

# Synthese und pharmakologische Testung potentieller PPAR $\gamma$ -Agonisten ausgehend von Telmisartan

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  
**Margarethe Elisabeth Urban**  
aus Bernau

2012

Die vorliegende Arbeit wurde von Januar 2007 bis Juni 2012 unter der Leitung von Prof. Dr. Ronald Gust (Institut für Pharmazie, Freie Universität Berlin) angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Ronald Gust

2. Gutachter: Prof. Dr. Gerhard Wolber

Disputation am 01. November 2012

Meinen Eltern



Mein herzlicher Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. Ronald Gust für die Überlassung dieses interessanten Themas, das entgegengebrachte Vertrauen und den gewährten kreativen Freiraum,

allen Kollegen der ehemaligen Arbeitsgruppe für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre und den wissenschaftlichen Austausch sowie Frau vom Bauer für ihre Hilfsbereitschaft,

allen technischen Mitarbeitern der ehemaligen Arbeitsgruppe, insbesondere Thomas Rudolf für die Hilfe bei chemischen Fragen und Silke Bergemann für die Hilfe bei zellulären Fragen,

allen Mitarbeitern der Analytikabteilung des Instituts für Pharmazie für die Aufnahme der Kernresonanz- und Massenspektren sowie für die Ausführung der Elementaranalyse,

Frau Dr. Ursula Brümmer für ihre fachliche und freundschaftliche Unterstützung sowie allen Assistenten des Praktikums „Anorganische Analytik“ für die angenehme Arbeitsatmosphäre,

den Mitarbeitern des Centers for Cardiovascular Research für die Hilfe bei zellulären Fragen,

meinen Freunden für ihr Verständnis und ihre ausdauernde Unterstützung.

Ganz besonders danke ich meiner Familie, die immer für mich da war.



---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Metabolisches Syndrom .....</b>	<b>1</b>
1.1.1	Symptome des Metabolischen Syndroms .....	1
1.1.2	Definition des Metabolischen Syndroms .....	2
1.1.3	Prävalenz des Metabolischen Syndroms .....	2
1.1.4	Pathophysiologie des Metabolischen Syndroms .....	2
1.1.5	Therapie des Metabolischen Syndroms .....	3
<b>1.2</b>	<b>Peroxisom Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) .....</b>	<b>5</b>
1.2.1	PPAR-Struktur .....	5
1.2.2	PPAR-Aktivierungsmechanismus.....	6
1.2.3	PPAR-Subtypen.....	7
1.2.4	PPAR-Liganden.....	10
<b>1.3</b>	<b>Problemstellung und Zielsetzung .....</b>	<b>17</b>
1.3.1	Synthese potentieller PPAR $\gamma$ -Agonisten (Kategorie 1-3).....	17
1.3.2	Pharmakologische Untersuchungen zur PPAR $\gamma$ -Aktivierung.....	19
<b>2</b>	<b>Synthesen.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Synthese der 4'-[(2-Propyl-1<i>H</i>-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuren mit der Säurefunktion in ortho-, meta- bzw. para-Position.....</b>	<b>21</b>
2.1.1	Darstellung der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuren (Suzuki-Miyaura-Kupplung) .....	21

2.1.2	Darstellung der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Fischer-Veresterung) .....	27
2.1.3	Darstellung der 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Wohl-Ziegler-Reaktion) .....	31
2.1.4	Darstellung von 2-Propyl-1 <i>H</i> -benz[ <i>d</i> ]imidazol (Phillips-Benzimidazol-Synthese) .....	34
2.1.5	Darstellung der 4'-[(2-Propyl-1 <i>H</i> -benz[ <i>d</i> ]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester ( <i>N</i> -Alkylierung) .....	39
2.1.6	Darstellung der 4'-[(2-Propyl-1 <i>H</i> -benz[ <i>d</i> ]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuren (Esterhydrolyse) .....	42
<b>2.2</b>	<b>Synthese der 4'-[(2-<i>Alkyl</i>-1<i>H</i>-benz[<i>d</i>]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuren mit Pentyl-, Hexyl- bzw. Heptyl-Kette in Position 2 des Benz[<i>d</i>]imidazols.....</b>	<b>45</b>
2.2.1	Darstellung der 2- <i>Alkyl</i> -1 <i>H</i> -benz[ <i>d</i> ]imidazolderivate .....	45
2.2.2	Darstellung der 4'-[(2- <i>Alkyl</i> -1 <i>H</i> -benz[ <i>d</i> ]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile ( <i>N</i> -Alkylierung) .....	47
2.2.3	Darstellung der 4'-[(2- <i>Alkyl</i> -1 <i>H</i> -benz[ <i>d</i> ]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamide und -carbonsäuren (Nitrilhydrolyse) .....	48
<b>2.3</b>	<b>Synthese der 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[<i>d</i>]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure .....</b>	<b>53</b>
2.3.1	Darstellung von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[ <i>d</i> ]thiazol.....	53
2.3.2	Darstellung von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[ <i>d</i> ]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril ( <i>N</i> -Alkylierung) .....	56
2.3.3	Darstellung von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[ <i>d</i> ]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und -carbonsäure (Nitrilhydrolyse) .....	57
<b>2.4</b>	<b>Synthese der 4'-[(2-Propyl-1<i>H</i>-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure.....</b>	<b>58</b>



---

2.4.1	Darstellung von 2-Propyl-1 <i>H</i> -indol (Wittig-Reaktion) .....	58
2.4.2	Darstellung von 4'-[(2-Propyl-1 <i>H</i> -indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril ( <i>N</i> -Alkylierung).....	64
2.4.3	Darstellung von 4'-[(2-Propyl-1 <i>H</i> -indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und -carbonsäure (Nitrilhydrolyse).....	65
<b>3</b>	<b>Strukturaufklärung .....</b>	<b>67</b>
3.1	<sup>1</sup> H-NMR-Spektren der Amide .....	67
3.2	<sup>1</sup> H-NMR-Spektren der Phosphoniumverbindungen.....	69
3.3	<sup>1</sup> H-NMR-Spektren der <i>N</i> -alkylierten Benzo[ <i>d</i> ]thiazolderivate .....	70
3.3.1	Diastereomere der <i>N</i> -alkylierten Benzo[ <i>d</i> ]thiazolderivate .....	70
3.3.2	Diastereotope Protonen in den <i>N</i> -alkylierten Benzo[ <i>d</i> ]thiazolderivaten.....	72
<b>4</b>	<b>Pharmakologie .....</b>	<b>75</b>
4.1	<b>Adipozyten-Differenzierungstest mit 3T3-L1 Zellen .....</b>	<b>75</b>
4.1.1	Theoretische Grundlagen des Differenzierungstests.....	75
4.1.2	Auswertung des Differenzierungstests.....	77
4.1.3	Diskussion der Testergebnisse .....	77
4.2	<b>PPAR<sub>γ</sub>-Aktivierungstest mit COS-7 Zellen .....</b>	<b>78</b>
4.2.1	Theoretische Grundlagen des PPAR <sub>γ</sub> -Aktivierungstests.....	78
4.2.2	Auswertung und Ergebnisse des PPAR <sub>γ</sub> -Aktivierungstests .....	80
4.2.3	Diskussion der Testergebnisse .....	84
<b>5</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>91</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung / Abstract .....</b>	<b>93</b>

<b>6.1</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>93</b>
<b>6.2</b>	<b>Abstract.....</b>	<b>94</b>
<b>7</b>	<b>Experimentelle Daten .....</b>	<b>95</b>
<b>7.1</b>	<b>Analytischer und Synthetischer Teil .....</b>	<b>95</b>
7.1.1	Allgemeine Angaben.....	95
7.1.2	Analytische Daten und Synthesevorschriften .....	96
<b>7.2</b>	<b>Biochemischer und pharmakologischer Teil .....</b>	<b>133</b>
7.2.1	Allgemeine Angaben.....	133
7.2.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	138
7.2.3	3T3-L1 Zellen - Arbeitsvorschriften .....	140
7.2.4	COS-7 Zellen - Arbeitsvorschriften.....	142
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>147</b>
<b>9</b>	<b>Wissenschaftliche Beiträge.....</b>	<b>155</b>
<b>9.1</b>	<b>Poster .....</b>	<b>155</b>
<b>9.2</b>	<b>Vortrag .....</b>	<b>155</b>

---

## Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AF-1 / AF-2	activating function-1 / activating function-2
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	body mass index
BPO	Benzoylperoxid
CCR	Center for Cardiovascular Research
CDCl <sub>3</sub>	Chloroform, deuteriert
C/EBP	CCAAT/enhancer-binding-proteine
CoRNR	corepressor nuclear receptor
d	Duplett
dd	Dublett vom Dublett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
dem.	demineralisata
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
d6-DMSO	Dimethylsulfoxid, deuteriert
DNA	deoxyribonucleic acid
EC	effective concentration
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
EI	Elektronenstoß-Ionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
FCS	fetal calf serum (fetales Kälberserum)

## Abkürzungen

---

Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
IBMX	3-Isobutyl-1-methylxanthin
$nJ$	Kopplungskonstante über $n$ Bindungen
LB	Luria Broth
LBD	Ligandenbindungsdomäne
LDL	low density lipoproteine
$\log P$	Verteilungskoeffizient eines Stoffes zwischen 1-Oktanol und Wasser
luc	luciferase
m	Multipllett
MS	Massenspektrometrie
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NMR	nuclear magnetic resonance (Kernresonanz-Spektroskopie)
NR	nukleärer Rezeptor
OD	optische Dichte
PBS	phosphate buffered saline (phosphatgepufferte Salzlösung)
PGJ <sub>2</sub>	Prostaglandin J <sub>2</sub>
PPAR	Peroxisom Proliferator-aktivierter Rezeptor
PPi	Pyrophosphat (Diphosphat)
PPRE	PPAR response element
RLU	relative light units
RT	Raumtemperatur
RXR	Retinoid X Rezeptor
qt	Triplet vom Quartett
s	Singulett

SPPAR $\gamma$ M	selektiver PPAR $\gamma$ -Modulator
SRC-1	steroid receptor coactivator-1
t	Triplett
<i>t</i> -BuOK	Kalium- <i>tert</i> -butylat
td	Tripplett vom Dublett
TIF 2	transcriptional mediators/intermediary factor 2
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
VLDL	very low density lipoproteine
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
ZNS	Zentralnervensystem



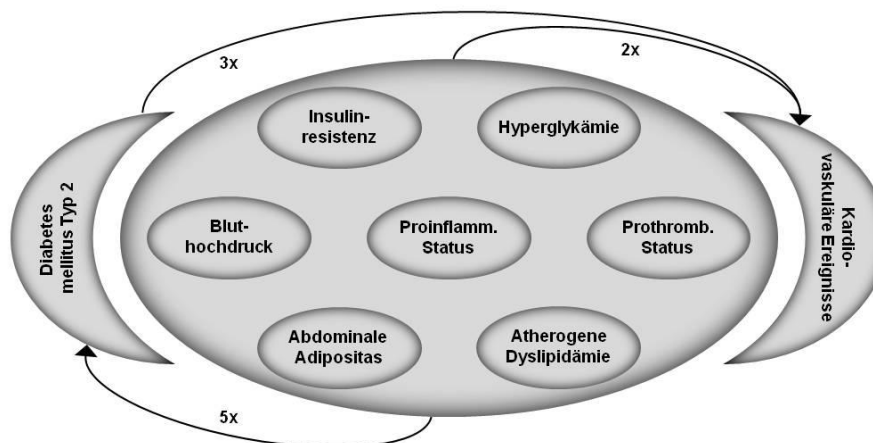
# 1 Einleitung

Der gegenwärtige Lebensstil ist geprägt von körperlicher Inaktivität und sowohl quantitativer als auch qualitativer Fehlernährung, so dass weltweit immer mehr Menschen an krankhaftem Übergewicht (Adipositas) leiden. Nach den Ergebnissen der nationalen Verzehrsstudie II sind in Deutschland mittlerweile 66,0 % der Männer und 50,6 % der Frauen übergewichtig, wobei 20,5 % der Männer und 21,2 % der Frauen davon als adipös (BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>) einzustufen sind.<sup>(1, 2)</sup> In Korrelation zur steigenden Prävalenz von Adipositas kommt es zur erhöhten Inzidenz einer multifaktoriellen Erkrankung, die allgemein unter der Bezeichnung Metabolisches Syndrom bekannt ist.

## 1.1 Metabolisches Syndrom

### 1.1.1 Symptome des Metabolischen Syndroms

Das Krankheitsbild des Metabolischen Syndroms ist durch eine vieldimensionale Störung des physiologischen Stoffwechselgeschehens gekennzeichnet (Abb. 1.1).



**Abb. 1.1** Symptome des Metabolischen Syndroms adaptiert nach<sup>(3)</sup> (die mit Ziffern gekennzeichneten Pfeile geben das erhöhte Risiko für das Auftreten der jeweiligen Folgeerkrankung an)

Zu den äußerst heterogenen Symptomen gehören viszerale Adipositas, Dyslipoproteinämie, Hypertonie, Insulinresistenz und gestörte Nüchtern-glucose. Das Metabolische Syndrom wird zudem mit Diabetes mellitus Typ 2, verschiedenen kardiovaskulären Erkrankungen wie

Arteriosklerose, Herzinfarkt, koronarer Herzkrankheit und der nichtalkoholischen Fettleber assoziiert. Im Zusammenhang mit den kardiovaskulären Erkrankungen besteht für Patienten mit Metabolischem Syndrom ein signifikant erhöhtes Mortalitätsrisiko.<sup>(1)</sup>

### **1.1.2 Definition des Metabolischen Syndroms**

Da die Symptomatik des Metabolischen Syndroms sehr heterogen ist und bisher keine einheitlichen Diagnosekriterien definiert wurden, existieren mindestens fünf verschiedene Definitionen, anhand derer eine Diagnosestellung erfolgen kann. Während gemäß der Definition der International Diabetes Federation (IDF) die Stammfettsucht ein essentielles Mindestkriterium ist,<sup>(4)</sup> stellt bei den Definitionen der Weltgesundheitsorganisation (WHO)<sup>(5)</sup> und der European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)<sup>(6)</sup> die Insulinresistenz das Ausgangskriterium für eine Diagnose dar. Nach den Definitionen des Adult Treatment Panel III vom National Cholesterol Education Program (NCEP-ATP III)<sup>(7)</sup> und der American Association of Clinical Endocrinologists (AACE)<sup>(8)</sup> hingegen gibt es kein einzelnes Ausgangskriterium, vielmehr ist das gleichzeitige Auftreten mehrerer Faktoren aus einer definierten Auswahl an Kriterien ausschlaggebend für die Diagnose.

### **1.1.3 Prävalenz des Metabolischen Syndroms**

In den letzten Jahrzehnten ist die Anzahl der Erkrankten weltweit rapide angestiegen und es erkranken vor allem immer mehr Kinder und Jugendliche am Metabolisches Syndrom.<sup>(9)</sup> Je nachdem welche Definition für die Diagnose angewandt wird, kann die Häufigkeit der Krankheitsfälle variieren. Nach den NCEP-ATP III-Kriterien entwickeln 25-30 % der Deutschen über 50 Jahren ein Metabolisches Syndrom und wenn man die Kriterien des IDF für einen Diagnose heranzieht, deren Grenzwerte für Taillenumfang und Nüchternnglucose niedriger liegen, dann sind sogar über 40 % der Bevölkerung im mittleren und höheren Alter am Metabolischen Syndrom erkrankt.<sup>(10)</sup> Insgesamt sind in den westlichen Industrieländern mittlerweile 20-40 % der Bevölkerung von dieser „modernen Epidemie“ betroffen, so dass die Entwicklung geeigneter Therapeutika von enormer Bedeutung ist.<sup>(11)</sup>

### **1.1.4 Pathophysiologie des Metabolischen Syndroms**

Die Pathogenese des Metabolischen Syndroms ist äußerst komplex und noch nicht vollständig aufgeschlüsselt, da die pathophysiologischen Vorgänge von Umweltfaktoren und



genetischen bzw. epigenetischen Faktoren beeinflusst werden.<sup>(12)</sup> Körperliche Inaktivität, genetische Prädisposition und ungesunde Ernährungsgewohnheiten sind die Ursache für eine vermehrte Ausbildung von viszeralem Fettgewebe und ektopischen Fettdepots in Bauchspeicheldrüse, Herz, Leber und Muskeln. Die daraus resultierende Adipositas bildet die Grundlage für die Entstehung von Dyslipidämie und Bluthochdruck und begünstigt die Ausbildung und die Manifestation von Insulinresistenz. Eine vermehrte Ausschüttung von proinflammatorischen und prothrombotischen Zytokinen führt zur Entstehung und Progression von Arteriosklerose und erhöht das Risiko für kardiovaskuläre Folgeerkrankungen.<sup>(1, 13)</sup>

### 1.1.5 Therapie des Metabolischen Syndroms

Die Therapie des Metabolischen Syndroms beginnt zunächst mit einer Veränderung des Lebensstils und hat das Ziel, basierend auf einer Ernährungsumstellung und gleichzeitiger Bewegungssteigerung langfristig das Gewicht zu reduzieren. Wenn die nichtmedikamentöse Therapie allein nicht ausreicht, um die verschiedenen Stoffwechselstörungen und deren Folgeerscheinungen zu korrigieren, werden die einzelnen Symptome gezielt mit den dafür geeigneten Arzneistoffen behandelt.

Die medikamentöse Therapie der Adipositas kann über drei verschiedene Therapieansätze erfolgen. Peripher angreifende Arzneistoffe wie Orlistat entfalten ihre antiadipöse Wirkung im Gastrointestinaltrakt, wo sie unter anderem die Aufnahme von Nahrungsfetten verhindern und somit zu einer Reduktion des Körpergewichts führen. Zentral wirksame Antiadiposita wie die indirekten Sympathomimetika Amfepramon und Phenylpropylamin bewirken im lateralen Hypothalamus die Ausschüttung adrenerger Amine aus den präsynaptischen Nervenenden und dämpfen dadurch das Hungergefühl. Der Reuptake-Inhibitor Tesofensin, der über eine unselektive Wiederaufnahmehemmung von Noradrenalin, Serotonin und Dopamin ebenfalls das Hungergefühl dämpft, befindet sich momentan in Phase II der klinischen Prüfung.<sup>(14, 15)</sup> Neben der medikamentösen Therapie besteht die Möglichkeit, durch Adipositaschirurgie Nahrungsaufnahme (restriktive Technik) oder Nahrungsverwertung (malabsorptive Technik) operativ zu beeinflussen.<sup>(16)</sup>

Für die Therapie des arteriellen Bluthochdrucks steht eine Reihe verschiedener Arzneistoffe mit unterschiedlichen Wirkmechanismen zur Verfügung. Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitoren, Angiotensin-II-Rezeptor-Typ-1-Rezeptor-Antagonisten und der Renininhibitor Aliskiren vermitteln ihre antihypertensive Wirkung über einen Eingriff in das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System.<sup>(17-19)</sup> Calciumkanalblocker verringern zum einen den Tonus der glatten Gefäßmuskulatur und verfügen zum anderen durch die Hemmung des

langsamen, spannungsabhängigen L-Typ-Calciumkanals am Herz über eine negativ inotrope Wirkung.<sup>(20)</sup>  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten heben unter anderem die positiv inotrope und chronotrope Wirkung der Catecholamine am Herz auf.<sup>(21)</sup> Die blutdrucksenkende Wirkung der Diuretika wird durch die vermehrte Natriumausscheidung und die damit einhergehende Reduktion des Plasmavolumens hervorgerufen und aufgrund des verringerten Ansprechens der Blutgefäße auf vasokonstriktorische Reize aufrechterhalten.<sup>(22)</sup>

Dyslipidämie kann ebenfalls mit verschiedenen Arzneistoffen behandelt werden. Fibrinsäure-Derivate erhöhen über eine PPAR $\alpha$ -Aktivierung den LDL-Abbau und verringern zudem die VLDL-Synthese.<sup>(23)</sup> Die hypolipidämische Wirkung der 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase-Inhibitoren beruht auf einem Eingriff in die Cholesterol-Biosynthese.<sup>(24)</sup> Ezetimib hemmt im Dünndarm die Resorption von Cholesterol<sup>(25)</sup> und die lipidsenkende Wirkung der Nikotinsäure kann auf eine Lipolysehemmung zurückgeführt werden.<sup>(26)</sup>

Bei Diabetes mellitus Typ 2 richtet sich die Art der Behandlung nach dem Stadium der Erkrankung.  $\alpha$ -Glucosidaseinhibitoren werden zur Vermeidung postprandialer Blutzuckerspitzen eingesetzt, da sie die Glucoseaufnahme aus dem Gastrointestinaltrakt reduzieren.<sup>(27)</sup> Biguanide senken den Blutzuckerspiegel aufgrund einer Hemmung von Glykogenolyse und Gluconeogenese.<sup>(28)</sup> Sulfonylharnstoffe und Glinide erhöhen als insulinotrope Antidiabetika die Insulinfreisetzung aus den pankreatischen  $\beta$ -Zellen<sup>(29)</sup> und Thiazolidindione korrigieren mittels PPAR $\gamma$ -Aktivierung eine bereits vorliegende Insulinresistenz.<sup>(30)</sup> Ein neuerer Ansatz in der Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 ist die Inkretin-basierte Therapie, die sich die antidiabetischen Effekte des Inkretinhormons Glukagon-like-peptide-1 (GLP-1) zu nutzen macht. GLP-1-Analoga vermitteln eine glucoseabhängige Stimulierung der pankreatischen  $\beta$ -Zellen und eine glucoseabhängige Blockade der Glukagonausschüttung aus den pankreatischen  $\alpha$ -Zellen. Darüber hinaus wird durch GLP-1-Analoga die Glucoseausschüttung in der Leber reduziert. Die antidiabetische Wirkung der Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitoren basiert auf einer Verlängerung der GLP-1 Effekte, da durch die Hemmung des Dipeptidylpeptidase-4 der Abbau von GLP-1 verzögert wird.<sup>(31)</sup>

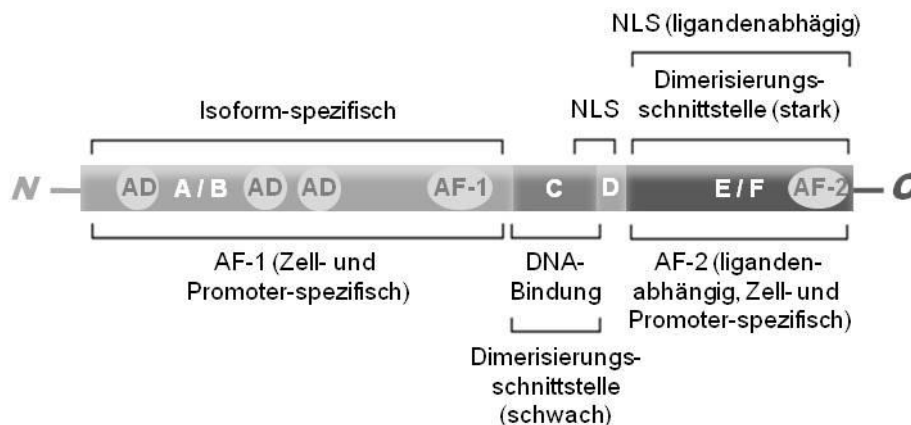
Mit steigender Anzahl der einzunehmenden Medikamente nimmt die Compliance eines Patienten stark ab, und das potentielle Risiko für unerwünschte Arzneimittelwirkungen steigt gleichzeitig an. Aus diesen Gründen ist die Entwicklung eines pluripotenten Arzneistoffes für die Behandlung mehrerer Komponenten des Metabolischen Syndroms ein erstrebenswertes Ziel in der medizinischen Forschung. In diesem Zusammenhang haben sich vor allem die Peroxisom Proliferator-aktivierten Rezeptoren als ein vielversprechendes Forschungsobjekt herauskristallisiert.<sup>(32)</sup>

## 1.2 Peroxisom Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs)

Peroxisom Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) gehören zur Familie der nukleären Rezeptoren und werden gemäß einer phylogensebasierten Klassifizierung der Subfamilie 1 zugeordnet.<sup>(33)</sup> Die Rezeptorbezeichnung leitet sich von chemischen Substanzen ab, die über eine PPAR $\alpha$ -Aktivierung in Nagetieren die Proliferation von Peroxisomen stimulieren. Im menschlichen Organismus konnte die Peroxisom Proliferation nicht nachgewiesen werden, was einerseits auf speziesspezifische Expressionslevel der Rezeptoren und andererseits auf speziesspezifische PPAR response elements (PPREs vgl. Kapitel 1.2.2) zurückgeführt werden kann. PPARs spielen eine zentrale Rolle bei der Regulation von zellulären Stoffwechselprozessen und bei der Energiehomöostase.<sup>(34)</sup>

### 1.2.1 PPAR-Struktur

PPARs sind durch einen für nukleäre Rezeptoren typischen strukturellen Aufbau gekennzeichnet und können in mehrere Domänen mit verschiedenen Funktionen unterteilt werden (Abb. 1.2).



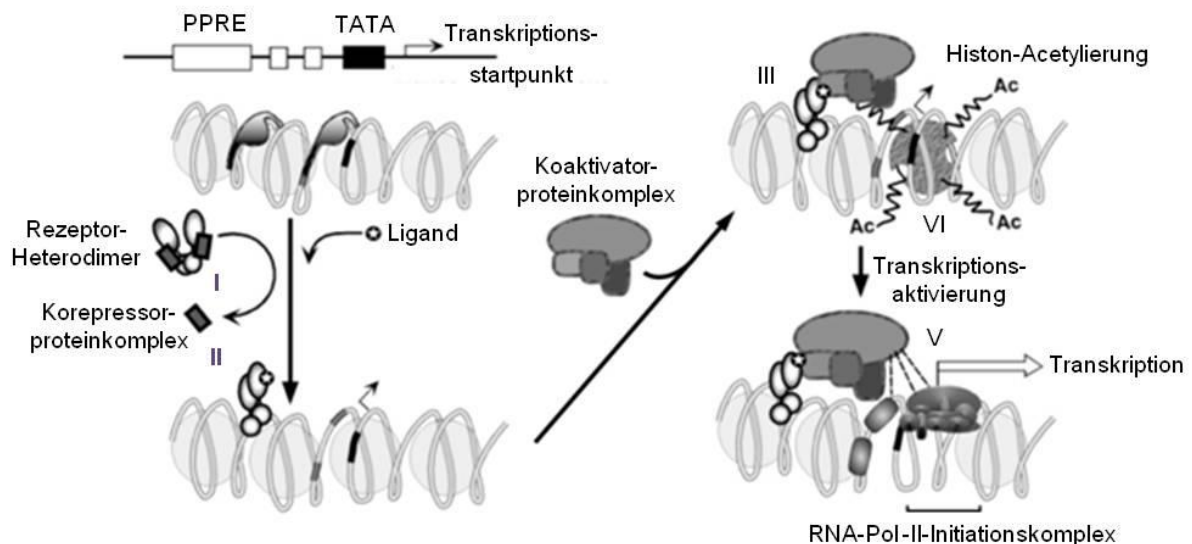
**Abb. 1.2** Aufbau eines nukleären Rezeptors, adaptiert nach<sup>(35)</sup>

Die A/B-Domäne in der N-terminalen Region verfügt über mindestens eine konstitutionell aktive, ligandenunabhängige Transaktivierungsfunktion (AF-1) und mehrere autonome Transaktivierungsdomänen (AD). Die anschließende C-Domäne (DNA-Bindungsdomäne) ermöglicht über zwei hochkonservierte Zinkfinger motive die Interaktion mit der DNA. Die flexible D-Domäne verbindet die DNA-Bindungsdomäne mit der E/F-Domäne (Ligandenbindungsdomäne) und gewährleistet die notwendige Proteinflexibilität für Dimerisierung und DNA-Bindung. Zudem verfügt die D-Domäne über ein Kernlokalisierungssignal (NLS: nuclear localization signal), das für die Einschleusung des Rezeptors in den

Zellkern erforderlich ist. Die E/F-Domäne (Ligandenbindungsdomäne) verfügt über eine Dimerisierungsschnittstelle, ein weiteres Kernlokalisierungssignal (NLS) und eine ligandenabhängige Transaktivierungsfunktion (AF-2). Bei einigen nukleären Rezeptoren existiert in der C-terminalen Region noch eine äußerst variable F-Domäne, deren Struktur und Funktion bisher wenig erforscht ist.<sup>(36)</sup>

### 1.2.2 PPAR-Aktivierungsmechanismus

Für die Transkriptionsaktivierung ist eine Rezeptortranslokalisierung aus dem Zytoplasma in den Zellkern erforderlich. Die Translokalisierung erfolgt sowohl in Anwesenheit als auch in Abwesenheit eines Liganden.<sup>(37)</sup> PPARs bilden im Zellkern ligandenunabhängig Heterodimere mit dem 9-*cis*-Retinolsäure-X-Rezeptor (RXR bzw. NR2B), einem weiteren Vertreter aus der Familie der nukleären Rezeptoren.<sup>(33)</sup> Die PPAR/RXR-Heterodimere binden an spezifische PPAR response elements (PPREs) in der Promotorregion des Zielgens, die aus zwei identischen, durch ein Nukleotid (n) getrennten Hexanukleotiden (AGGTCA<sub>n</sub>AGGTCA), aufgebaut sind. Dabei besetzt RXR das AGGTCA-Motiv am 3'-Ende und PPAR das entsprechende Hexamer am 5'-Ende, das unter anderem auch für die Selektivität der PPAR-Subtypen verantwortlich ist.<sup>(38, 39)</sup>



**Abb. 1.3** Ligandenabhängigen Transkriptionsaktivierung durch PPAR/RXR-Heterodimere, adaptiert nach<sup>(40)</sup>

Die Transkriptionsaktivierung durch nukleäre Rezeptoren wird unter anderem von verschiedenen Kofaktoren (Korepressoren und Koaktivatoren) reguliert. Korepressorproteine binden bei Abwesenheit eines Liganden oder bei Anwesenheit eines Antagonisten über eine charakteristische Aminosäure-Sequenz (CoRNR-Box) in der N-terminalen Region der Ligandenbindungsdomäne an den Rezeptor (Abb. 1.3: I). Sie unterdrücken die Transkription

zum einen über eine Histon-Deacetylase-Aktivität, die das Chromatin in einem kondensierten und damit inaktiven Zustand erhält und zum anderen über eine direkte Interaktion mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren. Nach erfolgter Ligandenbindung dissoziieren die Korepressoren ab (Abb. 1.3: II) und verschiedene Koaktivatoren können gebunden werden (Abb. 1.3: III). Diese verfügen über ein oder mehrere charakteristische LXXLL-Motive (L = Leucin, X = variabel), die sie für die gleichzeitige Interaktion mit beiden Rezeptoren des Heterodimers benötigen. Koaktivatoren sind zum einen in der Lage, über eine intrinsische Histon-Acetylase-Aktivität die Chromatinstruktur für den Transkriptionsvorgang „aufzubrechen“ (Abb. 1.3: IV) und stellen zum anderen die erforderliche Verbindung mit der basalen Transkriptionsmaschinerie her (Abb. 1.3: V). Die Kofaktorrekutierung wird von ligandenabhängigen, genspezifischen und zell- bzw. gewebespezifischen Faktoren beeinflusst.<sup>(40, 41)</sup> Die Transkription wird sowohl durch PPAR-Liganden als auch durch RXR-Liganden ausgelöst und zudem ist eine ligandenunabhängige Transkriptionsaktivierung über die N-terminale Aktivierungsfunktion 1 (AF-1) oder die C-terminale Aktivierungsfunktion 2 (AF-2) möglich. Die Transkriptionsaktivität wird durch verschiedene posttranslatorische Modifikationen wie Phosphorylierung, Sumoylierung (SUMO: small ubiquitin-like modifier) oder Ubiquitylierung reguliert.<sup>(38)</sup> Neben der ligandenabhängigen und der ligandenunabhängigen Transkriptionsaktivierung vermitteln PPARs ihre physiologischen Funktionen zudem über die direkte Interaktion mit anderen Transkriptionsfaktoren.<sup>(42)</sup>

### 1.2.3 PPAR-Subtypen

Die drei Subtypen PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\beta/\delta$  (NR1C2) und PPAR $\gamma$  (NR1C3) werden von verschiedenen Genen kodiert und sind durch eine variierende Anzahl an Aminosäuren und ein unterschiedliches Expressionsmuster gekennzeichnet (Abb. 1.4).<sup>(43)</sup>



**Abb. 1.4** PPAR-Subtypen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ , adaptiert nach<sup>(3, 40)</sup> (die prozentuale Angabe entspricht der Homologie in Bezug auf die Aminosäure-Sequenz von PPAR $\alpha$ )

In der A/B-Domäne findet man bei den drei Subtypen bezüglich der Aminosäure-Sequenz eine relativ geringe Homologie. Diese Domäne wird von Kofaktoren und anderen Transkriptionsfaktoren erkannt und ist unter anderem für die unterschiedlichen physiologischen Funktionen der PPAR-Subtypen verantwortlich. Eine Phosphorylierung durch Mitogen-aktivierte Proteinkinasen in der A/B-Domäne kann sowohl die Ligandenbindung als auch die Transkription beeinflussen. Die C-Domäne ist bei allen nukleären Rezeptoren am meisten konserviert und weist auch innerhalb der PPAR-Familie eine große Homologie auf. Bei der E/F-Domäne zeichnen sich insbesondere im Bereich der Ligandenbindungstasche signifikante Unterschiede in der Aminosäure-Sequenz ab, die ebenfalls für die verschiedenen physiologischen Funktionen der PPAR-Subtypen verantwortlich sind.<sup>(38, 40)</sup>

### 1.2.3.1 PPAR $\alpha$

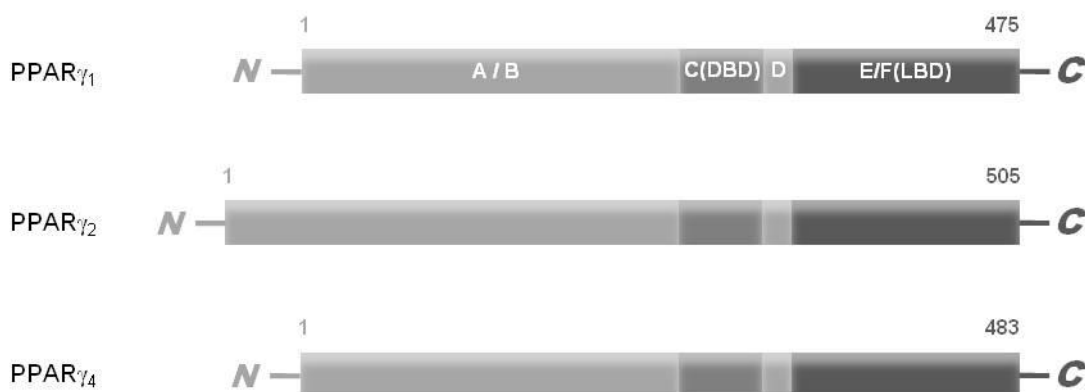
PPAR $\alpha$  wird überwiegend in metabolisch aktivem Gewebe wie Herz, Leber und Skelettmuskeln exprimiert und kommt in geringerem Ausmaß auch in Blutgefäßen, Blutkörperchen, Darm, Fettgewebe, Nieren, Nebennieren und Plazenta vor. PPAR $\alpha$  ist ein wichtiger Regulator des hepatischen Metabolismus und in diesem Zusammenhang am Stoffwechsel von Aminosäuren, Cholesterin, Gallensäuren, Kohlenhydraten und Lipoproteinen beteiligt. Zudem werden PPAR $\alpha$  vielseitige antiinflammatorische, antiatherogene und kardioprotektive Effekte sowie eine regulative Rolle bei der Plazentation zugeschrieben.<sup>(3, 44, 45)</sup>

### 1.2.3.2 PPAR $\beta/\delta$

PPAR $\beta/\delta$  ist im menschlichen Organismus ubiquitär verbreitet und wird vermehrt in Blutgefäßen, Blutkörperchen, Darm, Fettgewebe, Gehirn, Herz, Leber, Nieren, Plazenta und Skelettmuskeln exprimiert. PPAR $\beta/\delta$  gilt als Regulator des Glucose- und Lipidhaushaltes und zeigt zudem vielseitige antiinflammatorische, antiatherogene und neuroprotektive Effekte. In der Haut ist PPAR $\beta/\delta$  an verschiedenen Differenzierungs- bzw. Proliferationsprozessen und an der Wundheilung beteiligt. Darüber hinaus wird PPAR $\beta/\delta$  eine regulatorische Rolle bei der Plazentation und der Kanzerogenese verschiedener Tumorarten zugeschrieben.<sup>(3, 38, 43, 46)</sup>

### 1.2.3.3 PPAR $\gamma$

PPAR $\gamma$  wird hauptsächlich im braunen und weißen Fettgewebe exprimiert und kommt in geringerem Ausmaß auch in Bauchspeicheldrüse, Blutgefäßen, Blutkörperchen, Darm, Gehirn, Herz, Leber, Nieren, Plazenta, Skelettmuskeln und verschiedenen Zellen der oberen Luftwege vor.<sup>(3, 38)</sup> Für den humanen PPAR $\gamma$  wurden sieben mRNA-Transkripte identifiziert, die für PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 und PPAR $\gamma$ 4 kodieren (Abb. 1.5). Die drei Isoformen unterscheiden sich in der Anzahl der Aminosäuren im N-terminalen Bereich und in ihrem Expressionsmuster in den verschiedenen Geweben.<sup>(3, 47)</sup>



**Abb. 1.5** PPAR $\gamma$ -Isoformen, adaptiert nach<sup>(3)</sup>

PPAR $\gamma$  spielt eine zentrale Rolle bei der Adipogenese (Fettzellendifferenzierung) und reguliert auf zellulärer Ebene den Glucose- und Lipidhaushalt. In Adipozyten fördert PPAR $\gamma$  die Expression diverser adipozytenspezifischer Gene, die unter anderem für den zellulären Lipidmetabolismus und die Einstellung der physiologischen Energiebalance von Bedeutung sind. Durch PPAR $\gamma$ -Aktivierung wird die Insulinsensitivität erhöht und gleichzeitig werden die Plasmaspiegel von Glucose, Lipiden und Insulin gesenkt. PPAR $\gamma$  inhibiert die TNF $\alpha$ -vermittelte Insulinresistenz und fördert zudem die Expression verschiedener Gene, die bei der Insulin-Signalkaskade eine wichtige Rolle spielen. Die PPAR $\gamma$ -vermittelte Insulinsensitivierung kann zudem auf eine verminderte Bildung von aktivem Cortisol zurückgeführt werden. Desweiteren induziert PPAR $\gamma$  die Expression des insulinabhängigen Glucose-Transporters GLUT4 und verbessert so die zelluläre Glucoseaufnahme. In Adipozyten steuert PPAR $\gamma$  die Expression der Adipozytokine Adiponektin (Acrp 30), Leptin und Resistin.<sup>(40, 48)</sup> Adiponektin vermittelt über eine Aktivierung neuronaler Schaltkreise im Hypothalamus vielseitige antidiabetische, antiinflammatorische und antiatherogene Effekte und ein mit Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 einhergehender reduzierter Adiponektin-Plasmaspiegel kann durch PPAR $\gamma$ -Aktivierung normalisiert werden.<sup>(49, 50)</sup> Leptin vermittelt seine physiologischen Effekte sowohl über Hypothalamusaktivierung als auch über die

Aktivierung membranständiger Rezeptoren in Adipozyten, Bauchspeicheldrüse, Leber und Skelettmuskeln. Über den Hypothalamus reguliert Leptin zum einen die Nahrungsaufnahme sowie den Energiehaushalt und verbessert zum anderen die Insulinsensitivität in Adipozyten, Leber und Skelettmuskeln. Die Aktivierung der peripheren Rezeptoren führt ebenfalls zu einer verbesserten Insulinsensitivität in Leber, Skelettmuskeln und Adipozyten. Zudem wird auf diesem Weg die Expression und Sekretion von Insulin in den pankreatischen  $\beta$ -Zellen moduliert. Durch PPAR $\gamma$ -Aktivierung wird die Leptinexpression inhibiert und in diesem Zusammenhang agiert PPAR $\gamma$  als Gegenspieler von C/EBP $\alpha$ .<sup>(40, 51)</sup> Resistin wird mit der Pathogenese der Adipositas-vermittelten Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ 2 in Verbindung gebracht und PPAR $\gamma$ -Aktivierung in Adipozyten führt zu reduzierten Resistin-Plasmaspiegeln. Da über die physiologischen Funktionen von Resistin jedoch noch wenig bekannt ist und der Einfluss auf den Glucosestoffwechsel kontrovers diskutiert wird, sollten die regulierenden Effekte von PPAR $\gamma$  auf die Resistin-Expression mit Vorsicht interpretiert werden.<sup>(52)</sup> Die vielseitigen stoffwechselmodulierenden Effekte von PPAR $\gamma$  werden zum Teil in verschiedenen Bereichen des Hypothalamus gesteuert und es konnte gezeigt werden, dass eine zentrale PPAR $\gamma$ -Aktivierung die Progression verschiedener neurodegenerativer und neuroimmunologischer Erkrankungen positiv beeinflusst. Darüber hinaus können durch zentrale PPAR $\gamma$ -Aktivierung neuropathische Schmerzen wie Allodynie oder Hyperalgesie sowohl über transkriptionsabhängige als auch über transkriptionsunabhängige Mechanismen reduziert werden.<sup>(53)</sup> PPAR $\gamma$  vermittelt vielseitige antiinflammatorische Effekte, die unter anderem durch eine direkte Antagonisierung proinflammatorischer Transkriptionsfaktoren hervorgerufen werden.<sup>(54)</sup> Desweiteren verfügt PPAR $\gamma$  über modulierende Eigenschaften bezüglich der vaskulären Endothelfunktion und die daraus resultierenden positiven Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System werden durch eine PPAR $\gamma$ -vermittelte blutdrucksenkende Wirkung noch verstärkt.<sup>(55)</sup> Aufgrund der Expression in verschiedenen Zellen der oberen Luftwege verfügt PPAR $\gamma$  über regulierende Eigenschaften bei Atemwegserkrankungen und bei pulmonaler Hypertonie.<sup>(56, 57)</sup> Im Zusammenhang mit der Knochenhomöostase und der Plazentation wird PPAR $\gamma$  ebenfalls eine regulatorische Rolle zugeschrieben.<sup>(58, 59)</sup> PPAR $\gamma$  ist an verschiedenen Prozessen der Kanzerogenese beteiligt und kann in Abhängigkeit von den zellulären Konditionen, dem genetischen Hintergrund und der Art des Tumors sowohl als Promotor als auch als Suppressor fungieren.<sup>(60)</sup>

### 1.2.4 PPAR-Liganden

Die Y-förmige Ligandenbindungstasche der PPARs ist mit 1300 Å<sup>3</sup> im Vergleich zu anderen nukleären Rezeptoren sehr groß und ein Ligand besetzt nur 30-40 % davon.<sup>(40)</sup> PPAR $\alpha$ - und PPAR $\gamma$ -Liganden nehmen in der Ligandenbindungstasche eine U-förmige und PPAR $\delta$ -



Liganden eine L-förmige Konformation ein.<sup>(61)</sup> Innerhalb der Ligandenbindungstasche besteht für Liganden neben spezifischen Interaktionen mit bestimmten Aminosäuren eine Vielfalt an möglichen unspezifischen Wechselwirkungen, die unterschiedliche räumliche Orientierungen desselben Liganden zur Folge haben können und so zu unterschiedlichen funktionellen Aktivitäten dieses Liganden führen.<sup>(62)</sup> Die große Ligandenbindungstasche und die damit verbundene Vielzahl an Interaktionsmöglichkeiten für Liganden erklären das promiskuitive Verhalten von PPARs in Bezug auf Ligandenbindung.

### 1.2.4.1 Endogene und synthetische PPAR $\alpha$ -Liganden

Zu den endogenen PPAR $\alpha$ -Liganden (Abb. 1.6) gehören gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, verschiedene Fettsäurederivate und Eicosanoide.<sup>(3)</sup>

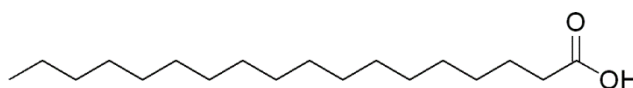


Abb. 1.6 Endogener PPAR $\alpha$ -Ligand Stearinsäure

Der synthetische PPAR $\alpha$ -Agonist Fenofibrat wird zur Behandlung verschiedener Formen von Dyslipidämie eingesetzt und mit AVE8134 befindet sich ein weiterer potenter PPAR $\alpha$ -Agonist in Phase II der klinischen Prüfung (Abb. 1.7).<sup>(3, 23)</sup>

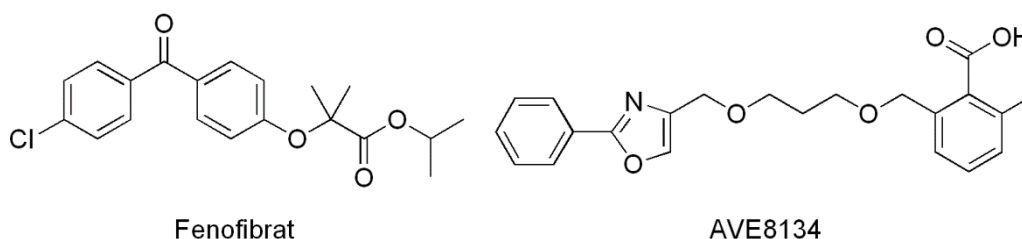


Abb. 1.7 PPAR $\alpha$ -Agonisten Fenofibrat und AVE8134

### 1.2.4.2 Endogene und synthetische PPAR $\beta/\delta$ -Liganden

Zu den endogenen PPAR $\beta/\delta$ -Liganden (Abb. 1.8) gehören gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, verschiedene Fettsäurederivate und Eicosanoide.<sup>(3)</sup>

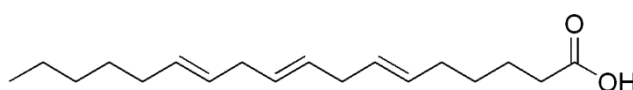
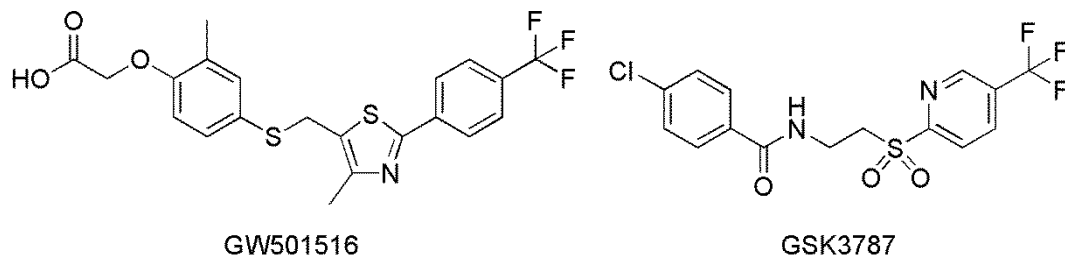


Abb. 1.8 Endogener PPAR $\beta/\delta$ -Ligand  $\gamma$ -Linolensäure

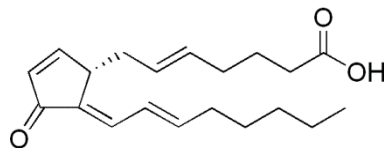
Der selektive PPAR $\beta/\delta$ -Agonist GW501516 hat gerade Phase II der klinischen Prüfung durchlaufen und mit GSK3787 konnte ein selektiver PPAR $\beta/\delta$ -Antagonist identifiziert werden (Abb. 1.9).<sup>(63, 64)</sup>



**Abb. 1.9** PPAR $\beta/\delta$ -Agonist GW501516 und PPAR $\beta/\delta$ -Antagonist GSK3787

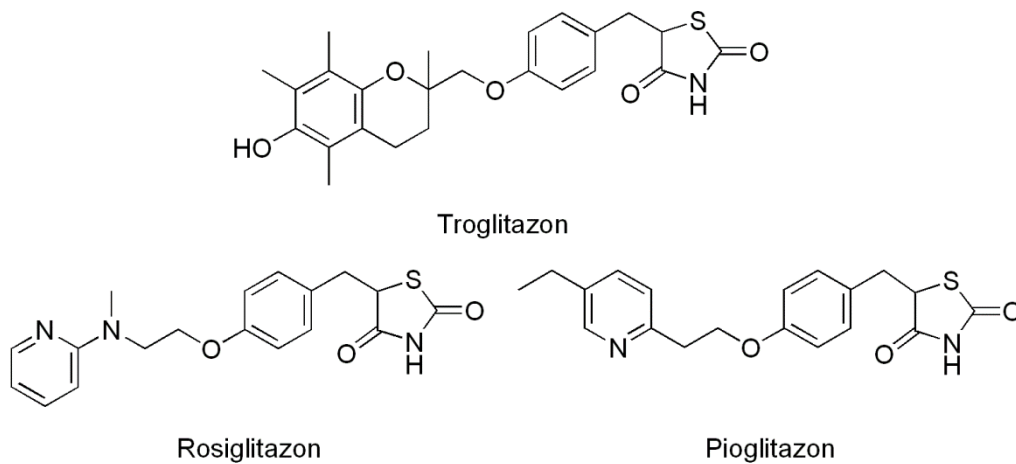
### 1.2.4.3 Endogene und synthetische PPAR $\gamma$ -Liganden

Zu den endogenen PPAR $\gamma$ -Liganden (Abb. 1.8) gehören gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, verschiedene Fettsäurederivate und Eicosanoide. Im Gegensatz zu PPAR $\alpha$  bindet PPAR $\gamma$  bevorzugt mehrfach ungesättigte Fettsäuren und oxidierte Fettsäurederivate.<sup>(3)</sup>



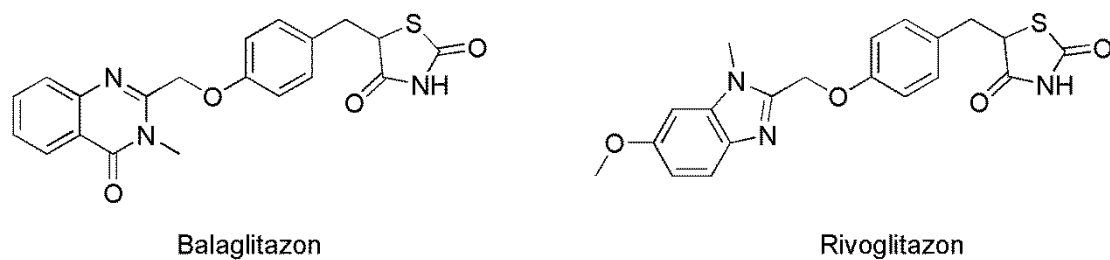
**Abb. 1.10** Endogener PPAR $\gamma$ -Ligand 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>)

Zu den ersten synthetischen PPAR $\gamma$ -Agonisten gehören die Thiazolidindione (Abb. 1.11), die aufgrund ihrer insulinsensitivierenden Eigenschaften für die Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 eingesetzt wurden. Neben den positiven Effekten (Verbesserung der Insulinsensitivität und der endothelialen Dysfunktion, Reduktion des arteriellen Blutdrucks und die Regulation verschiedener Formen von Dyslipidämie) werden Thiazolidindione auch mit unerwünschten Wirkungen wie Gewichtszunahme, peripheren Ödemen und Wasserretention assoziiert.<sup>(30)</sup>



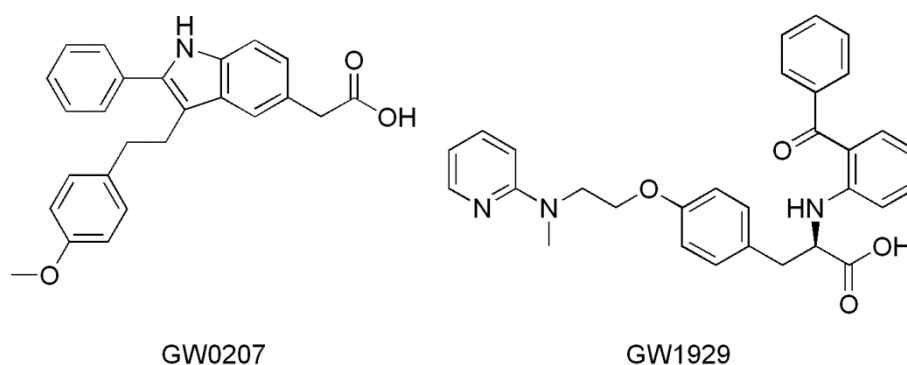
**Abb. 1.11** PPAR $\gamma$ -Agonisten Troglitazon, Rosiglitazon und Pioglitazon

Die PPAR $\gamma$ -Agonisten Balaglitazon und Rivoglitazon sind sogenannte „Thiazolidindione der neuen Generation“ und befinden sich derzeit in verschiedenen Phasen der klinischen Prüfung (Abb. 1.12).<sup>(65, 66)</sup>



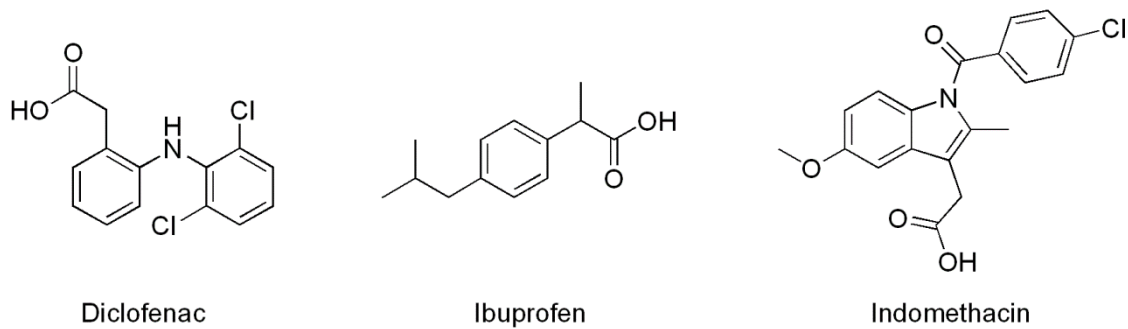
**Abb. 1.12** PPAR $\gamma$ -Agonisten Balaglitazon und Rivoglitazon

Neben den Verbindungen mit Thiazolidindionstruktur gibt es eine Vielzahl an strukturell äußerst unterschiedlichen PPAR $\gamma$ -Agonisten, zu denen unter anderem das Indolderivat GW0207 und das Tyrosinderivat GW1929 (Abb. 1.13) gehören.<sup>(34)</sup>



