zu Radikalkationen und deren Reaktion mit Nucleophilen. Die methoxylierten N-Acylamide sind meist chirale Synthesebausteine sowie stabile Lagerverbindungen reaktiver Carbokationen, die für vielfältige Umsetzungen mit Kohlenstoff- und Heteroatomnucleophilen in diastereoselektiven Synthesen genutzt werden können [Ren 86].



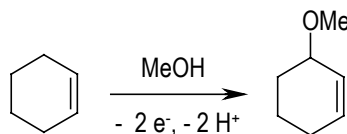
Schema 29: Synthese von 2-Methoxypyrrolidin aus geschütztem 4-Hydroxy-L-prolin [Ren 86].

Durch anodische Decarboxylierung von Kohlenhydratcarbonsäuren werden unter Kettenverkürzung über Carbokationen als Zwischenstufe die entsprechenden Lactone erhalten [Yos 81], wie Schema 30 zeigt.



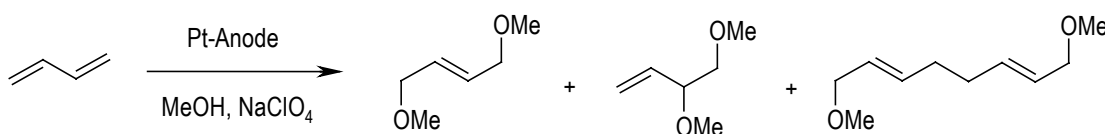
Schema 30: Decarboxylierung von Kohlenhydratcarbonsäuren [Yos 81].

Doppelbindungen in Cycloalkenen lassen sich chemoselektiv an der Anode mit Nucleophilen, z.B. Alkoholen, Wasser oder Acetonitril, umsetzen, gezeigt in Schema 31 [Bag 68, Möl 97].



Schema 31: Elektrochemische Oxidation von Cyclohexen in Methanol [Bag 68, Möl 97].

Bei der Oxidation von Dienen in Gegenwart von Nucleophilen, insbesondere von Alkoholen, werden 1,2- und 1,4-disubstituierte Alkoxydiele erhalten [Bal 78] (Schema 32).



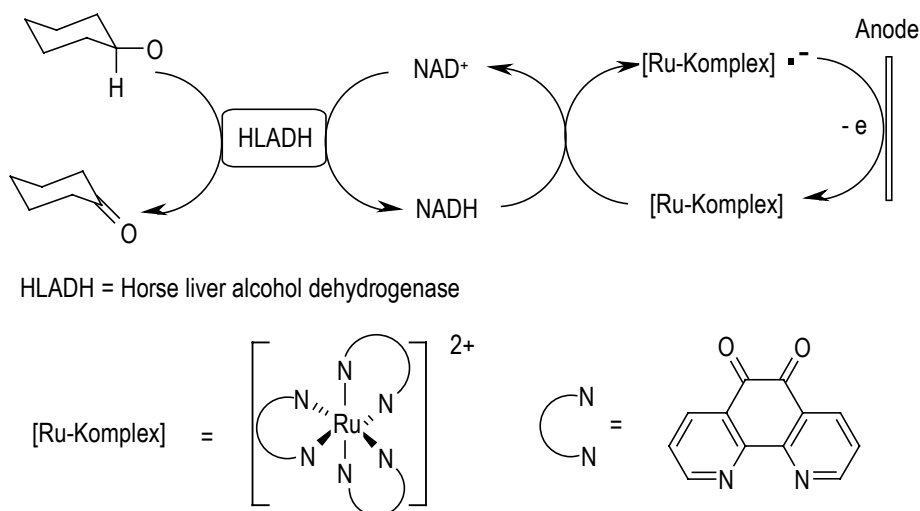
Schema 32: Elektrochemische Oxidation von Butadien [Bal 78].

#### 5.2.4 Mediator-vermittelte Elektrolysen

Bei der Mediator-vermittelten Elektrolyse [Ste 94] werden die Elektronen nicht direkt zwischen Elektrode und Substrat, sondern über einen zwischengeschalteten Mediator übertragen. Dieser wird nach jedem Zyklus an der Elektrode regeneriert. Dieses Vorgehen steigert die Selektivität der Umsetzung und macht z.B. in Verbindung mit Redoxenzymen hochdiastereoselektive Umwandlungen möglich, da spezifische Wechselwirkungen zwischen Mediator und Substrat genutzt

werden. Dieser Vorteil muss allerdings durch sorgfältiges Design und durchdachte Optimierung des Mediatorsystems erarbeitet werden, damit hohe Umsatzraten erreicht werden [Utl 97].

Besonders interessant ist die Anwendung von Mediatoren auf elektroenzymatische Reaktionen. Hierzu werden etwa 1,10-Phenanthrolin-5,6-dion als Ligand in Ruthenium-Metallkomplexen eingesetzt, um  $\text{NAD}^+$  zu regenerieren (Schema 33). Ohne Aktivitätsverlust des Mediators wurden hohe Wechselzahlen erreicht, die bisher von keinem anderen Katalysatorsystem erzielt wurden [Ito 92].

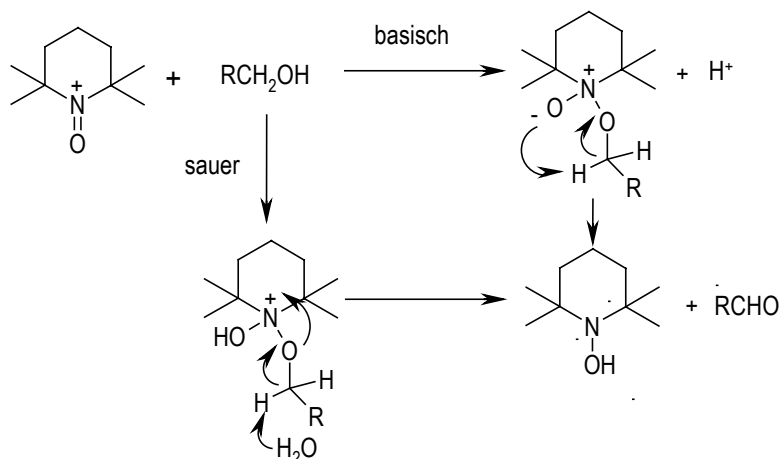


Schema 33: Indirekte Elektrogenierung von  $\text{NAD}^+$  [Ito 92].

Für die elektroenzymatischen Synthesen wurden ferner leistungsfähige kontinuierliche Prozesse entwickelt, bei denen der Mediator und das Enzym in Lösung verwendet werden können. Dabei werden das hochmolekulare Enzym und der Mediator in einer Membranzelle zurückgehalten und das niedermolekulare Produkt wird kontinuierlich über die Membran abgetrennt.

Durch indirekte anodische Elektrolyse mit Tetramethylpiperidin-N-oxid (TEMPO) als Mediator lassen sich selektiv primäre in Anwesenheit von sekundären Hydroxygruppen oxidieren und insbesondere Kohlenhydrate selektiv an der primären Hydroxygruppe in die entsprechenden Aldehyde bzw. Carbonsäuren überführen [de No 00], wie Schema 34 zeigt.





Schema 34: Oxidation von Alkoholen durch TEMPO [de No 00].

### 5.2.5 Kombinatorische Elektrosynthese

Parallele Elektroanalyse wurde bereits zum Screening von Elektrokatalysatoren verwendet [Red 98, Liu 02]. Bei den synthetischen Anwendungen gibt es einige Beispiele für elektrochemisch generierte Festphasenreaktionen. Die elektrochemische Durchführung von Merrifield-Chemie an aminofunktionalisiertem Polypyrrol-Harz zeigte, dass der Sulfonamid-Linker elektrochemisch mit hoher Selektivität gespalten werden kann [Mor 98, Pil 98, Mar 00]. Desweiteren stellte Ward et al. kürzlich einen Apparat und zugehörige Methode zur computer-automatisierten Analyse von Elektroden-Bibliotheken vor [Sul 99].

Yudin et al. gelang eine erste Adaption elektrosynthetischer Methoden an die kombinatorische Chemie und das High-Throughput Screening (HTS). Er entwickelte einen Apparat zur Durchführung von parallelen elektrosynthetischen Reaktionen in räumlich getrennten Reaktionsgefäßen (Spatially Addressable Electrolysis Platform - SAEP) [Siu 00a, Yud 01]. Mit Hilfe dieser Vorrichtung können Elektrosynthesen in Lösung in einem Multiwell-Format (4x4) durchgeführt werden. Zwei verschiedene Typen von Elektrolysezellen wurden benutzt: Zum einen ein Teflonblock mit 16 Vertiefungen (Abbildung 32a und b) und ein Set von 16 Glasreaktoren (Abbildung 32c). Es können elektrochemische Reaktionen unter galvanostatischen (konstanter Strom) und potentiostatischen (konstantes Potential und externe Referenzelektrode) Bedingungen durchgeführt werden. Das System wurde erfolgreich bei der  $\alpha$ -Alkoxylierung von Carbamaten und Sulfonamiden getestet [Siu 00a].

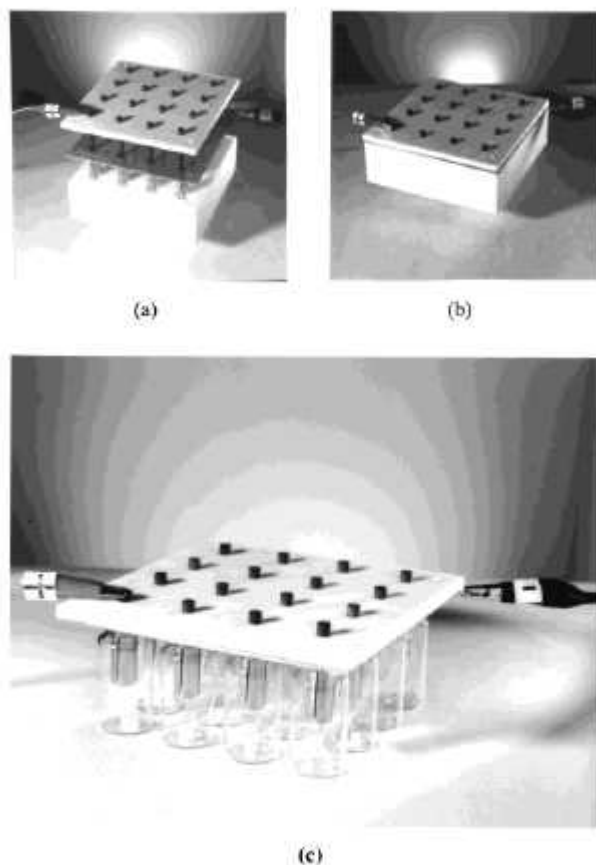
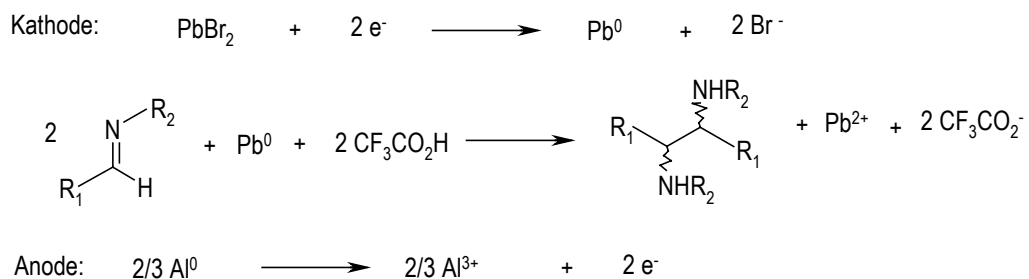


Abbildung 32: SAEP-Aufbau mit Teflon-Abdeckplatte: a) und b) Teflonblock mit 16 Vertiefungen, c) Set von 16 Glasreaktoren [Siu 00a, Yud 01], mit Genehmigung der ACS.

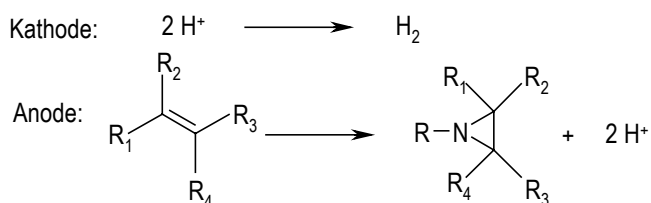
Ebenfalls konnte unter Verwendung dieser SAEP-Plattform ein beschleunigtes Katalysator-Screening durchgeführt werden, wobei das zu untersuchende Material auf den Elektroden copolymerisiert vorlag [Siu 00b].

Die parallele Elektrosynthese von 1,2-Diaminen durch elektroreduktive Hydrierung von Iminen war ebenfalls erfolgreich (Schema 35). Auch hierfür wurde wieder die SAEP-Plattform verwendet [Siu 01].



Schema 35: Elektroreduktive Hydrokupplung von Iminen [Siu 01].

Die Forschergruppe um A. Yudin konnte auch die elektrochemische Olefin-Aziridierung verwirklichen, wobei Amine mit Olefinen elektrochemisch umgesetzt wurden [Siu 02] (Schema 36).



Schema 36: Olefin-Aziridierung nach Yudin [Siu 02].

### 5.2.6 Elektrosynthese in Mikrotiterplatten

Um präparative Elektrosynthesen im Mikrotiterplattenformat durchzuführen wurde ein automatisches elektrochemisches Meß- und Synthesesystem aufgebaut [Spe 99], das von einem Scanning Electrochemical Microscope (SECM) abgeleitet ist. Es wurde im Arbeitskreis von Schuhmann (Universität Bochum) konstruiert [Sch 00] und ermöglicht kombinatorische Experimente (Kombi-SECM, Abbildung 33).

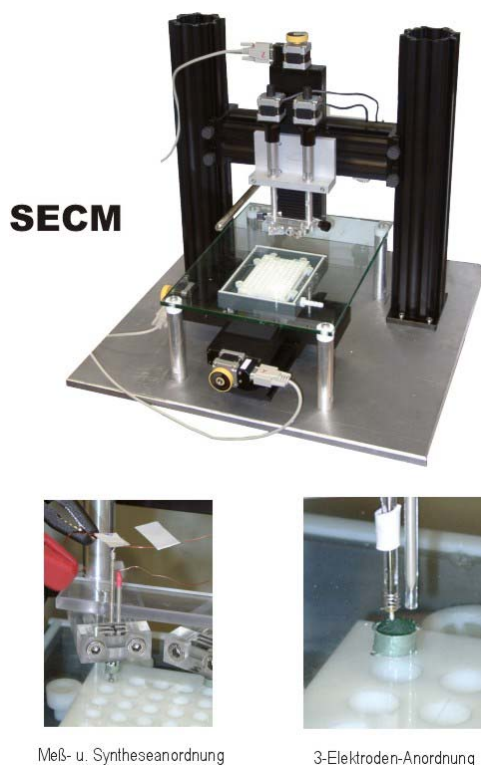
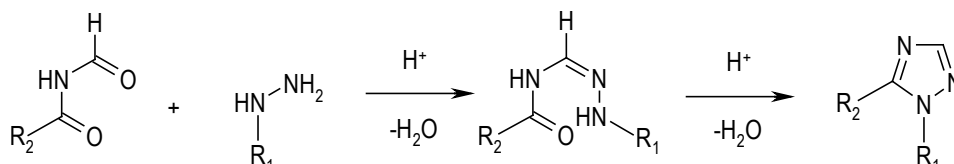


Abbildung 33: Photographien des Kombi-SECMs, mit Genehmigung von B. Speiser.

### 5.3 Chemische Synthesen von 1,2,4-Triazolen

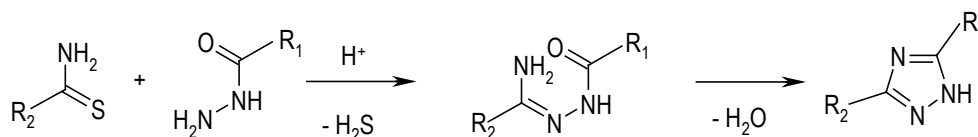
Alle im Folgenden aufgeführten, lange bekannten Synthesen gehen von Hydrazin oder substituierten Hydrazinen aus [Eic 94].

- Einhorn-Brunner-Synthese: Cyclokondensation von Hydrazinen und Diacylaminen (Schema 37). Setzt man ein N-Formylcarbonsäureamid ein, dann verläuft die Reaktion regioselektiv über das Acylamidrazon der Ameisensäure zu einem 1,5-disubstituierten Triazol.



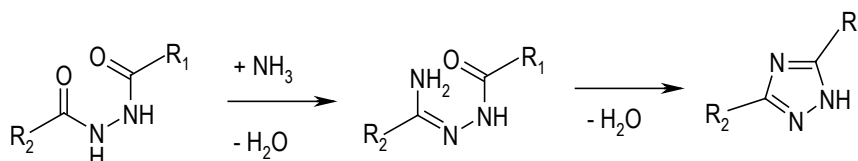
Schema 37: Einhorn-Brunner-Synthese zur Darstellung von 1,5-disubstituierten Triazolen.

- Pellizzari-Synthese: Cyclokondensation zwischen Carbonsäurehydraziden und Carbonsäureamiden oder Thioamiden, wobei 3,5-substituierte Triazole erhalten werden (Schema 38).



Schema 38: Pellizzari-Synthese zur Darstellung von 3,5-substituierten Triazolen.

- Cyclokondensation zwischen 1,2-Diacylhydrazin und Ammoniak, wobei ebenfalls 3,5-substituierte Triazole erhalten werden (Schema 39).



Schema 39: Cyclokondensation zur Darstellung von 3,5-substituierten Triazolen.

Bei allen drei Reaktionen treten Acylamidrazone als Zwischenstufen auf. Deswegen können 1,2,4-Triazole auch unter Einsatz von Acylierungsreagenzien wie Carbonsäureestern oder Carbonsäurechloriden synthetisiert werden.

## 5.4 Biologische Bedeutung und Synthese von 1,2,4-Triazol-Wirkstoffen

Am bedeutsamsten ist die Anwendung der 1,2,4-Triazole als Biozide. Bereits 3-Amino-1,2,4-triazol (Amitrol, Amizol) wirkt als unselektives Herbizid und wird in Weinbergen und Obstgärten verwendet. Es hat in den letzten Jahren als Pflanzenwuchsregulator Bedeutung erlangt. Außerdem wird es zum Entblättern von Baumwollpflanzen vor der maschinellen Ernte benutzt [Eic 94].

Triadimenol A (**1**) [And 84, Cla 86, Fran 86, Dal 86] gehört zu den effektivsten Fungiziden (Abbildung 34), wobei die Konfiguration (1*RS*, 2*RS*) entscheidend für die Wirkung ist [Ram 91, Kon 91]. Die 1,2,4-Triazol-Fungizide hemmen die Biosynthese des Ergosterols (Hemmung der Lanosteroldemethylase) in Pilzen und werden als Pflanzenschutzmittel verwendet oder wie Fluconazol (**2**) als Antimykotikum (Abbildung 34).

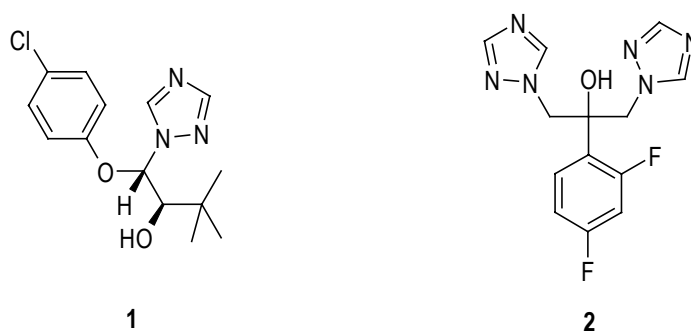


Abbildung 34: Struktur von Triadimenol (**1**) und Fluconazol (**2**).

Weitere Verbindungen dieser Familie haben ebenfalls Verwendung als Antimykotika gefunden, wie Terconazol [Cam 95, Hee 83] und Itaconazol [Hee 84, Sch 93b, Har 96a]. Eine besondere Eigenschaft dieser Verbindungen ist ihre hohe Lipophilie. Sie sind praktisch wasserunlöslich, besitzen eine hohe Bindungsaffinität zu Proteinen und werden vollständig metabolisiert. Verbindungen mit 1,3,5-trisubstituiertem 1,2,4-Triazol-Grundgerüst zeigen antivirale Aktivität [Pat 88, Tod 94] (Abbildung 35).

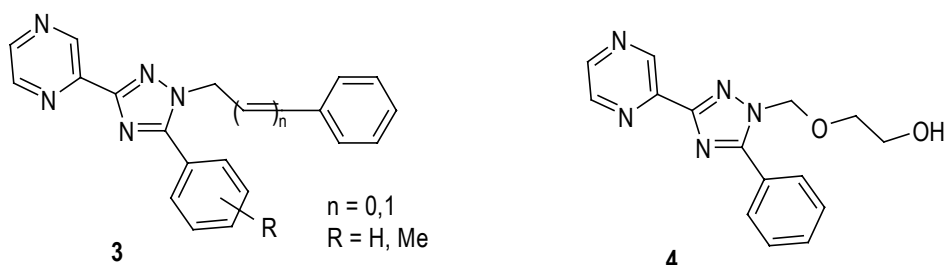
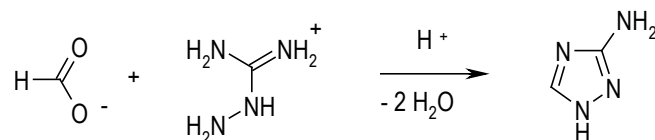


Abbildung 35: Antiviral aktive 1,2,4-Triazole: 2-[5-Phenyl-1-(3-phenyl-allyl)-1H-[1,2,4]triazol-3-yl]-pyrazin (**3**) und 2-(5-Phenyl-3-pyrazin-2-yl-[1,2,4]triazol-1-ylmethoxy)-ethanol (**4**).

Besondere Bedeutung haben auch folgende 1,2,4-Triazole erlangt: 1,2,4-Triazol selbst eignet sich als Katalysator für Transacylierungen, z.B. bei der racemisierungsfreien Peptidsynthese aus N-geschützten Aminosäure-(4-nitrophenyl)-estern und Aminosäuren [Rag 70].

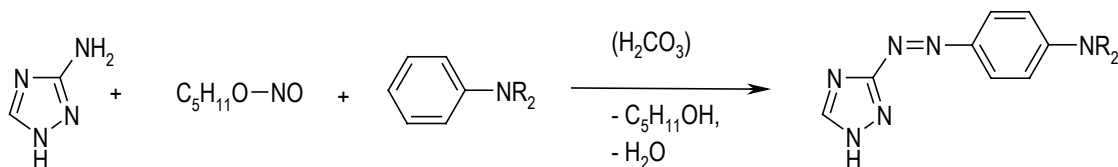
Nitron, ein mesoionisches 1,2,4-Triazol, bildet ein schwerlösliches Nitrat und dient zum Nachweis und zur gravimetrischen Bestimmung von Nitrat-Ionen. Nitron, durch Reaktion mit Poly-(4-chlormethyl)-styrol kovalent an den polymeren Träger gebunden, kann zur Entfernung von Nitrat aus dem Trinkwasser eingesetzt werden [Hio 90].

3-Amino-1,2,4-triazol wird durch Erhitzen von Aminoguanidiniumformiat mit Ameisensäure auf 120 °C hergestellt [Eic 94, Eur 86], wie Schema 40 zeigt.



Schema 40: Darstellung von 3-Amino-1,2,4-triazol.

Es reagiert mit Isoamylnitrit und N,N-Dialkylanilinen in Methanol/Wasser unter einem CO<sub>2</sub>-Druck von 55,3 bar quantitativ zu Azofarbstoffen [Rau 91]. Vermutlich läuft die Reaktion über das Diazoniumhydrogencarbonat [Eic 94, Ger 87] ab (Schema 41).

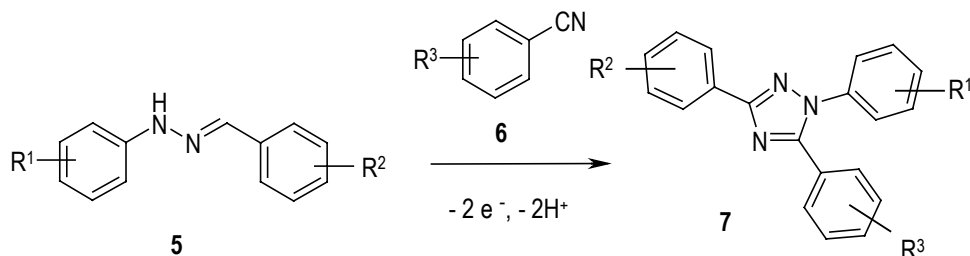


Schema 41: Darstellung von Azofarbstoffen aus 3-Amino-1,2,4-triazol.

Bisher konnten keine 1,2,4-Triazole in der Natur gefunden werden. Halbsynthetische β-Lactam-Antibiotika mit einem 1,2,4-Triazolyl-Substituenten wurden hergestellt und klinisch eingesetzt [Cse 93].

## 6 Aufgabenstellung

Von Märkle wurde für die kombinatorische Elektrosynthese wegen der einfachen Zugänglichkeit die Darstellung von 1,3,5-triphenylsubstituierten 1,2,4-Triazolen (7) aus Benzaldehydphenylhydrazonen (5) und Nitrilen (6) als Modellsystem ausgewählt (Schema 42). Mit Hilfe dieser Reaktion hat er eine Kollektion verschiedenartig substituierter Triazole dargestellt [Mär 02].



Schema 42: Darstellung von 1,3,5-trisubstituierten 1,2,4-Triazolen aus Hydrazonen und Nitrilen.

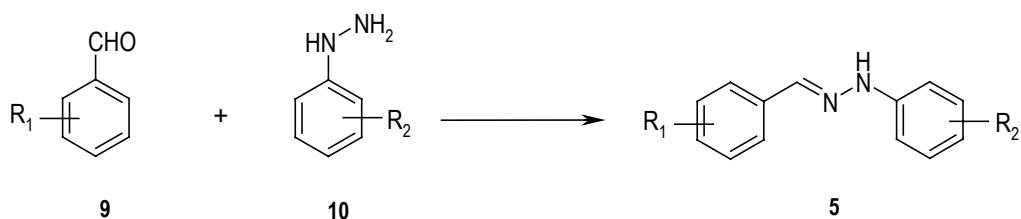
Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte zur Unterstützung zunächst eine kombinatorische Verbindungsbibliothek von unterschiedlich substituierten Benzaldehydphenylhydrazonen (5) hergestellt werden, die für die elektrochemische Synthese im präparativen Maßstab als Grundlage dienen soll. Ferner sollten für die Reaktionslösungen nach der Elektrosynthese der 1,3,5-triphenylsubstituierten 1,2,4-Triazolen (7) mit ihrem hohen Leitsalzgehalt reproduzierbare Aufarbeitungsprotokolle entwickelt werden, die die analytischen Nachweismethoden nicht beeinflussen. Geeignete Analysemethoden zum Nachweis der erwarteten Produkte sollen so etabliert werden, dass sie einen einfachen Einsatz bei Hochdurchsatz-Elektrolysen im Mikrotiterplattenformat erlauben.

## 7 Diskussion der Ergebnisse – Analysen von Elektrosynthesen

### 7.1 Chemische Synthesen

#### 7.1.1 Herstellung und Analytik einer Bibliothek von Benzaldehydphenylhydrazonen

Als Grundlage für die kombinatorische Nutzung der anodischen Oxidation von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonen in Gegenwart von Benzonitril wurde eine Bibliothek substituierter Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) erstellt (Schema 43). Limitierend für die Diversität einer solchen Bibliothek ist die sehr begrenzte Anzahl an substituierten Phenylhydrazinen (**10**), die im Handel erhältlich ist.



Schema 43: Darstellung von Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**) aus Benzaldehyden (**9**) und Phenylhydrazinen (**10**).

Es wurden 60 verschieden substituierte Benzaldehyde (**9**) mit jeweils drei unterschiedlich substituierten Phenylhydrazinen (**10**) zu den entsprechenden Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**) umgesetzt [Sch 90b]. Nicht alle 180 durchgeführten Kombinationen führten unter den verwendeten Reaktionsbedingungen (Abschnitt 7.1.1) zu den entsprechenden Benzaldehydphenylhydrazonen, die gut durch Filtration isolierbar waren (Tabelle 19).

Die im weiteren Verlauf verwendete Systematik setzt sich immer aus der entsprechenden Nummer für die Verbindungsklasse wie z.B. **5** (Schema 43) für die synthetisierten Benzaldehydphenylhydrazonen, einem Bindestrich und einer Kombination aus einer Zahl für den Benzaldehydrest, einem lateinischen Buchstaben für den Phenylhydrazinrest und gegebenenfalls einem griechischen Buchstaben für den Benzonitrilrest zusammen.

Insgesamt wurden 140 Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) als Feststoffe erhalten, in zumeist quantitativer Umsetzung, die alle nach GC-MS-Analyse Reinheiten von > 99 % aufwiesen. Eine Zusammenstellung von wichtigen analytischen Daten für die weitere Diskussion findet sich im Experimentellen Teil (Tabelle 47).



Tabelle 19: Kombinatorisch erstellte Kollektion aus Benzaldehydphenylhydrazonen (5).

(√: Hydrazon wurde unter den Reaktionsbedingungen erhalten, -: nicht erhalten, \*: GC-MS-Daten im Anhang).

Benzaldehyd (9)		Phenylhydrazin (10a)	4-Methoxyphenylhydrazin (10b)	4-Nitrophenylhydrazin (10c)
Benzaldehyd	1	√*	√*	√*
4-Methoxybenzaldehyd	2	√*	√*	√*
4-Nitrobenzaldehyd	3	√*	√*	√
2-Nitrobenzaldehyd	4	√	√	√
3-Nitrobenzaldehyd	5	√	√	√
4-Methylbenzaldehyd	6	√	√	√
2-Hydroxybenzaldehyd	7	√	√	√
2-Chlorbenzaldehyd	8	√	√	√
3-Chlorbenzaldehyd	9	√	√	√
3-Hydroxybenzaldehyd	10	√	√	√
4-Cyanbenzaldehyd	11	√	√	√
3-Carboxybenzaldehyd	12	√	√	√
3-Phenylpropionaldehyd	13	-	-	√
3-Methoxybenzaldehyd	14	-	√	√
4-(Trifluoromethyl)-benzaldehyd	15	√	√	√
3,5-Dimethoxybenzaldehyd	16		√	√
3,5-Diiodsalicylbenzaldehyd	17	√	√	√
2,2-Dimethyl-3-hydroxypropionaldehyd	18	-	-	√
2,4-Dimethoxybenzaldehyd	19	-	-	√
2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd	20	√	√	-
5-Hydroxy-2-nitrobenzaldehyd	21	√	-	-
2,4-Dihydroxybenzaldehyd	22	-	-	√
3,5-Di-tert.-butyl-4-hydroxybenzaldehyd	23	√	√	√
4-Hydroxybenzaldehyd	24	√	-	√
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	25	√	-	√
4-Hydroxy-5-Iod-3-methoxybenzaldehyd	26	√	√	√
2,4-Dichlorbenzaldehyd	27	√	√	√
β-Biphenyl-4-carbaldehyd	28	√	√	√
4-Formylbenzoesäuremethylester	29	√	√	√
trans-Stilben-4-carboxaldehyd	30	√	√	-
6-Chlor-7-methylchromon-3-carboxaldehyd	31	√	√	√
4-Chlor-3-nitrobenzaldehyd	32	√	√	√
2,4-Dimethoxy-3-methylbenzaldehyd	33	√	-	√
2-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	34	√	-	√
4-Methoxy-1-naphthaldehyd	35	-	-	√
4-Dimethylaminobenzaldehyd	36	√	√	√
2-Form-3,5-	37	-	-	√
2-Naphthaldehyd	38	√	√	√
4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyd	39	√	√	√
3,5-Dimethyl-4-hydroxybenzaldehyd	40	√	√	√

Fortsetzung Tabelle 19: Kombinatorisch erstellte Kollektion aus Benzaldehydphenylhydrazonen (5).

(√: Hydrazone wurden unter den Reaktionsbedingungen erhalten).

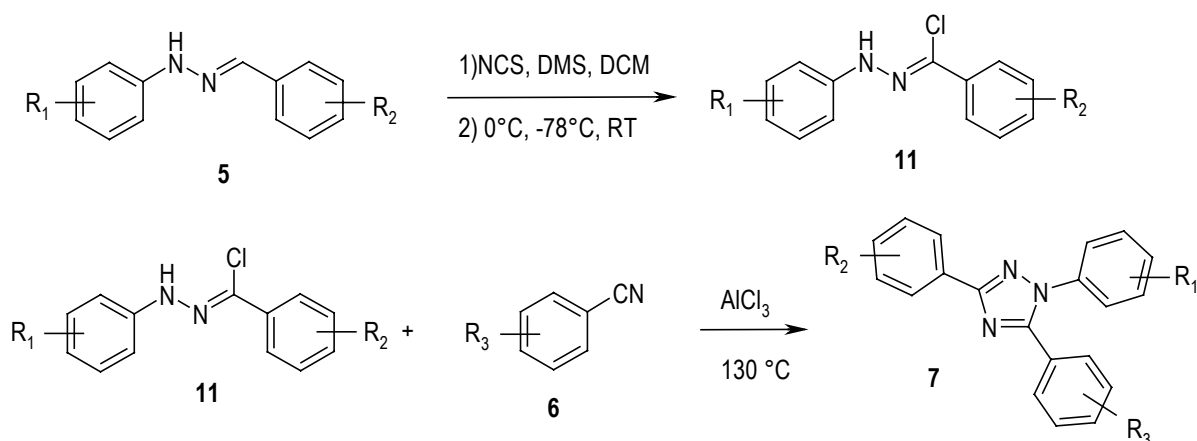
Benzaldehyd (9)		Phenylhydrazin (10a)	4-Methoxyphenylhydrazin (10 b)	4-Nitro-phenylhydrazin (10c)
3-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd	41	√	√	√
4-Hydroxy-3-nitrobenzaldehyd	42	√	√	√
4-Diethylamino-2-hydroxybenzaldehyd	43	-	-	√
5-Brom-2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	44	√	√	√
2,4,6-Trimethoxybenzaldehyd	45	-	-	√
3-Methylthiophen-2-carbaldehyd	46	√	√	√
5-Methylfurfural	47	-	-	√
3-Indolcarbaldehyd	48	-	√	√
Pyridin-2-aldehyd	49	-	-	-
Pyridin-3-aldehyd	50	-	-	√
Pyridin-4-aldehyd	51	-	-	-
1-Heptanal	52	-	-	-
4-Fluorbenzaldehyd	53	√	-	√
en-2-carboxaldehyd	54	√	√	√
Pyrrrol-2-carbaldehyd	55	√	-	√
3-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	56	-	-	√
6-Methylpyridin-2-carboxaldehyd	57	-	-	-
3,5-Dinitrosalicylaldehyd	58	√	√	-
3,5-Dichlorsalicylaldehyd	59	√	√	√
2-Methoxybenzaldehyd	60	-	-	√

Hierbei fielen je nach verwendetem Phenylhydrazin charakteristische MS-Fragmentierungen auf. Die p-Methoxyphenylhydrazone der substituierten Benzaldehyde (**5-1b**, **5-2b**, **5-3b**) zeigen ein charakteristisches Massensignal bei  $m/z$  122, was einem Fragment-Ion der Zusammensetzung  $C_7H_8NO^+$  entspricht [Hes 02, Pre 99]. Bei der Verwendung von 4-Nitrophenylhydrazin trat dieser Effekt in den entsprechenden Benzaldehydphenylhydrazonen (**5-1c**, **5-2c**) bei  $m/z$  137 auf, was einem Fragment-Ion der Zusammensetzung  $C_6H_5N_2O_2^+$  entspricht (Tabelle 47). Einige ausgewählte GC-MS-Analysen von relevanten Verbindungen finden sich im Anhang (Abschnitt 11.2).

