

Organisch-Chemisches Institut

**Synthese Target-spezifischer  
und aktivierbarer Sonden  
für die molekulare Bildgebung**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie und Pharmazie

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Vorgelegt von

**Mohammad-Reza Pourkhehssalian**

aus Wuppertal

Münster, Juni 2017

# Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1	Molekulare Bildgebung .....	1
1.1.1	Bildgebende Verfahren .....	1
1.1.2	Fluoreszenzbildgebung im Nahinfrarot-Bereich.....	3
1.2	Fluoreszenz.....	6
1.2.1	Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET).....	7
1.3	Kontrastmittel für die optische Bildgebung.....	9
1.4	Molekulare Targets für die Bildgebung.....	10
1.5	Angiogenese .....	11
1.6	Der Endothelin-A-Rezeptor.....	11
1.7	ET <sub>A</sub> Rezeptor Antagonisten.....	13
1.8	Matrix-Metalloproteinasen .....	16
1.8.1	Aufbau von Matrix-Metalloproteinasen.....	16
1.9	Cathepsine .....	19
1.10	Peptidsynthese .....	21
1.10.1	Peptidsynthese in Lösung.....	21
1.10.2	Festphasenpeptidsynthese (SPPS).....	22
1.10.3	Schutzgruppen.....	23
1.10.4	Boc- und Fmoc-Schutzgruppenstrategie bei der SPPS .....	24
2	Aufgabenstellung .....	25
3	Allgemeiner Teil .....	26
3.1	Syntheseplanung der molekularen Sonden.....	26
3.1.1	Festphasenpeptidsynthese .....	30
3.1.2	Modifizierung des C-Terminus .....	33
3.1.3	Modifizierung des N-Terminus für die an ET <sub>A</sub> R bindende Sonde .....	35
3.1.4	Modifikation der Lysin Seitenkette für die an ET <sub>A</sub> R bindende Sonde .....	37
3.1.5	Modifizierung des N-Terminus für die Albumin affine Sonde.....	38
3.1.6	Modifikation der Lysin Seitenkette für die Albumin affine Sonde.....	39
3.2	Reduktion der Hemiketalfunktion .....	41
3.3	Syntheseplanung neuer Endothelin-Rezeptor-Antagonisten .....	43
3.3.1	Synthese der Oxazinon-Derivate.....	44
3.3.2	Synthese der Lactam-Derivate .....	46

3.3.3	Synthese der Pyridazin-Derivate.....	47
3.3.4	Syntheseplanung zur Darstellung weiterer Pyridazine.....	49
3.3.5	Darstellung der $\gamma$ -Ketomethylester.....	49
3.3.6	Darstellung neuer Butenolid-Derivate .....	55
3.3.7	Darstellung neuer Pyridazin-Derivate.....	60
3.4	MMP-2 Hydrolyse der ET <sub>A</sub> R Sonde .....	66
3.5	<i>In vitro</i> Zellbindungs-Assays.....	67
3.6	Agarose-Gelelektrophorese der Sonden-Fragmente.....	69
4	Zusammenfassung und Ausblick .....	71
5	Experimenteller Teil .....	77
5.1	Messgeräte und Methoden.....	77
5.1.1	Ausbeutenangabe .....	77
5.1.2	Schmelzpunktbestimmung .....	77
5.1.3	Dünnschichtchromatographie.....	77
5.1.4	Säulenchromatographie.....	77
5.1.5	HPLC-Auftrennung und Analyse.....	78
5.1.6	Massenspektrometrie.....	80
5.1.7	NMR Spektroskopie.....	81
5.1.8	Chemikalien und Lösungsmittel.....	82
5.1.9	<i>In vitro</i> MMP Hydrolyse der ET <sub>A</sub> R Sonde .....	82
5.1.10	<i>In vitro</i> Bindungsstudien an humanen Krebszelllinien .....	83
5.1.11	<i>In vitro</i> Agarose-Gelelektrophorese .....	84
5.2	Syntheseprotokolle und Arbeitsvorschriften .....	86
5.2.1	Standardprotokoll für SPPS .....	86
5.2.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften .....	87
5.3	Synthesen.....	89
5.3.1	Darstellung des Oktapeptids Fmoc-Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(Boc)-OH (1).....	89
5.3.2	Darstellung des Oktapeptids Fmoc-Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(Boc)-OH (1) mit 2Cl-Trt-Harz .....	91
5.3.3	Darstellung des Peptids Fmoc-Gly-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-His(Boc)-Lys(Boc)-Val-Ser(O <sup>t</sup> Bu)-Val-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Alloc)-OH (2) .....	92

5.3.4	Darstellung von Fmoc- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(Boc)</i> -4-[3-(2-[2-(2-amino-ethoxy)ethoxy]ethoxy)ethoxy)-4,5-dimethoxybenzyl]-3-(1,3-enzodioxol-5-yl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (4).....	93
5.3.5	Darstellung von H- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(Boc)</i> -4-{3-[2-(2-[2-aminoethoxy]ethoxy)ethoxy)ethoxy]-4,5-dimethoxybenzyl}-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (7).....	94
5.3.6	Darstellung von QSY®21- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(Boc)</i> -4-{3-[2-(2-[2-aminoethoxy]ethoxy)ethoxy)ethoxy]-4,5-dimethoxybenzyl}-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (8).....	95
5.3.7	Darstellung von QSY®21- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg-Gly-Lys</i> -4-{3-[2-(2-[2-aminoethoxy]ethoxy)ethoxy)ethoxy]-4,5-dimethoxybenzyl}-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (9).....	96
5.3.8	Darstellung von QSY®21- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg-Gly-Lys(Cy5.5)</i> -4-{3-[2-(2-[2-aminoethoxy]ethoxy)ethoxy)ethoxy]-4,5-dimethoxybenzyl}-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (10).....	97
5.3.9	Darstellung von Fmoc- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(boc)-Tyr</i> (4,4-diphenylcyclohexyl)-OH (6).....	98
5.3.10	Darstellung von H- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(boc)-Tyr</i> (4,4-diphenylcyclohexyl)-OH (11).....	99
5.3.11	Darstellung von Cy5.5- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pbf)-Gly-Lys(boc)-Tyr</i> (4,4-diphenylcyclohexyl)-OH (12).....	100
5.3.12	Darstellung von Cy5.5- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg-Gly-Lys-Tyr</i> (4,4-diphenylcyclohexyl)-OH (13).....	101
5.3.13	Darstellung von Cy5.5- <i>Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg-Gly-Lys(QSY®21)-Tyr</i> (4,4-diphenylcyclohexyl)-OH (14).....	102
5.3.14	Darstellung von (2E)-3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-1-(4-chlorphenyl)prop-2-en-1-on (23a).....	104
5.3.15	Darstellung von (2E)-3-(4-Chlorphenyl)-1-(4-chlorphenyl)prop-2-en-1-on (23b).....	104
5.3.16	Darstellung von (2E)-3-(4-Fluorphenyl)-1-(4-chlorphenyl)prop-2-en-1-on (23c).....	105
5.3.17	Darstellung von 2-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(4-chlorphenyl)-4-oxobutannitril (24a).....	106

5.3.18	Darstellung von 2-(4-Chlorphenyl)-4-(4-chlorphenyl)-4-oxobutannitril (24b)	107
5.3.19	Darstellung von 2-(4-Fluorphenyl)-4-(4-chlorphenyl)-4-oxobutannitril (24c)	108
5.3.20	Darstellung von Methyl-2-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-(4-chlorphenyl)-4-oxobutanoat (25a)	109
5.3.21	Darstellung von Methyl-2-(4-chlorphenyl)-4-(4-chlorphenyl)-4-oxobutanoat (25b)	109
5.3.22	Darstellung von Methyl-2-(4-chlorphenyl)-4-(4-chlorphenyl)-4-oxobutanoat (25c)	110
5.3.23	Darstellung von Methyl-2-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-(4-hydroxyphenyl)-4-oxobutanoat (33)	111
5.3.24	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(3,4-dimethoxybenzyl)-5-hydroxy-5-(4-hydroxyphenyl)furan-2(5H)-on (34)	112
5.3.25	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(3,4-dimethoxybenzyl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (30)	113
5.3.26	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (15)	114
5.3.27	Darstellung von 4-{3-[2-(2-{2-[2-Aminoethoxy]ethoxy}ethoxy)ethoxy]-4,5-dimethoxybenzyl}-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (17)	115
5.3.28	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(4-(trifluormethyl)benzyl)-5-hydroxy-5-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on (31)	116
5.3.29	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(3,4-dimethoxybenzyl)-5-hydroxy-5-(4-chlorphenyl)furan-2(5H)-on (26)	117
5.3.30	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(3-chlor-4,5-dimethoxybenzyl)-5-hydroxy-5-(4-chlorphenyl)furan-2(5H)-on (27)	118
5.3.31	Darstellung von 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-(4-(trifluoromethyl)benzyl)-5-hydroxy-5-(4-chlorphenyl)furan-2(5H)-on (28)	119
5.3.32	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyridazin-3-ol (20)	121
5.3.33	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-5-(3,4-dimethoxybenzyl)pyridazin-3-ol (38)	122
5.3.34	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-5-[4-(trifluormethyl)benzyl]pyridazin-3-ol (39)	123

5.3.35	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-hydroxyphenyl)-5-(3,4-dimethoxybenzyl)pyridazin-3-ol (40).....	124
5.3.36	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-hydroxyphenyl)-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyridazin-3-ol (22) .....	125
5.3.37	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-chlorphenyl)-5-(3,4-dimethoxybenzyl)pyridazin-3-ol (35).....	126
5.3.38	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-chlorphenyl)-5-(3-chlor-4,5-dimethoxybenzyl)pyridazin-3-ol (36).....	127
5.3.39	Darstellung von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-6-(4-chlorphenyl)-5-[4-(trifluormethyl)-benzyl]pyridazin-3-ol (37).....	128
6	Literaturverzeichnis .....	130
6.1	Abkürzungsverzeichnis .....	140
6.2	Abkürzungen der Aminosäuren.....	143