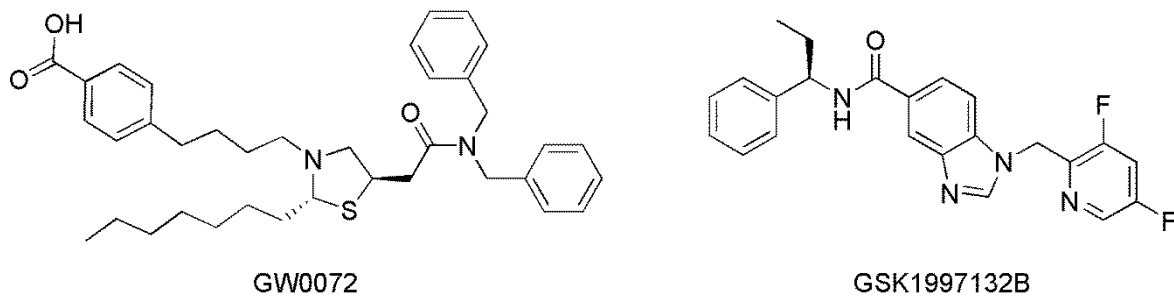
**Abb. 1.13** PPAR $\gamma$ -Agonisten GW0207 und GW1929

Für die nichtsteroidalen Antiphlogistika Diclofenac, Ibuprofen und Indomethacin konnte ebenfalls eine PPAR $\gamma$ -agonistische Aktivität ermittelt werden (Abb. 1.14).<sup>(67)</sup>



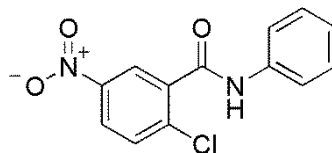
**Abb. 1.14** PPAR $\gamma$ -Agonisten: Diclofenac, Ibuprofen und Indomethacin

Der partielle PPAR $\gamma$ -Agonist GW0072 ist durch eine hohe Rezeptoraffinität mit gleichzeitig geringer Rezeptoraktivierung gekennzeichnet und GSK1997132B ist als ZNS-gängiger PPAR $\gamma$ -Agonist ein potentieller Wirkstoff für die Therapie von verschiedenen Erkrankungen des Gehirns (Abb. 1.15).<sup>(34, 68)</sup>



**Abb. 1.15** Partielle PPAR $\gamma$ -Agonisten: GW0072 und GSK1997132B

Von PPAR $\gamma$ -Antagonisten verspricht man sich aufgrund der differenzierungshemmenden und antiproliferativen Wirkung im Fettgewebe ein großes Potential hinsichtlich einer möglichen Adipositas-Therapie.<sup>(69)</sup> Für den PPAR $\gamma$ -Antagonisten GW9662 (Abb. 1.16) konnte zudem ein positiver Einfluss auf die Progression verschiedener Tumorarten nachgewiesen werden, der über PPAR $\gamma$ -abhängige und PPAR $\gamma$ -unabhängige Mechanismen vermittelt wird.<sup>(70)</sup>

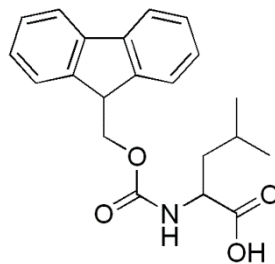


**Abb. 1.16** PPAR $\gamma$ -Antagonist: GW9662

#### 1.2.4.4 Selektive PPAR-Modulatoren (SPPARMs)

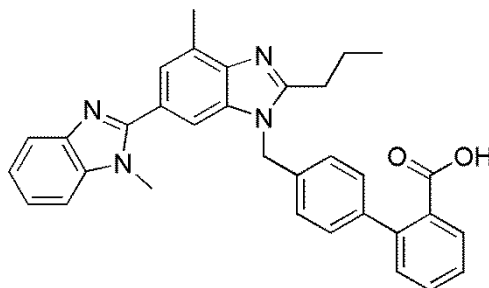
Da PPARs die Transkription von vielen stoffwechselrelevanten Genen regulieren, wird durch eine PPAR-Aktivierung nicht immer nur die gewünschte pharmakologische Wirkung hervorgerufen. Mit dem Ziel, das Risiko für unerwünschte Nebenwirkungen zu minimieren,

wurden selektive PPAR-Modulatoren (SPPARMs) entwickelt, die analog zu den selektiven Estrogenrezeptormodulatoren zielgenau-, zell- und gewebespezifische Effekte hervorrufen. Das Prinzip der selektiven Rezeptormodulation beruht auf der für SPPARMs charakteristischen Konformationsänderung des Rezeptors, die zu einer selektiven Rekrutierung verschiedener Kofaktoren und damit zu einem spezifischen Wirkprofil führt.<sup>(71)</sup> Derzeit befinden sich verschiedene potentielle SPPAR $\gamma$ Ms sowohl in der präklinischen Phase als auch in Phase I bzw. II der klinischen Prüfung.<sup>(3)</sup> FMOCL-leucin vermittelt als SPPAR $\gamma$ M ausgeprägte insulinsensitivierende Effekte und zeigt gleichzeitig aufgrund der veränderten Rekrutierung der Kofaktoren SRC-1 und TIF 2 eine verringerte adipogene Aktivität (Abb. 1.17).<sup>(72)</sup>



**Abb. 1.17** Selektiver PPAR $\gamma$ -Modulator FMOCL-Leucin

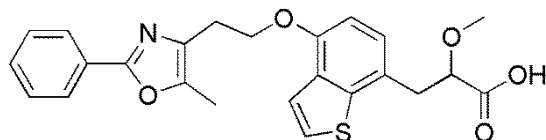
Für die vier Angiotensin-II-Rezeptor-Typ-1-Antagonisten Candesartan, Irbesartan, Losartan und Telmisartan konnte ebenfalls eine partiell-agonistische Aktivität an PPAR $\gamma$  nachgewiesen werden und insbesondere Telmisartan zeigt aufgrund der selektiven Kofaktorrekutierung potentielle Eigenschaften eines SPPAR $\gamma$ Ms (Abb. 1.18).<sup>(73, 74)</sup>



**Abb. 1.18** Telmisartan als Angiotensin-II-Rezeptor-Typ-1-Antagonist mit partiell-agonistischer Aktivität an PPAR $\gamma$

#### 1.2.4.5 Dual- bzw. pan-Agonisten für PPARs

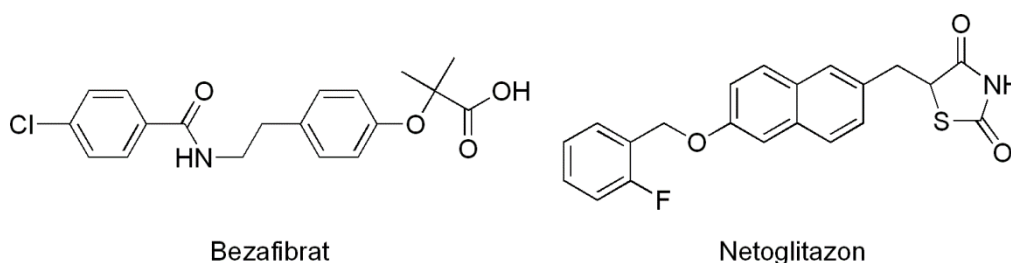
Aktiviert ein Ligand gleichzeitig zwei verschiedene Rezeptoren oder Rezeptorsubtypen, wird er als dual-Agonist bezeichnet. Von der Kombination des hypolipidämischen Effektes einer PPAR $\alpha$ -Aktivierung mit dem insulinsensitivierenden Effekt einer PPAR $\gamma$ -Aktivierung erhofft man sich ein optimales Wirkprofil für die Therapie des Metabolischen Syndroms. Der dual-PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonist Aleglitazar befindet sich in Phase III der klinischen Prüfung (Abb. 1.19).<sup>(61)</sup>



**Abb. 1.19** Dual-PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonist Aleglitazar

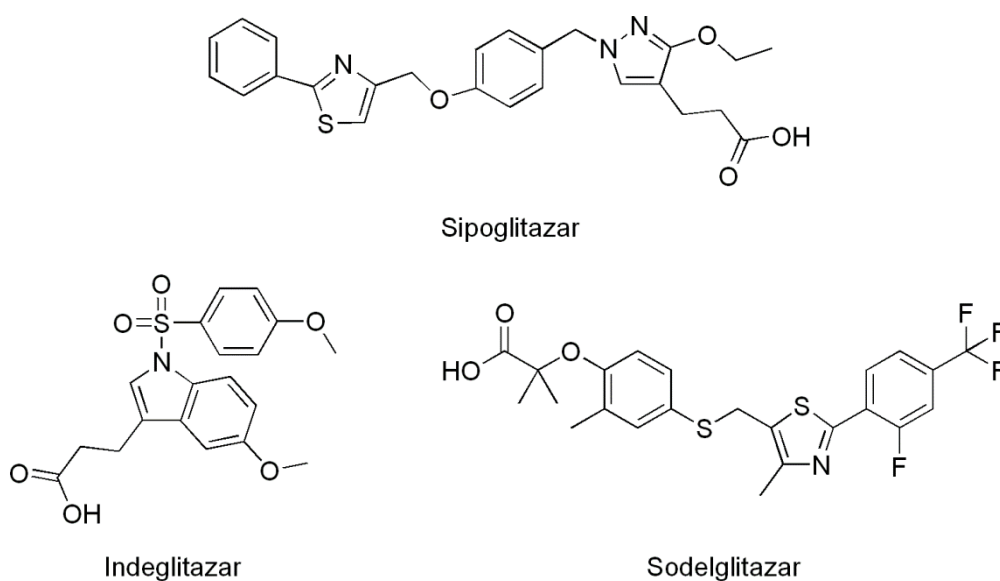
Neben weiteren dual-PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten wird auch an der Entwicklung verschiedener dual-PPAR $\beta/\gamma$ - und dual-PPAR $\alpha/\beta$ -Agonisten gearbeitet.<sup>(3)</sup>

Aktiviert eine Verbindung mehr als zwei Rezeptoren oder Rezeptorsubtypen, wird sie als pan-Agonist bezeichnet. Der bekannte pan-PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ -Agonist Bezafibrat vermittelt sowohl dyslipidämiekorrigierende als auch insulinsensitivierende Effekte und senkt zudem signifikant das Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen.<sup>(75)</sup> Mit der Verbindung Netoglitazon befindet sich ein weiterer pan-PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ -Agonist in Phase II der klinischen Prüfung (Abb. 1.20).<sup>(3)</sup>



**Abb. 1.20** Pan-PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ -Agonisten Bezafibrat und Netoglitazon

Bei anderen pan-PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ -Agonisten wurde die klinische Testung aufgrund von unerwünschten Nebenwirkungen in Phase II (Indeglitazar, Sodelglitazar) bzw. Phase III (Sipoglitazar) vorzeitig beendet (Abb. 1.21).<sup>(3)</sup>



**Abb. 1.21** Pan-PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ -Agonisten Indeglitazar, Sodelglitazar und Sipoglitazar

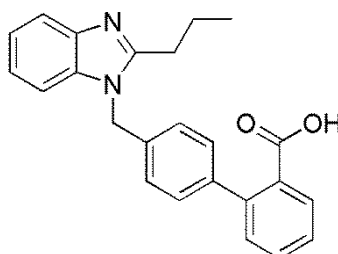
### 1.3 Problemstellung und Zielsetzung

Die intensive Erforschung der PPARs hat insbesondere für PPAR $\gamma$  vielseitige und im Hinblick auf die Therapie des Metabolischen Syndroms vielversprechende physiologische Funktionen offengelegt. Auf der Suche nach potenten und gleichzeitig nebenwirkungsarmen PPAR $\gamma$ -Agonisten wurde der Angiotensin-II-Rezeptor-Typ1-Antagonist Telmisartan (Abb. 1.18) als partieller PPAR $\gamma$ -Agonist mit rezeptormodulierenden Eigenschaften identifiziert.<sup>(74, 76)</sup>

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ausgehend von der Leitstruktur Telmisartan verschiedene potentielle PPAR $\gamma$ -Agonisten zu entwickeln und zu synthetisieren. Die synthetisierten Verbindungen sollen in zwei etablierten *in vitro* Testsystemen auf ihre pharmakologische Wirkung an PPAR $\gamma$  untersucht werden.

#### 1.3.1 Synthese potentieller PPAR $\gamma$ -Agonisten (Kategorie 1-3)

In der Arbeitsgruppe Gust wurde zuvor bereits der Einfluss von einzelnen Strukturelementen Telmisartans auf die PPAR $\gamma$ -Aktivierung ermittelt. Dadurch war es möglich, ein für die PPAR $\gamma$ -Aktivierung essentielles Grundgerüst zu definieren (Abb. 1.22).<sup>(77)</sup>

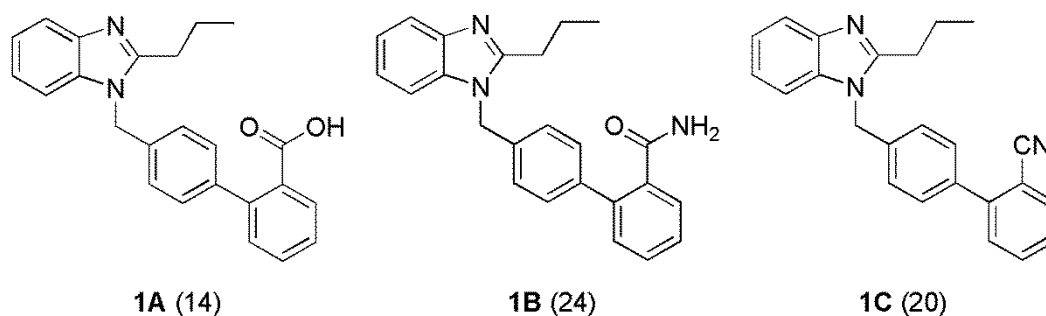


**Abb. 1.22** Essentielles Grundgerüst für die PPAR $\gamma$ -Aktivierung: 4'-[(2-Propyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure

In der vorliegenden Arbeit sollten die charakteristischen Strukturmerkmale des essentiellen Grundgerüsts gezielt variiert werden. Die strukturellen Variationen wurden dabei an drei verschiedenen Positionen vorgenommen, so dass die synthetisierten Verbindungen in die folgenden drei Kategorien eingeteilt werden können:

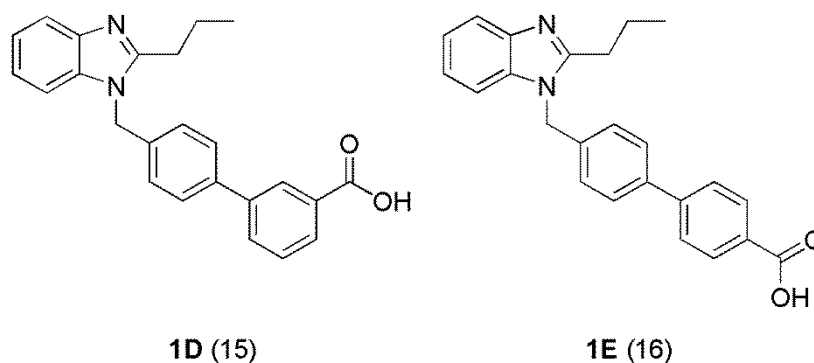
#### **Kategorie 1: Variation des Substituenten am Biphenyl-System**

Aus den vorangegangenen Strukturuntersuchungen ist bekannt, dass die Carbonsäure in Position 2 des Biphenyl-Systems bei der PPAR $\gamma$ -Aktivierung eine wichtige Rolle spielt.<sup>(77)</sup> In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwiefern sich die Aktivierung verändert, wenn die Carbonsäure durch ein Carbamid und durch ein Carbonitril ersetzt wird (Abb. 1.23).



**Abb. 1.23** 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**1A** (14)), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**1B** (24)), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**1C** (20))

Zudem sollte durch den Wechsel der Carbonsäure von der ortho- zur meta- und para-Position untersucht werden, welche Rolle die Position der Carbonsäure am Biphenyl-System in Bezug auf das Aktivierungspotential spielt (Abb. 1.24).

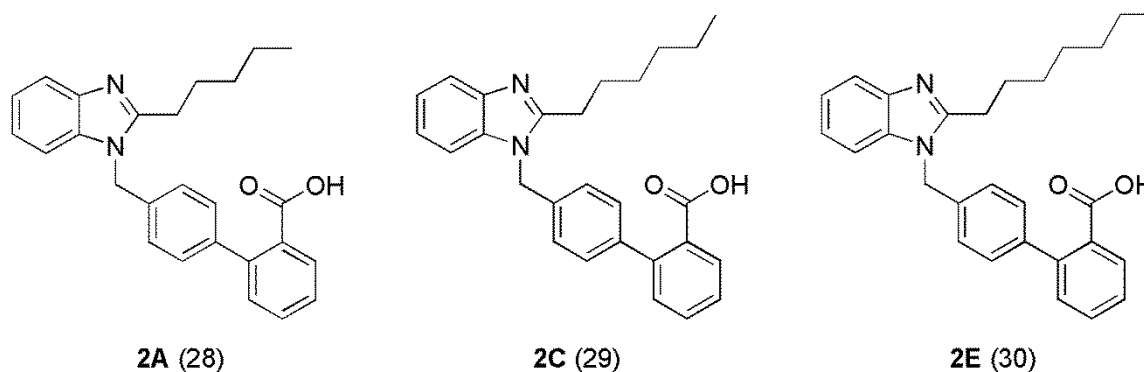


**Abb. 1.24** 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-3-carbonsäure (**1D** (15)), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-4-carbonsäure (**1E** (16))

### Kategorie 2: Variation der Alkylkette in Position 2 des Benz[d]imidazols

Für die Alkylkette in Position 2 des zentralen Benz[d]imidazols konnte gezeigt werden, dass mit abnehmender Kettelänge (Propyl- > Ethyl- > Methylkette) auch die PPAR $\gamma$ -Aktivierung verringert wird.<sup>(77)</sup> Durch die Verlängerung der Alkylkette sollte die Möglichkeit einer gezielten Verstärkung der PPAR $\gamma$ -Aktivierung überprüft werden (Abb. 1.25).

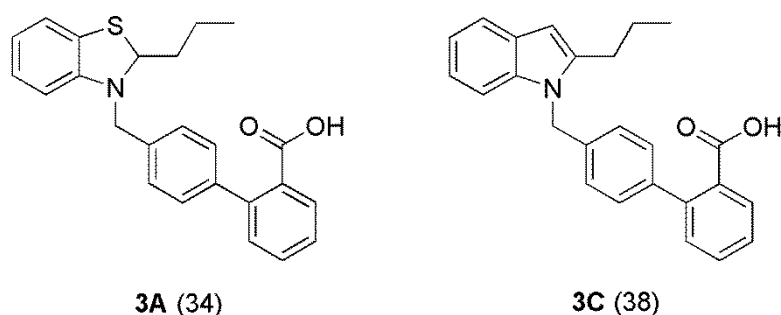




**Abb. 1.25** 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**2A** (28)), 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**2C** (29)), 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**2E** (30))

### Kategorie 3: Variation des zentralen Heterozyklus

In Position 3 des zentralen Benz[*d*]imidazols befindet sich sowohl bei Telmisartan als auch beim essentiellen Grundgerüst ein unsubstituiertes Stickstoffatom. Um zu untersuchen, ob die PPAR $\gamma$ -Aktivierung von dem Heteroatom in Position 3 beeinflusst wird, sollte als zentraler Heterozyklus ein Benzo[*d*]thiazol eingesetzt werden, dessen Schwefelatom im Vergleich zum Stickstoff eine geringere Elektronegativität aufweist. Zudem sollte die Substitution des Benz[*d*]imidazols durch ein Indol Aufschluss darüber geben, ob ein unsubstituiertes Heteroatom in Position 3 generell für die PPAR $\gamma$ -Aktivierung erforderlich ist (Abb. 1.26).



**Abb. 1.26** 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**3A** (34)), 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**3C** (38))

### 1.3.2 Pharmakologische Untersuchungen zur PPAR $\gamma$ -Aktivierung

Für die Ermittlung der pharmakologischen Wirkung an PPAR $\gamma$  sollten die synthetisierten Verbindungen in einem Adipozyten-Differenzierungstest mit 3T3-L1 Zellen und in einem PPAR $\gamma$ -Aktivierungstest mit COS 7 Zellen untersucht werden.

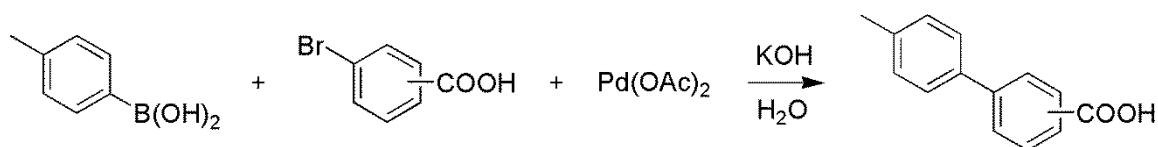


## 2 Synthesen

### 2.1 Synthese der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuren mit der Säurefunktion in *ortho*-, *meta*- bzw. *para*-Position

#### 2.1.1 Darstellung der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuren (Suzuki-Miyaura-Kupplung)

Die Synthese der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuren erfolgte über die palladiumkatalysierte Verknüpfung von *p*-Toluolborsäure mit *ortho*-, *meta*- bzw. *para*-Brombenzoesäure nach einer modifizierten Methode der Suzuki-Miyaura-Kupplung (Abb. 2.1).<sup>(78)</sup>



**Abb. 2.1** Synthese der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäurederivate [Arylhalogenid (1 mmol), Arylborverbindung (1.05 mmol), KOH (3 mmol), Pd(OAc)<sub>2</sub> (0.1 mol %), H<sub>2</sub>O (q.s.), RT 0.5 h (*ortho*-Arylhalogenid: ΔT 5h)]

##### 2.1.1.1 Theorie und Mechanismus der Suzuki-Miyaura-Kupplung

Die Verknüpfung einer Arylborverbindung mit einem Arylhalogenid erfordert die Anwesenheit eines Katalysators. Die in dieser Reaktion katalytisch aktive Pd(0)-Spezies entsteht durch Reduktion der Katalysatorvorstufe Palladium(II)-acetat (Pd(OAc)<sub>2</sub>) unter Mitwirken der Arylborverbindung im alkalischen Milieu.<sup>(78)</sup> Durch die Anlagerung von zwei Acetat-Liganden erfährt der Katalysator einen Aktivitätsanstieg, da aufgrund der erhöhten Elektronendichte am Palladium die oxidative Addition des Arylhalogenids erleichtert wird.<sup>(79)</sup> Zusätzlich unterstützen die beiden Acetat-Liganden zum einen die Stabilität der verschiedenen Intermediate während des Katalyse-Kreislaufs im wässrigen Milieu und zum anderen erhöhen sie die Reaktivität der Intermediate gegenüber der Arylborverbindung im Zuge des Transmetallierungsschritts.<sup>(80)</sup> Die Verwendung größerer Mengen an Katalysator beeinflusst den Reaktionsverlauf negativ, da sie die Entstehung von katalytisch inaktivem metallischem

Palladium zur Folge hat. Durch den Einsatz geringer Mengen an Katalysator hingegen kann die Aggregation von Palladium verhindert und somit die Verfügbarkeit des Metalls für die Katalyse sichergestellt werden.<sup>(78)</sup>

Für den Mechanismus des Katalyse-Kreislaufs werden in der Literatur die folgenden zwei Varianten diskutiert:

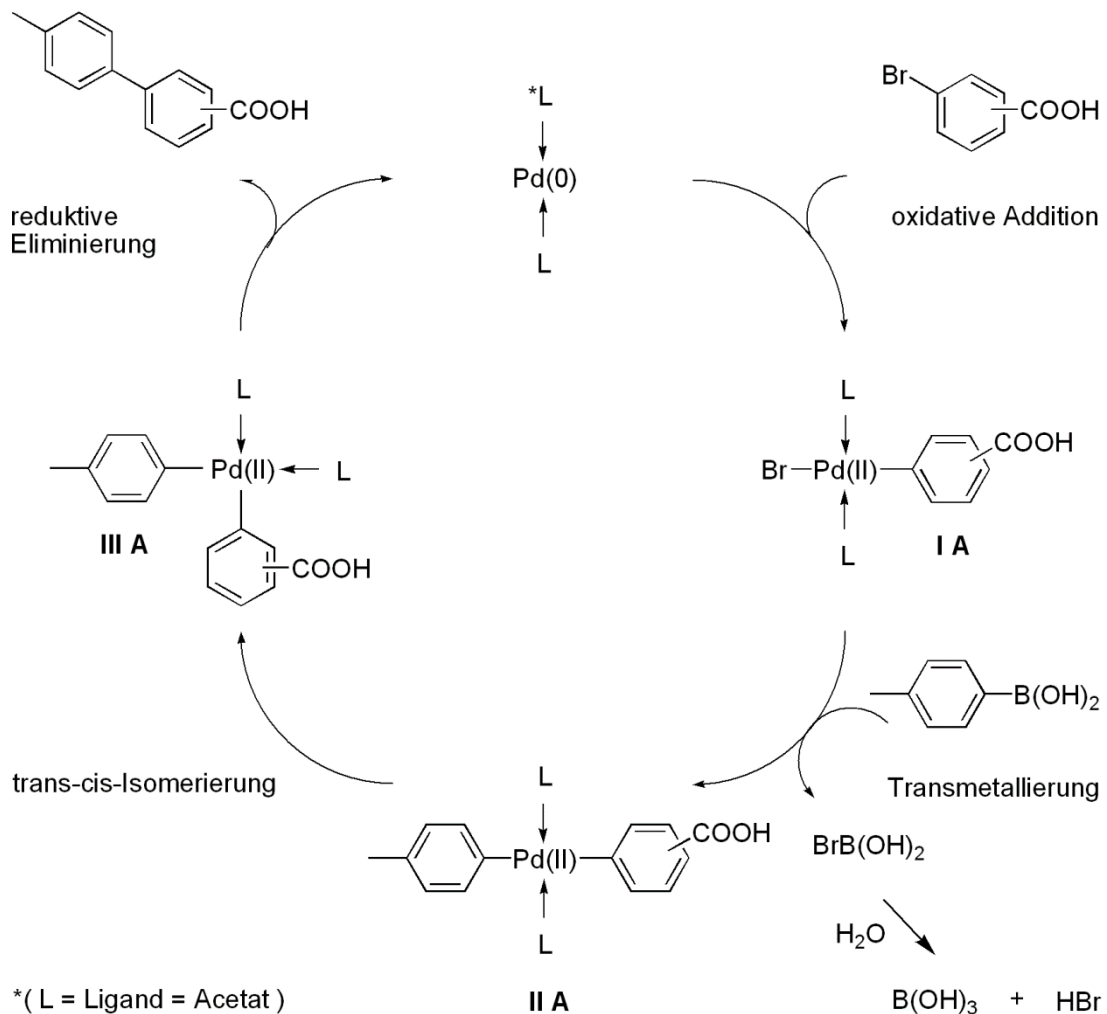


Abb. 2.2 Variante A für den Mechanismus des Palladium-Katalyse-Kreislaufs<sup>(81-83)</sup>

Im ersten Schritt des Katalyse-Kreislaufs nach Variante A reagiert die aktive Pd(0)-Spezies mit der Brombenzoesäure in einer oxidativen Addition zum *cis*-Organopalladium(II)-Halogenid, das unmittelbar danach zum entsprechenden *trans*-Organopalladium(II)-Halogenid (Abb. 2.2: **I A**) isomertisiert.<sup>(84)</sup> Die oxidative Addition erfolgt über einen Drei-Zentren-Mechanismus, bei dem Palladium nukleophil an der Aryl-Halogen-Bindung angreift und über einen trigonal-bipyrimidalen Übergangszustand das entsprechende Organopalladium(II)-Halogenid ausbildet.<sup>(85)</sup> Die Reaktivität der Arylhalogenide sinkt in der Reihenfolge I > Br > Cl und Arylreste mit elektronenziehenden Substituenten verhalten sich reaktiver als solche mit elektronschiebenden Substituenten.<sup>(83, 85)</sup> Im Anschluss an die

oxidative Addition erfolgt der Transmetallierungsschritt, bei dem der Toluol-Rest von der *p*-Toluolborsäure im Austausch gegen das Palladium-gebundene Bromid auf den Organopalladium-Komplex übertragen wird. Dabei entsteht ein *trans*-Diarylpalladium(II)-Komplex (Abb. 2.2: II A). Während oxidative Addition und reduktive Eliminierung bereits intensiv erforscht wurden, ist über die Transmetallierung noch wenig bekannt. Der Verlauf dieses Reaktionsschrittes hängt in großem Ausmaß von der verwendeten Organometallverbindung und den jeweiligen Reaktionsbedingungen ab.<sup>(83)</sup> Sowohl oxidative Addition als auch reduktive Eliminierung sind irreversible Vorgänge und gehen deutlich schneller vonstatten als die Transmetallierung, die daher für die Reaktion geschwindigkeitsbestimmend ist.<sup>(86)</sup> Da es bei der Transmetallierung zu einer Substitution kommt, ist ein assoziativer Mechanismus vorstellbar. In diesem Fall nähert sich die nukleophile Organoborsäure dem planaren Organopalladium(II)-Halogenid im 90° Winkel von der Seite unter Ausbildung eines instabilen pentakoordinierten Zwischenzustandes, aus dem anschließend unter Erhalt der Konfiguration Bromid abgespalten wird.<sup>(86)</sup> Alternativ ist auch ein dissoziativer Mechanismus möglich, bei dem zunächst einer der beiden Liganden von dem Organopalladium(II)-Halogenid dissoziiert und anschließend ein  $\pi$ -Komplex mit der Arylborverbindung ausgebildet wird, aus dem dann der *trans*-Diarylpalladium(II)-Komplex (Abb. 2.2: II A) entsteht.<sup>(86)</sup>

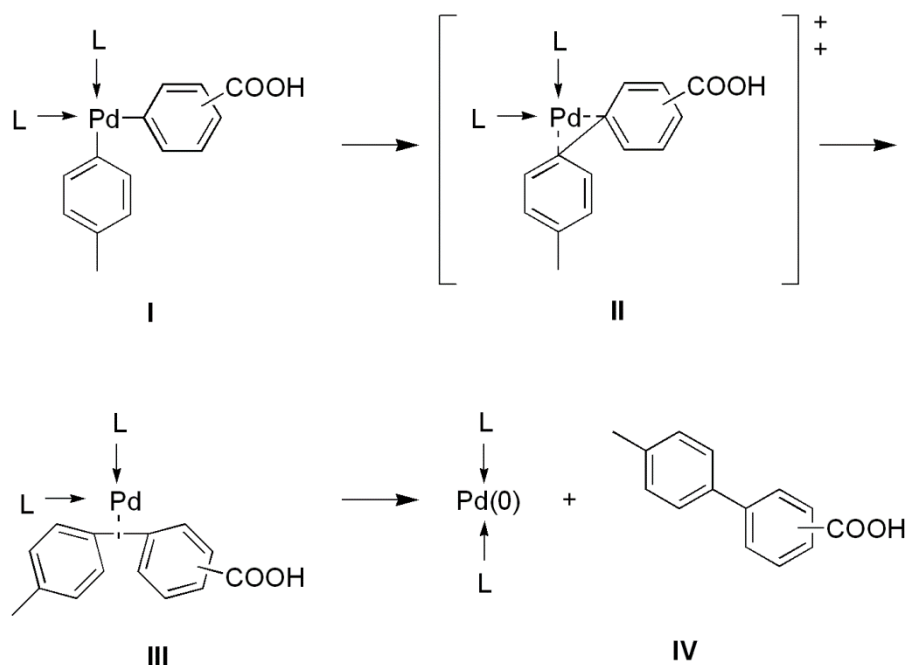


Abb. 2.3 Mechanismus der reduktiven Eliminierung<sup>(87)</sup>

Nach erfolgter Isomerisierung zum entsprechenden *cis*-Diarylpalladium(II)-Komplex (Abb. 2.2: III A) wird über einen reduktiven Eliminierungsschritt (Abb. 2.3) die neue Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung ausgebildet. Es entsteht die entsprechende 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäure unter gleichzeitiger Regeneration der katalytisch aktiven Pd(0)-

Spezies. Bei der reduktiven Eliminierung nimmt die Reaktivität von unterschiedlich substituierten Palladium(II)-Komplexen in der Reihenfolge Diaryl- > Aryl(Alkyl)- > Alkyl(Alkyl)-Palladium(II)-Komplex ab. Aus diesem Grund ist eine Beteiligung der  $\pi$ -Orbitale der Arylkomponenten an der Ausbildung der neuen Bindung wahrscheinlich.<sup>(83)</sup> Im Fall von Diarylpalladium(II)-Komplexen erfolgt die reduktive Eliminierung direkt aus dem vierfach koordinierten Palladium(II)-Komplex in einem Non-Dissoziativen-Non-Assoziativen-Mechanismus, bei dem vier signifikante Stadien durchlaufen werden.<sup>(83)</sup> Ausgehend vom *cis*-Diarylpalladium(II)-Komplex (Abb. 2.3: I) entsteht ein Übergangszustand, bei dem die beiden Arylreste eine schwache Bindung untereinander aufweisen (Abb. 2.3: II). Anschließend wird eine Zwischenstufe ausgebildet, bei der die neue Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung bereits vorliegt, das Produkt aber noch immer schwach an Palladium gebunden ist (Abb. 2.3: III). Im letzten Stadium (Abb. 2.3: IV) hat sich das gewünschte Kupplungsprodukt vollständig vom Komplex gelöst und die regenerierte Pd(0)-Spezies steht wieder für den Katalyse-Kreislauf zur Verfügung.<sup>(87)</sup>

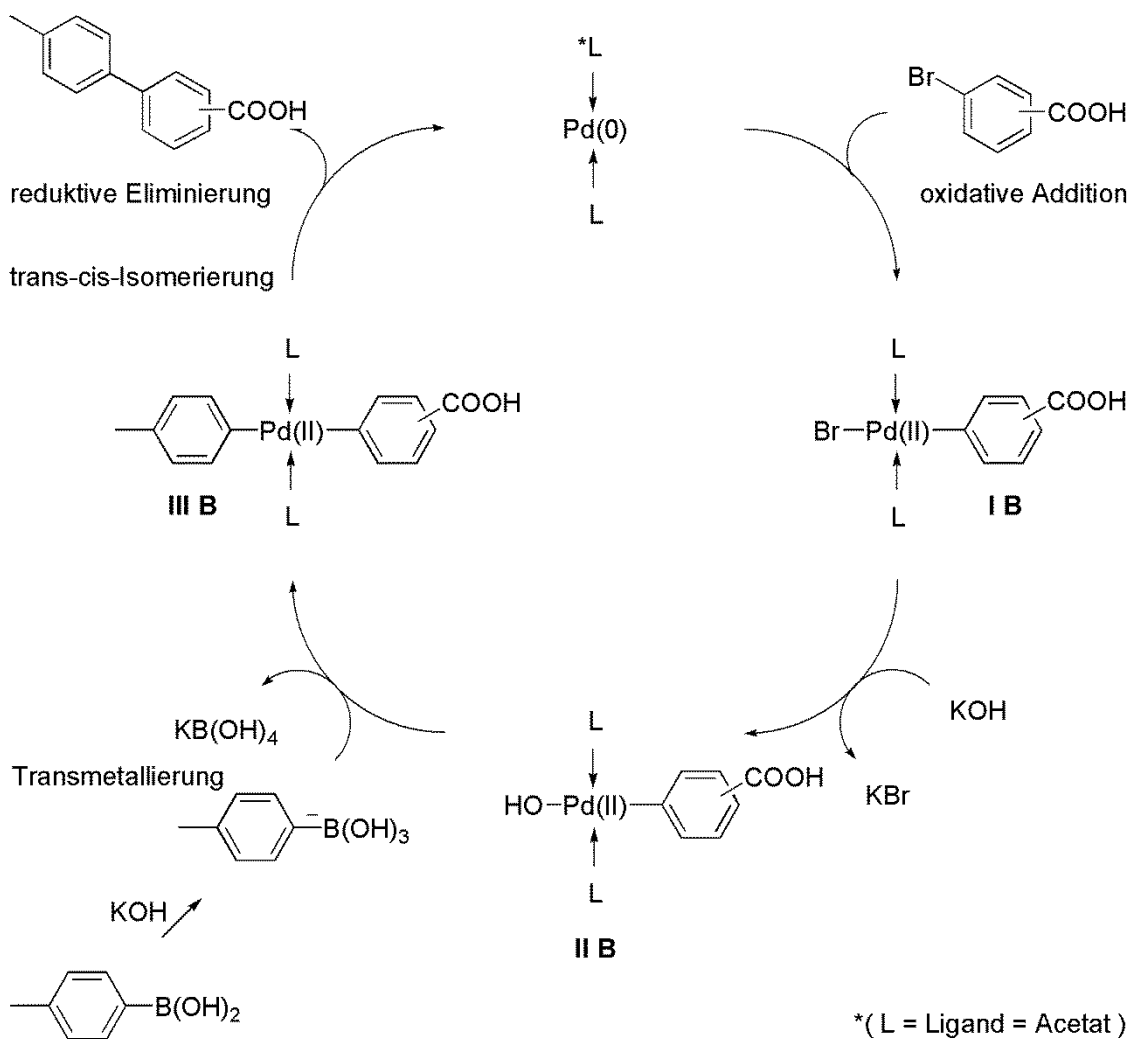
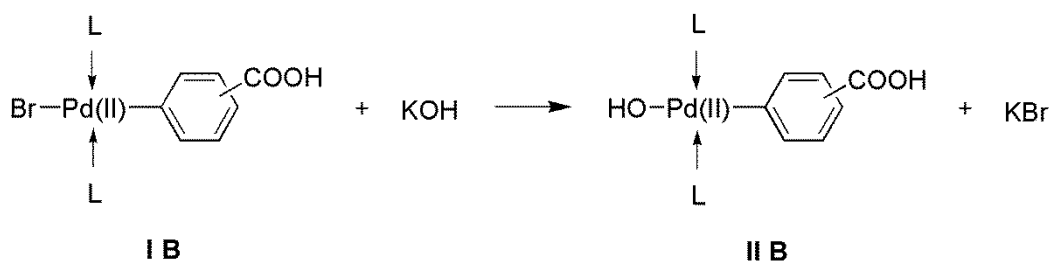


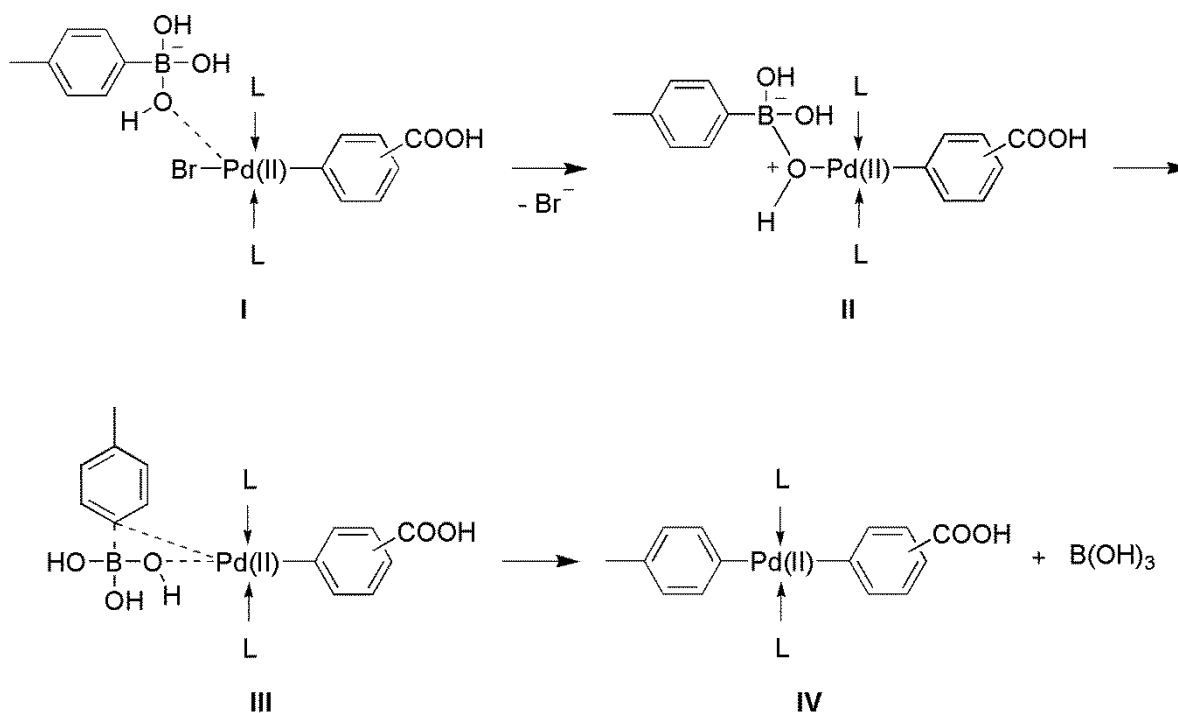
Abb. 2.4 Variante B für den Mechanismus des Palladium-Katalyse-Kreislaufs<sup>(88-90)</sup>

Der erste Schritt im Katalyse-Kreislauf nach Variante B verläuft analog zu Variante A. Die aktive Pd(0)-Spezies reagiert mit der entsprechenden Brombenzoesäure in einer oxidativen Addition und es entsteht ein Organopalladium(II)-Halogenid (Abb. 2.4: **I B**). Im Anschluss an die oxidative Addition kommt es zu einem Bromid-Hydroxid-Austausch unter Ausbildung eines Organopalladium(II)-Hydroxids (Abb. 2.4: **II B**). Für diesen Reaktionsschritt werden in der Literatur zwei Mechanismen beschrieben:



**Abb. 2.5** Direkter Austausch von Bromid gegen die Hydroxygruppe<sup>(88, 90)</sup>

Die Substitution kann durch den direkten Austausch von Bromid gegen die Hydroxygruppe vonstattengehen (Abb. 2.5). In diesem Fall ist sowohl ein dissoziativer als auch assoziativer Mechanismus möglich.<sup>(88, 90)</sup> Alternativ zum direkten Austausch ist eine mehrstufige Substitution unter Einbezug der p-Toluolborsäure möglich (Abb. 2.6). Diese agiert bei den vorherrschenden Reaktionsbedingungen als Lewis-Säure und bindet unter Ausbildung eines Boronats ein Hydroxid-Ion, das anschließend für den Austausch zur Verfügung gestellt wird.<sup>(89, 90)</sup>

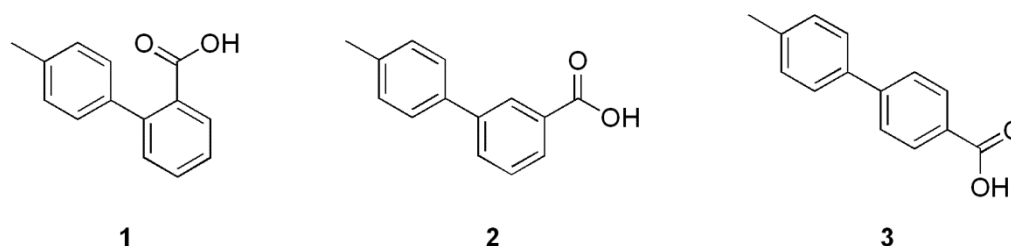


**Abb. 2.6** Austausch von Bromid gegen eine Hydroxygruppe des p-Toluolboronats und anschließende Transmetallierung<sup>(90)</sup>

Die Ausbildung des tetravalenten Borat-Ions verstärkt zudem die Nucleophilie der benachbarten Arylgruppe, was sich positiv auf den anschließenden Transmetallierungsschritt auswirkt.<sup>(83)</sup> Es entsteht auch hier zunächst ein *trans*-Diarylpalladium(II)-Komplex (Abb. 2.4: **III B** bzw. Abb. 2.6: **IV**), der durch eine *trans-cis*-Isomerisierung in den entsprechenden *cis*-Diarylpalladium(II)-Komplex umgewandelt wird (vgl. Abb. 2.2: **III A**). Die reduktive Eliminierung im letzten Schritt verläuft analog zu dem Mechanismus, der bereits für den Katalyse-Kreislauf A dargestellt wurde.

Für einen Reaktionsverlauf nach Variante B sprechen die Forschungsergebnisse von Bumagin et al., bei denen die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Kupplung ohne den Zusatz einer Base nicht stattfand.<sup>(80)</sup> Für einen Reaktionsverlauf nach Variante A hingegen sprechen die Untersuchungen von Aliprantis et al., bei denen mit Ausnahme des in Variante B beschriebenen Organopalladium(II)-Hydroxids (Abb. 2.4: **II B**) alle anderen Intermediate nachgewiesen werden konnten.<sup>(81)</sup>

### 2.1.1.2 Synthetisierte Verbindungen



**Abb. 2.7** 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**1**), 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäure (**2**), 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäure (**3**)

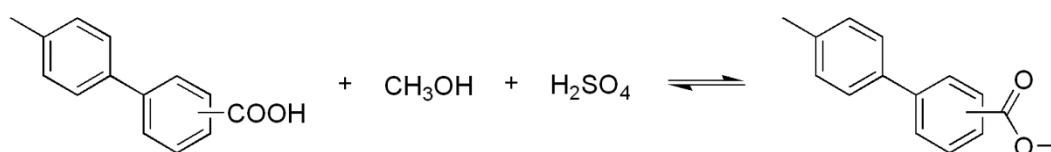
Bei der Suzuki-Miyaura-Kupplung spielen Substituenteneffekte eine bedeutende Rolle. Substituenten mit einem Minus-I-Effekt vergrößern das Elektronendefizit am „reaktiven Zentrum“ der Arylhalogenidkomponente, was eine erhöhte Aktivität in Bezug auf die Ausbildung des Organopalladium(II)-Halogenids (Abb. 2.2: **I A** und Abb. 2.4: **I B**) zur Folge hat. Aufgrund der elektronenziehenden induktiven Eigenschaften solcher Substituenten wird die Energie der  $\pi$ -Orbitale verringert, was wiederum zu einem verminderten Reduktionspotential der Arylhalogenide führt und somit die oxidative Addition begünstigt.<sup>(83)</sup> Daneben wird die Suzuki-Miyaura-Kupplung auch durch sterische Hinderungseffekte beeinflusst. Räumlich große Substituenten in ortho-Stellung zum reaktiven Zentrum erschweren die Ausbildung des *trans*-Organopalladium(II)-Halogenids. Substituenten in meta- bzw. para-Stellung sind weiter vom Reaktionszentrum entfernt und üben daher geringere Hinderungseffekte aus.



Bedingt durch die sterische Hinderung hat bei der Synthese der 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure unter gleichen Reaktionsbedingungen keine Kupplung stattgefunden. Erst durch das Erhitzen des Reaktionsansatzes war es möglich, die Produktbildung anzuregen, wobei eine im Vergleich zu den meta- und para-substituierten Verbindungen deutlich geringere Ausbeute erzielt wurde.