Aus diesen Benzaldehydphenylhydrazonen (5) wurden von Märkle geeignet erscheinende Vertreter für die geplante Elektrosynthese ausgewählt [Mär 02]. Einige der bei der anodischen Oxidation in Gegenwart von Benzonitril (6) synthetisierten Triazole (7) wurden, ausgehend von diesen Benzaldehydphenylhydrazonen (5) als Referenzverbindungen, auch chemisch synthetisiert (Abschnitt 7.1.2).

### 7.1.2 Synthese von 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazolen als Referenzverbindungen

Um die Ausbeute der 1,2,4-Triazole (**7**) bestimmen zu können, sollten die Elektrolysen im präparativen Maßstab durchgeführt werden. Zur einfacheren Identifizierung und zur Optimierung der präparativen Elektrosynthesen wurden die entsprechenden 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazole (**7**) durch konventionelle Lösungssynthese dargestellt (Schema 44). Dazu wurden die bereits synthetisierten Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) als Edukte eingesetzt [Pau 00, Shi 88].



Schema 44: Chemische Synthese von 1,2,4-Triazolen [Pau 00, Shi 88].

Aus N-Chlorsuccinimid (NCS) und Dimethylsulfid (DMS) wurde zunächst ein aktiver Komplex generiert, der mit dem entsprechenden Benzaldehydphenylhydrazon (**5**) umgesetzt wurde. Die erhaltene chlorierte Verbindung (**11**) wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung zur weiteren Synthese verwendet (Tabelle 20). Die Bezeichnung Reinheit bezieht sich im Folgenden immer auf die aus dem GC-Chromatogramm entnommenen prozentualen Angaben für den entsprechenden Peak unter den verwendeten Bedingungen (Abschnitt 9.2.7 und 9.2.8).

Tabelle 20: GC-MS-Analysen der chemisch synthetisierten Benzaldehydphenylhydrazonchloride (**11**).

Benzaldehyd ( $R_2$ )	Hydrazin( $R_1$ )	Benzaldehydhydrazonchloride	GC [min]*	Reinheit	MS [M] <sup>+</sup>
H	H	11-1a	7,10	81 %	230 / 232
H	OMe	11-1b	10,84	79 %	260 / 262
H	NO <sub>2</sub>	11-1c	14,95	59 %**	275 / 277
OMe	H	11-2a	11,60	74 %	224 [M-36] <sup>+</sup>
OMe	OMe	11-2b	15,19	40 %**	290 / 292
NO <sub>2</sub>	H	11-3a	13,63	77 %	275 / 277

\*Retentionszeit aus GC-Chromatogramm, \*\*Ausbeuteverluste durch mehrmalige Säulenchromatographie des Produktes.

Die Cyclisierung erfolgte mit  $\text{AlCl}_3$  und Benzonitril (**6- $\alpha$** ) als Lösungsmittel. Bei der Verwendung von substituierten Benzonitrilen (4-Methoxybenzonitril (**6- $\beta$** ), 2,4-Dimethoxybenzonitril (**6- $\gamma$** )) wurde

Diglyme als Lösungsmittel verwendet. Nach der Säulenchromatographie wurde eine Charakterisierung mit GC-MS vorgenommen. Ausgewählte Beispiele der GC-MS-Analysen finden sich im Anhang (Abschnitt 11.2).

Eine Zusammenstellung der durchgeführten Synthesen, wie auch die zugehörigen GC-MS-Daten zeigt Tabelle 21, (Reinheiten von > 98 %). Bei 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2b $\alpha$** ) und 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\gamma$** ) gelang die chemische Synthese nur in geringer Ausbeute. Zwar wurde das entsprechende Chlorid (**11**) erhalten, jedoch erfolgte die anschließende Cyclisierung nur unbefriedigend. Da beiden Verbindungen (**7-2b $\alpha$** , **7-2a $\gamma$** ) jedoch für spätere Analysen bzw. Quantifizierungsversuche benötigt wurden, wurden sie später aus den elektrosynthetischen Ansätzen durch präparative HPLC-Aufreinigung isoliert.

Tabelle 21: GC-MS-Analysen und Ausbeute der chemisch synthetisierten 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazole (**7**).

Triazole	Benzaldehyd (R <sub>2</sub> )	Hydrazin (R <sub>1</sub> )	Benzonitril (R <sub>3</sub> )	GC [min]*	MS [M] <sup>+</sup>	Ausbeute**
7-1a $\alpha$	H	H	H	15,87	297	52 %
7-1b $\alpha$	H	OMe	H	13,40	327	40 %
7-1c $\alpha$	H	NO <sub>2</sub>	H	20,62	342	25 %
7-2a $\alpha$	OMe	H	H	19,16	327	22 %
7-2a $\beta$	OMe	H	OMe	21,39	357	38 %
7-2a $\gamma$	OMe	H	2,4-OMe	23,25	387	nicht erhalten
7-2b $\alpha$	OMe	OMe	H	22,05	357	nicht erhalten
7-3a $\alpha$	NO <sub>2</sub>	H	H	20,78	342	41 %
7-3b $\alpha$	NO <sub>2</sub>	OMe	H	23,53	372	7 %

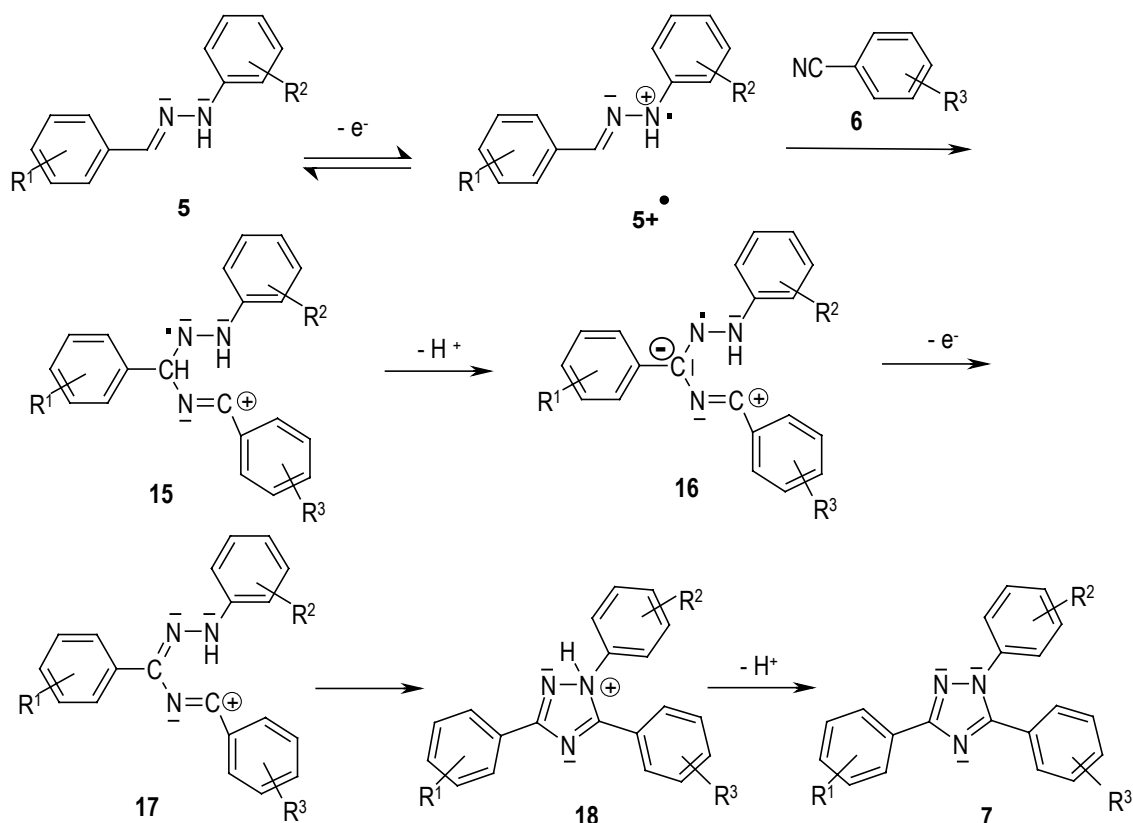
\*aus dem GC-Chromatogramm, \*\* bezogen auf eingesetzte Menge Benzaldehyd (**9**); (erzielte Reinheit für **7** > 98 %).

## 7.2 Elektrosynthesen und ihre Analytik

### 7.2.1 Ausgangssituation zu Beginn der analytischen Arbeiten

Erste Arbeiten an der gewählten Modellreaktion sind im Rahmen der Diplomarbeit von Märkle [Mär 00], sowie in der Zulassungsarbeit von Heiß [Hei 01] durchgeführt worden. Hierbei zeigte sich, dass die Reaktion von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) mit Benzonitril (**6 $\alpha$** ) in DCM elektrochemisch ausgelöst werden kann [Spe 01].

Durch mechanistische Untersuchungen, von Märkle [Mär 02], konnte gezeigt werden, dass das Benzaldehydphenylhydrazon (**5**) in einem Einelektronenübergang zum Radikalkation (**[5]<sup>•+</sup>**) oxidiert wird (Schema 45). Bei einem hohen Überschuß von Benzonitril (**6 $\alpha$** ) wird durch schnelle nucleophile Addition an das Radikalkation (**[5]<sup>•+</sup>**) die Nebenreaktionen wie Dimerisierung vollständig unterdrückt. Das entstandene Addukt (**15**) bildet über eine Deprotonierung ein Neutralradikal (**16**) und wird anschließend weiteroxidiert zum Kation (**17**). Durch Ringschluß über die nucleophile Addition der NH-Gruppe an den positiv geladenen Nitrilkohlenstoff mit anschließender Deprotonierung ist die Bildung eines 1,2,4-Triazols (**7**) möglich [Spe 01].



Schema 45: Postulierter Ablauf der elektrochemisch induzierten Reaktion von Benzaldehydphenylhydrazon (**5**) mit Benzonitril (**6**) in DCM [Spe 01].

Wenn durch CV-Messungen noch Edukt nachzuweisen war, wurde die Elektrolyse so lange fortgeführt bis kein Edukt im CV mehr zu detektieren war. Hieraus konnten jedoch keine aussagekräftigen Schlüsse gezogen werden. Der Nachweis des Triazols (**7-2b $\alpha$** ) war mit Dünnschichtchromatographie ohne Referenzverbindungen nicht gelungen [Mär 00]. Somit war der analytische Nachweis, ob die gewünschten 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazole (**7**) überhaupt gebildet werden, zunächst das vorrangige Ziel.

### 7.2.2 Die Nitrilkomponente und der Einsatz von HPLC-Analytik

Um bessere Aussagen über die Reaktion und das Auftreten von Reaktionsprodukten zu erhalten, musste eine Analysemethode gefunden werden, die durch die Elektrolysenbedingungen (hoher Benzonnitrilüberschuß und große Leitsalzmengen) nicht beeinträchtigt wurde. Eine Übersicht der hierzu durchgeführten Experimente und die zugehörige Analytik finden sich in Tabelle 22. Zu Beginn der Arbeit wurde die HPLC-Analytik zum Nachweis der 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazole (**7**) eingesetzt, da diese Analysetechnik bereits etabliert war und eine ausreichende UV-Aktivität durch die Phenylsubstituenten in den verwendeten Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**) wie auch in den erwarteten 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazolen (**7**) gewährleistet war.

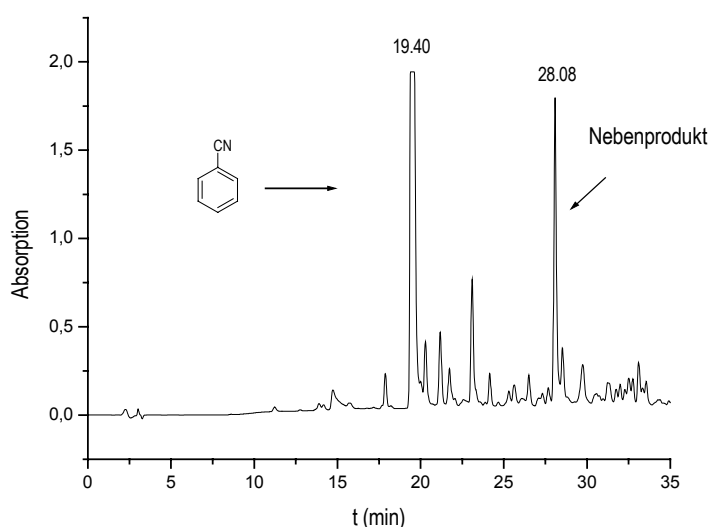


Abbildung 36: HPLC-Chromatogramm einer Reaktionsmischung nach der präparativen Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und Benzonnitril (**6 $\alpha$** ) mit einem riesigen Benzonnitrilpeak, nach Destillation im Vakuum.

Erste Ergebnisse zeigten einen deutlichen Unterschied in den Retentionszeiten der Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) und der daraus gebildeten Triazole (**7**) (Vergleich mittels der synthetisierten Referenzsubstanzen (Abschnitt 7.1.2)), jedoch machte der große Überschuss an

Benzonitril das Auffinden der Produktpeaks unmöglich. Man sah in den aufgenommenen HPLC-Chromatogrammen zumeist nur einen riesigen Peak mit einer Retentionszeit von 19,40 min (Abbildung 36), der durch Vergleichsmessungen mit reinem Benzonitril (**6 $\alpha$** ) als solches zu identifizieren war. Aus diesem Grund wurde auf eine Reinheitsangabe (Area %) aus den aufgenommenen HPLC-Chromatogrammen verzichtet. Um weitere eventuelle Produktpeaks zu sehen, musste die Probe relativ konzentriert eingespritzt werden, da das gewünschte Produkt ansonsten im Rauschen der Basislinie unterging. Durch HPLC-Messungen des chemisch synthetisierten 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2 $\alpha\alpha$** ) war seine Retentionszeit, bestimmt worden, so dass die genaue Zuordnung der Peaks in den HPLC-Chromatogrammen möglich war. Zusätzlich erfolgte die präparative Aufreinigung der elektrochemischen Synthesen zur weiteren Bestätigung des erhaltenen Ergebnisses.

Ein weiterer elektrosynthetischer Ansatz mit den selben Edukten (**5-2a** und **6 $\alpha$** ), jedoch Erhöhung der Leitsalzkonzentration durch Märkle [Mär 02] zeigte im HPLC-Chromatogramm einen Peak bei einer Retentionszeit von 30,75 min (Abbildung 37). Zur weiteren Identifizierung wurde eine HPLC-MS-Analyse aufgenommen. Diese erbrachte, dass der Peak eine Masse von 327 g / mol aufwies, was mit der berechneten Masse des gewünschten Produktes 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2 $\alpha\alpha$** ) übereinstimmte.

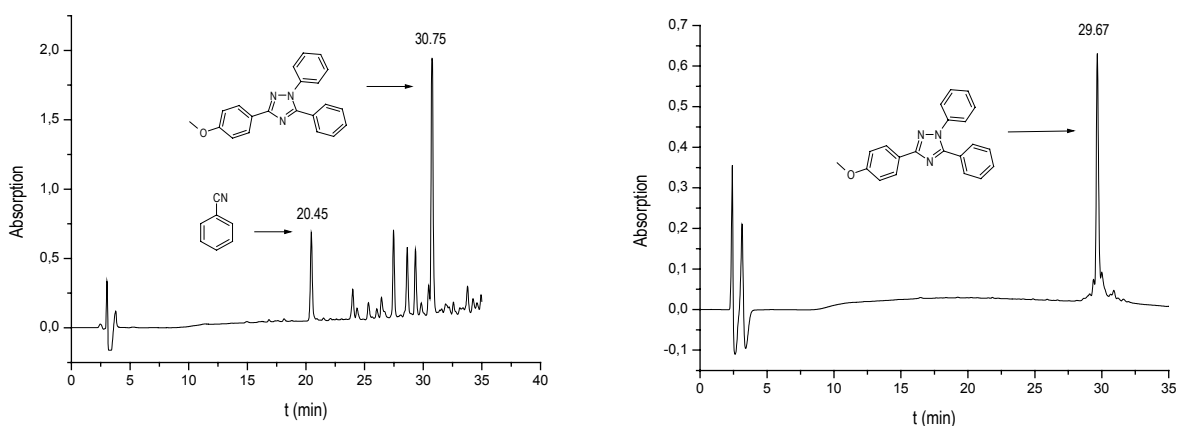


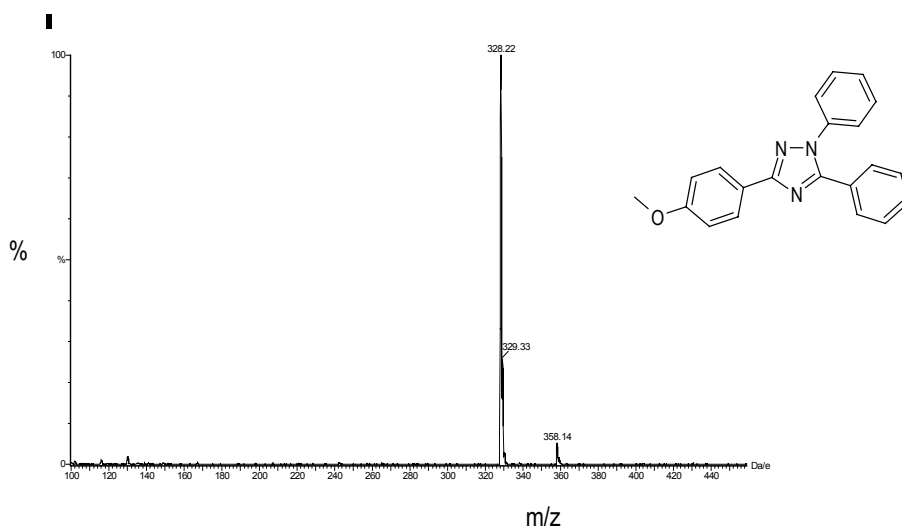
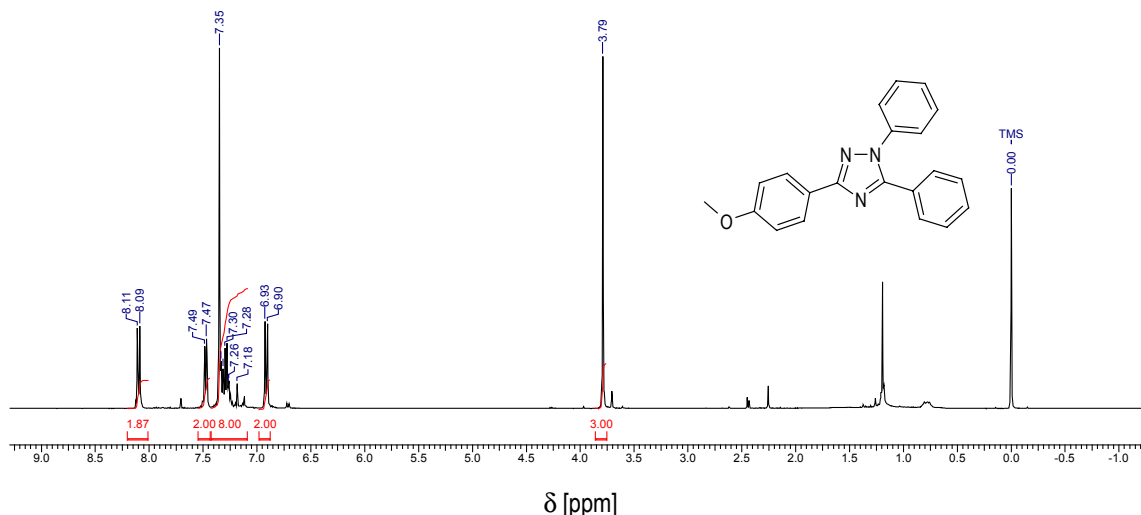
Abbildung 37: HPLC-Chromatogramm von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2 $\alpha\alpha$** ) nach der Elektrolyse (links) und nach der Aufreinigung (rechts).

Die Aufreinigung mit einer präparativen HPLC-Anlage machte erstmals eine vollständige Charakterisierung durch Massenspektroskopie (Abbildung 38) und Aufnahme eines NMR-Spektrums des Produktes 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2 $\alpha\alpha$** ) möglich (Abbildung 39).

Tabelle 22: Durchgeführte Analytik für präparative Elektrosynthesen mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und Benzonitril (**6α**).

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril*	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	RT [min]	MS [M+H] <sup>+</sup>
<b>5-2a</b> (103 mg)	200 eq.	E <sub>init</sub> = 1000 mV	HPLC, MS	-	-
<b>5-2a</b> (85 mg)	200 eq.	E <sub>init</sub> = 1000 mV	HPLC, MS	30,75	328
<b>5-2a</b> (101 mg)	200 eq.	E <sub>init</sub> = 1000 mV	HPLC, MS	-	-

\*persönliche Mitteilung von Märkle.

Abbildung 38: ES-MS-Spektrum von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2αα**) nach Aufreinigung.Abbildung 39: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2αα**) in CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub> nach Aufreinigung.



### 7.2.3 Optimierung der Aufarbeitung

Ein schwerwiegendes Problem sind die Protonen, die bei der Elektrolyse entstehen. Sie können durch einfache pH-Messung (pH-Papier) der Reaktionslösung nach der Elektrolyse nachgewiesen werden. Auch die Simulation des Mechanismus durch Märkle gab Hinweise auf diese Protonen [Mär02]. Als Folge wird das Benzaldehydphenylhydrazon (**5**) protoniert und kann bei dem angelegten Potential nicht oxidiert werden, da es aus dem Gleichgewicht (zwischen **5** und **[5]<sup>+</sup>**) entfernt wird. Auch das entstehende Triazol (**7**) liegt protoniert vor und eine Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel zur Entfernung des Leitsalzes (Tetrabutylammoniumhexafluorphosphat) ist deshalb nicht möglich. Ein Ansatz war, die entstehenden Protonen direkt in der Lösung durch Zugabe von Base abzufangen.

Wurde während der Elektrolyse Natriumcarbonat zugesetzt [Mär 02] konnte nach der Aufreinigung mit präparativer HPLC sowohl durch Messung auf einer analytischen HPLC-Anlage (Abbildung 40) also auch durch massenspektrometrische Untersuchung in Spuren das Produkt 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ) nachgewiesen werden.

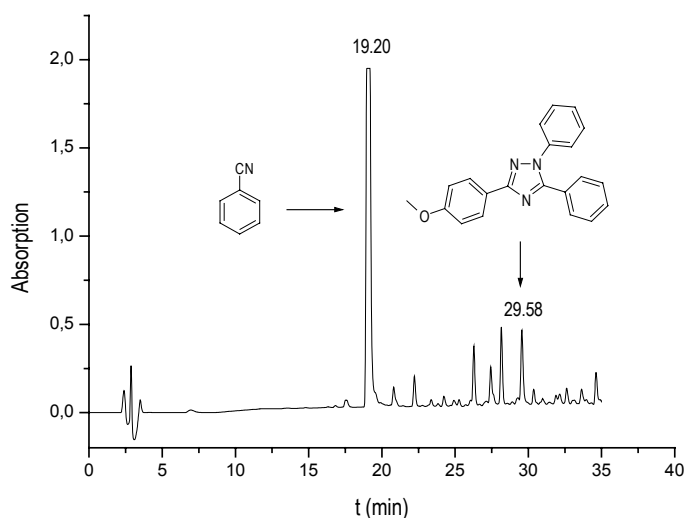


Abbildung 40: HPLC-Chromatogramm bei Zusatz von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  während der Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und Benzonnitril (**6 $\alpha$** ).

Nach dem Zusatz einer Phosphazenenbase ( $\text{P}_4$ -t-Bu-Lösung), direkt in die Elektrolyse, konnte nach der ursprüngliche Aufarbeitung von Märkle [Mär 02], bei der eine Extraktion mit Hexan vorgenommen wurde (Absatz 9.4.4), kein Produkt nachgewiesen werden. Auch die Zugabe von Ionenaustauscher (AMBERLITE IRN-150) während der Elektrolyse führte zum gleichen Effekt, so dass auch dies keine Lösung für den Protonenabfang darstellte.

Eine Übersicht der durchgeführten analytischen Untersuchungen für diese präparativen Elektrosynthesen zeigt Tabelle 23.

Tabelle 23: Durchgeführte Analytik für präparative Elektrosynthesen mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und Benzonitril (**6α**) in Gegenwart von Base.

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril*	Basenzusatz*	Elektrosynth. Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	Reinheit	MS [M+H] <sup>+</sup>
<b>5-2a</b> (100 mg)	200 eq.	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (469 mg)	E <sub>init</sub> = 1000 mV	HPLC, MS	-	328
<b>5-2a</b> (105 mg)	200 eq.	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (491 mg)	E <sub>init</sub> = 1000 mV	HPLC, MS	-	328
<b>5-2a</b> (101 mg)	200 eq.	P <sub>4</sub> -tBu** (0,5 ml)	E <sub>init</sub> = 1000 mV	HPLC, MS	-	-
<b>5-2a</b> (108 mg)	200 eq.	Amberlite IRN-150	E <sub>init</sub> = 1000 mV	GC-MS	1,5 %	328
<b>5-2a</b> (108 mg)	200 eq.	Amberlite IRN-150	E <sub>init</sub> = 1000 mV	GC-MS	1,3 %	328

\* persönliche Mitteilung von Märkle; \*\* Phosphazenenbase P<sub>4</sub>-tBu (1-tert-Butyl-4,4,4-tris(dimethylamino)-2,2-bis[tris(dimethylamino)-phosphoranylidenamino]-2,5,4,5-catenadi(phosphazenen))

Durch die Synthese der Referenzverbindungen (Abschnitt 7.1.2) stieß man auf eine weitere Aufarbeitungsmöglichkeit der Reaktionslösungen nach der Elektrolyse, Extraktion mit 2 %iger wässriger NaOH-Lösung [Shi 88]. Zum Vergleich der beiden Methoden wurde ein Elektrolyseansatz vor der Aufarbeitung geteilt und unterschiedlich aufgearbeitet. Der erste Teil wurde wie bisher aufgearbeitet (ursprüngliche Aufarbeitung von Märkle [Mär 02]). Der zweite Teil des elektrosynthetischen Ansatzes wurde mit 2 %iger wässriger NaOH-Lösung extrahiert und die dabei erhaltenen organischen Phasen vereinigt und durch Vakuum-Destillation das Lösungsmittel entfernt (Tabelle 24).

Tabelle 24: Präparative Elektrosynthesen mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und Benzonitril (**6α**) zur Aufarbeitungsoptimierung.

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril*	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	HPLC [min]	MS [M+H] <sup>+</sup>
<b>5-2a</b> (103 mg)	200 eq.	E <sub>init</sub> = 1000 mV; in zwei Teilen aufgearbeitet	HPLC, MS	29,43	328
<b>5-2a</b> (101 mg)	200 eq.	E <sub>init</sub> = 1000 mV, NaOH-Aufarbeitung	HPLC, MS	29,02	328

\* persönliche Mitteilung W. Märkle.

Von beiden Teilen wurden Proben entnommen und mit analytischen Methoden untersucht. Im HPLC-Chromatogramm des ersten Teiles war ein riesiger Benzonitrilpeak bei 19,02 min zu sehen, was auf eine ungenügende Vakuum-Destillation und die Aufarbeitungsmethode (ursprüngliche Aufarbeitung) zurückgeführt werden kann. Im HPLC-Chromatogramm des zweiten Teiles war der Benzonitrilpeak wesentlich kleiner. Bei der weiteren Interpretation der HPLC-Chromatogramme fiel auf, dass im ersteren Fall (ursprüngliche Aufarbeitung) zwischen 22,00 min und 29,00 min mehr zusätzliche Nebenprodukt-Peaks zu sehen waren als beim zweiten Fall. Hier tritt der Produktpeak

(**7-2aα**) bei 29,43 min deutlich hervor. Die Bestätigung dieses Ergebnisses wurde durch Aufreinigung mit präparativer HPLC und anschließender Wiederholung der HPLC-Analyse und zusätzlicher Aufnahme eines MS-Spektrums, das eine Masse von 327 zeigte, erhalten.

Somit verbesserte die Extraktion der Elektrolysenlösung mit 2 %iger wässriger NaOH-Lösung die Produktidentifizierung wesentlich (optimierte Aufarbeitung) und wurde deshalb für alle weiteren Elektrosynthesen von Märkle übernommen.

#### 7.2.4 Gas-Chromatographie als optimale Analyseverfahren

Um das Problem des hohen Benzonitrilüberschusses zu umgehen, wurde für die folgenden Analysen ein Gaschromatograph mit oder ohne angekoppeltes Massenspektrometer benutzt, da durch geeignete Temperaturwahl das Benzonitril nicht erfasst wird.

Als problematisch erwies sich bei der direkten GC-Messung der Rohlösung nach der Elektrolyse ohne weitere Aufarbeitung die Anwesenheit des Leitsalzes. Da bei den elektrochemischen Experimenten mit für die Analytik verhältnismäßig hohen Leitsalzkonzentrationen (0,1 molare Lösung) gearbeitet wird, führte dieses bereits nach wenigen Analysen zunächst zur Verunreinigung der GC-Säule, was sich in den GC-Spektren als massive Tetrabutylammonium-Peaks und teilweise starkes Tailing der GC-Peaks, Wegdriften der Basislinie und wenig später zur Zerstörung des dünnen Flüssigkeitsfilms im Inneren der verwendeten Kapillarsäule durch das Leitsalz bemerkbar machte.

Versuche zur Abtrennung des Leitsalzes durch die Verwendung eines Ionenaustauschers oder Aufreinigung der Rohlösung über eine kurze Kieselgelsäule führten zu keiner Verbesserung. Deshalb wurden Versuche unternommen, ein Lösungsmittel zu finden, in dem sich die Triazole (am Beispiel von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aα**)) gut lösten und das Leitsalz möglichst unlöslich war (Tabelle 25). Zunächst wurden verschiedene Lösungsmittel und das Lösungsverhalten des Leitsalzes Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat  $N(\text{Bu})_4\text{PF}_6$  untersucht. Danach wurde die besten Lösungsmittel auf ihr Lösungsverhalten gegenüber **7-2aα** untersucht.

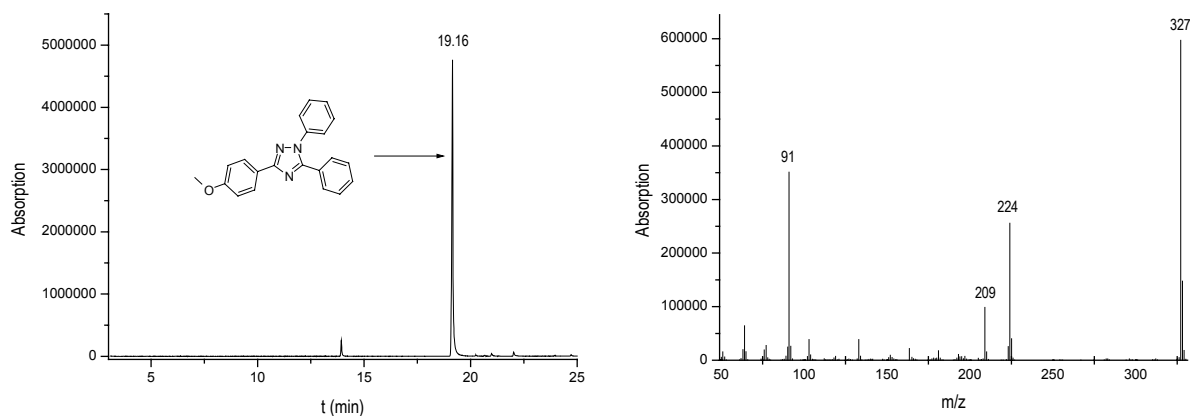
Tabelle 25: Löslichkeitsversuche zwischen Leitsalz und 1,2,4-Triazol.

Lösungsmittel *	Leitsalz **	1,2,4-Triazol ***	Schlußfolgerung
Hexan	unlöslich	unlöslich	am besten geeignet
Chloroform	löst sich	-	
Diethylether	unlöslich	löst sich sofort	
Tetrahydrofuran	löst sich	-	
Essigester	unlöslich	löst sich langsam	
Aceton	löst sich	-	
Ethanol	unlöslich	löst sich	

\* je 100µl Lösungsmittel, \*\* je 10 mg Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat, Behandlung mit Ultraschall, \*\*\* je 10 mg 3-(4-Methoxy-phenyl)-1,5-diphenyl-1H-[1,2,4]triazol

Nach mehreren Versuchen mit verschiedensten Lösungsmitteln, erwies sich Diethylether am geeignetsten. In ihm lösen sich die Triazole (**7**) sehr gut wohingegen das Leitsalz unlöslich ist. Durch kurzes Stehenlassen oder Zentrifugation konnte der Vorgang noch verbessert werden.

Wurde die optimierten Aufarbeitungsmethode mit diesen Erkenntnissen kombiniert, erwies sich die GC-MS-Analyse als bestmögliche Analyseverfahren für die elektrolytische 1,2,4-Triazolsynthese (Abbildung 41). Die so erhaltenen GC-MS-Analysen zeigten die jeweiligen 1,3,5-triphenyl-1,2,4-Triazole (**7**) als alleiniges Produkt der Elektrolysen in hohen Reinheiten (Tabelle 26).

Abbildung 41: GC-MS-Analyse der Elektrolyse von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aα**).

### 7.2.5 Analytische Identifizierung weiterer Einzelverbindungen

Nach der erfolgreichen analytischen Identifizierung von 3-(Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]-triazol (**7-2aα**) wurden nun weitere von Märkle durchgeführte Elektrosynthesen analysiert. Hierfür wählte er Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) aus der erstellten Bibliothek mit elektronenziehenden (Nitrogruppen) bzw. -schiebenden (Methoxygruppen) Substituenten aus.

Für die erste Synthese wurde Anisaldehyd-p-methoxyphenylhydrazon (**5-2b**) und Benzonitril (**6α**) von Märkle [Mär 02] verwendet. Eine Analyse der Rohlösung nach der Elektrolyse erfolgte durch HPLC (Abbildung 42). Der Peak bei einer Retentionszeit von 29,61 min konnte durch weitere Analyse durch HPLC-MS-Messung als 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2bα**) identifiziert werden.

Nach Aufreinigung (optimierte Aufarbeitung) konnte 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2bα**) als Produkt mit GC und MS nachgewiesen werden (Abbildung 43). Auch GC-MS-Messungen der bereits chemisch synthetisierten Vergleichssubstanz (Abschnitt 7.1.2) lieferten identische Analysenergebnisse.

