

Experimenteller Teil

11 Experimenteller Teil

11.1 Synthetischer und analytischer Teil

11.1.1 Materialien und Methoden

11.1.1.1 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Autoklav: 50 S (Roth)

Chemikalien: Alle für die Synthesen verwendeten Chemikalien wurden von ACROS ORGANICS, Fluka, Merck, Sigma-Aldrich, Alfa-Aesar und Lancaster bezogen.

Dünnschichtchromatographie: Kieselgel-60-F₂₅₄-Folien (Merck).

Die Auswertung erfolgte mittels UV-Detektion bei 254 nm und 366 nm (UV-Lampe, CAMAG, Berlin).

Elektronenstossionisations-Massenspektroskopie: CH-7A (Varian MAT, Bremen). Die Verdampfungstemperatur und die jeweilige relative Signalintensität sind angegeben.

Elementaranalyse: Elementaranalysator Vario EL (Elementar, Hanau).

FAB: CH5 DF (Varian MAT, Bremen) modifiziert mit FAB-gun (AMD-Intectra) fokussierend, mit Xe als Reaktionsgas, 3 kV Ionenbeschleunigung und fokussierter Nachbeschleunigung (7kV).

HPLC: Semipräparative MPLC - Anlage der Firma Knauer, analytische HPLC (Biotek Kontron).

Infrarotspektroskopie: FTIR Spektrometer (ATI Mattson Genesis), Intensitätsangaben: w = schwach, m = mittel, s = stark. Die Frequenzangabe erfolgt in cm⁻¹.

Fluorimeter: F-4500 (Hitachi)

NMR-Spektroskopie: Avance DPX-400 (Bruker, Karlsruhe). Betriebsfrequenzen: ¹H-NMR: 400.13 MHz. Die chemische Verschiebung (δ) wird in ppm relativ zu Trimethylsilan als internem Standard angegeben. Abkürzungen: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, t = Triplett, pt = Pseudotriplett, q = Quartett, m = Multiplett, b = breite Bandenform, ⁿJ = Betrag der Kopplungskonstante über n Bindungen. Ist der Kopplungspartner kein Proton, sondern ein Kern X, so werden in Klammern die Kopplungspartner angegeben ⁿJ(H, X).

Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (Korngröße 0.040 - 0.063 mm), Merck.

Schmelzpunktbestimmung: Büchi B-545.

11.1.1.2 Arbeitsvorschriften - Analytische Daten

11.1.1.2.1 Aldehyde

Vorschrift zur Synthese des 2,6-Dichlor-4-methoxybenzaldehyds (27g):

33.30×10^{-3} mol (3.6 ml) TiCl_4 und 10.20×10^{-3} mol (1.8 ml) Dichlormethylmethylether werden bei 0°C unter Stickstoffatmosphäre zu einer gerührten Lösung von 9.90×10^{-3} mol (1.75 g) 3,5-Dichloranisol **33** in 30 ml absolutem Dichlormethan gegeben. Der Ansatz wird 25 Minuten bei 0°C gerührt und im Anschluss durch Zugabe von Eis beendet. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel. Als Laufmittel wurde eine Mischung aus Petrolether/Dichlormethan (2:1) verwendet. Das gewünschte Produkt wird in Form eines weißen Feststoffes erhalten.

Aus 9.90×10^{-3} mol (1.75 g) 3,5-Dichloranisol **33**:

Ausbeute: 3.07×10^{-3} mol (0.63 g), 31%

$\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2\text{Cl}_2$ (205.04)

weißes Pulver

Schmp.: 114°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3085 (w), 2959 (w), 2876 (w), 1700 (s), 1591 (s), 1547 (m), 1260 (s), 1066 (s), 848 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.87$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.19$ (s, 2H, ArH); $\delta = 10.27$ (s, 1H, CHO)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 205 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (62.9), 175 (6.3)

11.1.1.2.2 Nitrile

Allgemeine Vorschriften (Methoden A-C) zur Synthese der Nitrile:**Methode A: Nitrilsynthese aus Aldehyden mit Blei-(IV)-acetat:**

Zu einer gerührten Lösung von 44×10^{-3} mol des entsprechenden Aldehyds **27a-h** in 40 ml Toluol werden 88×10^{-3} mol ($M = 443.36$, 39.0 g) Blei-(IV)-acetat gegeben. Unter Ammoniakleitung wird der Ansatz 3 h zum Sieden erhitzt. Im Anschluss wird der Reaktionsansatz auf 500 ml Eis, versetzt mit 50 ml konzentrierter Salzsäure, gegeben und 30 min gerührt. Die wässrige Phase wird mit 3 x 150 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man das reine Produkt in Form eines Öls, das bei den meisten Nitrilen beim Abkühlen auskristallisiert.

Benzonitril (28a)

Aus 58×10^{-3} mol (6.00 g) Benzaldehyd **27a**:

Ausbeute: 19×10^{-3} mol (1.95 g), 33%

C_7H_5N (103.12)

farbloses Öl als reine Substanz

IR (Film, cm^{-1}): 3067 (s), 2231 (m), 1714 (s), 1604 (m), 760 (m), 688 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 7.60$ (pt, $^3J = 7.8$ Hz, $^3J = 7.9$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.73$ (t, $^3J = 7.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.84$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 60°C): m/z (%) = 103 [M]⁺ (100.0), 76 (56), 50 (20)

4-Methoxybenzonitril (28b)

Aus 44×10^{-3} mol (6.00 g) 4-Methoxybenzaldehyd **27b**:

Ausbeute: 39×10^{-3} mol (5.20 g), 89%

C_8H_7NO (133.15)

farblose Kristalle als reine Substanz

Schmp.: 53°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3032 (w), 2976 (w), 2843 (w), 2219 (m), 1606 (s), 1510 (s), 1259 (s), 832 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.87$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.11$ (d, $^3\text{J} = 8.9$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.77$ (d, $^3\text{J} = 8.9$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 30°C): m/z (%) = 133 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (100.0), 118 (10.1), 103 (29.9), 90 (34.8)

2,4-Dimethoxybenzonitril (28c)

Aus 36×10^{-3} mol (6.00 g) 2,4-Dimethoxybenzaldehyd **27c**:

Ausbeute: 27×10^{-3} mol (4.38 g), 75%

$\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_2$ (163.18)

gelbes Pulver als reine Substanz

Schmp.: 90°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3085 (w), 2985 (w), 2960 (w), 2846 (w), 2219 (s), 1605 (s), 1508 (m), 1217 (s), 841 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.85$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.90$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.65$ (dd, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, $^4\text{J} = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.74$ (d, $^4\text{J} = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.63$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 50°C): m/z (%) = 163 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (100.0), 148 (2.1), 134 (35.4), 120 (28.3)

3,4-Dimethoxybenzonitril (28d)

Aus 36×10^{-3} mol (6.00 g) 3,4-Dimethoxybenzaldehyd **27d**:

Ausbeute: 26×10^{-3} mol (4.20 g), 70%

$\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_2$ (163.18)

hellbraunes Öl, kristallisiert beim Abkühlen in hellbraunen Kristallen als reine Substanz aus.

Schmp.: 67°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3083 (m), 2962 (m), 2932 (m), 2840 (m), 2222 (s), 1596 (s), 1512 (s), 1251 (s), 818 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.77$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.84$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.10$ (d, $^3\text{J} = 8.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.38$ (d, $^4\text{J} = 1.9$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.44$ (dd, $^3\text{J} = 8.3$ Hz, $^4\text{J} = 1.9$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 163 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (100.0), 148 (34.4), 134 (8.0), 120 (12.3)

2-Chlor-4-methoxybenzonitril (28e)

Aus 35×10^{-3} mol (6.00 g) 2-Chlor-4-methoxybenzaldehyd **27e**:

Ausbeute: 24×10^{-3} mol (4.09 g), 70%

C_8H_6NOCl (167.60)

farblose Kristalle als reine Substanz

Schmp.: 75°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3439 (w), 2227 (m), 1603 (s), 1495 (s), 1305 (m), 1244 (m), 1048 (s), 859 (m), 814 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.86$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.11$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.33$ (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.88$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 30°C): m/z (%) = 167 [M]⁺ (100.0), 152 (5.5), 137 (43.3), 124 (28.1)

2-Fluor-4-methoxybenzonitril (28f)

Aus 39×10^{-3} mol (6.00 g) 2-Fluor-4-methoxybenzaldehyd **27f**:

Ausbeute: 23×10^{-3} mol (3.46 g), 59%

C_8H_6NOF (151.14)

braunes Öl, kristallisiert beim Abkühlen in Form brauner Kristalle als reine Substanz aus.

Schmp.: 57°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3100 (m), 3055 (w), 2986 (w), 2957 (w), 2848 (w), 2228 (s), 1620 (s), 1574 (s), 1508 (s), 1257 (s), 1101 (s), 820 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.84$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.96$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.18$ (dd, $^3J(H, F) = 11.9$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.83$ (pt, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J(H, F) = 8.2$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 35°C): m/z (%) = 151 [M]⁺ (100.0), 136 (5.6), 121 (61.2), 109 (37.9)

2,6-Dichlor-4-methoxybenzonitril (28g)

Aus 15×10^{-3} mol (3.00 g) 2,6-Dichlor-4-methoxybenzaldehyd **27g**:

Ausbeute: 13×10^{-3} mol (2.65 g), 87%

$C_8H_5NOCl_2$ (202.04)

weißes Pulver

Schmp.: 154°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3083 (m), 3030 (w), 2961 (w), 2939 (w), 2849 (w), 2231 (s), 1591 (s), 1552 (s), 1269 (s), 1069 (s), 854 (s)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.84$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.39$ (s, 2H, ArH)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 201[M]⁺ (100.0), 171 (40.4), 158 (18.5), 136 (8.9)

4-Benzyloxybenzonnitril (28h)

Aus 28×10^{-3} mol (6.00 g) 4-Benzyloxybenzaldehyd **27h**:

Ausbeute: 23×10^{-3} mol (4.90 g), 84%

$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}$ (209.25)

weißes Pulver

Schmp.: 92°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3058 (w), 3039 (w), 2915 (w), 2221 (m), 1604 (s), 1509 (s), 1261 (s), 838 (m), 737 (m), 696 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 5.21$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.17$ (d, $^3\text{J} = 8.9$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.32$ (t, $^3\text{J} = 7.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.40$ (pt, $^3\text{J} = 7.0$, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.46$ (d, $^3\text{J} = 7.1$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.78$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 60°C): m/z (%) = 209 [M]⁺ (3.9), 91 (100.0), 77 (0.8), 65 (11.9), 51 (2.3), 39 (4.6)

Methode B: Nitrilsynthese aus Aldehyden und Hydroxylamin:

6.02×10^{-3} mol des entsprechenden Aldehyds (**27b**, **27c**, **27h**) werden in 5 ml DMF zum Sieden erhitzt. Es erfolgt die Zugabe von 3 ml einer heißen, 6.62 mM Hydroxylaminlösung in DMF. Der Ansatz darf dabei nicht aufhören zu sieden. Nach vollendeter Zugabe wird weitere 30 Minuten erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionsmischung auf die 3-fache Menge Wasser gegeben. Das analysenreine Produkt kann durch Absaugen gewonnen werden.

4-Methoxybenzonitril (28b)

Aus 37×10^{-3} mol (5.00 g) 4-Methoxybenzaldehyd **27b**:

Ausbeute: 17×10^{-3} mol (2.30 g), 47%

C_8H_7NO (133.15) als reine Substanz

weißes Pulver

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 146.

2,4-Dimethoxybenzonitril (28c)

Aus 21×10^{-3} mol (3.50 g) 2,4-Dimethoxybenzaldehyd **27c**:

Ausbeute: 15×10^{-3} mol (2.51 g), 73%

$C_9H_9NO_2$ (163.18)

gelbes Pulver

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 147.

4-Benzyloxybenzonitril (28h)

Aus 24×10^{-3} mol (5.00 g) 4-Benzyloxybenzaldehyd **27h**:

Ausbeute: 21×10^{-3} mol (4.30 g), 86%

$C_{14}H_{11}NO$ (209.25)

weißes Pulver

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 149.

Methode C: Synthese der 4-Benzyloxy-2-halo-benzonitrile:

3.27×10^{-3} mol 2-Halo-4-hydroxybenzonitril (**34i**, **34j**) werden in 11 ml MEC gelöst und nach Zugabe von 1.35 g K_2CO_3 und 3.27×10^{-3} mol (389 μ l) Benzylbromid 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Im Anschluss wird der Ansatz mit 10 ml Wasser versetzt und 3 x mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert. Man erhält die Verbindung in Form eines weißen Pulvers.

4-Benzyloxy-2-chlorbenzonitril (28i)

Aus 3.27×10^{-3} mol (0.50 g) 2-Chlor-4-hydroxybenzonitril **34i**:

Ausbeute: 2.48×10^{-3} mol (0.61 g), 76%

$C_{14}H_{10}NOCl$ (243.69)

weißes Pulver

Schmp.: 78-79°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3027 (w), 2943 (w), 2886 (w), 2222 (m), 1601 (s), 1559 (m), 1239 (s), 1001 (s), 838 (s), 725 (m), 699 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 5.24$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.17$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.29 - 7.49$ (m, 6H, ArH); $\delta = 7.89$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 70°C): m/z (%) = 243 $[M]^+$ (4.9), 152 (2.7), 91 (100.0), 65 (7.3), 51 (0.9), 39 (2.4)

4-Benzyloxy-2-fluorbenzonitril (28j)

Aus 3.65×10^{-3} mol (0.50 g) 2-Fluor-4-hydroxybenzonitril **34j**:

Ausbeute: 3.54×10^{-3} mol (0.80 g), 97%

$C_{14}H_{10}NOF$ (227.24)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3033 (w), 2955 (w), 2228 (m), 1616 (s), 1297 (s), 1113 (s), 851 (m), 743 (w), 699 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 5.22$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.05$ (dd, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J = 2.1$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.26$ (dd, $^3J(H, F) = 11.9$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.36$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.43$ (pt, $^3J = 6.8$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.47$ (d, $^3J = 7.2$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.84$ (pt, $^3J = 8.4$ Hz, $^4J(H, F) = 8.2$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 227 $[M]^+$ (2.3), 137 (3.9), 91 (100.0), 77 (5.1), 65 (11.5), 51 (4.2), 39 (5.4)

11.1.1.2.3 Benzamide

Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Benzamide:

10×10^{-3} mol des entsprechenden Nitrils (**28a-j**) werden in 100 ml tert.-Butanol gelöst. Nach Zugabe von 20.1 g KOH wird der Ansatz 3 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen gibt man 100 ml einer gesättigten NaCl-Lösung hinzu und schüttelt 3 x mit je 50 ml Dichlormethan aus. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Das gewünschte Produkt wird in analysenreiner Form erhalten.

Benzamid (36a)

Aus 18.91×10^{-3} mol (1.95 g) Benzonitril **28a**:

Ausbeute: 14.36×10^{-3} mol (1.74 g), 76%

$\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}$ (121.14)

gelber Feststoff

Schmp.: 223°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3370 (s), 3176 (s), 3081 (m), 1659 (s), 1625 (s), 1578 (m), 1551 (s), 707 (m), 685 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 7.34$ (bs, 1H, *HO-C=NH*); $\delta = 7.43$ (pt, $^3\text{J} = 7.1$ Hz, $^3\text{J} = 7.7$ Hz, 2H, *ArH*), $\delta = 7.52$ (t, $^3\text{J} = 7.3$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.87$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 7.96$ (bs, 1H, *HO-C=NH*)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 121 [M]⁺ (92.5), 105 (100.0), 77 (75.2), 51 (23.2)

4-Methoxybenzamid (36b)

Aus 11.26×10^{-3} mol (1.50 g) 4-Methoxybenzonitril **28b**:

Ausbeute: 8.40×10^{-3} mol (1.27 g), 74%

$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ (151.17)

weißes Pulver

Schmp.: 157°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3391 (s), 3173 (s), 3015 (w), 2969 (w), 2940 (w), 2842 (w), 1649 (s), 1617 (s), 1573 (s), 1516 (m), 1253 (s), 815 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.97$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.17$ (bs, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.77 - 7.89$ (m, 3H, ArH , HO-C=NH)

MS (EI, 80°C): m/z (%) = 151 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (44.2), 135 (100.0), 122 (2.6), 107 (13.2), 92 (27.8), 77 (40.5), 64 (18.6)

2,4-Dimethoxybenzamid (36c)

Aus 9.19×10^{-3} mol (1.50 g) 2,4-Dimethoxybenzonnitril **28c**:

Ausbeute: 6.62×10^{-3} mol (1.20 g), 72%

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ (181.19)

weißes Pulver

Schmp.: 131°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3435 (s), 3165 (m), 3008 (w), 2944 (w), 2836 (w), 1657 (s), 1599 (s), 1499 (m), 1214 (m), 830 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH_3), $\delta = 3.89$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.58$ (dd, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.62$ (d, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.34$ (bs, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.47$ (bs, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.84$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 181 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (74.1), 165 (100.0), 135 (75.5), 107 (19.3)

3,4-Dimethoxybenzamid (36d)

Aus 18.38×10^{-3} mol (3.00 g) 3,4-Dimethoxybenzonnitril **28d**:

Ausbeute: 14.02×10^{-3} mol (2.54 g), 76%

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ (181.19)

weißes Pulver

Schmp.: 155°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3372 (s), 3180 (s), 3009 (m), 2959 (m), 2937 (m), 2838 (w), 1651 (s), 1609 (s), 1578 (s), 1517 (s), 1264 (s), 1241 (s), 800 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.78$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.83$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.97$ (d, $^3\text{J} = 8.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.19$ (s, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.46$ (d, $^4\text{J} = 2.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.49$ (dd, $^3\text{J} = 8.3$ Hz, $^4\text{J} = 2.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.85$ (s, 1H, HO-C=NH)

MS (EI, 140°C): m/z (%) = 181 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (100.0), 165 (76.4), 150 (5.6), 137 (7.5), 107 (3.6)

2-Chlor-4-methoxybenzamid (36e)

Aus 8.95×10^{-3} mol (1.50 g) 2-Chlor-4-methoxybenzonnitril **28e**:

Ausbeute: 5.93×10^{-3} mol (1.10 g), 66%

$C_8H_8NO_2Cl$ (185.61)

weißes Pulver

Schmp.: 149°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3360 (s), 3181 (m), 3071 (w), 2976 (w), 2841 (w), 1647 (s), 1601 (s), 1557 (m), 1501 (m), 1234 (m), 1042 (m), 817 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.92$ (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.03$ (d, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.40$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.45$ (s, 1H, $HO-C=NH$); $\delta = 7.71$ (s, 1H, $HO-C=NH$)

MS (EI, 50°C): m/z (%) = 185 [M]⁺ (58.0), 169 (100.0), 141 (1.2)

2-Fluor-4-methoxybenzamid (36f)

Aus 9.92×10^{-3} mol (1.50 g) 2-Fluor-4-methoxybenzonnitril **28f**:

Ausbeute: 6.15×10^{-3} mol (1.04 g), 62%

$C_8H_8NO_2F$ (169.16)

weiß/gelbes Pulver

Schmp.: 140°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3410 (m), 3175 (m), 3017 (w), 2980 (w), 2845 (w), 1648 (s), 1614 (s), 1508 (m), 1284 (s), 1155 (m), 832 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.79 - 6.93$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.44$ (bs, 1H, $HO-C=NH$); $\delta = 7.51$ (bs, 1H, $HO-C=NH$); $\delta = 7.66$ (pt, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J(H, F) = 8.7$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 60°C): m/z (%) = 169 [M]⁺ (52.8), 153 (100.0)

2,6-Dichlor-4-methoxybenzamid (36g)

Aus 4.95×10^{-3} mol (1.00 g) 2,6-Dichlor-4-methoxybenzonnitril **28g**:

Ausbeute: 4.64×10^{-3} mol (1.02 g), 94%

$C_8H_7NO_2 Cl_2$ (220.06)

weißes Pulver

Schmp.: 152-153°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3410 (m), 3183 (m), 3091 (m), 2941 (m), 2840 (w), 1651 (s), 1597 (s), 1555 (s), 1511 (m), 1256 (s), 1056 (s), 811 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.79$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.08$ (s, 2H, ArH); $\delta = 7.69$ (s, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.95$ (s, 1H, HO-C=NH)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 219 [M]⁺ (40.8), 203 (100.0), 188 (4.6), 111 (6.6), 97 (7.9)

4-Benzyloxybenzamid (36h)

Aus 7.17×10^{-3} mol (1.50 g) 4-Benzyloxybenzonnitril **28h**:

Ausbeute: 6.16×10^{-3} mol (1.40 g), 86%

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ (227.27)

weißes Pulver

Schmp.: 182°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3372 (s), 3171 (s), 3064 (w), 2933 (w), 1655 (s), 1621 (s), 1574 (m), 1513 (m), 1250 (s), 842 (m), 732 (m), 697 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 5.16$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.05$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.16$ (bs, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.34$ (t, $^3\text{J} = 7.1$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.40$ (pt, $^3\text{J} = 7.0$ Hz, $^3\text{J} = 7.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.46$ (d, $^3\text{J} = 7.2$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.80$ (bs, 1H, HO-C=NH); $\delta = 7.86$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 60°C): m/z (%) = 227 [M]⁺ (18.4), 91 (100.0)

4-Benzyloxy-2-chlorbenzamid (36i)

Aus 2.46×10^{-3} mol (0.60 g) 4-Benzyloxy-2-chlorbenzonnitril **28i**:

Ausbeute: 1.57×10^{-3} mol (0.41g), 64%

$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NO}_2\text{Cl}$ (261.71)

weißes Pulver

Schmp.: 143°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3367 (s), 3185 (m), 3066 (w), 2918 (w), 1651 (s), 1624 (m), 1603 (s), 1560 (m), 1234 (s), 1038 (m), 842 (w), 736 (m), 697 (m), 634 (m)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 5.17 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 7.00 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.11 (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.33 (t, ³J = 7.1 Hz, 1H, ArH); δ = 7.36 - 7.52 (m, 6H, ArH, HO-C=NH), δ = 7.71 (bs, 1H, HO-C=NH)
MS (EI, 100°C): m/z (%) = 261 [M]⁺ (7.1), 91 (100.0)

4-Benzyloxy-2-fluorbenzamid (36j)

Aus 8.80×10^{-3} mol (2.00 g) 4-Benzyloxy-2-fluorbenzonitril **28j**:

Ausbeute: 8.56×10^{-3} mol (2.10 g), 97%

C₁₄H₁₂NO₂F (245.26)

weißes Pulver

Schmp.: 150°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3401 (m), 3067 (w), 2930 (w), 1656 (s), 1620 (s), 1571 (w), 1239 (w), 838 (w), 734 (w), 695 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 5.17 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.92 (dd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ArH); δ = 6.96 (dd, ³J(H, F) = 13.0 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.27 - 7.53 (m, 7H, ArH, HO-C=NH); δ = 7.66 (pt, ³J = 8.9 Hz, ⁴J (H, F) = 8.8 Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 130°C): m/z (%) = 245 [M]⁺ (4.3), 91 (100.0), 77 (0.4), 65 (7.9), 39 (2.2)

11.1.1.2.4 Benzimidssäureethylester

Allgemeine Vorschriften (Methoden A-B) zur Synthese der Benzimidssäureethylester

Methode A: Benzimidssäureethylester-Hydrochlorid (35a I)

und 4-Methoxybenzimidisäureethylester-Hydrochlorid (35b I)

15×10^{-3} mol des entsprechenden Nitrils (**28a**, **28b**) werden in 4 ml Ether suspendiert. Zu dieser Suspension werden 15×10^{-3} mol (270 µl) Wasser und 15×10^{-3} mol (852 µl) Ethanol gegeben. Bei einer Temperatur von 0°C werden 14.10×10^{-3} mol (1.03 ml) Thionylchlorid über 1 h langsam zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird der Ansatz noch 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Die

Reaktion wird durch Zugabe von 70 ml Ether beendet und der Ansatz über Nacht in den Gefrierschrank gestellt. Die Benzimid Säureethylester-Hydrochloride werden durch anschließendes Absaugen und Waschen des entstehenden Niederschlags mit Diethylether in reiner Form gewonnen.