### 2.1.2 Darstellung der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Fischer-Veresterung)

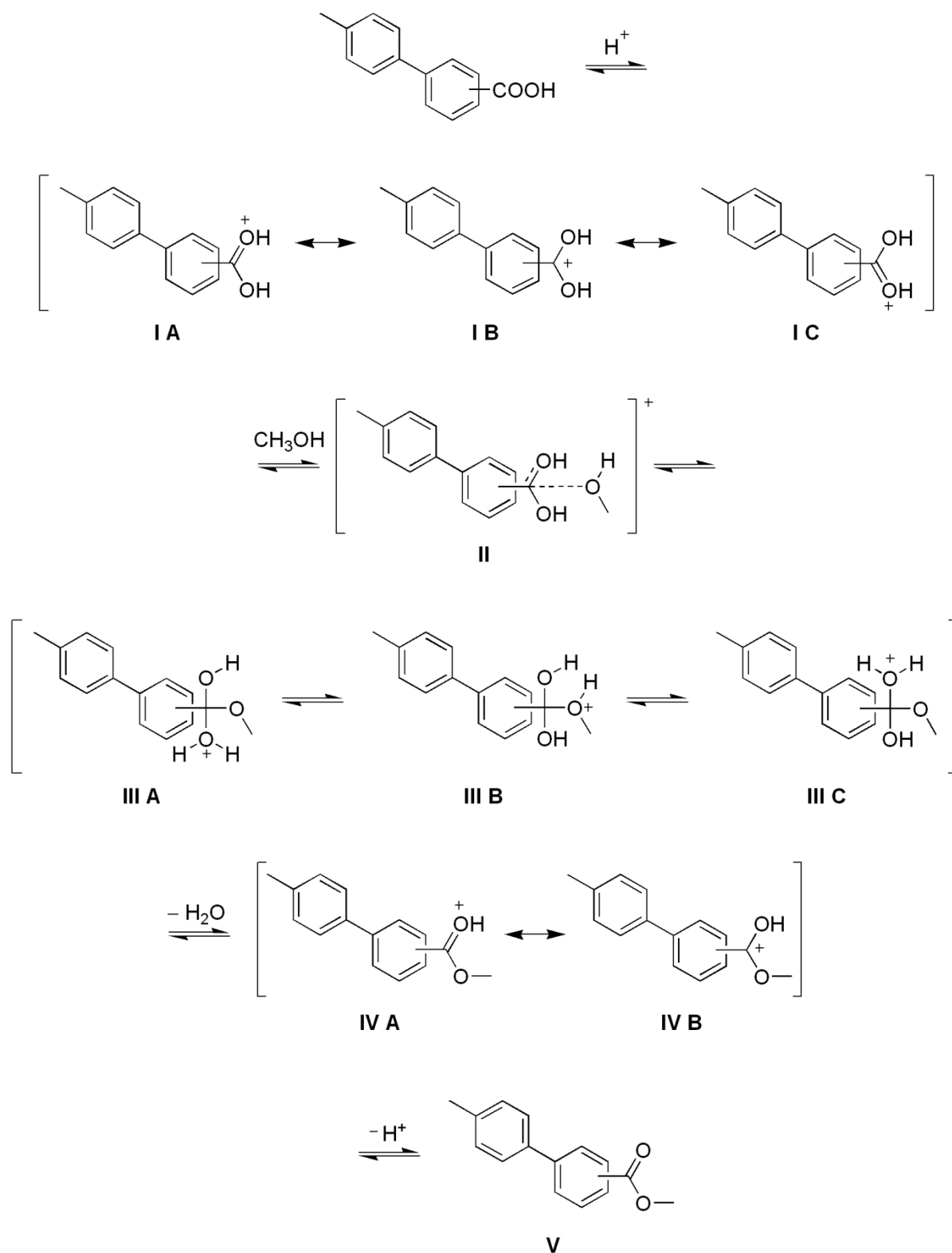
Um die reaktive Carbonsäuregruppe der verschiedenen 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuren während der weiterführenden Reaktionen zu schützen, hat sich die Veresterung mit einem Alkohol als geeignete Methode bewährt. Die Synthese der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester erfolgte auf dem Weg der säurekatalysierten Veresterung mit Methanol und konzentrierter Schwefelsäure über den Mechanismus der Fischer-Veresterung (Abb. 2.8).<sup>(91)</sup>



**Abb. 2.8** Synthese der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester [Carbonsäure (1 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 mmol), Methanol (q.s.), ΔT 5h]

#### 2.1.2.1 Theorie und Mechanismus der Fischer-Veresterung

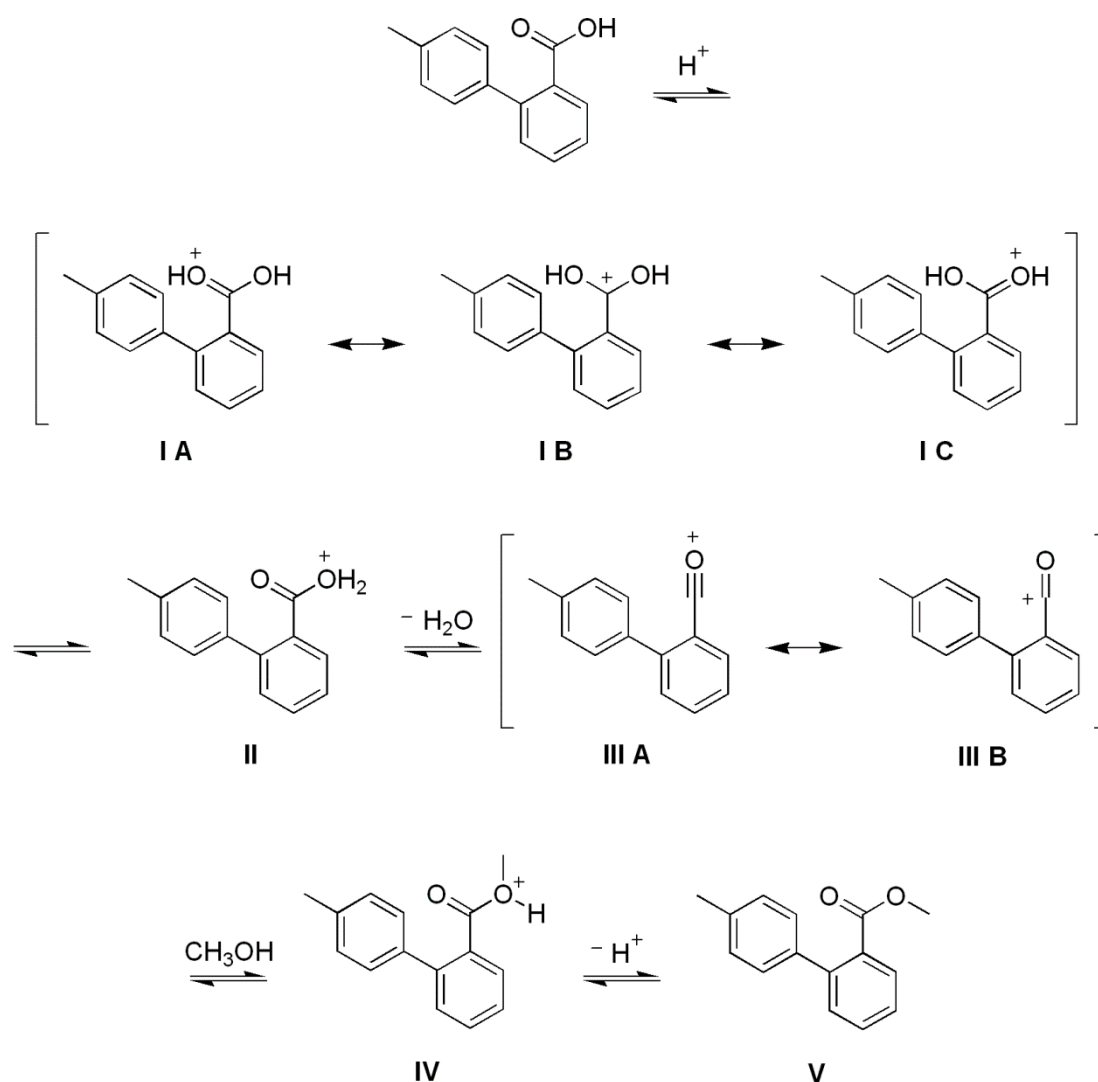
Die säurekatalysierte Veresterung ist eine Reaktion zweiter Ordnung und verläuft über einen bimolekularen Additions-Eliminierungs-Mechanismus. Carbonsäuren reagieren aufgrund der geringen Carbonylaktivität sehr langsam und nur in Gegenwart katalytischer Mengen einer anorganischen Säure mit Alkoholen zu den entsprechenden Estern. Setzt man den Alkohol im Überschuss ein, wird das Gleichgewicht der Reaktion in Richtung der Produkte verschoben. Der Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure führt zu einer erhöhten Reaktivität des Carbonylkohlenstoffs und bewirkt zudem eine erleichterte Abspaltung der Abgangsgruppe H<sub>2</sub>O. Diese beiden Effekte haben ebenfalls eine Verschiebung des Reaktionsgleichgewichts zugunsten der Produkte zur Folge.<sup>(92-94)</sup>



**Abb. 2.9** Mechanismus für die säurekatalysierte Veresterung der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuren<sup>(93)</sup>

Zu Beginn der Reaktion wird der Carbonylsauerstoff protoniert, und es entsteht ein mesomeriestabliertes Dihydroxycarbenium-Ion (Abb. 2.9: **I A**, **I B** und **I C**), an das sich im anschließenden Übergangszustand leicht ein Methanol-Molekül anlagern kann (Abb. 2.9: **II**). Im darauf folgenden geschwindigkeitsbestimmenden Schritt kommt es zur Ausbildung des

für nukleophile Additionsreaktionen charakteristischen tetraedrischen Zwischenproduktes. Während dieses assoziativen Prozesses verändert der Carbonylkohlenstoff vorübergehend seine Hybridisierung von  $sp^2$  zu  $sp^3$ . Für diese Zwischenstufe lassen sich drei tautomere Grenzstrukturen formulieren (Abb. 2.9: III A, III B und III C). Unter den vorliegenden Reaktionsbedingungen wird im anschließenden Eliminierungsschritt Wasser abgespalten. Dabei entsteht erneut ein delokalisiertes Carbenium-Ion (Abb. 2.9: IV A und IV B), das im letzten Schritt durch Deprotonierung in den entsprechenden Ester (Abb. 2.9: V) umgewandelt wird.<sup>(93)</sup>

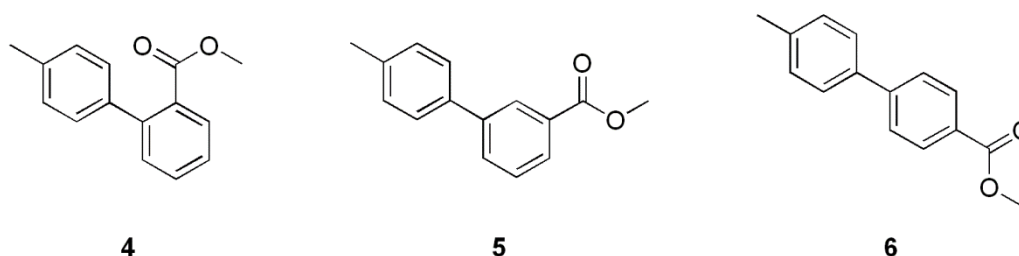


**Abb. 2.10** Alternativer Mechanismus für die säurekatalysierte Veresterung der sterisch anspruchsvollen 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure<sup>(94)</sup>

Die Veresterung von sterisch anspruchsvollen Carbonsäuren kann über einen alternativen Reaktionsmechanismus verlaufen (Abb. 2.10).<sup>(94)</sup> Der erste Reaktionsschritt für diesen Mechanismus wird in der Literatur unterschiedlich beschrieben. Analog zu dem zuvor dargestellten Mechanismus für die Fischer-Veresterung kann auch hier zunächst der Carbonylsauerstoff protoniert werden. Es entsteht das mesomeriestabilisierte

Dihydroxycarbenium-Ion (Abb. 2.10: **I A**, **I B** und **I C**), das durch Protonenübertragung in das entsprechende Tautomer (Abb. 2.10: **II**) umgewandelt wird. Alternativ dazu kann im Fall sterisch anspruchsvoller Carbonsäuren die Protonierung auch direkt am Hydroxylsauerstoff stattfinden, so dass unmittelbar das zuvor beschriebene Tautomer (Abb. 2.10: **II**) ausgebildet wird. Nach anschließender Wasserabspaltung wird im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt ein delokalisiertes Acylkation (Abb. 2.10: **III A** und **III B**) gebildet, das mit Methanol sehr schnell zum entsprechenden Ester (Abb. 2.10: **IV**) reagiert. Da bei diesem Mechanismus der Alkohol nicht am geschwindigkeitsbestimmenden Schritt beteiligt ist, verläuft die Reaktion unimolekular.<sup>(94)</sup>

### 2.1.2.2 Synthetisierte Verbindungen



**Abb. 2.11** 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (**4**), 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (**5**), 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (**6**)

Bei der Veresterung spielen sowohl induktive als auch mesomere Substituenteneffekte eine Rolle. Arylsubstituenten mit einem Minus-I-Effekt in meta-Stellung zur Carbonsäure vergrößern das Elektronendefizit am Carbonylkohlenstoff, was eine erhöhte Aktivität und daraus resultierend eine erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit zur Folge hat. Sie erleichtern also aufgrund ihrer elektronenziehenden induktiven Eigenschaften den nukleophilen Angriff des Methanols und stabilisieren den Übergangszustand (Abb. 2.9: **II**). Bei einem Arylsubstituenten in ortho- bzw. para-Stellung zur Carbonsäure überwiegt hingegen der Einfluss des mesomeren Effektes. Aufgrund des für Arylsubstituenten charakteristischen elektronenliefernden Plus-M-Effektes wird die Elektronendichte in unmittelbarer Nachbarschaft zum Carbonylkohlenstoff erhöht und dadurch die Reaktivität reduziert. In diesem Fall verläuft die Veresterung im Vergleich zur entsprechend meta- bzw. unsubstituierten Carbonsäure langsamer.<sup>(94)</sup>

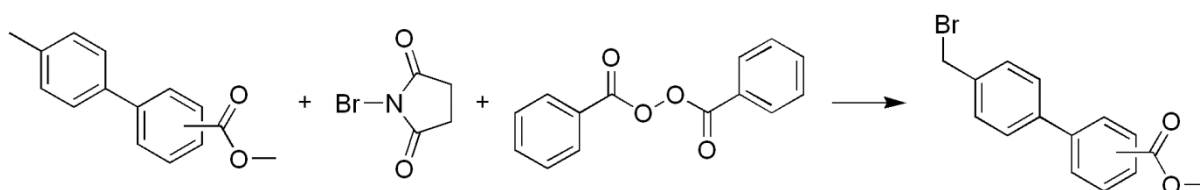
Neben induktiven und mesomeren Effekten beeinflussen auch sterische Hinderungseffekte den Reaktionsverlauf der säurekatalysierten Veresterung. Räumlich große Substituenten in ortho-Stellung zur Carbonsäure erschweren die Annäherung und Anlagerung des Methanol-Moleküls (Abb. 2.9: **II**) und damit die Ausbildung des tetraedrischen Zwischenzustandes (Abb. 2.9: **III A - D**). Substituenten in meta- bzw. para-Stellung zur Carbonsäure

sind dagegen weiter vom Reaktionszentrum entfernt und üben daher keine sterischen Hinderungseffekte aus. Die Reaktion wird also bei Vorhandensein eines räumlich großen Substituenten in ortho-Stellung zur Carbonsäure entsprechend negativ beeinträchtigt und geht somit langsamer vonstatten.<sup>(94)</sup>

Für die in dieser Arbeit synthetisierten 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester konnte unter gleichen Reaktionsbedingungen in Bezug auf die erzielte Ausbeute kein Unterschied festgestellt werden. Um den tatsächlichen Einfluss des Substitutionsmusters auf den Veresterungsprozess eindeutig zu bestimmen, müsste in weiterführenden Versuchen die Ausbeute unter veränderten Reaktionsbedingungen (z.B. verkürzte Reaktionszeit) untersucht werden. Bei der Synthese des 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylesters wurde im Vergleich zu den entsprechenden meta- bzw. para-substituierten Verbindungen unter den gleichen Reaktionsbedingungen eine höhere Ausbeute erzielt. Dies steht im Widerspruch zu dem für dieses Substitutionsmuster zu erwartenden Ergebnis. Aus diesem Grund kann für die Veresterung der 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure der Reaktionsverlauf nach dem alternativen Mechanismus (Abb. 2.10) in Betracht gezogen werden.

### 2.1.3 Darstellung der 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Wohl-Ziegler-Reaktion)

Die Synthese der 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester erfolgte über die regioselektive Bromierung der Methylseitenkette der 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester nach dem Mechanismus der Wohl-Ziegler-Reaktion (Abb. 2.12).<sup>(95, 96)</sup>

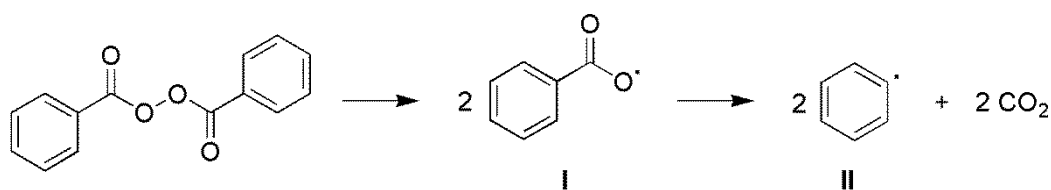


**Abb. 2.12** Synthese der 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester [Ester (1 mmol), NBS (1.1 mmol), BPO (0.062 mmol), CCl<sub>4</sub> (q.s.), ΔT 4h]

#### 2.1.3.1 Theorie und Mechanismus der Wohl-Ziegler-Reaktion

Brom reagiert bei Anwesenheit einer Lewis-Säure mit einem Aromaten in einer elektrophilen Substitutionsreaktion, bei der unter Erhalt des aromatischen Charakters ein Proton gegen Bromid ausgetauscht wird. Bei der Wohl-Ziegler-Reaktion hingegen wird in Anwesenheit geringer Mengen Brom eine Bromierung der Seitenkette der des aromatischen Kerns

vorgezogen. Die Reaktion verläuft über intermediär gebildete Radikale und *N*-Bromsuccinimid (NBS) dient hierbei als andauernde Quelle sehr kleiner Mengen Brom. Bei der Verwendung von NBS als Bromierungsmittel ist die Anwesenheit des Radikalstarters Benzoylperoxid erforderlich, da die Dissoziationsenergie der vorliegenden Stickstoff-Bromid-Bindung im Vergleich zur Br-Br-Bindung höher ist und dadurch eine thermische oder photolytische Spaltung erschwert wird. Tetrachlorkohlenstoff hat sich vor allem aufgrund seiner Reaktionsträgheit gegenüber Brom als besonders geeignetes Lösungsmittel erwiesen. Sowohl NBS (Abb. 2.16: I) als auch das bei dieser Reaktion anfallende Nebenprodukt Succinimid (Abb. 2.16: II) sind unlöslich in Tetrachlorkohlenstoff. NBS befindet sich, da es schwerer ist als das Lösungsmittel, am Boden des Reaktionsgefäßes, wohingegen Succinimid, das leichter ist als Tetrachlorkohlenstoff, an der Oberfläche schwimmt. Diese Tatsache ermöglicht es, den Reaktionsverlauf auch visuell zu verfolgen.<sup>(93)</sup>



**Abb. 2.13** Bereitstellung von zwei Phenyl-Radikalen durch den Radikalstarter Benzoylperoxid

Zu Beginn der Reaktion zerfällt der Radikalstarter Benzoylperoxid durch Erwärmen (Thermolyse) zunächst in zwei Benzoyl-Radikale (Abb. 2.13: I). Nach CO<sub>2</sub>-Abspaltung entstehen daraus zwei Phenyl-Radikale (Abb. 2.13: II), die im weiteren Reaktionsverlauf die Bildung der notwendigen Brom-Radikale gewährleisten.<sup>(94)</sup>

Im folgenden Reaktionsschritt (Initiation) wird das für die stereoselektive Bromierung erforderliche Brom-Radikal gebildet (Abb. 2.14). Hierfür gibt es zwei verschiedene Möglichkeiten:

Entweder tritt das Phenyl-Radikal zunächst mit elementarem Brom in Wechselwirkung, das als Verunreinigung in NBS immer in Spuren vorliegt. In diesem Fall wird Brom homolytisch gespalten und es entstehen zwei Brom-Radikale (ohne Abb.). Alternativ dazu kann das Phenyl-Radikal auch direkt mit NBS reagieren. Dabei entsteht intermediär 1-Brom-5-phenoxy-pyrrolidin-2-on-5-yl (Abb. 2.14: I), das unter Abspaltung eines Brom-Radikals in 5-Phenoxy-3,4-dihydro-2*H*-pyrrol-2-on (Abb. 2.14: II) umgewandelt wird.<sup>(97)</sup>

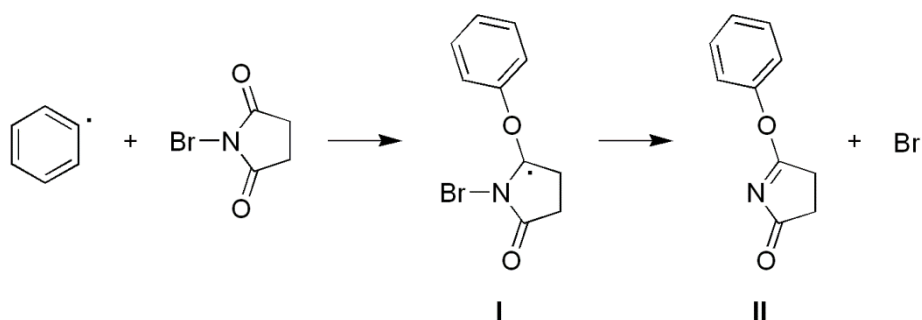


Abb. 2.14 Entstehung eines Brom-Radikals aus *N*-Bromsuccinimid

Das Brom-Radikal abstrahiert anschließend ein Proton von der benzylicen Methylgruppe des jeweiligen 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylesters unter Ausbildung des entsprechenden Benzyl-Radikals (Abb. 2.15: I) und von Bromwasserstoff (Propagation).<sup>(97)</sup>

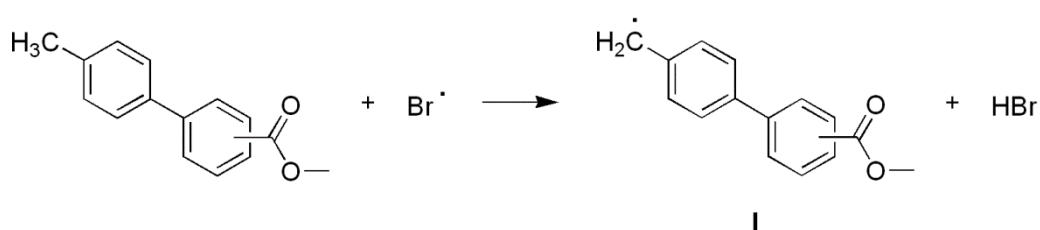


Abb. 2.15 Abstraktion eines Protons von der benzylicen Methylgruppe des 4'-Methyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylesters unter Ausbildung eines Benzyl-Radikals

Bromwasserstoff reagiert wiederum mit NBS (Abb. 2.16: I) unter Ausbildung von elementarem Brom und Succinimid (Abb. 2.16: II). Auf diese Weise werden kontinuierlich geringe Mengen Brom bereitgestellt. Die Bildung von elementarem Brom erfolgt in diesem Fall unter Synproportionierung, da die Elektronegativität des Stickstoffs in NBS aufgrund der benachbarten Carbonylgruppen verstärkt wird und die Stickstoff-Brom-Bindung polarisiert ist, so dass Brom in dieser Verbindung formal eine positive Ladung trägt.

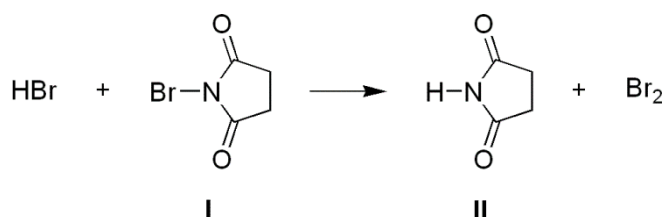


Abb. 2.16 Bereitstellung geringer Mengen Brom durch die Reaktion von Bromwasserstoff und *N*-Bromsuccinimid

Im letzten Reaktionsschritt reagiert Brom mit dem Benzyl-Radikal, wobei neben dem 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Abb. 2.17: I) ein weiteres Brom-Radikal entsteht, das wieder in den Kreislauf eingebracht wird.<sup>(97)</sup>

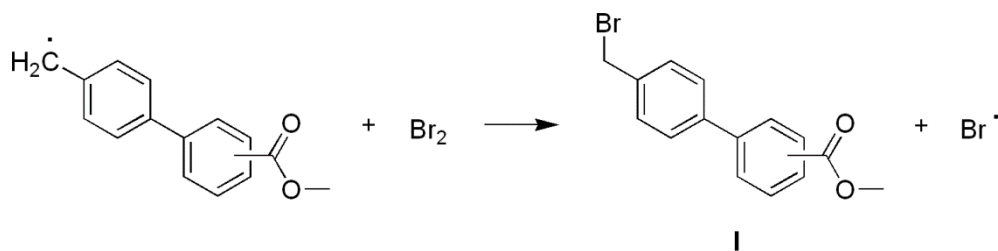


Abb. 2.17 Bromierung des entsprechenden Benzyl-Radikals

### 2.1.3.2 Synthetisierte Verbindungen

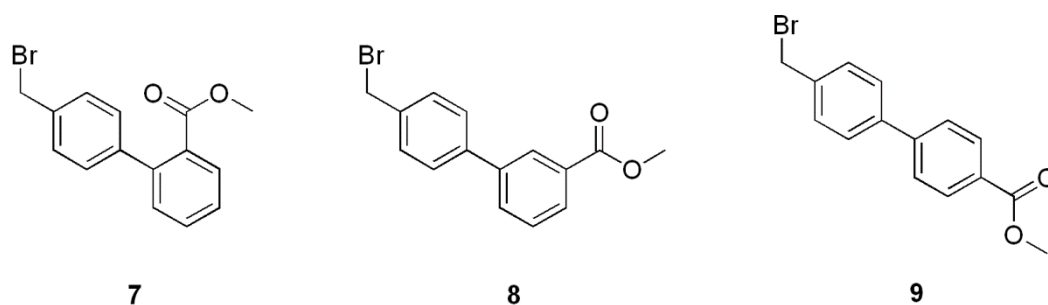


Abb. 2.18 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (7), 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (8), 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (9)

Die Bromierung der verschiedenen Biphenylcarbonsäuremethylester verlief für alle drei Verbindungen in vergleichbarem Ausmaß, wobei die erzielte Ausbeute des 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylesters am größten war. Die geringste Ausbeute wurde für den 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester erzielt.

### 2.1.4 Darstellung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol (Phillips-Benzimidazol-Synthese)

Die Synthese von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol erfolgte nach einer modifizierten Methode der Phillips-Benzimidazol-Synthese (Abb. 2.19).<sup>(98, 99)</sup>

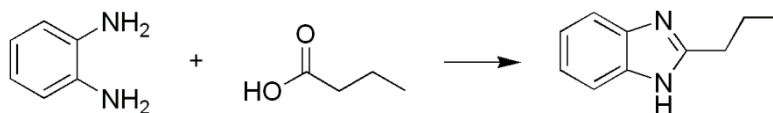
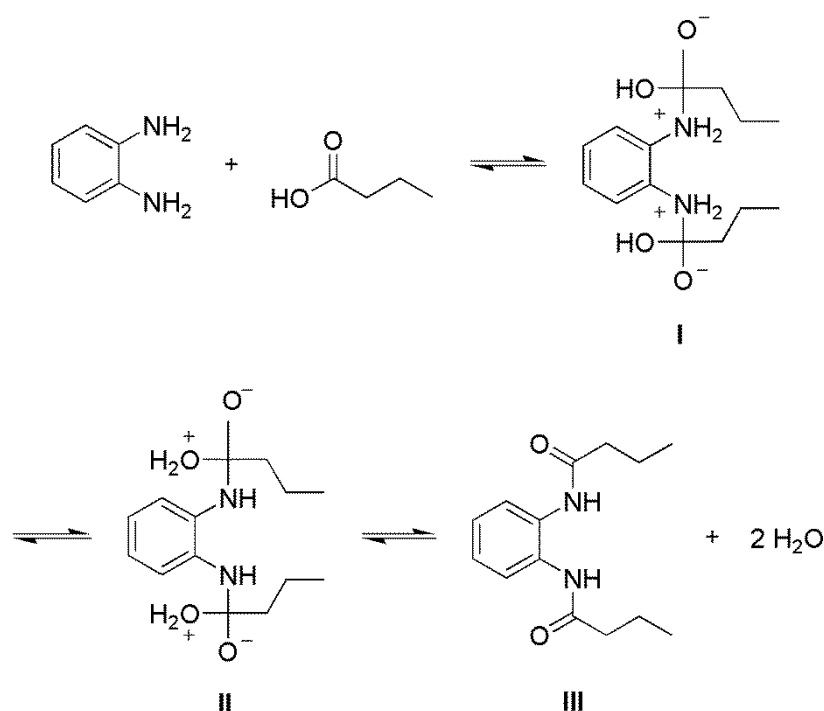


Abb. 2.19 Synthese von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol [1,2-Phenylendiamin (1 mmol), Buttersäure (2 mmol),  $\Delta T$  2h]



### 2.1.4.1 Theorie und Mechanismus der Phillips-Benzimidazol-Synthese

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol kann formal in zwei Teilschritte gegliedert werden. Im ersten Reaktionsschritt wird 1,2-Phenylendiamin mit Buttersäure acyliert. Anschließend wird durch eine intramolekulare Cyclokondensation 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol gebildet.



**Abb. 2.20** Zweifache Acylierung von 1,2-Phenylendiamin zum *N,N'*-1,2-Phenylenbisbutyramid (III)<sup>(93)</sup>

Die Acylierung ist eine Reaktion zweiter Ordnung und verläuft über einen reversiblen Additions-Eliminierungs-Mechanismus (Abb. 2.20).<sup>(93)</sup> Wenn man die Säurekomponente im Überschuss einsetzt, werden beide Stickstoffatome acyliert und es entsteht *N,N'*-1,2-Phenylenbisbutyramid. Carbonsäuren reagieren mit Aminen in der Regel sofort zum entsprechenden Ammoniumsalz. Dieser Prozess ist jedoch beim Erhitzen reversibel, so dass eine langsamere, thermodynamisch günstigere Reaktion stattfinden kann, bei der das Amin nukleophil an den partiell positiven Carbonylkohlenstoff addiert. Bei diesem für die Acylierung geschwindigkeitsbestimmenden Reaktionsschritt entsteht die für nukleophile Additionsreaktionen charakteristische tetraedische Zwischenstufe (Abb. 2.20: I), bei der der ursprünglich  $sp^2$ -hybridisierte Carbonylkohlenstoff vorübergehend in einen  $sp^3$ -hybridisierten Zustand übergeht. Anschließend überträgt der Stickstoff ein Proton auf die benachbarte Hydroxygruppe unter Ausbildung eines Oxonium-Ions (Abb. 2.20: II), das im letzten Schritt in Form von Wasser aus dem Molekül eliminiert wird. In dem dabei entstehenden *N,N'*-1,2-

Phenylbisbutyramid (Abb. 2.20: **III**) liegt der Carbonylkohlenstoff wieder in seiner ursprünglichen  $sp^2$ -Hybridisierung vor.<sup>(93, 94)</sup>

Die Umwandlung von *N,N*-1,2-Phenylbisbutyramid in 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol erfolgt in der von M.A. Phillips beschriebenen Methode unter Zusatz einer wässrigen mineralischen Säure. In der vorliegenden Arbeit wurde der Ringschluss davon abweichend ausschließlich durch starkes Erhitzen (Pyrolyse) erwirkt. Die folgenden Mechanismen für den Ringschluss werden in der Literatur diskutiert:

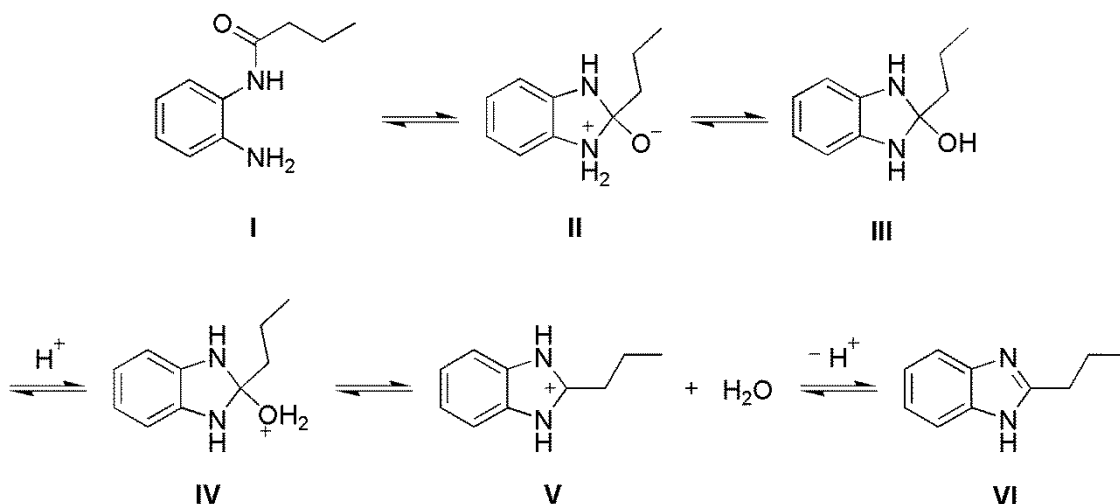
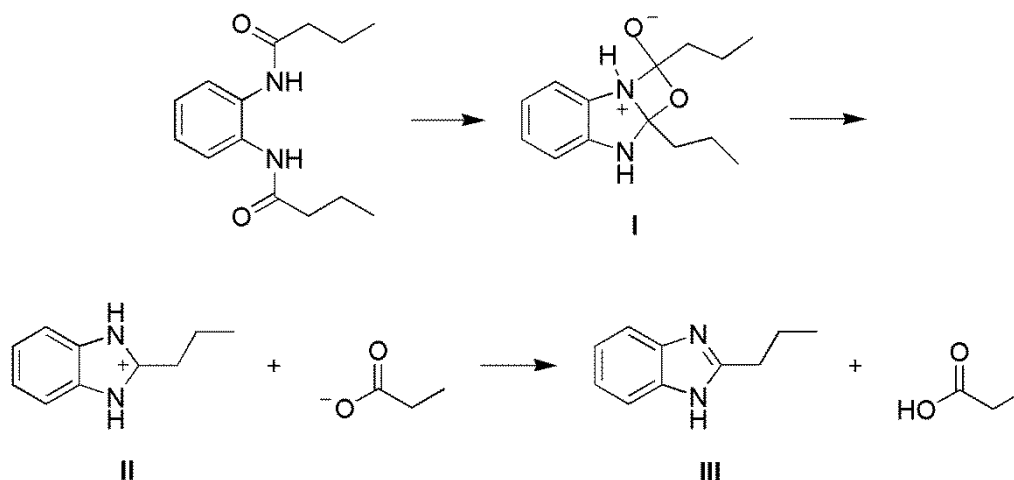


Abb. 2.21 Variante A für den Ringschluss zum 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol

Der Ringschluss nach Variante A (Abb. 2.21) verläuft über einen intramolekularen Additions-Eliminierungs-Mechanismus. Hierbei wird berücksichtigt, dass die vorhergehende Acylierung reversibel verläuft und somit der Ringschluss über die monoacylierte Zwischenstufe 2-Butyramidoanilin (Abb. 2.21: **I**) vonstattengeht. Der Stickstoff des Amins addiert zu Beginn der Reaktion nukleophil an den Carbonylkohlenstoff des Amids, wobei intermediär die charakteristische tetraedische Zwischenstufe (Abb. 2.21: **II**) entsteht. Anschließend wird ein Proton von dem Ammoniumstickstoff auf den benachbarten Sauerstoff übertragen. Dabei entsteht das Halbaminal 2-Propyl-2,3-dihydro-1*H*-benz[*d*]imidazol-2-ol (Abb. 2.21: **III**), das schnell unter Ausbildung eines Oxonium-Ions (Abb. 2.21: **IV**) an der Hydroxygruppe protoniert und anschließend direkt zum 2-Propyl-1,2,3-trihydro-benz[*d*]imidazolkation (Abb. 2.21: **V**) dehydratisiert wird. Im letzten Schritt erfolgt eine Deprotonierung und es entsteht 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol (Abb. 2.21: **VI**).

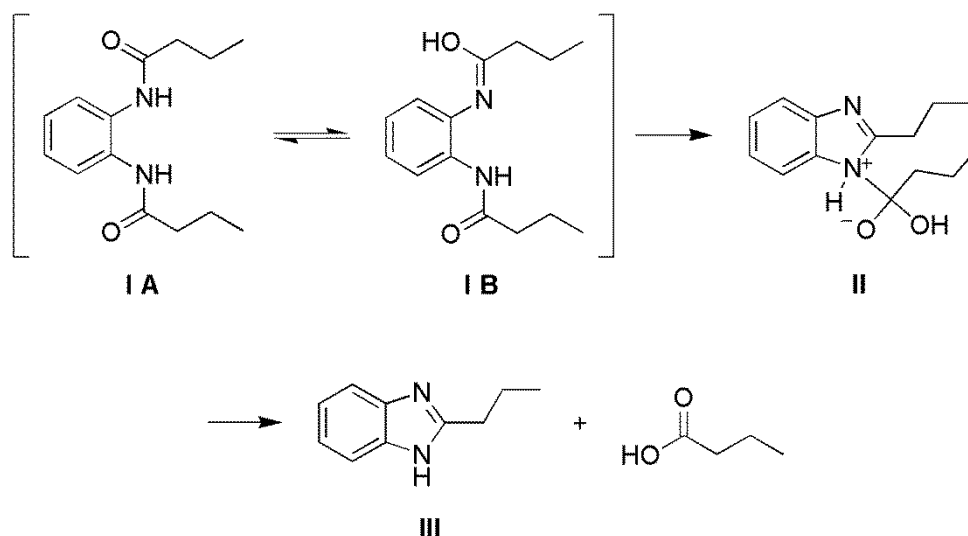
Die Benzimidazol-Synthese wurde in der vorliegenden Arbeit mit einem Überschuss an Buttersäure durchgeführt, so dass ein Ringschluss über die monoacylierte Zwischenstufe (Abb. 2.21) eher unwahrscheinlich ist. Im Unterschied zu Variante A verläuft der Ringschluss zum 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol bei den Varianten B, C und D über die zweifach acylierte Zwischenstufe und geht mit der Eliminierung der korrespondierenden Carbonsäure einher.

Die Varianten B und C basieren auf Untersuchungen zur Synthese von 2-substituierten Benzimidazolderivaten im Massenspektrometer<sup>(99)</sup> und sollten aus diesem Grund lediglich als eine theoretische Möglichkeit für den Reaktionsverlauf angesehen werden.



**Abb. 2.22** Variante B für den Ringschluss zum 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol<sup>(99)</sup>

Der Ringschluss nach Variante B (Abb. 2.22) verläuft über eine zweifache intramolekulare Addition. Der Stickstoff des ersten Amids verbindet sich dabei mit dem Carbonylkohlenstoff des zweiten Amids und gleichzeitig addiert der Sauerstoff dieser Carbonylgruppe an den Carbonylkohlenstoff des ersten Amids, wobei intermediär ein Oxazacyclobutan bzw. Oxazetidin (Abb. 2.22: I) gebildet wird. Im anschließenden ersten Eliminierungsschritt entstehen aus dieser Zwischenstufe zunächst das 2-Propyl-1,2,3-trihydrobenz[d]imidazoliumkation (Abb. 2.22: II) und Butyrat, die im zweiten Eliminierungsschritt unter Abspaltung eines Protons in 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol (Abb. 2.22: III) und Buttersäure umgewandelt werden.<sup>(99)</sup>



**Abb. 2.23** Variante C für den Ringschluss zum 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol<sup>(99)</sup>

Der Ringschluss nach Variante C (Abb. 2.23) erfolgt unter Berücksichtigung der Amid-Iminsäure-Tautomerie von *N,N'*-1,2-Phenylenbisbutyramid (Abb. 2.23: **I A** und **I B**). Dabei addiert der Stickstoff des Amids nukleophil an den Carbonylkohlenstoff der Iminsäure, deren Hydroxygruppe gleichzeitig auf den Carbonylkohlenstoff des Amids übertragen wird. Das dabei gebildete 1-(2-Propyl-1,1-dihydrobenz[*d*]imidazolium-1-yl)butyrat (Abb. 2.23: **II**) wird anschließend unter Abspaltung von Buttersäure in 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol (Abb. 2.23: **III**) umgewandelt.<sup>(99)</sup>

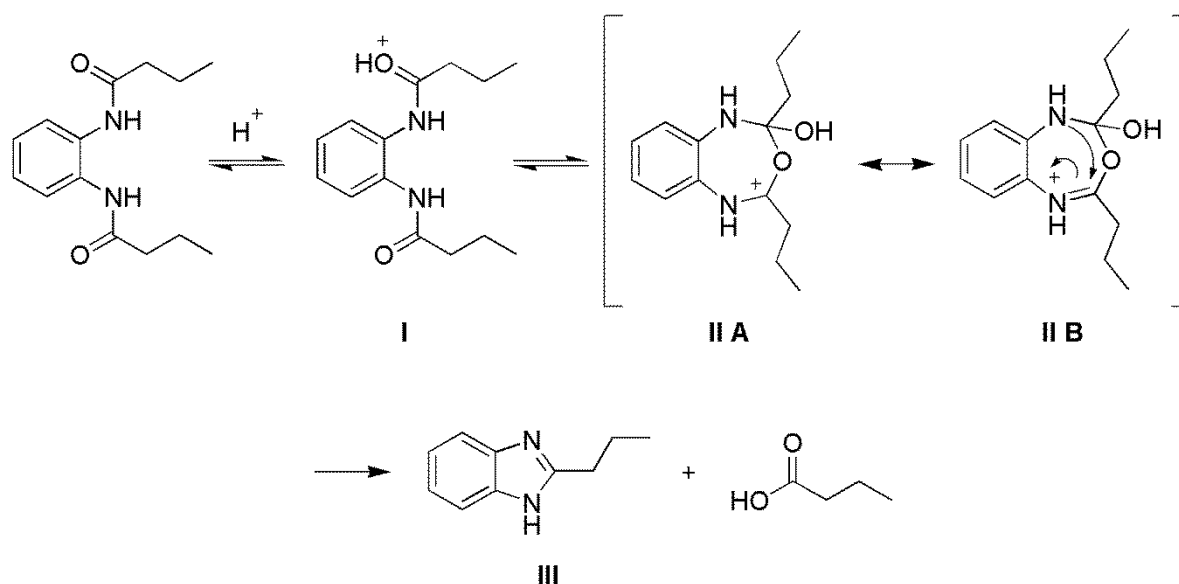
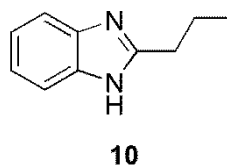


Abb. 2.24 Variante D für den Ringschluss zum 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol<sup>(100)</sup>

Der Ringschluss nach Variante D (Abb. 2.24) verläuft über einen heptacyclischen Übergangszustand. Nach der Protonierung eines der beiden Carbonylsauerstoffe und der daraus resultierenden Ausbildung eines Oxonium-Ions (Abb. 2.24: **I**) erfolgt der nukleophile Angriff am Carbonylkohlenstoff hier durch das Sauerstoffatom des benachbarten Amids. Dabei wird das mesomeriestabilisierte Carbenium-bzw. Iminium-Ion eines 1,2-Dihydrobenzo[3]oxa[1,6]diazepins (Abb. 2.24: **II A** und **II B**) gebildet. Nach einer anschließenden intramolekularen Umlagerung, bei der der Stickstoff in Position 1 nukleophil an den partiell positiv geladenen Kohlenstoff in Position 4 addiert, wird Buttersäure abgespalten und es entsteht 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol (Abb. 2.24: **III**).<sup>(100)</sup>

### 2.1.4.2 Synthetisierte Verbindung

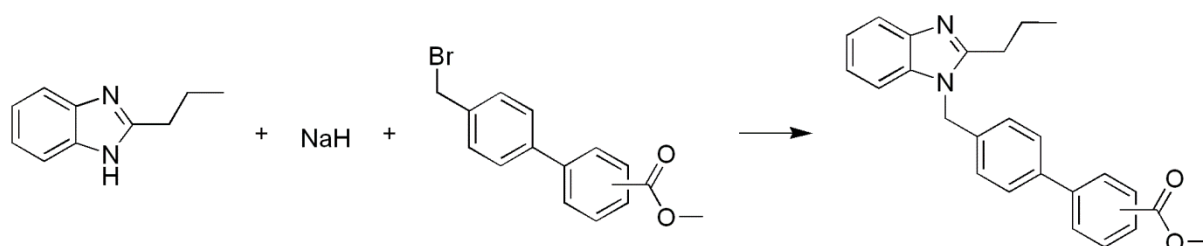


**Abb. 2.25** 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol (**10**)

Für das synthetisierte 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol lassen sich zwei tautomere Grenzstrukturen formulieren. Das planare Molekül weist aromatischen Charakter auf und besitzt zwei  $sp^2$ -hybridisierte Stickstoffe. Das freie Elektronenpaar des NH-Stickstoffs befindet sich in einem p-Orbital senkrecht zum Fünfringsystem und ist Bestandteil des aromatischen Elektronensextetts. Daher zeigt dieser Stickstoff nur sehr schwach basisches Verhalten, lässt sich aber mit Hilfe starker Basen leicht deprotonieren. Demgegenüber ist der Iminstickstoff, dessen freies Elektronenpaar sich in einem  $sp^2$ -Hybridorbital in der Ringebene befindet, in der Lage, ein Proton aufzunehmen. Aus diesem Grund findet bei NH-Benz[*d*]imidazolen ein schneller Austausch des Protons zwischen den beiden Stickstoffatomen statt, wobei sich das Gleichgewicht intermolekular einstellt. Dies kann sowohl durch Protonen-Transfer von einem Benz[*d*]imidazol-Molekül zum anderen als auch über ein protisches Lösungsmittel vermittelt werden. Aufgrund der gegensätzlichen Eigenschaften der beiden Stickstoffatome verhalten sich *N*-unsubstituierte Benz[*d*]imidazole amphoter. Am Stickstoff substituierte Derivate besitzen ausschließlich basischen Charakter und liegen aufgrund der möglichen Resonanzstabilisierung bei physiologischem pH-Wert in beträchtlichem Ausmaß in protonierter Form vor.<sup>(93, 101)</sup>

### 2.1.5 Darstellung der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (*N*-Alkylierung)

Die Synthese der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Abb. 2.26) erfolgte über die *N*(1)-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol mit dem jeweiligen 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester in DMF.<sup>(77, 102)</sup>



**Abb. 2.26** Synthese der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester [2-Propyl-1*H*-benzimidazol (1 mmol), NaH 60 %ig (2 mmol), Ester (1.1 mmol), Eiskühlung bzw. RT]<sup>(102)</sup>

### 2.1.5.1 Theorie und Mechanismus der *N*(1)-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol

Die *N*(1)-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol ist eine Reaktion zweiter Ordnung und verläuft über einen konzertierten  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus (Abb. 2.27).<sup>(93)</sup>

2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol wird zunächst mit Hilfe der Base Natriumhydrid quantitativ zum mesomeriestabilisierten 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-Ion (Abb. 2.27: **I A** und **I B**) deprotoniert, woraufhin die direkte Anlagerung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-Ion und zeitgleich der Austritt von Bromid erfolgt. Dabei wird ein Übergangszustand (Abb. 2.27: **II**) durchlaufen, bei dem sowohl der Stickstoff als auch Brom negative Partialladungen tragen. Aus diesem Übergangszustand entsteht anschließend der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Abb. 2.27: **III**). Die Verwendung des polaren aprotischen Lösungsmittels DMF begünstigt den Reaktionsverlauf durch zwei unabhängige Effekte. Zum einen kann 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-Ion in DMF nicht durch Wasserstoffbrückenbindungen solvatisiert werden und zum anderen wird aufgrund der hohen Dielektrizitätskonstante von DMF die Ausbildung des Ionenpaares 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-Ion /  $\text{Na}^+$  reduziert, so dass insgesamt mehr „freies“ Nukleophil für die Reaktion zur Verfügung steht.<sup>(93)</sup>

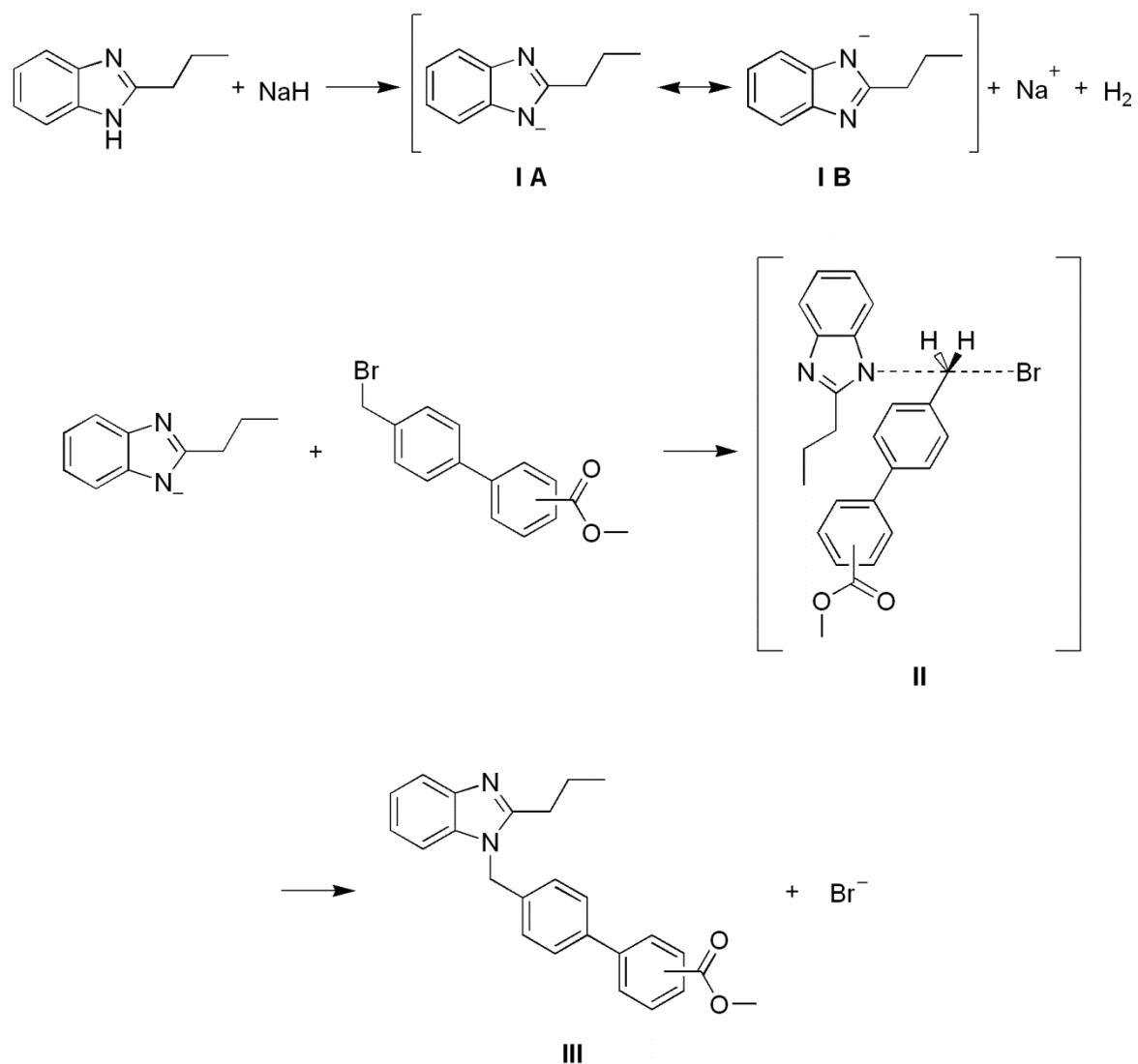


Abb. 2.27 Mechanismus für die *N*(1)-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol<sup>(93)</sup>

### 2.1.5.2 Synthetisierte Verbindungen

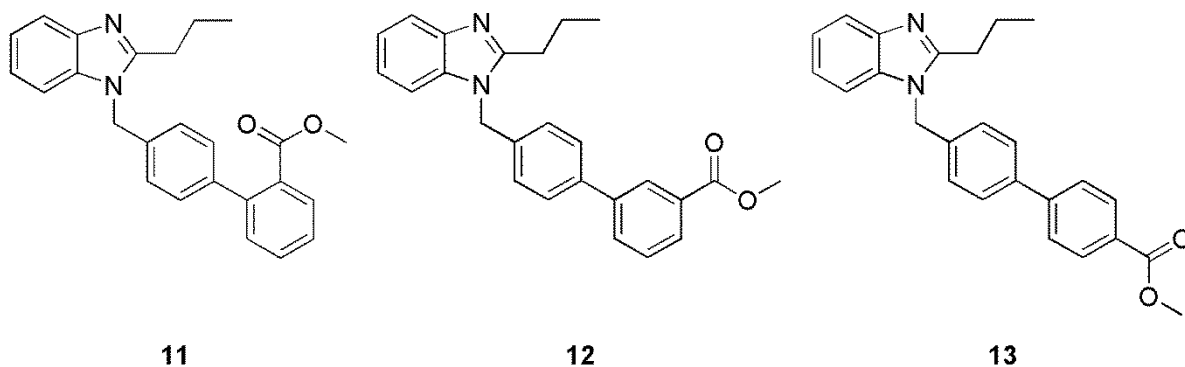
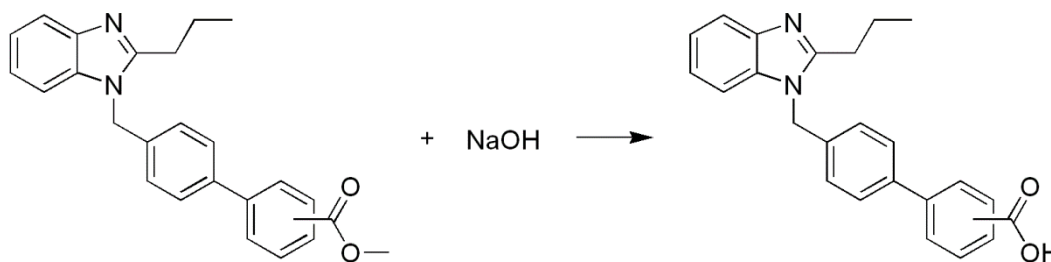


Abb. 2.28 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (**11**), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (**12**), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (**13**)

Die *N*-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol mit den verschiedenen 4'-Brommethyl-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylestern zu den entsprechenden 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylesterderivaten verlief in vergleichbarem Ausmaß, woran man erkennen kann, dass bei der *N*-Alkylierung die Position des Carbonsäuremethylesters am Biphenylsystem keinen Einfluss auf den Reaktionsverlauf ausübt.

### 2.1.6 Darstellung der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuren (Esterhydrolyse)

Die Synthese der verschiedenen 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuren erfolgte über die basenkatalysierte Hydrolyse der entsprechenden 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Abb. 2.29).<sup>(91)</sup>



**Abb. 2.29** Hydrolyse der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester (Ester (1 mmol), NaOH (2 mmol), Methanol (q.s.),  $\Delta T$  12h)

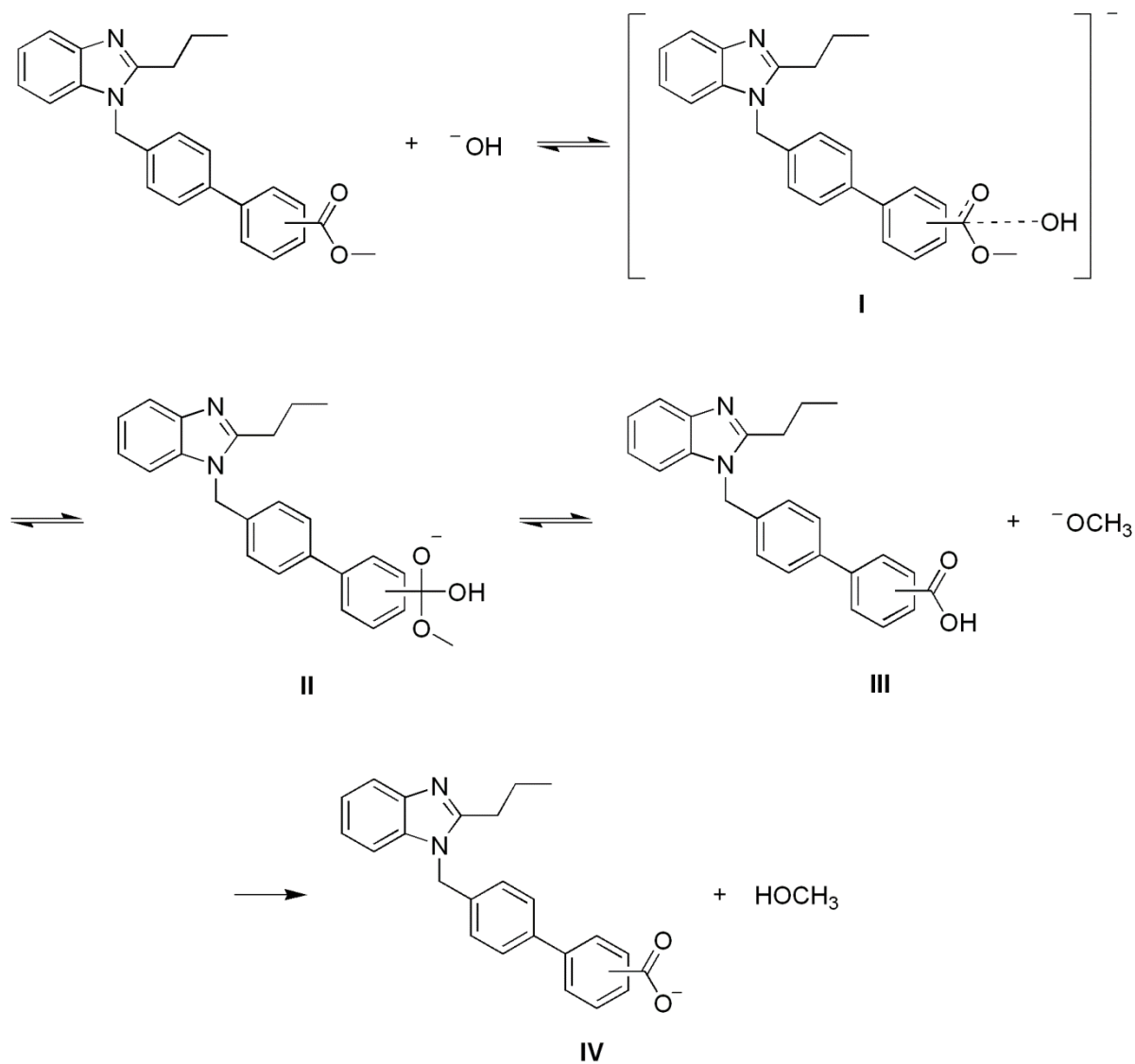
#### 2.1.6.1 Theorie und Mechanismus der Esterhydrolyse

Die basenkatalysierte Hydrolyse der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester ist eine Reaktion zweiter Ordnung und verläuft über einen einfachen Additions-Eliminierungs-Mechanismus (Abb. 2.30).<sup>(93)</sup>

Der Carbonylkohlenstoff des Esters weist einen partiell positiven Charakter auf, der die Anlagerung eines nukleophilen Hydroxid-Ions ermöglicht (Abb. 2.30: I). Im geschwindigkeitsbestimmenden Assoziationsschritt entsteht wieder das für nukleophile Additionsreaktionen charakteristische tetraedrische Zwischenprodukt (Abb. 2.30: II), bei dem der zuvor  $sp^2$ -hybridisierte Carbonylkohlenstoff vorübergehend in einen  $sp^3$ -hybridisierten Zustand übergeht. Aus dieser Zwischenstufe wird anschließend Methanolat eliminiert, das als stärkere Base im letzten, irreversiblen Schritt der intermediär gebildeten Carbonsäure (Abb. 2.30: III) ein Proton entzieht. Aus diesem Grund liegt bei der Esterhydrolyse das Reaktionsgleichgewicht auf der Seite der Produkte Alkohol und

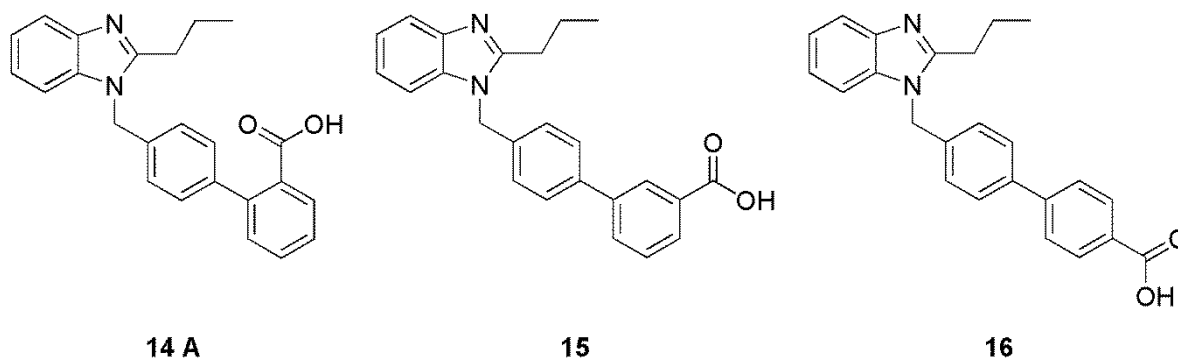


Carboxylat-Ion (Abb. 2.30: **IV**). Durch entsprechende Aufarbeitung im Säuren kann anschließend die Carbonsäure isoliert werden.<sup>(93)</sup>



**Abb. 2.30** Mechanismus für die basenkatalysierte Hydrolyse der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester<sup>(93)</sup>

## 2.1.6.2 Synthetisierte Verbindungen



**Abb. 2.31** 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**14 A**), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-3-carbonsäure (**15**), 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-4-carbonsäure (**16**)

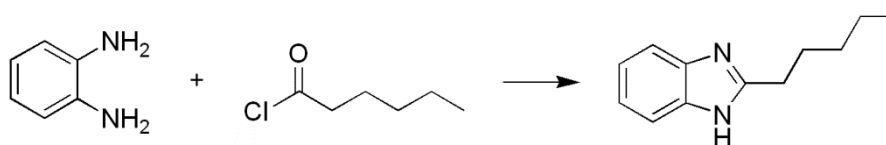
Wie bei der Synthese der Ester spielen Substituenteneffekte auch bei der Esterhydrolyse eine bedeutende Rolle. Aufgrund der sterischen Hinderung durch Substituenten in ortho-Stellung zum Ester ist die Annäherung des Hydroxid-Ions (Abb. 2.30: **I**) und damit die Ausbildung des tetraedrischen Zwischenzustandes (Abb. 2.30: **II**) erschwert. Substituenten in meta- bzw. para-Stellung zum Ester sind dagegen weiter vom Reaktionszentrum entfernt und üben daher keine sterischen Hinderungseffekte aus. In diesem Fall sind mesomere und induktive Effekte von Bedeutung. Arylsubstituenten mit einem Minus-I-Effekt in meta-Position erleichtern aufgrund ihrer elektronenziehenden induktiven Eigenschaft den Angriff des Hydroxid-Ions (Abb. 2.30: **I**) und stabilisieren den Übergangszustand (Abb. 2.30: **II**). Bei einem Arylsubstituenten in para-Position überwiegt der Einfluss des elektronenliefernden Plus-M-Effektes, der aufgrund der dadurch verringerten Reaktivität der Carbonylgruppe die Hydrolysegeschwindigkeit im Vergleich zum unsubstituierten Ester herabsetzt.<sup>(94)</sup>

Die Hydrolyse der meta- bzw. para-substituierten 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester verlief ungeachtet des großen Substituenten nahezu quantitativ, was auf die lange Reaktionszeit zurückzuführen ist. Um den tatsächlichen Einfluss des Substituenten für diese beiden Verbindungen zu bestimmen, müsste die Synthese mit verkürzter Reaktionszeit durchgeführt werden. In Korrelation zu den sterischen Substituenteneffekten konnte unter gleichen Reaktionsbedingungen bei der Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure im Vergleich zu den entsprechenden meta- bzw. para-substituierten Verbindungen eine geringere Ausbeute erzielt werden.