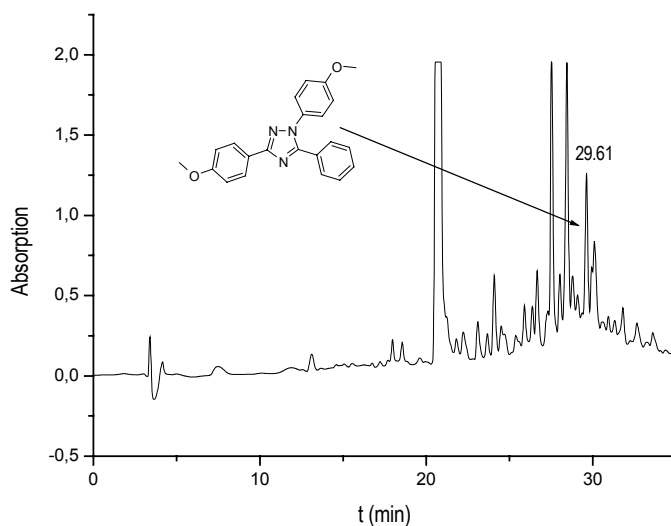


Abbildung 42: HPLC-Chromatogramm von 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2bα**) der Rohlösung.

Der Vergleich von HPLC- und GC-MS-Analysen anhand dieses Beispiels zeigt, dass die Wahl der letzteren ideal für die hier gestellte Fragestellung ist. Zusammen mit der optimierten Aufarbeitung war somit eine problemlose analytische Identifikation der elektrosynthetisch hergestellten 1,2,4-Triazole (**7**) gefunden (Tabelle 25).

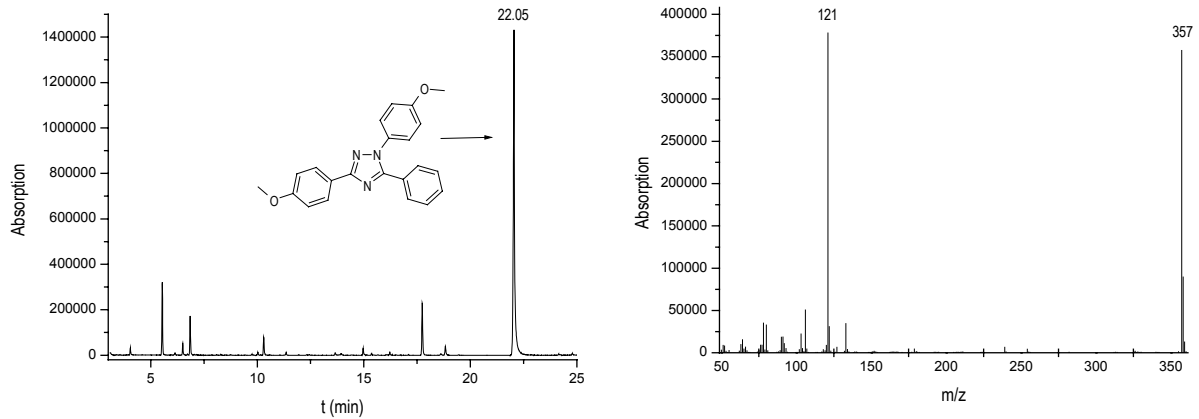


Abbildung 43: GC-MS-Chromatogramme von 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2bα**) nach Aufreinigung.

Bei der nächsten Analyse wurde als Edukte Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und p-Methoxybenzonnitril (**6β**) von Märkle [Mär 02] eingesetzt, weshalb als Produkt 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aβ**) erwartet wurde (Abbildung 44). Dieses Produkt (**7-2aβ**) wurde durch GC-MS-Analyse nachgewiesen.

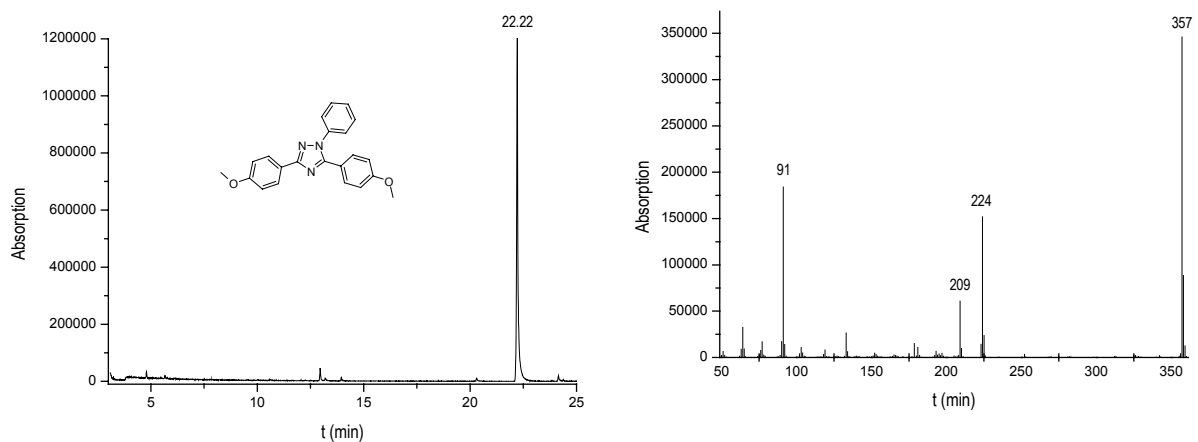


Abbildung 44: GC-MS-Chromatogramme von 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aβ**).

Verwendete Märkle [Mär 02] Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) in Gegenwart von 2,4-Dimethoxybenzonnitril (**6γ**), wird als Produkt 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aγ**) erwartet (Abbildung 45). Es wurde erhalten und konnte bei einer Retentionszeit von 23,25 min im GC detektiert werden.

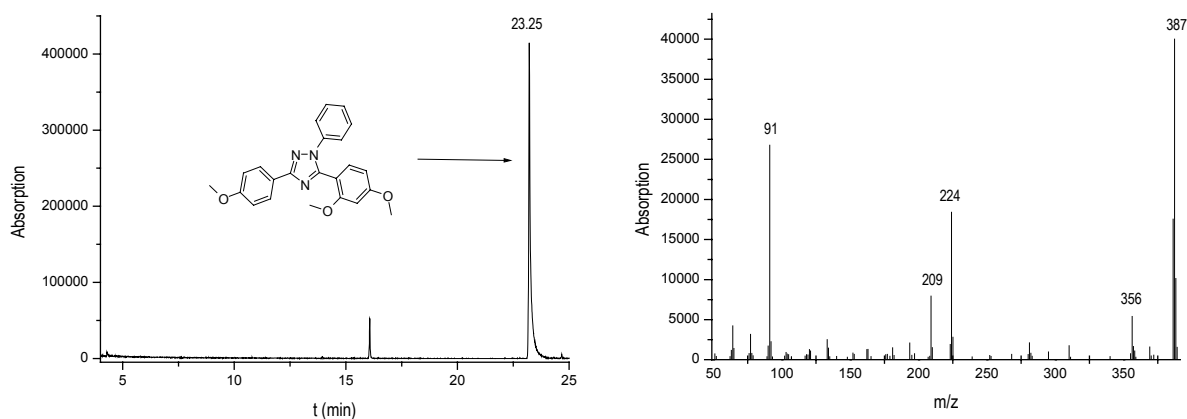


Abbildung 45: GC-MS-Chromatogramme von 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2 $\alpha\gamma$** ).

Für das Produkt 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1 $\alpha\alpha$** ) verläuft die durch Märkle [Mär 02] durchgeführte Elektrolyse nicht so glatt, was an den vielen Nebenprodukten, die im aufgenommenen GC-MS-Chromatogramm zu sehen sind, zu erkennen ist (Abbildung 46). Der eigentliche GC-Peak für das Produkt wurde bei einer Retentionszeit von 13,08 min detektiert.

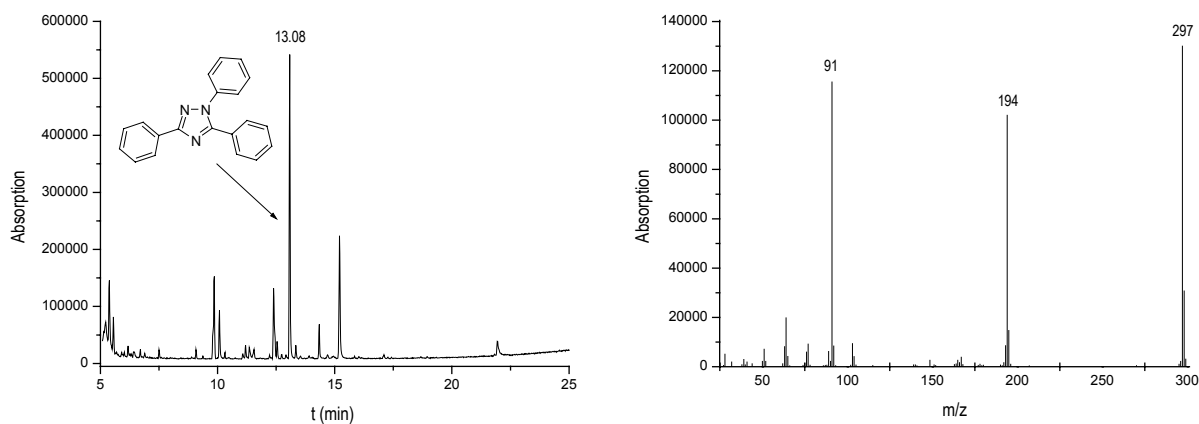


Abbildung 46: GC-MS-Chromatogramm von 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1 $\alpha\alpha$** ).

1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1 $\alpha\alpha$** ) als Produkt der nächsten Elektrolyse konnte durch GC-MS-Analyse nachweisen werden (Abbildung 47). Das Produkt kann bei einer Retentionszeit von 18,02 min sehr gut identifiziert werden. Das zugehörige MS-Spektrum zeigt ein Molekülion mit der Masse 342  $m/z$ , was dem Molekulargewicht der Verbindung entspricht. Was besonders auffällt, ist dass kaum andere Verbindungen als Nebenprodukte gebildet wurden.

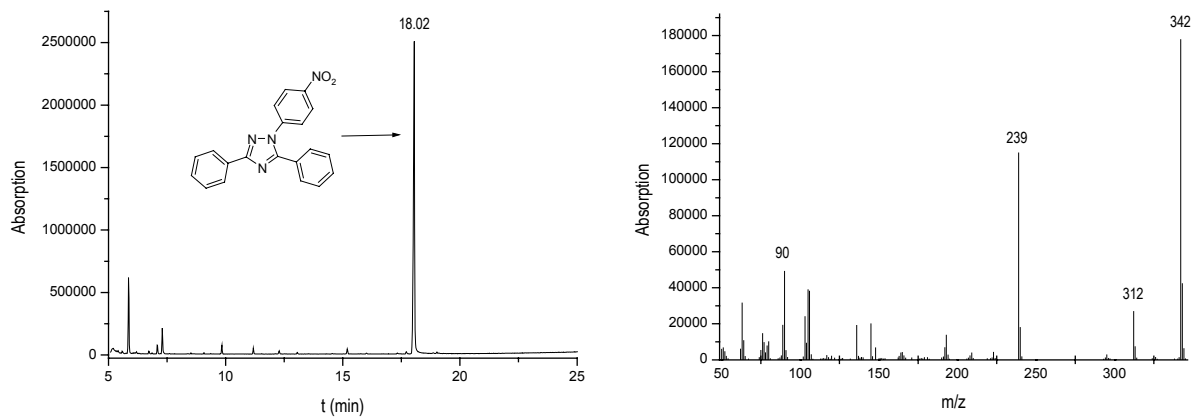


Abbildung 47: GC-MS-Chromatogramm von 1-(4-Nitro-phenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1 $\alpha$** ).

Das Produkt 3-(4-Nitrophenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-3 $\alpha$** ) wurde kaum gebildet, im abgebildeten GC-MS-Chromatogramm (Abbildung 48) ist es bei einer Retentionszeit von 20,66 min zu erkennen. Der höchste Peak im Chromatogramm bei 13,60 min zeigt eine Masse von 279 was auf Phthalat, Weichmacher aus Plastikmaterialien, schließen lässt. Dieses wurde während der GC-MS-Analysen häufig gefunden, vor allem wenn anstelle von Diethylether Toluol als Lösungsmittel für die GC-MS-Proben verwendet wurde. Das MS-Spektrum des Peak bei der Retentionszeit von 17,75 min zeigt eine Masse von 309, was auf eine Trimerisierung von Benzonitril (**6 $\alpha$** ) schließen lässt. Triazinbildung aus Nitrilen wurde bereits beobachtet.

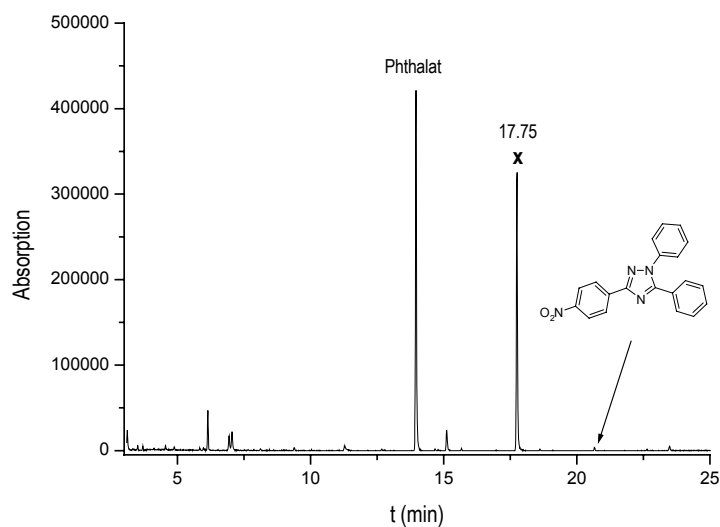


Abbildung 48: GC-Chromatogramm von 3-(4-Nitrophenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-3 $\alpha$** ).



Wurde bei einer Elektrolyse als Produkt 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ) hergestellt, konnte es mühelos nach der optimierten Ausarbeitung analytisch identifiziert werden (Abbildung 49).

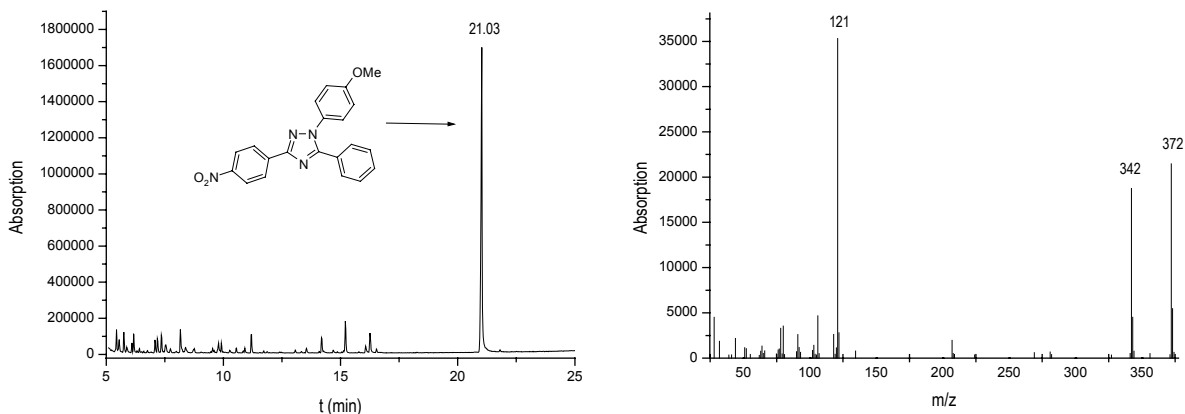


Abbildung 49: GC-MS-Analyse von 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ).

Bei der nächsten Analyse konnte zwar das gewünschte Produkt, 2-(1,5-Diphenyl-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenol (**7-7a $\alpha$** ), der Umsetzung von 2-Hydroxybenzaldehydphenylhydrazon (**5-7a**) und Benzonitril (**6 $\alpha$** ) nachgewiesen werden, wie der Peak bei 15,48 min zeigt, jedoch kann auch noch Edukt 2-(Phenylhydrazonmethyl)-phenol und die Bildung mehrerer Nebenprodukte nachgewiesen werden (Abbildung 50).

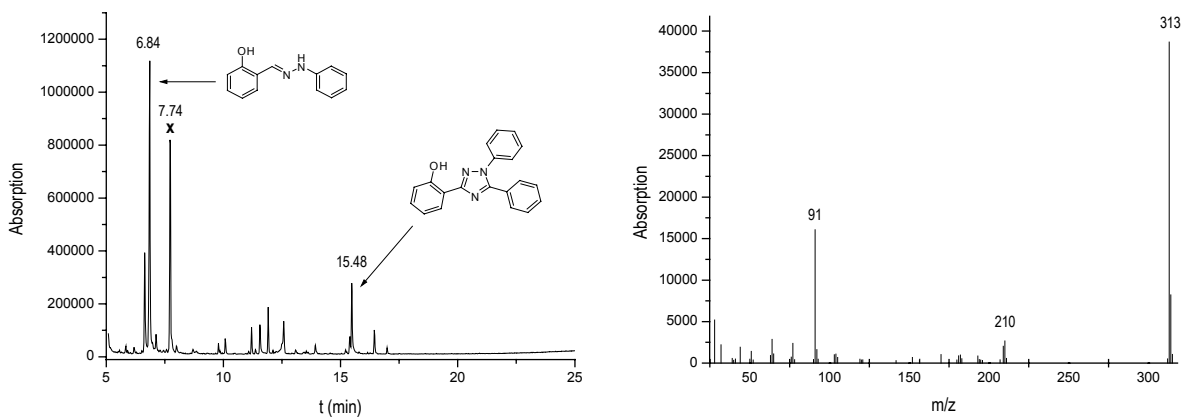


Abbildung 50: GS-MS-Chromatogramme von 2-(1,5-Diphenyl-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenol (**7-7a $\alpha$** ).

Eine Zusammenstellung aller gemessenen Reinheiten für die elektrochemisch synthetisierten Triazole findet sich in Tabelle 26

Tabelle 26: Zusammenstellung der analytischen Daten aus den GC-MS-Analysen verschiedener 1,2,4-Triazol (7).

Hydrazin (R <sub>1</sub> )	Benzaldehyd (R <sub>2</sub> )	Benzonitril (R <sub>3</sub> )	1,2,4-Triazol (7)	RT [min]	Reinheit	MS [M] <sup>+</sup>
H	H	H	7-1a $\alpha$	15,93	36 %	297
4-OMe	4-OMe	H	7-2b $\alpha$	22,03	76 %	357
H	4-OMe	H	7-2a $\alpha$	19,29	94 %	327
H	4-NO <sub>2</sub>	H	7-3a $\alpha$	20,66	< 1 %	342
4-OMe	4-NO <sub>2</sub>	H	7-3b $\alpha$	23,48	81 %	372
4-NO <sub>2</sub>	H	H	7-1c $\alpha$	20,51	44 %	342
H	4-OMe	4-OMe	7-2a $\beta$	22,18	98 %	357
H	4-OMe	2,4-OMe	7-2a $\gamma$	23,24	94 %	387
H	2-OH	H	7-7a $\alpha$	15,48	10 %	313

### 7.2.6 Zeitlicher Verlauf der Elektrolyse

Bis jetzt war vor allem die erfolgreiche elektrochemische Umsetzung und der Produktnachweis wichtig gewesen. Nachdem diese nun zufriedenstellend abliefen, sollte in Zusammenarbeit mit Märkle [Mär 02] bestimmt werden, wie schnell die Reaktion abläuft und wann ein Maximum an Produkt erreicht ist (Tabelle 27). Hierfür wurden während der Elektrolyse Proben nach einer bestimmten Zeit (alle 30 bzw. 60 min) entnommen, einzeln aufgearbeitet (optimierte Methode) und sofort im GC-MS-Gerät vermessen.

Tabelle 27: Durchgeführte Analytik für präparative Elektrosynthesen mit zeitlicher Verfolgung.

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril *	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	Gesamtreinheit
5-2a (104 mg)	6 $\alpha$ (200 eq.)	E <sub>init</sub> = 700 mV	GC-MS	64 %
5-2a (103 mg)	6 $\beta$ (50 eq.)	E <sub>init</sub> = 1000 mV	GC-MS	36 %

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

### Zeitlicher Verlauf der Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon (5-2a) mit Benzonitril (6 $\alpha$ ) durch analytische GC-MS-Verfolgung

Nach 30 min konnte das Produkt 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (7-2a $\alpha$ ) in erheblichen Mengen nachgewiesen werden. Nach 60 min ist das Edukt (5-2a; 7,97 min) nicht mehr zu detektieren (Tabelle 28). Zur besseren Verdeutlichung ist der SIM-Mode dargestellt (Selected Ion Monitoring), hierbei wird gezielt nach einer speziellen Masse, die zuvor festgelegt wurde, gesucht (Abbildung 51).

Tabelle 28: Erzielte Reinheiten der Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) mit Benzonnitril (**6 $\alpha$** ) nach 30 und 60 min (SIM-Mode).

Zeit [min]	<b>5-2a</b> [Area]	<b>5-2a</b> [%]	<b>7-2a<math>\alpha</math></b> [Area]	<b>7-2a<math>\alpha</math></b> [%]
30	1107980	9 %	11895239	90 %
60	-	0 %	10305757	99 %

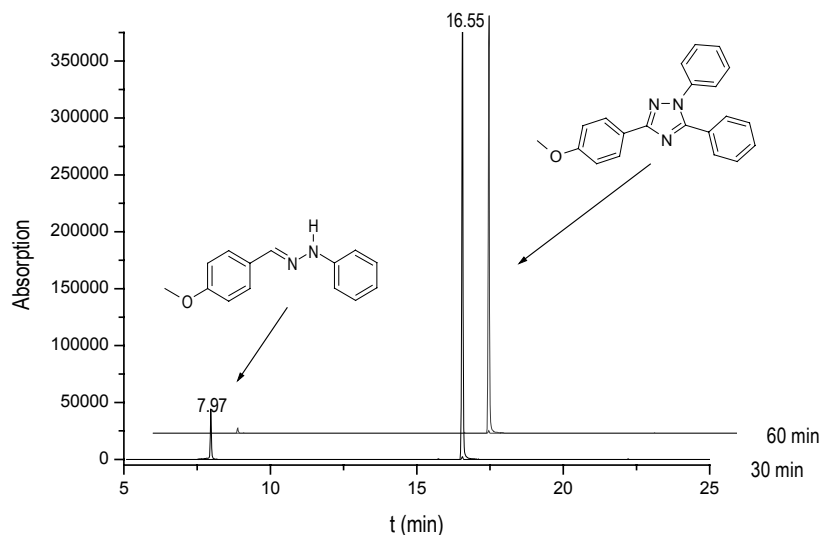


Abbildung 51: Zeitliche Verfolgung der Bildung von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol, SIM-Mode.

#### Zeitlicher Verlauf der Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) mit p-Methoxybenzonnitril (**6 $\beta$** ) durch analytische GC-MS-Verfolgung

Wieder wurde Anisaldehydphenylhydrazon als Edukt (**5-2a**; 8,00 min) verwendet, dieses Mal jedoch mit p-Methoxybenzonnitril (**6 $\beta$** ) umgesetzt. (Tabelle 29) Der Nachweis des Produktes 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\beta$** ) gelingt nach 60 min. Parallel dazu sieht man in Abbildung 52 mit zunehmender Elektrolysedauer ein Abnahme des Edukts (**5-2a**).

Tabelle 29: Erzielte Reinheiten der Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) mit p-Methoxybenzonnitril (**6 $\beta$** ) nach 60, 90, 120 und 180 min (SIM-Mode).

Zeit [min]	<b>5-2a</b> [Area]	<b>5-2a</b> [%]	<b>7-2a<math>\beta</math></b> [Area]	<b>7-2a<math>\beta</math></b> [%]
60	6187896	48%	6826861	52%
90	1457638	22%	5161377	78%
120	1372041	16%	6952921	84%
180	1093588	13%	7498997	87%

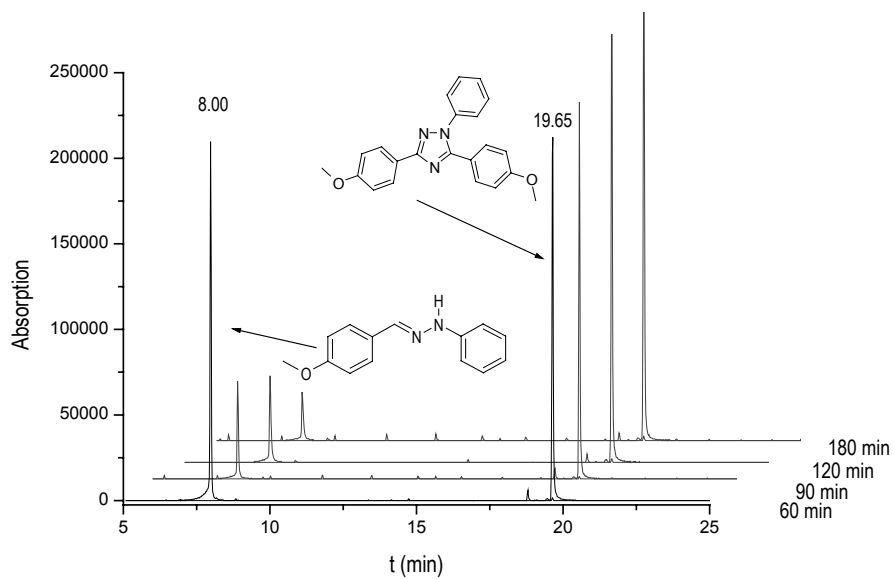


Abbildung 52: Zeitliche Verfolgung von 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aβ**), SIM-Mode.

### 7.3 Quantifizierung der Produkte aus präparativen elektrochemischen Ansätzen

Für die quantitative Auswertung von Chromatogrammen werden in der Praxis fünf Methoden angewendet. Die 100%-Methode (a) und die Normierung auf 100% (b) liefern nur sehr eingeschränkt "echte" quantitative Ergebnisse, da die Ergebnisse durch Substanzen verfälscht werden, die in der Probe enthalten sind, aber nicht detektiert werden. Verlässliche quantitative Ergebnisse liefert die Verwendung von externen (c) sowie internen Standards (d). Beide Methoden können auf die Peakhöhen als auch auf die Peakflächen angewendet werden. Die Quantifizierung durch Aufstockung (portionsweise Addition von Referenzverbindung) spielt in der Spurenanalytik eine Rolle [Kol 99].

Für unsere Fragestellung wurde die Methode der Kalibrierung mit internem Standard gewählt, da es bei dieser Methode nicht notwendig ist, alle Probenbestandteile zu kennen. Hierbei wird der unbekannt Probe eine Standardverbindung (**A**) in bekannter Konzentration zugesetzt. Die Probenzusammensetzung wird durch Vergleich der Peakflächen von Standardverbindung und Probenkomponenten (**X**) bestimmt. Ist eine Substanz gefunden, in unserem Falle 3-(4-Nitrophenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]-triazol (**7-3aα**), die sich als interner Standard (**A**) eignet, d.h. am besten eine chemisch ähnliche Verbindung mit gleichem Grundgerüst, wird eine Kalibriermischung angesetzt, die durch genaues Einwiegen der chemisch synthetisierten Referenzsubstanz (**R**, Abschnitt 7.1.2) und des internen Standards (**A**) hergestellt wird. Diese wird mehrmals analysiert. Aus den Analyseergebnissen werden die Korrekturfaktoren (KF) berechnet [Hüb 96, Oeh 96].

$$F_a = k_a \cdot c_a$$

$$F_r = k_r \cdot c_r$$

Berechnung des Korrekturfaktors KF für die zu bestimmende Substanz X.

$$\frac{F_r}{F_a} = \frac{k_r \cdot c_r}{k_a \cdot c_a} = K \frac{c_r}{c_a} \quad \Rightarrow \quad KF = \frac{c_a}{c_r} \cdot \frac{F_r}{F_a}$$

$c_a$	Konzentration der Standardsubstanz ( <b>A</b> )
$c_r$	Konzentration der Referenzverbindung ( <b>R</b> )
$F_a$	Peakfläche der Standardsubstanz ( <b>A</b> )
$F_r$	Peakfläche der Referenzverbindung ( <b>R</b> )
$K$	Korrelationskoeffizient
KF	Korrekturfaktor für die Berechnung von <b>X</b>
$k_a$	Responsefaktor des internen Standards ( <b>A</b> )
$k_r$	Responsefaktor der Referenzsubstanz ( <b>R</b> )

### 7.3.1 Quantifizierung mit Gaschromatographie

Die Gaschromatographie ist für die Trennung von verdampfbaren Flüssigkeiten und Feststoffen sowie von Gasen geeignet. Die mobile Phase ist dabei immer ein Gas, die stationäre Phase kann entweder ein Feststoff oder eine Flüssigkeit sein. Eine kleine Menge des zu untersuchenden Probenmaterials wird in den Strom des Trägergases (wie z.B. Wasserstoff) injiziert. Das Gas trägt die verdampfte Substanz in die Trennsäule, die eine geeignete stationäre Phase enthält. Die stationäre Phase ist in der Lage, den Strom der einzelnen Komponenten in unterschiedlichem Maße zu verzögern, da es zu unterschiedlicher Verteilung oder Adsorption in der Säule kommt. Die getrennten Komponenten verlassen die Säule in bestimmten Zeitabständen und passieren einen Detektor [Hüb 96, Oeh 96].

Bei der analytischen bzw. quantitativen Gaschromatographie werden kleine Mengen flüssiger Proben mit Mikroliterspritzen aufgegeben, in unserem Fall wurde eine spezielle „on-column“-Spritze verwendet, mit der die Auftragung auf die Säule direkt erfolgte, wodurch empfindlicher gemessen werden kann. Man verwendete einen Flammenionisationsdetektor (FID), mit Wasserstoff als Trägergas. Alle Substanzen, die vom Trägergas eluiert werden, verbrennen in der Flamme. Das Detektorsignal beruht auf der Ionenbildung bei der Verbrennung von Substanzen mit C-C und C-H Bindungen, wohingegen die Flamme selbst kaum ionisiert ist. Gelangen aber Verbindungen in die Flamme, so werden über eine Radikalreaktion Ionen und Elektronen gebildet, die durch das elektrische Feld der Sammelelektrode aufgefangen werden können. Die Düse, an der das Trägergas in den Luftstrom eintritt und verbrennt, besitzt ein negatives Potential. Positive Ionen werden dadurch neutralisiert, während die freigesetzten Elektronen an der positiven Sammelelektrode eingefangen werden und den Signalstrom liefern [Hüb 96, Oeh 96].

### 7.3.2 Quantifizierung mit GC-MS

Das Massenspektrometer (MS) ist hinsichtlich sicherer Identifizierung, hoher Selektivität und des quantitativen Nachweises von äußerst geringen Substanzmengen, wie sie durch die GC-Analyse erhalten werden, der leistungsfähigste Detektor in der Gaschromatographie. Das MS kann im Scan-Modus unselektiv wie ein FID betrieben werden und dennoch mit jedem Datenpunkt des GC-Chromatogramms substanzspezifische Informationen in Form von Massenspektren zur Verfügung stellen. Es kann aber auch gezielt auf ganz bestimmte analysenspezifische Fragmente eingestellt werden (Selected Ion Monitoring - SIM), so dass Störsubstanzen nicht mehr sichtbar sind [Hüb 96]. Die Hauptanwendung des SIM-Modus ist der Nachweis und die Quantifizierung bestimmter Verbindungen in einer Probe.

Eine Grundvoraussetzung für die Quantifizierung ist, dass man durch Optimierung des Massenspektrometers und geeignete Wahl der Geräteparameter ein genügender linearer Bereich erhalten wird ohne eine Verschlechterung der gaschromatographischen Trennung. Einer der Hauptvorteile des Massenspektrometers gegenüber anderer selektiver GC-Detektoren ist ein solcher großer linearer Messbereich, der mehr als vier Größenordnungen beträgt [Oeh 96].

### 7.3.3 Ergebnisse der Quantifizierung

Die meisten Referenzverbindungen (**R**) der zu quantifizierenden Substanzen (**X**) konnten durch konventionelle Synthese (Abschnitt 7.1.2) hergestellt werden, wie auch die Standardverbindung (**A**) 3-(4-Nitrophenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-3aα**) (Abbildung 53).

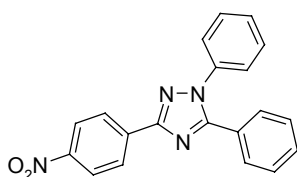


Abbildung 53: Referenzverbindung 3-(4-Nitrophenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-3aα**) (**A**).

Nach der Aufarbeitung wurde die Quantifizierung nicht aus Etherlösungen durchgeführt, da bei der analytischen Messung von mehreren Proben mit Diethylether als Lösungsmittel hintereinander dieses Lösungsmittel sich als zu flüchtig erwies. Deshalb erfolgten alle Quantifizierungsexperimente aus Toluol-Lösungen.

Als Standardlösung (**A**) wurde **7-3aα** (13 mg) in einen Messkolben (50 ml) gegeben und mit Toluol aufgefüllt ( $c = 0,26 \text{ mg / ml}$ ). Als Probenvolumen (**a**) wurden jeweils 50  $\mu\text{l}$  (entspricht 13  $\mu\text{g}$  **7-3aα**) verwendet (Tabelle 30).

Tabelle 30: Verwendete Konzentrationen der Referenzsubstanzen (**R**).

Substanz	Einwaage	Volumen	Konzentration
1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol	22 mg	10 ml	0,22 mg / ml
1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol	4 mg	10 ml	0,4 mg / ml
3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol	12 mg	10 ml	1,2 mg / ml
1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol	8 mg	10 ml	0,8 mg / ml
3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol	35,5 mg	20 ml	1,775 mg / ml

Zunächst wurde eine Messreihe bzw. Eichgerade durch Mischen von jeweils gleiche Volumina Standardverbindung (**a**) mit steigenden Volumina an Referenzsubstanz (**r**) hergestellt und analytisch vermessen.

<b>Messreihe:</b>	1. Probe:	a $\mu$ l A mit	r $\mu$ l R,
	2. Probe:	a $\mu$ l A mit	2 r $\mu$ l R,
	3. Probe:	a $\mu$ l A mit	3 r $\mu$ l R,
	4. Probe:	a $\mu$ l A mit	4 r $\mu$ l R,
	5. Probe:	a $\mu$ l A mit	5 r $\mu$ l R

Hiernach wurde ein entsprechendes Volumen der zu analysierenden Lösung (x) ebenfalls mit der Standardsubstanz (a) gemischt und gemessen:

$$a \mu\text{l A mit } x \mu\text{l X}$$

Man bestimmt durch Erstellen einer Eichgeraden (Quotient der Peakflächen  $F_a / F_r$  gegen Quotient der eingesetzte Mengen  $\text{mg A} / \text{mg X}$ ) den Responsefaktor b, der die Steigung der erhaltenen Eichgeraden darstellt. Daraus kann die Konzentration der zu bestimmenden Lösung (X) berechnet werden.

$$y = bx + a \quad (\text{Geradengleichung})$$

#### 7.3.4 Diskussion der Quantifizierung

Um die Ausbeuten der Quantifizierung interpretieren zu können, mußten die Verluste bei der Aufarbeitung bestimmt werden. Hierzu wurde eine genaue Einwaage des chemisch hergestellten Triazols 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ) mit den ansonsten verwendeten Edukten (Benzonitril, Leitsalz, DCM) in den entsprechenden Mengenverhältnissen versetzt und wie üblich aufgearbeitet (optimierte Methode). Danach erfolgt die Quantifizierung der noch verbleibenden Menge Triazol durch gaschromatographische Analyse. Die notwendigen Messergebnisse zur Aufstellung der Eichgeraden zeigt Tabelle 31 und die zugehörige Eichgerade ist in Abbildung 54 abgebildet.