Benzimid Säureethylester-Hydrochlorid (35a I)

Aus 48.49×10^{-3} mol (5.00 g) Benzonitril **28a**:

Ausbeute: 18.05×10^{-3} mol (3.35 g), 37%

$C_9H_{11}NO \times HCl$ (149.19 x 36.36)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3089 (s), 2982 (s), 2926 (s), 1714 (m), 1606 (s), 1580 (s), 1506 (m), 1120 (m), 697 (s)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.49$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 4.62$ (q, $^3J = 7.0$ Hz, 2H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 7.66$ (pt, $^3J = 7.6$ Hz, $^3J = 8.2$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.83$ (t, $^3J = 7.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 8.08$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 11.11$ (bs, 1H, NH_2); $\delta = 11.88$ (bs, 1H, NH_2)

MS (EI, 130°C): m/z (%) = 149 [M]⁺ (7.1), 121 (40.0), 105 (100.0), 77 (48.6), 36 (26.1)

4-Methoxybenzimid Säureethylester-Hydrochlorid (35b I)

Aus 15.02×10^{-3} mol (2.00 g) 4-Methoxybenzonitril **28b**:

Ausbeute: 4.82×10^{-3} mol (1.04 g), 32%

$C_{10}H_{13}NO_2 \times HCl$ (179.22 x 36.36)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3396 (w), 2997 (s), 2905 (s), 2842 (s), 1698 (m), 1603 (s), 1578 (s), 1524 (s), 1276 (s), 852 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.48$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 3.88$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.59$ (q, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 7.19$ (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 8.12$ (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 11.38$ (bs, 2H, NH_2)

MS (EI, 130°C): m/z (%) = 179 [M]⁺ (17.6), 151 (39.6), 135 (100.0), 36 (20.1)

Methode B: Synthese einfach und mehrfach substituierter Benzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborate

5.5×10^{-3} mol des entsprechenden Amids werden in 10 ml absolutem Dichlormethan gelöst. 7 ml einer 1 molaren Et_3OBF_4 -Lösung werden unter Stickstoffatmosphäre langsam zugetropft. Nach 16-stündigem Rühren bei Raumtemperatur werden 40 ml absoluten Ethers dazugegeben. Bei -18°C fallen die Benzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborate z.T. aus und können abgesaugt werden. Ist das nicht der Fall, wird die organische Phase bei Raumtemperatur einrotiert.

Die freien Verbindungen erhält man, indem man den eingedampften Rückstand mit einer 5%-igen NaHCO_3 -Lösung max. 10 Minuten rührt. Im Anschluss wird die Wasserphase 3 x mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels erhält man die freien Verbindungen. Aufgrund der Instabilität der Benzimid säureethylester erfolgt die weitere Umsetzung ohne vorherige Aufreinigung.

Benzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborat (35a II)

Aus 4.13×10^{-3} mol (0.50 g) Benzamid **36a**:

Ausbeute: 2.41×10^{-3} mol (0.57 g), 58%

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO} \times \text{HBF}_4$ (149.19 x 87.81)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3414 (m), 3090 (m), 3059 (m), 2982 (m), 2937 (s), 1697 (m), 1606 (m), 1580 (m), 1507 (w), 1454 (m), 771 (w), 697 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.50$ (t, $^3\text{J} = 7.0$ Hz, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 4.60$ (q, 2H, $^3\text{J} = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 7.68$ (pt, $^3\text{J} = 7.8$ Hz, $^3\text{J} = 7.9$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.84$ (t, $^3\text{J} = 7.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 8.03$ (d, $^3\text{J} = 7.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 11.24$ (bs, 2H, NH_2)

MS (EI, 80°C): m/z (%) = 149 [M]⁺ (5.8), 121 (44.6), 105 (100.0), 77 (37.5), 49 (39.3), 20 (13.7)

4-Methoxybenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluoroborat (35b II)

Aus 23.81×10^{-3} mol (3.60 g) 4-Methoxybenzamid **36b**:

Ausbeute: 12.06×10^{-3} mol (3.22 g), 51%

$C_{10}H_{13}NO_2 \times HBF_4$ (179.22 x 87.81)

farbloser Feststoff

Schmp.: 112-114°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3331 (m), 3200 (m), 2458 (m), 1665 (m), 1608 (m), 1487 (m), 1283 (m), 1057 (s), 848 (w), 756 (w), 654 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.25$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 3.66$ (s, 3H, OCH_3), $\delta = 4.32$ (q, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 6.96$ (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 7.79$ (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 10.31$ (bs, 1H, NH_2); $\delta = 11.04$ (bs, 1H, NH_2)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 179 $[M]^+$ (11.2), 151 (45.6), 135 (100.0), 49 (37.5), 20 (16.6)

2,4-Dimethoxybenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluoroborat (35c II)

Aus 5.52×10^{-3} mol (1.00 g) 2,4-Dimethoxybenzamid **36c**:

Ausbeute: 4.98×10^{-3} mol (1.48 g), 90%

$C_{11}H_{15}NO_3 \times HBF_4$ (209.25 x 87.81)

gelbes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3356 (m), 3087 (m), 2990 (m), 2951 (m), 1661 (s), 1613 (s), 1580 (m), 1512 (m), 1301 (s), 1261 (s), 859 (w), 840 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.45$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 3.91$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.00$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.52$ (q, $^3J = 7.0$ Hz, 2H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 6.78$ (dd, $^3J = 9.0$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 6.83$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.84$ (d, $^3J = 9.2$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 10.52$ (bs, 1H, NH_2); $\delta = 10.73$ (bs, 1H, NH_2)

MS (EI, 190°C): m/z (%) = 209 $[M]^+$ (35.4), 194 (5.2), 181 (50.7), 165 (100.0), 49 (48.9), 20 (14.7)

3,4-Dimethoxybenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluorborat (35d II)

Aus 2.76×10^{-3} mol (0.50 g) 3,4-Dimethoxybenzamid **36d**:

Ausbeute: 2.39×10^{-3} mol (0.71 g), 87%

$C_{11}H_{15}NO_3 \times HBF_4$ (209.25 x 87.81)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3427 (m), 3355 (m), 3289 (m), 2952 (m), 2844 (w), 1670 (s), 1602 (s), 1546 (m), 1542 (m), 1274 (s), 1247 (s), 892 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.50$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 3.85$ (s, 3H, OCH_3), $\delta = 3.89$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.56$ (q, $^3J = 7.0$ Hz, 2H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 7.25$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.60$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.70$ (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 10.50$ (bs, 1H, NH_2); $\delta = 11.33$ (bs, 1H, NH_2)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 209 [M]⁺ (70.6), 194 (8.2), 181 (50.1), 165 (97.2),

2-Chlor-4-methoxybenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluorborat (35e II)

Aus 5.39×10^{-3} mol (1.00 g) 2-Chlor-4-methoxybenzamid **36e**:

Ausbeute: 4.68×10^{-3} mol (1.41 g), 87%

$C_{10}H_{12}NO_2Cl \times HBF_4$ (213.67 x 87.81)

farblose Substanz

Schmp.: 80-90°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3426 (s), 2925 (s), 2363 (w), 1599 (s), 1457 (m), 1236 (m), 1119 (s), 1082 (s), 820 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.46$ (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 3.88$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.58$ (q, $^4J = 7.0$ Hz, 2H, $-CH_2-CH_3$); $\delta = 7.16$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.31$ (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.77$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 11.82$ (bs, 2H, NH_2)

MS (EI, 90°C): m/z (%) = 212 [M]⁺ (2.8), 185 (45.8), 169 (100.0), 49 (38.0), 20 (14.0)

2-Fluor-4-methoxybenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluorborat (35f II)

Aus 5.91×10^{-3} mol (1.00 g) 2-Fluor-4-methoxybenzamid **36f**:

Ausbeute: 4.21×10^{-3} mol (1.20 g), 71%

$C_{10}H_{12}NO_2F \times HBF_4$ (197.21 x 87.81)

gelber Feststoff

IR (KBr, cm^{-1}): 3465 (m), 3096 (m), 3027 (w), 2948 (m), 1667 (s), 1622 (s), 1592 (m), 1568 (m), 1246 (m), 1100 (s), 874 (m), 852 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.45$ (t, $^3\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 3.90$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.57$ (q, $^4\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 7.04$ (dd, $^3\text{J} = 8.9\text{ Hz}$, $^4\text{J} = 2.4\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.16$ (dd, $^3\text{J}(\text{H}, \text{F}) = 13.6\text{ Hz}$, $^4\text{J} = 2.4\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.82$ (pt, $^3\text{J} = 8.8\text{ Hz}$, $^4\text{J}(\text{H}, \text{F}) = 8.8\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 11.11$ (s, 2H, NH_2)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 196 $[\text{M}]^{+*}$ (1.0), 169 (47.9), 153 (100.0), 49 (22.9), 20 (0.7)

2,6-Dichlor-4-methoxybenzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborat (35g II)

Aus 5.18×10^{-3} mol (1.14 g) 2,6-Dichlor-4-methoxybenzamid **36g**:

Ausbeute: 2.05×10^{-3} mol (0.69 g), 40%

$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Cl}_2 \times \text{HBF}_4$ (248.11 \times 87.81)

Oberhalb von 0°C nimmt der Feststoff eine ölige Konsistenz an.

IR (KBr, cm^{-1}): 3356 (m), 3191 (m), 2944 (m), 1662 (s), 1598 (s), 1556 (s), 1389 (m), 1296 (m), 1262 (m), 1061 (s), 1030 (s), 910 (w), 850 (w), 812 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.36$ (t, $^3\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 3.86$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.43$ (q, $^4\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 7.27$ (s, 2H, ArH), NH_2 ausgetauscht.

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 247 $[\text{M}]^{+*}$ (1.0), 221 (23.0), 219 (35.1), 203 (100.0)

4-Benzyloxybenzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborat (35h II)

Aus 7.26×10^{-3} mol (1.65 g) 4-Benzyloxybenzamid **36h**:

Ausbeute: 3.03×10^{-3} mol (1.04 g), 42%

$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_2 \times \text{HBF}_4$ (255.32 \times 87.81)

weißes Pulver

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.48$ (t, $^3\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 4.55$ (q, $^3\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); $\delta = 5.26$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.28$ (d, $^3\text{J} = 9.0\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 7.35$ (t, $^3\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.42$ (pt, $^3\text{J} = 6.8\text{ Hz}$, $^3\text{J} = 7.6\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 7.48$ (d, $^3\text{J} = 7.0\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 8.02$ (d, $^3\text{J} = 9.0\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 10.69$ (bs, 1H, NH_2); $\delta = 11.23$ (bs, 1H, NH_2)

MS (EI, 140°C): m/z (%) = 255 [M]⁺ (5.0), 227 (14.0), 211 (1.3), 164 (0.5), 91 (100.0), 77 (0.7), 65 (6.9), 51 (1.0), 49 (21.7), 20 (3.3)

4-Benzyloxy-2-chlorbenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluorborat (35i II)

Aus 1.79×10^{-3} mol (0.47 g) 4-Benzyloxy-2-chlorbenzamid **36i**:

Ausbeute: 1.38×10^{-3} mol (0.52 g), 77%

$C_{16}H_{16}NO_2Cl \times HBF_4$ (289.76 x 87.81)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3379 (m), 3079 (m), 3037 (m), 2932 (m), 1601 (s), 1225 (m), 1076 (s), 1038 (s), 820 (m), 747 (m), 701 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 1.44 (t, ³J = 7.0 Hz, 3H, -CH₂-CH₃); δ = 4.55 (q, ³J = 7.0 Hz, 2H, -CH₂-CH₃); δ = 5.27 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 7.23 (dd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ArH); δ = 7.36 (t, ³J = 7.0 Hz, 1H, ArH); δ = 7.40 - 7.47 (m, 5H, ArH); δ = 7.73 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, ArH); δ = 11.56 (bs, 2H, NH₂)

4-Benzyloxy-2-fluorbenzimid Säureethylester-Hydrotetrafluorborat (35j II)

Aus 0.82×10^{-3} mol (0.200 g) 4-Benzyloxy-2-fluorbenzamid **36j**:

Ausbeute: 0.28×10^{-3} mol (0.100 g), 34%

$C_{16}H_{16}NO_2F \times HBF_4$ (273.31 x 87.81)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3404 (w), 3027 (m), 2936 (s), 2921 (s), 1693 (m), 1621 (s), 1266 (m), 1136 (s), 1080 (s), 813 (m), 740 (m), 695 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 1.45 (t, ³J = 7.0 Hz, 3H, -CH₂-CH₃); δ = 4.54 (q, ³J = 7.0 Hz, 2H, -CH₂-CH₃); δ = 5.27 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 7.11 (dd, ³J = 8.9 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ArH); δ = 7.25 (dd, ³J(H, F) = 13.5 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.37 (t, ³J = 7.0 Hz, 1H, ArH); δ = 7.43 (pt, ³J = 7.4 Hz, ³J = 6.9 Hz, 2H, ArH); δ = 7.47 (d, ³J = 8.4 Hz, 2H, ArH); δ = 7.82 (pt, ³J = 8.7 Hz, ⁴J(H, F) = 8.7 Hz, 1H, ArH); δ = 11.14 (bs, 2H, NH₂)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 273 [M]⁺ (3.4), 245 (5.9), 182 (1.9), 91 (100.0), 65 (6.8), 51 (0.8), 49 (5.8), 20 (2.5)

11.1.1.2.5 4-Benzyloxy-1,2-phenylendiamin

Synthese des 4-Benzyloxy-2-nitroanilins (39)

6.49×10^{-3} mol (1.00 g) 4-Hydroxy-2-nitroanilin **37** werden in 21 ml MEC gelöst. Nach Zugabe von 19×10^{-3} mol (2.69 g) K_2CO_3 und 6.49×10^{-3} mol (773 μ l) Benzylbromid **38** wird der Ansatz 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wird abrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel. Als Fließmittel dient ein Gemisch aus Ether/Petrolether (1:1).

Aus 12.98×10^{-3} mol (2.00 g) 4-Hydroxy-2-nitroanilin **37** und 12.98×10^{-3} mol (1.546 ml) Benzylbromid **38**:

Ausbeute: 11.42×10^{-3} mol (2.79 g), 88%

$C_{13}H_{12}N_2O_3$ (244.25)

rotes Pulver

Schmp.: 106°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3477 (s), 3353 (s), 3161 (w), 3032 (w), 2929 (w), 1642 (w), 1594 (m), 1572 (m), 1514 (s), 1253 (m), 846 (w), 748 (w), 697 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 5.06$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.00$ (d, $^3J = 9.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.23$ (dd, $^3J = 9.2$ Hz, $^4J = 3.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.28$ (s, 2H, NH_2); $\delta = 7.34$ (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.39$ (pt, $^3J = 7.1$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.44$ (d, $^3J = 7.0$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.48$ (d, $^4J = 2.9$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 110°C): m/z (%) = 244 [M]⁺⁺ (18.4), 153 (2.9), 91 (100.0), 77 (0.6), 65 (4.6), 39 (1.7)

Synthese des 4-Benzyloxy-1,2-phenylendiamins (40c)

1.29×10^{-3} mol (316 mg) 4-Benzyloxy-2-nitroanilin **39** werden in 5 ml Ethanol suspendiert und auf 0°C abgekühlt. Eine Lösung von 4.50×10^{-3} mol (1.01 g) $SnCl_2$ in 16 ml 5 N HCl wird langsam zugetropft. Im Anschluss wird der Ansatz 16 h auf 50°C erhitzt. Die rote Farbe des 4-Benzyloxy-2-nitroanilins verschwindet und die Lösung wird klar. Nach dem Abkühlen wird mit 50%-iger KOH-Lösung ein pH-Wert von 14 eingestellt. Das Produkt wird durch Ausschütteln der wässrigen Phase mit 3 x 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und das

Lösungsmittel abgedampft. Man erhält das Produkt in Form eines grün/graunen Pulvers.

Aus 1.29×10^{-3} mol (316 mg) 4-Benzyloxy-2-nitroanilin **39**:

Ausbeute: 1.23×10^{-3} mol (263 mg), 95 %

$C_{13}H_{14}N_2O$ (214.27)

grün/graues Pulver

Schmp.: 62°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3397 (m), 3061 (w), 3030 (w), 2922 (w), 1623 (m), 1602 (m), 1514 (s), 1245 (m), 838 (w), 734 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.99$ (s, 2H, NH_2); $\delta = 4.48$ (s, 2H, NH_2); $\delta = 4.89$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.04$ (dd, $^3J = 8.4$ Hz, $^4J = 2.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.23$ (d, $^4J = 2.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.39$ (d, $^3J = 8.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.23 - 7.46$ (m, 5H, ArH)

MS (EI, 95°C): m/z (%) = 214 $[M]^+$ (31.0), 123 (100.0), 91 (32.1), 77 (5.7), 65 (8.5), 39 (7.0)

11.1.1.2.6 2-Phenyl-1*H*-benzimidazole

Allgemeine Vorschriften (Methoden A-D) zur Synthese der 2-Phenyl-1*H*-benzimidazole

Methode A: Synthese aus Benzimidsäureethylester-Hydrotetrafluoroboraten und 1,2-Phenylendiaminen in Eisessig

1×10^{-3} mol des entsprechenden Benzimidsäureethylester-Hydrotetrafluoroborats werden in 5 ml Eisessig gelöst und im Anschluss mit 1×10^{-3} mol des jeweiligen 1,2-Phenylendiamins 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz mit 5%-iger $NaHCO_3$ -Lösung neutralisiert und die wässrige Phase 3 x mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Fließmittelgemisch aus Ether/Petrolether (10:1).

2-(4-Methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (41b)

Aus 1.12×10^{-3} mol (300 mg) 4-Methoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35b II** und 1.12×10^{-3} mol (121 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 1.08×10^{-3} mol (242 mg), 96%

$C_{14}H_{12}N_2O$ (224.26)

weißes Pulver

Schmp.: 190-200°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3411 (w), 3055 (m), 3007 (m), 2962 (m), 2929 (m), 2836 (m), 1612 (s), 1500 (s), 1255 (s), 838 (m), 746 (s)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.83$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.10$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 7.14 - 7.18$ (m, 2H, *ArH*); $\delta = 7.44 - 7.52$ (m, 1H, *ArH*); $\delta = 7.56$ (m, 1H, *ArH*); $\delta = 8.11$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 12.63$ (s, 1H, *NH*)

MS (EI, 60°C): m/z (%) = 224 $[M]^+$ (100.0), 209 (28.8), 195 (8.1), 181 (15.1)

2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol (41c)

Aus 1.68×10^{-3} mol (500 mg) 2,4-Dimethoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35c II** und 1.68×10^{-3} mol (182 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 0.57×10^{-3} mol (144 mg), 31%

$C_{15}H_{14}N_2O_2$ (254.29)

weißes Pulver

Schmp.: 192°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3224 (m), 3054 (m), 2961 (m), 2919 (m), 2836 (m), 1613 (s), 1584 (s), 1253 (s), 821 (s), 745 (s)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.85$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 4.00$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.70$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 6.76$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.09 - 7.20$ (m, 2H, *ArH*); $\delta = 7.57$ (pt, $^3J = 8.5$ Hz, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 8.25$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 11.85$ (s, 1H, *NH*)

MS (EI, 120°C): m/z (%) = 254 $[M]^+$ (46.8), 239 (6.7), 224 (17.9), 211 (8.2), 196 (4.6), 168 (7.2)

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol (41d)

Aus 1.93×10^{-3} mol (572 mg) 3,4-Dimethoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35d II** und 1.93×10^{-3} mol (209 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 0.78×10^{-3} mol (198 mg), 40%

$C_{15}H_{14}N_2O_2$ (254.29)

weißes Pulver

Schmp.: 221-222°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3428 (w), 3342 (w), 3064 (w), 3005 (w), 2958 (w), 2937 (w), 2840 (w), 1608 (w), 1590 (w), 1265 (s), 812 (w), 748 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.84$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.89$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.13$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.15 - 7.22$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.47 - 7.53$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.59 - 7.65$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.73$ (dd, $^3J = 8.3$ Hz, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.77$ (d, $^4J = 1.9$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 12.71$ (s, 1H, NH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 254 $[M]^{+*}$ (100.0), 239 (17.3), 224 (3.6), 211 (16.5), 196 (5.7), 168 (9.4)

2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (41e)

Aus 2.65×10^{-3} mol (800 mg) 2-Chlor-4-methoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35e II** und 2.65×10^{-3} mol (287 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 0.73×10^{-3} mol (189 mg), 28%

$C_{14}H_{11}N_2OCl$ (258.71)

weißes Pulver

Schmp.: 168-170°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3420 (m), 3062 (w), 3003 (w), 2938 (w), 2905 (w), 2841 (w), 1652 (m), 1608 (s), 1568 (w), 1231 (m), 1044 (m), 813 (w), 749 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.87$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 7.09$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.14 - 7.24$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.50 - 7.59$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.62 - 7.71$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.85$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 12.55$ (s, 1H, NH)

MS (EI, 110°C): m/z (%) = 258 $[M]^{+*}$ (13.2), 243 (3.3), 215 (0.8)

5-(6)-Methoxy-2-phenyl-1H-benzimidazol (42a)

Aus 2.11×10^{-3} mol (500 mg) Benzimidazolethylester-Hydroxytetrafluoroborat **35a II** und 2.11×10^{-3} mol (292 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.23×10^{-3} mol (275 mg), 58%

$C_{14}H_{12}N_2O$ (224.26)

weißes Pulver

Schmp.: 139°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3411 (w), 3061 (m), 2920 (s), 2849 (m), 1631 (m), 1594 (w), 1270 (m), 810 (m), 695 (m)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.80$ (s, 2.4H OCH_3); $\delta = 3.82$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.82$ (dd, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 6.85$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 0.8H, *ArH*); $\delta = 6.99$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.19$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 0.8H, *ArH*); $\delta = 7.40$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 0.8H, *ArH*); $\delta = 7.43 - 7.58$ (m, 6.4H, *ArH*); $\delta = 8.03 - 8.19$ (m, 3.6H, *ArH*); $\delta = 12.73$ (s, 1H, *NH*); $\delta = 12.76$ (s, 0.8H, *NH*)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 224 $[M]^{+}$ (100.0), 209 (68.7), 195 (11.0), 181 (15.7)

5-(6)-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (42b)

Aus 1.12×10^{-3} mol (298 mg) 4-Methoxybenzimidazolethylester-Hydroxytetrafluoroborat **35b II** und 1.12×10^{-3} mol (136 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 0.79×10^{-3} mol (200 mg), 70%

$C_{15}H_{14}N_2O_2$ (254.29)

weißes Pulver

Schmp.: 187°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3411 (m), 3052 (m), 3002 (m), 2924 (m), 2849 (m), 1635 (m), 1611 (s), 1581 (w), 1261 (s), 835 (m)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.78$ (s, 2.4H, OCH_3), $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH_3), $\delta = 3.86$ (s, 5.4H, OCH_3); $\delta = 6.79$ (dd, $^3J = 9.0$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 6.81$ (dd, $^3J = 9.0$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 0.8H, *ArH*); $\delta = 6.95$ (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, *ArH*); $\delta = 7.08$ (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, *ArH*); $\delta = 7.09$ (d, $^3J = 8.9$ Hz, 1.6H, *ArH*); $\delta = 7.15$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 0.8H, *ArH*); $\delta = 7.36$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 0.8H, *ArH*); $\delta = 7.49$ (d, $^3J = 8.8$ Hz,

1H, ArH); $\delta = 8.05$ (pt, $^3J = 8.8$ Hz, $^3J = 8.9$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 12.55$ (s, 1H, NH);
 $\delta = 12.56$ (s, 0.8H, NH)

MS (EI, 60°C): m/z (%) = 254 [M]⁺ (100.0), 239 (65.8), 211 (14.3), 196 (6.3),
168 (3.7)

Methode B: Synthese aus freien Benzimidssäureethylestern und 1,2-Phenylendiaminen in Eisessig

Die freien Benzimidssäureethylester werden durch 10-minütiges Rühren der entsprechenden Benzimidssäureethylester-Hydrotetrafluoroborate in einer 5%-igen NaHCO₃-Lösung und anschließendem Ausschütteln mit Dichlormethan erhalten.

1 x 10⁻³ mol des entsprechenden freien Benzimidssäureethylesters werden in 5 ml Eisessig gelöst und im Anschluss mit 1 x 10⁻³ mol des jeweiligen 1,2-Phenylendiamins 16 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Aufarbeitung und Reinigung erfolgen wie unter Methode A beschrieben.

2-(2-Fluor-4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (41f)

Aus 3.04 x 10⁻³ mol (600 mg) 2-Fluor-4-methoxybenzimidssäureethylester **35f III** und 3.04 x 10⁻³ mol (329 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 1.69 x 10⁻³ mol (410 mg), 56%

C₁₄H₁₁N₂OF (242.25)

weißes Pulver

Schmp.: 200°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3445 (m), 3071 (m), 3002 (m), 2971 (m), 2940 (m), 2845 (m),
1628 (s), 1582 (m), 1234 (m), 1142 (m), 838 (m), 752 (m)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 3.86$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 6.97$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz,
 $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.07$ (dd, $^3J(\text{H}, \text{F}) = 13.4$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH);
 $\delta = 7.12 - 7.28$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.45 - 7.58$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.58 - 7.69$ (m, 1H,
ArH); $\delta = 8.14$ (pt, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J(\text{H}, \text{F}) = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 12.37$ (s, 1H, NH)

MS (EI, 70°C): m/z (%) = 242 [M]⁺ (100.0), 227 (36.0), 213 (7.1), 199 (9.6), 179 (8.1)

2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-1H-benzimidazol (41h)

Aus 1.43×10^{-3} mol (414 mg) 4-Benzyloxy-2-chlorbenzimidssäureethylester **35i III** und 1.43×10^{-3} mol (155 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 0.30×10^{-3} mol (100 mg), 21%

$C_{20}H_{15}N_2OCl$ (334.81)

weißes Pulver

Schmp.: 170-172°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3435 (m), 3062 (m), 2946 (m), 1606 (s), 1563 (w), 1224 (s), 1040 (m), 811 (w), 747 (s), 701 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 5.24$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.10 - 7.27$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.30$ (d, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.36$ (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.43$ (pt, $^3J = 7.1$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.49$ (d, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.51 - 7.57$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.61 - 7.71$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.84$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 12.55$ (s, 1H, NH)

MS (EI, 210°C): m/z (%) = 334 [M]⁺ (20.3), 299 (1.2), 243 (3.9), 91 (100.0), 77 (1.2), 65 (6.2), 39 (1.4)

2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol (42c)

Aus 1.11×10^{-3} mol (232 mg) 2,4-Dimethoxybenzimidssäureethylester **35c III** und 1.11×10^{-3} mol (153 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 0.79×10^{-3} mol (224 mg), 71%

$C_{16}H_{16}N_2O_3$ (284.32)

weißes Pulver

Schmp.: 140°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3420 (m), 3092 (w), 3001 (w), 2937 (m), 2836 (w), 1612 (s), 1583 (m), 1209 (s), 825 (m)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.78$ (s, 2.4H, OCH_3); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.84$ (s, 5.4H, OCH_3); $\delta = 3.87$ (s, 5.4H, OCH_3); $\delta = 6.79$ (dd, $^3J = 9.0$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.82$ (dd, $^3J = 9.5$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 6.96$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.10$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.11$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.16$ (d, $^4J = 2.1$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.37$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 0.8H, ArH);

$\delta = 7.49$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.62 - 7.70$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 12.56$ (s, 1H, NH); $\delta = 12.58$ (s, 0.8H, NH)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 284 [M]⁺ (100.0), 269 (31.4), 255 (12.6)

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol (42d)

Aus 1.43×10^{-3} mol (300 mg) 3,4-Dimethoxybenzimidäureethylester **35d III** und 1.43×10^{-3} mol (196 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.10×10^{-3} mol (313 mg), 77%

C₁₆H₁₆N₂O₃ (284.32)

weißes Pulver

Schmp.: 126-130°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3464 (s), 3001 (w), 2940 (w), 2839 (w), 1631 (w), 1609 (w), 1261 (m), 815 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus 2 Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 3.77$ (s, 2.4H, OCH₃); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.83$ (s, 5.4H, OCH₃); $\delta = 3.87$ (s, 5.4H, OCH₃); $\delta = 6.79$ (dd, $^3J = 9.1$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.82$ (dd, $^3J = 9.3$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 6.95$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.10$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.11$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.17$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.37$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.50$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.64 - 7.75$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 12.57$ (s, 1H, NH); $\delta = 12.58$ (s, 0.8H, NH)

MS (EI, 140°C): m/z (%) = 284 [M]⁺ (100.0), 269 (37.2), 255 (9.3), 241 (8.6)

2-(4-Benzyloxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol (42f)

Aus 0.63×10^{-3} mol (161 mg) 4-Benzyloxybenzimidäureethylester **35h III** und 0.63×10^{-3} mol (87 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 0.21×10^{-3} mol (68 mg), 33%

C₂₁H₁₈N₂O₂ (330.39)

weißes Pulver

Schmp.: 242°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3420 (m), 3065 (w), 3035 (w), 2956 (w), 2926 (m), 2862 (w), 1629 (m), 1611 (m), 1580 (w), 1256 (s), 835 (m), 738 (m), 738 (w), 697 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.78$ (s, 2.4H, OCH_3); $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 5.18$ (s, 3.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.73 - 6.86$ (m, 1.8H, ArH); $\delta = 6.96$ (d, $^4\text{J} = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.12 - 7.22$ (m, 4.6H, ArH); $\delta = 7.29 - 7.53$ (m, 10.6H, ArH); $\delta = 8.05$ (pt, $^3\text{J} = 8.2$ Hz, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 12.57$ (s, 1H, NH); $\delta = 12.58$ (s, 0.8H, NH)

MS (EI, 330°C): m/z (%) = 330 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (64.8), 301 (0.7), 239 (100.0), 211 (9.0), 196 (7.1), 91 (98.7), 77 (3.4), 65 (7.6), 39 (3.4)

Methode C: Synthese aus Benzimid säureethylester-Hydrochloriden bzw. -Hydrotetrafluoroboraten und 1,2-Phenylendiaminen in absolutem Ethanol

9.35×10^{-3} mol des entsprechenden Benzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborats bzw. -Hydrochlorids werden in 5 ml absolutem Ethanol unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Nach Zugabe von 9.35×10^{-3} mol des jeweiligen 1,2-Phenylendiamins wird der Ansatz zunächst 2 h bei RT gerührt und anschließend 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die Aufarbeitung und Reinigung erfolgt nach dem Abkühlen wie in Methode A beschrieben.

2-(4-Methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (41b)

Aus 3.75×10^{-3} mol (1.00 g) 4-Methoxybenzimid säureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35b II** und 3.75×10^{-3} mol (405 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 1.71×10^{-3} mol (384 mg), 46%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 165.

2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-1*H*-benzimidazol (41c)

Aus 3.55×10^{-3} mol (1.05 g) 2,4-Dimethoxybenzimidssäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35c II** und 3.55×10^{-3} mol (384 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 2.25×10^{-3} mol (573 mg), 63%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 165.

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1*H*-benzimidazol (41d)

Aus 2.15×10^{-3} mol (638 mg) 3,4-Dimethoxybenzimidssäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35d II** und 2.15×10^{-3} mol (233 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 1.29×10^{-3} mol (327 mg), 60%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 166.

2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-1*H*-benzimidazol (41e)

Aus 1.50×10^{-3} mol (452 mg) 2-Chlor-4-methoxybenzimidssäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35e II** und 1.50×10^{-3} mol (162 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 0.78×10^{-3} mol (202 mg), 52%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 166.

2-(4-Benzyloxyphenyl)-1*H*-benzimidazol (41g)

Aus 3.03×10^{-3} mol (1.04 g) 4-Benzyloxybenzimidssäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35h II** und 3.03×10^{-3} mol (328 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 1.48×10^{-3} mol (444 mg), 49%

$C_{20}H_{16}N_2O$ (300.36)

weißes Pulver

Schmp.: 155°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3412 (w), 3060 (m), 3034 (m), 2919 (m), 1611 (m), 1580 (w), 1248 (s), 748 (s), 698 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 5.20$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 7.10 - 7.24$ (m, 4H, ArH); $\delta = 7.34$ (t, $^3J = 7.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.42$ (pt, $^3J = 7.2$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 2H,

ArH); $\delta = 7.45 - 7.53$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.62$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 8.10$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 12.74$ (s, 1H, NH)

MS (EI, 180°C): m/z (%) = 300 [M]⁺ (41.7), 209 (15.8), 181 (8.0), 91 (100.0), 77 (2.5), 65 (7.1), 39 (2.4)

2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-1H-benzimidazol (41h)

Aus 1.59×10^{-3} mol (600 mg) 4-Benzyloxy-2-chlorbenzimid Säureethylester-Hydro-tetrafluoroborat **35i II** und 1.59×10^{-3} mol (172 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 1.11×10^{-3} mol (373 mg), 70%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 169.

2-(4-Benzyloxy-2-fluorphenyl)-1H-benzimidazol (41i)

Aus 1.38×10^{-3} mol (500 mg) 4-Benzyloxy-2-fluorbenzimid Säureethylester-Hydro-tetrafluoroborat **35j II** und 1.38×10^{-3} mol (149 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 0.81×10^{-3} mol (258 mg), 59%

C₂₀H₁₅N₂OF (318.35)

weißes Pulver

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 5.23$ (s, 2H, Phenyl-CH₂); $\delta = 7.06$ (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.30$ (dd, $^3J(H, F) = 12.9$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.28 - 7.51$ (m, 9H, ArH); $\delta = 8.15$ (pt, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J(H, F) = 8.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 12.40$ (s, 1H, NH)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 318 [M]⁺ (7.3), 91 (100.0), 77 (0.6), 65 (8.5), 39 (2.2)

5-(6)-Methoxy-2-phenyl-1H-benzimidazol (42a)

Aus 2.69×10^{-3} mol (500 mg) Benzimid Säureethylester-Hydrochlorid **35a I** und 2.69×10^{-3} mol (369 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.20×10^{-3} mol (270 mg), 45%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 167.

5-(6)-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-benzimidazol (42b)

Aus 3.68×10^{-3} mol (793 mg) 4-Methoxybenzimidäureethylester-Hydrochlorid **35b I** und 3.68×10^{-3} mol (504 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.93×10^{-3} mol (492 g), 53%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 167.

2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1*H*-benzimidazol (42c)

Aus 2.69×10^{-3} mol (800 mg) 2,4-Dimethoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35c II** und 2.69×10^{-3} mol (369 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.72×10^{-3} mol (490 mg), 64%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 169.

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1*H*-benzimidazol (42d)

Aus 2.36×10^{-3} mol (700 mg) 3,4-Dimethoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35d II** und 2.36×10^{-3} mol (324 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.73×10^{-3} mol (491 mg), 73%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 170.

2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1*H*-benzimidazol (42e)

Aus 3.32×10^{-3} mol (1.00 g) 2-Chlor-4-methoxybenzimidäureethylester-Hydrotetrafluoroborat **35e II** und 3.32×10^{-3} mol (455 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.34×10^{-3} mol (386 mg), 40%

$C_{15}H_{13}N_2O_2Cl$ (288.74)

weißes Pulver

Schmp.: 113-114°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3432 (m), 3075 (m), 3004 (m), 2937 (m), 2836 (m), 1629 (m), 1607 (s), 1226 (s), 1030 (s), 811 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.79$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.86$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 6.85$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.05 - 7.14$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.21$ (d,

$^4J = 2.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.50$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.83$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 11.94$ (bs, 1H, NH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 288 [M]⁺ (100.0), 273 (64.7), 245 (10.9), 210 (4.4)

2-(4-Benzyloxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol (42f)

Aus 1.70×10^{-3} mol (583 mg) 4-Benzyloxybenzimid säureethylester-Hydro-tetrafluoroborat **35h II** und 1.70×10^{-3} mol (233 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 0.88×10^{-3} mol (291 mg), 52%

Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 170.

2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol (42g)

Aus 2.25×10^{-3} mol (850 mg) 4-Benzyloxy-2-chlorbenzimid säureethylester-Hydro-tetrafluoroborat **35i II** und 2.25×10^{-3} mol (308 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.70×10^{-3} mol (620 mg), 76%

C₂₁H₁₇N₂O₂Cl (364.83)

farbloses Öl

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.7.

IR (Film, cm⁻¹): 3531 (s), 3432 (m), 3065 (m), 3033 (m), 2996 (m), 2932 (m), 2897 (m), 1628 (m), 1607 (m), 1286 (m), 1030 (w), 814 (w), 757 (w), 705 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 3.79$ (s, 2.1H, OCH₃); $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 5.23$ (s, 3.4H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.81$ (dd, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.86$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 0.7H, ArH); $\delta = 7.00$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.11 - 7.23$ (m, 2.4H, ArH); $\delta = 7.25 - 7.31$ (m, 1.7H, ArH); $\delta = 7.35$ (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1.7H, ArH); $\delta = 7.39 - 7.46$ (m, 4.1H, ArH); $\delta = 7.49$ (d, $^3J = 7.5$ Hz, 3.4H, ArH); $\delta = 7.54$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.84$ (pt, $^3J = 9.1$ Hz, $^3J = 9.4$ Hz, 1.7H, ArH); $\delta = 12.38$ (s, 1H, NH); $\delta = 12.41$ (s, 0.7H, NH)

MS (EI, 200°C): m/z (%) = 364 [M]⁺ (46.8), 273 (51.7), 91 (100.0), 77 (1.6), 65 (8.5), 39 (3.1)

2-(4-Benzyloxy-2-fluorphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol (42h)

Aus 1.94×10^{-3} mol (700 mg) 4-Benzyloxy-2-fluorbenzimidäureethylester-Hydro-tetrafluorborat **35j II** und 1.94×10^{-3} mol (266 mg) 4-Methoxy-1,2-phenylendiamin **40b**:

Ausbeute: 1.48×10^{-3} mol (535 mg), 79%

$C_{21}H_{17}N_2O_2F$ (348.38)

weißes Pulver

Schmp.: 157-158°C

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.7.

IR (Film, cm^{-1}): 3399 (m), 3176 (m), 3068 (w), 3036 (w), 2942 (w), 2879 (w), 1655 (s), 1619 (s), 1571 (m), 1268 (m), 1239 (m), 1089 (m), 839 (w), 760 (w), 696 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.79$ (s, 2.1H, OCH_3); $\delta = 3.80$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 5.23$ (s, 3.4H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.79 - 6.87$ (m, 1.7H, ArH); $\delta = 7.03$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.09 - 7.21$ (m, 2.4H, ArH); $\delta = 7.32 - 7.51$ (m, 10.9H, ArH); $\delta = 7.56$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 8.10 - 8.49$ (m, 1.7H, ArH); $\delta = 12.22$ (s, 1H, NH); $\delta = 12.25$ (s, 0.7H, NH)

MS (EI, 175°C): m/z (%) = 348 [M]⁺ (9.3), 257 (12.2), 91 (100.0), 77 (0.5), 65 (8.8), 39 (2.3)

2-Phenyl-5-(6)-benzyloxy-1H-benzimidazol (43a)

Aus 1.98×10^{-3} mol (368 mg) Benzimidäureethylester-Hydrochlorid **35a I** und 1.98×10^{-3} mol (424 mg) 4-Benzyloxy-1,2-phenylendiamin **40c**:

Ausbeute: 0.54×10^{-3} mol (163 mg), 27%

$C_{20}H_{16}N_2O$ (300.36)

weißes Pulver

Schmp.: 193°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3423 (m), 3063 (m), 3035 (m), 2974 (w), 2926 (m), 1631 (m), 1599 (w), 1266 (m), 805 (w), 737 (w), 697 (s)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 5.16$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.95$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.12 - 7.18$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.33$ (t, $^3J = 7.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.41$ (pt, $^3J = 7.1$ Hz, $^3J = 7.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.44 - 7.59$ (m, 6H, ArH); $\delta = 8.12$ (d, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 12.89$ (bs, 1H, NH)

MS (EI, 110°C): m/z (%) = 300 [M]⁺⁺ (47.8), 209 (100.0), 181 (12.6), 91 (74.5), 77 (7.0), 65 (6.3), 39 (1.4)

2-(4-Methoxyphenyl)-5-(6)-benzyloxy-1*H*-benzimidazol (43b)

Aus 0.94×10^{-3} mol (202 mg) 4-Methoxybenzimidazolethylester-Hydrochlorid **35b I** und 0.94×10^{-3} mol (201 mg) 4-Benzyloxy-1,2-phenylendiamin **40c**:

Ausbeute: 0.62×10^{-3} mol (205 mg), 66%

$C_{21}H_{18}N_2O_2$ (330.30)

gelbes Pulver

Schmp.: 151-156°C

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

IR (Film, cm^{-1}): 3389 (m), 3051 (m), 3006 (m), 2928 (m), 2869 (m), 1638 (m), 1609 (s), 1579 (m), 1504 (s), 1267 (s), 836 (m), 736 (w), 697 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 3.84 (s, 5.4H, OCH₃); δ = 5.14 (s, 1.6H, Phenyl-CH₂-); δ = 5.17 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.84 - 6.93 (m, 1.8H, ArH); δ = 7.03 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ArH); δ = 7.09 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, ArH); δ = 7.10 (d, ³J = 8.9 Hz, 1.6H, ArH); δ = 7.23 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 0.8H, ArH); δ = 7.26 - 7.51 (m, 10.8H, ArH); δ = 8.06 (pt, ³J = 8.2 Hz, ³J = 8.4 Hz, 3.6H, ArH); δ = 12.57 (s, 1H, NH); δ = 12.59 (s, 0.8H, NH)

MS (EI, 260°C): m/z (%) = 330 [M]⁺⁺ (42.2), 239 (100.0), 91 (83.9)

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-benzyloxy-1*H*-benzimidazol (43c)

Aus 1.36×10^{-3} mol (404 mg) 3,4-Dimethoxybenzimidazolethylester-Hydrotetrafluoroborat **35d II** und 1.36×10^{-3} mol (291 mg) 4-Benzyloxy-1,2-phenylendiamin **40c**:

Ausbeute: 0.68×10^{-3} mol (246 mg), 50%

$C_{22}H_{20}N_2O_3$ (360.42)

braunes Pulver

Schmp.: 87°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3430 (m), 3063 (w), 2923 (m), 2852 (m), 1625 (m), 1590 (m), 1261 (s), 813 (w), 762 (w), 697 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 3.82$ (s, 3H OCH₃); $\delta = 3.83$ (s, 2.4H, OCH₃); $\delta = 3.87$ (s, 5.4H, OCH₃); $\delta = 5.13$ (s, 1.6H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 5.17$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.88$ (dd, ³J = 9.0 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.89$ (dd, ³J = 8.9 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.01$ (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.10$ (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.11$ (d, ³J = 8.4 Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.23$ (d, ⁴J = 2.3 Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.26 - 7.54$ (m, 10.8H, ArH); $\delta = 7.62 - 7.75$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 12.57$ (s, 1H, NH); $\delta = 12.60$ (s, 0.8H, NH)

MS (EI, 310°C): m/z (%) = 360 [M]⁺ (47.4), 283 (5.1), 269 (100.0), 91 (38.8), 77 (2.1), 65 (4.5), 39 (2.4)

Methode D: Synthese aus 1,2-Phenylendiamin und Benzoesäure unter Verwendung von Polyphosphorsäure

Zu 10 ml Polyphosphorsäure werden 6.63×10^{-3} mol (810 mg) Benzoesäure und 6.63×10^{-3} mol (717 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a** gegeben. Im Anschluss wird der Ansatz 2 h auf 175°C erhitzt. Nach dem Abkühlen auf 100°C gibt man die Mischung auf Eis, filtriert den unlöslichen Rest ab und wäscht ihn mit wenig Wasser und 10%-iger NaHCO₃-Lösung.

2-Phenyl-1H-benzimidazol (41a)

Aus 6.63×10^{-3} mol (810 mg) Benzoesäure und 6.63×10^{-3} mol (717 mg) 1,2-Phenylendiamin **40a**:

Ausbeute: 5.35×10^{-3} mol (1.04 g), 81%

C₁₃H₁₀N₂ (194.24)

weißes Pulver

Schmp.: 300°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3341 (s), 3008 (m), 2955 (m), 2938 (m), 2840 (s), 1605 (s), 1592 (s), 767 (m), 712 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 7.09 - 7.26$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.46$ (t, ³J = 7.1 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.54$ (pt, ³J = 7.1 Hz, ³J = 7.7 Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.56 - 7.65$ (m, 2H, ArH); $\delta = 8.17$ (d, ³J = 7.1 Hz, 2H, ArH); NH ausgetauscht.

MS (EI, 50°C): m/z (%) = 194 [M]⁺ (100.0), 167 (2.9)

11.1.1.2.7 2-Phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1*H*-benzimidazole**Allgemeine Vorschriften zur Synthese der 2-Phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1*H*-benzimidazole (Methoden A-B):****Methode A:****4-(2-Chlorethoxy)benzylalkohol (45)**

Zu einer Lösung von 8.06×10^{-3} mol (1.00 g) 4-Hydroxybenzylalkohol **44** in 7 ml absolutem Ethanol werden 8.91×10^{-3} mol (500 mg) KOH-Plätzchen und 9.97×10^{-3} mol (1.44 g) 1-Brom-2-chlorethan gegeben und der Ansatz im Anschluss 2 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung filtriert und eingeeengt. Die eingeengte Lösung wird in 5 ml Ether aufgenommen und mit Wasser und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und im Anschluss das Lösungsmittel abrotiert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel. Als mobile Phase dient ein Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan/Methanol (98:2).

Aus 8.06×10^{-3} mol (1.00 g) 4-Hydroxybenzylalkohol **44**:

Ausbeute: 2.34×10^{-3} mol (437 mg), 29%

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{Cl}$ (186.64)

weißes Pulver

Schmp.: 72°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3391 (s), 3320 (s), 3040 (w), 2968 (w), 2919 (m), 2892 (m), 1611 (s), 1586 (m), 1246 (s), 814 (m), 662 (s)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 3.93$ (t, $^3\text{J} = 5.2$ Hz, 2H, Cl- CH_2 -); $\delta = 4.42$ (t, $^3\text{J} = 5.2$ Hz, 2H, -O- CH_2 -); $\delta = 4.40$ (d, $^3\text{J} = 5.5$ Hz, 2H, - CH_2 -OH); $\delta = 5.05$ (t, $^3\text{J} = 5.6$ Hz, 1H, OH); $\delta = 6.91$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.23$ (d, $^3\text{J} = 8.4$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 35°C): m/z (%) = 186 [M]⁺ (52.3), 169 (8.9), 157 (21.8), 137 (8.6), 123 (36.2), 107 (100.0), 95 (42.2)

4-(2-Chlorethoxy)benzylbromid (46)

2.34×10^{-3} mol (437 mg) 4-(2-Chlorethoxy)benzylalkohol **45** werden in 6 ml absolutem Ether gelöst und auf 0°C abgekühlt. Dann werden 2.70×10^{-3} mol (205 µl) Thionylbromid langsam zugetropft. Nach 5 Minuten wird die Reaktion durch Zugabe von 10 ml Ether abgebrochen. Die organische Phase wird mit Wasser, 5%-iger NaHCO₃-Lösung und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel abgedampft. Die weitere Reaktion erfolgt ohne vorherige Aufarbeitung.

Aus 2.34×10^{-3} mol (437 mg) 4-(2-Chlorethoxy)benzylalkohol **45**:

Ausbeute: 1.40×10^{-3} mol (350 mg), 60%

C₉H₁₀OBrCl (249.54)

weißes Pulver

Schmp.: 64-66°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3007 (m), 2961 (m), 2919 (m), 1609 (m), 1584 (w), 1500 (m), 1251 (m), 813 (w), 665 (w)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 3.94 (t, ³J = 5.2 Hz, 2H, Cl-CH₂-); δ = 4.25 (t, ³J = 5.1 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 4.70 (s, 2H, -CH₂-Br); δ = 6.94 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 7.37 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 50°C): m/z (%) = 250 [M]⁺ (4.3), 213 (1.5), 169 (100.0), 107 (67.7), 63 (19.0), 51 (7.7)

Synthese der 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-phenyl-1H-benzimidazole:

1.00×10^{-3} mol des entsprechenden Benzimidazols werden in 4 ml absolutem DMF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Nach Zugabe von 1.10×10^{-3} mol NaH (60%-ige Dispersion in Paraffinöl) wird der Ansatz 30 Minuten gerührt (bis keine Blasenbildung mehr zu beobachten ist). 1.00×10^{-3} mol 4-(2-Chlorethoxy)benzylbromid, gelöst in 2 ml abs. DMF, werden langsam zugetropft. Die Lösung wird auf RT erwärmt und im Anschluss wie angegeben gerührt. Die organische Phase wird mit Wasser und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird abrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel. Das Laufmittel ist bei der jeweiligen Verbindung angegeben.

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-phenyl-1H-benzimidazol (42a)

Der Ansatz wurde 2 h bei RT gerührt.

Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (98:2).

Aus 1.03×10^{-3} mol (200 mg) 2-Phenyl-1H-benzimidazol **41a**:

Ausbeute: 0.45×10^{-3} mol (163 mg), 44%

$C_{22}H_{19}N_2OCl$ (362.86)

gelbes Pulver

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.88$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 2H, Cl- CH_2 -); $\delta = 4.17$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 2H, - CH_2 -O-); $\delta = 5.51$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.87$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.95$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.19 - 7.29$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.44 - 7.50$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.50 - 7.59$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.68 - 7.78$ (m, 3H, ArH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 362 [M]⁺⁺ (42.7), 299 (2.7), 193 (2.8), 169 (100.0), 107 (43.9), 63 (11.6)

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (52b)

Der Ansatz wurde 48 h bei RT gerührt.

Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie mit Ether/Petrolether (10:1).

Aus 1.78×10^{-3} mol (400 mg) 2-(4-Methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **41b**:

Ausbeute: 0.88×10^{-3} mol (347 mg), 50%

$C_{23}H_{21}N_2O_2Cl$ (392.89)

gelbes Öl

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.82$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.94$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 2H, Cl- CH_2 -); $\delta = 4.16$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 2H, - CH_2 -O-); $\delta = 5.48$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.88$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.95$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.09$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.15 - 7.28$ (m, 2H, ArH), $\delta = 7.39 - 7.47$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.61 - 7.73$ (m, 3H, ArH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 392 [M]⁺⁺ (43.7), 356 (2.8), 329 (1.6), 223 (3.0), 169 (100.0), 133 (12.6), 107 (52.7), 63 (13.1)

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(2,4-dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol (52c)

Der Ansatz wurde 22 h bei RT gerührt.

Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (98:2).

Aus 0.79×10^{-3} mol (200 mg) 2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol **41c**:

Ausbeute: 0.61×10^{-3} mol (260 mg), 78%

$C_{24}H_{23}N_2O_3Cl$ (422.92)

braunes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3006 (w), 2925 (m), 2851 (w), 1659 (w), 1612 (s), 1578 (m), 1513 (s), 1245 (s), 827 (m), 749 (w), 664 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.72$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.83$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.88$ (t, $^3J = 5.1$ Hz, 2H, $Cl-CH_2-$); $\delta = 4.16$ (t, $^3J = 5.2$ Hz, 2H, $-CH_2-O-$); $\delta = 5.17$ (s, 2H, $Ph-CH_2-$); $\delta = 6.68$ (dd, $^3J = 8.4$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.74$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.82$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.91$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.15 - 7.20$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.31 - 7.41$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.59 - 7.67$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, $180^\circ C$): m/z (%) = 422 $[M]^{+*}$ (21.7), 386 (1.2), 359 (5.9), 253 (46.1), 169 (100.0), 107 (87.6), 63 (20.8)

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol (52d)

Der Ansatz wurde 2 h bei RT gerührt.

Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie mit Ether/Petrolether (5:1).

Aus 0.79×10^{-3} mol (200 mg) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol **41d**:

Ausbeute: 0.41×10^{-3} mol (173 mg), 52%

$C_{24}H_{23}N_2O_3Cl$ (422.92)

weißer Feststoff

Schmp.: $153^\circ C$

IR (KBr, cm^{-1}): 3059 (w), 3004 (w), 2961 (w), 2930 (w), 2838 (w), 1610 (m), 1586 (w), 1248 (s), 814 (m), 744 (m), 669 (w)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 3.70$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.82$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.90$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 2H, $Cl-CH_2-$); $\delta = 4.18$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 2H, $-CH_2-O-$); $\delta = 5.51$ (s, 2H, $Ph-CH_2-$); $\delta = 6.89$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.97$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH);

$\delta = 7.09$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.21 - 7.26$ (m, 4H, ArH); $\delta = 7.41 - 7.50$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.65 - 7.73$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, 200°C): m/z (%) = 422 [M]⁺ (55.5), 386 (0.6), 359 (2.7), 253 (3.0), 169 (100.0), 133 (2.4), 107 (46.9), 63 (10.2)

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-methoxy-1H-benzimidazol (52e I) bzw.

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-methoxy-1H-benzimidazol (52e II)

Der Ansatz wurde 22 h bei RT gerührt.

Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (98:2)

Aus 0.70×10^{-3} mol (200 mg) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42d**:

Ausbeute: 0.36×10^{-3} mol (161 mg), 51% (Isomerenmischung)

$C_{25}H_{25}N_2O_4Cl$ (452.94)

Das erhaltene Gemisch wurde zur Trennung nochmals mit einem Lösungsmittelgemisch aus Petrolether/Ethylacetat (1:5) an Kieselgel chromatographiert.

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-methoxy-1H-benzimidazol (52e I)

Ausbeute: 0.19×10^{-3} mol (84.7 mg), 27%

farbloses Öl

1H -NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 3.67$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.75$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.89$ (t, $^3J = 5.1$ Hz, 2H, Cl-CH₂-); $\delta = 4.18$ (t, $^3J = 5.1$ Hz, 2H, -CH₂-O-); $\delta = 5.48$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.84$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.91$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.96$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.02$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.07$ (d, $^3J = 8.9$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.18 - 7.25$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.58$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 195°C): m/z (%) = 452 [M]⁺ (17.7), 416 (1.7), 389 (0.5), 283 (6.2), 169 (100.0), 107 (75.2), 63 (31.7)

1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-methoxy-1H-benzimidazol (52e II)**Ausbeute:** 0.17×10^{-3} mol (76.3 mg), 24%

farbloses Öl

 $^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ([D₆]-DMSO): $\delta = 3.68$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.78$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH₃); $\delta = 3.89$ (t, $^3\text{J} = 5.1$ Hz, 2H, Cl-CH₂-); $\delta = 4.19$ (t, $^3\text{J} = 5.1$ Hz, 2H, CH₂-O-); $\delta = 5.48$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.83$ (dd, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.90$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.97$ (d, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.08$ (d, $^3\text{J} = 8.1$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.19 - 7.28$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.34$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 1H, ArH)**MS** (EI, 195°C): m/z (%) = 452 [M]⁺⁺ (17.7), 416 (1.7), 389 (0.5), 283 (6.2), 169 (100.0), 107 (75.2), 63 (31.7)**Synthese der 2-Phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazole**

Eine Lösung von 1.00×10^{-3} mol des entsprechenden 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-phenyl-1H-benzimidazols in 6 ml absolutem DMF wird nach Zugabe von 3.00×10^{-3} mol (0.49 g) KI und 6.00×10^{-3} mol (589 μl) Piperidin für 18 h auf 100°C erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgt nach dem Abkühlen durch Zugabe von 10 ml Wasser und Ausschütteln mit Dichlormethan (3 x 50 ml), anschließendem Waschen mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung sowie Trocknung über Na₂SO₄. Das Lösungsmittel wird abgedampft. Das Produkt erhält man durch Chromatographie an Kieselgel. Als Laufmittel dient ein Gemisch aus Dichlormethan/Methanol (98:2).

2-Phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol x HCl (53a)

Aus 0.45×10^{-3} mol (163 mg) 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-phenyl-1H-benzimidazol
52a:

Ausbeute: 0.19×10^{-3} mol (68 mg), 37%C₂₇H₂₉N₃O x HCl (411.55 x 36.36)

farbloses Öl

IR (Film, cm⁻¹): 3060 (w), 3038 (w), 2933 (m), 2853 (w), 1672 (w), 1612 (w), 1584 (w), 1512 (m), 1248 (m), 827 (w), 743 (m), 699 (m)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-CDCl₃): δ = 1.34 - 1.50 (m, 1H, CH₂); δ = 1.80 - 1.96 (m, 3H, CH₂); δ = 2.19 - 2.37 (m, 2H, CH₂); δ = 2.71 - 2.86 (m, 2H, CH₂); δ = 3.36 - 3.42 (m, 2H, CH₂); δ = 4.58 - 4.65 (m, 2H, CH₂); δ = 4.61 (t, ³J = 4.4 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.56 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.92 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 7.02 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 7.38 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H, ArH); δ = 7.48 (pt, ³J = 7.5 Hz, ³J = 8.0 Hz, 1H, ArH); δ = 7.55 (pt, ³J = 7.7 Hz, ³J = 7.8 Hz, 1H, ArH); δ = 7.62 (pt, ³J = 6.8 Hz, ³J = 7.7 Hz, 2H, ArH); 7.70 (t, ³J = 7.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.89 (d, ³J = 7.2 Hz, 2H, ArH); δ = 8.25 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 140°C): m/z (%) = 411 [M]⁺ (3.9), 299 (0.2), 194 (0.7), 113 (3.8), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 78.80 H 7.10 N 10.21, gef.: C 78.91 H 7.09 N 10.19

2-(4-Methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol

(53b)

Aus 0.51 x 10⁻³ mol (200 mg) 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **52b**:

Ausbeute: 0.36 x 10⁻³ mol (160 mg), 63%

C₂₈H₃₁N₃O₂ (441.58)

braunes Öl

IR (Film, cm⁻¹): 3005 (w), 2934 (m), 2854 (w), 1674 (w), 1612 (m), 1580 (w), 1512 (m), 1251 (s), 837 (m), 750 (s)

¹H-NMR_{400 MHz} ([D₆]-DMSO): δ = 1.30 - 1.38 (m, 2H, CH₂); δ = 1.38 - 1.55 (m, 4H, CH₂); δ = 2.35 - 2.41 (m, 4H, CH₂); δ = 2.54 - 2.61 (m, 2H, CH₂); δ = 3.82 (s, 3H, OCH₃); δ = 3.97 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.47 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.84 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 6.92 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 7.08 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 7.17 - 7.25 (m, 2H, ArH); δ = 7.38 - 7.48 (m, 1H, ArH); δ = 7.62 - 7.72 (m, 3H, ArH)

MS (EI, 135°C): m/z (%) = 441 [M]⁺ (8.5), 411 (1.0), 343 (0.4), 329 (0.3), 251 (0.2), 217 (1.1), 113 (4.2), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 76.16 H 7.08 N 9.52, gef.: C 76.31 H 7.07 N 9.49

2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53c)

Aus 0.26×10^{-3} mol (108 mg) 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(2,4-dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol **52c**:

Ausbeute: 0.17×10^{-3} mol (80 mg), 65%

$C_{29}H_{33}N_3O_3$ (471.60)

weißes Pulver

Schmp.: 60-62°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3061 (w), 2935 (s), 2854 (m), 1671 (s), 1613 (s), 1581 (m), 1534 (w), 1209 (s), 824 (w), 747 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.30 - 1.38$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.50$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.35 - 2.41$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.61$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.72$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.85$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.97$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, $-O-CH_2-$); $\delta = 5.17$ (s, 2H, Phenyl- CH_2-); $\delta = 6.68$ (dd, $^3J = 8.4$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.74$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.79$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.89$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.12 - 7.21$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.32 - 7.40$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.58 - 7.66$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, 160°C): m/z (%) = 471 [M]⁺ (1.3), 253 (1.3), 218 (0.4), 113 (10.6), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 73.86 H 7.05 N 8.91, gef.: C 73.80 H 7.03 N 8.99

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53d)

Aus 0.47×10^{-3} mol (200 mg) 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-1H-benzimidazol **52d**:

Ausbeute: 0.16×10^{-3} mol (74 mg), 33%

$C_{29}H_{33}N_3O_3$ (471.60)

gelbes Pulver

Schmp.: 90-96°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3059 (w), 3000 (w), 2932 (m), 2850 (m), 1611 (m), 1585 (m), 1530 (m), 1511 (s), 1246 (s), 813 (m), 742 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.27 - 1.43$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.43 - 1.54$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.35 - 2.44$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.55 - 2.66$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.68$ (s, 3H,

OCH_3); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.90 - 4.08$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 5.49$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.85$ (d, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.96$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.06$ (d, $^3\text{J} = 8.9$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.13 - 7.33$ (m, 4H, ArH); $\delta = 7.39 - 7.54$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.65 - 7.74$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 471 [M]⁺ (5.3), 441 (0.7), 373 (0.2), 359 (0.2), 254 (6.3), 217 (1.1), 113 (19.0), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 73.86 H 7.05 N 8.91, gef.: C 73.92 H 7.05 N 8.90

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54d I)

Aus 0.26×10^{-3} mol (100 mg) 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-methoxy-1H-benzimidazol **52e I**:

Ausbeute: 0.14×10^{-3} mol (68 mg), 52%

$\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4$ (501.63)

weißes Pulver

Schmp.: 112-115°C

IR (KBr, cm^{-1}): 2941 (w), 2841 (w), 1621 (m), 1511 (m), 1267 (m), 821 (w)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.29 - 1.42$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.42 - 1.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.33 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.56 - 2.64$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.68$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.75$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.92 - 4.07$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 5.49$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.84$ (dd, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.90$ (d, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.96$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.02$ (d, $^4\text{J} = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.07$ (d, $^3\text{J} = 8.9$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.16 - 7.26$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.57$ (d, $^3\text{J} = 8.8$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 501 [M]⁺ (5.6), 403 (0.8), 390 (1.4), 284 (20.2), 113 (1.3), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 71.83 H 7.03 N 8.38, gef.: C 71.90 H 7.05 N 8.40

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-6-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54d II)

Aus 0.22×10^{-3} mol (100 mg) 1-[4-(2-Chlorethoxy)benzyl]-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-methoxy-1H-benzimidazol **52e II**:

Ausbeute: 0.11×10^{-3} mol (55 mg), 50%

$C_{30}H_{35}N_3O_4$ (501.63)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3019 (w), 2940 (w), 2857 (w), 1672 (w), 1611 (w), 1588 (w), 1513 (w), 1216 (m), 760 (s)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.28 - 1.40$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.33 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.56 - 2.64$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.69$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.78$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.82$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.90 - 4.07$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 5.47$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.85$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.87$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.99$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.07$ (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.18 - 7.28$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.33$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 150°C): m/z (%) = 501 [M]⁺ (5.6), 403 (0.8), 390 (1.4), 284 (20.2), 113 (1.3), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 71.83 H 7.03 N 8.38, gef.: C 71.65 H 7.05 N 8.36

Methode B:**Vorschrift zur Synthese von****4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd (49a),****4-(2-Dimethylamino-1-yl-ethoxy)benzaldehyd (49b) und****4-(2-Pyrrolidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd (49c)**

Zu einer gut gerührten Lösung von 41×10^{-3} mol (5.00 g) 4-Hydroxybenzaldehyd **47** und 123×10^{-3} mol (17.00 g) K_2CO_3 in 130 ml MEC werden je nach gewünschtem Produkt 41×10^{-3} mol 1-(2-Chlorethyl)piperidin-HCl **48a**, 1-(2-Chlorethyl)-N,N-dimethylammoniumchlorid **48b** oder 1-(2-Chlorethyl)pyrrolidin-HCl **48c** gegeben. Der Ansatz wird 3 h unter heftigem Rühren zum Sieden erhitzt und im Anschluss durch Celite filtriert. Die Celite wird mit 2 x 100 ml Ethylacetat gewaschen. Die organische Phase wird mit 3 x 100 ml Wasser behandelt und einrotiert. Das Produkt erhält man

durch Chromatographie an Kieselgel. Als Laufmittel dient ein Gemisch aus Diethylether/Petrolether (10:1).

4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd (49a)

Aus 41×10^{-3} mol (5.00 g) 4-Hydroxybenzaldehyd **47** und 41×10^{-3} mol (7.55 g) 1-(2-Chlorethyl)piperidin-HCl **48a**:

Ausbeute: 21×10^{-3} mol (5.00 g), 52%

$C_{14}H_{19}NO_2$ (233.31)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3072 (w), 3036 (w), 2935 (s), 2852 (m), 1694 (s), 1601 (s), 1578 (m), 1257 (m), 833 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.29 - 1.44$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.44 - 1.54$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.37 - 2.49$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.68$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, $-CH_2-$); $\delta = 4.18$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, $-O-CH_2-$); $\delta = 7.12$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.84$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 9.86$ (s, 1H, CHO)

MS (EI, 35°C): m/z (%) = 233 [M]⁺ (1.2), 135 (0.2), 112 (0.9), 98 (100.0)

4-(2-Dimethylamino-1-yl-ethoxy)benzaldehyd (49b)

Aus 16×10^{-3} mol (2.00 g) 4-Hydroxybenzaldehyd **47** und 16×10^{-3} mol (2.30 g) 1-(2-Chlorethyl)-N,N-dimethylammoniumchlorid **48b**:

Ausbeute: 4.66×10^{-3} mol (0.90 g), 29%

$C_{11}H_{15}NO_2$ (193.25)

gelbes Öl

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 2.20$ (s, 6H, CH_3); $\delta = 2.64$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, $=N-CH_2-$); $\delta = 4.15$ (t, $^3J = 5.7$ Hz, 2H, $-O-CH_2-$); $\delta = 7.13$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.86$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 9.86$ (s, 1H, CHO)

MS (EI, 30°C): m/z (%) = 193 [M]⁺ (1.5), 135 (0.2), 58 (100.0)

4-(2-Pyrrolidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd (49c)

Aus 16×10^{-3} mol (2.00 g) 4-Hydroxybenzaldehyd **47** und 16×10^{-3} mol (2.72 g) 1-(2-Chlorethyl)pyrrolidin-HCl **48c**:

Ausbeute: 9.76×10^{-3} mol (2.14 g), 61%

$C_{13}H_{17}NO_2$ (219.29)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3073 (w), 2973 (m), 2944 (m), 2823 (m), 2773 (m) 1696 (s), 1601 (s), 1578 (s), 1510 (s), 1259 (s), 834 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.51 - 1.77$ (m, 4H, CH_2); $2.40 - 2.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.78$ (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, =N- CH_2 -); $\delta = 4.17$ (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, -O- CH_2 -); $\delta = 7.14$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.85$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 9.85$ (s, 1H, CHO)

MS (EI, 40°C): m/z (%) = 219 [M]⁺ (1.9), 135 (0.2), 84 (100.0)

Vorschrift zur Synthese von**4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzylalkohol (50a),****4-(2-Dimethylamino-1-yl-ethoxy)benzylalkohol (50b) und****4-(2-Pyrrolidin-1-yl-ethoxy)benzylalkohol (50c)**

Zu einer gerührten Lösung von 2.14×10^{-3} mol 4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd **49a**, 4-(2-Dimethylamino-1-yl-ethoxy)benzaldehyd **49b** oder 4-(2-Pyrrolidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd **49c** in 2 ml absolutem Methanol werden 1.08×10^{-3} mol (0.041 g) $NaBH_4$ bei 0°C portionsweise zugegeben und der Ansatz im Anschluss noch 30 Minuten gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 10 ml Wasser und Ausschütteln mit Dichlormethan (3 x 50 ml) beendet. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert.

4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzylalkohol (50a)

Aus 2.14×10^{-3} mol (0.50 g) 4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd **49a**:

Ausbeute: 1.69×10^{-3} mol (398 mg), 79%

$C_{14}H_{21}NO_2$ (235.33)

gelber Feststoff

Schmp.: 68-69°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3173 (m), 3036 (w), 2937 (s), 2838 (m), 1610 (m), 1584 (w), 1547 (w), 1511 (s), 1242 (s), 1035 (s), 836 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.30 - 1.42$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.42 - 1.55$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.36 - 2.45$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.63$ (t, $^3\text{J} = 6.0$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-$); $\delta = 4.02$ (t, $^3\text{J} = 6.0$ Hz, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-$); $\delta = 4.39$ (d, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$); $\delta = 5.04$ (t, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, 1H, OH); $\delta = 6.87$ (d, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 100°C): m/z (%) = 235 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (3.8), 112 (3.2), 98 (100.0)

4-(2-Dimethylamino-1-yl-ethoxy)benzylalkohol (50b)

Aus 4.66×10^{-3} mol (0.90 g) 4-(2-Dimethylamino-1-yl-ethoxy)benzaldehyd **49b**:

Ausbeute: 3.95×10^{-3} mol (771 mg), 85%

$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ (195.26)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3368 (m), 3067 (m), 3033 (m), 2945 (s), 2868 (m), 2826 (s), 2781 (m), 1612 (m), 1585 (m), 1512 (s), 1244 (s), 820 (m)

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 2.19$ (s, 6H, CH_3); $\delta = 2.59$ (t, $^3\text{J} = 5.8$ Hz, 2H, $=\text{N}-\text{CH}_2-$); $\delta = 3.99$ (t, $^3\text{J} = 5.9$ Hz, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-$); $\delta = 4.39$ (d, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$); $\delta = 5.02$ (t, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, 1H, CH_2OH); $\delta = 6.86$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 30°C): m/z (%) = 195 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (3.3), 137 (0.2), 58 (100.0)

4-(2-Pyrrolidin-1-yl-ethoxy)benzylalkohol (50c)

Aus 9.76×10^{-3} mol (2.14 g) 4-(2-Pyrrolidin-1-yl-ethoxy)benzaldehyd **49c**:

Ausbeute: 6.78×10^{-3} mol (1.50 g), 69%

$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ (221.30)

gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$ _{400 MHz} ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.59 - 1.75$ (m, 4H, CH_2); $2.40 - 2.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.76$ (t, $^3\text{J} = 6.0$ Hz, 2H, $=\text{N}-\text{CH}_2-$); $\delta = 4.03$ (t, $^3\text{J} = 5.9$ Hz, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-$); $\delta = 4.39$

(d, $^3J = 5.6$ Hz, 2H, $-CH_2-OH$); $\delta = 5.02$ (t, $^3J = 5.7$ Hz, 1H, CH_2OH); $\delta = 6.87$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.24$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH)

MS (EI, 30°C): m/z (%) = 221 [M]⁺ (2.7), 98 (2.4), 84 (100.0)

Vorschrift zur Synthese von

4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzylbromid-Hydrobromid (51)

1.27×10^{-3} mol (0.298 g) 4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzylalkohol **50a** werden in 7 ml absolutem THF gelöst. Zu dieser Lösung werden bei 0°C 95 μ l Thionylbromid, gelöst in 2 ml absolutem THF, langsam zugetropft. Der Ansatz wird noch weitere 15 Minuten unter Eiskühlung und im Anschluss noch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden 20 ml Ether zugegeben und der entstehende Niederschlag wird abgesaugt und mit Ether gewaschen. Man erhält das gewünschte Produkt in Form des Hydrobromids. Der Niederschlag enthält zusätzlich das Hydrobromid des Ausgangsstoffes. Die weiteren Reaktionen erfolgen ohne vorherige Aufarbeitung.

Aus 1.27×10^{-3} mol (0.298 g) 4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzylalkohol **50a**:

Ausbeute: 0.98×10^{-3} mol (360 mg), 75%

$C_{14}H_{20}NOBr \times HBr$ (298.23 x 80.91)

weißer Feststoff

IR (KBr, cm^{-1}): 3351 (m), 2944 (s), 2875 (m), 2646 (s), 1609 (m), 1585 (w), 1513 (s), 1248 (s), 830 (m)

1H -NMR_{400 MHz} ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.20 - 1.52$ (m, 1H, CH_2); $\delta = 1.52 - 1.77$ (m, 3H, CH_2); $\delta = 1.77 - 1.93$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 2.89 - 3.12$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.44 - 3.60$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 4.33$ (t, $^3J = 5.0$ Hz, 2H, $-O-CH_2-$); $\delta = 4.67$ (s, 2H, $-CH_2-Br$); $\delta = 6.99$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.44$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 9.27$ (bs, 1H, NH)

MS (EI, 230°C): m/z (%) = 297 [M]⁺ (2.1), 218 (2.6), 112 (41.4), 98 (100.0)

Synthese der 2-Phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazole:

0.80×10^{-3} mol des entsprechenden Benzimidazols werden in 5 ml absolutem DMF gelöst. Nach dem Abkühlen auf 0°C werden 2.94×10^{-3} mol (70 mg) NaH (60%-ige Dispersion in Paraffinöl) zugegeben. Dieser Ansatz wird 30 Minuten auf Eis gerührt. In einem zweiten Ansatz werden 1.60×10^{-3} mol (606 mg) 4-(2-Piperidin-1-yl-

ethoxy)benzylbromid-Hydrobromid **51** in 5 ml absolutem DMF gelöst und ebenfalls auf 0°C abgekühlt. Nach Zugabe von 5.88×10^{-3} mol (140 mg) NaH wird diese Lösung ebenfalls 30 Minuten unter Eiskühlung gerührt. Im Anschluss wird die Lösung des 4-(2-Piperidin-1-yl-ethoxy)benzylbromid-Hydrobromids zum Benzimidazol gegeben. Nach zweistündigem Rühren bei 0°C wird das Eisbad entfernt und weitere 4 h bei RT gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 20 ml Wasser beendet. Die Wasserphase wird 3 x mit je 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Die Reinigung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel. Als mobile Phase dient ein Gemisch aus Dichlormethan/Methanol (98:2).

2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53e)

Aus 0.69×10^{-3} mol (179 mg) 2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **41e**:

Ausbeute: 0.11×10^{-3} mol (50 mg), 16%

C₂₈H₃₀N₃O₂Cl (476.02)

gelbes Pulver

Schmp.: 163°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3060 (w), 2933 (m), 2851 (w), 1610 (m), 1512 (m), 1242 (s), 1041 (s), 818 (w), 747 (m)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.26 - 1.40 (m, 2H, CH₂); δ = 1.40 - 1.54 (m, 4H, CH₂); δ = 2.34 - 2.43 (m, 4H, CH₂); δ = 2.57 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H, CH₂); δ = 3.85 (s, 3H, OCH₃); δ = 3.95 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.21 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.77 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 6.89 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 7.06 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.22 - 7.25 (m, 2H, ArH); δ = 7.26 (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.43 - 7.53 (m, 2H, ArH); δ = 7.64 - 7.72 (m, 1H, ArH)

MS (EI, 160°C): m/z (%) = 475 [M]⁺ (1.8), 258 (0.4), 113 (0.9), 98 (100.0), 36 (1.1)

FAB (+) (DMSO/Glycerol): m/z (%) = 476 [M+H]⁺ (23.4), 365 [C₂₁H₁₇N₂O₂Cl]⁺ (1.7), 259 [C₁₄H₁₂N₂OCl]⁺ (5.0), 112 [C₇H₁₄N]⁺ (100.0)

CHN (%):ber.: C 70.65 H 6.35 N 8.83, gef.: C 70.70 H 6.34 N 8.80

2-(2-Fluor-4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53f)

Aus 0.49×10^{-3} mol (118 mg) 2-(2-Fluor-4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **41f**:

Ausbeute: 0.28×10^{-3} mol (130 mg), 58%

$C_{28}H_{30}N_3O_2F$ (459.57)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3059 (w), 2932 (s), 2853 (m), 1670 (w), 1627 (s), 1580 (m), 1512 (m), 1246 (s), 1157 (s), 821 (m), 746 (m)

1H -NMR₄₀₀ ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.27 - 1.40$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.41 - 1.55$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.27 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.53 - 2.64$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.87$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.90 - 4.06$ (m, 2H, $-O-CH_2-$); $\delta = 5.29$ (s, 2H, Phenyl- CH_2-); $\delta = 6.78$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.87$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.97$ (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.07$ (dd, $^3J(H, F) = 12.2$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.19 - 7.28$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.40 - 7.50$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.55$ (pt, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J(H, F) = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.65 - 7.72$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, 180°C): m/z (%) = 459 [M]⁺ (3.1), 361 (0.3), 242 (1.2), 113 (0.4), 98 (100.0)

FAB (+) (DMSO/Glycerol): m/z (%) = 460 [M+H]⁺ (16.6), 243 [C₁₄H₁₂N₂OF]⁺ (11.6), 112 [C₇H₁₄N]⁺ (100.0)

CHN (%): ber.: C 73.18 H 6.58 N 9.14, gef.: C 73.20 H 6.57 N 9.16

2-(4-Benzyloxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53g)

Aus 1.45×10^{-3} mol (444 mg) 2-(4-Benzyloxyphenyl)-1H-benzimidazol **41g** :

Ausbeute: 0.30×10^{-3} mol (155 mg), 21%

$C_{34}H_{35}N_3O_2$ (517.68)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3087 (w), 2928 (m), 2858 (w), 1611 (m), 1512 (m), 1246 (s), 833 (w), 747 (m), 698 (w)

1H -NMR₄₀₀ ($[D_6]$ -DMSO): $\delta = 1.30 - 1.42$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.42 - 1.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.44$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.65$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 3.89 - 4.02$ (m, 2H, $-O-CH_2-$); $\delta = 5.18$ (s, 2H, Phenyl- CH_2-); $\delta = 5.49$ (s, 2H, Phenyl- CH_2-); $\delta = 6.82$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.92$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.15$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H,

ArH); $\delta = 7.19 - 7.28$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.26 - 7.51$ (m, 6H, ArH); $\delta = 7.45 - 7.60$ (m, 3H, ArH)

MS (EI, 320°C): m/z (%) = 518 [M]⁺⁺ (2.6), 406 (1.3), 300 (5.0), 113 (0.7), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 78.89 H 6.81 N 8.12; gef.: C 78.80 H 6.79 N 8.14

2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53h)

Aus 1.05×10^{-3} mol (350 mg) 2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-1H-benzimidazol **41h**:

Ausbeute: 0.18×10^{-3} mol (100 mg), 17%

$C_{34}H_{34}N_3O_2Cl$ (552.12)

weißes Pulver

IR (KBr, cm^{-1}): 3061 (w), 3035 (w), 2927 (m), 1619 (m), 1561 (m), 1510 (s), 1247 (s), 1035 (w), 814 (m), 744 (w), 703 (m)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.29 - 1.40$ (m, 2H, CH₂); $\delta = 1.40 - 1.52$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.35 - 2.43$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.54 - 2.64$ (m, 2H, CH₂); $\delta = 3.88 - 4.00$ (m, 2H, -O-CH₂-); $\delta = 5.22$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 5.23$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.76$ (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.90$ (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.15$ (dd, ³J = 8.7 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.22 - 7.25$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.35$ (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.37$ (t, ³J = 7.1 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.43$ (pt, ³J = 7.1 Hz, ³J = 7.6 Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.46 - 7.55$ (m, 4H, ArH); $\delta = 7.63 - 7.72$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, 320°C): m/z (%) = 552 [M]⁺⁺ (3.6), 454 (0.3), 441 (0.8), 334 (1.0), 113 (0.6), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 73.97 H 6.21 N 7.61, gef.: C 73.88 H 6.19 N 7.60

2-(4-Benzyloxy-2-fluorphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (53i)

Aus 0.66×10^{-3} mol (209 mg) 2-(4-Benzyloxy-2-fluorphenyl)-1H-benzimidazol **41i**:

Ausbeute: 0.18×10^{-3} mol (96 mg), 27%

$C_{34}H_{34}N_3O_2F$ (535.67)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3408 (w), 3060 (w), 3034 (w), 2931 (s), 2853 (m), 1627 (s), 1579 (w), 1512 (m), 1246 (s), 1162 (m), 825 (w), 744 (m), 697 (w)

$^1\text{H-NMR}$ ₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.28 - 1.39$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.51$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.33 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.58$ (t, $^3\text{J} = 5.8\text{Hz}$, 2H, $=\text{N-CH}_2$ -); $\delta = 3.59$ (t, $^3\text{J} = 5.9\text{ Hz}$, 2H, $-\text{O-CH}_2$ -); $\delta = 5.22$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.30$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.77$ (d, $^3\text{J} = 8.7\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 6.86$ (d, $^3\text{J} = 8.6\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 7.04$ (dd, $^3\text{J} = 8.6\text{ Hz}$, $^4\text{J} = 2.2\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.16$ (dd, $^3\text{J}(\text{H, F}) = 12.2\text{ Hz}$, $^4\text{J} = 2.0\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.20 - 7.26$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.36$ (t, $^3\text{J} = 7.1\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.43$ (pt, $^3\text{J} = 7.1\text{ Hz}$, $^3\text{J} = 7.6\text{ Hz}$, 2H, ArH); $\delta = 7.46 - 7.52$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.55$ (pt, $^4\text{J}(\text{H, F}) = 8.5\text{ Hz}$, $^3\text{J} = 8.6\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.64 - 7.72$ (m, 1H, ArH)

MS (EI, 250°C): m/z (%) = 535 [M]⁺ (1.3), 424 (0.2), 318 (0.4), 113 (0.3), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 73.18 H 6.58 N 9.14, gef.: C 73.08 H 6.60 N 9.16

5-(6)-Methoxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54a)

Aus 1.07×10^{-3} mol (239 mg) 5-(6)-Methoxy-2-phenyl-1H-benzimidazol **42a**:

Ausbeute: 0.34×10^{-3} mol (150 mg), 32%

$\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2$ (441.58)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3431 (s), 3033 (w), 2924 (m), 2853 (w), 1616 (m), 1512 (w), 1243 (w), 818 (w), 743 (w), 697 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus 2 Tautomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

$^1\text{H-NMR}$ ₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.27 - 1.40$ (m, 3.6H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.52$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.42$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.58$ (t, $^3\text{J} = 5.9\text{ Hz}$, 3.6H, $=\text{N-CH}_2$ -); $\delta = 3.75$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.80$ (s, 2.4H, OCH_3); $\delta = 3.97$ (t, $^3\text{J} = 6.0\text{ Hz}$, 3.6H, $-\text{O-CH}_2$ -); $\delta = 5.46$ (s, 1.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.48$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.79 - 6.85$ (d, $^3\text{J} = 8.7\text{ Hz}$, 3.6H, ArH); $\delta = 6.85 - 6.95$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 7.04$ (d, $^4\text{J} = 2.3\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.23$ (d, $^4\text{J} = 2.3\text{ Hz}$, 0.8H, ArH); $\delta = 7.35$ (d, $^3\text{J} = 8.9\text{ Hz}$, 0.8H, ArH); $\delta = 7.41 - 7.56$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 7.60$ (d, $^3\text{J} = 8.8\text{ Hz}$, 1H, ArH); $\delta = 7.64 - 7.76$ (m, 3.6H, ArH)

MS (EI, 320°C): m/z (%) = 442 [M]⁺ (4.7), 343 (0.3), 330 (0.2), 113 (0.4), 98 (100.0)

5-(6)-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54b)

Aus 0.98×10^{-3} mol (250 mg) 5-(6)-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **42b**:

Ausbeute: 0.20×10^{-3} mol (94 mg), 20% (davon 46% 62b I, 54% 62b II)

$C_{29}H_{33}N_3O_3$ (471.60)

farbloses Öl

CHN (%): ber.: C 73.86 H 7.05 N 8.91, gef.: C 73.78 H 7.07 N 8.93

5-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54b I)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3431 (m), 2923 (w), 2851 (w), 1672 (s), 1629 (m), 1256 (m), 801 (w)

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.30 - 1.40$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.35 - 2.43$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.64$ (m, 2H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.79$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.82$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.91 - 4.11$ (m, 2H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.44$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.83$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.85$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.91$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.07$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.31$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.67$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH)

FAB (+) (DMSO/m-NO₂-Benzyl-OH): m/z (%) = 472 [M+H]⁺ (33.0), 254 [C₁₅H₁₄N₂O₂]⁺ (7.2), 112 [C₅H₁₀NCH₂CH₂]⁺ (100.0), 98 [C₅H₁₀NCH₂]⁺ (55.4)

6-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54b II)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3426 (w), 3058 (w), 2957 (m), 2852 (w), 1671 (m), 1617 (m), 1532 (w), 1511 (m), 1255 (s), 807 (s)

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.30 - 1.40$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.53$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.35 - 2.43$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.64$ (m, 2H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.74$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.81$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.91 - 4.05$ (m, 2H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.45$ (s, 2H,

Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.78 - 6.89$ (m, 3H, ArH); $\delta = 6.91$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.00$ (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.07$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.55$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.63$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, ArH)

FAB (+) (DMSO/m-NO₂-Benzyl-OH): m/z (%) = 472 [M+H]⁺ (33.0), 254 [C₁₅H₁₄N₂O₂]⁺ (7.2), 112 [C₅H₁₀NCH₂CH₂]⁺ (100.0), 98 [C₅H₁₀NCH₂]⁺ (55.4)

2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54c)

Aus 0.84×10^{-3} mol (240 mg) 2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42c**:

Ausbeute: 0.31×10^{-3} mol (156 mg), 37%

C₃₀H₃₅N₃O₄ (501.63)

gelbes Öl

IR (Film, cm⁻¹): 3428 (w), 2934 (m), 2837 (w), 1615 (s), 1583 (m), 1512 (m), 1245 (s), 830 (m)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.27 - 1.40$ (m, 3.6H, CH₂); $\delta = 1.40 - 1.54$ (m, 7.2H, CH₂); $\delta = 2.34 - 2.42$ (m, 7.2H, CH₂); $\delta = 2.58$ (t, $^3J = 5.6$ Hz, 3.6H, =N-CH₂-); $\delta = 3.71$ (s, 8.4H, OCH₃); $\delta = 3.77$ (s, 2.4H, OCH₃); $\delta = 3.84$ (s, 5.4H, OCH₃); $\delta = 3.96$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 3.6H, -O-CH₂-); $\delta = 5.13$ (s, 1.6H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 5.14$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.66$ (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.68$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 6.72$ (d, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.73$ (d, $^4J = 2.6$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 6.75 - 6.84$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 6.87$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 6.94$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.16$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.23$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.32$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.36$ (d, $^3J = 8.3$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.51$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 250°C): m/z (%) = 501 [M]⁺ (7.9), 403 (0.4), 390 (0.7), 283 (1.3), 113 (0.8), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 71.83 H 7.03 N 8.38, gef.: C 71.76 H 7.05 N 8.39

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54d)

Aus 0.88×10^{-3} mol (250 mg) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42d**:

Ausbeute: 0.28×10^{-3} mol (141 mg), 32%

$C_{30}H_{35}N_3O_4$ (501.63)

Das Produkt wurde bereits synthetisiert. Analytische Daten siehe Seite 187.

2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54e)

Aus 1.21×10^{-3} mol (350 mg) 2-(2-Chlor-4-methoxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42e**:

Ausbeute: 0.30×10^{-3} mol (150 mg), 25%

$C_{29}H_{32}N_3O_3Cl$ (506.05)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3418 (w), 2934 (m), 2836 (w), 1610 (m), 1535 (w), 1512 (m), 1247 (s), 1038 (s), 820 (m)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.27 - 1.40$ (m, 3.6H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.52$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.43$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.64$ (m, 3.6H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.75$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.79$ (s, 2.4H, OCH_3); $\delta = 3.85$ (s, 5.4H, OCH_3); $\delta = 3.95$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 3.6H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.17$ (s, 1.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.19$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.76$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 6.81 - 6.91$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 7.00 - 7.10$ (m, 2.8H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.24$ (d, $^4J = 2.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.25$ (d, $^4J = 2.5$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.34$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.45$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.49$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.56$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH)

MS (EI, 210°C): m/z (%) = 505 [M]⁺ (62.9), 408 (2.3), 394 (2.0), 287 (10.6), 112 (5.1), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 68.83 H 6.37 N 8.30, gef.: C 68.76 H 6.39 N 8.32

2-(4-Benzyloxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54f)

Aus 0.61×10^{-3} mol (200 mg) 2-(4-Benzyloxyphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42f**:

Ausbeute: 0.21×10^{-3} mol (115 mg), 34%

$C_{35}H_{37}N_3O_3$ (547.70)

gelbes Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3386 (w), 3019 (w), 2939 (w), 1671 (w), 1613 (w), 1512 (w), 1216 (m), 758 (s), 667 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.27 - 1.41$ (m, 3.6H, CH_2); $\delta = 1.41 - 1.51$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.35 - 2.42$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.57 - 2.65$ (m, 3.6H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.74$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.79$ (s, 2.4H, OCH_3); $\delta = 3.89 - 4.01$ (m, 3.6H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.17$ (s, 3.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.44$ (s, 1.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.45$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.76 - 6.87$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 6.88 - 6.96$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 7.00$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.14$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.15$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1.6H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.31$ (d, $^3J = 8.9$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.34$ (t, $^3J = 8.6$ Hz, 1.8H, ArH); $\delta = 7.41$ (pt, $^3J = 7.1$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 7.48$ (d, $^3J = 7.3$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 7.55$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.65$ (pt, $^3J = 9.1$ Hz, $^3J = 9.1$ Hz, 3.6H, ArH)

MS (EI, 300°C): m/z (%) = 547 [M]⁺ (5.9), 449 (0.3), 436 (1.3), 330 (1.2), 113 (0.7), 98 (100.0)

CHN (%):ber.: C 76.76 H 6.81 N 7.67, gef.: C 76.68 H 6.83 N 7.65

2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-5-(6)-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54g)

Aus 0.33×10^{-3} mol (121 mg) 2-(4-Benzylox-2-chlorphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42g**:

Ausbeute: 0.18×10^{-3} mol (105 mg), 55%

$C_{35}H_{36}N_3O_3Cl$ (582.15)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3064 (w), 3033 (w), 2935 (s), 2854 (m), 1608 (s), 1561 (w), 1512 (s), 1246 (s), 1036 (s), 819 (m), 754 (s), 701 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.6.

$^1\text{H-NMR}_{400}$ ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.27 - 1.38$ (m, 3.2H, CH_2); $\delta = 1.38 - 1.52$ (m, 6.4H, CH_2); $\delta = 2.35 - 2.41$ (m, 6.4H, CH_2); $\delta = 2.59$ (t, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, 3.2H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.74$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.79$ (s, 1.8H, OCH_3); $\delta = 3.95$ (t, $^3\text{J} = 5.9$ Hz, 3.2H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.17$ (s, 1.2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.18$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.22$ (s, 3.2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.72 - 6.80$ (m, 3.2H, ArH); $\delta = 6.81 - 6.90$ (m, 4.8H, ArH); $\delta = 7.07$ (d, $^4\text{J} = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.12$ (dd, $^3\text{J} = 8.4$ Hz, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.14$ (dd, $^3\text{J} = 8.3$ Hz, $^4\text{J} = 2.5$ Hz, 0.6H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, 0.6H, ArH); $\delta = 7.30 - 7.50$ (m, 12.2H, ArH); $\delta = 7.55$ (d, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, 0.6H, ArH)

MS (EI, 250°C): m/z (%) = 582 $[\text{M}]^{+*}$ (29.4), 470 (2.9), 364 (15.2), 273 (18.1), 113 (0.6), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 72.21 H 6.23 N 7.22, gef: C 72.22 H 6.23 N 7.21

2-(4-Benzoyloxy-2-fluorphenyl)-5-(6)-methoxy-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (54h)

Aus 0.72×10^{-3} mol (250 mg) 2-(4-Benzoyloxy-2-fluorphenyl)-5-(6)-methoxy-1H-benzimidazol **42h**:

Ausbeute: 0.20×10^{-3} mol (115 mg), 28%

$\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}$ (565.69)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3433 (w), 3064 (w), 3033 (w), 2934 (s), 2854 (m), 1676 (w), 1626 (s), 1585 (m), 1512 (s), 1247 (s), 1163 (s), 833 (w), 755 (w), 739 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

$^1\text{H-NMR}_{400}$ ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.29 - 1.41$ (m, 3.6H, CH_2); $\delta = 1.41 - 1.52$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.43$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.63$ (m, 3.6H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.75$ (s, 3H, OCH_3); $\delta = 3.78$ (s, 2.4H, OCH_3); $\delta = 3.95$ (t, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, 3.6H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.21$ (s, 3.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.25$ (s, 1.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.27$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.77$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 6.82 - 6.89$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 7.00 - 7.05$ (m, 1.8H, ArH); $\delta = 7.06$ (d, $^4\text{J} = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.09 - 7.18$ (m, 1.8H, ArH); $\delta = 7.22$ (d, $^4\text{J} = 2.2$ Hz, 0.8H, ArH);

$\delta = 7.34$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.37$ (t, $^3J = 6.6$ Hz, 1.8H, ArH); $\delta = 7.43$ (pt, $^3J = 7.2$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 3.6H, ArH); $\delta = 7.46 - 7.52$ (m, 4.4H, ArH); $\delta = 7.55$ (pt, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J(\text{H, F}) = 8.0$ Hz, 1.8H, ArH)

MS (EI, 230°C): m/z (%) = 565 [M]⁺ (3.6), 467 (0.2), 454 (0.3), 348 (0.6), 257 (0.8), 113 (0.5), 98 (100.0), 91 (12.5)

CHN (%): ber.: C 74.31 H 6.41 N 7.43, gef.: C 74.30 H 6.42 N 7.42

5-(6)-Benzyloxy-2-(4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (55)

Aus 0.61×10^{-3} mol (201 mg) 5-(6)-Benzyloxy-2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **43b**:

Ausbeute: 0.13×10^{-3} mol (70 mg), 21%

C₃₅H₃₇N₃O₃ (547.70)

farbloses Öl

IR (Film, cm⁻¹): 3439 (w), 3030 (w), 2934 (m), 2854 (w), 1613 (m), 1512 (m), 1251 (s), 836 (w), 753 (m), 698 (w)

Das Produkt ist ein Gemisch aus zwei Isomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.30 - 1.41$ (m, 3.6H, CH₂); $\delta = 1.41 - 1.53$ (m, 7.2H, CH₂); $\delta = 2.34 - 2.44$ (m, 7.2H, CH₂); $\delta = 2.56 - 2.65$ (m, 3.6H, =N-CH₂-); $\delta = 3.81$ (s, 5.4H, OCH₃); $\delta = 3.91 - 4.01$ (m, 3.6H, -O-CH₂-); $\delta = 5.09$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 5.15$ (s, 1.6H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 5.44$ (s, 3.6H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.75 - 6.86$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 6.87 - 6.97$ (m, 5.4H, ArH); $\delta = 7.00 - 7.11$ (m, 4.4H, ArH); $\delta = 7.13$ (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.26$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.28 - 7.50$ (m, 9H, ArH); $\delta = 7.55$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.63$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.65$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1.6H, ArH)

MS (EI, 280°C): m/z (%) = 547 [M]⁺ (12.1), 436 (2.6), 330 (15.9), 239 (39.2), 113 (1.7), 98 (100.0), 91 (17.4)

CHN (%): ber.: C 76.76 H 6.81 N 7.67, gef.: C 76.80 H 6.81 N 7.65

11.1.1.2.8 Etherspaltung

Allgemeine Vorschrift zur Etherspaltung der Benzimidazole

Zu einer Lösung von 0.56×10^{-3} mol des zu entschützenden Benzimidazols in 15 ml absolutem Dichlormethan werden bei 0°C 3.31×10^{-3} mol (441 mg) AlCl_3 und 205 μl Ethanthiol gegeben. Der Ansatz wird eine halbe Stunde auf Eis und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Reaktion durch Zugabe von 10 ml Wasser beendet. Es erfolgt die Neutralisation durch Zugabe einer 5%-igen NaHCO_3 -Lösung. Im Anschluss wird das Produkt mit 3 x 50 ml Dichlormethan aus der wässrigen Phase extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Die Reinigung erfolgt über Säulenchromatographie an Kieselgel. Als Laufmittel dient eine Mischung aus Dichlormethan/Methanol (9:1).

2-(4-Hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (56a)

Aus 0.24×10^{-3} mol (106 mg) 2-(4-Methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **53b**:

Ausbeute: 0.18×10^{-3} mol (77 mg), 75%

$\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$ (427.55)

weißes Pulver

Schmp.: 102°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3426 (m), 3056 (m), 2933 (s), 1611 (s), 840 (w), 746 (m)

$^1\text{H-NMR}$ ₄₀₀ ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.26 - 1.39$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.59$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.63$ (m, 2H, $=\text{N-CH}_2$ -); $\delta = 3.86 - 4.07$ (m, 2H, $-\text{O-CH}_2$ -); $\delta = 5.46$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.85$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.89$ (d, $^3\text{J} = 8.7$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.92$ (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.09 - 7.25$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.34 - 7.47$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.55$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.62 - 7.70$ (m, 1H, ArH); 9.95 (s, 1H, OH)

MS (EI, 330°C): m/z (%) = 427 [M]⁺ (8.4), 329 (0.2), 316 (0.8), 210 (4.7), 113 (0.5), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 75.85 H 6.84 N 9.83, gef.: C 75.87 H 6.85 N 9.84

2-(2,4-Dihydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (56b)

Aus 0.27×10^{-3} mol (127 mg) 2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **53c**:

Ausbeute: 0.13×10^{-3} mol (58 mg), 49%

$C_{27}H_{29}N_3O_3$ (443.55)

gelber Feststoff

Schmp.: 114-117°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3448 (s), 2983 (w), 1748 (w), 1627 (w), 1568 (w), 1539 (w), 1268 (m), 816 (w), 710 (w)

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.31 - 1.41$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.41 - 1.62$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.54 - 2.63$ (m, 2H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.88 - 4.04$ (m, 2H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.46$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.32$ (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.42$ (d, $^4J = 2.1$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.82$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.95$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.12 - 7.26$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.32$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.38 - 7.48$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.61 - 7.71$ (m, 1H, ArH); $\delta = 9.80$ (s, 1H, OH); 11.47 (bs, 1H, OH)

MS (EI, 180°C): m/z (%) = 443 [M]⁺⁺ (5.7), 332 (13.5), 226 (7.8), 113 (2.7), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 73.11 H 6.59 N 9.47, gef.: C 73.09 H 6.60 N 9.49

2-(2-Chlor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (56c)

Aus 0.15×10^{-3} mol (83 mg) 2-(4-Benzyloxy-2-chlorphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-benzimidazol **53h**:

Ausbeute: 0.14×10^{-3} mol (65 mg), 94%

$C_{27}H_{28}N_3O_2Cl$ (461.99)

weißes Pulver

Schmp.: 105-109°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3462 (s), 3063 (w), 2936 (w), 1611 (m), 1513 (w), 1245 (m), 1034 (w), 822 (w), 747 (w)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.30 - 1.41$ (m, 2H, CH₂); $\delta = 1.41 - 1.53$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.35 - 2.42$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.54 - 2.61$ (m, 2H, =N-CH₂-); $\delta = 3.95$ (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, -O-CH₂-); $\delta = 5.19$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.78$ (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.82 - 6.95$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.01$ (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.18 - 7.27$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.37$ (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.44 - 7.52$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.60 - 7.72$ (m, 1H, ArH); $\delta = 10.38$ (s, 1H, OH)

MS (EI, 210°C): m/z (%) = 461 [M]⁺⁺ (2.5), 350 (0.3), 244 (2.2), 113 (0.5), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 70.20 H 6.11 N 9.10, gef.: C 70.23 H 6.09 N 9.10

2-(2-Fluor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-benzimidazol (56d)

Aus 0.37×10^{-3} mol (170 mg) 2-(2-Fluor-4-methoxyphenyl)-1H-benzimidazol **53f**:

Ausbeute: 0.26×10^{-3} mol (117 mg), 71%

C₂₇H₂₈N₃O₂F (445.54)

weißes Pulver

Schmp.: 102°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3433 (s), 3059 (w), 2934 (m), 2857 (m), 1624 (s), 1540 (w), 1513 (m), 1247 (s), 1159 (m), 823 (w), 747 (w)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.30 - 1.40$ (m, 2H, CH₂); $\delta = 1.41 - 1.52$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.31 - 2.44$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.54 - 2.64$ (m, 2H, =N-CH₂-); $\delta = 3.96$ (t, ³J = 5.2 Hz, 2H, -O-CH₂-); $\delta = 5.34$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.72 - 6.83$ (m, 4H, ArH); $\delta = 6.93$ (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.19 - 7.25$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.39 - 7.49$ (m, 2H, ArH); $\delta = 7.64 - 7.68$ (m, 1H, ArH); $\delta = 10.51$ (s, 1H, OH)

MS (EI, 210°C): m/z (%) = 445 [M]⁺⁺ (5.5), 334 (0.6), 228 (3.3), 113 (0.4), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 72.79 H 6.33 N 9.43, gef.: C 72.80 H 6.35 N 9.45

5-(6)-Hydroxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57a I + 57a II)

Aus 0.34×10^{-3} mol (150 mg) 5-(6)-Methoxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **54a**:

Ausbeute: 0.094×10^{-3} mol (40 mg), 28% (davon 40% 57a I, 60% 57a II)

$C_{27}H_{29}N_3O_2$ (427.55)

MS (EI, 270°C): m/z (%) = 427 [M]⁺ (5.8), 329 (3.1), 210 (1.7), 113 (0.6), 98 (100.0)

CHN (%): ber.: C 75.85 H 6.84 N 9.83, gef.: C 75.79 H 6.85 N 9.84

**5-Hydroxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1*H*-benzimidazol
(57a I)**

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3435 (s), 2927 (m), 1616 (w), 1512 (w), 802 (w), 775 (w), 699 (w)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.27 - 1.41 (m, 2H, CH₂); δ = 1.41 - 1.55 (m, 4H, CH₂);
 δ = 2.34 - 2.42 (m, 4H, CH₂); δ = 2.58 - 2.65 (m, 2H, =N-CH₂-); δ = 3.85 - 4.05 (m,
2H, -O-CH₂-); δ = 5.40 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.72 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 2.0 Hz,
1H, ArH); δ = 6.82 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH); δ = 6.90 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH);
 δ = 7.01 (d, ⁴J = 1.8 Hz, 1H, ArH); δ = 7.24 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, ArH); δ = 7.45 - 7.57
(m, 3H, ArH); δ = 7.65 - 7.75 (m, 2H, ArH); δ = 9.09 (s, 1H, OH)

**6-Hydroxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1*H*-benzimidazol
(57a II)**

weißer Feststoff

Schmp.: 94.5°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3400 (m), 3065 (m), 3031 (m), 2935 (s), 1620 (m), 1512 (s), 1246 (s),
824 (m), 754 (m), 700 (m)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.28 - 1.41 (m, 2H, CH₂); δ = 1.41 - 1.52 (m, 4H, CH₂);
 δ = 2.34 - 2.43 (m, 4H, CH₂); δ = 2.60 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, =N-CH₂-); δ = 3.97 (t,
³J = 5.9 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.36 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.68 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H,
ArH); δ = 6.73 (dd, ³J = 8.7 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ArH); δ = 6.86 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H,
ArH); δ = 6.93 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 7.44 - 7.48 (m, 4H, ArH); δ = 7.62 - 7.73
(m, 2H, ArH); δ = 9.28 (s, 1H, OH)

5-(6)-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57b I + 57b II)

Aus 0.56×10^{-3} mol (263 mg) 5-(6)-Methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **54b**:

Ausbeute: 0.53×10^{-3} mol (235 g), 95% (davon 47% 57b I, 53% 57b II)

$C_{27}H_{29}N_3O_3$ (443.55)

MS (EI, 300°C): m/z (%) = 443 [M]⁺⁺ (2.3), 332 (2.3), 226 (59.4), 113 (5.5), 98 (100.0)

CHN (%):ber.: C 73.11 H 6.59 N 9.47, gef.: C 73.14 H 6.61 N 9.50

5-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57b I)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3365 (m), 3117 (s), 2954 (s), 2872 (m), 1609 (s), 1512 (s), 1476 (m), 1461 (m), 1246 (s), 843 (m), 820 (m)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.31 - 1.41 (m, 2H, CH₂); δ = 1.41 - 1.52 (m, 4H, CH₂); δ = 2.34 - 2.42 (m, 4H, CH₂); δ = 2.61 (t, ³J = 5.7 Hz, 2H, =N-CH₂-); δ = 3.98 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.38 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.63 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ArH); δ = 6.84 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 6.87 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH); δ = 6.91 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 6.96 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, ArH); δ = 7.15 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, ArH); δ = 7.52 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, ArH); δ = 9.05 (s, 1H, OH); δ = 9.92 (s, 1H, OH)

6-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57b II)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3168 (m), 2959 (m), 2875 (m), 1610 (s), 1512 (m), 1479 (m), 1462 (m), 1240 (s), 1217 (s), 845 (m), 819 (m)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.30 - 1.41 (m, 2H, CH₂); δ = 1.41 - 1.51 (m, 4H, CH₂); δ = 2.34 - 2.44 (m, 4H, CH₂); δ = 2.57 - 2.65 (m, 2H, =N-CH₂-); δ = 3.99 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.32 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.63 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1H, ArH); δ = 6.68 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ArH); δ = 6.86 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H,

ArH); $\delta = 6.87$ (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.93$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 7.42$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.48$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 9.21$ (s, 1H, OH); $\delta = 9.89$ (s, 1H, OH)

5-(6)-Hydroxy-2-(2,4-Dihydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-benzimidazol (57c)

Aus 0.31×10^{-3} mol (157 mg) 5-(6)-Methoxy-2-(2,4-Dimethoxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **54c**:

Ausbeute: 0.15×10^{-3} mol (70 mg), 49% Isomerengemisch (Verhältnis der Isomere 1:0.8), zusätzlich 0.076×10^{-3} mol (36 mg), 25% des Isomerengemisches, bei dem entweder die Methoxygruppe in 2- oder in 4-Position unentschützt ist.

$C_{27}H_{29}N_3O_4$ (459.55)

weißer Feststoff

IR (KBr, cm^{-1}): 3435 (s), 2934 (w), 2857 (w), 1617 (m), 1539 (w), 1513 (m), 1245 (m), 806 (w)

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.26 - 1.42$ (m, 3.6H, CH_2); $\delta = 1.42 - 1.56$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.44$ (m, 7.2H, CH_2); $\delta = 2.57 - 2.65$ (m, 3.6H, =N- CH_2 -); $\delta = 3.89 - 4.03$ (m, 3.6H, -O- CH_2 -); $\delta = 5.36$ (s, 2H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 5.43$ (s, 1.6H, Phenyl- CH_2 -); $\delta = 6.23 - 6.36$ (m, 1.8H, ArH); $\delta = 6.39 - 6.46$ (m, 1.8H, ArH); $\delta = 6.63 - 6.67$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 6.76 - 6.91$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 6.91 - 7.04$ (m, 3.6H, ArH); $\delta = 7.20$ (d, $^3J = 8.8$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.28$ (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.31$ (d, $^3J = 8.7$ Hz, 0.8H, ArH); $\delta = 7.45$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 9.12$ (s, 0.8H, OH); $\delta = 9.28$ (s, 1H, OH), $\delta = 9.81$ (s, 1H, OH); $\delta = 9.84$ (s, 0.8H, OH), $\delta = 11.70$ (s, 1H, OH); $\delta = 11.93$ (s, 0.8H, OH)

MS (EI, 245°C): m/z (%) = 459 [M]⁺ (6.7), 362 (0.4), 348 (8.9), 242 (45.3), 113 (3.2), 98 (100.0)

CHN (%):ber.: C 70.57 H 6.36 N 9.14, gef.: C 70.54 H 6.34 N 9.15

5-(6)-Hydroxy-2-(2-chlor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57d I + 57d II)

Aus 0.40×10^{-3} mol (232 mg) 5-(6)-Methoxy-2-(4-benzyloxy-2-chlorphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **54g**:

Ausbeute: 0.21×10^{-3} mol (100 mg), 52% (davon 47% 57d I, 53% 57d II)

$C_{27}H_{28}N_3O_3Cl$ (478.00)

MS (EI, 320°C): m/z (%) = 477 [M]⁺ (3.6), 366 (0.3), 260 (13.2), 113 (0.9), 98 (100.0)

CHN (%):ber.: C 67.85 H 5.90 N 8.79, gef.: C 67.88 H 5.92 N 8.80

5-Hydroxy-2-(2-chlor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57d I)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3368 (m), 3079 (m), 2956 (m), 2873 (m), 1608 (s), 1512 (s), 1457 (m), 1246 (s), 1221 (s), 1082 (m), 829 (m)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.29 - 1.41 (m, 2H, CH₂); δ = 1.41 - 1.53 (m, 4H, CH₂); δ = 2.35 - 2.44 (m, 4H, CH₂); δ = 2.57 - 2.65 (m, 2H, =N-CH₂-); δ = 3.98 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.10 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.70 (dd, ³J = 8.7 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ArH); δ = 6.78 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 6.86 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 6.88 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 6.96 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ArH); δ = 6.99 (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ArH); δ = 7.22 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, ArH); δ = 7.35 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, ArH); δ = 9.06 (s, 1H, OH); δ = 10.37 (s, 1H, OH)

6-Hydroxy-2-(2-chlor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57d II)

farbloses Öl

IR (Film, cm^{-1}): 3443 (s), 3117 (s), 2956 (m), 2919 (m), 1607 (m), 1513 (w), 1469 (w), 1455 (w), 1243 (w), 1073 (w), 827 (w)

¹H-NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): δ = 1.32 - 1.42 (m, 2H, CH₂); δ = 1.42 - 1.50 (m, 4H, CH₂); δ = 2.36 - 2.43 (m, 4H, CH₂); δ = 2.58 - 2.65 (m, 2H, =N-CH₂-); δ = 3.96 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, -O-CH₂-); δ = 5.07 (s, 2H, Phenyl-CH₂-); δ = 6.66 - 6.71 (m, 2H, ArH); δ = 6.80 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH); δ = 6.86 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 1H,

ArH); $\delta = 6.88$ (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, ArH); $\delta = 6.99$ (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.34$ (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.43$ (d, $^3J = 9.3$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 9.25$ (s, 1H, OH); $\delta = 10.36$ (bs, 1H, OH)

5-(6)-Hydroxy-2-(2-fluor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57e I + 57e II)

Aus 0.20×10^{-3} mol (115 mg) 5-(6)-Methoxy-2-(4-benzyloxy-2-fluorphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol **54h**:

Ausbeute: 0.12×10^{-3} mol (55 mg), 60% (davon 45% 57e I, 55% 57e II)

$C_{27}H_{28}N_3O_3F$ (461.54)

MS (EI, 330°C): m/z (%) = 461 [M]⁺ (3.3), 350 (1.5), 244 (43.8), 113 (1.7), 98 (100.0)

CHN (%):ber.: C 70.26 H 6.11 N 9.10, gef.: C 70.30 H 6.12 N 9.12

5-Hydroxy-2-(2-fluor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57e I)

weißer Feststoff

Schmp.: > 300°C, unter Verkohlung

IR (KBr, cm^{-1}): 3407 (m), 2937 (m), 1615 (s), 1584 (m), 1513 (m), 1454 (s), 1445 (s), 1246 (s), 839 (m)

1H -NMR₄₀₀ ([D₆]-DMSO): $\delta = 1.29 - 1.39$ (m, 2H, CH₂); $\delta = 1.41 - 1.50$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.33 - 2.41$ (m, 4H, CH₂); $\delta = 2.57$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, =N-CH₂-); $\delta = 3.95$ (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, -O-CH₂-); $\delta = 5.18$ (s, 2H, Phenyl-CH₂-); $\delta = 6.63$ (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.77 - 6.79$ (m, 3H, ArH); $\delta = 6.87 - 6.89$ (m, 3H, ArH); $\delta = 6.93$ (d, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.12$ (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 7.13 - 7.22$ (m, 1H, ArH); $\delta = 9.11$ (s, 1H, OH); $\delta = 10.47$ (s, 1H, OH)

6-Hydroxy-2-(2-fluor-4-hydroxyphenyl)-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-benzimidazol (57e II)

weißer Feststoff

Schmp.: 137.2°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3425 (m), 3066 (w), 2934 (m), 1626 (s), 1542 (m), 1513 (m), 1455 (s), 1395 (m), 1246 (s), 825 (m)

$^1\text{H-NMR}_{400}$ ($[\text{D}_6]$ -DMSO): $\delta = 1.29 - 1.38$ (m, 2H, CH_2); $\delta = 1.40 - 1.51$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.34 - 2.42$ (m, 4H, CH_2); $\delta = 2.58$ (t, $^3\text{J} = 5.9$ Hz, 2H, $=\text{N-CH}_2-$); $\delta = 3.96$ (t, $^3\text{J} = 6.0$ Hz, 2H, $-\text{O-CH}_2-$); $\delta = 5.13$ (s, 2H, Phenyl- CH_2-); $\delta = 6.60$ (d, $^4\text{J} = 2.0$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.63$ (dd, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, $^4\text{J} = 2.2$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 6.79 - 6.81$ (m, 3H, ArH); $\delta = 6.88 - 6.90$ (m, 3H, ArH); $\delta = 7.01 - 7.13$ (m, 1H, ArH); $\delta = 7.36$ (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 1H, ArH); $\delta = 9.29$ (s, 1H, OH); $\delta = 10.44$ (s, 1H, OH)

11.1.1.3 HPLC-Methoden

11.1.1.3.1 HPLC-System

Analytische HPLC:

Eurospher 100-5 C18 Säule, 250 mm, 4 mm ID	Knauer
Eurospher 100-5 C18 Vorsäule, 4 mm ID	Knauer
Kroma System 2000 Software	Biotek Kontron
HPLC-Pumpe 522	Biotek Kontron
HPLC-UV-Detektor 535	Biotek Kontron

Präparative HPLC (Knauer Smartline):

Eurospher 100-10 C18 Säule, 250 mm, 16 mm ID	Firma Knauer
Eurospher 100-10 C18 Säule, 30 mm, 16 mm ID	Firma Knauer
Smartline-Pumpe 1000	Firma Knauer
HPLC-UV-Detektor 2500	Firma Knauer
HPLC-Autosampler	Firma Knauer

11.1.1.3.2 Mobile Phase

Acetat-Puffer pH 5.5:

3.6 ml Eisessig werden mit 250 ml Aqua bidest. vermischt. Im Anschluss wird mit 25%-igem Ammoniak ein pH-Wert von 5.5 eingestellt und mit Aqua bidest. auf 300 ml aufgefüllt. Die Lösung wird durch ein Filter (0.2 μm) gegeben und bis zur Verwendung im Kühlschrank gelagert.

Mobile Phase:

Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus 3 Komponenten gewählt:

Komponente A: Acetatpuffer pH 5.5

Komponente B: Acetonitril

Komponente C: Methanol

Die prozentuale Zusammensetzung wurde je nach Verbindung variiert (Kap. 5.5).

11.1.1.3.3 Probenvorbereitung

Für die analytische HPLC werden 1×10^{-6} M methanolische Lösungen der entsprechenden Verbindung hergestellt und vor der Injektion filtriert. Die präparative HPLC erfordert die Einwaage von 3-4 mg Substanz, die in 500 μl Methanol gelöst werden. Nach erfolgter Trennung werden die vereinigten Fraktionen durch 5-minütiges Rühren in 5%-iger NaHCO_3 -Lösung neutralisiert. Nach dem Ausschütteln mit Dichlormethan, Trocknen über Na_2SO_4 und Abrotieren des Lösungsmittels erhält man die reinen Isomeren.

11.1.1.3.4 Versuchsbedingungen

Analytische Säule:

Flussrate: 0.8 ml/min

Säulentemperatur: Raumtemperatur

Injektionsvolumen: 25 μl

Detektionswellenlänge: 300 nm

Präparative Säule:

6 ml/min

Raumtemperatur

500 μl

300 nm

11.2 Biochemischer und pharmakologischer Teil

11.2.1 Materialien

11.2.1.1 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Analysenwaage: BP 211D (Sartorius)

Autoklav: 2540 ELV Dampf-Sterilisator (Tuttnauer)

CO₂-Begasungsbrutschrank: B5060 EK-CO₂ (Heraeus); SNW 300TVBB (Nalge Nunc International)

Ein- und Mehrkanalpipetten: (Eppendorf)

Einmalkanülen: (Braun)

Einmalküvetten: Polystyrol (Sarstedt)

Enimalspritzen: (Braun)

Inversmikroskop: Axiovert 135, Axiovert 25 (Carl Zeiss Jena)

8-Kanalabsauger: (Integra)

Luminometer: Microluminat LB 96 P (EG&G Berthold)

Membranfilter: 0.2 µm Ø 50 mm, 0.45 µm Ø 50 mm (Sartorius)

Mikroplattenreader: Flashscan S12 (Analytikjena AG)

Pasteurpipetten: (Braun)

pH-Meter: model 410A (Orion Research Inc.)

Pipettierhilfe: PIPETBOY acu (IBS Integra Biosciences)

Pipettenspitzen: (Eppendorf)

Reaktionsgefäße: 1.5 ml und 2.0 ml (Eppendorf)

Schüttler: LS10 (Gerhardt)

Sicherheitsbunsenbrenner: Fireboy plus (Integra)

Steril-Werkbank: Lamin Air HB2448 (Heraeus)

Sterilfilter für Einmalspritzen: 0.2 µm (Nalgene)

Stickstofftank: GT11 (Air Liquide)

Ultraschallbad: (Kontron)

UV-Spektroskopie: UVIKON 930 (Kontron Instruments)

Vortexer: REAX top (Heidolph); VF2 (Janke & Kunkel GmbH u. Co KG)

Wasserbad: SW-21C (Julabo Labortechnik)

6-Well-Makroplatten: steril (TPP)

96-Well-Mikrotiterplatte: steril (Nunc)

96-Well-Mikrotiterplatte: weiß, für Chemilumineszenzmessung (Nunc)

Ultraschallbad: (Kontron)

Zählkammer: Neubauer (0.100 mm, 0.0025 mm²) (Carl Zeis Jena)

Zellkulturflaschen: 75 cm², steril (Nunc)

Zentrifugenröhrchen: konisch 15 ml und 50 ml (Sarstedt)

Zentrifuge: Megafuge 1.0 R (Heraeus)

11.2.1.2 Reagenzien und Lösungen

Dextran 60 (Sigma)

17 β -Estradiol (Sigma)

Ethanol 96% (Merck)

DNA: „DNA from salmon testes“ (Sigma)

Humanserumalbumin (HSA) (Sigma)

wässrige Glutardialdehydlösung 25% (Merck-Schuchardt)

Kristallviolett p.a. (Merck)

0.1 N HCl p.a. (VWR)

0.1 N NaOH p.a. (VWR)

N,N-Dimethylformamid p.a. (Fluka)

Norit A Aktivkohle (Serva)

Bradford-Reagenz 5x: 250 mg Serva Blue G, 250 ml Ethanol 95%, 250 ml H₂O, 500 ml H₃PO₄ 85%. Nach dem Ansetzen mindestens einen Tag ruhen lassen. Vor Gebrauch 1:5 mit Wasser verdünnen.

Cell-Lysis-Buffer 5x: 25 mM Tris-Phosphat (pH 7.8), 2 mM Dithiothreitol (DDT), 2 mM 1,2-Diaminocyclohexan-N,N,N',N'-tetraessigsäure, 10% Glycerin, 1% Triton-X-100 (Promega). Vor Gebrauch 1:5 mit Wasser verdünnen.

Glutardialdehydlösung 1%: 25%-ige wässrige Lösung mit PBS verdünnt.

Kohlesuspension für ct-FCS: 5% Norit A, 0.05% Dextran 60 in Tris-Puffer pH 7.5.

Kristallviolett-Lösung 0.02%: Lösung in Aqua bidest.

Luciferase-Assay-Reagenz: 20 mM Tricine, 33.3 μ M Coenzym A, 1.07 mM (MgCO₃)₄Mg(OH)₂ x 5H₂O, 0.1 mM DDT, 2.67 nM MgSO₄, 530 μ M ATP, 470 μ M Luciferin (Promega).

PBS: 137 mM NaCl, 8.1 mM Na₂HPO₄ x 2H₂O, 2.7 mM KCl, 1.4 mM KH₂PO₄.

Tris-Puffer (pH 7.5): 10 mM Tris-HCl, 1.0 mM EDTA, 3.0 mM NaN₃.

Triton-X-100-Lösung (1%): 0.5 g Triton-X-100 werden eingewogen und in 49.5 g Wasser gelöst.

Trypsinlösung: 0.05% Trypsin (ICN), 0.02% EDTA in PBS.

11.2.1.3 Zellkulturmedien

Die Herstellung der Kulturmedien erfolgt durch Lösen der entsprechenden Pulvermedien in Dreiviertel des benötigten Volumens an bidestilliertem Wasser. Zusätzlich erforderliche Medienbestandteile werden zugegeben und auf das Gesamtvolumen aufgefüllt. Die Einstellung eines pH-Wertes von 7.4-7.5 findet durch Zusatz von 0.1 N NaOH bzw. 0.1 N HCl statt. Die Lagerung der Lösungen nach Sterilfiltration über einen 0.2 µm Membranfilter erfordert Temperaturen von 2-8°C. Die Zugabe von sowohl FCS zu allen Medien als auch Penicillin und Streptomycin zum MCF-7 2a Medium erfolgt erst vor dem ersten Gebrauch.

MCF-7 Medium

EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium), Pulvermedium	Sigma
110 mg/ml Natriumpyruvat	Gibco
2.2 g/l Natriumhydrogencarbonat	Merck
50 mg/l Gentamycinsulfat	PAN Biotech
10% fetales Kälberserum	Bio Whittaker, PAN Biotech, BIOCHROM

MDA-MB 231 Medium

McCoy's 5A Pulvermedium	Sigma
110 mg/ml Natriumpyruvat	Gibco
2.2 g/l Natriumhydrogencarbonat	Merck
50 mg/l Gentamycinsulfat	PAN Biotech
5% fetales Kälberserum	Bio Whittaker, PAN Biotech BIOCHROM

MCF-7 2a Medium

DMEM (Dulbecco´s Modified Eagle Medium), Pulvermedium	Sigma
1% L-Glutaminlösung (29.2 mg/ml, 2 mmol)	Sigma
5% Penicillin/Streptomycin (1000 IE P, 10 mg S/ml)	Sigma
0.5% Geneticinsulfat (33.71 mg/ml PBS)	Gibco
5% fetales Kälberserum (FCS),	Bio Whittaker, PAN Biotech, BIOCHROM

11.2.1.4 Zelllinien

MCF-7: hormonabhängige humane Mammakarzinomlinie, ATCC (American Type Culture Collection)

MCF-7 2a: mit dem Vektor ERE_{w_tc}luc stabil transfizierte MCF-7 Zelllinie, Hafner ^[269]

MDA-MB 231: hormonunabhängige humane Mammakarzinomzelllinie, ATCC

11.2.2 Methoden

11.2.2.1 Allgemeine zellbiologische Arbeiten

11.2.2.1.1 Allgemeine Kulturbedingungen

Die Kultivierung der verwendeten Zelllinien erfolgte in gesättigter Wasserdampf-atmosphäre bei 37°C und 5% CO₂-Gehalt. Es wurden Zellkulturflaschen mit einer Wachstumsfläche von 75 cm² verwendet.

11.2.2.1.2 Passagieren der Zellen

Die Passage der Zellkulturen erfolgt beim Erreichen von 70-90% Konfluenz. Dazu wird das Medium abgesaugt und die anhaftenden Zellen mit 10 ml PBS gewaschen. Nach Entfernung des PBS werden 2 ml Trypsin (0.05%-ige Lösung) zugegeben, die Zellen gut benetzt und das Trypsin wieder vollständig abgesaugt. Nach 2-minütiger

Inkubation im Brutschrank werden 10 ml frisches Medium zugegeben und die Zellen durch Abspülen des Flaschenbodens abgelöst. Durch mehrmaliges Aufsaugen und Ausstoßen der Zellsuspension werden die Zellen vereinzelt. Je nach Zelllinie wird eine bestimmte Menge Zellsuspension entnommen und in eine neue Kulturflasche, die 10 ml frisches Medium enthält, überführt (MCF-7 2a: ≈ 1.2 ml, MCF-7: ≈ 0.8 ml, MDA-MB 231: ≈ 0.2 ml).

11.2.2.1.3 Einfrieren und Auftauen der Zellen

Zum Einfrieren werden kurz vor der Konfluenz stehende Zellen trypsinisiert und in 5 ml Medium pro Kulturflasche aufgenommen. Die Zellsuspension wird in einem konischen Zentrifugenröhrchen abzentrifugiert (5 min, 2000 min^{-1} , RT). Der Überstand wird verworfen, das Zellpellet in Einfriermedium resuspendiert (1.0 ml, 90% Kulturmedium, 10% DMSO) und in sterile Kryoröhrchen überführt. Die Kryoröhrchen werden in Zellstoff eingewickelt, bei -80°C vorgefroren und im Anschluss in flüssigem Stickstoff bei -196°C gelagert.

Zum Auftauen werden die Kryoröhrchen in 70%-igen Isopropanol gelegt und im Wasserbad bei 37°C aufgetaut. Nach der Überführung der Zellsuspension in ein konisches Zentrifugengläschen werden 10 ml Medium hinzugegeben. Die Zellen werden abzentrifugiert (5 min, 2000 min^{-1} , RT), das überstehende Medium verworfen und das Zellpellet in 10 ml Medium resuspendiert. Die Inkubation der Zellsuspension erfolgt nach Überführung in eine Kulturflasche wie unter Kapitel 11.2.2.1.1 angegeben.

11.2.2.1.4 Zellzahlbestimmung

Zur Bestimmung der Zellzahl wird eine Neubauer-Zählkammer verwendet. Die Kammer wird mit einer homogenen Zellsuspension beschickt und die Zellen in definierten Bereichen unter dem Lichtmikroskop ausgezählt. Die definierten Bereiche entsprechen einem bestimmten Volumen, aus dem sich die Zellzahl pro ml errechnen lässt.

11.2.2.1.5 ct-FCS

Da das verwendete FCS neben Wachstumsfaktoren auch endogene Steroide enthält, die die Testung der agonistischen und antagonistischen Wirkung verfälschen würden, müssen diese zuvor durch Adsorption an dextranbeschichtete Aktivkohle entfernt werden. Dazu werden 10 g Aktivkohle mit wenig Tris-Puffer verrieben, in ein Becherglas überführt, mit Tris-Puffer auf 200 ml aufgefüllt und über Nacht bei 4°C stehengelassen. Unbenetzte Aktivkohle wird von der Oberfläche abgesaugt. Nach der Zugabe von Dextran (100 mg) wird die Kohlesuspension 20 Minuten bei 4°C gerührt und zentrifugiert (10 min, 4000 min⁻¹, 4°C). Die Hälfte des erhaltenen Aktivkohlepellets wird in zuvor im Wasserbad inaktiviertem (56°C, 45 min) FCS (500 ml) resuspendiert. Nach dem Rühren der Suspension (4°C, 3 h) und erneutem Abzentrifugieren (15 min, 4000 min⁻¹, 4°C) wird der Überstand mit dem verbliebenen Aktivkohlepellet versetzt, abermals gerührt (4°C, 3 h) und zentrifugiert (2 min, 5000 min⁻¹, 4°C). Das erhaltene FCS wird erst über einen 0.45 µm Membranfilter vorfiltriert und im Anschluss über einen 0.2 µm Membranfilter sterilfiltriert. Das erhaltene ct-FCS wird bei -20°C bis zu Verwendung gelagert.

11.2.2.2 Bestimmung der agonistischen und antagonistischen Wirkung (Luciferase-Assay)

Im Luciferase-Assay wird die mit dem Plasmid ERE_{wtc}luc stabil transfizierte humane Brustkrebszelllinie MCF-7 2a verwendet. Die folgende Arbeitsanweisung ermöglicht die Testung von sechs Substanzen auf Estrogenität oder Antiestrogenität. Auf jeder im Test verwendeten Platte wird neben einer Positivkontrolle (E2: 10⁻⁹ M) zusätzlich eine Negativkontrolle (Lösungsmittel) mitgeführt.

11.2.2.2.1 Zellanzucht

Die Zellen werden 2x pro Woche wie unter Kap. 11.2.2.1.2 passagiert. Das bei der kontinuierlichen Zellkultur verwendete Medium (DMEM ohne Phenolrot, 5% FCS) wird eine Passage vor Testbeginn auf Testmedium (DMEM ohne Phenolrot,

5% ct-FCS) umgestellt. Die Aussaat der Zellen erfolgt, wenn 70-80%-ige Konfluenz erreicht ist. Da das Wachstum der in ct-FCS-haltigem Medium kultivierten Zellen aufgrund des Fehlens von Wachstumsfaktoren verlangsamt ist, geschieht dies erst nach 4-5 Tagen.

11.2.2.2.2 Zellaussaat

Die Zellen werden wie unter Kapitel 11.2.2.1.2 beschrieben behandelt, jedoch werden die trypsinisierten Zellen in nur 5 ml Testmedium aufgenommen, vereinzelt und die Zellzahl bestimmt (Kap. 11.2.2.1.4). Die Zellzahl für den Test soll 0.5×10^5 Zellen/ml betragen. Die Zellaussaat erfolgt in 96-Loch-Platten. Pro Well werden 100 μ l Zellsuspension ausgesät. Dabei werden pro Platte nur die inneren 60 Wells mit Zellsuspension beschickt, die Randlöcher werden mit 200 μ l sterilem PBS befüllt. Für die Testung von 6 Substanzen auf Estrogenität oder Antiestrogenität in je 6 Konzentrationen und Dreifachbestimmung werden jeweils 3 weiße Platten (Lumineszenzmessung) und 3 klare Platten (Kristallviolett) benötigt. Zusätzlich erfolgt auf jeder Platte die Dreifachbestimmung des Blindwertes (Lösungsmittel) und der Positivkontrolle (E2: 1×10^{-9} M). Bis zur Substanzzugabe werden die Platten 24 h inkubiert.

11.2.2.2.3 Substanzzugabe

Herstellen der Verdünnungsplatten

Vor der Substanzzugabe werden zunächst die Substanzverdünnungen auf einer 96-Loch-Platte wie in Abbildung 92 dargestellt, hergestellt. Dazu werden in Reihe A 90 μ l und in Reihe B-G 180 μ l Medium vorgelegt. Anschließend erfolgt die Zugabe von 10 μ l der Substanzstammlösung (1×10^{-2} M) in DMF zur Reihe A, so dass sich eine Substanzkonzentration von 1×10^{-3} M ergibt. Jeweils 3 Spalten enthalten die gleiche Substanz (d.h. A2-A4: Substanz 1, A5-7: Substanz 2 usw.). Um beim Mischen auf den Verdünnungsplatten zu starkes Schäumen zu vermeiden, wird hier durchgehend Medium ohne FCS verwendet.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}		
B		10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}		
C		10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}		
D		10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}		
E		10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}		
F		10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}		
G		10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}		
H												

Abb. 92: Pipettierschema der Verdünnungsplatte für den Luciferase-Assay.

Durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit einer 12-Kanal-Pipette werden die Lösungen der Reihe A gut gemischt. 20 μ l der Reihe A werden in Reihe B übertragen. Nach erneutem Mischen wird in gleicher Weise bis zur Reihe G verfahren. In jeder Reihe erfolgt also wiederum eine Verdünnung von 1:10. Die Pipettenspitzen werden zwischen den einzelnen Reihen gewechselt. In Analogie zur Testsubstanzverdünnungsplatte wird für Estradiol (Kontrolle) ebenfalls eine Verdünnungsplatte in den Konzentrationen 10^{-6} - 10^{-11} M hergestellt. Auch hier wird jede Konzentration dreifach pipettiert. Für die Testung von sechs Verbindungen und der Mitführung von E2 als Kontrolle sind dementsprechend drei Verdünnungsplatten herzustellen.

Übertragung der Verdünnungsplatten auf die Testplatten

Testung auf Estrogenität:

In die 60 inneren Löcher der Testplatten werden 80 μ l DMEM mit 5% ct-FCS pipettiert. Spalte 11 wird für die Dreifachbestimmung der Positiv- bzw. Negativkontrolle benötigt. Bei der Positivkontrolle werden anstelle der 80 μ l Medium 80 μ l einer 2.5×10^{-9} M E2-Lösung in Testmedium zugegeben (B11-D11). Die Negativkontrolle wird in E11-G11 pipettiert (80 μ l Medium + 20 μ l Medium + 1% DMF). Danach erfolgt die Übertragung der Verdünnungsplatten. Dazu mischt man zunächst noch einmal die Verdünnungen der Reihe G durch mehrmaliges Aufziehen und Ablassen mit einer 12-Kanal-Pipette und überträgt je 20 μ l analog der Verdünnungsplatte auf die Testplatte (nach G2-10). Daraus ergibt sich eine Testkonzentration von

1×10^{-10} M (20 μ l Verdünnung + 180 μ l). Mit den übrigen Reihen (B-F) wird in gleicher Weise verfahren. In B11-D11 werden anstelle der Substanzverdünnung 20 μ l Medium + 1% DMF pipettiert. Jeweils eine weiße und eine klare Platte werden mit den gleichen Substanzverdünnungen versehen.

Testung auf Antiestrogenität:

Die Bestimmung der Antiestrogenität erfolgt analog der Estrogenitätsbestimmung. Anstelle von 80 μ l DMEM + 5% ct-FCS werden in alle 60 Löcher zusätzlich zur Testsubstanz 80 μ l einer 2.5×10^{-9} M E2-Lösung in DMEM + 5% ct-FCS zugegeben. Daraus ergibt sich in allen Wells eine E2-Konzentration von 1×10^{-9} M. Die Positiv- und Negativkontrollen werden in Analogie zur Estrogenitätsbestimmung pipettiert.

Nach vollendeter Substanzzugabe werden die Platten 50 h im Brutschrank inkubiert.

11.2.2.2.4 Aufarbeitung - Messung der Lumineszenz

Die weißen Platten werden abgesaugt und in die inneren 60 Löcher werden 50 μ l Zelllysis-Puffer pipettiert. Die Platten werden 30 Minuten bei 600 ppm geschüttelt. Im Anschluss werden die 96-Loch-Platten nach automatischer Injektion des Luciferase-Assay-Reagenzes (50 μ l pro Well) in einem Luminometer vermessen. Die Messung des emittierten Lichts erfolgt 2 Sekunden nach erfolgter Reagenzzugabe, für 10 Sekunden. Die Angabe der detektierten Lichtmenge erfolgt in RLU („relative light units“).

11.2.2.2.5 Bestimmung der Zellmasse (Kristallviolett)

Die klaren Platten werden zum Zeitpunkt der Aufarbeitung abgesaugt und wie in Kapitel 11.2.2.3.3 abgestoppt und die Zellmasse wie in Kapitel 11.2.2.3.4 beschrieben ermittelt.

11.2.2.2.6 Auswertung

Um verschiedene Testergebnisse miteinander vergleichen zu können, werden die ermittelten Werte als relative Luciferase-Aktivität angegeben. Dabei wird die Aktivität einer 10^{-9} M E2-Lösung gleich 100% gesetzt und der Lösungsmittelwert gleich 0% gesetzt. Die RLU-Werte werden auf die relativen Zellmassen bezogen und um den Lösungsmittelwert korrigiert.

11.2.2.3 Zytotoxizitätstest

Die Bestimmung der Zytotoxizität der neu synthetisierten Verbindungen wird an der hormonabhängigen MCF-7 Zelllinie und der hormonunabhängigen MDA-MB 231 Zelllinie durchgeführt. Der zeitabhängige Verlauf der Zellproliferation wird für eine Substanz in jeweils drei Verdünnungen bestimmt. Die im Anschluss beschriebene Arbeitsvorschrift ermöglicht die parallele Testung von vier Substanzen sowie Cisplatin als Kontrolle in drei Verdünnungen und als 16-fache Bestimmung.

11.2.2.3.1 Anzucht und Aussaat der Zellen

Die Passage der Zellen erfolgt wie unter Kapitel 11.2.2.1.2 beschrieben. Bei Erreichen von 80% eines konfluenten Zellrasens werden die Zellen trypsinisiert. Die Zellzahl wird wie unter Kapitel 11.2.2.1.4 beschrieben, ermittelt. 16×10^5 MCF-7 Zellen bzw. 9.6×10^5 MDA-MB 231 Zellen werden für die Aussaat in 16 96-Loch-Platten in 220 ml EMEM bzw. McCoy's 5A Medium suspendiert und mäßig gerührt. Mit einer 8-Kanal-Pipette werden die Wells der 96-Loch Platte mit je 100 μ l der Zellsuspension beschickt. Im Anschluss erfolgt die Inkubation der Kulturplatten für 72 h (MCF-7 Zellen) bzw. 48 h (MDA-MB 231 Zellen).

11.2.2.3.2 Substanzzugabe

Nach der in Kapitel 11.2.2.3.1 angegebenen Inkubationszeit erfolgt die Substanzzugabe. Dazu werden 10 mM Stammlösungen der Testsubstanzen in DMF hergestellt. Ausgehend von diesen Stammlösungen werden 5 mM und 1 mM Verdünnungen in DMF hergestellt. Für Cisplatin als Kontrolle werden aus einer 5 mM Stammlösung eine 1 mM und eine 0.5 mM Verdünnung hergestellt. Vor der Substanzzugabe werden 20 μ l der jeweiligen Verdünnungsstufe nochmals mit 20 ml Medium 1:1000 verdünnt. Daraus ergeben sich Testkonzentrationen von 10 μ M, 5 μ M und 1 μ M für die zu untersuchenden Verbindungen bzw. von 5 μ M, 1 μ M und 0.5 μ M für Cisplatin. Das Medium wird aus den Kulturplatten abgesaugt und 200 μ l Substanzverdünnung pro Well mit einer 8-Kanal-Pipette auf die Zellen gegeben. Die Blindwertbestimmung erfolgt pro Platte durch Bestückung von 16 Löchern mit einer 0.1%-igen Lösung von DMF in Medium. Zur Bestimmung von fünf Messzeitpunkten wird jede Platte in 5-facher Ausfertigung pipettiert. Nach vollendeter Substanzzugabe werden die Kulturplatten im Brutschrank inkubiert. Zur Ermittlung der initialen Zelldichte (c_0 -Wert) zum Zeitpunkt t_0 wird eine Platte unmittelbar nach der Substanzzugabe wie unter 11.2.2.3.3 beschrieben behandelt.

11.2.2.3.3 Aufnahme der Messpunkte (Abstoppen)

Nach fünf verschiedenen Inkubationszeiten wird das Wachstum der Zellen abgestoppt (MCF-7: 3, 5, 6, 7, 10 Tage nach der Substanzzugabe, MDA-MB 231: 2, 3, 4, 6, 7 Tage nach der Substanzzugabe). Das Medium wird aus den Wells abgesaugt und die am Boden haftenden Zellen mit 100 μ l einer 1%-igen Lösung Glutardialdehyd in PBS fixiert. Nach 20 Minuten bei Raumtemperatur wird die Glutardialdehydlösung abgeschüttelt. Die Zellen werden mit je 180 μ l PBS überschichtet und können so bei 4°C bis zum Versuchsende aufbewahrt werden.

11.2.2.3.4 Bestimmung der Zellmasse im Kristallviolett-Assay

Alle 96-Loch-Platten eines Tests werden gemeinsam aufgearbeitet. Das PBS wird von den Platten abgeschüttelt und je 100 μl einer 0.02%-igen Kristallviolettlösung pro Well zupipettiert. Nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten wird das Kristallviolett abgeschüttelt und die Platten zweimal mit Wasser gewaschen. Die Platten werden, mit Wasser überschichtet, wiederum 15 Minuten stehen gelassen. Dann wird das Wasser abgeschüttelt und die Platten auf Zellstoff gut ausgeklopft. Auch die Platten- deckel werden abgetrocknet. Die Extraktion des Farbstoffs aus den Zellen erfolgt durch Zugabe von je 180 μl 70%-igen Ethanol pro Well und 3-stündigem Schütteln bei Raumtemperatur. Die Extinktion der ethanolischen Lösung wird bei 590 nm mit einem Plattenreader gemessen. Für jede Substanzverdünnung werden der Mittelwert und die Standardabweichung aus den 16 Einzelwerten pro Zeitpunkt ermittelt. Der c_0 -Wert ergibt sich aus dem Mittelwert von 96 Einzelwerten. Die relative prozentuale Wachstumshemmung (T/C_{korrr}) wird wie in Kapitel 9.1.2 beschrieben, berechnet.

11.2.2.4 Mikroskopische Zellbeobachtungen

Die MCF-7 Zellen werden wie unter Kapitel 11.2.2.1.2 beschrieben passagiert. Pro Well werden 16×10^4 MCF-7 Zellen in 2 ml Medium in eine 6-Loch-Platte pipettiert und die Zellen bis zur Substanzzugabe 72 h inkubiert. Das überstehende Medium wird abgesaugt und durch 2 ml der Substanzverdünnung (in EMEM + 10% FCS) ersetzt, so dass eine Testkonzentration von 10 μM erhalten wird. In 3 Wells wird neues Medium ohne Substanz gegeben. Sie dienen als Vergleich für normal wachsende MCF-7 Zellen. Die Kulturplatten werden weiter inkubiert und können zu gewünschten Zeiten unter Verwendung eines Inversmikroskopes betrachtet werden. Zu Beginn erfolgt die visuelle Beobachtung stündlich. Da keine Veränderungen auftraten, wurden die weiteren Aufnahmen erst nach 24, 48 und 72 h gemacht.

11.2.2.5 Zellaufnahme von 1*H*-Benzimidazolen

11.2.2.5.1 Zellaussaat und Substanzzugabe

Die MCF-7 Zellen werden wie unter 11.2.2.1.2 beschrieben passagiert. Zur Bestimmung der Zellaufnahme einer Verbindung werden 16×10^4 MCF-7 Zellen in 2 ml Medium (EMEM + 10% FCS) pro Well in zwei 6-Loch-Platten ausgesät und die Zellen 5 Tage bei 37°C und 5% Stickstoff inkubiert. Aus einer 10^{-2} mM Substanz-Stammlösung in Methanol wird eine 10 µM Verdünnung in FCS-freiem Medium hergestellt. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird das Medium aus den Platten abgesaugt und je 3 Wells einer Platte mit 2 ml Substanzverdünnung versetzt. Die restlichen 6 Wells verbleiben zur Bestimmung der Kalibriergerade ohne Substanz (+ 2 ml FCS-freies Medium). Nach weiterer Inkubation für 24 h erfolgt die Probenaufbereitung.

11.2.2.5.2 Probenaufbereitung

Nach 6 und 24 h wird das Medium abgesaugt, die Zellen mit je 1 ml eiskaltem PBS gewaschen und im Anschluss mit 0.2 ml Trypsin pro Well vom Boden der 6-Loch-Platten abgelöst (Kap. 11.2.2.1.2). Dann werden die Zellen mit je 1 ml FCS-haltigem Medium aufgenommen, durch mehrmaliges Ansaugen und Ausstoßen mit einer Pipette vereinzelt, in ein Eppendorfcup überführt und abzentrifugiert (5 Minuten, 2000 cm^{-1} , 4°C). Der Überstand wird verworfen. Durch 2-maliges resuspendieren in eiskaltem PBS (1 ml) und anschließendem abzentrifugieren erhält man die zu vermessenden Zellpellets, die bis zur weiteren Vermessung im Tiefkühlschrank gelagert werden können.

11.2.2.5.3 Fluorimetrische Vermessung der Proben

Vor der Messung werden die Zellpellets in je 400 µl einer 0.1%-igen Natriumdodecylsulfat-Lösung (SDS) in Wasser resuspendiert und anschließend mit einer Sonotrode lysiert. Je 300 µl der Zellsuspensionen werden mit 100 µl Methanol verdünnt. Die

aufbereiteten Zellproben werden unmittelbar nach der Ultraschallbehandlung bei einer Anregungswellenlänge von 300 nm fluorimetrisch vermessen. Das Maximum der Fluoreszenzintensität bei 490 nm wird ermittelt.

11.2.2.5.4 Bestimmung des Proteingehaltes nach Bradford

Je 25 μl der lysierten Zellsuspensionen (Kap. 11.2.2.5.3) werden mit 225 μl bidestilliertem Wasser verdünnt. Jeweils 100 μl werden in Einwegküvetten mit 1.0 ml Bradford-Reagenz (1:5) versetzt. Nach 30 Minuten erfolgt die photometrische Vermessung bei 595 nm. Jeder Wert wird doppelt bestimmt.

Kalibriergerade:

Aus BSA (bovine serum albumine) wird ein Urstamm eingewogen (40 mg/ml H_2O). Aus diesem Urstamm wird eine Verdünnung von 1 mg/ml H_2O hergestellt (Arbeitsstammlösung A_s). Hiermit werden folgende Verdünnungen hergestellt:

Konz. $\mu\text{g} / \mu\text{l}$	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
A_s [μl]	0	10	20	30	40	60	80	100	120
SDS [μM]	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Wasser [μM]	900	890	880	870	860	840	820	800	780

Tab. 24: Verdünnungsreihe für die Kalibriergerade der Bradford-Bestimmung.

Von den jeweils hergestellten Verdünnungen wurden 100 μl in Einwegküvetten pipettiert und ein Milliliter frisch zubereitetes Bradford-Reagenz dazugegeben. Die Messung erfolgt wie oben beschrieben. Die Mittelwerte der gemessenen Extinktionen werden gegen die Proteinkonzentration aufgetragen. Anhand der Kalibriergeraden lässt sich der Proteingehalt der einzelnen Proben bestimmen.

11.2.2.5.5 Ermittlung der intrazellulären Konzentration von 1*H*-Benzimidazolen

Die verbleibenden sechs resuspendierten Zellpellets (Kap. 11.2.2.5.3) werden für die Erstellung der Kalibriergeraden verwendet. Dazu werden Substanzkonzentrationen von 0, 75, 150, 300, 500 und 750 nM in der Zellsuspension hergestellt. Diese Proben werden fluorimetrisch vermessen. Die erhaltenen Fluoreszenzwerte, einschließlich der Blindprobe werden auf die entsprechenden Proteinkonzentrationen bezogen und als Funktion der Substanzkonzentration aufgetragen. Durch lineare Regression wird die Geradengleichung der Kalibriergerade ermittelt und die Konzentration des Benzimidazols in der Probe nach 6 bzw. 24 h errechnet.

Die Berechnung der intrazellulären Konzentration erfolgt aus der Umrechnung der Substanzkonzentration pro Zellproteinkonzentration der Messlösung [$\mu\text{mol}/\mu\text{g}$] in die Substanzkonzentration pro Zellvolumen [μM]. Das Verhältnis von Zellprotein zu Zellvolumen ergibt sich zu $8.85 \text{ pl} / \text{ng}$ ^[256].

$$C_{\text{intrazellular}} (\mu\text{M}) = (\mu\text{mol} / \mu\text{g} * 1000) / 8.85$$

Der Anreicherungsgrad der Substanz in der Zelle ergibt sich aus dem Verhältnis der Konzentration in der Zelle zur Konzentration im Extrazellulärmedium (10 μM).

11.2.2.6 DNA-Bindungsstudie

11.2.2.6.1 Phosphatpuffer

1.0 mM Na_2HPO_4 (M = 141.96)

1.0 mM KH_2PO_4 (M = 136.09)

4.0 mM NaCl (M = 58.44)

in Aqua bidest lösen und mit einer 0.1 M NaOH den pH-Wert von 7.3 (25°C) einstellen.

11.2.2.6.2 DNA-Stammlösung

5.0 mg Kalbsthymus-DNA ($\epsilon_{260} = 6600 \text{ cm}^{-1}$; 1 mg $\sim 20 A_{260}$ -Einheiten) werden in 10 ml Phosphatpuffer gelöst.

11.2.2.6.3 Substanz-Stammlösung

Konzentration der Substanzlösung: 500 μM in Phosphatpuffer.

11.2.2.6.4 Messlösung

Die Konzentration der DNA wird mit Phosphatpuffer so eingestellt, dass 1 ml reine DNA-Lösung zu einer Absorption von 0.8 führt (120 μM Basenpaare). Die Zugabe der Testverbindung erfolgt unter Einstellung eines Substanz/DNA-Verhältnisses von 0.4. Das Messvolumen beträgt 2 ml.

11.2.2.6.5 Referenzlösung

2 ml 1 mM Phosphatpuffer (pH = 7.3).

11.2.2.6.6 Durchführung der Messung

Die Messung erfolgt in einem UV/VIS-Spektrometer, bestehend aus einem wasserummantelten Küvettenhalter und einem Wasserbad, dessen Temperatur über einen Thermostaten geregelt werden kann. Für die Aufnahme einer Schmelzkurve wird die Temperatur in einem Bereich von 30 bis 90°C schrittweise (0.5°C/min) hoch geheizt. Nach dem Erreichen der jeweiligen Messtemperatur wird noch 90 Sekunden gewartet, damit auch in der Messlösung die Temperatur des Heizbades erreicht wird. Die Messung der Extinktion erfolgt relativ zum Referenzpuffer bei einer Wellenlänge von 260 nm. Um die Bindung der zu untersuchenden Substanz an die DNA zu

ermöglichen, wird die Probe in einer 2 ml Quarzküvette (Schichtdicke 1.0 cm) sechs Minuten bei 30°C inkubiert.

Durch Auftragen der Absorption gegen die Temperatur wird die Schmelzkurve erhalten. Die Anfangsabsorption entspricht einer Denaturierung von 0%, die maximale Absorption einer Denaturierung von 100%. Das Ablesen der Schmelztemperatur T_m erfolgt bei der halbmaximalen Hyperchromie. Die Hyperchromie errechnet sich aus der Absorptionsdifferenz der beiden Plateaus der Schmelzkurve dividiert durch die Absorption des niedrigeren Plateaus.

11.2.2.7 Adenosinrezeptor-Bindungsstudien

Die nachfolgenden Arbeiten wurden von Frau Dr. Anke Schiedel (AK Prof. Müller) am Pharmazeutischen Institut in Bonn-Poppelsdorf durchgeführt. Die Affinität der zu testenden Verbindungen wurde unter Anwendung eines kompetitiven Bindungsassays mit [³H]-CCPA (A₁-AR), [³H]-MSX-2 (A_{2a}-AR) und [³H]-PSB-11 (A₃-AR) bestimmt (Tab. 25-27). Die Testsubstanzen konkurrieren mit dem jeweiligen Radioliganden um die Bindung am Rezeptor. Mit steigender Affinität der Testsubstanz erniedrigt sich der verbleibende Anteil des Radioliganden am Rezeptor und damit die gemessene Radioaktivität. Die Konzentration der Testsubstanzen beträgt 10 µM. Jeder Test wird, bei Dreifachbestimmung der Einzelwerte, 3x wiederholt.

Radioligand-Bindungsassay mit [³ H]-CCPA am A ₁ -AR	
50 µl	Tris/DMSO (90:10) zur Bestimmung der totalen Bindung oder CADO zur Bestimmung der unspezifischen Bindung (10 µM) oder Testverbindung in Tris/DMSO (90:10), (10 µM)
50 µl	Radioligand [³ H]-CCPA (1 nM) in 50 mM Tris-Puffer, pH 7.4
100 µl	Proteinsuspension Ratten-Cortex (30 µg/ml) in 50 mM Tris-Puffer, pH 7.4
200 µl	Inkubation mit 0.12 I.U. Adenosindeaminase, 15 min
	Gesamtvolumen

Tab. 25: Pipettierschema des A₁-AR-Radioligand-Bindungsassays.

Inkubationszeit: 30 Minuten bei 23°C.

Radioligand-Bindungsassay mit [³ H]-MSX am A _{2a} -AR	
50 µl	Tris/DMSO (90:10) zur Bestimmung der totalen Bindung oder NECA zur Bestimmung der unspezifischen Bindung (50 µM) oder Testverbindung in Tris/DMSO (90:10), (10 µM)
50 µl	Radioligand [³ H]-MSX (1 nM) in 50 mM Tris-Puffer, pH 7.4
100 µl	Proteinsuspension Ratten-Striatum (30 µg/ml) in 50 mM Tris-Puffer, pH 7.4 Inkubation mit 0.12 I.U. Adenosindeaminase, 15 min
200 µl	Gesamtvolumen

Tab. 26: Pipettierschema des A_{2a}-AR-Radioligand-Bindungsassays.

Inkubationszeit: 30 Minuten bei 23°C.

Radioliganden-Bindungsassay mit [³ H]-PSB-11 am A ₃ -AR	
50 µl	Tris/DMSO (90:10) zur Bestimmung der totalen Bindung oder R-PIA zur Bestimmung der unspezifischen Bindung (100 µM) oder Testverbindung in Tris/DMSO (90:10), (10 µM)
50 µl	Radioligand [³ H]-MSX (1 nM) in 50 mM Tris-Puffer, pH 7.4
100 µl	Mit A ₃ -AR stabil transfizierte CHO-Zellen Inkubation mit 0.12 I.U. Adenosindeaminase, 15 min
200 µl	Gesamtvolumen

Tab. 27: Pipettierschema des A₃-AR-Radioligand-Bindungsassays.

Inkubationszeit: 60 Minuten bei 23°C.

Nach der jeweils angegebenen Inkubationszeit werden die 96-Loch-Platten, die die Testsubstanzen enthalten, filtriert. Die Filter werden 3x mit eiskaltem Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) gewaschen. Die Messung der Radioaktivität auf dem Filter wird mit einem „Topcount Mikroplate Scintillations- and Luminescence Counter“ gemessen. Zuvor werden die Filter mit je 50 µl eines „Microscint 20 Szintillationscocktail“ versetzt und 10 h inkubiert.

Die Bestimmung des K_i-Wertes der Verbindung **57b** (als Isomerengemisch) am A₁-AR wurde ebenfalls von Frau Dr. Anke Schiedel am Pharmazeutischen Institut in Bonn-Poppelsdorf durchgeführt.

11.3 Aufnahme der UV- und Fluoreszenzspektren

11.3.1 Geräte

Fluoreszenzspektroskopie: Fluorimeter F4500 (Hitachi)

UV-Spektroskopie: Flashscan S12 (Analytikjena AG)

11.3.2 Aufnahme der UV-Spektren

Die UV-Spektren werden mit einem Mikroplattenspektralphotometer in einem Wellenlängenbereich von 225-400 nm unter Verwendung von 96-Well-UV-Platten aufgenommen. Für die untersuchten Verbindungen werden die Spektren in Methanol, PBS (pH 7.3), 0.1 M HCl und 0.1 M NaOH gemessen. Aus einer 1×10^{-2} M Stammlösung der Testsubstanz in Methanol wird eine 1×10^{-3} M Verdünnung hergestellt. Die weitere Verdünnung auf eine Substanzkonzentration von 1×10^{-4} M erfolgt mit dem entsprechenden Untersuchungsmedium. Jeweils 200 μ l der Substanzverdünnungen werden pro Well pipettiert und die Platte im Anschluss vermessen.

11.3.3 Aufnahme der Fluoreszenzspektren

Für die Aufnahme der Fluoreszenzspektren werden die entsprechenden Verdünnungen wie unter 11.3.2 beschrieben aus einer 1×10^{-2} M Stammlösung hergestellt. Die Messungen werden mit einer Scangeschwindigkeit von 240 nm/min (2D) bzw. 1200 nm/min (3D) und einem Excitations- bzw. Emissionsspalt von je 5.0 nm durchgeführt.

Für die Untersuchung der Substanzwechselwirkung mit DNA bzw. Protein werden 1 μ M Lösungen in 0.1%-iger DNA (1 mg/ml)- bzw. HSA-Lösung (1 mg/ml) vermessen.