## 2.2 Synthese der 4'-[(2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuren mit Pentyl-, Hexyl- bzw. Heptyl-Kette in Position 2 des Benz[d]imidazols

### 2.2.1 Darstellung der 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazolderivate

Die Synthese der 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazolderivate mit Pentyl-, Hexyl- bzw. Heptyl-Kette in Position 2 des Benz[d]imidazols erfolgte nach einer modifizierten Methode der in Kapitel 2.1.4 dargestellten Phillips-Benzimidazol-Synthese (Abb. 2.32).

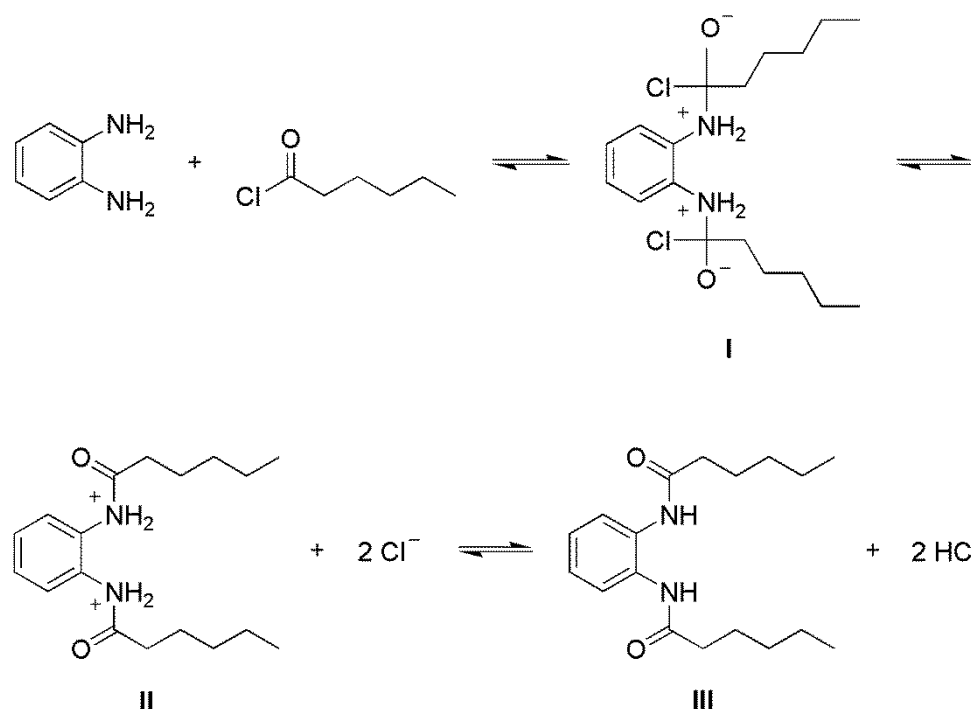


**Abb. 2.32** Synthese der 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazolderivate [1,2-Phenyldiamin (1 mmol), Säurechlorid (2 mmol)  $\Delta$ T 3h]

#### 2.2.1.1 Theorie und Mechanismus der 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol-Synthese

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese der 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazolderivate mit Pentyl-, Hexyl- bzw. Heptyl-Kette in Position 2 des Benz[d]imidazols (Abb. 2.33) verläuft analog zu der in Kapitel 2.1.4 beschriebenen Synthese von 2-Propyl-1H-benz[d]imidazol.

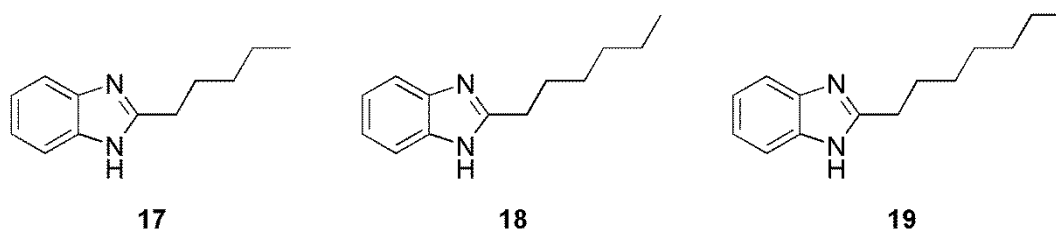
In dieser Reaktion erfolgt die Acylierung von 1,2-Phenyldiamin in Abweichung von dem in Kapitel 2.1.4 dargestellten Reaktionsverlauf nicht mit der freien Säure sondern mit dem jeweiligen Säurehalogenid (Hexanoyl-, Heptanoyl- bzw. Octanoylchlorid). Dabei entstehen als Produkte aus der tetraedrischen Zwischenstufe (Abb. 2.33: I) durch Abspaltung von Chlorid (Abb. 2.33: II) und anschließende Deprotonierung das entsprechende *N,N*-1,2-Phylenbisamid (Abb. 2.33: III) und Chlorwasserstoff.<sup>(93, 94)</sup>



**Abb. 2.33** Mechanismus für die zweifache Acylierung von 1,2-Phenyldiamin zum *N,N'*-1,2-Phenylenbishexanoylamid (II)<sup>(93, 94)</sup>

Für den anschließenden Ringschluss zum entsprechenden *2-Alkyl-1H*-benz[d]imidazol bestehen wiederum die in Kapitel 2.1.4 vorgestellten vier möglichen Reaktionsmechanismen.

### 2.2.1.2 Synthetisierte Verbindungen



**Abb. 2.34** 2-Pentyl-1*H*-benz[d]imidazol (**17**), 2-Hexyl-1*H*-benz[d]imidazol (**18**) und 2-Heptyl-1*H*-benz[d]imidazol (**19**)

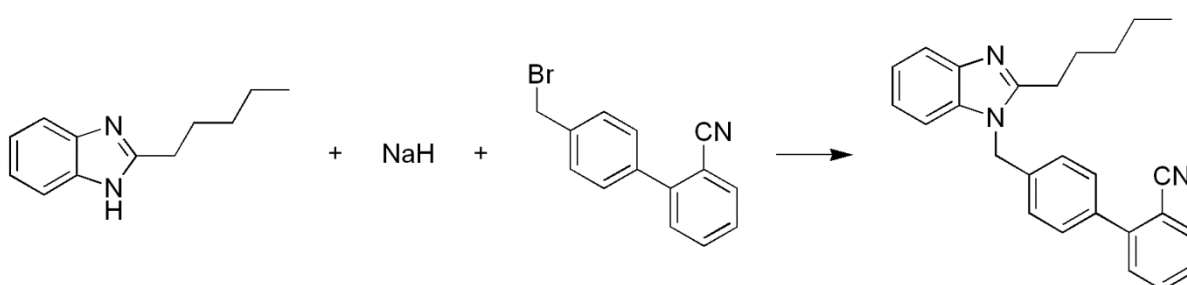
Die synthetisierten *2-Alkyl-1H*-benz[d]imidazole-derivate haben vergleichbare Eigenschaften wie das in Kapitel 2.1.4 charakterisierte 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol. Der an dieser Stelle beschriebene Protonen-Transfer hingegen geht aufgrund der mit zunehmender Kettenlänge verbundenen sterischen Hinderung dementsprechend langsamer vonstatten.

Aufgrund der im Vergleich zu Carbonsäuren größeren Reaktivität von Carbonsäurehalogeniden war bei der Synthese der *2-Alkyl-1H*-benz[d]imidazole-derivate eine größere Ausbeute zu erwarten als bei der zuvor beschriebenen Synthese von 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol. Es konnte jedoch mit zunehmender Kettenlänge eine geringere Ausbeute

erzielt werden, die sich auf eine mit der Alkylkettenlänge korrelierende sterische Hinderung sowohl bei der Acylierung als auch bei dem anschließenden Ringschluss zurückführen lässt.

## 2.2.2 Darstellung der 4'-[(2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile (*N*-Alkylierung)

Die Synthese der 4'-[(2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile erfolgte über die *N*(1)-Alkylierung der verschiedenen 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazole mit 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril in DMF (Abb. 2.35).<sup>(77, 102)</sup>

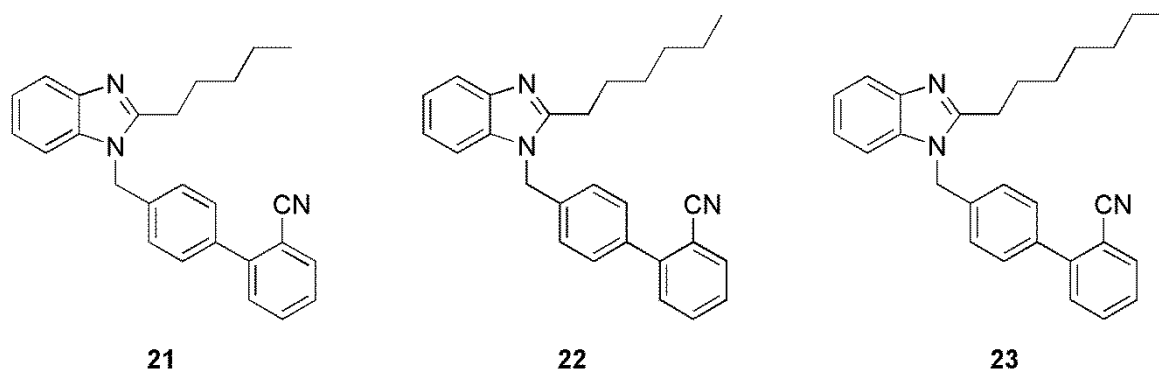


**Abb. 2.35** Synthese der 4'-[(2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile [2-Alkyl-1H-benzimidazol (1 mmol), NaH 60 %ig (2 mmol), Nitril (1.1 mmol), Eiskühlung bzw. RT]<sup>(102)</sup>

### 2.2.2.1 Theorie und Mechanismus der *N*(1)-Alkylierung von 2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese der verschiedenen 4'-[(2-Alkyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile verläuft analog zu der in Kapitel 2.1.5 beschriebenen Synthese der 4'-[(2-Propyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester.

### 2.2.2.2 Synthetisierte Verbindungen



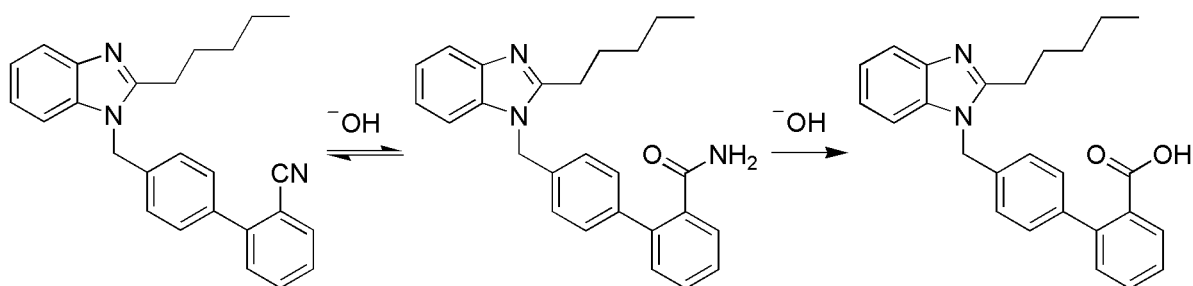
**Abb. 2.36** 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**21**), 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**22**), 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**23**)

Desweiteren wurde über diesen Syntheseweg 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**20**) dargestellt.

Bei der Synthese der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile (Abb. 2.36) wurden für die Verbindungen mit Propyl- bzw. Pentyl-Kette in Position 2 des Benz[*d*]imidazols unter gleichen Reaktionsbedingungen vergleichbare Ausbeuten erzielt. Für die Verbindungen mit Hexyl- und Heptyl-Kette in Position 2 des Benz[*d*]imidazols konnten dagegen nur geringere Ausbeuten erreicht werden, was auf eine sterische Hinderung durch die längere Alkylkette und damit verbunden eine verminderte Annäherungsfähigkeit während des Übergangszustandes (vgl. Abb. 2.27: II) zurückgeführt werden kann. Der maximale Effekt der sterischen Hinderung wird vermutlich bereits bei der Hexylkette erreicht, weshalb die erzielten Ausbeuten der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile mit Hexyl- bzw. Heptyl-Kette in Position 2 des Benz[*d*]imidazols wiederum vergleichbar sind.

### 2.2.3 Darstellung der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamide und -carbonsäuren (Nitrilhydrolyse)

Die Synthese der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamide und der entsprechenden Carbonsäuren erfolgte über die basenkatalysierte Hydrolyse der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile (Abb. 2.37).

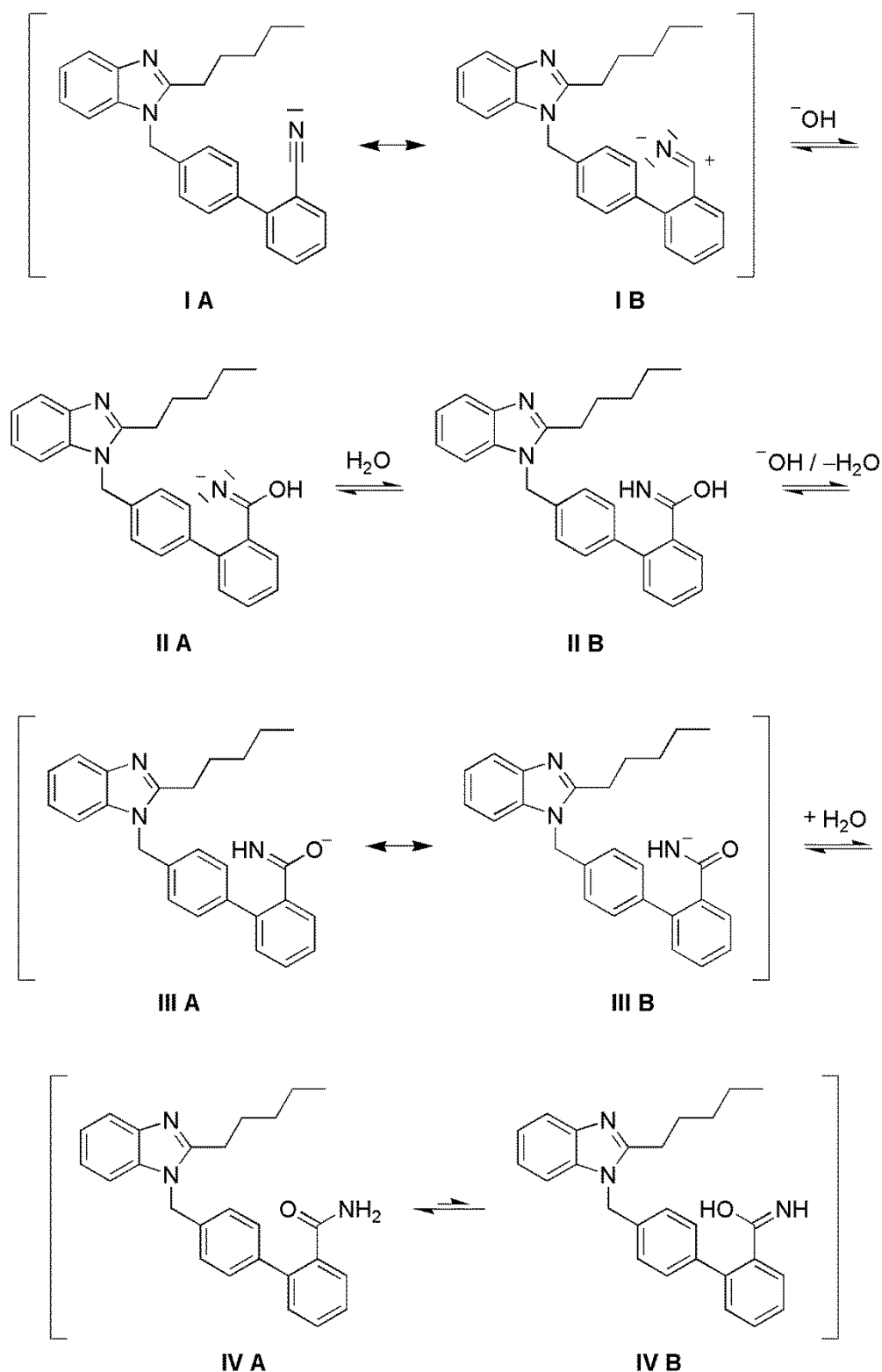


**Abb. 2.37** Hydrolyse der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitrile zum Amid und zur Carbonsäure [Nitril (1 mmol), KOH als 30 %ige Lösung (30 mmol), Methanol (q.s.),  $\Delta T$  14d]

### 2.2.3.1 Theorie und Mechanismus der Nitrilhydrolyse

Die basenkatalysierte Hydrolyse der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonitrile verläuft über einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus in zwei Stufen erst zu den Amiden und anschließend zu den entsprechenden Carbonsäuren.<sup>(93)</sup>

Anhand der mesomeriestabilisierten Grenzstrukturen (Abb. 2.38: **I A** und **I B**) kann man den partiell positiven Charakter des Nitrilkohlenstoffs erkennen, der den nukleophilen Angriff des Hydroxid-Ions im ersten Schritt dieser Reaktion ermöglicht. Das dabei gebildete Anion des Amid-Tautomers (Abb. 2.38: **II A**) wird unter den vorherrschenden Reaktionsbedingungen zunächst zum Iminol (Abb. 2.38: **II B**) protoniert und anschließend wird im basischen Milieu der Iminolsauerstoff leicht zum resonanzstabilisierten Amidat-Ion (Abb. 2.38: **III A** und **III B**) deprotoniert. Da der  $pK_a$ -Wert des Amids ( $pK_a \approx 15$ ) aufgrund der geringeren Elektronegativität des Amidstickstoffs größer ist als der  $pK_a$ -Wert der Carbonsäure ( $pK_a \approx 4-5$ ) wird im letzten Schritt der Amidat-Stickstoff unter Ausbildung des entsprechenden Amids protoniert.<sup>(93)</sup> Für die gebildeten Amide (Abb. 2.38: **IV A** und **IV B**) existieren aufgrund einer Amid-Iminol-Tautomerie zwei Grenzstrukturen, wobei das Gleichgewicht deutlich auf der Seite der Amid-Struktur liegt.<sup>(103, 104)</sup> Amide zählen zu den reaktionsträgsten Carbonsäurederivaten, so dass die weiterführende Hydrolyse zu den entsprechenden Carbonsäuren nur unter drastischen Bedingungen (langes Erhitzen in stark alkalischer Lösung) möglich ist.

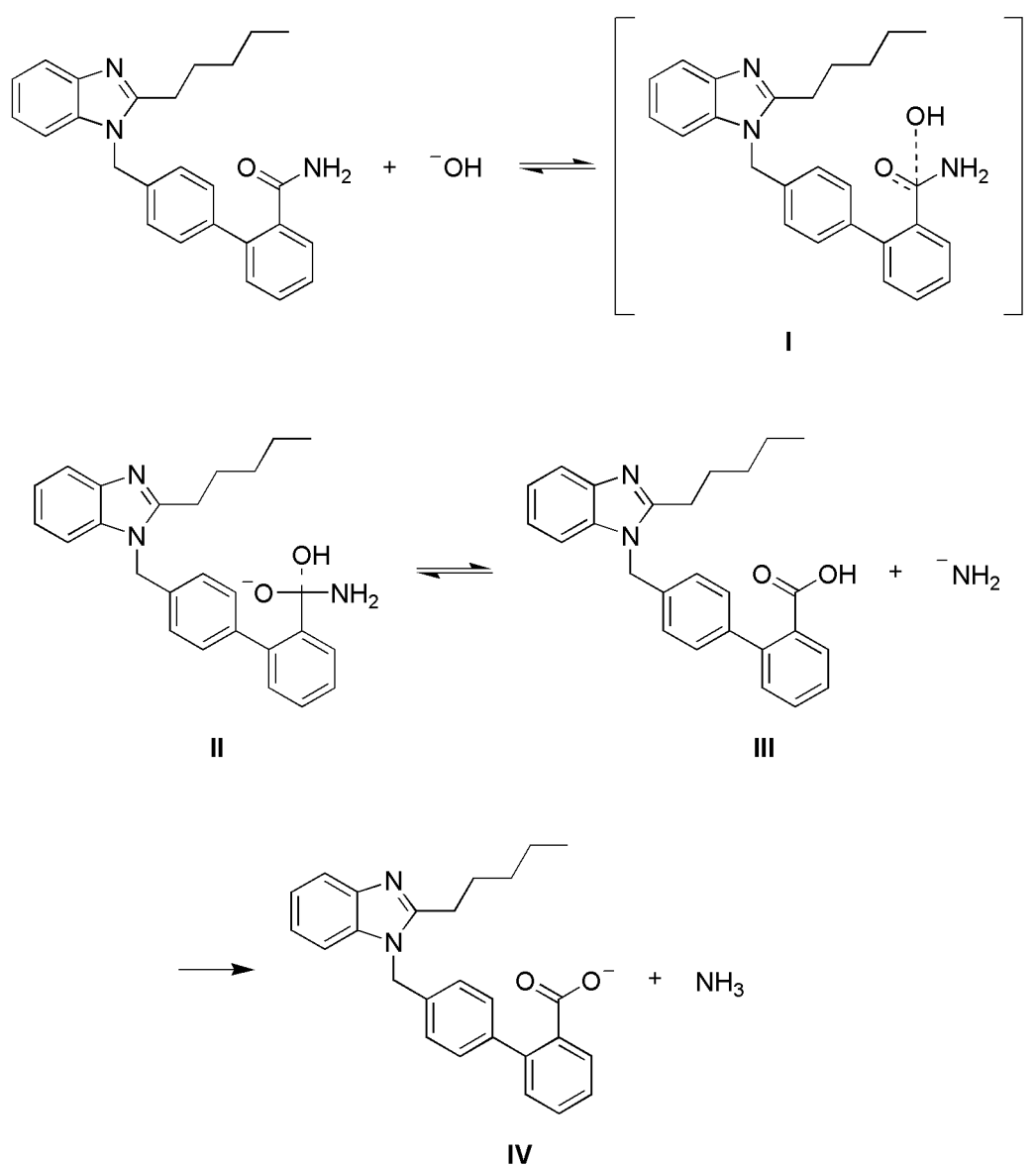


**Abb. 2.38** Mechanismus für die Hydrolyse von 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril zum 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid<sup>(93)</sup>

Der Reaktionsmechanismus für die Hydrolyse der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbamide zu den entsprechenden Carbonsäuren (Abb. 2.39) verläuft analog zu der in Kapitel 2.1.6 beschriebenen Esterhydrolyse. Die Deprotonierung der intermediär gebildeten Carbonsäure (Abb. 2.39: III) erfolgt hier durch das zuvor eliminierte

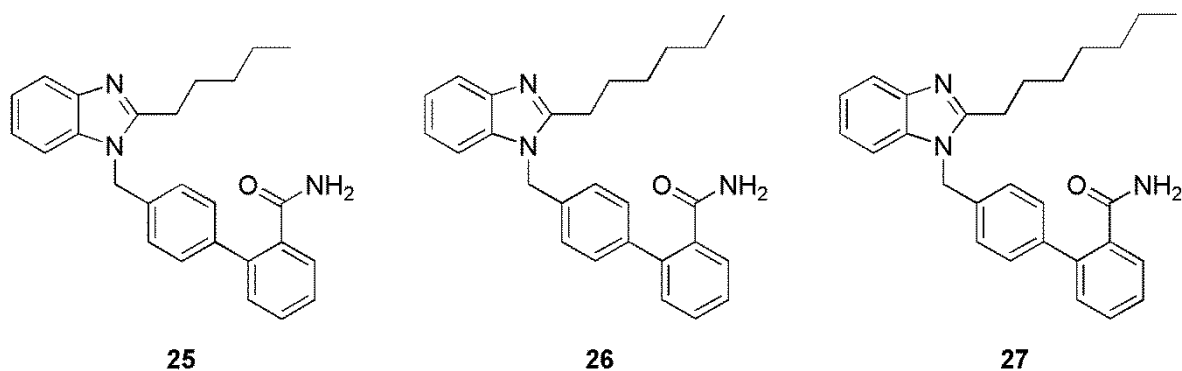


Amid-Ion, wobei als Produkte der Amidhydrolyse das jeweilige Carboxylat-Ion (Abb. 2.39: **IV**) und Ammoniak entstehen. Durch entsprechende Aufarbeitung im Säuren kann anschließend die Carbonsäure isoliert werden.<sup>(93, 94)</sup>

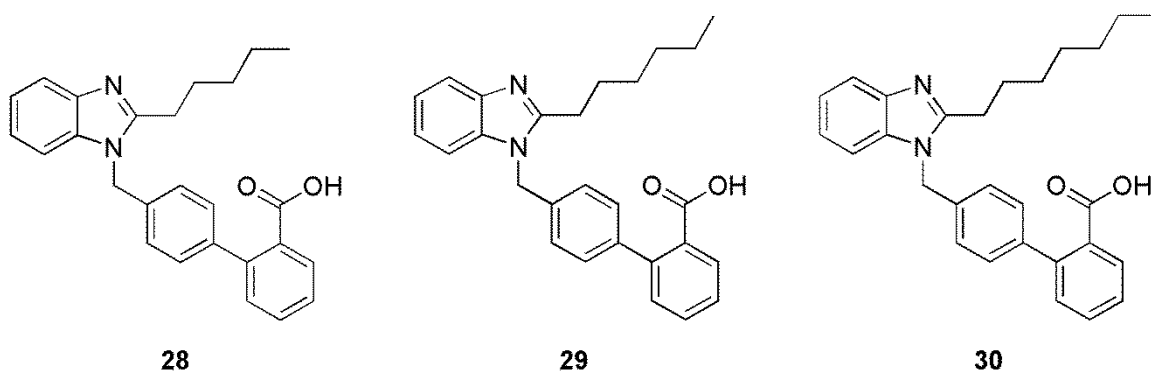


**Abb. 2.39** Mechanismus für die Hydrolyse von 4'-[2-Pentyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid zur 4'-[2-Pentyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure<sup>(93, 94)</sup>

## 2.2.3.2 Synthetisierte Verbindungen



**Abb. 2.40** 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**25**), 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**26**), 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**27**)



**Abb. 2.41** 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**28**), 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**29**), 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**30**)

Desweiteren wurden über diesen Syntheseweg 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**24**) und 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**14 B**) dargestellt.

Die basenkatalysierte Nitrilhydrolyse wird ebenfalls durch sterische Hinderungseffekte erheblich beeinflusst. Räumlich große Substituenten in ortho-Stellung zum Nitril erschweren die Annäherung des Hydroxid-Ions im ersten Reaktionsschritt (Abb. 2.38: II A, Abb. 2.39: I bzw. II). Zudem erhöhen Arylsubstituenten mit einem elektronenliefernden Plus-M-Effekt in ortho-Position die Elektronendichte am Nitrilkohlenstoff und verringern somit dessen Reaktivität für den nukleophilen Angriff des Hydroxid-Ions, so dass die Hydrolyse im Vergleich zum unsubstituierten Nitril langsamer vonstattengeht.

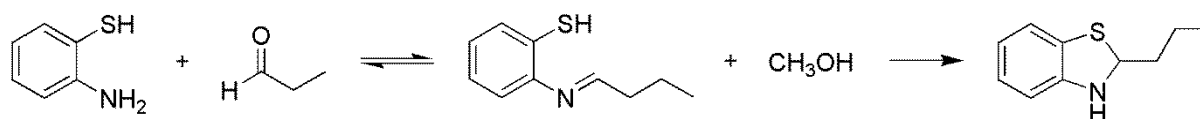
Aufgrund der vorliegenden mesomeren und sterischen Substituenteneffekte und der ohnehin großen Reaktionsträgheit von Nitrilen und Amiden konnten bei einer Reaktionszeit von 14

Tagen sowohl für die 4'-[(2-*Alky*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbamide als auch für die entsprechenden Carbonsäuren nur sehr geringe Ausbeuten erzielt werden.

## 2.3 Synthese der 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure

### 2.3.1 Darstellung von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol

Die Synthese von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol erfolgte über die Kondensation von Butyraldehyd mit 2-Aminothiophenol und die anschließende Cyclisierung zum entsprechend 2-substituierten 2,3-Dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazolderivat (Abb. 2.42).<sup>(105)</sup>



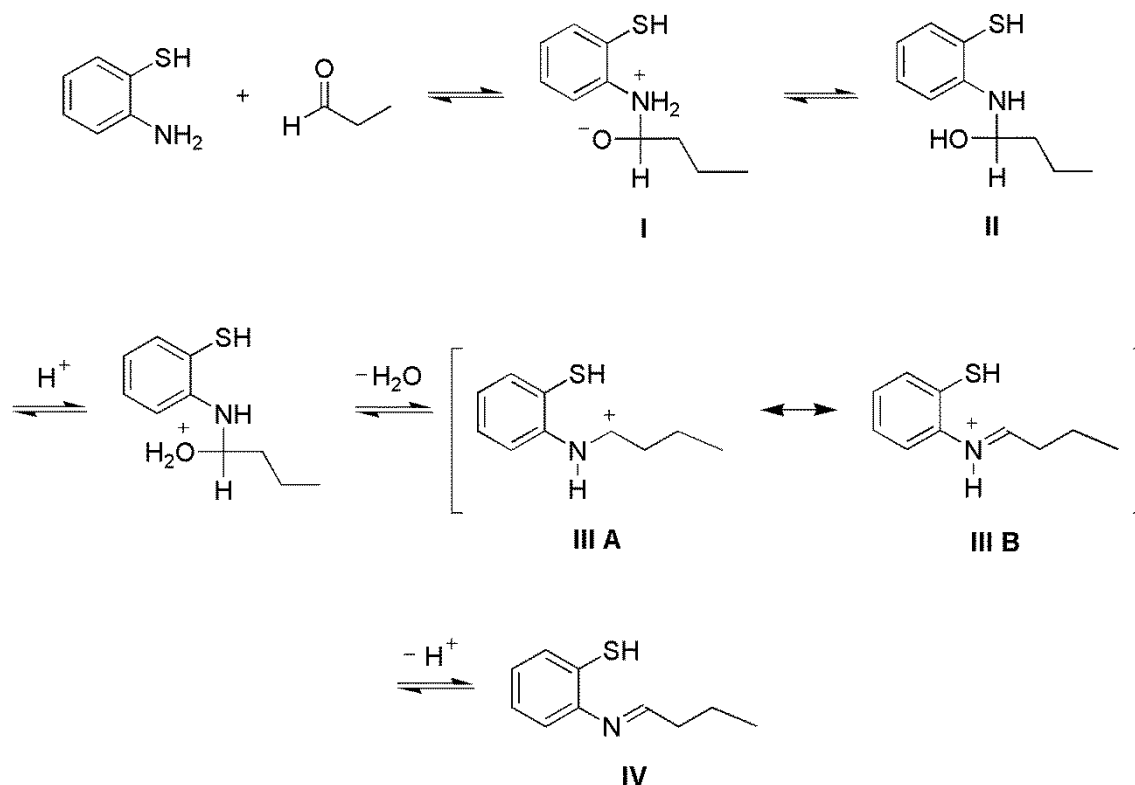
**Abb. 2.42** Synthese von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol [Thioanilin (1 mmol), Butyraldehyd (1 mmol), RT 0.5h, Methanol abs. (q.s), RT 0.5h]

#### 2.3.1.1 Theorie und Mechanismus der Benzo[*d*]thiazol-Synthese

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol kann formal in zwei Teilschritte gegliedert werden. Im ersten Reaktionsschritt kondensieren 2-Aminothiophenol und Butyraldehyd über einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus unter Ausbildung eines Imins, das im zweiten Reaktionsschritt durch einen intramolekularen Ringschluss in das entsprechende 2-substituierte 2,3-Dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazolderivat umgewandelt wird.<sup>(93)</sup>

Der Reaktionsmechanismus für den ersten Teilschritt der 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-Synthese verläuft analog zu den in Kapitel 2.1.4 bzw. 2.2.1 dargestellten Synthesen und beginnt mit der nukleophilen Addition des 2-Aminothiophenolstickstoffs an den Carbonylkohlenstoff des Butyraldehyds. Dabei entsteht die charakteristische tetraedische Zwischenstufe, bei der zunächst der Stickstoff eine positive und der Sauerstoff eine negative Ladung trägt (Abb. 2.43: I). Durch Übertragung eines Protons vom Stickstoff auf den Sauerstoff wird ein Halbaminol (Abb. 2.43: II) gebildet, das anschließend an der Hydroxygruppe protoniert und unter Ausbildung eines mesomeriestabilisierten Carbenium- bzw. Iminium-Ions (Abb. 2.43: III A und III B) dehydratisiert wird. Im letzten Schritt erfolgt

eine weitere Deprotonierung und damit einhergehend die Ausbildung einer Kohlenstoff-Stickstoff-Doppelbindung, wobei *N*-Butyliden-2-aminothiophenol entsteht (Abb. 2.43: **IV**).<sup>(93)</sup>



**Abb. 2.43** Kondensation von 2-Aminothiophenol und Butyraldehyd zum *N*-Butyliden-2-aminothiophenol (IV)<sup>(93)</sup>

Im zweiten Teilschritt der 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-Synthese wird aus *N*-Butyliden-2-aminothiophenol durch einen intramolekularen Ringschluss das entsprechende 2-substituierte 2,3-Dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazolderivat gebildet. Thiole verhalten sich chemisch ähnlich wie ihre Sauerstoffanaloga und zeigen im Vergleich sogar eine stärkere Nucleophilie, die diese Reaktion begünstigt. Zunächst wird durch die Zugabe von Methanol der partiell positive Charakter des Iminkohlenstoffs verstärkt (Abb. 2.44: **I A** und **I B**) und infolgedessen die nukleophile Addition des Schwefels an diesen Kohlenstoff katalysiert, wobei intermediär das 2-Propyl-1,2,3-trihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-Ion (Abb. 2.44: **II**) entsteht. Aufgrund der vergleichsweise schwachen Wasserstoff-Schwefel-Bindung erfolgt im letzten Schritt die Übertragung des Protons auf das Methanolat-Ion, das in diesem Fall die stärkere Base ist, unter Ausbildung von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol (Abb. 2.44: **III**) und Methanol.<sup>(93, 106)</sup>

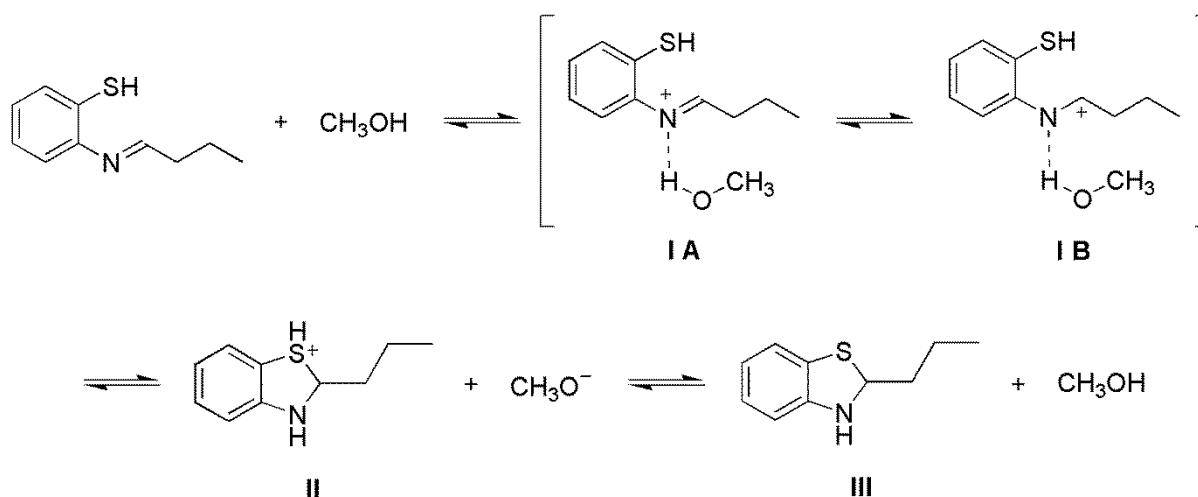


Abb. 2.44 Intramolekularer Ringschluss des *N*-Butyliden-2-aminothiophenols zum 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol<sup>(106)</sup>

### 2.3.1.2 Synthetisierte Verbindung

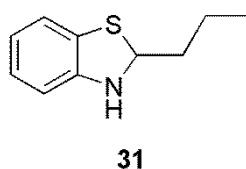


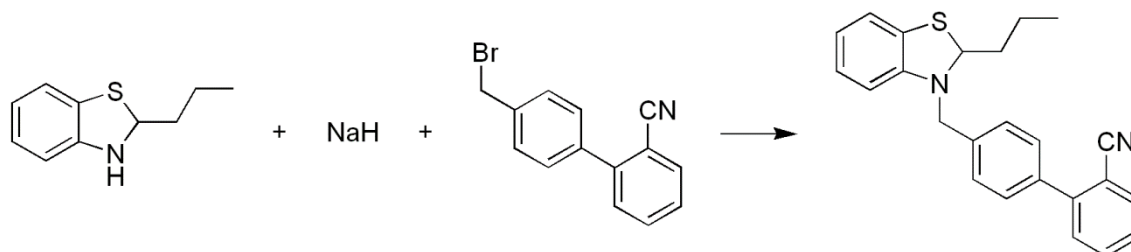
Abb. 2.45 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol (31)

Im Gegensatz zu 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol besitzt das synthetisierte 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol (Abb. 2.45) aufgrund der Hydrierung keinen aromatischen Charakter. Der Stickstoff befindet sich in einem  $sp^3$ -hybridisierten Zustand, so dass es sich hierbei um kein planares Molekül handelt und das freie Elektronenpaar am Stickstoff für eine Protonierung zur Verfügung steht. 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol lässt sich am Stickstoff mit Hilfe sehr starker Basen deprotonieren, die dabei gebildete Spezies ist jedoch im Unterschied zum deprotonierten 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazolderivat nicht resonanzstabilisiert. Aus diesem Grund ist die Acidität von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol geringer einzuschätzen als die des 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazols.

Die Synthese von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol verlief nahezu quantitativ. Im Vergleich zur Synthese von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol konnte eine viel größere Ausbeute erzielt werden, was sowohl auf die verschiedenen Ringschlussmechanismen als auch auf die im Vergleich zum Amin bzw. Amid größere Nucleophilie des Thiols zurückgeführt werden kann.

### 2.3.2 Darstellung von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (*N*-Alkylierung)

Die Synthese von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril erfolgte über die *N*-Alkylierung von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol mit 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril in DMF (Abb. 2.46).<sup>(77, 102)</sup>

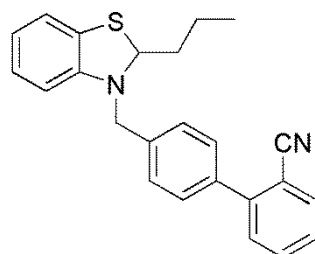


**Abb. 2.46** Synthese von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril [2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzothiazol (1 mmol), NaH 60 %ig (2 mmol), Nitril (1.1 mmol), Eiskühlung bzw. RT]<sup>(102)</sup>

#### 2.3.2.1 Theorie und Mechanismus der *N*-Alkylierung von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril verläuft analog zu der in Kapitel 2.1.5 beschriebenen Synthese der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-carbonsäuremethylester.

#### 2.3.2.2 Synthetisierte Verbindung



**32**

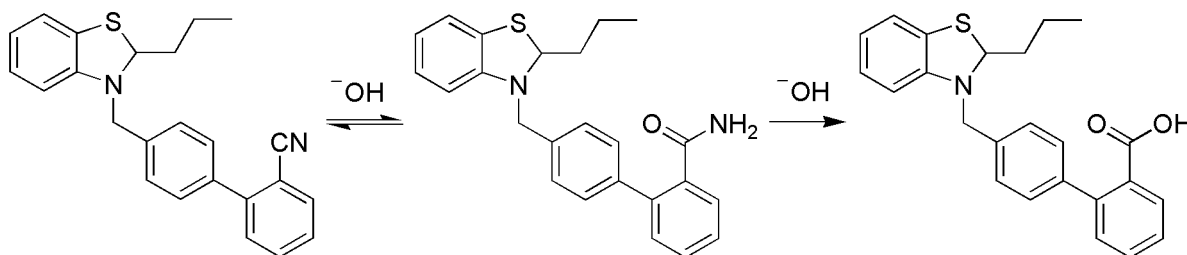
**Abb. 2.47** 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**32**)

Bei der Synthese von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril konnte im Vergleich zur Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril unter gleichen Reaktionsbedingungen nur eine

geringere Ausbeute erzielt werden. Eine mögliche Ursache hierfür könnte die fehlende Resonanzstabilisierung für das intermediär gebildete 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-Ion sein, weshalb die Deprotonierung in dieser Reaktion in geringerem Ausmaß erfolgt als die Deprotonierung von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol. Aus diesem Grund steht im Verlauf der Reaktion mit weniger „aktives Nukleophil“ für die Alkylierung zur Verfügung und folglich wird auch weniger Produkt gebildet.

### 2.3.3 Darstellung von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und -carbonsäure (Nitrilhydrolyse)

Die Synthese von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und der entsprechenden Carbonsäure erfolgte über die basenkatalysierte Hydrolyse von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (Abb. 2.48).<sup>(93)</sup>

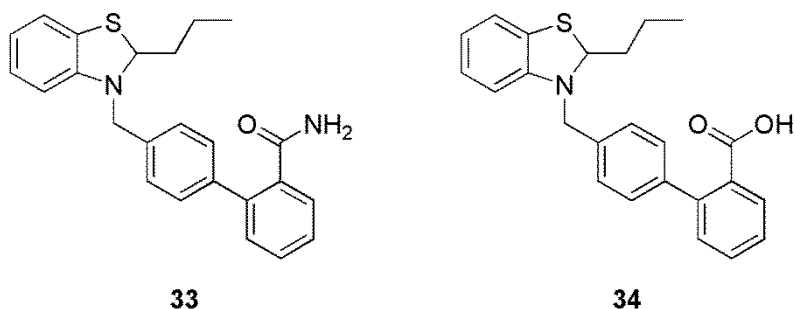


**Abb. 2.48** Hydrolyse von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril zum Amid und zur Carbonsäure [Nitril (1 mmol), KOH 30 %ige Lösung (30 mmol), Methanol (q.s.),  $\Delta T$  14d]

#### 2.3.3.1 Theorie und Mechanismus der Hydrolyse von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und -carbonsäure verläuft analog zu der in Kapitel 2.2.3 beschriebenen Synthese der 4'-[(2-*Alkyl*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamide und -carbonsäuren.

### 2.3.3.2 Synthetisierte Verbindungen



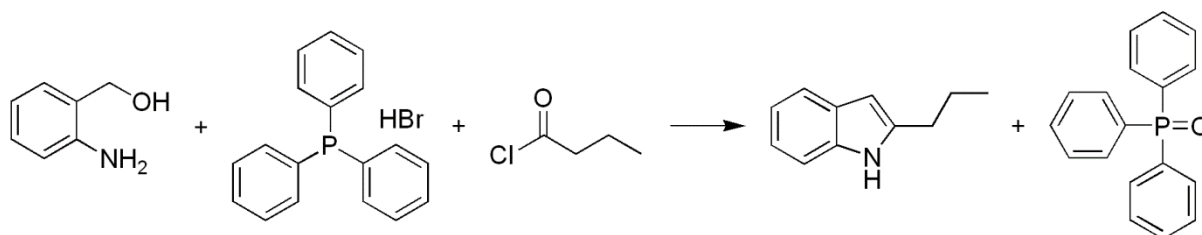
**Abb. 2.49** 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**33**), 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**34**)

Aufgrund der vorliegenden mesomeren und sterischen Substituenteneffekte (Kapitel 2.2.3) und der ohnehin großen Reaktionsträgheit von Nitrilen und Amiden konnten bei einer Reaktionszeit von 14 Tagen sowohl für 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid als auch für die entsprechende Carbonsäure nur sehr geringe Ausbeuten erzielt werden.

## 2.4 Synthese der 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure

### 2.4.1 Darstellung von 2-Propyl-1*H*-indol (Wittig-Reaktion)

Die Synthese von 2-Propyl-1*H*-indol (Abb. 2.50) erfolgte über einen intramolekularen Mechanismus der Wittig-Reaktion.<sup>(107, 108)</sup>

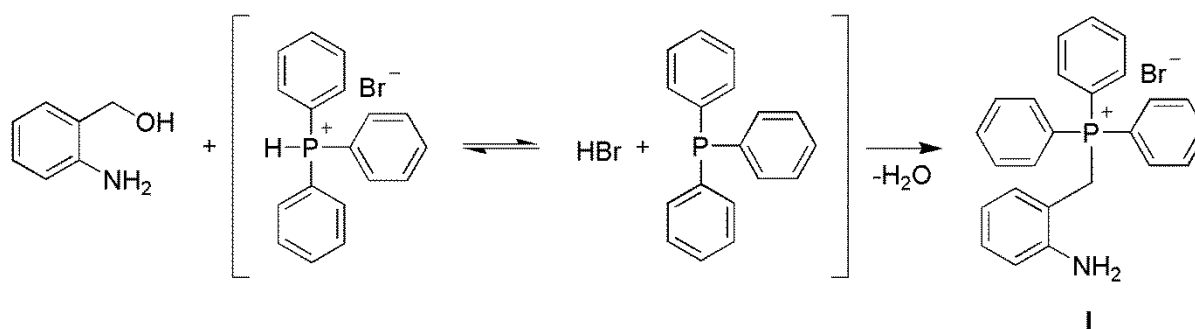


**Abb. 2.50** Synthese von 2-Propyl-1*H*-indol

#### 2.4.1.1 Theorie und Mechanismus der Wittig-Reaktion

Die Synthese von 2-Propyl-1*H*-indol verläuft über drei aufeinander folgende Teilreaktionen.

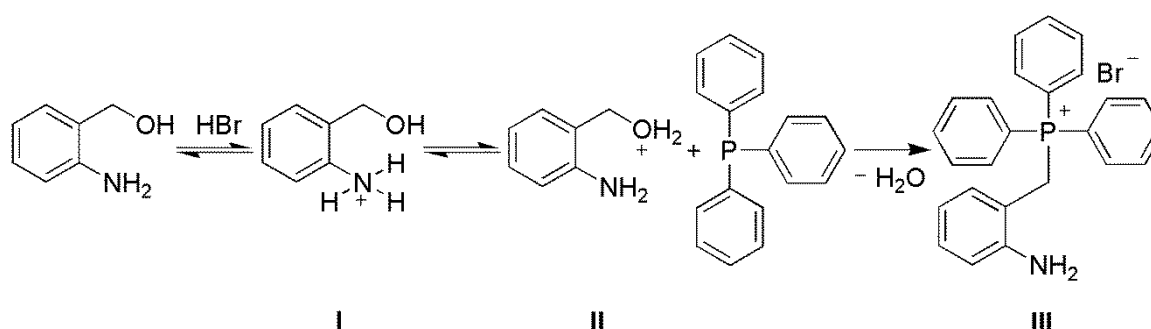




**Abb. 2.51** Reaktionsschritt 1 der 2-Propyl-1*H*-Indol-Synthese [2-Aminobenzylalkohol (1 mmol), TPP<sup>+</sup>Br<sup>-</sup> (1 mmol), Acetonitril (q.s.), ΔT 6h]

In der ersten Teilreaktion der 2-Propyl-1*H*-Indol-Synthese addiert Triphenylphosphoniumbromid (bzw. Triphenylphosphinhydrobromid) an den benzyliischen Kohlenstoff des 2-Aminobenzylalkohols und es entsteht 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid (Abb. 2.51: I). Diese Reaktion kann entweder direkt über die Interaktion von Triphenylphosphoniumbromid und 2-Aminobenzylalkohol vonstattengehen (Abb. 2.52) oder alternativ dazu über zwei Stufen verlaufen (Abb. 2.53 und Abb. 2.54).

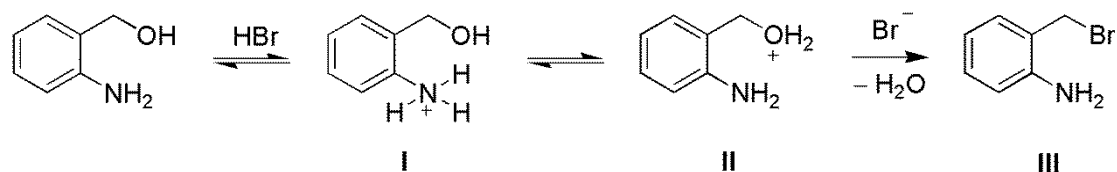
Bei der direkten Substitution der Hydroxygruppe des 2-Aminobenzylalkohols durch Triphenylphosphoniumbromid wird zunächst mit Hilfe des Bromwasserstoffs der Aminstickstoff unter Ausbildung eines quartären Ammonium-Ions (Abb. 2.52: I) protoniert. Anschließend wird über einen sechsgliedrigen Übergangszustand ein Proton auf die Hydroxygruppe übertragen und es entsteht ein Oxonium-Ion (Abb. 2.52: II). Im letzten Reaktionsschritt wird unter Ausbildung von 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid (Abb. 2.52: III) über einen konzertierten S<sub>N</sub>2-Mechanismus Wasser durch Triphenylphosphin ersetzt.



**Abb. 2.52** Direkte Substitution der Hydroxygruppe des 2-Aminobenzylalkohols durch Triphenylphosphoniumbromid

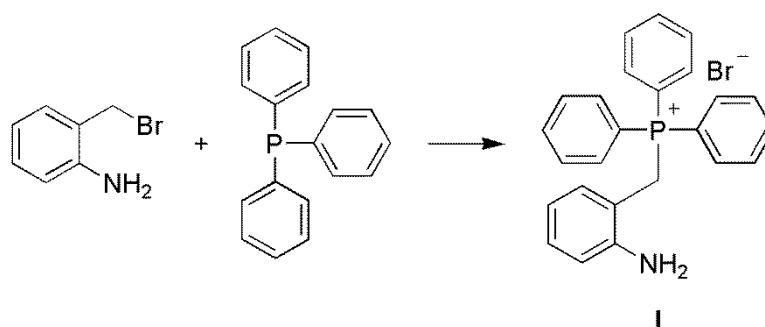
Beim alternativen zweistufigen Mechanismus erfolgt zu Beginn der Reaktion ebenfalls ein Protonentransfer von dem zunächst gebildeten quartären Ammonium-Ion (Abb. 2.53: I) auf die Hydroxygruppe, so dass auch hier als Zwischenstufe ein Oxonium-Ion (Abb. 2.53: II) entsteht. Anschließend wird über einen konzertierten S<sub>N</sub>2-Mechanismus Wasser gegen

Brom ausgetauscht, wobei das Halogenalkan 2-Brommethylbenzenamin (Abb. 2.53: III) gebildet wird.