Tabelle 31: Messreihe für Referenzsubstanz (R; **7-2a $\alpha$** ) – Eichkurve.

<b>7-2a<math>\alpha</math></b> [ml]	<b>7-2a<math>\alpha</math></b> [Area]	<b>7-3a<math>\alpha</math></b> [ml]	<b>7-3a<math>\alpha</math></b> [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	193159	0,01	757762	3,923	1,365
0,05	170260	0,02	1376023	8,082	2,731
0,05	129798	0,03	1600823	12,333	4,096
0,05	88102	0,04	1437008	16,311	5,462
0,05	227873	0,05	4372294	19,187	6,827

Für die Messung wurden aus der aufgearbeiteten Elektrosynthese-Lösung eine Probe entnommen (**7-2a $\alpha$** ; **X**; 0,01 ml) und mit dem internen Standard (**7-3a $\alpha$** ; **A**; 0,05 ml) gemischt und gemessen.



Aus dem erhaltenen Chromatogramm wurde die entsprechenden Flächen (Fa und Fx) abgelesen und der Quotient gebildet (Tabelle 32).

Tabelle 32: Messung für 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ) – Analyse

<b>7-3a<math>\alpha</math></b> [ml]	<b>7-3a<math>\alpha</math></b> [Area]	<b>7-2a<math>\alpha</math></b> [ml]	<b>7-2a<math>\alpha</math></b> [Area]	Fa / Fr
0,05	40143	0,01	410078	10,2154

Man erhielt hierbei 45,65 mg (89 %) der eingesetzten Substanz nach der Aufarbeitung (optimierte Aufarbeitung) zurück, somit tritt nur ein gewisser Ausbeuteverlust durch die durchgeführte Aufarbeitung ein.

Nun interessierten die Mengen an 1,3,5-triphenyl-substituierten 1,2,4-Triazolen (**7**) die durch die Elektrosynthese erhalten werden können. Die von uns gewählte Standardverbindung 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ), die als Modellsystem für die Elektrosynthese diente, liefert eine Ausbeute von 36 % (52 mg).

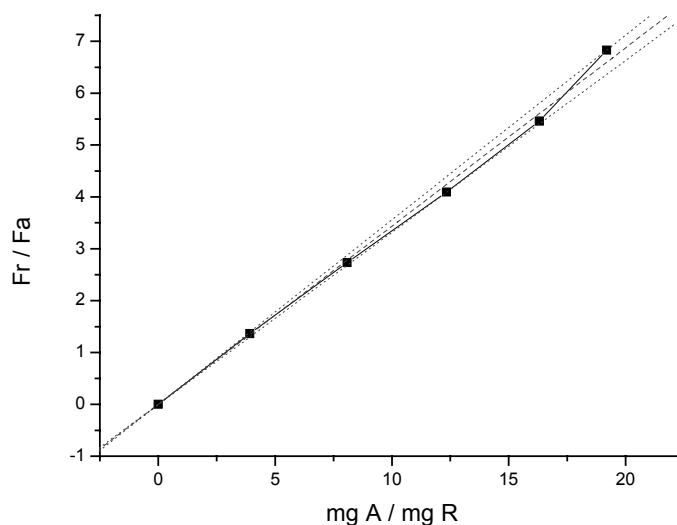


Abbildung 54: Eichgerade für 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ).

b: 0,34374; F: 0,00475; c: 4,565 mg / ml; (K: 0,99856; S: 0,13975; Z: 5);

- - - linearer Fit, . . . Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Eine Zusammenstellung aller Ergebnisse aus den Quantifizierungsexperimenten zeigt Tabelle 33. Der Vergleich der Ergebnisse für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ) zeigte, dass die Verwendung eines GC- bzw. GC-MS für diese Untersuchungen keinen Unterschied machte.

Tabelle 33: Zusammenstellung der Quantifizierungsergebnisse.

Substanz	Ausbeute [mg]	Ausbeute
1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-1a<math>\alpha</math></b> )	10 mg (GC-MS)	6 %
3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-2a<math>\beta</math></b> )	2 mg (GC-MS)	6 %
1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-1c<math>\alpha</math></b> )	13 mg (GC-MS)	10 %
1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-3b<math>\alpha</math></b> )	39 mg (GC-MS)	27 %
1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-2b<math>\alpha</math></b> )	33 mg (GC)	22 %
5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-2a<math>\gamma</math></b> )	8 mg (GC)	22 %
1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-3b<math>\alpha</math></b> )	35 mg (GC)	25 %
3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol ( <b>7-2a<math>\alpha</math></b> )	52 mg (GC)	36 %

## 7.4 Präparative kombinatorische Elektrochemie

Bei der kombinatorischen Elektrosynthese ist es möglich, eine Eduktkomponente (Hydrazon oder Nitril) mit mehreren konkurrierenden, unterschiedlich substituierten Spezies der anderen Komponente in derselben Lösung als Eintopfreaktion zu elektrolysieren.

### 7.4.1 Verwendung von mehreren Benzaldehydphenylhydrazonen - Analytik

Als erste Ansätze dieser Art wurden mehrere Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) in Gegenwart von Benzonitril (**6 $\alpha$** ) oxidiert. Hierfür wurden folgende Benzaldehydphenylhydrazone aus der bereitgestellten Bibliothek durch Märkle [Mär 02] ausgesucht:

- Benzaldehydphenylhydrazon (**5-1a**)
- Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**)
- Anisaldehyd-p-methoxyphenylhydrazon (**5-2b**)
- p-Nitrobenzaldehydphenylhydrazon (**5-3a**)
- p-Nitrobenzaldehyd-p-methoxyphenylhydrazon (**5-3b**)

Nur 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** , aus Anisaldehydphenylhydrazon + Benzonitril) konnte nachgewiesen werden. Auch eine von Märkle [Mär 02] durchgeführte Reproduktion mit den gleichen Benzaldehydphenylhydrazon-Gemisch führte zum selben analytischen Ergebnis, obwohl dieses Mal die Identifizierung mit einer HPLC-MS-Gerät vorgenommen worden war (Tabelle 34).

Tabelle 34: Kombinatorische präparative Elektrosynthese mit mehreren Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**).

Hydrazon (Einwaage)	Benzonitril	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	[M+H] <sup>+</sup>
5-1a (51 mg), 5-2a (52 mg), 5-2b (54 mg), 5-3b (53 mg), 5-3a (53 mg)	10 ml	E <sub>init</sub> = 1200 mV	HPLC, MS	328
5-1a (50 mg), 5-2a (50 mg), 5-2b (50 mg), 5-3b (52 mg), 5-3a (51 mg)	10 ml	E <sub>init</sub> = 1200 mV	HPLC, MS	328

\* persönliche Mitteilung W. Märkle.

Das HPLC-Chromatogramm zeigt Abbildung 55 und das MS-Spektrum ist in Abbildung 56 zu sehen.

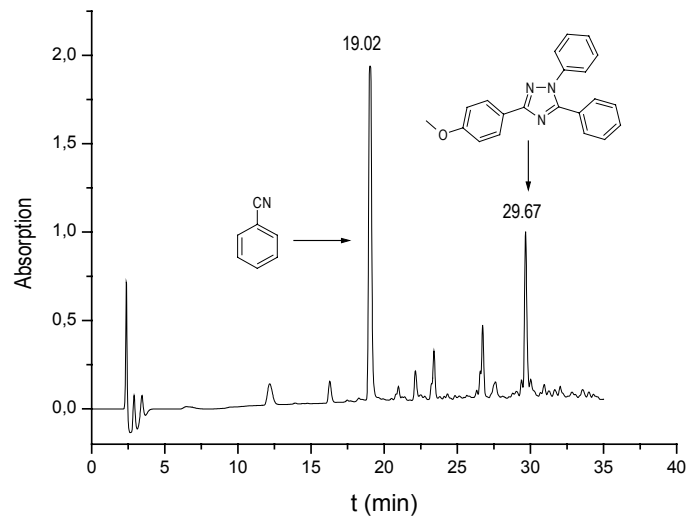


Abbildung 55: HPLC-Analyse der kombinatorischen Elektrosynthese mit fünf Benzaldehydphenylhydrazonen (5).

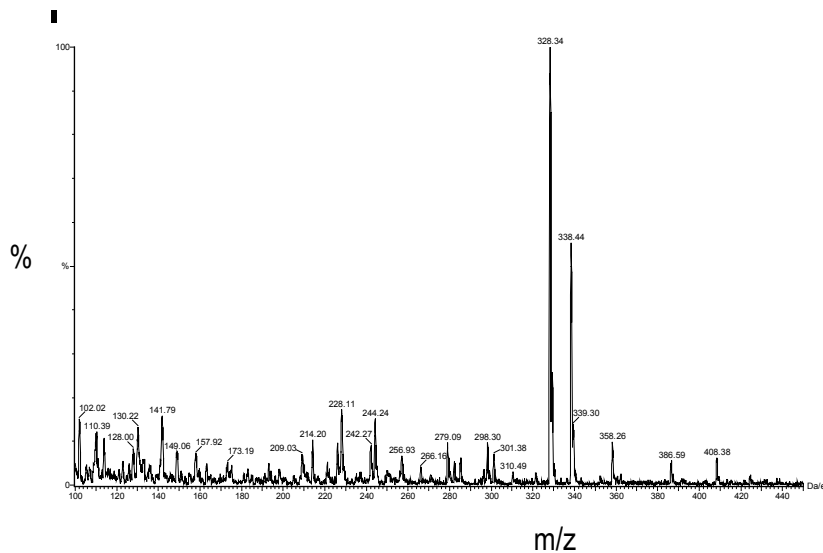


Abbildung 56: ES-MS-Spektrum der kombinatorischen Elektrosynthese mit 5 Benzaldehydphenylhydrazonen (5).

In einem analogen Experiment ohne Zusatz des Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) durchgeführt von Märkle [Mär 02] konnte keines der möglichen Triazole analytisch nachgewiesen werden (Tabelle 35).

Tabelle 35: Kombinatorische präparative Elektrosynthese ohne Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**).

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril *	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	MS [M] <sup>+</sup>
5-1a (54 mg), 5-2b (51 mg) 5-3b (50 mg), 5-3a (53 mg)	10 ml	E <sub>init</sub> = 1200 mV	GC-MS	-
5-1a (15 mg), 5-2b (15 mg), 5-3b (15 mg), 3a (15 mg), 5-15a (15 mg)	7,5 ml	E <sub>init</sub> = 1000 mV	GC-MS	-

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Auch nach weiterer Variation der eingesetzten Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**) durch Märkle [Mär 02] lieferte die durchgeführte GC-MS-Analytik keinen Hinweis auf eines der möglichen 1,2,4-Triazole. Folgende Benzaldehydphenylhydrazone (**5**) waren miteinander gemischt worden:

- Benzaldehydphenylhydrazon (**5-1a**)
- Anisaldehyd-p-methoxyphenylhydrazon (**5-2b**)
- p-Nitrobenzaldehydphenylhydrazon (**5-3a**)
- p-Nitrobenzaldehyd-p-methoxyphenyl-hydrazon (**5-3b**)
- p-Trifluormethylbenzaldehydphenylhydrazon (**5-15a**)

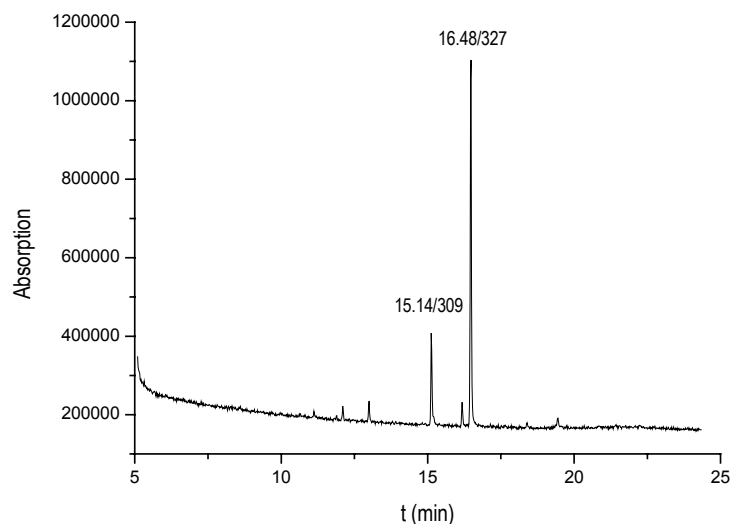


Abbildung 57: GC-Chromatogramm der kombinatorischen Elektrosynthese von mehreren Benzaldehydphenylhydrazonen, mit 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** , 16, 48 min) als Standard .

Der beobachtete Peak bei 15,14 min hat eine Masse von 309, was sich mit einem Benzonitriltrimeren erklären lässt (Abbildung 57). Parallele Ansätze mit mehreren Hydrazonen wurden von Märkle [Mär 02] nicht weiter verfolgt.

### 7.4.2 Verwendung von mehreren Benzonitrilen

In einer zweiten Serie von Experimenten wurde Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) mit einem Gemisch von mehreren unterschiedlich substituierten Benzonitrilen (Benzonitril (**6α**), 4-Methoxybenzonitril (**6β**), 2,4-Dimethoxybenzonitril (**6γ**) und 4-Nitrobenzonitril (**6δ**) oxidiert [Mär 02] (Tabelle 36).

Tabelle 36: Durchgeführte Analytik von präparativer kombinatorischer Elektrosynthese mit vier Benzonitrilen.

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril *	Elektrosynthetische Bedingungen (Refernzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	MS [M <sup>+</sup> ]
<b>5-2a</b> (104 mg)	<b>6α</b> (20 eq.), <b>6β</b> (20 eq.), <b>6γ</b> (20 eq.), <b>6δ</b> (20 eq.)	E <sub>init</sub> = 1000 mV	GC-MS	327, 357, 387 (372 fehlt)

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Es wurde wieder ein Standard zugegeben, in diesem Fall 1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1α**) und nach der Elektrolyse nach dem optimierten Verfahren aufgearbeitet. In der anschließenden analytischen GC-MS-Untersuchung konnten alle möglichen Triazole außer dem Produkt aus Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) und 4-Nitrobenzonitril (**6δ**) 5-(4-Nitro-phenyl)-3-(4-methoxy-phenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aδ**) gefunden werden.

### 7.4.3 Zeitliche Verfolgung der Kombinatorischen Synthesen

Nachdem kombinatorische Elektrolysen mit mehreren Benzonitrilen mit Erfolg durchgeführt worden waren, interessierte nun die Produktverteilung während der Elektrolyse. Hierzu wurden wieder zu verschiedenen Zeiten Proben aus der laufenden Elektrolyse von Märkle [Mär 02] entnommen, aufgearbeitet und sofort analytisch untersucht (Tabelle 37). Im ersten Experiment dieser Versuchsreihe wurde Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) als Edukt eingesetzt und mit einem Gemisch der bereits zuvor erfolgreich eingesetzten substituierten Benzonitrile umgesetzt.

Tabelle 37: Kombinatorische präparative Elektrosynthese mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**).

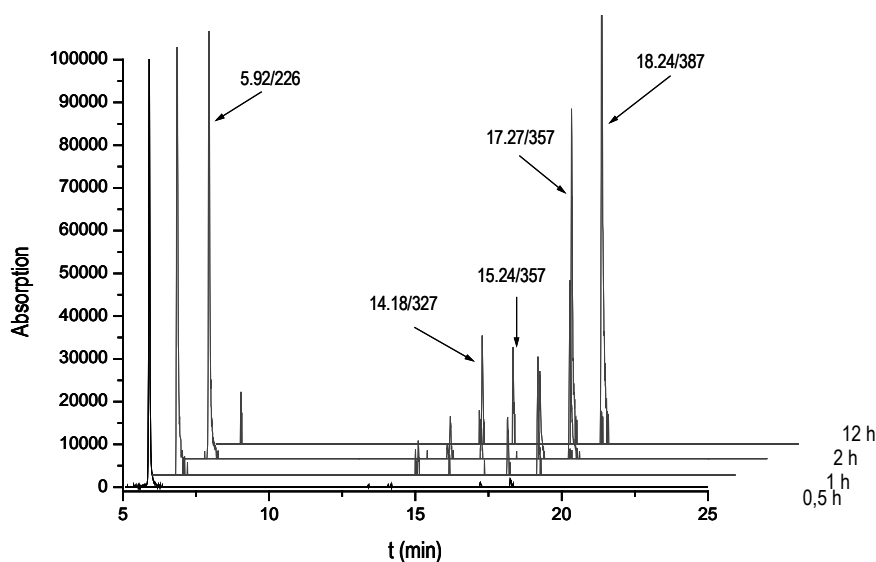
Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril*	Elektrosynthetische Bedingungen (Refernzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	gesucht
<b>5-2a</b> (0,35 mmol)	<b>6α</b> (20 eq.), <b>6β</b> (20 eq.), <b>6γ</b> (20 eq.), <b>6δ</b> (20 eq.)	E <sub>init</sub> = 900 mV	GC-MS	327, 357, 387, 372

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Nach 30 min wurde die Elektrolyse unterbrochen und 5 ml der Reaktionslösung entnommen und aufgearbeitet (optimierte Aufarbeitung). Weitere Proben wurden nach 1 h, 2 h und 12 h entnommen (Tabelle 38). Zur Analyse wurde die jeweils erhaltene Probe in Diethylether gelöst und mit GC-MS analysiert (Abbildung 58).

Tabelle 38: Erzielte Reinheiten der Elektrolyse von Anisaldehydphenylhydrazon nach 30, 60, 120 min und 12 h (SIM-Mode).

Zeit [h]	5-2a [Area]	5-2a [%]	7-2a $\alpha$ [Area]	7-2a $\alpha$ [%]	7-2a $\beta$ [Area]	7-2a $\beta$ [%]	7-2a $\gamma$ [Area]	7-2a $\gamma$ [%]	7-2a $\delta$ [Area]	7-2a $\delta$ [%]
0,5	3072060	96,8	11032	0,3	31549	1,0	60067	1,9	-	-
1	462958	78,3	17486	3,0	39611	6,7	70862	12,0	-	-
2	689913	55,5	52103	4,2	156815	12,6	345184	27,7	-	-
12	13164	2,5	41922	7,9	174120	32,9	300040	56,7	-	-

Abbildung 58: Zeitlicher Verlauf der elektrochemischen Produktbildung mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) als Edukt.

Stellt man die durch GC-MS-Messungen erhaltenen relativen Mengenverhältnisse zusammen und trägt sie graphisch auf, so ist der Reaktionsfortschritt am besten zu ersehen (Abbildung 59). Gut zu erkennen ist die Abnahme der Edukts (**5-2a**) und die gleichzeitig Zunahme der durch die elektrochemische Oxidation entstehenden Triazole (**7**).

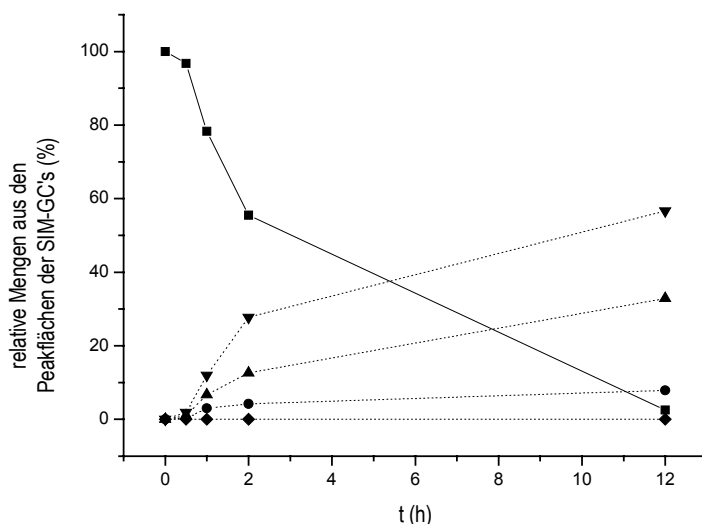


Abbildung 59: Zeitlicher Verlauf der Oxidation von Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**, -■-) in einem Gemisch von Benzonitril (**6α**), 4-Methoxybenzonitril (**6β**), 2,4-Dimethoxybenzonitril (**6γ**) und p-Nitrobenzonitril (**6δ**) zu 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aα**, -●-), 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aβ**, -▲-), 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aγ**, -▼-) und 3-(4-Methoxyphenyl)-5-(4-nitrophenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aδ**, -◆-).

Eindeutig ist bei dieser Bildung auch der Einfluss der Methoxysubstituenten sichtbar (Nucleophilie der jeweiligen Nitrile), je mehr dieser Methoxysubstituenten im Benzonitril vorhanden sind desto höher ist die gebildete Menge (2,4-Dimethoxybenzonitril > 4-Dimethoxybenzonitril > Benzonitril). 4-Nitrobenzonitril ergab kein Produkt.

Beim nächsten Versuch dieser Art wurde von Märkle [Mär 02] Benzaldehydphenylhydrazon (**5-1a**) als Edukt verwendet und mit den selben substituierten Benzonitrilen elektrosynthetisch umgesetzt (Tabelle 39).

Tabelle 39: Kombinatorische präparative Elektrosynthese mit Benzaldehydphenylhydrazon (**5-1a**).

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril *	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	gesucht
<b>5-1a</b> (0,35 mmol)	<b>6α</b> (20 eq.), <b>6β</b> (20 eq.), <b>6γ</b> (20 eq.), <b>6δ</b> (20 eq.)	E <sub>init</sub> = 900 mV	GC-MS	297, 327, 357, 342

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Nach 30 min wurde die Elektrolyse unterbrochen, 5 ml der Reaktionslösung entnommen und aufgearbeitet (optimierte Aufarbeitung). Weitere Proben wurden nach 1 h, 2 h und 9 h entnommen



(Tabelle 40). Zur Analyse wurde das jeweils erhaltene Analysematerial in Diethylether gelöst und mit GC-MS analysiert. Wurde Benzaldehydphenylhydrazon (**5-1a**) verwendet, konnten zwar einzelne Produktpeaks identifiziert werden, jedoch nur in schwacher, kaum quantitativ auswertbarer Intensität.

Tabelle 40: Erzielte Reinheiten der Elektrolyse von Benzaldehydphenylhydrazon nach 30, 60, 120 min und 9 h (SIM-Mode).

Zeit [h]	<b>5-1a</b> [Area]	<b>5-1a</b> [%]	<b>7-1a<math>\alpha</math></b> [Area]	<b>7-1a<math>\alpha</math></b> [%]	<b>7-1a<math>\beta</math></b> [Area]	<b>7-1a<math>\beta</math></b> [%]	<b>7-1a<math>\gamma</math></b> [Area]	<b>7-1a<math>\gamma</math></b> [%]	<b>7-1a<math>\delta</math></b> [Area]	<b>7-1a<math>\delta</math></b> [%]
0,5	462389	45,1	453979	44,2	44116	4,3	65800	6,4	-	-
1	513070	65,4	234518	29,9	0	0,0	36634	4,7	-	-
2	1897662	63,8	808271	27,2	89028	3,0	180835	6,1	-	-
9	795497	32,2	1291446	52,3	159659	6,5	224525	9,1	-	-

\* RT: 10.14 min, \*\* RT: 10.80 min

Wurde Anisaldehydmethoxyphenylhydrazon (**5-2b**) als Edukt für die kombinatorische Elektrosynthese von Märkle [Mär 02] verwendet, so ist die Analyse des Ergebnisses wieder eindeutig. Als Standard wurde 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (23,3 mg) zur Elektrolyse zugegeben (Tabelle 41).

Tabelle 41: Kombinatorische präparative Elektrosynthese mit Anisaldehydmethoxyphenylhydrazon (**5-2b**).

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril *	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	gesucht
<b>5-2b</b> (0,31 mmol)	<b>6<math>\alpha</math></b> (20 eq.), <b>6<math>\beta</math></b> (20 eq.), <b>6<math>\gamma</math></b> (20 eq.), <b>6<math>\delta</math></b> (20 eq.)	E <sub>init</sub> = 800 mV	GC-MS	357, 387 414, 402

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Nach 30 min wurde die Elektrolyse unterbrochen und 5 ml der Reaktionslösung entnommen und aufgearbeitet (optimierte Aufarbeitung). Weitere Proben wurden nach 1 h, 2 h und 12 h entnommen (Tabelle 42). Zur Analyse wurde das jeweils erhaltene Analysematerial in Diethylether gelöst und mit GC-MS analysiert.

Tabelle 42: Erzielte Reinheiten der Elektrolyse von Anisaldehydmethoxyphenylhydrazon (**5-2b**) nach 30, 60, 120 min und 12 h (SIM-Mode).

Zeit [h]	<b>5-1b</b> [Area]	<b>5-1b</b> [%]	<b>7-1b<math>\alpha</math></b> [Area]	<b>7-1b<math>\alpha</math></b> [%]	<b>7-1b<math>\beta</math></b> [Area]	<b>7-1b<math>\beta</math></b> [%]	<b>7-1b<math>\gamma</math></b> [Area]	<b>7-1b<math>\gamma</math></b> [%]	<b>7-1b<math>\delta</math></b> [Area]	<b>7-1b<math>\delta</math></b> [%]
0,5	3627118	88,8	56137	1,4	196304	4,8	204221	5,0	-	-
1	5727337	74,5	500878	6,5	630146	8,2	829401	10,8	-	-
2	7507367	67,5	1395790	12,6	1092620	9,8	1125794	10,1	-	-
12	0	0	1287657	28,52	1958091	43,37	1268759	28,10	-	-

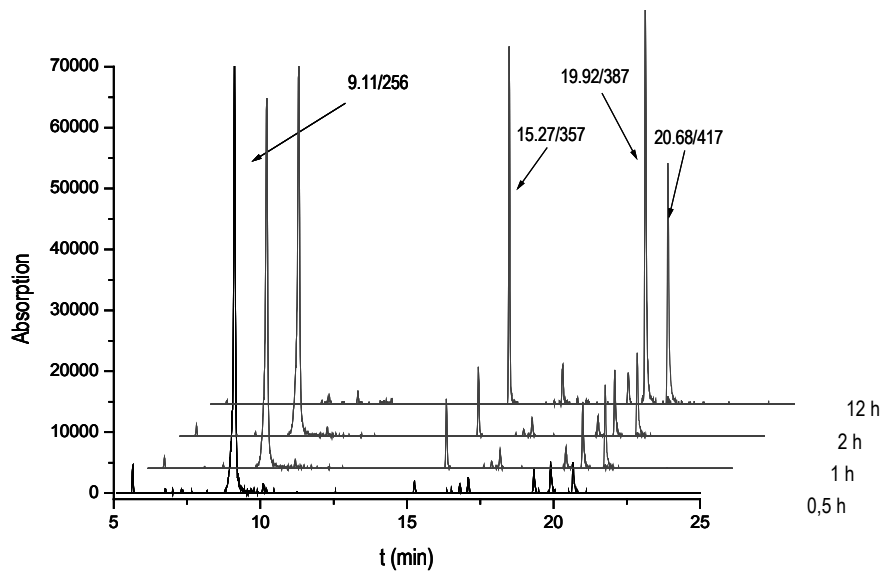


Abbildung 60: Zeitlicher Verlauf der Elektrololyse von Anisdehyd-methoxyphenylhydrazon (**5-2b**).

Wieder ist sehr deutlich die Abnahme des Edukts (**5-2b**) und die Zunahme der Produktkonzentration zu sehen. Ein Triazol aus **5-2b** und 4-Nitrobenzonnitril kann auch in diesem Fall nicht gefunden werden (Abbildung 60 und Abbildung 61).

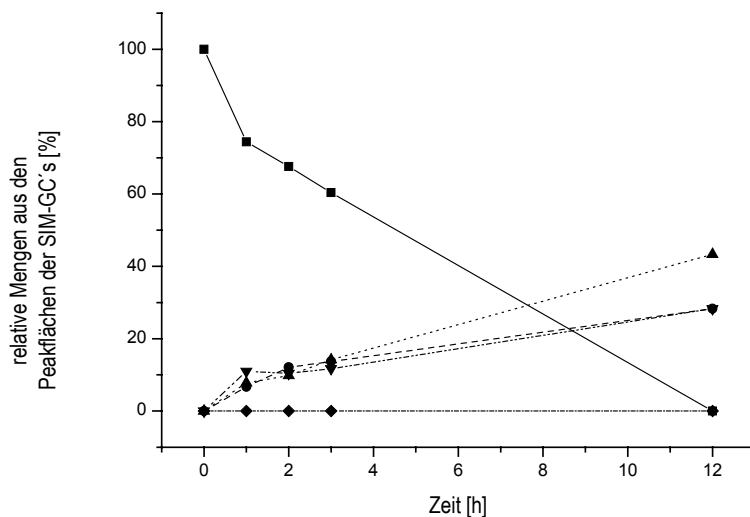


Abbildung 61: Zeitlicher Verlauf der Oxidation von Anisaldehyd-4-methoxyphenylhydrazon (**5-2b**, in einem Gemisch von Benzonnitril (**6α**), 4-Methoxybenzonnitril (**6β**), 2,4-Dimethoxybenzonnitril (**6γ**) und p-Nitrobenzonnitril (**6δ**) zu 1,3-Bis-(4-methoxy-phenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2bα**, -▼-), 1,3,5-Tris-(4-methoxy-phenyl)-[1,2,4]triazol (**7-2bβ**, -▲-), 5-(2,4-Dimethoxy-phenyl)-1,3-bis-(4-methoxy-phenyl)-1H-[1,2,4]triazol (**7-2aγ**, -●-) und 1,3-Bis-(4-methoxy-phenyl)-5-(4-nitrophenyl)-phenyl-[1,2,4] triazol (**7-2aδ**, -◆-).

Nun wurde ebenfalls wieder Benzaldehydnitrophenylhydrazon (**5-3a**) eingesetzt. Nach den bereits vorgenommenen Einzelumsetzungen, sollte hier die elektrochemische Umsetzung nicht so glatt von statten gehen (Tabelle 43).

Tabelle 43: Kombinatorische präparative Elektrosynthese mit Benzaldehydnitrophenylhydrazon (**5-3a**).

Hydrazon (Einwaage)*	Benzonitril*	Elektrosynthetische Bedingungen (Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	Analytik	gesucht
<b>5-3a</b> (0,28 mmol)	<b>6<math>\alpha</math></b> (20 eq.), <b>6<math>\beta</math></b> (20 eq.), <b>6<math>\gamma</math></b> (20 eq.), <b>6<math>\delta</math></b> (20 eq.)	$E_{\text{init}} = 1400 \text{ mV}$	GC-MS	342, 372 402, 387

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Als Standard wurde 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (21,9 mg) zur Elektrolyse zugegeben. Nach 30 min wurde die Elektrolyse unterbrochen, 5 ml der Reaktionslösung entnommen und aufgearbeitet (optimierte Aufarbeitung). Weitere Proben wurden von Märkle [Mär 02] nach 1 h, 2 h und 14 h entnommen (Tabelle 44).

Tabelle 44: Erzielte Reinheiten der Elektrolyse von Benzaldehydnitrophenylhydrazon (**5-3a**) nach 30, 60, 120 min und 12 h (SIM-Mode).

Zeit [h]	<b>5-3a</b> [Area]	<b>5-3a</b> [%]	<b>7-3a<math>\alpha</math></b> [Area]	<b>7-3a<math>\alpha</math></b> [%]	<b>7-3a<math>\beta</math></b> [Area]	<b>7-3a<math>\beta</math></b> [%]	<b>7-3a<math>\gamma</math></b> [Area]	<b>7-3a<math>\gamma</math></b> [%]	<b>7-3a<math>\delta</math></b> [Area]	<b>7-3a<math>\delta</math></b> [%]
0,5	13930708	100,0	0	0,0	-	-	0	0,0	0	0,0
1	7704118	100,0	0	0,0	-	-	0	0,0	0	0,0
2	646607	84,7	91927	12,0	-	-	0	0,0	24710	3,2
12	0	0	251495	79,8	-	-	38786	12,3	24881	7,9

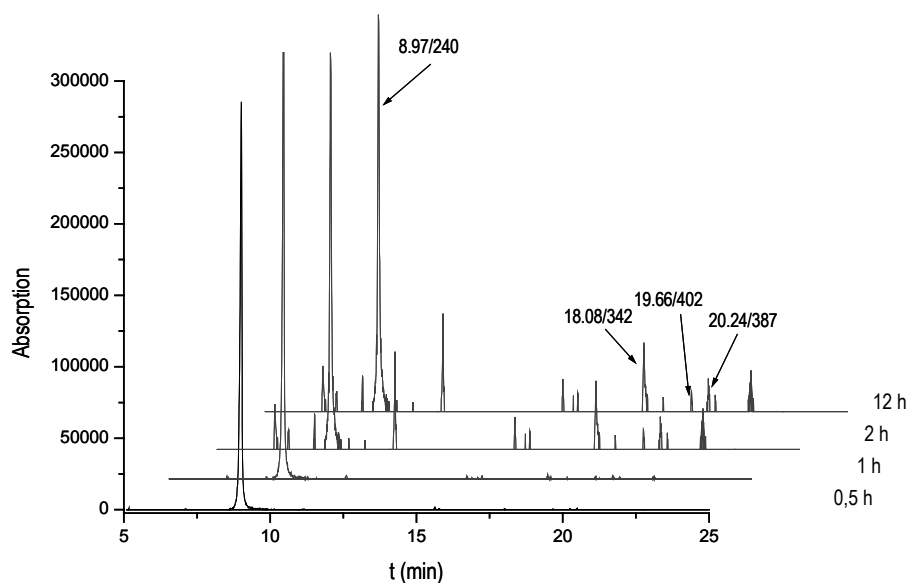


Abbildung 62: Zeitlicher Verlauf mit Benzaldehydnitrophenylhydrazon (**5-3a**).

Bei der Oxidation von p-Nitrobenzaldehydphenylhydrazon (**5-3a**) in Gegenwart der Nitrilmischung konnte mit Hilfe des Single Ion Monitoring keines der erwarteten Triazole nachgewiesen werden (Abbildung 62).

Diese Konkurrenzexperimente bestätigen, nach Märkle [Mär 02], deutlich die Selektivität der elektrochemischen Triazolsynthese aus Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**) und Benzonitrilen (**6**) und zeigen eine erhebliche Abhängigkeit von der Elektronendichte, die durch die unterschiedlichen Substituenten entsteht, in den reagierenden Bestandteilen. Diese Informationen bilden die Grundlage für eine Anwendung der Triazolbildung bei multiplen, parallelen Elektrosynthesen.

## 7.5 Anwendungsbeispiele in Mikrotiterplatten und Versuche zur analytischen Identifizierung

Als Beispiel wurde von Märkle [Mär 02] die bereits mit Erfolg getestete anodische 1,2,4-Triazolbildung (7) aus Benzaldehydphenylhydrazonen (5) und Nitrilen (6) gewählt. Bei Einsatz unterschiedlicher Benzaldehydphenylhydrazone (5) in den Wells sollten die einzelnen Elemente der Triazolkollektion räumlich getrennt entstehen.

Bei ersten Versuchen zur Umsetzung der Benzaldehydphenylhydrazone (5) mit Benzonitril (6 $\alpha$ ) konnte analytisch kein 1,2,4-Triazol (7) nachgewiesen werden. Zumeist wurde nur das eingesetzte Benzaldehydphenylhydrazon (5) in den GC-Chromatogrammen als einziger Peak gefunden (Abbildung 63).

