

**4,5-Diaryl-2-imidazoline als P2X<sub>7</sub>-Rezeptorantagonisten:  
Synthese, pharmakologische und biochemische  
Untersuchungen**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der  
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Kai Bochert**

aus Berlin

Berlin, Januar 2009

1. Gutachter:	Prof. Dr. Ronald Gust
2. Gutachter:	Prof. Dr. Ralf Stahlmann
Datum der Disputation:	28.04.2009

Meinen Eltern



Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin unter Anleitung von

**Herrn Prof. Dr. Ronald Gust,**

dem ich für die Überlassung des interessanten und vielfältigen Themas sowie für die große Freiheit bei dessen Bearbeitung herzlich danken möchte.

Mein besonderer Dank gilt weiterhin:

Frau Prof. Dr. A. Surprenant von der University of Manchester (GB) für die kurzfristige Aufnahme in ihr Zelllabor sowie das zur Verfügung Stellen stabil transfizierter HEK 293 Zellen,

Frau Prof. Dr. M. Schäfer-Korting und Herrn Prof. Dr. B. Kleuser für die Bereitstellung eines Fluoreszenz-Plattenlesegerätes,

den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Analytikabteilung des Instituts für Pharmazie für die Aufnahme der Spektren,

allen Kolleginnen und Kollegen des Arbeitskreises, die mir durch ihre Hilfs- und Diskussionsbereitschaft eine wertvolle Unterstützung waren, insbesondere Frau C. Cwikla, Frau A. Schäfer, Frau F. Schwegler, Frau A. Wellner, Herrn M. Goebel sowie Herrn C. Koppe für viele fachliche und nichtfachliche Diskussionen,

allen anderen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Pharmazie, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere Frau Dr. U. Brümmer und den Assistentinnen und Assistenten des Chemiepraktikums im 1. Semester für die angenehme Arbeitsatmosphäre,

Herrn T. Rudolf für seine fachliche Hilfe, viel mehr allerdings für seine freundschaftliche Unterstützung und den persönlichen Weckruf.



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1</b>	<b>Purinorezeptoren .....</b>	<b>15</b>
1.1.1	Allgemeines.....	15
1.1.2	Die P2Y-Rezeptorfamilie.....	16
1.1.3	Die P2X-Rezeptorfamilie.....	17
1.1.4	Der P2X <sub>7</sub> -Rezeptor.....	18
1.1.4.1	Allgemeines.....	18
1.1.4.2	Agonisten und Antagonisten .....	20
1.1.4.3	Physiologische Eigenschaften.....	22
<b>1.2</b>	<b>Problemstellung .....</b>	<b>24</b>
<b>2</b>	<b>Synthetischer Teil .....</b>	<b>29</b>
<b>2.1</b>	<b>Übersicht über die synthetisierten Verbindungen.....</b>	<b>29</b>
<b>2.2</b>	<b>Synthese der 1,2-Diamino-1,2-diarylethane .....</b>	<b>36</b>
2.2.1	Synthese des ( <i>1R,2S</i> )/( <i>1S,2R</i> )-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl) ethans.....	36
2.2.2	Synthese der ( <i>1R,2S</i> )/( <i>1S,2R</i> )-1,2-Diamino-1,2-diarylethane.....	38
2.2.3	Synthese der ( <i>1R,2R</i> )/( <i>1S,2S</i> )-1,2-Diamino-1,2-diarylethane.....	40
<b>2.3</b>	<b>Synthese der <i>N</i>-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane .....</b>	<b>41</b>
<b>2.4</b>	<b>Synthese der Iminoester .....</b>	<b>42</b>
2.4.1	Synthese der Arylpropionitrile.....	43
2.4.2	Synthese der Iminoester .....	44
<b>2.5</b>	<b>Synthese der Heterozyklen.....</b>	<b>45</b>
2.5.1	Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i> ]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2- <i>a</i> ]pyridine .....	45
2.5.2	Synthese der 2-Imidazoline.....	46
2.5.3	Synthese der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline.....	47
2.5.4	Synthese der 4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazoline.....	48
<b>3</b>	<b>Strukturuntersuchungen .....</b>	<b>53</b>
<b>3.1</b>	<b>(<i>4R,5S</i>)/(<i>4S,5R</i>)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin.....</b>	<b>53</b>
<b>3.2</b>	<b>(<i>4R,5S</i>)/(<i>4S,5R</i>)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-1-methyl-2-phenethyl-2- imidazolin .....</b>	<b>55</b>

---

3.3	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2,3-Bis(4-methoxyphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2- <i>a</i> ]pyridin .....	56
<b>4</b>	<b><i>in vitro</i>-Testsystem am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor .....</b>	<b>61</b>
4.1	Testsysteme .....	61
4.2	Etablierung eines Testsystems für antagonistische Aktivität am P2X <sub>7</sub> -Rezeptor .....	64
4.2.1	Einfluss der Konzentration des Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid ...	65
4.2.2	Bestimmung des Messzeitpunktes .....	70
4.2.3	Einfluss der Konzentration des Agonisten ATP .....	70
4.2.4	Einfluss verschiedener Zellmengen .....	72
4.2.5	Sonstige Untersuchungen .....	73
4.2.6	Einfluss zytotoxischer Effekte .....	75
4.2.7	Vergleich mit nicht transfizierten HEK 293 Zellen .....	76
4.2.8	Zusammenfassung .....	77
<b>5</b>	<b>Pharmakologische Untersuchungen am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor .....</b>	<b>81</b>
5.1	Ermittlung der antagonistischen Aktivität .....	81
5.2	Antagonistische Aktivität der Referenzsubstanz .....	82
5.3	Testergebnisse .....	84
5.3.1	2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i> ]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2- <i>a</i> ]pyridine .....	84
5.3.2	4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline .....	85
5.3.3	4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline .....	88
5.3.4	4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolin .....	90
5.3.5	2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline .....	91
5.3.6	4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline .....	92
5.4	Diskussion der Testergebnisse .....	93
<b>6</b>	<b>Zytotoxizitätsuntersuchungen .....</b>	<b>101</b>
6.1	Untersuchung der <i>in vitro</i> Zytotoxizität .....	101
6.2	Testergebnisse .....	103
6.2.1	2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i> ]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2- <i>a</i> ]pyridine .....	103
6.2.2	4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline .....	105

6.2.3	4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline .....	107
6.2.4	4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolin .....	108
6.2.5	2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline .....	109
6.2.6	4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline .....	110
<b>6.3</b>	<b>Diskussion der Testergebnisse .....</b>	<b>111</b>
<b>7</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>121</b>
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>131</b>
<b>9</b>	<b>Experimenteller Teil.....</b>	<b>135</b>
<b>9.1</b>	<b>Allgemeine Angaben .....</b>	<b>135</b>
9.1.1	Synthetischer und analytischer Teil .....	135
9.1.1.1	Chemikalien .....	135
9.1.1.2	Verwendete Geräte.....	135
9.1.2	Biochemischer und pharmakologischer Teil.....	136
9.1.2.1	Biologisches Material.....	136
9.1.2.2	Verwendete Geräte.....	137
9.1.2.3	Verbrauchsmaterialien .....	137
9.1.2.4	Reagenzien und Lösungen .....	138
9.1.2.5	Zellkulturmedien .....	139
<b>9.2</b>	<b>Synthesvorschriften – Analytische Daten .....</b>	<b>140</b>
9.2.1	Synthese des ( <i>1R,2S</i> )/( <i>1S,2R</i> )-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethans.....	140
9.2.2	Synthese der ( <i>3R,4S</i> )/( <i>3S,4R</i> )-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene .....	141
9.2.3	Synthese der ( <i>1R,2S</i> )/( <i>1S,2R</i> )-1,2-Diamino-1,2-diarylethane.....	148
9.2.4	Synthese der identisch substituierten ( <i>3R,4S</i> )/( <i>3S,4R</i> )-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-dien-Derivate .....	154
9.2.5	Synthese der ( <i>1R,2R</i> )/( <i>1S,2S</i> )-1,2-Diamino-1,2-diarylethane.....	155
9.2.6	Synthese der ( <i>1R,2S</i> )/( <i>1S,2R</i> )- <i>N</i> -Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane...	156
9.2.7	Synthese der Arylpropionitrile .....	158
9.2.8	Synthese der Iminoester .....	161
9.2.9	Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>a</i> ]imidazole	165
9.2.10	Synthese der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2- <i>a</i> ]pyridine...	174

---

9.2.11	Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline .....	183
9.2.12	Synthese der 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline .....	193
9.2.13	Synthese des (4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-(3-phenylpropyl)- 2-imidazolins .....	201
9.2.14	Synthese der 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline .....	202
9.2.15	Synthese der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline .....	204
9.2.16	Synthese der 4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazoline .....	205
<b>9.3</b>	<b>Biochemischer und pharmakologischer Teil – Arbeitsvorschriften.....</b>	<b>208</b>
9.3.1	Kulturbedingungen und Passagieren .....	208
9.3.1.1	Allgemeine Kulturbedingungen.....	208
9.3.1.2	Passagieren der Zellen .....	208
9.3.1.3	Einfrieren und Auftauen der Zellen.....	209
9.3.1.4	Zellzahlbestimmung .....	209
9.3.2	Zytotoxizitätsuntersuchungen.....	210
9.3.2.1	Aussaat der Zellen .....	210
9.3.2.2	Substanzzugabe.....	210
9.3.2.3	Abstoppen des Zellwachstums .....	211
9.3.2.4	Ermittlung der Zellmasse im Kristallviolett-Assay (Färben) .....	211
9.3.2.5	Bestimmung der IC <sub>50</sub> -Werte .....	212
9.3.3	Untersuchungen am P2X <sub>7</sub> -Rezeptor.....	212
9.3.3.1	Durchführung des P2X <sub>7</sub> -Assay.....	212
9.3.3.2	Bestimmung der IC <sub>50</sub> -Werte .....	213
<b>10</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>217</b>
10.1	<b>Konzentrations-Wirkungskurven der Verbindungen am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor .....</b>	<b>217</b>
10.2	<b>Konzentrations-Wirkungskurven der Verbindungen an der MDA-MB 231 Zelllinie .....</b>	<b>228</b>
<b>11</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>241</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

<b>abs.</b>	absolut
<b>ADP</b>	Adenosindiphosphat
<b>AMP</b>	Adenosinmonophosphat
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>ber.</b>	berechnet
<b>BzATP</b>	2',3'-O-(Benzoyl-4-benzoyl)-ATP
<b>CHN</b>	Elementaranalyse
<b>COX</b>	Cyclooxygenase
<b>DMEM</b>	Dulbecco's Modified Eagle Medium
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraacetat
<b>FCS</b>	fetales Kälberserum
<b>gef.</b>	gefunden
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	Protonenresonanzspektrum
<b>HTS</b>	high-throughput screening
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleukin-1 $\beta$
<b>IR</b>	Infrarotspektroskopie
<b>MS</b>	Massenspektrometrie
<b>NMDG</b>	N-Methyl-D-glucamin
<b>PBS</b>	Phosphat Buffered Saline
<b>Schmp.</b>	Schmelzpunkt
<b>UDP</b>	Uridindiphosphat
<b>UTP</b>	Uridintriphosphat



# **1 Einleitung**



# 1 Einleitung

## 1.1 Purinorezeptoren

### 1.1.1 Allgemeines

Der Begriff der purinergen Rezeptoren wurde 1978 von Burnstock eingeführt. Gleichzeitig unterteilte er diese in P1-Purinorezeptoren mit Adenosin als wirksamstem natürlichen Agonisten und P2-Purinorezeptoren mit Adenosintriphosphat (ATP) und Adenosindiphosphat (ADP) als wirksamen Agonisten. Neben der relativen Potenz von ATP, ADP, AMP (Adenosinmonophosphat) und Adenosin beruhte seine Einteilung insbesondere auf dem selektiven antagonistischen Effekt von Methylxanthinen hinsichtlich der Adenosinwirkung, sowie der Stimulation der Prostaglandinsynthese durch ATP und ADP und der Aktivierung der Adenylylzyklase durch Adenosin (Burnstock, 1978).

Erstmals diskutiert wurden die Purine als extrazelluläre Signalmoleküle allerdings bereits im Jahr 1929 von Drury und Szent-Györgyi, die verschiedene biologische Effekte für AMP und Adenosin nachweisen konnten. Wurden diese isolierten Purine einem Versuchstier injiziert, so resultierten arterielle Dilatation, Blutdruckabfall, Leitungsstörungen am Herzen sowie eine Inhibition der Darmkontraktion (Drury & Szent-Györgyi, 1929). Erste Anhaltspunkte für die Existenz verschiedener Purinorezeptoren lieferte Gillespie, der 1934 eine Abhängigkeit der biologischen Wirkung von der Struktur der Adenosinderivate zeigen konnte. Während nach Adenosin- bzw. AMP-Gabe sowohl bei Katzen als auch bei Kaninchen Vasodilatation und Blutdruckabfall zu beobachten war, führte ATP zu einer Erhöhung des Blutdruckes. Hingegen induzierte ATP deutlich stärker als AMP und Adenosin Kontraktionen von Ileum und Uterus des Meerschweinchens (Gillespie, 1934).

Durch den Nachweis der Freisetzung von ATP aus dem Nervus auricularis gelangen Holton und Holton 1953 erste Hinweise auf die physiologische Rolle extrazellulären ATPs als Neurotransmitter (Holton & Holton, 1953).

Seitdem konnten Purinen sehr unterschiedliche Effekte an einer Vielzahl von Geweben und Zellen zugeordnet werden. Ebenso wie die Kontraktion glatter Muskelzellen zählen hierzu die Beeinflussung von Immunantwort, Entzündungsgeschehen,

Plättchenaggregation und Schmerzwahrnehmung sowie Modulation kardialer Effekte als auch exokrine und endokrine Sekretion (Gordon, 1986; Dubyak & el-Moatassim, 1993; Burnstock & Kennedy, 1986; Olsson & Pearson, 1990; Ralevic & Burnstock, 1998).

Noch heute besitzt die 1978 von Burnstock vorgenommene Einteilung in P1- und P2-Purinorezeptoren Gültigkeit, wenngleich sich aufgrund der Aktivität von Pyrimidinen wie Uridindiphosphat (UDP) und Uridintriphosphat (UTP) die Benennung als P1- bzw. P2-Rezeptoren durchgesetzt hat (Fredholm, et al., 1994). Die Begriffe P1-Rezeptoren und Adenosinrezeptoren werden hierbei synonym verwendet. Sie werden in Abhängigkeit ihrer molekularen Beschaffenheit in die vier Subtypen A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> und A<sub>3</sub> unterteilt. Bei allen handelt es sich um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die jedoch unterschiedliche Gewebeverteilungen und pharmakologische Eigenschaften aufweisen (Ralevic & Burnstock, 1998).

Bei P2-Rezeptoren konnten sowohl ligandengesteuerte Kationenkanäle (Benton & Dillon, 1942) als auch G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (Dubyak, 1991) gefunden werden. Diese Unterscheidung bildet die Grundlage für die Unterteilung in die P2X- und die P2Y-Rezeptorfamilien (Abbraccio & Burnstock, 1994).

### 1.1.2 Die P2Y-Rezeptorfamilie

Die P2Y-Rezeptoren gehören zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Ihre Länge beträgt zwischen 308 und 377 Aminosäuren (Ralevic & Burnstock, 1998). Bisher konnten acht verschiedene P2Y-Rezeptoren kloniert werden (P2Y<sub>1, 2, 4, 6, 11, 12, 13, 14</sub>). Die ungewöhnliche Bezifferung lässt sich durch Rezeptoren, die sich als identisch mit anderen klonierten P2Y-Rezeptoren bzw. als nicht mehr der P2Y-Rezeptorfamilie zugehörig erwiesen haben, erklären.

Die Signaltransduktion der meisten P2Y-Rezeptoren (1, 2, 4, 6, 11,) beginnt über Aktivierung von Phospholipase C mit anschließender Hydrolyse von Phosphatidylinositol-4,5-phosphat zu Diacylglycerol und Inositol-1,4,5-trisphosphat und daraus resultierender Freisetzung von Ca<sup>2+</sup> aus intrazellulären Speichern. Eine

Stimulation verschiedener nachfolgender Signalwege kann nun erfolgen, beispielsweise die Aktivierung verschiedener Isoenzyme der Proteinkinase C (Hofmann, 2005). Den P2Y<sub>12</sub>-, P2Y<sub>13</sub>- und P2Y<sub>14</sub>-Rezeptoren konnte eine Signalweiterleitung über Hemmung der Adenylylcyclase zugeordnet werden.

### 1.1.3 Die P2X-Rezeptorfamilie

Bislang konnten sieben verschiedene P2X-Rezeptor-Subtypen kloniert werden (P2X<sub>1</sub> – P2X<sub>7</sub>). Bei allen handelt es sich um ligandengesteuerte Ionenkanäle mit sehr kurzer Reaktionszeit, die infolge einer Aktivierung durch extrazelluläres ATP eine selektive Permeabilität für Kationen (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> und Ca<sup>2+</sup>) aufweisen (North R., 1996). Die Länge der P2X-Rezeptoren variiert von 384 (P2X<sub>4</sub>) bis 595 (P2X<sub>7</sub>) Aminosäuren. Allen Subtypen gemein ist das Vorhandensein von jeweils zwei Transmembrandomänen, die extrazellulär durch eine relativ große Schleife verbunden sind. Sowohl das C- als auch das N-terminale Ende liegen somit zytosolisch lokalisiert vor (Soto, Garcia-Guzman, & Stühmer, 1997). Bezüglich der Transmembrandomänen und der extrazellulären Schleife sind die Proteine zu 40 – 55 % paarweise identisch. Bemerkenswert ist dabei das Vorkommen von zehn konservierten Cysteinresten bei allen bekannten P2X-Rezeptoren, die durch Ausbildung von Disulfidbrücken maßgeblichen Einfluß auf die Tertiärstruktur der extrazellulären Schleife haben, sowie von 14 konservierten Glycinresten und jeweils zwei bis sechs Glykosylierungsstellen (North R. A., 2002). Deutliche Unterschiede in der Aminosäuresequenz weisen hingegen die intrazellulär lokalisierten C-Termini auf. Ungeachtet, welcher Subtyp betrachtet wird und von welcher Spezies zeigt der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor hier die geringste Übereinstimmung mit anderen Subtypen. So finden sich hier ein mit 240 Aminosäuren signifikant längeres carboxyterminales Ende sowie eine neben den beiden Transmembrandomänen dritte hydrophobe Domäne (North R. A., 2002).

Neben dem Universalagonisten ATP existieren weitere Agonisten, die sich in ihrer Wirkpotenz an den verschiedenen P2X-Rezeptorsubtypen unterscheiden:  $\alpha,\beta$ -Methylen-ATP ( $\alpha,\beta$ -meATP), 2-Methylthio-ATP (2-MeSATP), Cytidintriphosphat (CTP), ADP, UTP sowie 2',3'-O-(Benzoyl-4-benzoyl)-ATP (BzATP) (Ralevic &

Burnstock, 1998). Neben der Charakterisierung der Rezeptoreigenschaften durch die Reihenfolge der Agonistenwirksamkeit lassen sich P2X-Rezeptoren auch bezüglich ihres Desensitivierungsverhaltens unterteilen. Während P2X<sub>1</sub>- und P2X<sub>3</sub>-Rezeptoren innerhalb einiger Millisekunden desensitivieren, erfolgt bei allen anderen Subtypen eine Desensitivierung 100–1000 mal langsamer, wobei sowohl die Desensitivierungszeit als auch die Erholungszeit von der Konzentration des Agonisten abhängig ist (North R. A., 2002).

Von großem Interesse waren Untersuchungen der  $\alpha,\beta$ -meATP-Wirkung an sensorischen Nerven der Ratte, die eine den P2X<sub>1</sub>- bzw. P2X<sub>3</sub>-Rezeptoren entsprechende agonistische Aktivität offenbarten. Durch das Fehlen des für diese Rezeptorsubtypen typischen Desensitivierungsverhaltens entstand allerdings ein pharmakologisches Profil, das keinem der bis dahin klonierten Rezeptoren zugeordnet werden konnte. Vermutet wurde das Vorkommen heteromerer P2X-Rezeptoren, die sich in ihren pharmakologischen Eigenschaften von den homomeren unterscheiden (Lewis, Neidhart, Holy, North, Buell, & Surprenant, 1995). Unterstützt wurde diese These durch Coimmunopräzipitationsexperimente (Torres, Egan, & Voigt, 1999). Tatsächlich scheinen mit Ausnahme des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors alle Rezeptorsubtypen in der Lage zu sein, neben homomeren Rezeptoren auch heteromere Rezeptoren zu bilden (Torres, Egan, & Voigt, 1999).

#### **1.1.4 Der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor**

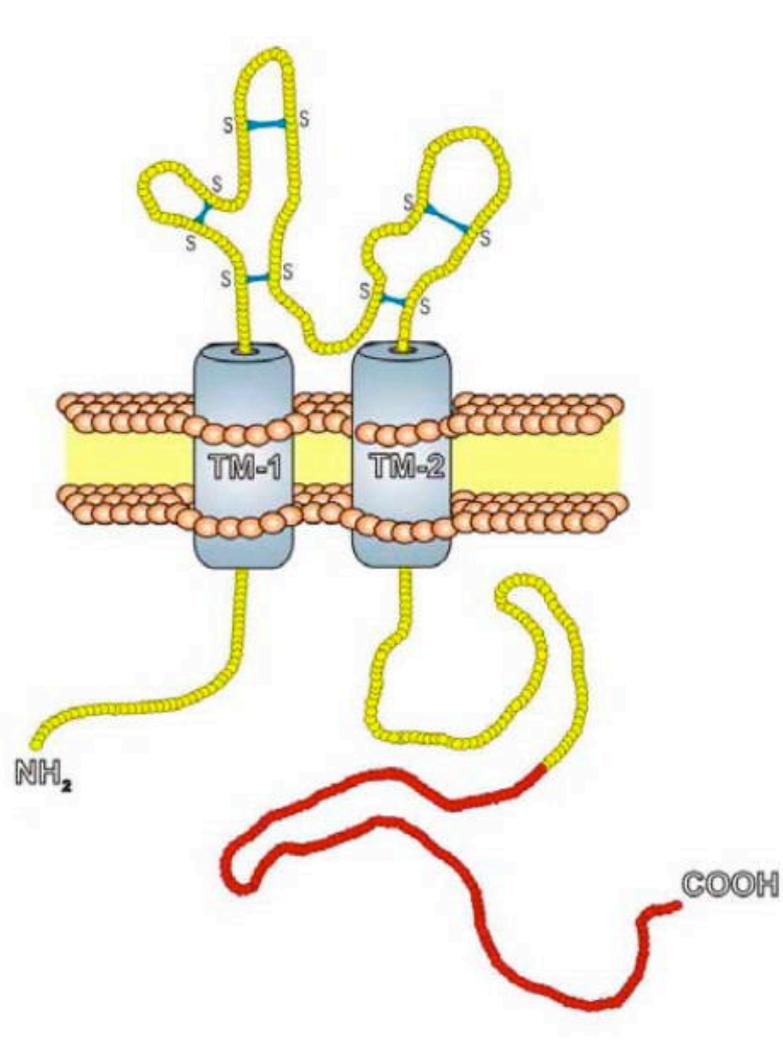
##### **1.1.4.1 Allgemeines**

Zunächst wurde 1996 der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor aus Hirngewebe der Ratte kloniert (Surprenant, Rassendren, Kawashima, North, & Buell, 1996), bevor 1997 die humane (Rassendren, Buell, Virginio, Collo, North, & Surprenant, 1997) und 1998 die murine (Chessell, Simon, Hibell, Michel, Barnard, & Humphrey, 1998) Variante aus Monozyten bzw. aus mikroglialen Zellen kloniert wurden.

Strukturell hat der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor zwar Ähnlichkeit mit anderen P2X-Rezeptoren, weist jedoch einen mit 240 Aminosäuren signifikant längeren C-Terminus, sowie die im

paarweisen Vergleich der Aminosäuresequenz geringste Übereinstimmung mit allen anderen P2X-Rezeptoren auf. Mit 595 Aminosäuren ist er das größte Protein der P2X-Rezeptorfamilie (Abb. 1.1).

Beschrieben wurden P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren vor allem in Zellen der hämatopoetischen Reihe, also in Granulozyten, Monozyten bzw. Makrophagen sowie B-Lymphozyten; des Weiteren unter anderem in Mastzellen, Muskelzellen der glatten Muskulatur, in Fibroblasten sowie in Astrozyten (Gu, Zhang, Bendall, Chessell, Buell, & Wiley, 2000; John, Simpson, Woodroffe, Lee, & Brosnan, 2001; Sluyter, Barden, & Wiley, 2001; Solini, Chiozzi, Morelli, Fellin, & Di Virgilio, 1999; Zou, Ugur, Drummond, & Singer, 2001).

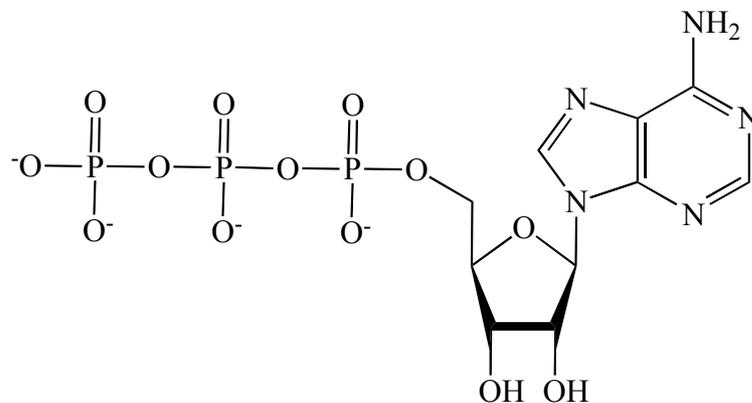


**Abb. 1.1** Struktur eines P2X<sub>7</sub>-Rezeptors (Stanchev, 2006)

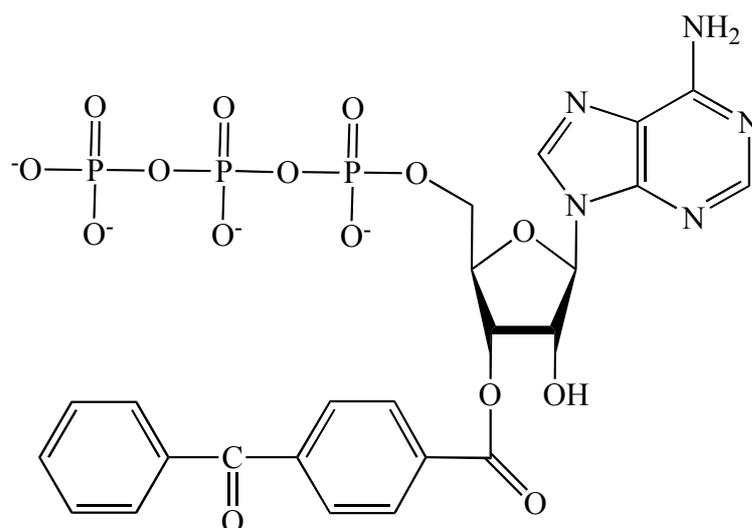
Die P2X<sub>7</sub>-Untereinheit ist mit 595 Aminosäuren länger als die anderer Mitglieder der Rezeptorfamilie. N- und C-Terminus sind intrazellulär lokalisiert und der C-Terminus ist mit 240 Aminosäuren sehr lang. Die 177 für die Porenbildung essentiellen Aminosäuren sind rot markiert, die extrazellulär gelegenen Disulfidbrücken blau.

### 1.1.4.2 Agonisten und Antagonisten

Hinsichtlich der agonistischen Aktivität der Purin- bzw. Pyrimidinverbindungen lassen sich P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren deutlich von anderen P2X-Rezeptoren abgrenzen. Zum einen zeichnen sie sich durch eine recht hohe Selektivität für ATP (Abb. 1.2) aus. Allerdings sind für eine Stimulation sehr hohe Konzentrationen von > 100 µM notwendig. BzATP (Abb. 1.3) weist eine 10–100 fach höhere agonistische Aktivität als ATP auf. Weiterhin auffällig ist die Tatsache, dass sowohl in der Amplitude als auch in der Kinetik der Ionenströme nach wiederholter Applikation desselben Agonisten deutliche Veränderungen zu verzeichnen sind (North R. A., 2002).



**Abb. 1.2** Struktur von Adenosintri-phosphat (ATP)

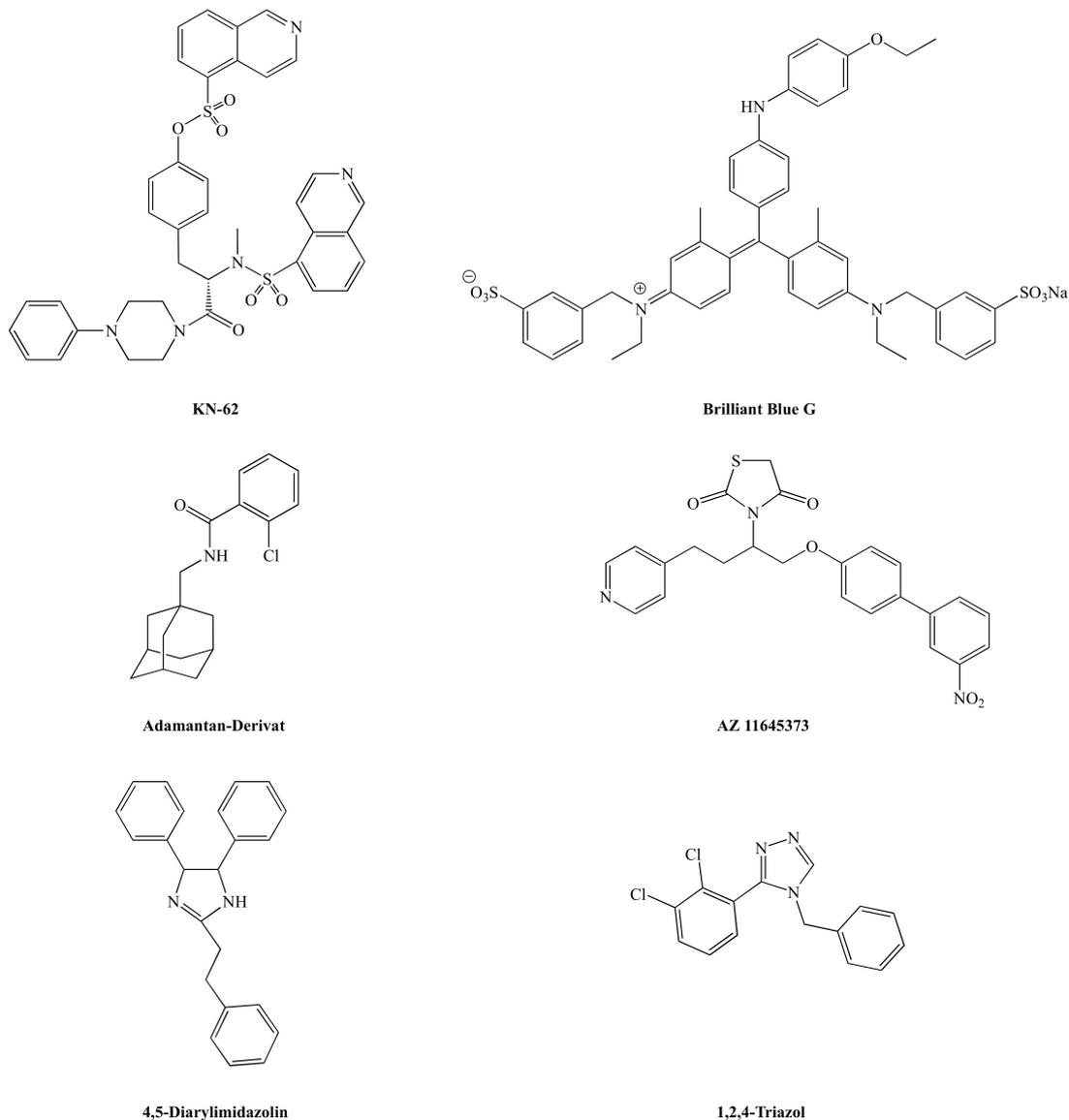


**Abb. 1.3** Struktur des wirksameren und selektiveren P2X<sub>7</sub>-Agonisten BzATP

Erschwert werden Untersuchungen bezüglich der agonistischen bzw. antagonistischen Aktivität insbesondere durch einen ausgeprägten antagonistischen Effekt extrazellulärer Calcium- und Magnesiumionen (Virginio, MacKenzie, Rassendren, North, & Surprenant, 1999). Auch andere bivalente Kationen wie  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Ni}^{2+}$  vermögen einen antagonistischen Effekt auszuüben. Diskutiert werden hier neben einer Komplexbildung des als Wirkform postulierten  $\text{ATP}^{4-}$  allosterische Effekte am  $\text{P2X}_7$ -Rezeptor (Virginio, MacKenzie, Rassendren, North, & Surprenant, 1999).

Neben den bivalenten Kationen konnte dem 2',3'-Dialdehyd-ATP antagonistische Aktivität nachgewiesen werden; allerdings sind eine beträchtliche Inkubationszeit von mehreren Stunden sowie hohe Konzentrationen erforderlich. Es resultiert eine irreversible Hemmung (Zoetewij, van de Water, de Bont, & Nagelkerke, 1996).

Mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert im nanomolaren Bereich wurde mit KN-62 (1-[N,O-Bis(5-isochinolinsulfonyl)-N-methyl-L-tyrosyl]-4-phenylpiperazin) (Abb. 1.4) erstmalig ein potenter Antagonist beschrieben (Gargett & Wiley, 1997). Als weiterer potenter und selektiver Antagonist an murinen und humanen  $\text{P2X}_7$ -Rezeptoren konnte Brilliant Blue G identifiziert werden (Abb. 1.4) (Jiang, Mackenzie, North, & Surprenant, 2000). In der Folgezeit lieferte die Suche nach weniger großen und lipophilen Molekülen weitere potente Antagonisten, beispielsweise Adamantanderivate (Baxter, et al., 2003), das Thiazolidin-2,4-dion-Derivat AZ 11645373 (Alcaraz, et al., 2003), 4,5-Diarylimidazoline (Merriman, et al., 2005) sowie 1,2,4-Triazole (Cario-Toumaniantz, Loirand, Ladoux, & Pacaud, 1998) (Abb. 1.4).



**Abb. 1.4** Strukturformeln einiger P2X<sub>7</sub>-Antagonisten

### 1.1.4.3 Physiologische Eigenschaften

Kurzzeitige Stimulierung des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors durch extrazelluläres ATP führt zu einer Membrandepolarisation und zu einer Öffnung des Ionenkanals, der permeabel für Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> und Ca<sup>2+</sup> wird (Virginio, MacKenzie, North, & Surprenant, 1999). Wiederholte oder verlängerte Aktivierung induziert die Bildung einer großen unselektiven Pore, die eine Membranpermeabilität für größere Moleküle wie N-Methyl-D-glucamin (NMDG) oder

Fluoreszenzfarbstoffe wie Ethidiumbromid und Yo-Pro-1 (Abb. 4.1, S. 62) aufweist. Die Kationenselektivität bleibt jedoch weiterhin erhalten (Virginio, MacKenzie, Rassendren, North, & Surprenant, 1999). Nachfolgende Vakuolisierung und Caspase-vermittelter Zelltod begründen den Verdacht einer Beteiligung an Nekrose- bzw. Apoptosevorgängen zur Eliminierung unerwünschter Zellen aufgrund pathologischer oder physiologischer Veränderungen (Ralevic & Burnstock, 1998). Die strukturelle Besonderheit der P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren bezüglich des signifikant längeren C-Terminus scheint hierbei eine wichtige Rolle zu spielen. Zumindest die letzten 177 Aminosäuren sind essentiell für die Bildung der Pore (Abb. 1.1), wohingegen die Öffnung des Ionenkanals auch mit verkürztem C-Terminus auftritt (Surprenant, Rassendren, Kawashima, North, & Buell, 1996). Während lange Zeit die Bildung der Pore durch den Rezeptor selbst diskutiert wurde (North R. A., 2002), ergaben Versuche, dass eine Farbstoffaufnahme nach Stimulation durch ATP nicht in allen Zelltypen erfolgt (Klapperstück, Büttner, Böhm, Schmalzing, & Markwardt, 2000; Petrou, Ugur, Drummond, Singer, & Walsh, 1997). Dies legte die Vermutung einer Beteiligung eines weiteren Proteins nahe (Jiang, MacKenzie, North, & Surprenant, 2000; Faria, Defarias, & Alves, 2005). Auch die Tatsache, dass Maitotoxin auch an Zellen ohne P2X<sub>7</sub>-Rezeptor Vorkommen eine Pore induziert (Schilling, Wasylina, Dubyak, Humphreys, & Sinkins, 1999; Lundy, et al., 2004), die wie die P2X<sub>7</sub>-Rezeptor-vermittelte Pore permeabel für NMDG und Yo-Pro-1 ist, spricht für die Aktivierung eines ubiquitären Porenproteins (Schilling, Rajan, & Strobl-Jager, 1989). Tatsächlich konnte dieses Protein als Pannexin-1 identifiziert werden (Pelegriin & Surprenant, 2006). Es gehört zu einer drei Mitglieder umfassenden Familie von Membranproteinen (Pannexin-1, -2 und -3), die gap-junction-artige Verbindungen bilden (Barbe, Monyer, & Bruzzone, 2006; Panchin, 2005). Während eine Blockade von Pannexin-1 in Makrophagen die Porenbildung verhindert, konnte kein Einfluß auf den Ionenstrom festgestellt werden (Pelegriin & Surprenant, 2006).

Eine weitere entscheidende Rolle wird dem P2X<sub>7</sub>-Rezeptor als Entzündungsmediator zuteil (Di Virgilio, Borea, & Illes, 2001). Die zur Rezeptoraktivierung notwendigen hohen ATP-Konzentrationen finden sich gerade bei Verletzungs- und Entzündungsprozessen (Ferrari, et al., 2006), so dass der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor insbesondere durch aus beschädigten Zellen freigesetztes ATP an Bedeutung gewinnt (Hibell, Kidd,

Chessell, Humphrey, & Michel, 2000). Speziell der Einfluss auf Bildung und Freisetzung des proinflammatorischen Zytokins Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) unterstreicht die Wichtigkeit und Attraktivität des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors als therapeutisches Ziel. So konnten Studien an Mäusen, die diesen nicht aufweisen, zeigen, dass eine direkte Abhängigkeit der ATP-vermittelten IL-1 $\beta$ -Freisetzung vom P2X<sub>7</sub>-Rezeptor besteht (Solle, et al., 2001). Diese Mäuse zeigten eine deutlich verringerte Entzündungsreaktion (Ke, et al., 2003). Auch wenn der Signalweg der ATP-vermittelten Freisetzung von IL-1 $\beta$  noch nicht geklärt ist, so belegen Studien, dass auch diese durch eine Blockade von Pannexin-1 vermindert werden konnte. Ein Signalweg unabhängig von der Hemikanalfunktion wird derzeit diskutiert (Pelegriin & Surprenant, 2007).

Des Weiteren wurde für die Aktivierung von P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren eine Vielzahl von Signalwegen beschrieben. In Abhängigkeit der untersuchten Zellen wurde beispielsweise Aktivierung von Phospholipase D in Lymphozyten und Monozyten, Aktivierung von Phospholipase A<sub>2</sub>, sowie der Transkriptionsfaktoren AP-1 und NF- $\kappa$ B gefunden. Ebenso werden P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren mit Aktivierungen der Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPK) in Verbindung gebracht (Humphreys & Dubyak, 1996; Budagian, et al., 2003; Bradford & Soltoff, 2002; Pfeiffer, Aga, Prabhu, Watters, Hall, & Bertics, 2004).

Auch wenn die Rolle der P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren *in vivo* noch nicht vollständig geklärt werden konnte, so scheint der aus pharmakologischer Hinsicht größte Nutzen auf den Gebieten der Schmerzregulation, des Entzündungsprozesses sowie bei neurodegenerativen Erkrankungen zu sein (Chessell, et al., 2005; Donnelly-Roberts & Jarvis, 2007; Le Feuvre, Brough, & Rothwell, 2002).

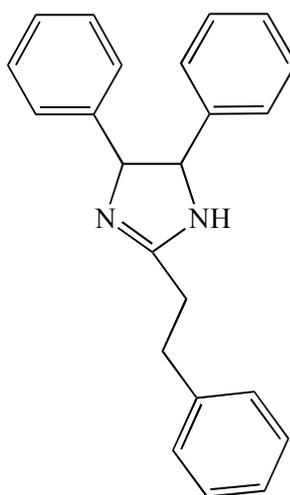
## 1.2 Problemstellung

Die Arbeitsgruppe von Prof. Gust beschäftigt sich intensiv mit der Synthese neuer Verbindungen mit 4,5-Diaryl-2-imidazolin-Struktur.

Da für einige Verbindungen dieser Substanzklasse antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor bekannt ist (Merriman, et al., 2005), sollte in dieser Arbeit ein *in vitro*-Testsystem für antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor zur weiteren Nutzung im

Arbeitskreis von Prof. Gust etabliert werden. Verwendung finden sollten hierfür stabil mit dem P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierte Zellen der Zelllinie HEK 293.

Ausgehend von der in der Literatur als potenter Antagonist des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors beschriebenen Leitstruktur **77** (Abb. 1.5) (Merriman, et al., 2005) sollten Strukturmodifikationen durchgeführt werden. Die Grundstruktur des 2-Imidazolins sollte hierbei erhalten bleiben. Insbesondere sollten Substituenten in die Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins sowie in den Aromaten des 2-Phenethylrestes eingeführt werden. Des Weiteren sollte ein Austausch des 2-Phenethylrestes gegen andere aromatische, aliphatische sowie zyklische Reste erfolgen. Ebenso sollten Einflüsse durch *N*-Alkylierung sowie durch Konfigurationsänderung beispielhaft an einigen Verbindungen untersucht werden.



**Abb. 1.5** Strukturformel der als potenter Antagonist am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor beschriebenen Verbindung **77**

Durch Testung im zu etablierenden *in vitro*-Testsystem sollten Struktur-Wirkungs-Beziehungen der geplanten Strukturmodifikationen aufgestellt werden.

Ebenso sollte der Einfluss der physikochemischen Eigenschaften der verschiedenen synthetisierten Verbindungen auf die Zytotoxizität untersucht werden.

Höchstes Potential verspricht der Einsatz antagonistisch am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor wirksamer Substanzen durch einen möglichen inhibitorischen Einfluß auf Schmerz- und Entzündungsprozesse ohne die bekannten und schwerwiegenden unerwünschten Arzneimittelwirkungen der bisher eingesetzten Arzneistoffe, insbesondere der COX-Hemmer (Diclofenac, Acetylsalicylsäure, Ibuprofen, etc.).

Von besonderem Interesse wäre daher die Entwicklung einer am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor möglichst potenten Verbindung, bei gleichzeitiger Eliminierung der zytotoxischen Eigenschaften.

## **2 Synthetischer Teil**

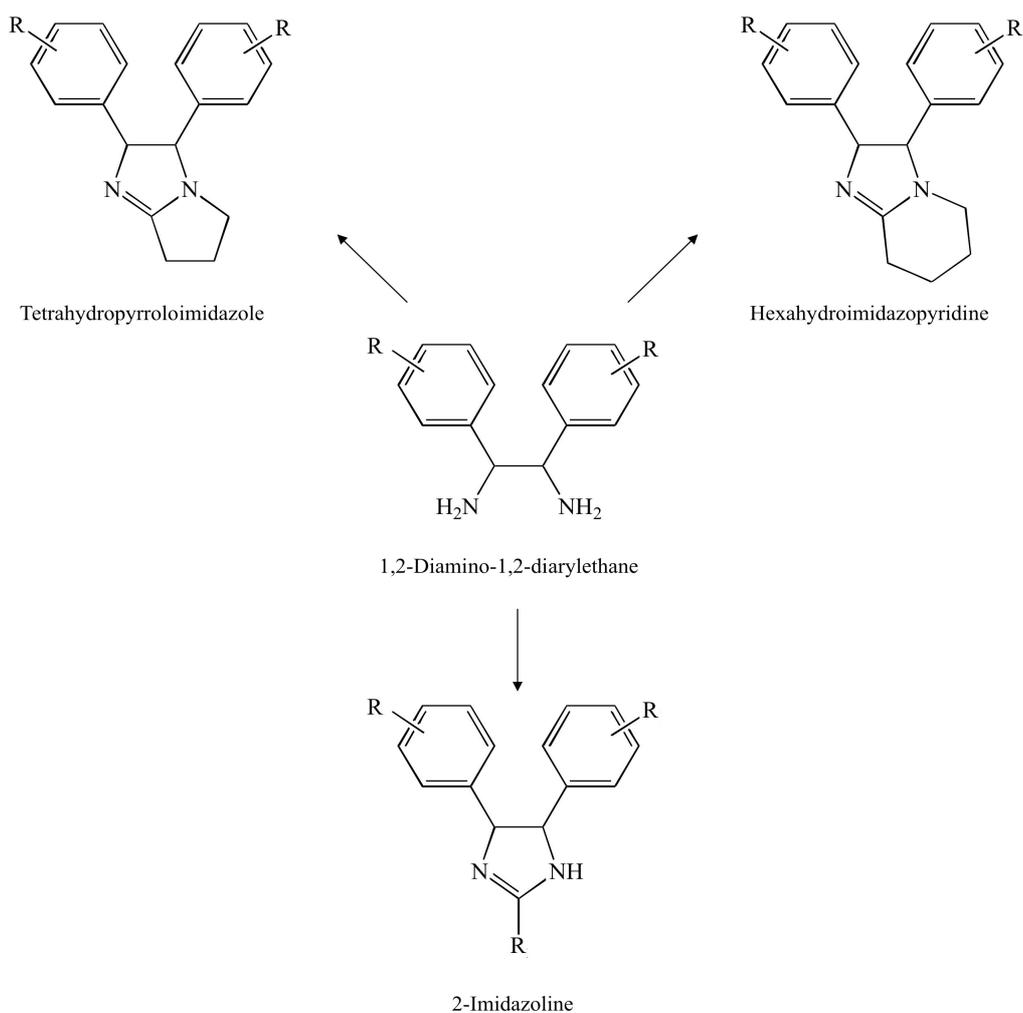


## 2 Synthetischer Teil

### 2.1 Übersicht über die synthetisierten Verbindungen

Ausgehend von 1,2-Diamino-1,2-diarylethanen wurden im Rahmen dieser Arbeit verschiedene Verbindungsklassen hergestellt. Ein Überblick über die synthetisierten Strukturklassen ist Abb. 2.1 zu entnehmen.

Die  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane wurden unter Erhalt der Konfiguration zu Tetrahydropyrroloimidazolen, Hexahydroimidazopyridinen und 2-Imidazolinen umgesetzt.

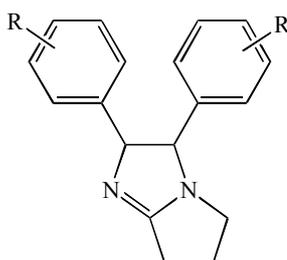


**Abb. 2.1** Umsetzung von 1,2-Diamino-1,2-diarylethanen

Während die Tetrahydropyrroloimidazole und die Hexahydroimidazopyridine Möglichkeiten der Strukturvariation lediglich an den Aromaten bieten, wurden die  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -2-Imidazoline neben Modifikation an den Aromaten durch verschiedene Substituenten in 2-Position sowie durch *N*-Alkylierung verändert.

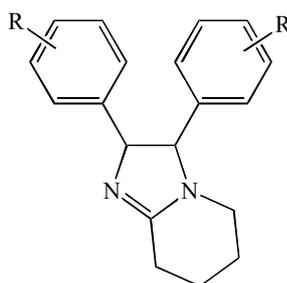
Des Weiteren können aus  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -konfigurierten 1,2-Diamino-1,2-diarylethanen  $(1R,2R)/(1S,2S)$ -konfigurierte 1,2-Diamino-1,2-diarylethane dargestellt werden, die ihrerseits ebenfalls unter Konfigurationserhalt zu  $(4R,5R)/(4S,5S)$ -2-Imidazolinen umgesetzt wurden.

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Verbindungen sind in den Tab. 2.1 bis Tab. 2.7 aufgeführt.



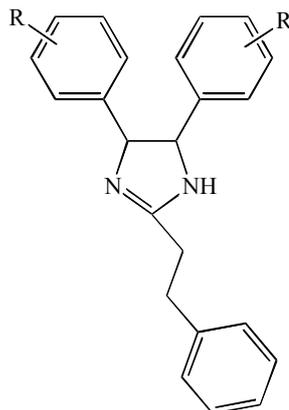
<b>R</b>	<b>Konfiguration</b>	<b>Verbindung</b>
H	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>52</b>
2-Cl	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>53</b>
3-Cl	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>54</b>
4-Cl	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>55</b>
2-F	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>56</b>
3-F	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>57</b>
4-F	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>58</b>
2-OCH <sub>3</sub>	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>59</b>
3-OCH <sub>3</sub>	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>60</b>
4-OCH <sub>3</sub>	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>61</b>
2-CF <sub>3</sub>	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>62</b>
3-CF <sub>3</sub>	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>63</b>
4-CF <sub>3</sub>	$(2R,3S)/(2S,3R)$	<b>64</b>

**Tab. 2.1** 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole



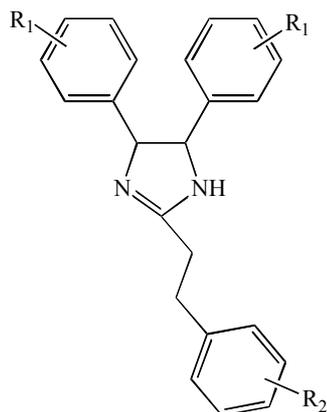
<b>R</b>	<b>Konfiguration</b>	<b>Verbindung</b>
H	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>65</b>
2-Cl	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>66</b>
3-Cl	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>67</b>
4-Cl	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>68</b>
2-F	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>69</b>
3-F	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>70</b>
4-F	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>71</b>
2-OCH <sub>3</sub>	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>72</b>
4-OCH <sub>3</sub>	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>73</b>
2-CF <sub>3</sub>	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>74</b>
3-CF <sub>3</sub>	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>75</b>
4-CF <sub>3</sub>	<i>(2R,3S)/(2S,3R)</i>	<b>76</b>

**Tab. 2.2** 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine



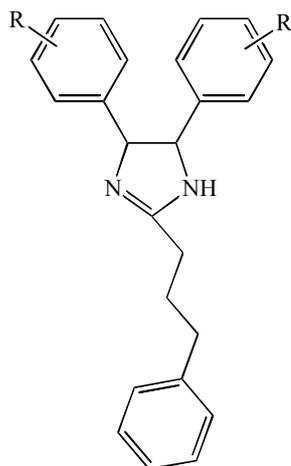
<b>R</b>	<b>Konfiguration</b>	<b>Verbindung</b>
H	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>77</b>
2-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>78</b>
3-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>79</b>
4-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>80</b>
2-F	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>81</b>
3-F	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>82</b>
4-F	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>83</b>
4-F	<i>(4R,5R)/(4S,5S)</i>	<b>84</b>
2-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>85</b>
3-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>86</b>
4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>87</b>
4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5R)/(4S,5S)</i>	<b>88</b>
2-CF <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>89</b>
3-CF <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>90</b>
4-CF <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>91</b>
2-Cl, 4-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>92</b>
2-OH	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>112</b>
3-OH	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>113</b>
4-OH	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>114</b>

**Tab. 2.3** 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline



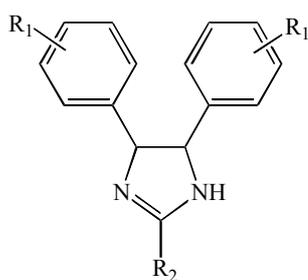
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>Konfiguration</b>	<b>Verbindung</b>
H	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>93</b>
2-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>94</b>
3-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>95</b>
4-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>96</b>
2-F	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>97</b>
3-F	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>98</b>
4-F	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>99</b>
2-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>100</b>
4-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>101</b>
2-CF <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>102</b>
4-CF <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>103</b>
H	2-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>104</b>
4-Cl	2-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>105</b>
2-Cl, 4-Cl	2-Cl	<i>(4R,5S)/(4S,5R)</i>	<b>106</b>

**Tab. 2.4** 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline



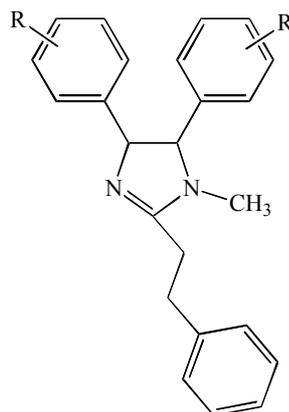
R	Konfiguration	Verbindung
4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	107

Tab. 2.5 4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolin



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Konfiguration	Verbindung
4-Cl	Propyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	108
2-Cl, 4-Cl	Ethyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	109

Tab. 2.6 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline



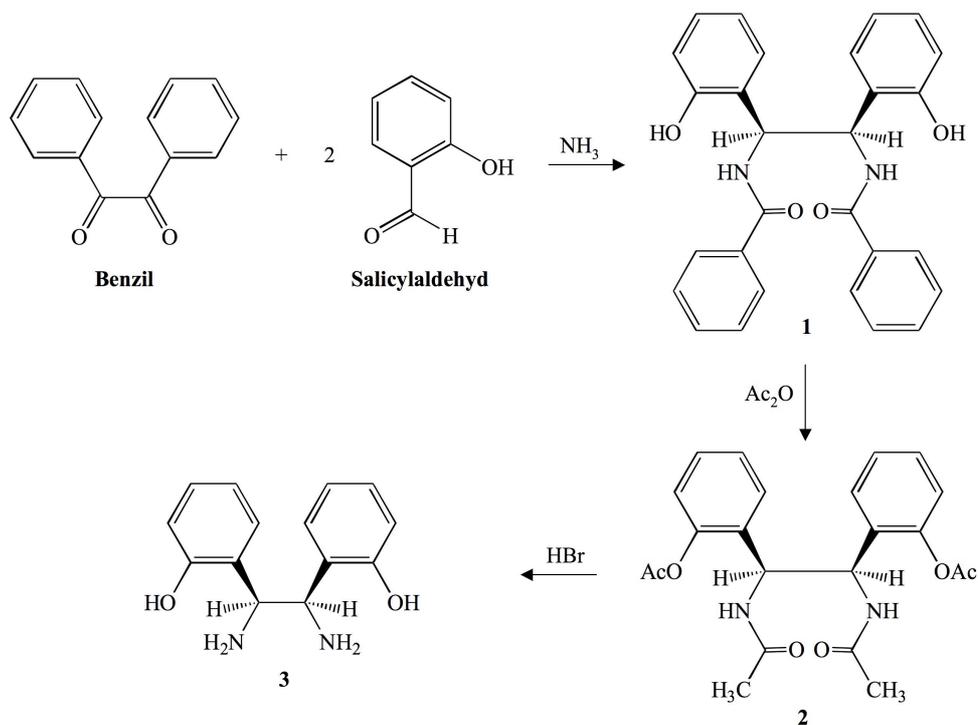
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>Konfiguration</b>	<b>Verbindung</b>
4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>110</b>
4-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>111</b>

**Tab. 2.7** 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

## 2.2 Synthese der 1,2-Diamino-1,2-diarylethane

### 2.2.1 Synthese des *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethans

Ausgangsverbindung für die Synthese der 1,2-Diamino-1,2-diarylethane ist das *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) (Abb. 2.2), dessen Synthese 1884 erstmals von Japp und Hooker beschrieben wurde (Japp & Hooker, 1884). In einem ersten Reaktionsschritt wird dabei Ammoniak in schwachem Strom in eine Lösung von Benzil und Salicylaldehyd in Ethanol eingeleitet. Durch Addition von zwei Äquivalenten des gebildeten Salicylidenimins an Benzil (Abb. 2.3) entsteht nach Vögtle und Goldschmitt (Vögtle & Goldschmitt, 1975) zunächst ein 1,5-ungesättigtes Diol **I**, das in einer [3.3]-sigmatropen Umlagerung in ein Tautomer **II** des *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-*N,N'*-dibenzoyl-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethans (**1**) übergehen kann (Abb. 2.4). Durch irreversible Protonenwanderung wird dieses Tautomer **II** aus dem Umlagerungsgleichgewicht entfernt und dadurch zu **1** umgewandelt.



**Abb. 2.2** Synthese des *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethans (**3**)

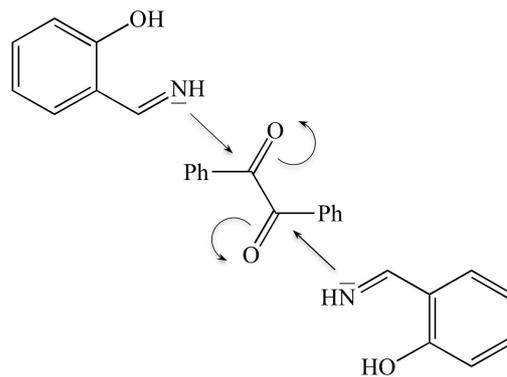


Abb. 2.3 Addition von Salicylidenimin an Benzil

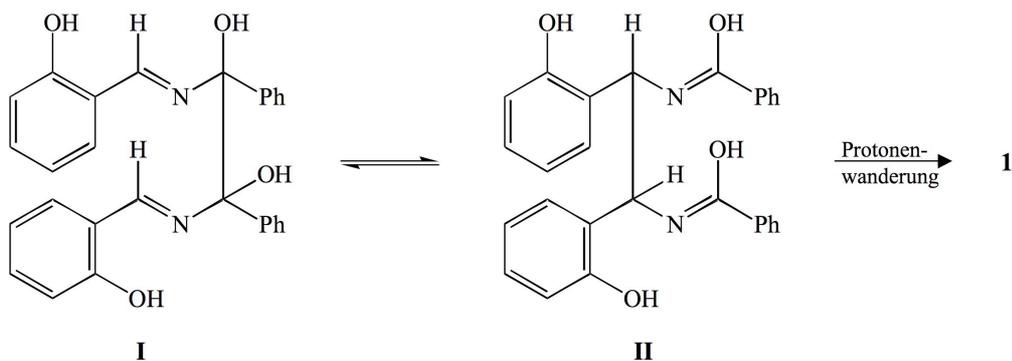


Abb. 2.4 [3,3]-sigmatrope Umlagerung

Bei Betrachtung der Stereochemie der Reaktion ist eine *meso*→*meso*-Diaza-Cope-Umlagerung zu beobachten, was sich auch theoretisch durch den Übergangszustand der Reaktion begründen lässt. Das 1,5-ungesättigte System weist in diesem eine dem Cyclohexansystem vergleichbare Konformation mit der energetisch günstigen E-Konfiguration der C=N-Doppelbindung und äquatorialer Stellung der Phenylreste auf (Vögtle & Goldschmitt, 1975). Da eine solche energetisch günstige Anordnung nur für den Übergangszustand einer *meso*→*meso*-Umlagerung gefunden werden kann, verläuft diese bei Temperaturen unterhalb von 120°C stereoselektiv.

Im nächsten Schritt wird das erhaltene (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-N,N'-dibenzoyl-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**1**) mit Essigsäureanhydrid zum (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-O,O',N,N'-Tetraacetyl-1,2-diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**2**) umgesetzt, das

anschließend durch Zugabe von Bromwasserstoffsäure zum  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) hydrolysiert wird (Abb. 2.2).

### 2.2.2 Synthese der $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane

Die Synthese der  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**18-31**) erfolgt aus  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und den entsprechenden Benzaldehyden in Acetonitril (Abb. 2.5).

Zunächst entstehen  $(3R,4S)/(3S,4R)$ -1,6-Diaryl-3,4-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahepta-1,5-diene, die bei Temperaturen unter 120 °C ebenfalls durch eine [3.3]-sigmatrope Diaza-Cope-Umlagerung in die  $(3R,4S)/(3S,4R)$ -3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahepta-1,5-diene (**4-17**) umgewandelt werden.