**Abb. 2.53** Stufe 1 des alternativen Mechanismus für die Reaktion von 2-Aminobenzylalkohol mit Triphenylphosphinhydrobromid

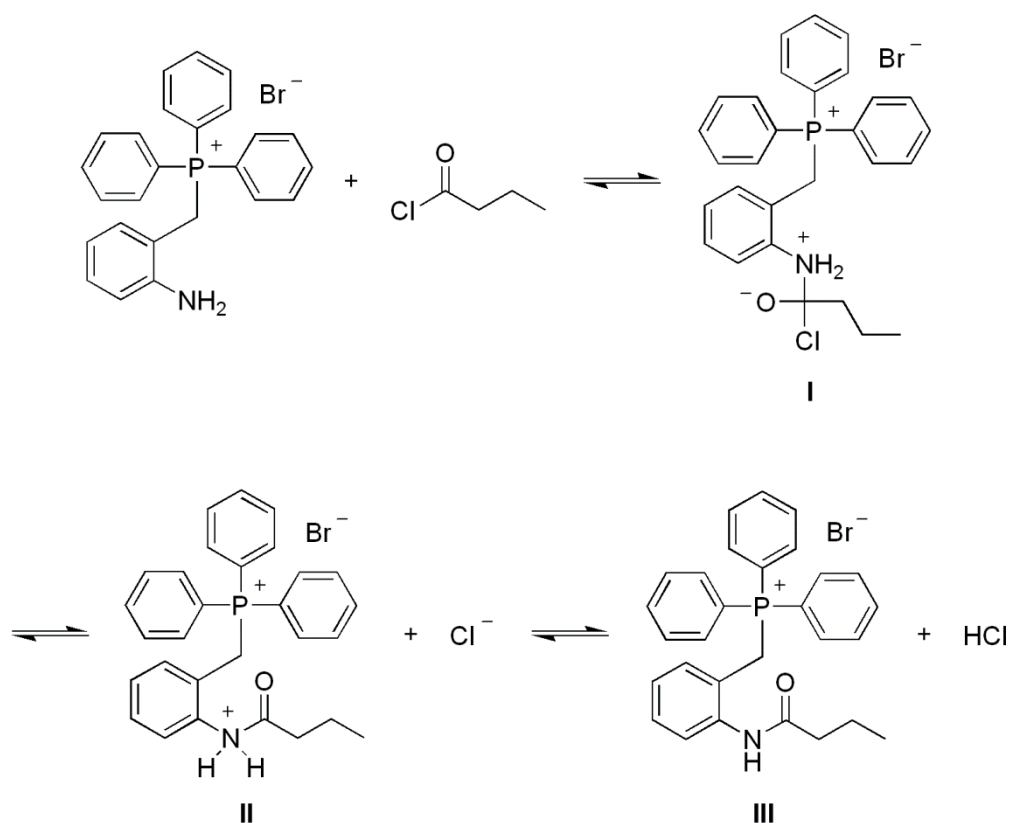
In der zweiten Stufe des alternativen Mechanismus wird über einen weiteren nukleophilen Substitutionschritt das Halogenatom im 2-Brommethylbenzenamin durch Triphenylphosphin ersetzt und es entsteht 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid (Abb. 2.54: I).<sup>(93)</sup>



**Abb. 2.54** Stufe 2 des alternativen Mechanismus für die Reaktion von 2-Aminobenzylalkohol mit Triphenylphosphinhydrobromid

Die Substitution der Hydroxygruppe eines Alkohols durch ein Halogenatom erfolgt bevorzugt in Gegenwart der entsprechenden konzentrierten Halogenwasserstoffsäure. Unter den in dieser Arbeit vorherrschenden Reaktionsbedingungen liegen demgegenüber jedoch nur geringe Mengen an Bromwasserstoff vor, so dass der direkte einstufige Reaktionsverlauf ohne die Zwischenstufe des Halogenalkans wahrscheinlich ist.

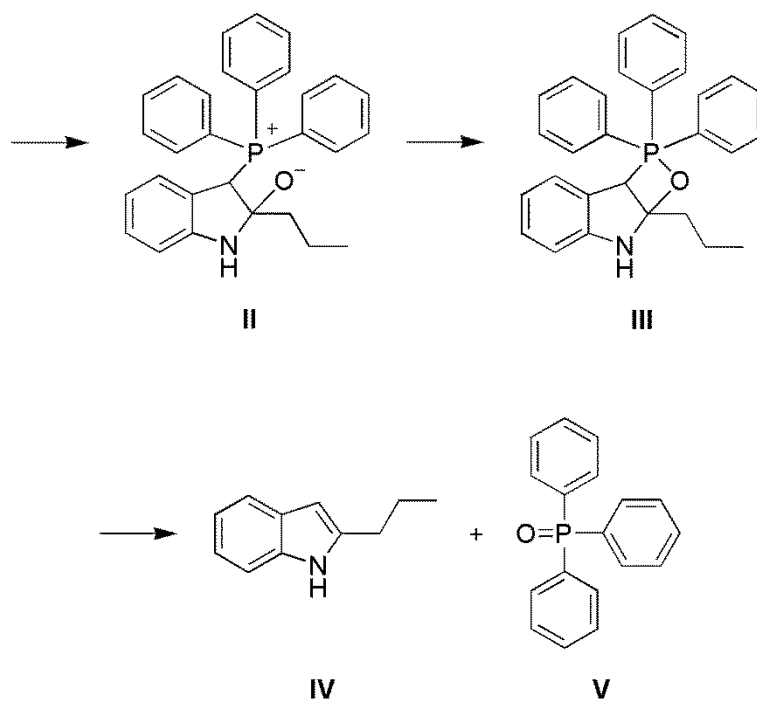
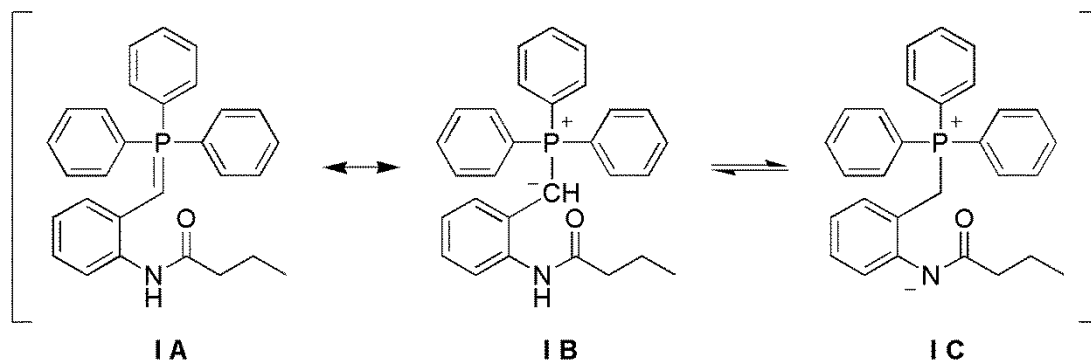
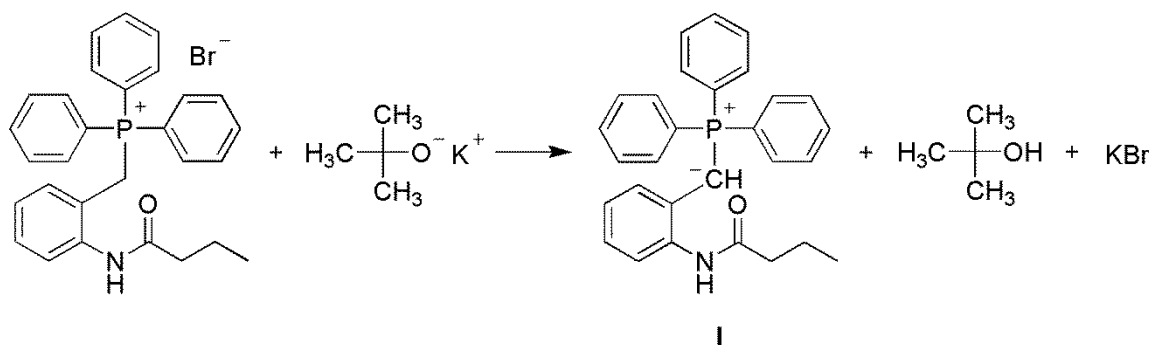
Im zweiten Reaktionsschritt der 2-Propyl-1*H*-indol-Synthese wird durch eine einfache Acylierung der Aminogruppe im 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid mit Hilfe äquimolarer Mengen Butanoylchlorids die für die Wittig-Reaktion erforderliche Carbonylgruppe in das Molekül eingeführt. Die Acylierung verläuft analog zu der in Kapitel 2.2.1 beschriebenen Synthese über einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus und beginnt mit der nukleophilen Addition des Amins an den Carbonylkohlenstoff des Säurechlorids. Dabei entsteht die charakteristische tetraedische Zwischenstufe (Abb. 2.55: I), von der im ersten Eliminierungsschritt Chlorid abgespalten wird (Abb. 2.55: II) und im darauf folgenden zweiten Eliminierungsschritt der Stickstoff unter Ausbildung von 2-Butyramidobenzyltriphenylphosphoniumbromid (Abb. 2.55: III) und Chlorwasserstoff deprotoniert wird.<sup>(93, 94)</sup>



**Abb. 2.55** Reaktionsschritt 2 der 2-Propyl-1H-indol-Synthese<sup>(93, 94)</sup> [2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid (1 mmol), Butanoylchlorid (1 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (q.s.), ΔT 3.5h]

Der intramolekulare Ringschluss bildet den letzten Reaktionsschritt in der 2-Propyl-1H-indol-Synthese. Für den Reaktionsverlauf sind folgende zwei Mechanismen möglich:

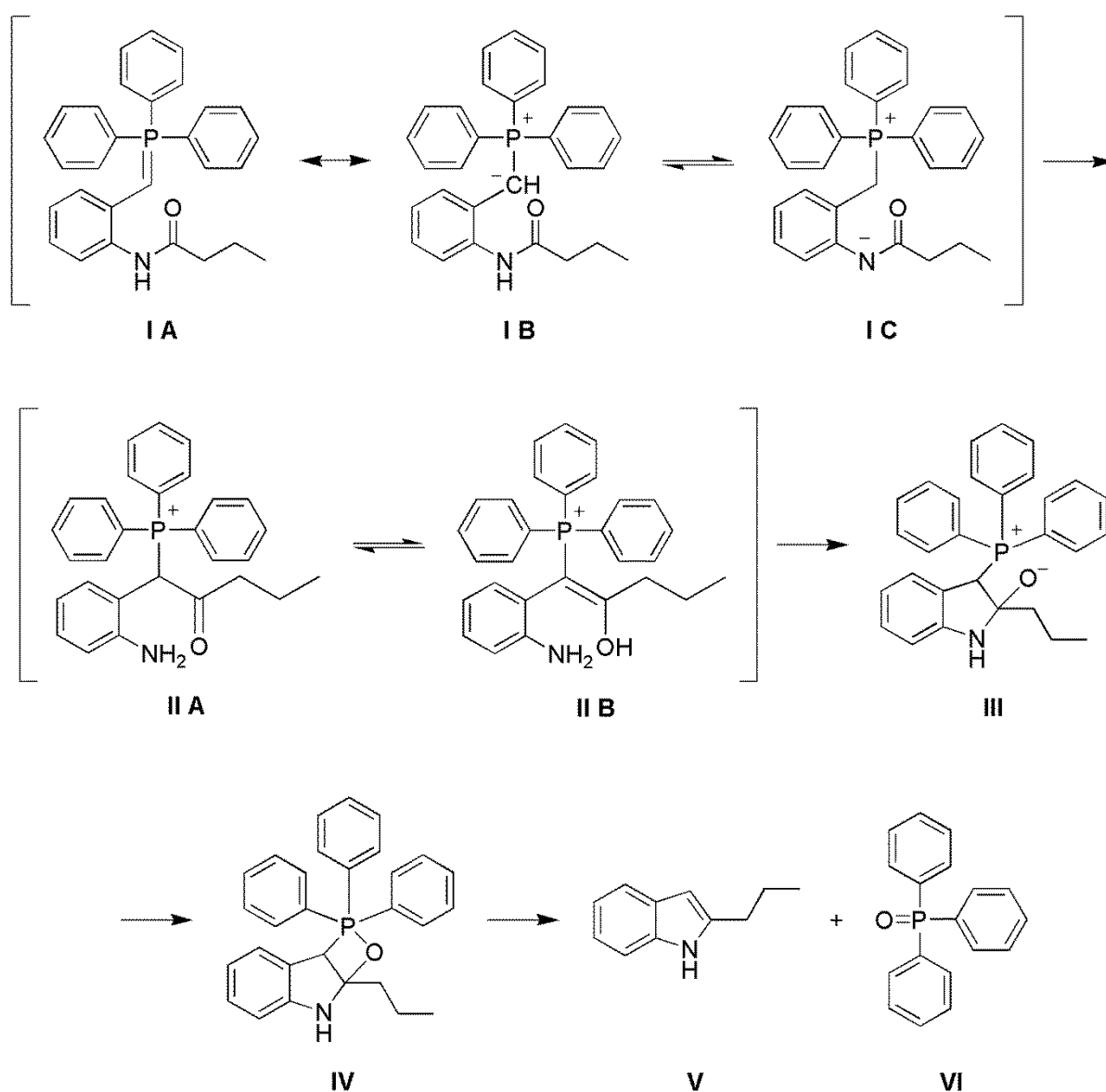
Beim Reaktionsverlauf nach Variante A wird zunächst das benzyliche Kohlenstoffatom mit Hilfe der Base Kalium-*tert*-butylat deprotoniert. Dieser Schritt wird durch das positiv geladene Phosphoratom begünstigt, das die Acidität des benachbarten Protons beträchtlich steigert. Für das dabei entstandene Phosphor-Ylid bzw. Phosphoran (Abb. 2.56: I) existieren verschiedene mesomere (Abb. 2.56: I A und I B) bzw. tautomere (Abb. 2.56: I B und I C) Grenzstrukturen. Im weiteren Reaktionsverlauf addiert der negativ polarisierte Ylidkohlenstoff nukleophil an den Carbonylkohlenstoff, wodurch kurzzeitig ein reaktives Phosphor-Betain (Abb. 2.56: II) entsteht, das anschließend schnell in Oxaphosphacyclobutan bzw. Oxaphosphetan (Abb. 2.56: III) umgewandelt wird. Dieser Heterozyklus zerfällt im darauf folgenden, letzten Reaktionsschritt in 2-Propyl-1H-indol (Abb. 2.56: IV) und Triphenylphosphinoxid (Abb. 2.56: V).<sup>(93, 94, 109)</sup>



**Abb. 2.56** Variante A für den Ringschluss zum 2-Propyl-1H-indol<sup>(93, 94, 109)</sup> [2-Butyramidobenzyltriphenylphosphoniumbromid (1 mmol), *t*-BuOK (1.33 mmol), Toluol  $\Delta T$  15 min]

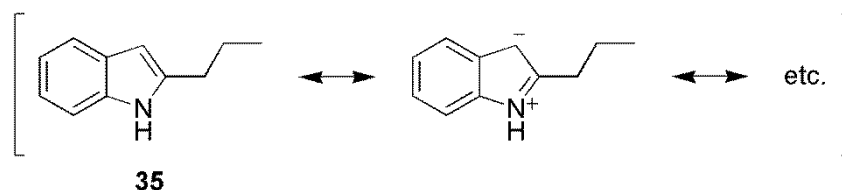
Beim Reaktionsmechanismus nach Variante B erfolgt zu Beginn ebenfalls unter Einwirken der Base Kalium-*tert*-butylat (*t*-BuOK) eine Deprotonierung des benzylichen Kohlenstoffatoms, so dass auch hier zunächst das entsprechende Phosphor-Ylid bzw. Phosphoran (Abb. 2.57: **IA**, **IB** und **IC**) gebildet wird. Im nächsten Schritt erfolgt die Übertragung

bzw. Umlagerung des Carbonylrests vom Amidstickstoff auf den Ylidkohlenstoff. Für die dabei entstandene Zwischenstufe existieren aufgrund der Keto-Enol-Tautomerie wiederum zwei verschiedene Grenzstrukturen (Abb. 2.57: **II A** und **II B**). Anschließend addiert der Aminstickstoff nukleophil an den Carbonylkohlenstoff und es entsteht analog zu Variante A kurzzeitig ein reaktives Phosphor-Betain (Abb. 2.57: **III**), das wiederum schnell in ein Oxaphosphacyclobutan bzw. Oxaphosphetan (Abb. 2.57: **IV**) umgewandelt wird und schließlich in 2-Propyl-1*H*-indol (Abb. 2.57: **V**) und Triphenylphosphinoxid (Abb. 2.57: **VI**) zerfällt.<sup>(109)</sup>



**Abb. 2.57** Variante B für den Ringschluss zum 2-Propyl-1*H*-indol<sup>(109)</sup> [2-Butyramidobenzyltriphenylphosphoniumbromid (1 mmol), *t*-BuOK (1.33 mmol), Toluol  $\Delta T$  15 min]

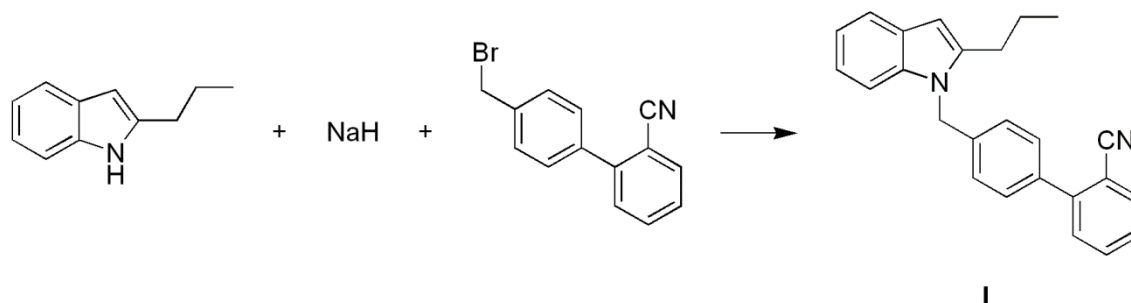
## 2.4.1.2 Synthetisierte Verbindung

Abb. 2.58 2-Propyl-1*H*-indol (35)

Für das synthetisierte 2-Propyl-1*H*-indol lassen sich mehrere verschiedene Resonanzstrukturen formulieren, da die negative Ladung der zweifach geladenen Grenzstruktur unter Einbezug der  $\pi$ -Elektronen des Benzolrings über das gesamte Molekül verteilt ist (Abb. 2.58). Das planare Indolmolekül zählt zu den Heteroaromaten und besitzt einen  $sp^2$ -hybridisierten Stickstoff, da sich das freie Elektronenpaar in einem p-Orbital senkrecht zum Fünfringsystem befindet und somit Bestandteil des aromatischen Elektronensextetts ist. Aus diesem Grund wird im Fall einer Protonierung des schwach basischen Indolmoleküls nicht der Stickstoff sondern bevorzugt das Kohlenstoffatom in Position 2 angegriffen. Gleichzeitig besitzt die Verbindung einen schwach sauren Charakter und lässt sich mit Hilfe sehr starker Basen am Stickstoff zum 2-Propyl-1*H*-indol-Ion deprotonieren.<sup>(93)</sup>

2.4.2 Darstellung von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (*N*-Alkylierung)

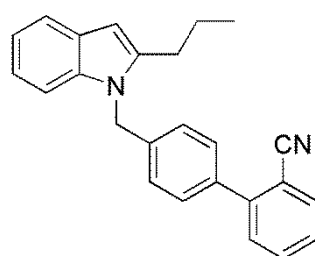
Die Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril erfolgte über die *N*-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-indol mit 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril in DMF (Abb. 2.59).<sup>(102, 110)</sup>

Abb. 2.59 Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril [Indol (1 mmol), NaH 60 %ig (2 mmol), Nitril (1.1 mmol), Eiskühlung bzw. RT]<sup>(102)</sup>

### 2.4.2.1 Theorie und Mechanismus der *N*-Alkylierung von 2-Propyl-1*H*-indol

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril verläuft analog zu der in Kapitel 2.1.5 beschriebenen Synthese der 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenylcarbonsäuremethylester.

### 2.4.2.2 Synthetisierte Verbindung



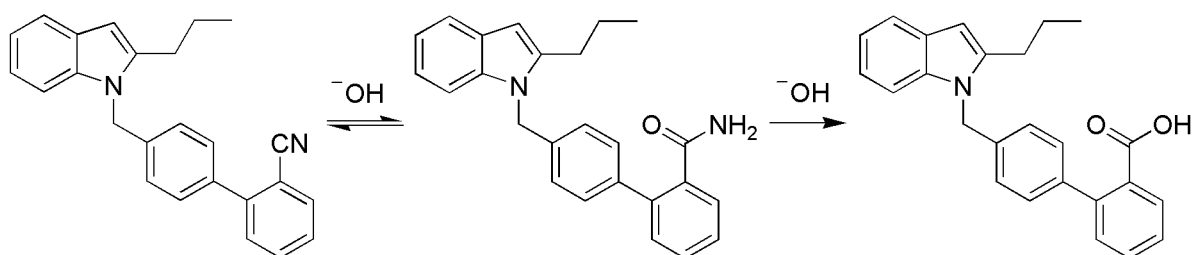
36

**Abb. 2.60** 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**36**)

Bei der Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (Abb. 2.60) konnte im Vergleich zur Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril unter gleichen Reaktionsbedingungen nur eine geringere Ausbeute erzielt werden. Eine mögliche Ursache hierfür ist die im Vergleich zu 1*H*-Benz[*d*]imidazolderivaten geringere Acidität von 1*H*-Indolverbindungen, die dazu führt, dass in diesem Fall die Deprotonierung zum 2-Propyl-1*H*-indol-Ion nicht im gleichen Ausmaß erfolgt wie im Fall von 2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol. Aus diesem Grund steht im Verlauf der Reaktion mit 2-Propyl-1*H*-indol weniger „aktives Nucleophil“ für die Alkylierung zur Verfügung und folglich kann auch nur weniger Produkt gebildet werden. Die erzielte Ausbeute bei der Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril lag wiederum über der von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril, was in diesem Kontext vermuten lässt, dass die Acidität von 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol geringer ist als die von 2-Propyl-1*H*-indol.

### 2.4.3 Darstellung von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und -carbonsäure (Nitrilhydrolyse)

Die Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und der entsprechenden Carbonsäure erfolgte über die basenkatalysierte Hydrolyse von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (Abb. 2.61).<sup>(93)</sup>

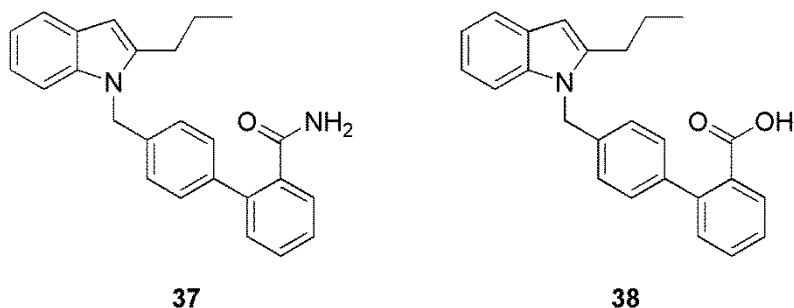


**Abb. 2.61** Hydrolyse von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril zum Amid und zur Carbonsäure [Nitril (1 mmol), KOH 30 %ige Lösung (30 mmol), Methanol (q.s.),  $\Delta T$  14d]

### 2.4.3.1 Theorie und Mechanismus der Hydrolyse von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril

Der Reaktionsmechanismus für die Synthese von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid und -carbonsäure verläuft analog zu der in Kapitel 2.2.3 beschriebenen Synthese der verschiedenen 4'-[(2-*Alky*-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamide und -carbonsäuren.

### 2.4.3.2 Synthetisierte Verbindungen



**Abb. 2.62** 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**37**), 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**38**)

Aufgrund der vorliegenden mesomeren und sterischen Substituenteneffekte (Kapitel 2.2.3) und der ohnehin großen Reaktionsträgheit von Nitrilen und Amidem konnten bei einer Reaktionszeit von 14 Tagen sowohl für 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid als auch für die entsprechende Carbonsäure nur sehr geringe Ausbeuten erzielt werden.



### 3 Strukturaufklärung

Die in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurden mit Hilfe von  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und Massenspektrometrie identifiziert und die Endverbindungen durch Elementaranalyse bzw. hochauflösende Massenbestimmung auf Reinheit untersucht. In den folgenden Kapiteln werden ausgewählte  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von Verbindungen mit charakteristischen Merkmalen oder Besonderheiten vorgestellt.

#### 3.1 $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Amide

In den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der verschiedenen Carbamidverbindungen findet man für die Amidprotonen eine charakteristische Signalaufspaltung zu zwei getrennten Singulett.

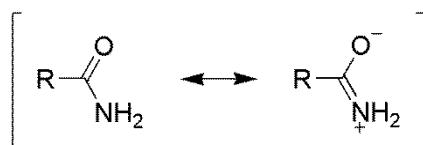
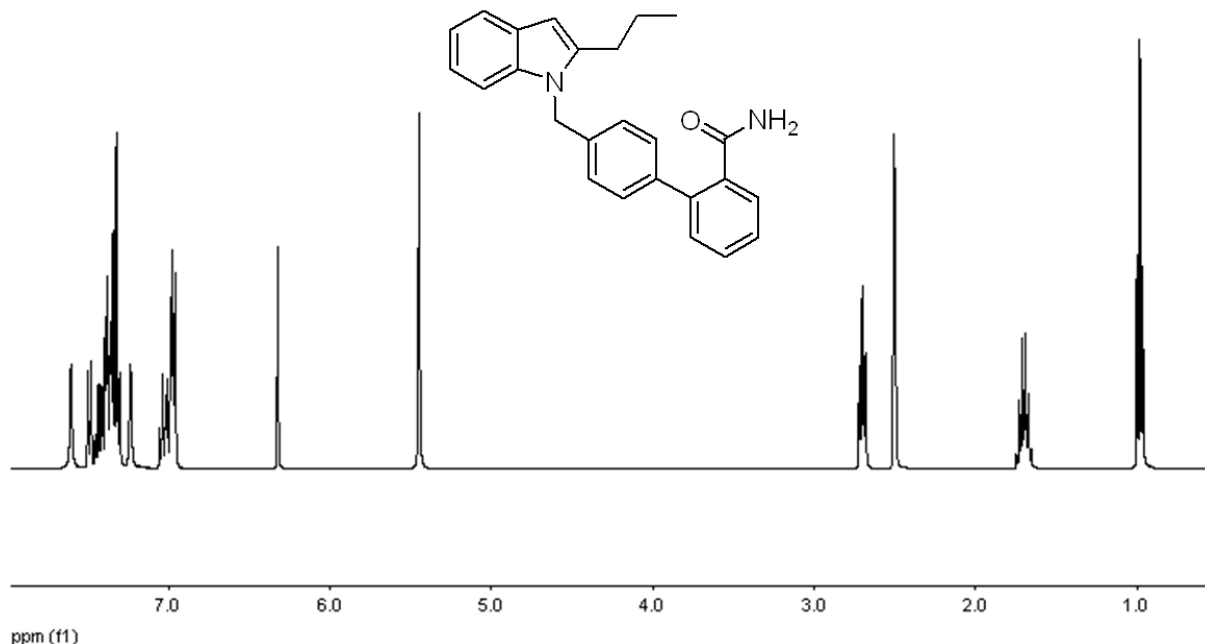


Abb. 3.1 Resonanzstrukturen von Amiden

Das Auftreten von getrennten Signalen für Amidprotonen lässt sich mit Hilfe der möglichen Resonanzstruktur von Amiden erklären, wobei das Ausmaß der Resonanz umso größer ist, je leichter die Elektronenpaare delokalisiert werden können und je besser die beteiligten Orbitale überlappen (Abb. 3.1).<sup>(93)</sup> Im Vergleich zu anderen Carbonsäurederivaten ist bei Amiden die Beteiligung der dipolaren Resonanzstruktur so stark ausgeprägt, dass die Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung einen hohen Doppelbindungsanteil hat. Dementsprechend ist die Konformation der Amid-Struktur verhältnismäßig starr und die Fähigkeit zur Rotation um die Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung erheblich eingeschränkt. Aus diesem Grund befinden sich die beiden Protonen am Stickstoffatom in verschiedener chemischer und magnetischer Umgebung und ergeben somit im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei Raumtemperatur zwei getrennte Singulett. Durch eine Temperaturerhöhung kann die Rotationsbarriere überwunden werden, so dass die Protonen spektroskopisch nicht mehr unterscheidbar sind und im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ein gemeinsames Singulett ergeben.<sup>(111)</sup>

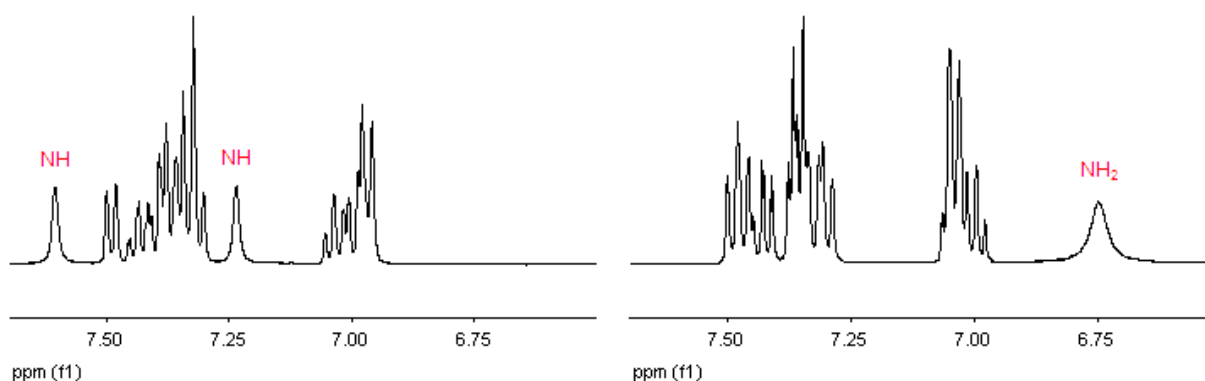
## Strukturaufklärung

Die Signalaufspaltung der Amidprotonen ist bei allen synthetisierten Carbamidverbindungen aufgetreten und wird im Folgenden exemplarisch anhand des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid dargestellt (Abb. 3.2).



**Abb. 3.2**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid gemessen in DMSO

Bei Raumtemperatur findet man für die beiden Amidprotonen zwei getrennte Singulettts bei 7.60 ppm bzw. 7.23 ppm. Durch eine graduelle Temperaturerhöhung nähern sich die beiden Peaks einander an und bilden bei 120 °C schließlich ein gemeinsames Singulett bei 6.75 ppm (Abb. 3.3).



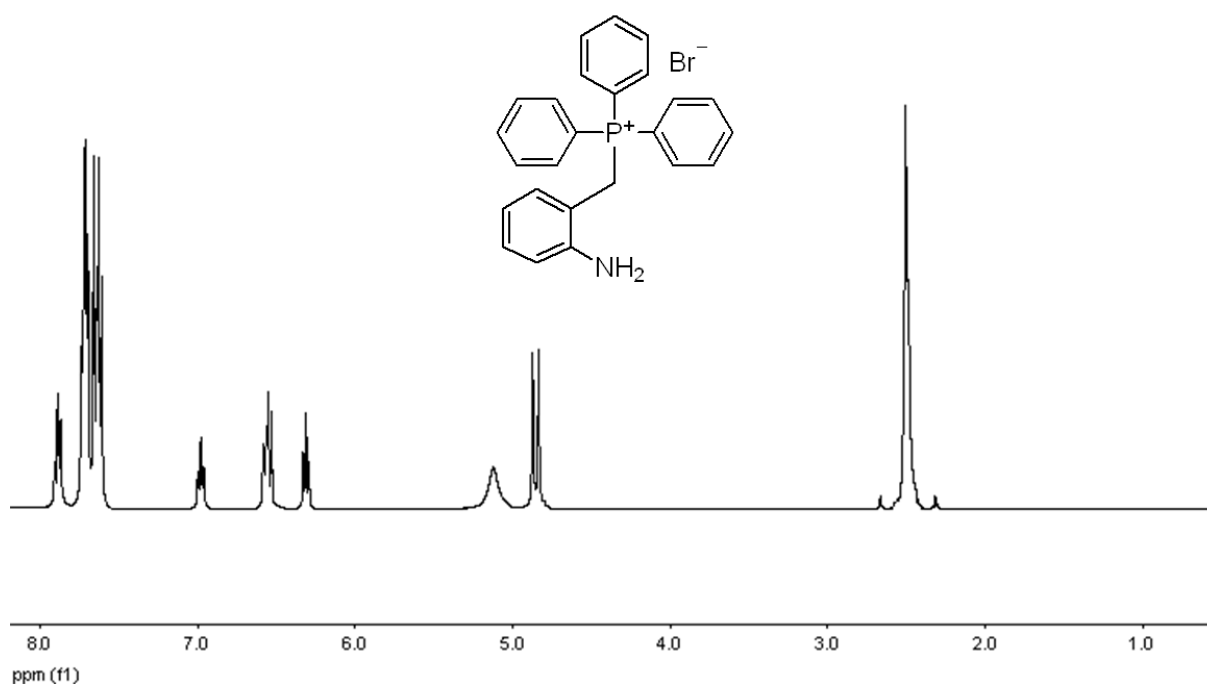
**Abb. 3.3** Ausschnitt des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid gemessen in DMSO (links: aufgenommen bei Raumtemperatur, rechts: aufgenommen bei 120 °C)

Im Zuge der Temperaturerhöhung erfahren die Signale der Amidprotonen eine Verschiebung zu höherem Feld, die auf den Verlust des Doppelbindungscharakters von der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung zurückgeführt werden kann. Doppelbindungen sind generell durch starke

magnetische Anisotropien gekennzeichnet, weshalb gebundene Protonen weniger stark abgeschirmt werden.<sup>(112)</sup> Die mit einer Temperaturerhöhung einhergehende Veränderung des Charakters der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung hin zu einer Einfachbindung führt zu einer stärkeren Abschirmung der Protonen und damit einhergehend zu einer Verschiebung der Absorption ins Hochfeld.

### 3.2 <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Phosponiumverbindungen

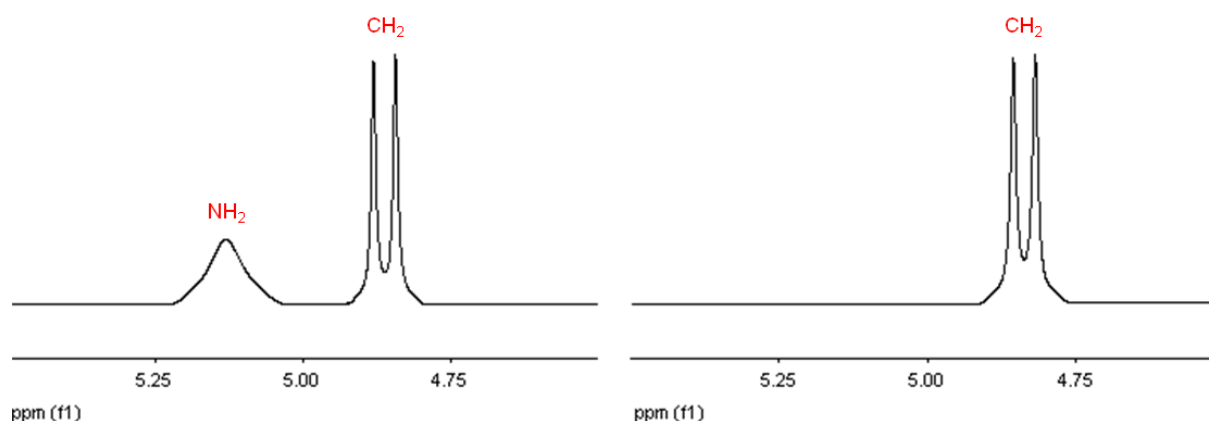
In den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der im Verlauf der 2-Propyl-1*H*-indol-Synthese (Kapitel 2.4.1) intermediär synthetisierten Phosponiumverbindungen 2-Aminobenzyltriphenylphosponiumbromid und 2-Butyramidobenzyltriphenylphosponiumbromid kann man für die benzylicischen Methylenprotonen eine charakteristische Signalaufspaltung zum Duplett beobachten.<sup>(112)</sup> Diese Signalaufspaltung entsteht aufgrund einer Wasserstoff-Phosphor-Kopplung und wird im Folgenden anhand des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums von 2-Aminobenzyltriphenylphosponiumbromid dargestellt (Abb. 3.4).



**Abb. 3.4** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 2-Aminobenzyltriphenylphosponiumbromid gemessen in DMSO

Vor dem D<sub>2</sub>O-Austausch kann man im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 2-Aminobenzyltriphenylphosponiumbromid für die beiden Protonen der Aminogruppe bei 5.13 ppm ein verbreitertes Singulett und für die beiden benzylicischen Methylenprotonen bei 4.86 ppm ein Duplett mit der Kopplungskonstante <sup>2</sup>J [H, P]= 14.8 Hz beobachten. Führt man bei der <sup>1</sup>H-NMR-Messung von 2-Aminobenzyltriphenylphosponiumbromid einen D<sub>2</sub>O-Austausch durch, verschwindet das Singulett der beiden Aminprotonen. Die Signalaufspaltung zum Duplett für die beiden

benzylichen Methylenprotonen bleibt dagegen weiterhin bestehen, da das Phosphoratom durch einen D<sub>2</sub>O-Austausch nicht beeinflusst wird (Abb. 3.5).

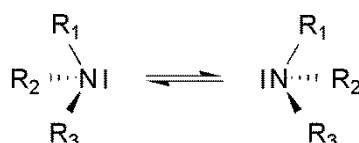


**Abb. 3.5** Ausschnitt des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid gemessen in DMSO (links: vor dem D<sub>2</sub>O-Austausch, rechts: nach dem D<sub>2</sub>O-Austausch)

### 3.3 <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der *N*-alkylierten Benzo[*d*]thiazolderivate

#### 3.3.1 Diastereomere der *N*-alkylierten Benzo[*d*]thiazolderivate

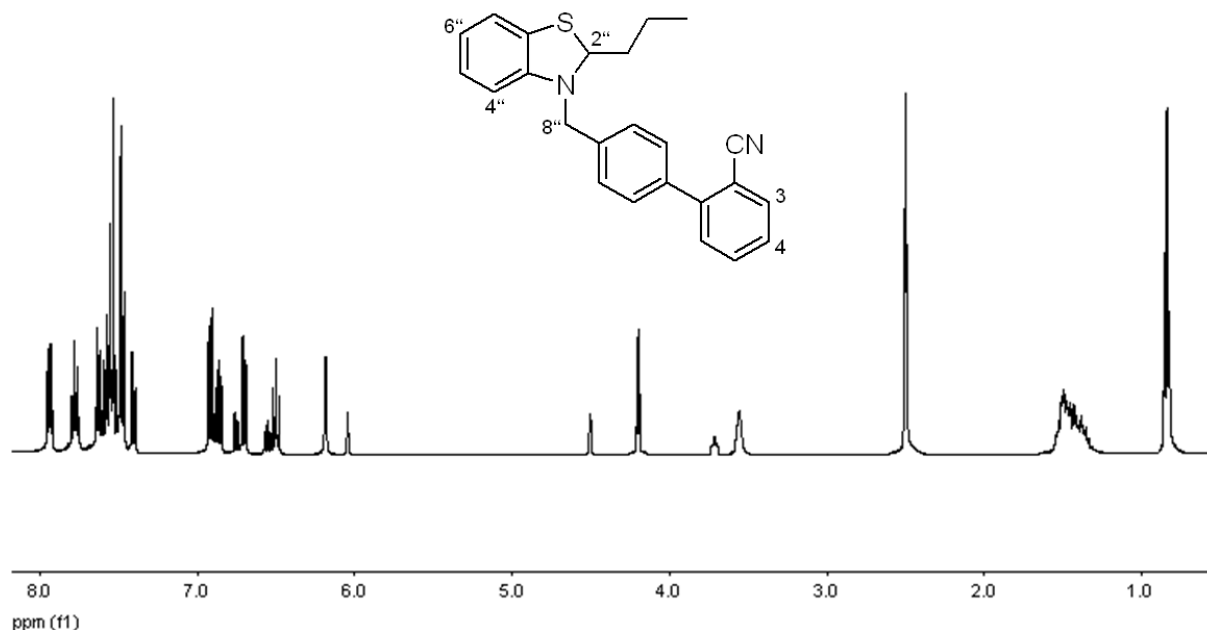
Der sp<sup>3</sup>-hybridisierte Stickstoff in den *N*-alkylierten Benzo[*d*]thiazolderivaten (Nitril, Amid und Säure) besitzt drei verschiedene Substituenten und ist pyramidal angeordnet. Durch ein solches Substitutionsmuster am Stickstoff entstehen Enantiomere (Abb. 3.6), die im Allgemeinen durch rasche Inversion ineinander übergehen und sich daher nicht trennen lassen.



**Abb. 3.6** Enantiomere eines dreifach verschieden substituierten Stickstoffs<sup>(111)</sup>

Ist der dreifach gebundene Stickstoff jedoch in ein Ringsystem eingebaut und dadurch sterisch gehindert, verläuft die Inversion langsamer und eine Unterscheidung der beiden Enantiomere wird möglich. Zusätzlich zu dem dreifach gebundenen Stickstoff befindet sich bei den in dieser Arbeit synthetisierten *N*-alkylierten Benzo[*d*]thiazolderivaten in Position 2 des 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazols ein vierfach verschieden substituiertes Kohlenstoffatom und somit ein weiteres stereogenes Zentrum. Aufgrund der dadurch möglichen Ausbildung von Diastereomeren kann man in den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der *N*-alkylierten Benzo[*d*]thiazolderivate eine charakteristische Signalaufspaltung beobachten, die

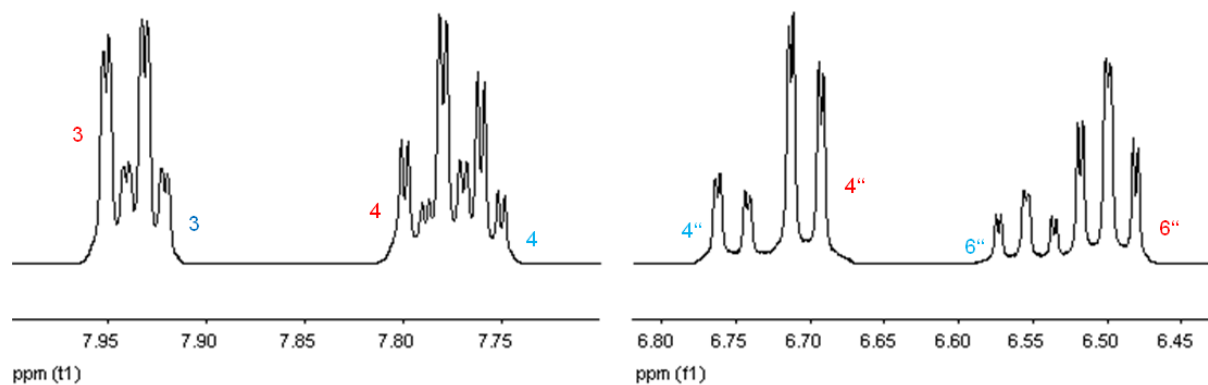
im Folgenden am Beispiel von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril dargestellt wird (Abb. 3.7).



**Abb. 3.7**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril gemessen in DMSO

Unmittelbar nach der *N*-Alkylierung lagen die beiden Diastereomere von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril zunächst im prozentualen Mengenverhältnis von 5,5:4,5 vor. Dieser Unterschied lässt das auf das Vorhandensein einer thermodynamisch günstigeren Konfiguration schließen. Eine vollständige Auftrennung der Stereoisomere ist für keines der *N*-alkylierten Benzo[d]thiazolderivate gelungen, jedoch konnte aufgrund der unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften von Diastereomeren das prozentuale Mengenverhältnis durch Umkristallisation in Diethylether / Methanol zugunsten des einen Isomers zu 7:3 verändert werden. Dadurch war es möglich, die Signale im „Mischspektrum“ von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril den jeweiligen Isomeren eindeutig zuzuordnen.

Anhand der ausgewählten Ausschnitte des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril kann man erkennen, dass die konfigurationsbedingten Unterschiede in der chemischen Verschiebung sowohl die Protonen des 2-Propyl-2,3-benzo[d]thiazols als auch die Protonen des Biphenyl-Systems betreffen (Abb. 3.8).

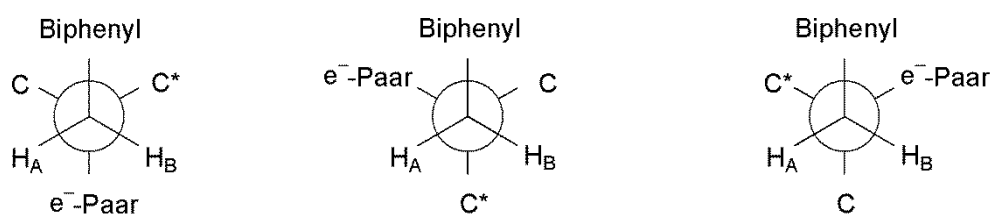


**Abb. 3.8** Ausschnitte des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril

### 3.3.2 Diastereotop Protonen in den *N*-alkylierten Benzo[d]thiazolderivaten

Die Methylenprotonen  $\text{CH}_2$  8'' der *N*-alkylierten 2-Propyl-2,3-dihydro-benzo[d]thiazolderivate befinden sich in unmittelbarer Nachbarschaft zu einem sterisch fixierten Stickstoff und lassen sich weder durch Rotation um eine Symmetrieachse noch durch Spiegelung an einer Symmetrieebene ineinander überführen. Sie sind folglich nicht äquivalent und ergeben im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zusätzlich zu der zuvor beschriebenen diastereomeren Aufspaltung zwei getrennte Signale. Diese für diastereotop Methylenprotonen charakteristische Signalaufspaltung wird im Folgenden am Beispiel von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril dargestellt (Abb. 3.7).

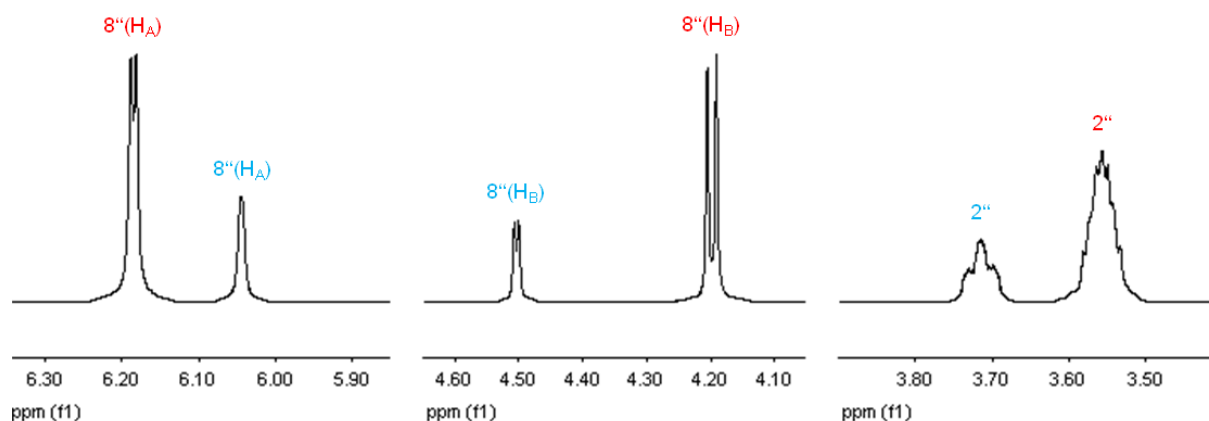
Betrachtet man die Newman-Projektionsformeln für die drei möglichen Rotationsisomere dieser Verbindungen, ergeben sich für jedes der beiden diastereotopen Protonen  $\text{H}_\text{A}$  und  $\text{H}_\text{B}$  drei mögliche Umgebungen mit veränderter magnetischer Abschirmung (Abb. 3.9). Die Rotation um die Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung ist bei Raumtemperatur sehr schnell, so dass sich die aus den drei Umgebungen resultierenden Werte der chemischen Verschiebung zu einem Wert mitteln und man je ein Signal für  $\text{H}_\text{A}$  und  $\text{H}_\text{B}$  erhält.<sup>(111)</sup>



**Abb. 3.9** Newman-Projektionsformeln für die 2-Propyl-2,3-dihydro-benzo[d]thiazolderivate

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril findet man die Signale für die diastereotopen Protonen von

Diastereomer 1 (rot) bei 6.19 ppm und bei 4.20 ppm und von Diastereomer 2 (blau) bei 6.04 ppm und 4.50 ppm (Abb. 3.10).



**Abb. 3.10** Ausschnitte des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums von 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril [Diastereomer 1 (blau), Diastereomer 2 (rot)]

Die Signale der diastereotopen Protonen von Diastereomer 1 (rot) zeigen eine Aufspaltung zum Duplett, wobei aufgrund der unterschiedlichen Kopplungskonstanten  $J = 2.73$  Hz und  $J = 5.75$  Hz die typische geminale Kopplung der beiden diastereotopen Protonen als Ursache ausgeschlossen werden kann (Abb. 3.10: Mitte). Die Aufspaltung resultiert vermutlich aus einer <sup>4</sup>J-Kopplung mit dem an das Kohlenstoffatom in Position 2 des Benzo[d]thiazols gebundenen Proton H 2'''. Eine eindeutige Zuordnung ist jedoch nicht möglich, da es sich hier um ein Spektrum höherer Ordnung handelt. Das Signal für Proton H 2''' ist aufgrund der Kopplung mit den benachbarten Methylenprotonen CH<sub>2</sub> 1''' zu einem Multipllett aufgespalten (Abb. 3.10: rechts), so dass eine Bestätigung der <sup>4</sup>J-Kopplungskonstanten anhand dieses Signals nicht möglich ist. Bei Diastereomer 2 kann man die Signalaufspaltung zum Duplett nur für eines der beiden diastereotopen Methylenprotonen beobachten (Abb. 3.10: Mitte). Die Methylenprotonen CH<sub>2</sub> 1''' der Propylkette in unmittelbarer Nachbarschaft zum vierfach verschiedenen substituierten Kohlenstoffatom besitzen ebenfalls diastereotopen Charakter. Da das Signal dieser Protonen im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (Abb. 3.7) jedoch mit dem Signal der benachbarten Methylenprotonen CH<sub>2</sub> 2''' ein Multipllett bei 1.59-1.32 ppm ergibt, ist die charakteristische Signalaufspaltung nicht zu erkennen.





## 4 Pharmakologie

### 4.1 Adipozyten-Differenzierungstest mit 3T3-L1 Zellen

Die synthetisierten Verbindungen wurden in diesem etablierten *in vitro* Testsystem mit 3T3-L1 Zellen auf ihre pharmakologische Wirkung an PPAR $\gamma$  untersucht.<sup>(76, 77)</sup> Die praktische Durchführung dieser Methode wird in Kapitel 7.2.3.2 detailliert dargestellt.

#### 4.1.1 Theoretische Grundlagen des Differenzierungstests

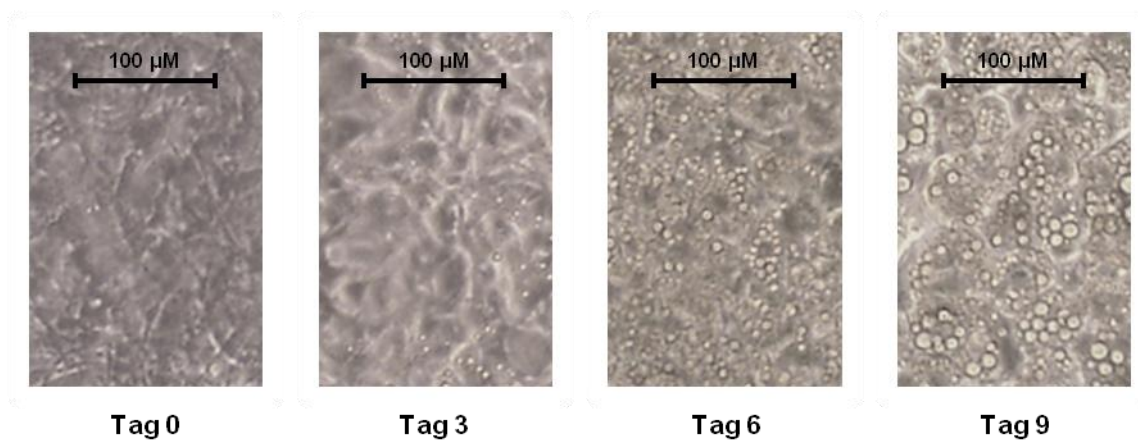
##### 4.1.1.1 3T3-L1 Zellen

Die für den Differenzierungstest verwendeten 3T3-L1 Zellen entstammen ursprünglich der Swiss 3T3 Zelllinie, die in den frühen 1960er Jahren aus 17-19 Tage alten Mäuseembryonen etabliert wurde. 3T3-L1 Zellen sind von Natur aus Präadipozyten und differenzieren unter bestimmten Kulturbedingungen über einen Zeitraum von mehreren Wochen zu reifen Adipozyten aus.<sup>(113, 114)</sup>

##### 4.1.1.2 Adipogenese

Die Differenzierung einer Vorläuferzelle (Präadipozyt) zur reifen Fettzelle (Adipozyt) wird als Adipogenese bezeichnet. Der Differenzierungsprozess verläuft über eine multifaktorielle Transkriptionskaskade, bei der ein elaboriertes Netzwerk von verschiedenen Transkriptionsfaktoren die Expression hunderter Proteine koordiniert, die für die Ausbildung der reifen Fettzelle verantwortlich sind.<sup>(115)</sup> Die markanten morphologischen Veränderungen von der anfangs fibroblastenähnlichen Gestalt des Präadipozyten zum kugelartigen Erscheinungsbild der reifen Fettzelle können auf eine im Anfangsstadium der Differenzierung einsetzende Modulation der Biosynthese verschiedener Bestandteile der extrazellulären Matrix und des Zytoskeletts zurückgeführt werden. Neben den Transkriptionsfaktoren C/EBP $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\delta$  ist vor allem PPAR $\gamma$  als steuernder Transkriptionsfaktor an adipogenesespezifischen Prozessen beteiligt und wird bereits in Präadipozyten in nachweisbarem Ausmaß exprimiert.<sup>(116, 117)</sup> Im

terminalen Differenzierungsstadium nimmt die Zelle vermehrt freie Fettsäuren auf und synthetisiert Triglyceride, die sie in charakteristischen Fettvakuolen speichert (Abb. 4.1).



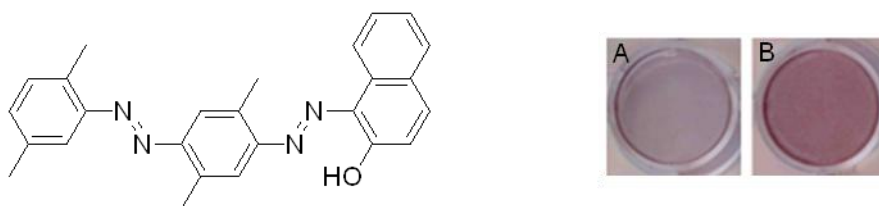
**Abb. 4.1** Triglycerid-Einlagerung im Verlauf der neuntägigen Differenzierung (die dargestellten 3T3-L1 Zellen wurden über den gesamten Differenzierungszeitraum mit Pioglitazon (1µM) behandelt)

#### 4.1.1.3 Differenzierung in Anwesenheit von PPAR $\gamma$ -Agonisten

Der Differenzierungsprozess kann durch die Verwendung eines speziellen Differenzierungsmixes bestehend aus 1µM Dexamethason, 500µM 3-Isobutyl-1-methyl-xanthin (IBMX) und 1µg/ml Insulin angeregt und erheblich beschleunigt werden. In der vorliegenden Arbeit wird ein Differenzierungsmix mit einem PPAR $\gamma$ -Agonisten anstelle von IBMX verwendet. Aufgrund der veränderten Versuchsbedingungen verläuft die Differenzierung entsprechend langsamer und der Differenzierungsgrad hängt vom Ausmaß der PPAR $\gamma$ -Aktivierung durch die zu untersuchenden Verbindungen ab.<sup>(76)</sup>

#### 4.1.1.4 Ermittlung der PPAR $\gamma$ -Aktivität

Für die Bestimmung des Differenzierungsgrades werden die Triglyceride in den Fettvakuolen mit dem fettlöslichen Azofarbstoff Oil-Red-O angefärbt und anschließend bei 515 nm photometrisch quantifiziert (Abb. 4.2).<sup>(118)</sup>



**Abb. 4.2** Oil-Red-O(1-[2-[4-[2-(Dimethylphenyl)diazenyl]-dimethyl-phenyl]diazanyl]-2-naphthalenol)<sup>(118)</sup>, angefärbte Zellen (A: Vehikel-behandelte Zellen, B: Pioglitazon-behandelte Zellen)

Die ermittelten Extinktionswerte entsprechen dem Lipidgehalt der angefärbten Zellen und werden als relativer Lipidgehalt in Bezug zu dem durch die Stimulierung mit Pioglitazon erreichten maximalen Lipidgehalt angegeben (Abb. 4.3). Zu diesem Zweck wird Pioglitazon in jedem Versuch als Kontrolle eingesetzt und der resultierende maximale Lipidgehalt als 100 % definiert. Gleichzeitig dient der Lipidgehalt der über den Differenzierungszeitraum mit dem Vehikel (DMSO) stimulierten Zellen als Hintergrund und wird subtrahiert.<sup>(76)</sup>

$$L_{\text{rel.}} = \frac{(L_{\text{T}} - L_{\text{V}})}{(L_{\text{P}} - L_{\text{V}})} \cdot 100 \%$$

**Abb. 4.3** Relativer Lipidgehalt ( $L_{\text{rel.}}$ ) ( $L_{\text{T}}$  = Lipidgehalt der mit Testsubstanz behandelten Zellen,  $L_{\text{P}}$  = Lipidgehalt der mit Pioglitazon behandelten Zellen,  $L_{\text{V}}$  = Lipidgehalt der mit Vehikel behandelten Zellen)

Da bei der Differenzierung in Gegenwart eines PPAR $\gamma$ -Agonisten anstelle von IBMX der Differenzierungsgrad von der PPAR $\gamma$ -Aktivierung abhängt, kann der relative Lipidgehalt als Maß für PPAR $\gamma$ -Aktivierung herangezogen werden.

#### 4.1.2 Auswertung des Differenzierungstests

Die synthetisierten Verbindungen wurden in dem zuvor dargestellten Testsystem mit 3T3-L1 Zellen auf ihre pharmakologische Wirkung an PPAR $\gamma$  untersucht. Neben den synthetisierten Verbindungen wurden zudem Telmisartan und das essentielle Grundgerüst als Referenzen und Pioglitazon als Positivkontrolle jeweils in 2 Verdünnungen als dreifache Bestimmung getestet. Zusätzlich wurden in drei Wells die Zellen über den gesamten Differenzierungszeitraum mit dem Vehikel (DMSO) als Negativkontrolle behandelt.

Der Differenzierungstest wurde unter den vorgegebenen Versuchsbedingungen mehrmals durchgeführt und der für die getesteten Verbindungen beobachtete Differenzierungsgrad entsprach in seiner Tendenz den Ergebnissen des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests. Es ist jedoch nicht gelungen, die Werte für den relativen Lipidgehalt zu reproduzieren. Es sind sowohl bei den Werten innerhalb eines Versuches als auch beim Vergleich der Werte aus den verschiedenen Versuchen starke Schwankungen aufgetreten.

#### 4.1.3 Diskussion der Testergebnisse

Die variierenden Testergebnisse können auf eine veränderte Differenzierungskapazität der verwendeten 3T3-L1 Zellen zurückgeführt werden. Die Differenzierung der 3T3-L1 Zellen wird unter anderem durch die Überexpression des Proteins c-myc oder über den WNT-

Signalweg negativ beeinflusst.<sup>(119, 120)</sup> Die molekularbiologischen Prozesse, die bei den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Zellversuchen zur Veränderung der Differenzierungskapazität geführt haben, konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht charakterisiert werden.

## **4.2 PPAR $\gamma$ -Aktivierungstest mit COS-7 Zellen**

Die synthetisierten Verbindungen wurden in diesem etablierten *in vitro* Testsystem mit COS 7 Zellen auf ihre pharmakologische Wirkung an PPAR $\gamma$  untersucht.<sup>(76, 77)</sup> Die praktische Durchführung dieser Methode wird in Kapitel 7.2.4.2 detailliert dargestellt.

### **4.2.1 Theoretische Grundlagen des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests**

#### **4.2.1.1 COS-7 Zellen**

Die für den PPAR $\gamma$ -Aktivierungstest verwendeten COS-7 Zellen (CV-1, Origin, SV-40) entstammen ursprünglich der CV-1 Zelllinie, die bereits in den 1960er Jahren aus den Nieren der Äthiopischen Grünmeerkatze (*Cercopithecus aethiops*) gewonnen wurde. Im Jahr 1981 transfizierte Yakov Gluzman die CV-1 Zellen mit der DNA eines mutanten Simian-Virus 40 und entwickelte damit die COS-7 Zelllinie.<sup>(121)</sup> COS-7 Zellen sind zur Replikation extrachromosomaler DNA fähig und werden daher für Transfektionsexperimente verwendet.<sup>(122)</sup>

#### **4.2.1.2 Transiente Transfektion mit verschiedenen Plasmidvektoren**

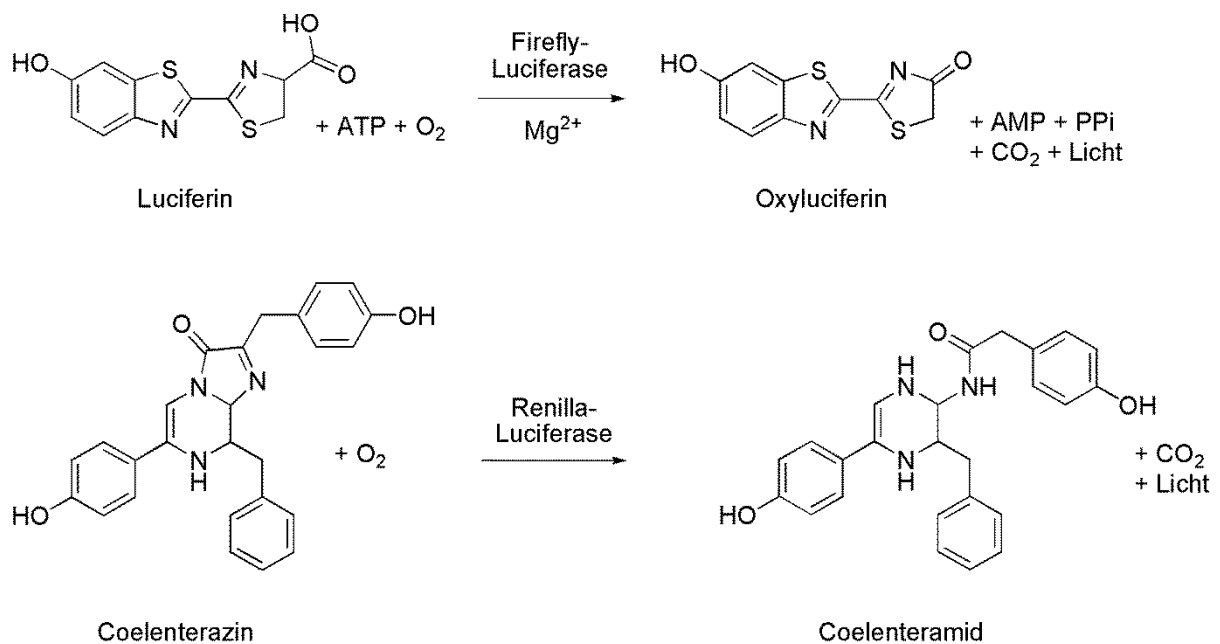
Bei der Transfektion der COS-7 Zellen werden drei verschiedene Plasmidvektoren eingesetzt, die für ein Gal4-Transkriptionsfaktor-basiertes Aktivierungssystem kodieren.<sup>(76)</sup> Der Gal4-Transkriptionsfaktor kommt normalerweise ausschließlich in der Hefe vor, wo er die Expression des Galaktosidase-Gens steuert. Aus diesem Grund kann eine unerwünschte Beeinflussung der Genexpression in den COS-7 Zellen durch den Gal4-Transkriptionsfaktor ausgeschlossen werden. Von den verwendeten Plasmidvektoren kodiert der erste Vektor für ein Fusionsprotein aus dem Gal4-Transkriptionsfaktor und der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungsdomäne und der zweite Vektor für ein Fusionsprotein aus der Gal4-DNA-Bindungsdomäne und einer Firefly-Luciferase. Zusätzlich zu diesen beiden Vektoren wird als interner Standard ein Renilla-Luciferasevektor transfiziert, der in diesem Experiment zur Normierung der Testergebnisse dient.<sup>(123)</sup> Nur bei einer direkten Stimulierung der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungsdomäne erhält der fusionierte Gal4-Transkriptionsfaktor die Fähigkeit zur Bindung an seine

DNA-Bindungsdomäne, wodurch die Expression der Firefly-Luciferase ausgelöst wird. Aus diesem Grund erfolgt die Expression der Firefly-Luciferase in Abhängigkeit von der PPAR $\gamma$ -Aktivierung.

Die erforderlichen Plasmide werden aus entsprechend transformierten Bakterienstämmen (*Escherichia coli*) isoliert. Die praktische Durchführung der Plasmidgewinnung und der anschließenden photometrischen Quantifizierung der Plasmid-DNA wird in Kapitel 7.2.2.5 detailliert dargestellt.

#### 4.2.1.3 Ermittlung der PPAR $\gamma$ -Aktivität

Die pharmakologische Wirkung der synthetisierten Verbindungen an PPAR $\gamma$  wird mithilfe des Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter Assay Systems ermittelt, bei dem die PPAR $\gamma$ -abhängige Firefly-Luciferase als Reporterenzym und die Renilla-Luciferase als Kontrollreporterenzym (interner Standard) nacheinander vermessen werden. Der Vorteil bei der Verwendung eines internen Standards gegenüber einer einfachen Luciferasebestimmung besteht darin, dass individuelle experimentelle Schwankungen in der Zellzahl, dem Pipettiervolumen, der Transfektions- und der Lysis-Effizienz minimiert werden können.<sup>(123)</sup> Die beiden unabhängig voneinander exprimierten Luciferasen haben unterschiedliche Substrate, deren chemische Umwandlung sie in spezifischen Biolumineszenzreaktionen katalysieren (Abb. 4.4).



**Abb. 4.4** Biolumineszenz-Reaktionen der Firefly-Luciferase (oben) und der Renilla-Luciferase (unten)<sup>(124, 125)</sup>

Bei diesen Reaktionen wird unter anderem Energie in Form von Licht freigesetzt, das luminometrisch erfasst und quantifiziert werden kann. Die Angabe der detektierten

Lichtmenge erfolgt in RLU („relative light units“). Mit Hilfe der ermittelten RLU-Werte aus dem PPAR $\gamma$ -Aktivierungstest können Konzentrations-Wirkungs-Kurven erstellt werden, aus denen sich die maximale Aktivierung ( $A_{max}$ ) als Maß für die intrinsische Aktivität einer Verbindung und deren  $EC_{50}$ -Wert (Wendepunkt der sigmoiden Kurve) ablesen lassen. Der  $EC_{50}$ -Wert entspricht der Konzentration einer Verbindung, bei der ein halbmaximaler Aktivierungseffekt hervorgerufen wird und kann daher als Maß für das Aktivierungspotential dieser Verbindung herangezogen werden.

Für die Auswertung des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests werden die ermittelten RLU-Werte als relative Luciferase-Aktivität in Bezug zur maximalen Aktivierung durch Pioglitazon angegeben, wodurch ein Vergleich verschiedener Tests möglich ist.<sup>(102)</sup> Zu diesem Zweck wird in jedem Test Pioglitazon als Kontrolle eingesetzt und die resultierende maximale Luciferase-Aktivierung ( $A_{max}$ ) als 100 % definiert. Gleichzeitig wird die nur durch das Vehikel (DMSO) hervorgerufene Luciferase-Aktivierung gleich 0 % gesetzt. Um experimentelle Schwankungen zu minimieren wird zunächst für jede getestete Verbindung (inklusive Kontrolle und Vehikel) der Quotient der ermittelten RLU-Werte für die Firefly- und der Renilla-Luciferase gebildet. Daraus kann anschließend die relative Luciferase-Aktivität nach folgender Formel berechnet werden:

$$L-A_{rel.} = \frac{(L-A_T - L-A_V)}{(L-A_P - L-A_V)} \cdot 100 \%$$

**Abb. 4.5** Relative Luciferase-Aktivität ( $L-A_{rel}$ ) ( $L-A_T$  = Quotient der Testsubstanz behandelten Zellen,  $L-A_P$  = Quotient der Pioglitazon behandelten Zellen,  $L-A_V$  = Quotient der mit Vehikel behandelten Zellen)

Da die Expression der Firefly-Luciferase vom Ausmaß der PPAR $\gamma$ -Aktivierung abhängt, kann die relative Luciferase-Aktivierung als Maß für PPAR $\gamma$ -Aktivierung herangezogen werden.

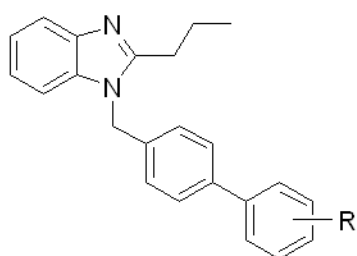
#### 4.2.2 Auswertung und Ergebnisse des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests

Die synthetisierten Substanzen wurden in dem zuvor dargestellten Testsystem mit COS-7 Zellen auf ihre pharmakologische Wirkung an PPAR $\gamma$  untersucht. Neben den synthetisierten Verbindungen wurden Telmisartan und das essentielle Grundgerüst als Referenzen und Pioglitazon als Positivkontrolle in 12 Verdünnungen als dreifache Bestimmung getestet. Zusätzlich wurden in drei Wells Zellen über den gesamten Aktivierungszeitraum mit dem Vehikel (DMSO) als Negativkontrolle behandelt. Durch die Verwendung des Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter Assay Systems ist es gelungen, individuelle experimentelle Schwankungen zu minimieren. Zudem konnten durch die separate Auswertung der RLU-Werte des internen Standards (Renilla-Luciferase) für einige der untersuchten Verbindungen

inklusive Telmisartan ab einer Konzentration von 12.5  $\mu\text{M}$  Wertschwankungen festgestellt werden, die sich auf zytotoxische Effekte und auf typische „Randeffekte“ von 96-Well-Platten zurückführen lassen. Um eine mögliche Verfälschung der Ergebnisse durch diese Effekte auszuschließen, wurden für die Bestimmung der agonistischen Aktivität an PPAR $\gamma$  ausschließlich die ermittelten Werte bis zu einer Konzentration von 6.25  $\mu\text{M}$  verwendet. Aus diesem Grund konnte für einige Verbindungen nicht das Plateau der Konzentrations-Wirkungs-Kurve erreicht werden, so dass die Kurven keinen sigmoiden Verlauf zeigten. In diesen Fällen wurde als EC $_{50}$ -Wert die Konzentration angegeben, bei der die intrinsische Aktivität 50 % der maximalen Aktivierung ( $A_{\text{max}}$ ) beträgt.

#### 4.2.2.1 Verbindungen der Kategorie 1

Zu den untersuchten Verbindungen der Kategorie 1 (Kapitel 1.3.1) gehören die dem essentiellen Grundgerüst **1A** entsprechenden Derivate mit Carbamid (**1B**) bzw. mit Carbonitril (**1C**) in Position 2 des Biphenyl-Systems und die Verbindungen, bei denen sich die Carbonsäure am Biphenyl-System in meta-Position (**1D**) oder in para-Position (**1E**) befindet (Abb. 4.6).



Verbindung	R	EC $_{50}$ [ $\mu\text{M}$ ]	A $_{\text{max}}$ [%] <sup>*</sup>	log <i>P</i>
Pioglitazon	-	0,23 ( $\pm$ 0.14)	100	3.58
Telmisartan	-	1.38 ( $\pm$ 0.11)	58 ( $\pm$ 0.07)	7.23
<b>1A</b>	-COOH (ortho)	1.27 ( $\pm$ 0.08)	69 ( $\pm$ 0.05)	5.67
<b>1B</b>	-CONH $_2$ (ortho)	3.23 **	13**	5.02
<b>1C</b>	-CN (ortho)	0,74 ( $\pm$ 0.03)	36 ( $\pm$ 0.01)	6.15
<b>1D</b>	-COOH (meta)	1.62 ( $\pm$ 0.20)	45 ( $\pm$ 0.12)	5.67
<b>1E</b>	-COOH (para)	1.58 ( $\pm$ 0.14)	59 ( $\pm$ 0.03)	5.67

**Abb. 4.6** Testergebnisse für die Verbindungen der Kategorie 1 (\*gilt für die Konzentration 6.25  $\mu\text{M}$  in Bezug auf die maximale PPAR $\gamma$ -Aktivierung mit Pioglitazon, \*\*einmalige Testung, log *P*: berechnet mit Hilfe von ChemDraw<sup>®</sup> Ultra)

Die Substitution der Carbonsäure durch ein Carbamid in Verbindung **1B** führt zu einer deutlich reduzierten PPAR $\gamma$ -Aktivierung von  $A_{\text{max}} = 13\%$  und die Substitution durch ein Carbonitril in Verbindung **1C** bewirkt im Vergleich zum essentiellen Grundgerüst **1A** eine Reduktion der PPAR $\gamma$ -Aktivierung auf  $A_{\text{max}} = 36\%$ . Der Wechsel der Carbonsäurestellung von der ortho- zur meta-Position in Verbindung **1D** geht mit einer reduzierten PPAR $\gamma$ -Aktivierung von  $A_{\text{max}} = 45\%$  einher. Verbindung **1E** mit der Carbonsäure in para-Position zeigt im Vergleich zur meta-substituierten Verbindung **1D** eine stärkere PPAR $\gamma$ -Aktivierung

von  $A_{\max} = 59\%$ , die aber noch deutlich unter der durch das essentielle Grundgerüst **1A** erreichten maximalen PPAR $\gamma$ -Aktivierung von  $A_{\max} = 69\%$  liegt (Abb. 4.6 und Abb. 4.7).

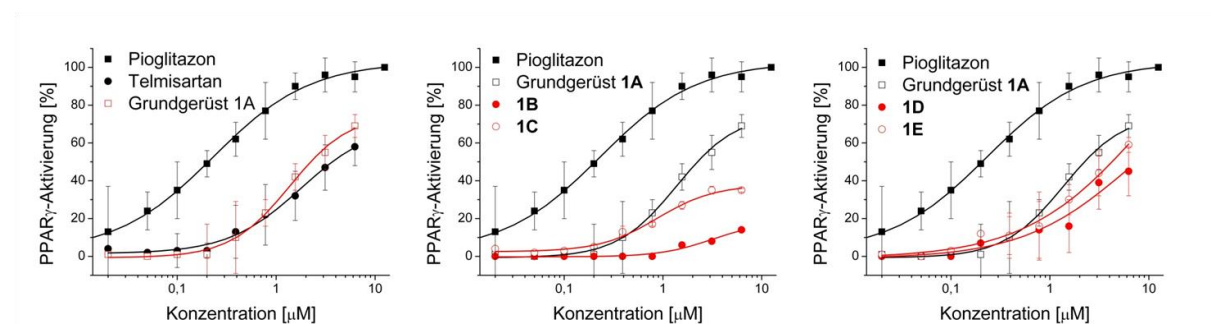


Abb. 4.7 Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die Verbindungen der Kategorie 1

Aus ökonomischen Gründen wurde für die Carbamidverbindung **1B** aufgrund der geringen PPAR $\gamma$ -Aktivierung von der Wiederholung des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests abgesehen.

#### 4.2.2.2 Verbindungen der Kategorie 2

Zu den untersuchten Verbindungen der Kategorie 2 (Kapitel 1.3.1) gehören die jeweiligen Carbonsäure- und Carbamidderivate mit Pentylkette (**2A**, **2B**), Hexylkette (**2C**, **2D**) und Heptylkette (**2E**, **2F**) in Position 2 des Benz[*d*]imidazols (Abb. 4.8).

Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	EC <sub>50</sub> [μM]	A <sub>max</sub> [%] <sup>*</sup>	log P
<b>2A</b>	-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-COOH	0.65 (± 0.19)	93 (± 0.04)	6.51
<b>2B</b>	-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1.36 <sup>**</sup>	12 <sup>**</sup>	5.86
<b>2C</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	-COOH	0.29 (± 0.02)	96 (± 0.00)	6.92
<b>2D</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1.33 <sup>**</sup>	17 <sup>**</sup>	6.27
<b>2E</b>	-C <sub>7</sub> H <sub>15</sub>	-COOH	0.26 (± 0.00)	99 (± 0.00)	7.34
<b>2F</b>	-C <sub>7</sub> H <sub>15</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1.13 <sup>**</sup>	26 <sup>**</sup>	6.69

Abb. 4.8 Testergebnisse für die Verbindungen der Kategorie 2 (\*gilt für die Konzentration 6.25 μM in Bezug auf die maximale PPAR $\gamma$ -Aktivierung mit Pioglitazon, \*\*einmalige Testung, log P: berechnet mit Hilfe von ChemDraw<sup>®</sup> Ultra)

Für die Carbonsäureverbindungen **2A**, **2C** und **2E** hat sich gezeigt, dass mit der Kettenlänge auch intrinsische Aktivität an PPAR $\gamma$  zunimmt. Die maximale PPAR $\gamma$ -Aktivierung liegt bei allen drei Verbindungen über der des essentiellen Grundgerüsts **1A** und erreicht bei Verbindung **2E** mit  $A_{\max} = 99\%$  eine mit Pioglitazon vergleichbare PPAR $\gamma$ -Aktivierung. Die Carbamidverbindungen **2B**, **2D** und **2F** sind im Vergleich zum essentiellen Grundgerüst **1A** durch einen deutlichen Wirkverlust gekennzeichnet (Abb. 4.8 bzw. Abb. 4.9).



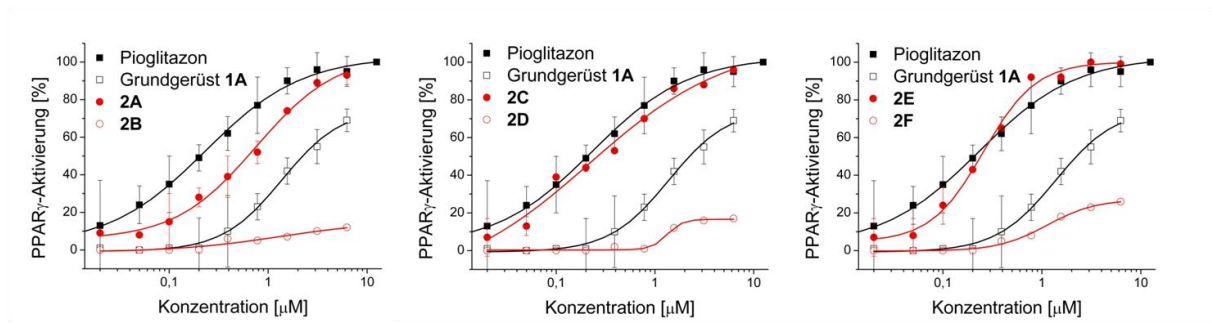


Abb. 4.9 Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die Verbindungen der Kategorie 2

Aus ökonomischen Gründen wurde für die Carbamidverbindungen **2B**, **2D** und **2F** aufgrund der geringen PPAR $\gamma$ -Aktivierung von der Wiederholung des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests abgesehen.

#### 4.2.2.3 Verbindungen der Kategorie 3

Zu den untersuchten Verbindungen der Kategorie 3 (Kapitel 1.3.1) gehören zum einen die Benzo[*d*]thiazolderivate mit Carbonsäure (**3A**) bzw. Carbamid (**3B**) in Position 2 des Biphenyl-Systems sowie zum anderen die Indolderivate mit entweder Carbonsäure (**3C**), Carbamid (**3D**) oder Carbonitril (**3E**) in Position 2 des Biphenyl-Systems (Abb. 4.10).

Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	EC <sub>50</sub> [μM]	A <sub>max</sub> [%] <sup>a</sup>	log P
<b>3A</b>	-S-	-COOH	0.76 (± 0.13)	54 (± 0.01)	6.74
<b>3B</b>	-S-	-CONH <sub>2</sub>	1.08**	14**	6.09
<b>3C</b>	-C=	-COOH	1.03 (± 0.01)	68 (± 0.08)	6.02
<b>3D</b>	-C=	-CONH <sub>2</sub>	0.80**	7**	5.36
<b>3E</b>	-C=	-CN	1.07**	16**	6.49

Abb. 4.10 Testergebnisse für die Verbindungen der Kategorie 3 (\*gilt für die Konzentration 6.25 μM in Bezug auf die maximale PPAR $\gamma$ -Aktivierung mit Pioglitazon, \*\*einmalige Testung, log *P*: berechnet mit Hilfe von ChemDraw<sup>®</sup> Ultra)

Der Austausch des Benz[*d*]imidazols gegen ein Benzo[*d*]thiazol in Verbindung **3A** führt zu einer reduzierten PPAR $\gamma$ -Aktivierung von A<sub>max</sub> = 54 %. Die Indolverbindung **3C** zeigt mit A<sub>max</sub> = 68 % eine dem essentiellen Grundgerüst **1A** vergleichbare PPAR $\gamma$ -Aktivierung, wohingegen man für die Carbamidverbindungen **3B** und **3D** und für die Carbonitrilverbindung **3E** im Vergleich zum essentiellen Grundgerüst **1A** eine deutliche Reduktion der PPAR $\gamma$ -Aktivierung beobachten kann (Abb. 4.10 bzw. Abb. 4.11).

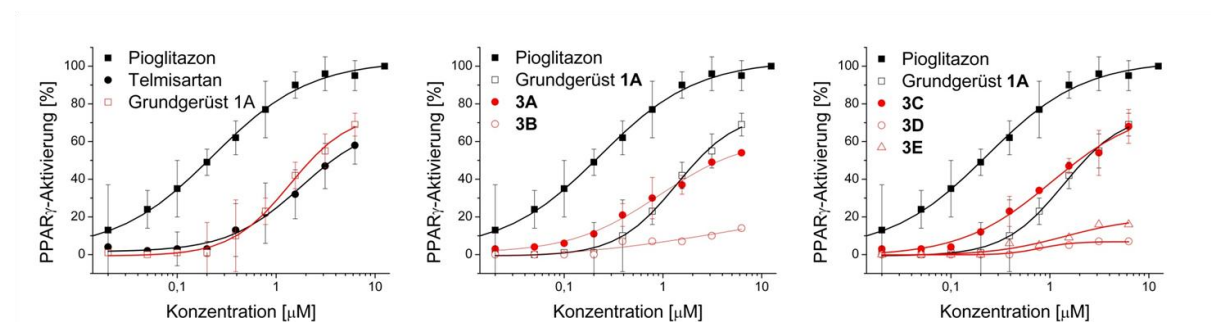


Abb. 4.11 Konzentrations-Wirkungskurven für die Verbindungen der Kategorie 3

Aus ökonomischen Gründen wurde für die Carbamidverbindungen **3B** und **3D** und für die Carbonitrilverbindung **3E** aufgrund der geringen PPAR $\gamma$ -Aktivierung von der Wiederholung des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests abgesehen.

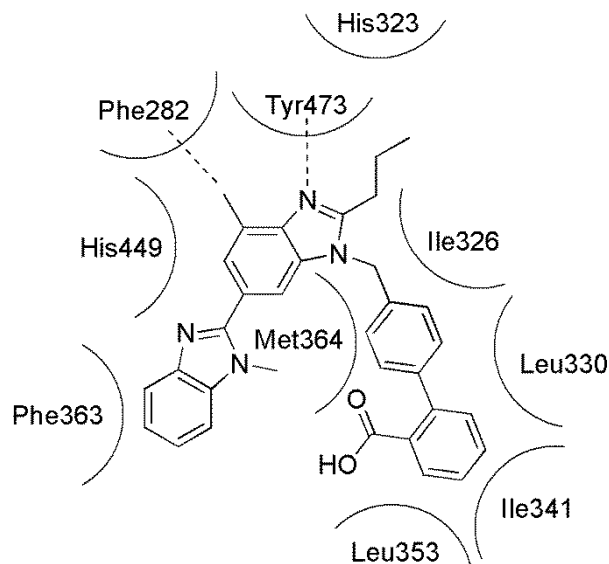
### 4.2.3 Diskussion der Testergebnisse

Bei der ligandenabhängigen Rezeptoraktivierung spielen vor allem sterische Effekte und verschiedene nichtkovalente Interaktionen zwischen dem Liganden und den Aminosäuren der Ligandenbindungsdomäne wie Wasserstoffbrückenbindungen, elektrostatische, ionische oder hydrophobe Wechselwirkungen eine entscheidende Rolle. Das Ausmaß dieser Wechselwirkungen steht dabei oft in Korrelation zur Lipophilie einer Verbindung, die als dekadischer Logarithmus des Verteilungskoeffizienten ( $\log$ - $P$  Wert) zwischen einer 1-Octanol- und einer Wasserphase angegeben werden kann (Abb. 4.12). Der für die in dieser Arbeit untersuchten Verbindungen angegebene  $\log$ - $P$  Wert wurde mit Hilfe von ChemDraw<sup>®</sup> Ultra berechnet und kann daher nur als theoretischer Wert angesehen werden.

$$\log P = \log \left( \frac{c_o}{c_w (1-\alpha)} \right)$$

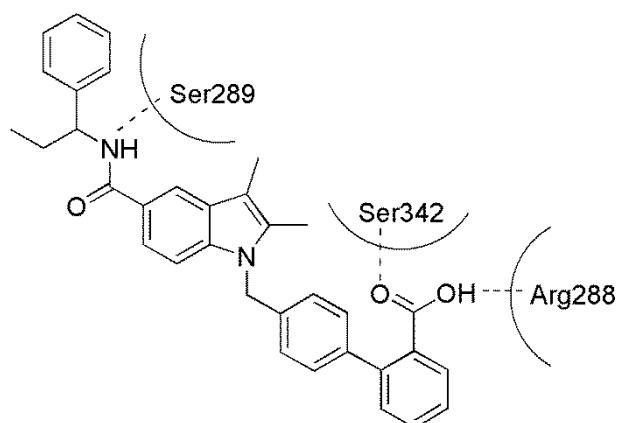
Abb. 4.12  $\log$   $P$  Wert als Maß für die Lipophilie einer Verbindung ( $c_o$ : Konzentration in 1-Octanol,  $c_w$ : Konzentration in Wasser,  $\alpha$ : Dissoziationsgrad in Wasser)<sup>(126)</sup>

Als weiteres Hilfsmittel für die Analyse der möglichen Wechselwirkungen der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungsdomäne können Röntgenkristallstrukturen von bereits bekannten Agonisten verwendet werden. Für PPAR $\gamma$  stehen diesbezüglich verschiedene Röntgenkristallstrukturen von sowohl partiellen als auch von vollen Agonisten zur Verfügung.



**Abb. 4.13** Interaktionen von Telmisartan innerhalb der PPAR $\gamma$ -LBD (His: Histidin, Ile: Isoleucin, Leu: Leucin, Met: Methionin, Phe: Phenylalanin), adaptiert nach<sup>(127)</sup>

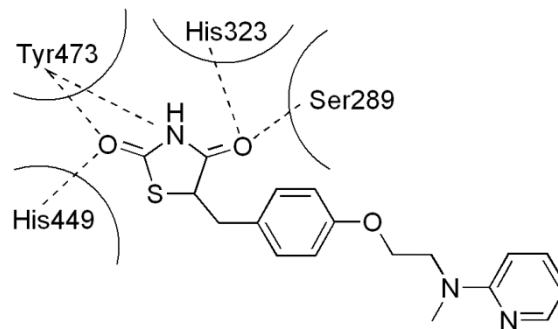
Die Röntgenkristallstruktur des Telmisartan-PPAR $\gamma$ -LBD-Komplexes zeigt für das zentrale Benz[*d*]imidazol eine spezifische Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Stickstoff (N3') und Tyrosin473 (Tyr473) in Helix 12 (H12),  $\pi$ -Interaktionen zwischen dem Benzolring und Histidin449 (His449) sowie Van-der-Waals-Interaktionen zwischen der Methylgruppe und Phenylalanin282 (Phe282). Das zweite Benz[*d*]imidazol geht  $\pi$ -Interaktionen mit der Aminosäure Phenylalanin363 (Phe363) in Helix 9 (H9) ein und das Biphenyl-System steht in hydrophober Wechselwirkung mit den fünf Aminosäuren Methionin364 (Met364), Leucin353 (Ile353), Isoleucin341 (Ile341), Leucin330 (Leu330) und Isoleucin326 (Ile326) in Helix 5 (H5) bis Helix 7 (H7). Für die Carbonsäure ist entgegen früherer Vermutungen keine Wechselwirkung innerhalb der Ligandenbindungstasche zu beobachten (Abb. 4.13).<sup>(127)</sup>



**Abb. 4.14** Spezifische Interaktionen des partiellen PPAR $\gamma$ -Agonisten 7b innerhalb der PPAR $\gamma$ -LBD (Arg: Arginin, Ser: Serin), adaptiert nach<sup>(128)</sup>

Der partielle PPAR $\gamma$ -Agonist 7b verfügt ebenfalls über eine Carbonsäurefunktion, die innerhalb der Ligandenbindungstasche spezifische Wasserstoffbrückenbindungen zu den

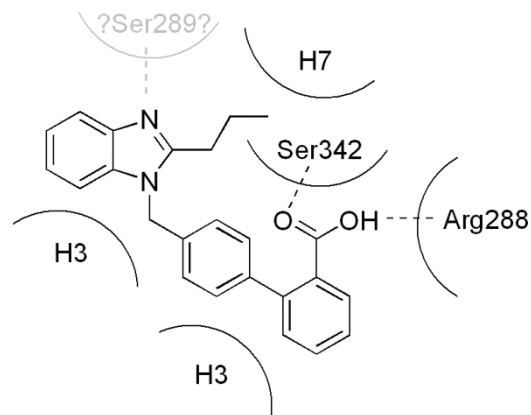
Aminosäuren Serin342 (Ser342) und Arginin288 (Arg288) ausbildet (Abb. 4.14). Zudem zeigt die Röntgenkristallstruktur des 7b-PPAR $\gamma$ -LBD-Komplexes eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Amidstickstoff und der Aminosäure Serin289 (Ser289). Im Gegensatz zum vollen PPAR $\gamma$ -Agonisten Rosiglitazon (Abb. 4.15) ist für Verbindung 7b keine Interaktion mit Aminosäuren in der Aktivierungsfunktion 2 (AF-2) in H12 zu beobachten.<sup>(128)</sup>



**Abb. 4.15** Spezifische Interaktionen des vollen PPAR $\gamma$ -Agonisten Rosiglitazon innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche (His: Histidin, Ser: Serin, Tyr: Tyrosin), adaptiert nach<sup>(128, 129)</sup>

Für Rosiglitazon konnten in H12 (AF-2) spezifische Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Thiazolidindion und den vier Aminosäuren Serin289 (Ser289), Histidin323 (His323), Histidin449 (His449) und Tyrosin 473 (Tyr473) aufgezeigt werden.<sup>(128, 129)</sup> Diese Interaktionen führen insgesamt zu einer Rezeptorstabilisierung und sind charakteristisch für eine PPAR $\gamma$ -Aktivierung durch volle Agonisten.<sup>(130)</sup> Eine Rezeptoraktivierung, bei der es zu keiner oder nur zu einer abgeschwächten Interaktion mit der H12 (AF-2) kommt, ist charakteristisch für das Aktivierungsverhalten von SPPAR $\gamma$ Ms.<sup>(131)</sup>

Bei den in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen handelt es sich um strukturelle Abwandlungen des Telmisartan-Grundgerüsts, so dass prinzipiell eine Telmisartan-ähnliche Orientierung innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungsdomäne möglich wäre. Da jedoch bei den untersuchten Verbindungen die Substitution der Carbonsäure durch ein Carbamid zu einem deutlichen Wirkverlust führt, liegt die Vermutung nahe, dass bei diesen Verbindungen auch die Carbonsäure spezifische Interaktionen innerhalb der Ligandenbindungstasche eingeht. Aus diesem Grund wird für die Verbindungen der Kategorien 1 und 3 (Kapitel 1.3.1) eine räumliche Orientierung analog zu der des partiellen Agonisten 7b angenommen. Für die Verbindungen der Kategorie 2 (Kapitel 1.3.1) wird aufgrund der starken PPAR $\gamma$ -Aktivierung eine Rosiglitazon-ähnliche Orientierung innerhalb der Ligandenbindungstasche vermutet.

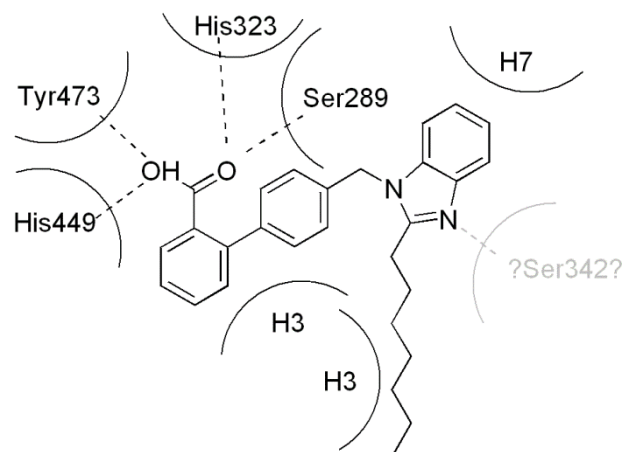


**Abb. 4.16** Interaktionsmöglichkeiten für das essentielle Grundgerüst **1A** innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche (Arg: Arginin, Ser: Serin)

Bei einer räumlichen Orientierung analog zu der des partiellen PPAR $\gamma$ -Agonisten **7b** ist für das essentielle Grundgerüst **1A** die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Carbonsäure und den Aminosäuren Serin342 (Ser342) und Arginin288 (Arg288) möglich. Zudem ist eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem unsubstituierten Stickstoffatom in Position 3 des Benz[*d*]imidazols und der Aminosäure Serin289 (Ser289) vorstellbar (Abb. 4.16).

Der Wirkverlust, der bei einer Substitution der Carbonsäure durch ein Carbamid in Verbindung **1B** oder ein Carbonitril in Verbindung **1C** zu beobachten ist, lässt sich durch eine schwächere Ausprägung oder das generelle Ausbleiben der zuvor beschriebenen Wasserstoffbrückenbindungen zu Ser342 und Arg288 erklären.

Das geringere Aktivierungspotential von Verbindung **1D** und Verbindung **1E** kann ebenfalls darauf zurückgeführt werden, dass aufgrund der abweichenden Carbonsäurestellung die Wasserstoffbrückenbindungen zu Ser342 und Arg288 entweder schwächer ausgeprägt sind oder überhaupt nicht ausgebildet werden.

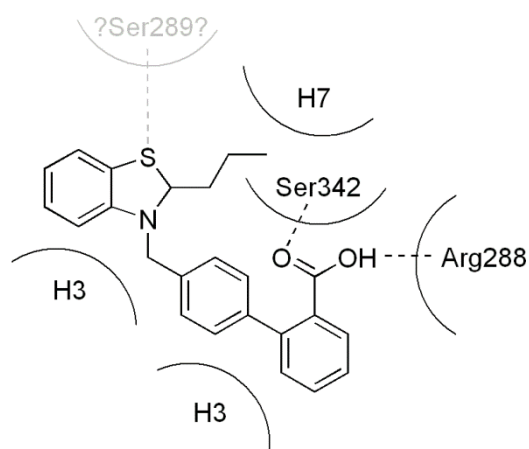


**Abb. 4.17** Interaktionsmöglichkeiten für die Carbonsäureverbindungen der Kategorie 2 (am Beispiel von Verbindung **2E**) innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche (His: Histidin, Ser: Serin, Tyr: Tyrosin)

Bei den Verbindungen der Kategorie 2 konnte mit zunehmender Kettenlänge ein deutlicher Anstieg der PPAR $\gamma$ -Aktivierung beobachtet werden, der auf eine Korrelation von Lipophilie und Aktivierungspotential hinweist. Bemerkenswerterweise zeigen die Verbindungen **2A**, **2C** und **2E** eine deutlich größere intrinsische Aktivität als das essentielle Grundgerüst **1A**, die auf den Verlust des partiell-agonistischen Charakters schließen lässt. Bei der vermuteten Rosiglitazon-ähnlichen Orientierung innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche ist die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen mit den Aminosäuren Histidin323 (His323), Histidin449 (His449) und Tyrosin473 (Tyr473) in H12 (AF-2) möglich, die charakteristisch für eine Rezeptoraktivierung durch volle Agonisten sind (Abb. 4.17). Zudem können sich die längeren Alkylketten durchaus flexibel in die Ligandenbindungstasche einfügen und so zu einer optimalen Orientierung für eine volle Rezeptoraktivierung führen.

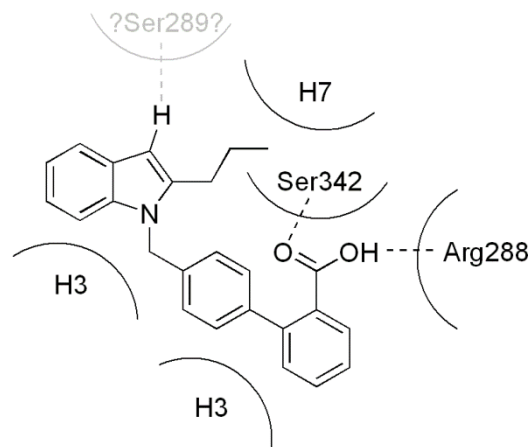
Die Substitution der Carbonsäure durch ein Carbamid führt auch bei den Verbindungen der Kategorie 2 zu einem deutlichen Wirkverlust, der sich ebenfalls durch das Ausbleiben oder eine schwächere Ausprägung der charakteristische Wasserstoffbrückenbindungen mit den Aminosäuren Histidin323 (His323), Histidin449 (His449) und Tyrosin473 (Tyr473) erklären lässt.

Die Substitution des aromatischen Benz[*d*]imidazols im essentiellen Grundgerüst **1A** durch den nichtaromatischen Heterozyklus Benzo[*d*]thiazol in Verbindung **3A** führt zu einer verringerten PPAR $\gamma$ -Aktivierung, was darauf hinweist, dass die Position 3 des Heterozyklus für die Rezeptoraktivierung von Bedeutung ist. Es ist vorstellbar, dass an dieser Stelle eine spezifische Wasserstoffbrückenbindung zu einer bestimmten Aminosäure (z.B. Serin289 (Ser289)) ausgebildet wird, die bei Verbindung **3A** entweder aufgrund der geringeren Elektronegativität des Schwefelatoms schwächer ausgeprägt ist oder aufgrund der nicht-planaren Konfiguration des Benzo[*d*]thiazols nicht ausgebildet werden kann (Abb. 4.18).



**Abb. 4.18** Interaktionsmöglichkeiten für Verbindung **3A** innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche (Arg: Arginin, Ser: Serin)

Die Substitution des Benz[*d*]imidazols durch ein Indol in Verbindung **3C** führt dagegen zu keiner signifikanten Veränderung der PPAR $\gamma$ -Aktivierung, weshalb das Vorhandensein eines Heteroatoms in Position 3 des Heterozyklus für die Rezeptoraktivierung nicht zwingend erforderlich zu sein scheint. Die Ausbildung einer spezifischen Wasserstoffbrückenbindung an dieser Stelle ist theoretisch auch für Verbindung **3C** möglich (Abb. 4.19).



**Abb. 4.19** Interaktionsmöglichkeiten für Verbindung **3C** innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche (Arg: Arginin, Ser: Serin)

Auch bei den Verbindungen der Kategorie 3 geht die Substitution der Carbonsäure durch ein Carbamid oder ein Carbonitril mit einem deutlichen Wirkverlust einher, der sich durch eine schwächere Ausprägung oder das Ausbleiben der charakteristischen Wasserstoffbrückenbindungen mit Serin342 (Ser342) und Arginin288 (Arg288) erklären lässt.





## 5 Ausblick

Für weiterführende Untersuchungen könnte es von Interesse sein, die Kofaktorrekutierung und die jeweilige durch PPAR $\gamma$ -Aktivierung ausgelöste Genexpression der synthetisierten Verbindungen zu charakterisieren. Docking Studien und Röntgenkristallstrukturen von den untersuchten Verbindungen innerhalb der PPAR $\gamma$ -Ligandenbindungstasche könnten weiteren Aufschluss über spezifische Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen ergeben.

Im Hinblick auf das vielversprechende Wirkprofil von dual- bzw. pan-Agonisten für die Therapie des Metabolischen Syndroms könnte für die synthetisierten Verbindungen sowohl das Aktivierungspotential für PPAR $\alpha$  und PPAR $\beta/\delta$  als auch die antagonistische Aktivität am Angiotensin-II-Rezeptor-Typ-1 untersucht werden.

Weiterführende Synthesen könnten Aufschluss darüber geben, bei welcher Alkylkettenlänge die maximale PPAR $\gamma$ -Aktivierung erreicht wird und darüber hinaus könnte der Einfluss von ungesättigten Alkylketten auf das PPAR $\gamma$ -Aktivierungspotential untersucht werden. Trennung und pharmakologische Untersuchung der Diastereomere von Verbindung **3A** könnten weitere Erkenntnisse über das Ligandenbindungsverhalten von PPAR $\gamma$  ergeben.

Untersuchungen bezüglich der Zytotoxizität erscheinen ebenfalls sinnvoll und notwendig, da bei einigen Verbindungen im PPAR $\gamma$ -Aktivierungstest in höheren Konzentrationen toxische Effekte beobachtet werden konnten.



## 6 Zusammenfassung / Abstract

### 6.1 Zusammenfassung

Das Metabolische Syndrom ist eine multidimensionale Erkrankung mit äußerst heterogener Symptomatik für deren umfassende Therapie Patienten in der Regel mehrere verschiedene Arzneistoffe einnehmen müssen. Im Hinblick auf Compliance und Verträglichkeit ist die Entwicklung eines Arzneistoffes für die gleichzeitige Behandlung mehrerer Symptome ein wichtiges Ziel in der medizinischen Forschung. In diesem Zusammenhang haben sich die Peroxisom Proliferator-aktivierten Rezeptoren als ein vielversprechendes Forschungsobjekt herausgestellt. Ein geeignetes Wirkprofil verspricht man sich insbesondere von SPPAR $\gamma$ Ms und von dual- bzw. pan-PPAR-Agonisten.

Der Angiotensin-II-Rezeptor-Typ-1-Antagonist Telmisartan hat sich bereits in früheren Untersuchungen als partieller PPAR $\gamma$ -Agonist mit modulierenden Eigenschaften (SPPAR $\gamma$ M) herausgestellt. In der vorliegenden Arbeit wurden ausgehend von dem für die PPAR $\gamma$ -Aktivierung essentiellen Grundgerüst (4'-[(2-Propyl-1H-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure) unterschiedliche Verbindungen entwickelt und erfolgreich synthetisiert. Die strukturellen Veränderungen wurden sowohl an den Resten in Position 1 und 2 als auch direkt an Position 3 des Benz[d]imidazols vorgenommen.

Zur Ermittlung der potentiellen agonistischen Aktivität an PPAR $\gamma$  wurden die synthetisierten Verbindungen in zwei etablierten *in vitro* Testsystemen eingesetzt. Die pharmakologischen Untersuchungen haben ergeben, dass der Austausch der Carbonsäure in Position 2 des Biphenyl-Systems durch ein Carbamid oder Carbonitril mit einem deutlichen Aktivitätsverlust einhergeht. Bei einer Veränderung der Carbonsäure-Position am Biphenyl-System von Position 2 zu Position 3 war ebenfalls ein leichter Aktivitätsverlust zu beobachten. Die Verbindung mit der Carbonsäure in Position 4 zeigte dagegen eine dem essentiellen Grundgerüst vergleichbare PPAR $\gamma$ -Aktivierung. Desweiteren konnte festgestellt werden, dass durch die Einführung räumlich großer Substituenten in Position 2 des Benz[d]imidazols ein Übergang von partiellem zu vollem Agonismus stattfindet. Der Austausch des Benz[d]imidazols durch ein Benzo[d]thiazol und der damit einhergehende Verlust des aromatischen Charakters führte zu einer reduzierten Aktivität. Die entsprechende Indol-Verbindung zeigte eine dem essentiellen Grundgerüst vergleichbare PPAR $\gamma$ -Aktivierung.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern zum einen neue Einblicke in das Ligandenbindungsverhalten von PPAR $\gamma$  und bilden gleichzeitig eine Grundlage in der Entwicklung potentieller Wirkstoffe für die Therapie des Metabolischen Syndroms.

### 6.2 Abstract

Metabolic syndrome is a multidimensional disorder with extremely heterogeneous symptoms so that for comprehensive treatment patients usually have to take a number of different drugs. In terms of compliance and compatibility, the development of a drug for the simultaneous treatment of multiple symptoms is an important goal in medical research. In this context the peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) have emerged as a promising object of research. In particular, selective PPAR modulators (SPPARMs) and dual- or pan-PPAR agonists exhibit a suitable pharmacological profile.

Previously, the Angiotensin II receptor type 1 antagonist telmisartan was identified as a partial PPAR $\gamma$  agonist with modulating activation profile. In the present study, several different compounds were developed and successfully synthesised based on a chemical scaffold (4'-[(2-Propyl-1H-benzo[d]imidazole-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carboxylic acid) that was found to be the essential structure part of telmisartan for PPAR $\gamma$  activation. The structural modifications were performed on the moieties in position 1 and 2 and directly on position 3 of the benzimidazole.

The synthesised compounds were investigated in two established *in vitro* assays, and these pharmacological studies have revealed that an exchange of the carboxyl group in position 2 of the biphenyl structure by either a carbamide or a carbonitrile moiety leads to a significant loss of activity. An alteration in the position of the carboxyl group within the biphenyl system from position 2 to position 3 was also accompanied by a slight loss of activity whereas the compound with the carboxyl group in position 4 of the biphenyl moiety exhibited PPAR $\gamma$ -activation comparable to the basic scaffold mentioned above. Furthermore it was found that due to the introduction of spatially large moieties in position 2 of the benzimidazole a transition from partial to full agonism occurs. Replacement of the benzimidazole by a benzo[d]thiazole and the accompanying loss of the aromatic character led to reduced activation. The corresponding indole derivative caused activation similar to the basic scaffold.

The results of this structure activity relationship study deliver new insight into the ligand binding behavior of PPAR $\gamma$  and provide a basis for the development of potential drugs for treatment of metabolic syndrome.

## 7 Experimentelle Daten

### 7.1 Analytischer und Synthetischer Teil

#### 7.1.1 Allgemeine Angaben

##### 7.1.1.1 Chemikalien

Die für die Synthesen und die Analytik verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Acros Organics (Geel, Belgien), Alfa Aesar (Karlsruhe), Fluka (siehe Sigma Aldrich), Lancaster (Morecambe, England), Merck (Darmstadt), Sigma-Aldrich (Steinheim) und VWR (Darmstadt) bezogen.

##### 7.1.1.2 Geräte und Materialien

Elementaranalysator Vario EL	Elementar (Hanau)
Eismaschine AF 100	Scotsman® Ice Systems
Heizpilz	Heraeus-Wittmann
Kernresonanz-Spektrometer Avance/DPX 400 (Betriebsfrequenz 400 MHz)	Bruker (Karlsruhe)
Kieselgel 60 (Korngröße 0.063-0.100 / 0.040-0.063 mm)	Merck (Darmstadt)
Kieselgel DAVISIL® LC 60A (Korngröße 0.07-0.200 mm)	Grace Davison (Worms)
Kieselgel-60-F254-Folien	Merck (Darmstadt)
Laborkühlschrank	VWR (Darmstadt)
Magnetrührer (RCT basic IKAMAG)	IKA (Staufen)
Massenspektrometer CH-7A (EI-MS, 70 eV)	Varian MAT (Bremen)

Massenspektrometer Agilent 6210 (ESI)	Agilent Technologies (Santa Clara, USA)
Ölpumpe (Drehschiebervakuumpumpe)	VACUUBRAND (Wertheim)
Rotationsverdampfer (Membranvakuumpumpe)	VACUUBRAND (Wertheim)
Rotationsverdampfer (Rotavapor RE-111)	BÜCHI (Essen)
Schmelzpunktapparatur Büchi B-545	BÜCHI (Essen)
Trockenschrank	Heraeus (Hanau)
UV-Betrachter (254 nm bzw. 366 nm)	CAMAG (Berlin)
Ultraschallbad (Bandelin Sonorex Super RK 106)	Bandelin (Berlin)
Waage (MP-3000)	Chyo Balance Corporation (Tokio, Japan)
Waage (METTLER AE 200-S)	Mettler Toledo (Gießen)
Wasserbad HB R2	Heidolph Instruments (Schwabach)

### 7.1.1.3 Hochauflösende Massenspektrometrie

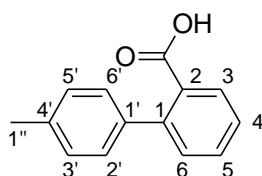
Zur Bestimmung der Reinheit sollten die ermittelten Massen bei der hochauflösenden Massenspektrometrie auf 7 ppm genau sein. die jeweiligen ppm-Werte können nach folgender Formel berechnet werden.<sup>(132)</sup>

$$X \text{ [ppm]} = \frac{\text{Masse}_{(\text{berechnet})} - \text{Masse}_{(\text{gefunden})}}{\text{Masse}_{(\text{gefunden})}} \cdot 10^6$$

**Abb. 7.1** Formel für die Berechnung der ppm-Werte (zur Bestimmung der Reinheit einer Verbindung)

### 7.1.2 Analytische Daten und Synthesevorschriften

#### 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (1)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.29 g (1.35 mmol, 54 %)

**Summenformel:** C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

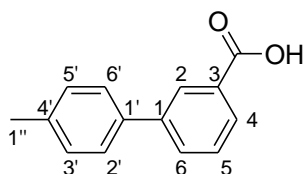
**Molekulargewicht:** 212.24

**MS: (EI, 50 °C)** m/z 212.2 (M<sup>+</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.8 (s, flach, breit, austauschbar, 1H, COOH), 7.66 (d, 1H, H3), 7.52 (dd, 1H, H5), 7.41 (dd, 1H, H4), 7.34 (d, 1H, H6), 7.21 (m [AA',BB'-System], 4H, H2'+H3'+H5'+H6'), 2.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (2.49 mmol) 2-Brombenzoesäure werden bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre zusammen mit 1.15 mg (0.005 mmol bzw. 0.1 mol %) Palladiumacetat in 15 ml Wasser suspendiert. Nach 5 Minuten Rühren wird das Gemisch erst mit 0.36 g (2.61 mmol) p-Toluolborsäure und danach mit 0.42 g (7.47 mmol) Kaliumhydroxid versetzt und für 5 Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der pH-Wert der Lösung vorsichtig mit Salzsäure in den sauren Bereich überführt und das Produkt mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt.

4'-Methyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäure (2)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.52 g (2.45 mmol, 98 %)

**Summenformel:** C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

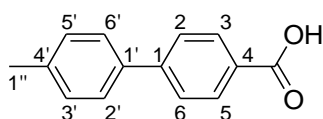
**Molekulargewicht:** 212.24

**MS: (EI, 50 °C)** m/z 212.2 (M<sup>+</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 13.06 (s, austauschbar, 1H, COOH), 8.16 (dds, 1H, H<sub>2</sub>), 7.90 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.58 (dd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.59 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>' + H<sub>6</sub>'), 7.30 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>' + H<sub>5</sub>'), 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (2.49 mmol) 3-Brombenzoesäure werden bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre zusammen mit 1.15 mg (0.005 mmol bzw. 0.1 mol %) Palladiumacetat in 15 ml Wasser suspendiert. Nach 5 Minuten Rühren wird das Gemisch erst mit 0.36 g (2.61 mmol) p-Toluolborsäure und danach mit 0.42 g (7.47 mmol) Kaliumhydroxid versetzt. Nach weiteren 30 Minuten Rühren bei Raumtemperatur ist die Reaktion bereits vollständig abgelaufen. Vorsichtig wird der pH-Wert der Lösung mit Salzsäure in den sauren Bereich überführt und das Produkt mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/ Methanol (9+1)] gereinigt.

4'-Methyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäure (3)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.38 g (1.79 mmol, 72 %)

**Summenformel:** C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 212.24

**MS: (EI, 90 °C)** m/z 212.1 (M<sup>+</sup> 100 %)

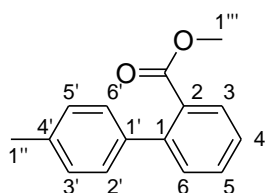
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.93 (s, austauschbar, 1H, COOH), 8.00 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>), 7.77 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>), 7.63 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>' + H<sub>6</sub>'), 7.31 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>' + H<sub>5</sub>'), 2.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (2.49 mmol) 4-Brombenzoesäure werden bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre zusammen mit 0.36 g (2.61 mmol) p-Toluolborsäure und 1.15 mg (0.005 mmol bzw. 0.1 mol %) Palladiumacetat in 15 ml Wasser suspendiert und nach 5 Minuten Rühren mit 0.42 g (7.47 mmol) Kaliumhydroxid versetzt. Nach weiteren 30 Minuten Rühren ist die Reaktion bereits vollständig abgelaufen und der pH-Wert der



Lösung wird vorsichtig mit Salzsäure in den sauren Bereich überführt wobei das Produkt ausfällt. Der graue Niederschlag wird durch Filtration isoliert und in der Fritte mit Methanol übergossen. Das Produkt geht wieder in Lösung und die Palladiumkohle verbleibt in der Fritte. Abschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/ Methanol (98+2)] gereinigt.

#### 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (4)



**Aussehen:** gelbes Öl

**Ausbeute:** 0.25 g (1.11 mmol, 94 %)

**Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>

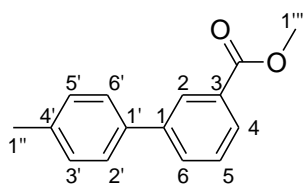
**Molekulargewicht:** 226.27

**MS: (EI, 35 °C)** m/z 226.3 (M<sup>+</sup> 95 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.70 (d, 1H, H<sub>3</sub>), 7.60 (dd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.46 (dd, 1H, H<sub>4</sub>), 7.41 (d, 1H, H<sub>6</sub>), 7.20 (m [AA',BB'-System], 4H, H<sub>2'+H3'+H5'+H6'</sub>), 3.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'''), 2.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'')

**Synthesevorschrift:** 0.25 g (1.18 mmol) 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure werden unter Rühren in 10 ml absolutem Methanol suspendiert. Anschließend werden unter Rückflusskühlung langsam 0.13 ml konzentrierte Schwefelsäure (2.36 mmol) zugetropft und der Ansatz wird 5 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 10 ml Wasser versetzt und das Produkt mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt.

4'-Methyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (5)



**Aussehen:** ockerfarbener Feststoff

**Ausbeute:** 0.21 g (0.91 mmol, 77 %)

**Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>

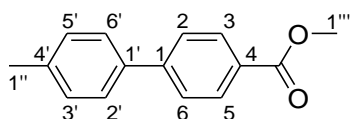
**Molekulargewicht:** 226.27

**MS: (EI, 35 °C)** m/z 226.3 (M<sup>+</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 8.16 (dds, 1H, H<sub>2</sub>), 7.93 (dd, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.61 (dd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.60 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.31 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>'), 3.89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1''), 2.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1''')

**Synthesevorschrift:** 0.25 g (1.18 mmol) 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäure werden unter Rühren in 10 ml absolutem Methanol suspendiert. Anschließend werden unter Rückflusskühlung langsam 0.13 ml konzentrierte Schwefelsäure (2.36 mmol) zugetropft und der Ansatz wird 5 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 10 ml Wasser versetzt und das Produkt mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt.

4'-Methyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (6)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.20 g (0.90 mmol, 76 %)

**Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>

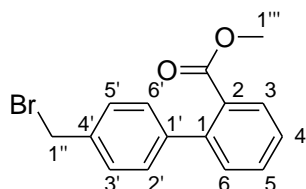
**Molekulargewicht:** 226.27

**MS: (EI, 50 °C)** m/z 226.2 ( $M^+$  100 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz/ $d_6$ -DMSO):**  $\delta$  (ppm) 8.02 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>), 7.80 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>), 7.64 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2'</sub>+H<sub>6'</sub>), 7.31 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3'</sub>+H<sub>5'</sub>), 3.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'''), 2.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1'')

**Synthesevorschrift:** 0.25 g (1.18 mmol) 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäure werden unter Rühren in 10 ml absolutem Methanol suspendiert. Anschließend werden unter Rückflusskühlung langsam 0.13 ml konzentrierte Schwefelsäure (2.36 mmol) zugetropft und der Ansatz wird 5 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 10 ml Wasser versetzt und das Produkt mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt.

4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (7)



**Aussehen:** hellgelbes Öl

**Ausbeute:** 0.17 g (0.55 mmol, 83 %)

**Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 305.17

**MS: (EI, 40 °C)** m/z 305.9 ( $M^+$  5 %), 225.1 ( $M^+ - \text{Br}^-$  100 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz/ $d_6$ -DMSO):**  $\delta$  (ppm) 7.75 (d, 1H, H<sub>3</sub>), 7.63 (dd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.50 (dd, 1H, H<sub>4</sub>), 7.49 (d [Teil eines AA',BB'-Systems], 2H, H<sub>3'</sub>+H<sub>5'</sub>), 7.44 (d, 1H, H<sub>6</sub>), 7.28 (d [Teil eines AA',BB'-Systems], 2H, H<sub>2'</sub>+H<sub>6'</sub>) 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>1'') 3.60 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1''')

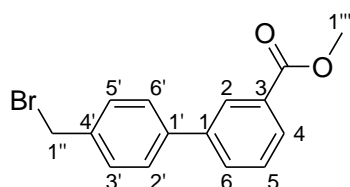
**Synthesevorschrift:** 0.15 g (0.66 mmol) 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester werden in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und unter Rühren werden 0.13 g (0.73 mmol)

## Experimentelle Daten

---

*N*-Bromsuccinimid und 9 mg (0.04 mmol) Dibenzoylperoxid zugegeben. Der Ansatz wird 4 Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und anschließend heiß filtriert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der verbleibende Rückstand durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Petrolether/Diethylether (5+1)] gereinigt.

### 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (8)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.18 g (0.58 mmol, 88 %)

**Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>2</sub>

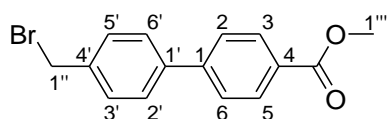
**Molekulargewicht:** 305.17

**MS: (EI, 50 °C)** m/z 305.6 (M<sup>+</sup> 4.5 %), 225.1 (M<sup>+</sup> - Br<sup>-</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ 8.16 (dds, 1H, H<sub>2</sub>), (ppm) 7.93 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.68 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.60 (dd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.53 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>') 4.74 (s, 2H CH<sub>2</sub>1''), 3.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1''')

**Synthesevorschrift:** 0.15 g (0.66 mmol) 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester werden in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und unter Rühren werden 0.13 g (0.73 mmol) *N*-Bromsuccinimid und 9 mg (0.04 mmol) Dibenzoylperoxid zugegeben. Der Ansatz wird 4 Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und anschließend heiß filtriert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der verbleibende Rückstand durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Petrolether/Diethylether (5+1)] gereinigt und in Diethylether/Petrolether umkristallisiert.

### 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (9)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.16 g (0.53 mmol, 80 %)

**Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>2</sub>

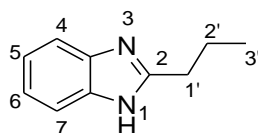
**Molekulargewicht:** 305.17

**MS: (EI, 90 °C)** m/z 305.7 (M<sup>+</sup> 6 %), 225.0 (M<sup>+</sup> - Br<sup>-</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 8.04 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>), 7.84 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>), 7.75 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>2</sub>' + H<sub>6</sub>'), 7.58 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H<sub>3</sub>' + H<sub>5</sub>'), 4.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>1''), 3.88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>1''')

**Synthesevorschrift:** 0.15 g (0.66 mmol) 4'-Methyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester werden in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und unter Rühren werden 0.13 g (0.73 mmol) *N*-Bromsuccinimid und 9 mg (0.04 mmol) Dibenzoylperoxid zugegeben. Der Ansatz wird 5 Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und anschließend heiß filtriert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der verbleibende Rückstand durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Petrolether/Diethylether (5+1)] gereinigt.

### 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol (10)



**Aussehen:** rosafarbene Kristalle

**Ausbeute:** 0.46 g (2.87 mmol, 62 %)

**Summenformel:** C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 160.22

**MS: (EI, 70 °C)** m/z 160.2 (M<sup>+</sup> 36 %)

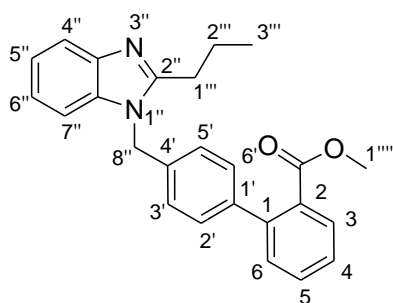
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.14 (s, austauschbar, 1H, NH), 7.44 (m, 1H, H<sub>4</sub>+H<sub>7</sub>), 7.1 (m, 2H, H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>), 2.77 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'), 1.78 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (4.62 mmol) 1,2-Phenylendiamin werden in einem Rundkolben vorgelegt und unter Rühren werden langsam 0.85 ml (9.25 mmol) Buttersäure zugetropft. Die

## Experimentelle Daten

Suspension wird anschließend unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt, wobei eine klare Lösung entsteht. Nach zwei Stunden wird die Reaktion beendet und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

### 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (11)



**Aussehen:** farbloses bis leicht gelbes Öl

**Ausbeute:** 0.11 g (0.29 mmol, 64 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 384.47

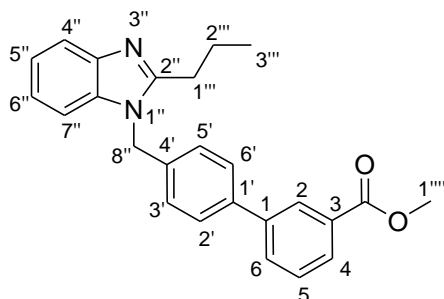
**MS: (ESI, 200°V)** m/z 385.2 (MH<sup>+</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.72 (dd, 1H, H<sub>3</sub>), 7.59 (m, 2H, H<sub>5</sub>+H<sub>4</sub>''), 7.49 (m, 1H, H<sub>7</sub>''), 7.47 (ddd, 1H, H<sub>4</sub>), 7.38 (dd, 1H, H<sub>6</sub>), 7.24 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H<sub>2</sub>' + H<sub>6</sub>'), 7.16 (m, 2H, H<sub>5</sub>' + H<sub>6</sub>''), 7.13 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H<sub>3</sub>' + H<sub>5</sub>'), 5.54 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.54 (s, 3H, CH<sub>3</sub> 1'''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.77 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.07 g (0.45 mmol) 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 38 mg (0.9 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenzähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.15 g (0.49 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird erst das überschüssige Natriumhydrid entfernt und dann der Ester mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (**12**)



**Aussehen:** weiße Kristalle

**Ausbeute:** 0.12 g (0.31 mmol, 68 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

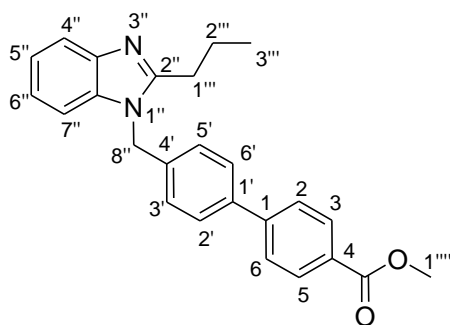
**Molekulargewicht:** 384.47

**MS: (ESI, 200°V)** m/z 385.2 (MH<sup>+</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 8.14 (dd, 1H, H<sub>2</sub>), 7.92 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.67 (d [Teils eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>2</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.60 (m, 2H, H<sub>5</sub>+H<sub>4</sub>''), 7.47 (m, 1H, H<sub>7</sub>''), 7.20 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>'), 7.16 (m, 2H, H<sub>5</sub>''+H<sub>6</sub>''), 5.56 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub> 1'''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.78 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.07 g (0.45 mmol) 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 38 mg (0.9 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.15 g (0.49 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird erst das überschüssige Natriumhydrid entfernt und danach der Ester mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (13)



**Aussehen:** weiße Kristalle

**Ausbeute:** 0.12 g (0.31 mmol, 63 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

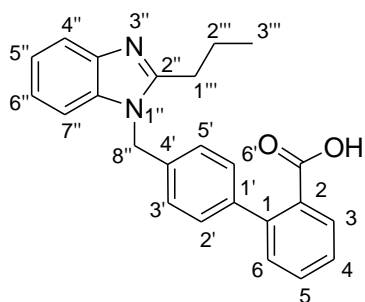
**Molekulargewicht:** 384,47

**MS: (ESI, 200°V)** m/z 385.2 (MH<sup>+</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 8.00 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>), 7.79 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>), 7.71 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H<sub>2</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.60 (m, 1H, H<sub>4</sub>''), 7.47 (m, 1H, H<sub>7</sub>''), 7.20 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>'), 7.16 (m, 2H, H<sub>5</sub>''+H<sub>6</sub>''), 5.56 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub> 1'''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.78 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.95 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.07 g (0.45 mmol) 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 38 mg (0.9 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.15 g (0.49 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird erst das überschüssige Natriumhydrid entfernt und danach der Ester mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether umkristallisiert.



4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (14 A)

**Aussehen:** farblose Kristalle

**Ausbeute:** 0.08 g (0.22 mmol, 85 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 370.44

**Schmelzpunkt:** 153 °C

**MS: (EI, 170 °C)** m/z 370.4 (M<sup>+</sup> 100 %)

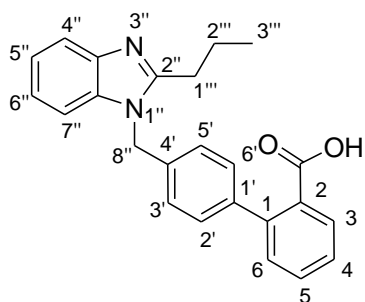
**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 77.81 H: 5.99 N: 7.56

gefunden: C: 78.05 H: 6.34 N: 7.56

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.72 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.70 (dd, 1H, H3), 7.59 (m, 1H, H4<sup>''</sup>), 7.54 (ddd, 1H, H5), 7.50 (m, 1H, H7<sup>''</sup>), 7.43 (ddd, 1H, H4), 7.33 (dd, 1H, H6), 7.28 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.17 (m, 2H, H5'+H6''), 7.12 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H3'+H5'), 5.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8<sup>''</sup>), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1<sup>'''</sup>), 1.79 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2<sup>'''</sup>), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3<sup>'''</sup>)

**Synthesevorschrift:** 0.10 g (0.26 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäuremethylester werden in 10 ml absolutem Methanol gelöst und anschließend unter Rühren vorsichtig mit 0.21 ml einer 10 %igen NaOH-Lösung (0.52 mmol) versetzt. Der Ansatz wird unter Rückflusskühlung 12 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit Salzsäure angesäuert und nach Zugabe von 10 ml Wasser kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (14 B)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.07 g (0.19 mmol, 19 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 370.44

**Schmelzpunkt:** 153 °C

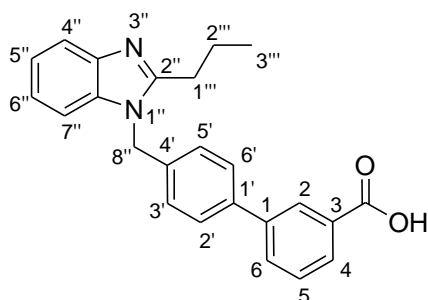
**MS: (EI, 175 °C)** m/z 370.4 (M<sup>+</sup> 87.55 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 77.81 H: 5.99 N: 7.56

gefunden: C: 77.83 H: 5.91 N: 7.56

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.72 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.70 (dd, 1H, H3), 7.59 (m, 1H, H4''), 7.54 (ddd, 1H, H5), 7.50 (m, 1H, H7''), 7.43 (ddd, 1H, H4), 7.33 (dd, 1H, H6), 7.28 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.16 (m, 2H, H5'+H6''), 7.12 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H3'+H5'), 5.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.78 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (1.00 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.61 ml (30 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-3-carbonsäure (15)

**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.09 g (0.24 mmol, 92 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 370.44

**Schmelzpunkt:** 234 °C

**MS: (EI, 200 °C)** m/z 370.3 (M<sup>+</sup> 71 %)

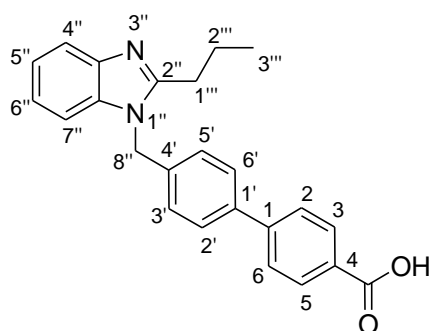
**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 77.81 H: 5.99 N: 7.56

gefunden: C: 77.79 H: 6.00 N: 7.57

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 13.07 (s, austauschbar, 1H, COOH), 8.14 (dd, 1H, H<sub>2</sub>), 7.89 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.66 (d [Teils eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>2</sub>' + H<sub>6</sub>'), 7.58 (m, 2H, H<sub>5</sub>+H<sub>4</sub>'), 7.47 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 7.20 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, H<sub>3</sub>' + H<sub>5</sub>'), 7.16 (m, 2H, H<sub>5</sub>'' + H<sub>6</sub>''), 5.55 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.78 (tq, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.10 g (0.26 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-3-carbonsäuremethylester werden in 10 ml absolutem Methanol gelöst und anschließend unter Rühren vorsichtig mit 0.21 ml einer 10 %igen NaOH-Lösung (0.52 mmol) versetzt. Der Ansatz wird unter Rückflusskühlung 12 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit Salzsäure angesäuert und nach Zugabe von 10 ml Wasser kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-4-carbonsäure (16)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.09 g (0.24 mmol, 92 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 370.44

**Schmelzpunkt:** 247 °C

**MS: (EI, 200 °C)** m/z 370.3 (M<sup>+</sup> 61 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 77.81 H: 5.99 N: 7.56

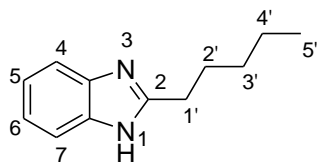
gefunden: C: 77.78 H: 6.01 N: 7.56

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.97 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.99 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>), 7.76 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>), 7.70 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>2'</sub>+H<sub>6'</sub>), 7.6 (m, 1H, H<sub>4''</sub>), 7.47 (m, 1H, H<sub>7''</sub>), 7.20 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>3'+H5'</sub>), 7.16 (m, 2H, H<sub>5''+H6''</sub>), 5.56 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.79 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.10 g (0.26 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-4-carbonsäuremethylester werden in 10 ml absolutem Methanol gelöst und anschließend unter Rühren vorsichtig mit 0.21 ml einer 10 %igen NaOH-Lösung (0.52 mmol) versetzt. Der Ansatz wird unter Rückflusskühlung 12 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit Salzsäure angesäuert und nach Zugabe von 10 ml Wasser kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt

durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

2-Pentyl-1*H*-benz[d]imidazol (17)



**Aussehen:** beige-weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.55 g (2.92 mmol, 63 %)

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>

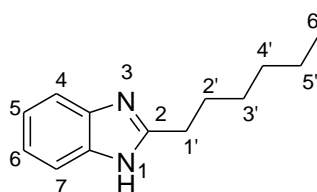
**Molekulargewicht:** 188.27

**MS: (EI, 75 °C)** m/z 188.2 (M<sup>+</sup> 23 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.16 (s, austauschbar, 1H, NH), 7.44 (m, 2H, H4+H7), 7.09 (m, 2H, H5+H6), 2.78 (t, 2H, CH<sub>2</sub> 1'), 1.76 (tt, 2H, CH<sub>2</sub> 2'), 1.3 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 3'+CH<sub>2</sub> 4'), 0.87 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 5')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (4.62 mmol) 1,2-Phenylendiamin werden in einem Rundkolben vorgelegt und unter Rühren werden langsam 1.29 ml (9.25 mmol) Hexanoylchlorid zugetropft. Die Suspension wird anschließend unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt, wobei eine klare Lösung entsteht. Nach drei Stunden wird die Reaktion beendet und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

2-Hexyl-1*H*-benz[d]imidazol (18)



**Aussehen:** beige-weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.51 g (2.52 mmol, 55 %)

**Summenformel:** C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>

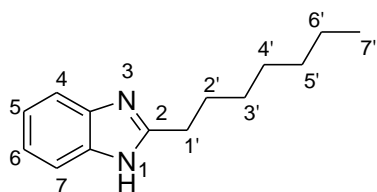
**Molekulargewicht:** 202.3

**MS: (EI, 80 °C)** m/z 202.3 (M<sup>+</sup> 22 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.14 (s, austauschbar, 1H, NH), 7.44 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>7</sub>), 7.10 (m, 2H, H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>), 2.79 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'), 1.75 (tt, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'), 1.30 (m, 6H, CH<sub>2</sub> 3'+CH<sub>2</sub> 4'+CH<sub>2</sub> 5'), 0.86 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 6')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (4.62 mmol) 1,2-Phenylendiamin werden in einem Rundkolben vorgelegt und unter Rühren werden langsam 1.43 ml (9.25 mmol) Heptanoylchlorid zugetropft. Die Suspension wird anschließend unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt, wobei eine klare Lösung entsteht. Nach drei Stunden wird die Reaktion beendet und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

2-Heptyl-1*H*-benz[d]imidazol (**19**)



**Aussehen:** beige-weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.42 g (1.94 mmol, 42 %)

**Summenformel:** C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 216.32

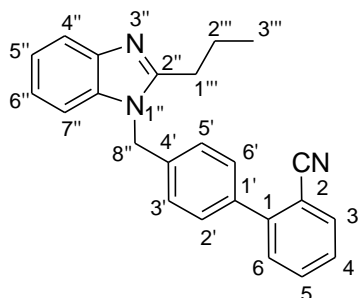
**MS: (EI, 75 °C)** m/z 216.3 (M<sup>+</sup> 20 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.12 (s, austauschbar, 1H, NH), 7.44 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>7</sub>), 7.09 (m, 2H, H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>) 2.78 (t, 2H, CH<sub>2</sub> 1'), 1.75 (tt, 2H, CH<sub>2</sub> 2'), 1.28 (m, 8H, CH<sub>2</sub> 3'+CH<sub>2</sub> 4'+CH<sub>2</sub> 5'+CH<sub>2</sub> 6'), 0.85 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 7')

**Synthesevorschrift:** 0.5 g (4.62 mmol) 1,2-Phenylendiamin werden in einem Rundkolben vorgelegt und unter Rühren werden langsam 1.58 ml (9.25 mmol) Octanoylchlorid zugetropft. Die Suspension wird anschließend unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt, wobei eine

klare Lösung entsteht. Nach drei Stunden wird die Reaktion beendet und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (20)



**Aussehen:** leicht beigefarbene wachsartige Substanz

**Ausbeute:** 0.62 g (1.76 mmol, 70 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 351.44

**MS: (EI, 50 °C)** m/z 351.3 (M<sup>+</sup> 67 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 82.02 H: 6.02 N: 11.96

gefunden: C: 82.10 H: 6.20 N: 11.76

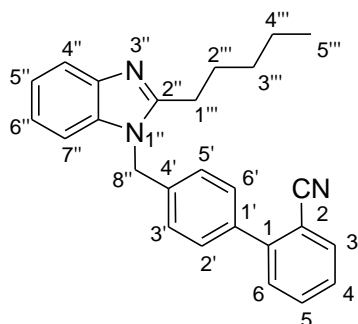
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.93 (d, 1H, H<sub>3</sub>), 7.76 (ddd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.61 (m, 1H, H<sub>4''</sub>), 7.57 (m, 2H, H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.55 (d [Teil eines AA'BB'-System], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>2</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.50 (m, 1H, H<sub>7''</sub>), 7.23 (d [Teil eines AA'BB'-System], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>'), 7.17 (m, 2H, H<sub>5</sub>'+H<sub>6</sub>''), 5.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1''), 1.78 (tq, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2''), 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3'')

**Synthesevorschrift:** 0.40 g (2.50 mmol) 2-Propyl-1*H*-benz[d]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 0.2 g (5.00 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenzähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.75 g (2.75 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von

## Experimentelle Daten

Eis wird das überschüssige Natriumhydrid entfernt und nach Ansäuern mit Salzsäure kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt.

### 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (21)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.58 g (1.53 mmol, 72 %)

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 379.5

**MS: (EI, 160 °C)** m/z 379.4 (M<sup>+</sup> 38 %)

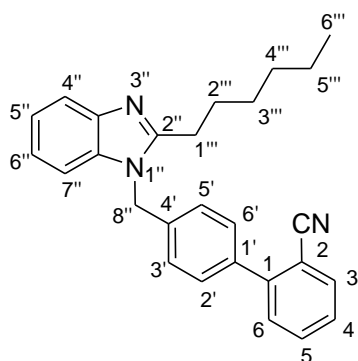
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.93 (dd, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, H3), 7.76 (ddd <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, H5), 7.60 (m, 1H, H4'') 7.56 (m, 2H, H4'+H6'), 7.52 (m, 1H, H7''), 7.54 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.22 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H3'+H5'), 7.17 (m, 2H, H5''+H6''), 5.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1''), 1.73 (tt, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2''), 1.28 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 3''' + CH<sub>2</sub> 4'''), 0.82 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 5''')

**Synthesevorschrift:** 0.40 g (2.12 mmol) 2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 0.17 g (4.24 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.64 g (2.33 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird das überschüssige Natriumhydrid entfernt und nach Ansäuern mit Salzsäure kann



das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**22**)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.39 g (1.00 mmol, 51 %)

**Summenformel:** C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 393.52

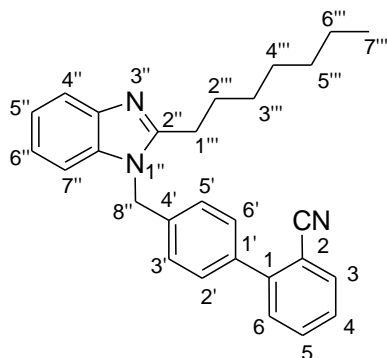
**MS: (EI, 160 °C)** m/z 393.4 (M<sup>+</sup> 39 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.93 (dd, 1H, H3), 7.76 (ddd, 1H, H5), 7.59 (d, 1H, H4''), 7.57 (d, 1H, H6), 7.56 (ddd, 1H, H4), 7.54 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.51 (m, 1H, H7''), 7.22 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H3'+H5'), 7.17 (m, 2H, H5''+H6''), 5.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.71 (tt, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.33 (m, 2H, H3'''), 1.22 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 4'''+CH<sub>2</sub> 5'''), 0.81 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 6''')

**Synthesevorschrift:** 0.40 g (1.98 mmol) 2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 0.16 g (3.96 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenzähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.59 g (2.18 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von

Eis wird das überschüssige Natriumhydrid entfernt und nach Ansäuern mit Salzsäure kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**23**)



**Aussehen:** gelbes hochviskoses Öl

**Ausbeute:** 0.39 g (0.97 mmol, 52 %)

**Summenformel:** C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 407.55

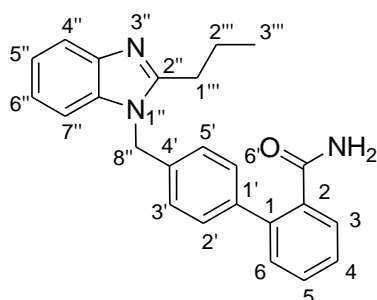
**MS: (EI, 150 °C)** m/z 407.3 (M<sup>+</sup> 39 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.93 (dd, 1H, H3), 7.76 (ddd, 1H, H5), 7.60 (m, 1H H4''), 7.57 (d, 1H, H6), 7.56 (ddd, 1H, H4), 7.54 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.51 (m, 1H, H7''), 7.22 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H3'+H5'), 7.17 (m, 2H, H5''+H6''), 5.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1''), 1.71 (tt, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2''), 1.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub> 3''), 1.21 (m, 6H, CH<sub>2</sub> 4'''+CH<sub>2</sub> 5'''+CH<sub>2</sub> 6''), 0.81 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 7'')

**Synthesevorschrift:** 0.40 g (1.85 mmol) 2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 0.15 g (3.7 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenzähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.55 g (2.04 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter

Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird das überschüssige Natriumhydrid entfernt und nach Ansäuern mit Salzsäure kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt.

4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (24)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.04 g (0.11 mmol, 11 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O

**Molekulargewicht:** 369.46

**Schmelzpunkt:** 170 °C

**MS: (EI, 200 °C)** m/z 369.4 (M<sup>+</sup> 79 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 78.02 H: 6.27 N: 11.37

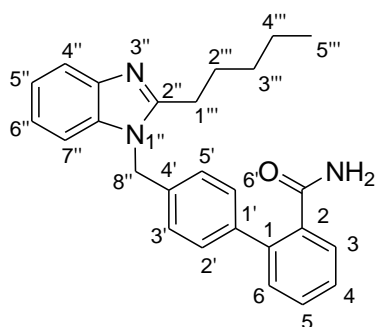
gefunden: C: 78.22 H: 6.26 N: 11.39

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.62 (s, 1H, NH), 7.59 (m, 1H, H4''), 7.49 (m, 1H, H7''), 7.44 (ddd, 1H, H4), 7.40 (dd, 1H H3) 7.39 (ddd, 1H, H5) 7.37 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.32 (d, 1H, H6), 7.24 (s, 1H, NH), 7.16 (m, 2H, H5''+H6''), 7.11 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H3'+H5'), 5.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.84 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.79 (tq, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.97 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (1.00 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.61 ml (30 mmol) 30 %iger

Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (25)



**Aussehen:** beigefarbener Feststoff

**Ausbeute:** 0.04 g (0.10 mmol, 11 %)

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O

**Molekulargewicht:** 397.51

**Schmelzpunkt:** 152 °C

**MS: (EI, 100 °C)** m/z 397.4 (M<sup>+</sup> 58 %)

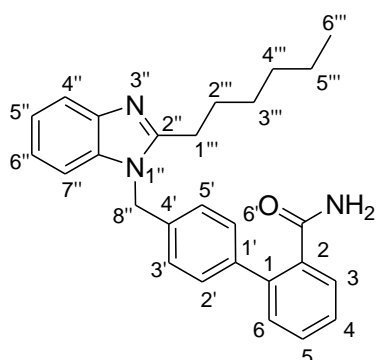
**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 78.56 H: 6.85 N: 10.57

gefunden: C: 78.57 H: 6.61 N: 10.32

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.63 (s, 1H, NH), 7.59 (m, 1H, H4''), 7.50 (m, 1H, H7''), 7.44 (ddd, 1H, H4), 7.41 (d, 1H, H3), 7.39 (ddd, 1H, H5), 7.37 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.31 (dd, 1H, H6), 7.25 (s, 1H, NH), 7.16 (m, 2H, H5''+H6''), 7.11 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H3'+H5'), 5.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.76 (tt, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.31 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 3''' + CH<sub>2</sub> 4'''), 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 5''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.92 mmol) 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.16 ml (27.6 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (**26**)



**Aussehen:** beige-weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.04 g (0.10 mmol, 11 %)

**Summenformel:** C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O

**Molekulargewicht:** 411.54

**Schmelzpunkt:** 154 °C

**MS: (EI, 200 °C)** m/z 411.3 (M<sup>+</sup> 46 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 78.80 H: 7.10 N: 10.21

gefunden: C: 78.97 H: 7.35 N: 10.18

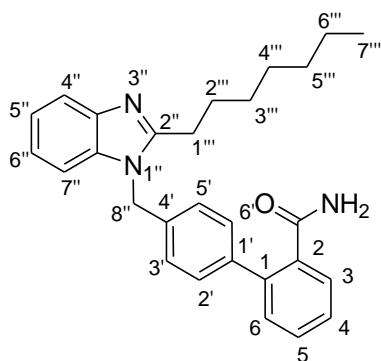
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.63 (s, 1H, NH), 7.59 (m, 1H, H4''), 7.50 (m, 1H, H7''), 7.44 (ddd, 1H, H4), 7.41 (d, 1H, H3), 7.39 (ddd, 1H, H5), 7.37 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.31 (dd, 1H, H6), 7.37 (s, 1H, NH), 7.16 (m, 2H, H5''+H6''), 7.11 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H3'+H5'), 5.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub>

## Experimentelle Daten

8<sup>''</sup>), 2.86 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1<sup>'''</sup>), 1.76 (tt, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2<sup>'''</sup>), 1.35 (m, 2H, CH<sub>2</sub> 3<sup>'''</sup>), 1.25 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 4<sup>'''</sup>+CH<sub>2</sub> 5<sup>'''</sup>), 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 6<sup>'''</sup>)

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.89 mmol) 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 4.99 ml (26.7 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

### 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[d]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (27)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.05 g (0.12 mmol, 14 %)

**Summenformel:** C<sub>28</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O

**Molekulargewicht:** 425.57

**Schmelzpunkt:** 153 °C

**MS: (EI, 150 °C)** m/z 425.4 (M<sup>+</sup> 40 %)

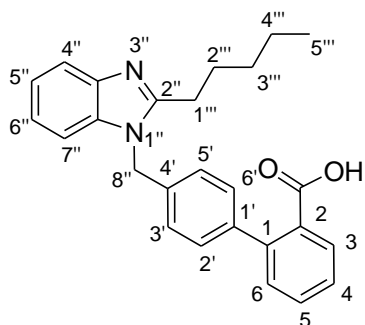
**MS: (ESI, 30 °V)** m/z 426.2574 (MH<sup>+</sup> 100%)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.62 (s, 1H, NH), 7.59 (m, 1H, H4<sup>''</sup>), 7.50 (m, 1H, H7<sup>''</sup>), 7.44 (ddd, 1H, H4), 7.41 (d, 1H, H3), 7.40 (ddd, 1H, H5), 7.37 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.31 (d, 1H, H6), 7.23 (s, 1H, NH), 7.16 (m, 2H, H5<sup>''</sup>+H6<sup>''</sup>), 7.11 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H3'+H5'), 5.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>

8''), 2.85 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.75 (tt,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.29 (m, 8H, CH<sub>2</sub> 3''' + CH<sub>2</sub> 4''' + CH<sub>2</sub> 5''' + CH<sub>2</sub> 6'''), 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 7''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.86 mmol) 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 4.82 ml (25.8 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflussskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (**28**)



**Aussehen:** beigefarbener Feststoff

**Ausbeute:** 0.08 g (0.20 mmol, 22 %)

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 398.5

**Schmelzpunkt:** 193 °C

**MS: (EI, 200 °C)** m/z 398.4 (M<sup>+</sup> 54 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 78.36 H: 6.58 N: 7.03

gefunden: C: 78.06 H: 6.87 N: 7.16

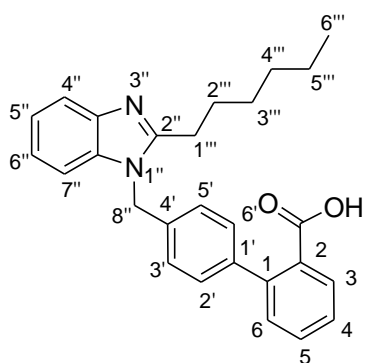
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/*d*<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.73 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.70 (ddd, 1H, H3), 7.59 (m, 1H, H4'''), 7.54 (ddd, 1H, H5), 7.51 (m, 1H, H7'''), 7.43 (ddd, 1H, H4), 7.32 (ddd, 1H, H6), 7.28 (d [Teil eines AA'BB'-System], 2H, H2'+H6'), 7.17 (m, 2H, H5'+H6''), 7.12 (d

## Experimentelle Daten

[Teil eines AA'BB'-System], 2H, H3'+H5'), 5.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.74 (tt, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.3 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 3''' + CH<sub>2</sub> 4'''), 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 5''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.92 mmol) 4'-[(2-Pentyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.16 ml (27.6 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

### 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (29)



**Aussehen:** beige-weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.08 g (0.19 mmol, 21 %)

**Summenformel:** C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 412.52

**Schmelzpunkt:** 194 °C

**MS: (EI, 150 °C)** m/z 412.2 (M<sup>+</sup> 55 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 78.61 H: 6.84 N: 6.79

gefunden: C: 78.70 H: 7.02 N: 6.91

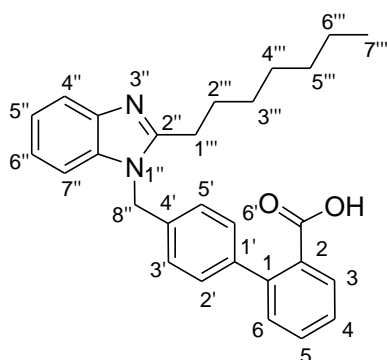
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.75 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.70 (dd, 1H, H3), 7.59 (m, 1H, H4''), 7.53 (ddd, 1H, H5), 7.50 (m, 1H, H7''), 7.43 (ddd, 1H, H4), 7.31 (dd, 1H, H6), 7.28 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.16 (m, 2H,



H5''+H6''), 7.12 (d [Teil eines AA'BB'-Systems],  $^3J = 8.3$  Hz, 2H, H3'+H5'), 5.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.74 (tt,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.35 (m, 2H, CH<sub>2</sub> 3'''), 1.24 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 4'''+CH<sub>2</sub> 5'''), 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub>)

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.89 mmol) 4'-[(2-Hexyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 4.99 ml (26.7 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (30)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.07 g (0.16 mmol, 19 %)

**Summenformel:** C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 426.55

**Schmelzpunkt:** 172 °C

**MS: (EI, 225 °C)** m/z 426.3 (M<sup>+</sup> 47 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet (x 0.5 H<sub>2</sub>O): C: 77.21 H: 7.17 N: 6.43

gefunden: C: 77.57 H: 7.34 N: 6.53

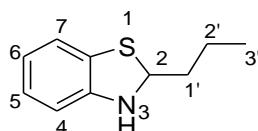
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.75 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.66 (d, 1H, H3), 7.59 (m, 1H, H4''), 7.50 (m, 2H, H5+H7''), 7.41 (ddd, 1H, H4), 7.30 (d, 1H, H6), 7.29 (d

## Experimentelle Daten

[Teil eines AA'BB'-Systems],  $^3J = 8.1$  Hz, 2H, H2'+H6'), 7.16 (m, 2H, H5'+H6'), 7.11 (d [Teil eines AA'BB'-Systems],  $^3J = 8.1$  Hz, 2H, H3'+H5'), 5.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.85 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.73 (tt,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.29 (m, 8H, CH<sub>2</sub> 3'''+CH<sub>2</sub> 4'''+CH<sub>2</sub> 5'''+CH<sub>2</sub> 6'''), 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 7''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.86 mmol) 4'-[(2-Heptyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 4.82 ml (25.8 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

### 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[*d*]thiazol (31)



**Aussehen:** gelbes niedrigviskoses Öl

**Ausbeute:** 1.29 g (7.2 mmol, 90 %)

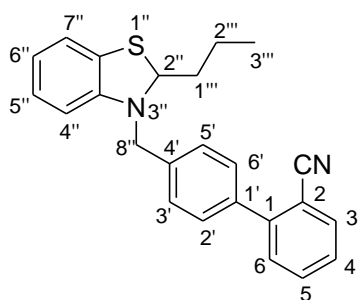
**Summenformel:** C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NS

**Molekulargewicht:** 179.28

**MS: (EI, 35 °C)** m/z 179.2 (M<sup>+</sup> 20 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 6.96 (dd, 1H, H7), 6.80 (ddd, 1H, H5), 6.53 (ddd, 1H, H6), 6.49 (dd, 1H, H4), 6.43 (s, austauschbar, 1H, NH), 5.28 (ddd, 1H, H2), 1.72 (m, 2H, H1'), 1.36 (m, 2H, H2'), 0.89 (t, 3H, H3')

**Synthesevorschrift:** Unter Schutzgasatmosphäre werden in einem Rundkolben 0.85 ml (8 mmol) Thioanilin vorgelegt und vorsichtig 0.72 ml (8 mmol) Butyraldehyd zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur zunächst 30 Minuten und nach Zugabe von 5 ml absolutem Methanol weitere 30 Minuten gerührt. Anschließend wird der Ansatz am Rotationsverdampfer eingengt und das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Ethylacetat/n-Hexan (1+3)] gereinigt.

4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)-methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (**32**)

**Aussehen:** weißer Feststoff (Diastereomer 1)/gelber wachsartiger Feststoff (Diastereomer 2)

**Ausbeute (Diastereomer 1 + 2):** 0.37 g (1.00 mmol, 45 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>S

**Molekulargewicht:** 370.51

**MS: (EI, 150 °C)** m/z 370.4 (M<sup>+</sup> 99 %)

**<sup>1</sup>H-NMR von Diastereomer 1 (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.93 (d, 1H, H<sub>3</sub>), 7.77 (ddd, 1H, H<sub>4</sub>), 7.63 (d, 1H, H<sub>6</sub>), 7.59 (ddd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.54 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>2'</sub>+H<sub>6'</sub>), 7.48 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>3'</sub>+H<sub>5'</sub>), 6.92 (d, 1H, H<sub>7''</sub>), 6.87 (ddd, 1H, H<sub>5''</sub>), 6.70 (d, 1H, H<sub>4''</sub>), 6.50 (dd, 1H, H<sub>6''</sub>), 6.19 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 4.19 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.56 (m, 1H, H<sub>2''</sub>), 1.59-1.32 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 1''' + CH<sub>2</sub> 2'''), 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

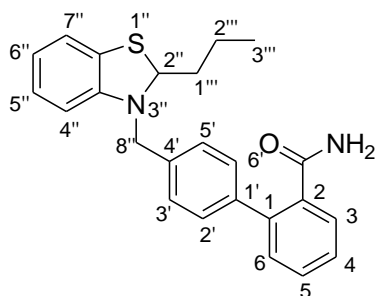
**<sup>1</sup>H-NMR von Diastereomer 2 (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.93 (d, 1H, H<sub>3</sub>), 7.77 (ddd, 1H, H<sub>4</sub>), 7.63 (d, 1H, H<sub>6</sub>), 7.59 (ddd, 1H, H<sub>5</sub>), 7.54 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>2'</sub>+H<sub>6'</sub>), 7.48 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>3'</sub>+H<sub>5'</sub>), 6.92 (d, 1H, H<sub>7''</sub>), 6.87 (ddd, 1H, H<sub>5''</sub>), 6.75 (d, 1H, H<sub>4''</sub>), 6.55 (dd, 1H, H<sub>6''</sub>), 6.05 (s, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 4.51 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.71 (m, 1H, H<sub>2''</sub>), 1.59-1.32 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 1''' + CH<sub>2</sub> 2'''), 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.40 g (2.23 mmol) 2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 0.18 g (4.46 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.67 g (2.45 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird das überschüssige Natriumhydrid entfernt und nach Ansäuern mit Salzsäure kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen

## Experimentelle Daten

werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Ethylacetat/n-Hexan (1+3)] gereinigt.

### 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)-methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (33)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.03 g (0.08 mmol, 9 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>OS

**Molekulargewicht:** 388.53

**Schmelzpunkt:** 106 °C

**MS: (EI, 150 °C)** m/z 388.4 (M<sup>+</sup> 66 %)

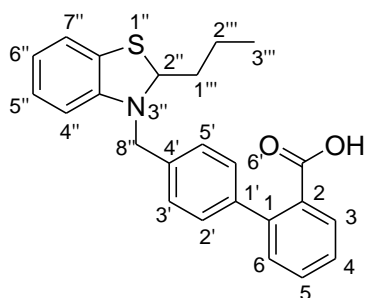
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO): Diastereomer 1** δ (ppm) 7.64 (s, 1H, NH), 7.49-7.37 (m, 4H, H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>), 7.36 (m [AA'BB'-System], 4H, H<sub>2</sub>'+H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.29 (s, 1H, NH), 6.92 (dd, 1H, H<sub>7</sub>''), 6.86 (ddd, 1H, H<sub>5</sub>''), 6.70 (dd, 1H, H<sub>4</sub>''), 6.49 (ddd, 1H, H<sub>6</sub>''), 6.10 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 4.1 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.53 (m, 1H, H<sub>2</sub>''), 1.55-1.29 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 1''' + CH<sub>2</sub> 2'''), 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO): Diastereomer 2** δ (ppm) 7.64 (s, 1H, NH), 7.49-7.37 (m, 4H, H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>), 7.36 (m [AA'BB'-System], 4H, H<sub>2</sub>'+H<sub>3</sub>'+H<sub>5</sub>'+H<sub>6</sub>'), 7.29 (s, 1H, NH), 6.92 (dd, 1H, H<sub>7</sub>''), 6.86 (ddd, 1H, H<sub>5</sub>''), 6.73 (dd, 1H, H<sub>4</sub>''), 6.54 (ddd, 1H, H<sub>6</sub>''), 6.00 (breites s, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 4.43 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.68 (m, 1H, H<sub>2</sub>''), 1.55-1.29 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 1''' + CH<sub>2</sub> 2'''), 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.94 mmol) 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)-methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.30 ml (28.34 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung

zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Chloroform/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzothiazol-3-yl)-methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (34)



**Aussehen:** brauner Feststoff

**Ausbeute (Diastereomer 1 + 2):** 0.06 g (0.15 mmol, 16 %)

**Summenformel:** C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub>S

**Molekulargewicht:** 389.51

**Schmelzpunkt:** 83 °C

**MS: (EI, 175 °C)** m/z 389.3 (M<sup>+</sup> 95 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):**Diastereomer 1 δ (ppm) 12.79 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.68 (d, 1H, H3), 7.56 (ddd, 1H, H4), 7.44 (ddd, 1H, H5), 7.38 (d, 1H, H6), 7.35 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.28 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H3'+H5'), 6.90 (dd, 1H, H7''), 6.86 (ddd, 1H, H5''), 6.70 (dd, 1H, H4''), 6.49 (ddd, 1H, H6''), 6.14 (s, breit, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 4.11 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.53 (m, 1H, H2''), 1.54-1.30 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 1'''+CH<sub>2</sub> 2'''), 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

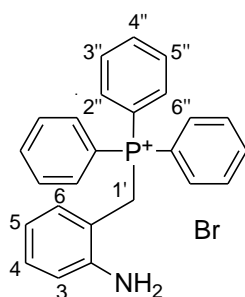
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):**Diastereomer 2 δ (ppm) 12.79 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.68 (d, 1H, H3), 7.54 (ddd, 1H, H4), 7.43 (ddd, 1H, H5), 7.38 (d, 1H, H6), 7.28 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H2'+H6'), 7.23 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H3'+H5'), 6.90 (dd, 1H, H7''), 6.86 (ddd, 1H, H5''), 6.73 (dd, 1H, H4''), 6.54 (ddd, 1H, H6''),

## Experimentelle Daten

6.01 (breites s, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 4.45 (d, 1H, CH<sub>2</sub> 8''), 3.69 (m, 1H, H2''), 1.54-1.30 (m, 4H, CH<sub>2</sub> 1'''+CH<sub>2</sub> 2'''), 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (0.94 mmol) 4'-[(2-Propyl-2,3-dihydro-1,3-benzo[d]thiazol-3-yl)-methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.30 ml (28.34 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 14 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Chloroform/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

### 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid (35 Vorstufe 1)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 4.4 g (9.81 mmol, 84 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>BrNP

**Molekulargewicht:** 448.33

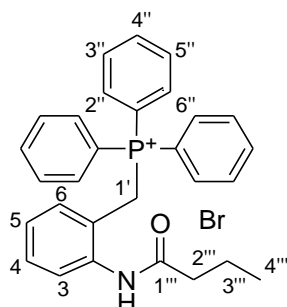
**MS: (ESI, 200°V)** m/z 368.20 (M<sup>+</sup> - Br<sup>-</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.89 (tt, 3H, 3xH4''), 7.72 (ddd, 6H, 3xH3''+3xH5''), 7.69-7.61 (m, 6H, 3xH2''+3xH6''), 6.98 (ddd, 1H, H4), 6.57 (ddd, 1H, H6), 6.54 (ddd, 1H, H3), 6.31 (ddd, 1H, H5), 5.12 (s, austauschbar, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.8 (d, <sup>3</sup>J[H,P] = 14.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1')

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 7.76-7.68 (m, 9H, 3xH2''+3xH4''+3xH6''), 7.59 (ddd, 6H, 3xH3''+3xH5''), 6.98 (ddd, 1H, H4), 6.51-6.47 (m, 2H, H3+H6), 6.36 (ddd, 1H, H5), 5.21 (d, <sup>3</sup>J[H,P] = 14.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1')

**Synthesevorschrift:** 1.44 g (11.69 mmol) 2-Aminobenzylalkohol werden zusammen mit 4.0 g (11.69 mmol) Triphenylphosphinhydrobromid in 30 ml Acetonitril unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt bis nach circa 6 Stunden das gewünschte Produkt ausfällt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird der weiße Niederschlag abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet.

2-Butyramidobenzyltriphenylphosphoniumbromid (35 Vorstufe 2)



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 4.56 g (8.79 mmol, 90 %)

**Summenformel:** C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>BrNOP

**Molekulargewicht:** 518.42

**MS: (ESI, 200°V)** m/z 438.20 (M<sup>+</sup> - Br<sup>-</sup> 100 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 9.33 (s, 1H, NH), 7.89 (tt, 3H, 3xH4''), 7.72 (ddd, 6H, 3xH3''+3xH5''), 7.62-7.57 (m, 7H, H3+3xH2''+3xH6''), 7.28 (ddd, 1H, H4), 6.95-6.92 (m, 2H, H5+H6), 5.25 (d, 2H, CH<sub>2</sub> 1'), 1.95 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.36 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 3'''), 0.80 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 4''')

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 10.06 (s, 1H, NH), 7.76 (tt, 3H, 3xH4'') 7.73-7.57 (m, 13H, H3+3xH2''+3xH3'+3xH5''3xH6''), 7.21 (ddd, 1H, H4), 6.77 (ddd, 1H, H5), 6.69 (ddd, 1H, H6), 5.59 (d, 2H, CH<sub>2</sub> 1'), 2.25 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 1.46 (tq, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 3'''), 0.87 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 4''')

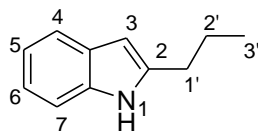
**Synthesevorschrift:** Zu 4.4 g (9.81 mmol) 2-Aminobenzyltriphenylphosphoniumbromid in 20 ml Dichlormethan werden vorsichtig 1,02 ml (9.81 mmol) Butanoylchlorid zugetropft und nach 3.5 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der gelbliche Rückstand wird in Methanol gelöst und durch Zugabe von

## Experimentelle Daten

---

Diethylether wird das Produkt weiß ausgefällt. Alternativ kann der Rückstand auch durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan /Methanol (85+15)] gereinigt werden.

### 2-Propyl-1*H*-indol (35)



**Aussehen:** braunes Öl

**Ausbeute:** 0.62 g (3.89 mmol, 56 %)

**Summenformel:** C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N

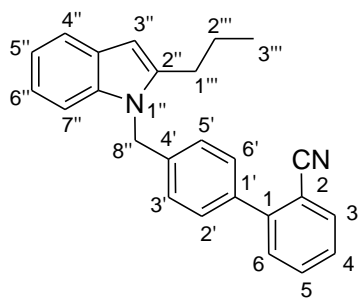
**Molekulargewicht:** 159.23

**MS: (EI, 35 °C)** m/z 159.2 (M<sup>+</sup> 39 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 10.86 (s, 1H, NH), 7.39 (d, 1H, H4), 7.26 (d, 1H, H7), 6.97 (dd, 1H, H5), 6.90 (dd, 1H, H6), 6.11 (s, 1H, H3), 2.68 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, H1'), 1.7 (tq, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, H2'), 0.94 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, H3')

**Synthesevorschrift:** 3.63 g (7.00 mmol) 2-Butyramidobenzyltriphenylphosphoniumbromid werden in 30 ml Toluol unter Rückflusskühlung zum Sieden gebracht und in der Hitze vorsichtig mit 1.04 g (9.31 mmol) Kalium-*tert*-butylat versetzt. Nach 15 Minuten wird die Reaktion beendet und die Lösung heiß filtriert. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Chloroform] gereinigt.

### 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (36)



**Aussehen:** gelbes Öl



**Ausbeute:** 0.50 g (1.43 mmol, 57 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 350.46

**MS:** (EI, 75 °C) m/z 350.5 (M<sup>+</sup> 88 %)

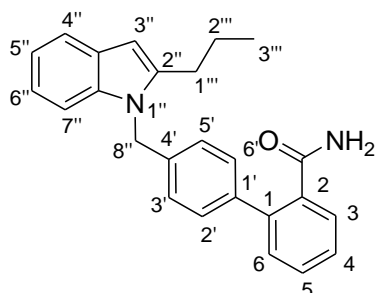
**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 85.68 H: 6.33 N: 7.99

gefunden: C: 85.70 H: 6.39 N: 8.07

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.92 (dd, 1H, H3), 7.75 (ddd, 1H, H5), 7.57 (d, 1H, H6), 7.55 (ddd, 1H, H4), 7.50 (m, 1H, H7<sup>''</sup>), 7.50 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H2'+H6'), 7.38 (dd, <sup>4</sup>J = 0.7 Hz, 1H, H4<sup>''</sup>), 7.09 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], 2H, H3'+H5'), 7.04 (ddd, 1H, H5<sup>''</sup>), 6.99 (ddd, 1H, H6<sup>''</sup>), 6.11 (d, <sup>4</sup>J = 0.7 Hz, 1H, H3<sup>''</sup>), 5.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8<sup>''</sup>), 2.7 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1<sup>'''</sup>), 1.68 (tq, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2<sup>'''</sup>), 0.97 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3<sup>'''</sup>)

**Synthesevorschrift:** 0.40 g (2.51 mmol) 2-Propyl-1*H*-indol werden in 10 ml absolutem Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden vorsichtig 0.20 g (5.02 mmol) Natriumhydrid (60 %ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Der Ansatz wird solange gerührt bis im Blasenähler keine Blasenbildung mehr zu erkennen ist. Dann werden langsam 0.76 g (2.76 mmol) 4'-Brommethyl-1,1'-biphenyl-2-carbonitril (gelöst in 2 ml absolutem Dimethylformamid) zugetropft und die Lösung zunächst eine weitere Stunde unter Eiskühlung und anschließend eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis wird das überschüssige Natriumhydrid entfernt und nach Ansäuern mit Salzsäure kann das Produkt mit Dichlormethan extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Abschließend wird das Produkt durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Ethylacetat/n-Hexan (1+3)] gereinigt.

**4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbamid (37)**



**Aussehen:** weißer Feststoff

**Ausbeute:** 0.04 g (0.11 mmol, 11 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O

**Molekulargewicht:** 368.47

**Schmelzpunkt:** 196 °C

**MS: (EI, 150 °C)** m/z 368.4 (M<sup>+</sup> 73 %)

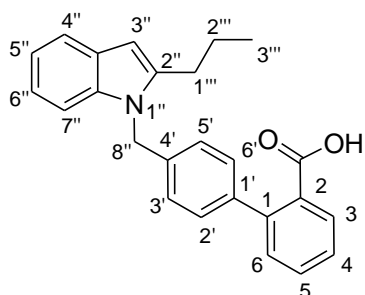
**Elementaranalyse (CHN):** berechnet: C: 81.49 H: 6.57 N: 7.60

gefunden: C: 81.69 H: 6.53 N: 7.54

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 7.62 (s, 1H, NH), 7.49 (dd, 1H, H7''), 7.44 (ddd, 1H, H4), 7.38 (d, 1H, H4''), 7.38 (ddd, 1H, H5), 7.35 (d, 1H, H3), 7.31 (d, 1H, H6), 7.33 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.25 (s, 1H, NH), 7.03 (ddd, 1H, H5''), 7.00 (ddd, 1H, H6''), 6.96 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H3'+H5'), 6.32 (s, 1H, H3''), 5.45 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.70 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1'''), 1.70 (tq, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2'''), 0.98 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3''')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (1.00 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.61 ml (30 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 24 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonsäure (38)



**Aussehen:** braunes Öl

**Ausbeute:** 0.06 g (0.16 mmol, 16 %)

**Summenformel:** C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 369.46

**MS: (EI, 150 °C)** m/z 369.4 (M<sup>+</sup> 92 %)

**Elementaranalyse (CHN):** berechnet (x 0.5 H<sub>2</sub>O): C: 79.34 H: 6.39 N: 3.70

gefunden: C: 79.04 H: 6.36 N: 3.92

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):** δ (ppm) 12.75 (s, austauschbar, 1H, COOH), 7.67 (dd, 1H, H3), 7.52 (dd, 1H, H5), 7.49 (d, 1H, H7''), 7.42 (ddd, 1H, H4), 7.37 (d, 1H, H4''), 7.32 (dd, 1H, H6), 7.24 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H2'+H6'), 7.03 (ddd, 1H, H5''), 7.00 (m, 1H, H6''), 6.98 (d [Teil eines AA'BB'-Systems], <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H3'+H5'), 6.32 (d, 1H, H3''), 5.46 (s, 2H, CH<sub>2</sub> 8''), 2.69 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 1''), 1.69 (tq, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> 2''), 0.97 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> 3'')

**Synthesevorschrift:** 0.35 g (1.00 mmol) 4'-[(2-Propyl-1*H*-indol-1-yl)methyl]-1,1'-biphenyl-2-carbonitril werden in 15 ml Methanol gelöst und mit 5.61 ml (30 mmol) 30 %iger Kalilauge versetzt. Der Ansatz wird 24 Tage unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Anschließend wird das Rohprodukt mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird zunächst durch Säulenchromatographie [Kieselgel, Dichlormethan/Methanol (95+5)] gereinigt und abschließend in Diethylether/Methanol umkristallisiert.

## 7.2 Biochemischer und pharmakologischer Teil

### 7.2.1 Allgemeine Angaben

#### 7.2.1.1 Geräte

Analysenwaage BP2110

Sartorius (Göttingen)

Autoklave Systec V-95

Systec (Wettenberg)

## Experimentelle Daten

---

8/12-Kanalpipetten (30-300 µl)	Eppendorf (Hamburg)
8-Kanalabsauger	INTEGRA Biosciences (Göttingen)
HERAcell 240i CO2-Inkubator	Heraeus (Hanau)
Laborkühlschrank	privileg
Labortiefkühltruhe Profiline Taurus PLTA	National Lab (Möln)
Mikroskop Axiovert 25	Carl Zeiss Jena (Jena)
Mikroplattenreader FLASHScan S12	Analytik Jena (Jena)
Multilabel Counter mit Injektor 1420 Victor <sup>2</sup>	Wallac Perkin Elmer (Turku, Finnland)
Neubauerzählkammer	Carl Zeiss Jena (Jena)
Pipetten (10-1000µl, verstellbar)	Eppendorf (Hamburg)
Pipettierhilfe PIPETBOY acu	INTEGRA Biosciences (Göttingen)
Kompaktschüttler TixMix, Haube TH 15	Edmund Bühler (Hechingen)
Sterilwerkbank HERAsafe <sup>®</sup> HS	Heraeus (Hanau)
Stickstofftank GT 11	AIR LIQUIDE (Berlin)
UV-Spektroskopie UVIKON 930	Kontron Instruments (Neufahrn)
Vakuumpumpe N811 KN.18	KNF (Freiburg)
Vortexer REAX	Heidolph Instruments (Schwabach)
Wasserbad SW-21C	JULABO (Seelbach)
Zentrifuge Heraeus Multifuge 3SR Plus	Heraeus (Hanau)

### 7.2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Kryo-Röhrchen	TPP (Trasadingen, Schweiz)
Pipettenspitzen (10-1000 µl)	SARSTEDT (Nümbrecht)
Pipettenspitzen (1000 µl)	Eppendorf (Hamburg)

---

Pasteurpipetten	Roth (Karlsruhe)
Parafilm	Pechiney Plastic Packaging (Chicago, USA)
Reaktionsgefäß (1.5 ml)	SARSTEDT (Nümbrecht)
Reaktionsgefäß (2.0 ml)	SARSTEDT (Nümbrecht)
Membranfilter (0.2 µm, 50 mm)	Sartorius (Göttingen)
Serologische Pipetten (2-25 ml, steril)	SARSTEDT (Nümbrecht)
UV-Einmalküvetten	Roth (Karlsruhe)
24-Well-Mikrotiterplatten (steril)	Nunc (Roskilde, Dänemark)
96-Well-Mikrotiterplatten (steril)	Nunc (Roskilde, Dänemark)
96-Well-Mikrotiterplatten (weiß, steril)	Nunc (Roskilde, Dänemark)
Zellkulturflaschen 75 cm <sup>2</sup>	TPP (Trasadingen, Schweiz)
Zentrifugenröhrchen 15 ml, 50 ml)	SARSTEDT (Nümbrecht)

### 7.2.1.3 Reagenzien

Ampicillin	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
Celite <sup>®</sup>	Roth (Karlsruhe)
DNA (Natriumsalz, aus Lachs-Spermien)	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
Dexamethason	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
Dimethylsulfoxid p.a.	Roth (Karlsruhe)
DMEM (mit Phenolrot, Glucose: 4,5 g/l)	PAA Laboratories (Pasching, Österreich)
Dual-Luciferase <sup>®</sup> Reporter Assay System	Promega (Mannheim)
EDTA	Merck (Darmstadt)
EndoFree Plasmid Maxi Kit	QIAGEN (Hilden)
Ethanol 96 %	Merck (Darmstadt)

## Experimentelle Daten

---

FCS	Biochrom AG (Berlin)
Glutardialdehyd (25%ige wässrige Lösung)	Merck (Darmstadt)
Insulin	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
Isopropylalkohol	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
Kristallviolett p.a.	Merck (Darmstadt)
Lipofectamine™ 2000	Invitrogen Life Technologies (Karlsruhe)
Luria Broth	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
Oil-Red-O	Sigma-Aldrich (Deisenhofen)
OptiMEM®	Invitrogen Life Technologies (Karlsruhe)
Passive Lysis Buffer	Promega (Mannheim)
Pioglitazon	Sigma-Aldrich (Steinheim)
TE Puffer	QIAGEN (Hilden)
Telmisartan	isoliert aus Micardis® (Boehringer Ingelheim)
Trypsinreagenz	ICN-LabSolutions (Eschwede)

### 7.2.1.4 Lösungen

DNA-Stammlösung 1	1 mg DNA und 1 ml TE-Puffer
DNA-Stammlösung 2	400 µl DNA Stammlösung 1 und 3600 µl TE Puffer
Dexamethasonlösung (2 mM)	1.177 µg Dexamethason und 1.5 ml Ethanol (96 %)
Glutardialdehydlösung 1 %	0.5 ml Glutardialdehydlösung 25 % und 12.5 ml PBS
Kristallviolettlösung 0.02 %	0.1 g Kristallviolett und 500 ml aqua dem.
LB Medium	25 g Luria Broth in 1000 ml aqua dem. lösen und autoklavieren (Zusatz: 5 % Ampicillin)
Oil-Red-O Stammlösung	0.5 g Oil-Red-O in 100 ml Isopropylalkohol

Oil-Red-O Gebrauchslösung	60 ml Oil-Red-O Stammlösung mit 40 ml aqua dem. verdünnen und filtrieren (mit Fritte und Celite®)
PBS	KCl 0.2 g, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.2 g, NaCl 8.0 g, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O 1.44 g und aqua dem. 1 l, autoklavieren
Transfektionslösung 1	Pro Well: pGal5-TK-pGL3 45 ng, pGal4-hPPAR <sub>γ</sub> DEF 4.5 ng, pRenilla-Luc-CMV 3.3 ng, OptiMEM® ad 12.5 µl
Transfektionslösung 2	Pro Well: Lipofectamine™ 2000 Transfection Reagent 0.25 µl, OptiMEM® ad 12.5 µl
Trypsinlösung	0.05 % Trypsin und 0.02 % EDTA in PBS (steril) lösen und sterilfiltrieren

### 7.2.1.5 Biologisches Material

Bakterien (Escheria coli)	CCR (Charité; Berlin)
Plasmid (pGal4-hPPAR <sub>γ</sub> DEF)	CCR (Charité, Berlin)
Plasmid (pGal5-TK-pGL3)	CCR (Charité, Berlin)
Plasmid (pRenilla-Luc-CMV)	CCR (Charité, Berlin)
3T3-L1 Zellen	ATCC (Manassas, USA) CCR (Charité, Berlin)
COS-7 Zellen	CCR (Charité, Berlin)

### 7.2.1.6 Zellkulturmedien

Adipogenese-Aktivierungsmedium (Differenzierungsmix 1)	Insulin (10 mg/ml in 25 mM HEPES), 10 µl, Dexamethasonlösung (2 mM) 50 µl und DMEM (FCS 10 %) 99.94 ml
Adipogenese-Fortsetzungsmedium (Differenzierungsmix 2)	Insulin (10 mg/ml in 25 mM HEPES) 10 µl, DMEM (FCS 10 %) 99.99 ml
Adipogenese-Erhaltungsmedium (Differenzierungsmix 3)	DMEM (FCS 10 %)
DMEM (FCS 10 %)	DMEM mit einem Zusatz von 10 % FCS

## **7.2.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften**

Alle Arbeitsschritte bis zum Abstoppen werden an einer Steril-Werkbank durchgeführt und die daran anschließenden Arbeiten (Anfärben, Lysieren, Vermessen) erfolgen in einem S1-Labor.

DMEM (FCS 10 %), PBS und die Trypsinlösung (0.05 %) werden vor der Verwendung in einem Wasserbad auf 37 °C erwärmt.

### **7.2.2.1 Kultivierungsbedingungen**

Die verwendeten Zelllinien werden in gesättigter Wasserdampfathmosphäre bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Gehalt als Monolayer in sterilen Zellkulturflaschen mit einer Wachstumsfläche von 75 cm<sup>2</sup> kultiviert. Als Medium wird für beide Zelllinien DMEM mit 4.5 g/l Glucose, Phenolrot und 10 % FCS verwendet.

### **7.2.2.2 Einfrieren der Zellen**

Die Zellkulturen werden analog zu dem für die jeweilige Zelllinie geltenden Kapitel Passagieren zunächst mit PBS gespült und trypsinisiert. Anschließend werden die Zellen mit 6 ml Einfriermedium (90 % DMEM (FCS 10 %) und 10 % DMSO) durch wiederholtes Abspülen des Zellkulturflaschenbodens abgelöst und durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit der Pipette vereinzelt. Die homogene Zellsuspension wird in sterile Kryo-Röhrchen überführt und zunächst in der Tiefkühltruhe bei - 80 °C vorgefroren und nach 24 Stunden zur endgültigen Aufbewahrung bei - 196 °C in flüssigen Stickstoff überführt.

### **7.2.2.3 Auftauen der Zellen**

Die Kryo-Röhrchen werden vom Stickstofftank in 70 %igen Isopropylalkohol überführt und zügig im Wasserbad auf 37 °C erwärmt. Die Zellsuspension wird mit 13 ml Medium in eine Zellkulturflasche überführt und in gesättigter Wasserdampfathmosphäre bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Gehalt kultiviert. Nach 24 Stunden wird das Medium erneuert.



#### **7.2.2.4 Bestimmung der Zellzahl**

Zur Bestimmung der Zellzahl wird die Neubauer-Zählkammer verwendet. Hierzu werden die Zellen analog zu dem für die jeweilige Zelllinie geltenden Kapitel über das Passagieren mit PBS gespült, trypsiniert und in 6 ml Medium aufgenommen. Von der homogenen Zellsuspension werden 20 µl auf die Zählkammer direkt zwischen Deckgläschen und Kammer pipettiert, wobei die überschüssige Zellsuspension über Kanäle abgeleitet wird. Die vier großen Eckquadrate werden ausgezählt und die Anzahl durch vier geteilt, um einen Mittelwert pro Eckquadrat zu erhalten. Die Anzahl der Zellen pro ml Zellsuspension lässt sich berechnen, indem man diesen Mittelwert mit  $10^4$  multipliziert.

#### **7.2.2.5 Plasmidgewinnung**

Die entsprechend transformierten Bakterienstämme (*Escherichia coli*) werden zunächst über Nacht in 4ml LB-Medium (mit 5 % Ampicillin) bei 37 °C und leichtem Schütteln (140 rpm) vorinkubiert. Anschließend werden 200 ml LB-Medium (mit 5 % Ampicillin) mit dieser Übernachtskultur angeimpft und 24 Stunden bei 37 °C und leichtem Schütteln (140 rpm) inkubiert. Nach der Inkubation wird die Bakterienkulturlösung für 15 Minuten auf Eis gestellt und dann 20 Minuten bei 6000 x g und 4 °C zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird abdekantiert und die Pellets können bis zur Aufarbeitung (DNA-Isolierung) bei -20 °C weggefroren werden.

#### **Isolierung der Plasmid-DNA**

Zur Isolierung der Plasmid-DNA wurde EndoFree® Plasmid Maxi Kit der QIAGEN GmbH verwendet. Die Präparation erfolgte nach den Angaben des EndoFree® Plasmid Purification Handbooks.

#### **Photometrische Quantifizierung der Plasmid-DNA**

Zur Bestimmung des DNA-Gehaltes wird zunächst eine Verdünnungsreihe mit Lachs-DNA hergestellt. Hierzu werden DNA-Stammlösung 1 und 2 hergestellt und Stammlösung 2 wird schrittweise mit aqua dem. auf die gewünschten Konzentrationen verdünnt. Nachdem mit aqua dem. ein Nullabgleich durchgeführt wurde, können die definierten DNA-Verdünnungen photometrisch bei 260 nm und 280 nm vermessen werden. Für das Vermessen der Plasmid-DNA wird die bei der Isolierung gewonnene Plasmid-Stammlösung 1:20 mit TE-Puffer verdünnt, und der Nullabgleich vor der Messung wird mit TE-Puffer vorgenommen. Die Plasmid-DNA wird ebenfalls bei 260 nm und 280 nm vermessen. Trägt man die für die DNA-

Verdünnungsreihe ermittelte optische Dichte (OD) gegen die jeweilige Konzentration auf, erhält man eine Kurve, aus der anhand der bei den gleichen Wellenlängen ermittelten Extinktion der Plasmid-DNA die Konzentration dieser bestimmt werden kann. Neben dem DNA-Gehalt ergibt ein solches UV-Spektrum auch einen Hinweis auf die Reinheit der isolierten DNA. Durch die Bildung des Absorptionsquotienten ( $OD_{260} / OD_{280}$ ) kann man erkennen, in welchem Ausmaß die isolierte DNA noch durch Alkohol und Reste von Proteinen verunreinigt ist. Der optimale Absorptionsquotient für eine rein isolierte DNA liegt bei einem Wert von 1.8.

### **7.2.3 3T3-L1 Zellen - Arbeitsvorschriften**

#### **7.2.3.1 Passagieren der Zellen**

Die Zellkulturen werden bei Erreichen von maximal 70-80 % Konfluenz passagiert. Dabei wird zunächst das überstehende Medium abgesaugt und Stoffwechselprodukte bzw. abgestorbene Zellen werden durch einmaliges Spülen mit 10 ml PBS (steril) entfernt. Anschließend werden 2 ml einer 0.05 %igen Trypsinlösung durch sorgfältiges Schwenken gleichmäßig auf dem Zellkulturflaschenboden verteilt, der überstehende Rest der Lösung vorsichtig wieder abgesaugt und die Zellkulturflasche für 7 Minuten bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Gehalt in der Atmosphäre inkubiert. Dann werden die Zellen mit 6 ml frischem Medium durch wiederholtes Abspülen des Zellkulturflaschenbodens abgelöst und durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit der Pipette vereinzelt. Die Zellsuspension wird mit weiterem frischem Medium verdünnt und auf neue Zellkulturflaschen verteilt. Dabei ist darauf zu achten, dass die Zellzahl nicht zu gering ist, da sonst die Gefahr besteht, dass die Zellen Wachstum bzw. Zellteilung einstellen. Eine vollständige Konfluenz (> 90 %) ist ebenso zu vermeiden, da die Differenzierungsfähigkeit der Zellen unter diesen Umständen signifikant abnimmt. Ab Passage 13 ist bei 3T3-L1 Zellen generell ein Rückgang der Differenzierungskapazität zu beobachten, so dass eine Aussaat bis spätestens Passage 12 erfolgen sollte, um die Reproduzierbarkeit eines Testes zu gewährleisten.<sup>(133)</sup>

#### **7.2.3.2 Durchführung der Adipozyten-Differenzierung**

Die synthetisierten Verbindungen sowie Telmisartan und das essentielle Grundgerüst als Referenzsubstanzen sowie Pioglitazon als Positivkontrolle werden jeweils in zwei Verdünnungen als dreifache Bestimmung eingesetzt. Zusätzlich werden in je drei Wells die

Zellen über den gesamten Differenzierungszeitraum entweder mit DMSO (in dem jeweiligen Differenzierungsmix) als Vehikel oder mit DMEM (10 % FCS) als Negativkontrolle behandelt.

### **Aussaat der Zellen**

Die Zellen werden gemäß dem Kapitel Passagieren mit PBS gespült, trypsiniert, in 6 ml Medium aufgenommen und anschließend gezählt. Für den Differenzierungstest werden 24-Well-Platten verwendet. Die geeignete Zelldichte beträgt  $1 \times 10^6$  Zellen / Platte. Berücksichtigt man das Wellvolumen von 500  $\mu$ l ergibt sich daraus pro Platte ein Bedarf an 12 ml Zellsuspension mit insgesamt  $1 \times 10^6$  Zellen. Dabei sollte wegen der verstärkten Schaumbildung des Mediums aufgrund des hohen FCS-Gehaltes eine Reserve von 10 % einberechnet werden. Die ursprüngliche, konzentrierte Zellsuspension wird mit Medium auf die erforderliche Menge verdünnt und von der verdünnten Zellsuspension werden 500  $\mu$ l je Well auf die für den Test notwendige Anzahl an Platten übertragen. Die Zellsuspension sollte während des Übertragens durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit der Pipette wiederholt homogenisiert werden um beim Aussäen eine gleichmäßige Verteilung der Zellen zu gewährleisten. Den Tag des Aussäens bezeichnet man als „Tag - 4“.

### **Substanzzugabe**

Zwei Tage nach dem Aussäen („Tag - 2“) sind die Zellen konfluent und das alte Medium wird durch frisches ersetzt. Dabei sollte man äußerst vorsichtig vorgehen, da der Zellrasen sehr empfindlich ist und leicht mit abgesaugt wird. Anschließend werden die Zellen für weitere zwei Tage im Brutschrank inkubiert und an „Tag 0“ erfolgt die erste Substanzzugabe. Dazu wird von den zu testenden Verbindungen zunächst eine 25 mM Stammlösung in DMSO hergestellt. Die Stammlösungen werden mit dem Differenzierungsmix 1 [Insulin (10 mg/ml in 25 mM HEPES) 10  $\mu$ l, Dexamethasonlösung (2 mM) 50  $\mu$ l, DMEM (FCS 10 %) 99.94 ml] auf die gewünschten Konzentrationen verdünnt und anschließend werden von diesen Verdünnungsreihen 500  $\mu$ l je Well auf die Zellen übertragen. Nach der ersten Substanzzugabe werden die Zellen erneut für drei Tage im Brutschrank inkubiert und an „Tag 3“ erfolgt die zweite Substanzzugabe. Die Vorgehensweise ist analog zu „Tag 0“, wobei die Verdünnungsreihen mit Differenzierungsmix 2 [Insulin (10 mg/ml in 25 mM HEPES) 10  $\mu$ l, DMEM (FCS 10 %) 99.99 ml] hergestellt werden. Nach weiteren drei Tagen Inkubation findet an „Tag 6“ die dritte Substanzzugabe statt. Hierbei werden die Verdünnungsreihen mit Differenzierungsmix 3 [DMEM (FCS 10 %)] angefertigt. Nach erfolgter Substanzzugabe werden die Zellen wiederum für 72 Stunden inkubiert und anschließend an „Tag 9“ mit Oil-Red-O angefärbt.

### **Anfärben der Triglyceride mit Oil-Red-O**

An „Tag 9“ ist der Differenzierungsprozess abgeschlossen und das Ausmaß der Differenzierung kann durch Anfärben der in den Fettvakuolen gespeicherten Lipide bestimmt werden. Hierzu wird das Medium abgesaugt und die Zellen werden zweimal mit PBS gespült. Anschließend werden 500 µl Oil-Red-O-Gebrauchslösung je Well aufgetragen und die Platten für eine Stunde auf einen Rüttler (100 rpm) gestellt. Nach dieser Einwirkzeit wird die überstehende Farbstofflösung vorsichtig wieder abgesaugt und zweimal mit PBS gespült. An dieser Stelle besteht zum einen die Möglichkeit, die angefärbten Platten einzuscannen und zum anderen kann man bei entsprechender Vergrößerung unter dem Mikroskop die angefärbten Fettvakuolen fotografieren. Der in den Zellen verbliebene Farbstoff wird mit 500 µl Isopropylalkohol (70 %) je Well unter 30 minütigem Schütteln (100 rpm) extrahiert und kann anschließend nach Übertragung auf eine 96-Well-Platte an einem Mikrotiterplatten-Reader photometrisch bei 515 nm vermessen werden.

#### **7.2.3.3 Erstellen einer Kalibriergeraden für die Oil-Red-O Gebrauchslösung**

Für das Erstellen einer Kalibriergeraden wird die Oil-Red-O Gebrauchslösung mit Isopropylalkohol (70 %) schrittweise verdünnt und dann bei 515 nm an einem Mikrotiterplatten-Reader photometrisch vermessen. Die ermittelten Extinktionswerte werden gegen die dazugehörigen Konzentrationen aufgetragen. Aus der daraus resultierenden Kurve kann man dann den Bereich ermitteln, bei dem zwischen Konzentration und Extinktion ein linearer Zusammenhang besteht. Liegen die im Differenzierungstest für die getesteten Substanzen ermittelten Werte in diesem Bereich, können diese für die Testauswertung verwendet werden.

### **7.2.4 COS-7 Zellen - Arbeitsvorschriften**

#### **7.2.4.1 Passagieren der Zellen**

Die Zellkulturen werden bei Erreichen von 80-90 % Konfluenz passagiert. Dabei wird zunächst das überstehende Medium abgesaugt und Stoffwechselprodukte bzw. abgestorbene Zellen werden durch einmaliges Spülen mit 10 ml PBS (steril) entfernt. Anschließend werden 2 ml einer 0.05 %igen Trypsinlösung durch sorgfältiges Schwenken gleichmäßig auf dem Zellkulturflaschenboden verteilt, der überstehende Rest der Lösung vorsichtig wieder abgesaugt und die Zellkulturflasche für 2 Minuten bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-

Gehalt in der Atmosphäre inkubiert. Dann werden die Zellen mit 6 ml frischem Medium durch wiederholtes Abspülen des Zellkulturflaschenbodens abgelöst und durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit der Pipette vereinzelt. Die Zellsuspension wird entsprechend der Zelldichte mit weiterem frischem Medium verdünnt und auf die erforderliche Anzahl neuer Zellkulturflaschen verteilt.

#### **7.2.4.2 Durchführung des PPAR $\gamma$ -Aktivierungstests**

Die synthetisierten Verbindungen sowie Telmisartan und das essentielle Grundgerüst als Referenzsubstanz und Pioglitazon als Positivkontrolle werden in 12 Verdünnungen als dreifache Bestimmung getestet. Zusätzlich werden in je drei Wells Zellen über den gesamten Aktivierungszeitraum entweder mit DMSO als Vehikel oder mit DMEM (10 % FCS) als Negativkontrolle behandelt. Nach der vorgegeben Inkubationszeit von 36 Stunden erfolgt die Aufarbeitung der Zellen gemäß dem Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter Assay System-Protokoll. Anschließend wird die Lumineszenz an einem Luminometer (Multilabel Counter mit Injektor 1420 Victor<sup>2</sup>) bestimmt.

#### **Aussaat der Zellen**

Die Zellen werden gemäß dem Kapitel über das Passagieren mit PBS gespült, trypsinisiert, in 6 ml Medium aufgenommen und anschließend gezählt. Für den Aktivierungstest werden 96-Well-Platten verwendet. Die geeignete Zelldichte beträgt  $1 \times 10^4$  Zellen pro Well. Berücksichtigt man das Wellvolumen von 100  $\mu$ l ergibt sich daraus pro Platte ein Bedarf an 9.6 ml Zellsuspension mit insgesamt  $9.6 \times 10^5$  Zellen. Dabei sollte wegen der verstärkten Schaumbildung des Mediums aufgrund des hohen FCS-Gehaltes eine Reserve von 10 % einberechnet werden. Die ursprüngliche, konzentrierte Zellsuspension wird mit Medium auf die erforderliche Menge verdünnt und von der verdünnten Zellsuspension werden 100  $\mu$ l je Well mit Hilfe einer Mehrkanalpipette auf die für den Test notwendige Anzahl an Platten übertragen. Die Zellsuspension sollte während des Übertragens durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit der Mehrkanalpipette wiederholt homogenisiert werden um beim Aussäen eine gleichmäßige Verteilung der Zellen zu gewährleisten.

#### **Transiente Transfektion der adhärennten Zellen**

Einen Tag nach dem Aussäen sind die Zellen gut angewachsen und bereit für die Transfektion. Hierzu werden zunächst die Transfektionslösungen 1 und 2 hergestellt und 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden die Lösungen zusammengefügt und für weitere 20 Minuten stehen gelassen. In dieser Zeit wird von den 96-Well-

Platten das alte Medium abgesaugt, einmal mit DMEM (ohne FCS) gespült und je Well werden 100 µl DMEM (ohne FCS) aufgetragen. Nach der 20 minütigen Inkubation werden von der fertigen Transfektionsmischung 25 µl je Well auf die Zellen pipettiert und diese für 4 Stunden im Brutschrank inkubiert.

### **Substanzzugabe**

Nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden erfolgt die Substanzzugabe. Dazu werden von den zu testenden Verbindungen zunächst 25 mM Stammlösungen in DMSO hergestellt und diese anschließend mit DMEM (FCS 10 %) auf die gewünschten Konzentrationen verdünnt. Da bei der Substanzzugabe ein weiterer Verdünnungsschritt erfolgt, sind die Konzentrationen jeweils sechsfach höher als für die Testung erwünscht. Von den Verdünnungsreihen werden dann je Konzentration 25 µl pro Well auf die Zellen pipettiert und die Platten werden für 36 Stunden im Brutschrank in gesättigter Wasserdampfatmosphäre bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Gehalt inkubiert.

### **Messen der Lumineszenz**

Der PPAR<sub>γ</sub>-Aktivierungstest wird 36 Stunden nach der Substanzzugabe beendet. Zunächst wird das Medium abgesaugt und die Zellen werden einmal mit 100 µl PBS pro Well gespült. Für die Bestimmung der Luciferase-Aktivität wird das Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter Assay System der Firma Promega verwendet. Dazu werden pro Well 30 µl Passive Lysis Buffer aufgetragen und die Platten für 15 Minuten bei 400 rpm geschüttelt. In dieser Zeit werden die Substratlösungen für die Firefly-Reporterluciferase (Luciferase Assay Reagent II) und für die Renilla-Reporterluciferase (Stop&Glow<sup>®</sup> Reagent) hergestellt, indem die jeweiligen Substrate in den dazugehörigen Puffern gelöst werden. Anschließend werden von dem Zell-Lysat 10 µl je Well mit einer Mehrkanalpipette auf weiße 96-Well-Platten übertragen und diese im Luminometer nach aufeinanderfolgender automatischer Injektion von je 100 µl der beiden Luciferasesubstratlösungen je Well vermessen. Die Messung erfolgt jeweils 2 Sekunden nach Reagenzzugabe. Die detektierte Lichtmenge wird in RLU (relative light units) angegeben.

#### **7.2.4.3 Bestimmung der Wachstumskurve**

Die Zellen werden gemäß dem Kapitel Passagieren mit PBS gespült, trypsiniert, in 6 ml Medium aufgenommen und anschließend gezählt. Für die Bestimmung der Wachstumskurve werden die Zellen auf zehn 96-Well-Platten ausgesät. Hierzu werden auf jeder Platte je zwei Reihen mit 200, 300, 400 und 500 Zellen pro Well belegt.

**Abstoppen des Zellwachstums**

24 Stunden nach der Aussaat wird das Zellwachstum auf der ersten Platte gestoppt. Hierzu wird das Medium abgesaugt und die am Boden der 96-Well-Mikrotiterplatten anhaftenden Zellen werden mit 100 µl einer 1 %igen Glutardialdehydlösung fixiert. Nach zwanzigminütiger Inkubation wird die Fixierlösung abgeschüttelt, die Zellen werden mit 180 µl PBS überschichtet und bis zum Anfärben und Vermessen bei 4 °C aufbewahrt. Dieser Prozess wird jeweils nach weiteren 24 Stunden analog zu dieser Vorgehensweise an Platte 2-10 wiederholt, so dass nach zehn Tagen auf allen Platten das Zellwachstum abgestoppt wurde.

**Anfärben und Bestimmung der Zellmasse**

Für das Anfärben wird das PBS von den präparierten Mikrotiterplatten abgeschüttelt und je 100 µl einer 0.2 %igen Kristallviolettlösung pro Well zupipettiert. Nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten wird die Lösung abgeschüttelt und zweimal mit Wasser gewaschen. Um anhaftendes Kristallviolett zu entfernen, werden die Platten erneut mit Wasser überschichtet und weitere 15 Minuten stehen gelassen. Anschließend wird das Wasser abgeschüttelt und die Platten werden auf Zellstoff gründlich abgeklopft. Durch Zugabe von 180 µl 70 %igen Ethanol je Well und dreistündigem Rütteln bei Raumtemperatur wird der verbliebene Farbstoff aus den Zellen extrahiert und anschließend die Extinktion der ethanolischen Farbstofflösung an einem Mikroplattenreader photometrisch bei 590 nm bestimmt.





## 8 Literaturverzeichnis

1. A. Ströhle. Metabolisches Syndrom. Deutsche Apotheker Zeitung. 1:48-65 (2012).
2. Max-Rubner-Institut. Nationale Verzehrsstudie II (Ergebnisbericht Teil 1) (2008).
3. S. Azhar. Peroxisome proliferator-activated receptors, metabolic syndrome and cardiovascular disease. Future Cardiol. 6:657-691 (2010).
4. K. Alberti. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. Lancet. 366:1059-1062 (2005).
5. K.G. Alberti. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med. 15:539-553 (1998).
6. B. Balkau. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Diabet Med. 16:442-443 (1999).
7. National-Institutes-of-Health. Detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. Final Report (2002).
8. D. Einhorn. American college of endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. Endocr Pract. 9:237-252 (2003).
9. P. Zimmet. The metabolic syndrome in children and adolescents. Lancet. 369:2059-2061 (2007).
10. M. Hanefeld. The metabolic syndrome: future perspectives and resulting benefits. Dtsch Med Wochenschr. 131:S236-S239 (2006).
11. M. Hanefeld. History and definition(s) of metabolic syndrome. Internist (Berl). 48:117-125 (2007).
12. K.D. Bruce. The developmental origins, mechanisms, and implications of metabolic syndrome. J Nutr. 140:648-652 (2010).
13. D. Muller-Wieland. Obesity: ectopic fat distribution and the heart. Herz. 35:198-205 (2010).
14. D.J. Heal. What is the prognosis for new centrally-acting anti-obesity drugs? Neuropharmacology. 63:132-146 (2012).
15. B.M.Y. Cheung. Drug treatment for obesity in the post-sibutramine era. Drug Saf. 34:641-650 (2011).
16. AWMF. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie - Chirurgische Arbeitsgemeinschaft für Adipositas therapie. (2011).

17. J. Wong. The clinical use of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Prog Cardiovasc Dis.* 47:116-130 (2004).
18. M. Burnier. Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation.* 103:904-912 (2001).
19. D.N. Mueller. Aliskiren-mode of action and preclinical data. *J Mol Med* 86:659-662 (2008).
20. A. Knorr. Wirkstoffe am Typ-L-Calciumkanal Pharmakologie der Calcium-Antagonisten. *Pharmazie in unserer Zeit.* 5:380-387 (2005).
21. L. Hein. Pharmakologische Aspekte: Das  $\beta$ -adrenerge System. *Pharmazie in unserer Zeit.* 6:438-441 (2004).
22. B. Cremers and M. Böhm. Diuretika bei Hypertonie und Herzinsuffizienz. *Pharmazie in unserer Zeit.* 4:322-332 (2006).
23. D. Steinhilber and M. Schubert-Zsilavec. Molekularpharmakologie und medizinische Chemie der Fibrat. *Pharmazie in unserer Zeit.* 2:108-112 (2007).
24. H. Stark. Medizinisch-chemische Aspekte von Statinen. *Pharmazie in unserer Zeit.* 6:464-470 (2003).
25. M.E. Sweeney. Ezetimibe: an update on the mechanism of action, pharmacokinetics and recent clinical trials. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 3:441-450 (2007).
26. K. Ahmed and S. Offermanns. Nikotinsäure bei Fettstoffwechselstörungen. *Pharmazie in unserer Zeit.* 2:120-125 (2007).
27. H. Neye. Glucosidasehemmstoffe. *Pharmazie in unserer Zeit.* 3:272-278 (2002).
28. H. Neye. Biguanide bei Typ-2-Diabetes: Metformin. *Pharmazie in unserer Zeit.* 3:264-270 (2002).
29. M. Mark. Sulfonylharnstoffe und Glinide. *Pharmazie in unserer Zeit.* 3:252-262 (2002).
30. H. Yki-Jaervinen. Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 351:1106-1118 (2004).
31. K. Kazakos. Incretin effect: GLP-1, GIP, DPP4. *Diabetes Res Clin Pract.* 93:32-36 (2011).
32. A. Tenenbaum. Metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus: focus on peroxisome proliferator activated receptors (PPAR). *Cardiovasc Diabetol.* 2:4 (2003).
33. Anonymous. A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily. *Cell.* 97:161-163 (1999).
34. T.M. Willson. The PPARs: From orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem.* 43:527-550 (2000).
35. H. Gronemeyer. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. *Nat Rev Drug Discovery.* 3:950-964 (2004).
36. M. Robinson-Rechavi. The nuclear receptor superfamily. *J Cell Sci.* 116:585-586 (2003).

37. F. Iwamoto. Nuclear transport of peroxisome-proliferator activated receptor  $\alpha$ . *J Biochem.* 149:311-319 (2011).
38. J.N. Feige. From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Prog Lipid Res.* 45:120-159 (2006).
39. C. Juge-Aubry. DNA binding properties of peroxisome proliferator-activated receptor subtypes on various natural peroxisome proliferator response elements. Importance of the 5'-flanking region. *J Biol Chem.* 272:25252-25259 (1997).
40. B. Desvergne. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev.* 20:649-688 (1999).
41. D. Robyr. Nuclear hormone receptor coregulators in action: diversity for shared tasks. *Mol Endocrinol.* 14:329-347 (2000).
42. P. Gervois. Drug insight: mechanisms of action and therapeutic applications for agonists of peroxisome proliferator-activated receptors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 3:145-156 (2007).
43. J. Berger. The Mechanisms of Action of PPARs. *Annu Rev Med.* 53:409-435 (2002).
44. T. Fournier. PPARs and the Placenta. *Placenta.* 28:65-76 (2007).
45. M. Rakhshandehroo. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha target genes. *PPAR Res.* 2010:1-20 (2010).
46. C.I. Schnegg. Neuroprotective mechanisms of PPAR $\delta$ : modulation of oxidative stress and inflammatory processes. *PPAR Res.* 2011:1-10 (2011).
47. Y. Chen. Identification and regulation of novel PPAR- $\gamma$  splice variants in human THP-1 macrophages. *Biochim Biophys Acta, Gene Struct Expression.* 1759:32-43 (2006).
48. P. Tontonoz. Fat and beyond: the diverse biology of PPAR $\gamma$ . *Annu Rev Biochem.* 77:289-312 (2008).
49. Y. Okamoto. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci.* 110:267-278 (2006).
50. N. Maeda. PPAR $\gamma$  ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes.* 50:2094-2099 (2001).
51. K. Rabe. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 14:741-751 (2008).
52. C.M. Kusminski. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci.* 109:243-256 (2005).
53. T. Maeda. Pioglitazone attenuates tactile allodynia and thermal hyperalgesia in mice subjected to peripheral nerve injury. *J Pharmacol Sci* 108:341-347 (2008).
54. R.B. Clark. The role of PPARs in inflammation and immunity. *J Leukocyte Biol.* 71:388-400 (2002).
55. P. Ketsawatsomkron. Does peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) protect from hypertension directly through effects in the vasculature? *J Biol Chem.* 285:9311-9316 (2010).

56. R.L. Sutliff. PPAR $\gamma$  as a potential therapeutic target in pulmonary hypertension. *Ther Adv Respir Dis.* 4:143-160 (2010).
57. S.J. Park. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma as a novel therapeutic target in asthma. *J Asthma.* 45:1-8 (2008).
58. Y. Wan. PPAR $\gamma$  in bone homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 21:722-728 (2010).
59. T. Fournier. PPAR $\gamma$  and human trophoblast differentiation. *J Reprod Immunol.* 90:41-49 (2011).
60. Y.L. Wang. To live or to die: prosurvival activity of PPAR $\gamma$  in cancers. *PPAR Res.* 2008:1-13 (2008).
61. C. Pirat. Targeting peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): development of modulators. *J Med Chem.* 55:4027-4061 (2012).
62. H.E. Xu. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell.* 3:397-403 (1999).
63. P.S. Palkar. Cellular and pharmacological selectivity of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\beta/\delta$  antagonist GSK3787. *Mol Pharmacol.* 78:419-430 (2010).
64. S. Azhar. PPAR $\alpha$ : its role in the human metabolic syndrome. *Future Lipidol.* 2:31-53 (2007).
65. K. Henriksen. Efficacy and safety of the PPAR $\gamma$  partial agonist balaglitazone compared with pioglitazone and placebo: a phase III, randomized, parallel-group study in patients with type 2 diabetes on stable insulin therapy. *Diabetes/Metab Res Rev.* 27:392-401 (2011).
66. A.P.S. Kong. A randomized-controlled trial to investigate the effects of rivoglitazone, a novel PPAR gamma agonist on glucose-lipid control in type 2 diabetes. *Diabetes, Obes Metab.* 13:806-813 (2011).
67. N.C. Romeiro. NSAIDs revisited: Putative molecular basis of their interactions with peroxisome proliferator-activated gamma receptor (PPAR $\gamma$ ). *Eur J Med Chem.* 43:1918-1925 (2008).
68. M. Sime. Discovery of GSK1997132B a novel centrally penetrant benzimidazole PPAR $\gamma$  partial agonist. *Bioorg Med Chem Lett.* 21:5568-5572 (2011).
69. R. Nakano. Antagonism of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  prevents high-fat diet-induced obesity in vivo. *Biochem Pharmacol.* 72:42-52 (2006).
70. J.D. Burton. Potential of peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonist compounds as therapeutic agents for a wide range of cancer types. *PPAR Res.* 2008:1-7 (2008).
71. L. Gelman. Molecular basis of selective PPAR $\gamma$  modulation for the treatment of Type 2 diabetes. *Biochim Biophys Acta, Mol Cell Biol Lipids.* 1771:1094-1107 (2007).
72. S. Rocchi. A unique PPAR $\gamma$  ligand with potent insulin-sensitizing yet weak adipogenic activity. *Mol Cell.* 8:737-747 (2001).
73. D.V. Erbe. Molecular activation of PPAR $\gamma$  by angiotensin II type 1-receptor antagonists. *Vasc Pharmacol.* 45:154-162 (2006).

74. M. Schupp. Molecular characterization of new selective peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  modulators with angiotensin receptor blocking activity. *Diabetes*. 54:3442-3452 (2005).
75. A. Tenenbaum. Dual and pan-peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) co-agonism: the bezafibrate lessons. *Cardiovasc Diabetol*. 4:14 (2005).
76. M. Schupp. Identifizierung und Charakterisierung von AT<sub>1</sub>- Antagonisten als PPAR $\gamma$ -Liganden. Dissertation, Freie Universität Berlin (2005).
77. M. Goebel. Synthese und Charakterisierung von Benzimidazolderivaten als PPAR $\gamma$ -Liganden ausgehend von Telmisartan. Dissertation, Freie Universität Berlin (2008).
78. D.N. Korolev. An improved protocol for ligandless Suzuki-Miyaura coupling in water. *Tetrahedron Lett*. 47:4225-4229 (2006).
79. U. Christmann. Monoligated palladium species as catalysts in cross-coupling reactions. *Angew Chem, Int Ed*. 44:366-374 (2005).
80. N.A. Bumagin. Ligandless palladium catalyzed reactions of arylboronic acids and sodium tetraphenylborate with aryl halides in aqueous media. *Tetrahedron*. 53:14437-14450 (1997).
81. A.O. Aliprantis. Observation of Catalytic Intermediates in the Suzuki Reaction by Electrospray Mass Spectrometry. *J Am Chem Soc*. 116:6985-6986 (1994).
82. A. Suzuki. Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995-1998. *J Organomet Chem*. 576:147-168 (1999).
83. N. Miyaura. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. *Chem Rev* 95:2457-2483 (1995).
84. A.A.C. Braga. A DFT study of the full catalytic cycle of the Suzuki-Miyaura cross-coupling on a model system. *Organometallics*. 25:3647-3658 (2006).
85. J.K. Stille and K.S.Y. Lau. Mechanisms of oxidative addition of organic halides to Group 8 transition-metal complexes. *Acc Chem Res*. 10:434-442 (1977).
86. V. Farina. Large rate accelerations in the stille reaction with tri-2-furylphosphine and triphenylarsine as palladium ligands: mechanistic and synthetic implications. *J Am Chem Soc*. 113:9585-9595 (1991).
87. M. Perez-Rodriguez. C-C reductive elimination in palladium complexes, and the role of coupling additives. A DFT study supported by experiment. *J Am Chem Soc*. 131:3650-3657 (2009).
88. N. Miyaura. Novel and convenient method for the stereo- and regiospecific synthesis of conjugated alkadienes and alkenynes via the palladium-catalyzed cross-coupling reaction of 1-alkenylboranes with bromoalkenes and bromoalkynes. *J Am Chem Soc*. 107:972-980 (1985).
89. M.J.S. Dewar. New heteroaromatic compounds. XXV. Studies of salt formation in boron oxyacids by boron-11 nuclear magnetic resonance. *J Am Chem Soc*. 89:2408-2410 (1967).

90. A.A.C. Braga. Computational study of the transmetalation process in the Suzuki-Miyaura cross-coupling of aryls. *J Organomet Chem.* 691:4459-4466 (2006).
91. K. Schwetlick. *Organikum* (19. bearbeitete und erweiterte Auflage). Barth VerlagsGmbH (1993).
92. H. Zimmermann. State of protons and mechanism of acid-catalyzed esterification. *Angew Chem.* 77:65-74 (1965).
93. K.P.C. Vollhardt. *Organische Chemie* (1. korrigierter Nachdruck der 1.Auflage). VCH VerlagsGmbH (1990).
94. P. Sykes. *Reaktionsmechanismen der Organischen Chemie* (9.überarbeitete Auflage). VCH VerlagsGmbH (1988).
95. C. Djerassi. Brominations with N-bromosuccinimide and related compounds. The Wohl-Ziegler reaction. *Chem Rev* 43:271-317 (1948).
96. K.C. Santhosh. Correlation of anti-HIV activity with anion spacing in a series of cosalane analogs with extended polycarboxylate pharmacophores. *J Med Chem.* 44:703-714 (2001).
97. R. Brückner. *Reaktionsmechanismen* (3. Aufl., korr. Nachdruck). Springer Verlag (2007).
98. M.A. Phillips. Formation of 2-substituted benzimidazoles. *J Chem Soc:*2393-2399 (1928).
99. D.V. Ramana. Mass spectrometer as a probe in the synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *Tetrahedron.* 50:2485-2496 (1994).
100. J. Charton. Conversion of sterically hindered diacylated 1,2-phenylenediamines into 2-substituted benzimidazoles. *Chem Pharm Bull.* 53:492-497 (2005).
101. B. Velino. Microwave spectrum of benzimidazole. *J Mol Spectrosc.* 152:434-440 (1992).
102. S. Dettmann. *Synthese und pharmakologische Untersuchung neuer Benzimidazole als fluoreszierende Liganden des Estrogenrezeptors.* Dissertation, Freie Universität Berlin (2006).
103. W.D. Kumler. Dipole moments and molecular structure of amides. *J Am Chem Soc.* 56:2549-2554 (1934).
104. L. Pauling. The nature of the chemical bond. VI. The calculation from thermochemical data of the energy of resonance of molecules among several electronic structures. *J Chem Phys.* 1:606-617 (1933).
105. G. Liso. 2-Alkylaminobenzenethiols by ring cleavage of 2,3-dihydro-1,3-benzothiazoles with sodium borohydride. *Synthesis:*288-290 (1985).
106. P. Bandyopadhyay. Mesoporous mixed metal oxide nanocrystals: efficient and recyclable heterogeneous catalysts for the synthesis of 1,2-disubstituted benzimidazoles and 2-substituted benzothiazoles. *J Mol Catal A: Chem.* 341:77-82 (2011).

107. L. Capuano. New syntheses of 2-acylbenzofurans, 2-acylindoles, 2-indolylcarboxylates and 2-quinolones by intramolecular Wittig reaction. *Chem Ber.* 119:2069-2074 (1986).
108. S.i. Taira. A facile synthesis of 2-substituted indoles from (2-aminobenzyl)triphenylphosphonium salts. *Tetrahedron Lett.* 43:2885-2888 (2002).
109. M. Le Corre. New access to indoles by ylide-amide condensation. *Tetrahedron.* 41:5313-5320 (1985).
110. C.P. Miller. Preparation of 2-phenyl-1-[4-(2-aminoethoxy)benzyl]indoles as estrogenic agents. patent:1-85 (1997).
111. H. Friebolin. Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie. VCH VerlagsGmbH (1988).
112. M. Hesse , H. Meier, and B. Zeh. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie* (4. überarbeitete Auflage). Georg Thieme Verlag (1991).
113. H. Green. Established preadipose cell line and its differentiation in culture. *Cell.* 3:127-133 (1974).
114. H. Green. Established preadipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell.* 5:19-27 (1975).
115. S.R. Farmer. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab.* 4:263-273 (2006).
116. F.M. Gregoire. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Exp Biol Med* 226:997-1002 (2001).
117. F.M. Gregoire. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev.* 78:783-809 (1998).
118. D.P. Penney. Analysis and testing of biological stains - the biological stain commission procedures. *Biotech Histochem.* 77:237-275 (2002).
119. V.J. Heath. Inhibition of the terminal stages of adipocyte differentiation by cMyc. *Exp Cell Res.* 254:91-98 (2000).
120. C. Christodoulides. Adipogenesis and WNT signalling. *Trends Endocrinol Metab.* 20:16-24 (2009).
121. Y. Gluzman. SV40-transformed simian cells support the replication of early SV40 mutants. *Cell* 23:175-182 (1981).
122. G. Richter. *Praktische Biochemie*. Thieme Verlag (2003).
123. Promega. *Dual-Luciferase® Reporter Assay System Technical Manual(1996-2011):1-26* (1996).
124. P. Naumov. Structure and spectroscopy of oxyluciferin, the light emitter of the firefly bioluminescence. *J Am Chem Soc.* 131:11590-11605 (2009).
125. O. Shimomura. Light-emitters involved in the luminescence of coelenterazine. *Luminescence.* 15:51-58 (2000).

126. K. Bochert. 4,5-Diaryl-2-imidazoline als P2X7-Rezeptorantagonisten (Synthese, pharmakologische und biochemische Untersuchungen) Dissertation, Freie Universität Berlin (2009).
127. Y. Amano. Structural basis for telmisartan-mediated partial activation of PPAR gamma. *Hypertens Res.* 35:715-719 (2012).
128. Y. Lamotte. Synthesis and biological activities of novel indole derivatives as potent and selective PPAR $\gamma$  modulators. *Bioorg Med Chem Lett.* 20:1399-1404 (2010).
129. R.T. Nolte. Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ . *Nature* 395:137-143 (1998).
130. M. Einstein. The differential interactions of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  ligands with Tyr473 is a physical basis for their unique biological activities. *Mol Pharmacol.* 73:62-74 (2008).
131. L. Guasch. Structural insights for the design of new PPARgamma partial agonists with high binding affinity and low transactivation activity. *J Comput-Aided Mol Des.* 25:717-728 (2011).
132. A. Schäfer. Synthese, Pharmakologische Testung und Stabilitätsuntersuchungen substituierter Triarylpyrrole mit estrogenen und cytotoxischen Eigenschaften. Dissertation, Freie Universität Berlin (2010).
133. ATCC. Chemically-Induced differentiation of ATCC<sup>(R)</sup> CL-173<sup>TM</sup> (3T3-L1) using single-component commercially-available reagents. *TechBulletin.* 9:1-3 (2011).



## 9 Wissenschaftliche Beiträge

### 9.1 Poster

PPAR $\gamma$ : Struktur-Wirkungs-Beziehungen partieller Agonisten ausgehend vom Telmisartan-Grundgerüst, Tag der Pharmazie „Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor“, FU-Berlin (2008)

Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  - structure activity relationship of partial agonists based on the structure of telmisartan, 18<sup>th</sup> International Symposium of the Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, Seefeld / Österreich (2008)

Synthesis and testing of partial agonists of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , DPHG-Jahrestagung, Bonn (2008)

Synthese neuer partieller Agonisten des Peroxisom Proliferator-aktivierten Rezeptor  $\gamma$ , DPHG-Jahrestagung, Jena (2009)

Entwicklung und Synthese partieller PPAR $\gamma$  Agonisten basierend auf strukturellen Variationen des Telmisartan Grundgerüsts, Tag der Pharmazie „Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor“, FU-Berlin (2010)

### 9.2 Vortrag

PPAR $\gamma$ : Struktur-Wirkungs-Beziehungen partieller Agonisten ausgehend vom Telmisartan-Grundgerüst, Tag der Pharmazie „Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor“, FU-Berlin (2008)