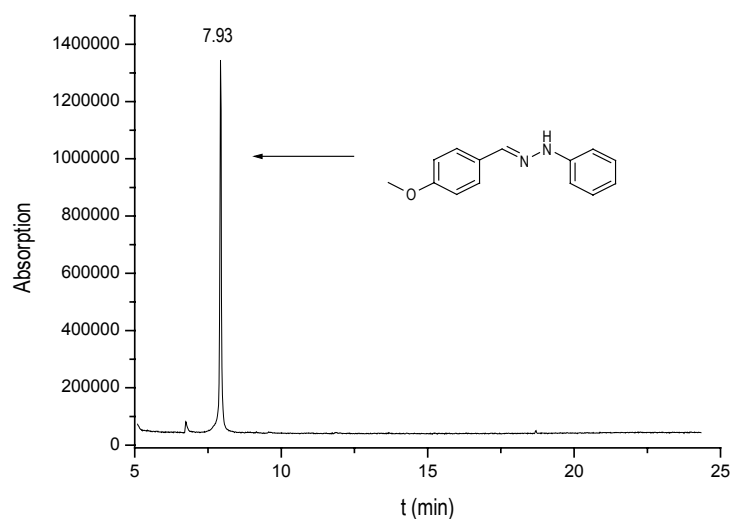


Abbildung 63: GC-Chromatogramm einer Elektrosynthese mit Anisaldehydphenylhydrazon (5-2a) in Gegenwart von Benzonitril (6 $\alpha$ ) in Mikrotiterplatten.

Wurde der SIM-Mode am GC-MS-Gerät eingestellt, d.h. suchte man gezielt nach der Masse des jeweiligen Produktes, so konnte man sehr geringe Mengen in einigen Analysenproben von diesem detektieren (Abbildung 64).

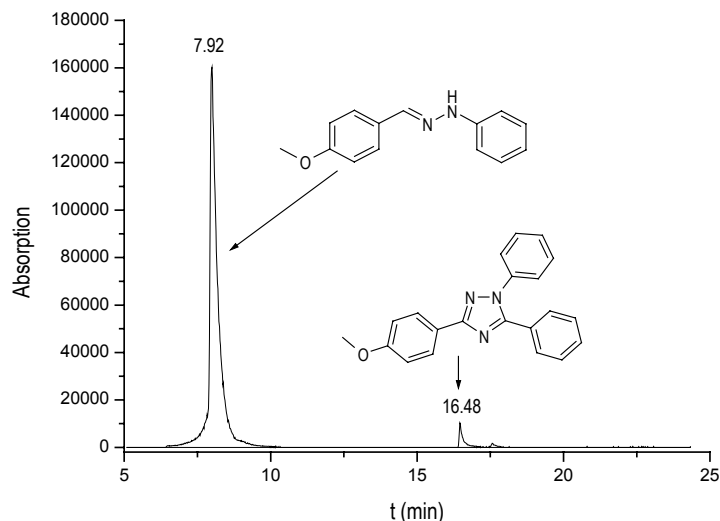


Abbildung 64: GC-Chromatogramm einer Elektrosynthese mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) in Gegenwart von Benzonitril (**6α**) in Mikrotiterplatten (SIM-Mode).

Die analytischen Ergebnisse der von Märkle [Mär 02] durchgeführten Elektrosynthesen mit gleichen Edukten parallel in mehreren Wells waren jedoch reproduzierbar. Die durchgeführten GC-MS-Analysen zeigten vor allem Eduktpeaks, in manchen Fällen konnte in geringen Mengen das entsprechende Produkt **7-1αα**, **7-2αα**, **7-1cα** unter Verwendung des SIM-Modus nachgewiesen werden. Auch hier ergab Anisaldehydphenylhydrazon **5-2a** als Edukt die besten Ergebnisse bei der Elektrosynthese in Gegenwart von Benzonitril (**6α**) (Abbildung 65).

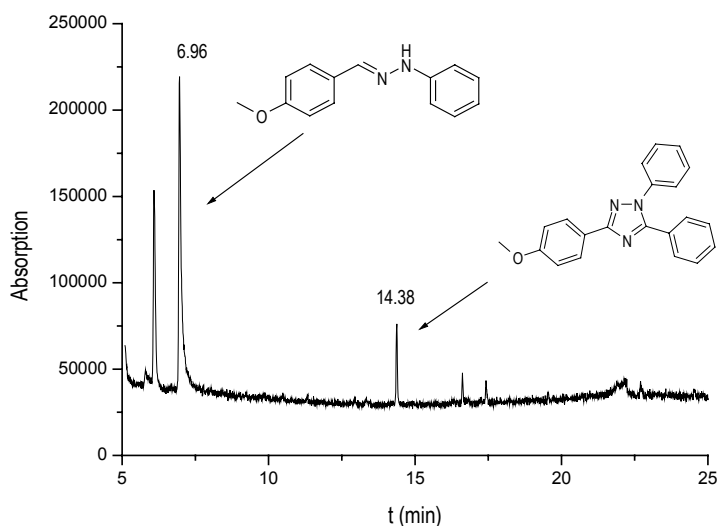


Abbildung 65: GC-Chromatogramm einer Elektrosynthese mit Anisaldehydphenylhydrazon (**5-2a**) in Gegenwart von Benzonitril (**6α**) in Mikrotiterplatten mit dem besten Analysenergebnis.

Die bereits bewährte optimierte Aufarbeitung war für Mikrotiterplatten nicht praktikabel. Als die bisher günstigste Methode erwies sich das Verdunstenlassen des für die Elektrosynthese verwendeten Lösungsmittels DCM am Ende der Elektrolysen und die Extraktion der Produkte mit Diethylether. Zur leichteren Separierung der Produkte könnte man das Nitril polymergebunden zusetzen, was auch durch Märkle [Mär 02] versucht wurde. Unter den derzeitigen Bedingungen schlug ein entsprechendes Experiment jedoch fehl, da der Diffusionsweg für die Radikalkationen zu den Polymerbeads offensichtlich zu lang war und sie vorher in anderer Weise abreagieren konnten. Selbst eine Verlängerung der Elektrolysedauer auf bis zu 15 min durch Märkle [Mär 02] zeigte keine Verbesserung.

## 8 Zusammenfassung – Analysen von Elektrosynthesen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde erfolgreich GC-MS als geeignetes Analysenverfahren für die Identifikation von Produkten aus Elektrosynthesen etabliert und das GC-MS-Gerät probeweise für eine spätere Hochdurchsatz-Analytik mit einem Autosampler betrieben.

Eine größere Kollektion von 140 Benzaldehydphenylhydrazonen wurde hergestellt, als Grundlage für die Elektrosynthesen von Märkle [Mär 02].

Um Anhaltspunkte für die Identifikation der Produkte aus der von Märkle gewählten Modellsynthese von 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazol zu haben, wurde eine entsprechende Verbindungskollektion von 1,2,4-Triazolen synthetisiert.

Die zunächst auftretenden Probleme bei der analytischen Identifizierung der elektrosynthetisch generierten 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazole konnten durch Ausarbeitung eines Aufarbeitungsprotokolls beseitigt werden.

Durch die Implementation der GC-MS-Analyse als Nachweismethode für die Elektrosynthese war die Identifikation aller von Märkle präparativ durchgeführten Syntheseprodukte möglich, wie auch die Aufzeichnung des zeitlichen Verlaufs der Produktbildung einiger Elektrosynthesen [Mär 02].

Auch die Quantifizierung der elektrosynthetisch hergestellten 1,3,5-Triphenyl-1,2,4-triazole konnte mit GC-MS- und GC-Analytik reproduzierbar durchgeführt werden.

Der Nachweis der Produkte von Elektrosynthesen aus Eduktmischungen wurde ebenso wie auch ihre zeitliche Verfolgung mit der etablierten GC-MS-Analytik realisiert.



## 9 Experimenteller Teil

### 9.1 Chemikalien und Lösungsmittel

Die Lösungsmittel DMF, DCM, THF, DMSO, Toluol, Diethylether und ACN wurden von Fluka (Neu-Ulm), Ethanol von Merck (Darmstadt) in p.a. Qualität bezogen. Alle Lösungsmittel sind wasserfrei, mit Argon gesättigt und werden über Molekularsieb aufbewahrt.

Alle übrigen verwendeten Chemikalien wurden von Aldrich (Steinheim), Fluka (Neu-Ulm), Lancaster (Mühlheim/Main) und Novabiochem (Bad Soden) bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Das für die HPLC verwendete Acetonitril und Methanol (LiChrosolv Gradient Grade) sowie die hierfür verwendete Trifluoressigsäure (Uvasol) wurden ebenfalls von Merck (Darmstadt) bezogen. Das für die HPLC verwendete entionisierte Wasser wurde zuvor mittels einer Kartuschenfiltrationsanlage von Millipore (Eschborn) aufgereinigt.

Für die NMR-Spektrometrie wird deuteriertes Chloroform, deuteriertes Dimethylsulfoxid und deuteriertes Wasser der Firma Merck (Darmstadt) verwendet.

Das (Hydroxymethyl)-polystyrolharz (Wangharz 1.13 mmol/g, 200-400 mesh) wird von der Firma Rapp Polymere, Tübingen bezogen.

## 9.2 Analytik

### 9.2.1 FT-ATR-IR-Spektroskopie

Die Festphasenreaktionen wurden mittels Fourier-Transform-Attenuated-Total-Reflection-Infrarot-Spektroskopie (FT-ATR-IR-Spektroskopie) verfolgt. Hierzu wurde ein Bruker Vector 22 Spektrometer verwendet, welches mit einer Harrick's SplitPea<sup>®</sup> ATR-Einheit ausgerüstet ist. Die Harze wurden direkt beim Aufpressen auf einen Si-Kristall vermessen. Die Spektren wurden mit 16 Scans aufgenommen, und eine automatische ATR-Korrektur wurde durchgeführt. Kohlendioxid-Absorptionsbanden werden aus Gründen der Übersichtlichkeit teilweise automatisch aus dem Spektrum eliminiert.

### 9.2.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Analytische Trennungen wurden an einem HPLC-System von Waters (Eschborn) durchgeführt, das sich aus einem Autosampler WISP 712, einer programmierbaren Pumpeneinheit 626 und einem Absorbance Photodiodenarraydetektor 486 zusammensetzt. Die Steuerung erfolgt über eine spezielle Software der Firma Waters (Millenium Version 2.10).

Die Anlage ist mit einer analytischen Säule Nucleosil 100 C<sub>18</sub> (250 × 2 mm, Korngröße 5 µm, Grom, Herrenberg) ausgerüstet, die mit Gradienten von Wasser mit 0,1 % TFA (v / v) (Laufmittel A) und Acetonitril mit 0,1 % TFA (v / v) (Laufmittel B) bei einer Flussrate von 300 µl / min betrieben wurde. Als Standardgradienten wurden eingesetzt: 0 % bzw. 10 % B auf 100 % B innerhalb 35 oder 40 min. Die UV-Detektion erfolgte bei  $\lambda = 214$  nm und die Reinheit der Produkte wurde anhand der Peakflächen errechnet. Eine absolute Gehaltsangabe ist aufgrund der unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten der Mischungskomponenten nicht möglich.

Präparative HPLC-Trennungen wurden an einem HPLC-System von Waters (Eschborn), bestehend aus Pumpeneinheit 600, UV-Detektor 481, einem Spektrophotometer 481 und Data Module 740, durchgeführt. Als Trennsäule wurde eine Nucleosil C<sub>18</sub> (250 × 20 mm, Korngröße 5 µm, Grom, Herrenberg) verwendet, die bei einer Flussrate von 10 ml / min betrieben wurde. Die für die Trennung erforderlichen Gradienten wurden anhand analytischer Läufe ermittelt. Die UV-Detektion erfolgte in der Regel bei  $\lambda = 214$  nm.

### 9.2.3 ESI-Massenspektrometrie

ESI-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 (Weiterstadt) durchgeführt. Das HPLC-System wurde so eingestellt, dass während der gesamten Dauer der Analyseserie 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  $\mu\text{l}$  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.

### 9.2.4 ESI-FT-ICR-Massenspektrometrie

Für ESI-FT-ICR-MS-Messungen wurde ein APEX™ II Spektrometer von Bruker Daltonics (Bremen) verwendet. Die Probenzufuhr erfolgt über eine HPLC-Anlage HP 100 von Hewlett-Packard (Waldbronn). Dabei werden 5  $\mu\text{l}$  einer Probe der Konzentration  $c = 1 \mu\text{g} / \text{ml}$  injiziert und als mobile Phase ein Wasser / ACN-Gemisch (50 % / 50 %) (0,1 % Ameisensäure) verwendet. Die Messzeit beträgt jeweils 30 s bei 16 aufsummierten Scans.

Für HPLC-MS-Messungen wurde die obengenannte HPLC-Anlage, die mit einer Nucleosil C<sub>18</sub> Säule (100  $\times$  2 mm, Korngröße 5  $\mu\text{m}$ , Grom, Herrenberg / Germany) ausgestattet war, verwendet. Diese wurde mit Gradienten von Wasser mit 0,1 % TFA (v / v) (Laufmittel A) und Acetonitril mit 0,1 % TFA (v / v) (Laufmittel B) bei einer Flussrate von 70  $\mu\text{l} / \text{min}$  betrieben.

### 9.2.5 HPLC-MS-Messungen

Analytische HPLC-MS-Messungen wurden auf einem ESI-Ion Trap MS (Esquire 3000plus) Gerät der Firma Bruker Daltonics (Bremen) gekoppelt mit einer HP 1100 ChemStation Agilent (Waldbronn / Germany) durchgeführt. Die Probenzufuhr erfolgt über die HPLC-Anlage, wobei jeweils 15  $\mu\text{l}$  einer Probe injiziert werden. Für die Messungen wurde eine Purosphere RP-C<sub>18</sub> Säule (2-125-4 mm, Korngröße 4  $\mu\text{m}$ , Merck, Darmstadt) verwendet. Zur Trennung wurde ein Gradient von Wasser mit 0,1 % TFA (v / v) (Laufmittel A) und Acetonitril mit 0,1 % TFA (v / v) (Laufmittel B) eingesetzt: 0 % B

auf 100 % B innerhalb 5 min bei einer Flussrate von 1,5 ml / min. Die UV-Detektion erfolgte bei  $\lambda = 214$  nm. Da die Flussrate von 1,5 ml / min für die MS-Messungen nicht geeignet sind, wurde die Flussrate vor dem MS durch einen T-Splitter unter 500  $\mu$ l / min gesetzt. Die MS-Messungen wurden im positiv-Ion-Mode durchgeführt.

### 9.2.6 NMR-Spektroskopie

Eindimensionale  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden an einem Bruker AC 250 MHz Spektrometer bzw. einem Bruker AMX 400 MHz Spektrometer (Bruker Analytik, Karlsruhe) aufgenommen. Die Messfrequenzen betragen 250,13 MHz ( $^1\text{H}$ ) und 62,90 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). Als interner Standard für die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Spektroskopie wurde auf Tetramethylsilan bezogene Signale der deuterierten Lösungsmittel verwendet. Als Lösungsmittel wurde  $\text{CDCl}_3-d_1$  und  $\text{DMSO}-d_6$  verwendet.

### 9.2.7 GC-Messungen

Gaschromatographie-Messungen wurden an einem Chrompack CP 9000 Gaschromatographen der Firma Varian (Palo Alto, USA) mit einem FID als Detektor zur Quantifizierung der präparativen elektrochemischen Ansätze durchgeführt. Die Messungen erfolgten auf einer S 957, DB 5 M&S Säule (Länge 15 m,  $\varnothing$  250  $\mu$ m, Filmdicke 0,1  $\mu$ m) mit Wasserstoff als Trägergas (konstanter Gasstrom). Der Injektor blieb unbeheizt, da die Einspritzung „on-column“ erfolgte, was mit einer Spezialanalysespitze erfolgte.

Die Temperatur des Detektors betrug 330 °C. Es wurde ein Temperaturprogramm gefahren bei dem die Starttemperatur 80 °C betrug. Es wurde mit 30 °C / min auf 175 °C hochgeheizt und danach mit 6 °C / min auf 300 °C. Die Proben wurden in Messkolben eingewogen und mit Toluol bis zur Eichmarke aufgefüllt.

### 9.2.8 GC-EI-MS-Messungen

Gaschromatographie-Elektronenstoßionisations-Massenspektrometrie-Messungen wurden an einer HP 6890 / 5973 GC-EI-MS-Anlage von Hewlett Packard (Waldstetten) durchgeführt.

Zum Nachweis von chemischen Substanzen wurde die GC-EI-MS-Anlage mit einer DB5-MS-Säule (11 m X 0,25 mm, Filmdicke 0,1  $\mu$ m, J&M, Aalen) bei einem konstanten Gasstrom (He, 30 cm / s) und einem Temperaturgradienten (50 °C für 3 min, dann 6 °C / min hochheizen bis 300 °C und 2 °C Temperatur halten) betrieben. Die in Toluol gelöste Probe wird unter Nutzung des Einspritzblocks injiziert.

### 9.3 Syntheseprotokolle Kombinatorische Chemie

#### Abspaltungsprotokoll

Die Abspaltung vom polymeren Träger (25 mg) erfolgt bei Raumtemperatur mit 25 % TFA / DCM (1 ml) im Schüttler. Nach 1 h wird die Lösung abfiltriert, das Harz mit DCM (1 ml) versetzt, abfiltriert und die vereinigten organischen Filtrate am Vakuum zur Trockenen eingeeengt. Das so erhaltene Rohprodukt wird aus t-BuOH / H<sub>2</sub>O (4:1) (2 ml) gefriergetrocknet und anschließend mit ES-MS und HPLC analysiert.

#### 9.3.1 Beladung des Wang-Harzes mit Acrylsäurechlorid

Wangharz (2,0 g; Beladung 1,13 mmol / g; 2,26 mmol) wurde in abs. DCM (14 ml) suspendiert und für 20 min in ein Eisbad gestellt. Nach Zugabe von DIPEA (3,46 ml; 20 mmol) und Acrylsäurechlorid (1,62 ml; 20 mmol) wurde 4 h bei RT geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

#### 9.3.2 Belegung des acylfunktionalisierten Harzes mit Piperazin

Acrylwangharz (2,0 g; 2,26 mmol) wurde in abs. DMF (14 ml) suspendiert und mit Piperazin (487 mg; 22,6 mmol; 10 eq) und für 22 h bei RT geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

#### 9.3.3 Strecker-Reaktion mit Cyclohexanon

Piperidinacrylharz (je 25 mg; 0,0298 mmol) wurde in abs. DMF (200 µl) suspendiert, Cyclohexanon (12,6 µl; 0,119 mmol; 4 eq), Tmof (19,5 µl; 0,179 mmol; 6 eq) und Acetoncyanhydrin (27,2 µl; 0,298 mmol; 10 eq) zugegeben und für 72 h bei 45 °C erwärmt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

#### 9.3.4 Strecker-Reaktion mit Benzaldehyd (Optimierung)

Piperidinacrylharz (je 25 mg; 0,0283 mmol) wurden in abs. DMF (300 µl) suspendiert, Benzaldehyd (20 µl; 0,113 mmol; 4 Äq), Tmof (20 µl; 0,179 mmol; 6 eq) und Acetoncyanhydrin (25 µl; 0,283 mmol; 10 eq) wurden zugegeben und bei verschiedenen Temperaturen (45 °C und 60 °C) und unterschiedlich lange (24 h, 48 h, 72 h) erwärmt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

### 9.3.5 Bibliothekssynthese

Pro Ansatz wurde Piperidinacrylharz (je 25 mg; 0,0283 mmol) in abs. DMF (300  $\mu$ l) suspendiert. Die verschiedenen Aldehyde (0,119 mmol; 4 Äq), und Acetoncyanhydrin (25  $\mu$ l; 0,283 mmol; 10 eq) wurden zugegeben und für 48 h bei 60 °C erwärmt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

NMR-Daten für 3-[4-(Cyanophenylmethyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.78-2.67 (m, 6 H), 3.28-3.15 (m, 6 H), 4.83 (s, 1 H), 7.41-7.31 (m, 5H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 28.8, 46.4, 51.7, 52.1, 60.9, 114.5, 127.8, 129.0, 129.5, 131.4, 172.0.

NMR-Daten für 3-[4-(1-Cyano-3-phenylpropyl)-piperazin-1-yl]-propionsäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 1.95-1.93 (dd, 2H), 2.77-2.62 (m, 8H), 3.40-3.28 (m, 7H), 7.24-7.07 (m, 5H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 29.0, 31.2, 31.5, 31.8, 51.9, 52.5, 55.8, 116.0, 126.6, 128.5, 128.7, 139.5, 172.7.

NMR-Daten für 3-{4-[Cyano-(3-hydroxyphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}- propionsäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.77-2.66 (m, 6H), 3.30-3.16 (m, 8H), 4.76 (s, 1H), 6.86-6.75 (m, 6H), 7.14 (dd, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 28.8, 46.4, 51.7, 52.1, 60.7, 114.6, 116.7, 118.8, 130.1, 132.6, 157.6, 172.2;

NMR-Daten für 3-{4-[(2-Chlorphenyl)-cyanomethyl]-piperazin-1-yl}- propionsäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.91-2.81 (dd, 4H), 3.29-3.15 (m, 8H), 5.16 (s, 1H), 7.43-7.30 (m, 1H), 7.54-7.50 (m, 3H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 28.6, 46.2, 51.5, 52.0, 58.1, 113.9, 127.0, 129.2, 129.7, 130.4, 130.9, 134.2, 172.0.

NMR-Daten für 3-{[4-(2-Carboxyethyl)-piperazin-1-yl]-cyanomethyl}-benzoesäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 2.69-2.63 (ddd, 5H), 3.20-3.14 (dd, 7H), 5.64 (s, 1H), 7.72-7.58 (m, 2H), 8.03-7.98 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 29.1, 51.2, 51.6, 59.7, 115.3, 128.5, 129.3, 129.9, 131.4, 132.1, 133.1, 166.6, 171.7.

NMR-Daten für 3-{4-[Cyano-(4-trifluormethylphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 2.82-2.72 (m, 6H), 3.31-3.22 (m, 6H), 4.95 (s, 1H), 7.66-7.57 (dd, 4H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 28.6, 46.5, 51.7, 52.1, 60.7, 113.8, 126.0, 128.3, 135.5, 172.0.

NMR-Daten für 3-{4-[Cyano-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-methyl]-piperazin-1-yl}-propionsäure:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 2.80-2.72 (m, 6H), 3.32-3.20 (m, 6H), 3.78 (s, 3H), 3.81 (s, 6H), 4.75 (s, 1H), 6.64 (s, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 28.8, 46.5, 51.0, 52.0, 56.1, 60.7, 61.0, 105.0, 114.6, 127.0, 138.7, 153.5, 172.0.

### 9.3.6 Funktionalisierung mit Allylbromid durch Hofmann-Eliminierung

Polymergebundenes α-Aminonitril (je 25 mg; 0,029 mmol) wurden in abs. DMF (300 μl) suspendiert, Allylbromid (13 μl; 0,148 mmol, 5 eq.) zugegeben und 20 h bei Raumtemperatur in einen Schüttler gestellt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

NMR-Daten für (4-Allylpiperazin-1-yl)-phenylacetonitril:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 2.86 (br s, 6H), 3.57 (d, J=7.5Hz, 4H), 4.74 (s, 1H), 5.41 (dd, J=1.0Hz, J=17.0Hz, 1H), 5.47 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.96-5.80 (m, 1H), 7.43-7.33 (m, 5H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 50.7, 58.8, 61.0, 114.7, 126.0, 128.0, 129.2, 129.7, 131.6.

NMR-Daten für 2-(4-Allylpiperazin-1-yl)-4-phenylbutyronitril:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 2.09-1.94 (td, 2H), 2.80-2.60 (m, 5H), 2.93-2.86 (m, 3H), 3.32 (s, 1H), 3.41 (t, 2H), 3.59 (d, 2H), 5.52-5.41 (m, 2H), 5.94-5.77 (m, 1H), 7.28-7.09 (m, 5H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*<sub>1</sub>) δ: 30.9, 31.8, 50.6, 55.6, 58.7, 115.7, 125.6, 126.3, 126.6, 128.3, 128.7, 139.2.

NMR-Daten für (4-Allylpiperazin-1-yl)-(3-hydroxyphenyl)-acetonitril:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 2.78 (s, 5H), 3.57 (d,  $J=10.5\text{Hz}$ , 2H), 4.72 (s, 1H), 5.50-5.34 (dd,  $J=10.0\text{Hz}$ , 2H), 5.91-5.75 (m, 1H), 6.89-6.77 (m, 3H), 7.28-7.09 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 50.9, 58.9, 60.7, 69.2, 114.7, 114.8, 116.8, 118.8, 125.5, 126.5, 130.2, 132.7, 157.6.

NMR-Daten für (4-Allylpiperazin-1-yl)-(2-chlorphenyl)-acetonitril:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 2.87 (s, 5H), 3.57 (d,  $J=10.5\text{Hz}$ , 2H), 5.10 (s, 1H), 5.50-5.37 (dd, 2H), 5.93-5.77 (m, 1H), 7.42-7.26 (m, 3H), 7.55-7.50 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 50.7, 58.1, 58.9, 114.1, 125.8, 126.1, 127.2, 129.4, 130.0, 130.6, 131.1, 134.3.

NMR-Daten für 3-[(4-Allylpiperazin-1-yl)-cyanomethyl]-benzoesäure:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 2.67 (br s, 2H), 3.37 (br s, 5H), 3.74 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 5.52-5.45 (dd, 2H), 5.67 (s, 1H), 5.96-5.82 (m, 1H), 7.72-7.59 (m, 2H), 8.04-7.98 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 50.4, 57.7, 59.6, 115.2, 125.0, 127.3, 128.5, 129.4, 129.9, 131.5, 132.0, 133.0, 166.7.

NMR-Daten für (4-Allylpiperazin-1-yl)-(4-trifluormethy-phenyl)-acetonitril:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 2.85 (s, 5H), 3.59 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 4.88 (s, 1H), 5.51-5.39 (dd, 2H), 5.94-5.78 (m, 1H), 7.66-7.56 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 50.6, 58.8, 60.5, 113.9, 125.7, 126.1, 126.2, 126.3, 128.4, 131.7, 132.2, 135.6.

NMR-Daten für (4-Allylpiperazin-1-yl)-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-acetonitril:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 2.85 (s, 5H), 3.59 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 3.78 (s, 3H), 3.81 (s, 6H), 4.70 (s, 1H), 5.51-5.40 (dd, 2H), 5.96-5.79 (m, 1H), 6.62 (s, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 50.7, 56.2, 58.8, 60.8, 61.0, 105.1, 114.8, 125.8, 126.1, 127.0, 138.8, 153.6.

### 9.3.7 Belegung des Wang-Harzes mit 4-Nitrophenylchloroformiat

Wangharz (2,0 g; 2,26 mmol) wurde in abs. Pyridin (10 ml) und abs. DCM (30 ml) suspendiert und 4-Nitrophenylchloroformiat (1,68 g; 8,3 mmol; 3,7 eq.) zugegeben. Nachdem die Reaktionsmischung 2 h



auf Eis und 6 h bei RT geschüttelt worden war, wurde die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

### 9.3.8 Herstellung von Piperazincarbonat-Wang-Harz

Das mit 4-Nitrophenylchloroformiat aktivierte Wang-Harz (2,0 g; 2,6 mmol) wurde in abs. DCM (32 ml) suspendiert, Piperazin (10 g; 116,1 mmol; 50 eq.) zugegeben und für 16 h bei Raumtemperatur in den Schüttler gestellt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

### 9.3.9 Strecker-Reaktion mit Urethan-Linker (Bibliothek)

Mit Piperazin vorbelegtes Wang-Harz mit Urethan-Linker (je 25 mg; 0,0283 mmol) wurden in abs. DMF (200  $\mu$ l) suspendiert und verschiedenen Aldehyde (0,113 mmol, 4 eq.) sowie Acetoncyanhydrin (27,2  $\mu$ l; 0.283 mmol; 10 eq) zugegeben. Nachdem 48 h bei 60 °C erhitzt worden war, wurde die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

NMR-Daten für Phenylpiperazin-1-yl-acetonitril:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.74 (dd, 4H), 3.18 (dd, 4H), 4.88 (s, 1H), 7.46-7.33 (m, 5H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 43.0, 46.0, 61.5, 114.4, 127.7, 129.0, 129.5, 131.3.

NMR-Daten für (3-Hydroxyphenyl)-piperazin-1-yl-acetonitril:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.72 (dd, 4H), 3.09 (dd, 4H), 4.83 (s, 1H), 6.92-6.78 (m, 3H), 7.17 (dd, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 43.0, 46.2, 61.2, 114.4, 114.5, 116.6, 118.6, 130.0, 132.5, 157.6.

NMR-Daten für (2-Chlorphenyl)-piperazin-1-ylacetonitril:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.81-2.80 (dd, 4H), 3.20-3.08 (dd, 4H), 5.06 (s, 1H), 7.42-7.26 (m, 3H), 7.54-7.49 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 43.2, 46.3, 58.8, 114.2, 127.1, 129.5, 130.0, 130.7, 131.1, 134.5.

NMR-Daten für 3-(Cyanopiperazin-1-ylmethyl)-benzoesäure:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 2.58-2.63 (m, 2H), 2.82-2.77 (m, 2H), 3.38 (s, 4H), 5.46 (s, 1H), 7.73-7.59 (m, 2H), 8.04-7.98 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 42.7, 45.9, 60.0, 115.3, 128.5, 129.3, 129.9, 131.4, 132.1, 133.0, 166.7.

NMR-Daten für Piperazin-1-yl-(4-trifluoromethylphenyl)-acetonitril:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 2.82-2.67 (m, 4H), 3.26-3.11 (m, 4H), 4.96 (s, 1H), 7.67-7.59 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 43.0, 46.4, 61.1, 113.8, 126.0, 128.2, 135.4.

NMR-Daten für Piperazin-1-yl-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-acetonitril:

$^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 2.78 (br s, 4H), 3.20 (br s, 4H), 4.72 (s, 1H), 6.64 (s, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (63 MHz,  $\text{CDCl}_3-d_1$ )  $\delta$ : 43.2, 46.6, 56.3, 60.9, 61.7, 104.9, 114.5, 126.9, 138.8, 153.

### 9.3.10 Bibliothek Split-Mix

Das Piperidinacryl-Wang-Harz (250 mg; 0,0293 mmol) und das Urethan-Wang-Harz (250 mg; 0,0293 mmol) wurden in abs. DMF (3 ml) suspendiert, das Benzaldehyd-Gemisch (je 0,117 mmol, insgesamt 1,2 eq.) und Acetoncyanhydrin (0,5 ml; 5,46 mmol; 10 eq) wurden zugegeben und bei 60 °C für 72 h erwärmt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen.

Tabelle 45: Eingesetzte Benzaldehyde (Einwaagen).

eingesetzte Benzaldehyde ( <b>26</b> )	Einwaagen	
Benzaldehyd	11,8 $\mu\text{l}$	(0,117 mmol)
3-Hydroxybenzaldehyd	14,3 mg	(0,117 mmol)
2-Chlorbenzaldehyd	13,2 $\mu\text{l}$	(0,117 mmol)
3-Carboxybenzaldehyd	17,6 mg	(0,117 mmol)
4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd	11,8 $\mu\text{l}$	(0,117 mmol)
3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd	22,9 mg	(0,117 mmol)

### 9.3.11 Herstellung von 4-Hydroxybenzaldehyd-funktionalisiertem Wang-Harz

Wang-Harz (2,0 g; 2,26 mmol) wurde in abs. THF (13 ml) suspendiert, 4-Hydroxybenzaldehyd (910 mg; 7,46 mmol; 3,3 eq.), Triphenylphosphin (889 mg; 3,39 mmol; 1,5 eq) und DEAD (805  $\mu\text{l}$ ; 842 mg; 3,75 mmol) zugegeben und für 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen.

### 9.3.12 Herstellung von Chlor funktionalisiertem Wang-Harz

Wang-Harz (1,0 g; 1,13 mmol) und LiCl (144 mg; 3,39 mmol; 3 eq) wurden in abs. DMF (10 ml) suspendiert und 40 min bei RT geschüttelt. Unter Eiskühlung wurde Collidin (448  $\mu$ l; 3,39 mmol; 3 eq) zugegeben und 10 min bei 0 °C weitergeschüttelt. Danach wurde Methansulfonylchlorid (264  $\mu$ l; 390 mg; 3,39 mmol) und weites DMF (5 ml) zugesetzt und wieder 10 min bei 0 °C gehalten und danach für 96 h bei RT geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF : H<sub>2</sub>O = 2 : 1, DMF : H<sub>2</sub>O = 9 : 1, DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

### 9.3.13 Herstellung von 4-Hydroxyacetophenon funktionalisiertem Wang-Harz

Chlorwang-Harz (200 mg; 0,22 mmol) wurden in abs. DMF (1,5 ml) suspendiert und 4-Hydroxyacetophenon (136 mg; 1,0 mmol) sowie CsCO<sub>3</sub> (130 mg) zugegeben. Man erhitzte für 4 h bei 80 °C. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

### 9.3.14 Streckerreaktion mit Carbonylkomponente

Für jeden Ansatz wurden das entsprechend vorbelegte Carbonyl-Harz (25 mg; 0,028mmol) benutzt, in abs. DMF (200  $\mu$ l) suspendiert, die verschiedenen Amine (0,113 mmol; 4 eq) und Acetoncyanhydrin (27,2  $\mu$ l; 0,3 mmol; 10 eq) wurden zugegeben und für 48 h bei 60 °C erwärmt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz mehrmals mit DMF, THF, MeOH, DCM und Et<sub>2</sub>O gewaschen.

NMR-Daten für (4-Hydroxyphenyl)-morpholin-4-yl-acetonitril:

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 2.78-2.67 (m, 6 H), 3.28-3.15 (m, 6 H), 4.83 (s, 1 H), 7.41-7.31 (m, 5H).

<sup>13</sup>C-NMR (63 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>)  $\delta$ : 43.2, 61.8, 63.7, 66.6, 115.6, 115.9, 129.4, 132.4.

### 9.3.15 Hydrolyse der Nitril-Funktion zur Gewinnung von unnatürlichen $\alpha$ -Aminosäuren

Das  $\alpha$ -Aminonitril (**65**) wurde in konz. HCl (2 ml) gelöst und 8 h auf 103 °C erhitzt. Danach wurde das Lösungsmittel durch Destillation entfernt, der kristalline Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und aus t-BuOH / H<sub>2</sub>O (4:1) (2 ml) gefriergetrocknet und anschließend mit HPLC-MS analysiert.

Tabelle 46: Eingesetzte  $\alpha$ -Aminonitrile (Einwaagen).

eingesetzte $\alpha$ -Aminonitrile (65)	Einwaagen	
Phenylpiperazin-1-yl-acetonitril	29 mg	(0,144 mmol)
(3-Hydroxyphenyl)-piperazin-1-yl-acetonitril	38 mg	(0,175 mmol)
(2-Chlorphenyl)-piperazin-1-yl-acetonitril	62 mg	(0,0,263 mmol)
3-(Cyanopiperazin-1-ylmethyl)-benzoesäure	80 mg	(0,326 mmol)
Piperazin-1-yl-(4-trifluormethylphenyl)-acetonitril	38 mg	(0,141 mmol)

NMR-Daten für Phenylpiperazin-1-yl-essigsäure:

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}-d_2$ )  $\delta$ : 3.24-3.18 (m, 4H), 3.47-3.40 (m, 4H), 4.60 (s, 1H), 7.42-7.33 (m, 5H).