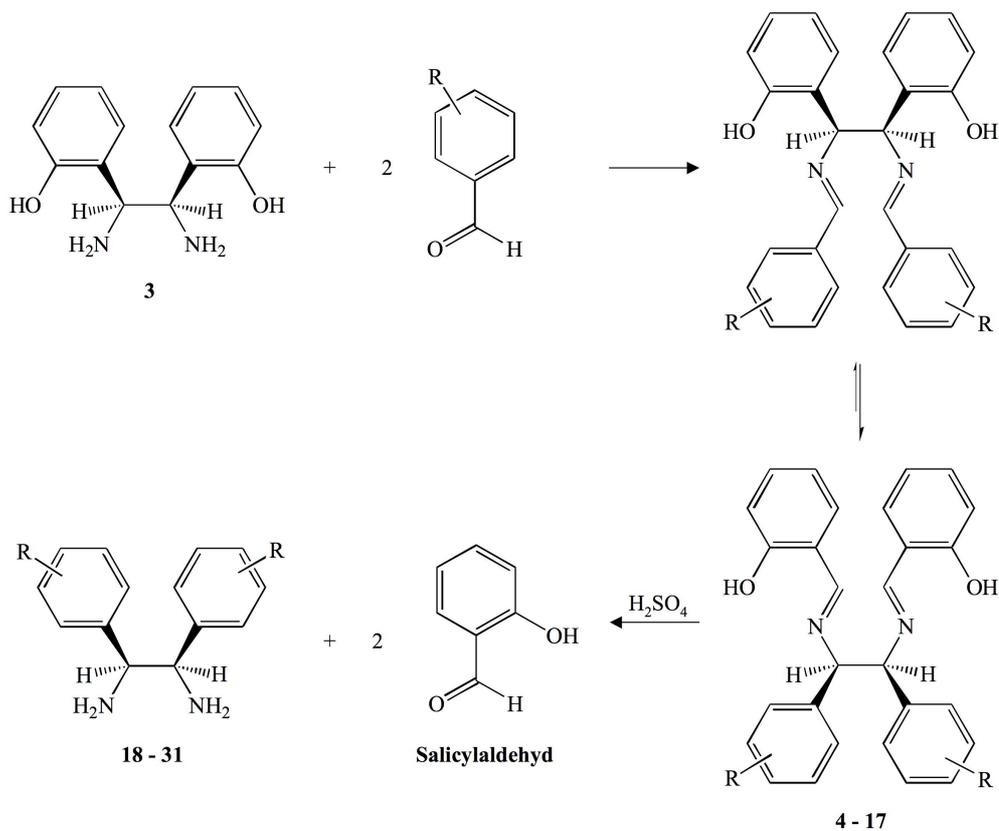


Abb. 2.5 Synthese der  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**18-31**)

R	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )/(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )/(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> )-1,2-Diamino-1,2-diarylethane
H	4	18
2-Cl	5	19
3-Cl	6	20
4-Cl	7	21
2-F	8	22
3-F	9	23
4-F	10	24
2-OCH <sub>3</sub>	11	25
3-OCH <sub>3</sub>	12	26
4-OCH <sub>3</sub>	13	27
2-CF <sub>3</sub>	14	28
3-CF <sub>3</sub>	15	29
4-CF <sub>3</sub>	16	30
2-Cl, 4-Cl	17	31

**Tab. 2.8** (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene (**4-17**) und (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**18-31**)

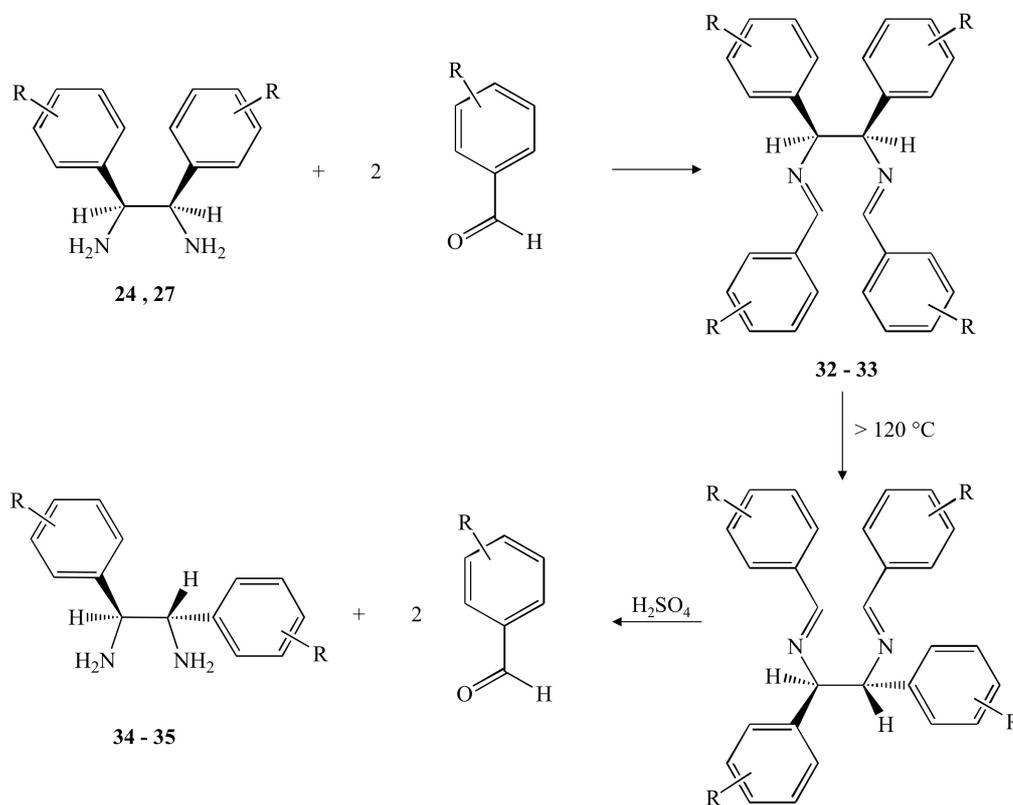
Diese Umwandlung wird sowohl durch die Protonenkatalyse der phenolischen Hydroxygruppen, als auch durch die Ausbildung energetisch günstiger Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Hydroxygruppen und den Iminstickstoffen begünstigt (Vögtle & Goldschmitt, 1975). Stereochemisch kann diese Reaktion mit der Synthese des (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethans (**3**) verglichen werden.

Die gewünschten (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**18-31**) werden durch Hydrolyse der (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene (**4-17**) mit 6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> erhalten. Um eine möglichst quantitative Umsetzung zu erreichen, wird hierbei der freiwerdende Salicylaldehyd mittels Wasserdampfdestillation aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt. Die entstandenen Dihydrogensulfate werden mit Hilfe von 20%iger Natronlauge in ihre freien Basen überführt und anschließend mit Dichlormethan extrahiert. Da sowohl nicht hydrolysierte Komponenten als auch im Reaktionsgemisch verbliebener Salicylaldehyd

in verdünntem Alkali löslich sind, können die gewünschten  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**18-31**) in hoher Reinheit erhalten werden (Abb. 2.5).

### 2.2.3 Synthese der $(1R,2R)/(1S,2S)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane

Da bei Temperaturen über 120 °C die Diaza-Cope-Umlagerung nicht mehr stereospezifisch  $meso \rightarrow meso$  verläuft, sondern ebenso eine  $meso \rightarrow d,l$  Stereoisomerisierung stattfindet, können auf diese Weise  $(1R,2R)/(1S,2S)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**34-35**) hergestellt werden (Vögtle & Goldschmitt, 1975). Die für diese entartete Diaza-Cope-Umlagerung eingesetzten  $(3R,4S)/(3S,4R)$ -1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-diene (**32-33**) werden durch Umsetzung der  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane mit den entsprechenden Benzaldehyden synthetisiert. Diese in allen Aromaten gleich substituierten Diimine (**32-33**) werden zur Stereoisomerisierung bei Temperaturen von 200 bis 220 °C geschmolzen. Nach dem Abkühlen wird mit 6N  $H_2SO_4$  versetzt und der freiwerdende Benzaldehyd mittels Wasserdampfdestillation entfernt (Abb. 2.6).



**Abb. 2.6** Synthese der  $(1R,2R)/(1S,2S)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**34-35**)

R	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )/(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-diene	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> )/(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )-1,2-Diamino-1,2-diarylethane
4-F	32	34
4-OCH <sub>3</sub>	33	35

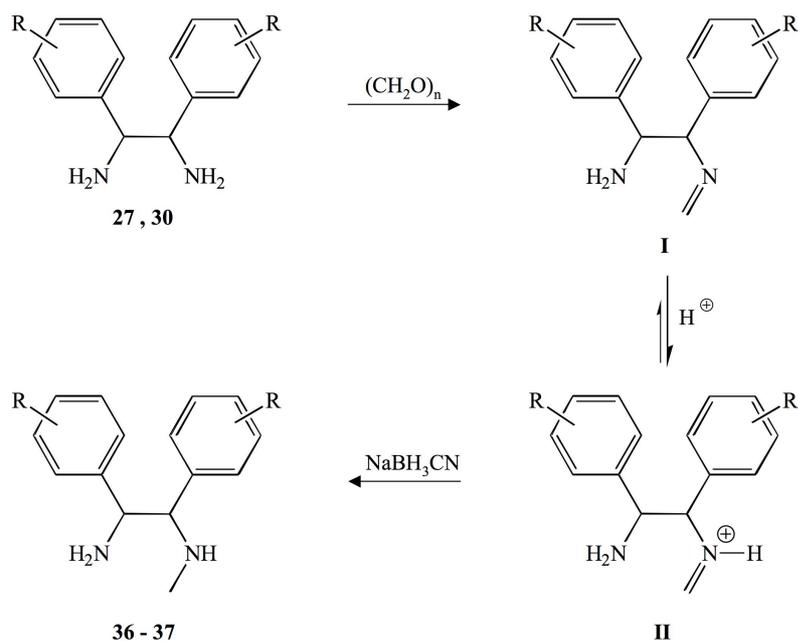
**Tab. 2.9** (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-diene (**32-33**) und (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**34-35**)

Zur Trennung des erhaltenen Diastereomerengemisches macht man sich die unterschiedliche Wasserlöslichkeit der Sulfate zunutze. Während die (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**34-35**) bereits in der Hitze ausfallen und so abgetrennt werden können, verbleiben die (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-Verbindungen in Lösung und werden nach Ausfällung mit Natronlauge durch wiederholte thermische Behandlung ihrer Diimine weitgehend zu den (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-Derivaten umgesetzt.

### 2.3 Synthese der *N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane

Da auf dem Weg der direkten Methylierung (Gruseck & Heuschmann, 1987) der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline die 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline nicht erhalten werden konnten, wurde ein alternativer Syntheseweg durchgeführt, bei dem zunächst die Methylierung der 1,2-Diamino-1,2-diarylethane und anschließend der Ringschluß zum entsprechenden 2-Imidazolin vollzogen wurde.

Zur Synthese der (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane (**36-37**) wird ein Überschuß des jeweiligen (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethans mit Paraformaldehyd zum Imin **I** kondensiert, das durch Zusatz von Säure ein Gleichgewicht mit dem protonierten Iminiumion **II** ausbildet. Dieses Gleichgewicht liegt bei pH 6 auf Seiten des Iminiumions. Durch anschließende Zugabe von Natriumcyanborhydrid wird dieses zu den entsprechenden (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-*N*-Methyl-1,2-Diamino-1,2-diarylethanen reduziert (Borch, Bernstein, & Durst, 1971) (Abb. 2.7). Durch Extraktion mit Chloroform werden die Rohprodukte isoliert und rotationschromatographisch aufgereinigt.



**Abb. 2.7** Synthese der *(1R,2S)/(1S,2R)*-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane (36-37)

R	Verbindung
4-OCH <sub>3</sub>	36
4-CF <sub>3</sub>	37

**Tab. 2.10** *(1R,2S)/(1S,2R)*-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane (36-37)

## 2.4 Synthese der Iminoester

Die Synthese der Heterozyklen aus den 1,2-Diamino-1,2-diarylethanen kann mittels verschiedener Reaktanden erfolgen. Neben den Iminoestern (Francesconi, et al., 1999), die in dieser Arbeit verwendet wurden, sind u.a. Reaktionen mit Orthoestern (Martin, Matthews, Rapoport, & Thyagarajan, 1968), Estern (Kyrides, Zienty, Steahly, & Morrill, 1947) sowie Säuren (Vorbrüggen & Krolkiewicz, 1981) beschrieben.

### 2.4.1 Synthese der Arylpropionitrile

Da die Synthese der Iminoester ausgehend von den jeweiligen Nitrilen erfolgt, mussten die käuflich nicht zu erwerbenden Nitrile zuvor synthetisiert werden. Für die Herstellung der Arylpropionitrile wird im ersten Reaktionsschritt der entsprechende Benzaldehyd mit Cyanessigsäure umgesetzt. Gemäß einer Knoevenagel-Kondensation wird zunächst die Cyanessigsäure durch Pyridin aktiviert und greift anschließend als Nucleophil an. Das hierbei entstehende Wasser wird mittels Wasserabscheider aus der Reaktion entfernt. Die entstandenen 2-Cyanozimtsäure-Derivate (**38-39**) werden nach Zugabe von Säure aus Methanol umkristalliert.

Mittels Natriumborhydrid werden die 2-Cyanozimtsäure-Derivate (**38-39**) im nächsten Reaktionsschritt reduziert. Es entstehen die 2-Cyano-3-arylpropionsäuren (**40-41**), die schließlich in DMF zu den Arylpropionitrilen (**42-43**) decarboxyliert werden (Campbell, Kuhla, & Studt, 1989) (Abb. 2.8).

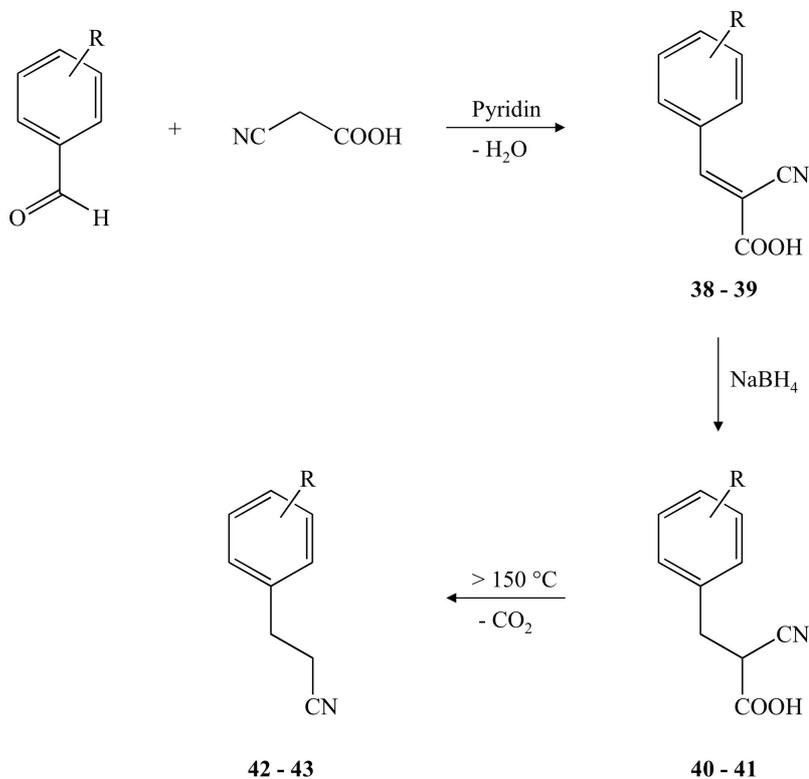


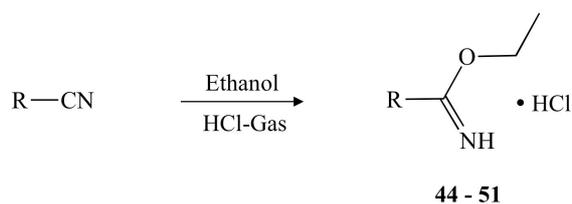
Abb. 2.8 Synthese der Arylpropionitrile (**42-43**)

R	2-Cyano- zimtsäure- Derivate	2-Cyano-3-aryl- propionsäuren	Arylpropionitrile
2-Cl	38	40	42
4-OCH <sub>3</sub>	39	41	43

**Tab. 2.11** 2-Cyanozimtsäure-Derivate (38-39), 2-Cyano-3-arylpropionsäuren (40-41), Arylpropionitrile (42-43)

### 2.4.2 Synthese der Iminoester

Die Darstellung der Iminoester kann auf verschiedene Weise erfolgen. Verwendet wird eine Methode, die 1883 erstmals beschrieben wurde (Pinner, 1883). In eine Lösung des entsprechenden Nitrils in Diethylether und Ethanol wird dabei HCl-Gas eingeleitet (Abb. 2.9). Durch anschließende Zugabe von weiterem Diethylether werden die Hydrochloride der Iminoester als weiße Niederschläge ausgefällt (Dalko & Langlois, 1998). Dass die Umsetzung nur mit stöchiometrischen HCl-Konzentrationen erfolgt, lässt auf ein dem protonierten Iminoester sehr ähnliches Zwischenprodukt schließen. Für die Bildung der Iminoester ist die Anwesenheit von HCl erforderlich. Wird anstelle von HCl Trifluoressigsäure eingesetzt, kommt es stattdessen zu einer schnellen Bildung eines Trifluoressigsäureethylesters (Nematollahi & Tuck, 1967).



**Abb. 2.9** Synthese der Iminoester (44-51)

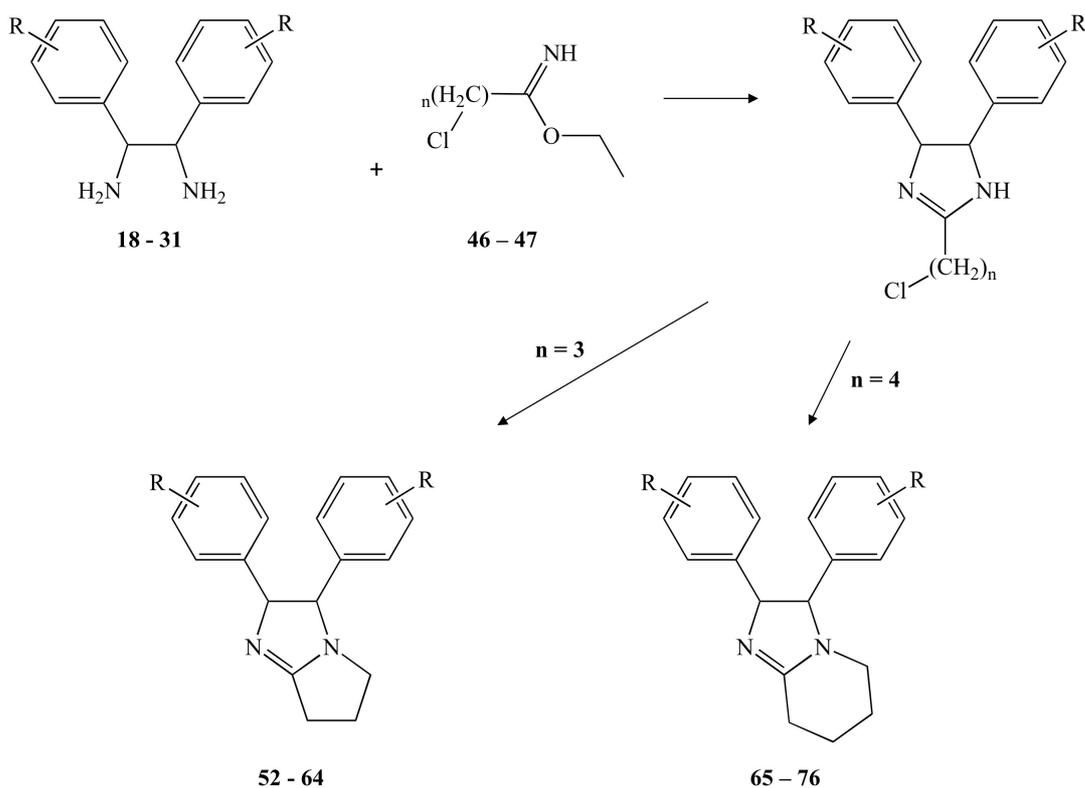
<b>R</b>	<b>Verbindung</b>
Ethyl	<b>44</b>
Propyl	<b>45</b>
Chlorpropyl	<b>46</b>
Chlorbutyl	<b>47</b>
Phenylethyl	<b>48</b>
(2-Chlorphenyl)ethyl	<b>49</b>
(4-Methoxyphenyl)ethyl	<b>50</b>
Phenylbutyl	<b>51</b>

Tab. 2.12 Iminoester (44-51)

## 2.5 Synthese der Heterozyklen

### 2.5.1 Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine

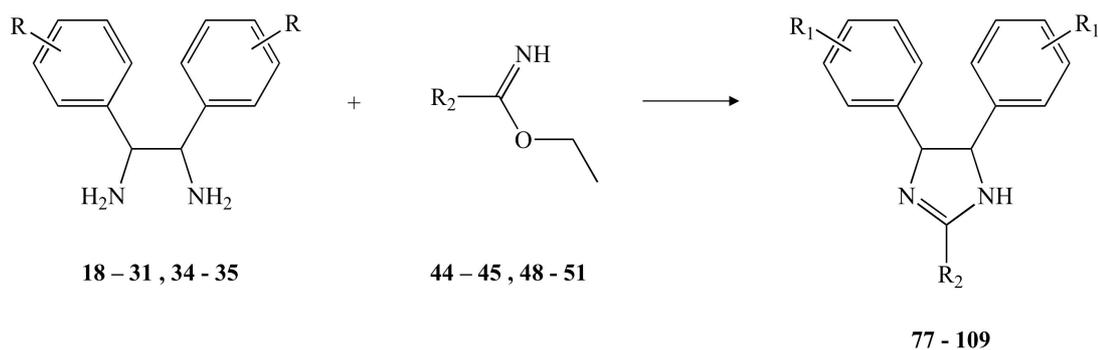
Die Darstellung der  $(2R,3S)/(2S,3R)$ -2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole (**52-64**) sowie der  $(2R,3S)/(2S,3R)$ -2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine (**65-76**) erfolgt aus  $(1R,2S)/(1S,2R)$ -1,2-Diamino-1,2-diarylethanen (**18-31**) durch Umsetzung mit den jeweiligen chlorierten Iminoestern (**46-47**) (Francesconi, et al., 1999). Die Reaktion wird in trockenem Ethanol zum Sieden erhitzt. Dabei erfolgt zunächst eine Zyklisierung der beiden Aminogruppen mit den Iminoestern zu 2-Chloralkyl-2-imidazolinen; anschließend kommt es zu einer intramolekularen Alkylierung eines der beiden Stickstoffe des 2-Imidazolinrings und somit zu einem Ringschluß (Abb. 2.10). Eine Übersicht der so hergestellten Verbindungen ist den Tab. 2.1 und 2.2 zu entnehmen.



**Abb. 2.10** Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole (**52-64**) und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine (**65-76**)

### 2.5.2 Synthese der 2-Imidazoline

Analog den Synthesen der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole (**52-64**) und der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine (**65-76**) erfolgt die Herstellung der 2-Imidazoline durch Reaktion der entsprechenden 1,2-Diamino-1,2-diarylethane (**18-31** & **34-35**) mit den jeweiligen unhalogenierten Iminoestern (**44-45** & **48-51**) in trockenem Ethanol (Abb. 2.11). Hieraus resultieren die in Tab. 2.3 bis Tab. 2.6 aufgeführten Verbindungen mit Ausnahme der Verbindungen **112-114**.



**Abb. 2.11**      Synthese der 2-Imidazoline (77-109)

### 2.5.3 Synthese der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

Obwohl die intramolekulare Alkylierung während der Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole bzw. der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine Gegenteiliges vermuten läßt (Kap. 2.5.1) und auch in der Literatur Alkylierungsreaktionen an 2-Imidazolinen beschrieben sind (Gruseck & Heuschmann, 1987; von Rauch, Schlenk, & Gust, 2004), konnten auf diesem Weg trotz vielfältiger Variationen der Reaktionsbedingungen weder am Stickstoff methylierte noch anders alkylierte 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline gewonnen werden. Daher wurde ein anderer Syntheseweg gewählt, bei dem zunächst eine Methylierung der 1,2-Diamino-1,2-diarylethane erfolgt (Kap. 2.3). Die daraus resultierenden *N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane (**36-37**) lassen sich analog den unmethylierten Verbindungen mit 3-Phenylpropionimid säureethylester (**48**) zu den 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolinen umsetzen (**110-111**) (Abb. 2.12) (Tab. 2.7).

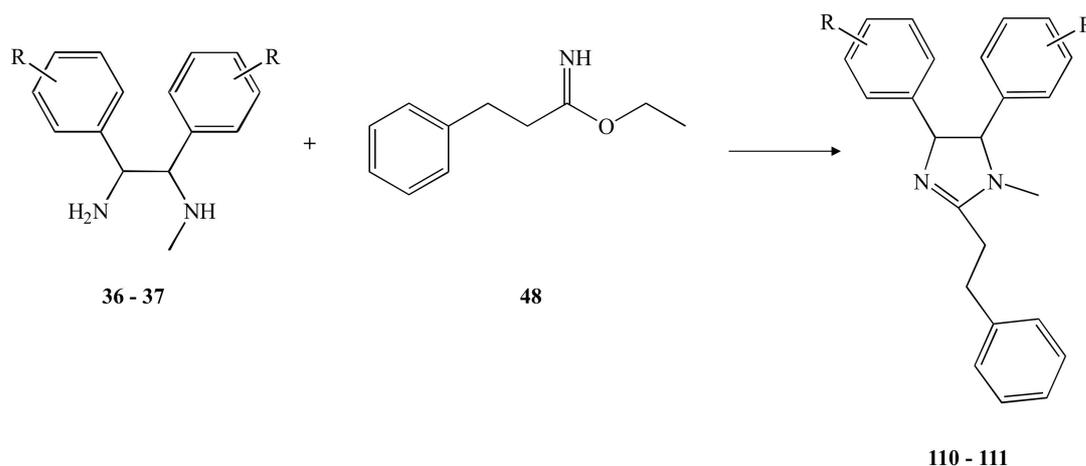
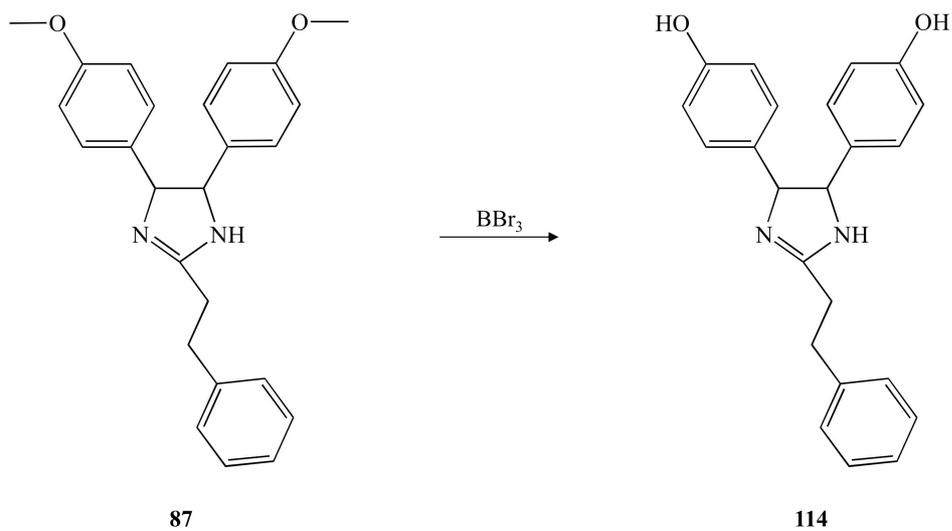


Abb. 2.12 Synthese der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazole (**110-111**)

#### 2.5.4 Synthese der 4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazole

Die Darstellung der (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazole (**112-114**) erfolgt durch Etherspaltung der entsprechenden (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazole (**85-87**). Als besonders schonendes Verfahren wird hierfür Bortribromid verwendet, das als Elektronenmangelverbindung und Lewis-Säure fungierend in der Lage ist, einen Komplex mit dem freien Elektronenpaar des Sauerstoffs der Methoxygruppe auszubilden. Dissoziation dieses Komplexes führt zur Abspaltung der Methylgruppen (Benton & Dillon, 1942) (Abb. 2.13). Dazu wird Bortribromid bei einer Temperatur von  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  zu einer Lösung des jeweiligen (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazols (**85-87**) in absolutem Dichlormethan getropft. Anschließend wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach mehrmaliger Methanolisierung des überschüssigen Bortribromids wird das Lösungsmittel abdestilliert. Rotationschromatographische Aufreinigung liefert die gewünschten (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazole (**112-114**) (Tab. 2.3).



**Abb. 2.13** Synthese der 4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazoline (**112-114**),  
exemplarisch am (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(4-hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin  
(**114**)



### **3 Strukturuntersuchungen**

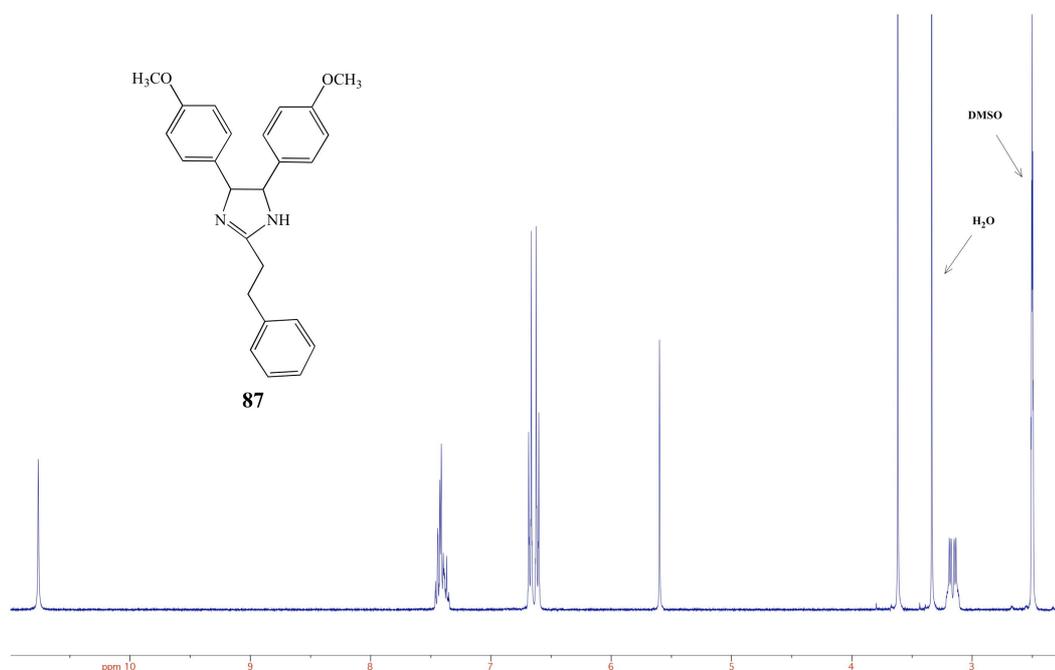


### 3 Strukturuntersuchungen

Zur Strukturuntersuchung der synthetisierten Verbindungen wurde neben spektroskopischen Methoden die Elementaranalyse verwendet. Die bedeutendste analytische Methode zur Strukturaufklärung der 4,5-Diaryl-2-imidazoline stellt die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie dar. Im Folgenden werden exemplarisch die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der jeweils 4-methoxy-substituierten Verbindungen der verschiedenen Substanzklassen vorgestellt.

#### 3.1 $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin

In Abbildung 3.1 ist das Spektrum des  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolins (**87**) dargestellt. Obgleich einer wegen der Amidinstruktur formal unsymmetrischen Struktur der Verbindung tritt für die benzylicischen Protonen aller Substanzen (Position 4 bzw. 5 des Imidazolins) dieser Verbindungsklasse nur ein Signal als Singulett auf (5.60 ppm).



**Abb. 3.1**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolins (**87**)

Ebenso lässt sich für die beiden Methoxygruppen nur ein Signal, ebenfalls ein Singulett erkennen (3.62 ppm). Auch die insgesamt acht aromatischen Protonen der in 4- und 5-Position befindlichen Aromaten ergeben lediglich ein gemeinsames System (6.60 – 6.69 ppm).

Ein derartiges Spektrum kann nur durch symmetrischen Aufbau des 2-Imidazolinrings erhalten werden. Möglich ist dies nur durch Mesomeriestabilisierung der Doppelbindung des Imidazolins über beide Stickstoffatome. Es resultiert eine partielle  $sp^2$ -Hybridisierung der beiden Stickstoffatome und daraus eine Planarität der N-C=N-Einheit, die den gesamten Imidazolinring in eine annähernd ebene Struktur zwingt.

Die Signale für die Protonen der Ethylenkomponente befinden sich im hohen Feld (3.14 – 3.19 ppm), während die aromatischen Protonen des 2-Phenethylrestes ein Multiplett bei 7.37 – 7.46 ppm liefern.

Da das vorliegende Spektrum einem Hydrochlorid zugehörig ist, können die beiden NH-Protonen als durch  $D_2O$ -austauschbares Singulett bei 10.76 ppm detektiert werden. Das NH-Proton der freien Base ist zwischen beiden Stickstoffatomen delokalisiert und würde aufgrund von Austauschprozessen mit dem Lösungsmittel in  $^1H$ -NMR Spektren in DMSO nicht detektiert.

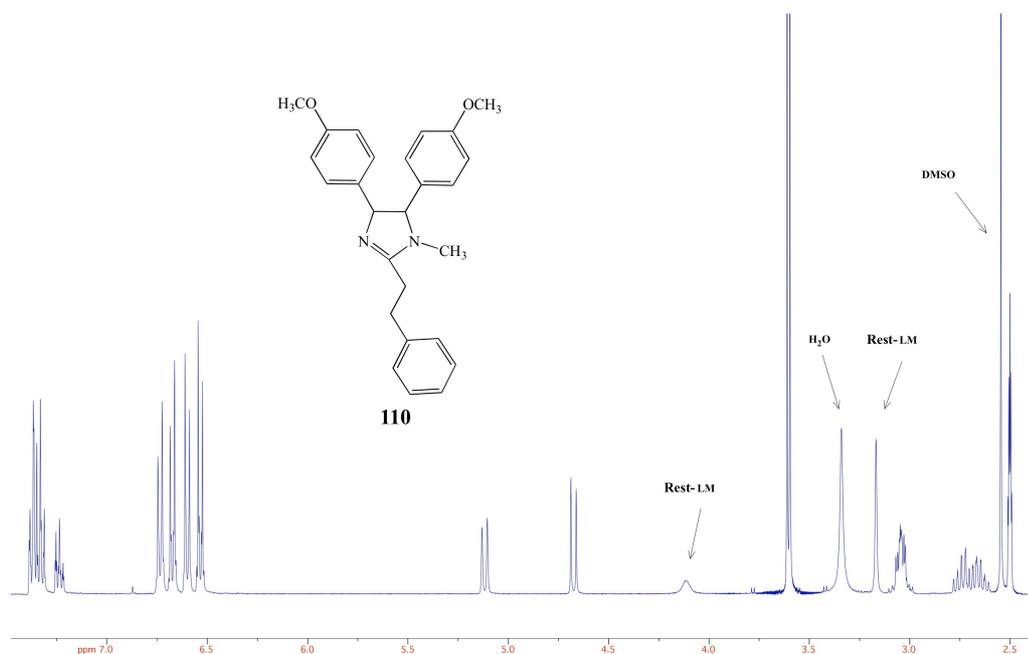
Die Struktur der  $(4R,5R)/(4S,5S)$ -konfigurierten 4,5-Diaryl-2-imidazoline weist die gleiche Planarität der N-C=N-Einheit auf wie bei den entsprechenden  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -konfigurierten Verbindungen. Auch hier zeigt sich in den  $^1H$ -NMR-Spektren die chemische Äquivalenz der benzyllischen, der aromatischen sowie der Protonen der Methoxyfunktionen. Deutlich erkennbar ist jedoch eine Hochfeldverschiebung der benzyllischen Protonen des Imidazolinrings. Im Beispiel der 4-methoxylierten Verbindung von 5.60 ppm (**87**) auf 4.93 ppm (**88**). Die aromatischen Protonen der in 4- und 5-Position befindlichen Aromaten hingegen sind Tieffeld verschoben von 6.60 – 6.69 ppm (**87**) auf 6.93 – 7.05 ppm (**88**). Auf die Signale des Phenethylrestes hat die Änderung der Konfiguration einen lediglich geringen Einfluss.

Erklärbar werden die in den Spektren gefundenen Unterschiede durch den räumlichen Aufbau der Verbindungen. Bei den  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -konfigurierten Substanzen liegt eine ekliptische Anordnung der Aromaten vor, sie befinden sich auf derselben Seite der durch den Imidazolinring gebildeten Ebene. Somit werden die aromatischen Protonen

des einen Aromaten durch den Ringstrom des anderen Aromaten abgeschirmt und es resultiert eine Hochfeldverschiebung. Bei den  $(4R,5R)/(4S,5S)$ -konfigurierten Verbindungen hingegen befinden sich jeweils ein Aromat und ein benzylisches Proton auf derselben Seite der Imidazolinringebene. Die dadurch im Ringstrom der Aromaten liegenden benzylichen Protonen werden somit abgeschirmt und treten bei höherem Feld auf (von Rauch, 2003).

### 3.2 $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolin

In Abbildung 3.2 ist das Spektrum des  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolins (**110**) dargestellt. Chemisch nur durch die *N*-Methylierung von Verbindung **87** abweichend, sind allerdings deutliche Unterschiede in den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren erkennbar.



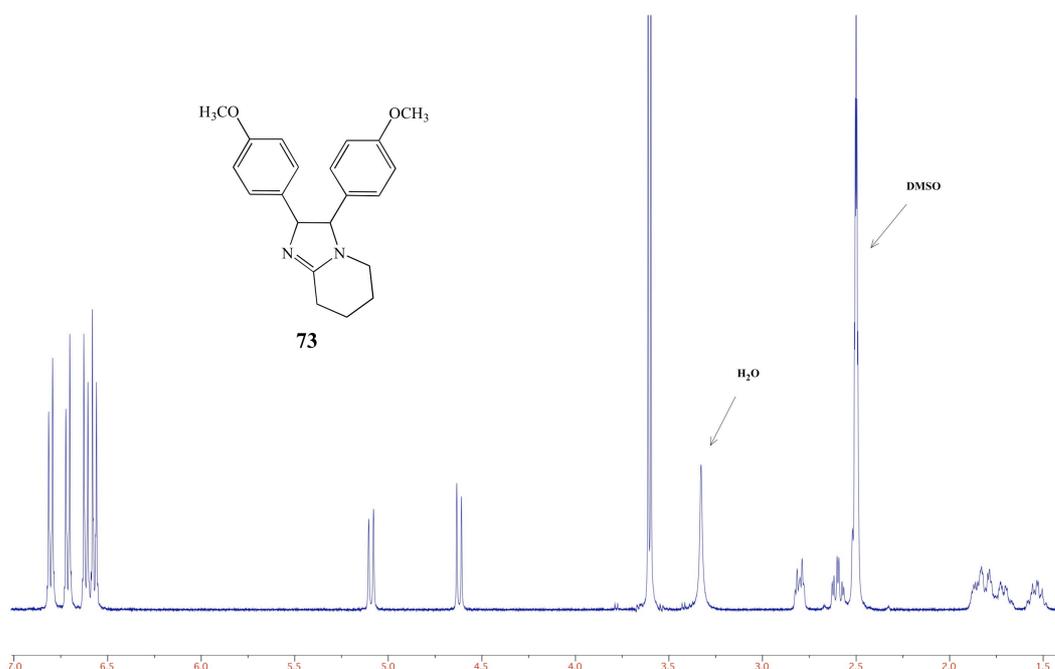
**Abb. 3.2**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des  $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolins (**110**)

Zum einen das Signal der Protonen der *N*-Methylgruppe, das sich im hohen Feld bei 2.55 ppm als Singulett wiederfindet. Zum anderen allerdings die benzylicischen Protonen im Imidazolinring, die chemisch nicht äquivalent zu zwei Dubletts aufgespalten sind (4.68 ppm, 5.11 ppm). Ebenso liefern die aromatischen Protonen der in 4- und 5-Position befindlichen Aromaten nicht mehr nur ein System, sondern zwei. Auch die Protonen der Methoxyfunktionen werden nicht mehr als ein Singulett, sondern nunmehr als zwei Singulets bei 3.60 ppm und 3.61 ppm detektiert.

Durch diese Differenzen zum Spektrum des *(4R,5S)/(4S,5R)*-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolins (**87**) (Abb. 3.1) kann sehr deutlich der Verlust des symmetrischen Aufbaus der Verbindung erkannt werden.

### 3.3 *(2R,3S)/(2S,3R)*-2,3-Bis(4-methoxyphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridin

Ähnliches ist im Spektrum des *(2R,3S)/(2S,3R)*-2,3-Bis(4-methoxyphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridins (**73**) erkennbar (Abb. 3.3).



**Abb. 3.3** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des *(2R,3S)/(2S,3R)*-2,3-Bis(4-methoxyphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridins (**73**)

Auch hier verlieren die benzyllischen Protonen durch die zyklische Substitution ihre chemische Äquivalenz und liefern zwei Dubletts bei 4.62 ppm und 5.09 ppm. Gleiches gilt erneut für die aromatischen Protonen, aus denen zwei verschiedene Systeme resultieren sowie für die beiden Methoxyfunktionen, die wiederum als zwei Singulets bei 3.60 ppm und 3.61 ppm detektiert werden. Auch hier wird die Asymmetrie der Verbindung **73** im Spektrum deutlich.

Dass jedes der acht Protonen des Piperidinrings ein eigenes Signal zwischen 1.53 und 2.80 ppm liefert (allerdings liegt teilweise Überlagerung vor), lässt sich durch die fehlende chemische Äquivalenz aufgrund der Möglichkeit der äquatorialen bzw. axialen Stellung der Protonen erklären.



## **4 *in vitro*-Testsystem am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor**



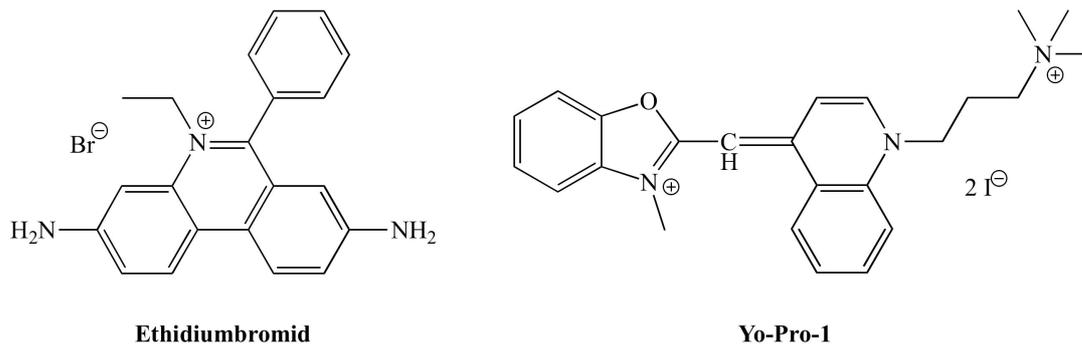
## 4 *in vitro*-Testsystem am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor

Die synthetisierten Verbindungen sollten auf ihre pharmakologischen Eigenschaften am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor überprüft werden. Zu diesem Zweck erfolgte die Etablierung eines Testsystems zur Untersuchung der antagonistischen Aktivität.

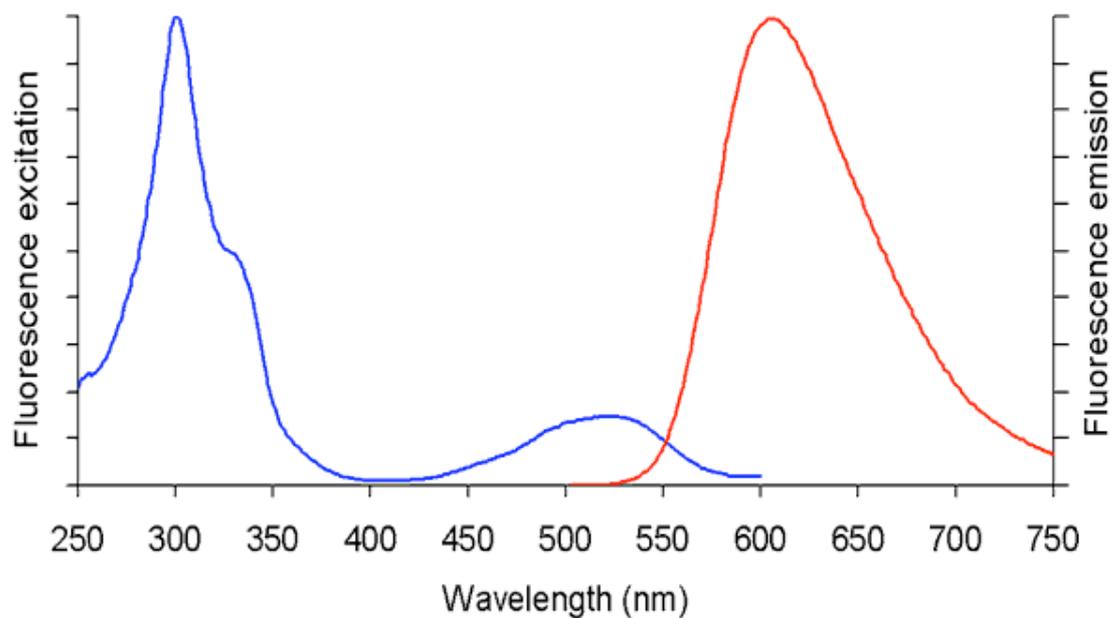
### 4.1 Testsysteme

Für die Messung des Grades der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor-Stimulation können verschiedene Methoden verwendet werden. Zum einen ist es möglich, die durch Rezeptoraktivierung vermittelte Erhöhung der intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration zu quantifizieren (el-Moatassim & Dubyak, 1992). Hierfür können Ca<sup>2+</sup>-komplexierende Fluoreszenzfarbstoffe verwendet werden, beispielsweise Fluo-3 (Bianchi, et al., 1999) oder Fura-2 (Schilling, Rajan, & Strobl-Jager, 1989). Auch wenn diese im Vergleich zu früher verwendeten Ca<sup>2+</sup>-komplexierenden Fluoreszenzfarbstoffen inzwischen eine recht hohe Selektivität für Ca<sup>2+</sup>-Ionen aufweisen (Grynkiewicz, Poenie, & Tsien, 1985), besitzen sie dennoch Querempfindlichkeiten für andere zweiwertige Kationen (Tsien, Rink, & Poenie, 1985). Auch besteht nur geringe Selektivität der auf Messung des Ca<sup>2+</sup>-Einflusses beruhenden Testsysteme. Einerseits kann der Ca<sup>2+</sup>-Einstrom durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst werden. Ebenso besitzen die Agonisten eine nur geringe Selektivität für den P2X<sub>7</sub>-Rezeptor.

Eine höhere Selektivität verspricht dagegen die Fluoreszenzmessung von lediglich durch die unselektive Pore in die Zelle gelangenden Fluoreszenzfarbstoffen (Khakh, Bao, Labarca, & Lester, 1999; Virginio, MacKenzie, North, & Surprenant, 1999), die nach Interkalation mit Nukleinsäuren fluorimetrisch detektiert werden können (North, 2002). Hierfür verwendet werden beispielsweise Ethidiumbromid (Cario-Toumaniantz, Loirand, Ladoux, & Pacaud, 1998; Lee, Jo, Lee, Jeong, Kim, & Park, 2006) oder Yo-Pro-1 (Paukert, Hidayat, & Gründer, 2002; Virginio, MacKenzie, North, & Surprenant, 1999) (Abb. 4.1 und 4.2). Diese können aufgrund ihrer Größe und ihrer chemischen Eigenschaften auf keinem anderen Weg in die Zelle gelangen. Daher ist ihre intrazelluläre Konzentration als Maß für die Ausbildung der Pore und damit auch der Rezeptoraktivierung zu nutzen (North, 2002).



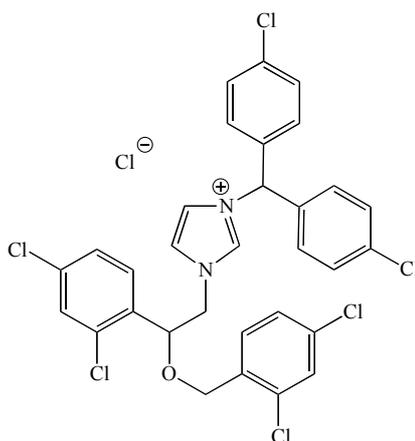
**Abb. 4.1** Strukturen von Ethidiumbromid und Yo-Pro-1



**Abb. 4.2** Fluoreszenzspektrum von Ethidiumbromid (Anregungsspektrum blau, Emissionsspektrum rot)

Die Tatsache, dass bei der Bildung der unselektiven Pore mit Pannexin-1 ein ubiquitäres Porenprotein beteiligt ist (Pelegriin & Surprenant, 2006) (Kap. 1.1.4.3), begründet die Vermutung, dass die verschiedenen Testsysteme unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich agonistischer bzw. antagonistischer Eigenschaften der untersuchten Substanzen liefern, da die Testsysteme mittels  $\text{Ca}^{2+}$ -komplexierender Fluoreszenzfarbstoffe auf der Öffnung des Ionenkanals, die Messungen lediglich durch die unselektive Pore durchdringender Fluoreszenzfarbstoffe hingegen auf der Bildung

eben jener Pore beruhen. Tatsächlich konnte für den P2X<sub>7</sub>-Antagonisten Calmidazolium (Abb. 4.3) eine Inhibition des Ionenkanals im nanomolaren Bereich gefunden werden, während eine Hemmung der Aufnahme von Yo-Pro-1 bis zu einer Konzentration von 10 µM praktisch nicht stattfand (Virginio, Church, North, & Surprenant, 1997). In den meisten Untersuchungen jedoch korrelierten die Ergebnisse der Yo-Pro-1 Aufnahme und des Ionenstromes (Virginio, Church, North, & Surprenant, 1997).



**Abb. 4.3** Struktur von Calmidazoliumchlorid

Ebenso konnten spezienabhängige Unterschiede in Bezug auf die kinetischen Eigenschaften der P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren (Hibell, Kidd, Chessell, Humphrey, & Michel, 2000) gefunden werden. Hieraus lässt sich beispielsweise die Selektivität des Antagonisten KN-62 (Abb. 1.4, S. 22) für den menschlichen gegenüber dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor erklären (Humphreys, Virginio, Surprenant, Rice, & Dubyak, 1998). Auch konnten Unterschiede in der antagonistischen Aktivität in Abhängigkeit des eingesetzten Agonisten nachgewiesen werden. So wies KN-62 eine stärkere inhibitorische Wirkung gegen ATP als gegen BzATP auf (Humphreys, Virginio, Surprenant, Rice, & Dubyak, 1998).

Eine problemlose Vergleichbarkeit der Daten scheint daher lediglich innerhalb eines Testsystems möglich.

## 4.2 Etablierung eines Testsystems für antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor

Etabliert werden sollte ein *in vitro*-Testsystem für antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor. In der Literatur beschrieben ist hierfür die Verwendung verschiedener Zelllinien, beispielsweise THP-1 (human acute monocytic leukemia) (Alcaraz, et al., 2003), U373 MG (human glioblastoma astrocytoma) (Merriman, et al., 2005; Rampe, Wang, & Ringheim, 2004), COS (african green monkey kidney) (Cario-Toumaniantz, Loirand, Ladoux, & Pacaud, 1998) sowie HEK 293 (human embryonal kidney) (Lee, Jo, Lee, Jeong, Kim, & Park, 2006), jeweils stabil transfiziert entweder mit dem humanen, dem murinen oder dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor.

Dankenswerterweise wurden uns von Prof. Dr. A. Surprenant von der University of Manchester (GB) stabil mit humanem bzw. mit Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierte Zellen der Zelllinie HEK 293 zur Verfügung gestellt. Eine Testung sollte aufgrund der höheren Robustheit gegenüber den mit humanem P2X<sub>7</sub>-Rezeptor stabil transfizierten Zellen zunächst an den mit dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten Zellen erfolgen. ATP sollte als Agonist eingesetzt werden, während Ethidiumbromid als Fluoreszenzfarbstoff Verwendung finden sollte.

Für folgende Parameter sollten durch Variation der Versuchsbedingungen die optimalen Konditionen gefunden werden:

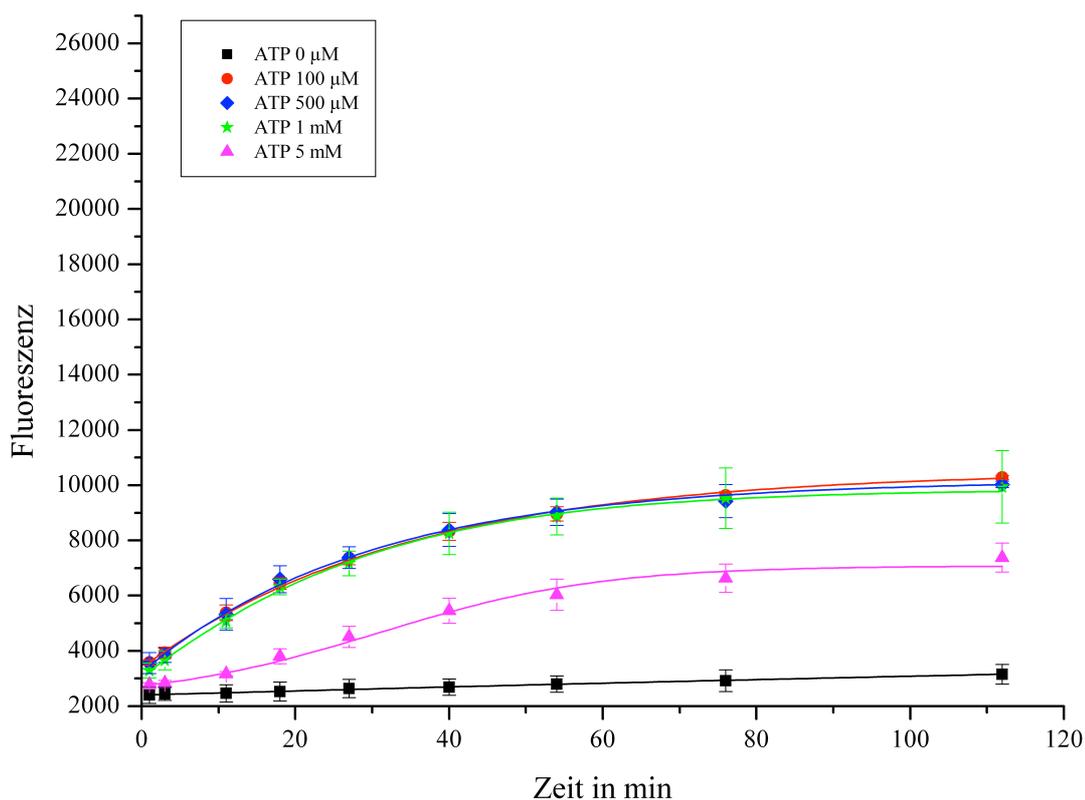
- Konzentration des Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid
- Messzeitpunkt
- Konzentration des Agonisten ATP
- Einfluss der eingesetzten Zellmenge

Des Weiteren sollten der Einfluss verschiedener Pufferlösungen und der Unterschied durch den Einsatz verschiedener 96-Well Platten untersucht werden. Durch die Verwendung von Zellen unterschiedlicher Passagen sollte außerdem eine Aussage hinsichtlich der Stabilität der Transfektion getroffen werden.

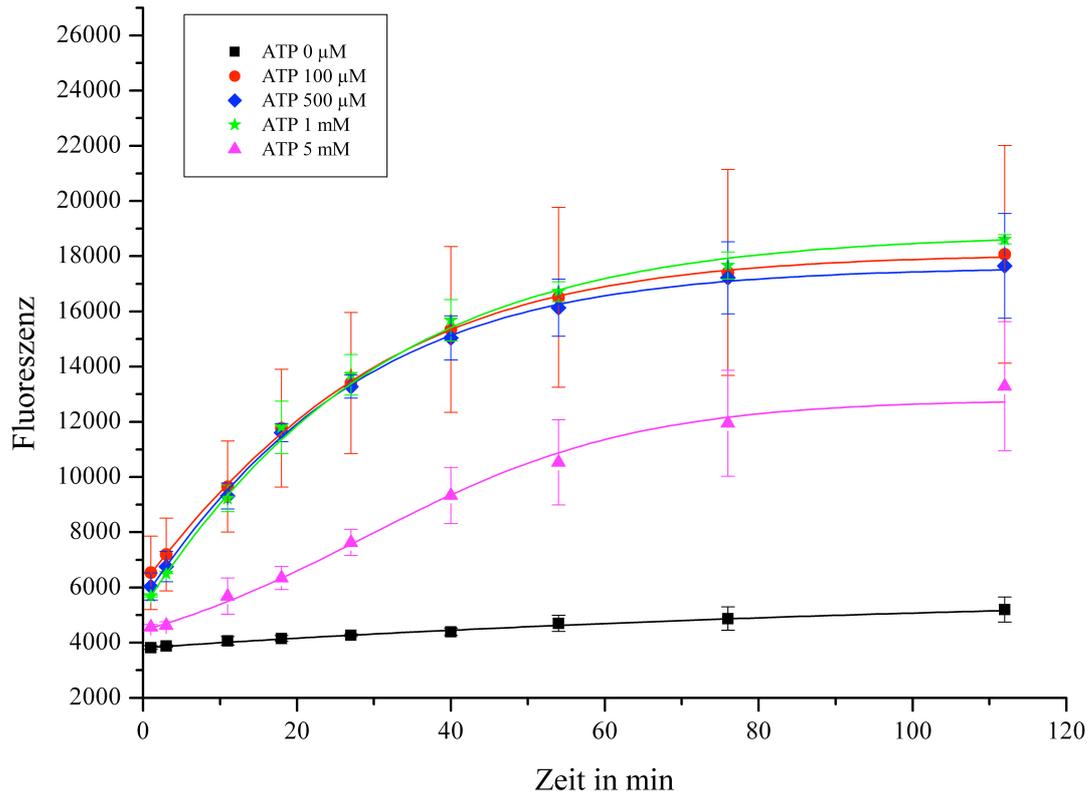
#### 4.2.1 Einfluss der Konzentration des Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid

Da die Literaturangaben der verwendeten Ethidiumbromid-Konzentrationen großen Schwankungen unterliegen und außerdem stark von den verwendeten Zelllinien abhängig sind, wurden eigene Untersuchungen hinsichtlich der für unser Testsystem idealen Konzentration gemacht.

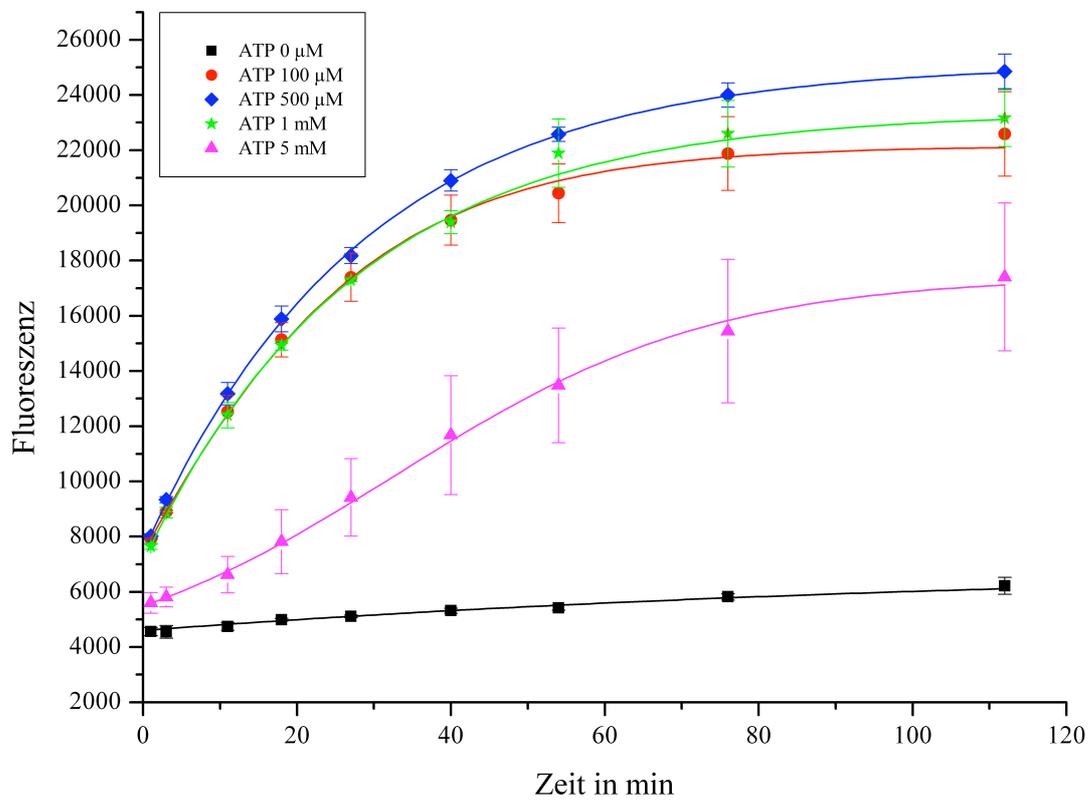
Dafür wurde die Aufnahme von Ethidiumbromid in die Zellen nach Stimulation durch ATP in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Hierfür wurde sowohl die Konzentration des Agonisten als auch die des Fluoreszenzfarbstoffes variiert. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 4.4 bis 4.9 dargestellt.



**Abb. 4.4** zeitabhängige Aufnahme von Ethidiumbromid (10 µM) nach Stimulation durch ATP



**Abb. 4.5** zeitabhängige Aufnahme von Ethidiumbromid (30 µM) nach Stimulation durch ATP



**Abb. 4.6** zeitabhängige Aufnahme von Ethidiumbromid (50 µM) nach Stimulation durch ATP

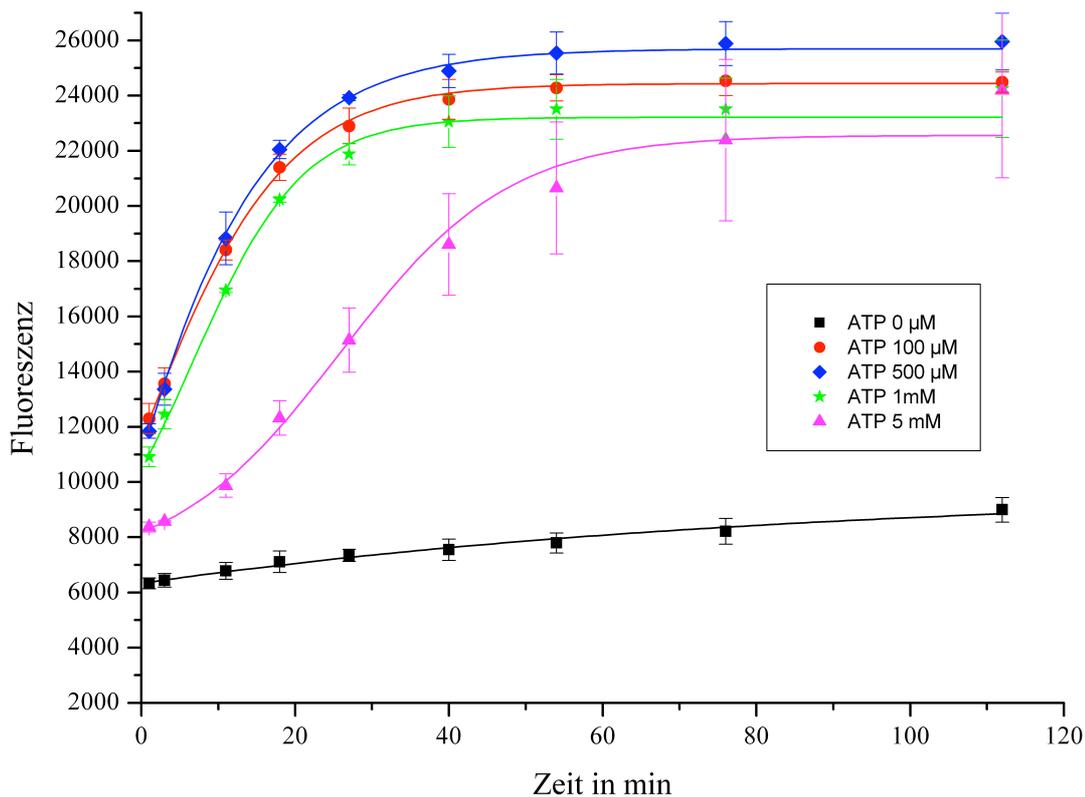


Abb. 4.7 zeitabhängige Aufnahme von Ethidiumbromid (100  $\mu\text{M}$ ) nach Stimulation durch ATP

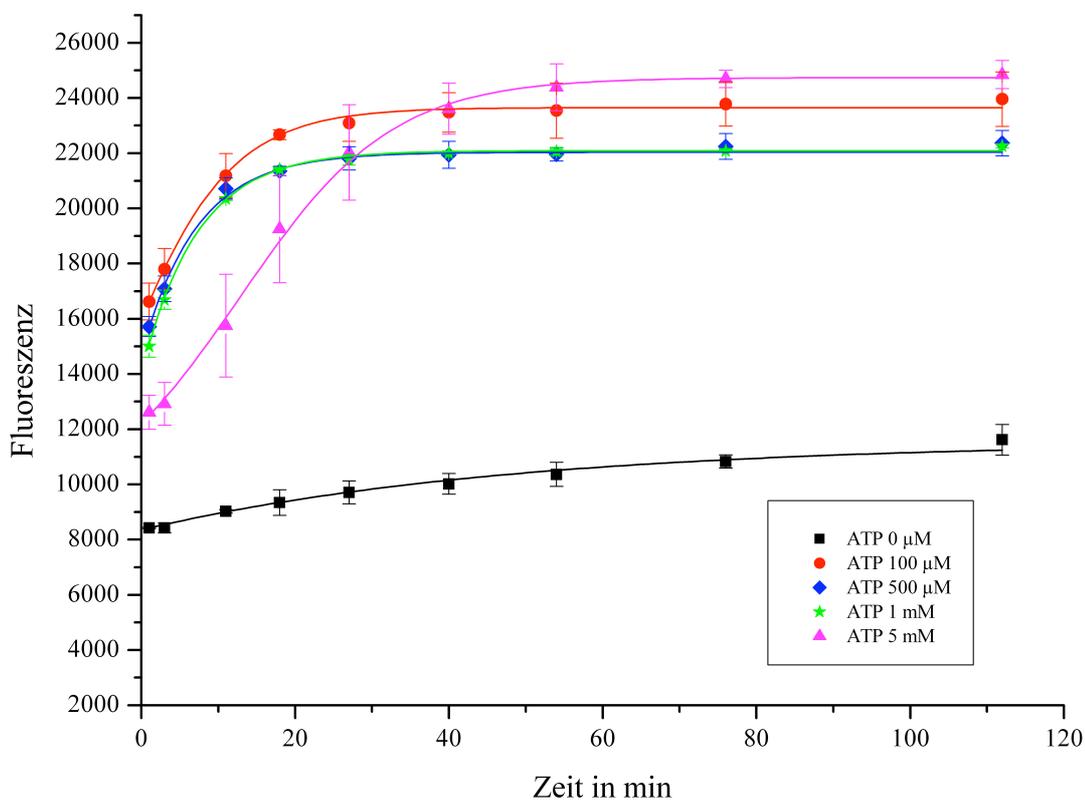
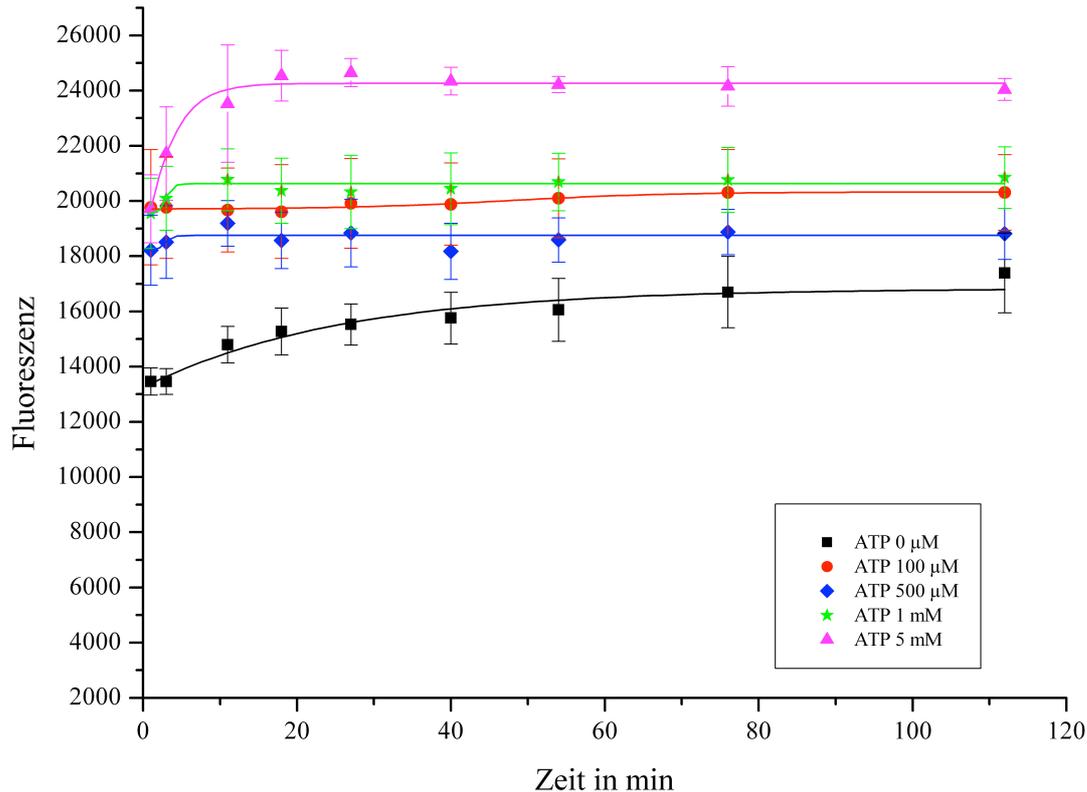


Abb. 4.8 zeitabhängige Aufnahme von Ethidiumbromid (200  $\mu\text{M}$ ) nach Stimulation durch ATP



**Abb. 4.9** zeitabhängige Aufnahme von Ethidiumbromid (500 µM) nach Stimulation durch ATP

Zunächst ist auffällig, dass die höchste untersuchte ATP-Konzentration von 5 mM bei allen eingesetzten Ethidiumbromid-Konzentrationen bis auf 500 µM eine geringere oder zumindest eine deutlich verlangsamte Aufnahme des Farbstoffes hervorruft. Diese Beobachtung deckt sich mit bereits veröffentlichten Beobachtungen (Lee, Jo, Lee, Jeong, Kim, & Park, 2006). Ursächlich sind zytotoxische Effekte, die in verschiedenen Zellsystemen für extrazelluläres ATP in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden konnten (Brough, Le Feuvre, Iwakura, & Rothwell, 2002) (Wen, Caldwell, & Knowles, 2003). Für die Bestimmung der optimalen Ethidiumbromid-Konzentration werden daher nur die ATP-vermittelten Aufnahmen nach Stimulation mit 100 µM, 500 µM und 1 mM ATP betrachtet.

Der Einsatz sehr hoher Ethidiumbromid-Konzentrationen (500 µM) führt zwar zu einem sehr schnellen Erreichen des Plateaus, liefert allerdings aufgrund einer zu geringen Differenz zwischen Ethidiumbromid-Aufnahme nach Stimulation mit ATP und der Negativkontrolle (ohne ATP-Stimulation) ebenfalls keine für das Testsystem

zufriedenstellend auswertbaren Ergebnisse (Abb. 4.9) und kann daher als nicht geeignet angesehen und für weitere Betrachtungen vernachlässigt werden.

Im Folgenden werden die zur Optimierung des Testsystems wichtigen Parameter aufgeführt. Neben einer möglichst linear verlaufenden Negativkontrolle (ohne ATP-Stimulation) sollen ein schneller Anstieg der ATP-abhängigen intrazellulären Ethidiumbromid-Konzentration und ein damit verbundenes schnelles Erreichen des Plateaus eine große Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit sowie eine geringe Schwankungsanfälligkeit gewährleisten. Ebenso von Bedeutung ist eine möglichst große Differenz zwischen Positiv- und Negativkontrolle.

Tatsächlich kann eine Abhängigkeit der Aufnahmegeschwindigkeit des Ethidiumbromids von der Konzentration gefunden werden. Wird bei Konzentrationen von 10  $\mu\text{M}$  (Abb. 4.4) bzw. 30  $\mu\text{M}$  (Abb. 4.5) das Plateau erst nach schätzungsweise 100 bzw. 80 Minuten erreicht, so verkürzt sich diese Zeit mit steigender Ethidiumbromid-Konzentration deutlich auf ca. 60 Minuten bei 50  $\mu\text{M}$  (Abb. 4.6), 30 Minuten bei 100  $\mu\text{M}$  (Abb. 4.7) und lediglich noch ungefähr 20 Minuten bei 200  $\mu\text{M}$  (Abb. 4.8). Für diesen Parameter ist also der Einsatz einer möglichst hohen Ethidiumbromid-Konzentration wünschenswert, da ein möglichst schnelles Erreichen des Plateaus einen nahen Messzeitpunkt im bereits flachen Kurvenbereich und damit geringe Schwankungsanfälligkeit für Messungenauigkeiten ermöglicht. Bei Betrachtung der übrigen Parameter lässt sich jedoch mit steigender Ethidiumbromid-Konzentration ein Verlust der Linearität der Negativkontrolle sowie eine geringer werdende Differenz zwischen Negativ- und Positivkontrolle feststellen. Auffällig ist hierbei insbesondere der Anstieg der Fluoreszenz, die nicht durch ATP-vermittelte Ethidiumbromid-Aufnahme zustande kommt (Negativkontrolle). Des Weiteren weist die Fluoreszenz nach ATP-Stimulation ab einer Ethidiumbromid-Konzentration von über 50  $\mu\text{M}$  ein Intensitätsmaximum bei ca. 25.000 auf (Abb. 4.6 bis 4.8). Da zu den Gründen dieses konzentrationsunabhängigen Intensitätsmaximums keine detaillierten Untersuchungen gemacht wurden, sollte eine Ethidiumbromid-Konzentration gewählt werden, die eine Fluoreszenzintensität unterhalb der Grenze von 25.000 gewährleistet. Diese sollte jedoch in Anbetracht der konzentrationsabhängigen Aufnahmegeschwindigkeit des Ethidiumbromids am oberen Ende der untersuchten Konzentrationen liegen. Für die

Abhängigkeit der Fluoreszenz von der ATP-Konzentration scheint zumindest im Bereich von 100  $\mu\text{M}$  bis 1 mM kein signifikanter Unterschied zu bestehen.

Für das gewünschte Testsystem wird eine Ethidiumbromid-Konzentration von 50  $\mu\text{M}$  gewählt, da für diese Konzentration der bestmögliche Kompromiss zwischen einem schnellen Anstieg der intrazellulären Ethidiumbromid-Konzentration und einer möglichst großen Differenz zwischen Positiv- und Negativkontrolle gewährleistet scheint.

#### 4.2.2 Bestimmung des Messzeitpunktes

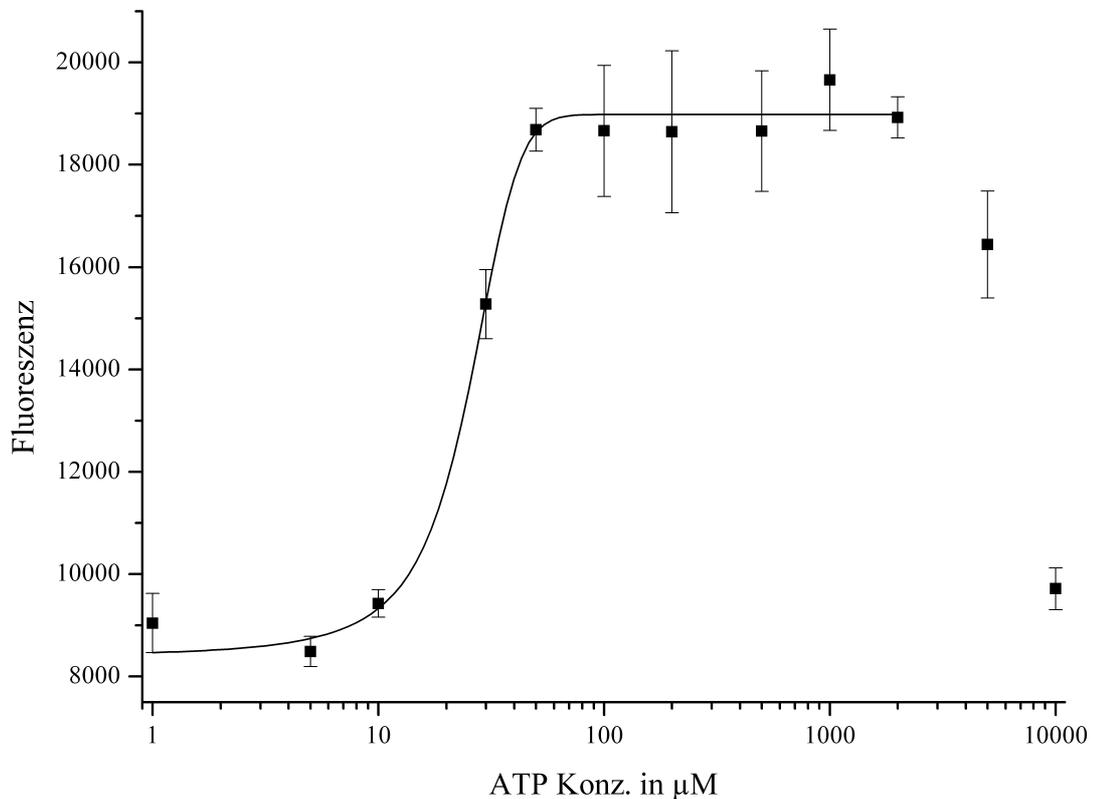
Der Zeitpunkt der Messung muss in Abhängigkeit der gewählten Ethidiumbromid-Konzentration bestimmt werden. Während ein früher Messzeitpunkt die Gefahr von Verfälschungen durch Nebeneffekte (beispielsweise Zytotoxizität der untersuchten Substanzen oder Ethidiumbromid-Aufnahme unabhängig von der Rezeptoraktivierung) verringert, kann die Anfälligkeit für Messungenauigkeiten durch einen Messzeitpunkt nach Erreichen des ATP-vermittelten Plateaus der Fluoreszenzintensität deutlich gemindert werden. Die Messung sollte also möglichst früh nach sicherem Erreichen des Plateaus erfolgen.

Als Zeitpunkt der Messung wird 60 Minuten nach ATP-Zugabe gewählt. Dieser verspricht durch den bei einer verwendeten Ethidiumbromid-Konzentration von 50  $\mu\text{M}$  hinreichend flachen Kurvenverlauf eine möglichst geringe Störanfälligkeit sowie eine hohe Reproduzierbarkeit (Abb. 4.6).

#### 4.2.3 Einfluss der Konzentration des Agonisten ATP

Neben der optimalen Konzentration des Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid soll die für das Testsystem bestmögliche Konzentration des verwendeten Agonisten ATP gefunden werden. Hierfür wurde unter Berücksichtigung der bereits festgelegten Parameter (Ethidiumbromid-Konzentration und Messzeitpunkt) (Kap. 4.2.1 und 4.2.2)

die Abhängigkeit der Ethidiumbromid-Aufnahme von der ATP-Konzentration untersucht (Abb. 4.10).



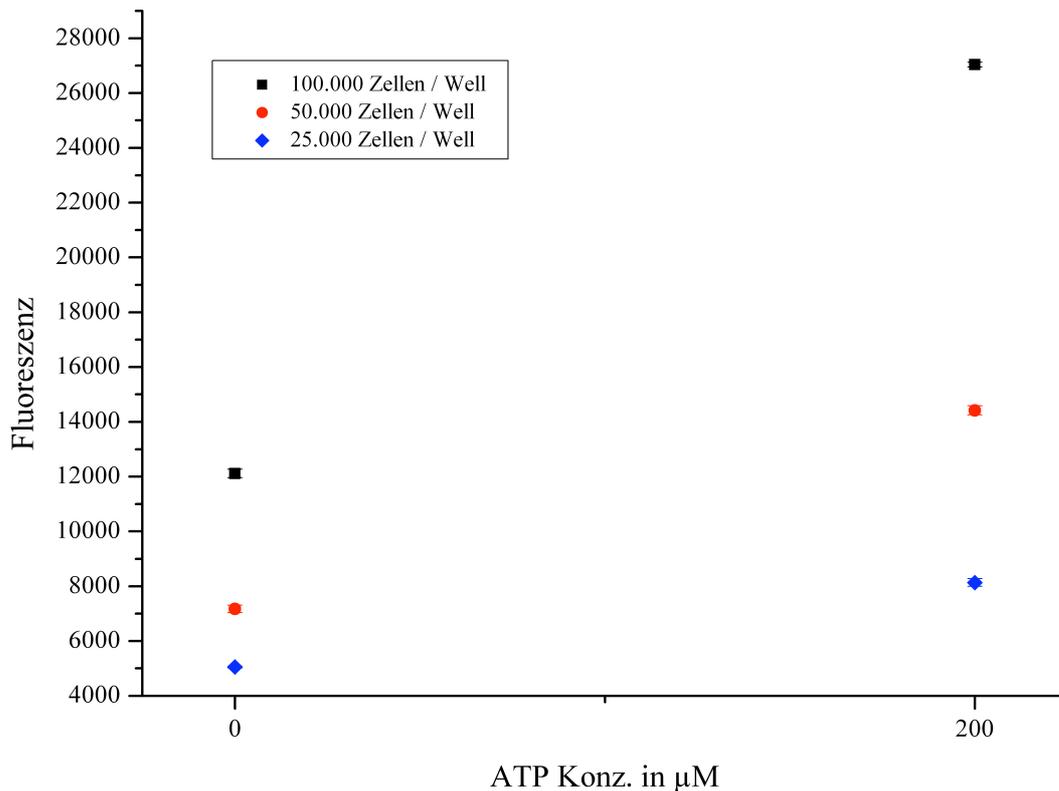
**Abb. 4.10** Aufnahme von Ethidiumbromid (50  $\mu\text{M}$ ) in Abhängigkeit von der ATP-Konzentration nach 60 Minuten

Ein ATP-vermittelter Anstieg der intrazellulären Ethidiumbromid-Konzentration lässt sich ab einer ATP-Konzentration über 10  $\mu\text{M}$  beobachten. Ein Erreichen des Plateaus scheint ab einer Konzentration von ca. 50  $\mu\text{M}$  zu erfolgen. Wie bereits in Kapitel 4.2.1 beschrieben, kann auch hier die vermutlich auf zytotoxische Effekte zurückzuführende verringerte Ethidiumbromid-Aufnahme nach Stimulation mit höheren ATP-Konzentrationen beobachtet werden. Eine deutliche Verringerung tritt bereits bei einer Konzentration von 5 mM ein, während bei einer Konzentration von 10 mM eine annähernd vollständige Verhinderung der Aufnahme des Ethidiumbromids zu beobachten ist.

Es wird somit für das Testsystem eine ATP-Konzentration von 200  $\mu\text{M}$  gewählt, so dass ein sicheres Erreichen des Plateaus gewährleistet ist.

#### 4.2.4 Einfluss verschiedener Zellmengen

Unter Berücksichtigung der in Kapitel 4.2.1 bis 4.2.3 festgelegten Parameter hinsichtlich der Ethidiumbromid-, der ATP-Konzentration und des Messzeitpunktes wurden Untersuchungen bezüglich der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der eingesetzten Zellmenge gemacht.



**Abb. 4.11** Aufnahme von Ethidiumbromid (50  $\mu\text{M}$ ) in Abhängigkeit von der Zellzahl nach Stimulation durch ATP (200  $\mu\text{M}$ )

Verwendet wurden 25.000, 50.000 und 100.000 Zellen/Well (Abb. 4.11). Mit steigender Zellzahl ist nicht nur eine Erhöhung der Absolutwerte der Fluoreszenzintensität erkennbar; es geht damit auch eine deutliche Erhöhung der Steigerung der durch ATP-

vermittelten Ethidiumbromid-Aufnahme und der damit zusammenhängenden Fluoreszenzintensität einher. Bei einer Aussaat von 25.000 Zellen/Well ist eine Erhöhung der Fluoreszenzintensität von 5.049 auf lediglich 8.133 nach ATP Stimulation zu erkennen, bei einer Aussaat von 50.000 Zellen/Well von 7.174 auf 14.420, während bei einer Verwendung von 100.000 Zellen/Well eine Steigerung von 12.117 auf 27.042 stattfindet. Dies entspricht Steigerungen um den Faktor 1.61, 2.01 bzw. 2.23. Durch diese Erhöhung der relativen Steigerung der Fluoreszenzintensität und damit einhergehender größerer Differenz zwischen Positiv- und Negativkontrolle, kann durch Verwenden von 100.000 Zellen/Well eine bessere Auswertbarkeit der Ergebnisse gewährleistet werden. Die Auswirkung einer weiteren Erhöhung der Zellmenge wurde nicht untersucht, da die Aussaat durch die zur Verfügung stehende absolute Zellzahl auf ca. 100.000 Zellen/Well begrenzt ist.

#### 4.2.5 Sonstige Untersuchungen

Um den Einfluss verschiedener Pufferlösungen zu untersuchen, wurde die ATP vermittelte Ethidiumbromid Aufnahme unter Berücksichtigung der in Kapitel 4.2.1 bis 4.2.4 festgelegten Parameter in zwei unterschiedlichen Pufferlösungen gemessen.

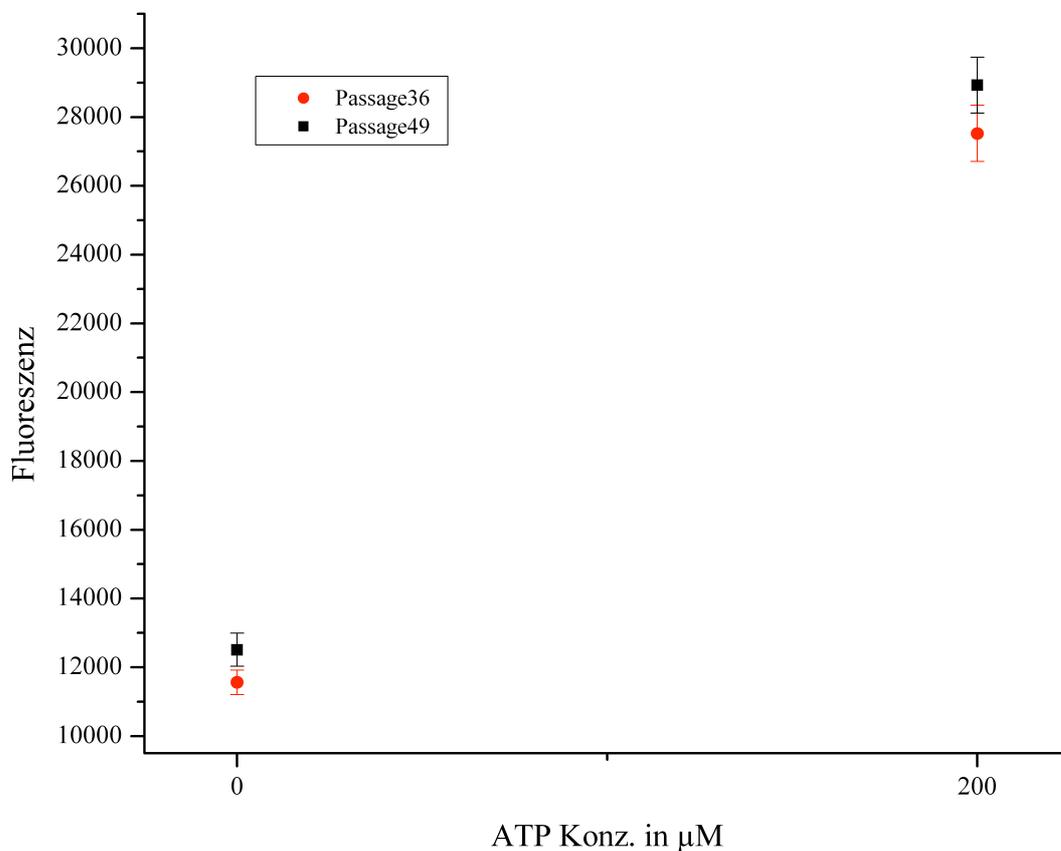
Verwendet wurden zum einen PBS (phosphate buffered saline) mit einer Zusammensetzung von 140 mM NaCl, 3 mM KCl, 6 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Als zweites wurde eine Pufferlösung bestehend aus 20 mM HEPES, 140 mM KCl, 5 mM Glucose, 1 mM EDTA, mit HCl bzw. KOH auf einen pH-Wert von 7.4 eingestellt, verwendet. Bei beiden Pufferlösungen wurde auf die Verwendung von Ca<sup>2+</sup>- und Mg<sup>2+</sup>-Ionen verzichtet, da diese inhibitorische Effekte auf P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren aufweisen (Kap. 1.1.4.2). Bei der zweiten Lösung wurde des Weiteren auf einen Zusatz von Na<sup>+</sup>-Ionen verzichtet; eventuell durch vorherige Behandlung der Zellen anwesende Ca<sup>2+</sup>- bzw. Mg<sup>2+</sup>-Ionen werden durch Komplexierung mittels eines EDTA-Zusatzes entfernt.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen in Abhängigkeit der verschiedenen Pufferlösungen festgestellt werden.

Da aufgrund des Gehaltes von EDTA in der zweiten Pufferlösung eine höhere Robustheit des Testsystems gegenüber Ca<sup>2+</sup>- und Mg<sup>2+</sup>-Ionen, die beispielsweise durch

nicht ausreichendes Waschen der Zellen vorliegen könnten, zu erwarten ist, wurde diese Pufferlösung der PBS-Lösung vorgezogen.

Des Weiteren sollte durch Untersuchungen an Zellen unterschiedlicher Passagen eine Aussage über die Stabilität der Transfektion getroffen werden. Hierzu wurden Messungen an stabil transfizierten Zellen der Passage 36 bzw. der Passage 49 durchgeführt (Abb. 4.12). Auch diese Messungen wurden unter Einhaltung der bereits festgelegten Parameter durchgeführt.



**Abb. 4.12** Aufnahme von Ethidiumbromid ( $50 \mu\text{M}$ ) in Abhängigkeit von der Passage nach Stimulation durch ATP ( $200 \mu\text{M}$ )

Zwischen den verschiedenen Passagen kann kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Eine Stabilität der Transfektion scheint somit zumindest bis zu einer Passage

von 49 gewährleistet, so dass eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse trotz der Verwendung unterschiedlicher Passagen der transfizierten Zellen erwartet werden kann.

#### 4.2.6 Einfluss zytotoxischer Effekte

Da ein Großteil der getesteten Verbindungen ausgeprägte zytotoxische Effekte aufweist (Kap. 6), sollte ein Einfluss der Zytotoxizität auf das Testsystem möglichst ausgeschlossen werden. Hierzu sollte die Aktivität einer in den eingesetzten Konzentrationen zytotoxisch wirkenden Verbindung im vorliegenden Testsystem untersucht werden, die keine Vermutung auf antagonistische Wirksamkeit am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor zulässt. Für diesen Zweck wurde Cisplatin ausgewählt, das an der HEK 293-Zelllinie eine Toxizität mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 2.24  $\mu$ M zeigt (Abb. 4.13).

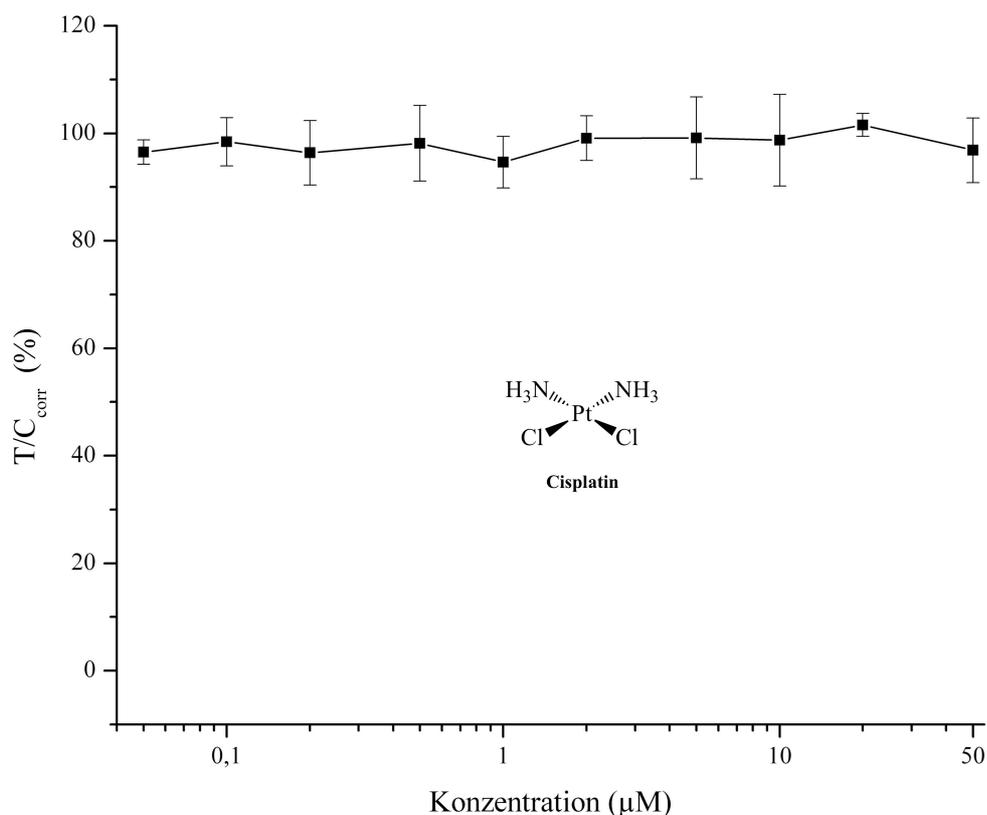
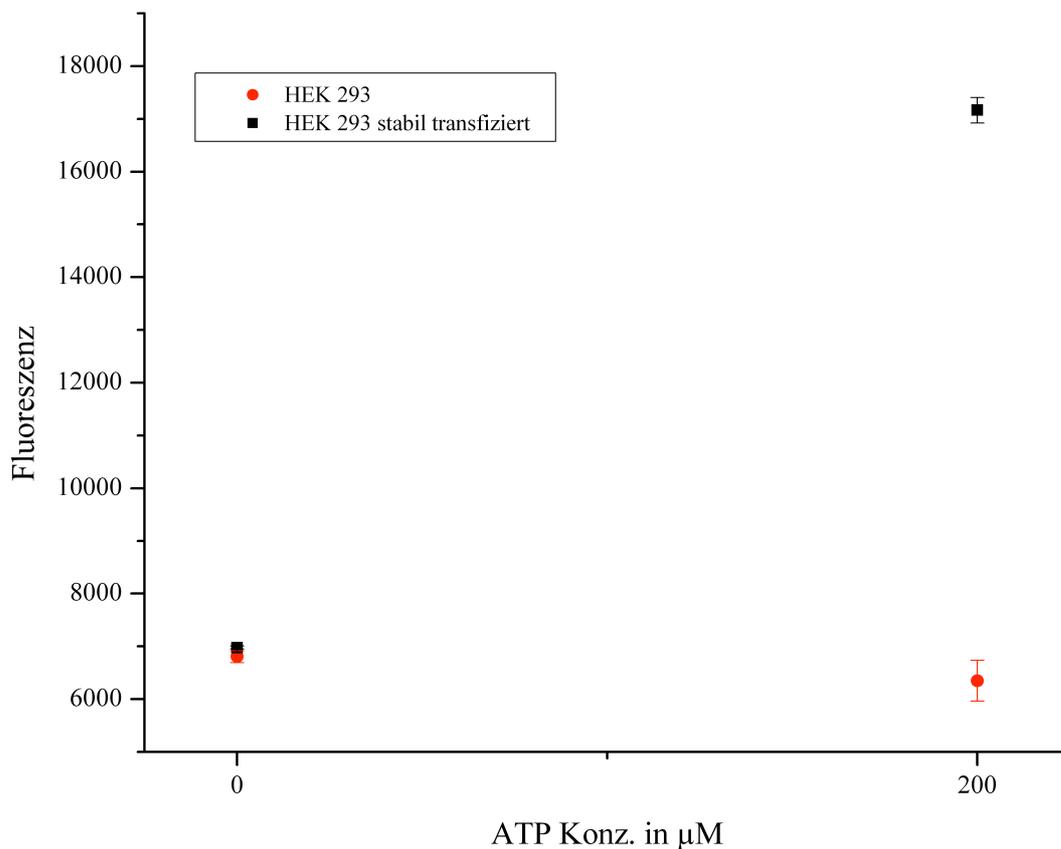


Abb. 4.13 Einfluss von Cisplatin im eingesetzten Testsystem

Bis zu einer Konzentration von 50  $\mu\text{M}$  ist kein Einfluss von Cisplatin im Testsystem für antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor zu erkennen. Eine Beeinträchtigung des Testsystems durch die Zytotoxizität einiger getesteter Verbindungen wird somit ausgeschlossen.

#### 4.2.7 Vergleich mit nicht transfizierten HEK 293 Zellen

Um den Einfluss anderer als durch P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren hervorgerufene Effekte auf das Testsystems zu überprüfen, wird abschließend eine vergleichende Untersuchung mit nicht transfizierten Zellen der Zelllinie HEK 293 durchgeführt (Abb. 4.14).



**Abb. 4.14** Aufnahme von Ethidiumbromid (50  $\mu\text{M}$ ) in stabil transfizierten bzw. nicht transfizierten HEK 293 Zellen nach Stimulation durch ATP (200  $\mu\text{M}$ )

Während bei den stabil transfizierten HEK 293 Zellen die erwartete Steigerung der Fluoreszenz nach Stimulation durch ATP beobachtet werden kann, erfolgt bei den nicht transfizierten Zellen trotz Zugabe von ATP innerhalb von 60 Minuten keine Erhöhung der Fluoreszenz. Es erfolgte somit keine erhöhte Aufnahme des Farbstoffes.

Damit scheint gewährleistet, dass die erhöhte Ethidiumbromid-Aufnahme ausschließlich durch Aktivierung der P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren zustande kommt, und das Testsystem eine selektive Methode zur Messung der Stimulation der P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren darstellt.

#### 4.2.8 Zusammenfassung

Aufgrund der Ergebnisse der Kapitel 4.2.1 bis 4.2.5 werden folgende Parameter für das *in vitro*-Testsystem auf antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor verwendet:

Die Testung wird an stabil mit dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten Zellen der Zelllinie HEK 293 durchgeführt. Aufgrund der geringeren Schwankungen durch Streulicht finden schwarze 96-Well-Mikrotiterplatten der Firma Nunc Verwendung. Ausgesät wird eine Zellmenge von 100.000 Zellen/Well. Als Fluoreszenzfarbstoff wird Ethidiumbromid in einer Konzentration von 50 µM verwendet, während ATP als Agonist in einer Konzentration von 200 µM eingesetzt wird. Als Zeitpunkt der Messung wird 60 Minuten nach Zugabe der Ethidiumbromid- und der ATP-Lösung gewählt.

Durch den Vergleich mit nicht transfizierten HEK 293 Zellen kann Selektivität für P2X<sub>7</sub>-Rezeptoraktivierung vorausgesetzt werden (Kap. 4.2.7). Einflüsse zytotoxischer Effekte wurden durch die Untersuchungen mit Cisplatin ausgeschlossen (Kap. 4.2.6).

Eine detaillierte Durchführung des Testsystems ist in Kapitel 9.3.3 beschrieben.



## **5 Pharmakologische Untersuchungen am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor**



## 5 Pharmakologische Untersuchungen am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor

Die synthetisierten Verbindungen wurden im zuvor etablierten *in vitro*-Testsystem (Kap. 4) auf ihre antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor getestet.

### 5.1 Ermittlung der antagonistischen Aktivität

Eingesetzt wurden die stabil mit dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten Zellen der Zelllinie HEK 293. Die zu testenden Verbindungen werden abhängig von der durch ihre chemische Struktur erwarteten Aktivität in Konzentrationen zwischen 0.005 und 100 µM eingesetzt. Nach 30 minütiger Inkubation werden ATP als Agonist des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors und Ethidiumbromid als Fluoreszenzfarbstoff hinzugegeben. Die nach weiteren 60 Minuten gemessene Fluoreszenzintensität gibt Auskunft über den Aktivierungsgrad der P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren (Kap. 4.1).

Zur Beurteilung der Testergebnisse wird aus den erhaltenen Fluoreszenzintensitäten der Verbindungen ein T/C<sub>corr</sub>-Wert nach folgender Formel ermittelt:

$$T/C_{corr} = \frac{(T^* - C_0)}{(C^* - C_0)} * 100 \quad (\%)$$

T\*: Fluoreszenzintensität der behandelten Kulturen (mit Testverbindungen und 200 µM ATP)

C\*: Fluoreszenzintensität der Kontrollkulturen (mit 200 µM ATP)

C<sub>0</sub>: Fluoreszenzintensität der Negativkontrollkulturen (ohne ATP)

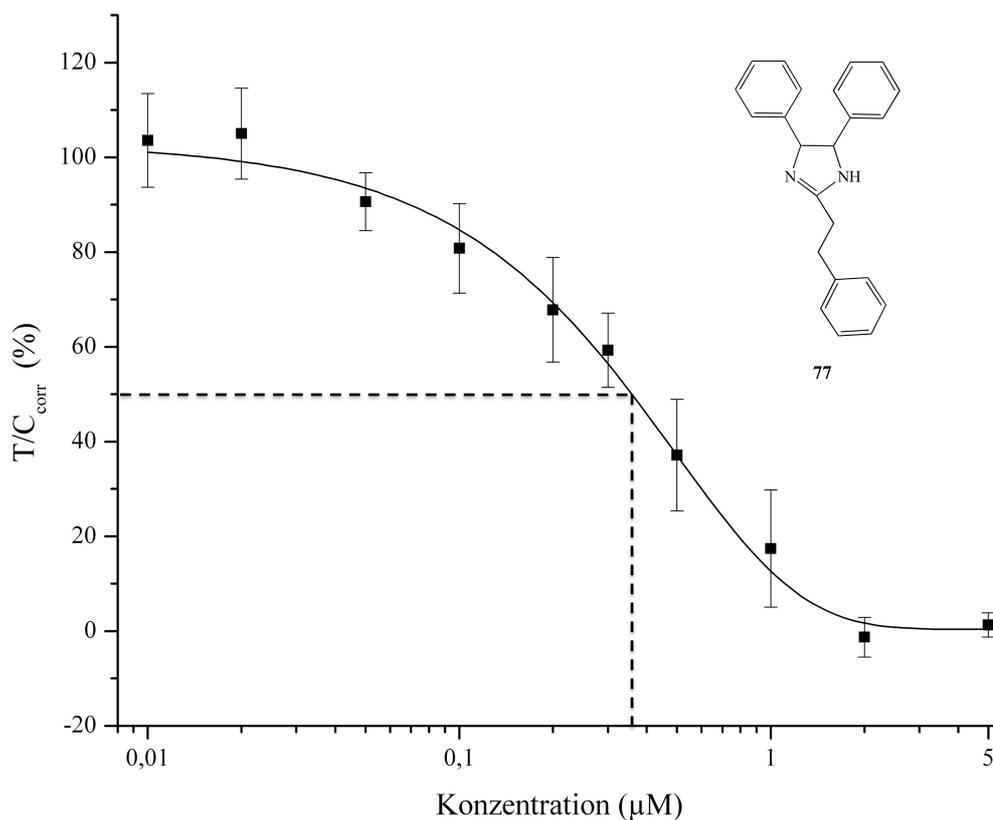
Der T/C<sub>corr</sub>-Wert gibt Auskunft über die Aktivierung des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors nach Inkubation mit den Testverbindungen (und Stimulation durch ATP) in Relation zur Aktivierung des P2X<sub>7</sub>-Rezeptors der Kontrollkulturen (durch ATP).

Aus den T/C<sub>corr</sub>-Werten kann anschließend der IC<sub>50</sub>-Wert (*inhibitory concentration*) bestimmt werden. Der IC<sub>50</sub>-Wert entspricht derjenigen Wirkstoffkonzentration, bei der eine halbmaximale Inhibition beobachtet wird. Die berechneten T/C<sub>corr</sub>-Werte werden gegen den Logarithmus der Substanzkonzentration in einem Diagramm aufgetragen und mittels Boltzmann-Funktion (Origin Pro 8.0) eine sigmoide Kurve ermittelt. Die einem T/C<sub>corr</sub>-Wert von 50 % entsprechende Substanzkonzentration kann aus der erhaltenen

Grafik abgelesen werden. Der sigmoide Kurvenverlauf der Konzentrations-Wirkungs-Kurve und die IC<sub>50</sub>-Wertbestimmung kann Abb. 5.1 am Beispiel von Verbindung 77 entnommen werden.

## 5.2 Antagonistische Aktivität der Referenzsubstanz

Als Referenzsubstanz wurde die bereits in der Literatur beschriebene (Merriman, et al., 2005) Verbindung 77 verwendet (Abb. 5.1).



**Abb. 5.1** Konzentrations-Wirkungs-Kurve zur Bestimmung des IC<sub>50</sub>-Wertes am Beispiel von Verbindung 77

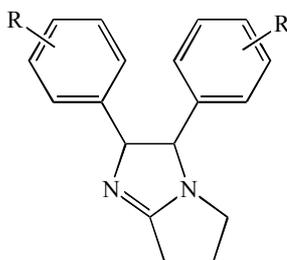
Der bereits beschriebene IC<sub>50</sub>-Wert von 0.08 µM konnte dabei nicht bestätigt werden. Gefunden wurde ein Wert von 0.36 µM. Ursächlich für diese Differenz könnten grundlegende Unterschiede in den beiden angewandten Testsystemen sein:

Verwendet wurden unterschiedliche Zelllinien ebenso wie verschiedene Rezeptoren. Während Merriman, et al. Zellen der Zelllinie U373 MG (human glioblastoma astrocytoma) verwendeten, die stabil den humanen P2X<sub>7</sub>-Rezeptor exprimieren, wurden die Ergebnisse unserer Untersuchungen unter Verwendung von stabil mit dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten Zellen der Zelllinie HEK 293 (Kap. 4) erzielt, da sich die Kultivierung dieser Zelllinie trotz der stabilen Transfektion als einigermaßen unkompliziert herausstellte. Weitere Abweichungen sind in der Durchführung der Testsysteme zu finden. So wurden durch Merriman, et al. die Zellen ausgesät und über Nacht anwachsen lassen, stimuliert wurde mit dem potenteren und selektiveren P2X<sub>7</sub>-Agonisten BzATP und als Fluoreszenzfarbstoff wurde Yo-Pro-1 verwendet; derweil wurde bei uns auf ein Anwachsen der Zellen über Nacht verzichtet, da ein Vergleich beider Methoden in einer deutlich besseren Reproduzierbarkeit ohne Anwachsen resultierte. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass die stabil transfizierten Zellen im Gegensatz zu den nicht transfizierten Zellen der Zelllinie HEK 293 ein recht ungleichmäßiges Anwachsen aufweisen. Aus wirtschaftlichen Gründen wurde ATP als Agonist und als Fluoreszenzfarbstoff Ethidiumbromid eingesetzt. Dadurch konnten reproduzierbare Ergebnisse bei gleichzeitig geringer finanzieller Belastung gewährleistet werden (Kap. 4).

### 5.3 Testergebnisse

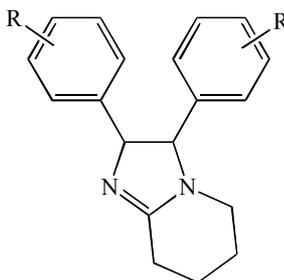
#### 5.3.1 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine

Zur Untersuchung der Relevanz der Substitution in 2-Position des Imidazolins wurden durch Zyklisierung 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole (Tab. 5.1) und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine (Tab. 5.2) als Strukturvariationen von Verbindung **77** hergestellt (Kap. 2.5.1). Die Ergebnisse können den Tab. 5.1 und 5.2 entnommen werden.



Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
<b>52</b>	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>53</b>	2-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>54</b>	3-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>55</b>	4-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>56</b>	2-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>57</b>	3-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>58</b>	4-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>59</b>	2-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>60</b>	3-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>61</b>	4-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>62</b>	2-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>63</b>	3-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
<b>64</b>	4-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100

**Tab. 5.1** IC<sub>50</sub>-Werte der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole



Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
65	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
66	2-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
67	3-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
68	4-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
69	2-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
70	3-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
71	4-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
72	2-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
73	4-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
74	2-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
75	3-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100
76	4-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 100

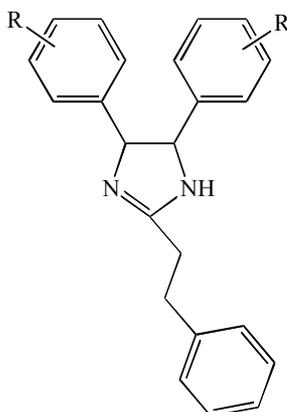
**Tab. 5.2** IC<sub>50</sub>-Werte der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine

Sowohl die 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole als auch die 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine weisen unabhängig von ihrer Substitution an den Aromaten keine in den getesteten Konzentrationen detektierbare antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor auf.

### 5.3.2 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline

Um den Einfluss verschiedener Substituenten an den Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins zu untersuchen, wurden unterschiedlich substituierte Verbindungen als

Strukturvariationen von Verbindung 77 hergestellt (Kap. 2.5.2). Des Weiteren wurden zur Ermittlung der Bedeutung der Konfiguration mit den Verbindungen 84 und 88 ausgewählte (4*R*,5*R*)/(4*S*,5*S*)-konfigurierte Verbindungen dargestellt. Die IC<sub>50</sub>-Werte können Tab. 5.3 entnommen werden.



Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
77	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.36 (± 0.11)
78	2-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.25 (± 0.38)
79	3-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.88 (± 0.26)
80	4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.77 (± 0.96)
81	2-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.72 (± 0.53)
82	3-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.84 (± 0.25)
83	4-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.28 (± 1.24)
84	4-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )	2.97 (± 1.07)
85	2-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.35 (± 0.06)
86	3-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.24 (± 0.03)
87	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	8.62 (± 4.33)
88	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )	9.78 (± 2.61)
89	2-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.54 (± 1.02)
90	3-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	6.68 (± 0.61)
91	4-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	4.24 (± 0.54)
92	2-Cl, 4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	8.49 (± 3.09)
112	2-OH	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.41 (± 0.12)
113	3-OH	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	0.07 (± 0.04)
114	4-OH	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.12 (± 0.38)

Tab. 5.3 IC<sub>50</sub>-Werte der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline

Aus den Ergebnissen in Tab. 5.3 geht hervor, dass eine Substitution der Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins in den meisten Fällen zu keiner Steigerung der antagonistischen Aktivität führt. Eine Substitution in *para*-Position der Aromaten resultiert im Gegenteil sogar in einer prinzipiellen Verringerung der Wirkung (**80**, **83**, **84**, **87**, **88**, **91**, **114**). Den kleinsten Wirkverlust mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 2.12 µM zeigt hier die Verbindung **114**, die durch Einführung von Hydroxygruppen die geringste Lipophilie aufweist.

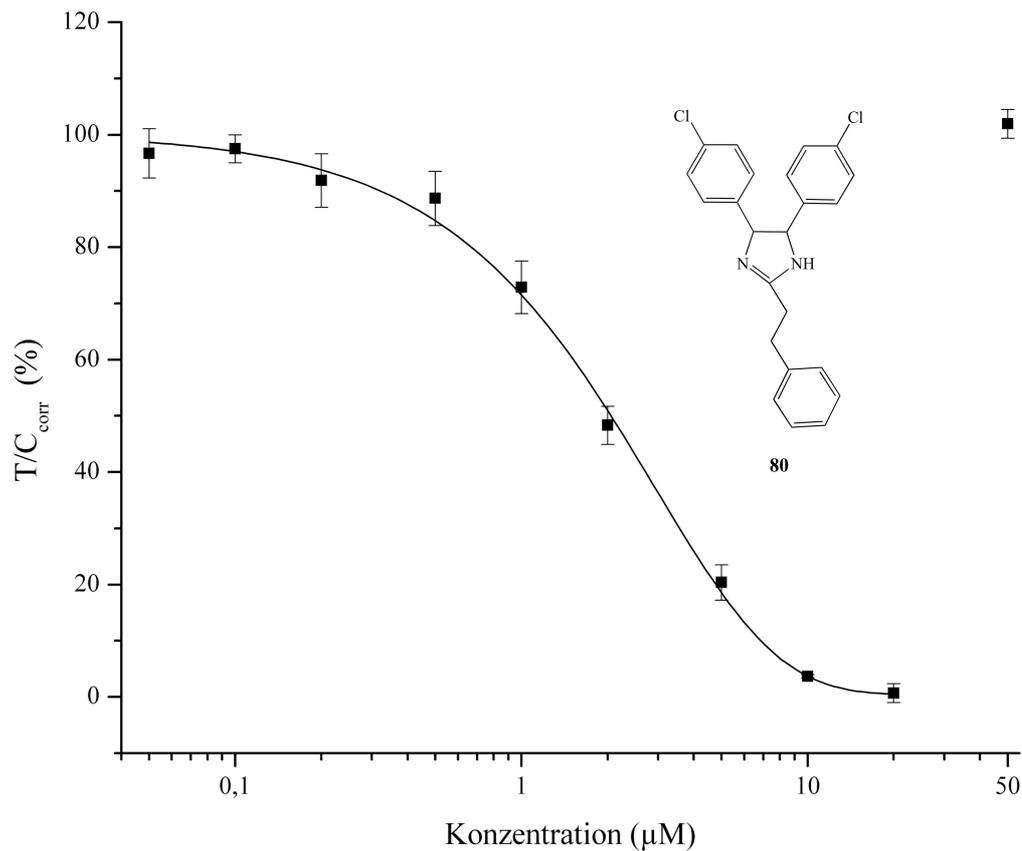
Auch Substitution in *ortho*- oder *meta*-Position führt bei den meisten Verbindungen zu einer verringerten antagonistischen Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor, wenngleich diese Einbuße der Wirkung deutlich schwächer ausgeprägt ist als bei *para*-Substitution. Mit Ausnahme der trifluormethylierten Verbindungen lässt sich die Aktivität der untersuchten Substanzen in Abhängigkeit der Stellung der Substituenten in die Reihenfolge *meta* > *ortho* > *para* einordnen.

Einführung von Methoxygruppen in *ortho*- bzw. *meta*-Position (**85**, **86**) kann mit IC<sub>50</sub>-Werten von 0.35 µM bzw. 0.24 µM mit Verbindung **77** vergleichbare Aktivitäten bewirken, ebenso wie eine Hydroxylierung in *ortho*-Position (**112**), aus der ein IC<sub>50</sub>-Wert von 0.41 µM resultiert. Hydroxylierung in *meta*-Stellung (**113**) liefert mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0.07 µM die einzige synthetisierte und getestete Verbindung mit deutlich stärkerer antagonistischer Wirkung auf den P2X<sub>7</sub>-Rezeptor als Verbindung **77**.

Ein Einfluss der Konfiguration lässt sich nicht feststellen, wie an den Verbindungen **83** und **84** bzw. **87** und **88** zu erkennen ist.

Die schwächsten antagonistischen Aktivitäten zeigen die 4-methoxylierten Substanzen (**87**, **88**) sowie die vierfach chlorierte Verbindung **92**.

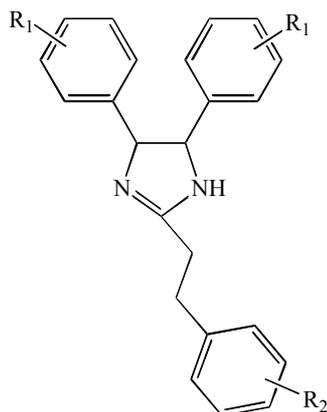
Bemerkenswert ist, dass bei einigen Verbindungen (**79**, **80**, **88**, **90**) eine Erhöhung der Konzentration zu einem vollständigen Wirkverlust führt. Dies ist in Abb. 5.2 exemplarisch an Verbindung **80** dargestellt. Da die im Testsystem eingesetzten Konzentrationen der aufgrund der chemischen Struktur der Verbindungen erwarteten Aktivität angepasst wurden, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob bei den anderen Substanzen derartige Beobachtungen bei höheren Konzentrationen ebenfalls gemacht werden könnten. Die Berechnung der IC<sub>50</sub>-Werte bei oben genannten Verbindungen erfolgte unter Vernachlässigung der jeweils höchsten Konzentration.



**Abb. 5.2** Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Verbindung **80** mit Wirkverlust bei einer Konzentration von 50  $\mu\text{M}$

### 5.3.3 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline

Neben Substitution an den Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins soll durch Strukturvariationen des 2-Phenethylrestes dessen Einfluss auf die Aktivität untersucht werden. Tab. 5.4 gibt einen Überblick über die  $IC_{50}$ -Werte der getesteten Verbindungen.



Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
93	H	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
94	2-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
95	3-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
96	4-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
97	2-F	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
98	3-F	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
99	4-F	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
100	2-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
101	4-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
102	2-CF <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
103	4-CF <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4R,5S)/(4S,5R)	> 50
104	H	2-Cl	(4R,5S)/(4S,5R)	<b>0.37 (± 0.01)</b>
105	4-Cl	2-Cl	(4R,5S)/(4S,5R)	<b>2.00 (± 0.06)</b>
106	2-Cl, 4-Cl	2-Cl	(4R,5S)/(4S,5R)	<b>3.89 (± 0.73)</b>

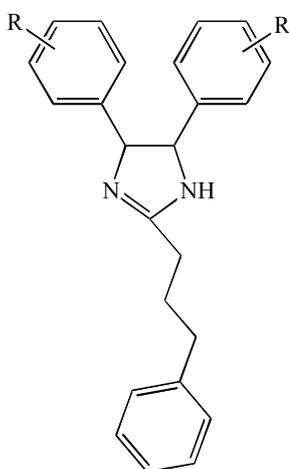
Tab. 5.4 IC<sub>50</sub>-Werte der 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline

Auch durch Einführung von Substituenten in den 2-Phenethylrest kann keine Steigerung der antagonistischen Aktivität erzielt werden. Eine Methoxylierung in *para*-Position des Aromaten führt sogar zu einem gänzlichen Wirkverlust in den getesteten Konzentrationen. Chlorierung in *ortho*-Position wirkt sich weder positiv noch negativ auf die Wirkung aus. Die Verbindungen **104**, **105** und **106** weisen vergleichbare IC<sub>50</sub>-

Werte wie ihre unchlorierten Analoga **77**, **80** und **92** auf. Auch hier ist der vollständige Wirkverlust durch Erhöhung der Konzentration dieser Substanzen zu beobachten.

#### 5.3.4 4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolin

Zur Überprüfung der optimalen Kettenlänge wurde der 2-Phenethyl-Rest der 4-chlorierten Verbindung **80** durch einen 2-Phenylpropylrest ersetzt (Tab. 5.5).



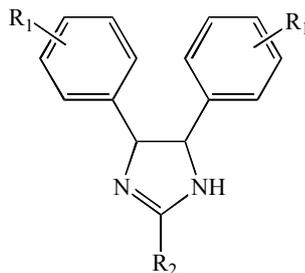
Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
<b>107</b>	4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>14.27 (± 1.93)</b>

Tab. 5.5 IC<sub>50</sub>-Wert des 4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolins

Zu beobachten ist ein deutlicher Wirkverlust auf einen IC<sub>50</sub>-Wert von 14.27 μM gegenüber der entsprechenden 2-phenethylsubstituierten Verbindung **80** (IC<sub>50</sub>-Wert von 2.77 μM). Auf die Erweiterung der homologen Reihe wurde daher verzichtet.

### 5.3.5 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline

Anhand der Verbindungen **108** und **109** sollte die Relevanz des aromatischen Systems in Position 2 des Imidazolins untersucht werden. Hierzu wurde der 2-Phenethylrest durch einen Propyl- bzw. einen Ethylrest ersetzt.



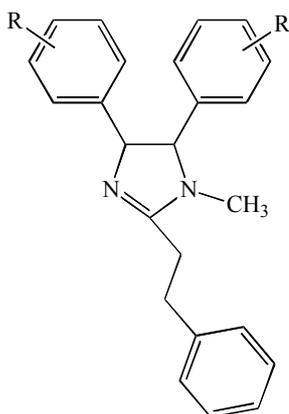
Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
<b>108</b>	4-Cl	Propyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	> 50
<b>109</b>	2-Cl, 4-Cl	Ethyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	> 50

Tab. 5.6 IC<sub>50</sub>-Werte der 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline

Der Ersatz des aromatischen durch ein aliphatisches System resultiert in einem kompletten Wirkverlust.

### 5.3.6 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

Der Einfluß einer *N*-Alkylierung wurde an den methylierten Verbindungen **110** und **111** untersucht (Tab. 5.7).



Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
<b>110</b>	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>5.22 (± 1.23)</b>
<b>111</b>	4-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>&gt; 50</b>

**Tab. 5.7** IC<sub>50</sub>-Werte der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

Während die Methylierung der in *para*-Stellung methoxylierten Verbindung (**110**) zu einem IC<sub>50</sub>-Wert von 5.22 μM führt und damit einen der unmethylierten Verbindung **87** vergleichbaren IC<sub>50</sub>-Wert (8.62 μM) aufweist (Kap. 5.3.2), resultiert aus der *N*-Methylierung der in *para*-Stellung trifluormethylierten Verbindung (**111**) ein vollständiger Wirkverlust.

#### 5.4 Diskussion der Testergebnisse

Mit Hilfe des verwendeten Testsystems ist es möglich, sichere Aussagen über die antagonistische Aktivität einer Verbindung am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor zu treffen. Durch die Fluoreszenzmessung des lediglich durch die unselektive Pore durchdringenden Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid ist eine hohe Selektivität zu erwarten. Auch ein Einfluss der bei einigen Verbindungen ausgeprägten zytotoxischen Effekte im geringen mikromolaren Bereich (Kap. 6) wurde durch die Untersuchungen mittels Cisplatin ausgeschlossen (Kap. 4.2.6). Vorteilhaft ist hier ebenfalls die sehr kurze Inkubationszeit mit den zu testenden Verbindungen (Kap. 9.3.3).

Der Unterschied in der ermittelten (0.36  $\mu$ M) von der in der Literatur beschriebenen (0.08  $\mu$ M) antagonistischen Aktivität der Verbindung **77** am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor lässt sich wie in Kapitel 5.2 beschrieben durch die unterschiedlichen Versuchsbedingungen erklären.

Bemerkenswert ist der bei einigen Substanzen auftretende vollständige Wirkverlust bei Erhöhung der eingesetzten Konzentration (Kap. 5.3.2). Diese Beobachtung ist vergleichbar der Verringerung der agonistischen Aktivität von ATP bei Konzentrationen über 5 mM bis hin zu einem vollständigen Wirkverlust bei 10 mM (Kap. 4.2.1 und 4.2.3). Diese Analogie der Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Agonist und Antagonist könnte auf einen ähnlichen Mechanismus hindeuten. Ob bei höheren Konzentrationen auch die übrigen Verbindungen einer Abnahme ihrer antagonistischen Aktivität unterliegen, konnte leider nicht mehr untersucht werden.

Bei Betrachtung der zytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen (Kap. 6) fällt auf, dass der konzentrationsabhängige Wirkverlust überwiegend bei Substanzen mit ausgeprägter Zytotoxizität vorzufinden ist. Teilweise ist sogar eine Erhöhung der Fluoreszenzintensität über die Positivkontrolle zu beobachten. Dies begründet die Vermutung, dass trotz der kurzen Versuchszeit von 90 Minuten und der Ergebnisse der Untersuchungen mit Cisplatin bei sehr hohen Substanzkonzentrationen ein Einfluss der Zytotoxizität vorliegt. Ein solcher Einfluss wurde ja für den Wirkverlust von ATP in hohen Konzentrationen bereits postuliert (Kap. 4.2.1). Da dieser jedoch nur in für die Berechnung der IC<sub>50</sub>-Werte nicht relevanten Konzentrationen zu beobachten ist, liegt

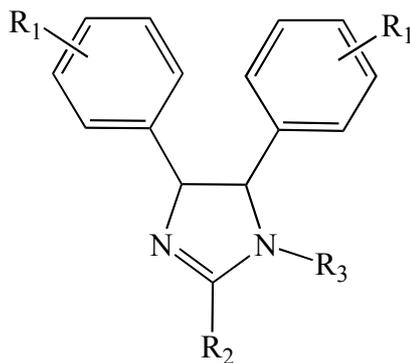
keine Störung des Testsystems vor. Eine fälschlich vorgetäuschte antagonistische Aktivität kann sogar mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Mittels sehr kurzer zeitabhängiger Zytotoxizitätstest könnte der vermutete Einfluss auf das Testsystem belegt werden.

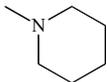
Besteht ein spezifischer Wirkmechanismus, so sollte eine Korrelation der pharmakologischen Wirkung einer Verbindung mit ihrer Struktur gelingen. Da die Interaktion einer Substanz mit ihrem pharmakologischen Target durch definierte Kräfte wie beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, ionische, elektrostatische oder auch hydrophobe Wechselwirkungen vermittelt wird, ist für diese Struktur-Wirkungs-Beziehungen insbesondere die Lipophilie einer Verbindung von Bedeutung. Zur Charakterisierung dieser wird der log P Wert verwendet. Er stellt den dekadischen Logarithmus des Verteilungskoeffizienten einer Substanz zwischen einer 1-Octanol- und einer Wasserphase dar. Er wurde mit Hilfe von CS ChemDraw Ultra berechnet und kann daher natürlich nur einen theoretischen Wert liefern.

$$\log P = \log \left( \frac{c_{Oct.}}{c_{Wasser} (1 - \alpha)} \right)$$

- P: Verteilungskoeffizient  
c<sub>Oct.</sub>: Konzentration in 1-Octanol  
c<sub>Wasser</sub>: Konzentration in Wasser  
α: Dissoziationsgrad in Wasser

Bei Austausch lediglich eines Substituenten kann durch Subtraktion der einzelnen log P Werte voneinander der Beitrag einzelner Substituenten zur Lipophilie ermittelt werden (Hansch, 1990; Silverman, 1995). Die mittels CS ChemDraw Ultra berechneten log P Werte stellen lediglich eine Näherung der tatsächlichen log P Werte dar und dienen daher ausschließlich zur Einschätzung einer Reihenfolge der Lipophilie der Verbindungen. Der berechnete Beitrag einzelner Substituenten zur Lipophilie der Verbindungen kann Tab. 5.8 entnommen werden.



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Δ log P
OH			- 2.243
OCH <sub>3</sub>			- 0,162
F			+ 0.286
Cl			+ 1.426
CF <sub>3</sub>			+ 1.766
	Ethyl		- 1.568
	Propyl		- 1.039
	Phenylpropyl		+ 0.379
			- 3.456
			- 2.897
		Methyl	- 0.094

**Tab. 5.8** mittels CS ChemDraw Ultra berechneter Beitrag einzelner Substituenten zum log P Wert in Relation zu Verbindung 77

Neben der Lipophilie müssen jedoch auch die sterischen Eigenschaften der Verbindungen zur Beurteilung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen betrachtet werden.

Ausgehend von Verbindung 77 sollen zunächst die Strukturvariationen in 2-Position des Imidazolins betrachtet werden. Ein Austausch des Phenethylrestes führt ausnahmslos zu einer Verringerung der antagonistischen Aktivität. Ein Ersatz des aromatischen durch ein aliphatisches System resultiert sowohl bei den zyklischen 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazolen (52-64) und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-

hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridinen (**65-76**) (Kap. 5.3.1) als auch bei den 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazolinen (**108** und **109**) (Kap. 5.3.5) sogar in einem kompletten Wirkverlust in den getesteten Konzentrationen. Die Kettenverlängerung zum Phenylpropylrest (**107**), die im Gegensatz zum Austausch durch ein aliphatisches System mit einer Erhöhung der Lipophilie einhergeht, bewirkt zwar keinen vollständigen Verlust der Aktivität, eine deutliche Abnahme ist dennoch zu beobachten (Kap. 5.3.4). Verglichen wurde hier jeweils mit den entsprechend substituierten 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazolinen (**77-92**) (Kap. 5.3.2). Da sowohl Erhöhung als auch Verringerung der Lipophilie zu Verbindungen geringerer Aktivität führt, scheinen die sterischen Eigenschaften des Phenethylrestes für eine Bindung am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor am günstigsten zu sein.

Methoxylierung in *para*-Position des Aromaten im Phenethylrestes (**93-103**) führt ebenso zu einem vollständigen Wirkverlust, wohingegen eine Chlorierung in *ortho*-Position (**104-106**) nicht in signifikanten Unterschieden gegenüber den unchlorierten Verbindungen resultiert (Kap. 5.3.3). Leider lässt sich aufgrund der zu geringen Anzahl verschiedener Substituenten keine Aussage treffen, ob sterische Hinderungen oder die geringe Verminderung der Lipophilie durch die Methoxylierung in *para*-Position ausschlaggebend für den Wirkverlust sind. Die Chlorierung in *ortho*-Position und die damit einhergehende Erhöhung der lipophilen Eigenschaften scheinen zumindest nicht von nachteiliger Bedeutung für die antagonistische Aktivität zu sein. Trotzdem müssten zur Beurteilung der Relevanz der verschiedenen Eigenschaften weitere Verbindungen mit unterschiedlichen Substituenten synthetisiert und getestet werden, von besonderem Interesse für die Einschätzung der Wichtigkeit der sterischen bzw. lipophilen Eigenschaften wären hier die in *meta*- und *para*-Stellung chlorierten Verbindungen.

Ähnliches gilt für die *N*-methylierten Verbindungen **110** und **111**. Während eine *N*-Methylierung der in *para*-Position methoxylierten Verbindung (**110**) keine signifikante Veränderung der antagonistischen Wirksamkeit im Vergleich zur unmethylierten Verbindung **87** bewirkt, resultiert aus der *N*-Methylierung der in *para*-Stellung trifluormethylierten Verbindung (**111**) ein vollständiger Wirkverlust (Kap. 5.3.6). Auch hier kann ohne Synthese und Testung weiterer *N*-alkylierter Verbindungen keine gesicherte Aussage über die Struktur-Wirkungs-Beziehungen getroffen werden. Leider waren weder durch die beschriebenen noch durch andere verwendete Methoden weitere

*N*-methylierte oder mit anderen Alkylresten substituierte Verbindungen synthetisch zugänglich.

Des Weiteren soll der Einfluss einer Substitution der Aromaten in 4- bzw. 5-Position des Imidazolins betrachtet werden (Kap. 5.3.2). Auffällig ist zunächst, dass eine Substitution in *para*-Position ausnahmslos zu einer deutlichen Wirkverringering im Vergleich zu Verbindung **77** (IC<sub>50</sub>: 0.36 μM) führt, die weitestgehend unabhängig von der Lipophilie der Substituenten scheint. Die Tatsache, dass die höchste Aktivitätseinbuße bei den voluminösesten Substituenten (Methoxy- bzw. Trifluormethyl-) zu verzeichnen ist, läßt eine sterische Hinderung der Bindung an den P2X<sub>7</sub>-Rezeptor vermuten.

Bei *ortho*- bzw. *meta*-Substitution ist keine prinzipielle Verringerung der antagonistischen Aktivität erkennbar, so dass der Einfluss der sterischen Eigenschaften hier geringer scheint. Vielmehr ist eine Abhängigkeit der Wirkung von der Lipophilie wahrscheinlich. Trifluormethylierung (**89**, **90**), Chlorierung (**78**, **79**) und Fluorierung (**81**, **82**), die alle mit einer Erhöhung der Lipophilie einhergehen, führen sowohl in *ortho*- als auch in *meta*-Position zu einer Abnahme der Aktivität, die bei *ortho*-Substitution mit Ausnahme der trifluormethylierten Verbindung ausgeprägter ist. Methoxylierung hingegen resultiert in beiden Stellungen (**85**, **86**) in einer der Verbindung **77** vergleichbaren Aktivität (IC<sub>50</sub>: 0.35 μM bzw. 0.24 μM). Die hydroxylierten und damit am geringsten lipophilen Verbindungen zeigen in Abhängigkeit der Position der Substituenten ebenfalls mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0.41 μM eine der Verbindung **77** vergleichbare Potenz (*ortho*-Stellung, **112**) bzw. sogar eine deutliche Wirksteigerung auf einen IC<sub>50</sub>-Wert von 0.07 μM bei Substitution in *meta*-Position (**113**).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die antagonistische Aktivität durch Substitution in der Reihenfolge *para* < *ortho* < *meta* ansteigt. Ebenso kann eine Abhängigkeit der Aktivität von der Lipophilie der Substituenten erkannt werden. Mit geringeren lipophilen Eigenschaften steigt die Wirksamkeit der Verbindungen. Die Tatsache, dass diese Abhängigkeit bei *meta*-Substitution deutlich ausgeprägter als bei *ortho*-Substitution und praktisch nicht mehr vorhanden bei *para*-Substitution ist, läßt

vermuten, dass der Einfluss einer sterischen Hinderung in der Reihenfolge *meta* < *ortho* < *para* zunimmt.

Von besonderem Interesse wäre daher die Synthese weiterer hydrophiler *meta*-substituierter Verbindungen, um die Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu bestätigen und zu erweitern.

Ein Einfluss der Konfiguration auf die antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor konnte nicht festgestellt werden (Kap. 5.3.2).

## **6 Zytotoxizitätsuntersuchungen**



## 6 Zytotoxizitätsuntersuchungen

Neben der Untersuchung der antagonistischen Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor in Abhängigkeit der Strukturvariationen wurde auch deren Einfluss auf die zytotoxischen Eigenschaften untersucht, da die Kenntnis dieser von Relevanz für die Beurteilung pharmakologischer Untersuchungen der Verbindungen ist. Zur Ableitung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen wurde auch hier der Einfluss der verschiedenen Substituenten der Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins und des Austausches des 2-Phenethylrestes sowie der Einfluss der Konfiguration untersucht.

Für einen Einsatz bei Schmerz- und Entzündungsprozessen sowie bei neurodegenerativen Erkrankungen wären Verbindungen mit ausgeprägter antagonistischer Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor bei gleichzeitig möglichst geringer zytotoxischer Eigenschaften von besonderem Interesse. Um also einen Einfluss der P2X<sub>7</sub>-Aktivität der Substanzen auszuschließen, wurde für die Zytotoxizitätsuntersuchungen eine Zelllinie ohne natürliches Vorkommen von P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren gewählt. Daher wurden alle synthetisierten Verbindungen auf ihre *in vitro* Zytotoxizität an der MDA-MB 231 Zelllinie getestet.

### 6.1 Untersuchung der *in vitro* Zytotoxizität

Die MDA-MB 231 Zelllinie ist eine humane, hormonunabhängige (Engel & Young, 1978) Mammakarzinomzelllinie, die 1974 aus einem malignen Pleuraerguss einer 51-jährigen Brustkrebspatientin isoliert wurde (Cailleau, Young, Olivé, & Reeves, 1974). Zuvor wurde die Patientin über mehrere Jahre mit 5-Fluorouracil und anschließend mit einer Kombinationstherapie aus Cyclophosphamid, Adriamycin und Methotrexat behandelt.

Für die Testung bedient man sich eines kolorimetrischen Verfahrens, das 1986 von Gillies, et al. erstmals beschrieben wurde (Gillies, Didier, & Denton, 1986). Hierbei werden die Zellen in einer Dichte von 750 Zellen/Well in 96-Loch-Mikrotiterplatten ausgesät und 72 Stunden bei 37°C in wasserdampfgesättigter Atmosphäre bei 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Nach der anschließenden Substanzzugabe werden die Zellen weitere 72 Stunden inkubiert. Das Medium wird von der Platte entfernt und die lebenden Zellen

durch Zugabe einer 1%-igen Glutardialdehyd-Lösung in PBS fixiert. Die DNA-assoziierten Nukleoproteine der Zellen werden mittels einer Kristallviolett-Farbstofflösung angefärbt, überschüssiger anhaftender Farbstoff wird durch gründliches Waschen der Platten entfernt. Anschließend kann der Farbstoff mit 70%-igem Ethanol extrahiert und bei 590 nm photometrisch vermessen werden. Die gemessene Absorption korreliert dabei mit der Zellmenge (Kap. 9.3.2).

Wie auch bei der Ermittlung der antagonistischen Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor (Kap. 5.1) wird aus den erhaltenen Absorptionswerten ein T/C<sub>corr</sub>-Wert nach folgender Formel berechnet:

$$T/C_{corr} = \frac{(T^* - C_0)}{(C^* - C_0)} * 100 \quad (\%)$$

T\*: Absorption der behandelten Kulturen

C\*: Absorption der Kontrollkulturen (mit reinem Lösungsmittel behandelte Kulturen)

C<sub>0</sub>: Absorption der Ausgangszellmenge (zum Zeitpunkt der Substanzzugabe)

Anschließend kann aus den T/C<sub>corr</sub>-Werten der IC<sub>50</sub>-Wert bestimmt werden. Der IC<sub>50</sub>-Wert entspricht derjenigen Wirkstoffkonzentration, bei der eine 50%-ige Wachstumshemmung vorliegt.

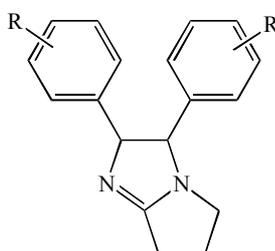
Die berechneten T/C<sub>corr</sub>-Werte werden gegen den Logarithmus der Substanzkonzentration in einem Diagramm aufgetragen und mittels Boltzmann-Funktion (Origin Pro 8.0) eine sigmoide Kurve ermittelt. Die einem T/C<sub>corr</sub>-Wert von 50 % entsprechende Substanzkonzentration kann aus der erhaltenen Grafik abgelesen werden (Kap. 5.1).

Zur Beurteilung des Einflusses der Strukturvariationen auf die Zytotoxizität wird die Verbindung **77**, für die ein IC<sub>50</sub>-Wert von 15.06 µM ermittelt wurde, als Referenzsubstanz verwendet. Darüberhinaus wird zur besseren Einschätzung der zytotoxischen Eigenschaften Cisplatin mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 4.0 µM als Vergleich herangezogen.

## 6.2 Testergebnisse

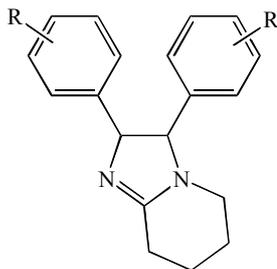
### 6.2.1 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine

Zunächst wurden die durch Zyklisierung hergestellten 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine (Kap. 2.5.1) auf ihre Zytotoxizität untersucht. Die IC<sub>50</sub>-Werte können den Tab. 6.1 und 6.2 entnommen werden.



Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
52	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
53	2-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	27.49
54	3-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	17.85 (± 1.92)
55	4-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	18.76 (± 3.25)
56	2-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
57	3-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
58	4-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
59	2-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
60	3-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
61	4-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
62	2-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	31.67
63	3-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	20.77 (± 4.65)
64	4-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	11.48 (± 2.32)

Tab. 6.1 IC<sub>50</sub>-Werte der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazole

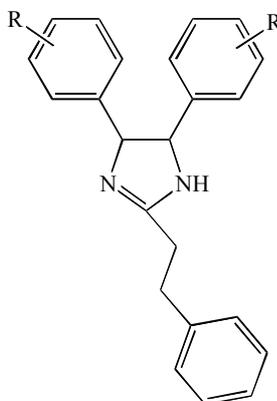


Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
65	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
66	2-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	24.30 (± 3.84)
67	3-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	14.18 (± 0.98)
68	4-Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	13.58 (± 0.91)
69	2-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
70	3-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
71	4-F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
72	2-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
73	4-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	> 50
74	2-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	18.81 (± 5.05)
75	3-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	17.40 (± 1.19)
76	4-CF <sub>3</sub>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )/(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	11.51 (± 3.71)

Tab. 6.2 IC<sub>50</sub>-Werte der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridine

Die zyklisch substituierten Verbindungen weisen eine deutliche Abnahme der Zytotoxizität im Vergleich zu Verbindung 77 auf. Die an den Aromaten unsubstituierten Verbindungen 52 und 65 sowie die methoxylierten (59–61 und 72–73) und fluorierten Verbindungen (56–58 und 69–71) zeigen sogar einen in den getesteten Konzentrationen vollständigen Verlust der zytotoxischen Eigenschaften. Lediglich die sich durch gesteigerte Lipophilie auszeichnenden chlorierten bzw. trifluormethylierten Substanzen zeichnen sich durch Verbindung 77 ähnelnde antiproliferative Eigenschaften aus. Substitution in *ortho*-Position scheint allgemein einen geringeren Einfluss auf die zellwachstumshemmenden Eigenschaften auszuüben.

## 6.2.2 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline



Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
77	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	15.06 (± 5.23)
78	2-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	3.74 (± 1.15)
79	3-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.64 (± 0.83)
80	4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.40 (± 0.85)
81	2-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	11.54 (± 2.42)
82	3-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	6.92 (± 0.33)
83	4-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	6.18 (± 0.14)
84	4-F	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )	7.88 (± 0.97)
85	2-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	8.13 (± 0.72)
86	3-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	14.63 (± 0.20)
87	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	11.50 (± 1.18)
88	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )	7.97 (± 1.24)
89	2-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	5.30 (± 0.69)
90	3-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.07 (± 0.28)
91	4-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.71 (± 0.40)
92	2-Cl, 4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.92 (± 0.29)
112	2-OH	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	14.31 (± 2.21)
113	3-OH	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	> 50
114	4-OH	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	> 50

Tab. 6.3 IC<sub>50</sub>-Werte der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline

Zur genaueren Untersuchung des Einflusses der Substituenten auf die zytotoxischen Eigenschaften wurden die sich von Verbindung **77** lediglich durch Substitution an den Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins unterscheidenden Verbindungen **78–92** und **112–114** getestet. Die  $IC_{50}$ -Werte lassen sich aus Tab. 6.3 ablesen.

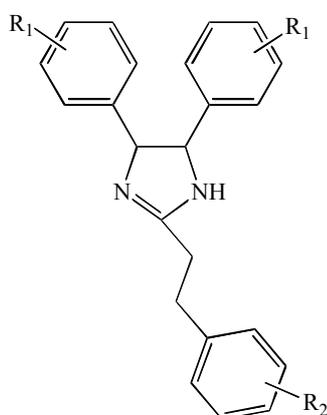
Das Einführen von Substituenten in die Aromaten führt fast ausnahmslos zu einer signifikanten Erhöhung der zytotoxischen Eigenschaften. Lediglich bei den sich durch deutlich verringerte Lipophilie auszeichnenden hydroxylierten Verbindungen (**112–114**) ist eine geringere Hemmung des Zellwachstums zu verzeichnen; bei den *meta*- bzw. *para*-substituierten Verbindungen bis hin zu einem in den getesteten Konzentrationen vollständigen Verlust der zytotoxischen Eigenschaften. Bei den übrigen Verbindungen ist eine Erhöhung der antiproliferativen Eigenschaften in Abhängigkeit der Lipophilie der Substituenten zu erkennen. So zeigen die der Verbindung **77** in der Lipophilie ähnlichen methoxylierten Verbindungen (**85–88**) auch eine ähnlich ausgeprägte Zytotoxizität, während durch Fluorierung (**81–84**), Chlorierung (**78–80**) und Trifluormethylierung (**89–91**) eine deutliche Steigerung der zytotoxischen Eigenschaften resultiert. Auch der bereits bei den zyklisch substituierten Verbindungen (Kap. 6.2.1) beobachtete geringere Einfluss einer *ortho*-Substitution ist bei den 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazolinen deutlich erkennbar. Lediglich bei Methoxylierung und Hydroxylierung, also den weniger lipophilen Verbindungen scheint sich dieser Einfluss umzukehren.

Das Einführen eines weiteren Chloridsubstituenten in eine bereits chlorierte Verbindung (**92**) zeigt die erwartete weitere Erhöhung der Zytotoxizität.

Die Veränderung der Konfiguration von  $(4R,5S)/(4S,5R)$  zu  $(4R,5R)/(4S,5S)$  bringt keine nennenswerte Veränderung der zytotoxischen Eigenschaften der getesteten Verbindungen; dies wurde exemplarisch an der 4-fluorierten (**84**) und der 4-methoxylierten (**88**) Verbindung durchgeführt.

### 6.2.3 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline

Durch Einführung von Substituenten in den 2-Phenethylrest sollten die Eigenschaften der bislang synthetisierten und getesteten Verbindungen weiter modifiziert werden. Hierzu wurde eine Methoxylierung in *para*-Position bzw. eine Chlorierung in *ortho*-Position durchgeführt. Die daraus resultierenden IC<sub>50</sub>-Werte können Tab. 6.4 entnommen werden.



Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
93	H	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	12.82 (± 0.10)
94	2-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	4.42 (± 0.13)
95	3-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.76 (± 0.32)
96	4-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	2.54 (± 0.74)
97	2-F	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	10.99 (± 1.18)
98	3-F	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	6.71 (± 0.08)
99	4-F	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	4.98 (± 1.42)
100	2-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	13.23 (± 1.33)
101	4-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	12.46 (± 0.07)
102	2-CF <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	5.03 (± 0.05)
103	4-CF <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.60 (± 0.65)
104	H	2-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	8.64 (± 0.41)
105	4-Cl	2-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.86 (± 0.15)
106	2-Cl, 4-Cl	2-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	3.71 (± 0.40)

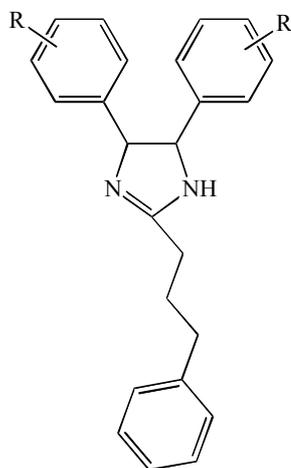
Tab. 6.4 IC<sub>50</sub>-Werte der 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline

Die Strukturvariation durch Methoxylierung in *para*-Position des 2-Phenethylrestes hat keine Auswirkung auf die Zytotoxizität der getesteten Verbindungen. Sie weisen in Abhängigkeit ihrer Substituenten an den Aromaten in 4- bzw. 5-Position des Imidazolins vergleichbare zytotoxische Eigenschaften wie die unsubstituierten Verbindungen **77–91** (Kap. 6.2.2) auf.

Die Chlorierung in *ortho*-Position hingegen bewirkt bei der in den beiden übrigen Aromaten unsubstituierten Verbindung **104** eine Verringerung des  $IC_{50}$ -Wertes von 15.06  $\mu\text{M}$  (**77**) auf 8.64  $\mu\text{M}$  (**104**). Bei der 4-chlorierten Verbindung ist lediglich eine geringe Zytotoxizitätserhöhung von einem  $IC_{50}$ -Wert von 2.40  $\mu\text{M}$  (**80**) auf 1.86  $\mu\text{M}$  (**105**) zu beobachten, während bei der dichlorierten Verbindung sogar eine – wenn auch geringe – Einbuße der zytotoxischen Eigenschaften von einem  $IC_{50}$ -Wert von 1.92  $\mu\text{M}$  (**92**) auf 3.71  $\mu\text{M}$  (**106**) zu verzeichnen ist.

#### 6.2.4 4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolin

Da die bisherigen Untersuchungen eine deutliche Erhöhung der Zytotoxizität in Abhängigkeit von der Lipophilie vermuten lassen, sollte durch Austausch des 2-Phenethylrestes durch einen 2-Phenylpropylrest und einer damit einhergehenden Erhöhung der Lipophilie dessen Einfluss auf die zytotoxischen Eigenschaften untersucht werden. Synthetisiert und getestet wurde aufgrund der bisherigen Ergebnisse eine in 4-Position der Aromaten chlorierte Verbindung (**107**) (Tab. 6.5).



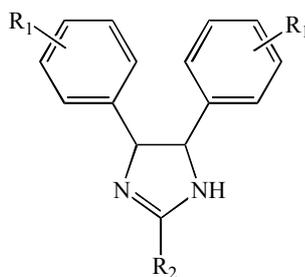
Verbindung	R	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
107	4-Cl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	1.57 (± 0.13)

Tab. 6.5 IC<sub>50</sub>-Wert des 4,5-Diaryl-2-phenylpropyl-2-imidazolins

Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1.57 μM ist eine geringe Erhöhung der Zytotoxizität im Vergleich zur entsprechenden 2-phenethylierten Verbindung **80** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 2.40 μM zu beobachten (Kap. 6.2.2).

### 6.2.5 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline

Durch Verzicht auf den aromatischen Rest in 2-Position des Imidazolins und Ersatz durch eine aliphatische Gruppe sollte die Notwendigkeit des aromatischen Systems für die zytotoxische Wirkung untersucht werden. Synthetisiert wurden dazu 2-Propyl- bzw. 2-Ethylverbindungen, die aufgrund der bisherigen Untersuchungen erneut eine Chlorierung im aromatischen System aufweisen (Tab. 6.6).



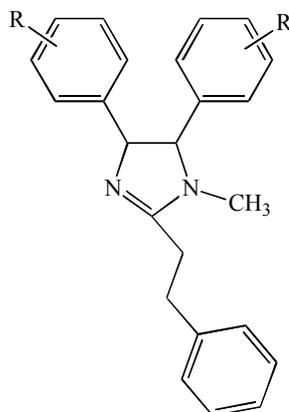
Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Konfiguration	IC <sub>50</sub> [μM]
108	4-Cl	Propyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	5.37 (± 0.67)
109	2-Cl, 4-Cl	Ethyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	4.25 (± 0.74)

Tab. 6.6 IC<sub>50</sub>-Werte der 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline

Tatsächlich kann wie erwartet eine Einbuße der zytotoxischen Eigenschaften beobachtet werden. Der Ersatz des 2-Phenethyl- durch einen Propylrest bewirkt eine Veränderung des  $IC_{50}$ -Wertes der entsprechenden 2-phenethylsubstituierten Verbindung **80** von 2.40  $\mu\text{M}$  auf 5.37  $\mu\text{M}$  (**108**), während aus dem Austausch durch einen Ethylrest eine Abschwächung des  $IC_{50}$ -Wertes der entsprechend substituierten Verbindung **92** von 1.92  $\mu\text{M}$  auf 4.25  $\mu\text{M}$  (**109**) resultiert (Kap. 6.2.2).

### 6.2.6 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

Als letzte Strukturvariation sollte der Einfluss einer *N*-Methylierung untersucht werden. Für diesen Zweck wurden die beiden *N*-methylierten Verbindungen **110** und **111** hinsichtlich ihrer zytotoxischen Eigenschaften untersucht. Tab. 6.7 gibt Auskunft über die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte.



Verbindung	R	Konfiguration	$IC_{50}$ [ $\mu\text{M}$ ]
<b>110</b>	4-OCH <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>17.10 (± 0.64)</b>
<b>111</b>	4-CF <sub>3</sub>	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	<b>3.17 (± 0.49)</b>

Tab. 6.7  $IC_{50}$ -Werte der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

Bei beiden Verbindungen ist eine geringe Abschwächung der zytotoxischen Eigenschaften zu beobachten. Während bei der 4-methoxylierten Verbindung eine Erhöhung des  $IC_{50}$ -Wertes der entsprechenden unmethylierten Verbindung **87** von

11.50  $\mu\text{M}$  auf 17.10  $\mu\text{M}$  (**110**) erfolgt, resultiert bei der deutlich zytotoxischer wirksamen 4-trifluormethylierten Verbindung allerdings eine lediglich marginale Verringerung der wachstumshemmenden Eigenschaften von einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 2.71  $\mu\text{M}$  der unmethylierten Verbindung **91** auf 3.17  $\mu\text{M}$  (**111**) (Kap. 6.2.2).

Leider waren auf verschiedenen Synthesewegen weder die aufgrund der besseren Vergleichbarkeit den tatsächlich synthetisierten Verbindungen (**110-111**) vorzuziehenden chlorierten Verbindungen zugänglich, noch war der Versuch der Erweiterung der homologen Reihe durch Ethylierung oder Propylierung erfolgreich.

### 6.3 Diskussion der Testergebnisse

Zur Beurteilung der Relevanz verschiedener funktioneller Gruppen bezüglich der Zytotoxizität wurden für alle synthetisierten Verbindungen  $\text{IC}_{50}$ -Werte an der Mammakarzinomzelllinie MDA-MB 231 ermittelt. Für die als Leitstruktur fungierende Verbindung **77** konnte ein  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 15.06  $\mu\text{M}$  ermittelt werden (Kap. 6.1). Als Referenzsubstanz diente Cisplatin mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 4.0  $\mu\text{M}$ .

Ebenso wie bei der antagonistischen Aktivität am  $\text{P2X}_7$ -Rezeptor lässt sich die zytotoxische Wirkung in Korrelation mit den sterischen sowie hydrophoben Eigenschaften bringen, was auf das Vorliegen eines spezifischen Wirkmechanismus schließen lässt. Da im Gegensatz zur Wirkung am membranständigen  $\text{P2X}_7$ -Rezeptor zytotoxische Wirksamkeit vermutlich hauptsächlich auf intrazellulärer Ebene vermittelt wird, ist diese stark abhängig von der intrazellulären Anreicherung der jeweiligen Verbindung. Zumindest eine passive Zellaufnahme betreffend, lässt sich somit der Lipophilie der entsprechenden Substanzen eine weitere entscheidende Rolle zuordnen. Der berechnete Einfluss einzelner Substituenten auf die Lipophilie kann Tab. 5.8 (S. 95) entnommen werden.

Tatsächlich ist eine deutliche Abhängigkeit der zytotoxischen Wirksamkeit von der Lipophilie erkennbar. Die Variation des 2-Phenethylrestes zu den deutlich geringer lipophilen zyklischen 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*a*]imidazolen (**52-64**) und 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridinen (**65-76**) führte zu

einer deutlichen Verringerung der Zytotoxizität. Lediglich den sich durch gesteigerte Hydrophobie auszeichnenden chlorierten bzw. trifluormethylierten Verbindungen konnten IC<sub>50</sub>-Werte im untersuchten Konzentrationsbereich zugeordnet werden. Substitution in *ortho*-Position führte dabei ausnahmslos zu geringer zellwachstumshemmenden Verbindungen (Kap. 6.2.1).

Ein Austausch der Substituenten unter Beibehaltung des 2-Phenethylrestes bestätigt die bisherigen Ergebnisse. Durch Substitution der Aromaten in 4- bzw. 5-Position des Imidazolins resultieren mit Ausnahme der hydroxylierten Verbindungen Substanzen, die stärker ausgeprägte zytotoxische Eigenschaften aufweisen (**78-92**). Diese können entsprechend ihrer log P Werte (Kap. 5.4) bezüglich ihrer zellwachstumshemmenden Eigenschaften in eine Reihenfolge gebracht werden (-OH < -OCH<sub>3</sub> ≅ -H < -F < -Cl ≅ -CF<sub>3</sub>). Analog den zyklischen Verbindungen lässt sich auch hier eine geringere Zytotoxizität der in *ortho*-Position substituierten Verbindungen erkennen. Ausnahmen bilden hier jedoch die in ihrer Lipophilie gegenüber der Leitsubstanz **77** geringeren methoxylierten sowie hydroxylierten Verbindungen. Eine vierfache Chlorierung und die damit einhergehende weitere Erhöhung der Lipophilie (**92**) liefert mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1.92 μM wie erwartet die am stärksten zytotoxische Verbindung dieser Substanzklasse (Kap. 6.2.2).

Die Veränderung der Konfiguration von (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-Verbindungen zu (*4R,5R*)/(*4S,5S*)-Verbindungen, die exemplarisch an der 4-fluorierten (**83** => **84**) sowie der 4-methoxylierten Verbindung (**87** => **88**) durchgeführt wurde, lieferte keine signifikante Veränderung der zytotoxischen Eigenschaften (Kap. 6.2.2), so dass bei der Darstellung zukünftiger Verbindungen auf eine Änderung der Konfiguration verzichtet wurde.

Weitere Variationen des 2-Phenethylrestes sollten Aufschluß geben, inwieweit sterische Eigenschaften oder doch tatsächlich hauptsächlich lipophile Eigenschaften Relevanz für die zytotoxische Wirksamkeit haben. Dazu wurden einerseits durch *para*-Methoxylierung des Aromaten Verbindungen synthetisiert (**93-103**), die zwar deutliche sterische Unterschiede, allerdings lediglich gering ausgeprägte Differenz in der Lipophilie zu den unsubstituierten Verbindungen aufweisen, andererseits durch *ortho*-Chlorierung Substanzen dargestellt (**104-106**), die neben der sterischen Veränderung

sich ebenso durch Erhöhung der Lipophilie auszeichnen. Tatsächlich konnte durch Methoxylierung keine signifikante Veränderung der Zytotoxizität hervorgerufen werden; Chlorierung hingegen resultierte in einer Verringerung des  $IC_{50}$ -Wertes von 15.06  $\mu\text{M}$  der Leitsubstanz **77** auf 8.64  $\mu\text{M}$  der entsprechenden chlorierten Verbindung **104**. Ebenso erniedrigte sich der  $IC_{50}$ -Wert der 4-chlorierten Verbindung **80** von 2.40  $\mu\text{M}$  auf 1.86  $\mu\text{M}$  bei der entsprechenden 2-(2-chlorphenethyl)-substituierten Verbindung **105** (Kap. 6.2.3). Aufgrund dieser Ergebnisse kann vermutet werden, dass der Einfluss der sterischen Eigenschaften deutlich geringer zu bewerten ist als die Relevanz der Lipophilie. Lediglich die 2-(2-chlorphenethyl)substituierte 2,4-dichlorierte Verbindung **106** zeigt nicht den erwarteten Anstieg der Zytotoxizität gegenüber der 2-phenethylsubstituierten Verbindung **92**, sondern sogar einen Anstieg des  $IC_{50}$ -Wertes von 1.92  $\mu\text{M}$  auf 3.71  $\mu\text{M}$ . Durch Zellaufnahmestudien könnte geklärt werden, ob die weitere Erhöhung der Lipophilie von Verbindung **92** zu **106** in einer erhöhten intrazellulären Konzentration resultiert oder ob bereits die Lipophilie von Substanz **92** eine annähernd gleiche Zellaufnahme gewährleistet und somit durch weitere Erhöhung der Lipophilie keine höher ausgeprägten zellwachstumshemmenden Eigenschaften zu erreichen sind.

Die weiteren Veränderungen des Substituenten in 2-Position des Imidazolins bestätigen die Vermutung, dass sterische Eigenschaften zumindest in dieser Position von untergeordneter Bedeutung zu sein scheinen. Die Verlängerung des Phenethylrestes durch eine Methylengruppe zu einem Phenylpropylrest erhöht die Zytotoxizität der 4-chlorierten Verbindung **80** von einem  $IC_{50}$ -Wert von 2.40  $\mu\text{M}$  auf 1.57  $\mu\text{M}$  (**107**) (Kap. 6.2.4). Ebenso lassen sich durch Austausch des 2-Phenethylrestes durch aliphatische Gruppen die zytotoxischen Eigenschaften verringern; wenn auch weniger ausgeprägt als die Berechnung der entsprechenden log P Werte erwarten lassen würde. So lässt sich der  $IC_{50}$ -Wert der 4-chlorierten Verbindung **80** durch Austausch des 2-Phenethylrestes mit einem Propylrest (**108**) von 2.40  $\mu\text{M}$  auf 5.37  $\mu\text{M}$  erhöhen, während der  $IC_{50}$ -Wert der 2,4-dichlorierten Verbindung **92** nach Ersatz des 2-Phenethylrestes durch einen Ethylrest (**109**) von 1.92  $\mu\text{M}$  auf 4.25  $\mu\text{M}$  steigt (Kap. 6.2.5).

Als weitere Variante zur Erhöhung der Lipophilie und Veränderung der sterischen Eigenschaften sollten *N*-alkylierte Verbindungen synthetisiert werden. Bei den

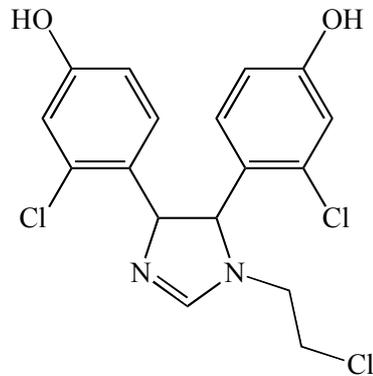
hergestellten *N*-methylierten Verbindungen **110** und **111** lassen sich geringe Einbußen der zytotoxischen Eigenschaften im Vergleich zu den unmethylierten Verbindungen von 11.50  $\mu\text{M}$  (**87**) auf 17.10  $\mu\text{M}$  (**110**) bei der 4-methoxylierten Verbindung sowie von 2.71  $\mu\text{M}$  (**91**) auf 3.17  $\mu\text{M}$  (**111**) bei der 4-trifluormethylierten Verbindung erkennen (Kap. 6.2.6). Da eine Erhöhung des log P Wertes allerdings erst ab einer Ethylierung erfolgt, ist diese geringe Erniedrigung der zytotoxischen Eigenschaften sogar zu erwarten. Ob der erwartete Anstieg der Zytotoxizität bei Erweiterung der homologen Reihe erfolgt, konnte leider nicht untersucht werden, da abgesehen von den beiden synthetisierten *N*-methylierten Verbindungen **110** und **111** trotz vielfältiger Versuche sowie verschiedener Synthesewege keine weiteren *N*-alkylierten Substanzen zugänglich waren. Zumindest kann mit Sicherheit gesagt werden, dass eine freie NH-Gruppe keine notwendige Voraussetzung für die zytotoxischen Eigenschaften der getesteten Verbindungen darstellt.

Zusammenfassend kann die Lipophilie der getesteten Verbindungen als wichtigster Parameter für die zytotoxische Aktivität angesehen werden. Ob die durch erhöhte Lipophilie hervorgerufenen stärker ausgeprägten zytotoxischen Eigenschaften lediglich durch die damit verbundene bessere Zellaufnahme zu erklären ist, kann leider nicht beantwortet werden, da Zellaufnahmestudien nicht durchgeführt wurden.

Die Tatsache jedoch, dass den hydrophoben Eigenschaften der Aromaten in 4- und 5-Position scheinbar eine größere Bedeutung als dem Substituenten in 2-Position des Imidazolins beizumessen ist, sowie der geringere Einfluss eines *ortho*-Substituenten gegenüber *meta*- bzw. *para*-Substitution, der sich sowohl bei den ausgeprägten antiproliferativen Effekten der im Vergleich zur Leitsubstanz **77** stärker wirksamen Verbindungen als auch – wenn auch in umgekehrter Wirkung – bei den durch deutlich geringere Zytotoxizität auffallenden hydrophileren Verbindungen (beispielsweise den hydroxylierten Substanzen) bemerkbar macht, stützen die Vermutung eines spezifischen Wirkmechanismus oder Aufnahmeweges.

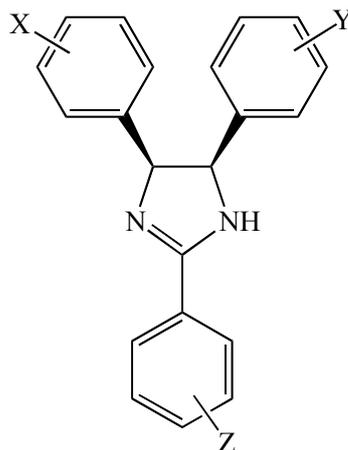
Tatsächlich sind für Verbindungen mit 4,5-Diaryl-2-imidazolinpartialstruktur verschiedene Wirkmechanismen der antiproliferativen Aktivität bekannt. Beschrieben sind unter anderem zytotoxische Wirkungen durch DNA-Alkylierung (Mircheva, 1988) (Parker, et al., 2005) (Abb. 6.1). Diese kann allerdings für die in dieser Arbeit synthetisierten und getesteten Verbindungen ausgeschlossen werden, da keine der

Substanzklassen über chemische Partialstrukturen verfügt, die eine derartige Alkylierungsreaktion zuließen.



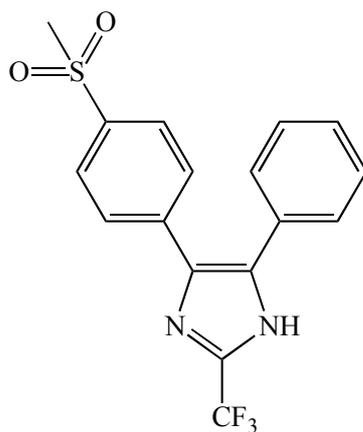
**Abb. 6.1** 4,5-Diaryl-2-imidazolin mit DNA-alkylierender Wirkung

Auch wird für chemisch ähnliche Verbindungen (Abb. 6.2) ein Einfluss auf das Tumorsuppressorprotein p53 diskutiert. Ihm obliegt eine zentrale Bedeutung in der Kontrolle des Zellzyklus. So wird einerseits durch eine p53-vermittelte gesteigerte p21-Expression ein Block in der G<sub>1</sub>-Phase induziert, während ebenso durch Verhinderung der Aktivierung des B-Cyclin/CDK1-Komplexes ein Übertritt von G<sub>2</sub>-Phase zu Mitose gehemmt wird. Beide Funktionen resultieren in einem irreversiblen Teilungsstopp der Zelle. Ein wichtiger negativer Regulator des p53 ist das Protein MDM-2 (murine double minute), das bei zahlreichen Tumoren in erhöhten Konzentrationen vorzufinden ist. Verbindungen mit 4,5-Diaryl-2-imidazolinpartialstruktur sind als Inhibitoren des MDM-2 beschrieben (Vassilev, et al., 2004) (Liu, Vu, & Kong, 2003) (Abb. 6.2). Durch Bindung an die p53-Bindungsstelle des MDM-2 wird deren Assoziation und somit die negative Regulation des p53 durch MDM-2 verhindert. Auch dieser Wirkmechanismus kann allerdings für die hier beschriebenen Substanzen nicht postuliert werden, da diese Interaktion von MDM-2 und p53 lediglich für den Wild Typ wt p53 beschrieben ist, nicht jedoch für den mutanten Typ p53, der von MDA-MB 231 Zellen exprimiert wird.



**Abb. 6.2** 2,4,5-Triaryl-2-imidazolin mit MDM-2-inhibitorischer Wirkung

Ebenso sind strukturell ähnliche Substanzen als Inhibitoren des Enzyms Cyclooxygenase (COX) beschrieben, das die Bildung zytoprotektiver Prostaglandine katalysiert (Barta, Stealey, Collins, & Weier, 1998) (Abb. 6.3). Da MDA-MB 231 Zellen eine Überexpression des Isoenzyms COX-2 aufweisen, würde bei den vorliegenden Verbindungen eine Hemmung diese Isoenzyms zu zytotoxischen Effekten, insbesondere zu einem Zellzyklusarrest in der G<sub>2</sub>-Phase führen. Untersuchungen dieser Art sind geplant.



**Abb. 6.3** 4,5-Diarylimidazol mit COX-inhibitorischer Wirkung

Somit kann bislang leider keine Aussage über den Wirkmechanismus der Zytotoxizität getroffen werden. Lediglich die Lipophilie kann – ob ursächlich für eine erhöhte intrazelluläre Konzentration durch passive Diffusion oder für einen spezifischen Wirkmechanismus - als wichtigstes Kriterium für die antiproliferativen Eigenschaften der Verbindungen definiert werden.



## **7 Diskussion**



## 7 Diskussion

Ausgehend von der Leitsubstanz **77** wurden weitere 4,5-Diaryl-2-imidazoline synthetisiert. Diese wurden auf antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor sowie auf ihre zytotoxischen Eigenschaften in Abhängigkeit ihrer Strukturvariationen untersucht.

Von besonderer Relevanz für die Zytotoxizität, die an MDA-MB 231 Zellen untersucht wurde, stellte sich die Lipophilie der Verbindungen heraus (Kap. 6.3). Während alle Verbindungen mit geringerer Lipophilie als die Leitsubstanz **77** auch signifikant abgeschwächte antiproliferative Effekte aufwiesen, ließ sich durch Verstärkung der hydrophoben Eigenschaften eine deutliche Steigerung der Zytotoxizität erzielen. Das Einführen von Chlor- bzw. Trifluormethylsubstituenten insbesondere in *meta*- sowie *para*-Position erwies sich daher als besonders effektiv. Verbindung **107** stellt die am stärksten wirksame Verbindung dar. Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1.57 µM ist sogar eine deutliche Steigerung der zytotoxischen Eigenschaften gegenüber der Referenz Cisplatin (IC<sub>50</sub>-Wert 4.0 µM) zu beobachten.

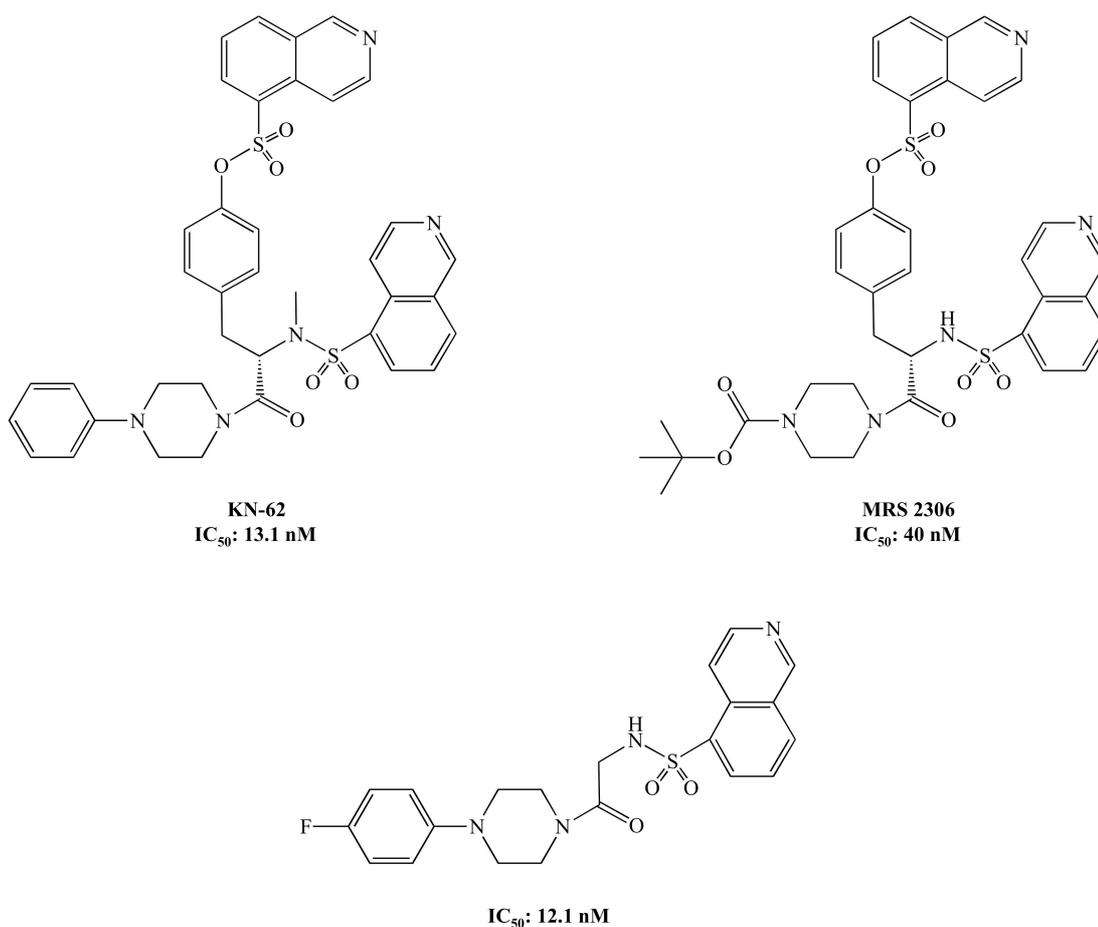
Obwohl die zytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen im Rahmen dieser Arbeit nicht im Vordergrund stehen sollten, resultieren durch die gewonnen Erkenntnisse bezüglich der Struktur-Wirkungs-Beziehungen Ausgangspunkte für die Entwicklung weiterer zytotoxischer Substanzen. Von Interesse sind ebenso Untersuchungen bezüglich des Wirkmechanismus sowie der zytotoxischen Eigenschaften an anderen Krebszelllinien. Durch die antagonistische Aktivität am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor einiger Verbindungen ist die Prüfung des Einflusses dieser Aktivität auf die zytotoxischen Eigenschaften von besonderem Interesse. Da P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren in Prostatakarzinomzellen gefunden werden konnten, ist eine Untersuchung der Zytotoxizität an diesen Zellen in Arbeit. Erwähnung finden sollte hier, dass die Expression von P2X<sub>7</sub>-Rezeptoren im umliegenden Gewebe teilweise deutlich vor der Ausprägung des Prostatakarzinoms entdeckt werden konnte. Hieraus ergibt sich die Hoffnung auf die Möglichkeit einer Frühdetektion von Prostatakarzinomen (Li, Zhou, Feng, Abdul-Karim, & Gorodeski, 2006) (Slater, Danieletto, Gidley-Baird, Teh, & Barden, 2004) (Slater, Lauer, Gidley-Baird, & Barden, 2003).

Auch für den Wirkmechanismus am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor scheint aufgrund der Ergebnisse die Lipophilie der Verbindungen eine entscheidende Rolle zu spielen (Kap. 5.4). Allerdings zeigten eher die Substanzen geringerer Lipophilie eine ausgeprägte antagonistische Wirksamkeit am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor. Auch scheinen die sterischen Eigenschaften einen deutlich größeren Einfluss auf die Wirksamkeit zu haben als bei den antiproliferativen Eigenschaften. So zeigen die zyklisch substituierten Diaryltetrahydropyrroloimidazole und Diarylhexahydroimidazopyridine trotz geringerer Lipophilie als Verbindung **77** keine in den getesteten Konzentrationen vorliegende Aktivität. Ebenso bewirkte Methoxylierung des 2-Phenethylrestes trotz ähnlich bleibender Lipophilie einen vollständigen Wirkverlust. Auch die Tatsache, dass die Position der Substituenten der Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolinrings von entscheidender Wichtigkeit für die antagonistische Aktivität waren, deutet auf einen Einfluss der sterischen Eigenschaften hin. Die Verbindungen **85**, **86** und **112** weisen IC<sub>50</sub>-Werte im Bereich der Referenzsubstanz **77** auf (IC<sub>50</sub>: 0.36 µM), während Verbindung **113** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0.07 µM (70 nM) die am stärksten wirksame und eine gegenüber der Referenzsubstanz **77** in der antagonistischen Aktivität deutlich verbesserte Verbindung darstellt.

Obwohl eine Einordnung in die in der Literatur beschriebenen antagonistisch wirksamen Verbindungen aufgrund der sehr unterschiedlichen Testsysteme schwierig erscheint (Kap. 5.2), soll diese trotzdem vorgenommen werden. Um die Vielfalt der gefundenen Testsysteme aufzuzeigen, sollen die Unterschiede kurz erwähnt werden: Verwendet wurden Zellen der Zelllinien HEK 293, THP-1, U373 MG, COS sowie 1321 N1 (Baraldi, Del Carmennunez, Morelli, Falzoni, Di Virgilio, & Romagnoli, 2003; Romagnoli, et al., 2007; Baxter, et al., 2003; Furber, et al., 2007; Alcaraz, et al., 2003; Stokes, et al., 2006; Honore, et al., 2006; Carroll, et al., 2007). Diese waren stabil mit humanem, murinem oder Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfiziert. Zum Einsatz kamen sowohl Fluoreszenzassays, die sich im verwendeten Fluoreszenzfarbstoff unterschieden (Yo-Pro-1, Ethidiumbromid) als auch Ca<sup>2+</sup>-assays, die ebenfalls Abweichungen im eingesetzten Farbstoff aufwiesen (Fluo-3, Fluo-4, Fura-2). Ebenso verwendet wurden Testsysteme, die auf der Freisetzung von IL-1β beruhen. Neben diesen Unterschieden in den eingesetzten Materialien, sind ebenso gravierende Abweichungen in den

Durchführungen vorhanden. Die aufgeführten  $IC_{50}$ -Werte dürfen daher lediglich als ungefähre Einschätzung betrachtet werden.

Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 13.1 nM wurde KN-62 (Abb. 7.1) als einer der ersten P2X<sub>7</sub>-Inhibitoren im nanomolekularen Bereich gefunden (Gargett & Wiley, 1997). Geringfügige Veränderungen von KN-62 lieferten Verbindungen ähnlicher Aktivität, exemplarisch ist Verbindung MRS 2306 mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 40 nM abgebildet (Abb. 7.1) (Baraldi, Del Carmennunez, Morelli, Falzoni, Di Virgilio, & Romagnoli, 2003). Mit einem Molekulargewicht von deutlich über 700 Da scheinen diese allerdings ungeeignet für den therapeutischen Einsatz. Durch weitere chemische Modifikationen von KN-62 entstanden kleinere Verbindungen, die ebenfalls hohe Wirksamkeit am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor aufwiesen (Romagnoli, et al., 2007).



**Abb. 7.1** KN-62 und ausgewählte von KN-62 abgeleitete Verbindungen

Abb. 7.1 zeigt die mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 12.1 nM potenteste Substanz mit einem Molekulargewicht von 428 Da. Das Vorhandensein einer Sulfonamidstruktur lässt jedoch bei allen diesen Verbindungen eine metabolische Instabilität vermuten.

Ein von AstraZeneca durchgeführtes high-throughput screening (HTS) lieferte die kleineren und weniger lipophilen Adamantan-Derivate. Als besonders effektiv stellte sich eine Chlorsubstitution in *ortho*-Position heraus, während sich die Amidstruktur als für die Wirkung essentieller Bestandteil erwies (Abb. 7.2). Hieraus resultierte ein  $pA_2$  von 8.1 (Baxter, et al., 2003). Weiterführende Untersuchungen resultierten in einer Reihe weiterer Adamantan-Derivate mit  $pA_2$ -Werten bis zu 8.8 (Abb. 7.2). Auffällig ist hierbei eine deutlich höhere Aktivität an humane  $P2X_7$ -Rezeptoren exprimierende Zellen im Vergleich zu Ratten- $P2X_7$ -Rezeptoren (Furber, et al., 2007).

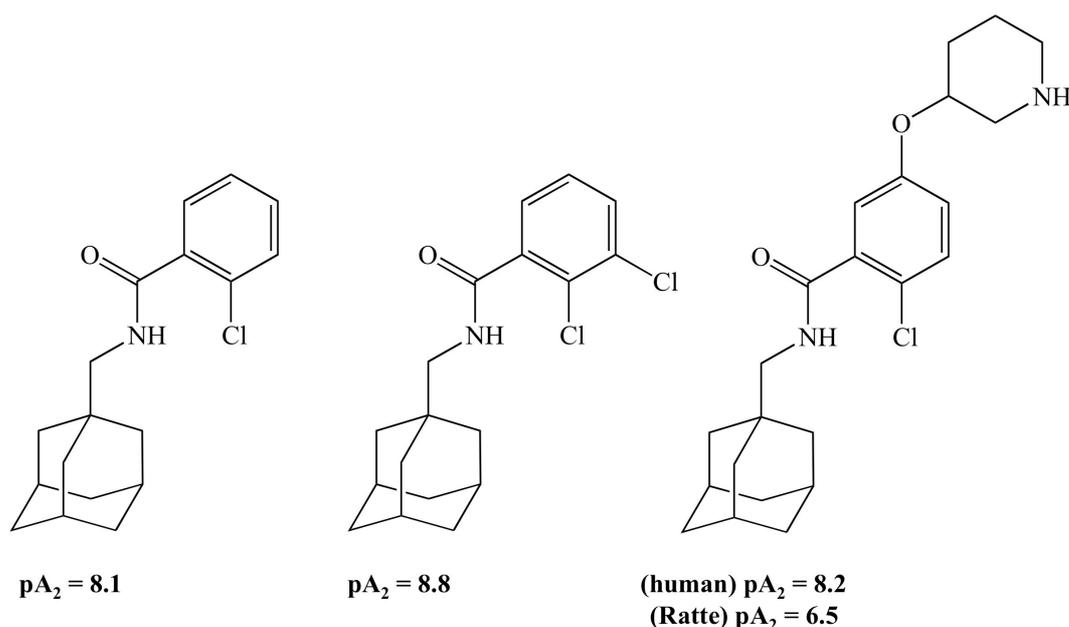
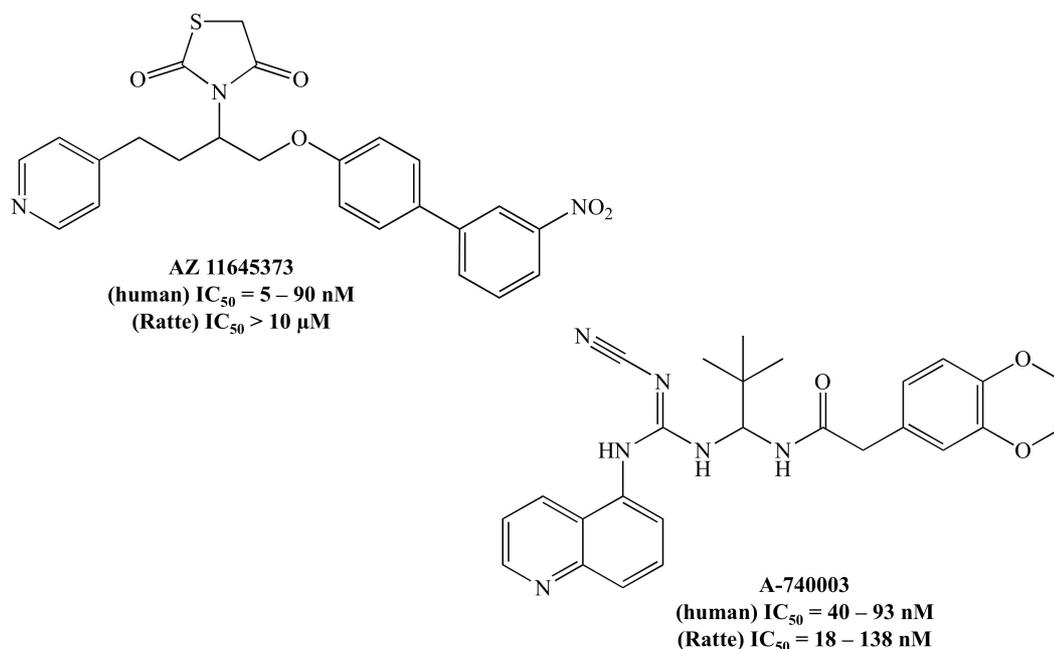


Abb. 7.2            Ausgewählte Adamantan-Derivate

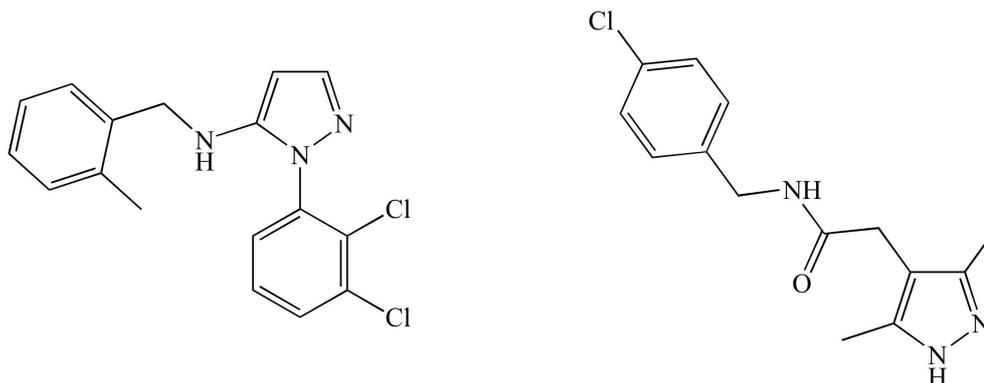
Ein weiteres HTS von AstraZeneca (Alcaraz, et al., 2003) führte zu AZ 11645373 (Abb. 7.3), einer Verbindung mit einem vom verwendeten Testsystem abhängigen  $IC_{50}$ -Wert zwischen 5 und 90 nM an menschlichem  $P2X_7$ -Rezeptor exprimierenden Zellen, während eine Inhibition am Ratten- $P2X_7$ -Rezeptor erst ab Konzentrationen um 10  $\mu$ M

stattfand (Stokes, et al., 2006). Als ebenfalls potenter Antagonist stellte sich das in den Abbott Laboratories synthetisierte A-740003 heraus (Abb. 7.3). Im  $\text{Ca}^{2+}$ -assay wurden  $\text{IC}_{50}$ -Werte zwischen 18 nM (Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor) und 40 nM (humaner P2X<sub>7</sub>-Rezeptor) gefunden, während Fluoreszenzassays  $\text{IC}_{50}$ -Werte von 138 nM bzw. 93 nM lieferten. An Ratten konnte des Weiteren ein antinozizeptiver Effekt beobachtet werden. Dieser war deutlich stärker ausgeprägt als ein ebenso beobachteter antiinflammatorischer Effekt (Honore, et al., 2006). Zu erklären ist dies durch eine deutlich größere Bedeutung von IL-1 $\beta$  bei inflammatorischen Prozessen chronischer Art, während die Untersuchungen auf akuten inflammatorischen Modellen basierten (Labasi, et al., 2002).



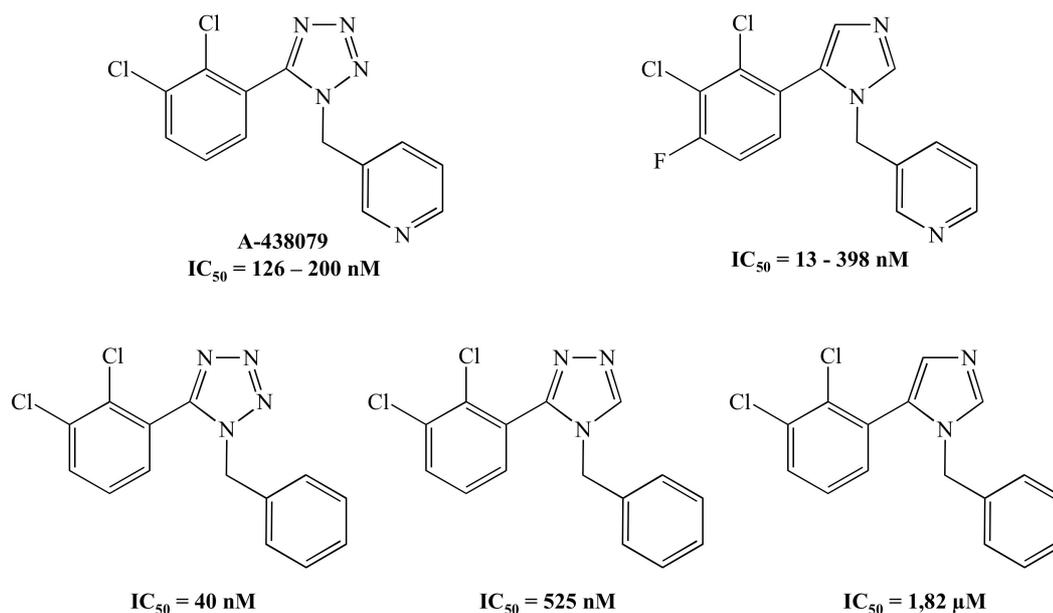
**Abb. 7.3** Ausgewählte Verbindungen mit inhibitorischer Wirkung am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor

Strukturen mit Pyrazolgrundstruktur (Abb. 7.4) wurden sowohl von Abbott Laboratories (AbbottLaboratories, 2007) als auch von Glaxo (GlaxoGroupLimited, 2007) bereits patentiert. Untersuchungen hinsichtlich der Wirksamkeit konnten jedoch leider nicht gefunden werden.



**Abb. 7.4** Ausgewählte Verbindungen mit Pyrazolgrundstruktur

Ebenfalls von Abbott Laboratories wurde eine Vielzahl von Tetrazolderivaten untersucht. Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 126 nM im  $Ca^{2+}$ -assay bzw. 200 nM im Fluoreszenzassay stellt A-438079 (Abb. 7.5) zwar nicht die wirksamste Verbindung dar, aufgrund einer im Gegensatz zu den übrigen synthetisierten Verbindungen erhöhten Wasserlöslichkeit ist es allerdings eine Substanz von großem Interesse. Eine in vivo Untersuchung in Ratten zeigte auch bei dieser Verbindung einen antinozizeptiven Effekt. Als wirksamste Substanz - zumindest im  $Ca^{2+}$ -assay – konnte mit  $IC_{50}$ -Werten von 13 nM eben dort bzw. 398 nM im Fluoreszenzassay die zusätzlich zu den beiden Chlorsubstituenten in *para*-Position fluorierte Verbindung synthetisiert werden (Nelson, et al., 2006). Ein Austausch des Tetrazolrings durch einen Triazolring resultierte in einer Wirkverringerng, weitere Modifikation zu einem Imidazol führte zu noch schwächer wirksamen Verbindungen (Abb. 7.5) (Carroll, et al., 2007).



**Abb. 7.5** Ausgewählte Verbindungen mit Tetrazol-, Triazol-, Imidazolgrundstruktur

Als P2X<sub>7</sub>-Antagonisten sind also Verbindungen sehr unterschiedlicher Grundstrukturen beschrieben, allerdings in noch recht begrenzter Anzahl. Die Potenz der meisten Verbindungen bewegt sich zwischen IC<sub>50</sub>-Werten von 10 nM und 200 nM. Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 70 nM weist die in dieser Arbeit synthetisierte Verbindung **113** also eine ähnliche Aktivität auf, wobei eine Vergleichbarkeit aufgrund der unterschiedlichen Testsysteme nur bedingt gegeben ist. Dies wird insbesondere durch an mehreren verschiedenen Systemen untersuchte Substanzen deutlich. Wies beispielsweise das oben genannte Triazol (Abb. 7.5) im Ca<sup>2+</sup>-assay mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 13 nM eine stärkere Aktivität als die in dieser Arbeit synthetisierte Verbindung **113** auf, so war im Fluoreszenzassay lediglich ein IC<sub>50</sub>-Wert von 398 nM und damit eine deutlich geringere Potenz zu finden. Insbesondere die Differenz des in dieser Arbeit gefundenen vom in der Literatur veröffentlichten IC<sub>50</sub>-Wert für Verbindung **77** (Kap. 5.2) bestätigt, dass eine uneingeschränkte Vergleichbarkeit tatsächlich nur innerhalb eines Testsystems vorliegt. Ebenso lassen sich häufig Unterschiede an Zellen, die den humanen bzw. den Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor exprimieren, erkennen. Während z.B. KN-62 (Abb. 7.1) einen selektiven Antagonisten am humanen P2X<sub>7</sub>-Rezeptor darstellt, konnte für AZ 11645373

(Abb. 7.3) eine deutlich höhere Potenz am Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor festgestellt werden. Ähnliches gilt für eine Vielzahl von Verbindungen.

Untersuchungen der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen in anderen Testsystemen könnten daher weiteren Aufschluss über das Wirkprofil der Substanzen liefern. Von besonderem Interesse ist dabei die Weiterentwicklung des in dieser Arbeit etablierten Testsystems auf mit humanem P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierte Zellen. Da diese Weiterentwicklung bereits in Arbeit ist, kann in naher Zukunft mit vergleichenden Ergebnissen über die antagonistische Aktivität der synthetisierten Verbindungen am humanen bzw. am Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor gerechnet werden.

## **8 Zusammenfassung**



## 8 Zusammenfassung

Die von Leitsubstanz **77** abgeleiteten 4,5-Diaryl-2-imidazoline wurden durch Zyklisierung von 1,2-Diamino-1,2-diarylethanen, die ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit hergestellt wurden, synthetisiert. Zu diesem Zweck wurden Iminoester eingesetzt. Zur Synthese der zyklisch substituierten Diaryltetrahydropyrroloimidazole und Diarylhexahydroimidazopyridine fanden Chloralkyliminoester Verwendung. Zur Strukturvariation von Verbindung **77** wurden verschiedene Substituenten in die Aromaten in 4- und 5-Position des Imidazolins eingeführt. Außerdem wurde der 2-Phenethylrest der Verbindung **77** am Aromaten substituiert, gegen einen 2-Phenylpropylrest oder gegen aliphatische Gruppen ausgetauscht. Des Weiteren wurden durch Methylierung 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline synthetisiert. Der Einfluss der Konfiguration der Verbindungen wurde ebenfalls untersucht.

Die zytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen wurden an MDA-MB 231 Zellen untersucht. Dabei stellte Verbindung **107** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 1.57  $\mu$ M die potenteste Verbindung dar. Als wichtigster Parameter für zytotoxische Aktivität konnte die Lipophilie der Verbindungen ausgemacht werden.

Für die Untersuchungen am  $P2X_7$ -Rezeptor musste zunächst ein Testsystem etabliert werden. Dies geschah im Rahmen dieser Arbeit durch Verwendung stabil mit dem Ratten- $P2X_7$ -Rezeptor transfizierter Zellen der Zelllinie HEK 293. Nach Inkubation mit den zu testenden Verbindungen und anschließender Stimulation durch den natürlichen Agonisten ATP kann die Zellaufnahme des ebenfalls zugefügten Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid mit dem Grad der Aktivierung des  $P2X_7$ -Rezeptors gleichgesetzt werden. Diese Zellaufnahme kann fluorimetrisch durch die intrazelluläre Konzentration des Farbstoffes bestimmt werden, da die Fluoreszenz lediglich nach Interkalation des Ethidiumbromids in die DNA erfolgt. Aus der verringerten Aufnahme des Farbstoffes lässt sich anschließend die antagonistische Aktivität der jeweiligen Substanzen ermitteln.

Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 0.07  $\mu$ M (70 nM) weist Verbindung **113** eine gegenüber der Leitsubstanz **77** ( $IC_{50}$ : 0.36  $\mu$ M) deutlich gesteigerte antagonistische Aktivität am  $P2X_7$ -

Rezeptor auf. Sterische Eigenschaften sowie Substituenten geringer Lipophilie konnten als wesentliche Merkmale für inhibitorische Wirkung am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor ermittelt werden.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse über die Wirkung von 4,5-Diaryl-2-imidazolinen können als Grundlage für die Entwicklung weiterer wirksamer Verbindungen verwendet werden. Insbesondere durch den kompletten Verlust der zytotoxischen Eigenschaften in den getesteten Konzentrationen bietet Verbindung **113** einen geeigneten Ausgangspunkt für die Entwicklung und Untersuchung weiterer Substanzen mit inhibitorischem Einfluss auf Schmerz- und Entzündungsprozesse. Austausch der Substituenten an den beiden Aromaten sowie Veränderungen der Imidazolingrundstruktur zu Imidazolen, Triazolen oder Tetrazolen scheinen, insbesondere unter Berücksichtigung von Abb. 7.5 (S. 127), vielversprechende Ansatzpunkte.

## **9 Experimenteller Teil**



## 9 Experimenteller Teil

### 9.1 Allgemeine Angaben

#### 9.1.1 Synthetischer und analytischer Teil

##### 9.1.1.1 Chemikalien

Die für die Synthesen und die Analytik benötigten Lösungsmittel und Chemikalien wurden von den Firmen Acros Organics, Aldrich, Alfa Aesar, Fluka, Lancaster, Merck, Sigma und VWR bezogen.

##### 9.1.1.2 Verwendete Geräte

###### **Schmelzpunktbestimmung:**

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Büchi Schmelzpunktapparatur B-545 bestimmt. Alle angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

###### **Infrarotspektroskopie:**

Die Messungen erfolgten an einem ATI Mattson Genesis Serie FT-IR Spektrometer. Die Intensitätsangaben sind wie folgt abgekürzt: w = schwach, m = mittelstark, s = stark, br = breite Bandenform. Die Frequenzangaben erfolgen in  $\text{cm}^{-1}$ .

###### **Kernresonanzspektroskopie:**

Für die Aufnahme der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren wurde ein Avance/DPX 400 der Bruker Analytische Messtechnik GmbH mit einer Betriebsfrequenz von 400.13 MHz verwendet. Das verwendete Lösungsmittel ist bei den jeweiligen Messungen aufgeführt. Die chemischen Verschiebungen ( $\delta$ ) sind relativ zu Tetramethylsilan als internen Standard in ppm angegeben. Austausch der Signale erfolgte mit  $\text{D}_2\text{O}$ .

Es gelten folgende Abkürzungen: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett, br = breite Bandenform,  $^n\text{J}$  = Betrag der Kopplungskonstante über n Bindungen.

**Massenspektrometrie:**

Die Elektronenstoßionisations-Massenspektren (EI-MS) wurden an einem CH-7A-Varian MAT (70eV) oder einem Kratos MS 25 RF (80eV) gemessen. Die Verdampfungstemperatur sowie die jeweilige relative Signalintensität sind angegeben.

**Elementaranalyse:**

Die Elementaranalysen wurden an einem Perkin Elmer Elementaranalysatoren 240 B und 240 C durchgeführt.

**Säulenchromatographie:**

Für die Säulenchromatographie wurden Kieselgel 60, Kieselgel 60 – 200 und neutrales Aluminiumoxid 200 der Firmen Merck, Macherey-Nagel und ICN verwendet.

**Rotationschromatographie:**

Es wurde ein Chromatotron 7924 T (Harrison Research) verwendet.

Für die präparative Schichtchromatographie mit dem Chromatotron wurde Kieselgel 60 PF<sub>254</sub> der Firma Merck verwendet.

**Dünnschichtchromatographie:**

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel 60 F<sub>254</sub> und Aluminiumoxid 60 F<sub>254</sub> der Firma Merck verwendet

**9.1.2 Biochemischer und pharmakologischer Teil****9.1.2.1 Biologisches Material****HEK 293:**

humane, embryonale Nierenzelllinie

**MDA-MB 231:**

humane, hormonunabhängige Mammakarzinomzelllinie

**9.1.2.2 Verwendete Geräte**

Analysenwaage BP211D	Sartorius
Autoklav 2540 ELV Dampf-Sterilisator	Tutthauer
CO <sub>2</sub> -Begasungsbrutschrank B 5060 EK-CO <sub>2</sub>	Heraeus
CO <sub>2</sub> -Begasungsbrutschrank SNW 300 TVBB	Nalge Nunc International
Ein- und Mehrkanalpipetten	Eppendorf
FIREBOY <sup>®</sup> plus Sicherheitsbunsenbrenner	Integra
Inversmikroskop Axiovert 25	Zeiss
Mikroplattenreader Fluostar Optima	BMG Labtech
Mikroplattenreader Flashscan S12	Analytik Jena AG
Multilabel Counter mit Injektor 1420 Victor <sup>2</sup>	Wallac / Perkin Elmer
Multipette <sup>®</sup> plus	Eppendorf
Neubauerzählkammer (0.100 mm, 0.0025 mm <sup>2</sup> )	Carl Zeiss Jena
pH-Meter 410 A	Orion Research Inc.
Pipettierhilfe Pipetus Standard	Hirschmann
8-Kanalabsauger	Integra Biosciences
Schüttler LS10	Gerhardt
Sterilwerkbank Lamin Air <sup>®</sup> HB 2448	Heraeus
Stickstofftank GT 11	Air Liquide
Ultraschallbad	Kontron Instruments
Vakuumpumpe	KNF Neuberger GmbH
Vortexer REAX top	Heidolph
Wasserbad SW-21C	Julabo Labortechnik
Zentrifuge Megafuge <sup>®</sup> 1.0 R	Heraeus

**9.1.2.3 Verbrauchsmaterialien**

Einmalkanülen	Braun
Einmalspritzen	Braun
Pipettenspitzen	TPP, Eppendorf
Pasteurpipetten	Braun

Spritzen für Multipette® plus	Eppendorf
Reaktionsgefäße 1.5 ml	Eppendorf
Reaktionsgefäße 2.0 ml	Eppendorf
Membranfilter (0.2 µm, 50 mm)	Sartorius
Serumpipetten 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml (steril)	TPP
Sterilfilter für Einmalspritzen (0.2 µm)	Nalge Europe Ltd.
96-Well-Mikrotiterplatten (steril)	Nunc
96-Well-Mikrotiterplatten schwarz für Fluoreszenz	Nunc
Zellkulturflaschen 25 cm <sup>2</sup> , 75 cm <sup>2</sup>	Falcon, Nunc
Zentrifugenröhrchen konisch 15 ml, 50 ml	Falcon, TPP

#### 9.1.2.4 Reagenzien und Lösungen

ATP	Merck
Ethidiumbromid	Merck
Ethanol 96 %	VWR
Glutardialdehyd (25 %ige wässrige Lösung)	Merck
Kristallviolett	Merck
N,N-Dimethylformamid p.a.	Fluka
DMSO p.a.	Fluka
FCS (fetales Kälberserum)	Bio Whittaker
Trypsinreagenz	ICN
Poly-D-Lysin	Sigma-Aldrich
Geneticindisulfat	ICN

#### **Glutardialdehydlösung:**

1 %, 25%-ige wässrige Lösung mit PBS verdünnt

#### **Kristallviolettlösung:**

0.02 % Kristallviolett in Aqua dest.

**PBS (phosphate buffered saline):**

8.0 g NaCl, 1.0 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2 H<sub>2</sub>O, 0.15 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O, 0.2 g KCl, 0.2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, mit Aqua bidest. auf 1 l auffüllen.

**Trypsinlösung:**

0.05 % Trypsin, 0.02 % EDTA in PBS

**Poly-D-Lysin-Lösung:**

0.01 mg Poly-D-Lysin in 1 ml PBS

**P2X<sub>7</sub>-assay Pufferlösung:**

HEPES 20 mM, KCl 140 mM, Glucose 5 mM, EDTA 1 mM in Aqua dest., mit HCl bzw. KOH auf pH 7.4 einstellen

**ATP-Lösung:**

1 mM in P2X<sub>7</sub>-assay Pufferlösung

**Ethidiumbromid-Lösung:**

250 µM in P2X<sub>7</sub>-assay Pufferlösung

**9.1.2.5 Zellkulturmedien**

Alle verwendeten Zelllinien wurde in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) mit einem Zusatz von 5 % FCS kultiviert.

Alle weiteren Reagenzien wurden von Aldrich, Merck, Fluka oder Serva bezogen. Im pharmakologischen Teil wurde stets mit Millipore-Wasser (Milli Q Water System, Fa. Millipore) oder bidestilliertem Wasser gearbeitet.

## 9.2 Synthesevorschriften – Analytische Daten

### 9.2.1 Synthese des *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethans

#### *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-*N,N'*-dibenzoyl-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**1**)

1 mol (210,23 g) Benzil werden unter Erwärmen in 1000 ml Ethanol gelöst. Es werden 2 mol (244,24 g) Salicylaldehyd zugegeben. Anschließend wird 4 h lang in schwachem Strom NH<sub>3</sub>-Gas eingeleitet. Dabei wird die Reaktionstemperatur zwischen 45 und 75°C gehalten. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur saugt man den feinkristallinen gelben Niederschlag ab und wäscht ihn mit eiskaltem Ethanol. Das Produkt wird bei 80°C im Trockenschrank getrocknet.

**Ausbeute:** 0.773 mol (349,98 g), 77 %

C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (452,51)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 283 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3800-2800 s br (OH); 3420 m (NH); 3260 m (NH); 1640 s (C=O); 1532 s; 1459 m; 1349 m; 1251 m; 755 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.87 (s, 2H, ArCH); 6.72-6.78 (m, 4H, ArH); 6.98-7.03 (m, 2H, ArH); 7.38-7.42 (m, 4H, ArH); 7.46-7.50 (m, 4H, ArH); 7.60-7.65 (m, 4H, ArH), 8.56 (s, 2H, CONH, austauschbar); 9.94 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

#### *(1R,2S)/(1S,2R)*-*O,O',N,N'*-Tetraacetyl-1,2-diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**2**)

0,773 mol (349,98 g) *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-*N,N'*-dibenzoyl-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**1**) werden in 800 ml Acetanhydrid suspendiert und anschließend 24 h unter Rückfluß erhitzt. Nach langsamem Abkühlen auf Raumtemperatur filtriert man den farblosen Niederschlag der dunkelbraunen Suspension ab, wäscht ihn mit eiskaltem Acetanhydrid und trocknet ihn im Exsikkator über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

**Ausbeute:** 0.620 mol (255,69 g), 80 %

C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (412,44)

farblose, feine Kristalle

**Schmp.:** 214 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3354$  m (NH); 3251 m (NH); 1765 s (C=O); 1655 s; 1540 s; 1372 s; 1201 s.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.54$  (s, 6H,  $\text{CH}_3\text{CON}$ ); 2.28 (s, 6H,  $\text{CH}_3\text{COOAr}$ ); 5.67 (s, 2H,  $\text{ArCH}$ ); 7.03-7.05 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 7.18-7.22 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 7.25-7.29 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 7.50-7.52 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 7.97 (s, 2H,  $\text{NH}$ , austauschbar).

### ***(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (3)**

0,620 mol (255,69 g) *(1R,2S)/(1S,2R)*-O,O',N,N'-Tetraacetyl-1,2-diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**2**) werden in 1000 ml 47%iger HBr suspendiert und 4 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Dihydrobromid des 1,2-Diaminoethans abfiltriert, mit ca. 200 ml Eiswasser gewaschen und anschließend in heißem Wasser (70 – 80 °C) aufgelöst. Die heiße Lösung wird filtriert und mit 20%iger NaOH auf pH 7 bis 8 eingestellt. Das dadurch in Form der freien Phenolbase aus dem Filtrat ausgefällte Produkt wird abfiltriert und im Exsikkator über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet.

**Ausbeute:** 0.465 mol (113,59 g), 75 %

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$  (244,29)

hellgelbes, feines Pulver

**Schmp.:** 184 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3500$ –2500 s br (OH); 3375 m ( $\text{NH}_2$ ); 3354 m ( $\text{NH}_2$ ); 3284 m (NH); 1590 s; 1458 s; 1408 m; 1258 s; 757 s.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta = 3.37$  (s, br, 4H,  $\text{NH}_2$ , austauschbar); 4.19 (s, 2H,  $\text{ArCH}$ ); 5.36 (s, br, 2H,  $\text{ArOH}$ , austauschbar); 6.65-6.69 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 6.70-6.73 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 6.96-6.98 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ); 7.03-7.07 (m, 2H,  $\text{ArH}$ ).

## **9.2.2 Synthese der *(3R,4S)/(3S,4R)*-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene**

### **Allgemeine Vorschrift zur Synthese der *(3R,4S)/(3S,4R)*-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene:**

0,100 mol *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) werden in 250 ml trockenem Acetonitril suspendiert und mit 0,200 mol des betreffenden Benzaldehyds versetzt. Das Reaktionsgemisch wird anschließend unter Rückfluss

erhitzt. Aufgrund der Abhängigkeit der Reaktionszeit von der Reaktivität des entsprechenden Benzaldehyds wird mittels DC Kontrolle bis zur vollständigen Umsetzung des Benzaldehyds erhitzt. In der Regel sollte diese bereits nach 5 Stunden erfolgt sein; in Einzelfällen war ein Refluxieren bis zu 11 h erforderlich. Das Produkt fällt noch in der Hitze aus. Die erhaltene Suspension wird auf ca. das halbe Volumen eingengt und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Nach abgeschlossener Kristallisation wird das Produkt abfiltriert, mit wenig eiskaltem Diethylether gewaschen und anschließend über  $\text{CaSO}_4$  in der Trockenpistole bei  $70\text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet.

**(3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Diphenyl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (4)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (5,31 g) Benzaldehyd.

**Ausbeute:** 22.14 mmol (9,31 g), 89 %

$\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$  (420,51)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:**  $200\text{ }^\circ\text{C}$

**IR** (KBr):  $\nu = 3464$  s br (OH); 3060 w; 1628 s; 1495 m; 1280 m; 759 m

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 5.06$  (s, 2H, ArCHN); 6.84 (t,  $^3J = 7.3$  Hz, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.20-7.25 (m, 2H, ArH-4); 7.27-7.34 (m, 12H, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6); 8.43 (s, 2H, ArCH=N); 13.17 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(2-chlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (5)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (7,03 g) 2-Chlorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 21.82 mmol (10,68 g), 87 %

$\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$  (489,39)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:**  $220\text{ }^\circ\text{C}$

**IR** (KBr):  $\nu = 3434$  w br (OH); 3055 w; 1626 s; 1494 m; 1280 m; 755 s.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 5.61$  (s, 2H, ArCHN); 6.89-6.92 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.31-7.51 (m, 12H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-3, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6); 8.58 (s, 2H, ArCH=N); 12.87 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(3-chlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (6)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (3) und 50 mmol (7,03 g) 3-Chlorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 22.29 mmol (10,91 g), 89 %

C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (489,39)

gelbes Pulver

**Schmp.:** 211 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3459 w br (OH); 2896 m; 1628 s; 1496 m; 1277 m; 753 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.51 (s, 2H, ArCHN); 7.01-7.04 (m, 4H, ArH-3, Ar'H-4); 7.36-7.39 (m, 2H, Ar'H-2); 7.44-7.47 (m, 4H, ArH-5, Ar'H-6); 7.49-7.52 (m, 6H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-5); 8.64 (s, 2H, ArCH=N); 13.00 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(4-chlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (7)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (3) und 50 mmol (7,03 g) 4-Chlorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 20.64 mmol (10,10 g), 83 %

C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (489,39)

hellbraunes Pulver

**Schmp.:** 197 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 w br (OH); 3060 w; 1628 s; 1495 s; 1281 s; 757 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.12 (s, 2H, ArCHN); 6.86-6.89 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.31-7.42 (m, 12H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-5, Ar'H-6); 8.50 (s, 2H, ArCH=N); 13.00 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(2-fluorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (8)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (3) und 50 mmol (6,21 g) 2-Fluorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 22.34 mmol (10,10 g), 89 %

C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>F<sub>2</sub> (456,48)

gelbes Pulver

**Schmp.:** 221 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3428 w br (OH); 3044 m br; 2886 m br; 2755 m br; 1580 m; 1397 m br; 1277 s; 755 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.37 (s, 2H, ArCHN); 6.83-6.87 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.14-7.21 (m, 4H, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.29-7.34 (m, 6H, ArH-4, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.45-7.50 (m, 2H, ArH-6); 8.51 (s, 2H, ArCH=N); 12.92 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(3-fluorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (9)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (6,21 g) 3-Fluorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 23.10 mmol (10,54 g), 92 %

C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>F<sub>2</sub> (456,48)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 220 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3452 w br (OH); 2884 w; 1592 m; 1492 m; 1274 m; 1050 w; 753 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.27 (s, 2H, ArCHN); 6.95-6.99 (m, 4H, ArH-3, Ar'H-4); 7.16-7.21 (m, 2H, Ar'H-2); 7.27-7.31 (m, 4H, ArH-5, Ar'H-6.); 7.41-7.48 (m, 6H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-5); 8.57 (s, 2H, ArCH=N); 13.05 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(4-fluorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (10)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (6,21 g) 4-Fluorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 23.51 mmol (10,73 g), 94 %

C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>F<sub>2</sub> (456,48)

gelbes Pulver

**Schmp.:** 180 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3370 w br (OH); 2882 w; 1626 s; 1510 s; 1260 s; 756 s.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.09 (s, 2H, ArCHN); 6.86-6.88 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.17 (t,  $^3J$  = 8.7 Hz, 4H, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.33-7.37 (m, 8H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 8.45 (s, 2H, ArCH=N); 13.04 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(2-methoxyphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diaza-hexa-1,5-dien (11)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (6,81 g) 2-Methoxybenzaldehyd.

**Ausbeute:** 18,83 mmol (9,05 g), 75 %

C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (480,55)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 211 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3425 w br (OH); 2935 m; 2837 m; 1625 s; 1492 s; 1280 s; 1050 m; 1030 m; 831 m; 751 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.67 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 5.42 (s, 2H, ArCHN); 6.81-6.85 (m, 4H, ArH-3, Ar'H-3); 6.91 (t, 4H, ArH-5, Ar'H-5); 7.18-7.33 (m, 8H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-6); 8.40 (s, 2H, ArCH=N); 13.37 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(3-methoxyphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diaza-hexa-1,5-dien (12)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (6,81 g) 3-Methoxybenzaldehyd.

**Ausbeute:** 20.60 mmol (9.90 g), 82 %

C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (480,55)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 197 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 w br (OH); 2835 w; 1628 s; 1493 s; 1460 m; 1280 s; 1150 m; 1030 m; 755 s.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.71 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 5.07 (s, 2H, ArCHN); 6.89-6.95 (m, 10H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.26-7.37 (m, 6H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-5); 8.48 (s, 2H, ArCH=N); 13.25 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diaza-hexa-1,5-dien (13)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*1*R*,2*S**)/(*1*S*,2*R**)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (6,81 g) 4-Methoxybenzaldehyd.

**Ausbeute:** 23.33 mmol (11.21 g), 93 %

C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (480,55)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 187 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3426 w br (OH); 2835 w; 1628 s; 1510 s; 1460 m; 1278 s; 1250 s; 1032 s; 830 m; 757 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.68 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 4.99 (s, 2H, ArCHN); 6.83-6.89 (m, 8H, Ar*H*-3, Ar*H*-5, Ar'*H*-3, Ar'*H*-5); 7.22-7.33 (m, 8H, Ar*H*-4, Ar*H*-6, Ar'*H*-2, Ar'*H*-6); 8.43 (s, 2H, ArCH=N); 13.25 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(2-trifluormethylphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diaza-hexa-1,5-dien (14)**

Aus 25 mmol (6,11 g) (*1*R*,2*S**)/(*1*S*,2*R**)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (8,71 g) 2-Trifluormethylbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 21.10 mmol (11.74 g), 84 %

C<sub>30</sub>H<sub>22</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (556.50)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 214 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3435 w br (OH); 3055 w br; 2881 w br; 1625 s; 1420 w; 1325 s; 1278 m; 1166 s; 1020 m; 830 w; 757 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.45 (s, 2H, ArCHN); 6.79-6.82 (m, 4H, Ar*H*-3, Ar*H*-5); 7.26-7.33 (m, 4H, Ar'*H*-3, Ar'*H*-5); 7.49-7.53 (m, 2H, Ar*H*-4); 7.69-7.73 (m, 4H, Ar'*H*-4, Ar'*H*-6); 7.81-7.85 (m, 2H, Ar*H*-6); 8.29 (s, 2H, ArCH=N); 12.34 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(3-trifluormethylphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diaza-hexa-1,5-dien (15)**

Aus 14 mmol (3.42 g) (*1*R*,2*S**)/(*1*S*,2*R**)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 28 mmol (4.88 g) 3-Trifluormethylbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 11.46 mmol (6.38 g), 82 %

$C_{30}H_{22}F_6N_2O_2$  (556.50)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 203 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3452 w br (OH); 3055 w br; 2884 w; 1630 s; 1492 m; 1325 s; 1274 m; 1166 s; 1050 w; 753 s.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.27 (s, 2H, ArCHN); 6.86-6.90 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.32-7.37 (m, 4H, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.54 (m, 2H, Ar'H-4); 7.56-7.61 (m, 6H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-5); 8.52 (s, 2H, ArCH=N); 12.84 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(4-trifluormethylphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (16)**

Aus 25 mmol (6.11 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (8.71 g) 4-Trifluormethylbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 16.95 mmol (9.43 g), 68 %

$C_{30}H_{22}F_6N_2O_2$  (556.50)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 197 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 w br (OH); 3056 w br; 2882 w; 1629 s; 1580 w; 1420 w; 1327 s; 1278 m; 1167 m; 1066 s; 830 w; 753 s.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 5.28 (s, 2H, ArCHN); 6.86-6.89 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.31-7.37 (m, 4H, ArH-4, ArH-6); 7.55 (d,  $^3J$  = 8.1 Hz, 4H, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.71 (d,  $^3J$  = 8.2 Hz, 4H, Ar'H-3, Ar'H-5); 8.52 (s, 2H, ArCH=N); 12.86 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

**(3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(2,4-dichlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (17)**

Aus 25 mmol (6.11 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-hydroxyphenyl)ethan (**3**) und 50 mmol (8.75 g) 2,4-Dichlorbenzaldehyd.

**Ausbeute:** 19.13 mmol (10.68 g), 77 %

$C_{28}H_{20}Cl_4N_2O_2$  (558.28)

hellbraunes Pulver

**Schmp.:** 192 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3445$  s br (OH); 2880 w; 1628 s; 1495 m; 1280 m; 1040 m; 759 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 5.41$  (s, 2H, ArCHN); 6.81-6.86 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 6.87-7.31 (m, 8H, ArH'-3, ArH'-4, ArH'-5, Ar'H-6); 7.33 (d,  $^3J = 8.7$  Hz, 2H, ArH-6); 8.29 (s, 2H, ArCH=N); 12.95 (s, 2H, ArOH, austauschbar).

### 9.2.3 Synthese der (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane:

0.100 mol (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Diaryl-1,6-Bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien werden in 200 ml 6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> suspendiert und zum Sieden erhitzt. Mittels Wasserdampfdestillation wird der freigewordene Salicylaldehyd aus dem Reaktionsgemisch entfernt. Die Temperatur des Heizbades wird dabei so eingestellt, dass die Flüssigkeitsmenge konstant bleibt. Sobald im Destillat kein Salicylaldehyd mehr nachweisbar ist (DC-Kontrolle), wird die noch heiße Lösung filtriert. Anschließend wird unter Eiskühlung mit 20 %iger NaOH alkalisiert. Die ausgefallene Base wird mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt kann durch Umkristallisation gereinigt werden.

#### (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethan (18)

Aus 22.14 mmol (9.13 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Diphenyl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**4**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 18.89 mmol (4.01 g), 85 %

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub> (212.29)

weißes Pulver

**Schmp.:** 119 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3420$  w br; 3345 m; 3273 m; 2875 m; 1590 m; 1494 m; 915 s br; 790 m; 759 s.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 1.58$  (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 3.90 (s, 2H, ArCH); 7.19-7.27 (m, 10H, ArH).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-chlorphenyl)ethan (19)**

Aus 21.82 mmol (10.86 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(2-chlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (5).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 16.86 mmol (4.74 g), 77 %

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (281.18)

weißes Pulver

**Schmp.:** 128 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3433 m br; 2905 w; 1571 m; 1475 m; 1438 m; 1032 m; 880 s; 758 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.99 (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 4.62 (s, 2H, ArCH); 7.18-7.23 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.24-7.28 (m, 2H, ArH-4); 7.31-7.33 (m, 2H, ArH-6).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-chlorphenyl)ethan (20)**

Aus 22.29 mmol (10.91 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(3-chlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (6).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 17.57 mmol (4.94 g), 79 %

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (281.18)

weißes Pulver

**Schmp.:** 116 °C

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.76 (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 3.92 (s, 2H, ArCH); 7.11-7.13 (m, 2H, ArH-4); 7.23-7.29 (m, 6H, ArH-2, ArH-5, ArH-6).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (21)**

Aus 20.64 mmol (10.10 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(4-chlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (7).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 17.68 mmol (4.97 g), 86 %

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (281.18)

weißes Pulver

**Schmp.:** 128 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3389$  w; 1592 w; 1487 s; 1409 w; 1311 w; 1084 m; 1012 m; 833 s; 645 w.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.73$  (s, 4H, *NH*<sub>2</sub>, austauschbar); 3.93 (s, 2H, *ArCH*); 7.17 (AA'BB',  $^3J = 8.4$  Hz, 4H, *ArH-3*, *ArH-5*); 7.28 (AA'BB',  $^3J = 8.3$  Hz, 4H, *ArH-2*, *ArH-6*).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-fluorphenyl)ethan (22)**

Aus 22.34 mmol (10.10 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(2-fluorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**8**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 20.18 mmol (5.01 g), 90 %

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{F}_2$  (248.27)

weißes Pulver

**Schmp.:** 107 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3356$  s (*NH*<sub>2</sub>); 3281 s; 2940 m; 1585 s; 1490 s; 1450 s; 1178 s; 915 s br; 826 s; 758 s.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.86$  (s, 4H, *NH*<sub>2</sub>, austauschbar); 4.36 (s, 2H, *ArCH*); 6.95-7.00 (m, 2H, *ArH-3*); 7.04-7.08 (m, 2H, *ArH-5*) 7.17-7.22 (m, 2H, *ArH-4*); 7.27-7.31 (m, 2H, *ArH-6*).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-fluorphenyl)ethan (23)**

Aus 23.10 mmol (10.54 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(3-fluorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**9**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 18.29 mmol (4.54 g), 79 %

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{F}_2$  (248.27)

weißes Pulver

**Schmp.:** 66 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3354$  m (*NH*<sub>2</sub>); 3275 m; 2890 m; 1588 s; 1485 s; 1446 s; 1245 s; 912 s br; 790 s; 700 s.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.74$  (s, 4H, *NH*<sub>2</sub>, austauschbar); 3.96 (s, 2H, *ArCH*); 6.97-7.02 (m, 6H, *ArH-2*, *ArH-4*, *ArH-6*); 7.23-7.29 (m, 2H, *ArH-5*).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (24)**

Aus 23.51 mmol (10.73 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(4-fluorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**10**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 19.49 mmol (4.84 g), 83 %

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub> (248.27)

hellbraunes Pulver

**Schmp.:** 98 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3385 m (NH<sub>2</sub>); 3044 s; 2870 m; 1602 s; 1508 s; 1445 s; 1228 s; 1155 m; 911 s; 840 s br; 742 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.66 (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 3.91 (s, 2H, ArCH); 7.03-7.08 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.15-7.20 (m, 4H, ArH-2, ArH-6).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-methoxyphenyl)ethan (25)**

Aus 18.83 mmol (9.05 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(2-methoxyphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**11**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 16.12 mmol (4.39 g), 86 %

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (272.34)

hellbraunes Pulver

**Schmp.:** 84 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3368 m (NH<sub>2</sub>); 2940 w; 2836 w (OCH<sub>3</sub>); 1596 m; 1493 s; 1462 s; 1291 m; 1241 s; 1020 s; 877 m br; 752 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.61 (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 3.54 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 4.42 (s, 2H, ArCH); 6.78-6.82 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.07-7.14 (m, 4H, ArH-4, ArH-6).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-methoxyphenyl)ethan (26)**

Aus 20.60 mmol (9.90 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(3-methoxyphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**12**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 15.31 mmol (4.17 g), 74 %

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (272.34)

weißes Pulver

**Schmp.:** 120 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3348 s (NH<sub>2</sub>); 3262 m; 2850 s; 2835 m (OCH<sub>3</sub>); 1596 s; 1493 s; 1462 s; 1345 s; 1271 s; 1252 s; 1148 s; 900 s; 856 s; 792 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.61 (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 3.73 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3.90 (s, 2H, ArCH); 6.79-6.84 (m, 6H, ArH-2, ArH-4, ArH-6); 7.19-7.23 (m, 2H, ArH-5).

**(1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (27)**

Aus 23.33 mmol (11.21 g) (3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**13**).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 19.20 mmol (5.23 g), 82 %

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (272.34)

weißes Pulver

**Schmp.:** 150 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3368 w (NH<sub>2</sub>); 2960 w; 2905 w; 2831 w (OCH<sub>3</sub>); 1611 m; 1510 s; 1461 m; 1250 s; 1177 s; 1028 s; 836 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.54 (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 3.79 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 2H, ArCH); 6.89 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.20 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 2H, ArH-2, ArH-6).

**(1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-trifluormethylphenyl)ethan (28)**

Aus 21.10 mmol (11.74 g) (3R,4S)/(3S,4R)-3,4-Bis(2-trifluormethylphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (**14**). Die Reaktion dauert sehr lange und muss unter Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure durchgeführt werden.

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 18.95 mmol (5.44 g), 90 %

C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (348.29)

hellbraunes Pulver

**Schmp.:** 139 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3380 w; 2994 w; 1609 m; 1585 m; 1455 m; 1311 s; 1243 m; 1161 s; 1119 s; 1033 s; 905 m; 768 m; 743 w; 651 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.79$  (s, 4H,  $\text{NH}_2$ , austauschbar); 4.40 (s, 2H,  $\text{ArCH}$ ); 7.41 (t,  $^3\text{J} = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{ArH-6}$ ); 7.57-7.64 (m, 6H,  $\text{ArH-3}$ ,  $\text{ArH-4}$ ,  $\text{ArH-5}$ ).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-trifluormethylphenyl)ethan (29)**

Aus 11.46 mmol (6.38 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(3-trifluormethylphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (15).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 9.33 mmol (3.25 g), 81 %

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{N}_2$  (348.29)

hellbraunes Pulver

**Schmp.:** 109 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3365$  m; 3281 m; 2855 m; 1611 m; 1449 m; 1326 s; 1182 s; 1128 s; 1071 s; 909 m; 808 m; 706 m; 662 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.82$  (s, 4H,  $\text{NH}_2$ , austauschbar); 4.11 (s, 2H,  $\text{ArCH}$ ); 7.10-7.16 (m, 4H,  $\text{ArH-5}$ ,  $\text{ArH-6}$ ); 7.59-7.64 (m, 4H,  $\text{ArH-2}$ ,  $\text{ArH-4}$ ).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (30)**

Aus 16.95 mmol (9.43 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(4-trifluormethylphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (16).

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 11.74 mmol (4.09 g), 69 %

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{N}_2$  (348.29)

weißes Pulver

**Schmp.:** 114 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3385$  w; 2874 w; 1619 m; 1420 m; 1325 s; 1160 s; 1128 s; 1065 m; 853 m; 624 w.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.84$  (s, 4H,  $\text{NH}_2$ , austauschbar); 4.07 (s, 2H,  $\text{ArCH}$ ); 7.41 (AA'BB',  $^3\text{J} = 8.2$  Hz, 4H,  $\text{ArH-2}$ ,  $\text{ArH-6}$ ); 7.60 (AA'BB',  $^3\text{J} = 8.2$  Hz, 4H,  $\text{ArH-3}$ ,  $\text{ArH-5}$ ).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2,4-dichlorphenyl)ethan (31)**

Aus 19.13 mmol (10.68 g) (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Bis(2,4-dichlorphenyl)-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (17). Die Extraktion erfolgt mit Chloroform.

Das Produkt wird in Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 13.08 mmol (4.58 g), 68 %

$C_{14}H_{12}Cl_4N_2$  (350.07)

weißes Pulver

**Schmp.:** 139 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3368$  m (NH<sub>2</sub>); 3301 w; 1605 s; 1498 s; 1284 s; 1239 s; 1042 s; 878 m; 822 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 2.06$  (s, 4H, NH<sub>2</sub>, austauschbar); 4.55 (s, 2H, ArCH); 7.30 (m, 4H, ArH-5, ArH-6); 7.39 (m, 2H, ArH-3).

#### 9.2.4 Synthese der identisch substituierten (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-diene

##### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der identisch substituierten (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-diene:

Die identisch substituierten (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-diene sind die Vorstufen der (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane. Die Synthese erfolgt analog der Darstellung der (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-3,4-Diaryl-1,6-bis(2-hydroxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-diene. Dabei werden die (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane mit identisch substituierten Benzaldehyden umgesetzt. Die so erhaltenen Produkte werden mit wenig eiskaltem Diethylether gewaschen und anschließend über CaSO<sub>4</sub> in der Trockenpistole bei 70 °C getrocknet.

##### (3*R*,4*S*)/(3*S*,4*R*)-1,3,4,6-Tetrakis(4-fluorphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (32)

Aus 19.05 mmol (4.73 g) (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (24).

**Ausbeute:** 16.98 mmol (7.82 g), 89 %

$C_{28}H_{20}F_4N_2$  (460.47)

weißes Pulver

**Schmp.:** 161 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3440$  w br; 2875 w; 1636 m; 1602 s; 1511 s; 1228 s; 1152 m; 1012 w; 837 s.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 4.82$  (s, 2H, ArCHN); 7.08 (AA'BB',  $^3\text{J} = 8.8$  Hz, 4H, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.24 (AA'BB',  $^3\text{J} = 8.8$  Hz, 4H, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.39-7.43 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.69-7.73 (m, 4H, ArH-2, ArH-6); 8.13 (s, 2H, ArCH=N).

**(3R,4S)/(3S,4R)-1,3,4,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)-2,5-diazahexa-1,5-dien (33)**

Aus 18.29 mmol (4.98 g) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (27).

**Ausbeute:** 17.22 mmol (8.76 g), 94 %

$\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4$  (508.61)

gelbes Pulver

**Schmp.:** 178 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  w br; 3000 m; 2933 m; 2836 s (OCH<sub>3</sub>); 1636 s; 1605 s; 1512 s; 1462 s; 1247 s br; 1164 s; 1031 s; 827 s.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 3.66$  (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3.77 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 4.71 (s, 2H, ArCHN); 6.79 (AA'BB',  $^3\text{J} = 7.7$  Hz, 4H, Ar'H-3, Ar'H-5); 6.94 (AA'BB',  $^3\text{J} = 7.7$  Hz, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.30 (AA'BB',  $^3\text{J} = 7.7$  Hz, 4H, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.56 (AA'BB',  $^3\text{J} = 7.7$  Hz, 4H, ArH-2, ArH-6); 8.01 (s, 2H, ArCH=N).

### 9.2.5 Synthese der (1R,2R)/(1S,2S)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der (1R,2R)/(1S,2S)-1,2-Diamino-1,2-diarylethane:

0.100 mol identisch substituiertes (3R,4S)/(3S,4R)-1,3,4,6-Tetraaryl-2,5-diazahexa-1,5-dien werden in einem 2l-Dreihalskolben unter Rühren solange im Ölbad erhitzt bis die Kristallmasse vollständig geschmolzen ist. Nach weiterem 5minütigen Rühren lässt man die Schmelze abkühlen. Die so erhaltene glasartige Masse wird mit 300 ml 3N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und anschließend solange einer Wasserdampfdestillation unterworfen bis kein Aldehyd mehr übergeht (DC-Kontrolle). Die noch heiße Lösung wird abfiltriert, und nach dem Abkühlen wird das auskristallisierte Sulfat abgesaugt. Das erhaltene Salz wird in wenig Wasser umkristallisiert, mit 1N NaOH versetzt und die freiwerdende Base mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die oben

erhaltene Mutterlauge wird ca. auf die Hälfte eingengt. Das dabei erneut ausfallende Sulfat wird wie beschrieben aufgearbeitet. Das nicht umgesetzte (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethan wird mittels 20%iger NaOH freigesetzt und analog isoliert.

#### **(*1R,2R*)/(*1S,2S*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (34)**

Aus 16.98 mmol (7.82 g) (*3R,4S*)/(*3S,4R*)-1,3,4,6-Tetrakis(4-fluorphenyl)-2,5-diazahepta-1,5-dien (**32**).

**Ausbeute:** 4.99 mmol (1.24 g), 29 %

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub> (248.27)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 120 °C

<sup>1</sup>H-NMR<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO): δ = 4.22 (s, 2H, ArCH); 7.04-7.08 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.22-7.26 (m, 4H, ArH-2, ArH-6).

#### **(*1R,2R*)/(*1S,2S*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (35)**

Aus 17.22 mmol (8.76 g) (*3R,4S*)/(*3S,4R*)-1,3,4,6-Tetrakis(4-methoxyphenyl)-2,5-diazahepta-1,5-dien (**33**).

**Ausbeute:** 6.61 mmol (1.80 g), 38 %

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (272.34)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 115 °C

<sup>1</sup>H-NMR<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO): δ = 3.67 (s, 6H OCH<sub>3</sub>); 4.17 (s, 2H, ArCH); 6.78 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.13 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 4H, ArH-2, ArH-6).

### **9.2.6 Synthese der (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane**

#### **Allgemeine Vorschrift zur Synthese der (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-diarylethane:**

3.00 mmol (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethan werden in 20 ml Acetonitril abs. suspendiert und unter Erwärmen gelöst. In der Wärme wird eine Suspension von 1.00 mmol (90.1 mg) Paraformaldehyd in 2 ml Acetonitril abs. zugegeben und der

Ansatz anschließend 2 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das zurückgebliebene Produkt wird in 50 ml Methanol abs. suspendiert. Es werden 2 ml etherische HCl zugetropft. Unter Eiskühlung werden 6.4 mmol (402.2 mg) Natriumcyanborhydrid zugegeben und im sich erwärmenden Eisbad 12 h rühren gelassen. Anschließend werden 15 ml einer 10%igen NaHCO<sub>3</sub>-Lösung zugegeben. Nach weiteren 5 min Rühren wird mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Produkt wird rotationschromatographisch aufgereinigt.

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (36)**

Aus 3.00 mmol (817.0 mg) (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (27).

Das Produkt wird rotationschromatographisch mit Diethylether/Methanol (98+2) unter Zusatz von 1% Triethylamin gereinigt.

**Ausbeute:** 0.73 mmol (210 mg), 24 %

C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (286.37)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 87 °C

<sup>1</sup>H-NMR<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO): δ = 1.51 (s, 3H, NH<sub>2</sub>, NH, austauschbar); 1.99 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 3.42 (d, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1H, ArCH); 3.72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.83 (d, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1H, ArCH); 6.81-6.84 (m, 4H, ArH-3, ArH-5); 7.08-7.14 (m, 4H, ArH-2, ArH-6).

**MS** (EI, 60°C): m/z % = 150 [C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NO] (100); 136 [C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>NO] (14).

**(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (37)**

Aus 3.00 mmol (1044.9 mg) (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (30).

Das Produkt wird rotationschromatographisch mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin gereinigt.

**Ausbeute:** 0.86 mmol (310 mg), 29 %

C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (362.31)

gelbes Pulver

**Schmp.:** 111 °C

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 2.04 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.07 (s, 3H, NH<sub>2</sub>, NH, austauschbar); 3.74 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 1H, ArCH); 4.14 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 1H, ArCH); 7.35-7.40 (m, 4H, ArH-2, ArH-6); 7.58-7.62 (m, 4H, ArH-3, ArH-5).

### 9.2.7 Synthese der Arylpropionitrile

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 2-Cyanozimtsäure-Derivate:

0.100 mol des entsprechenden Benzaldehyds werden unter Zusatz von 15 ml Pyridin und 1.50 g Ammoniumacetat in 100 ml Toluol gelöst. Nach Zugabe von 0.100 mol (8.51 g) Cyanessigsäure wird der Ansatz refluxiert. Mittels Wasserabscheider wird das entstehende Wasser aus dem Reaktionsgemisch entfernt. Nach abgeschlossener Reaktion wird das aus dem abgekühlten Reaktionsgemisch ausgefallene Produkt abgesaugt. Anschließend wird es eine halbe Stunde in 10%iger HCl gerührt und nach dem erneuten Abfiltrieren aus Methanol umkristallisiert.

#### 3-(2-Chlorphenyl)-2-Cyanoprop-2-ensäure (38)

Aus 0.100 mol (14.06 g) 2-Chlorbenzaldehyd und 0.100 mol (8.51 g) Cyanessigsäure.

**Ausbeute:** 81.02 mmol (16.82 g), 81 %

C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>ClNO<sub>2</sub> (207.61)

weißes Pulver

**Schmp.:** 146 °C

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 7.56-7.71 (m, 3H, ArH-3, ArH-4, ArH-5); 8.11-8.13 (m, 1H, ArH-6); 8.50 (s, 1H, ArCH).

**MS** (EI, 200°C):  $m/z$  % = 207 [M]<sup>+</sup> (9); 172 [C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>] (100); 162 [C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>N] (3); 128 [C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>N] (11); 101 [C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>] (5).

#### 2-Cyano-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-ensäure (39)

Aus 50.00 mol (7.51 g) 4-Methoxybenzaldehyd und 50.00 mmol (4.26 g) Cyanessigsäure.

**Ausbeute:** 44.49 mmol (9.04 g), 89 %

C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub> (203.19)

weißes Pulver

**Schmp.:** 67 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 m br; 2947 m; 2842 m; 2540 m br; 2223 w; 1677 s; 1590 s; 1559 m; 1513 m; 1433 m; 1265 s; 1179 s; 1022 m; 940 w; 836 m; 730 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 7.15 (AA'BB', 3J = 8.9 Hz, 2H, ArH-3, ArH-5); 8.07 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.9 Hz, 2H, ArH-2, ArH-6); 8.27 (s, 1H, ArCH).

**MS** (EI, 35°C): m/z % = 203 [M]<sup>+</sup> (2); 159 (100); 144 (23); 116 (29); 89 (19).

### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 2-Cyano-3-arylpropionsäuren:

0.100 mol 2-Cyanozimtsäure-Derivat werden in einem Gemisch aus 70 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 200 ml Methanol gelöst. Portionsweise werden 0.300 mol (11.35 g) Natriumborhydrid über einen Zeitraum von ca. 90 Minuten zugegeben. Dabei wird die Temperatur des Reaktionsgemisches konstant bei 15 °C gehalten. Nach erfolgter Zugabe wird auf Raumtemperatur erwärmt und nach 30minütigem Rühren das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die zurückbleibende Lösung wird mit Diethylether extrahiert und die organischen Phasen verworfen. Die wässrige Phase wird mit HCl angesäuert und erneut mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Produkt wird im Exsikkator über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

### 3-(2-chlorphenyl)-2-Cyanopropionsäure (40)

Aus 81.02 mol (16.82 g) 3-(2-Chlorphenyl)-2-Cyanoprop-2-ensäure (38) und 243.06 mmol (9.20 g) Natriumborhydrid.

**Ausbeute:** 57.77 mmol (12.11 g), 71 %

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>2</sub> (209.63)

farblose Flüssigkeit

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.23 (ABX, <sup>2</sup>J = -14.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, ArCH); 3.37 (ABX, <sup>2</sup>J = -14.1 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 1H, ArCH); 4.34 (ABX, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, CHCN); 7.33-7.37 (m, 2H, ArH-4, ArH-6); 7.45-7.50 (m, 2H, ArH-3, ArH-5); 13.97 (s, 1H, COOH).

**MS** (EI, 105°C):  $m/z$  % = 209  $[M]^{+}$  (18); 165  $[C_9H_9ClO_2]$  (6); 125  $[C_7H_6Cl]$  (100); 89  $[C_7H_5]$  (8).

### 2-Cyano-3-(4-methoxyphenyl)propionsäure (41)

Aus 44.49 mol (9.04 g) 2-Cyano-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-ensäure (39) und 133.47 mmol (5.05 g) Natriumborhydrid.

**Ausbeute:** 32.55 mmol (6.68 g), 73 %

$C_{11}H_{11}NO_3$  (205.21)

farblose Flüssigkeit

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ( $[D_6]$ -DMSO):  $\delta$  = 3.03 (*ABX*,  $^2J$  = -14.0 Hz,  $^3J$  = 8.3 Hz, 1H, Ar*CH*); 3.11 (*ABX*,  $^2J$  = -14.0 Hz,  $^3J$  = 5.6 Hz, 1H, Ar*CH*); 4.32 (*ABX*,  $^3J$  = 5.6 Hz,  $^3J$  = 8.3 Hz, 1H, *CHCN*); 6.88-6.90 (m, 2H, Ar*H*-3, Ar*H*-5); 7.20-7.22 (m, 2H, Ar*H*-2, Ar*H*-6); 13.70 (s, 1H, *COOH*).

**MS** (EI, 130°C):  $m/z$  % = 205  $[M]^{+}$  (17); 121 (100).

**CHN:** ber.: C 64.38 H 5.40 N 6.83 gef.: C 62.48 H 5.55 N 6.50

### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Arylpropionitrile:

0,100 mol 2-Cyano-3-aryl-propionsäure werden in 100 ml DMF 5 Stunden lang auf 150 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch auf 300 ml Wasser gegeben und anschließend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $Na_2SO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Produkt wird im Exsikkator über  $P_2O_5$  getrocknet.

### 3-(2-Chlorphenyl)propionitril (42)

Aus 57.55 mmol (12.11 g) 3-(2-chlorphenyl)-2-Cyanopropionsäure (40).

**Ausbeute:** 36.35 mmol (6.02 g), 63 %

$C_9H_8ClN$  (165.62)

farblose Flüssigkeit

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3536 w br; 3005 m; 2935 m; 2242 m; 1609 m; 1513 s; 1493 m; 1461 m; 1304 m; 1248 s; 1177 m; 1110 m; 1032 m; 832 m; 757 m; 701 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ( $[D_6]$ -DMSO):  $\delta$  = 3.02-3.09 (m, 4H, Ar*CH*<sub>2</sub>*CH*<sub>2</sub>); 7.34-7.37 (m, 2H, Ar*H*-4, Ar*H*-6); 7.46-7.50 (m, 2H, Ar*H*-3, Ar*H*-5).

**3-(4-Methoxyphenyl)propionitril (43)**

Aus 32.55 mmol (6.68 g) 2-Cyano-3-(4-methoxyphenyl)propionsäure (41).

**Ausbeute:** 21.90 mmol (3.53 g), 67 %

$C_{10}H_{11}NO$  (161.20)

farblose Flüssigkeit

**IR** (KBr):  $\nu = 3534$  w br; 3007 m; 2935 m; 2838 m; 2246 m; 1612 s; 1513 s; 1461 m; 1300 m; 1248 s; 1179 s; 1111 m; 1033 s; 834 m; 757 m; 701 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 2.80$ -2.88 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6.95 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, <sup>4</sup>J = 2.2 Hz, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.26-7.28 (m, 2H, ArH-2, ArH-6).

**MS** (EI, 35°C):  $m/z$  % = 161 [M]<sup>+</sup> (24); 121 (100).

**CHN:** ber.: C 74.51 H 6.88 N 8.69 gef.: C 74.12 H 6.62 N 8.59

**9.2.8 Synthese der Iminoester****Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Iminoester:**

0.100 mol des entsprechenden Nitrils werden in 0.110 mol Ethanol abs. und 150 ml Diethylether abs. gerührt und im Eisbad gekühlt. Durch Zutropfen von konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in ein Gemisch aus Natriumchlorid und konzentrierter HCl freigesetztes HCl-Gas wird für eine Stunde eingeleitet. Nach abgeschlossener Reaktion werden 200 ml Diethylether zugegeben und der Reaktionsansatz für mindestens 20 Stunden im Gefrierschrank bei -20 °C aufbewahrt. Das ausgefallene Produkt wird abgesaugt, mit Diethylether ausgerührt und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

Die Iminoester werden im Gefrierschrank bei -20 °C aufbewahrt.

**Propionimidsäureethylester Hydrochlorid (44)**

Aus 0.100 mol (5.51 g) Propionitril und 0.110 mol (5.07 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 94.90 mmol (13.06 g), 95 % als Hydrochlorid

$C_5H_{11}NO \cdot HCl$  (137.61)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 93 °C

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.15$  (t,  $^3\text{J} = 7.6$  Hz, 3H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ ); 1.35 (t,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 2.65 (q,  $^3\text{J} = 7.6$  Hz, 2H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ ); 4.42 (q,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 11.36 (s br, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar); 11.88 (s br, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar).

**MS** (EI,  $100^\circ\text{C}$ ):  $m/z$  % = 101  $[\text{M}]^+$  (6); 73  $[\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}]$  (25); 56  $[\text{C}_3\text{H}_6\text{N}]$  (100).

#### Butyrimidsäureethylester Hydrochlorid (45)

Aus 0.100 mol (6.91 g) Butyronitril und 0.110 mol (5.07 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 84.35 mmol (12.79 g), 84 % als Hydrochlorid

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO} \cdot \text{HCl}$  (151.63)

weiße Kristalle

**Schmp.:**  $68^\circ\text{C}$

**IR** (KBr):  $\nu = 2890$  m br (NH); 1640 s; 1601 s; 1441 s; 1390 s; 1128 s; 1089 m; 995 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 0.90$  (t,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1.34 (t,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 1.63 (tq,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 2.60 (t,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 4.43 (q,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 11.16 (s, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar); 12.07 (s, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar).

#### 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (46)

Aus 0.250 mol (25.89 g) 4-Chlorbutyronitril und 0.275 mol (12.67 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 0.161 mol (29.96 g), 64 % als Hydrochlorid

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{ClNO} \cdot \text{HCl}$  (186.08)

weiße Kristalle

**Schmp.:**  $> 300^\circ\text{C}$

**IR** (KBr):  $\nu = 3500\text{-}2500$  m br (NH); 1981 w; 1734 m; 1401 s.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta = 1.18$  (t,  $^3\text{J} = 7.1$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 1.96 (tt,  $^3\text{J} = 6.4$  Hz,  $^3\text{J} = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 2.43 (t,  $^3\text{J} = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 3.66 (t,  $^3\text{J} = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 4.06 (q,  $^3\text{J} = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 11.06 (s br, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar); 11.97 (s br, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar).

**5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (47)**

Aus 0.250 mol (29.40 g) 5-Chlorpentanonitril und 0.275 mol (12.67 g) Ethanol. Ausfall des Produktes erfolgte erst nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer.

**Ausbeute:** 0.121 mol (24.21 g), 48 %

$C_7H_{14}ClNO \cdot HCl$  (200.11)

weiße Kristalle

**Schmp.:** > 300 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 2915$  m br (NH); 1640 s; 1439 s; 1401 s; 1145 s; 1129 s; 1089 s; 1003 m; 840 m; 724 s.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 1.36$  (t,  $^3J = 7.0$  Hz, 3H,  $OCH_2CH_3$ ); 1.69-1.80 (m, 4H,  $CH_2CH_2CH_2CH_2Cl$ ); 2.64 (t,  $^3J = 7.1$  Hz, 2H,  $CH_2CH_2CH_2CH_2Cl$ ); 3.67 (t,  $^3J = 6.0$  Hz, 2H,  $CH_2CH_2CH_2CH_2Cl$ ); 4.40 (q,  $^3J = 7.0$  Hz, 2H,  $OCH_2CH_3$ ); 10.92 (s br, 1H, NH, austauschbar); 11.60 (s br, 1H, NH, austauschbar).

**3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (48)**

Aus 0.250 mol (32.79 g) 3-Phenylpropionitril und 0.275 mol (12.67 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 0.196 mol (41.89 g), 78 % als Hydrochlorid

$C_{11}H_{15}NO \cdot HCl$  (213.70)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 128 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3405$  w; 2908 s br; 1654 s; 1563 m; 1498 m; 1453 m; 1390 m; 1364 m; 1271 w; 1173 w; 1135 m; 1094 m; 997 w; 882 w; 841 m; 756 m; 700 m; 614 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 1.35$  (t,  $^3J = 7.0$  Hz, 3H  $OCH_2CH_3$ ); 2.98 (m, 4H,  $ArCH_2CH_2$ ); 4.41 (q,  $^3J = 7.0$  Hz, 2H,  $OCH_2CH_3$ ); 7.28-7.30 (m, 3H,  $ArH-2$ ,  $ArH-4$ ,  $ArH-6$ ); 7.35-7.38 (m, 2H,  $ArH-3$ ,  $ArH-5$ ); 11.05 (s br, 1H, NH, austauschbar); 11.87 (s br, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 50°C):  $m/z$  % = 177  $[M]^{+}$  (37); 148  $[C_9H_{10}NO]$  (16); 132  $[C_9H_{10}N]$  (49); 105 (100); 91  $[C_7H_7]$  (55).

**CHN:** ber.: C 61.82 H 7.55 N 6.55    gef.: C 61.53 H 7.37 N 6.55

**3-(2-Chlorphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (49)**

Aus 36.35 mmol (6.02 g) 3-(2-Chlorphenyl)propionitril (**42**) und 39.99 mmol (1.84 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 28.77 mmol (7.14 g), 79 % als Hydrochlorid

$C_{11}H_{14}ClNO \cdot HCl$  (248.15)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 98 °C

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 1.30 (t,  $^3J$  = 7.0 Hz, 3H  $OCH_2CH_3$ ); 2.93-2.97 (m, 2H,  $ArCH_2CH_2$ ); 3.06-3.09 (m, 2H,  $ArCH_2CH_2$ ); 4.38 (q,  $^3J$  = 7.0 Hz, 2H,  $OCH_2CH_3$ ); 7.28-7.35 (m, 2H,  $ArH$ -4,  $ArH$ -6); 7.38-7.41 (m, 1H,  $ArH$ -5); 7.45-7.47 (m, 1H,  $ArH$ -3); 11.62 (s br, 2H,  $NH$ , austauschbar).

**MS** (EI, 150°C):  $m/z$  % = 211  $[M]^{+}$  (1); 176  $[C_{11}H_{14}NO]$  (81); 166  $[C_9H_9ClN]$  (15); 148  $[C_9H_{10}NO]$  (100); 139  $[C_8H_8Cl]$  (15); 125  $[C_7H_6Cl]$  (27).

**3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (50)**

Aus 21.90 mmol (3.53 g) 3-(4-Methoxyphenyl)propionitril (**43**) und 24.09 mmol (1.11 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 18.46 mmol (4.50 g), 84 % als Hydrochlorid

$C_{12}H_{17}NO_2 \cdot HCl$  (243.73)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 84 °C

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 1.31 (t,  $^3J$  = 7.0 Hz, 3H  $OCH_2CH_3$ ); 2.89 (m, 4H,  $ArCH_2CH_2$ ); 3.72 (s, 3H,  $OCH_3$ ); 4.37 (q,  $^3J$  = 7.0 Hz, 2H,  $OCH_2CH_3$ ); 6.86-6.89 (m, 2H,  $ArH$ -3,  $ArH$ -5); 7.15-7.17 (m, 2H,  $ArH$ -2,  $ArH$ -6); 11.13 (s br, 1H,  $NH$ , austauschbar); 11.85 (s br, 1H,  $NH$ , austauschbar).

**MS** (EI, 70°C):  $m/z$  % = 207  $[M]^{+}$  (57); 178  $[C_{10}H_{12}NO_2]$  (31); 162  $[C_{10}H_{12}NO]$  (13); 135  $[C_9H_{11}O]$  (100); 121  $[C_8H_7O]$  (82).

**4-Phenylbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (51)**

Aus 0.100 mol (14.52 g) 4-Phenylbutanitril und 0.110 mol (5.07 g) Ethanol.

**Ausbeute:** 77.12 mmol (17.56 g), 77 % als Hydrochlorid

$C_{12}H_{17}NO \cdot HCl$  (227.73)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 88 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3500-2500 s br (NH); 1639 s; 1449 m; 1393 m; 1160 m; 1128 m; 1092 m; 1012 w; 856 m; 744 m; 699 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.37 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 3H OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.92-2.00 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2.64-2.70 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.41 (q, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 7.21-7.36 (m, 5H, ArH); 11.10 (s br, 1H, NH, austauschbar); 12.01 (s br, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 150°C): m/z % = 191 [M]<sup>+</sup> (2); 163 [C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO] (15); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (20); 87 (61); 59 (100).

**CHN:** ber.: C 63.29 H 7.97 N 6.15    gef.: C 62.89 H 7.92 N 6.38

### 9.2.9 Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]imidazole

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 2,3-Diaryl-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]imidazole:

3.00 mmol (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethan werden mit 4.00 mmol 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**) in 30 ml Ethanol abs. suspendiert und zum Sieden erhitzt. Dabei gehen beide Edukte in Lösung und die Lösung verfärbt sich gelb. Nach abgeschlossener Reaktion wird die Lösung einrotiert und das Rohprodukt säulen- bzw. rotationschromatographisch oder per Umkristallisation gereinigt.

#### (*2R,3S*)/(*2S,3R*)-2,3-Diphenyl-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]imidazol (**52**)

Aus 3.00 mmol (637 mg) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethan (**18**) und 4.00 mmol (744 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 0.5% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Petrolether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.72 mmol (451 mg), 57 %

C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub> (262.35)

weißes Pulver

**Schmp.:** 106 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3432 m br; 2944 w; 2357 w; 1638 ; 1453 w; 1402 m; 1231 m; 705 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 2.31-2.38 (m, 3H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.56-2.63 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.75-2.81 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.95-2.99 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 4.79 (d,  $^3J = 9.8$  Hz, 1H, ArCH); 5.58 (d,  $^3J = 9.8$  Hz, 1H, ArCH); 6.88-7.05 (m, 10H, ArH).

**MS** (EI, 40°C):  $m/z$  % = 262  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (80); 185  $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2]$  (12); 158  $[\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}]$  (100); 131  $[\text{C}_{10}\text{H}_{11}]$  (36); 104  $[\text{C}_7\text{H}_6\text{N}]$  (20); 91  $[\text{C}_7\text{H}_7]$  (46).

**CHN**: ber.: C 82.41 H 6.92 N 10.68 gef.: C 82.63 H 7.13 N 10.66

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-chlorphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (53)**

Aus 3.00 mmol (844 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-chlorphenyl)ethan (19) und 4.00 mmol (744 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (46).

Das Produkt wird mit 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene gelbe Öl wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 0.5% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 1.57 mmol (520 mg), 52 %

$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$  (331.24)

hellgelbes Pulver

**Schmp.:** 96 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 w; 2863 w; 1635 s; 1468 m; 1440 m; 1400 m; 1349 m; 1263 m; 1223 m; 1035 m; 1006 w; 774 m; 645 w.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 2.27-2.43 (m, 3H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.56-2.67 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.80-2.85 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.91-2.95 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 5.22 (d,  $^3J = 9.7$  Hz, 1H, ArCH); 6.03 (d,  $^3J = 9.7$  Hz, 1H, ArCH); 6.92-6.93 (m, 1H, ArH-4); 6.96-7.00 (m, 1H, Ar'H-4); 7.02-7.09 (m, 3H, ArH-5, ArH-6, Ar'H-6); 7.11-7.15 (m, 1H, Ar'H-5); 7.23-7.29 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3);

**MS** (EI, 200°C):  $m/z$  % = 330  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (51); 295  $[\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2]$  (47); 219  $[\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{ClN}_2]$  (10); 192 (100).

**CHN**: ber.: C 65.27 H 4.87 N 8.46 gef.: C 65.01 H 4.94 N 8.48

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-chlorphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (54)**

Aus 3.00 mmol (844 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-chlorphenyl)ethan (20) und 4.00 mmol (744 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (46).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.22 mmol (470 mg), 41 % als Hydrochlorid

$C_{18}H_{16}Cl_2N_2 \cdot HCl \cdot H_2O$  (385.72)

weißes Pulver

**Schmp.:** 194 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3401$  m br; 2893 m br; 2698 m; 1637 s; 1596 s; 1478 m; 1433 m; 1305 w; 1275 m; 1082 m; 906 w; 807 m; 690 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 2.43$ -2.67 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.87-2.96 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.15-3.23 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.42-3.48 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.65 (d,  $^3J = 11.8$  Hz, 1H, ArCH); 6.15 (d,  $^3J = 11.8$  Hz, 1H, ArCH); 7.05-7.06 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.14-7.20 (m, 5H, ArH-2, ArH-4, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.26 (m, 1H, Ar'H-4); 10.92 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 200°C): m/z % = 330 [M]<sup>+</sup> (44); 219 [C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>ClN<sub>2</sub>] (11); 192 (100).

**CHN:** ber.: C 56.05 H 4.97 N 7.26 gef.: C 55.20 H 5.41 N 8.09

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-chlorphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (55)**

Aus 3.00 mmol (844 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (21) und 4.00 mmol (744 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (46).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt.

**Ausbeute:** 0.98 mmol (325 mg), 33 %

$C_{18}H_{16}Cl_2N_2$  (331.24)

weißes Pulver

**Schmp.:** 135 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  w br; 2947 m; 2842 m; 1649 s; 1488 s; 1400 m; 1264 m; 1225 m; 1087 m; 1011 m; 880 m; 813 m; 761 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 2.32$ -2.37 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.56-2.67 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.78-2.80 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.93-2.97 (m, 1H,

CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 4.84 (d, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, ArCH); 5.62 (d, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, ArCH); 6.90-6.97 (m, 4H, ArH-2, ArH-3, ArH-5, ArH-6); 7.09-7.16 (m, 4H, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-5, Ar'H-6).

**MS** (EI, 120°C): m/z % = 330 [M]<sup>++</sup> (71); 219 [C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>ClN<sub>2</sub>] (9); 192 (100); 165 (31); 138 [C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>ClN] (15).

**CHN**: ber.: C 65.27 H 4.87 N 8.46 gef.: C 65.22 H 4.87 N 8.42

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-fluorphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (56)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-fluorphenyl)ethan (**22**) und 2.60 mmol (484 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene gelbe Öl wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 1.34 mmol (400 mg), 67 %

C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (298.33)

weißes Pulver

**Schmp.**: 281 °C

**IR** (KBr): ν = 3420 w br; 2900 m; 2700 w; 1641 s; 1585 m; 1492 s; 1457 m; 1237 m; 1181 w; 1104 w; 1034 w; 821 w; 759 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO): δ = 2.30-2.43 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.56-2.62 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.83-2.89 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.91-2.96 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.09 (d, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1H, ArCH); 5.89 (d, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1H, ArCH); 6.74-6.79 (m, 1H, ArH-3); 6.83-6.91 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-3); 6.93-6.99 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-5); 7.01-7.10 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-6); 7.15-7.20 (m, 1H, Ar'H-4).

**MS** (EI, 200°C): m/z % = 298 [M]<sup>++</sup> (99); 203 [C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>] (11); 176 (100); 122 [C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>FN] (16); 109 [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>F] (49).

**CHN**: ber.: C 72.47 H 5.41 N 9.39 gef.: C 72.43 H 5.39 N 9.28

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-fluorphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (57)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-fluorphenyl)ethan (23) und 2.60 mmol (484 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (46).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt.

**Ausbeute:** 0.63 mmol (212 mg), 32 % als Hydrochlorid

$C_{18}H_{16}F_2N_2 \cdot HCl$  (334.79)

weißes Pulver

**Schmp.:** 237 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3387$  w br; 2926 w; 1643 s; 1615 m; 1590 s; 1487 m; 1449 s; 1265 m; 1138 w; 882 w; 778 m; 688 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 2.46$ -2.66 (m, 3H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 2.88-2.97 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 3.14-3.22 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 3.29-3.48 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 5.67 (d,  $^3J = 11.8$  Hz, 1H, ArCH); 6.16 (d,  $^3J = 11.8$  Hz, 1H, ArCH); 6.92-7.05 (m, 6H, ArH-2, ArH-5, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.15-7.21 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 10.97 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 150 °C): m/z % = 298 [M]<sup>+</sup> (91); 203 [ $C_{12}H_{12}FN_2$ ] (11); 176 (100); 122 [ $C_7H_5FN$ ] (16); 109 [ $C_7H_6F$ ] (34).

**CHN:** ber.: C 64.58 H 5.12 N 8.37 gef.: C 64.21 H 5.38 N 8.40

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-fluorphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (58)**

Aus 3.00 mmol (895 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (24) und 4.00 mmol (744 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (46).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 0,5% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

**Ausbeute:** 1.07 mmol (320 mg), 36 %

$C_{18}H_{16}F_2N_2$  (298.33)

weißes Pulver

**Schmp.:** 138 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  w br; 2951 w; 2840 w; 1646 s; 1603 m; 1507 s; 1399 m; 1267 m; 1224 s; 1156 m; 1011 w; 880 m; 818 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 2.33-2.40 (m, 3H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.67 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.88-2.90 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 3.02 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 4.94 (d,  $^3\text{J} = 9.9$  Hz, 1H,  $\text{ArCH}$ ); 5.68 (d,  $^3\text{J} = 9.9$  Hz, 1H,  $\text{ArCH}$ ); 6.84-6.99 (m, 8H,  $\text{ArH}$ ,  $\text{Ar}'\text{H}$ ).

**MS** (EI, 40 °C):  $m/z$  % = 298  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (83); 203  $[\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{FN}_2]$  (9); 176 (100); 122  $[\text{C}_7\text{H}_5\text{FN}]$  (24); 109  $[\text{C}_7\text{H}_6\text{F}]$  (51).

**CHN**: ber.: C 72.47 H 5.41 N 9.39 gef.: C 72.60 H 5.65 N 9.43

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-methoxyphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (59)**

Aus 2.00 mmol (545 mg) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-methoxyphenyl)ethan (**25**) und 2.60 mmol (484 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1.0% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.99 mmol (373 mg), 33 %

$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (376.88)

weißes Pulver

**Schmp.:** 58 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3416 s br; 2905 m; 2352 m; 1644 s; 1588 m; 1495 m; 1463 m; 1252 s; 1024 m; 761 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 2.93-3.09 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 3.31-3.45 (m, 2H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 3.59 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 3.64 (s, 3H,  $\text{Ar}'\text{OCH}_3$ ); 5.69 (m, 1H,  $\text{ArCH}$ ); 6.12 (d,  $^3\text{J} = 11.4$  Hz, 1H,  $\text{ArCH}$ ); 6.63-6.72 (m, 4H,  $\text{ArH-3}$ ,  $\text{ArH-5}$ ,  $\text{Ar}'\text{H-3}$ ,  $\text{Ar}'\text{H-5}$ ); 6.77-7.10 (m, 4H,  $\text{ArH-4}$ ,  $\text{ArH-6}$ ,  $\text{Ar}'\text{H-4}$ ,  $\text{Ar}'\text{H-6}$ ); 10.81 (s, 1H,  $\text{NH}$ , austauschbar).

**MS** (EI, 200 °C):  $m/z$  % = 322  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (100); 291  $[\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}]$  (22); 215  $[\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}]$  (35); 188 (84); 134  $[\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}]$  (8); 121  $[\text{C}_8\text{H}_9\text{O}]$  (38); 91  $[\text{C}_7\text{H}_7]$  (35).

**CHN**: ber.: C 63.74 H 6.69 N 7.43 gef.: C 63.60 H 7.13 N 7.58

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-methoxyphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (60)**

Aus 2.00 mmol (545 mg) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-methoxyphenyl)ethan (**26**) und 2.60 mmol (484 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene grüne Öl wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert. Das entstandene Produkt wird anschließend mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin säulen chromatographisch an Kieselgel gereinigt.

**Ausbeute:** 0.36 mmol (121 mg), 18 %

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> • 0.67 H<sub>2</sub>O (334.29)

gelbes Öl

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3358 m br; 2941 m; 1643 ; 1602 s; 1490 s; 1434 s; 1260 s; 1157 m; 1045 s; 871 m; 753 s; 694 m; 660 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 2.28-2.38 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.49-2.62 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.75-2.81 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.94-2.99 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.55 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 3.56 (s, 3H, Ar'OCH<sub>3</sub>); 4.75 (d, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, ArCH); 5.54 (d, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, ArCH); 6.45-6.47 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 6.51-6.58 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 6.91-7.00 (m, 2H ArH-5, Ar'H-5).

**MS** (EI, 100 °C): m/z % = 322 [M]<sup>+</sup> (98); 291 [C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O] (2); 215 [C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O] (13); 188 (100); 134 [C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>NO] (12); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (21); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (12).

**CHN:** ber.: C 71.86 H 7.03 N 8.38 gef.: C 71.83 H 7.20 N 8.27

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-methoxyphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo[1,2-a]-imidazol (61)**

Aus 4.00 mmol (1.09 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (**27**) und 5.20 mmol (968 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 0.5% Triethylamin säulen chromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Petrolether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.57 mmol (187 mg), 14 %

$C_{20}H_{22}N_2O_2 \cdot 0.25 H_2O$  (326.91)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 101 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3431$  w br; 2938 w; 2834 w; 1642 s; 1611 m; 1512 s; 1463 m; 1391 w; 1246 s; 1176 m; 1034 m; 822 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 2.30$ -2.38 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.73-2.77 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.90 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.60 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 3.62 (s, 3H, Ar'OCH<sub>3</sub>); 4.68 (d,  $^3J = 9.6$  Hz, 1H, ArCH); 5.47 (d,  $^3J = 9.6$  Hz, 1H, ArCH); 6.58-6.64 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 6.82-6.85 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6).

**MS** (EI, 175 °C):  $m/z$  % = 322 [M]<sup>++</sup> (100); 215 [C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O] (8); 188 (98); 134 [C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>NO] (20); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (49); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (16).

**CHN:** ber.: C 73.48 H 6.94 N 8.57 gef.: C 73.46 H 6.79 N 8.65

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-trifluormethylphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo-[1,2-a]imidazol (62)**

Aus 2.00 mmol (697 mg) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-trifluormethylphenyl)ethan (**28**) und 2.60 mmol (484 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene hellbraune Öl wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt.

**Ausbeute:** 0.45 mmol (180 mg), 23 %

$C_{20}H_{16}F_6N_2$  (398.35)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 92 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3433$  w br; 1647 m; 1313 s; 1162 m; 1114 s; 1039 m; 772 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 2.29$ -2.45 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.62-2.69 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.74-2.80 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.85-2.89 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.03 (d,  $^3J = 9.1$  Hz, 1H, ArCH); 5.85 (d,  $^3J = 9.1$  Hz, 1H, ArCH); 7.16-7.18 (m, 1H, ArH-6); 7.26-7.35 (m, 3H, ArH-4, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.41-7.43 (m, 1H, ArH-5); 7.53-7.60 (m, 3H, ArH-2, Ar'H-2, Ar'H-5).

**MS** (EI, 50 °C):  $m/z$  % = 398  $[M]^{++}$  (53); 379  $[C_{20}H_{16}F_5N_2]$  (3); 253  $[C_{13}H_{12}F_3N_2]$  (5); 226 (100); 199  $[C_{10}H_8F_3N]$  (35); 171  $[C_8H_4F_3N]$  (12); 159  $[C_8H_6F_3]$  (35).

**CHN**: ber.: C 60.30 H 4.05 N 7.03 gef.: C 60.56 H 4.26 N 6.97

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-trifluormethylphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo-[1,2-a]imidazol (63)**

Aus 1.00 mol (348 mg) *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(3-trifluormethylphenyl)ethan (**29**) und 1.30 mmol (242 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit 5%iger  $NaHCO_3$ -Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene braune Öl wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt.

**Ausbeute**: 0.51 mmol (204 mg), 51 %

$C_{20}H_{16}F_6N_2$  (398.35)

hellgelbes Öl

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3281 w br; 1946 m; 2857 m; 1644 s; 1492 m; 1451 m; 1405 m; 1329 s; 1264 m; 1218 m; 1165 s; 1123 s; 1073 m; 1012 w; 907 m; 819 m; 799 m; 757 s; 702 m; 661 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ( $[D_6]$ -DMSO):  $\delta$  = 2.32-2.44 (m, 3H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 2.63-2.69 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 2.85-2.89 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 2.98-3.02 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2N$ ); 5.01 (d,  $^3J$  = 10.1 Hz, 1H, ArCH); 5.82 (d,  $^3J$  = 10.1 Hz, 1H, ArCH); 7.08 (m, 1H, ArH-6); 7.18-7.35 (m, 7H, ArH-2, ArH-4, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6).

**MS** (EI, 190 °C):  $m/z$  % = 398  $[M]^{++}$  (87); 379  $[C_{20}H_{16}F_5N_2]$  (8); 253  $[C_{13}H_{12}F_3N_2]$  (12); 226 (100); 199  $[C_{10}H_8F_3N]$  (40); 171  $[C_8H_4F_3N]$  (10); 159  $[C_8H_6F_3]$  (37).

**CHN**: ber.: C 60.30 H 4.05 N 7.03 gef.: C 60.20 H 4.17 N 6.98

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-trifluormethylphenyl)-3,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrrolo-[1,2-a]imidazol (64)**

Aus 1.00 mol (348 mg) *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (**30**) und 1.30 mmol (242 mg) 4-Chlorbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**46**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene gelbe Öl wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt.

**Ausbeute:** 0.31 mmol (122 mg), 31 %

C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (398.35)

schwachgelbe Kristalle

**Schmp.:** 124 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3429 w br; 2984 w; 2849 w; 1652 m; 1620 m; 1418 m; 1327 s; 1269 m; 1224 m; 1165 s; 1123 s; 1067 m; 1019 m; 890 m; 824 m; 614 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 2.39-2.48 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.67-2.74 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.88-2.94 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.05-3.09 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.07 (d, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, ArCH); 5.86 (d, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, ArCH); 7.16 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.22 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 7.42 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, ArH-3, Ar'H-3); 7.47 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, ArH-5, Ar'H-5).

**MS** (EI, 150 °C): m/z % = 398 [M]<sup>+</sup> (74); 379 [C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>] (6); 253 [C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>] (8); 226 (100); 199 [C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>F<sub>3</sub>N] (32); 171 [C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>F<sub>3</sub>N] (10); 159 [C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>F<sub>3</sub>] (34).

**CHN:** ber.: C 60.30 H 4.05 N 7.03 gef.: C 60.19 H 4.27 N 7.06

### 9.2.10 Synthese der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridine

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 2,3-Diaryl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridine:

3.00 mmol (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-diarylethan werden mit 4.00 mmol 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**) in 30 ml Ethanol abs. suspendiert und zum Sieden erhitzt. Dabei gehen beide Edukte in Lösung und die Lösung verfärbt sich gelb. Nach abgeschlossener Reaktion wird die Lösung einrotiert und das Rohprodukt säulen- bzw. rotationschromatographisch oder per Umkristallisation gereinigt.

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Diphenyl-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridin (65)**

Aus 2.00 mmol (425 mg) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethan (**18**) und 2.60 mmol (520 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.36 mmol (100 mg), 18 %

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub> (276.38)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 127 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 w br; 2942 m; 2912 w; 1624 s; 1486 m; 1454 m; 1422 m; 1536 m; 1281 m; 1152 w; 1007 m; 772 m; 699 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.52-1.59 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.72-1.91 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.53-2.56 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.62-2.68 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.83-2.88 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 4.75 (d, <sup>3</sup>J = 10.5 Hz, 1H, ArCH); 5.21 (d, <sup>3</sup>J = 10.5 Hz, 1H, ArCH); 6.78-6.80 (m, 2H, ArH-2, ArH-6); 6.88-7.04 (m, 8H, ArH-3, ArH-4, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6).

**MS** (EI, 130 °C): m/z % = 276 [M]<sup>++</sup> (84); 199 [C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>] (49); 172 (100); 131 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N] (28); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (27).

**CHN:** ber.: C 82.57 H 7.29 N 10.14 gef.: C 82.45 H 7.33 N 10.09

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-chlorphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridin (66)**

Aus 4.00 mmol (1.12 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-chlorphenyl)ethan (**19**) und 5.20 mmol (1.04 g) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.64 mmol (222 mg), 16 %

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (345.27)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 187 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3431 w br; 2948 m; 1620 s; 1442 m; 1423 m; 1351 m; 1273 m; 1251 m; 1160 m; 1055 m; 1034 m; 1011 m; 763 s; 746 s; 687 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.53-1.63 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.66-1.76 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.80-1.82 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.86-1.90 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.55-2.57 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.68-2.74 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.78-2.81 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.21 (d, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, 1H, ArCH); 5.68 (d, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, 1H, ArCH); 6.83-6.85 (m, 1H, ArH-5); 6.94-6.97 (m, 1H, Ar'H-5); 7.00-7.07 (m, 4H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.10-7.14 (m, 1H, ArH-2); 7.24-7.26 (m, 1H, Ar'H-2).

**MS** (EI, 130 °C): m/z % = 344 [M]<sup>+</sup> (55); 309 [C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>2</sub>] (15); 233 [C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>2</sub>] (37); 206 (100); 172 (55); 125 [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>Cl] (29); 89 [C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>] (41).

**CHN:** ber.: C 66.09 H 5.25 N 8.11 gef.: C 66.07 H 5.29 N 8.03

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-chlorphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridin (67)**

Aus 4.00 mmol (1.12 g) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-chlorphenyl)ethan (**20**) und 5.20 mmol (1.04 g) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.56 mmol (213 mg), 14 %

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl (381.73)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 239 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 m br; 3043 m ; 2937 m; 1620 s; 1597 s; 1477 m; 1433 m; 1332 w; 1274 w; 1213 w; 1081 m; 886 w; 789 m; 691 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.80-1.94 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.71-2.76 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.96-3.07 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.20-3.25 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.61 (d, <sup>3</sup>J = 12.2 Hz, 1H, ArCH); 5.73 (d, <sup>3</sup>J = 12.2 Hz, 1H, ArCH); 7.04-7.05 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.13-7.22 (m, 6H, ArH-2, ArH-4, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-4, Ar'H-5); 10.66 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 180 °C):  $m/z$  % = 344  $[M]^{+}$  (62); 309  $[C_{19}H_{18}ClN_2]$  (6); 233  $[C_{13}H_{14}ClN_2]$  (58); 206 (100); 165 (32); 125  $[C_7H_6Cl]$  (30); 89  $[C_7H_5]$  (40).

**CHN**: ber.: C 59.78 H 5.02 N 7.34 gef.: C 59.31 H 5.56 N 7.23

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-chlorphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridin (68)**

Aus 2.00 mmol (425 mg) *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (**21**) und 2.60 mmol (520 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger  $NaHCO_3$ -Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt.

**Ausbeute**: 0.46 mmol (160 mg), 23 %

$C_{19}H_{18}Cl_2N_2$  (345.27)

weiße Kristalle

**Schmp.**: 166 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 w br; 2945 m; 2360 w; 1624 s; 1488 s; 1408 m; 1349 m; 1278 m; 1155 m; 1089 s; 1012 s; 882 m; 810 m; 740 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ( $[D_6]$ -DMSO):  $\delta$  = 1.53-1.58 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2CH_2N$ ); 1.72-1.90 (m, 3H,  $CCH_2CH_2CH_2CH_2N$ ); 2.53-2.55 (m, 2H,  $CCH_2CH_2CH_2CH_2N$ ); 2.66-2.67 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2CH_2N$ ); 2.81 (m, 1H,  $CCH_2CH_2CH_2CH_2N$ ); 4.79 (d,  $^3J$  = 10.6 Hz, 1H, ArCH); 5.25 (d,  $^3J$  = 10.6 Hz, 1H, ArCH); 6.82 (AA'BB',  $^3J$  = 8.4 Hz, 2H, ArH-2, ArH-6); 6.93 (AA'BB',  $^3J$  = 8.2 Hz, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.08 (AA'BB',  $^3J$  = 8.4 Hz, 2H, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.14 (AA'BB',  $^3J$  = 8.5 Hz, 2H, Ar'H-3, Ar'H-5).

**MS** (EI, 70 °C):  $m/z$  % = 344  $[M]^{+}$  (50); 309  $[C_{19}H_{18}ClN_2]$  (4); 233  $[C_{13}H_{14}ClN_2]$  (37); 206 (100); 165 (22); 125  $[C_7H_6Cl]$  (26); 89  $[C_7H_5]$  (24).

**CHN**: ber.: C 66.09 H 5.25 N 8.11 gef.: C 66.03 H 5.40 N 8.16

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-fluorphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-*a*]pyridin (69)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) *(1R,2S)/(1S,2R)*-1,2-Diamino-1,2-bis(2-fluorphenyl)ethan (**22**) und 2.60 mmol (520 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.12 mmol (350 mg), 56 %

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (312.36)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 151 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 w br; 2944 m; 1627 s; 1586 m; 1486 s; 1459 s; 1423 m; 1355 m; 1273 m; 1228 s; 1183 m; 1096 m; 1010 m; 942 w; 821 m; 762 s; 706 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.57-1.61 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.74-1.85 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.53-2.56 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.76-2.82 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.06 (d, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, 1H, ArCH); 5.53 (d, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, 1H, ArCH); 6.71-6.83 (m, 3H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3); 6.91-7.07 (m, 5H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6).

**MS** (EI, 110 °C): m/z % = 312 [M]<sup>++</sup> (81); 217 [C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (38); 190 (100); 172 (27); 149 (22); 109 [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>F] (29).

**CHN:** ber.: C 73.06 H 5.81 N 8.97 gef.: C 72.94 H 5.95 N 8.98

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-fluorphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridin (70)**

Aus 4.00 mmol (993 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-fluorphenyl)ethan (23) und 5.20 mmol (1.04 g) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (47).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (85+15) unter Zusatz von 0,5% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Petrolether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.34 mmol (419 mg), 34 %

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (312.36)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 108 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 m br; 2954 m; 1618 s; 1486 m; 1449 m; 1252 m; 1137 w; 888 m; 795 m 728 w.

**<sup>1</sup>H-NMR<sub>400 MHz</sub>** ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.52-1.61 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.73-1.91 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.55-2.62 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.66-2.73 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.85-2.89 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 4.82 (d, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, 1H, ArCH); 5.29 (d, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, 1H, ArCH); 6.58-6.61 (m, 1H, ArH-2); 6.64-6.66 (m, 1H, Ar'H-2); 6.68-6.71 (m, 1H, ArH-4); 6.75-6.85 (m, 3H, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.01-7.06 (m, 1H, ArH-5); 7.09-7.14 (m, 1H, Ar'H-5).

**MS** (EI, 40 °C): m/z % = 312 [M]<sup>+</sup> (69); 217 [C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (40); 190 (100); 149 (22); 109 [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>F] (28).

**CHN:** ber.: C 73.06 H 5.81 N 8.97 gef.: C 72.60 H 6.09 N 8.57

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-fluorphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]pyridin (71)**

Aus 4.00 mmol (993 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (24) und 5.20 mmol (1.04 g) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (47).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 0,5% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das erhaltene Öl wird mit 5%iger NaOH-Lösung versetzt und mit Ethylacetat extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückbleibende Produkt wird aus Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.17 mmol (412 mg), 29 %

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl • 0.25 H<sub>2</sub>O (353.32)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 228 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 m br; 3065 m; 2942 m; 1620 s; 1512 s; 1229 s; 1161 m; 879 w; 818 m; 798 m.

**<sup>1</sup>H-NMR<sub>400 MHz</sub>** ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.82-1.89 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.75-2.79 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.94-3.05 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.19-3.23 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 5.62 (d, <sup>3</sup>J = 11.8 Hz, 1H, ArCH); 5.73 (d, <sup>3</sup>J = 11.8 Hz, 1H, ArCH); 6.96-7.02 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.05-7.12 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 10.67 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 100 °C): m/z % = 312 [M]<sup>+</sup> (62); 217 [C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (27); 190 (100); 149 (31); 109 [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>F] (40).

**CHN:** ber.: C 64.59 H 5.56 N 7.93 gef.: C 64.22 H 5.87 N 8.19

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-methoxyphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]-pyridin (72)**

Aus 1.75 mmol (477 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-methoxyphenyl)ethan (25) und 2.28 mmol (456 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (47).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.63 mmol (211 mg), 36 %

C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (336.43)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 137 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 m br; 2954 m; 1618 s; 1486 m; 1449 m; 1252 m; 1137 w; 888 m; 795 m; 728 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.52-1.54 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.69-1.88 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.54-2.60 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.78-2.80 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.38 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 3.78 (s, 3H, Ar'OCH<sub>3</sub>); 5.00 (d, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, ArCH); 5.48 (d, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, ArCH); 6.46-6.48 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3); 6.54-6.56 (m, 1H, ArH-5); 6.64-6.68 (m, 1H, Ar'H-5); 6.75-6.77 (m, 1H, ArH-4); 6.83-6.85 (m, 1H, Ar'H-4); 6.89-6.97 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6).

**MS** (EI, 80 °C): m/z % = 336 [M]<sup>+</sup> (47); 305 [C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O] (7); 229 (100); 202 (32); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (13); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (21).

**CHN:** ber.: C 74.97 H 7.19 N 8.33 gef.: C 75.09 H 7.29 N 8.32

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-methoxyphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo[1,2-a]-pyridin (73)**

Aus 2.00 mmol (545 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (27) und 2.60 mmol (520 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (47).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin

rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.56 mmol (190 mg), 28 %

$C_{21}H_{24}N_2O_2$  (336.43)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 119 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3433 w br; 2934 m; 2836 w; 1617 s; 1512 s; 1459 m; 1416 m; 1348 m; 1287 m; 1251 s; 1173 m; 1036 m; 880 w; 822 w; 801 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.53-1.56 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.70-1.87 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.47-2.52 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.57-2.63 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.78-2.80 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.60 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 3.61 (s, 3H, Ar'OCH<sub>3</sub>); 4.62 (d,  $^3J$  = 10.2 Hz, 1H, ArCH); 5.09 (d,  $^3J$  = 10.2 Hz, 1H, ArCH); 6.55-6.63 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 6.70-6.73 (m, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 6.79-6.82 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6).

**MS** (EI, 100 °C):  $m/z$  % = 336 [M]<sup>+</sup> (74); 305 [C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O] (3); 229 (29); 202 (100); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (27); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (8).

**CHN:** ber.: C 74.97 H 7.19 N 8.33 gef.: C 74.76 H 7.06 N 8.34

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(2-trifluormethylphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo-[1,2-a]pyridin (74)**

Aus 2.00 mmol (697 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-trifluormethylphenyl)ethan (**28**) und 2.60 mmol (520 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird mit Diethylether/Methanol (9+1) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.97 mmol (400 mg), 49 %

$C_{21}H_{18}F_6N_2$  (412.37)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 138 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3438 w br; 2934 w; 1624 m; 1460 m; 1423 m; 1353 m; 1315 s; 1178 m; 1156 m; 1131 s; 1106 s; 1062 m; 1037 m; 1003 w; 776 m; 655 w.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 1.55-1.93 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.57-2.67 (m, 3H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.71-2.75 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 5.01 (d,  $^3\text{J} = 9.4$  Hz, 1H, ArCH); 5.47 (d,  $^3\text{J} = 9.4$  Hz, 1H, ArCH); 7.07-7.09 (m, 1H, ArH-6); 7.24-7.41 (m, 5H, ArH-4, ArH-5, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.53-7.58 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3).

**MS** (EI, 50 °C):  $m/z$  % = 412  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (38); 267  $[\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2]$  (24); 240  $[\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}]$  (100); 199  $[\text{C}_{10}\text{H}_8\text{F}_3\text{N}]$  (25); 172  $[\text{C}_8\text{H}_3\text{F}_3\text{N}]$  (28); 159  $[\text{C}_8\text{H}_6\text{F}_3]$  (19).

**CHN**: ber.: C 61.16 H 4.40 N 6.79 gef.: C 61.21 H 4.80 N 6.89

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(3-trifluormethylphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo-[1,2-a]pyridin (75)**

Aus 1.00 mmol (348 mg) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-trifluormethylphenyl)ethan (**29**) und 1.30 mmol (260 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (**47**).

Das Produkt wird mit 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Das nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Öl wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend mit Diethylether/Methanol (9+1) säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

**Ausbeute**: 0.43 mmol (177 mg), 43 %

$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{F}_6\text{N}_2$  (412.37)

hellgelbes Öl

**IR** (KBr):  $\nu$  = 2952 m; 1620 m; 1449 m; 1422 m; 1329 s; 1273 m; 1216 s; 1166 s; 1127 s; 1073 m; 764 s; 668 m.

**$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$**  ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 1.56-1.62 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 1.76-1.93 (m, 3H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.58-2.61 (m, 2H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.74-2.79 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.83-2.87 (m, 1H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 4.99 (d,  $^3\text{J} = 10.8$  Hz, 1H, ArCH); 5.46 (d,  $^3\text{J} = 10.8$  Hz, 1H, ArCH); 7.01 (s, 1H, ArH-6); 7.09-7.34 (m, 7H, ArH-2, ArH-4, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6).

**MS** (EI, 30 °C):  $m/z$  % = 412  $[\text{M}]^{+\bullet}$  (70); 267  $[\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2]$  (46); 240  $[\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}]$  (100); 199  $[\text{C}_{10}\text{H}_8\text{F}_3\text{N}]$  (36); 172  $[\text{C}_8\text{H}_3\text{F}_3\text{N}]$  (10); 159  $[\text{C}_8\text{H}_6\text{F}_3]$  (23).

**CHN**: ber.: C 61.16 H 4.40 N 6.79 gef.: C 61.04 H 4.88 N 6.61

**(2R,3S)/(2S,3R)-2,3-Bis(4-trifluormethylphenyl)-2,3,5,6,7,8-hexahydroimidazo-[1,2-a]pyridin (76)**

Aus 2.00 mmol (697 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (30) und 2.60 mmol (520 mg) 5-Chlorpentanimidsäureethylester Hydrochlorid (47).

Das Produkt wird mit 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Der nach dem Abrotieren des Lösungsmittels zurückgebliebene Feststoff wird aus Petrolether/Diisopropylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.27 mmol (112 mg), 14 %

C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (412.37)

gelbe Kristalle

**Schmp.:** 165 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3431 w br; 2953 w; 1621 m; 1420 m; 1327 s; 1166 s; 1127 s; 1067 m; 888 w; 824 w; 737 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.55-1.65 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 1.73-1.96 (m, 3H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.57-2.60 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.70-2.81 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 2.84-2.94 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 4.99 (d, <sup>3</sup>J = 10.9 Hz, 1H, ArCH); 5.45 (d, <sup>3</sup>J = 10.9 Hz, 1H, ArCH); 7.01 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, ArH-2, ArH-6); 7.12 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.33 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.39 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, Ar'H-3, Ar'H-5).

**MS** (EI, 190 °C): m/z % = 412 [M]<sup>+</sup> (74); 267 [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>] (50); 240 [C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N] (100); 199 [C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>F<sub>3</sub>N] (27); 172 [C<sub>8</sub>H<sub>3</sub>F<sub>3</sub>N] (10); 159 [C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>F<sub>3</sub>] (25).

**CHN:** ber.: C 61.16 H 4.40 N 6.79 gef.: C 61.04 H 4.48 N 6.89

### 9.2.11 Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline

**Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline:**

3.00 mmol 1,2-Diamino-1,2-diarylethan werden mit 4.00 mmol des entsprechenden 3-Phenylpropionimidsäureethylesters in 30 ml Ethanol abs. suspendiert und zum Sieden erhitzt. Dabei gehen beide Edukte in Lösung und die Lösung verfärbt sich gelb. Nach abgeschlossener Reaktion wird die Lösung einrotiert und das Rohprodukt säulen- bzw. rotationschromatographisch oder per Umkristallisation gereinigt.

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-2-Phenethyl-4,5-diphenyl-2-imidazolin (77)**

Aus 2.00 mmol (425 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethan (**18**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.31 mmol (112 mg), 16 %

C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub> • HCl (362.90)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 228 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3430 m br; 3063 s; 2930 s; 1603 s; 1455 m; 1256 w; 743 m; 699 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.14-3.18 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.69 (s, 2H, ArCH); 6.71-6.74 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.01-7.02 (m, 6H, ArH-3, ArH-4, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-4, Ar'H-5); 7.41-7.43 (m, 5H, Ar-H); 10.70 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 200 °C): m/z % = 326 [M]<sup>+</sup> (36); 221 [C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>] (38); 130 [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N] (15); 117 [C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N] (100); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (13).

**CHN:** ber.: C 76.12 H 6.39 N 7.72 gef.: C 76.13 H 6.46 N 7.81

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-chlorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (78)**

Aus 3.38 mmol (950 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-chlorphenyl)ethan (**19**) und 3.90 mmol (833 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.18 mmol (467 mg), 35 %

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (395.32)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 143 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3432 m br; 3142 m; 2926 m; 1610 m; 1495 m; 1472 m; 1440 m; 1281 w; 1034 m; 750 s.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 2.70 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.05 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.58 (s, 2H, ArCH); 6.81-6.84 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 6.91-6.95 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 6.97-7.01 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.09-7.11 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3); 7.35-7.36 (m, 5H, ArH).

**MS** (EI, 200 °C): m/z % = 394 [M]<sup>+</sup> (23); 255 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>2</sub>] (26); 164 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>ClN] (6); 140 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClN] (41); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 69.88 H 5.10 N 7.09    gef.: C 69.85 H 5.04 N 7.07

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(3-chlorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (79)**

Aus 2.00 mmol (562 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-chlorphenyl)ethan (**20**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.71 mmol (740 mg), 86 %

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl (431.79)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 251 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3432 s br; 3061 m; 2929 m; 1603 s; 1433 m; 1259 w; 1081 w; 749 m; 694 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.19-3.21 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.76 (s, 2H, ArCH); 6.71-6.73 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 6.94-6.95 (m, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 7.06-7.15 (m, 4H, ArH-4, ArH-5, Ar'H-4, Ar'H-5); 7.42-7.43 (m, 5H, ArH); 11.05 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 220 °C): m/z % = 394 [M]<sup>+</sup> (17); 255 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>2</sub>] (31); 164 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>ClN] (10); 137 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClN] (25); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 63.98 H 4.90 N 6.49    gef.: C 63.84 H 4.90 N 6.52

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (80)**

Aus 2.00 mmol (562 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (**21**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.25 mmol (562 mg), 63 %

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl • H<sub>2</sub>O (449.80)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 307 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3402 m br; 2928 s br; 1601 s; 1492 s; 1414 m; 1258 w; 1093 s; 1015 m; 877 m; 761 m; 701 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.17-3.21 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.74 (s, 2H, ArCH); 6.77 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.14

(AA'BB',  $^3J = 8.5$  Hz, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.40-7.46 (m, 5H, ArH); 11.02 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 220 °C):  $m/z$  % = 394 [M]<sup>+</sup> (17); 255 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>2</sub>] (52); 164 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>ClN] (11); 137 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClN] (28); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN**: ber.: C 61.42 H 5.15 N 6.23 gef.: C 61.70 H 5.02 N 6.41

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(2-fluorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (81)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-fluorphenyl)ethan (22) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (48).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.53 mmol (212 mg), 27 %

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl (398.88)

weiße Kristalle

**Schmp.**: 251 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3428$  m br; 3058 s; 2923 s; 1506 s; 1492 s; 1456 m; 1238 m; 1183 w; 1106 w; 818 m; 759 s; 702 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.12$ -3.16 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.96 (s, 2H, ArCH); 6.75-6.77 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3); 6.90-6.94 (m, 4H, ArH-5, ArH-6, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.14-7.16 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 7.33-7.42 (m, 5H, ArH); 10.93 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 170 °C):  $m/z$  % = 362 [M]<sup>+</sup> (35); 239 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (26); 148 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>FN] (9); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN**: ber.: C 69.26 H 5.31 N 7.02 gef.: C 69.22 H 5.49 N 7.24

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(3-fluorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (82)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-fluorphenyl)ethan (23) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (48).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 1.13 mmol (451 mg), 57 %

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl (398.88)

weiße Kristalle

**Schmp.**: 206 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3381 m br; 3065 s br; 2930 s br; 1684 m; 1603 s; 1492 m; 1453 s; 1255 m; 1148 m; 883 m; 778 m; 745 m; 699 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.19-3.22 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.77 (s, 2H, ArCH); 6.64-6.71 (m, 4H, ArH-2, ArH-4, Ar'H-2, Ar'H-4); 6.88-6.93 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.08-7.14 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 7.31-7.43 (m, 5H, ArH); 11.07 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 180 °C): m/z % = 362 [M]<sup>+</sup> (43); 239 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (40); 148 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>FN] (19); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN**: ber.: C 69.26 H 5.31 N 7.02 gef.: C 69.33 H 5.64 N 7.49

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(4-fluorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (83)**

Aus 3.99 mmol (991 mg) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (**24**) und 5.19 mmol (1.11 g) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 3.68 mmol (1.50 g), 92 %

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub> • HCl • 0.5 H<sub>2</sub>O (407.88)

weiße Kristalle

**Schmp.**: 250 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3432 m br; 3052 s; 2920 s; 1679 w; 1607 s; 1512 s; 1429 w; 1297 w; 1232 s; 1162 m; 880 m; 798 m; 743 m; 702 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.17-3.21 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.73 (s, 2H, ArCH); 6.75-6.79 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 6.88-6.92 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.37-7.45 (m, 5H, ArH); 10.97 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 170 °C): m/z % = 362 [M]<sup>+</sup> (35); 239 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (34); 148 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>FN] (16); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN**: ber.: C 67.73 H 5.44 N 6.87 gef.: C 67.35 H 5.15 N 7.22

**(4R,5R)/(4S,5S)-4,5-Bis(4-fluorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (84)**

Aus 4.03 mmol (1.00 g) (*IR,2R*)/(*IS,2S*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (**34**) und 5.24 mmol (1.12 g) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.39 mmol (554 mg), 35 %

$C_{23}H_{20}F_2N_2 \cdot HCl$  (398.88)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 248 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3433 m br; 3062 m; 2935 m; 1609 s; 1515 s; 1303 w; 1252 s; 1179 m; 1031 m; 847 w; 799 w; 747 w; 701 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.12-3.16 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.05 (s, 2H, ArCH); 7.20-7.22 (m, 8H, ArH-2, ArH-3, ArH-5, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.32-7.38 (m, 5H, ArH); 10.27 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 160 °C): m/z % = 362 [M]<sup>+</sup> (32); 239 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>] (38); 148 [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>FN] (19); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 69.26 H 5.31 N 7.02 gef.: C 69.64 H 5.04 N 6.98

#### **(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (85)**

Aus 2.00 mmol (545 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-methoxyphenyl)ethan (**25**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.14 mmol (482 mg), 57 %

$C_{25}H_{26}N_2O_2 \cdot HCl$  (422.95)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 241 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3431 w br; 3063 m; 2938 m; 1605 s; 1495 s; 1463 m; 1253 s; 1121 w; 1050 w; 1028 m; 755 s.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.07 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.17 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.57 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 5.78 (s, 2H, ArCH); 6.62-6.72 (m, 6H, ArH-3, ArH-4, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-4, Ar'H-5); 7.03-7.07 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.34-7.41 (m, 5H, ArH); 10.75 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 100 °C): m/z % = 386 [M]<sup>+</sup> (100); 355 [C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O] (4); 251 [C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO] (100); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (12).

**CHN:** ber.: C 70.99 H 6.43 N 6.62 gef.: C 71.12 H 6.61 N 6.67

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(3-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (86)**

Aus 1.85 mmol (504 mg) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-methoxyphenyl)ethan (**26**) und 2.33 mmol (498 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.25 mmol (530 mg), 68 %

$C_{25}H_{26}N_2O_2 \cdot HCl$  (422.95)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 235 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  m br; 3059 m; 2936 m; 1605 s; 1494 m; 1453 m; 1260 s; 1171 m; 1038 m; 872 m; 783 m; 697 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 3.16$ -3.21 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.56 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 5.67 (s, 2H, ArCH); 6.35-6.37 (m, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 6.45-6.46 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 6.61-6.64 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 6.95-6.99 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 7.32-7.41 (m, 5H, ArH); 10.94 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 125 °C): m/z % = 386 [M]<sup>+</sup> (65); 251 [C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO] (92); 160 [C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>NO] (49); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 70.99 H 6.43 N 6.62 gef.: C 70.85 H 6.38 N 6.84

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (87)**

Aus 2.00 mmol (545 mg) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (**27**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.09 mmol (462 mg), 55 %

$C_{25}H_{26}N_2O_2 \cdot HCl$  (422.95)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 252 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  m br; 3064 m; 2936 m; 1609 s; 1515 s; 1304 w; 1253 s; 1179 m; 1031 m; 800 w; 747 w; 701 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta = 3.14$ -3.19 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.62 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 5.60 (s, 2H, ArCH); 6.60-6.63 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 6.66-6.69 (m, 4H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.37-7.46 (m, 5H, ArH); 10.76 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 120 °C):  $m/z$  % = 386  $[M]^+$  (40); 251  $[C_{17}H_{17}NO]$  (66); 160  $[C_{10}H_{10}NO]$  (15); 117  $[C_9H_9]$  (100).

**CHN**: ber.: C 70.99 H 6.43 N 6.62 gef.: C 71.05 H 6.59 N 6.67

**(4*R*,5*R*)/(4*S*,5*S*)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (88)**

Aus 3.78 mmol (1.03 g) (*1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (**35**) und 4.91 mmol (1.05 g) 3-Phenylpropionimidensäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.87 mmol (368 mg), 23 %

$C_{25}H_{26}N_2O_2 \cdot HCl$  (422.95)

weiße Kristalle

**Schmp.**: 245 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3434 m br; 3067 m; 2940 m; 1614 s; 1518 s; 1307 w; 1258 m; 1180 m; 1035 m; 800 w; 746 w; 703 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.10-3.20 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.61 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 4.93 (s, 2H, ArCH); 6.93-7.05 (m, 8H, ArH-2, ArH-3, ArH-5, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.31-7.40 (m, 5H, ArH); 10.22 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 130 °C):  $m/z$  % = 386  $[M]^+$  (38); 251  $[C_{17}H_{17}NO]$  (62); 160  $[C_{10}H_{10}NO]$  (11); 117  $[C_9H_9]$  (100).

**CHN**: ber.: C 70.99 H 6.43 N 6.62 gef.: C 71.42 H 6.07 N 6.83

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-trifluormethylphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (89)**

Aus 2.00 mmol (697 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-trifluormethylphenyl)ethan (**28**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidensäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.95 mmol (474 mg), 48 %

$C_{25}H_{20}F_6N_2 \cdot HCl$  (498.89)

weißes Pulver

**Schmp.**: 311 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3433 w br; 3043 m; 2905 m; 1603 m; 1455 m; 1315 s; 1169 s; 1118 s; 1038 m; 769 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.18-3.21 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.98 (s, 2H, ArCH); 6.93-6.95 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.38-7.58 (m, 11H, ArH-3, ArH-4, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-4, Ar'H-5, ArH); 11.22 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 100 °C): m/z % = 462 [M]<sup>+</sup> (18); 289 [C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N] (21); 171 [C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>F<sub>3</sub>N] (26); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN**: ber.: C 60.19 H 4.24 N 5.62 gef.: C 60.53 H 4.51 N 5.77

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(3-trifluormethylphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (90)**

Aus 0.54 mmol (188 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-trifluormethylphenyl)ethan (**29**) und 0.67 mmol (143 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.42 mmol (208 mg), 78 %

C<sub>25</sub>H<sub>20</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub> • HCl (498.89)

weißes Pulver

**Schmp.**: 242 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3418 w br; 3054 m; 2862 m; 1608 m; 1453 m; 1331 s; 1262 w; 1165 m; 1124 s; 1076 m; 841 w; 793 w; 750 m; 702 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.24 (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.92 (s, 2H, ArCH); 6.97-6.99 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.19 (s, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 7.24-7.28 (m, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 7.35-7.45 (m, 7H, ArH-4, Ar'H-4, ArH); 11.19 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 125 °C): m/z % = 462 [M]<sup>+</sup> (25); 289 [C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N] (29); 171 [C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>F<sub>3</sub>N] (21); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN**: ber.: C 60.19 H 4.24 N 5.62 gef.: C 59.83 H 4.49 N 5.84

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-trifluormethylphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (91)**

Aus 2.00 mmol (697 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (**30**) und 2.60 mmol (556 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.45 mmol (208 mg), 23 %

$C_{25}H_{20}F_6N_2 \cdot HCl$  (498.89)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 230 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3431$  m br; 3061 m; 2930 m; 1606 m; 1452 w; 1331 s; 1169 m; 1124 s; 1077 m; 749 w; 702 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.23$  (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.92 (s, 2H, ArCH); 6.97-6.99 (m, 2H, ArH-2, ArH-6); 7.20 (s, 2H, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.24-7.28 (m, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.39-7.43 (m, 7H, Ar'H-3, Ar'H-5, ArH); 11.14 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 150 °C):  $m/z$  % = 462 [M]<sup>+</sup> (32); 289 [C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N] (31); 171 [C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>F<sub>3</sub>N] (23); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 60.19 H 4.24 N 5.62 gef.: C 60.34 H 4.47 N 5.76

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2,4-dichlorphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (92)**

Aus 1.00 mmol (350 mg) (*IR*,2*S*)/(*IS*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2,4-dichlorphenyl)ethan (**31**) und 1.30 mmol (278 mg) 3-Phenylpropionimidsäureethylester Hydrochlorid (**48**).

Das Produkt wird zunächst mit Diethylether säulenchromatographisch an Kieselgel, dann mit Diethylether/Methanol (9+1) säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Petrolether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.19 mmol (89 mg), 19 %

$C_{23}H_{18}Cl_4N_2$  (464.21)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 121 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  s br; 1612 s; 1470 s; 1386 w; 1249 w; 1102 w; 1039 w; 869 w; 806 m; 744 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 2.70$  (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.03 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.33 (s, 2H, ArCH); 6.76-6.78 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.05-7.08 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 7.27-7.41 (m, 7H, ArH-3, Ar'H-3, ArH).

**MS** (EI, 125 °C):  $m/z$  % = 463 [M]<sup>+</sup> (47); 289 [C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N] (50); 173 [C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>N] (18); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 59.51 H 3.91 N 6.03 gef.: C 59.76 H 3.94 N 6.09

### 9.2.12 Synthese der 4,5-Diaryl-2-arethyl-2-imidazoline

Die Synthese wird analog zur Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline durchgeführt (Kap. 9.2.11).

#### **(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Diphenyl-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (93)**

Aus 2.00 mmol (425 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethan (**18**) und 2.60 mmol (634 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidssäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.59 mmol (624 mg), 80 %

$C_{24}H_{24}N_2O \cdot HCl$  (392.92)

weißes Pulver

**Schmp.:** 187 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3426$  m br; 3062 s; 2930 s; 1607 s; 1513 s; 1455 m; 1249 s; 1179 m; 1029 m; 824 m; 744 w; 699 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.14$ -3.16 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.71 (s, 2H, ArCH); 6.74-6.76 (m, 4H, CH<sub>3</sub>OArH); 6.99-7.04 (m, 8H, ArH-2, ArH-3, ArH-5, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.34-7.36 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 10.92 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 170 °C):  $m/z$  % = 356 [M]<sup>+</sup> (61); 251 [C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO] (26); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (37).

**CHN:** ber.: C 73.36 H 6.41 N 7.13 gef.: C 73.58 H 6.42 N 7.29

#### **(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-chlorphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (94)**

Aus 2.00 mmol (562 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-chlorphenyl)ethan (**19**) und 2.60 mmol (634 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidssäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.61 mmol (743 mg), 81 %

$C_{24}H_{22}Cl_2N_2O \cdot HCl$  (461.81)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 258 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3431$  m br; 3062 s; 2929 s; 1608 s; 1514 s; 1441 m; 1249 s; 1180 w; 1035 m; 826 m; 752 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.14$  (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6.08 (s, 2H, ArCH); 6.97-6.99 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5); 7.00-7.04 (m, 4H, ArH-5, Ar'H-5, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-6); 7.13-7.17 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 7.22-7.24 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.33-7.35 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3); 11.09 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 190 °C):  $m/z$  % = 424 [M]<sup>++</sup> (33); 285 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClNO] (16); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 137 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClN] (23); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (47).

**CHN**: ber.: C 62.42 H 5.02 N 6.07 gef.: C 62.73 H 5.08 N 6.16

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(3-chlorphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (95)**

Aus 0.98 mmol (276 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-chlorphenyl)ethan (**20**) und 1.22 mmol (297 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.81 mmol (373 mg), 83 %

C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O • HCl (461.81)

weißes Pulver

**Schmp.:** 221 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3431$  s br; 3067 m; 2932 m; 1608 s; 1513 m; 1436 m; 1251 m; 1034 w; 823 w; 700 m.

**$^1\text{H-NMR}$** <sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.15$  (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.75 (s, 2H, ArCH); 6.71-6.73 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5); 6.92 (s, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-6); 6.97-6.99 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.05-7.09 (m, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 7.13-7.15 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 7.33-7.35 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 11.03 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 220 °C):  $m/z$  % = 424 [M]<sup>++</sup> (46); 285 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClNO] (21); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 137 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClN] (24); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (82).

**CHN**: ber.: C 62.42 H 5.02 N 6.07 gef.: C 62.69 H 5.29 N 6.09

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (96)**

Aus 0.71 mmol (200 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (**21**) und 0.93 mmol (227 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Der Reaktionsansatz wird mehrere Tage refluxiert. Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.20 mmol (96 mg), 28 %

C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O • HCl • H<sub>2</sub>O (479.83)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 233 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3406 m br; 3059 s; 2931 s; 1605 s; 1513 s; 1415 m; 1250 s; 1179 w; 1093 m; 1016 m; 877 w; 825 m; 760 m; 718 w.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.13-3.16 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.74 (s, 2H, ArCH); 6.77 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 4H, CH<sub>3</sub>OArH); 7.02 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H, ArH-2, ArH-6); 7.14 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.34 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H, Ar'H-3, Ar'H-5); 10.99 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 200 °C): m/z % = 424 [M]<sup>+</sup> (67); 285 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClNO] (45); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 137 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClN] (38); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (77).

**CHN:** ber.: C 60.08 H 5.25 N 5.84 gef.: C 60.18 H 5.20 N 5.89

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-fluorphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (97)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-fluorphenyl)ethan (**22**) und 2.60 mmol (634 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.55 mmol (663 mg), 78 %

C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O • HCl (428.90)

weißes Pulver

**Schmp.:** 220 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3418 w br; 2911 s; 1608 s; 1513 m; 1254 s; 1181 w; 1108 w; 1033 w; 822 m; 760 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.24 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6.08 (s, 2H, ArCH); 6.87-6.90 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5); 7.02-7.11 (m, 6H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-6); 7.26-7.30 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.44-7.46 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 11.19 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 210 °C): m/z % = 392 [M]<sup>++</sup> (79); 269 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>FNO] (28); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 121 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>FN] (97).

**CHN:** ber.: C 67.21 H 5.41 N 6.53 gef.: C 67.46 H 5.60 N 6.59

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(3-fluorphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (98)**

Aus 2.00 mmol (497 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(3-fluorphenyl)ethan (23) und 2.60 mmol (634 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (50).

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 1.56 mmol 670 mg), 78 %

C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O • HCl (428.90)

weißes Pulver

**Schmp.:** 241 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3399 m br; 3061 s; 2914 s; 1608 s; 1514 s; 1490 s; 1453 s; 1252 s; 1181 m; 1148 m; 1032 m; 883 m; 823 m; 780 m; 693 m.

$^1\text{H-NMR}_{400\text{ MHz}}$  ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.15 (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.76 (s, 2H, ArCH); 6.64-6.68 (m, 4H, ArH-2, Ar'H-2, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5); 6.88-6.98 (m, 4H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.07-7.13 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-6); 7.33-7.35 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 11.04 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 210 °C): m/z % = 392 [M]<sup>++</sup> (71); 269 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>FNO] (25); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (82); 121 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>FN] (100).

**CHN:** ber.: C 67.21 H 5.41 N 6.53 gef.: C 66.87 H 5.52 N 6.47

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(4-fluorphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (99)**

Aus 0.83 mmol (206 mg) (1R,2S)/(1S,2R)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-fluorphenyl)ethan (24) und 1.07 mmol (261 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (50).

Der Reaktionsansatz wird mehrere Tage refluxiert. Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.42 mmol (187 mg), 51 %

$C_{24}H_{22}F_2N_2O \cdot HCl$  (446.92)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 246 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  m br; 3070 s br; 1608 s; 1514 s; 1423 w; 1248 s; 1032 m; 820 m; 717 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.12$  (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.72 (s, 2H, ArCH); 6.76-6.80 (m, 4H, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5, CH<sub>3</sub>OArH-6); 6.88-6.92 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.00-7.03 (m, 2H, ArH-2, ArH-6); 7.32-7.34 (m, 2H, Ar'H-2, Ar'H-6); 10.84 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 200 °C): m/z % = 392 [M]<sup>+</sup> (66); 269 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>FNO] (28); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 121 [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>FN] (84).

**CHN:** ber.: C 64.50 H 5.64 N 6.24 gef.: C 64.72 H 6.24 N 6.26

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-methoxyphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin  
(100)**

Aus 1.00 mmol (272 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-methoxyphenyl)ethan (**25**) und 1.30 mmol (317 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidssäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird zunächst aus Diethylether/Methanol und anschließend aus Diethylether umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.31 mmol (141 mg), 31 %

$C_{26}H_{28}N_2O_3 \cdot HCl$  (452.97)

weißes Pulver

**Schmp.:** 239 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  m br; 2939 m br ; 2358 m; 1608 s; 1496 m; 1463 m; 1252 s; 1027 m; 755 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.03$ -3.10 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.57 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.78 (s, 2H, ArCH); 6.61-6.70 (m, 6H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5); 6.95-6.97 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 7.03-7.07 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-6); 7.29-7.32 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 10.73 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 280 °C):  $m/z$  % = 416  $[M]^{+}$  (56); 281  $[C_{18}H_{19}NO_2]$  (26); 178 (100); 147  $[C_{10}H_{11}O]$  (58); 121  $[C_8H_9O]$  (68).

**CHN:** ber.: C 68.94 H 6.45 N 6.18 gef.: C 68.95 H 6.56 N 6.20

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (101)**

Aus 1.00 mmol (272 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (**27**) und 1.30 mmol (317 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.54 mmol (245 mg), 54 %

$C_{26}H_{28}N_2O_3 \cdot HCl$  (452.97)

weißes Pulver

**Schmp.:** 153 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3435 m br; 3073 m; 2936 m; 1610 s; 1514 s; 1463 w; 1301 w; 1253 s; 1180 m; 1032 m; 827 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.08-3.12 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.62 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.59 (s, 2H, ArCH); 6.60-6.67 (m, 8H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5, CH<sub>3</sub>OArH-6); 6.99-7.02 (m, 2H, ArH-2, ArH-6); 7.32-7.34 (m, 2H, Ar'H-2, Ar'H-6); 10.77 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 230 °C):  $m/z$  % = 416  $[M]^{+}$  (98); 281  $[C_{18}H_{19}NO_2]$  (62); 147  $[C_{10}H_{11}O]$  (100); 121  $[C_8H_9O]$  (32).

**CHN:** ber.: C 68.94 H 6.45 N 6.18 gef.: C 68.76 H 6.65 N 6.07

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2-trifluormethylphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (102)**

Aus 1.00 mmol (348 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2-trifluormethylphenyl)ethan (**28**) und 1.30 mmol (317 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.44 mmol (233 mg), 44 %

$C_{26}H_{22}F_6N_2O \cdot HCl$  (528.92)

weißes Pulver

**Schmp.:** 247 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3428 w br; 3048 m; 2914 m; 1610 m; 1514 m; 1455 m; 1315 s; 1251 m; 1174 s; 1116 s; 1038 m; 828 w; 769 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.15 (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.98 (s, 2H, ArCH); 6.91-6.93 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5); 7.03-7.05 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-6); 7.34-7.44 (m, 6H, ArH-4, ArH-5, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.55-7.57 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3); 11.29 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 250 °C): m/z % = 492 [M]<sup>++</sup> (58); 319 [C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>NO] (20); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (100); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (70).

**CHN:** ber.: C 59.04 H 4.38 N 5.30 gef.: C 58.97 H 4.56 N 5.37

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-trifluormethylphenyl)-2-(4-methoxyphenethyl)-2-imidazolin (103)**

Aus 1.00 mmol (348 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (**30**) und 1.30 mmol (317 mg) 3-(4-Methoxyphenyl)propionimidssäureethylester Hydrochlorid (**50**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.60 mmol (328 mg), 60 %

C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O • HCl • H<sub>2</sub>O (546.93)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 251 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3417 m br; 2939 w br; 2330 w; 1609 m; 1514 w; 1331 s; 1170 m; 1127 m; 1071 m.

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.18 (s, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5.90 (s, 2H, ArCH); 6.92 (AA'BB', <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 4H, CH<sub>3</sub>OArH-2, CH<sub>3</sub>OArH-3, CH<sub>3</sub>OArH-5, CH<sub>3</sub>OArH-6); 7.04-7.06 (m, 2H, ArH-2, ArH-6); 7.36-7.39 (m, 6H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-2, Ar'H-3, Ar'H-5, Ar'H-6); 11.13 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 220 °C): m/z % = 492 [M]<sup>++</sup> (85); 319 [C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>NO] (23); 147 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O] (99); 121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O] (100).

**CHN:** ber.: C 57.10 H 4.61 N 5.12 gef.: C 57.24 H 4.90 N 5.20

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-2-(2-Chlorphenethyl)-4,5-diphenyl-2-imidazolin (104)**

Aus 1.00 mmol (212 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethan (**18**) und 1.30 mmol (323 mg) 3-(2-Chlorphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**49**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.57 mmol (230 mg), 57 %

$C_{23}H_{21}ClN_2 \cdot HCl \cdot 0.25 H_2O$  (401.84)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 341 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3429$  m br; 3063 s, 2927 s; 1602 s; 1455 m; 1254 w; 1054 m; 753 m; 697 s.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.17$ -3.20 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.30-3.34 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.75 (s, 2H, ArCH); 6.86-6.88 (m, 4H, ClArH); 7.04-7.08 (m, 6H, ArH-2, ArH-4, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-4, Ar'H-6); 7.39-7.43 (m, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.54-7.61 (m, 2H, Ar'H-3, Ar'H-5); 11.04 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 150 °C):  $m/z$  % = 360 [M]<sup>+</sup> (3); 325 [C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>] (42); 255 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN] (18); 220 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N] (100); 151 [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl] (3).

**CHN:** ber.: C 68.74 H 5.64 N 6.97 gef.: C 68.29 H 5.38 N 7.40

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-(2-chlorphenethyl)-2-imidazolin (105)**

Aus 1.00 mmol (281 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (**21**) und 1.30 mmol (323 mg) 3-(2-Chlorphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**49**).*

Das Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.51 mmol (240 mg), 51 %

$C_{23}H_{19}Cl_3N_2 \cdot HCl$  (466.23)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 309 °C

**IR** (KBr):  $\nu = 3434$  m br; 3062 m; 2928 m; 1603 s; 1492 m; 1415 m; 1093 m; 1054 w; 1015 m; 877 w; 760 s.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 3.15$ -3.18 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.28-3.32 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.78 (s, 2H, ArCH); 6.90-6.94 (m, 4H, ClArH); 7.17-7.20 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.40-7.44 (m, 2H, ArH-3, ArH-5); 7.54-7.58 (m, 2H, Ar'H-3, Ar'H-5); 11.05 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 150 °C):  $m/z$  % = 428  $[M]^{++}$  (4); 393  $[C_{23}H_{19}Cl_2N_2]$  (28); 289  $[C_{16}H_{13}Cl_2N]$  (22); 254  $[C_{16}H_{13}ClN]$  (100); 137  $[C_7H_4ClN]$  (48); 125  $[C_7H_6Cl]$  (15).

**CHN**: ber.: C 59.25 H 4.32 N 6.01 gef.: C 59.48 H 4.65 N 6.19

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2,4-dichlorphenyl)-2-(2-chlorphenethyl)-2-imidazolin (106)**

Aus 1.00 mmol (350 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2,4-dichlorphenyl)ethan (**31**) und 1.30 mmol (323 mg) 3-(2-Chlorphenyl)propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**49**).*

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Nach anschließender zweimaliger rotationschromatographischer Reinigung mit Diethylether wird der nach Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute**: 0.36 mmol (182 mg), 36 %

$C_{23}H_{17}Cl_5N_2$  (498.66)

weiße Kristalle

**Schmp.**: 66 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3428 m br; 1614 m; 1471 s; 1386 w; 1102 w; 1048 m; 870 w; 806 m; 753 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ( $[D_6]$ -DMSO):  $\delta$  = 3.12-3.16 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.24-3.28 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 6.11 (s, 2H, ArCH); 7.02-7.04 (m, 2H, Ar*H*-6, Ar'*H*-6); 7.26-7.29 (m, 2H, ClAr*H*-4, ClAr*H*-6); 7.40-7.47 (m, 2H, ClAr*H*-3, ClAr*H*-5); 7.50-7.57 (m, 4H, Ar*H*-3, Ar*H*-5, Ar'*H*-3, Ar'*H*-5); 11.16 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 150 °C):  $m/z$  % = 496  $[M]^{++}$  (4); 462  $[C_{23}H_{18}Cl_4N_2]$  (51); 323  $[C_{16}H_{12}Cl_3N]$  (20); 288  $[C_{16}H_{12}Cl_2N]$  (100); 171  $[C_7H_3Cl_2N]$  (42).

**CHN**: ber.: C 55.40 H 3.44 N 5.62 gef.: C 56.07 H 4.21 N 5.52

**9.2.13 Synthese des (4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-(3-phenylpropyl)-2-imidazolins**

Die Synthese wird analog zur Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline durchgeführt (Kap. 9.2.11).

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-(3-phenylpropyl)-2-imidazolin (107)**

Aus 1.00 mmol (281 mg) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (**21**) und 1.30 mmol (296 mg) 4-Phenylbutyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**51**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (98+2) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend zunächst aus Diethylether/Methanol, später aus Petrolether/Chloroform umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.31 mmol (126 mg), 31 %

$C_{24}H_{22}Cl_2N_2$  (409.35)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 149 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3427 m br; 2931 m; 1608 s; 1491 s; 1411 w; 1091 m; 1015 m; 880 w; 822 w; 759 m; 701 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 1.98-2.06 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 2.42 (t,  $^3J$  = 7.6 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 2.73 (t,  $^3J$  = 7.6 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.30 (s, 2H, ArCH); 6.93-6.96 (m, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.10-7.13 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.19-7.34 (m, 5H, ArH).

**MS** (EI, 150 °C):  $m/z$  % = 408 [M]<sup>+</sup> (7); 304 [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>] (35); 269 [C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClN] (33); 131 [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>] (100); 125 [C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>Cl] (15).

**CHN:** ber.: C 70.42 H 5.42 N 6.84 gef.: C 70.37 H 5.56 N 6.90

**9.2.14 Synthese der 2-Alkyl-4,5-diaryl-2-imidazoline**

Die Synthese wird analog zur Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline durchgeführt (Kap. 9.2.11).

**(4R,5S)/(4S,5R)-4,5-Bis(4-chlorphenyl)-2-propyl-2-imidazolin (108)**

Aus 1.00 mmol (281 mg) (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(4-chlorphenyl)ethan (**21**) und 1.30 mmol (197 mg) Butyrimidsäureethylester Hydrochlorid (**45**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.52 mmol (173 mg), 52 %

$C_{18}H_{18}Cl_2N_2$  (333.26)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 116 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3143 m br; 1963 m; 1612 s; 1489 s; 1409 m; 1090 s; 1014 m; 881 m; 797 m; 763 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 1.01 (t,  $^3J$  = 7.4 Hz, 3H,  $CH_3CH_2CH_2$ ); 1.72 (sextett,  $^3J$  = 7.4 Hz, 2H,  $CH_3CH_2CH_2$ ); 2.31 (t,  $^3J$  = 7.4 Hz, 2H,  $CH_3CH_2CH_2$ ); 5.20 (s, 2H, ArCH); 6.92 (AA'BB',  $^3J$  = 8.5 Hz, 4H, ArH-2, ArH-6, Ar'H-2, Ar'H-6); 7.09 (AA'BB',  $^3J$  = 8.5 Hz, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 7.15 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 100 °C):  $m/z$  % = 332  $[M]^{+}$  (21); 193  $[C_{11}H_{12}ClN]$  (100); 151  $[C_8H_6ClN]$  (8); 124  $[C_7H_5Cl]$  (18).

**CHN:** ber.: C 64.87 H 5.44 N 8.41 gef.: C 64.89 H 5.52 N 8.39

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(2,4-dichlorphenyl)-2-ethyl-2-imidazolin (109)**

Aus 1.00 mmol (350 mg) (*IR,2S*)/(*IS,2R*)-1,2-Diamino-1,2-bis(2,4-dichlorphenyl)ethan (**31**) und 1.30 mmol (179 mg) Propionimidsäureethylester Hydrochlorid (**44**).

Das Produkt wird mit Chloroform/Methanol (95+5) rotationschromatographisch und anschließend mit Diethylether/Methanol (95+5) säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das erhaltene Produkt wird aus Diethylether/Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** 0.36 mmol (142 mg), 36 %

$C_{17}H_{14}Cl_4N_2$  (388.12)

hellgelbe Kristalle

**Schmp.:** 186 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3429 m br; 3078 s; 2954 s; 1593 s; 1551 m; 1475 m; 1385 m; 1106 m; 1051 w; 867 m; 807 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 1.33 (t,  $^3J$  = 7.6 Hz, 3H,  $CH_3CH_2$ ); 2.80 (q,  $^3J$  = 7.6 Hz, 2H,  $CH_3CH_2$ ); 6.12 (s, 2H, ArCH); 7.31 (m, 4H, ArH-5, ArH-6, Ar'H-5, Ar'H-6); 7.50 (m, 2H, ArH-3, Ar'H-3).

**MS** (EI, 175 °C):  $m/z$  % = 388  $[M]^{+}$  (14); 213  $[C_{10}H_9Cl_2N]$  (100); 158  $[C_7H_5Cl_2]$  (18); 123  $[C_7H_4Cl]$  (46).

**CHN:** ber.: C 52.61 H 3.64 N 7.22 gef.: C 53.84 H 4.37 N 7.36

### 9.2.15 Synthese der 4,5-Diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazoline

Die Synthese wird analog zur Synthese der 4,5-Diaryl-2-phenethyl-2-imidazoline durchgeführt (Kap. 9.2.11).

#### **(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolin (110)**

Aus 0.69 mmol (198 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (**36**) und 0.87 mmol (186 mg) 3-Phenylpropionimid säureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether ausgereührt.

**Ausbeute:** 0.47 mmol (194 mg), 47 %

$C_{26}H_{28}N_2O_2 \cdot 0.5 CH_3OH$  (416.53)

gelbes Öl

**IR** (KBr):  $\nu = 3432$  m br; 2934 w br; 2360 m; 1611 m; 1513 m; 1457 m; 1248 s; 1176 m; 1032 m; 836 w; 701 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta = 2.55$  (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.61-2.78 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3.02-3.07 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3.60 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.61 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4.68 (d,  $^3J = 10.6$  Hz, 1H, ArCH); 5.11 (d,  $^3J = 10.6$  Hz, 1H, ArCH); 6.52-6.55 (m, 2H, Ar*H*-3, Ar*H*-5); 6.59-6.61 (m, 2H, Ar'*H*-3, Ar'*H*-5); 6.66-6.68 (m, 2H, Ar*H*-2, Ar*H*-6); 6.72-6.75 (m, 2H, Ar'*H*-2, Ar'*H*-6); 7.22-7.39 (m, 5H, Ar*H*).

**MS** (EI, 130 °C):  $m/z$  % = 400 [M]<sup>+</sup> (42); 251 [C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO] (65); 133 [C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO] (32); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100).

**CHN:** ber.: C 76.41 H 7.26 N 6.73 gef.: C 76.84 H 7.04 N 6.73

#### **(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-trifluormethylphenyl)-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolin (111)**

Aus 1.22 mmol (442 mg) (*1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-*N*-Methyl-1,2-diamino-1,2-bis(4-trifluormethylphenyl)ethan (**37**) und 1.30 mmol (278 mg) 3-Phenylpropionimid säureethylester Hydrochlorid (**48**).*

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und anschließend aus Petrolether

umkristallisiert. Das erhaltene Produkt wird aus Diethylether/Methanol mittels etherischer HCl als Hydrochlorid gefällt.

**Ausbeute:** 0.21 mmol (112 mg), 21 %

$C_{26}H_{22}F_6N_2 \cdot HCl \cdot 1.5 H_2O$  (539.94)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 97 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3418 s br; 2330 w; 1613 m; 1424 w; 1331 s; 1168 m; 1121 m; 1071 m; 884 w; 747 w; 703 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D6]-DMSO):  $\delta$  = 2.96 (s, 3H,  $CH_3$ ); 3.16-3.23 (m, 4H,  $ArCH_2CH_2$ ); 5.80 (d,  $^3J$  = 12.6 Hz, 1H,  $ArCH$ ); 5.91 (d,  $^3J$  = 12.6 Hz, 1H,  $ArCH$ ); 6.97-7.03 (m, 4H,  $ArH-2$ ,  $ArH-6$ ,  $Ar'H-2$ ,  $Ar'H-6$ ); 7.33-7.48 (m, 9H,  $ArH-3$ ,  $ArH-5$ ,  $Ar'H-3$ ,  $Ar'H-5$ ,  $ArH$ ); 10.94 (s, 1H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 80 °C):  $m/z$  % = 476  $[M]^+$  (49); 289  $[C_{17}H_{14}F_3N]$  (26); 171  $[C_8H_4F_3N]$  (27); 117  $[C_9H_9]$  (100).

**CHN:** ber.: C 57.84 H 4.85 N 5.19 gef.: C 57.96 H 5.03 N 5.51

### 9.2.16 Synthese der 4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazoline

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 4,5-Bis(hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazoline:

Bei -70 °C wird zu einer Lösung von 1.00 mmol des entsprechenden (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolins in 20 ml Dichlormethan abs. eine Lösung von 2.25 Äquivalenten Bortribromid pro abzuspaltender Methylgruppe in 5 ml Dichlormethan abs. zugetropft. Nach beendeter Zugabe wird noch 30 Minuten unter Kühlung gerührt und der Ansatz anschließend unter Rühren langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach abgeschlossener Reaktion wird das Reaktionsgemisch unter Eiskühlung mehrmals mit trockenem Methanol methanolisiert und am Rotationsverdampfer einrotiert.

#### (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(2-hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (112)

Aus 0.50 mmol (211 mg) (*4R,5S*)/(*4S,5R*)-4,5-Bis(2-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (**85**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether ausgerührt.

**Ausbeute:** 0.17 mmol (68 mg), 34 %

$C_{23}H_{22}N_2O_2 \cdot HCl$  (394.89)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 124 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3369 s br; 3189 s br; 2689 m; 1609 m; 1458 s; 1280 m; 1183 w; 1036 w; 831 w; 768 m; 705 w.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 3.07-3.13 (t, 4H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.77 (s, 2H, ArCH); 6.48-6.56 (m, 4H, ArH-3, ArH-5, Ar'H-3, Ar'H-5); 6.67-6.69 (m, 2H, ArH-4, Ar'H-4); 6.88-6.92 (m, 2H, ArH-6, Ar'H-6); 7.33-7.43 (m, 5H, ArH); 9.59 (s, 2H, Ar-OH, austauschbar); 10.44 (s, 2H, NH, austauschbar).

**MS** (EI, 220 °C): m/z % = 358 [M]<sup>+</sup> (30); 265 [C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O]; 237 [C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO] (12); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (41).

**CHN:** ber.: C 69.95 H 5.87 N 7.09 gef.: C 69.63 H 6.24 N 7.53

### **(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(3-hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (113)**

Aus 0.50 mmol (211 mg) (4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(3-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (**86**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether ausgerührt.

**Ausbeute:** 0.17 mmol (61 mg), 34 %

$C_{23}H_{22}N_2O_2$  (358.43)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 244 °C

**IR** (KBr):  $\nu$  = 3400 m br; 1602 s; 1480 m; 1456 m; 1262 m; 1158 w; 994 w; 877 w; 776 w; 697 m.

**$^1H$ -NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO):  $\delta$  = 2.61-2.66 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.02-3.06 (m, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 5.07 (s, 2H, ArCH); 6.32-6.36 (m, 4H, ArH-4, ArH-6, Ar'H-4, Ar'H-6); 6.40-6.41 (m, 2H, ArH-2, Ar'H-2); 6.76-6.80 (m, 2H, ArH-5, Ar'H-5); 7.21-7.35 (m, 5H, ArH); 8.97 (s, 2H, Ar-OH, austauschbar).

**MS** (EI, 200 °C): m/z % = 358 [M]<sup>+</sup> (33); 237 [C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO] (46); 146 [C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N] (35); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (36).

**CHN:** ber.: C 77.07 H 6.19 N 7.82    gef.: C 77.33 H 6.43 N 8.14

**(4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-hydroxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (114)**

Aus 0.50 mmol (211 mg) (4*R*,5*S*)/(4*S*,5*R*)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-2-phenethyl-2-imidazolin (**87**).

Das Produkt wird mit Diethylether/Methanol (95+5) unter Zusatz von 1% Triethylamin rotationschromatographisch gereinigt und anschließend aus Diethylether ausgerührt.

**Ausbeute:** 0.24 mmol (85 mg), 48 %

C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (358.43)

weiße Kristalle

**Schmp.:** 181 °C

**<sup>1</sup>H-NMR**<sub>400 MHz</sub> ([D<sub>6</sub>]-DMSO): δ = 2.63 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 3.02 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C); 4.99 (s, 2H, ArCH); 6.35-6.37 (m, 4H, Ar*H*-3, Ar*H*-5, Ar'*H*-3, Ar'*H*-5); 6.58-6.60 (m, 4H, Ar*H*-2, Ar*H*-6, Ar'*H*-2, Ar'*H*-6); 7.22-7.34 (m, 5H, Ar*H*); 8.96 (s, 2H, Ar-OH, austauschbar).

**MS** (EI, 200 °C): m/z % = 358 [M]<sup>+</sup> (52); 237 [C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO] (50); 117 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>] (100); 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>] (20).

**CHN:** ber.: C 77.07 H 6.19 N 7.82    gef.: C 77.10 H 6.29 N 7.80

### **9.3 Biochemischer und pharmakologischer Teil – Arbeitsvorschriften**

#### **9.3.1 Kulturbedingungen und Passagieren**

##### **9.3.1.1 Allgemeine Kulturbedingungen**

Die verwendeten Zelllinien werden als Monolayer in sterilen Gewebekulturflaschen mit einer Wachstumsfläche von 25 bzw. 75 cm<sup>2</sup> in gesättigter Wasserdampf-atmosphäre bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Gehalt kultiviert.

##### **9.3.1.2 Passagieren der Zellen**

Die Zellkulturen werden bei Erreichen von 70- bis 90%-iger Konfluenz passagiert. Hierzu wird das überstehende Medium abgesaugt und die anhaftenden Zellen mit 10 ml PBS gewaschen. Nach anschließender Zugabe von 2 ml 0.05%-iger Trypsinlösung wird die Gewebekulturflasche 15 bis 20 mal geschwenkt. Die Trypsinlösung wird gründlich abgesaugt und die Flasche für einige Minuten bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-haltiger Atmosphäre inkubiert. Die Zellen werden in 10 ml frischem Medium aufgenommen und durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren vereinzelt. Zur Weiterzucht wird ein Teil der Zellsuspension entsprechend verdünnt in eine neue Zellkulturflasche überführt.

Ein Passagieren der Zellen erfolgt alle 5–7 Tage. Die Verdünnung der Zellsuspension ist von der jeweiligen Zelllinie abhängig.

##### **MDA-MB 231**

Die Inkubation nach Absaugen der Trypsinlösung erfolgt 2 Minuten. Die Zellsuspension wird 1:100 verdünnt.

##### **HEK 293**

Zur besseren Anhaftung der Zellen ist ein vorheriges Beschichten der Gewebekulturflasche mit Poly-D-Lysin zu empfehlen. Dazu wird die Flasche mit 1 ml einer Poly-D-Lysin-Lösung (0.01 mg/ml) pro 10 cm<sup>2</sup> Wachstumsfläche 30 Minuten im Brutschrank inkubiert. Nach dem anschließenden Absaugen der Lösung wird die

Zellkulturflasche mit 1 ml PBS pro 10 cm<sup>2</sup> Wachstumsfläche gewaschen und noch am selben Tag verwendet.

Die Inkubation nach Absaugen der Trypsinlösung erfolgt 10–15 Minuten. Die Zellsuspension wird 1:10 bis 1:20 verdünnt.

Den stabil mit dem humanen P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten HEK 293 Zellen werden 500 µg Geneticin (G 418) pro ml Medium zugesetzt, den stabil mit dem Ratten-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten Zellen zusätzlich 1 µl einer sterilen 1 molaren CaCl<sub>2</sub>-Lösung sowie 2 µl einer sterilen 1 molaren MgCl<sub>2</sub>-Lösung pro ml Medium. Der Zusatz des G 418 ist aufgrund der durch das Plasmid hervorgerufenen Geneticin-Resistenz für die Stabilität der Transfektion nötig.

### 9.3.1.3 Einfrieren und Auftauen der Zellen

Zum Einfrieren werden die kurz vor der Konfluenz stehenden Zellen trypsiniert (vgl. Kap. 9.3.1.2) und in 10 ml Medium pro 75 cm<sup>2</sup> Zellkulturflasche aufgenommen. Nach Überführen der Zellsuspension in ein konisches Zentrifugenröhrchen wird diese 5 Minuten bei 1500 U/min zentrifugiert. Das Zellpellet wird in 10 ml Einfriermedium (70 % DMEM, 25 % FCS, 5 % DMSO) resuspendiert und in sterile Kryoröhrchen überführt. Diese werden in Zellstoff umwickelt, bei -80 °C vorgefroren und nach 24 Stunden zur endgültigen Aufbewahrung bei -196 °C in flüssigen Stickstoff überführt.

Zum Auftauen der Zellen werden die Kryoröhrchen bei 37 °C im Wasserbad schnell aufgetaut. Die Zellsuspension wird in 10 ml Medium aufgenommen und anschließend 5 Minuten bei 1500 U/min zentrifugiert. Das überstehende Medium wird verworfen, das Zellpellet in 10 ml Medium resuspendiert, in eine Zellkulturflasche überführt und anschließend im Brutschrank inkubiert.

### 9.3.1.4 Zellzahlbestimmung

Die Bestimmung der Zellzahl erfolgt mittels einer Neubauer-Zählkammer. Diese besitzt acht quadratische Vertiefungen mit einem jeweiligen Volumen von 0.1 µl. Zur Bestimmung der Zellzahl wird ein Deckgläschen bis zur Ausbildung der Newton'schen

Ringe vorsichtig auf die Zählkammer gedrückt und anschließend die homogene Zellsuspension zwischen Kammer und Deckgläschen eingebracht.

Die Zellzahl pro ml wird bestimmt, indem die acht Quadrate unter dem Mikroskop ausgezählt, der Mittelwert gebildet und dieser mit  $10^4$  multipliziert wird.

### **9.3.2 Zytotoxizitätsuntersuchungen**

Die zytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen wurden an der MDA-MB 231 Brustkrebszelllinie untersucht. Es wurden  $IC_{50}$ -Werte ermittelt. Dabei wurden in einem Testdurchlauf jeweils fünf verschiedene Substanzen sowie Cisplatin als Kontrolle in acht Verdünnungen als 16-fach Bestimmung untersucht.

#### **9.3.2.1 Aussaat der Zellen**

Die Zellen werden wie in Kapitel 9.3.1.2 beschrieben passagiert und die Zellzahl gemäß Kapitel 9.3.1.4 bestimmt. Die Aussaat erfolgt in einer Dichte von ca. 7500 Zellen/ml, entsprechend 750 Zellen/Well. Dazu wird die berechnete Menge an Zellsuspension in 220 ml Medium gegeben und unter mäßigem Rühren auf einem Magnetrührer werden jeweils 100  $\mu$ l der Zellsuspension in die Löcher von 11 96-Well-Mikrotiterplatten pipettiert. Die Kulturplatten werden bis zur Substanzzugabe 72 Stunden im Brutschrank inkubiert.

#### **9.3.2.2 Substanzzugabe**

Nach einer Inkubationszeit von 72 Stunden werden die zu testenden Substanzlösungen auf die Zellen gegeben. Dazu wird für jede Verbindung zunächst eine Stammlösung von 50 mM in DMSO hergestellt. Aus diesen Stammlösungen werden die entsprechenden Verdünnungsreihen angefertigt.

Für die Testung werden jeweils 10  $\mu$ l der zu testenden Verdünnung mit 5 ml Medium 1:500 verdünnt und pro Well 100  $\mu$ l auf die Zellen gegeben.

Jede Wirkstoffkonzentration wird als 16-fache Bestimmung getestet. Des Weiteren dienen jeweils 16 Wells der Platte als Kontrollkulturen, denen lediglich das Lösungsmittel DMSO in einer den Testkulturen entsprechenden Konzentration zugesetzt wird (100  $\mu\text{l}$  einer 0.2%-igen Lösung). Eine Platte wird zur Ermittlung der initialen Zelldichte ( $c_0$ -Wert zum Zeitpunkt  $t_0$ ) sofort abgestoppt (Kap. 9.3.2.3).

### 9.3.2.3 Abstoppen des Zellwachstums

Nach einer Inkubationszeit von weiteren 72 Stunden wird das Wachstum der Zellen abgestoppt. Das Medium wird hierzu abgesaugt und die am Boden der 96-Well-Mikrotiterplatten anhaftenden Zellen mittels 100  $\mu\text{l}$  einer frisch hergestellten 1%-igen Glutardialdehydlösung in PBS fixiert. Die Fixierlösung wird nach einer Inkubationszeit von 20 – 30 Minuten abgeschüttelt und die Zellen mit je 180  $\mu\text{l}$  PBS überschichtet. Bis zum Färben und Vermessen werden die Mikrotiterplatten bei 4 °C aufbewahrt.

### 9.3.2.4 Ermittlung der Zellmasse im Kristallviolett-Assay (Färben)

Nach dem Abschütteln des PBS von den Platten werden jeweils 100  $\mu\text{l}$  einer 0.02%-igen Kristallviolettlösung zupipettiert. Nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten wird die Färbelösung abgeschüttelt, die Platten zweimal mit Wasser gewaschen und anschließend 15 Minuten unter Wasser stehen gelassen, um überschüssiges Kristallviolett zu lösen. Das Wasser wird abgeschüttelt und die Platten gründlich auf Zellstoff ausgeklopft.

Der in den Zellen verbliebene Farbstoff wird durch Zusatz von jeweils 180  $\mu\text{l}$  70%-igem Ethanol und dreistündigem Schütteln aus den Zellen extrahiert. Mittels Mikroplattenreader wird die optische Dichte der Farbstofflösung durch Messung bei 590 nm photometrisch bestimmt.

### 9.3.2.5 Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte

Mittels der in Kapitel 6.1 beschriebenen Gleichung erfolgt die Berechnung von T/C<sub>corr</sub>-Werten. Diese werden gegen den dekadischen Logarithmus der Substanzkonzentration aufgetragen und mittels Origin Pro 8.0 wird der sigmoide Kurvenverlauf mit Hilfe der Boltzmann-Funktion ermittelt. Als IC<sub>50</sub>-Wert kann diejenige Substanzkonzentration aus der erhaltenen Kurve errechnet werden, bei der der T/C<sub>corr</sub>-Wert 50% annimmt.

### 9.3.3 Untersuchungen am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor

#### 9.3.3.1 Durchführung des P2X<sub>7</sub>-Assay

Die stabil mit dem P2X<sub>7</sub>-Rezeptor transfizierten Zellen der Zelllinie HEK 293 werden wie in Kapitel 9.3.1.2 beschrieben passagiert. Die nicht zur Weiterkultivierung verwendete Zellsuspension wird 5 Minuten bei 1500 U/min abzentrifugiert; währenddessen erfolgt eine Zellzahlbestimmung gemäß Kapitel 9.3.1.4. Das überstehende Medium wird vorsichtig abgesaugt und der Zellpellet in einer definierten Menge P2X<sub>7</sub>-Assay-Pufferlösung resuspendiert, so dass eine Konzentration von 1.33 Mio. Zellen pro ml resultiert. Die Zellsuspension wird gründlich homogenisiert; anschließend werden jeweils 75 µl dieser Suspension in 72 Wells einer schwarzen 96-Well-Mikrotiterplatte pipettiert.

Für die zu testende Verbindung wird eine Verdünnungsreihe in P2X<sub>7</sub>-Assay-Pufferlösung bestehend aus 10 Konzentrationen hergestellt – in jeweils fünffach stärkerer Konzentration als für die Testung erwünscht.

Jede Wirkstoffkonzentration wird als 6-fache Bestimmung getestet. Hierzu werden jeweils 25 µl der zu testenden Konzentration pro Well auf die Zellen gegeben. In die verbleibenden 12 Wells werden jeweils 25 µl P2X<sub>7</sub>-Assay-Pufferlösung zupipettiert (Abb. 9.1).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>	c <sub>8</sub>	c <sub>9</sub>	c <sub>10</sub>	c <sub>0</sub>	c <sub>0</sub>
C	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>	c <sub>8</sub>	c <sub>9</sub>	c <sub>10</sub>	c <sub>0</sub>	c <sub>0</sub>
D	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>	c <sub>8</sub>	c <sub>9</sub>	c <sub>10</sub>	c <sub>0</sub>	c <sub>0</sub>
E	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>	c <sub>8</sub>	c <sub>9</sub>	c <sub>10</sub>	c <sub>0</sub>	c <sub>0</sub>
F	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>	c <sub>8</sub>	c <sub>9</sub>	c <sub>10</sub>	c <sub>0</sub>	c <sub>0</sub>
G	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>	c <sub>8</sub>	c <sub>9</sub>	c <sub>10</sub>	c <sub>0</sub>	c <sub>0</sub>
H												

c<sub>1</sub>-c<sub>10</sub>: 75 µl Zellsuspension und 25 µl Wirkstofflösung  
c<sub>0</sub>: 75 µl Zellsuspension und 25 µl P2X<sub>7</sub>-Assay-Pufferlösung

**Abb. 9.1** Belegung der Mikrotiterplatte für den P2X<sub>7</sub>-Assay

Nach einer anschließenden 30 minütigen Inkubation bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Gehalt werden in alle Wells mit Ausnahme der 6 äußeren c<sub>0</sub>-Wells jeweils 25 µl einer Lösung, bestehend aus 1 mM ATP und 250 µM Ethidiumbromid in P2X<sub>7</sub>-Assay-Pufferlösung, pipettiert. In die äußeren c<sub>0</sub>-Wells (Spalte 12 Abb. 9.1) werden als Negativkontrolle lediglich jeweils 25 µl einer 250 µM Lösung von Ethidiumbromid in P2X<sub>7</sub>-Assay-Pufferlösung pipettiert.

Nach einer weiteren Inkubationszeit von 1 Stunde wird der Inhalt der Wells fluorimetrisch bei einer Anregungswellenlänge von 590 nm und einer Emissionswellenlänge von 610 nm vermessen.

### 9.3.3.2 Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte

Mittels der in Kapitel 5.1 beschriebenen Gleichung erfolgt die Berechnung von T/C<sub>corr</sub>-Werten. Die Ermittlung der IC<sub>50</sub>-Werte erfolgt analog Kapitel 9.3.2.5.

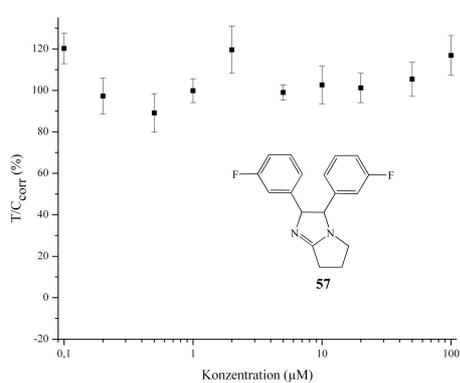
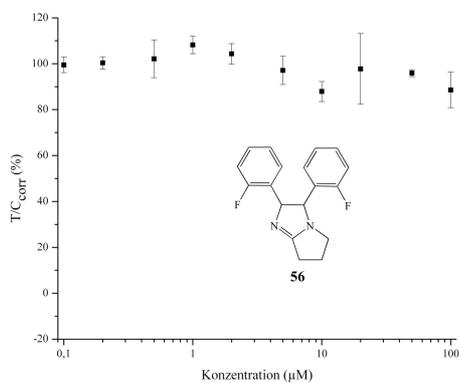
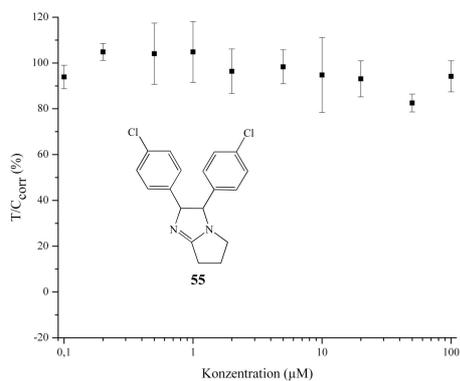
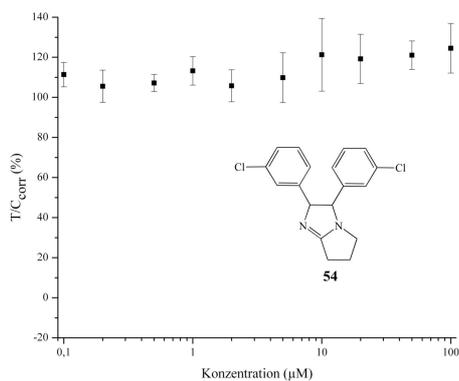
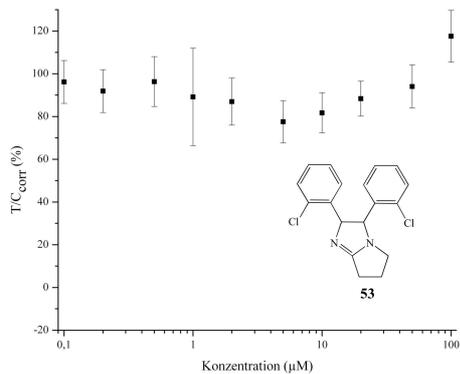
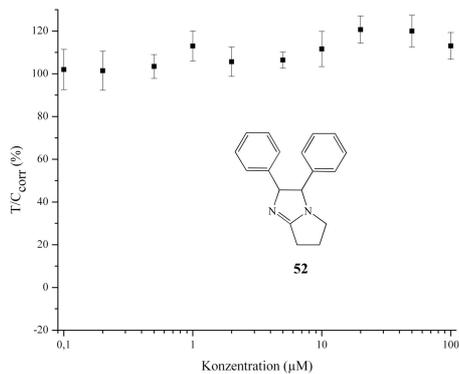


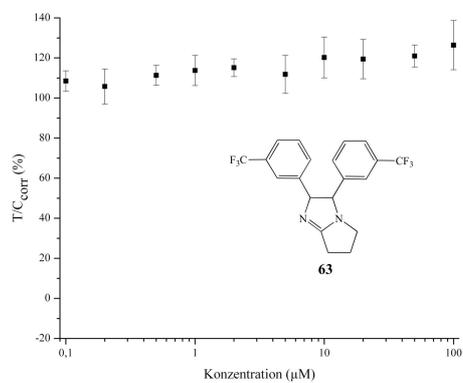
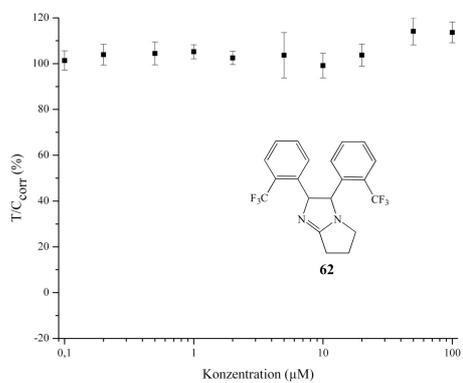
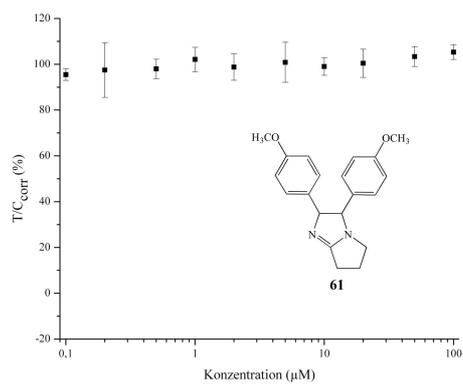
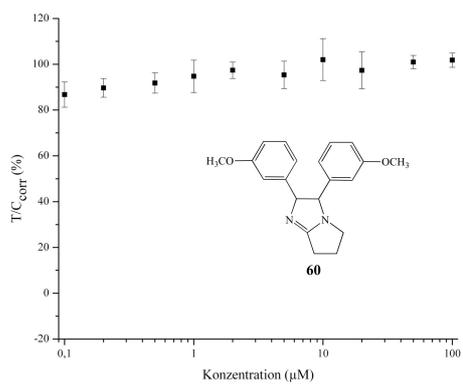
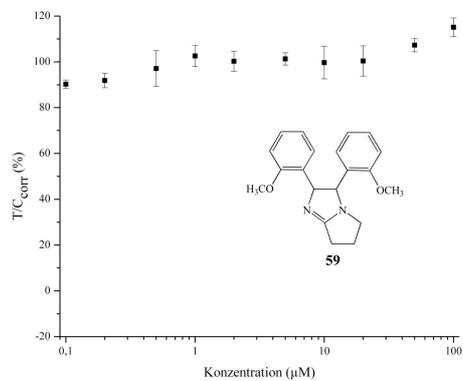
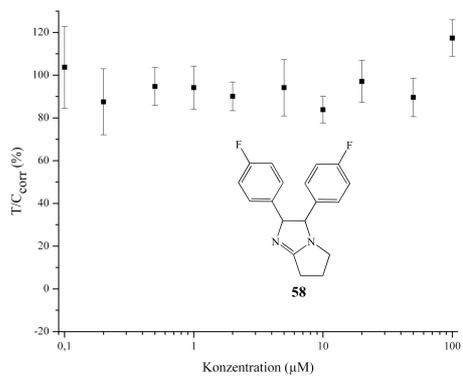
## **10 Anhang**

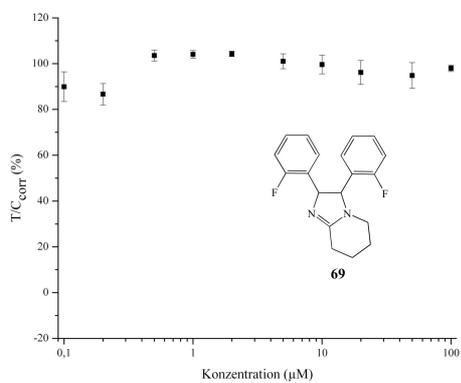
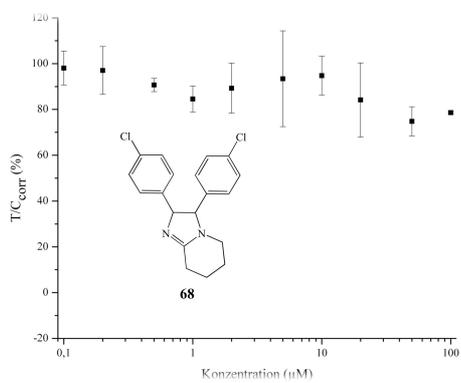
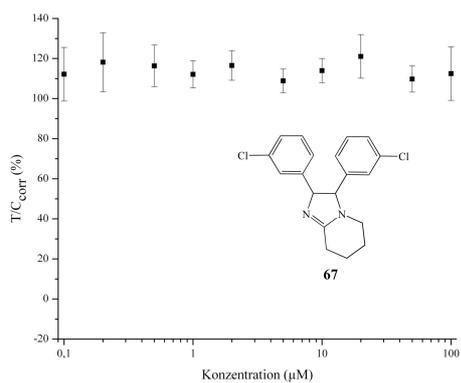
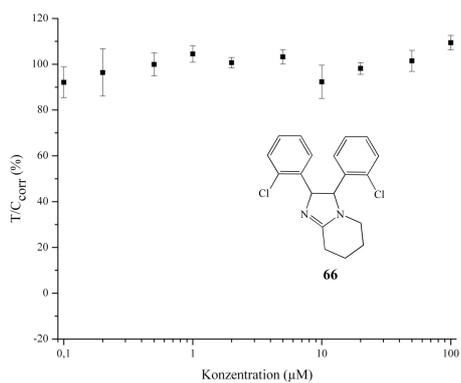
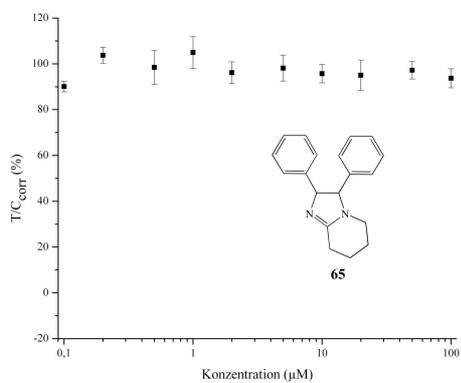
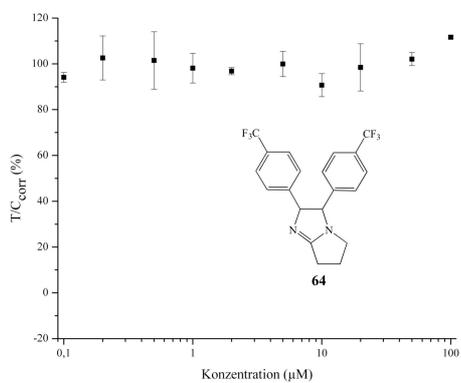


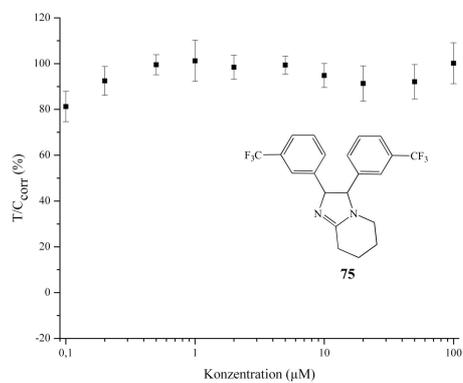
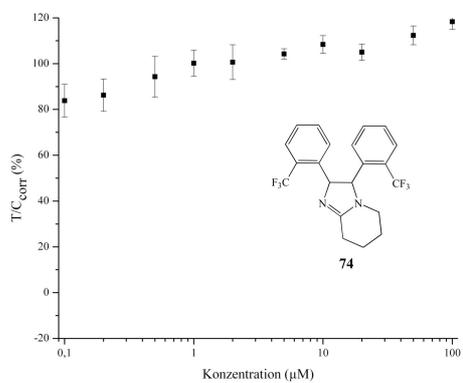
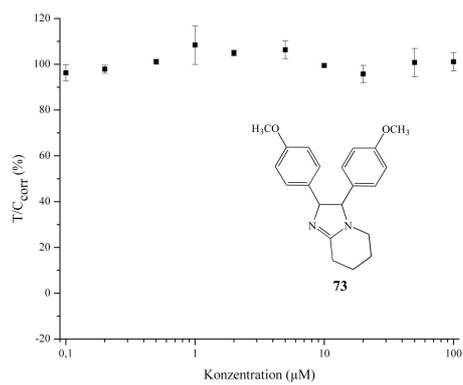
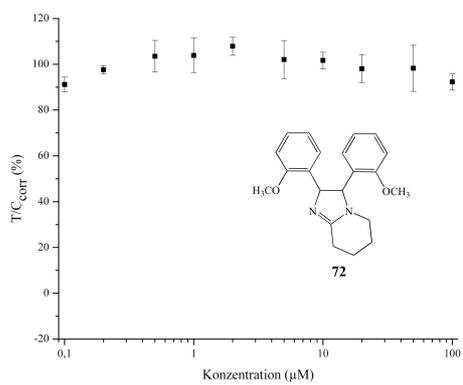
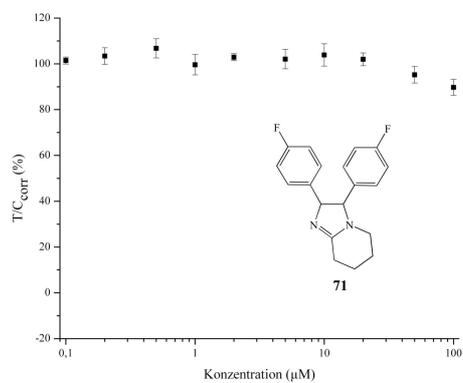
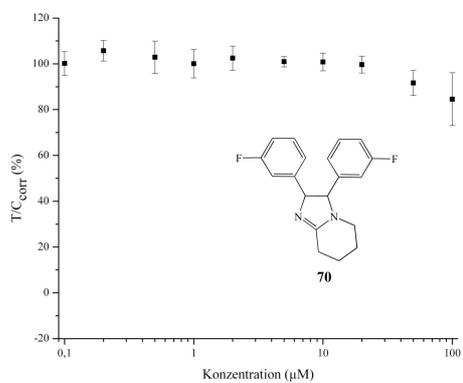
## 10 Anhang

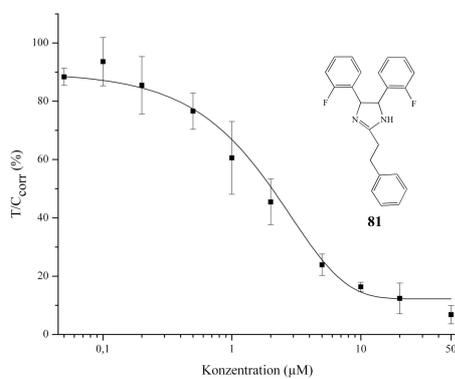
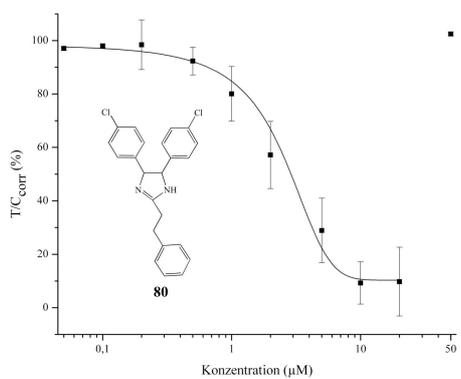
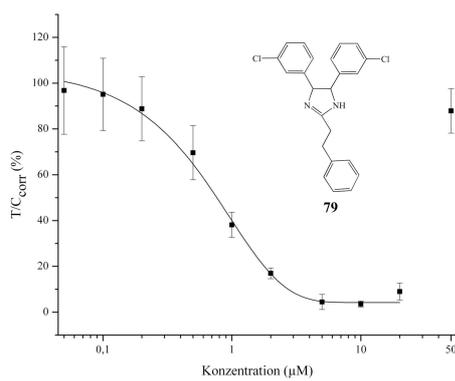
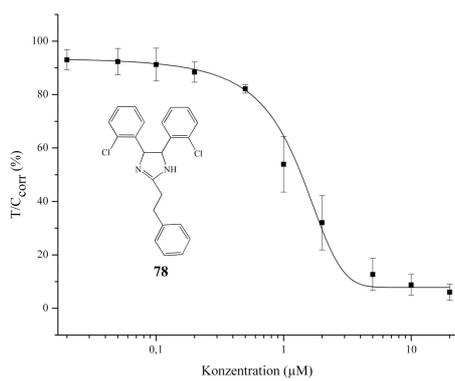
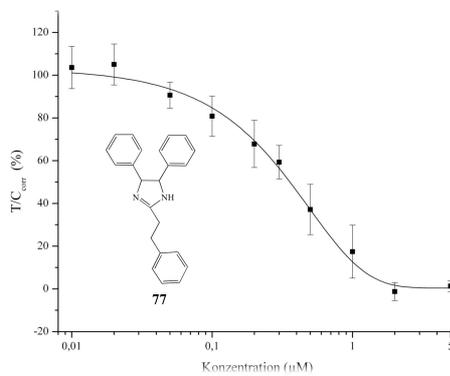
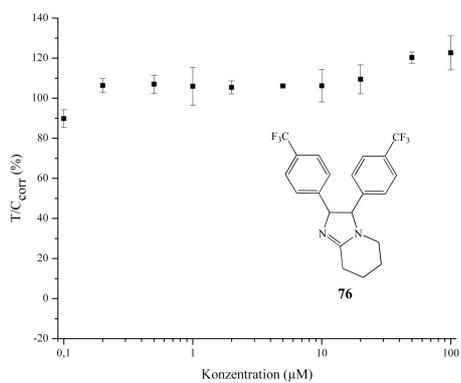
### 10.1 Konzentrations-Wirkungskurven der Verbindungen am P2X<sub>7</sub>-Rezeptor

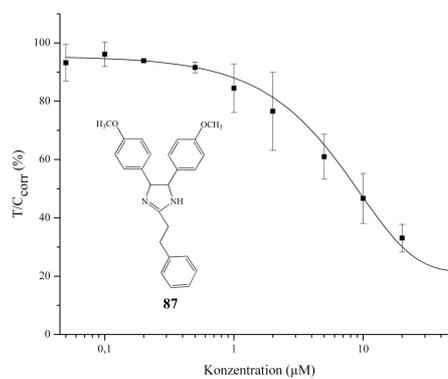
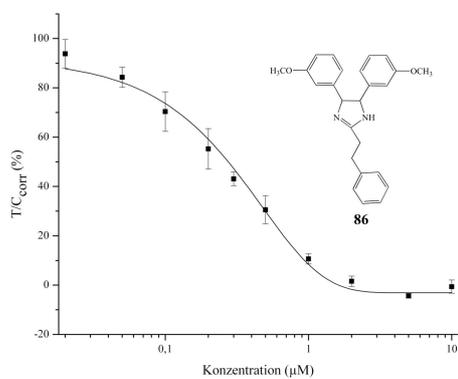
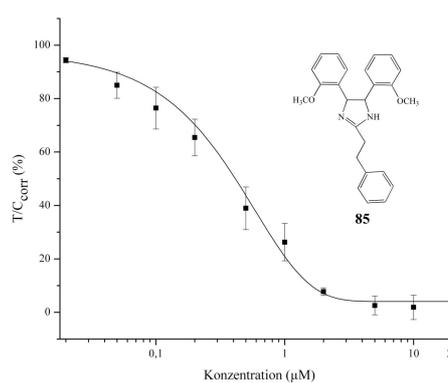
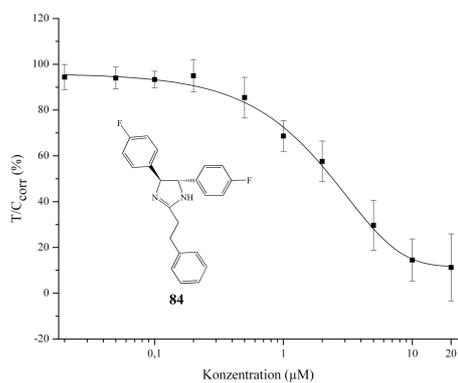
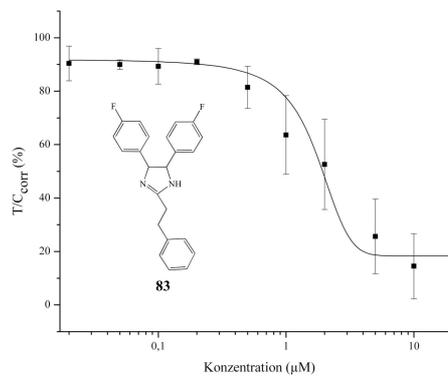
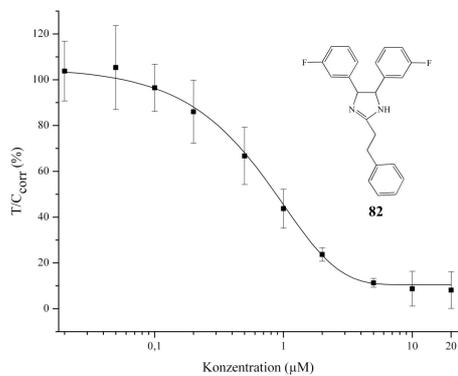


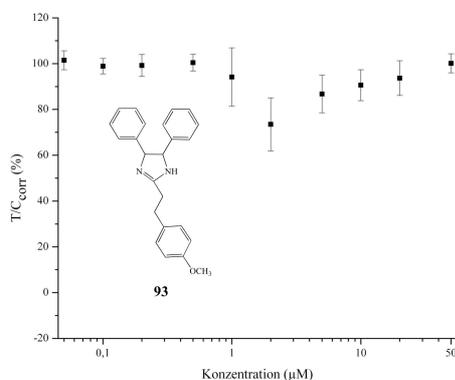
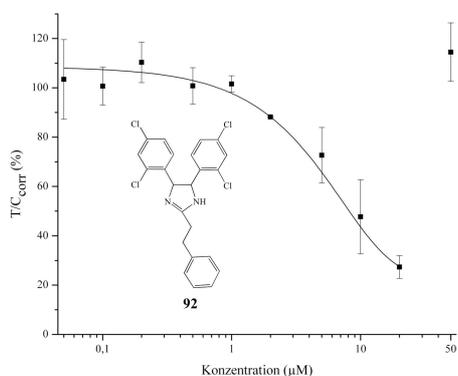
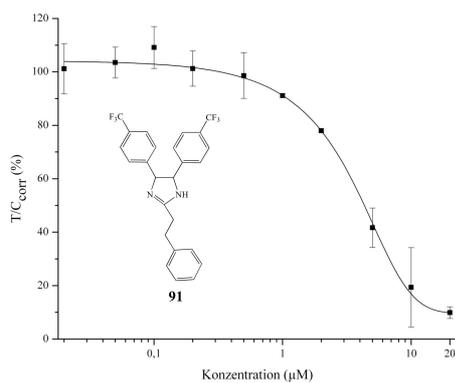
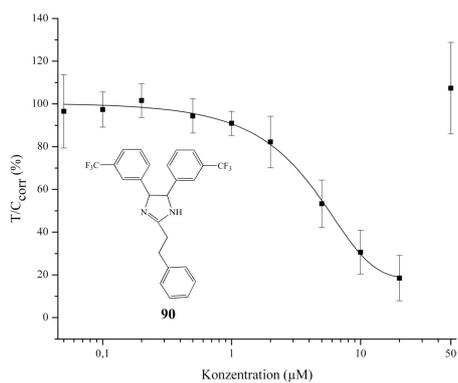
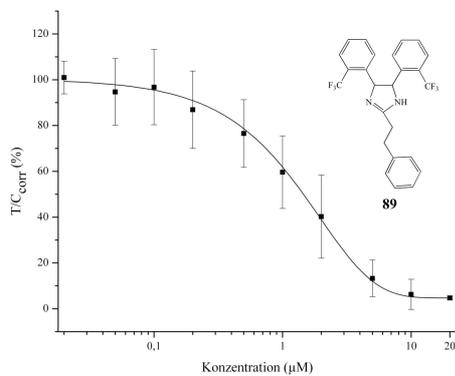
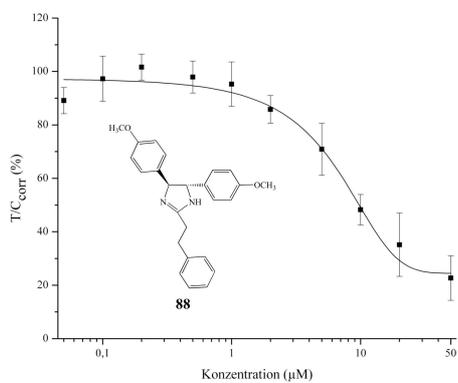


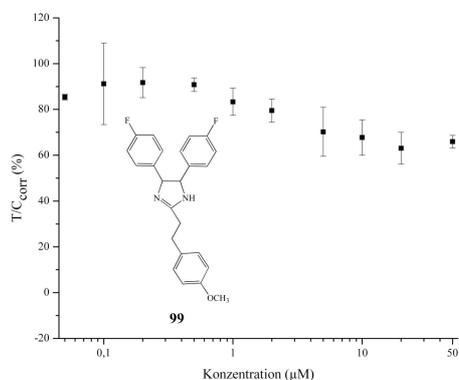
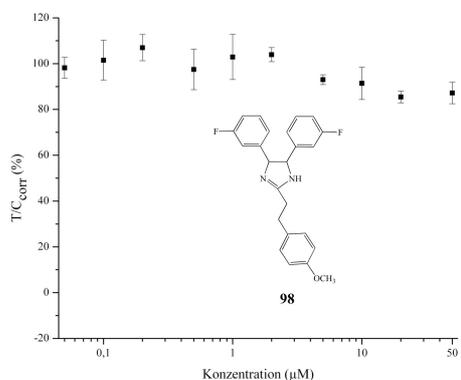
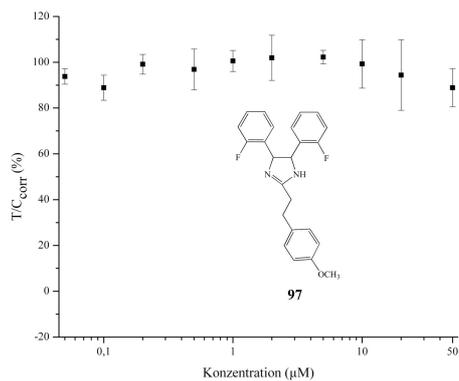
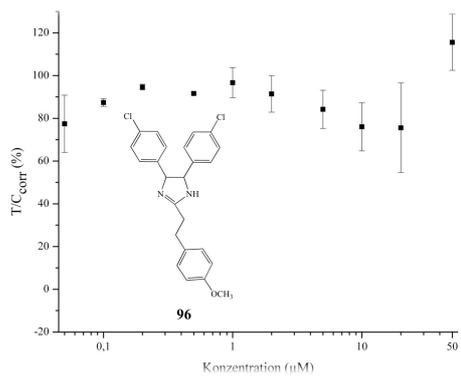
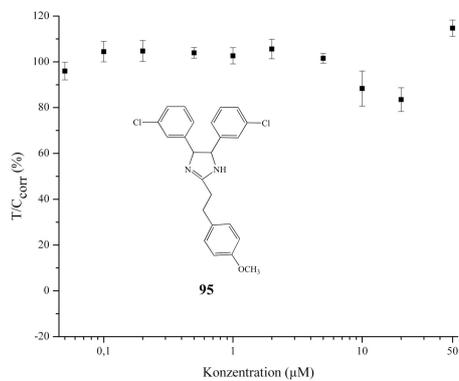
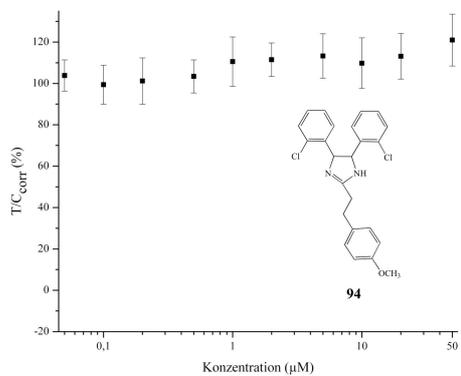


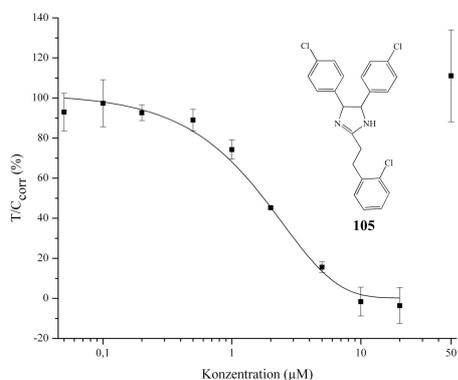
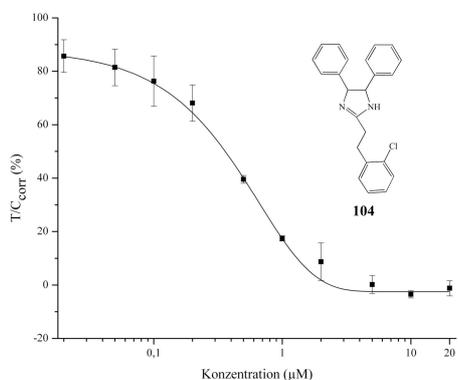
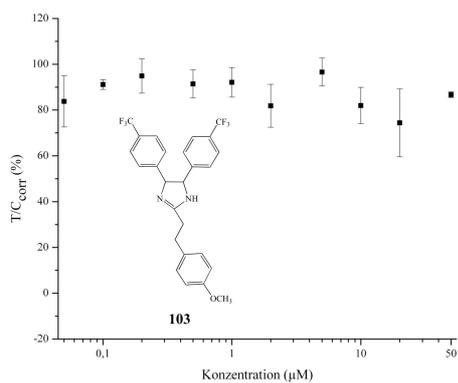
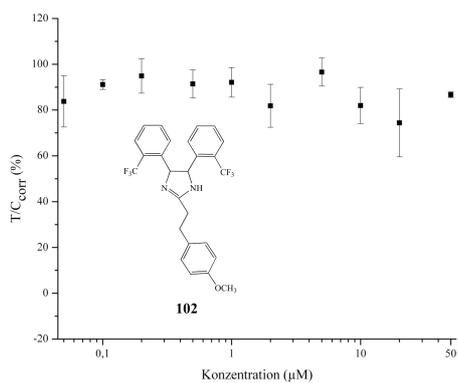
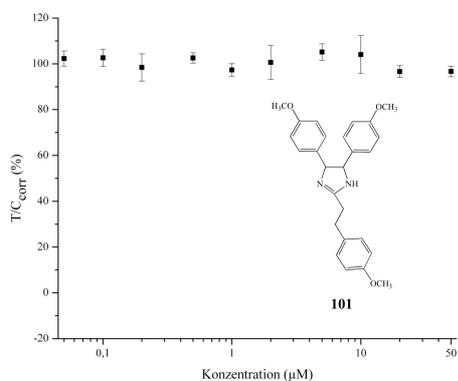
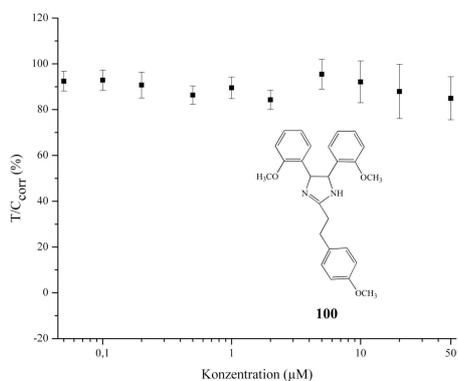


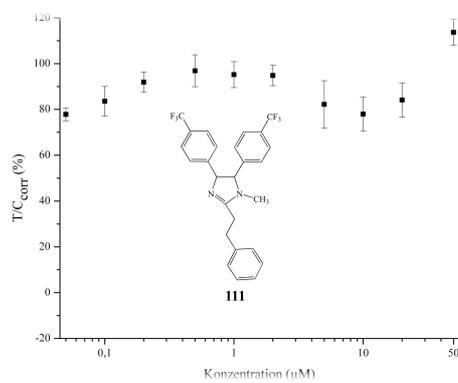
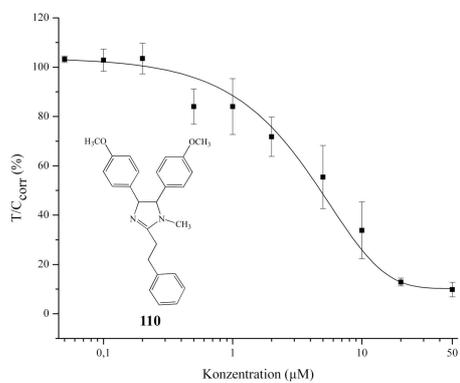
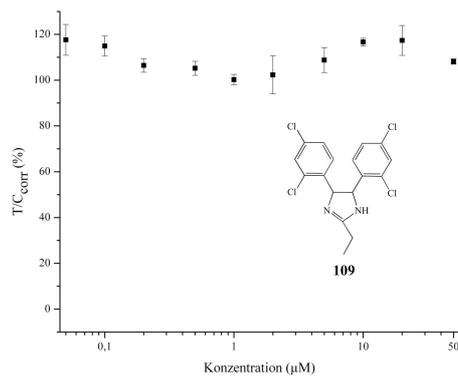
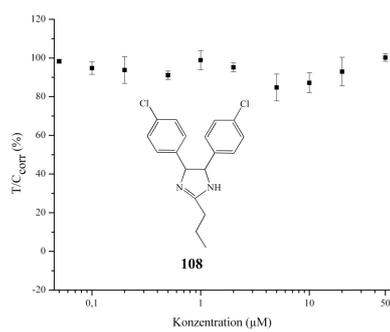
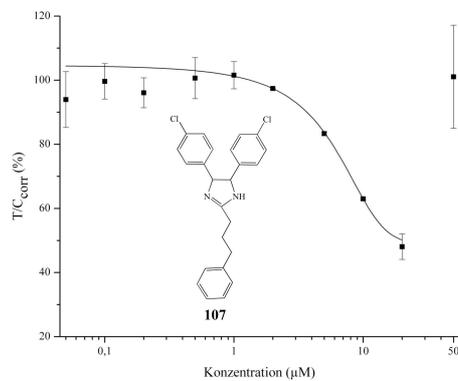
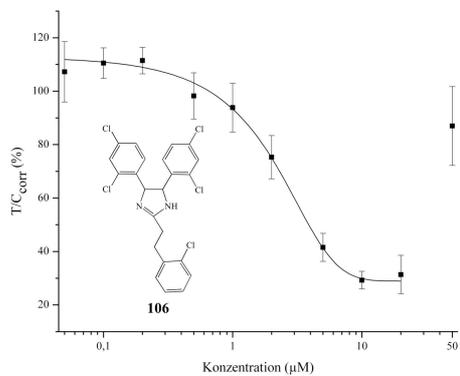


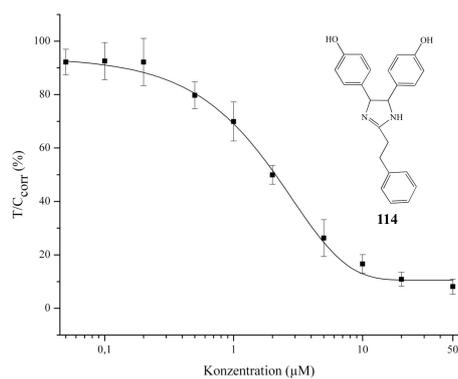
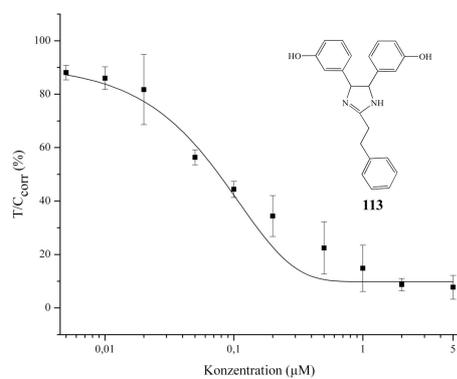
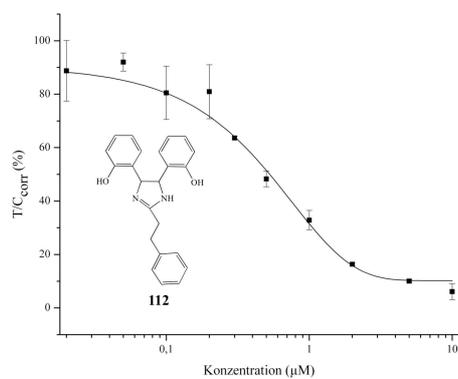




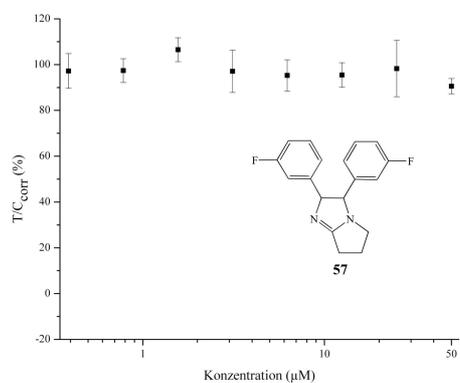
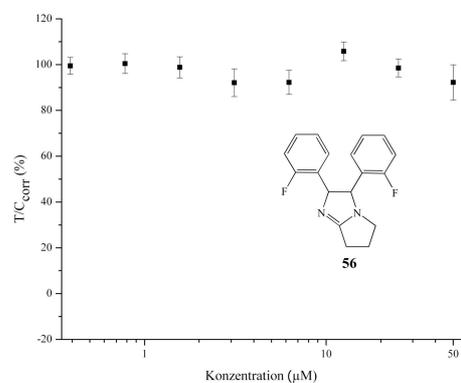
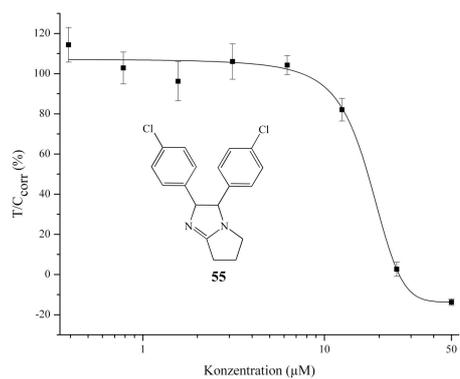
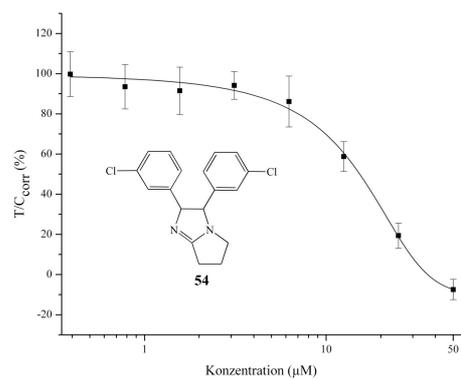
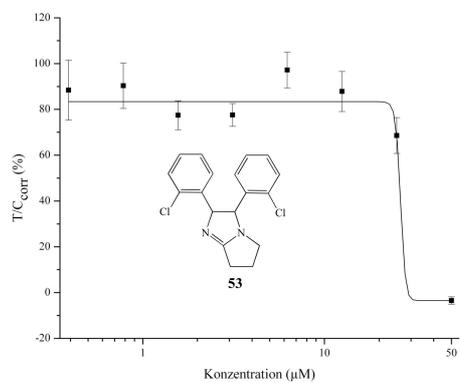
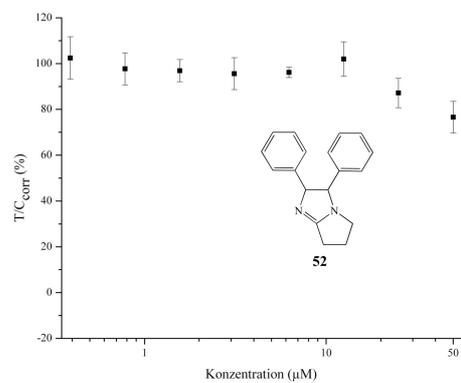


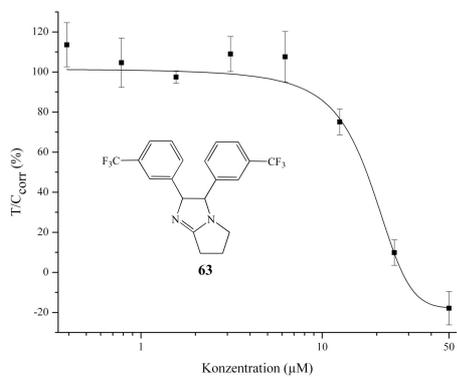
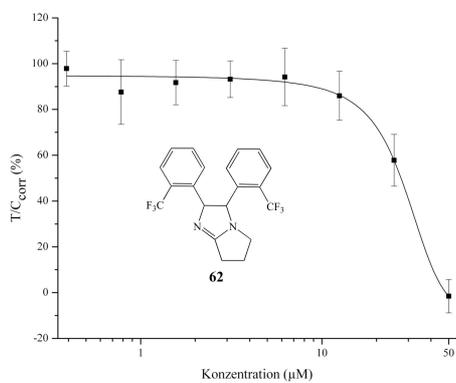
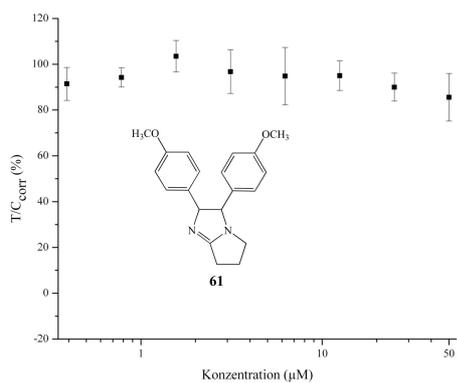
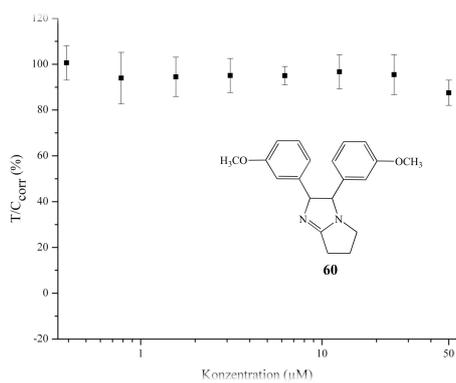
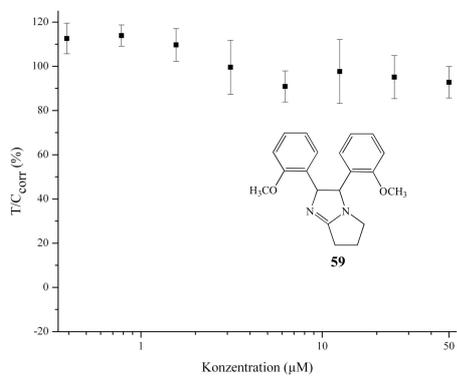
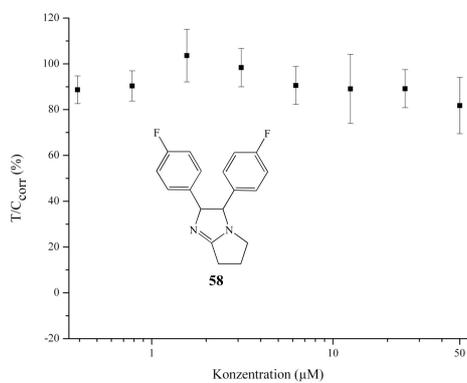


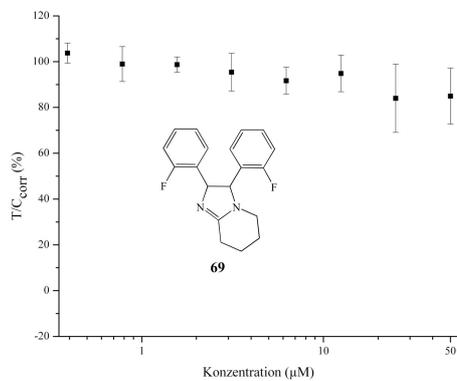
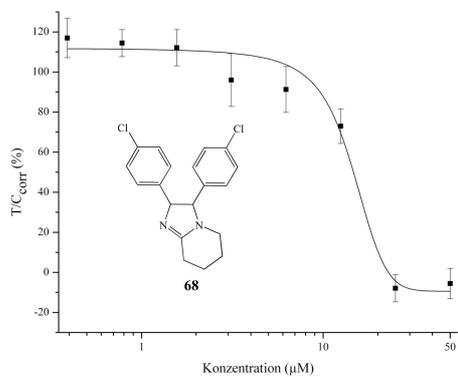
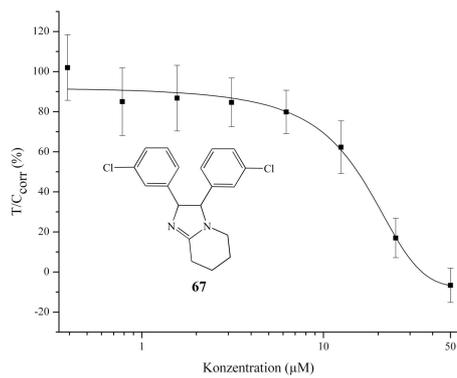
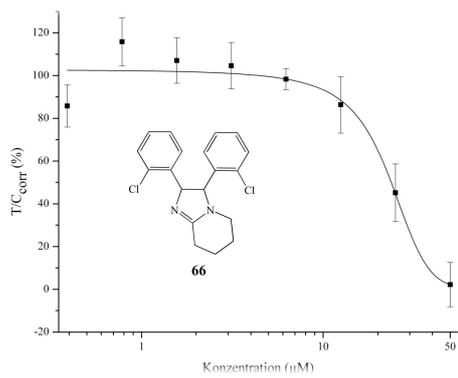
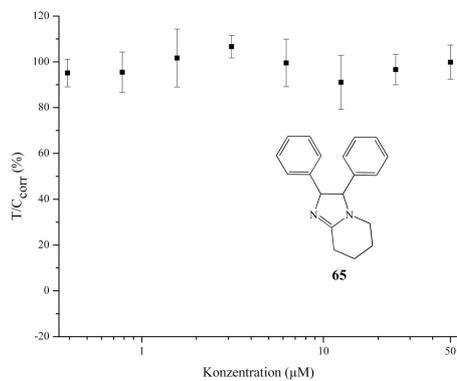
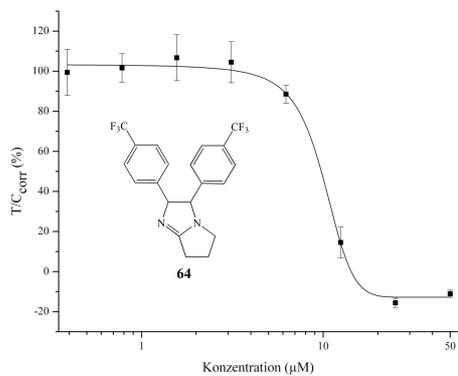


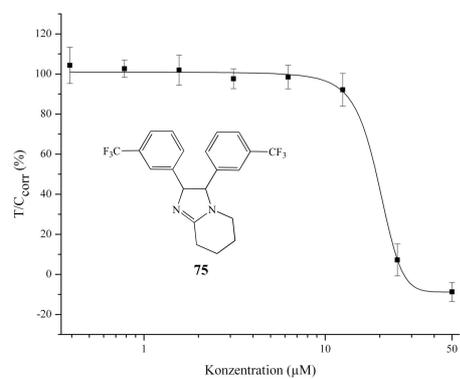
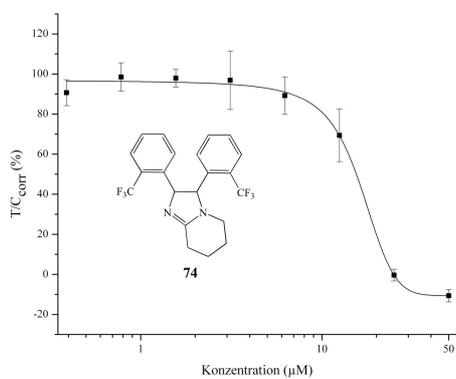
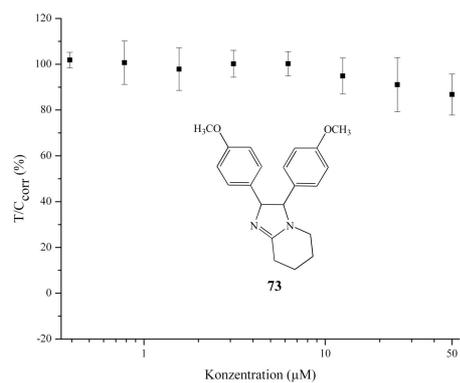
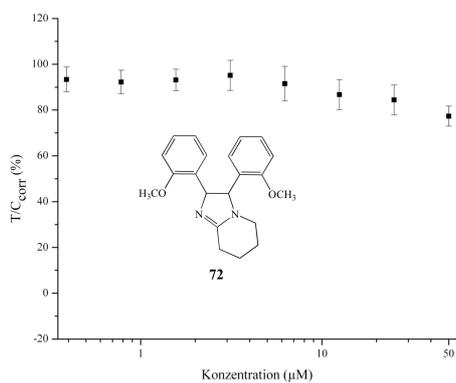
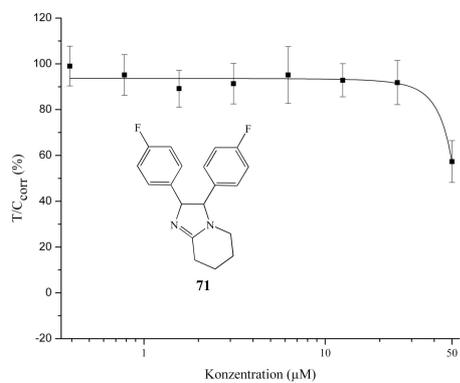
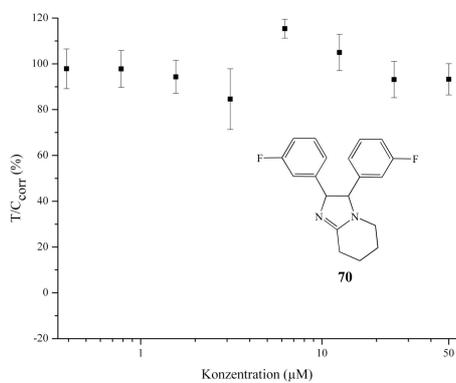


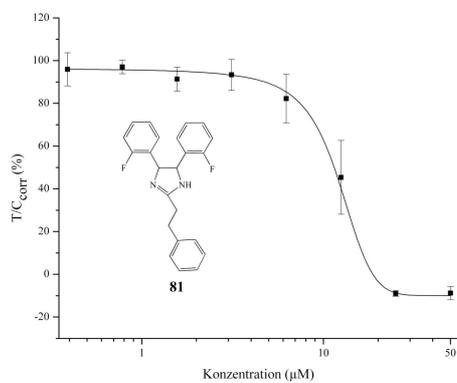
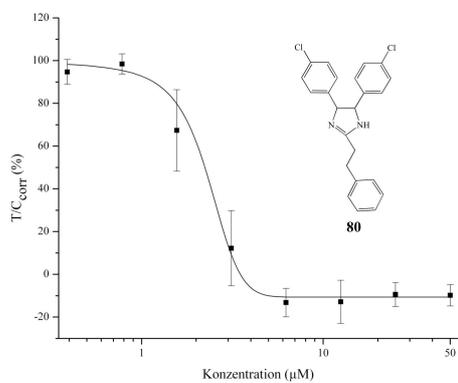
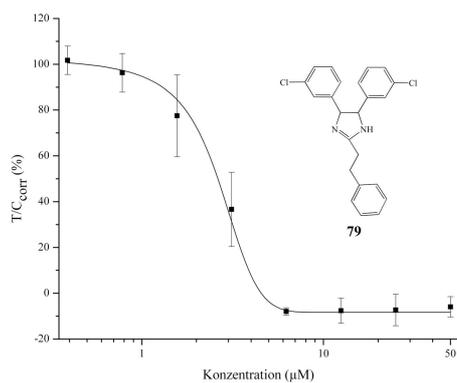
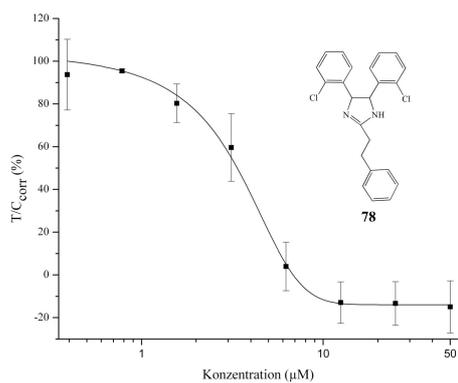
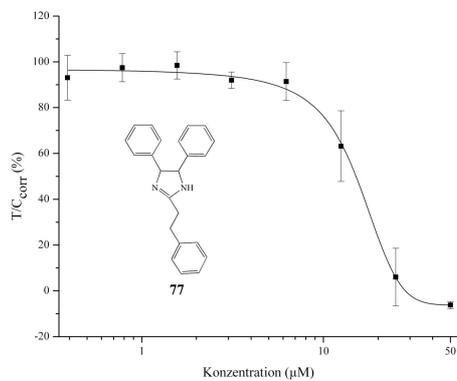
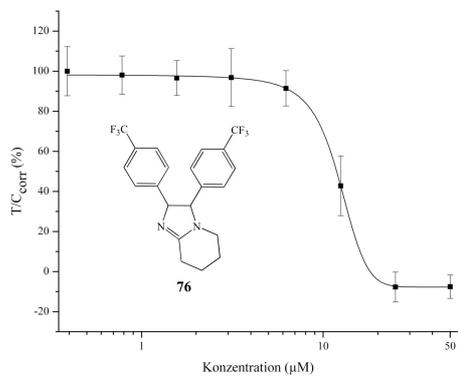
## 10.2 Konzentrations-Wirkungskurven der Verbindungen an der MDA-MB 231 Zelllinie

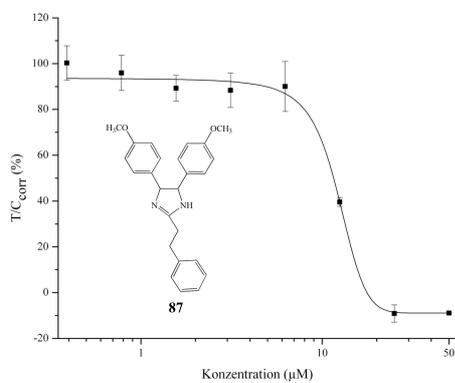
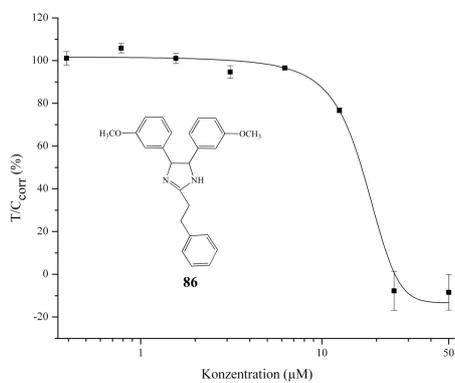
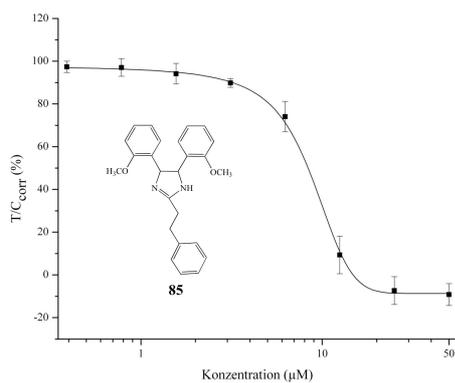
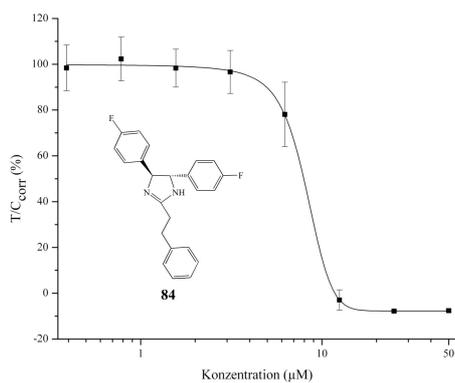
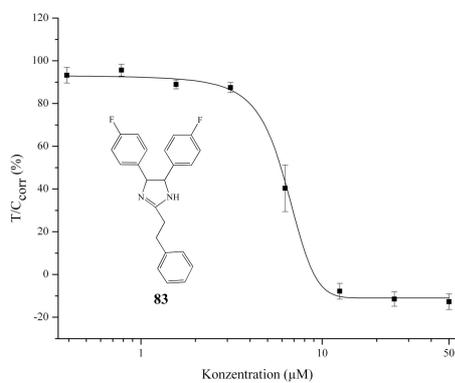
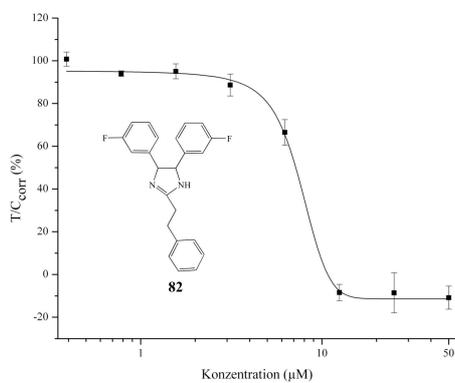


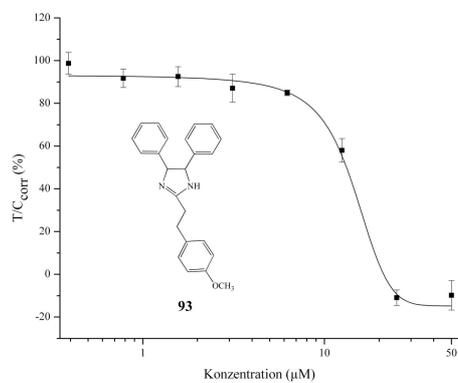
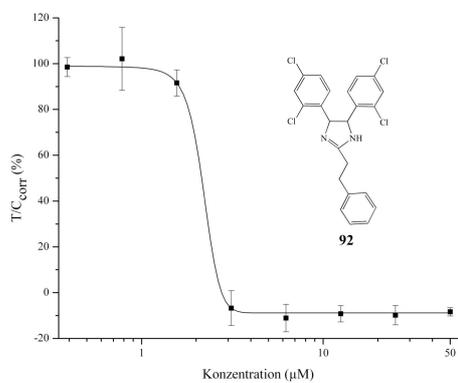
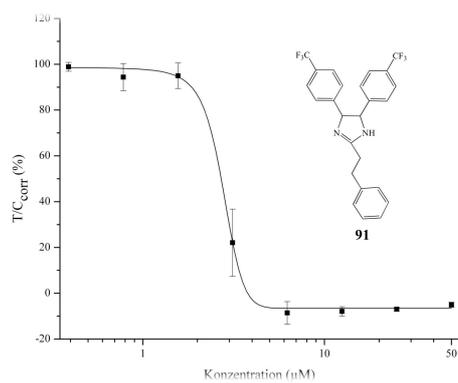
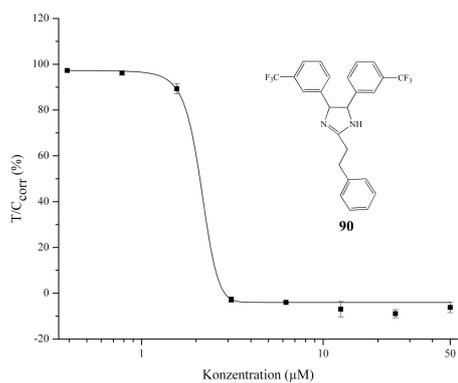
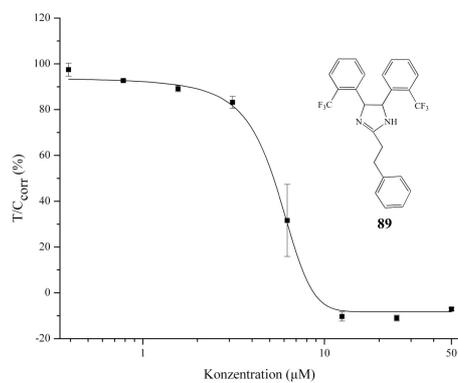
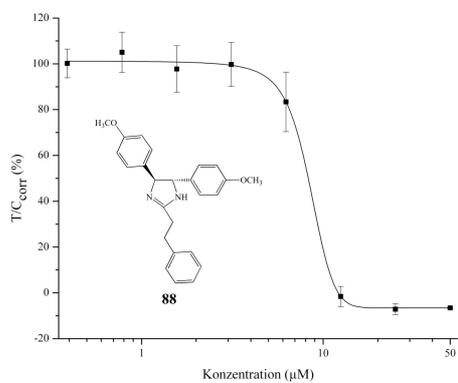


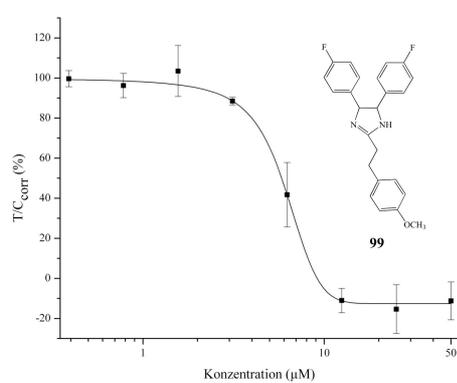
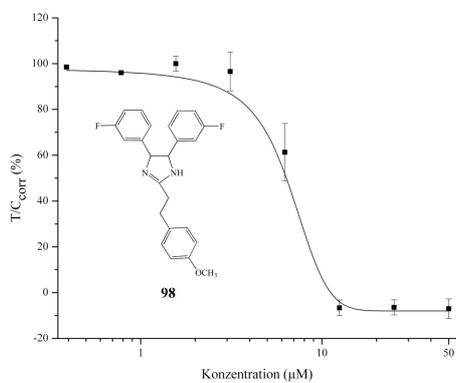
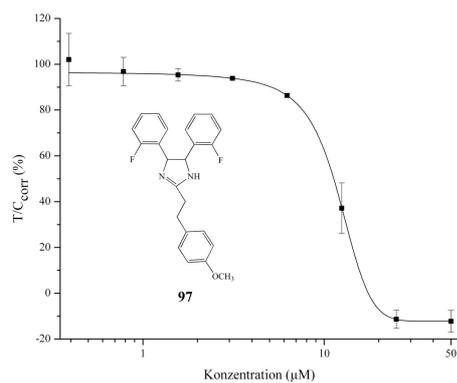
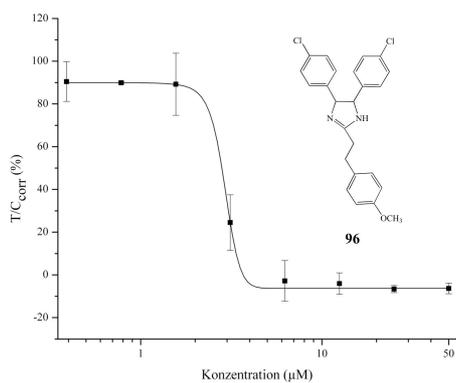
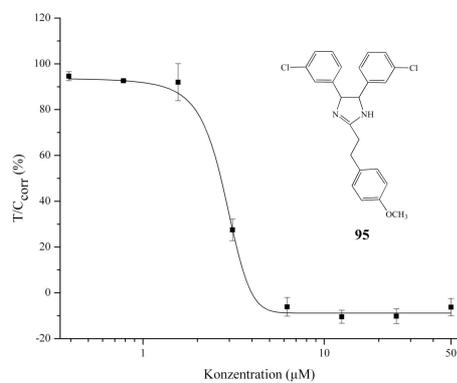
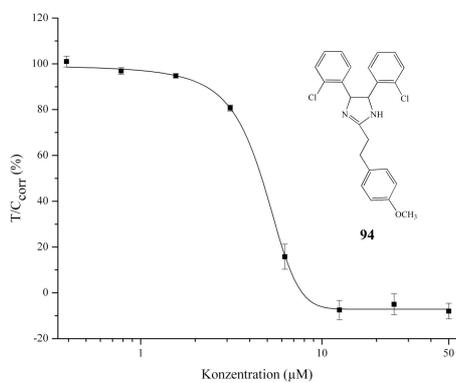


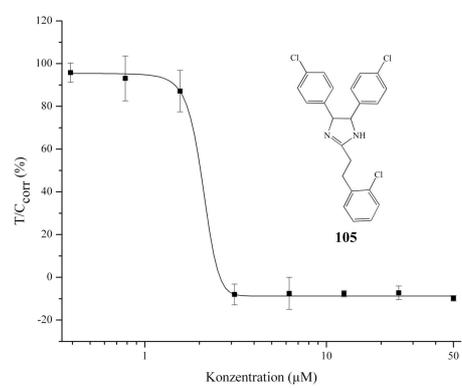
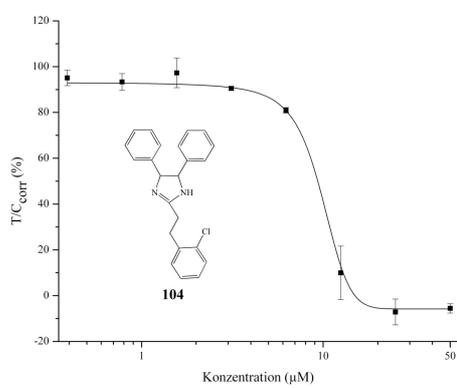
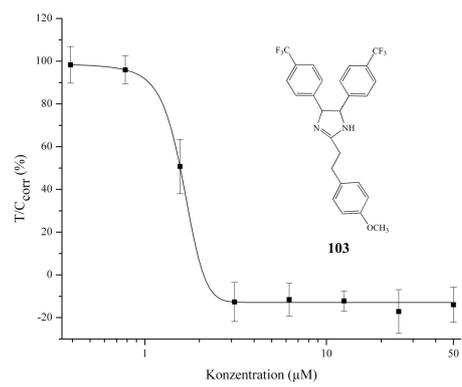
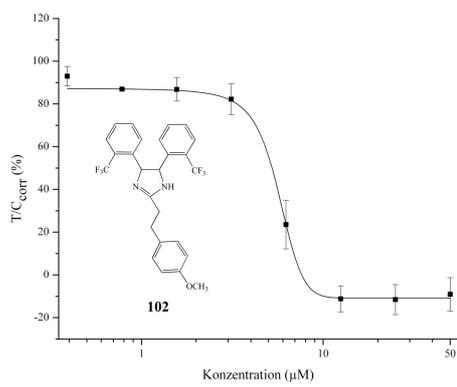
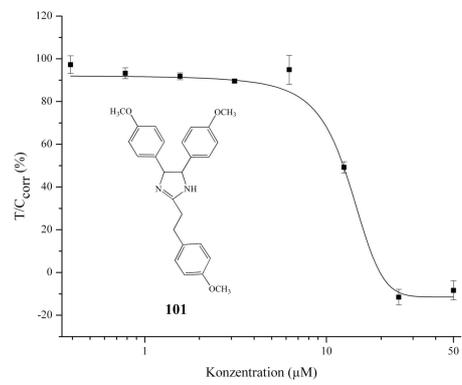
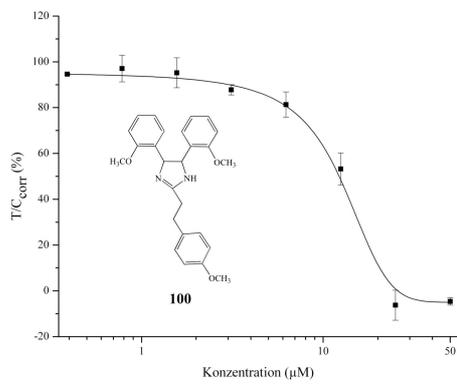


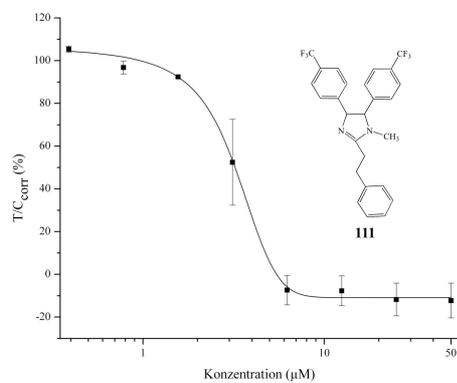
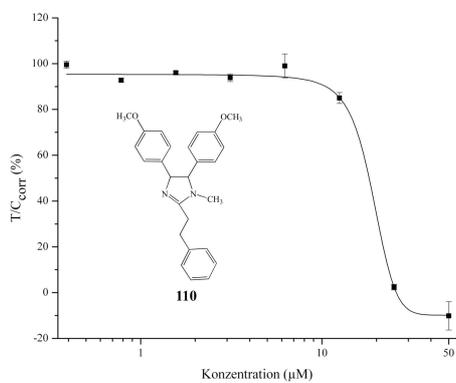
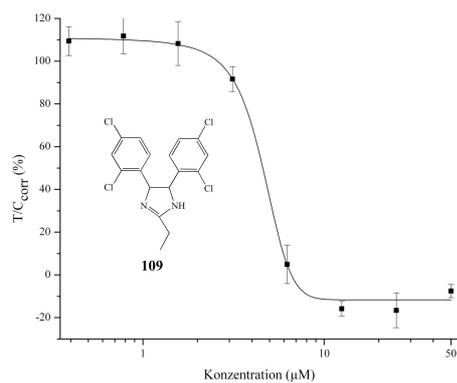
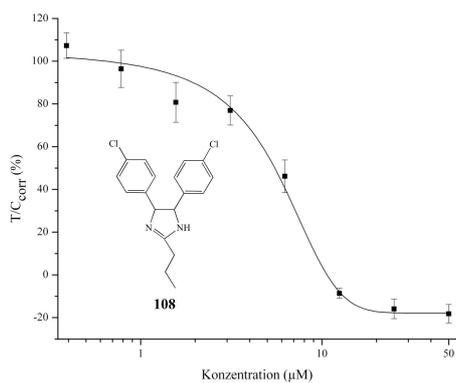
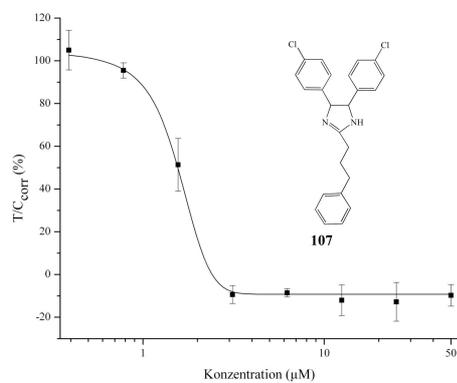
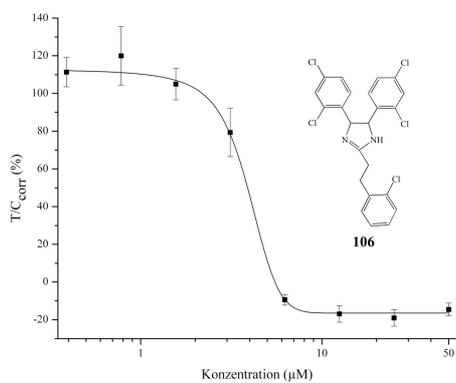


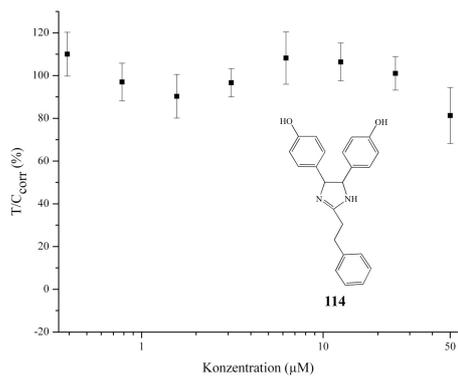
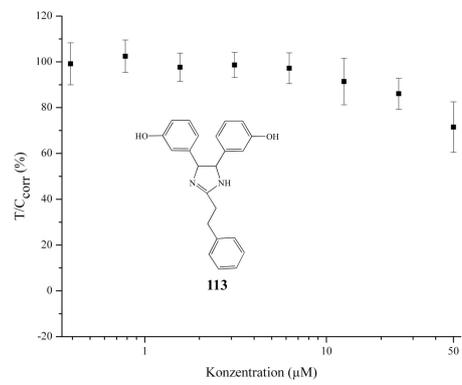
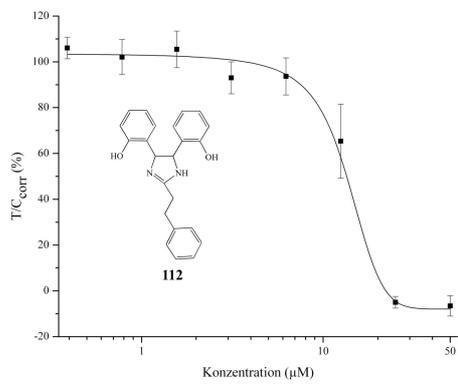












## **11 Literatur**



## 11 Literatur

AbbottLaboratories. (2007). *Patentnr. WO2007056091*.

Abbracchio, M., & Burnstock, G. (1994). Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? *Pharmacology & therapeutics* , 64 (3), 445-75.

Alcaraz, L., Baxter, A., Bent, J., Bowers, K., Braddock, M., Cladingboel, D., et al. (2003). Novel P2X7 receptor antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* , 13 (22), 4043-6.

Baraldi, P., Del Carmennunez, M., Morelli, A., Falzoni, S., Di Virgilio, F., & Romagnoli, R. (2003). Synthesis and Biological Activity of N-Arylpiperazine-Modified Analogues of KN-62, a Potent Antagonist of the Purinergic P2X7 Receptor. *Journal of medicinal chemistry* , 46 (8), 1318-1329.

Barbe, M., Monyer, H., & Bruzzone, R. (2006). Cell-cell communication beyond connexins: the pannexin channels. *Physiology (Bethesda, Md)* , 21, 103-14.

Barta, T., Stealey, M., Collins, P., & Weier, R. (1998). Antiinflammatory 4,5-diarylimidazoles as selective cyclooxygenase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* , 8 (24), 3443-8.

Baxter, A., Bent, J., Bowers, K., Braddock, M., Brough, S., Fagura, M., et al. (2003). Hit-to-Lead studies: the discovery of potent adamantane amide P2X7 receptor antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* , 13 (22), 4047-50.

Benton, F., & Dillon, T. (1942). The Cleavage of Ethers with Boron Bromide. I. Some Common Ethers. *J. Am. Chem. Soc.* , 64, 1128-1129.

Bianchi, B., Lynch, K., Touma, E., Niforatos, W., Burgard, E., Alexander, K., et al. (1999). Pharmacological characterization of recombinant human and rat P2X receptor subtypes. *European journal of pharmacology* , 376 (1-2), 127-38.

Borch, R., Bernstein, M., & Durst, H. (1971). The Cyanohydrinborate Anion as a Selective Reducing Agent. *J. Am. Chem. Soc.* (93), 2897-2904.

Bradford, M., & Soltoff, S. (2002). P2X7 receptors activate protein kinase D and p42/p44 mitogen-activated protein kinase (MAPK) downstream of protein kinase C. *The Biochemical journal* , 366 (Pt 3), 745-55.

Brough, D., Le Feuvre, R., Iwakura, Y., & Rothwell, N. (2002). Purinergic (P2X7) receptor activation of microglia induces cell death via an interleukin-1-independent mechanism. *Molecular and cellular neurosciences* , 19 (2), 272-80.

Budagian, V., Bulanova, E., Brovko, L., Orinska, Z., Fayad, R., Paus, R., et al. (2003). Signaling through P2X7 receptor in human T cells involves p56lck, MAP kinases, and transcription factors AP-1 and NF-kappa B. *The Journal of biological chemistry* , 278 (3), 1549-60.

- Burnstock, G. (1978). A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In *Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones* (S. 107-118). Raven Press, New York: Bolis, L.; Straub, R.W.
- Burnstock, G., & Kennedy, C. (1986). Purinergic receptors in the cardiovascular system. *Prog Pharmacol* (6), 111-132.
- Cailleau, R., Young, R., Olivé, M., & Reeves, W. (1974). Breast tumor cell lines from pleural effusions. *Journal of the National Cancer Institute* , 53 (3), 661-74.
- Campbell, H., Kuhla, D., & Studt, W. (1. Jan 1989). Bicyclic Benzenoid Aminoalkylene Ethers And Thioethers. *EP Patent 0,150,192* .
- Cario-Toumaniantz, C., Loirand, G., Ladoux, A., & Pacaud, P. (1998). P2X7 receptor activation-induced contraction and lysis in human saphenous vein smooth muscle. *Circulation research* , 83 (2), 196-203.
- Carroll, W., Kalvin, D., Perez Medrano, A., Florjancic, A., Wang, Y., Donnelly-Roberts, D., et al. (2007). Novel and potent 3-(2,3-dichlorophenyl)-4-(benzyl)-4H-1,2,4-triazole P2X7 antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* , 17 (14), 4044-8.
- Chessell, I., Hatcher, J., Bountra, C., Michel, A., Hughes, J., Green, P., et al. (2005). Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain. *Pain* , 114 (3), 386-96.
- Chessell, I., Simon, J., Hibell, A., Michel, A., Barnard, E., & Humphrey, P. (1998). Cloning and functional characterisation of the mouse P2X7 receptor. *FEBS letters* , 439 (1-2), 26-30.
- Dalko, P., & Langlois, Y. (1998). Stereoselective Synthesis of Quaternary Benzylic Carbons Using C2 Symmetric Imidazolines and Tetrahydrofuran as Electrophile. *J. Org. Chem.* , 63, 8107-8117.
- Di Virgilio, F., Borea, P., & Illes, P. (2001). P2 receptors meet the immune system. *Trends in pharmacological sciences* , 22 (1), 5-7.
- Donnelly-Roberts, D., & Jarvis, M. (2007). Discovery of P2X7 receptor-selective antagonists offers new insights into P2X7 receptor function and indicates a role in chronic pain states. *British journal of pharmacology* , 151 (5), 571-9.
- Drury, A., & Szent-Györgyi, A. (1929). The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. *The Journal of physiology* , 68 (3), 213-37.
- Dubyak, G. (1991). Signal transduction by P2-purinergic receptors for extracellular ATP. *American journal of respiratory cell and molecular biology* , 4 (4), 295-300.
- Dubyak, G., & el-Moatassim, C. (1993). Signal transduction via P2-purinergic receptors for extracellular ATP and other nucleotides. *The American journal of physiology* , 265 (3 Pt 1), C577-606.

- el-Moatassim, C., & Dubyak, G. (1992). A novel pathway for the activation of phospholipase D by P2z purinergic receptors in BAC1.2F5 macrophages. *The Journal of biological chemistry* , 267 (33), 23664-73.
- Engel, L., & Young, N. (1978). Human breast carcinoma cells in continuous culture: a review. *Cancer research* , 38 (11 Pt 2), 4327-39.
- Faria, R., Defarias, F., & Alves, L. (2005). Are second messengers crucial for opening the pore associated with P2X7 receptor? *American journal of physiology Cell physiology* , 288 (2), C260-71.
- Ferrari, D., Pizzirani, C., Adinolfi, E., Lemoli, R., Curti, A., Idzko, M., et al. (2006). The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* , 176 (7), 3877-83.
- Francesconi, I., Wilson, W., Tanious, F., Hall, J., Bender, B., Tidwell, R., et al. (1999). 2,4-Diphenyl furan diamidines as novel anti-Pneumocystis carinii pneumonia agents. *Journal of medicinal chemistry* , 42 (12), 2260-5.
- Fredholm, B., Abbracchio, M., Burnstock, G., Daly, J., Harden, T., Jacobson, K., et al. (1994). Nomenclature and classification of purinoceptors. *Pharmacological reviews* , 46 (2), 143-56.
- Furber, Alcaraz, Bent, Beyerbach, Bowers, Braddock, et al. (27. Oct 2007). Discovery of Potent and Selective Adamantane-Based Small-Molecule P2X(7) Receptor Antagonists/Interleukin-1beta Inhibitors. *Journal of medicinal chemistry* .
- Gargett, C., & Wiley, J. (1997). The isoquinoline derivative KN-62 a potent antagonist of the P2Z-receptor of human lymphocytes. *British journal of pharmacology* , 120 (8), 1483-90.
- Gillespie, J. (1934). The biological significance of the linkages in adenosine triphosphoric acid. *The Journal of physiology* , 80 (4), 345-59.
- Gillies, R., Didier, N., & Denton, M. (1986). Determination of cell number in monolayer cultures. *Analytical biochemistry* , 159 (1), 109-13.
- GlaxoGroupLimited. (2007). *Patentnr. WO2007141267*.
- Gordon, J. (1986). Extracellular ATP: effects, sources and fate. *The Biochemical journal* , 233 (2), 309-19.
- Gruseck, U., & Heuschmann, M. (1987). 2-Alkylidenimidazolidine - Synthese, Basizität, 1H- und 13C-NMR-Spektren. *Chem. Ber.* , 120, 2053-2064.
- Grynkiewicz, G., Poenie, M., & Tsien, R. (1985). A new generation of Ca<sup>2+</sup> indicators with greatly improved fluorescence properties. *The Journal of biological chemistry* , 260 (6), 3440-50.
- Gu, B., Zhang, W., Bendall, L., Chessell, I., Buell, G., & Wiley, J. (2000). Expression of P2X(7) purinoceptors on human lymphocytes and monocytes: evidence for nonfunctional P2X(7) receptors. *American journal of physiology Cell physiology* , 279 (4), C1189-97.

- Hansch, C. (1990). *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Pergamon Press, 1 edition.
- Hibell, A., Kidd, E., Chessell, I., Humphrey, P., & Michel, A. (2000). Apparent species differences in the kinetic properties of P2X(7) receptors. *British journal of pharmacology*, 130 (1), 167-73.
- Hofmann. (2005). *Pharmakologie und Toxikologie*. (Aktories, Förstermann, Hofmann, & Starke, Hrsg.) München: Elsevier GmbH.
- Holton, F. A., & Holton, P. (1953). The possibility that ATP is a transmitter at sensory nerve endings. *The Journal of physiology*, 119 (4), 50P-51P.
- Honore, P., Donnelly-Roberts, D., Namovic, M., Hsieh, G., Zhu, C., Mikusa, J., et al. (2006). A-740003 [N-(1-[[[(cyanoimino)(5-quinolinylamino) methyl]amino]-2,2-dimethylpropyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)acetamide], a novel and selective P2X7 receptor antagonist, dose-dependently reduces neuropathic pain in the rat. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 319 (3), 1376-85.
- Humphreys, B., & Dubyak, G. (1996). Induction of the P2z/P2X7 nucleotide receptor and associated phospholipase D activity by lipopolysaccharide and IFN-gamma in the human THP-1 monocytic cell line. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*, 157 (12), 5627-37.
- Humphreys, B., Virginio, C., Surprenant, A., Rice, J., & Dubyak, G. (1998). Isoquinolines as antagonists of the P2X7 nucleotide receptor: high selectivity for the human versus rat receptor homologues. *Molecular pharmacology*, 54 (1), 22-32.
- Japp, F., & Hooker, S. (1. Jan 1884). LIII.—On the action of aldehydes and ammonia on benzil (continued). *Journal of the Chemical Society*.
- Jiang, L., Mackenzie, A., North, R., & Surprenant, A. (2000). Brilliant blue G selectively blocks ATP-gated rat P2X(7) receptors. *Molecular pharmacology*, 58 (1), 82-8.
- John, G., Simpson, J., Woodroffe, M., Lee, S., & Brosnan, C. (2001). Extracellular nucleotides differentially regulate interleukin-1beta signaling in primary human astrocytes: implications for inflammatory gene expression. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21 (12), 4134-42.
- Ke, H., Qi, H., Weidema, A., Zhang, Q., Panupinthu, N., Crawford, D., et al. (2003). Deletion of the P2X7 nucleotide receptor reveals its regulatory roles in bone formation and resorption. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*, 17 (7), 1356-67.
- Khakh, B., Bao, X., Labarca, C., & Lester, H. (1999). Neuronal P2X transmitter-gated cation channels change their ion selectivity in seconds. *Nature neuroscience*, 2 (4), 322-30.
- Klapperstück, M., Büttner, C., Böhm, T., Schmalzing, G., & Markwardt, F. (2000). Characteristics of P2X7 receptors from human B lymphocytes expressed in *Xenopus* oocytes. *Biochimica et biophysica acta*, 1467 (2), 444-56.
- Kyrides, L., Zienty, F., Steahly, G., & Morrill, H. (1. Jan 1947). Substituted Imidazoles and 2-Imidazolines. *The Journal of Organic Chemistry*.

- Labasi, J., Petrushova, N., Donovan, C., McCurdy, S., Lira, P., Payette, M., et al. (2002). Absence of the P2X7 receptor alters leukocyte function and attenuates an inflammatory response. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* , 168 (12), 6436-45.
- Le Feuvre, R., Brough, D., & Rothwell, N. (2002). Extracellular ATP and P2X7 receptors in neurodegeneration. *European journal of pharmacology* , 447 (2-3), 261-9.
- Lee, S.-Y., Jo, S., Lee, G., Jeong, L., Kim, Y.-C., & Park, C.-S. (2006). Establishment of an assay for P2X7 receptor-mediated cell death. *Molecules and cells* , 22 (2), 198-202.
- Lewis, C., Neidhart, S., Holy, C., North, R., Buell, G., & Surprenant, A. (1995). Coexpression of P2X2 and P2X3 receptor subunits can account for ATP-gated currents in sensory neurons. *Nature* , 377 (6548), 432-5.
- Li, X., Zhou, L., Feng, Y.-H., Abdul-Karim, F., & Gorodeski, G. (2006). The P2X7 Receptor: A Novel Biomarker of Uterine Epithelial Cancers. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* , 15 (10), 1906-1913.
- Liu, E. A., Vu, B. T., & Kong, N. (2003). Preparation of cis-2,4,5-triphenylimidazolines as MDM2-inhibitors.
- Lundy, P., Nelson, P., Mi, L., Frew, R., Minaker, S., Vair, C., et al. (2004). Pharmacological differentiation of the P2X7 receptor and the maitotoxin-activated cationic channel. *European journal of pharmacology* , 487 (1-3), 17-28.
- Martin, P., Matthews, H., Rapoport, H., & Thyagarajan, G. (1968). The Synthesis of 1,4-Substituted Imidazoles. *J. Org. Chem.* , 33, 3758-3761.
- Merriman, G., Ma, L., Shum, P., McGarry, D., Volz, F., Sabol, J., et al. (2005). Synthesis and SAR of novel 4,5-diarylimidazolines as potent P2X receptor antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* , 15 (2), 435-438.
- Mircheva, J. (1988). On the in vitro cytotoxicity of 1-chloroethyl-2-chloromethyl-2-imidazoline hydrochloride. *Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica* , 14 (1), 48-51.
- Nelson, D., Gregg, R., Kort, M., Perez-Medrano, A., Voight, E., Wang, Y., et al. (2006). Structure-activity relationship studies on a series of novel, substituted 1-benzyl-5-phenyltetrazole P2X7 antagonists. *Journal of medicinal chemistry* , 49 (12), 3659-66.
- Nematollahi, J., & Tuck, L. (1967). Detection of some formiminoesters and the measurement of their rates of formation using NMR. *Journal of pharmaceutical sciences* , 56 (6), 684-7.
- North, R. A. (2002). Molecular physiology of P2X receptors. *Physiological reviews* , 82 (4), 1013-67.
- North, R. (1996). P2X purinoceptor plethora. *semin neurosci* , 8, 187-194.
- Olsson, R., & Pearson, J. (1990). Cardiovascular purinoceptors. *Physiological reviews* , 70 (3), 761-845.

- Panchin, Y. (2005). Evolution of gap junction proteins--the pannexin alternative. *The Journal of experimental biology* , 208 (Pt 8), 1415-9.
- Parker, L., Anderson, F., O'Hare, C., Lacy, S., Bingham, J., Robins, D., et al. (2005). Synthesis of novel DNA cross-linking antitumour agents based on polyazamacrocycles. *Bioorganic & medicinal chemistry* , 13 (7), 2389-95.
- Paukert, M., Hidayat, S., & Gründer, S. (2002). The P2X(7) receptor from *Xenopus laevis*: formation of a large pore in *Xenopus* oocytes. *FEBS letters* , 513 (2-3), 253-8.
- Pelegrin, P., & Surprenant, A. (2007). Pannexin-1 couples to maitotoxin- and nigericin-induced interleukin-1beta release through a dye uptake-independent pathway. *The Journal of biological chemistry* , 282 (4), 2386-94.
- Pelegrin, P., & Surprenant, A. (2006). Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1beta release by the ATP-gated P2X7 receptor. *The EMBO journal* , 25 (21), 5071-82.
- Petrou, S., Ugur, M., Drummond, R., Singer, J., & Walsh, J. (1997). P2X7 purinoceptor expression in *Xenopus* oocytes is not sufficient to produce a pore-forming P2Z-like phenotype. *FEBS letters* , 411 (2-3), 339-45.
- Pfeiffer, Z., Aga, M., Prabhu, U., Watters, J., Hall, D., & Bertics, P. (2004). The nucleotide receptor P2X7 mediates actin reorganization and membrane blebbing in RAW 264.7 macrophages via p38 MAP kinase and Rho. *Journal of leukocyte biology* , 75 (6), 1173-82.
- Pinner, A. (1883). Über die Umwandlung der Nitrile in Imide. *Chem. Ber.* , 16, 1643-1655.
- Ralevic, V., & Burnstock, G. (1998). Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacological reviews* , 50 (3), 413-92.
- Rampe, D., Wang, L., & Ringheim, G. (2004). P2X7 receptor modulation of beta-amyloid- and LPS-induced cytokine secretion from human macrophages and microglia. *Journal of neuroimmunology* , 147 (1-2), 56-61.
- Rassendren, F., Buell, G., Virginio, C., Collo, G., North, R., & Surprenant, A. (1997). The permeabilizing ATP receptor, P2X7. Cloning and expression of a human cDNA. *The Journal of biological chemistry* , 272 (9), 5482-6.
- Romagnoli, R., Baraldi, P., Carrion, M., Cara, C., Preti, D., Cruz-Lopez, O., et al. (2007). From tyrosine to glycine: synthesis and biological activity of potent antagonists of the purinergic P2X7 receptor. *Journal of medicinal chemistry* , 50 (15), 3706-15.
- Schilling, W. P., Wasylyna, T., Dubyak, G. R., Humphreys, B. D., & Sinkins, W. G. (1999). Maitotoxin and P2Z/P2X(7) purinergic receptor stimulation activate a common cytolytic pore. *The American journal of physiology* , 277 (4 Pt 1), C766-76.
- Schilling, W., Rajan, L., & Strobl-Jager, E. (1989). Characterization of the bradykinin-stimulated calcium influx pathway of cultured vascular endothelial cells. Saturability, selectivity, and kinetics. *The Journal of biological chemistry* , 264 (22), 12838-48.

- Silverman, R. B. (1995). *Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und pharmazautische Chemiker*. Weinheim.
- Slater, M., Danieletto, S., Gidley-Baird, A., Teh, L., & Barden, J. (2004). Early prostate cancer detected using expression of non-functional cytolytic P2X7 receptors. *Histopathology*, 44 (3), 206-15.
- Slater, M., Lauer, C., Gidley-Baird, A., & Barden, J. (2003). Markers for the development of early prostate cancer. *The Journal of Pathology*, 199 (3), 368-377.
- Sluyter, R., Barden, J., & Wiley, J. (2001). Detection of P2X purinergic receptors on human B lymphocytes. *Cell and tissue research*, 304 (2), 231-6.
- Solini, A., Chiozzi, P., Morelli, A., Fellin, R., & Di Virgilio, F. (1999). Human primary fibroblasts in vitro express a purinergic P2X7 receptor coupled to ion fluxes, microvesicle formation and IL-6 release. *Journal of cell science*, 112 (Pt 3), 297-305.
- Solle, M., Labasi, J., Perregaux, D., Stam, E., Petrushova, N., Koller, B., et al. (2001). Altered cytokine production in mice lacking P2X(7) receptors. *The Journal of biological chemistry*, 276 (1), 125-32.
- Soto, F., Garcia-Guzman, M., & Stühmer, W. (1997). Cloned ligand-gated channels activated by extracellular ATP (P2X receptors). *The Journal of membrane biology*, 160 (2), 91-100.
- Stanchev, D. (2006). Dissertation. *Untersuchungen zur Modulation der Ionenleitfähigkeit von P2X3- und P2X7-Rezeptoren durch extrazelluläre Phosphorylierung und Regulation der Rezeptorexpression in HEK 293-Zellen*. Marburg.
- Stokes, L., Jiang, L.-H., Alcaraz, Bent, J., Bowers, Fagura, et al. (2006). Characterization of a selective and potent antagonist of human P2X(7) receptors, AZ11645373. *British journal of pharmacology*, 149 (7), 880-7.
- Surprenant, A., Rassendren, F., Kawashima, E., North, R., & Buell, G. (1996). The cytolitic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). *Science (New York, NY)*, 272 (5262), 735-8.
- Torres, G. E., Egan, T. M., & Voigt, M. M. (1999). Hetero-oligomeric assembly of P2X receptor subunits. Specificities exist with regard to possible partners. *The Journal of biological chemistry*, 274 (10), 6653-9.
- Tsien, R., Rink, T., & Poenie, M. (1985). Measurement of cytosolic free Ca<sup>2+</sup> in individual small cells using fluorescence microscopy with dual excitation wavelengths. *Cell calcium*, 6 (1-2), 145-57.
- Vögtle, F., & Goldschmitt, E. (1975). The Diaza-Cope rearrangement. *Chem. Ber.* (17), 1-40.
- Vassilev, L., Vu, B., Graves, B., Carvajal, D., Podlaski, F., Filipovic, Z., et al. (2004). In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science (New York, NY)*, 303 (5659), 844-8.

Virginio, C., Church, D., North, R., & Surprenant, A. (1997). Effects of divalent cations, protons and calmidazolium at the rat P2X7 receptor. *Neuropharmacology* , 36 (9), 1285-94.

Virginio, C., MacKenzie, A., North, R., & Surprenant, A. (1999). Kinetics of cell lysis, dye uptake and permeability changes in cells expressing the rat P2X7 receptor. *The Journal of physiology* , 519 Pt 2, 335-46.

Virginio, C., MacKenzie, A., Rassendren, F., North, R., & Surprenant, A. (1999). Pore dilation of neuronal P2X receptor channels. *Nature neuroscience* , 2 (4), 315-21.

von Rauch, M. (2003). Dissertation. *4,5-Diaryl-2-imidazoline als Liganden des Estrogenrezeptors: Untersuchungen zur Synthese, Stabilität, Struktur und Pharmakologie* . Berlin.

von Rauch, M., Schlenk, M., & Gust, R. (2004). Effects of C2-alkylation, N-alkylation, and N,N'-dialkylation on the stability and estrogen receptor interaction of (4R,5S)/(4S,5R)-4,5-bis(4-hydroxyphenyl)-2-imidazolines. *Journal of medicinal chemistry* , 47 (4), 915-27.

Vorbrüggen, H., & Krolkiewicz, K. (1981). A simple synthesis of 2-Oxazolines, 2-Oxazines, 2-Thiazolines and 2-Imidazolines. *Tetrahedron Lett.* , 22 (45), 4471-4474.

Wen, L., Caldwell, C., & Knowles, A. (2003). Poly(ADP-ribose) polymerase activation and changes in Bax protein expression associated with extracellular ATP-mediated apoptosis in human embryonic kidney 293-P2X7 cells. *Molecular pharmacology* , 63 (3), 706-13.

Zoetewij, J., van de Water, B., de Bont, H., & Nagelkerke, J. (1996). The role of a purinergic P2z receptor in calcium-dependent cell killing of isolated rat hepatocytes by extracellular adenosine triphosphate. *Hepatology (Baltimore, Md)* , 23 (4), 858-65.

Zou, H., Ugur, M., Drummond, R., & Singer, J. (2001). Coupling of a P2Z-like purinoceptor to a fatty acid-activated K(+) channel in toad gastric smooth muscle cells. *The Journal of physiology* , 534 (Pt 1), 59-70.



## Summary

This thesis deals with the synthesis of compounds bearing a 4,5-diaryl-2-imidazoline structure, the evaluation of their antagonistic effects on P2X<sub>7</sub>-receptors as well as their cytotoxicity against MDA-MB 231 cells. The synthesized compounds were derived from the lead structure **77** and prepared by cyclization of 1,2-diamino-1,2-diarylethanes by using iminoethers. For the synthesis of the cyclic substituted diaryltetrahydropyrroloimidazoles and diarylhexahydroimidazopyridines chloralkyl-iminoethers were used. Compound **77** was modified by introducing various substituents to the aryl residues located at position 4 and 5 of the imidazoline. Furthermore, the 2-phenethyl moiety was substituted on the aryl residue, exchanged for a 2-phenylpropyl or for aliphatic groups. In addition, 4,5-diaryl-1-methyl-2-phenethyl-2-imidazolines were synthesized by methylation. The influence of the configuration of the substances was examined as well.

The cytotoxicity of the substances was tested against MDA-MB 231 cells. Compound **107** was the most potent compound with an IC<sub>50</sub> of 1.57 μM. The lipophilic properties of the compounds were determined as the most important parameter.

For the determination of the P2X<sub>7</sub> inhibitory activity an assay had to be established. It has been achieved while using HEK 293 cells stably transfected with the rat P2X<sub>7</sub> receptor. After incubation with the test compounds and subsequent stimulation with the agonist ATP, the uptake of the simultaneously added fluorescence dye ethidium bromide was fluorimetrically determined. Fluorescence only occurs after DNA intercalation of ethidium bromide and is proportional to the degree of activation of the P2X<sub>7</sub> receptor. The antagonistic activity of the substances was quantified by the reduced uptake of the dye.

With an IC<sub>50</sub> of 0.07 μM (70 nM) compound **113** showed a significant higher inhibitory potency than the lead structure **77** (IC<sub>50</sub>: 0.36 μM). Steric as well as hydrophilic properties of the substituents are considered as substantial criteria for inhibitory activity on P2X<sub>7</sub> receptors.

The obtained results regarding the effects of 4,5-diaryl-2-imidazolines can be used as basis for the design of further potent compounds. Especially because of the entire loss of cytotoxicity, compound **113** is an appropriate basic substance for the development and the examination of more substances with inhibitory effects on pain and inflammatory processes. Changing the substitution pattern as well as alteration of the imidazoline substructure to imidazoles, triazoles or tetrazoles seem to be a promising research topic in the future.

## **Posterpräsentationen**

### **DPHG-Landesgruppentagung 2006**

#### **Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor, Berlin 2006**

Bochert, K., Gust, R., Neue 4,5-Diarylimidazolin-Derivate als P2X<sub>7</sub>-Rezeptorantagonisten

### **XIXth International Symposium on Medicinal Chemistry, ISMC 2006, Istanbul 2006**

Bochert, K., Gust, R., New 4,5-diarylimidazoline derivatives as P2X<sub>7</sub> receptor antagonists

### **International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, ASMC 07, St. Petersburg 2007**

Bochert, K., Gust, R., New 4,5-diarylimidazolines derivatives