NMR-Daten für (2-Chlorphenyl)-piperazin-1-yl-essigsäure:

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}-d_2$ )  $\delta$ : 3.27-3.24 (m, 2H), 3.50-3.46 (m, 6H), 5.11 (s, 1H), 7.46-7.34 (m, 2H), 7.54-7.51 (m, 2H).

NMR-Daten für (3-Hydroxyphenyl)-piperazin-1-yl-essigsäure:

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}-d_2$ )  $\delta$ : 3.27-3.19 (m, 2H), 3.51-3.42 (m, 6H), 4.62 (s, 1H), 6.92-6.85 (dd, 3H), 7.28-7.24 (dd, 1H).

NMR-Daten für 3-(Carboxypiperazin-1-ylmethyl)-benzoesäure:

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}-d_2$ )  $\delta$ : 3.36-3.33 (m, 2H), 3.63-3.50 (m, 6H), 5.05 (s, 1H), 7.62-7.58 (dd, 1H), 7.72 (d, 1H), 8,11-8.08 (dd, 2H).

NMR-Daten für Piperazin-1-yl-(4-trifluormethylphenyl)-essigsäure:

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}-d_2$ )  $\delta$ : 3.19-3.15 (m, 2H), 3.46-3.42 (m, 6H), 4.69 (s, 1H), 7.56 (d, 2H), 7.71 (d, 1H).

### 9.3.16 Einführung der Fmoc-Schutzgruppe mit Fmoc-OSu bzw. Fmoc-Cl

Die ungeschützte  $\alpha$ -AS (0,0585 mmol) wurde in einem Gemisch aus Aceton / Wasser (2:1) (2 ml) gelöst,  $\text{NaHCO}_3$  (10 mg; 0,117 mmol; 2 eq.) und Fmoc-OSu (20 mg; 0,0585 mmol; 1 eq.) bzw. Fmoc-Cl (15 mg; 0,0585 mmol; 1 eq.) zugegeben. Man rührte für 16 h bei Raumtemperatur. Nachdem das Aceton durch Destillation entfernt worden war, extrahierte man die zurückbleibende wässrige Phase mit  $\text{CHCl}_3$ . Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel mittels Destillation entfernt und anschließend mit HPLC-MS analysiert.

## 9.4 Syntheseprotokolle Elektrochemie

### 9.4.1 Bibliothek von Benzaldehydphenylhydrazonen

Je eines der verschiedenen substituierten Benzaldehyde (1 mmol, **9**) und eines der drei Phenylhydrazine (1 mmol, **10**) wurden unter intensivem Rühren in Essigsäure (50 %) bei Raumtemperatur zu den entsprechenden Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**) umgesetzt. Das entstehende Benzaldehydphenylhydrazon (**5**) fiel meist sofort aus und wurde durch Filtration von der Mutterlauge getrennt. Nicht alle durchgeführten Kombinationen führten zu Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**), die leicht zu isolieren waren (Tabelle 19 und Tabelle 47).

Tabelle 47: Interpretation der GC-MS-Spektren von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonen (**5**).

Benzaldehydphenylhydrazonen (R <sub>2</sub> , R <sub>1</sub> )	RT* [min]	MS [M] <sup>+</sup>	MS-Fragmente
<b>5-1a</b> (H,H)	6,83	196	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105 C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb.      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat
<b>5-1b</b> (H, OMe)	10,45	226	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105..C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb. 122..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> NO <sup>+</sup> aus Methoxyhydrazin      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat 108..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sup>+</sup> aus Methoxybenzol
<b>5-1c</b> (H, NO <sub>2</sub> )	15,65	241	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105 C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb.      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat 137..C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus Nitrohydrazin
<b>5-2a</b> (OMe, H)	10,75	226	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat.      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat
<b>5-2b</b> (OMe, OMe)	14,14	256	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105..C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb. 122..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> NO <sup>+</sup> aus Methoxyhydrazin      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat 108..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sup>+</sup> aus Methoxybenzol
<b>5-2c</b> (OMe, NO <sub>2</sub> )	18,81	271	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105 C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb. 137..C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus Nitrohydrazin      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat 108..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sup>+</sup> aus Methoxybenzol
<b>5-3a</b> (NO <sub>2</sub> , H)	13,90	241	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105 C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb.      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat 195..[M-46] <sup>+</sup>
<b>5-3b</b> (NO <sub>2</sub> , OMe)	17,26	271	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 105 C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus aromat. Azoverb. 122..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> NO <sup>+</sup> aus Methoxyhydrazin      92 C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup> aus Alkylbenzol-Derivat 108..C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sup>+</sup> aus Methoxybenzol

\*Retentionszeit im GC-Chromatogramm.

### 9.4.2 Synthese der Benzaldehydhydrazonchloride

NCS (1,5 eq) wurde in DCM suspendiert und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. DMS (3 eq) wurde zugegeben, wobei sich ein farblos Niederschlag bildete. Diese Mischung wurde weitere 15 min bei 0 °C gerührt und dann auf -78 °C gekühlt. Das entsprechende Benzaldehydphenylhydrazon (1 eq, **5**) wurde in DCM gelöst und zugegeben. Die Temperatur wurde 1 h bei -78 °C gehalten. Weitere 2 h wurde bei RT gerührt und der Reaktionsfortschritt mit DC überprüft. Das Lösungsmittel wurde mittels eines Rotationsverdampfers destillativ entfernt und das Reaktionsgemisch durch Chromatographie über Kieselgel (Hex : EE = 9 : 1) gereinigt. Man erhielt in allen Fällen einen bräunlichen Feststoff, der direkt für die nächste Reaktionsstufe verwendet wurde.

EXPERIMENTELLER TEIL

Tabelle 48: Analytische Daten der Benzaldehydphenylhydrazon-Kollektion (5, GC-Reinheit > 99 %)

Benzaldehydphenylhydrazon	Auswaage [mg]	Ausbeute [%]	Aussehen	RT [min]*	MS [M]+
5-1a	144	73	hellgelb	6,83	196
5-1b	16	7	gelbgrün	10,45	226
5-1c	209	87	hellorange	15,65	241
5-2a	165	73	ocker	10,75	226
5-2b	188	73	ocker	14,14	256
5-2c	240	88	rot	18,81	271
5-3a	144	99	rotschwarz	13,90	241
5-3b	215	89	orange	17,26	271
5-4a	142	59	rot	12,22	241
5-4b	119	44	schwarz	15,44	271
5-4c	109	38	orange	19,89	286
5-5a	116	48	orange	13,37	241
5-5b	98	36	orange braun	16,59	271
5-5c	104	36	orange	21,49	286
5-6a	168	80	ocker	8,48	210
5-6b	169	70	ocker	11,88	240
5-6c	208	81	orange	16,76	255
5-7b	205	85	hellgelb	13,16	242
5-7c	230	89	orange	18,04	257
5-8a	124	54	hellgelb	9,32	230
5-8b	138	53	braun	12,93	260
5-8c	190	69	orange	17,69	275
5-9a	101	44	hellbeige	9,81	230
5-9b	174	67	hellgelb	13,19	260
5-9c	210	76	orange	18,07	275
5-10a	132	62	braun	11,37	212
5-10b	118	49	rotbraun	14,62	242
5-10c	198	77	orange	19,49	257
5-11a	130	59	hellgelb	12,15	221
5-11b	172	68	gelbgrün	15,28	251
5-12b	195	72	gelb	17,03	270
5-13c	106	39	gelb	16,89	269
5-14b	205	80	ocker	13,94	256
5-14c	212	78	orange	18,41	271
5-15a	145	55	hellgelb	6,94	264
5-15b	233	79	gelb	10,43	294
5-15c	226	73	orange	15,51	309
5-16b	165	58	braun	16,75	286
5-16c	174	58	orange	20,93	301
5-18c	122	51	gelb	12,12	237
5-20a	146	57	orangebraun	16,35	257
5-20b	160	56	braun	19,26	287
5-22c	191	70	rot	25,06	273
5-24a	93	44	ocker	11,57	212
5-25a	135	56	ocker	12,70	242
5-25c	220	77	orange	20,56	287
5-27a	155	58	hellgelb	11,74	264
5-27b	126	43	braun	15,01	294
5-28a	159	58	ocker	17,59	272
5-28b	192	63	gelbbraun	20,56	302
5-28c	219	69	orange	24,69	317
5-29a	178	70	gelb	13,65	254
5-29b	211	74	gelb	16,65	284
5-29c	216	72	gelb	21,11	299
5-32a	181	66	gelb	15,45	275
5-32b	196	64	rot	18,52	305
5-34a	161	66	hell beige	12,97	242
5-34c	195	68	orange	20,46	287

EXPERIMENTELLER TEIL

Fortsetzung Tabelle 48: Analytische Daten der Benzaldehydphenylhydrazon-Kollektion (5, GC-Reinheit > 99 %).

Benzaldehydphenylhydrazon	Auswaage [mg]	Ausbeute [%]	Aussehen	RT [min]*	MS [M]+
5-36a	126	53	hell gelb	13,78	239
5-36b	82	30	orange	17,02	269
5-36c	225	79	orange	21,51	284
5-38a	151	61	rosa	15,10	246
5-38b	271	98	gelb	18,28	276
5-40a	137	57	ocker	13,36	240
5-40c	186	65	rot	20,95	285
5-41a	178	73	beige	13,45	242
5-41c	233	81	rot	21,05	287
5-42a	188	73	rotbraun	13,90	257
5-44c	351	96	orange gelb	24,06	367
5-46a	51	24	braun	8,84	216
5-46b	27	11	braun	12,22	246
5-46c	220	84	rot	17,13	261
5-50c	238	98	braun	16,78	242
5-53a	171	80	beige	6,68	214
5-53c	134	52	orange	15,33	259
5-54a	194	96	hell gelb	7,22	202
5-54b	152	65	braun	10,72	232
5-54c	209	85	orange	15,81	247
5-55a	36	19	schwarz	6,30	185
5-55c	188	82	tief rot	15,36	230
5-56c	235	76	gelb braun	15,25	309
5-59a	210	75	beige	15,31	280
5-59b	213	68	gelb grün	16,37	310
5-59c	164	50	orange	22,79	325
5-60c	178	66	rot	18,04	271
5-60c	178	66	rot	18,04	271

\* Retentionszeit im GC-Chromatogramm.

Teilweise gelang die gaschromatographische Identifizierung der Benzaldehydhydrazon-Chloride, eine Übersicht über die erhaltenen Daten zeigt Tabelle 49.

Tabelle 49: Interpretation der GC-MS-Spektren von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazon-Chloride (11).

Benzaldehydphenyl-Hydrazonen (R <sub>2</sub> , R <sub>1</sub> )	RT [min]*	MS [M]+	MS-Fragmente
11-1a (H, H)	7,10	230/232	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 103...C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sup>+</sup> aus Benzylidenamin-D. 91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat 194...C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus [M-36] <sup>+</sup>
11-1b (H, OMe)	10,84	260/262	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 121...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sup>+</sup> aus Hydroxyanilin-D. 209...C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [224-15] <sup>+</sup> 103...C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sup>+</sup> aus Benzylidenamin-D. 181...C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> CIN <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [M-79] <sup>+</sup> 224...C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [M-36] <sup>+</sup>
11-1c (H, NO <sub>2</sub> )	14,96	275/277	77...C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus Phenyl-Derivat 104...C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup> aus Benzylidenamin-D. 239...C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus [M-36] <sup>+</sup> 90...C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> <sup>+</sup> aus disubst. Aromaten-D. 142...C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> CIN <sup>+</sup> aus Benzimidoylchlorid
11-2a (OMe, H)	11,60	-	152...C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> CIN <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus [M <sup>-</sup> -Methoxybenzol] <sup>+</sup> 209...C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [224-15] <sup>+</sup> 181...C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> CIN <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [M-79] <sup>+</sup> 224...C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [M-36] <sup>+</sup>
11-2b (OMe, OMe)	15,19	288/290	245...C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> CIN <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [M-43] <sup>+</sup> 273...C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> CIN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus [M-15] <sup>+</sup>
11-3a (NO <sub>2</sub> , H)	13,63	275/277	65...C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> aus aromatischem Amin 239...C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus [M-36] <sup>+</sup> 91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat

\*Retentionszeit im GC-Chromatogramm.

### 9.4.3 Synthese der substituierten Triazole

#### Synthesevorschrift für die Verwendung von Benzonitril (6α)

Das entsprechende Benzaldehydphenylhydrazon-Chlorid (1 eq, **11**) wurde in Benzonitril (**6α**) suspendiert und Aluminiumtrichlorid (1 eq) zugegeben, wobei sich die Reaktionslösung sofort dunkel verfärbte. Diese Suspension wurde für 30 min auf 130 °C erhitzt und danach der Reaktionsfortschritt mit DC überprüft. Nach dem Abkühlen fügte man zum Reaktionsgemisch 2 % wässrige NaOH-Lösung bis die Lösung alkalisch reagierte und extrahierte 3 x mit DCM. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert, wobei ein dunkel gefärbtes Öl zurück blieb. Zur Aufreinigung wurde eine Chromatographie über Kieselgel (Hex:EE, 9:1) durchgeführt. Die Identifizierung des Produktes erfolgte mit GC-MS (Tabelle 50).

#### Synthesevorschrift für die Verwendung von substituierten Benzonitrilen (6β bzw. 6γ)

Das entsprechende Benzaldehydphenylhydrazon-Chlorid (1 eq, **11**) wurde in 10 ml Diglyme gelöst, Aluminiumtrichlorid (1 eq) und p-Methoxybenzonitril (2 eq, **6β**) bzw. 2,4-Dimethoxybenzonitril (2 eq, **6γ**) zugegeben. Diese Suspension wurde für 30 min auf 130 °C erhitzt und danach der Reaktionsfortschritt mit DC überprüft. Nach dem Abkühlen fügte man zum Reaktionsgemisch 2 % wässrige NaOH-Lösung bis die Lösung alkalisch reagierte und extrahiert 3 x mit DCM. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert, wobei ein dunkel gefärbtes Öl zurück blieb. Zur Aufreinigung wurde eine Chromatographie über Kieselgel (Hex:EE = 9:1) durchgeführt. Die Identifizierung des Produktes erfolgte mit GC-MS (Tabelle 50).

Tabelle 50: Interpretation der GC-MS-Spektren von ausgewählten 1,2,4-Triazole (7).

1,2,4-Triazol (R <sub>2</sub> , R <sub>1</sub> , R <sub>3</sub> )	RT [min]*	MS [M] <sup>+</sup>	MS-Fragmente
<b>7-1aα</b> (H,H,H)	15,87	297	91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat      194..C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus <b>5-1a</b>
<b>7-1bα</b> (H, OMe, H)	13,40	327	121..C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sup>+</sup> aus <b>10b</b>
<b>7-1cα</b> (H, NO <sub>2</sub> , H)	20,62	342	90...C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> <sup>+</sup> aus disubst. Aromaten      239..C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus <b>5-1c</b>
<b>7-2aα</b> (OMe, H,H)	19,16	327	91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat 224..C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus <b>5-2a</b> 209..C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [224-15] <sup>+</sup>
<b>7-2bα</b> (OMe, OMe, H)	22,05	357	121..C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sup>+</sup> aus <b>10b</b>
<b>7-2aβ</b> (OMe, H, OMe)	21,39	357	91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat      342..C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus [M-15] <sup>+</sup>
<b>7-2aγ</b> (OMe, H, di-OMe)	23,25	387	91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat 224..C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus <b>5-2a</b> 209..C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup> aus [224-15] <sup>+</sup>
<b>7-2cα</b> (OMe, NO <sub>2</sub> , H)	20,96	342	91...C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup> aus Benzyl-Derivat      239..C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup> aus <b>5-1c</b>
<b>7-3bα</b> (NO <sub>2</sub> , OMe, H)	23,53	375	121..C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sup>+</sup> aus <b>10b</b>

\* Retentionszeit im GC-Chromatogramm.



#### 9.4.4 Aufarbeitung nach der Elektrolyse

##### Ursprüngliche Aufarbeitung [Mär 02]

Nach der Elektrolyse destillierte man das überschüssige DCM ab und der Rückstand wurde in Hexan aufgenommen, wodurch sich zwei Phasen bildeten. Die Hexanphase wurde im Scheidetrichter abgetrennt und nochmals mit Hexan extrahiert, wobei ein Niederschlag ausfällt. Die Hexanphasen wurden vereinigt und das Lösungsmittel abdestilliert. Das restliche Benzonitril wurde am Hochvakuum bei 60 °C entfernt, wodurch man eine dunkelgefärbte zähflüssige Lösung erhielt, die in MeOH aufgenommen wurde.

##### Optimierte Aufarbeitung nach der Elektrolyse

Zur Untersuchung der nach der Elektrolyse erhaltenen Triazole wurde die Lösung aus der Elektrolysezelle entnommen, mit 2 % wässriger NaOH neutralisiert, die organischen Phasen vereinigt und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Anschließend wurde überschüssiges Benzonitril am Hochvakuum bei 60 °C entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde zur Abtrennung des Leitsalzes mit Et<sub>2</sub>O versetzt und die flüssige Phase abfiltriert. Das Filtrat wurde durch Destillation eingengt.

NMR-Daten von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2aα**):

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>) δ: 3.79 (s, 3H), 6.92 (d, 2H), 7.18-7.36 (m, 8H), 7.48 (dd, 2H), 8.10 (d, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub>) δ: 114.4, 125.8, 128.4, 129.0, 129.1, 129.4, 129.8, 130.3.

#### 9.4.5 Quantifizierung der präparativen Elektrolysen

Als Standardsubstanz (**A**) diente für alle Messungen 3-(4-Nitro-phenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]-triazol (**7-3aα**, c = 0,26 mg / ml). Alle Proben wurden mit Toluol als Lösungsmittel versetzt. Auf die Verwendung von Diethylether, wurde bei diesen größeren Messreihen wegen seiner Flüchtigkeit verzichtet. Die zuvor synthetisierte Referenzsubstanz (**R**) wurde ebenfalls in einem Messkolben eingewogen, mit Toluol aufgefüllt und zur Erstellung der jeweiligen Eichgeraden benutzt. Der präparative elektrochemische Ansatz wurde halbiert und nur eine Hälfte quantifiziert. Nach der Entfernung des Lösungsmittel wurde eine genaue Einwaage (**X**) in einem Messkolben vorgenommen und Toluol zugegeben bis zur Eichmarke.

Tabelle 51: Experimentelle Bedingungen bei den Quantifizierungsversuchen.

Benzaldehydphenylhydrazon (5; R1, R2)		Benzonitril (6)		Angelegtes Potential	Quantifizierungsmethode
Substituenten	Einwaage*	Substituent	Volumen*	(Referenzelektrode Ag/Ag <sup>+</sup> )*	
H, NO <sub>2</sub>	96 mg	H	8,2 ml	1300 mV	GC-MS
H, H	99 mg	H	10,5 ml	900 mV	GC
OMe, OMe	106 mg	H	8,5 ml	600 mV	GC
NO <sub>2</sub> , OMe	101 mg	H	7,7 ml	800 mV	GC, GC-MS
NO <sub>2</sub> , H	98 mg	H	8,4 ml	1200 mV	-
OMe, H	21 mg	OMe	2,5 g	800 mV	GC-MS
OMe, H	20 mg	2,4-OMe	2,9 g	700 mV	GC
OMe, H	99 mg	H	9,0 ml	1000 mV	GC

\* persönliche Mitteilung von Märkle.

Folgenden Parameter für eine lineare Regression sind für jedes Quantifizierungsexperiment angegeben.

- b Responsefaktor (Steigung der Geraden)
- F Standardfehler
- c Konzentration
- K Korrelationskoeffizient
- S Standardabweichung
- Z Anzahl Datenpunkte

Um eine Gerade anzupassen wird mit den X-Werten (mg A / mg R) und den Y-Werten (Fa / Fr) ein abgeschätztes lineares Regressionsmodell aufgestellt.

Das Konfidenzintervall für die Approximationsfunktion besagt, wie gut der geschätzte Wert dieser Funktion für bestimmte Werte der unabhängigen Variablen ist. Sie können mit einer Konfidenz von 100a% annehmen, daß der korrekte Wert der Approximationsfunktion innerhalb des Vertrauensintervalls liegt, wobei a der gewünschte Vertrauenslevel ist.

### 9.4.6 Messdaten der Quantifizierung

Tabelle 52: GC-Messungen für 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** , R) – Eichgerade.

Standard [ml]	Standard [Area]	Referenz [ml]	Referenz [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	193159	0,01	757762	3,923	1,365
0,05	170260	0,02	1376023	8,082	2,731
0,05	129798	0,03	1600823	12,333	4,096
0,05	88102	0,04	1437008	16,311	5,462
0,05	227873	0,05	4372294	19,187	6,827

Tabelle 53: GC-Messungen für 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** , X) – Analyse.

Standard [ml]	Standard [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fx
0,05	131074	0,05	1495266	11,4078

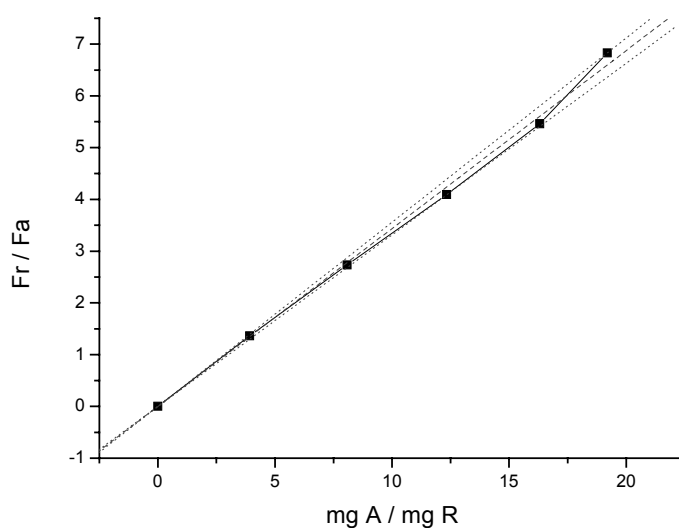


Abbildung 66: Eichgerade für 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-1H-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ).

b: 0,34374, F: 0,00475, c: 1,020 mg / ml (K: 0,99856; S: 0,13975; Z: 5);

- - - linearer Fit, . . . Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 3-(4-Methoxyphenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\alpha$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 66) ermittelt und betrug **52 mg (36 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 143 mg berechnet wurde.

Tabelle 54: GC-Messungen für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** , R) - Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	121792	0,01	236028	0,516	0,308
0,05	304248	0,02	262440	1,159	0,615
0,05	24984	0,03	13797	1,811	0,923
0,05	88876	0,04	38354	2,317	1,231

Tabelle 55: GC-Messungen für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** , X) - Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	103109	0,05	520798	2,3250

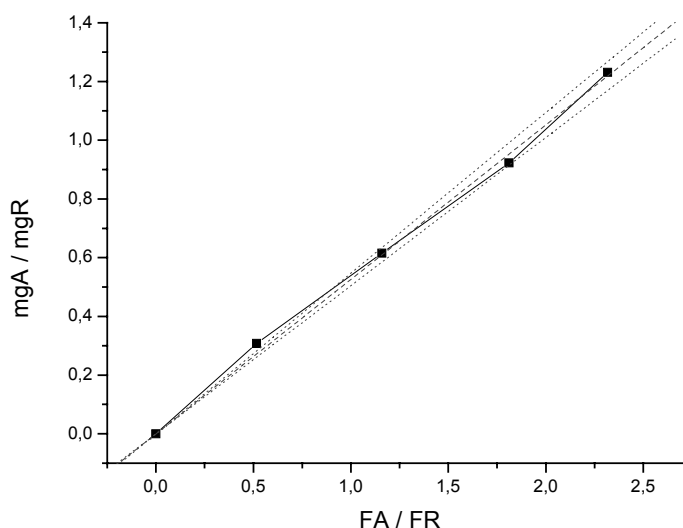


Abbildung 67: Eichgerade für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ).

b: 0,52599, F: 0,00764, c: 0,691 mg / ml (K: 0,99892; S: 0,0244; Z: 5);

--- linearer Fit, ··· Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 67) ermittelt und betrug **35 mg (25 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 139 mg berechnet wurde.

Tabelle 56: GC-Messungen für 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2ay**, **R**) - Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	190918	0,01	326757	1,712	0,577
0,05	137876	0,02	499142	3,620	1,154
0,05	130870	0,03	719040	5,494	1,731
0,05	45591	0,04	329917	7,236	2,308
0,05	26389	0,05	274592	10,406	2,885

Tabelle 57: GC-Messungen für 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2ay**, **X**) - Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	97875	0,05	193973	1,9788

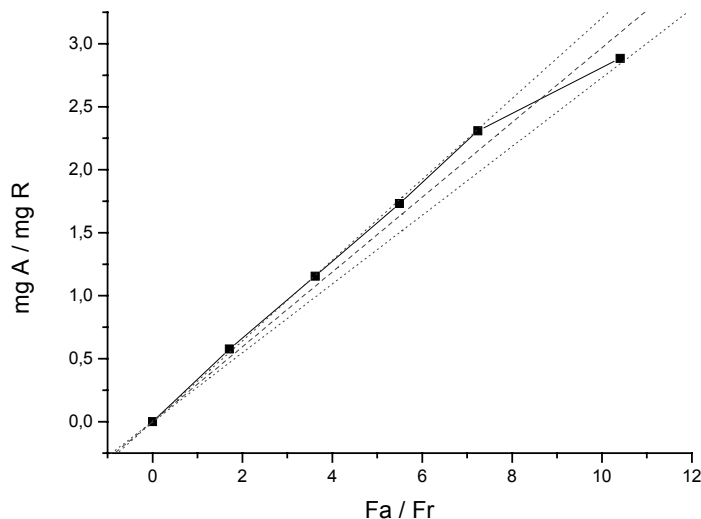


Abbildung 68: Eichgerade von 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2ay**).

b: 0,2968, F: 0,13288, c: 0,634 mg / ml (K: 0,99415; S: 0,00924; Z: 6);

- - - linearer Fit, · · · Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2ay**) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 68) ermittelt und betrug **8 mg (22 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 35 mg berechnet wurde.

EXPERIMENTELLER TEIL

Tabelle 58: GC-Messungen für 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2b $\alpha$ , R**) - Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	221714	0,01	448674	2,024	1,562
0,05	65456	0,02	269121	4,111	3,123
0,05	100698	0,03	643702	6,392	4,685
0,05	62781	0,04	508886	8,106	6,246
0,05	22348	0,05	243817	10,910	7,808

Tabelle 59: GC-Messungen für 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2b $\alpha$ , X**)- Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	48474	0,05	160250	3,3059

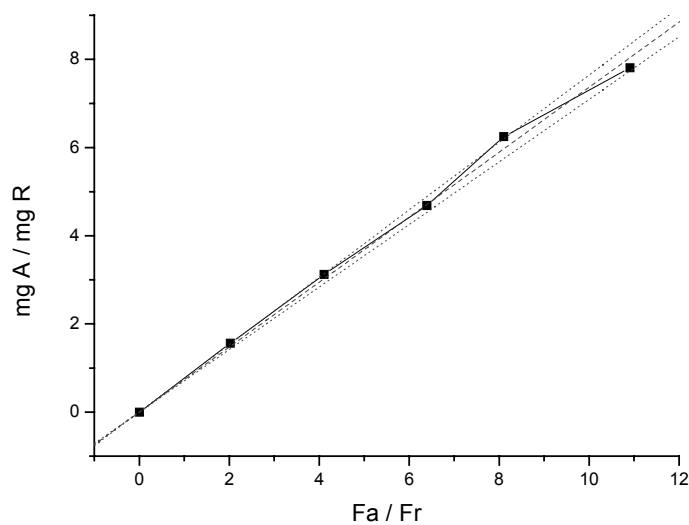


Abbildung 69: Eichgerade von für 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2b $\alpha$** ).

b: 0,7371; F0,16873; c: 0,153 mg / ml (K: 0,99851; S: 0,01074; Z: 6);

--- linearer Fit, . . . Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 1,3-Bis-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2b $\alpha$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 69) ermittelt und betrug **33 mg (22 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 148 mg berechnet wurde.

Tabelle 60: GC-MS-Messungen für 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1a $\alpha$ , R**) – Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	419122	0,01	1212214	2,892	0,169
0,05	296227	0,02	2925808	9,877	0,338
0,05	247212	0,03	3529376	14,277	0,508
0,05	217777	0,04	4429718	20,341	0,677
0,05	217473	0,05	4198966	19,308	0,846

Tabelle 61: GC-MS-Messungen für 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1a $\alpha$ , X**) – Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	187609	0,05	403997	2,153

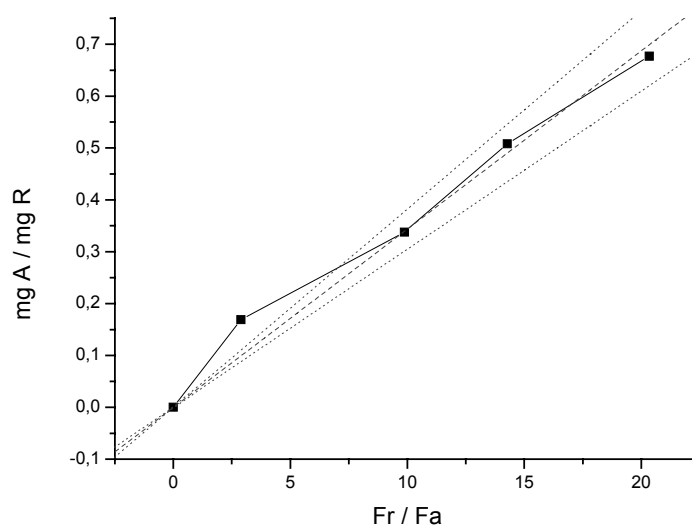


Abbildung 70: Eichgerade für 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1a $\alpha$** ).

b: 0,03435; F: 0,0014; c: 0,19 mg / ml (K: 0,99396; S: 0,037535; Z: 5);

- - - linearer Fit, . . . Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Gesamtausbeute für den Ansatz von **9,6 mg (6 %)**. Die theoretische Ausbeute beträgt 150 mg.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 1,3,5-Triphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1a $\alpha$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 70) ermittelt und betrug **10 mg (6 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 150 mg berechnet wurde.

Tabelle 62: GC-MS-Messungen für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** , **R**) – Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	370955	0,01	178242	0,480	0,308
0,05	295607	0,02	345917	1,170	0,615
0,05	269576	0,03	535001	1,985	0,923
0,05	240327	0,04	669792	2,787	1,231
0,05	226082	0,05	826827	3,657	1,538

Tabelle 63: GC-MS-Messungen für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** , **X**) – Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	217665	0,05	1472791	6,7663

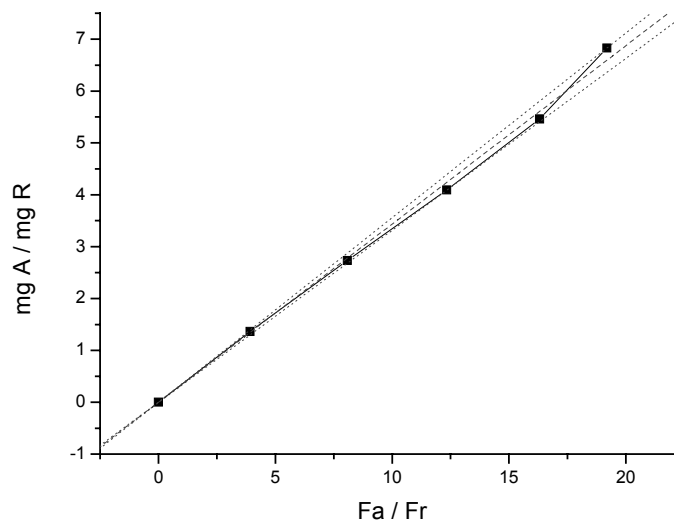


Abbildung 71: Eichgerade für 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ).

b: 0,45598; F: 0,01635; c: 0,775 mg / ml; (K: 0,99472; S: 0,08157; Z: 5);

--- linearer Fit, . . . Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-3b $\alpha$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 71) ermittelt und betrug **39 mg (27 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 139 mg berechnet wurde.



Tabelle 64: GC-MS-Messungen für 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\beta$** , **R**) – Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	352288	0,01	253434	1,163	0,923
0,05	230944	0,02	438152	2,149	1,846
0,05	227718	0,03	737395	3,550	2,769
0,05	171467	0,04	948796	5,781	3,692
0,05	149814	0,05	1144533	6,933	4,615

Tabelle 65: GC-MS-Messungen für 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\beta$** , **X**) – Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	217665	0,05	1472791	6,7663

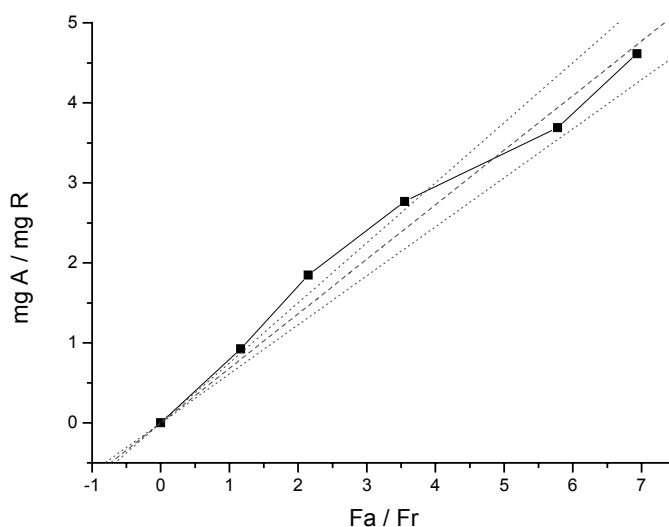


Abbildung 72: Eichgerade für 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\beta$** ).

b: 0,68169; F: 0,02676; c: 0,775 mg / ml; (K: 0,99182; S: 0,26767; Z: 6);

- - - linearer Fit, · · · Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 3,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (**7-2a $\beta$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 72) ermittelt und betrug **2 mg (6 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 33 mg berechnet wurde.

EXPERIMENTELLER TEIL

Tabelle 66: GC-MS-Messungen für 1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1c $\alpha$ , R**) - Eichgerade.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Analyse [ml]	Analyse [Area]	Fa / Fr	mg A / mg R
0,05	782134	0,01	518350	0,663	0,615
0,05	907421	0,02	1292899	1,425	1,231
0,05	1014750	0,03	2155932	2,125	1,846
0,05	939690	0,04	2845415	3,028	2,462
0,05	945866	0,05	3504434	3,705	3,077

Tabelle 67: GC-MS-Messungen für 1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1c $\alpha$ , X**) – Analyse.

Referenz [ml]	Referenz [Area]	Elektro [ml]	Elektro [Area]	Fa / Fx
0,05	293423	0,05	354727	1,2089

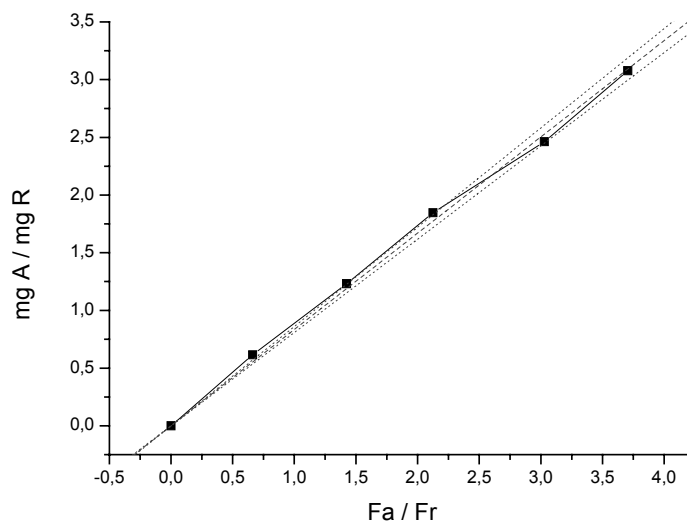


Abbildung 73: Eichgerade für 1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1c $\alpha$** ).

b: 0,83462; F: 0,01011; c: 0,26 mg / ml (K: 0,99919; S: 0,05526; Z: 6);

- - - linearer Fit, . . . Grenze oberer bzw. unterer 95 % Konfidenzbereich.

Die Gesamtausbeute für die Quantifizierung von 1-(4-Nitrophenyl)-3,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (**7-1c $\alpha$** ) wurde unter Zuhilfenahme der für diese Verbindung aufgestellten Eichgeraden (Abbildung 73) ermittelt und betrug **13 mg (10 %)**, wobei die theoretische Ausbeute mit 136 mg berechnet wurde.

## 10 Literaturverzeichnis

- [Alb 89] F. Albericio, M. Pons, E. Pedroso, E. Giralt, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 360-366.
- [And 84] N. Anderson, S. Branch, R. Loeffler, *Pestic. Sci.* **1984**, *15*, 310-316.
- [And 95] R. Anderson, M. Jarema, M. Shapiro, J. Stokes, M. Ziliox, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2650-2651.
- [Are 99] M. Arend, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3047-3049, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2873-2874.
- [Ath 81] E. Atherton, E. Brown, R. Sheppard, A. Rosevar, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1981**, 1151-1152.
- [Ath 89] E. Atherton, R. Sheppard, *Solid phase peptide synthesis, a practical approach*, IRL Press, Oxford, **1989**.
- [Aus 99] V. Austel, in G. Jung (Ed.): *Combinatorial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, 77-123.
- [Bac 94] B. Backes, J. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11171-11172.
- [Bac 96] B. Backes, A. Virgilio, J. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3055-3056.
- [Bag 68] A. Baggaley, R. Brettle, *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2055-2059.
- [Bal 78] H. Baltes, E. Steckhan, H.-J. Schäfer, *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 1294-1314.
- [Bal 96] F. Balkenhohl, C. v. dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.*, **1996**, *108*, 2436-2488, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2288-2337.
- [Ban 99] H. Bandel, W. Haap, G. Jung, in G. Jung (Ed.): *Combinatorial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, S.479-498.
- [Bar 89] K. Barlos, D. Gatos, G. Papaphothiu, P. Sotiriu, W. Schäfer, Y. Wenqing, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3947-3950.
- [Bay 86] E. Bayer, W. Rapp, *Chem. Pept. Prot.* **1986**, *3*, 3-8.
- [Bay 90] E. Bayer, K. Albert, H. Willisch, W. Rapp, B. Hemmasi, *Macromolecules* **1990**, *23*, 1937-1940.
- [Bay 91] E. Bayer, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 117-133, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 113-129.
- [Ber 29] H. Bergs, *Ger. Pat.* **1929**, 566 094 und *Chem. Abstr.* **1933**, *27*, 1001.
- [Bod 93] M. Bodanszky: *Principles of peptide Synthesis (Springer Lab Manuals)*, Springer Verlag, Heidelberg, **1993**.
- [Böh 96] H.-J. Böhm, G. Klebe, H. Kubinyi: *Wirkstoffdesign*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1996**.

- [Bol 94] R. Bollhagen, M. Schmiedberger, K. Barlos, E. Grell, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1994**, 2559-2560.
- [Boo 97] R. Booth, J. Hodges, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 4882-4886.
- [Bro 97a] R. Brown, *Contemporary Organic Synthesis* **1997**, 216-217.
- [Bro 97b] A. Brown, D. Rees, Z. Rankovic, J. Morphy, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3288-3295.
- [Buc 34] H. Bucherer, W. Steiner, *J. Prakt. Chem.* **1934**, 140, 291-316.
- [Bun 92] B. Bunin, J. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10997-10998.
- [Bur 94] K. Burgess, A. Liaw, N. Wang, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2985-2987.
- [Bur 96] K. Burgess, H.-J. Lim, A. Porte, G. Sulikowski, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 192-194, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 220-222.
- [Cam 95] P. Camps, X. Farrés, L. García, D. Mauleón, G. Carganico, *Tetrahedron Asym.* **1995**, 6, 2365-2368.
- [Car 95] M. Cardno, B. Egner, M. Bradley, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1995**, 2163-2164.
- [Cas 93] E. Casanova, M. Dutton, D. Kalota, J. Wagenknecht, *J. Electrochem. Soc.* **1993**, 140, 2565-2567.
- [Cha 00] W. Chan, W. Chan: *Fmoc Solid Phase peptide Synthesis (Practical Approach Series)*, Oxford University Press, Oxford, **2000**.
- [Chi 99] C. Chiu, Z. Tang, John W. Ellingboe, *J. Comb. Chem.* **1999**, 1, 73-77.
- [Cla 86] T. Clark, D. Watkins, *Chemosphere* **1986**, 15, 765-770.
- [Cod 93] E. Coderc, R. Martin-Fardon, J. Vignon, J.M. Kamenka, *Eur. J. Med. Chem.* **1993**, 28, 893-898.
- [Col 97] M. Collini, J. Ellingboe, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7963-7966.
- [Con 78] E. Conn in *Effects of poisonous plants on livestock* (Eds.) R. Keeler, K. van Kampen and L. James, Acad. Press, New York **1978**.
- [Cse 83] I. Csendes, B. Muller, *Eur. Pat. Appl.* **1983**, 152 pp.
- [Dal 86] W. Da Luz, G. Bergstrom, *Crop Prot.* **1986**, 5, 83-87.
- [DeCa 79] J. DeCastro, A. Van de Water, L. Wouters, R. Xhonneux, R. Reneman, B. Kay, *Acta Anaesthesiol. Belgia* **1979**, 30, 5-99.
- [de No 00] A. de Nooy, V. Rori, G. Masci, M. Dentini, V. Crescenzi, *Carbohydrate Res.* **2000**, 324, 116-126.
- [Din 96] T. Dinh, R. Armstrong, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1161-1164.
- [Dut 94] R. Duthaler, *Tetrahedron* **1994**, 50, 1539-1650.
- [Egn 95] B. Egner, M. Cardno, M. Bradley, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1995**, 2163-2164.

- [Eic 94] Th. Eicher, S. Hauptmann: *Chemie der Heterocyclen*, Thieme Verlag, Stuttgart, **1994**, S. 208 ff.
- [End 00] D. Enders, J. Shilvock, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 359-373.
- [Eur 86] Eur. Pat. Appl. 168296, 15. Jan. **1986**.
- [Feh 95] J. Fehrentz, M. Paris, A. Heitz, J. Velek, C.-F. Liu, F. Winternitz, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 7871-7874.
- [Fen 96] H. Fenniri, *Curr. Med. Chem.* **1996**, 3, 343-378.
- [Fer 02] M. Fernández, A. Diez, M. Rubiralta, E. Montenegro, N. Casamitjana, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 7587-7599.
- [Fle 92] G. Fleckenstein-Gruen, *J. Cardio. Pharm.* **1992**, 20, S1-S10.
- [Fran 86] J. Frank, J. Ayers, *Phytopathology* **1986**, 76, 254-257.
- [Fro 97] D. Frohne, H. Pfänder: *Giftpflanzen*, 4. neu bearbeitete und erweiterte Auflage WVG, Stuttgart, **1997**.
- [Frü 96] J. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 19-46, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 17-42.
- [Gal 94] M. Gallop, R. Barrett, W. Dower, S. Fodor, E. Gordon, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1233-1251.
- [Gar 96] R. Gaigipati, B. Adams, J. Adams, S. Sarkar *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2911-2914.
- [Ger 87] Ger. Off. 3602587, 30. Jul. **1987**.
- [Gey 86] H. Geysen, S. Rodda, T. Mason, *Mol. Immunol.* **1986**, 23, 709-715.
- [Gir 84] E. Giralt, J. Rizo, E. Pedroso, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 40, 4141-4152.
- [Gof 99] D. Goff, J. Fernandez, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 423-426.
- [Gor 95] R. Gorny, H.-J. Schäfer, R. Fröhlich, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 2188-2191, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 2007-2009.
- [Haa 97] W. Haap, T. Redemann, J. Früchtel, *GIT Special Edition April* **1997**, 4, 94-98.
- [Ham 96] B. Hamper, D. Dukesherer, M. South, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3671-3674.
- [Har 96a] M. Haria, H. Bryson, K. Goa, *Drugs* **1996**, 51, 585-620.
- [Har 96b] M. Harenbrock, A. Matzeit, H.-J. Schäfer, *Liebigs Ann.* **1996**, 55-62.
- [Heb 99] N. Hebert, A. Hannah, S. Sutton, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8547-8550.
- [Hee 83] J. Heeres, R. Hendrickx, J. Van Cutsem, *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 611-613.
- [Hee 84] J. Heeres, L. Backx, J. Van Cutsem, *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 894-900.
- [Hei 01] S. Heiß, Zulassungsarbeit, Universität Tübingen, **2001**.
- [Hel 60] H. Hellmann, G. Opitz:  $\alpha$ -Aminoalkylierung Verlag Chemie, Weinheim, **1960**.
- [Her 96] P. Hermkens, H. Ottenheim, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, 32, 4527-4554.

- [Hes 02] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh: *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Thieme Verlag, **2002**.
- [Hio 90] A. Hioki, T. Watanabe, K. Terajima, N. Fudawa, M. Kubata, A. Kawase, *Analyt. Sciences* **1990**, *6*, 757-762.
- [Hol 95] C. Holmes, D. Jones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2318-2319.
- [Hsi 96] L. Hsieh-Wilson, X. Xiang, P. Schultz, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 164-170.
- [Hüb 96] H.-J. Hübschmann: *Handbuch der GC/MS. Grundlagen und Anwendungen*, Wiley-VCH, Weinheim, **1996**.
- [Ito 92] S. Itoh, H. Fukushima, M. Komatsu, Y. Oshiro, *Chem. Lett.* **1992**, 1583-1586.
- [Jug 85] a) W. Jugelt, L. Grubert, *Z. Chem.* **1985**, *25*, 408-409.  
b) W. Jugelt, L. Grubert, *Z. Chem.* **1985**, *25*, 442-443.  
c) W. Jugelt, L. Grubert, V. Paulß, *Z. Chem.* **1985**, *25*, 443-444.
- [Jun 92] G. Jung, A. Beck-Sickinger, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 375-391, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 367-383.
- [Jun 96] G. Jung (Ed.): *Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries*, Wiley-VCH, Weinheim, **1996**.
- [Jun 99] G. Jung (Ed.): *Combinatorial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [Kal 95] K. Kaljuste, A. Udén, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 9211-9214.
- [Kei 96] P. Keifer, L. Baltusis, D. Rice, A. Tymiak, J. Shoolery, *J. Magn. Reson. A* **1996**, *119*, 65-75.
- [Ken 71] G. Kenner, J. McDermott, R. Sheppard, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1971**, 636-637.
- [Kis 96] P. Kissinger, W. Heineman (ed.): *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2. Edition revised and expanded, Marcel Dekker, New York, **1996**, S. 641ff.
- [Kis 97] A. Kiselyov, R. Armstrong, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6163-6166.
- [Kob 86] Y. Kobayashi, H. Hayashi, K. Miyaji, S. Inoue, *Chemistry Letters* **1986**, 931-934.
- [Kol 99] B. Kolb: *Gaschromatographie in Bildern*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [Kom 97] Sonderheft zur Kombinatorischen Chemie, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 347-510.
- [Kon 91] T. Konosu, Y. Tajima, T. Miyaoka, V. Oida, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7545-7548.
- [Kra 02] Th. Kraemer, H. Maurer, *Therap. Drug Monitoring* **2002**, *24*, 277-289.
- [Kri 97] R. Kris, P. Wilson, S. Josiah, M. Wildgoose, H. Yeoman, V. Krchnak, S. Baum, S. Felder, *High throughput Sreening* **1997**, 263-271.
- [Kro 97] F. Kroll, R. Morphy, D. Rees, D. Gani, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8573-8576.

- [Kyr 99] J. Kyranos, J. Hogan, *Modern Drug Discovery* **1999**, 2, 73-74, 76-78, 80-81.
- [Lau 38] A. Laurent, C. Gerhardt *Ann. Chem. Phys.* **1838**, 66, 181ff und *Liebigs Ann. Chem.* **1838**, 28, 265-269.
- [Lep 99] S. Lepore, M. Wiley, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 4547-4550.
- [Lep 00] S. Lepore, M. Wiley, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2924-2932.
- [Lez 91] C. Leznoff, P. Svirskaya, B. Khouw, R. Cerny, P. Seymour, A. Lever *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 82-90.
- [Liu 95] G. Liu, J. Ellman, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7712-7713.
- [Liu 02] R. Liu, E. Smotkin *J. Electroanal. Chem.* **2002**, 535, 49-55.
- [Lun 01] H. Lund, O. Hammerich (Ed.): *Organic electrochemistry*, 4. ed., Dekker, New York, **2001**.
- [Lyn 98] L. Lyngso, J. Nielsen *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5845-5848.
- [Mam 01] A. Mamai, N. Hughes, A. Wurthmann, J. Madalengoitia, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 6483-6486.
- [Mar 00] G. Marchand, J.-F. Pilard, J. Simonet *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 883-885.
- [Mär 00] W. Märkle, Diplomarbeit, Universität Tübingen, **2000**.
- [Mär 02] W. Märkle, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [Mat 95] A. Matzeit, H.-J. Schäfer, C. Amatore, *Synthesis* **1995**, 1432-1434.
- [McAl 83] R. McAllister, S. Hamann, M. Piascik, *Biopharm. Drug Dis.* **1983**, 4, 203-211.
- [Mel 92] M. Meldal, *Tetrahedron* **1992**, 33, 3077-3080.
- [Mer 63] R. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- [Möl 97] K. Möller, H.-J. Schäfer, *Electrochim. Acta* **1997**, 42, 1971-1978.
- [Mor 90] A. Mori, K. Kinoshita, M. Osaka, S. Inoue, *Chemistry Letters* **1990**, 1171-1172.
- [Mor 98] S. Morlat-Therias, M. Passos, S. Ibrahim, T. Le Gall, M. Queiros, C. Pickett *Chem. Commun.* **1998**, 1175-1176.
- [Naj 01] J. Najib, *Clin. Therap.* **2001**, 23, 802-832.
- [Nud 96] G. Nuding, F. Voegtle, K. Danielmeier, E. Steckhan, *Synthesis* **1996**, 71-76.
- [Oeh 96] M. Oehme: *Praktische Einführung in die GC/MS-Analytik mit Quadrupolen*, Hüthig Verlag, Heidelberg **1996**.
- [Pat 88] S. Patil, P. Nicholls, K. Chamberlain, *Pestic. Sci.* **1988**, 22, 333-342.
- [Pau 00] K. Paulvannan, T. Chen, R. Hale, *Tetrahedron* **2000**, 56, 8071-8076.
- [Per 93] B. Peruche, M. Schulz, *Pharm. Zeitung* **1993**, 138, 37-38, 40.
- [Pil 98] J.-F. Pilard, G. Marchand, J. Simonet *Tetrahedron* **1998**, 54, 9401-9414.
- [Pou 90] J. Poulton *Plant Physiology* **1990**, 94, 401-405.

- [Pre 99] E. Pretsch, Th. Clerc, J. Seibl, W. Simon: Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen, Springer Verlag, **1999**.
- [Rag 70] U. Ragnarsson, G. Lindeberg, S. Karlsson, *Acta Chem. Scand.* **1970**, *24*, 3079-3080.
- [Ram 91] G. Ramos Tombo, D. Bellus, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1219-1241, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1193-1215.
- [Rau 91] R. Raue, A. Brack, K. Lange, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1689-1690, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1643-1644.
- [Red 94] M. Reddy, M. Michael, N. Girgis, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5771-5774.
- [Red 98] E. Reddington, A. Sapienza, B. Gurau, R. Viswanathan, S. Sarangapani, E. Smotkin, T. Mallouk, *Science* **1998**, *280*, 1735-1737.
- [Ren 86] a) P. Renaud, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1704-1710.  
b) P. Renaud, D. Seebach, *Synthesis* **1986**, 424-426.
- [Ric 94] L. Richter, T. Gadek, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4705-4706.
- [Rin 87] H. Rin, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787-3790.
- [Sch 90a] H.-J. Schäfer: *Topics in Current Chemistry*, Springer Verlag, Berlin, **1990**, S.91-151.
- [Sch 90b] K. Schwetlick et al: *Organikum*, VEB Berlin, **1990**, S.599.
- [Sch 93a] M. Schmidt, K. Albert, R. Brindle, C. Maichle-Mössmer, K. Eger *Z. Naturforsch.* **1993**, *48b*, 1372-80.
- [Sch 93b] J. Schulz, *Pharm. Ztg.* **1993**, *138*, 30-31,34,36.
- [Sch 99] D. Schmid, G. Jung, T. Walk *Glas, Industrie, Technik (GIT), Labor-Fachzeitschrift* **1999**, *10*, 1040-1043.
- [Sch 00] W. Schuhmann, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [Sch 01] D. Schmid, P. Grosche, G. Jung *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, *15*, 341-347.
- [Sch 02] D. Schmid, F. Majer, T. Kupke, G. Jung *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 1779-1784.
- [Sei 76] D. Seigler, *Econ. Bot.* **1976**, *30*, 395-407.
- [Sei 77] D. Seigler, *Progr. Phytochem.* **1977**, *4*, 83-120.
- [Sew 02] N. Sewald, H. Jakubke: *Peptides - Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [Sha 98] B. Shankar, D. Yang, S. Girton, A. Ganguly, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2447-2448.
- [She 82] R. Sheppard, B. Williams, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1982**, *20*, 451-454.
- [She 00] A. Shestopalov, V. Kislyi, E. Kruglova, K. Nikishin, V. Semenov, A. Buchanan, A.



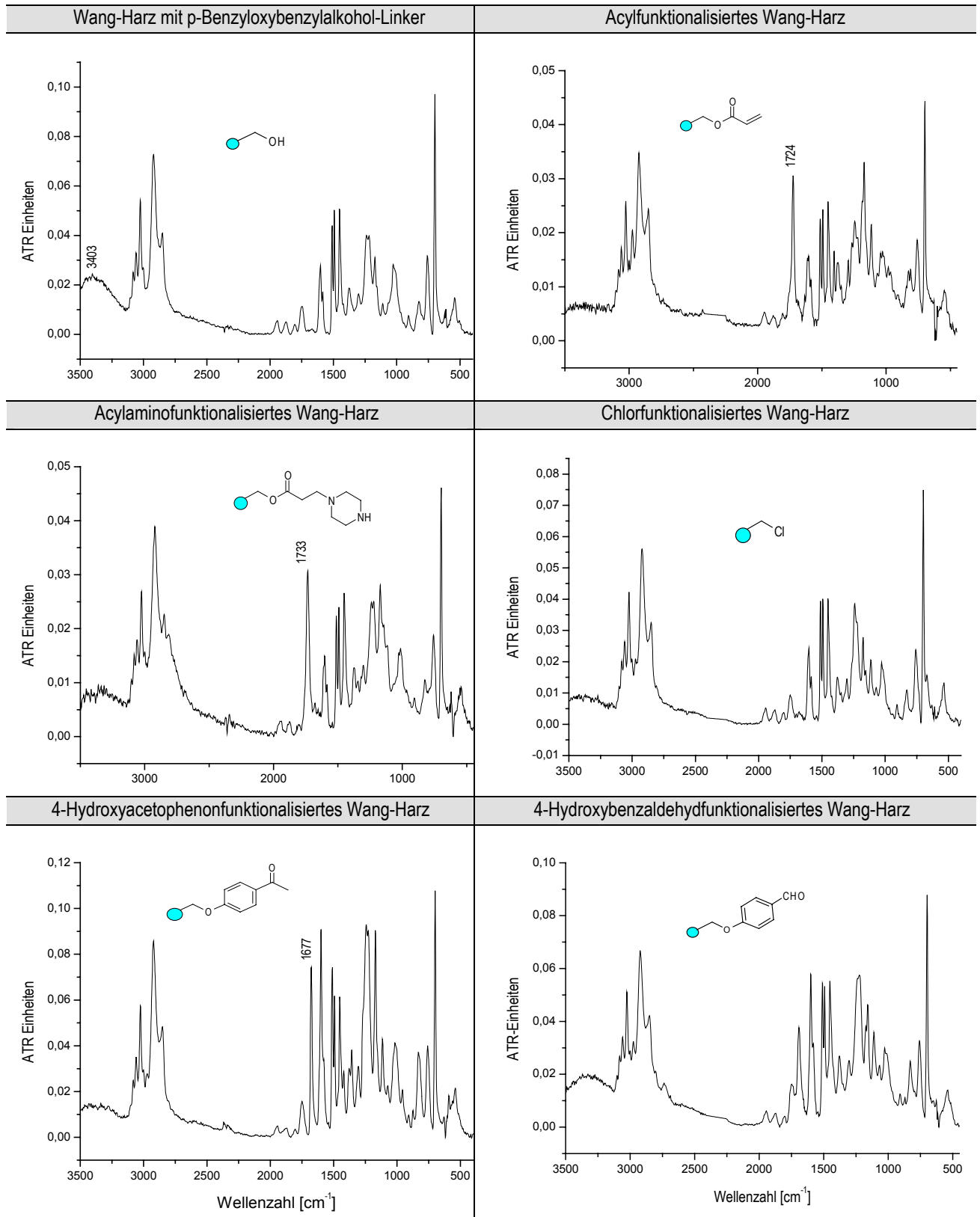
- Gakh J. *Comb. Chem.* **2000**, 2, 24-28.
- [Shi 88] H. Shine, A. Mansurul Hoque, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 4349-4353.
- [Shu 98] S. Shuttleworth, M Quimpere, N. Lee, J. DeLuca, *Mol. Diversity* **1998**, 4, 183-185.
- [Sim 98] a) M. Sim, Ch. Lee, A. Ganesan, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 2195-2198.  
b) M. Sim, Ch. Lee, A. Ganesan, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 6399-6402.
- [Siu 00a] T. Siu, W. Li, A. Yudin, *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 545-549.
- [Siu 00b] T. Siu, S. Yekta, A. Yudin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 11787-11790.
- [Siu 01] T. Siu, W. Li, A. Yudin, *J. Comb. Chem.* **2001**, 3, 554-558.
- [Siu 02] T. Siu, W. Li, A. Yudin, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 530-531.
- [Sma 89] P. Small, D. Sherrington, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1589-1591.
- [Spe 99] B. Speiser, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [Spe 01] B. Speiser, W. Märkle, S. Heiss, GDCh-Monographien 2001, 23, 285-292.
- [Ste 84] J. Stewart, J. Young, *Solid phase peptide synthesis, 2nd Ed.*, Pierce Chemical Company, Rockford, **1984**.
- [Ste 94] E. Steckhan, *Top. Curr. Chem.* **1994**, 170, 83-111.
- [Ste 97] H. Stephensen, F. Zaragoza *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6096-6097.
- [Ste 99] H. Stephensen, F. Zaragoza, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 5799-5802.
- [Sti 99] F. Stieber, U. Grether, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1142-1145, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1999**, 38, 1073-1077.
- [Str 50] A. Strecker, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1850**, 75, 27-45.
- [Sul 99] M. Sullivan, H. Utomo, P. Fagan, M. Ward *Anal. Chem.* **1999**, 71, 4369-4375.
- [Tho 96] L. Thompson, J. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, 555-600.
- [Tod 94] O. Todoulou, A. Papadaki-Valiraki, S. Ikeda, *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, 29, 611-620.
- [Tra 80] W. Traunecker, V. Haeselbarth, S. Brueckner, *Pharmacol. Antihypertens. Drugs* **1980**, 303-315.
- [Utl 97] J. Utlej, *Chem. Soc. Rev.* **1997**, 26, 157-167.
- [Vac 00] P. Vachal, E. Jacobsen, *Organic Lett.* **2000**, 2, 867-870.
- [Wan 97] Y. Wang, St. Wilson, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4021-4024.
- [Wan 73] S. Wang, *J. Am Chem. Soc.* **1973**, 95, 1328-1333.
- [War 99a] R. Warras in G. Jung (Ed.): *Combinatorial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, 1999*, S. 167-228.
- [War 99b] R. Warras, G. Lippens, in G. Jung, (Ed.): *Combinatorial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, 1999*, S. 533-542.
- [Wat 97] S. Watson, R. Wilson, D. Judd, S. Richards, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 9065-9068.

- [Wee 60] B. Weedon, *Advances Org. Chem. Methods Results* **1960**, 1-34.
- [Weh 96] T. Wehler, J. Westman, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4771-4774.
- [Wie 96] K.-H. Wiesmüller, S. Feiertag, B. Fleckenstein, S. Kienle, D. Stoll, M. Herrmann, G. Jung, in G. Jung, (Ed.): *Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries*, Wiley-VCH, Weinheim, **1996**, S.203-246.
- [Wil 89] R. Williams, *Synthesis of Optially Active  $\alpha$ -Amino Acids*, Pergamon, Oxford **1989**.
- [Wil 92] R. Williams, J. Hendrix, *Chem. Rev.* **1992**, 92, 889-917.
- [Wil 98] R. Wilson, S. Watson, S. Richards *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 2827-2830.
- [Wil 01] L. Wilson, *Org. Lett.* **2001**, 3, 585-588.
- [Woo 97] F. Woolard, J. Paetsch, J. Ellman, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6102-6103.
- [Yan 96] B. Yan, J. Fell, G. Kumaravel, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 7467-7472.
- [Yos 81] a) M. Yoshikawa, T. Kamigauchi, Y. Ikeda, I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29, 2582-2586, 2751-2781.  
b) M. Yoshikawa, T. Kamigauchi, Y. Ikeda, I. Kitagawa, *Heterocycles* **1981**, 15, 349-354.
- [Yud 01] A. Yudin, T. Siu, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, 5, 269-272.
- [Zar 96] F. Zaragoza, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6213-6216.
- [Zar 97] F. Zaragoza, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7291-7294.
- [Zho 95] P.-L. Zhao, R. Zambias, J. Bolognese, D. Boulton, K. Chapman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 10212-10216.

# 11 Anhang

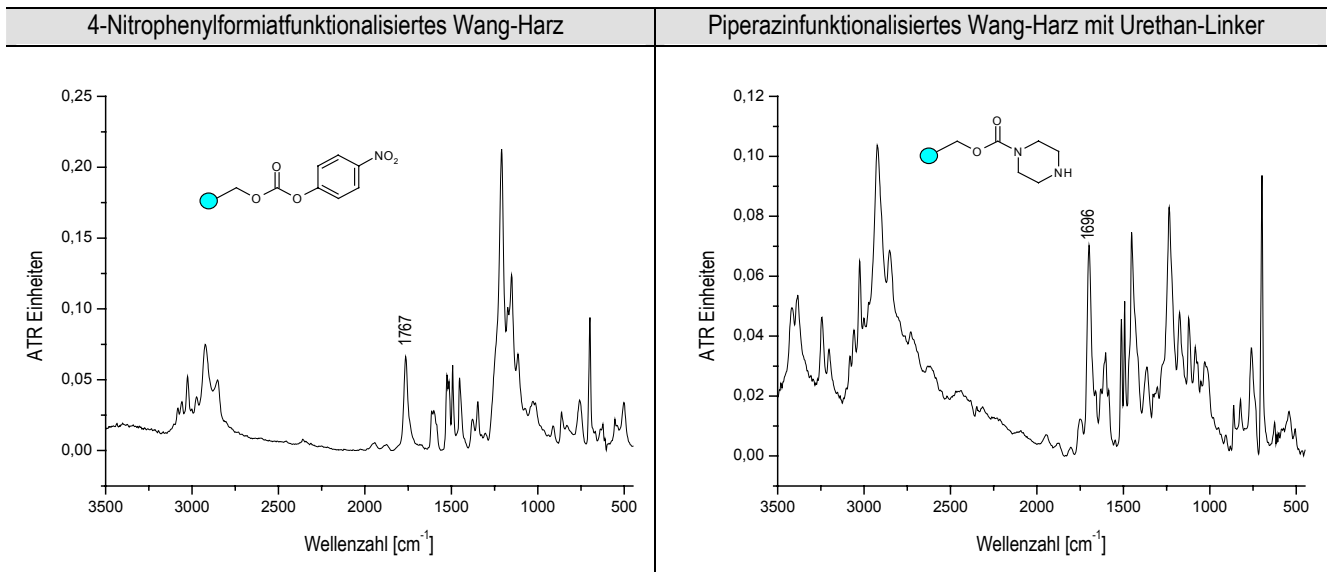
## 11.1 FT-ATR-IR-Spektren

Tabelle 68: FT-ATR-IR-Spektren von ausgewählten Harzen.



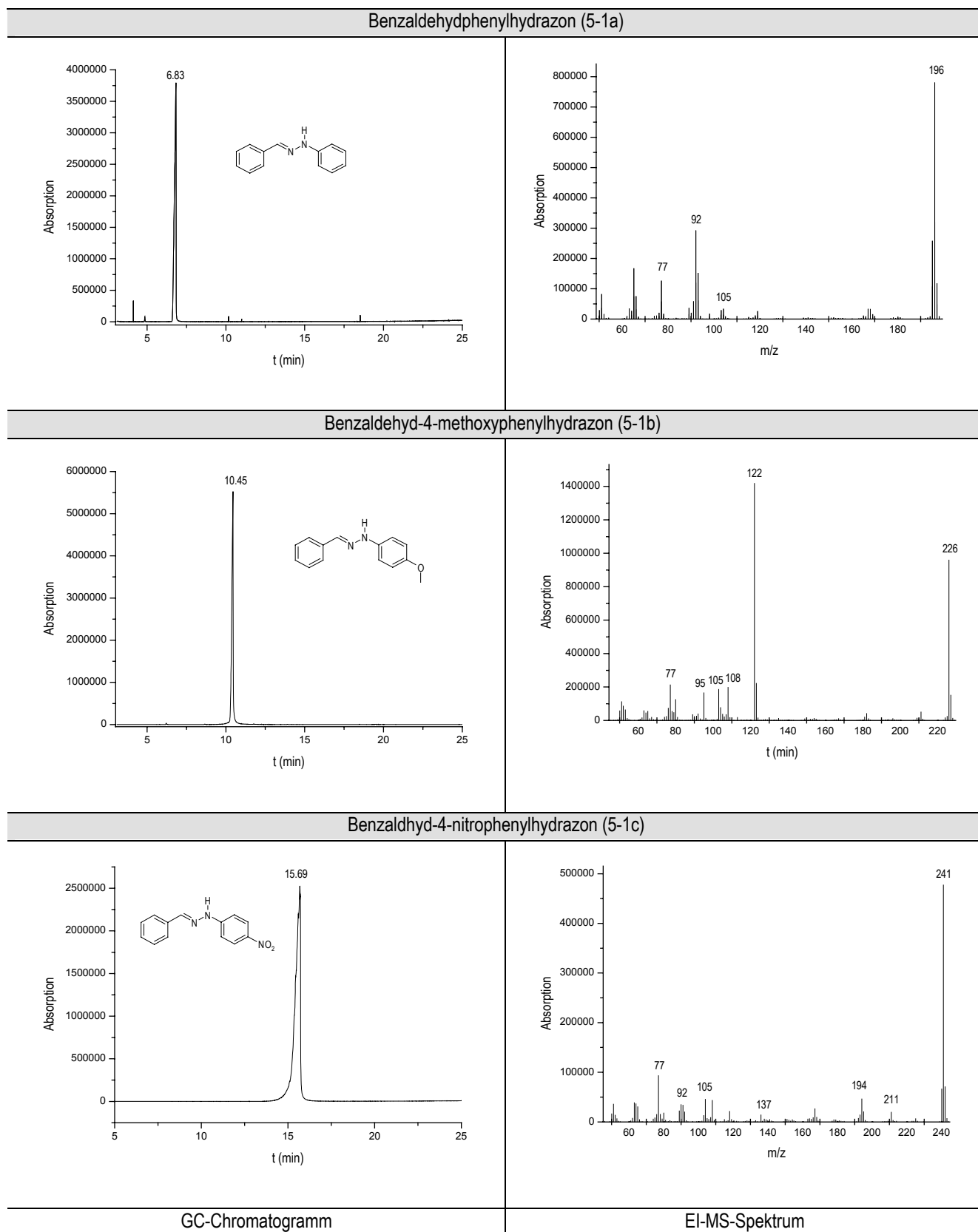
# Anhang

Fortsetzung Tabelle 68: FT-ATR-IR-Spektren von ausgewählten Harzen.



## 11.2 GC-MS-Analysen - Elektrochemie

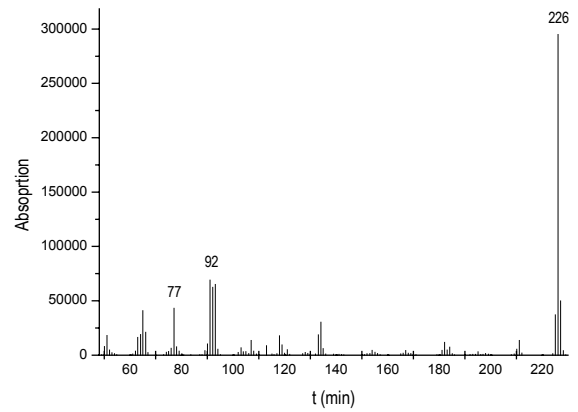
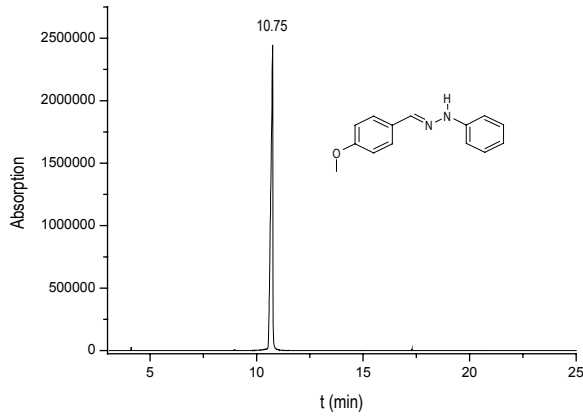
Tabelle 69: GC-MS-Analysen von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonen.



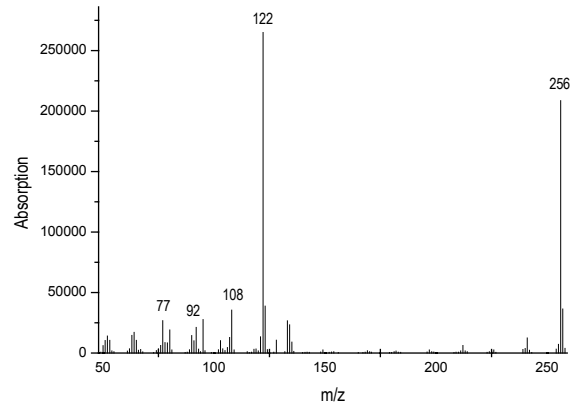
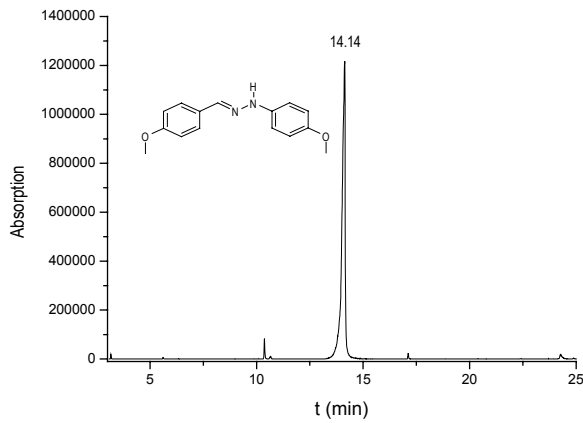
# Anhang

Fortsetzung Tabelle 69: GC-MS-Analysen von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonen.

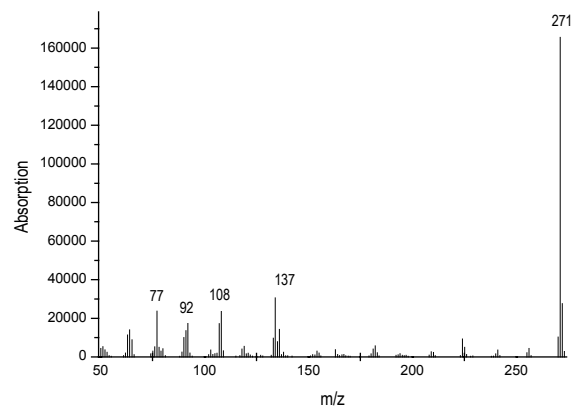
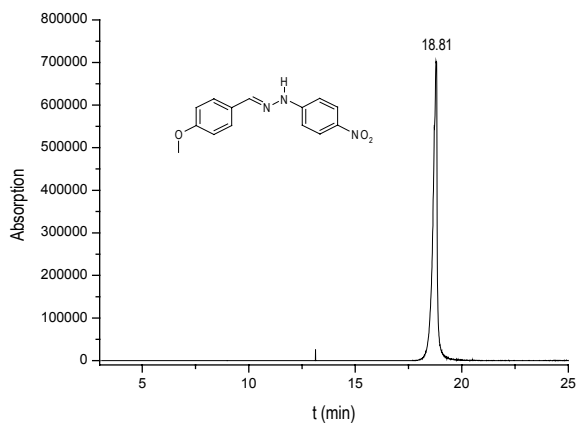
## Anisaldehydphenylhydrazon (5-2a)



## Anisaldehyd-4-methoxyphenylhydrazon (5-2b)



## Anisaldehyd-4-nitrophenylhydrazon (5-2c)

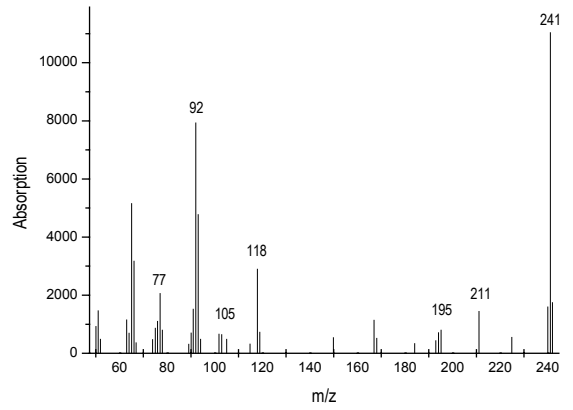
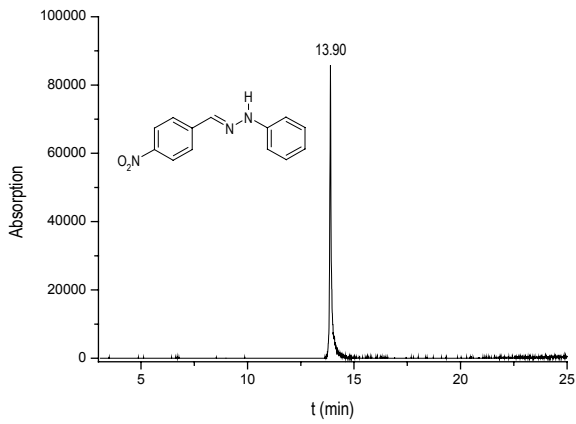


GC-Chromatogramm

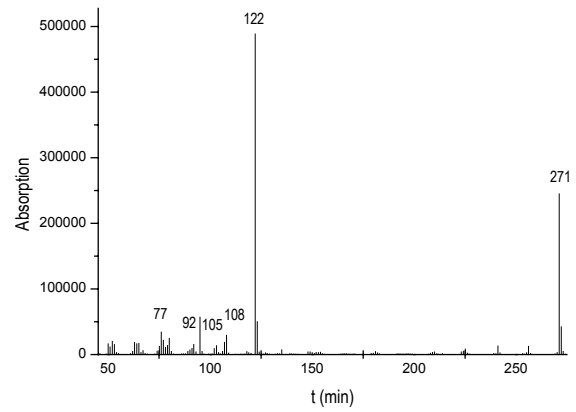
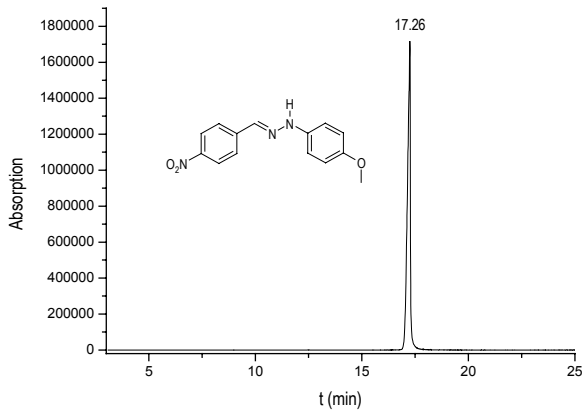
EI-MS-Spektrum

Fortsetzung Tabelle 69: GC-MS-Analysen von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonen.

4-Nitrobenzaldehydphenylhydrazon (5-3a)



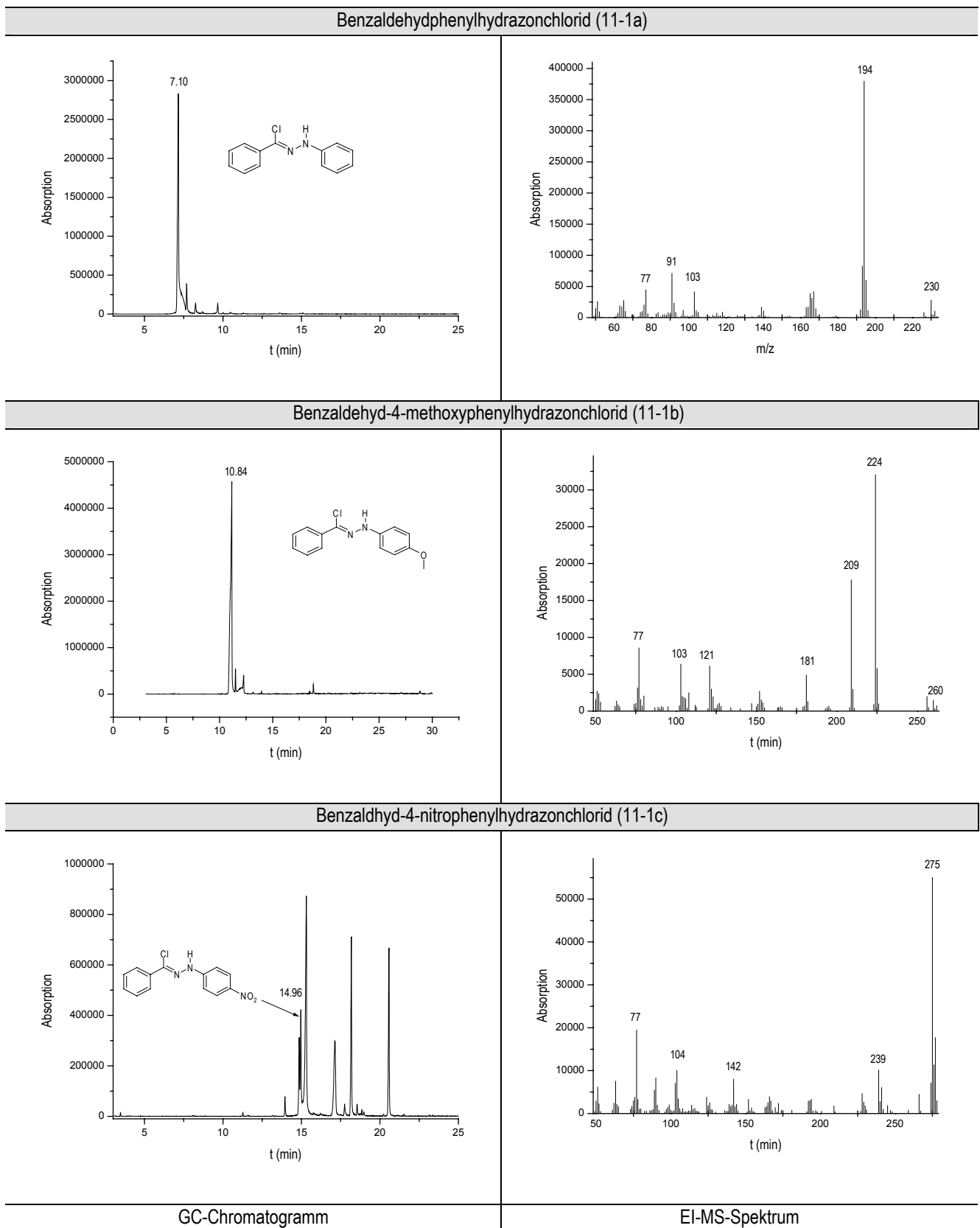
4-Nitrobenzaldehyd-4-methoxyphenylhydrazon (5-3b)



GC-Chromatogramm

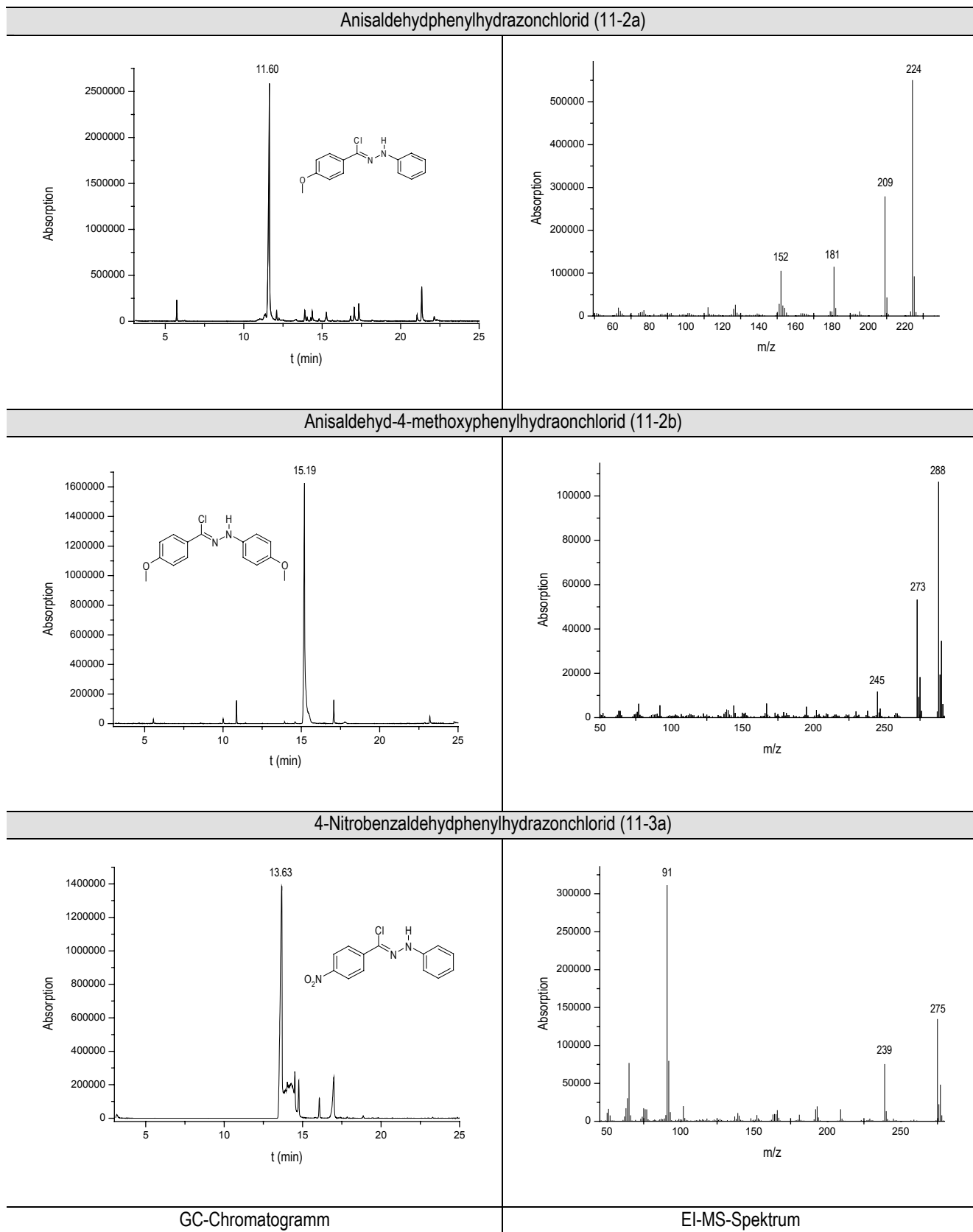
EI-MS-Spektrum

Tabelle 70: GC-MS-Analyse von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonchloriden.



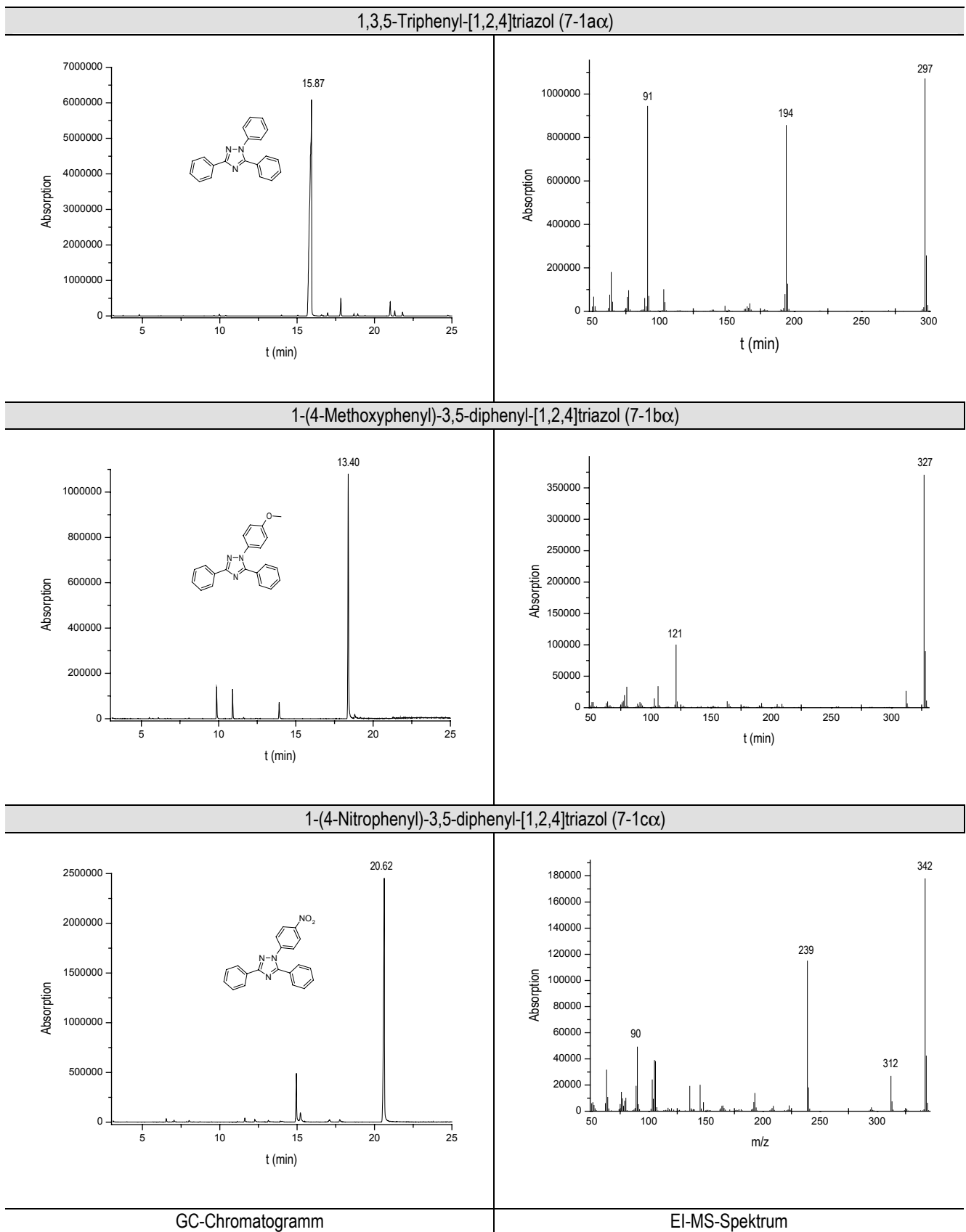


Fortsetzung Tabelle 70: GC-MS-Analyse von ausgewählten Benzaldehydphenylhydrazonchloriden.



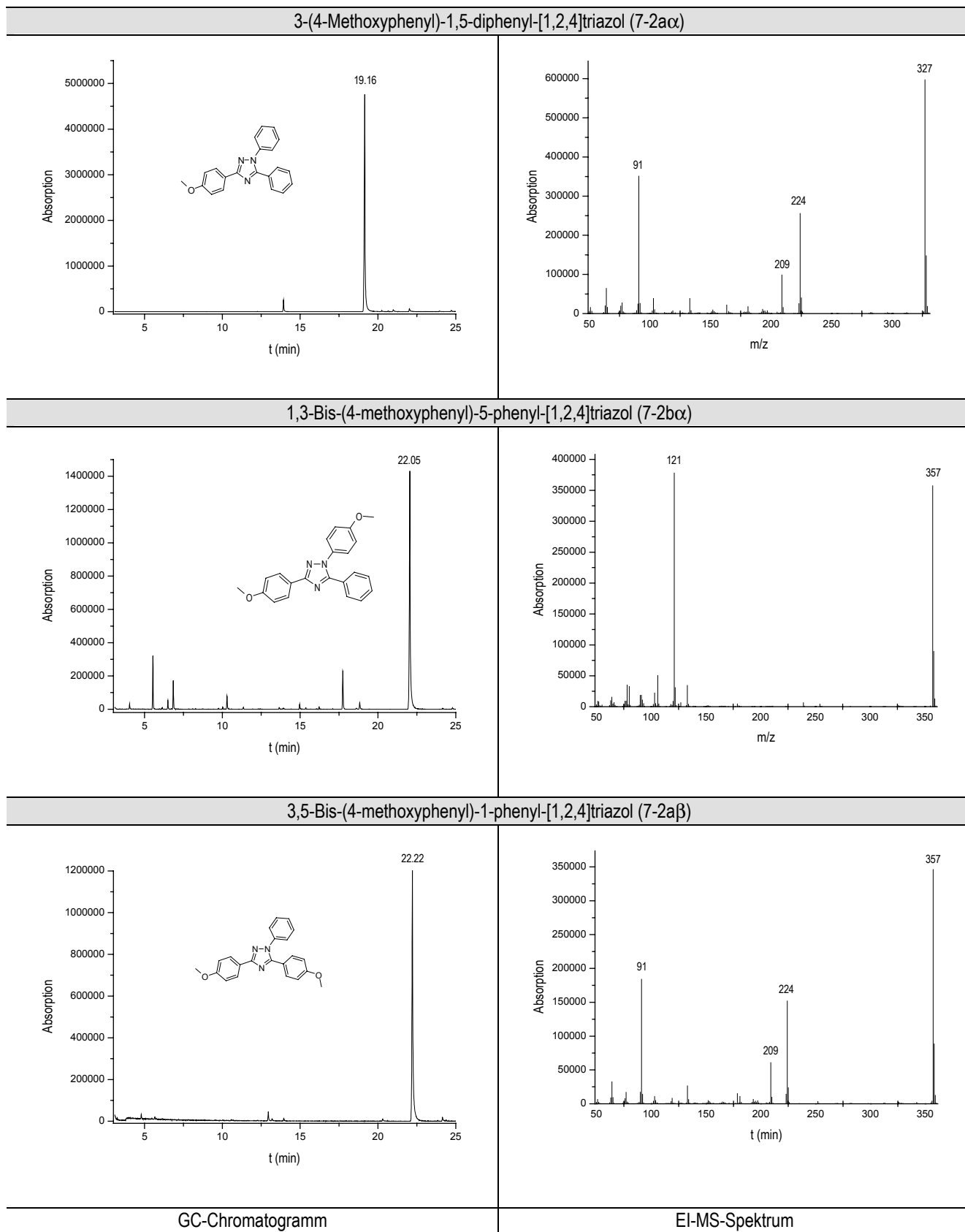
# Anhang

Tabelle 71: GC-MS-Analyse von ausgewählten 1,3,5-Triphenyltriazolen.



# Anhang

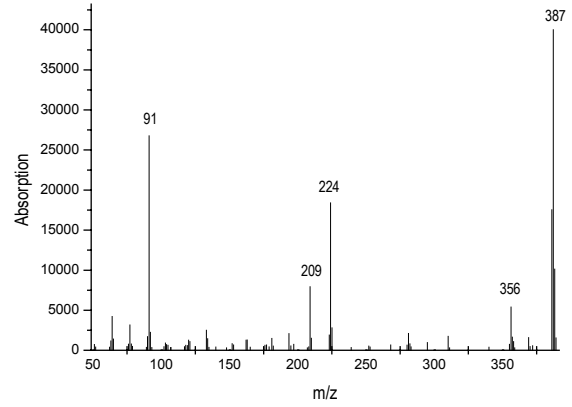
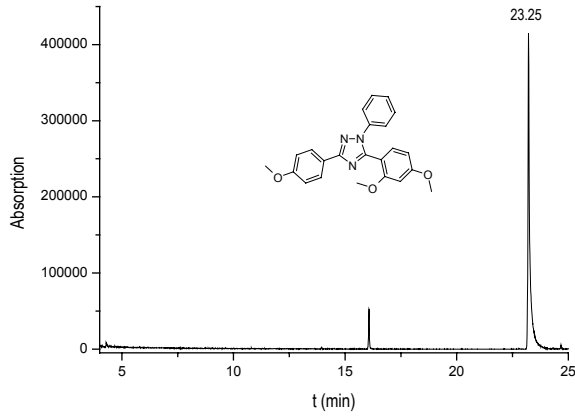
Fortsetzung Tabelle 71: GC-MS-Analyse von ausgewählten 1,3,5-Triphenyltriazolen.



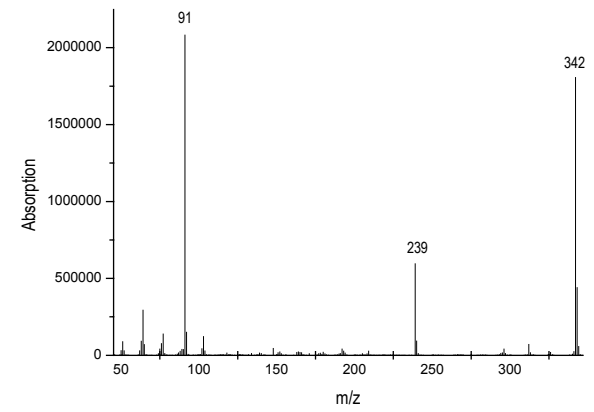
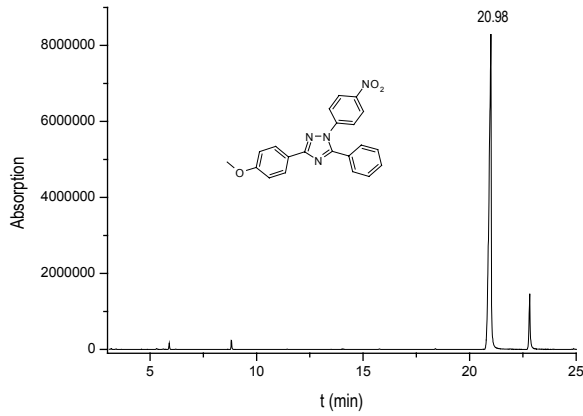
# Anhang

Fortsetzung Tabelle 71: GC-MS-Analyse von ausgewählten 1,3,5-Triphenyltriazolen.

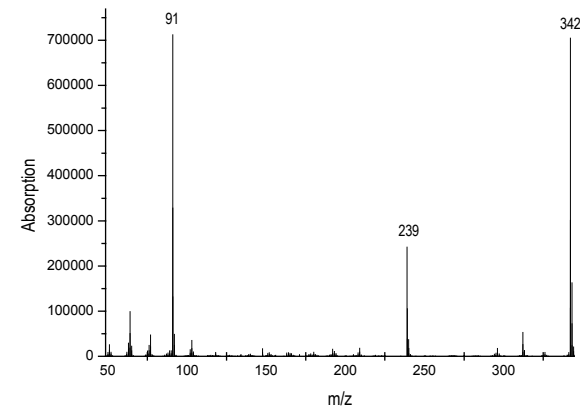
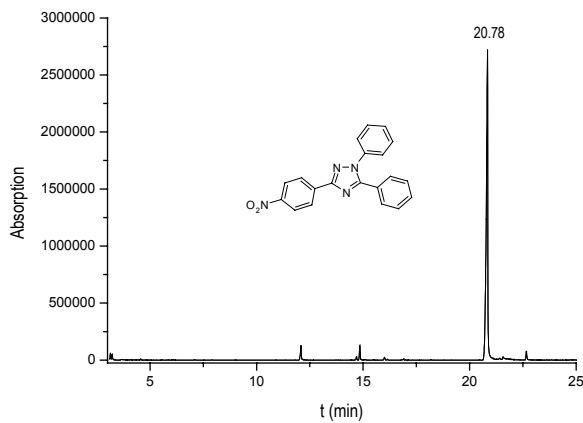
5-(2,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-[1,2,4]triazol (7-2aγ)



3-(4-Methoxyphenyl)-1-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (7-2cα)



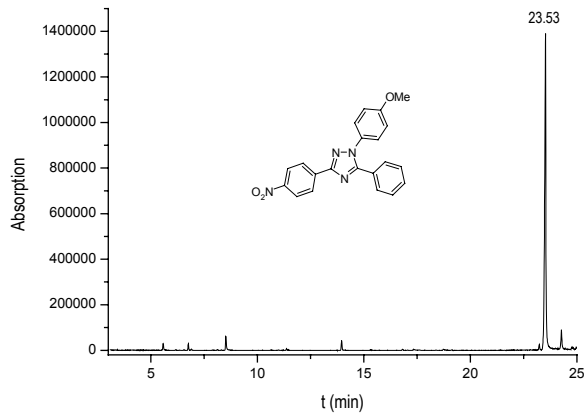
3-(4-Nitrophenyl)-1,5-diphenyl-[1,2,4]triazol (7-3aα)



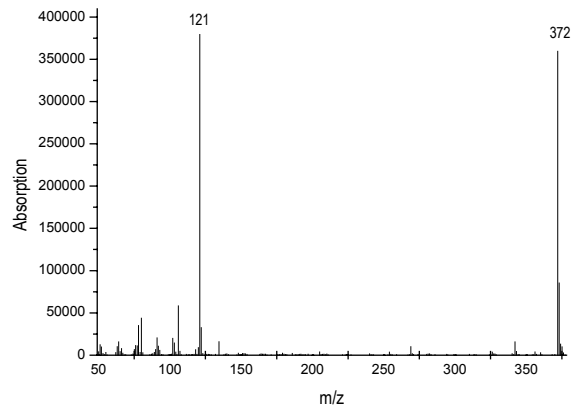
GC-Chromatogramm

EI-MS-Spektrum

Fortsetzung Tabelle 71: GC-MS-Analyse von ausgewählten 1,3,5-Triphenyltriazolen.

1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-[1,2,4]triazol (7-3b $\alpha$ )

GC-Chromatogramm



EI-MS-Spektrum

**Ergebnisse aus dem Projekt „Synthese von N-Substituted  $\alpha$ -Aminonitrile“ wurde auf einer Reihe von wissenschaftlichen Tagungen vorgestellt:**

- 6<sup>th</sup> International Symposium Solid Phase Synthesis and Combinatorial Chemical Libraries, York, Great Britain 31.08. – 04.09.1999, Katrin C. Probst, Dietmar G. Schmid and Günther Jung, "N-Substituted  $\alpha$ -Aminonitrile Synthesis".
- International Combinatorial Chemistry Symposium (ICCS), Tübingen 03.10. - 06.10.1999, Katrin C. Probst, Dietmar G. Schmid and Günther Jung, "N-Substituted  $\alpha$ -Aminonitrile Synthesis".

**Publikationen aus den Projektergebnissen bereits erschienen, im Druck oder zur Veröffentlichung eingereicht:**

- Probst, K.C. Schmid, D.G. and Jung, G., *N-Substituted  $\alpha$ -Aminonitrile Synthesis*, In Epton R. (Ed.), *Innovation and Perspectives in Solid Phase Synthesis and Combinatorial Libraries (Proceedings of the Sixth International Symposium, York, 1999)*, Mayflower Worldwide Ltd., Birmingham, U.K., 2001 Ch. 88, pp 339-342.
- Publikation in Vorbereitung über „Festphasensynthese von ungewöhnlichen Aminosäuren durch S-3CR“.

**Ergebnisse aus dem Projekt „Kombinatorisch-elektrochemische Synthesen von trisubstituierten 1,2,4-Triazolen aus Benzaldehyden, Phenylhydrazinen und Benzonitrilen“ wurden auf einer Reihe von wissenschaftlichen Tagungen vorgestellt:**

- 200<sup>th</sup> Meeting of the Electrochemical Society, in Verbindung mit dem 52<sup>nd</sup> Meeting of the International Society of Electrochemistry, Teilsymposium J1c (Bioelectrochemistry and Organic Electrochemical Reactions: Advances in Electro-Organic Synthesis), San Francisco, 02.09. – 07.09.2001, B. Speiser, W. Märkle, K. Probst u. G. Jung, "Anodic Oxidation of Benzaldehyde Phenylhydrazones in the Presence of Benzonitrile – Mechanism of Product Formation".
- 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry – ISE 2002, Symposium 10 (Organic Electrochemistry: Chemical Conversion by Electron Transfer – From Organometallics via Fine Chemicals to Redox Active Polymer Materials), Düsseldorf, 15.09. - 20.09.2002, W. Märkle, T. Erichsen, C. Tittel, K.C. Probst, G. Jung, W. Schuhmann und B. Speiser "Combinatorial Microelectrochemistry".

- 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry – ISE 2002, Symposium 10 (Organic Electrochemistry: Chemical Conversion by Electron Transfer – From Organometallics via Fine Chemicals to Redox Active Polymer Materials), Düsseldorf, 15.09. - 20.09.2002, W. Märkle, C. Tittel, V. Ryabova, K.C. Probst, W. Schuhmann und B. Speiser "Multiple Cyclic Voltammetry of Organic and Organometallic Compounds in Wells of Microtiter Plates".
- Eurocombi 2, The Second European Symposium on Combinatorial Sciences in Biology, Chemistry, Catalysts and Materials by ESCS, Kopenhagen, 29.06.-03.07.03, B. Speiser, W. Märkle, C. Tittel, Th. Erichsen, W. Schuhmann, K.C. Probst, G. Jung "Combinatorial Microelectrochemistry: First Results and Perspectives". (Angenommen als Hauptvortrag)
- Eurocombi 2, The Second European Symposium on Combinatorial Sciences in Biology, Chemistry, Catalysts and Materials by ESCS, Kopenhagen, , 29.06.-03.07.03, K.C. Probst, W. Märkle, G. Nicholson, W. Schuhmann, B. Speiser, G. Jung , "Combinatorial Microelectrosynthesis of 1,2,4-Triazoles in 96-well Plates". (Angenommen als Poster)

**Publikationen aus den Projektergebnissen in Vorbereitung:**

- W. Märkle, K.C. Probst, G. Jung und B. Speiser, Anodic Oxidation of Benzaldehyde Phenylhydrazones in the Presence of Benzonitriles. A Parallel Approach.

**Meine akademischen Lehrer waren:**

**FH Isny:** G. Bach, W. Brunn, W. Dilger, H. Guth, W. Lipps, J. Martin, H. Petschik, R. Thalacker.

**Universität Basel:** W. Arber, E. Constable, H.-F. Eicke, J. Engel, W. Gering, F. Gerson, G. Gescheidt, B. Giese, H.-P. Hauri, C. Housecroft, Th. Kaden, W. Keller, Th. Kiefhaber, K. Kirschner, J. P. Maier, M. Neuburger-Zehnder, M. Oehme, A. Pfaltz, H.F. Rowell G. Schatz, U. Séquin, H. Sigel, P. Strazewski, A. Wiemken, Th. Wirth, H.-J. Wirz, A. Zuberbühler.

**Universität Tübingen:** G. Drews, L. Heide, M.E. Maier.



## LEBENS LAUF

### Katrin Probst

**Geburtsdatum** 15.09.1970 in Waldshut-Tiengen

#### Schul Ausbildung

1977 – 1981 Grunds chule in Waldshut-Tiengen

1981 – 1990 Gymnasium in Waldshut-Tiengen

#### Hochschulstudium

10 / 90 – 10 / 94 Fachhochschulstudium der Chemie an der NTA Prof. Dr. Grübler in Isny/Allgäu.

02 / 94 – 08 / 94 Ausarbeitung der Diplomarbeit mit dem Titel „Untersuchungen zur Synthese und Konformation von sulfatierten Sacchariden“ unter der Betreuung von Herrn Dr. H.P. Wessel in der Roche AG, Basel/CH.

10 / 94 – 04 / 97 Diplomstudium der Chemie mit Nebenfach Biochemie an der Universität Basel/CH.

#### Berufspraxis

05 / 97 – 05 / 98 Wissenschaftliche Angestellte an der Universität Basel/CH.

05 / 98 – 01 / 99 Kardiovaskuläre und mikrobiologische Forschung in der Roche AG, Basel/CH.

#### Dissertation

02 / 99 – 03 / 03 Ausarbeitung der Dissertation mit dem Titel „Synthese von neuartigen  $\alpha$ -Aminosäuren sowie Analytik elektrochemisch erzeugter, trisubstituierter 1,2,4-Triazole.“ unter der Betreuung von Herrn Professor Dr. G. Jung am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen.