

**β -Substituierte γ -Oxosulfone -
Darstellung, kinetische und enzymatische
Untersuchungen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Universität Hamburg
Fachbereich Chemie

vorgelegt von

Christian Hösch

aus Lüneburg

Hamburg 1997

Gutachter: Prof. Dr. P. Messinger

Mitgutachter: Prof. Dr. D. Geffken

Tag der mündlichen Prüfung: 22.12.1997

Für meine Eltern
Sigrid und Fritz Hösch

„Was wir wissen, ist
ein Tropfen.
Was wir nicht wissen -
ein Ozean.“

Isaac
Newton

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Februar 1994 bis November 1997 am Institut für Pharmazie der Universität Hamburg unter der Leitung von

Herrn Professor Dr. P. Messinger

Meinem Doktorvater und Lehrer, Herrn Prof. Dr. P. Messinger, möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, seine Hilfsbereitschaft und seine vorbildliche Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit sehr herzlich danken.

Herrn Professor Dr. D. Geffken

danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Ferner danke ich Frau A. Manke, Frau M. Köthemann, Frau C. Bleeker, Frau C. Menold, Herrn U. Riederer sowie allen, die in irgendeiner Form zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt Sabine für ihre stets ermutigende und liebevolle Unterstützung.

Abkürzungsverzeichnis

A	Absorption
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
aromat.	aromatisch
Ber.	berechnet
Bst.	Bestimmtheitsmaß
c	Konzentration
°C	Grad Celsius
δ	Chemische Verschiebung
Δ	Differenz
DAB	Deutsches Arzneibuch
d	Dublett
dd	Dublett vom Dublett
ddd	dreifaches Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMF	Dimethylformamid
d ₆ -DMSO	Dimethylsulfoxid, deuteriert
DTNB	2,2'-Dinitro-5,5'-dithiodibenzoessäure
ϵ	molarer Absorptionskoeffizient
EDTA	Ethylendinitrilotetraessigsäure
et al.	et alii
Gef.	gefunden
h	Stunde (n)
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
Hrsg.	Herausgeber
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante
k	Geschwindigkeitskonstante
k'	Kapazitätsquotient
Kap.	Kapitel
λ	Wellenlänge
ln	natürlicher Logarithmus
log	dekadischer Logarithmus
Lit.	Literaturzitat
m	Multiplett
M	Molar
max	Maximum

MG	Molekulargewicht
min.	Minute (n)
ml	Milliliter
mmol	Millimol
NAD	β -Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADPH	β -Dihydronicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
n.b.	nicht bestimmt
nm	Nanometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
P	Verteilungskoeffizient
p.A.	pro Analyse
pk	negativer dekadischer Logarithmus von k
ppm	parts per million
q	Quartett
quart.	quartär
R	Rest
RP	Reversed-Phase
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
s.	siehe
S.	Seite
SH	Mercapto
Schmp.	Schmelzpunkt
sec.	Sekunde (n)
s.o.	siehe oben
t	Triplett
t ₀	Totzeit
t _R	Retentionszeit
Tab.	Tabelle
tert.	tertiär
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
Umkrist.	Umkristallisation
TNB	2-Nitro-5-thiobenzoessäure
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche

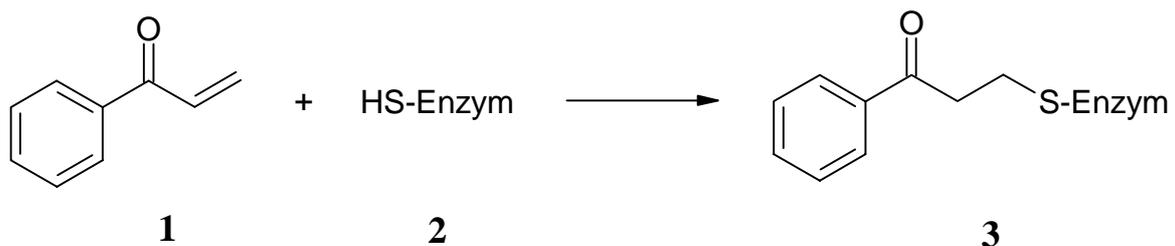
Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	9
2. Synthese β-substituierter γ-Oxosulfone	13
2.1. Darstellung von 1,2-Diphenyl-3-sulfonyl-1-propanonen über 1,2-Diphenyl-2-propen-1-one.....	14
2.2. Darstellung von substituierten 3-Sulfonyl-1-propanonen über 3-Amino-1-propanone	18
2.2.1. Darstellung von 1,2-disubstituierten 3-Sulfonyl-1-propan- onen über 1,2-disubstituierte 3-Amino-1-propanone.....	20
2.3. Darstellung von 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanonen und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-naphthalinonen.....	29
3. Kinetische Untersuchungen zur Reaktivität β-substituierter γ-Oxosulfone	32
3.1. Kinetische Untersuchungen mit Hilfe der UV-VIS-Spektrometrie	34
3.1.1. Bestimmung der Geschwindigkeit des Reaktionsverlaufs mit Ellmans Reagenz	41
3.1.2. Validierung der Meßmethode.....	44
3.1.3. Prinzip der Messungen	50
3.1.4. Bestimmung der Reaktionsordnung und des Zeitgesetzes.....	54
3.1.5. Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten	59
3.1.6. Auswertung der kinetischen Daten.....	64
4. Einfluß β-substituierter γ-Oxosulfone auf die Aktivität von Enzymen	73
4.1. Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase.....	74
4.2. Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase.....	84
4.3. Diskussion der Ergebnisse	91

5. Bestimmung der fungistatischen Wirksamkeit β-substituierter γ-Oxosulfone	95
6. Untersuchungen zur Lipophilie β-substituierter γ-Oxosulfone	103
7. Zusammenfassung	113
8. Summary	116
9. Experimenteller Teil	119
9.1. Verzeichnis der Geräte und Analysenmethoden	119
9.2. Versuche zu Kapitel 2.....	123
9.3. Versuche zu Kapitel 3.....	146
9.4. Versuche zu Kapitel 4.....	157
9.4.1. Versuche zu Abschnitt 4.1.....	157
9.4.1. Versuche zu Abschnitt 4.2.....	165
9.5. Versuche zu Kapitel 6.....	174
10. Literaturverzeichnis	180
11. Anhang: Gefahrstoffe	185

1. Einleitung und Problemstellung

Die antimikrobielle Wirksamkeit von Substanzen mit aktivierten Doppelbindungen ist seit langem bekannt ^{1,2}. Beispielsweise hemmt Acrylophenon **1** das Wachstum von Mikropilzen noch in Konzentrationen unter 1 ppm ³. Wahrscheinlich beruht der Wirkungsmechanismus dieser Verbindungen auf einer Reaktion mit nucleophilen Gruppen von für die Mikroorganismen lebenswichtigen Substraten. So kann z.B. eine Reaktion mit Thiolgruppen in Enzymen **2** zum Anlagerungsprodukt **3** führen, wodurch die Funktionsfähigkeit des Enzyms blockiert wird ^{1,3}:



Der therapeutische Einsatz dieser Substanzen scheitert jedoch oftmals an ihrer hohen Reaktivität: Entweder sind sie zu toxisch oder sie werden durch unspezifische Reaktionen inaktiviert, bevor sie den Wirkort erreicht haben. Eine Möglichkeit, die Reaktivität zu beeinflussen, liegt in der Veränderung pharmakokinetischer Parameter, insbesondere der Resorption und Verteilung dieser Verbindungen, durch die Herstellung einer chemischen Transportform ⁴. Hierdurch kann eventuell auch die Spezifität der Wirkung beeinflusst werden.

Bei α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen bieten sich zwei Ansatzpunkte für die Herstellung von chemischen Transportformen: Der eine Weg besteht in der reversiblen Derivatisierung der Carbonylgruppe, beispielsweise durch

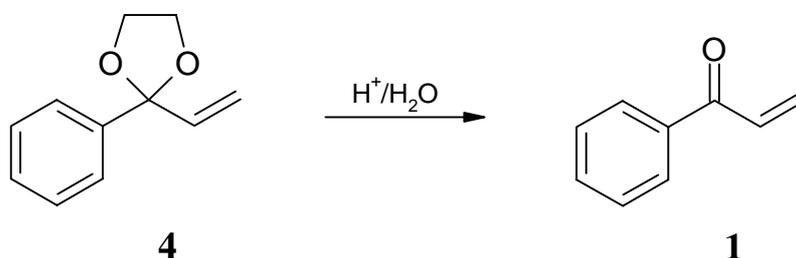
¹ W. B. Geiger, J. E. Conn, *J. Amer. Chem. Soc.* **67**, 112 (1945)

² H. Rinderknecht, J. L. Ward, F. Bergel, A. L. Morrison, *Biochem. J.* **41**, 463 (1947)

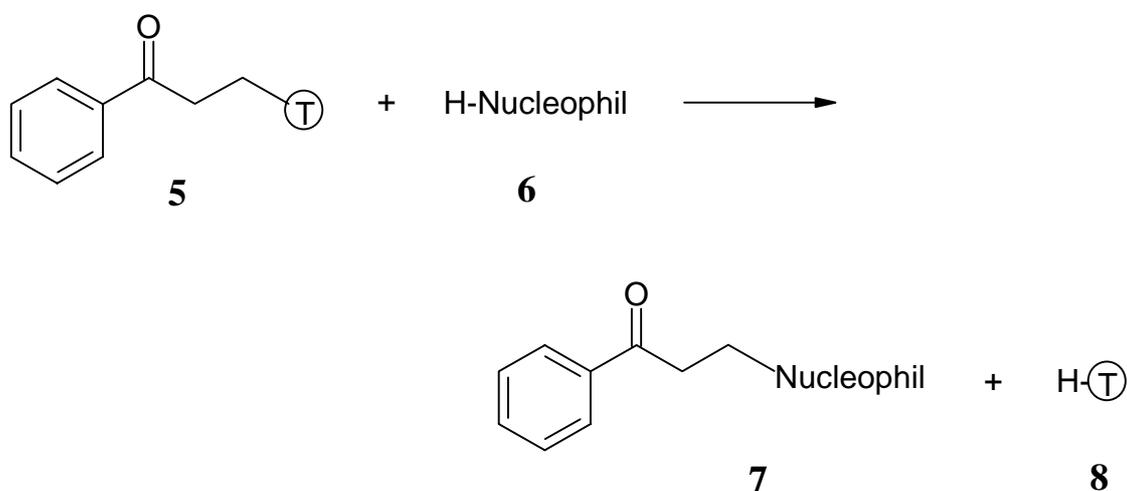
³ W. B. Geiger, *Arch. Biochem. Biophys.* **16**, 423 (1948)

⁴ G. Lambrecht, *Pharmazie heute* Bd. 2, 63 (1977)

Ketalisierung mit Ethylenglykol zum entsprechenden Dioxolan **4**⁵. Im sauren Milieu wird das Ketal gespalten und somit die Wirkform **1** freigesetzt.



Den zweiten Ansatzpunkt bietet die Synthese einer gesättigten Carbonylverbindung **5** mit einem leicht austauschbaren Rest T in β -Stellung. Transportformen dieser Art sind β -Aminoketone⁶ und die in unserem Arbeitskreis untersuchten γ -Oxosulfide⁷, -sulfoxide⁷ und -sulfone^{8,9,10,11}. Sie können mit Nucleophilen unter Eliminierung von Amin⁶ bzw. Mercaptan, Sulfensäure oder Sulfinsäure¹² reagieren:



⁵ J. Gutzmann, Dissertation, Hamburg **1994**

⁶ H. Schönenberger, G. Bastung, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **21**, 68 (1971)

⁷ A. Braun, Dissertation, Hamburg **1991**

⁸ P. Messinger, Habilitationsschrift, Hamburg **1973**

⁹ R. Borchert-Bremer, Dissertation, Hamburg **1980**

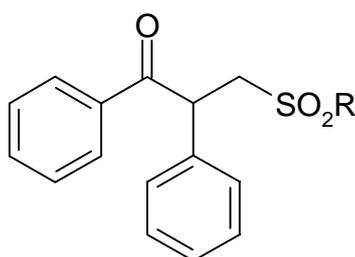
¹⁰ K. Treudler, Dissertation, Hamburg **1980**

¹¹ H. Greve, Dissertation, Hamburg **1976**

¹² P. Messinger, *Pharmazie* **29**, 172 (1974)

Schönenberger et al.^{13,14} beschäftigten sich eingehend mit der antimikrobiellen Wirksamkeit von β -Aminoketonen und stellten fest, daß Mannich-Basen mit der Grundstruktur **5** eine hohe fungistatische Potenz aufweisen. Ein weiterer Phenylrest am C-2 des Propanongrundgerüsts führt zu einer deutlichen Wirkungssteigerung.

Hieraus ergeben sich interessante Aspekte für Optimierungsversuche von γ -Oxosulfonen: Derivate der Grundstruktur **5** zeigen wie die entsprechenden Mannichbasen deutliche Hemmwirkung gegen Mikropilze und Enzyme^{9,10}. Eine systematische Untersuchung von Verbindungen mit einem Phenylrest an C-2 (1,2-Diphenyl-3-sulfonyl-1-propanone **9**) erfolgte bisher nicht, obwohl nach den Ergebnissen von Schönenberger et al. eine gesteigerte Wirksamkeit möglich sein müßte.

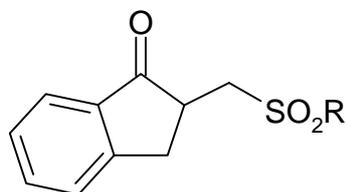
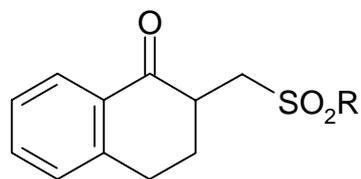
**9**

Darüber hinaus kann durch gezielte Abwandlungen der Grundstruktur **9** die Eignung weiterer in β -Stellung substituierter γ -Oxosulfone als potentielle Leitstrukturen für die Entwicklung germizider Arzneistoffe untersucht werden. Von Interesse sind dabei auch Verbindungen, bei denen durch eine Verbrückung der Substituenten an C-1 und C-2 des Propanongrundgerüsts die Zahl der möglichen Konformationen, die sich durch Rotation entlang der Molekülachse ergeben können, eingeschränkt ist.

¹³ H. Schönenberger, et al., *Pharm. Acta Helv.* **44**, 691 (1969)

¹⁴ H. Schönenberger, T. Bastung, D. Adam, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **19**, 1082 (1969)

Beispiele für solche Substanzen sind 2-(Sulfonylmethyl)-1-indanone **10** und 2-(Sulfonylmethyl)-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **11**.

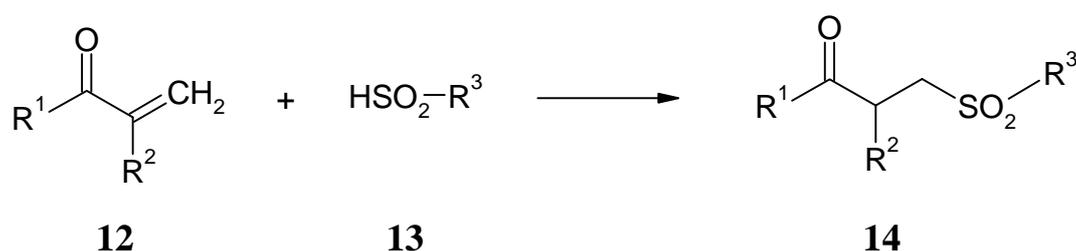
**10****11**

Ziel dieser Arbeit war es, systematisch variierte in β -Stellung substituierte γ -Oxosulfone unter besonderer Berücksichtigung von 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanon-Derivaten darzustellen. Im Hinblick auf eine Eignung als Transportform war ein Meßverfahren zur Bestimmung des Effekts von Strukturvariationen auf die Reaktionsgeschwindigkeit mit einem Nucleophil zu entwickeln. Die Hemmwirkung der dargestellten Verbindungen auf die Aktivität von Enzymen und das Wachstum von Mikropilzen sollte getestet und der Einfluß der Lipophilie auf die biologische Aktivität untersucht werden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen können möglicherweise zur Aufklärung von Struktur-Wirkungsbeziehungen beitragen, um gezielt Substanzen mit verbesserter Wirksamkeit zu entwickeln.

2. Synthese β -substituierter γ -Oxosulfone

Für die Herstellung einfacher 3-Sulfonyl-1-propanone **14** sind mehrere Synthesewege beschrieben. Ein geeignetes Verfahren besteht in der Addition von Sulfinsäure **13** an ein α,β -ungesättigtes Keton **12** ^{15,16}:



Hierbei handelt es sich um eine nucleophile Addition des Sulfinat-Anions an eine durch die Carbonylgruppe polarisierte Doppelbindung, so wie sie auch in analoger Weise z.B. bei der Michael-Addition abläuft; die Anlagerung des Nucleophils erfolgt immer am zur Carbonylgruppe β -ständigen Kohlenstoffatom des ungesättigten Systems ¹⁷.

Während α -unsubstituierte Ketone ($\text{R}^2 = \text{H}$) häufig schon bei Raumtemperatur Sulfinsäure addieren, reagieren substituierte Verbindungen nur unter forcierten Bedingungen und Zusatz basischer Katalysatoren.

¹⁵ E. P. Kohler, M. Reimer, *Amer. Chem. Journ.* **31**, 163 (1904)

¹⁶ P. Messinger, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **306**, 458 (1973)

¹⁷ H. Beyer, W. Walter; *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 20. Aufl., 309, Hirzel Verlag, Stuttgart, **1984**

2.1. Darstellung von 1,2-Diphenyl-3-sulfonyl-1-propanonen über 1,2-Diphenyl-2-propen-1-one

Für meine Untersuchungen waren besonders die Derivate des 1,2-Diphenyl-2-propen-1-ons **16** als Ausgangsverbindungen von Interesse; die Darstellung der in Tabelle **1** zusammengefaßten Verbindungen erfolgte nach einer von Fiesselmann und Ribka¹⁸ beschriebenen Methode durch Umsetzung von 1,2-Diphenylethanonen **15** mit Formaldehyd unter Zusatz einer katalytischen Menge Piperidin:

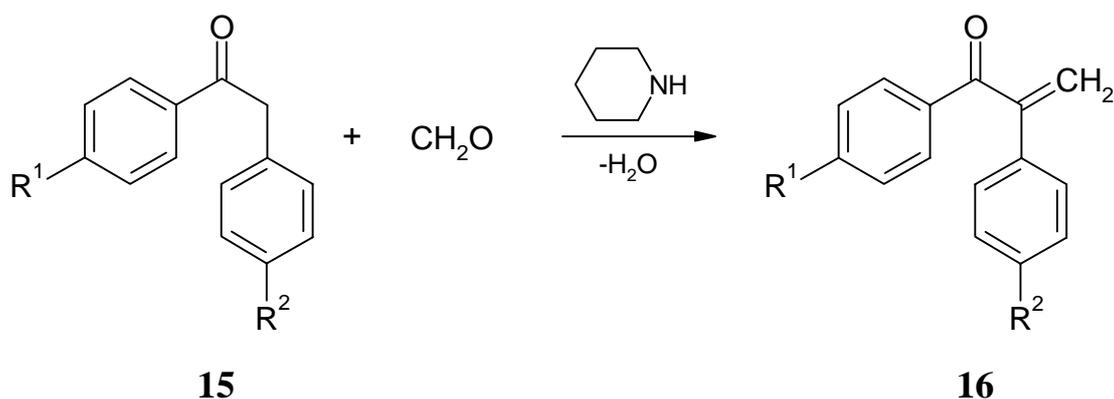


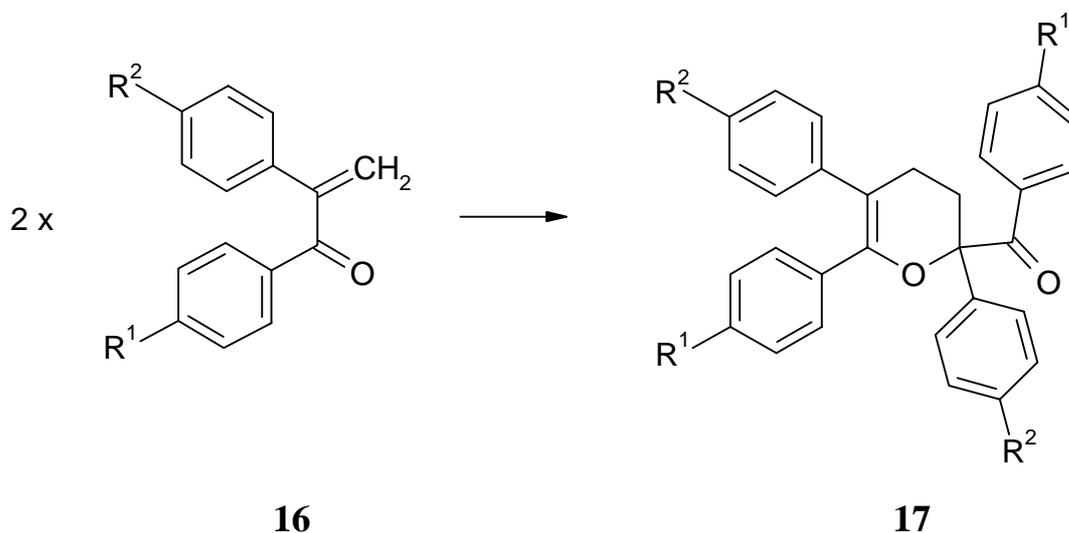
Tabelle 1: Dargestellte 1,2-Diphenyl-2-propen-1-one **16**

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Literatur
16-1	-H	-Cl	18
16-2	-Cl	-H	18
16-3	-H	-OCH ₃	18
16-4	-OCH ₃	-H	18
16-5	-Cl	-Cl	19

¹⁸ H. Fiesselmann, J. Ribka, *Chem. Ber.* **89**, 33 (1956)

¹⁹ R. B. Moffett, J. B. Hester, *J. Med. Chem.* **15**, 1247 (1972)

Ein besonderes Problem bereitete die mangelhafte Stabilität dieser Verbindungen. Durch die hohe Reaktivität der aktivierten Doppelbindung dimerisieren die 1,2-Diphenylpropenone **16** schon bei Raumtemperatur nach Art einer Diene-Reaktion zu 2,3-Dihydropyranderivaten **17**^{20,21}:



Aufgrund der unzureichenden Haltbarkeit erwies sich eine Reindarstellung der in Tabelle **1** beschriebenen Verbindungen als nicht zweckmäßig, sie wurden für jeden Ansatz frisch hergestellt und dann direkt weiter zu den entsprechenden Sulfonen umgesetzt. Eine Ausnahme bildete die Verbindung **16-5**, die gut kristallisiert und sich mehrere Wochen bei Raumtemperatur unverändert aufbewahren ließ.

Die Darstellung der Sulfone **18**^{*} (Tabelle **2**) erfolgte durch Addition der Sulfin-säuren **13** an die 1,2-Diphenylpropenone **16** in siedendem DMF (**18-1** bis **18-3**) bzw. durch Rühren in THF unter Zusatz von N-Ethyl-diisopropylamin (**18-4** bis **18-6**):

* Eine Trennung aller bei den Synthesen anfallenden Enantiomergemische wurde nicht versucht.

²⁰ H. Fiesselmann, J. Ribka, *Chem. Ber.* **89**, 40 (1956)

²¹ R. P. Kopinski, J. T. Pinhey, *Aust. J. Chem.* **36**, 312 (1983)

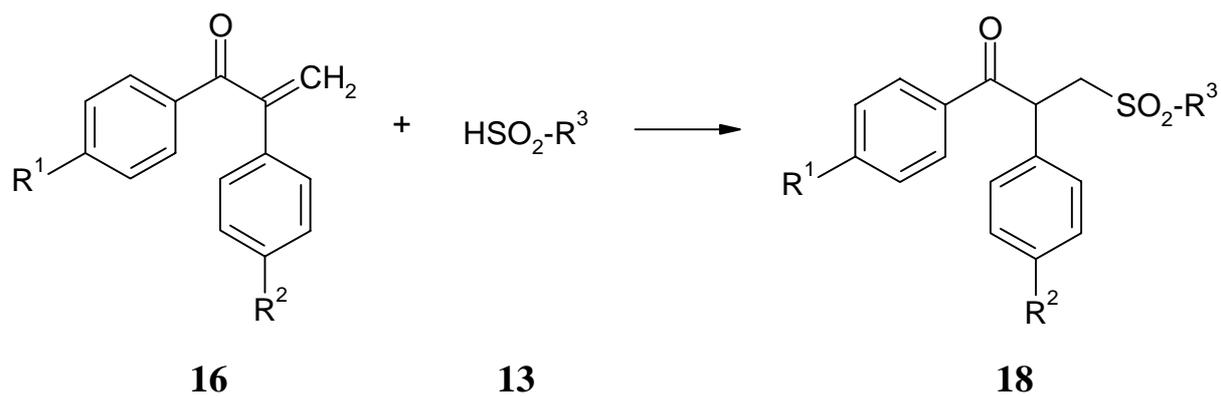
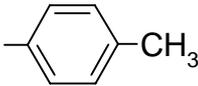
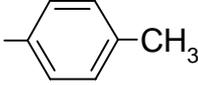
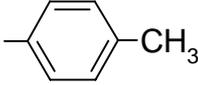
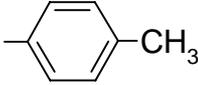
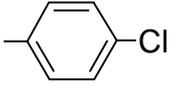


Tabelle 2: Aus 1,2-Diphenylpropenonen dargestellte 1,2-Diphenyl-3-sulfonyl-1-propanone **18**

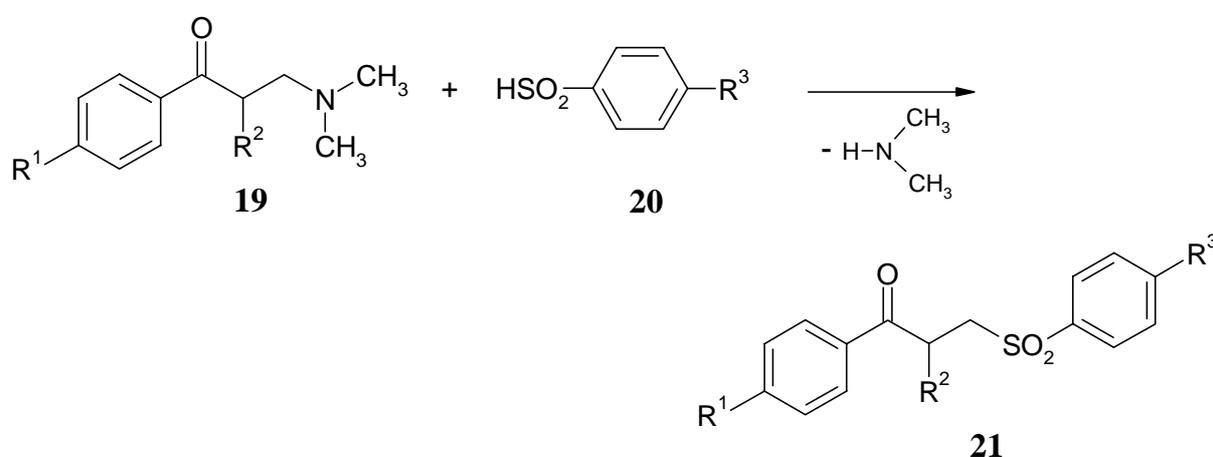
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³
18-1	-H	-Cl	
18-2	-Cl	-H	
18-3	-OCH ₃	-H	
18-4	-Cl	-Cl	
18-5	-Cl	-Cl	
18-6	-H	-H	-CCl ₃

Die Verbindungen **18-1** und **18-6** wurden bereits von Treudler synthetisiert ¹⁰. Die Darstellung der Verbindung **18-3** gelang nur mit sehr schlechter Ausbeute, während bei der Umsetzung des 2-(4-Methoxyphenyl)-1-phenylpropenons **16-3** mit Toluol-4-sulfinsäure kein Sulfon isoliert werden konnte. Einer der Gründe hierfür liegt in den elektronenliefernden Eigenschaften der Methoxygruppe, die einen σ -Hammett-Wert von -0,27 besitzt ²². Die Polarisierung des β -ständigen Kohlenstoffs der Doppelbindung durch die Ketogruppe wird hierdurch herabgesetzt, so daß eine nucleophile Addition durch die Sulfinsäure nicht mehr erfolgen kann.

²² C. Hansch, et al., *J. Med. Chem.* **16**, 1207 (1973)

2.2. Darstellung von substituierten 3-Sulfonyl-1-propanonen über 3-Amino-1-propanone

Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung der 3-Sulfonyl-1-propanone **21** bietet die Kondensation von 3-Amino-1-propanonen **19** mit Arensulfinsäuren **20**, wobei Amin eliminiert wird:



Hansen und Hammer²³ setzten die Mannich-Basen als quartäre Salze ein, was den Vorteil bietet, daß eine Hofmann-Eliminierung der Ammoniumgruppe unter Bildung einer Doppelbindung ermöglicht wird und die Rückreaktion zum β -Aminoketon aufgrund des entstehenden tertiären Amins nicht möglich ist.

Messinger²⁴ zeigte, daß die Verwendung der Methoiodide nicht notwendig ist, wenn die eingesetzten Mannich-Basen leicht Amin eliminieren können. Dies ist dann der Fall, wenn sich in β -Stellung zum Amin-Stickstoff noch mindestens ein bewegliches Wasserstoffatom befindet.

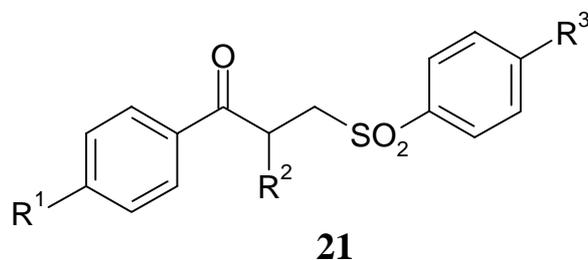
²³ O. R. Hansen, R. Hammer, *Acta Chem. Scand.* **7**, 1331 (1953)

²⁴ P. Messinger, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **306**, 603 (1973)

Man setzt direkt die Mannich-Basen als Hydrochloride - wie sie in der Regel bei der Synthese anfallen - mit den Natrium-Salzen der Sulfinssäuren, die wesentlich stabiler als die freien Säuren sind ^{25•26•27•28}, zu entsprechenden Sulfonylen um.

Diese Reaktion läuft besonders gut ab, wenn die eingesetzten Mannich-Basen in der β -Stellung zum Amin-Stickstoff über zwei bewegliche Wasserstoffatome verfügen. Bereits beim Erwärmen der Edukte in wässriger Lösung kommt es unter Trübung zu einer Freisetzung von Amin, die γ -Oxosulfone fallen beim Abkühlen in hoher Reinheit aus. Auf diese Weise habe ich aus 3-Dimethylamino-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid die schon bekannten Verbindungen **21-1** und **21-2** dargestellt.

Tabelle 3: 1-Phenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone **21**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Literatur
21-1	-H	-H	-CH ₃	23
21-2	-H	-H	-Cl	23

²⁵ E. Krauthausen in: *Methoden der Organischen Chemie* (Houben-Weyl-Müller), 4. Aufl., Bd. E11, 618, Thieme-Verlag, Stuttgart, **1985**

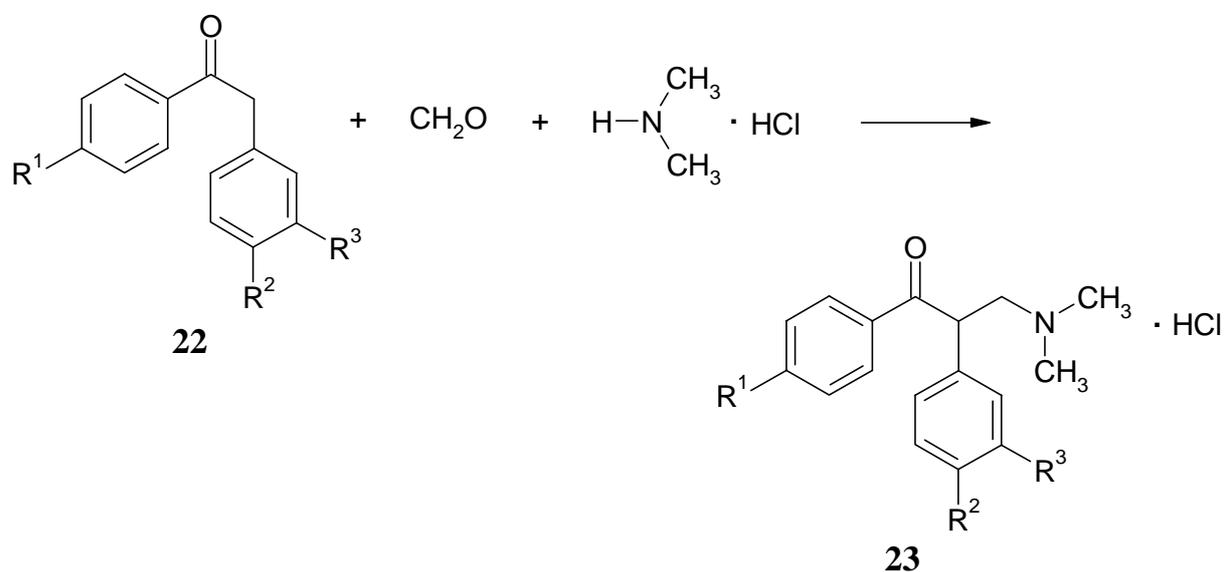
²⁶ B. Lindberg, *Acta. Chem. Scand.* **17**, 377 (1963)

²⁷ J. L. Kice, G. Guaraldi, C. G. Venier, *J. Org. Chem.* **31**, 3561 (1966)

²⁸ H. Brederbeck, E. Bäder, *Chem. Ber.* **87**, 129 (1954)

2.2.1. Darstellung von 1,2-disubstituierten 3-Sulfonyl-1-propanonen über 1,2-disubstituierte 3-Amino-1-propanone

Die Synthese der als Ausgangsverbindungen dienenden 1,2-disubstituierten 3-Amino-1-propanone erfolgte über eine klassische Mannich-Reaktion ^{29,30} durch Umsetzung der Desoxybenzoin-Derivate **22** mit Formaldehyd und Dimethylammoniumchlorid in Ethanol:

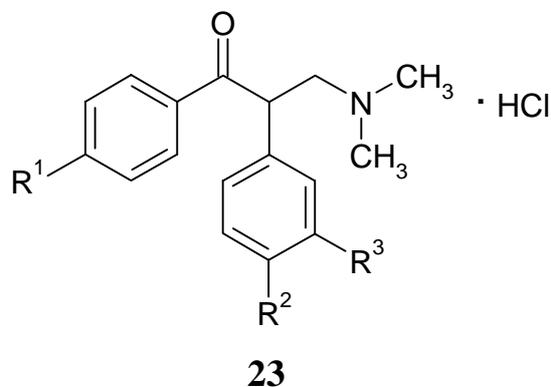


Die dargestellten Mannich-Base-hydrochloride **23** sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Die Verbindungen **23-3**, **23-4**, **23-7** und **23-8** sind bisher noch nicht beschrieben.

²⁹ H. Hellmann, G. Opitz; *α -Aminoalkylierung*, 1. Aufl., 108, Verlag Chemie, Weinheim, 1960

³⁰ C. Mannich, D. Lammering, *Chem. Ber.* **55**, 3510 (1922)

Tabelle 4: Dargestellte 3-Dimethylamino-1,2-diphenyl-1-propanon-hydrochloride **23**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Literatur
23-1	-H	-H	-H	31
23-2	-H	-CH ₃	-H	32
23-3	-CH ₃	-H	-H	-
23-4	-CH ₃	-CH ₃	-H	-
23-5	-H	-Cl	-H	14
23-6	-Cl	-H	-H	14
23-7	-H	-H	-Cl	-
23-8	-CH ₃	-Cl	-H	-
23-9	-H	-OCH ₃	-H	33

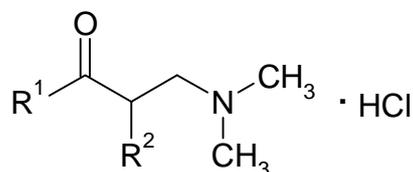
Über den gleichen Syntheseweg wurden die Verbindungen **24-1** bis **24-3** (Tabelle 5) dargestellt, wobei **24-3** als Referenzsubstanz für Versuche mit Glutathionreduktase (s. Kapitel 4.1.) benötigt und nicht weiter zum Sulfon umgesetzt wurde.

³¹ J. J. Denton, R. J. Turner, *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 2048 (1949)

³² Leiter, Hartwell, Kline, *J. nat. Cancer Inst.* **14**, 645 (1953)

³³ H. Ball, M. Schneider, H. Schönenberger, *Arch. Pharm.* (Weinheim) **317**, 565-571 (1984)

Tabelle 5: Dargestellte 1,2-disubstituierte 3-Dimethylamino-1-propanon-
hydrochloride **24**

**24**

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Literatur
24-1	-CH ₃		34
24-2		-CH ₃	35
24-3		-CH ₃	36

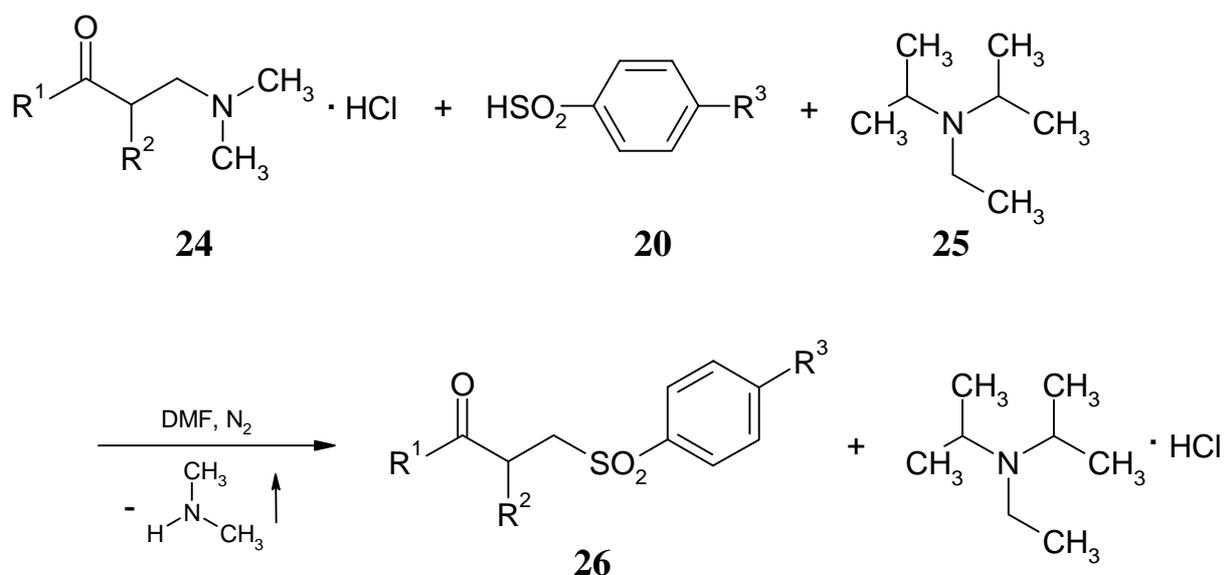
Die Darstellung von Sulfonen aus Mannich-Base-hydrochloriden, die in β -Stellung mit einem Alkyl- oder Arylrest substituiert sind, ist nur unter forcierten Bedingungen möglich: Nach Messinger²⁴ gelingt die Umsetzung mit Natriumsulfonaten durch Erhitzen in hochsiedenden Lösungsmitteln wie DMF.

Bei meinen Versuchen erwies es sich als vorteilhafter, die Sulfone **26** aus den Mannich-Base-hydrochloriden **24** und freier Sulfinssäure **20** unter Zusatz eines Überschusses an N-Ethyl-diisopropylamin **25** herzustellen:

³⁴ W. Wilson, Z. K. Kyi, *J. Chem. Soc.* **1952**, 1324

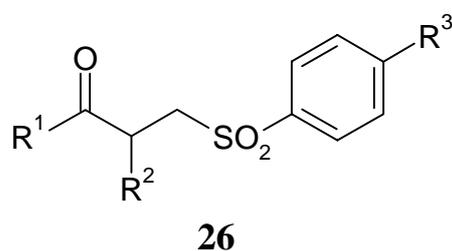
³⁵ E. B. Knott, *J. Chem. Soc.* **1947**, 1193

³⁶ R. Jacquier, M. Mousseron, S. Boyer, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1956**, 1662

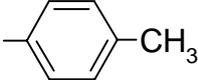
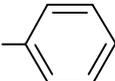
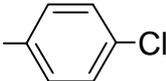
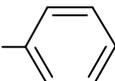
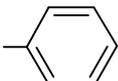
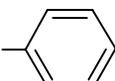
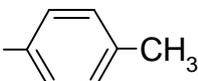
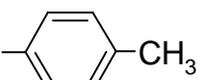
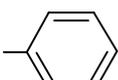
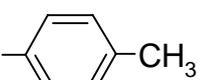
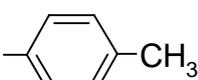
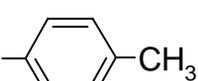
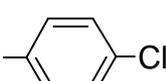
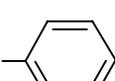
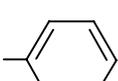
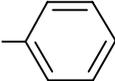
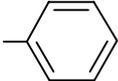
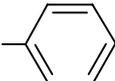
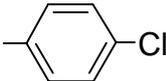
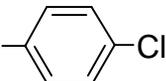
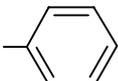


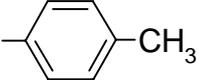
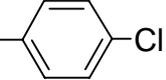
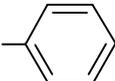
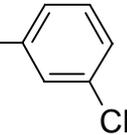
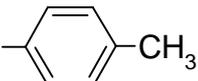
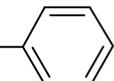
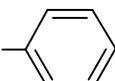
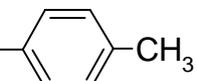
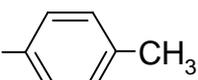
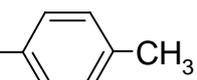
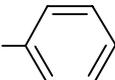
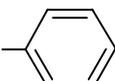
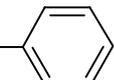
Die freie Sulfinsäure **20** enthält im Gegensatz zu ihrem Natriumsalz kein Kristallwasser, welches den Reaktionsablauf stört. Die Hilfsbase **25** erhöht als Protonenakzeptor die Nucleophilie der Sulfinsäure, kann aber als tertiäres Amin nicht in Konkurrenzreaktion treten. Durch Einleiten von Stickstoff wird das freiwerdende Dimethylamin vertrieben und somit aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt: die Ausbeute an Sulfon wird erhöht. In Tabelle **6** sind die von mir auf diesem Weg dargestellten Sulfone **26** zusammengefaßt.

Tabelle 6: Dargestellte 1,2-disubstituierte 3-Sulfonyl-1-propanone **26**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Literatur
26-1			-H	24

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Literatur
26-2			-H	
26-3			-H	
26-4			-CH ₃	24
26-5			-CH ₃	
26-6			-CH ₃	
26-7			-CH ₃	
26-8			-CH ₃	
26-9			-CH ₃	
26-10			-Cl	10
26-11			-Cl	
26-12			-Cl	

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Literatur
26-13			-Cl	
26-14			-Cl	
26-15			-Cl	
26-16			-Cl	
26-17			-Cl	
26-18		-CH ₃	-CH ₃	24
26-19		-CH ₃	-Cl	
26-20	-CH ₃		-Cl	

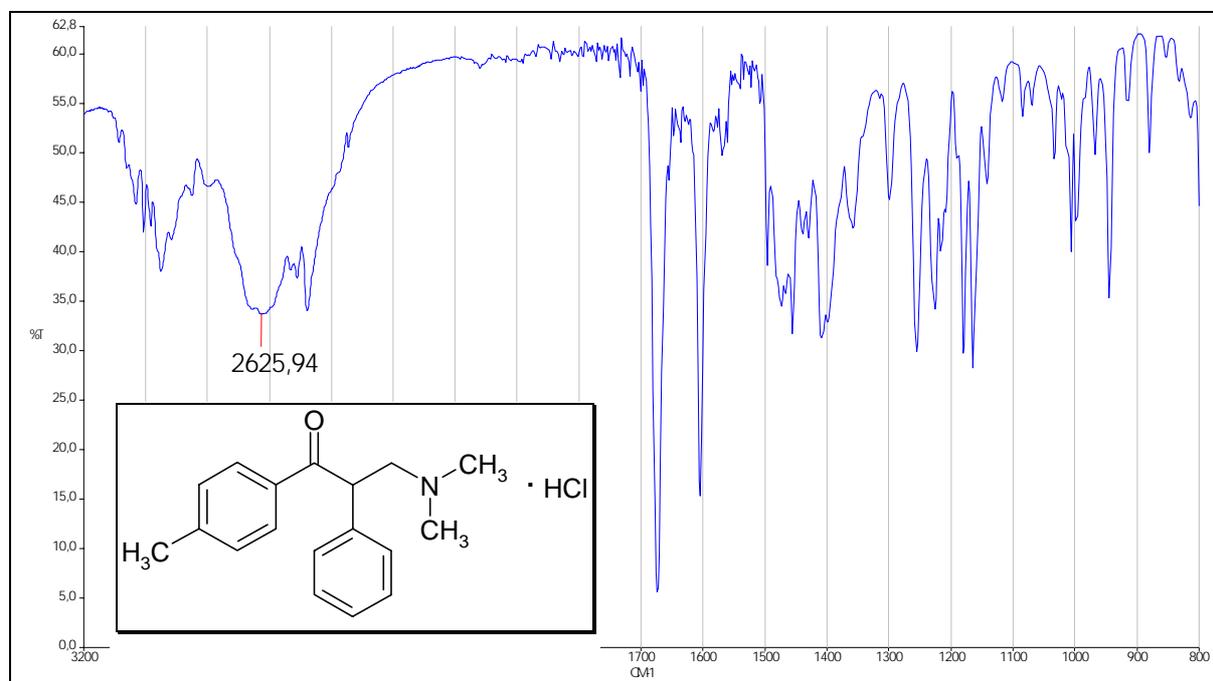
Die Mannich-Base **23-9** konnte unter diesen Bedingungen nicht zum Sulfon umgesetzt werden, auch nicht über das mit Methyljodid hergestellte quartäre Ammoniumsalz (vgl. S. 10).

Bei den in Tabelle 6 aufgeführten Sulfonen handelt es sich um kristalline Verbindungen, die durch mehrfaches Umkristallisieren aus Ethanol analysenrein erhalten werden konnten.

IR-spektroskopisch können sie von den eingesetzten β -Aminoketonen sehr gut durch zwei charakteristische Absorptionsbanden im Bereich von 1120-1160 cm^{-1} und 1310-1350 cm^{-1} , sowie durch das Fehlen der von der Ammoniumschwingung verursachten breiten Bande im Bereich von 2250-2700 cm^{-1} unterschieden werden ³⁷.

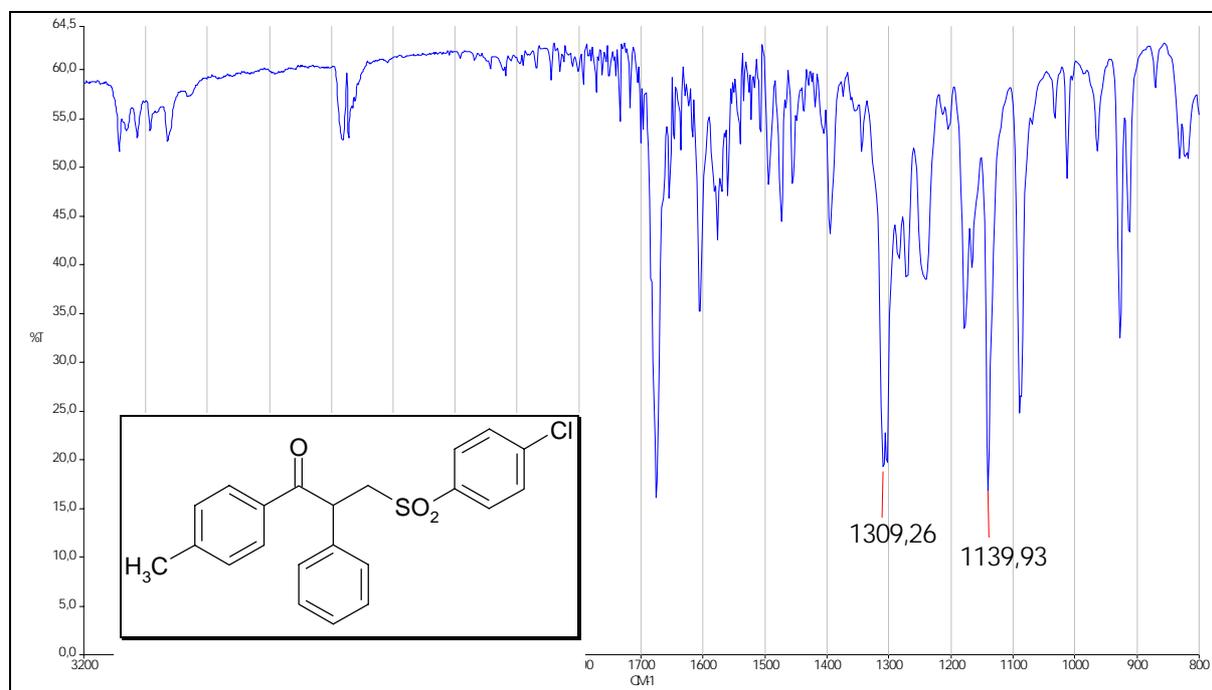
Abbildung 1 zeigt exemplarisch das IR-Spektrum von 3-N,N-Dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-2-phenyl-1-propanon-hydrochlorid **23-3**, Abbildung 2 das von 3-(4-Chlorphenylsulfonyl)-1-(4-methylphenyl)-2-phenyl-1-propanon **26-15**.

Abbildung 1: IR-Spektrum (KBr) von **23-3** -Ausschnitt-



³⁷ M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Aufl., 46 u. 54, Thieme Verlag, Stuttgart, 1995

Abbildung 2: IR-Spektrum (KBr) von **26-15** -Ausschnitt-



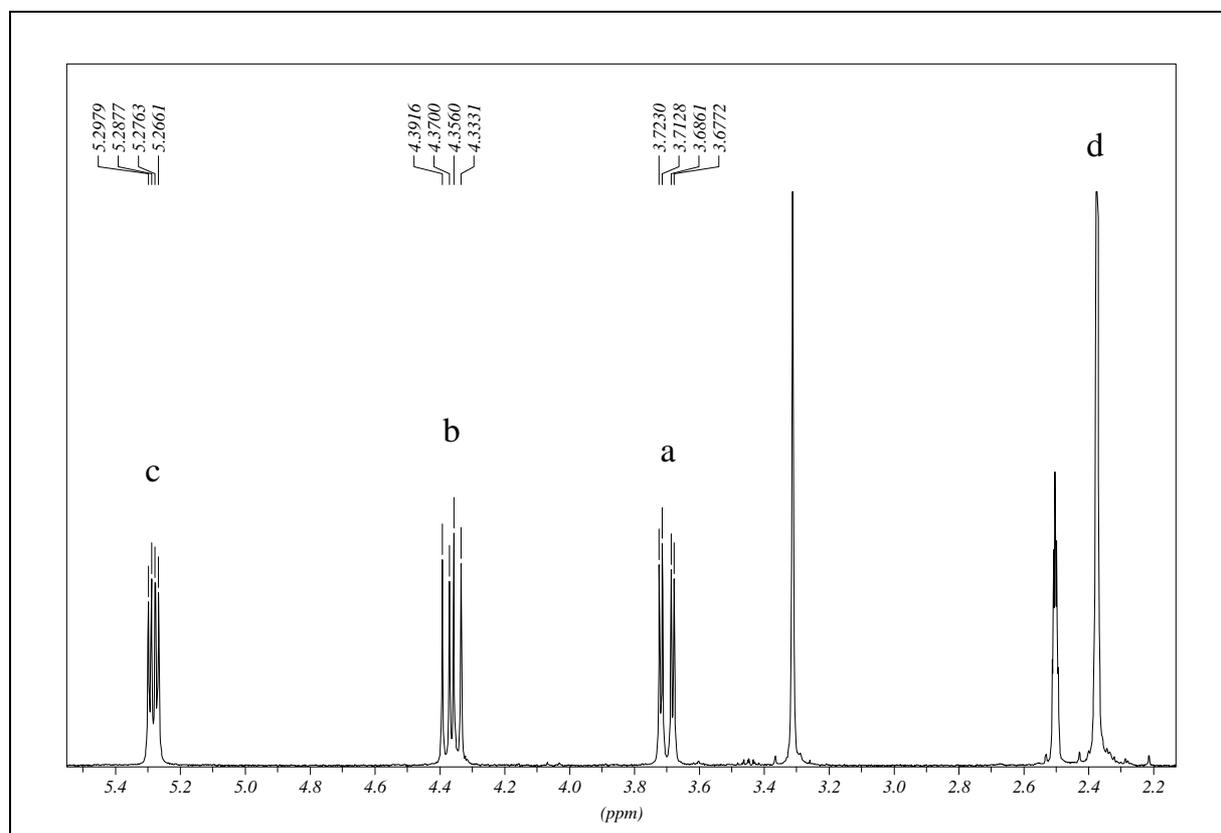
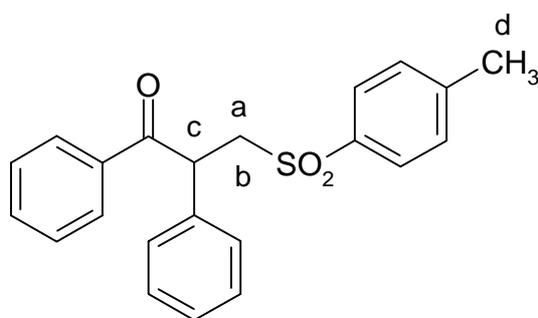
Man erkennt in Abbildung 2 deutlich die starken Absorptionsbanden bei 1140 cm^{-1} und 1309 cm^{-1} , die durch SO-Streckschwingungen hervorgerufen werden. Hingegen fehlt die in Abbildung 1 noch vorhandene breite Bande der Ammonium-Valenzschwingung bei 2626 cm^{-1} .

Das in d_6 -DMSO aufgenommene $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-4** (Abbildung 3) zeigt das für β -aryl-substituierte γ -Oxosulfone charakteristische AMX-System, das die zur Sulfonylgruppe α -ständigen Methylenprotonen und das β -ständige Methinproton bilden:

Die Protonen der α -Methylengruppe verursachen die Signale bei $\delta = 3,70$ ppm (**a**) und $\delta = 4,36$ ppm (**b**), die Kopplungskonstante beträgt 14,50 Hz.

Beide Protonen koppeln mit $J = 4,07$ Hz bzw. $J = 8,65$ Hz mit dem β -Methinproton (c), welches tieffeldverschoben bei $\delta = 5,28$ ppm erscheint, so daß alle drei Signale jeweils als Doppelduplett auftreten. Das Singulett bei $\delta = 2,38$ ppm wird durch die aromatische Methylgruppe (d) verursacht; die Signale bei $\delta = 2,50$ ppm und $\delta = 3,31$ ppm sind Störsignale durch das Lösungsmittel DMSO bzw. Wasser.

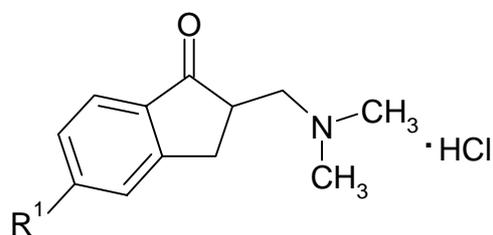
Abbildung 3: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (d_6 -DMSO) von Verbindung **26-4** -Ausschnitt-



2.3. Darstellung von 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanonen und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinonen

Die Darstellung der 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone **29** und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinone **30** erfolgte auf dem in Kapitel 2.2. beschriebenen Weg über die Hydrochloride der entsprechenden Mannich-Basen (Tabelle 7), die nach in der Literatur beschriebenen Methoden synthetisiert wurden.

Tabelle 7: Als Edukte dargestellte 2-[(Dimethylamino)methyl]-1-indanon- und 2-[(Dimethylamino)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinonhydrochloride **27** und **28**

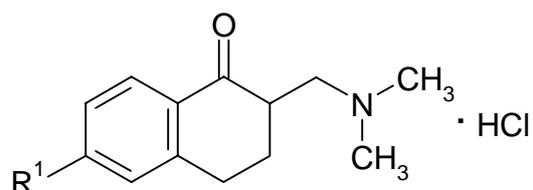


27

Verb.-Nr.	R ¹	Literatur
27-1	-H	38
27-2	-OCH ₃	39

³⁸ K. Hofmann, H. Schellenberg, *Helv. Chim. Acta* **27**, 1785 (1944)

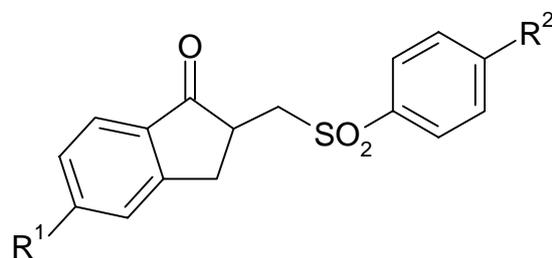
³⁹ K. Ohkata, M. Akiyama, *J. Org. Chem.* **49**, 2517 (1984)

**28**

Verb.-Nr.	R ¹	Literatur
28-1	-H	40
28-2	-OCH ₃	41

Die aus den Mannich-Base-hydrochloriden **27** und **28** durch Kondensation mit Arensulfinsäuren hergestellten Sulfone **29** und **30** sind in den Tabellen **8** und **9** zusammengefaßt:

Tabelle 8: Dargestellte 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone **29**

**29**

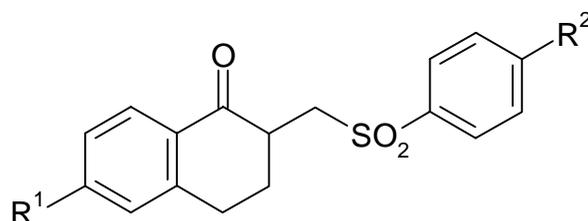
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Literatur
29-1	-H	-CH ₃	11
29-2	-H	-Cl	42
29-3	-OCH ₃	-CH ₃	
29-4	-OCH ₃	-Cl	

⁴⁰ C. Mannich, F. Borkowsky, H. L. Wan, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **275**, 57 (1937)

⁴¹ D. J. Collins, G. D. Fallon, C. E. Skene, *Aust. J. Chem.* **47**, 636 (1994)

⁴² J. Crutze, K. Thomas, D. Jerchel, in *Pat. Boehringer Ingelheim*. (S. African, 1969) pp. 6808, 173; *Chem. Abstr.* **72**, 90290h (1970)

Tabelle 9: Dargestellte 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-
naphthalinone **30**

**30**

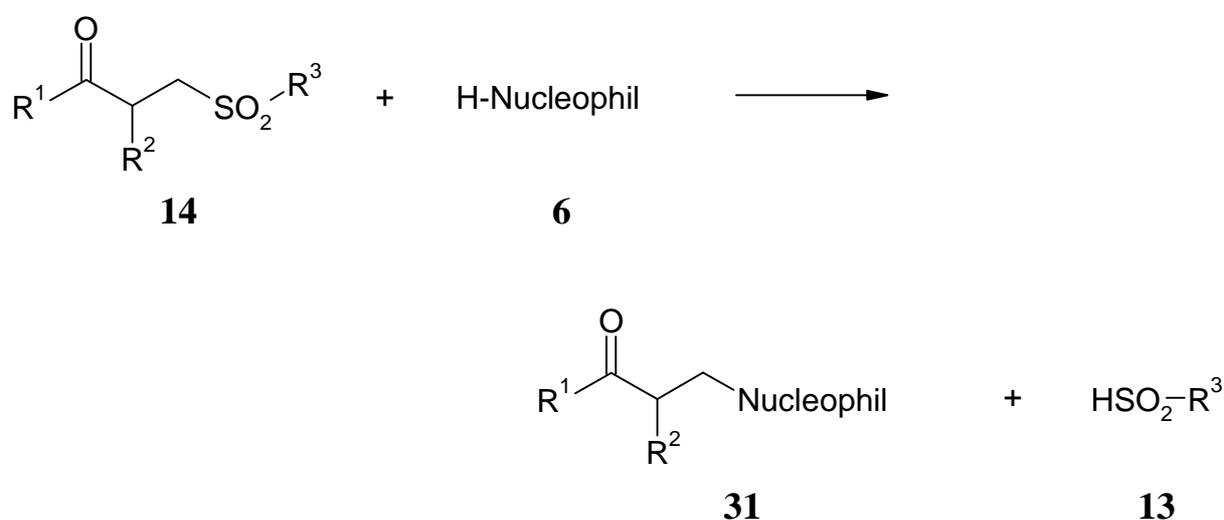
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Literatur
30-1	-H	-H	
30-2	-H	-CH ₃	11
30-3	-H	-Cl	
30-4	-OCH ₃	-CH ₃	
30-5	-OCH ₃	-Cl	

Die in 5-Stellung unsubstituierten Indanon-Derivate **29-1** und **29-2** konnten durch kurzes Erhitzen einer wässrigen Lösung aus den Mannich-Base-hydrochloriden und einem geringen Überschuß des Natrium-Salzes der Sulfinsäuren synthetisiert werden. Die Darstellung der Verbindungen **29-3** und **29-4**, die in 5-Stellung eine Methoxygruppe tragen, sowie der Tetrahydronaphthalinon-Derivate **30-1** bis **30-5** erfolgte, indem die Hydrochloride der Mannich-Basen mit den freien Sulfinsäuren unter Zusatz von N-Ethyldiisopropylamin und Einleiten von Stickstoff in DMF unter Rückfluß erhitzt wurden (vgl. S. 15).

3. Kinetische Untersuchungen zur Reaktivität β -substituierter γ -Oxosulfone

Wahrscheinlich beruht die Wirkung der von mir untersuchten 3-Sulfonylpropanone **14** gegen Mikroorganismen ebenso wie bei den im Arbeitskreis schon früher bearbeiteten in 2-Stellung unsubstituierten Derivaten darauf, daß ein Austausch zwischen dem Sulfonylrest und einer nucleophilen Gruppe eines lebenswichtigen Substrates - z.B. einer Mercaptogruppe im aktiven Zentrum eines Enzyms - stattfindet, wodurch eine Enzyminaktivierung erfolgt⁴³ (s.S. 1 ff und Gleichung 1).

Gleichung 1:



Diese Annahme basiert u.a. auf der Beobachtung, daß die Wirksamkeit der 3-Sulfonylpropanone **14** gegen Dermatophyten erheblich abnimmt, wenn man in das Kulturmedium zusätzlich einen thiolgruppenhaltigen Stoff, z.B. Cystein, hinzufügt, der mit den nucleophilen Gruppen eines Biomoleküls um die

⁴³ P. Messinger, R. Borchert - Bremer, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **316**, 657 (1983)

Reaktion mit dem Wirkstoff, dem 3-Sulfonylpropanon, konkurriert ⁴⁴. Ein weiterer Hinweis für den vermuteten Wirkungsmechanismus besteht darin, daß 3-Sulfonylpropanone sich im präparativen Maßstab mit verschiedenen Nucleophilen umsetzen lassen, wobei der Sulfonylrest als Sulfinsäure eliminiert wird und das Nucleophil seine Stelle im Molekül einnimmt ¹².

Ob es sich hierbei um eine Eliminierungs-Additions-Reaktion handelt, bei der zuerst Sulfinsäure abgespalten und dann an die neu entstandene Doppelbindung das Nucleophil angelagert wird, oder ob eine nucleophile Substitution stattfindet, ist nicht bekannt.

Variiert man die Reste R¹-R³ der 3-Sulfonylpropanone **14**, so ändert sich ihre Reaktivität gegenüber Nucleophilen und dadurch - die Richtigkeit des angenommenen Wirkungsmechanismus vorausgesetzt - ihre Wirkungsstärke und möglicherweise auch ihr Wirkungsspektrum. Da die Wirkungsstärke in diesem Fall mit der Geschwindigkeit und dem Ausmaß der Inaktivierung der Zielverbindung zusammenhängt, sind Kenntnisse über die Reaktionsgeschwindigkeiten unterschiedlich substituierter 3-Sulfonylpropanone **14** mit Nucleophilen **6** ein wichtiger Parameter für die Aufklärung von Struktur-Wirkungsbeziehungen.

Voraussetzung für meine kinetischen Untersuchungen war die Entwicklung einer Meßmethode, anhand derer der Einfluß der Substituenten R¹-R³ der 3-Sulfonylpropanone **14** auf die Geschwindigkeit der in Gleichung **1** dargestellten Reaktion mit einem Modellnucleophil bestimmt werden kann.

⁴⁴ P. Messinger, Unveröffentlichte Ergebnisse

3.1. Kinetische Untersuchungen mit Hilfe der UV-VIS-Spektrometrie

Eine Möglichkeit, die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen 3-Sulfonylpropanonen **14** und Substanzen mit nucleophilen Eigenschaften zu verfolgen, bietet die spektralphotometrische Bestimmung der Konzentrationsänderung eines Reaktionsteilnehmers im Verlauf der Reaktion.

Gemäß dem Beerschen Gesetz ist in verdünnten Lösungen bei konstanter Schichtdicke die Änderung der gemessenen Absorption **A** proportional der Änderung der Konzentration **C** des vermessenen Reaktanden ⁴⁵:

$$A = k \times C$$

k = Proportionalitätsfaktor

Bei meinen Versuchen zur Klärung der Frage, ob eine direkte spektralphotometrische Bestimmung möglich ist, erwies es sich als günstig, die Messungen in einem Methanol-Wasser-Gemisch durchzuführen: Die Löslichkeit der 3-Sulfonylpropanone in einem solchen Gemisch ist ausreichend groß, es verhält sich gegenüber den an der Reaktion beteiligten Stoffen indifferent und bietet mit einer Durchlässigkeit ab 210 nm ⁴⁶ einen akzeptablen Meßbereich.

Da die Reaktionsgeschwindigkeit bei Umsetzungen von 3-Sulfonylpropanonen mit Nucleophilen mit dem pH-Wert zunimmt, war es vorteilhaft, die Messungen in alkalischem Milieu durchzuführen. Ich stellte die Reaktionsansätze mit Phosphat- bzw. Boratpuffer auf pH-Werte von 8.0 und 10.0 ein.

⁴⁵ H. Rücker, M. Neugebauer, G. G. Willems; *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 1. Aufl., 53, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1988**

⁴⁶ M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Aufl., 8, Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**

Zur Ermittlung optimaler Meßbedingungen setzte ich als „Modellsulfon“ 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-4** ein. Es besitzt aufgrund der beiden unsubstituierten Phenylringe eine mittlere Reaktivität im Vergleich zu den anderen von mir untersuchten Sulfonen.

Als Nucleophil wählte ich 4-Methylthiophenol **32**, es löst sich sehr leicht in dem verwendeten Methanol-Wasser-Gemisch und liegt nach Henderson-Hasselbalch aufgrund seines pK_a -Wertes von 8,03⁴⁷ bei pH 8.0 zu ca. 50% und bei pH 10.0 zu ca. 99% als stark nucleophiles Anion vor:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \Rightarrow \quad \frac{[H_3O^+]}{K_a} = \frac{[HA]}{[A^-]}$$

$$\text{bei pH 8.0 :} \quad \Rightarrow \quad \frac{10^{-8}}{9,33 \times 10^{-9}} = \frac{1,07}{1}$$

$$\text{bei pH 10.0 :} \quad \Rightarrow \quad \frac{10^{-10}}{9,33 \times 10^{-9}} = \frac{0,01}{1}$$

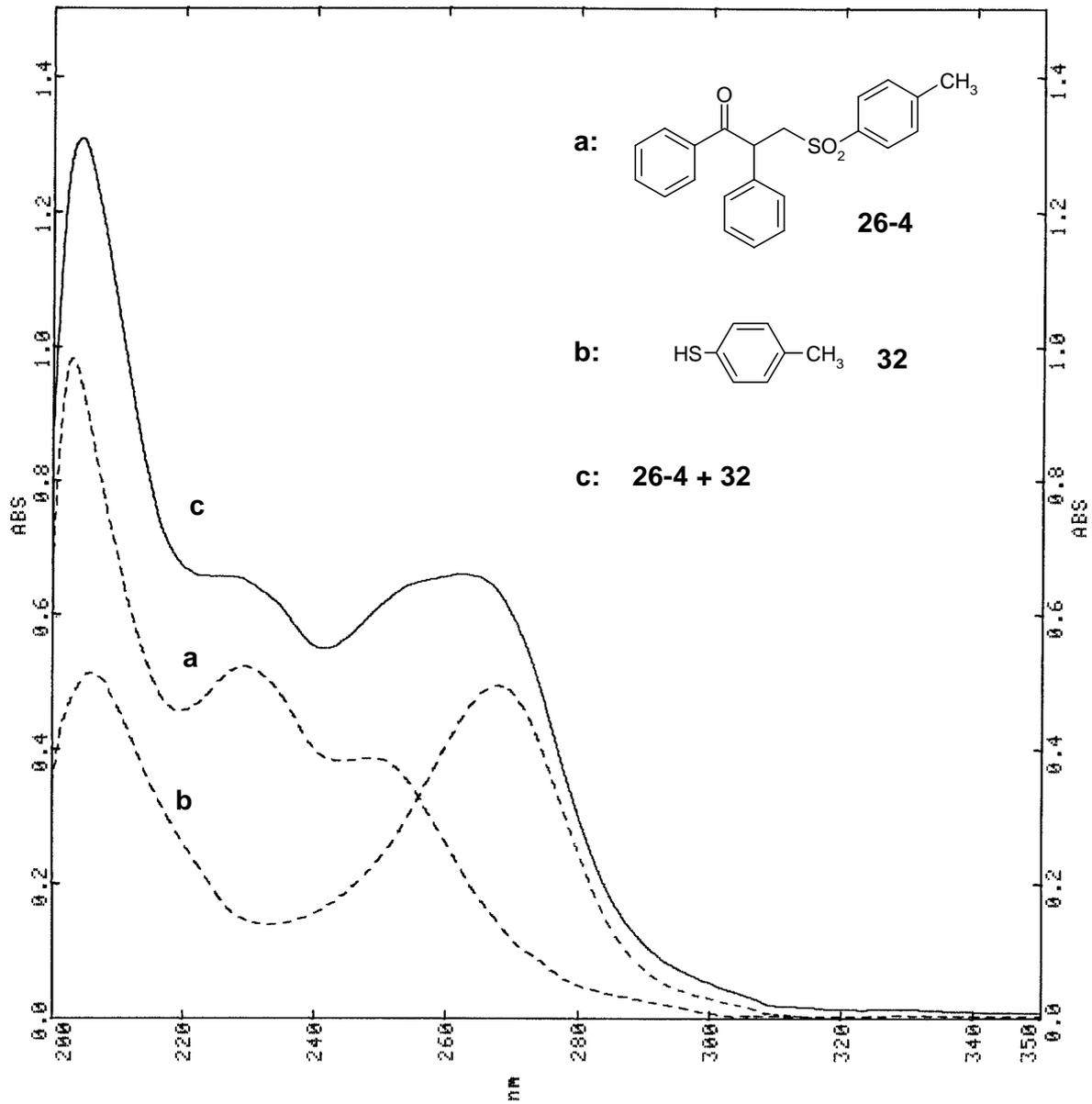
Die Reaktion des 3-Sulfonyl-1-propanons **26-4** mit 4-Methylthiophenol **32** ist in Gleichung **2** dargestellt. Das Reaktionsprodukt **33** wurde bereits von Braun⁴⁸ auf anderem Weg synthetisiert.

Für eine direkte photometrische Bestimmung ist es am günstigsten, wenn bei einem Absorptionsmaximum des zu vermessenden Reaktanden alle übrigen Reaktionsteilnehmer nicht absorbieren, so daß keine Absorptionsüberschneidungen auftreten, die eine Auswertung ungenau oder sogar unmöglich machen.

⁴⁷ F. G. Bordwell, H. M. Andersen, *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 6019 (1953)

⁴⁸ A. Braun, Dissertation, Hamburg **1991**, 231

Abbildung 4: UV-Spektren von 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-4** und 4-Methylthiophenol **32** in Methanol/H₂O bei pH 8.0



In Abbildung 5 sind die Absorptionsspektren der Reaktionsprodukte 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylthio)-1-propanon **33** (**d**) und Toluol-4-sulfonsäure **34** (**e**) dem durch Addition der Einzelspektren erhaltenen Gesamtspektrum (**f**) gegenübergestellt. Die Konzentrationen und Meßbedingungen entsprechen denen des Spektrums der Edukte **26-4** und **32**.

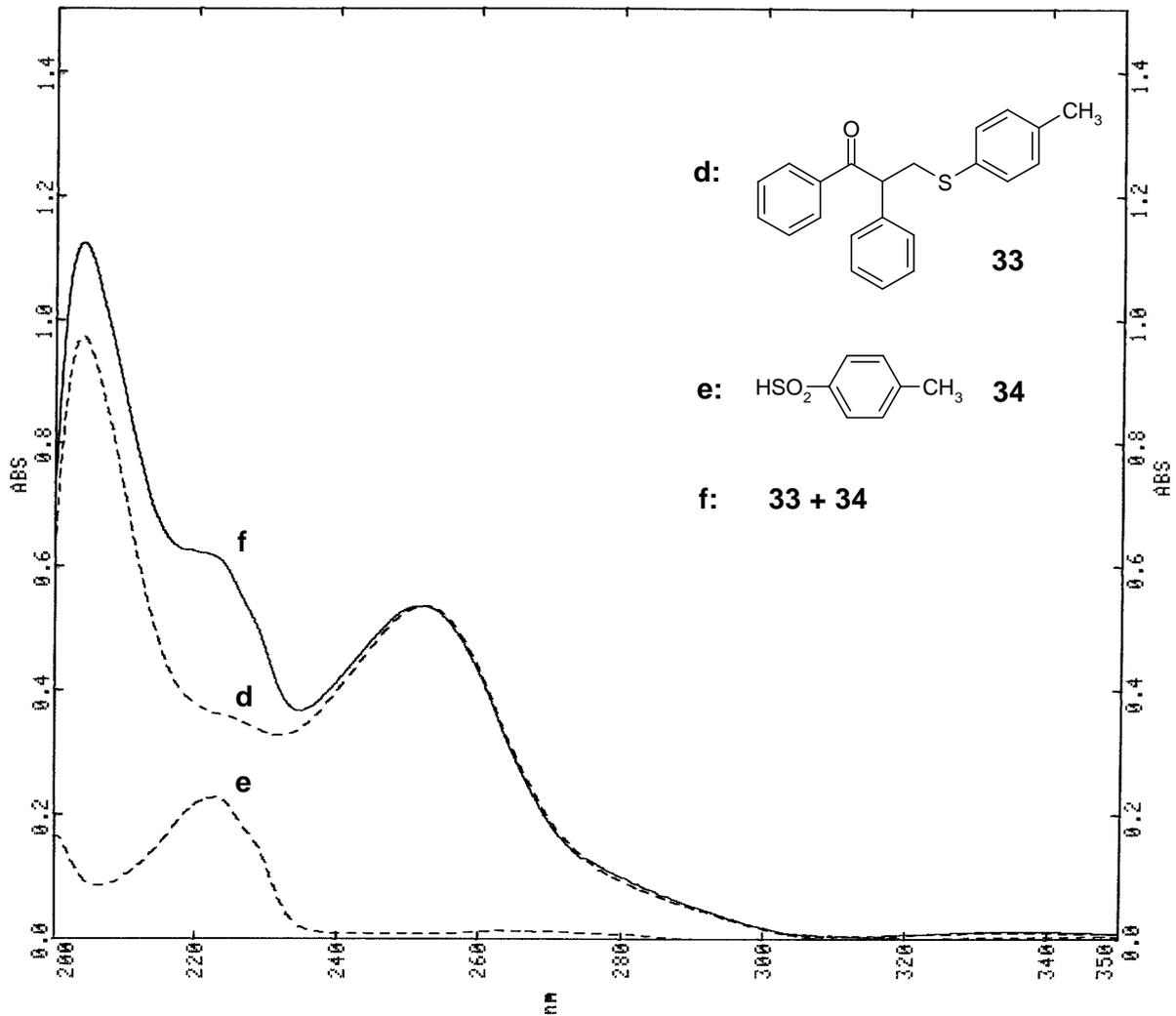
Man erkennt ein ausgeprägtes Maximum des 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylthio)-1-propanons **33** bei $\lambda = 252$ nm, sein molares Absorptionskoeffizient beträgt 19316. Toluol-4-sulfonsäure **34** besitzt bei $\lambda = 223$ nm ein Maximum mit einem molaren Absorptionskoeffizienten von 8183, so daß das aus den Einzelspektren **d** und **e** resultierende Gesamtspektrum **f** Absorptionsmaxima bei $\lambda = 223$ nm und $\lambda = 252$ nm aufweist.

Im Vergleich zeigen die Gesamtspektren **c** ($\lambda_{\text{max}} = 231$ bzw. 269 nm) und **f** ($\lambda_{\text{max}} = 223$ bzw. 252 nm) dicht zusammen liegende Absorptionsmaxima, die durch ähnliche molare Absorptionskoeffizienten der Reaktanden auch vergleichbare Intensitäten aufweisen.

Dies ist der denkbar ungünstigste Fall: Aufgrund der sich hieraus ergebenden Überschneidungen der UV-Spektren läßt sich die Änderung der Konzentration eines der Reaktionsteilnehmer während des Reaktionsablaufs spektralphotometrisch nicht direkt messen.

Der Austausch von 4-Methylthiophenol gegen ein Nucleophil, das im längerwelligen UV-Bereich absorbiert, bietet keinen Vorteil: Das mit dem 3-Sulfonylpropanon gebildete Reaktionsprodukt würde ebenfalls im längerwelligen UV-Bereich absorbieren, so daß eine erneute Überschneidung der Spektren voraussehen ist.

Abbildung 5: UV-Spektren von 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylthio)-1-propanon **33** und Toluen-4-sulfinsäure **34** in Methanol/H₂O bei pH 8.0



Eine Möglichkeit zur Lösung des Problems bot die Durchführung einer Farb-reaktion zur selektiven Bestimmung eines der Reaktionsteilnehmer. Derartige Reaktionen wie beispielsweise die Chromotropsäurereaktion auf Formaldehyd oder die Diazotierungs-Kupplungs-Reaktion auf primäre aromatische Amine sind in der Literatur oft beschrieben^{49•50•51•52} und werden häufig bei Gehaltsbestimmungen und Reinheitsprüfungen der Arzneibücher angewandt⁵³.

Der Nachteil einer solchen Farbreaktion liegt darin, daß eine direkte kontinuierliche Verfolgung des Reaktionsablaufs nicht möglich ist. Statt dessen müssen in geeigneten Zeitabständen Proben aus dem Reaktionsansatz entnommen und vermessen werden, so daß sich eine Zeit-Umsatz-Kurve erst aus vielen einzelnen Meßergebnissen konstruieren läßt.

An eine für meine kinetischen Untersuchungen geeignete Farbreaktion waren folgende Anforderungen zu stellen:

1. Spezifische Reaktion mit nur einem der Reaktionsteilnehmer
2. Schneller und quantitativer Ablauf der Reaktion
3. Bei der Meßwellenlänge des gebildeten Farbstoffes sollten andere im Reaktionsansatz befindliche Stoffe nicht oder nur sehr wenig absorbieren
4. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse
5. Die Reaktion muß unter den für die Kinetikbestimmung erforderlichen Reaktionsbedingungen durchführbar sein

⁴⁹ J. Knabe, *Arch.Pharm. (Weinheim)* **297**, 312 (1964)

⁵⁰ E. L. R. Krug, W. E. Hirt, *Anal.Chem.* **49**, 1865 (1977)

⁵¹ P. Hajdu, A. Häußler, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **14**, 709 (1964)

⁵² E. Emerson, *J. Org. Chem.* **8**, 417 (1943)

⁵³ H. Rücker, M. Neugebauer, G. G. Willems; *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 1. Aufl., 82, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1988**

3.1.1. Bestimmung der Geschwindigkeit des Reaktionsverlaufs mit Ellmans Reagenz

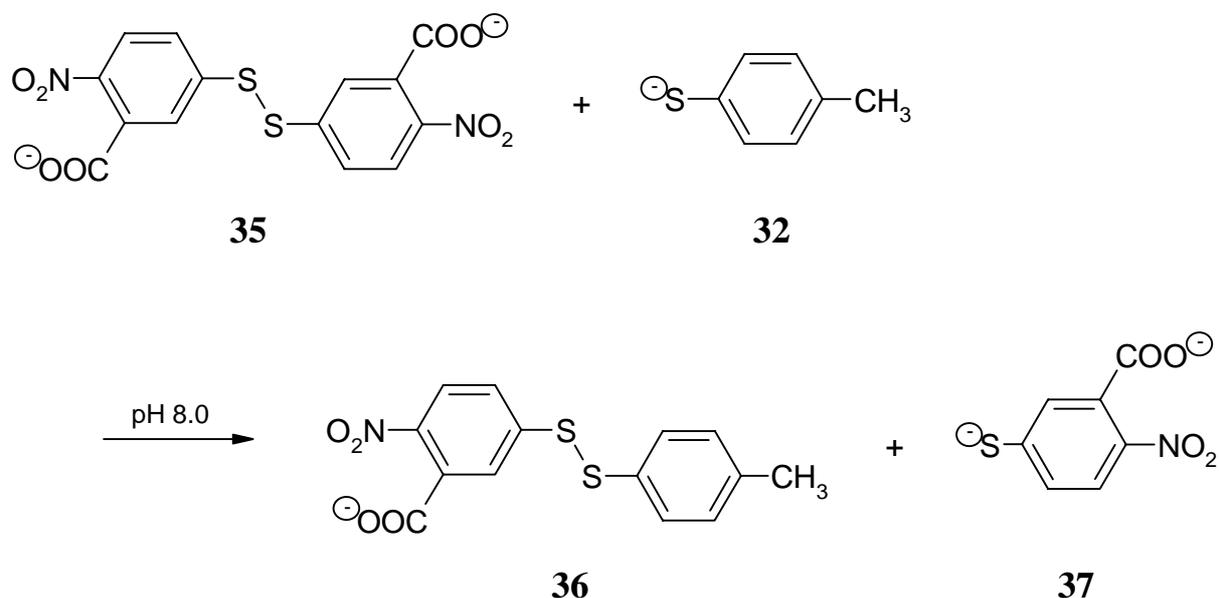
Eine Möglichkeit, die Umsetzungsrate von 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-4** mit 4-Methylthiophenol **32** (Gleichung 2, S. 28) mittels einer Farbreaktion zu messen, bietet die selektive Bestimmung der während der Reaktion abnehmenden Konzentration an noch nicht umgesetzten 4-Methylthiophenol. Hierzu müßte sich Ellmans Reagenz (2,2'-Dinitro-5,5'-dithiodibenzoessäure, im folgenden: DTNB) eignen. Es wurde zur kolorimetrischen Bestimmung von Mercaptogruppen entwickelt⁵⁴. DTNB wird hauptsächlich zur Untersuchung von Proteinen in Blut und Seren eingesetzt, kann aber auch zur Bestimmung von einfachen Biomolekülen wie Cystein oder Glutathion verwendet werden⁵⁵.

In alkalischem Milieu reagiert das 4-Methylthiophenolat-Anion **32** in einer Austauschreaktion mit DTNB **35** zu 5-(4-Methylphenyldithio)-2-nitro-benzoat **36** und 2-Nitro-5-thiobenzoat (TNB²⁻) **37** (Gleichung 3).

Die Quantifizierung der Mercaptogruppen erfolgt über das Dianion der 2-Nitro-5-thiobenzoessäure (TNB²⁻) **37**: Sein Spektrum ist im Vergleich zu dem von DTNB durch die Ausbildung eines delokalisierten Elektronensystems so weit bathochrom verschoben, daß die Absorption im Bereich des sichtbaren Lichts erfolgt und die Farbintensität für eine quantitative Auswertung herangezogen werden kann.

⁵⁴ G. L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.* **82**, 70 (1959)

⁵⁵ P. W. Riddles, R. L. Blakeley, B. Zerner, *Anal. Biochem.* **94**, 75 (1979)

Gleichung 3:

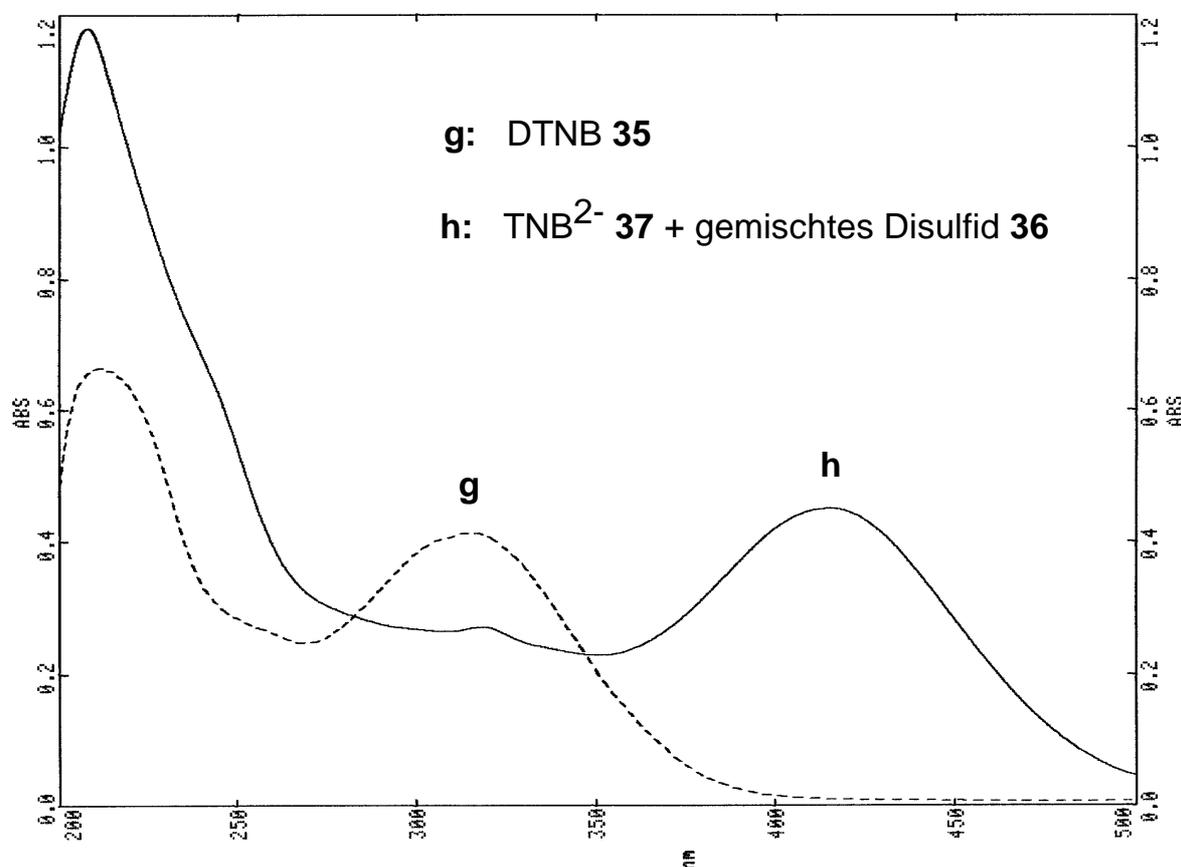
Der Einsatz von DTNB für reaktionskinetische Bestimmungen wurde bisher nicht beschrieben, aufgrund der hohen Spezifität des Reagenz für Mercapto-
gruppen⁵⁶ und der Prämisse eines alkalischen Reaktionsmilieus⁵⁷ sollte es
jedoch für meine Untersuchungen besonders geeignet sein.

Abbildung 6 zeigt das Absorptionsspektrum von DTNB vor (g) und nach (h)
der Zugabe von 4-Methylthiophenol. Die Spektren wurden in einem Gemisch
aus 8 Teilen Methanol und 1 Teil Wasser aufgenommen, das mit Phosphatpuf-
fer auf pH 8.0 eingestellt worden war. Die Konzentration von **35** bzw. **36 + 37**
in der Meßlösung betrug $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, die Messung wurde bei 25°C durch-
geführt.

⁵⁶ G. L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.* **74**, 443-450 (1958)

⁵⁷ D. R. Grassetti, J. F. Murray, *Arch. Biochem. Biophys.* **119**, 49 (1967)

Abbildung 6: UV/VIS-Spektren von DTNB **35** und 5-(4-Methylphenyldithio)-2-nitrobenzoat **36** / TNB^{2-} **37**



Das Absorptionsspektrum von DTNB **35** (**g**) weist ein Maximum bei 317 nm auf. Nach Zugabe der äquimolaren Menge an 4-Methylthiophenol ist im Spektrum **h**, welches sich aus den Einzelspektren des hierbei entstandenen gemischten Disulfids 5-(4-Methylphenyldithio)-2-nitrobenzoat **36** und TNB^{2-} **37** zusammensetzt (siehe Gleichung **3**), ein Absorptionsmaximum bei 413 nm vorhanden. Es wird durch TNB^{2-} verursacht⁵⁵ und besitzt einen molaren Absorptionskoeffizienten von 15195. Dieses Maximum eignet sich für eine kinetische Auswertung der in Gleichung **2** beschriebenen Reaktion, weil in diesem Spektralbereich keine weiteren absorbierenden Substanzen auftreten.

3.1.2. Validierung der Meßmethode

Außer einer geeigneten Meßwellenlänge mußten weitere Parameter zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit der Umsetzung aktivierter Sulfone mit 4-Methylthiophenol mittels DTNB festgelegt und auf ihre Eignung geprüft werden. Im Einzelnen waren dies:

- Reaktionsbedingungen, die sowohl für die Umsetzung als auch die Nachweisreaktion geeignet sind
- Überprüfung der Spezifität und der Reproduzierbarkeit der Nachweisreaktion
- Ermittlung des Zeitbedarfs bis zum vollständigen Ablauf der Farbreaktion
- Gültigkeit des Beerschen Gesetzes im vorgesehenen Meßbereich
- Stabilität der Substanzen unter Meßbedingungen

Die Reaktionsbedingungen waren so zu wählen, daß eine Reaktionsgeschwindigkeit resultiert, die langsam genug ist, um während der Reaktion eine ausreichende Anzahl von Bestimmungen der noch nicht umgesetzten Menge an 4-Methylthiophenol durchführen zu können. Die Umsetzung durfte aber auch nicht zu langsam erfolgen, weil während eines längeren Zeitraums u.a. weitere Umwandlungen (Zersetzung) hätten erfolgen können und die Konstanzhaltung der Reaktionsbedingungen erschwert gewesen wäre.

Vorversuche mit Hilfe der pH-Stat-Titration hatten ergeben, daß bei pH 8.0 eine Reaktion mit meßbarer Geschwindigkeit zwischen 3-Sulfonyl-1-propanonen und Nucleophilen stattfindet. Für den Nachweis des 4-Methylthiophenols mit DTNB ist dieser pH-Wert ebenfalls geeignet: In der Literatur sind für die Mercaptogruppe der 2-Nitro-5-thiobenzoessäure die pK_a -Werte 4.41⁵⁸ und 4.53⁵⁵ genannt, so daß die 2-Nitro-5-thiobenzoessäure bei pH 8.0 zu nahezu 100% als Dianion vorliegt und ihre vollständige Erfassung bei 413 nm gewährleistet ist. Eine Erhöhung des pH-Wertes birgt die Gefahr einer Verfälschung der Meßergebnisse durch alkalische Hydrolyse von DTNB⁵⁹.

Die Spezifität der Nachweisreaktion wurde überprüft, indem unter den oben genannten Meßbedingungen die Edukte und Produkte der in Gleichung **2** (s. S. 28) dargestellten Reaktion jeweils einzeln mit DTNB versetzt und anschließend die Absorptionen bei 413 nm gemessen wurden.

Die Konzentration der Substanzen **26-4**, **32**, **33** und **34** in der Meßlösung betrug $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, die von DTNB $3,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. In Tabelle **10** sind die Mittelwerte aus jeweils 3 Bestimmungen zusammengefaßt:

Tabelle 10: Spezifität der Nachweisreaktion mit DTNB

Meßlösung	Absorption bei 413 nm
4-Methylthiophenol 32 + DTNB	0,881
1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenyl-sulfonyl)-1-propanon 26-4 +DTNB	0,002
1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenyl-thio)-1-propanon 33 +DTNB	0,011
Toluen-4-sulfinsäure 34 +DTNB	0,001

⁵⁸ K. Brocklehurst, G. Little, *Biochem. J.* **133**, 67 (1973)

⁵⁹ J. P. Danehy, V. J. Elia, C. J. Lavelle, *J. Org. Chem.* **36**, 1003 (1971)

Während bei dem Ansatz mit 4-Methylthiophenol **32** ein deutlicher Anstieg der Absorption bei 413 nm erfolgt, ist bei den Ansätzen des 3-Sulfonyl-1-propanons **26-4** und der Toluol-4-sulfonsäure **34** mit DTNB keine Absorptionsänderung zu beobachten. Die leichte Absorptionserhöhung mit dem 3-Thio-1-propanon-Derivat **33** ist auf dessen Instabilität in alkalischem Milieu zurückzuführen, die Auswertung der Reaktion zwischen 4-Methylthiophenol **32** und DTNB wird hierdurch jedoch nicht beeinträchtigt.

Weiter mußte überprüft werden, ob unter den vorliegenden Bedingungen eine dem 4-Methylthiophenol äquimolare Menge TNB^{2-} gebildet wird. Zu diesem Zweck wurden Lösungen bekannter Konzentration von 4-Methylthiophenol in Methanol hergestellt und deren Gehalt mit DTNB bestimmt (Tabelle **11**).

Die Messungen wurden wieder bei 413 nm und 25°C in einem Methanol-Wasser-Gemisch (14:1) durchgeführt, das mit Phosphatpuffer auf pH 8.0 eingestellt worden war. Die Konzentration an DTNB in der Küvette betrug $3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Tabelle 11: Konzentrationsbestimmung von 4-Methylthiophenol mit DTNB

Absorption	c [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$] gemessen	c [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$] theoretisch
0,862	$5,67 \cdot 10^{-5}$	$5,70 \cdot 10^{-5}$
0,724	$4,77 \cdot 10^{-5}$	$4,75 \cdot 10^{-5}$
0,542	$3,57 \cdot 10^{-5}$	$3,56 \cdot 10^{-5}$
0,444	$2,92 \cdot 10^{-5}$	$2,85 \cdot 10^{-5}$
0,372	$2,45 \cdot 10^{-5}$	$2,37 \cdot 10^{-5}$

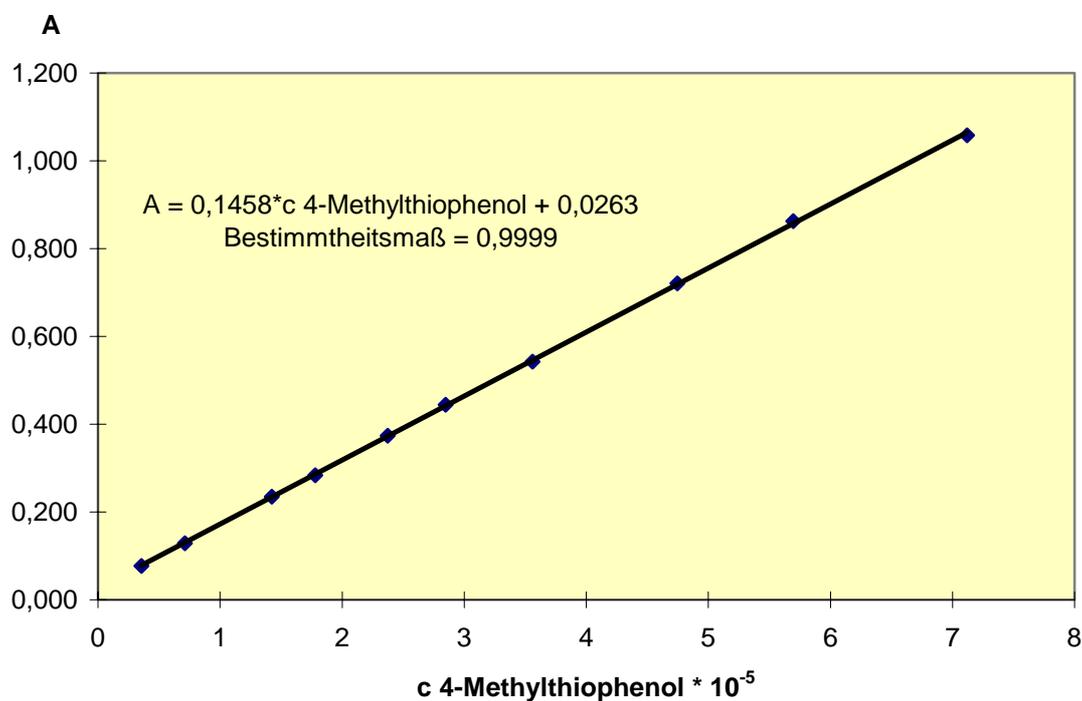
Insgesamt stimmen die gemessenen mit den theoretischen Werten gut überein. Die Abweichungen (maximal 3,3%) erklären sich durch Pipettierfehler bei der Erstellung der Verdünnungsreihe und dem Füllen der Meßküvette. Unter den vorliegenden Bedingungen läßt sich also 4-Methylthiophenol durch DTNB mit hinreichender Genauigkeit quantitativ erfassen.

Der Zeitbedarf für die Nachweisreaktion mit DTNB ist abhängig von der Art des Mercaptans und kann sehr stark variieren: Bei einfachen Mercaptanen wird die maximale Farbintensität nach wenigen Sekunden erreicht, während die Reaktionsdauer bei der Bestimmung von biologischem Material bis zu 40 Minuten beträgt^{55,56}. Bei eigenen Versuchen unter den bei der Konzentrationsbestimmung von 4-Methylthiophenol aufgeführten Bedingungen wurde die maximale Absorption nach ca. 7 Sekunden erreicht. Sie nahm dann durch Luftoxidation⁵⁵ des TNB^{2-} langsam wieder ab ($\Delta A/\text{min} = 0,001$).

Eine wichtige Voraussetzung für die Konzentrationsbestimmung von 4-Methylthiophenol über die Absorption von TNB^{2-} ist die Überprüfung der Gültigkeit des Beerschen Gesetzes in dem von mir vorgesehenen Meßbereich. Zu diesem Zweck erstellte ich aus einer 10^{-2} molaren Stammlösung von 4-Methylthiophenol eine Verdünnungsreihe, die unter den oben beschriebenen Bedingungen bei 413 nm mit einem Überschuß an DTNB (Konzentration in der Meßlösung: $3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) vermessen wurde.

In Abbildung 7 sind die Mittelwerte aus jeweils drei Absorptionsmessungen gegen die entsprechende Konzentration von 4-Methylthiophenol im Bereich von $7,1 \cdot 10^{-5}$ bis $3,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ dargestellt.

Abbildung 7: Linearität zwischen gemessener Absorption von TNB^{2-} und theoretischer Konzentration von 4-Methylthiophenol



Die Regressionsgerade wurde nach der „Methode der Summe der kleinsten Quadrate“ berechnet und weist ein Bestimmtheitsmaß von 0,9999 auf, so daß ein linearer Zusammenhang zwischen gemessener Absorption und vorhandener Konzentration über einem Absorptionsbereich von 0,1 bis 1,0 gewährleistet ist.

Ein weiteres wichtiges Kriterium für die Eignung dieser Meßmethode ist die Stabilität der Stammlösungen der verwendeten Substanzen und Reagenzien. Zu ihrer Überprüfung wurden von $5 \cdot 10^{-5}$ molaren Lösungen des 3-Sulfonyl-1-propanons **26-4** und DTNB in Methanol in geeigneten Zeitabständen Absorptionsspektren im Bereich zwischen 200 und 400 bzw. 600 nm aufgenommen. Beide Substanzen wiesen unter diesen Bedingungen über mehrere Tage keine Veränderungen auf.

Die Stabilität von 4-Methylthiophenol wurde geprüft, indem eine $6 \cdot 10^{-5}$ molare Lösung unter den in Kapitel 3.1.3. beschriebenen Meßbedingungen über 5 Tage mit DTNB bei 413 nm vermessen wurde. Während in den ersten sechs Stunden des Versuchs keine Absorptionsverringerung auftrat, war in der folgenden Zeit eine langsame Abnahme zu beobachten. Nach acht Stunden wurden nur noch 95% und nach 30 Stunden nur noch 85% des Ausgangswerts gemessen.

Diese Absorptionsabnahme wurde bei den kinetischen Bestimmungen berücksichtigt, indem alle Messungen, die sich über mehr als sechs Stunden erstreckten, unter den gleichen Bedingungen parallel mit einem Blindversuch ohne 3-Sulfonyl-1-propanon durchgeführt und die Meßwerte des Hauptversuchs um die im Blindversuch festgestellte relative Absorptionsminderung korrigiert wurden.

3.1.3. Prinzip der Messungen

Zur Messung der Geschwindigkeit der Reaktion zwischen den dargestellten Sulfonen und dem Nucleophil 4-Methylthiophenol **32** wurden in geeigneten Zeitabständen Proben aus dem Reaktionsansatz entnommen und die zu diesen Zeitpunkten vorliegenden Konzentrationen von 4-Methylthiophenol mit Hilfe von DTNB **35** bestimmt.

Zunächst wurden Lösungen von dem Sulfon (Lösung A), 4-Methylthiophenol (Lösung B) und DTNB in Methanol hergestellt und auf 25°C temperiert. Dann wurde ein für 40 Messungen ausreichender Reaktionsansatz aus gleichen Volumina der Lösungen A und B gemischt und mit Phosphatpuffer auf pH 8.0 gebracht; dadurch wurde die Reaktion gestartet ($t = 0$).

Die Bestimmung der Konzentration von 4-Methylthiophenol erfolgte über die Entnahme gleichbleibender Probenvolumina, zu denen ein definierter Überschuß an DTNB pipettiert wurde. Das Zeitintervall zwischen Reaktionsbeginn und Zugabe der DTNB-Lösung wurde protokolliert.

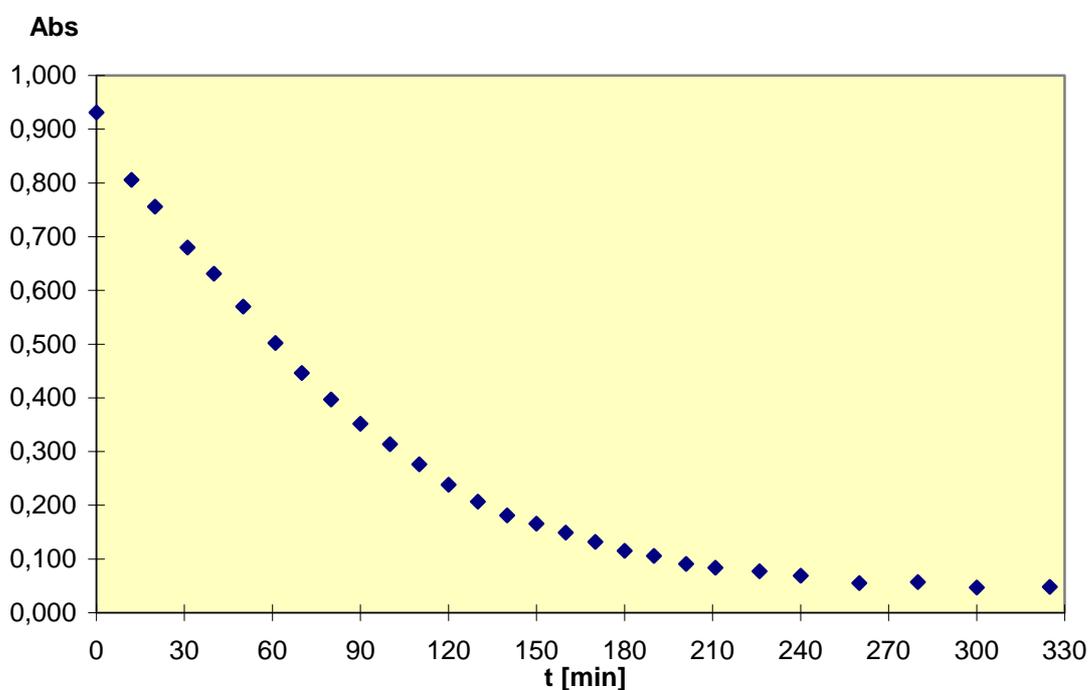
Die Messung der Absorption des aus 4-Methylthiophenol und DTNB entstandenen TNB²⁻ erfolgte bei 413 nm. Genauere Angaben zu Einwaagen, Verdünnungsschritten und Mischungsverhältnissen sind dem experimentellen Teil zu entnehmen.

Der Zeitplan der Probenentnahme richtete sich nach der Geschwindigkeit der untersuchten Reaktion: Die Abnahme der Absorption zwischen zwei Messungen durfte nicht mehr als 0,05 betragen, um eine ausreichende Dichte an Meßdaten für die Konstruktion der Zeit-Umsatz-Kurve zur Verfügung zu haben.

Insgesamt habe ich für jede Substanz 3 Zeit-Umsatz-Kurven aus jeweils frisch hergestellten Lösungen ermittelt, wobei für jede Kurve ca. 30 Messungen erforderlich waren.

Abbildung 8 zeigt exemplarisch den Verlauf der Reaktion von 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-4** und 4-Methylthiophenol **32** (s. Gleichung 2) unter den oben beschriebenen Bedingungen :

Abbildung 8: Zeitlicher Verlauf der Reaktion von 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-4** mit 4-Methylthiophenol **32**



Man erkennt, daß die anfänglich hohe Reaktionsgeschwindigkeit langsam abnimmt, bis sich ein Gleichgewicht einstellt. Alle anderen untersuchten Verbindungen zeigen einen analogen Verlauf, wobei sich jedoch die Kurven der einzelnen Substanzen zum Teil erheblich in ihrer Steilheit unterscheiden.

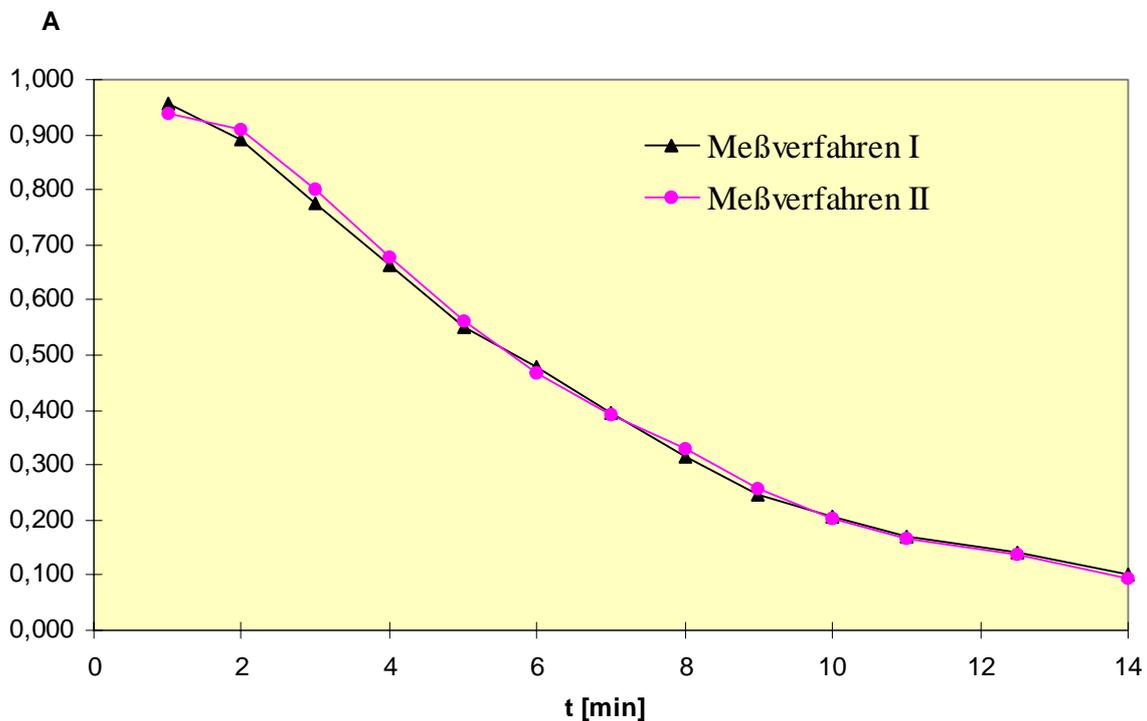
Einige 3-Sulfonyl-1-propanone und die meisten der untersuchten 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone weisen unter diesen Bedingungen eine so hohe Reaktionsgeschwindigkeit mit 4-Methylthiophenol auf, daß die Bestimmung nach der oben beschriebenen Methode (Meßverfahren I) zu wenig Daten liefert oder ganz unmöglich ist. In diesen Fällen wurde das Verfahren modifiziert (Meßverfahren II):

Anstatt die Messungen durch häufige Probenentnahme in geeigneten Intervallen aus nur einem Reaktionsansatz durchzuführen, wurde für jeden einzelnen Meßpunkt eine dem oben beschriebenen Verfahren äquivalente Menge der Lösungen A, B und Phosphatpuffer direkt in die Meßküvette pipettiert ($t = 0$ bei Pufferzugabe).

Die Reaktionszeit ist dabei über das Intervall zwischen Pufferzugabe und Zusatz der DTNB-Lösung steuerbar, die Konzentrationsbestimmung von 4-Methylthiophenol erfolgte dann auf dem beschriebenen Weg.

Der Unterschied zu Meßverfahren I liegt darin, daß sich die Zeit-Umsatz-Kurve nicht aus den Meßergebnissen nur eines Ansatzes ergibt, sondern aus den vieler Einzelansätze mit verschiedenen Reaktionszeiten.

In Abbildung 9 sind am Beispiel der Bestimmung des Reaktionsverlaufs von 3,4-Dihydro-2-phenylsulfonylmethyl-1(2*H*)-naphthalinon **30-1** und 4-Methylthiophenol die Ergebnisse beider Verfahren gegenübergestellt.

Abbildung 9: Vergleich der Meßverfahren I und II

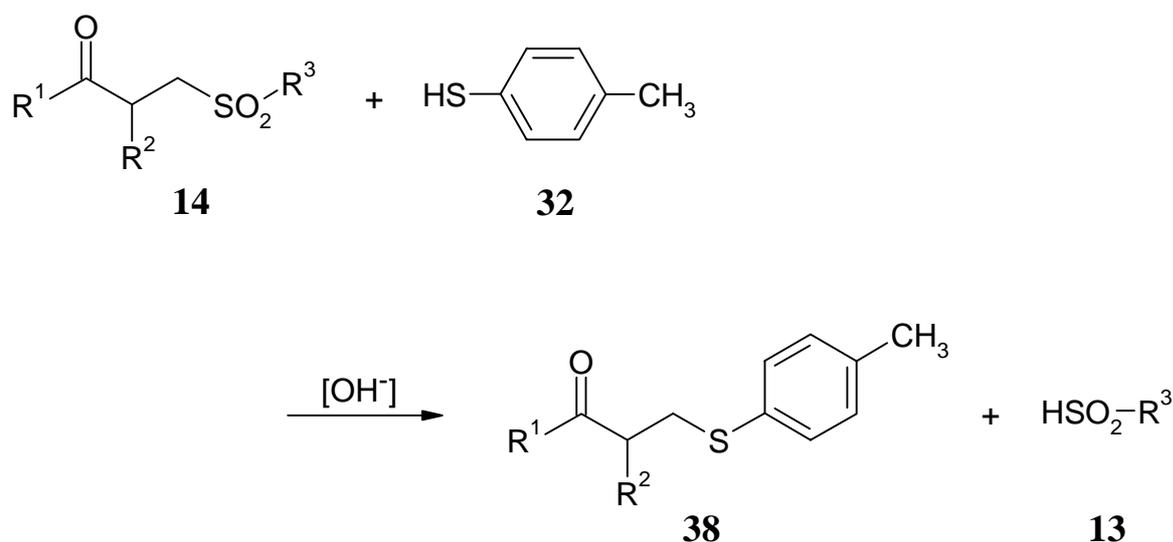
Beide Methoden ergeben einen nahezu identischen Kurvenverlauf. Jedoch hat das Verfahren II neben dem verhältnismäßig hohen Arbeitsaufwand den Nachteil, daß die Meßwerte stärker streuen: Zum einen wirken sich Pipettierfehler aufgrund der kleinen Ansatzgröße relativ stark aus, zum anderen machen sich insbesondere bei sehr kurzen Zeitintervallen bis zur Zugabe der DTNB-Lösung Ungenauigkeiten bei der Zeitmessung bemerkbar, so daß - soweit möglich - Meßverfahren I vorgezogen wurde.

3.1.4. Bestimmung der Reaktionsordnung und des Zeitgesetzes

Zunächst muß die Reaktionsordnung, nach der die Umsetzung in Bezug auf den vermessenen Reaktanden erfolgt, bestimmt werden. Mit Hilfe des zugehörigen Zeitgesetzes läßt sich daraus dann die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante berechnen.

Die allgemeine Form der Reaktion, die meinen kinetischen Untersuchungen zugrunde liegt, ist in Gleichung 4 wiedergegeben:

Gleichung 4:



Eine sichere Methode zur direkten Ermittlung der Reaktionsordnung aus der Bruttoreaktionsgleichung existiert nicht. Man kann aufgrund der Stöchiometrie der Reaktion und des vermuteten Reaktionsmechanismus ein Zeitgesetz auswählen und probiert mit numerischen oder graphischen Methoden aus, ob mit seiner Hilfe die Zusammenhänge zwischen Konzentration und Zeit richtig wiedergegeben werden⁶⁰.

⁶⁰ A. A. Frost, R. G. Pearson; *Kinetik und Mechanismen homogener chemischer Reaktionen*, 37, Verlag Chemie, Weinheim, 1973

Die Ordnung n der in Gleichung 4 dargestellten Reaktion in Bezug auf den Reaktanden 4-Methylthiophenol ist durch seine Konzentration C und deren zeitliche Änderung definiert.

$$-dC/dt = k \times C^n$$

In logarithmierter Form lautet diese Gleichung:

$$\log(-dC/dt) = \log k + n \times \log C$$

Die Ordnung n der Konzentrationsabnahme von 4-Methylthiophenol ergibt sich direkt aus der Steigung der Geraden, die man durch graphische Darstellung von $\log(-dC/dt)$ gegen $\log C$ erhält. Diese Methode zur Bestimmung der Reaktionsordnung ist als „van't Hoff'sche Methode“ bekannt und läßt sich auch auf Konzentrations-Zeit-Daten anwenden⁶¹: Die zahlenmäßige Ermittlung des Differenzialquotienten $-dC/dt$ erfolgt hierbei durch die häufig verwendete und auf das Zentrum des Zeitintervalls Δt bezogene Näherung $dC/dt \approx \Delta C/\Delta t$.

Wenn die Augenblickskonzentration C durch die Konzentration \bar{C} in der Mitte des Intervalls ΔC ersetzt wird, gilt näherungsweise:

$$\log(-\Delta C/\Delta t) \approx \log k + n \times \log \bar{C}$$

Die Messung der jeweiligen Konzentrationen in stets gleichen Zeitintervallen führt dazu, daß Δt konstant ist und vereinfacht die Gleichung:

$$\log(-\Delta C) \approx \text{const.} + n \times \log \bar{C}$$

⁶¹ E. S. Swinbourne; *Auswertung und Analyse kinetischer Messungen*, 68, Verlag Chemie, Weinheim, 1975

Die Reaktionsordnung n ergibt sich demnach aus der Geradensteigung einer Auftragung von $\log(-\Delta C)$ gegen $\log \bar{C}$. Die Art der Auftragung ist in zahlreichen Varianten durchführbar. Bei der spektralphotometrischen Bestimmung von 4-Methylthiophenol mit DTNB ist die gemessene Absorption A der vorhandenen Konzentration C direkt proportional (s. Abbildung 7), so daß die Bestimmung der Reaktionsordnung unmittelbar aus der Auftragung von $\log(-\Delta A)$ gegen $\log \bar{A}$ erfolgen kann.

Zur Bestimmung der Reaktionsordnung führte ich nach dem in Kapitel 3.1.3. beschriebenen Meßverfahren I Versuche mit 3-Sulfonyl-1-propanon **26-12**, 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanon **29-3** und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinon **30-5** durch. Für jede dieser Verbindungen wurden aus jeweils frisch hergestellten Lösungen zwei Zeit-Umsatz-Kurven aufgenommen.

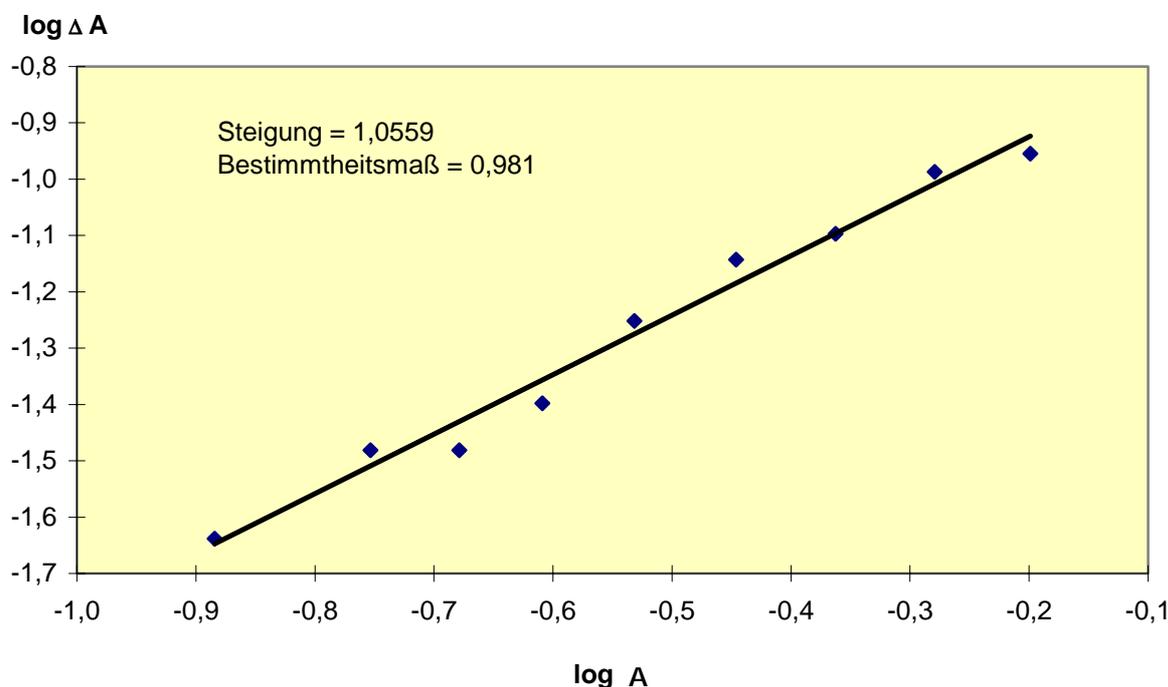
Ihre graphische Darstellung erfolgte durch Interpolation der gemessenen Werte auf Basis einer polynomischen Funktion 6. Ordnung. So wird eine gute Anpassung der Kurve an die Meßdaten gewährleistet und gleichzeitig vermieden, daß zufällige Fehler bei der Messung von Einzelwerten unmittelbar in die Bestimmung der Reaktionsordnung eingehen. Die Regressionsgerade wurde aus einer Auftragung der Logarithmen der Absorptionsänderung ($\log -\Delta A$) in stets gleich großen Zeitintervallen gegen die Logarithmen der mittleren Absorption ($\log \bar{A}$) in diesem Intervall nach der „Methode der Summe der kleinsten Quadrate“ berechnet.

Für die Auswertung wurden nur Meßdaten zwischen 20% und 70% Umsatzrate berücksichtigt. Außerhalb dieses Bereichs wirken sich experimentelle Fehler durch den schnellen Reaktionsverlauf zu Beginn und hohe relative Abweichungen am Ende der Reaktion stark auf das Ergebnis der Berechnungen aus.

Durch Einwaage eines fünffachen Sulfonüberschusses gegenüber 4-Methylthiophenol wird das Gleichgewicht der Reaktion so weit auf die Seite der Produkte verschoben, daß die Rückreaktion in dem für die Auswertung verwendeten Bereich vernachlässigt werden kann.

In Abbildung 10 ist die Ermittlung der Reaktionsordnung am Beispiel der Umsetzung von 1-(4-Chlorphenyl)-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-2-phenyl-1-propanon **26-12** mit 4-Methylthiophenol dargestellt.

Abbildung 10: Ermittlung der Reaktionsordnung nach der Methode der logarithmierten Differenzen



Die Ergebnisse der Bestimmungen der Reaktionsordnung nach der „van't Hoff'schen Methode“ mit den Verbindungen **26-12**, **29-3** und **30-5** sind in Tabelle **12** aufgeführt.

Tabelle 12: Übersicht über die Versuche zur Ermittlung der Reaktionsordnung

Verbindung	Geradensteigung	Bestimmtheitsmaß
26-12	1,056	0,981
	1,015	0,986
29-3	1,049	0,969
	0,989	0,975
30-5	1,033	0,991
	0,996	0,997

Reaktionen, die nach dieser Methode eine Geradensteigung zwischen 0,9 und 1,1 liefern, werden als Reaktionen 1. Ordnung klassifiziert ⁶². Bei allen in Tabelle **12** zusammengefaßten Bestimmungen wurden Steigungen in diesem Bereich ermittelt. Unter der Voraussetzung, daß die Versuchsbedingungen - insbesondere der pH-Wert - weitestgehend konstant bleiben, verläuft die in Gleichung **4** dargestellte Reaktion in Bezug auf das Nucleophil in dem untersuchten Meßbereich nach einer Kinetik 1. Ordnung. Das Zeitgesetz für Reaktionen 1. Ordnung, mit dem sich die Abnahme der Konzentration von 4-Methylthiophenol beschreiben läßt, ist durch das Produkt aus Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k und Konzentration C des Nucleophils definiert:

$$-dC/dt = k \times C$$

⁶² E. S. Swinbourne; *Auswertung und Analyse kinetischer Messungen*, 70, Verlag Chemie, Weinheim, **1975**

3.1.5. Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten

Auf der Grundlage des in Kapitel 3.1.4. ermittelten Zeitgesetzes läßt sich die reaktionsspezifische Geschwindigkeitskonstante k berechnen. Die Integration der Geschwindigkeitsgleichung für Reaktionen 1. Ordnung führt zu der Beziehung:

$$k \times t = \ln \frac{C_0}{C_t}$$

Wie bei der Bestimmung des Zeitgesetzes kann auch hier die Konzentration C durch die Absorption A ersetzt werden, so daß gilt:

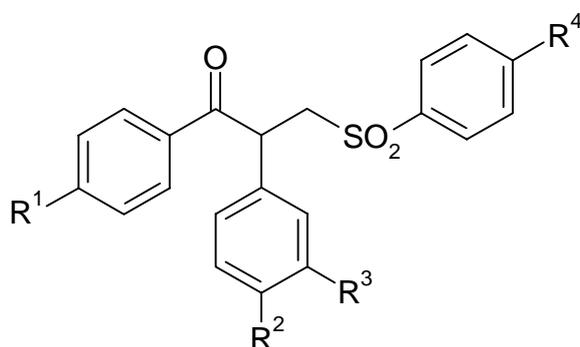
$$\begin{aligned} k \times t &= \ln \frac{A_0}{A_t} \\ \Rightarrow \ln A_t &= \ln A_0 - k \times t \end{aligned}$$

Durch graphische Darstellung von $\ln A_t$ gegen die Zeit t erhält man eine Gerade, deren Steigung dem negativen Wert der Geschwindigkeitskonstanten ($-k$) entspricht.

Für jede untersuchte Verbindung wurden alle drei experimentell bestimmten Zeit-Umsatz-Kurven zur Ermittlung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten ausgewertet. In den Tabellen **13** bis **16** sind die Mittelwerte aus den einzelnen Bestimmungen nach abnehmender Reaktionsgeschwindigkeit aufgeführt; die Geschwindigkeitskonstante ist in der Einheit min^{-1} ausgedrückt. Zur besseren Übersicht sind zusätzlich die negativen dekadischen Logarithmen der Geschwindigkeitskonstanten als pk -Werte angegeben; kleine pk -Werte bedeuten hohe Reaktionsgeschwindigkeiten.

Für die Auswertung wurden wie bei der Bestimmung der Reaktionsordnung nur die Meßwerte im Bereich von 20% bis 70% der Umsetzung berücksichtigt, die Berechnung der Regressionsgeraden erfolgte wie auf Seite 48 beschrieben.

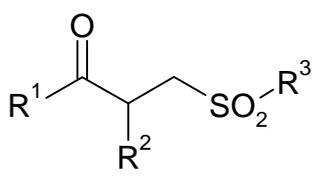
Tabelle 13: Geschwindigkeitskonstanten für 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	k [min ⁻¹]	p _k
18-5	-Cl	-Cl	-H	-Cl	1,41 · 10 ⁻¹	0,85
18-4	-Cl	-Cl	-H	-CH ₃	1,24 · 10 ⁻¹	0,91
26-14	-H	-H	-Cl	-Cl	8,56 · 10 ⁻²	1,07
26-9	-H	-H	-Cl	-CH ₃	6,17 · 10 ⁻²	1,21
26-11	-H	-Cl	-H	-Cl	5,41 · 10 ⁻²	1,27
18-1	-H	-Cl	-H	-CH ₃	4,11 · 10 ⁻²	1,39
26-12	-Cl	-H	-H	-Cl	3,87 · 10 ⁻²	1,41

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	k [min ⁻¹]	pk
26-3	-H	-Cl	-H	-H	3,89·10 ⁻²	1,41
26-13	-CH ₃	-Cl	-H	-Cl	3,74·10 ⁻²	1,43
18-2	-Cl	-H	-H	-CH ₃	2,39·10 ⁻²	1,62
26-8	-CH ₃	-Cl	-H	-CH ₃	2,51·10 ⁻²	1,60
26-10	-H	-H	-H	-Cl	1,38·10 ⁻²	1,86
26-1	-H	-H	-H	-H	1,13·10 ⁻²	1,95
26-4	-H	-H	-H	-CH ₃	1,03·10 ⁻²	1,99
26-16	-H	-CH ₃	-H	-Cl	9,70·10 ⁻³	2,01
26-2	-H	-CH ₃	-H	-H	7,40·10 ⁻³	2,13
26-15	-CH ₃	-H	-H	-Cl	6,93·10 ⁻³	2,16
26-5	-H	-CH ₃	-H	-CH ₃	6,57·10 ⁻³	2,18
26-17	-CH ₃	-CH ₃	-H	-Cl	6,07·10 ⁻³	2,22
26-6	-CH ₃	-H	-H	-CH ₃	5,40·10 ⁻³	2,27
26-7	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃	3,93·10 ⁻³	2,41
18-3	-OCH ₃	-H	-H	-CH ₃	3,03·10 ⁻³	2,52

Tabelle 14: Geschwindigkeitskonstanten für 3-Sulfonyl-1-propanone



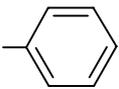
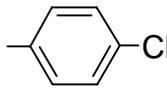
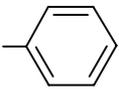
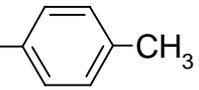
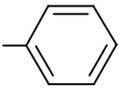
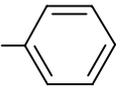
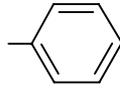
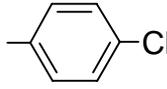
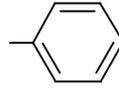
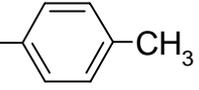
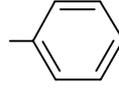
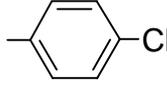
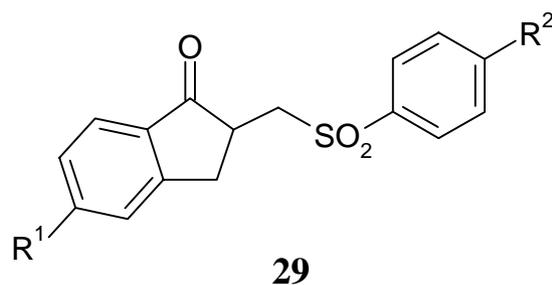
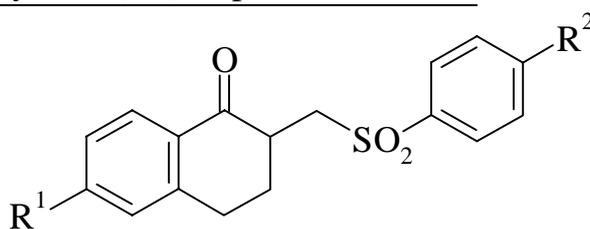
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	k [min ⁻¹]	pk
21-2		-H		4,31	-0,63
21-1		-H		1,77	-0,25
18-6			-CCl ₃	3,40·10 ⁻²	1,47
26-20	-CH ₃			2,11·10 ⁻²	1,68
26-18		-CH ₃		4,07·10 ⁻³	2,39
26-19		-CH ₃		3,87·10 ⁻³	2,41

Tabelle 15: Geschwindigkeitskonstanten für 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-
1-indanone **29**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	k [min ⁻¹]	p _k
29-2	-H	-Cl	1,04	-0,02
29-1	-H	-CH ₃	8,55·10 ⁻¹	0,07
29-4	-OCH ₃	-Cl	4,45·10 ⁻¹	0,35
29-3	-OCH ₃	-CH ₃	2,42·10 ⁻¹	0,62

Tabelle 16: Geschwindigkeitskonstanten für 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-
3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **30**

**30**

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	k [min ⁻¹]	p _k
30-1	-H	-H	1,71·10 ⁻¹	0,77
30-3	-H	-Cl	1,54·10 ⁻¹	0,81
30-2	-H	-CH ₃	9,71·10 ⁻²	1,01
30-5	-OCH ₃	-Cl	5,07·10 ⁻²	1,29
30-4	-OCH ₃	-CH ₃	3,59·10 ⁻²	1,44

3.1.6. Auswertung der kinetischen Daten

Anhand der im vorangegangenen Abschnitt ermittelten kinetischen Daten läßt sich klären, wie und in welchem Ausmaß die Substituenten der untersuchten Verbindungen die Geschwindigkeit der Reaktion mit dem Nucleophil beeinflussen.

Zunächst untersuchte ich die in Tabelle **13** zusammengefaßten 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone. Häufig läßt sich die Einflußnahme meta- und paraständiger Substituenten an Aromaten auf die Reaktionsgeschwindigkeit mit Hilfe der σ -Hammett-Substituentenkonstanten annähernd quantitativ beschreiben⁶³. Trägt man die p_k -Werte von Verbindungen, die sich nur durch die Substituenten an einem Phenylrest unterscheiden, gegen die σ -Hammett-Konstanten²² dieser Substituenten auf, kann die Gültigkeit der σ -Hammett-Beziehung überprüft werden. Zu diesem Zweck wurden 15 Verbindungen in 4 Meßreihen unterteilt:

Meßreihe 1: 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanone, die sich nur durch Substituenten am Phenylrest 1 unterscheiden

Meßreihe 2: 1,2-Diphenyl-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-propanone, die sich nur durch Substituenten am Phenylrest 1 unterscheiden

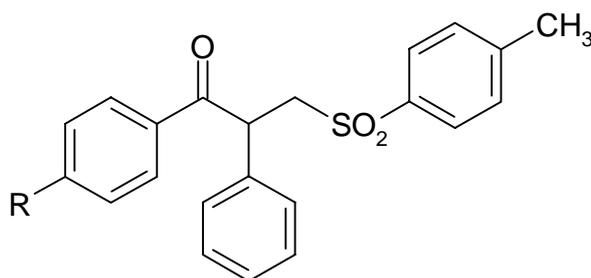
Meßreihe 3: 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanone, die sich nur durch Substituenten am Phenylrest 2 unterscheiden

Meßreihe 4: 1,2-Diphenyl-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-propanone, die sich nur durch Substituenten am Phenylrest 2 unterscheiden

⁶³ P. Sykes; *Reaktionsmechanismen der Organischen Chemie*, 9. Aufl., 427, Verlag Chemie, Weinheim, **1988**

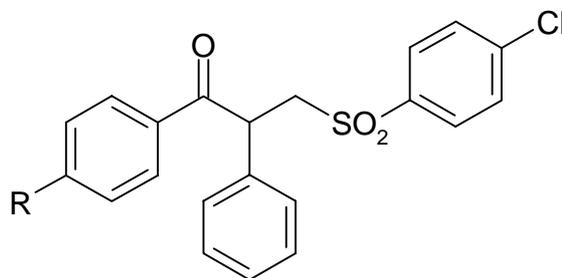
Die den Meßreihen zugeordneten Verbindungen sind mit ihren pK -Werten und den σ -Hammett-Konstanten für die Substituenten in den Tabellen **17** bis **20** zusammengefaßt:

Tabelle 17: An Phenylrest 1 substituierte 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenyl-sulfonyl)-1-propanone (Meßreihe 1)



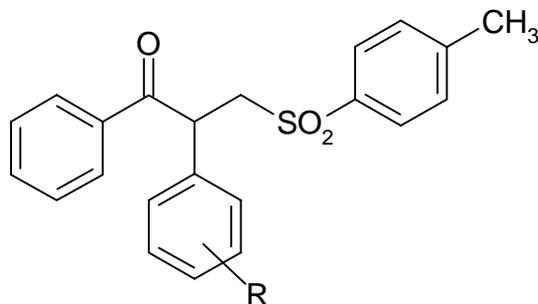
Verb.-Nr.	R	pK -Wert	σ -Hammett-Konstante
18-2	-Cl	1,62	0,23
26-4	-H	1,99	0
26-6	-CH ₃	2,27	-0,17
18-3	-OCH ₃	2,52	-0,27

Tabelle 18: An Phenylrest 1 substituierte 1,2-Diphenyl-3-(4-chlorphenyl-sulfonyl)-1-propanone (Meßreihe 2)



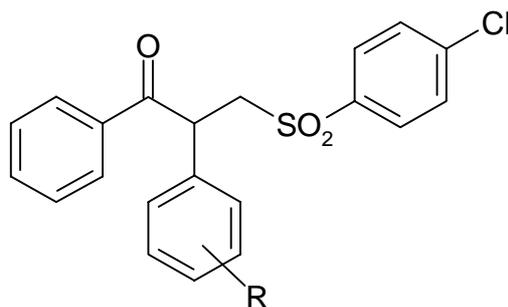
Verb.-Nr.	R	pK -Wert	σ -Hammett-Konstante
26-12	-Cl	1,41	0,23
26-10	-H	1,86	0
26-15	-CH ₃	2,16	-0,17

Tabelle 19: An Phenylrest 2 substituierte 1,2-Diphenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanone (Meßreihe 3)



Verb.-Nr.	R	pK-Wert	σ -Hammett-Konstante
26-9	- m-Cl	1,21	0,37
18-1	- p-Cl	1,39	0,23
26-4	- H	1,99	0
26-5	- p-CH ₃	2,18	-0,17

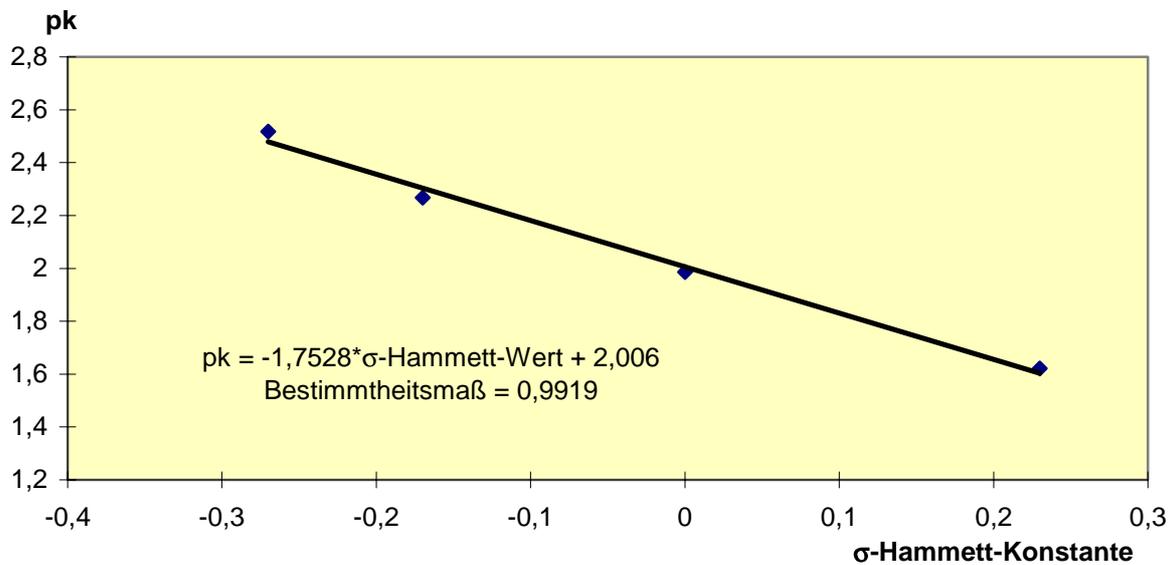
Tabelle 20: An Phenylrest 2 substituierte 1,2-Diphenyl-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-propanone (Meßreihe 4)



Verb.-Nr.	R	pK-Wert	σ -Hammett-Konstante
26-14	- m-Cl	1,07	0,37
26-11	- p-Cl	1,27	0,23
26-10	- H	1,86	0
26-16	- p-CH ₃	2,01	-0,17

In Abbildung 11 ist die Auswertung der Meßreihen am Beispiel von Reihe 1 dargestellt. Eine Auftragung der p_k -Werte gegen die σ -Hammett-Konstanten ergibt einen linearen Zusammenhang, der durch die Regressionsgerade beschrieben wird.

Abbildung 11: Zusammenhang zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und σ -Hammett-Konstanten am Beispiel von Meßreihe 1



Die drei anderen Meßreihen zeigen einen ähnlichen Verlauf wie das in Abbildung 11 dargestellte Beispiel mit einer ebenso guten Korrelation der Werte. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Tabelle 21 zusammengefaßt:

Tabelle 21: Auswertung der Meßreihen 1-4

Meßreihe	Regressionsgerade	Bestimmtheitsmaß
1	$y = -1,753 x + 2,01$	0,9919
2	$y = -1,870 x + 1,85$	0,9991
3	$y = -1,926 x + 1,90$	0,9773
4	$y = -1,873 x + 1,75$	0,9708

Anhand dieser Ergebnisse wird der Einfluß der Substituenten deutlich: wenn ein Phenylrest in meta- oder para-Stellung einen elektronenliefernden Substituenten trägt (negativer σ -Hammett-Wert), sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit im Vergleich zu Verbindungen mit unsubstituierten Phenylresten proportional zur Größe des Betrags der σ -Hammett-Konstanten. Hat der Substituent elektronenanziehende Eigenschaften (positiver σ -Hammett-Wert), steigt sie in gleichem Maße an.

Diese Ergebnisse sind nicht überraschend: Bei Annahme eines Eliminierungs-Additionsmechanismus verläuft der Eliminierungsschritt durch die Abhängigkeit der Reaktion von der Hydroxylionenkonzentration nach einem E2-Mechanismus^{64,65}. Die Abspaltung eines Protons vom β -Kohlenstoff-Atom als Voraussetzung für die Eliminierung wird durch elektronenziehende Substituenten begünstigt, ebenso die Addition des Nucleophils aufgrund der stärkeren Polarisierung der Doppelbindung.

Bei einer nucleophilen Substitution wird die Reaktion über die Abnahme der negativen Ladungsdichte am C-3-Atom ebenfalls beschleunigt. Für Verbindungen mit elektronenliefernden Substituenten kehrt sich dieser Effekt um und führt zu einer Verlangsamung der Reaktion.

⁶⁴ E. S. Gould; *Mechanismus und Struktur in der organischen Chemie*, 568 ff, Verlag Chemie, Weinheim, 1962

⁶⁵ R. Borchert-Bremer, Dissertation, Hamburg 1980, 143 ff

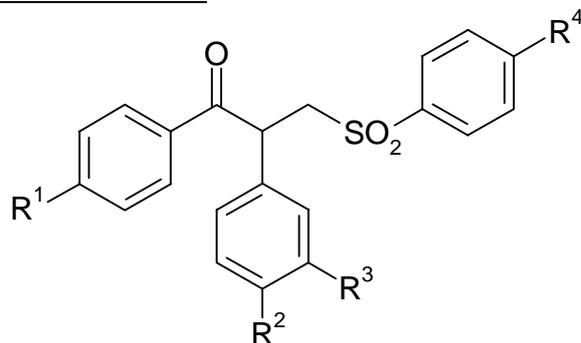
Weil sich der Einfluß der Substituenten auf die Reaktionsgeschwindigkeit mit Hilfe der σ -Hammett-Konstanten innerhalb der Meßreihen 1-4 (Tabellen **17** bis **20**) quantitativ gut beschreiben läßt, ist es auch möglich, alle in Tabelle **13** zusammengefaßten Verbindungen direkt miteinander zu vergleichen und ihre Reaktionsgeschwindigkeiten mit Hilfe einer „reaktionsspezifischen Substituentenkonstanten“ vorauszuberechnen.

Zu diesem Zweck habe ich aus den Geschwindigkeitskonstanten k nach der Formel

$$t_{0,5 \text{ exp}} = \frac{\ln 2}{k}$$

die Zeit berechnet, nach der die Hälfte des Nucleophils umgesetzt war (= $t_{0,5 \text{ exp}}$). Auf dieser Basis wurde für jeden Substituenten der Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit im Vergleich zu Wasserstoff bestimmt: Durch Division von $t_{0,5 \text{ exp}}$ der Verbindungen mit dem zu untersuchenden Substituenten (R^1 - R^4) durch $t_{0,5 \text{ exp}}$ von den an dieser Position unsubstituierten, sonst aber strukturgleichen Substanzen wurden Quotienten erhalten, deren Mittelwerte als reaktionsspezifische Substituentenkonstanten in Tabelle **22** zusammengefaßt sind. Für jeden Substituenten wurden alle nach Tabelle **13** möglichen Verbindungspaare kombiniert. Nähere Angaben zur Berechnung sind dem experimentellen Teil zu entnehmen.

Tabelle 22: Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Substituenten
an den Phenylresten



Reaktionsspezifische Substituentenkonstante

Substituent	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
-H	1	1	1	1
-Cl	0,37	0,24	0,16	0,81
-CH ₃	1,70	1,40	-	1,12
-OCH ₃	3,36	-	-	-

Elektronenziehende Substituenten am Phenylrest an C-2 des Propanongrundgerüsts beschleunigen die Reaktion stärker als am Phenylrest an C-1, was durch die Nähe zum Reaktionszentrum zu erklären ist. Hingegen führen elektronenliefernde Substituenten am Phenylrest an C-1 durch die Abschwächung des Elektronenzugs der Carbonylgruppe zu der größten Reaktionsverlangsamung. Der Einfluß von elektronenziehenden und -liefernden Substituenten am Phenylsulfonylest wird durch die nur sehr geringe Mesomeriefähigkeit der Sulfon-Gruppe abgeschirmt und ist dadurch am schwächsten ausgeprägt.

Durch Multiplikation der reaktionsspezifischen Substituentenkonstanten (Tabelle 22) mit der Zeit, nach der die Standardsubstanz **26-1** die halbe Menge Nucleophil umgesetzt hat, kann diese „Halbwertszeit“ für alle substituierten Verbindungen berechnet werden. In Tabelle 23 sind die berechneten Zeiten ($t_{0,5}$ ber) den experimentell ermittelten gegenübergestellt.

Tabelle 23: Berechnete und experimentell ermittelte Halbwertszeiten [min] für
die Umsetzung des Nucleophils

Bezug: Verbindung **26-1** ($R^1-R^4 = H$) $t_{0,5 \text{ exp}} = 61,35 \text{ min}$

Verb.-Nr.	$t_{0,5 \text{ ber}}$	$t_{0,5 \text{ exp}}$	Verb.-Nr.	$t_{0,5 \text{ ber}}$	$t_{0,5 \text{ exp}}$
18-5	4	5	26-10	50	51
18-4	6	6	26-4	69	68
26-14	8	8	26-16	70	72
26-9	10	11	26-2	86	94
26-11	12	13	26-15	85	100
18-1	17	17	26-5	96	106
26-3	15	18	26-17	118	116
26-12	18	18	26-6	117	128
26-13	20	19	26-7	164	177
26-8	28	28	18-3	231	230
18-2	25	29			

Die berechneten Werte weisen ein hohes Maß an Übereinstimmung mit den gemessenen auf. Dies kann ein wichtiger Schritt für die rationale Entwicklung von Transportformen für Arzneistoffe sein: Wenn ein Zusammenhang zwischen Reaktionskinetik und Wirkung besteht, kann von der Leitstruktur ausgehend eine gezielte Synthese verbesserter Substanzen auf der Grundlage eines solchen Rechenmodells erfolgen.

Ein Vergleich der 1,2-diphenylsubstituierten 3-Sulfonyl-1-propanone mit den in Tabelle 14 zusammengefaßten Substanzen zeigt, daß der Austausch des Phenylrests an C-2 durch eine Methylgruppe zu einer Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit um den Faktor 3 führt, was hauptsächlich auf den

elektronenliefernden Effekt der Methylgruppe zurückzuführen ist. Bei in 2-Stellung unsubstituierten 1-Phenyl-3-sulfonyl-1-propanonen ist die Reaktion stark beschleunigt: die CH-Acidität des zur Carbonylfunktion α -ständigen Kohlenstoffs ist erhöht ⁶⁶, und es kommt zu keiner sterischen Behinderung durch voluminöse Substituenten.

Der Ersatz des Phenylsulfonyl- durch einen Trichlormethylsulfonylrest bewirkt durch den hohen Elektronenzug dieser Gruppe ebenfalls eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit (Faktor ≈ 3).

Die Auswertung der kinetischen Daten der 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone **29** (Tabelle 15) und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **30** (Tabelle 16) bestätigt die bisherigen Ergebnisse. Die Einführung einer Methoxygruppe in 5-Stellung bei **29** bzw. 6-Stellung bei **30** führt zu einer Verlangsamung der Reaktion um den Faktor ≈ 3 ; der Einfluß para-ständiger Substituenten des Phenylsulfonylrests auf die Reaktionsgeschwindigkeit ist bei den Indanon- und Tetrahydronaphthalinonderivaten ungefähr ebenso groß wie bei allen untersuchten 3-Sulfonyl-1-propanon-Derivaten. Insgesamt reagieren im Vergleich zu den 1,2-Diphenyl-3-sulfonyl-1-propanonen die Indanone **29** rund 80 und die Tetrahydronaphthalinone **30** ca. 10 mal schneller.

⁶⁶ H. F. Ebel; *Die Acidität der CH-Säuren*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1969

4. Einfluß β -substituierter γ -Oxosulfone auf die Aktivität von Enzymen

Nachdem die Substituenteneffekte der dargestellten Sulfone auf die Reaktionsgeschwindigkeit mit 4-Methylthiophenol als Nucleophil untersucht waren, sollte nun geklärt werden, ob die ermittelten Daten mit der biologischen Aktivität korrelieren. Dazu wurden zunächst einige ausgesuchte Verbindungen im Röhrenverdünnungstest gegen humanpathogene Pilze untersucht (s. Kapitel 5). Die Ergebnisse streuen jedoch so sehr, daß lediglich tendenziell Struktur-Wirkungs-Zusammenhänge erkennbar sind. Um genauere Ergebnisse zu erhalten, habe ich versucht, die Hemmwirkung der dargestellten Sulfone gegenüber Enzymen quantitativ zu bestimmen.

Aufgrund der bereits diskutierten Reaktivität gegenüber Nucleophilen müßten β -substituierte γ -Oxosulfone solche Enzyme hemmen, die in ihrem aktiven Zentrum SH-Gruppen besitzen. Um diese Hemmung quantitativ zu erfassen, mußte ein Testverfahren entwickelt werden, das die reproduzierbare Messung der Enzymaktivität unter optimierten Bedingungen mit und ohne Hemmstoff ermöglicht.

Besondere Anforderungen waren an das Lösungsmittel zu stellen: Es muß mit Wasser mischbar sein und eine ausreichende Löslichkeit für anorganische Salze (Puffergemisch) sowie organische Verbindungen (Enzym, Coenzym, Substrat und Hemmstoff) bieten. Außerdem darf es die Aktivität des Enzyms nicht zu sehr verringern.

Substrat und Coenzym sind in deutlichem Überschuß einzusetzen, so daß das Enzym über einen weiten Bereich damit gesättigt bleibt. Unter diesen Bedingungen verläuft die Reaktion nach nullter Ordnung und die Reaktionsgeschwindigkeit ist der Enzymaktivität direkt proportional.

Weiterhin war ein Verfahren anzustreben, mit dem im Reaktionsansatz kontinuierlich die umgesetzte Stoffmenge direkt gemessen werden konnte. Hierzu sind photometrische Methoden besonders geeignet: Über die Konzentrationsveränderung des Substrats oder eines Coenzym kann die Reaktionsgeschwindigkeit unmittelbar aus der Absorptionsänderung bestimmt werden.

4.1. Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase

Als Testenzym wählte ich zunächst Glutathion-Reduktase. Dieses Enzym schien mir geeignet, da es pro Molekül zwei reaktive SH-Gruppen enthält⁶⁷⁻⁶⁸. Darüber hinaus konnten Dimmock et al. nachweisen, daß Mannich-Basen konjugierter Styryl-Ketone, die ähnlich wie γ -Oxosulfone über eine Alkylierung von SH-Gruppen wirken sollen, die Aktivität von Glutathion-Reduktase noch in Konzentrationen von 0,1 mmol hemmen⁶⁹.

Glutathion-Reduktase gehört zu den Flavoproteinen und spielt über die Aufrechterhaltung des interzellulären Glutathionspiegels eine wichtige Rolle beim Schutz der Zelle gegen oxidativen Streß⁷⁰.

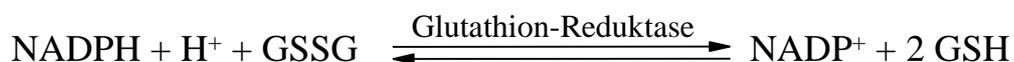
⁶⁷ V. Massey, C. H. Williams, Jr., *J. Biol. Chem.* **240**, 4470 (1965)

⁶⁸ R. D. Mavis, E. Stellwagen, *J. Biol. Chem.* **243**, 809 (1968)

⁶⁹ J. R. Dimmock, P. Kumar, E. K. Manavathu, N. Obedeau, J. Grewal, *Pharmazie* **49**, 909 (1994)

⁷⁰ D. M. Goldberg, J. Spooner in: *Methods of enzymatic analysis*, 3. Aufl., 258, Verlag Chemie, Weinheim, **1983**

Das Enzym katalysiert mit hoher Spezifität die NADPH-abhängige Reduktion von Glutathion-Disulfid (GSSG) zu Glutathion (GSH) ⁷¹:



Das Reaktionsgleichgewicht liegt weitestgehend auf der Seite des Glutathions ⁷⁰; die Rückreaktion läuft nur bei sehr hohen Konzentrationen an Glutathion und NADP^+ ab ⁷², so daß sie zu Beginn der Aktivitätsbestimmung vernachlässigt werden kann.

Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit bietet sich bei NADPH-abhängigen Reduktasen die spektralphotometrische Erfassung der Konzentrationsabnahme von NADPH an. Das Dihydropyridinsystem der reduzierten Form besitzt ein breites Absorptionsmaximum bei 339 nm, während die oxidierte Form, das Pyridinsystem von NADP^+ , bei dieser Wellenlänge nicht absorbiert. Die Absorptionsabnahme bei 339 nm ist somit der Wasserstoffabgabe von NADPH und damit der Reaktionsgeschwindigkeit direkt proportional.

Als Puffersystem wählte ich mit Natronlauge auf pH 9.0 eingestelltes Kaliumdihydrogenphosphat. Dieser pH-Wert begünstigt die Reaktion der zu untersuchenden Sulfone mit Nucleophilen (s. Kapitel 3) und bietet eine ausreichende Enzymaktivität von 50-80% des Maximalwerts ^{71•73•74}. Die Enzymaktivität wird durch Zusatz von EDTA gesteigert, indem die Ausbildung von Enzymaggregaten verhindert wird ⁷⁰.

⁷¹ I. Carlberg, B. Mannervik, *Methods Enzymol.* **113**, 484 (1985)

⁷² B. Halliwell, C. H. Foyer, *Planta* **139**, 9 (1978); *Enzyme Handbook*, 1.6.4.2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1994)

⁷³ W. Bielawski, K. W. Joy, *Phytochemistry* **25**, 2261 (1986); *Enzyme Handbook*, 1.6.4.2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1994)

⁷⁴ S. Ida, Y. Morita, *Agric. Biol. Chem.* **35**, 1550 (1971); *Enzyme Handbook*, 1.6.4.2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1994)

Die Messungen wurden bei 25°C durchgeführt. Bei dieser Temperatur ist die Aktivität von Glutathion-Reduktase am höchsten ⁷⁵; ferner wurden durch die kleine Differenz zur Raumtemperatur Temperaturschwankungen weitgehend vermieden. Dies ist besonders wichtig, da Abweichungen von einem Grad die Reaktionsgeschwindigkeit um mehr als 10% beeinflussen können ⁷⁶.

Die Ermittlung eines geeigneten Lösungsmittelgemischs war sehr zeitaufwendig: Als am besten geeignet erwies sich Wasser mit einem Zusatz von 30% DMF; auch lipophilere Sulfone bleiben bis zu einer Konzentration von 10⁻⁴ mol·l⁻¹ darin noch gelöst. Die katalytische Aktivität der Glutathion-Reduktase wird allerdings auf ca. 26% reduziert.

Die kontinuierliche Aufzeichnung der Absorptionsabnahme von NADPH ergab einen linearen Verlauf der Zeit-Umsatz-Kurve innerhalb der ersten 20 Sekunden nach Reaktionsstart, so daß diese Zeitspanne die Grundlage für die Aktivitätsbestimmungen bildete. Da die Reaktionsbedingungen für alle Versuche konstant gehalten wurden, verzichtete ich bei den Auswertungen auf die Berechnung der Aktivität in absoluten Größen wie „Internationalen Einheiten“. Statt dessen wurde die Absorptionsänderung im Reaktionsansatz ohne Hemmstoff als 100% Aktivität festgesetzt und aus der Absorptionsabnahme des mit Sulfon inkubierten Reaktionsansatzes die prozentuale Restaktivität ermittelt:

$$\% \text{ Restaktivität} = \frac{\Delta A_{\text{mit Hemmstoff}}}{\Delta A_{\text{ohne Hemmstoff}}} \cdot 100$$

⁷⁵ C. H. Williams, L. D. Arscott, *Methods Enzymol.* **17**, 503 (1971)

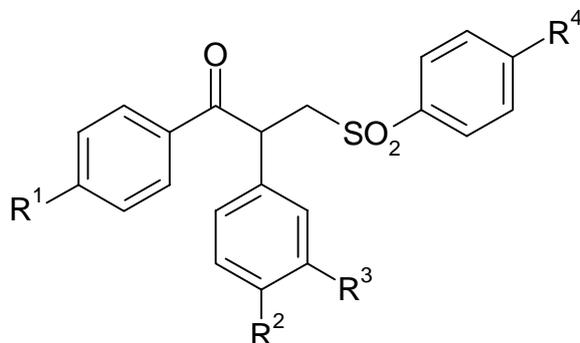
⁷⁶ H. U. Bergmeyer; *Grundlagen der enzymatischen Analyse*, 58, Verlag Chemie, Weinheim, **1977**

Im folgenden wird die praktische Durchführung der Messungen kurz beschrieben, nähere Angaben sind dem experimentellen Teil zu entnehmen. Alle verwendeten Lösungen wurden erst unmittelbar vor Gebrauch hergestellt und auf 25°C temperiert. Die Glutathion-Reduktase-Lösung ist nur einige Stunden haltbar, so daß für jede Messung mit Hemmstoff ein Referenzwert für die Ausgangsaktivität bestimmt werden mußte.

Die Versuche wurden direkt in der Meßküvette durchgeführt: Puffer, in DMF gelöstes Sulfon, EDTA- und Substratlösung wurden gemischt. Bei Zugabe der Enzymlösung begann die Zeitnahme. Nach einer Inkubationszeit von genau 5 Minuten wurde die NADPH-Lösung zupipettiert, kurz umgeschüttelt und sofort die Messung der Absorptionsabnahme über 20 Sekunden gestartet. Die Bestimmung der Ausgangsaktivität ohne Hemmstoff erfolgte analog unter Zusatz von reinem DMF.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Tabellen **24** bis **27** dargestellt. Unter den gewählten Bedingungen hemmt keine der Verbindungen die Aktivität der Glutathion-Reduktase. Eine Verstärkung der Wirkung durch Erhöhung der Sulfonkonzentration führte zu Löslichkeitsproblemen; die Steigerung des DMF-Anteils bewirkte einen zu starken Aktivitätsverlust des Enzyms. Die Verlängerung der Inkubationszeit auf bis zu zwei Stunden brachte ebenfalls keine Verbesserung der Hemmwirkung.

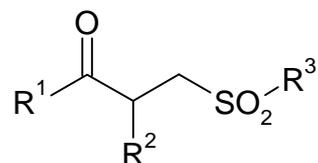
Tabelle 24: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
18-1	-H	-Cl	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	94
18-2	-Cl	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	97
18-3	-OCH ₃	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	99
18-4	-Cl	-Cl	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	97
18-5	-Cl	-Cl	-H	-Cl	10 ⁻⁴	103
26-1	-H	-H	-H	-H	10 ⁻⁴	102
26-2	-H	-CH ₃	-H	-H	10 ⁻⁴	100
26-3	-H	-Cl	-H	-H	10 ⁻⁴	102
26-4	-H	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	104

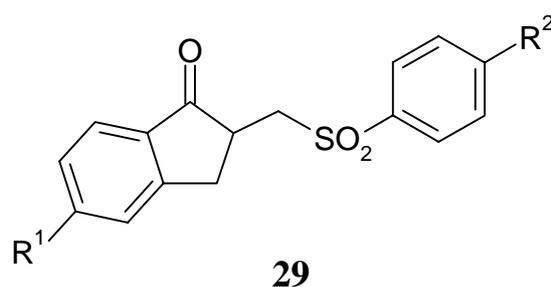
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
26-5	-H	-CH ₃	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	100
26-6	-CH ₃	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	98
26-7	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	100
26-8	-CH ₃	-Cl	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	101
26-9	-H	-H	-Cl	-CH ₃	10 ⁻⁴	99
26-10	-H	-H	-H	-Cl	10 ⁻⁴	102
26-11	-H	-Cl	-H	-Cl	10 ⁻⁴	99
26-12	-Cl	-H	-H	-Cl	10 ⁻⁴	100
26-13	-CH ₃	-Cl	-H	-Cl	10 ⁻⁴	101
26-14	-H	-H	-Cl	-Cl	10 ⁻⁴	107
26-15	-CH ₃	-H	-H	-Cl	10 ⁻⁴	99
26-16	-H	-CH ₃	-H	-Cl	10 ⁻⁴	98
26-17	-CH ₃	-CH ₃	-H	-Cl	10 ⁻⁴	102

Tabelle 25: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
3-Sulfonyl-1-propanone



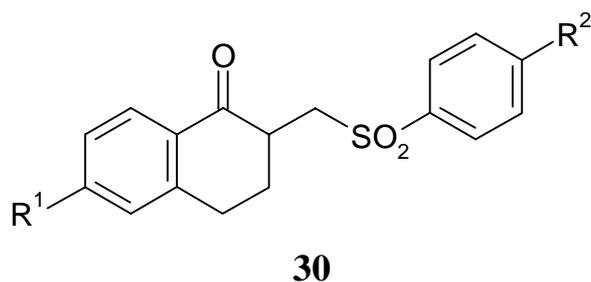
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ⁴	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
18-6			-CCl ₃	10 ⁻⁴	101
21-1		-H		10 ⁻⁴	101
21-2		-H		10 ⁻⁴	104
26-18		-CH ₃		10 ⁻⁴	98
26-19		-CH ₃		10 ⁻⁴	101
26-20	-CH ₃			10 ⁻⁴	100

Tabelle 26: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone 29



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
29-1	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	102
29-2	-H	-Cl	10 ⁻⁴	104
29-3	-OCH ₃	-CH ₃	10 ⁻⁴	n.b.
29-4	-OCH ₃	-Cl	10 ⁻⁴	n.b.

Tabelle 27: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinone **30**

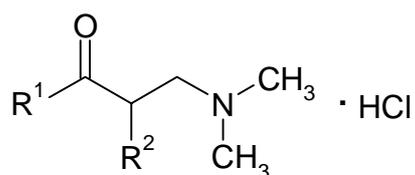


Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
30-1	-H	-H	10 ⁻⁴	100
30-2	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	100
30-3	-H	-Cl	10 ⁻⁴	98
30-4	-OCH ₃	-CH ₃	10 ⁻⁴	102
30-5	-OCH ₃	-Cl	10 ⁻⁴	101

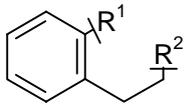
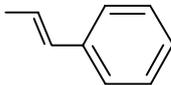
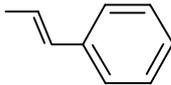
Diese negativen Resultate waren überraschend, zumal Dimmock et al. für die von ihnen untersuchten Styryl-Keton-Mannich-Basen einen den Sulfonen ähnlichen Wirkungsmechanismus postulieren und mit einem vergleichbaren, allerdings rein wäßrigem Testsystem starke Aktivitätshemmungen nachweisen konnten (vgl. S. 66).

Um zu überprüfen, ob diese Wirkung an die β -Aminoketon-Struktur gebunden ist, habe ich die in Tabelle **28** zusammengefaßten Mannich-Basen unter den in dieser Arbeit eingesetzten Bedingungen getestet. Auch hier zeigte keine der Substanzen eine Hemmung der Glutathion-Reduktase. Die Verbindung **24-3**, für die bei Dimmock et al. eine 70,7-prozentige Aktivitätsminderung bei 10^{-4} molarer Konzentration angegeben ist, hemmte in meinem Versuch lediglich in der fünfzehnfachen Konzentration um 20%.

Tabelle 28: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch β -Aminoketone



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
23-1			10^{-4}	101
23-5			10^{-4}	99

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
28-1			10 ⁻⁴	101
24-3		-CH ₃	10 ⁻⁴	104
24-3		-CH ₃	1,5·10 ⁻³	80

Möglicherweise bewirkt der nach meiner Vorschrift erforderliche Zusatz von DMF eine Konformationsänderung des Enzyms, die zu einer Abschirmung oder Strukturmodifikation des reaktiven Zentrums führt. Dies erklärt sowohl den großen Aktivitätsverlust der Reduktase als auch die geringere Hemmwirkung der in der Dimmockschen Untersuchung so wirksamen Verbindung **24-3**. Zur Ermittlung der biologischen Wirksamkeit und Ableitung von Struktur-Wirkungsbeziehungen für die von mir dargestellten Sulfone ist diese Methode daher nicht geeignet.

4.2. Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase

Als zweites Testenzym setzte ich Aldehyd-Dehydrogenase ein. Dieses Enzym enthält acht SH-Gruppen⁷⁷ und wird neben einer Reihe von Thiolreagenzien⁷⁸⁻⁷⁹⁻⁸⁰ und Arylvinylnketonen⁸¹ auch durch β -Nitro- und γ -Oxosulfone in Konzentrationen bis $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ⁸² gehemmt, so daß auch ein Effekt durch die von mir untersuchten β -substituierten γ -Oxosulfone zu erwarten war.

Aldehyd-Dehydrogenase katalysiert die Oxidation verschiedener Aldehyde zu den korrespondierenden Säuren⁸³⁻⁸⁴. Acetaldehyd wird in Gegenwart von NAD^+ als Coenzym quantitativ zu Essigsäure oxidiert⁸⁵:



Eine Möglichkeit zur Messung der Umsatzrate bietet die photometrische Bestimmung der Absorptionzunahme bei 339 nm. Sie wird durch NADH-Bildung verursacht und ist der umgesetzten Acetaldehyd-Menge und damit der Enzymaktivität direkt proportional, sofern Bedingungen für eine Reaktionskinetik nullter Ordnung vorliegen. Diese wurden - wie bei der Aktivitätsbestimmung von Glutathion-Reduktase - durch Zugabe eines Überschusses von Substrat und Coenzym geschaffen.

⁷⁷ C. R. Steinman, W. B. Jakoby, *J. Biol. Chem.* **243**, 730 (1968)

⁷⁸ A. O. M. Stoppani, C. Milstein, *Biochem. J.* **67**, 406 (1957)

⁷⁹ G. L. Hart, F. M. Dickinson, *Biochem. J.* **163**, 261 (1977)

⁸⁰ C. Siew, R. A. Deitrich, *Arch. Biochem. Biophys.* **176**, 638 (1976)

⁸¹ J. Gutzmann, Dissertation, Hamburg **1994**, 69 ff

⁸² R. Borchert-Bremer, Dissertation, Hamburg **1980**, 182 ff

⁸³ J. H. Eckfeldt, T. Yonetani, *Methods Enzymol.* **89**, 474 (1982)

⁸⁴ J. Eckfeldt, L. Mope, K. Takio, T. Yonetani, *J. Biol. Chem.* **251**, 236 (1976)

⁸⁵ Biochemica-Information über Acetaldehyd, Boehringer Mannheim GmbH, **1989**

Für meine Untersuchungen setzte ich Aldehyd-Dehydrogenase aus Hefe der Firma Boehringer Mannheim ein. Das Enzym benötigt K^+ -Ionen als Aktivator^{86•87}, die in dem Lyophilisat bereits enthalten sind. Als Puffersystem verwendete ich Kaliumdiphosphat, das mit Citronensäure auf pH 9.0 eingestellt wurde. Dieser Wert bietet das pH-Optimum für Aldehyd-Dehydrogenase⁸⁸ und begünstigt die Reaktion mit den zu untersuchenden Sulfonen. Der Puffer enthält Glycerol zur Erhöhung der Stabilität des Enzyms⁸⁹. Die Messungen wurden bei der in der Literatur^{85•88} empfohlenen Temperatur von 25°C durchgeführt.

Erneut war die Auswahl eines geeigneten Lösungsmittels problematisch. Als praktikabel erwies sich ein Zusatz von 20% DMF: Alle Substanzen blieben bis zu einer Konzentration von $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ gelöst; die Aktivität des Enzyms wurde jedoch auf ca. 30% herabgesetzt.

Unter den gewählten Bedingungen ergab die kontinuierliche Aufzeichnung der Absorptionszunahme von NADH bei 339 nm einen linearen Verlauf während der ersten 30 Sekunden; die in diesem Zeitintervall erhaltenen Meßwerte bildeten die Grundlage für die Auswertungen. Vorversuche zeigten zum Teil deutliche Aktivitätsminderungen des Enzyms durch die Sulfone. Für jedes Sulfon wurde die Enzymhemmung dreimal bestimmt. Unmittelbar davor und danach erfolgten Messungen der Enzymaktivität ohne Hemmstoff; deren Mittelwert wurde als 100% Ausgangsaktivität zugrunde gelegt. Wie bei den Versuchen mit Glutathion-Reduktase ist die Enzymhemmung als prozentuale Restaktivität gegenüber der Ausgangsaktivität angegeben (Berechnung s. S. 68).

⁸⁶ G. F. Betts, Poole, P.L., M. G. Springham, K. A. Bostian, *Biochem. J.* **183**, 633 (1979)

⁸⁷ K. A. Bostian, G. F. Betts, *Biochem. J.* **173**, 773 (1978)

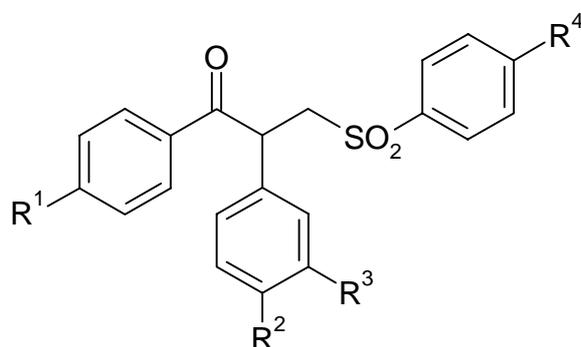
⁸⁸ H. U. Bergmeyer; *Methods of enzymatic analysis*, 3. Aufl., 144, Verlag Chemie, Weinheim, **1983**

⁸⁹ N. J. Greenfield, R. Pietrusko, *Biochim. Biophys. Acta* **483**, 35 (1977)

Enzym-, Sulfon- und Substratlösung wurden vor Gebrauch frisch hergestellt; NAD-Lösung ist bei 4°C mehrere Wochen haltbar⁹⁰. Die Durchführung der Reaktion erfolgte direkt in der Meßküvette: Puffer- und NAD-Lösung wurden mit in DMF gelöstem Sulfon gemischt und 4 Minuten bei 25°C temperiert. Nach Zusatz der Enzymlösung wurde zwei Minuten inkubiert, die Substratlösung zupipettiert und sofort mit der Aktivitätsmessung bei 339 nm begonnen. Nähere Angaben sind dem experimentellen Teil zu entnehmen.

In den Tabellen **29** bis **32** sind die Mittelwerte der Meßergebnisse nach zunehmender Restaktivität geordnet zusammengefaßt.

Tabelle 29: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone



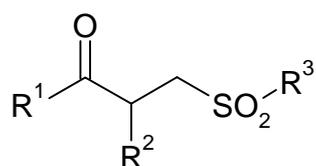
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
26-11	-H	-Cl	-H	-Cl	10 ⁻⁴	73
26-14	-H	-H	-Cl	-Cl	10 ⁻⁴	75

⁹⁰ *Biochemicals Catalog*, 434, Boehringer Mannheim GmbH, 1996

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
26-12	-Cl	-H	-H	-Cl	10 ⁻⁴	88
18-4	-Cl	-Cl	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	88
18-1	-H	-Cl	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	93
26-8	-CH ₃	-Cl	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	94
26-3	-H	-Cl	-H	-H	10 ⁻⁴	94
26-7	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	94
26-9	-H	-H	-Cl	-CH ₃	10 ⁻⁴	95
18-5	-Cl	-Cl	-H	-Cl	10 ⁻⁴	96
18-2	-Cl	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	96
18-3	-OCH ₃	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	97
26-2	-H	-CH ₃	-H	-H	10 ⁻⁴	98
26-16	-H	-CH ₃	-H	-Cl	10 ⁻⁴	98
26-17	-CH ₃	-CH ₃	-H	-Cl	10 ⁻⁴	98
26-13	-CH ₃	-Cl	-H	-Cl	10 ⁻⁴	99

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
26-10	-H	-H	-H	-Cl	10 ⁻⁴	99
26-4	-H	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	99
26-15	-CH ₃	-H	-H	-Cl	10 ⁻⁴	100
26-6	-CH ₃	-H	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	100
26-5	-H	-CH ₃	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	100
26-1	-H	-H	-H	-H	10 ⁻⁴	102

Tabelle 30: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch
3-Sulfonyl-1-propanone



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
21-1		-H		10 ⁻⁴	26
21-2		-H		10 ⁻⁴	29

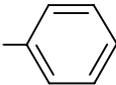
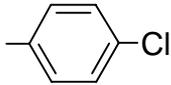
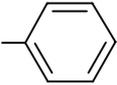
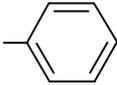
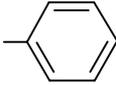
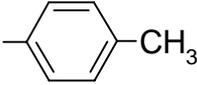
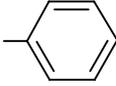
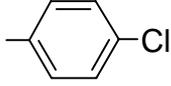
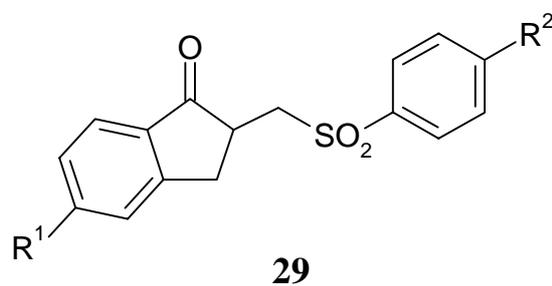
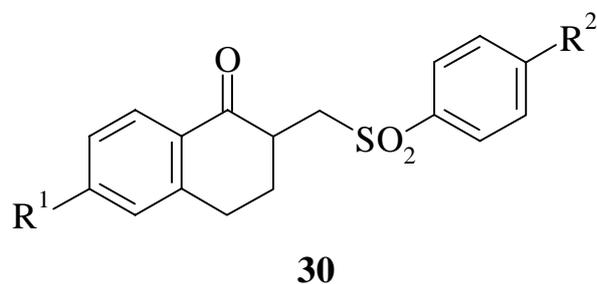
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
26-20	-CH ₃			10 ⁻⁴	85
18-6			-CCl ₃	10 ⁻⁴	94
26-18		-CH ₃		10 ⁻⁴	95
26-19		-CH ₃		10 ⁻⁴	97

Tabelle 31: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch
2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone **29**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
29-2	-H	-Cl	10 ⁻⁴	52
29-1	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	57
29-3	-OCH ₃	-CH ₃	10 ⁻⁴	72
29-4	-OCH ₃	-Cl	10 ⁻⁴	82

Tabelle 32: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch 2-
 [(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **30**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	Konz. [mol·l ⁻¹]	Restaktivität [%]
30-3	-H	-Cl	10 ⁻⁴	69
30-2	-H	-CH ₃	10 ⁻⁴	80
30-1	-H	-H	10 ⁻⁴	89
30-5	-OCH ₃	-Cl	10 ⁻⁴	96
30-4	-OCH ₃	-CH ₃	10 ⁻⁴	98

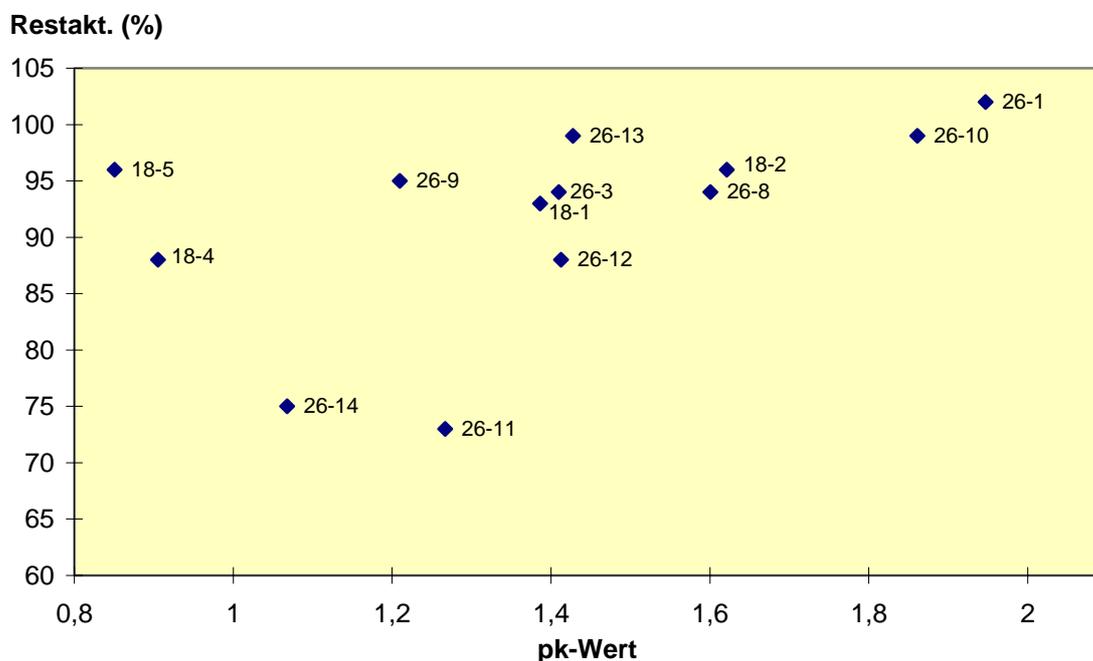
4.3. Diskussion der Ergebnisse

Vergleicht man die Hemmwirkung der in den Tabellen **29** bis **32** zusammengefaßten Verbindungen gegen Aldehyd-Dehydrogenase miteinander, so sind sowohl Unterschiede zwischen den verschiedenen Grundstrukturen als auch bezüglich der Substituenten erkennbar.

Zunächst soll der Einfluß der Substitution an den Phenylresten 1,2-diphenylsubstituierter 3-Phenylsulfonyl-1-propanone auf die Enzymhemmung betrachtet werden. In Kapitel 3 wurde gezeigt, daß eine lineare Abhängigkeit zwischen den σ -Hammet-Substituentenkonstanten und der Reaktionsgeschwindigkeit mit 4-Methylthiophenol als Modellnucleophil besteht. Für den Fall einer ausschließlich kinetisch gesteuerten Enzymhemmung müßte mit sinkendem p_k -Wert dieser Substanzen (Tabelle **13**) ein steigender Aktivitätsverlust des Enzyms (Tabelle **29**) zu beobachten sein.

Folgende Ergebnisse wurden erhalten: Die an den Phenylresten unsubstituierte Verbindung **26-1** ($R^1-R^4 = H / p_k = 1,95$) zeigt unter den von mir gewählten Bedingungen keine Hemmwirkung gegenüber Aldehyd-Dehydrogenase. Alle Substanzen mit überwiegend elektronenliefernden Substituenten und dadurch größeren p_k -Werten sind innerhalb der Meßgenauigkeit ebenfalls wirkungslos. Durch den Einfluß elektronenziehender Substituenten wird nicht nur die Reaktionsgeschwindigkeit mit 4-Methylthiophenol erhöht (p_k -Werte $< 1,95$), es tritt bei der Mehrzahl dieser Substanzen auch eine verstärkte Enzymhemmung auf. In Abbildung **12** sind die Restaktivitäten gegen die p_k -Werte dieser Verbindungen aufgetragen.

Abbildung 12: Zusammenhang zwischen Enzymhemmung und Reaktionsgeschwindigkeit mit 4-Methylthiophenol



Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Wirkungsstärke ist nicht erkennbar. Dies bedeutet, daß die Enzymhemmung außer durch die Kinetik von weiteren Faktoren beeinflußt wird.

Möglicherweise hätten sich durch Verlängerung der Inkubationszeit Zusammenhänge zwischen Struktur und Wirkung erkennen lassen. Dies war jedoch aufgrund der Instabilität des Enzyms bei 20% DMF-Zusatz nicht sinnvoll, da der Vorteil stärkerer Enzymhemmung durch zunehmend schlechtere Reproduzierbarkeit aufgehoben wurde. Folgende Zusammenhänge sind dennoch erkennbar: Die Verbindungen **26-11** und **26-14** - beide sind am Phenylrest an C-2 des Propanongrundgerüsts und am Phenylsulfonylrest mit Chlor substituiert - verringern die Enzymaktivität auf 73% bzw. 75% des Ausgangswertes.

Tauscht man ein Chloratom gegen Wasserstoff oder eine Methylgruppe aus, führt dies zu einem starken Wirkungsverlust. Die Einführung eines dritten Chlorsubstituenten am Phenylrest an C-1 erhöht zwar die Reaktionsgeschwindigkeit mit 4-Methylthiophenol, führt aber ebenso wie elektronenliefernde Substituenten an diesem Ring zum Wirkungsabfall.

Die Sulfone **18-4** und **26-12** senken die Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase jeweils auf 88%. Beide Verbindungen sind wie **26-11** und **26-14** zweifach chlorsubstituiert, die Chloratome befinden sich an den Phenylresten an C-1 und C-2 (**18-4**) bzw. C-1 und dem Phenylsulfonylrest (**26-12**). Dies bedeutet, daß die Einführung von zwei Chlorsubstituenten zu einer deutlich verbesserten Hemmwirkung führt, wobei die Substitution am Phenylrest an C-2 und dem Phenylsulfonylrest den stärksten Effekt auslöst. Inwieweit die Wirkungsstärke vom Lipophilie-Hydrophilie-Verhältnis dieser Verbindungen abhängt, wird in Kapitel 6 untersucht.

Ein Vergleich der 1,2-diphenylsubstituierten 3-Phenylsulfonyl-1-propanone mit den in Tabelle **30** zusammengefaßten 3-Sulfonyl-1-propanonen zeigt, daß der Ersatz des Phenylrings an C-2 durch Wasserstoff zu einer stärkeren Aktivitätshemmung des Enzyms führt. Tauscht man den 2-Phenylrest gegen eine Methylgruppe aus, ist keine Hemmwirkung meßbar. Wird jedoch der 1-Phenylring durch eine Methylgruppe ersetzt, führt dies zu einer Verminderung der Restaktivität auf 85% des Ausgangswertes. Der Austausch der Phenylsulfonyl- gegen eine Trichlormethylsulfonylgruppe bewirkt keine Wirkungssteigerung.

Deutlichere Ergebnisse lieferte die Untersuchung der 2-[(Phenylsulfonyl) -methyl]-1-indanone **29** (Tabelle **31**) und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **30** (Tabelle **32**). Die Indanon- wie auch die Tetrahydronaphthalinon-Derivate mit paraständiger Methylgruppe am Phenylsulfonylrest senken die Enzymaktivität auf 57% (**29-1**) bzw. 80% (**30-2**) des Ausgangswertes; ein Chlorsubstituent an dieser Stelle bewirkt eine Wirkungssteigerung auf 52% (**29-2**) bzw. 69% (**30-3**) Restaktivität. Substituiert man das Grundgerüst der Indanone in 5- und der Tetrahydronaphthalinone in 6-Stellung mit einer Methoxygruppe, führt dies zu einer deutlichen Verringerung der Enzymhemmung.

5. Bestimmung der fungistatischen Wirksamkeit β -substituierter γ -Oxosulfone

Die fungistatische Wirksamkeit β -substituierter γ -Oxosulfone wurde gegen vier Mikropilze bestimmt:

- *Microsporum gypseum* (Dermatophyt)
- *Trichophyton mentagrophytes* (Dermatophyt)
- *Scopulariopsis brevicaulis* (Schimmelpilz)
- *Candida albicans* (Hefe)

Die Untersuchungen wurden als Röhrchenverdünnungstest auf flüssigem Nährboden (Kimmig-Liquidum) durchgeführt. Dieses Verfahren bietet gegenüber dem Plattenverdünnungstest mit festem Nährboden neben besserer Handhabung ⁹¹ den Vorteil, daß die zu untersuchenden Substanzen bei der Herstellung der Verdünnungsreihen nicht erwärmt werden müssen. Das Nährmedium wurde auf pH 6 eingestellt und zum Schutz gegen bakteriellen Befall mit Chloramphenicol versetzt.

Die in Wasser schwer löslichen Sulfone wurden zunächst in wenig Aceton gelöst und mit einer dreiprozentigen wässrigen Lösung von Tween[®] 80 (= PolyethylenglycolSORBITANOLEAT) versetzt. Nach Abdunsten des Acetons wurde die Stammlösung mit Kimmig-Liquidum auf ein definiertes Volumen aufgefüllt.

⁹¹ K. Lührs, *Mykosen* **15** (1), 39 (1972)

Zur Kontrolle wurde für jede Testreihe ein Blindversuch ohne Sulfonzusatz durchgeführt. In den verwendeten Konzentrationen hat Tween[®] 80 keinen Einfluß auf das Wachstum der Mikropilze. Ob allerdings in seiner Gegenwart die Zellwandpermeabilität beeinflußt wird, ist nicht bekannt.

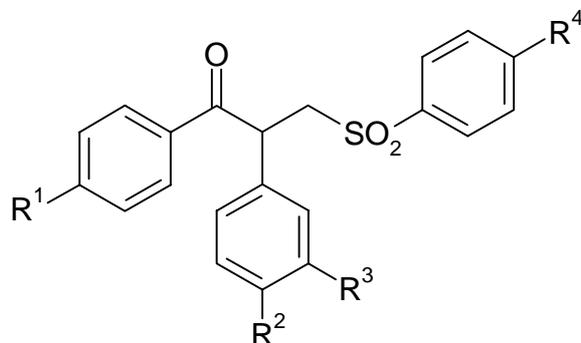
Als Maß für die Wirksamkeit diente die minimale Hemmkonzentration (MHK). Sie ist als die Konzentration definiert, bei der das Pilzwachstum gerade noch gehemmt wird. Die Angabe der MHK erfolgt in ppm (parts per million).

Die fungistatischen Eigenschaften wurden für jedes Sulfon mit einer jeweils um 10 bzw. 1 ppm weniger konzentrierten Verdünnungsreihe aus der Stammlösung im Konzentrationsbereich von 100 bis 10 ppm bzw. 10 bis 1 ppm bestimmt. Die Bebrütung erfolgte bei Raumtemperatur über 21 Tage bei den Dermatophyten, 8 Tage bei dem Schimmelpilz und 5 Tage bei der Hefe. Die Ergebnisse der Testreihen sind in den Tabellen **33** bis **36** dargestellt.

Zeichenerklärung

- MG = *Microsporum gypseum*
- TM = *Trichophyton mentagrophytes*
- SB = *Scopulariopsis brevicaulis*
- CA = *Candida albicans*
- + = unvermindertes Wachstum bei 100 ppm
- * = geringere Konzentrationen wurden nicht getestet

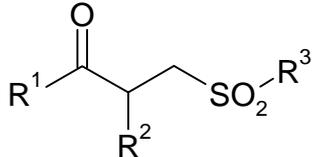
Tabelle 33: Fungistatische Wirksamkeit von 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-
1-propanonen



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	MG	MHK [ppm]		
						TM	SB	CA
18-1	-H	-Cl	-H	-CH ₃	20	20	+	+
18-2	-Cl	-H	-H	-CH ₃	10	10	+	+
18-3	-OCH ₃	-H	-H	-CH ₃	+	+	+	+
18-4	-Cl	-Cl	-H	-CH ₃	+	+	+	+
18-5	-Cl	-Cl	-H	-Cl	80	40	+	+
26-1	-H	-H	-H	-H	40	60	+	+
26-2	-H	-CH ₃	-H	-H	40	80	+	+
26-3	-H	-Cl	-H	-H	60	+	+	+
26-4	-H	-H	-H	-CH ₃	10	10	+	+

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	MHK [ppm]			
					MG	TM	SB	CA
26-5	-H	-CH ₃	-H	-CH ₃	+	+	+	+
26-6	-CH ₃	-H	-H	-CH ₃	+	+	+	+
26-7	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃	+	+	+	+
26-8	-CH ₃	-Cl	-H	-CH ₃	+	+	+	+
26-9	-H	-H	-Cl	-CH ₃	40	+	+	+
26-10	-H	-H	-H	-Cl	20	40	+	+
26-11	-H	-Cl	-H	-Cl	80	100	+	+
26-12	-Cl	-H	-H	-Cl	80	60	+	+
26-13	-CH ₃	-Cl	-H	-Cl	100	+	+	+
26-14	-H	-H	-Cl	-Cl	20	80	+	+
26-15	-CH ₃	-H	-H	-Cl	+	+	+	+
26-16	-H	-CH ₃	-H	-Cl	+	+	+	+
26-17	-CH ₃	-CH ₃	-H	-Cl	100	100	+	+

Tabelle 34: Fungistatische Wirksamkeit von 3-Sulfonyl-1-propanonen



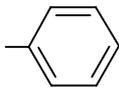
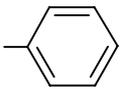
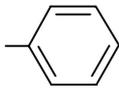
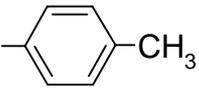
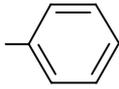
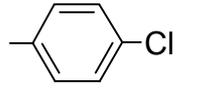
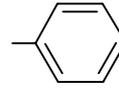
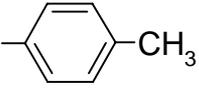
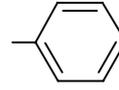
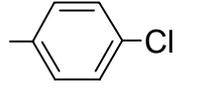
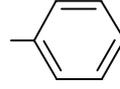
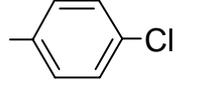
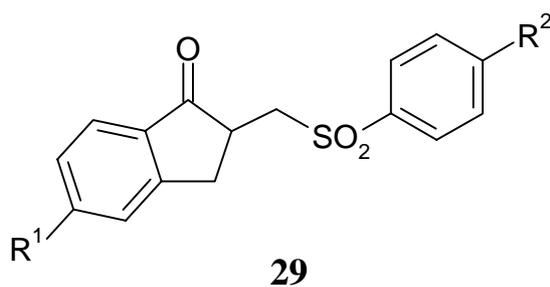
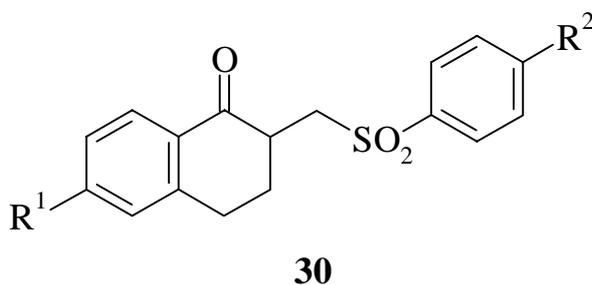
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	MHK [ppm]			
				MG	TM	SB	CA
18-6			-CCl ₃	8	20	+	+
21-1		-H		40	100	+	+
21-2		-H		60	80	+	+
26-18		-CH ₃		80	80	+	100
26-19		-CH ₃		60	40	+	+
26-20	-CH ₃			40	40	60	40

Tabelle 35: Fungistatische Wirksamkeit von 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanonon **29**

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	MG	MHK [ppm]		
				TM	SB	CA
29-1	-H	-CH ₃	20	10	+	20
29-2	-H	-Cl	+	+	+	40
29-3	-OCH ₃	-CH ₃	+	60	+	100
29-4	-OCH ₃	-Cl	20	8	+	+

Tabelle 36: Fungistatische Wirksamkeit von [(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinonen **30**



Verb.-Nr.	R ¹	R ²	MG	MHK [ppm]		
				TM	SB	CA
30-1	-H	-H	20	100	+	+
30-2	-H	-CH ₃	10*	20	+	10*
30-3	-H	-Cl	10*	8	+	10*
30-4	-OCH ₃	-CH ₃	20	40	+	+
30-5	-OCH ₃	-Cl	40	80	+	+

Die 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone in Tabelle **33** zeigen in dem untersuchten Konzentrationsbereich keine Wirksamkeit gegen *Candida albicans* und *Scopulariopsis brevicaulis*, jedoch zum Teil eine deutliche Hemmung der Dermatophyten, wobei das Wachstum von *Microsporum gypseum* im allgemeinen stärker gehemmt wird als das von *Trichophyton mentagrophytes*. Die niedrigsten MHK-Werte weisen solche Verbindungen auf, deren Phenylreste an C-1 und C-2 des Propanongrundgerüsts unsubstituiert sind oder einen Chlorsubstituenten tragen. Die Einführung eines zweiten Chloratoms führt zum Wirkungsabfall; Methylgruppen an den C-1- und C-2-Phenylresten heben ebenso wie eine Methoxygruppe am C-1-Phenylrest die Wirkung auf.

Der Ersatz des Phenylrestes an C-2 durch Wasserstoff (**21-1** und **21-2**) verschlechtert die Wirkung gegen Dermatophyten trotz erheblich höherer chemischer Reaktivität ebenso wie eine Methylgruppe an dieser Position (**26-18** und **26-19**). Tauscht man jedoch an C-1 den Phenylrest gegen eine Methylgruppe aus, führt dies zu einer Verbesserung des Wirkungsspektrums: Neben den Dermatophyten hemmt Verbindung **26-20** auch das Wachstum der Hefe und - als einzige aller untersuchten Substanzen - des Schimmelpilzes.

Die Indanonderivate **29** und Tetrahydronaphthalinonderivate **30** zeigen zum Teil eine ausgeprägte Wirkung gegen Dermatophyten und - besonders erwähnenswert - gegen *Candida albicans*. Eine Methoxygruppe im Grundgerüst der Indanone in 5- und der Tetrahydronaphthalinone in 6-Stellung hebt die Wirkung gegen die Hefe im untersuchten Konzentrationsbereich auf. Sehr wirksam sind die Verbindungen **30-2** und **30-3**, die das Wachstum der Dermatophyten und der Hefe noch in Konzentrationen von 10 ppm hemmen.

Die relativ hohe fungistatische Wirksamkeit der Indanon- und Tetrahydro-naphthalinon-Derivate stimmt gut mit ihrer Aktivitätsminderung von Aldehyd-Dehydrogenase und ihrer Reaktionsfähigkeit mit 4-Methylthiophenol überein. Dies bietet einen interessanten Ansatz für vertiefte Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen in diesen Substanzklassen im Hinblick auf die Entwicklung neuer Wirkstoffe, insbesondere weil Systemmykosen, die häufig bei immunsupprimierten Patienten nach HIV-Infektion, Organtransplantationen oder Chemotherapie auftreten, durch Candida-Stämme ausgelöst werden ⁶⁹.

6. Untersuchungen zur Lipophilie β -substituierter γ -Oxosulfone

Die biologische Wirkung eines Stoffes ist häufig von seiner Lipophilie abhängig. Sie beeinflusst z.B. das Penetrationsvermögen durch Zellmembranen und kann auch mit dem Ausmaß der Hemmwirkung gegenüber Enzymen in Verbindung stehen⁹². Für eine Wirkungsoptimierung ist es daher wichtig festzustellen, inwieweit die Aktivität einer Substanz mit ihrer Lipophilie zusammenhängt.

Üblicherweise wird für derartige Untersuchungen der n-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient P als Maß für die Lipophilie zugrunde gelegt, da die Aktivität vieler Wirkstoffsysteme mit den $\log P$ -Werten bzw. den π -Hansch-Lipophilie-Konstanten* korreliert^{93,94}. Eine Alternative zu diesem zeitaufwendigen und schlecht reproduzierbaren Verfahren bietet die Lipophiliebestimmung mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie: Aus den Retentionszeiten strukturell verwandter Substanzen an einer RP-18-Phase lassen sich Aussagen über die Lipophilieunterschiede ableiten⁹⁵.

Verschiedene Studien über Zusammenhänge zwischen dem mittels HPLC bestimmten Kapazitätsquotienten k' als relativem Maß für die Retentionszeit und dem Verteilungskoeffizienten P ergaben bei Verwendung von Elutionsgemischen aus Wasser und Methanol bzw. Aceton lineare Abhängigkeiten der $\log k'$ - von den $\log P$ -Werten mit guten Korrelationen⁹⁶⁻⁹⁷⁻⁹⁸⁻⁹⁹⁻¹⁰⁰.

* $\pi = \log (P_{\text{substituiertes Derivat}} / P_{\text{Stammverbindung}})$

⁹² B.-R. Tolf, et al., *Acta Chem. Scand. B* **33** 7, 483 (1979)

⁹³ J. Seydel, K.-J. Schaper; *Chemische Struktur und biologische Aktivität von Wirkstoffen*, 73 ff, Verlag Chemie, Weinheim, **1979**

⁹⁴ V. Austel, E. Kutter; *Arzneimittelentwicklung*, 72 f, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1978**

⁹⁵ M. Kuchar, M. Jelinkova in: *QSAR in Design of Bioactive Compounds*, 65, J. R. Prous, S.A., **1992**

⁹⁶ H. Könemann, R. Zelle, F. Busser, W. E. Hammers, *J. Chromatogr.* **178**, 559 (1979)

⁹⁷ T. Hanai, *Chromatographia* **12**, 77 (1979)

⁹⁸ I. Molnar, C. Horvath, *J. Chromatogr.* **142**, 623 (1977)

⁹⁹ R. M. Carlson, R. E. Carlson, H. L. Kopperman, *J. Chromatogr.* **107**, 219 (1975)

Ich habe deshalb anstelle der Verteilungskoeffizienten P die $\log k'$ -Werte der Sulfone als Lipophilieparameter benutzt; mit größer werdenden $\log k'$ -Werten nimmt die Lipophilie zu.

Es erwies sich als vorteilhaft, die Messungen bei Verwendung einer Reversed-Phase-18-Trennsäule mit einem Methanol-Wasser-Eluenten (65:35) und einer Fließgeschwindigkeit von $0,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ durchzuführen. Unter diesen Bedingungen weisen die Sulfone Retentionszeiten (t_R) zwischen 4 und 53 Minuten auf. Die Bestimmung der Totzeit (t_0) erfolgte mit Thioharnstoff¹⁰¹. Zur Ermittlung von Systemschwankungen wurde bei jeder Messung das Sulfon **26-4** als innerer Standard zugesetzt. Die Kapazitätsquotienten k' der Sulfone wurden nach der Formel

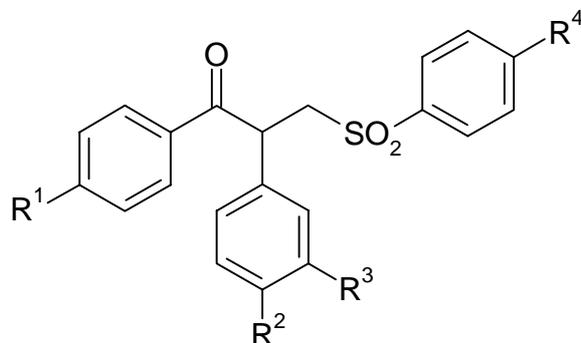
$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

berechnet, sie sind als $\log k'$ -Werte neben den Retentionszeiten in den Tabellen **37** bis **40** zusammengefaßt. Nähere Angaben zu den Messungen und Berechnungen sind im experimentellen Teil aufgeführt.

¹⁰⁰ T. Braumann, L. H. Grimme, *J. Chromatogr.* **206**, 7 (1981)

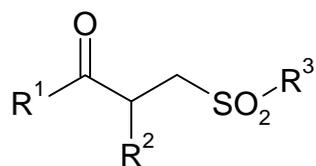
¹⁰¹ *Merck ChromBook*, 47, Merck KGaA, Darmstadt, **1996**

Tabelle 37: Retentionszeiten t_R und $\log k'$ -Werte von 1,2-Diphenyl-3-phenyl-sulfonyl-1-propanonen

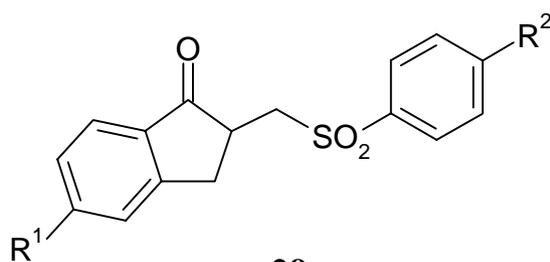


Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	t_R [min]	$\log k'$ -Wert
26-1	-H	-H	-H	-H	7,21	0,614
26-4	-H	-H	-H	-CH ₃	10,42	0,806
18-3	-OCH ₃	-H	-H	-CH ₃	11,14	0,839
26-2	-H	-CH ₃	-H	-H	11,57	0,858
26-3	-H	-Cl	-H	-H	13,21	0,923
26-10	-H	-H	-H	-Cl	13,46	0,932
26-6	-CH ₃	-H	-H	-CH ₃	15,76	1,008
26-5	-H	-CH ₃	-H	-CH ₃	17,10	1,046
26-9	-H	-H	-Cl	-CH ₃	18,04	1,072

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	t _R [min]	log k'-Wert
18-1	-H	-Cl	-H	-CH ₃	19,73	1,114
26-15	-CH ₃	-H	-H	-Cl	20,75	1,137
18-2	-Cl	-H	-H	-CH ₃	21,75	1,159
26-16	-H	-CH ₃	-H	-Cl	22,20	1,169
26-14	-H	-H	-Cl	-Cl	22,55	1,176
26-11	-H	-Cl	-H	-Cl	24,27	1,210
26-7	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃	26,36	1,248
26-12	-Cl	-H	-H	-Cl	27,98	1,275
26-8	-CH ₃	-Cl	-H	-CH ₃	30,39	1,313
26-17	-CH ₃	-CH ₃	-H	-Cl	35,25	1,380
26-13	-CH ₃	-Cl	-H	-Cl	39,04	1,426
18-4	-Cl	-Cl	-H	-CH ₃	42,03	1,460
18-5	-Cl	-Cl	-H	-Cl	51,87	1,554

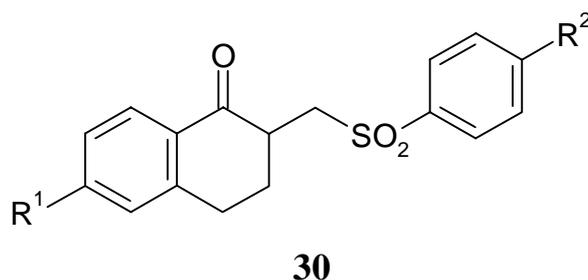
Tabelle 38: Retentionszeiten t_R und $\log k'$ -Werte von 3-Sulfonyl-1-propanonen

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ⁴	t_R [min]	$\log k'$ -Wert
21-1		-H		4,60	0,354
26-18		-CH ₃		4,89	0,392
26-20	-CH ₃			5,47	0,459
21-2		-H		5,63	0,476
26-19		-CH ₃		6,17	0,528
18-6			-CCl ₃	12,46	0,894

Tabelle 39: Retentionszeiten t_R und $\log k'$ -Werte von 2-[(Phenylsulfonyl)-methyl]-1-indanonen **29****29**

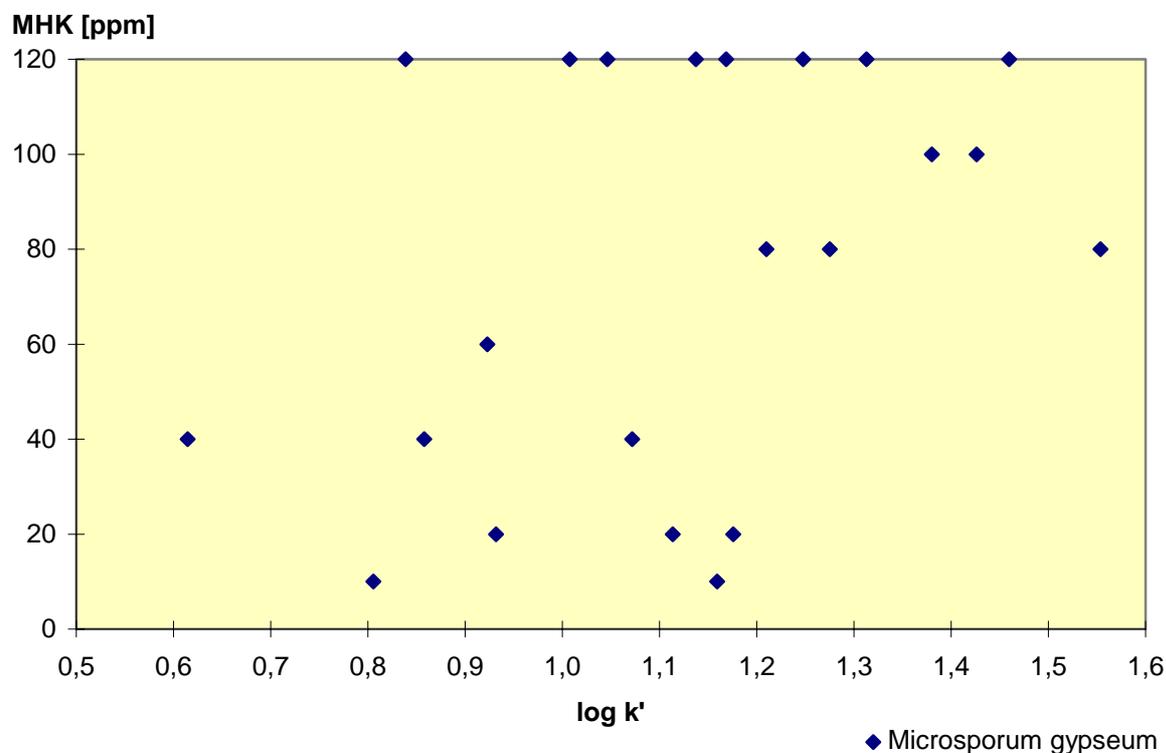
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	t _R [min]	log k'-Wert
29-1	-H	-CH ₃	4,71	0,370
29-3	-OCH ₃	-CH ₃	5,29	0,439
29-2	-H	-Cl	5,69	0,482
29-4	-OCH ₃	-Cl	6,38	0,547

Tabelle 40: Retentionszeiten t_R und log k'-Werte von 2-[(Phenylsulfonyl)-methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinonen **30**



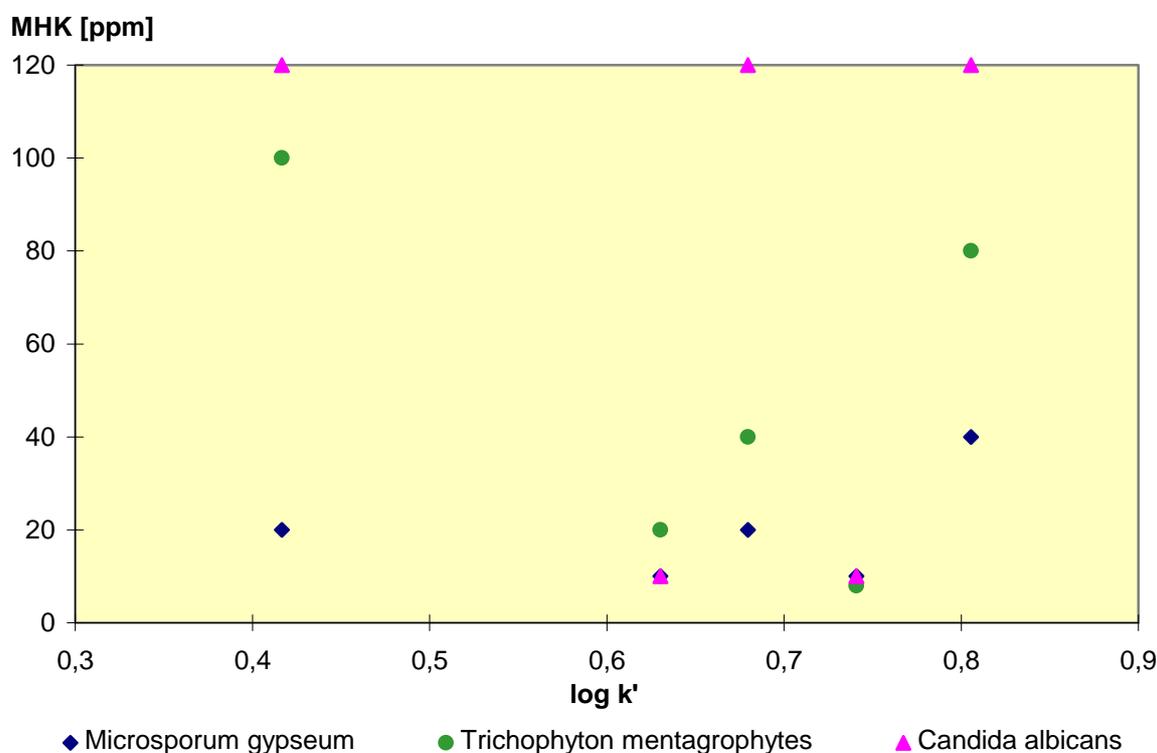
Verb.-Nr.	R ¹	R ²	t _R [min]	log k'-Wert
30-1	-H	-H	5,09	0,417
30-2	-H	-CH ₃	7,43	0,630
30-4	-OCH ₃	-CH ₃	8,15	0,680
30-3	-H	-Cl	9,17	0,741
30-5	-OCH ₃	-Cl	10,42	0,806

Abbildung 13: Zusammenhänge zwischen Lipophilie von 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanonen und ihrer Wirkung auf Mikropilze



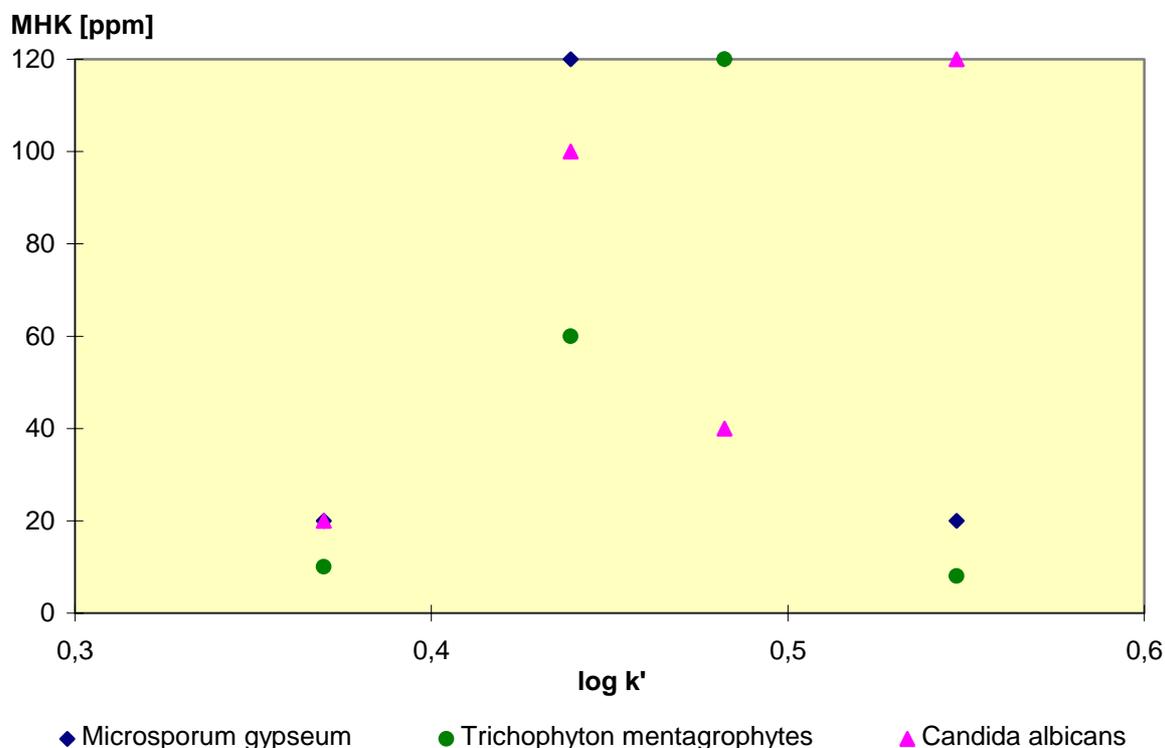
Zunächst wurde der Einfluß der Lipophilie auf die fungistatische Wirkung von 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanonen untersucht. In Abbildung 13 sind die auf die Wachstumshemmung von *Microsporum gypseum* bezogenen MHK-Werte (Tabelle 33) gegen die entsprechenden $\log k'$ -Werte (Tabelle 37) aufgetragen. Eine Tendenz zu verbesserter Wirkung bei abnehmenden Kapazitätsquotienten ist erkennbar, ein direkter Zusammenhang jedoch aufgrund der unzureichenden Korrelation der Werte nicht festzustellen. Auch die relativ gleichmäßige Verteilung der acht unter den Testbedingungen unwirksamen Substanzen ($\text{MHK} > 100$) über einen weiten Bereich der $\log k'$ -Werte deutet darauf hin, daß keine direkte Wirkungsabhängigkeit von der Lipophilie besteht. Ein Vergleich der $\log k'$ - mit den MHK-Werten für *Trichophyton mentagrophytes* ergibt ebenfalls keinen erkennbaren Zusammenhang.

Abbildung 14: Zusammenhänge zwischen Lipophilie von 2-[(Phenylsulfonyl)-methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinonen **30** und ihrer Wirkung auf Mikropilze



In Abbildung 14 sind die MHK-Werte der Tetrahydronaphthalinonderivate **30** für *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* und *Candida albicans* (Tabelle 36) gegen die entsprechenden $\log k'$ -Werte (Tabelle 40) aufgetragen. Weder für die Wirkung auf die beiden Dermatophyten noch für die auf Hefe ist eine Korrelation zu erkennen. Am stärksten wirksam sind **30-2** und **30-3** mit $\log k'$ -Werten von 0,63 bzw. 0,74; Sulfon **30-4** ist mit einem $\log k'$ -Wert von 0,68 deutlich schwächer wirksam. Die von der RP-18-Phase am längsten (**30-5**, $\log k' = 0,81$) und die am wenigsten zurückgehaltene Verbindung (**30-1**, $\log k' = 0,42$) weisen die schlechtesten MHK-Werte gegen alle drei Pilzstämme auf.

Abbildung 15: Zusammenhänge zwischen Lipophilie von 2-[(Phenylsulfonyl)-methyl]-1-indanon **29** und ihrer Wirkung auf Mikropilze



Bei den Indanonderivaten **29** lassen sich aus einer Auftragung der MHK-Werte für *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* und *Candida albicans* (Tabelle 35) gegen die Logarithmen der Kapazitätsquotienten (Tabelle 39) ebenfalls keine direkten Wirkungsabhängigkeiten ableiten (Abbildung 15).

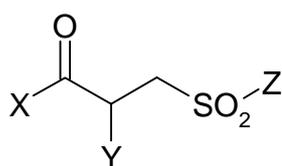
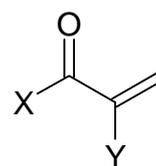
Hier zeigen **29-1** mit dem kleinsten ($\log k' = 0,37$) und **29-4** mit dem größten Kapazitätsquotienten ($\log k' = 0,55$) die beste Wirkung gegen Dermatophyten, während **29-2** ($\log k' = 0,48$) und **29-3** ($\log k' = 0,44$) deutlich schlechter wirken bzw. unwirksam sind. Die Wachstumshemmung der Hefe steht ebenfalls in keinem Zusammenhang mit den $\log k'$ -Werten.

Auch hinsichtlich der Hemmwirkung der 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone bzw. der Tetrahydronaphthalinon- und Indanon-Derivate gegenüber Aldehyd-Dehydrogenase (Tabellen **29**, **31** und **32**) besteht keine Korrelation mit den $\log k'$ -Werten (Tabellen **37**, **39** und **40**). Dieses Ergebnis überrascht nicht, weil durch die relativ kurze Inkubationszeit bei der Bestimmung der Enzymhemmung das Ausmaß der Hemmwirkung hauptsächlich von der Reaktionsgeschwindigkeit der untersuchten Verbindungen abhängt; dadurch werden Einflüsse physikalisch-chemischer Faktoren auf die Inaktivierung überlagert (vgl. Kapitel 4.3.).

Die in Tabelle **38** zusammengefaßten 3-Sulfonyl-1-propanone sind untereinander deutlich weniger strukturverwandt als die Verbindungen der Tabellen **37** oder **39** und **40**, so daß sie aufgrund der vorstehend diskutierten Ergebnisse nicht näher untersucht wurden.

7. Zusammenfassung*

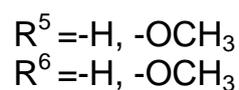
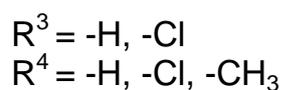
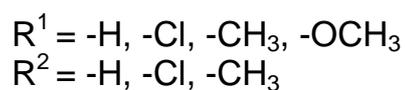
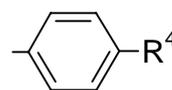
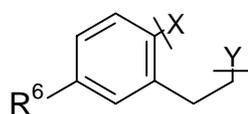
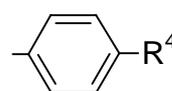
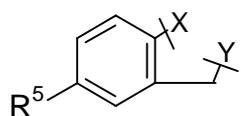
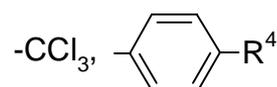
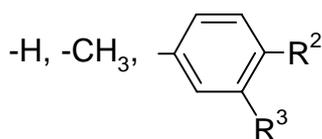
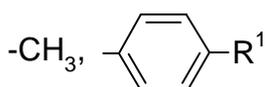
Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Darstellung von in β -Stellung substituierten γ -Oxosulfonen **1** und mit Untersuchungen hinsichtlich ihrer Eignung als chemische Transportform für α,β -ungesättigte Carbonylverbindungen **2**. Letztere besitzen zum Teil ausgeprägte germizide Eigenschaften, die wahrscheinlich auf einer Addition der aktivierten Doppelbindung an nucleophile Strukturen wie beispielsweise SH-Gruppen von Enzymen beruhen.

**1****2**

X

Y

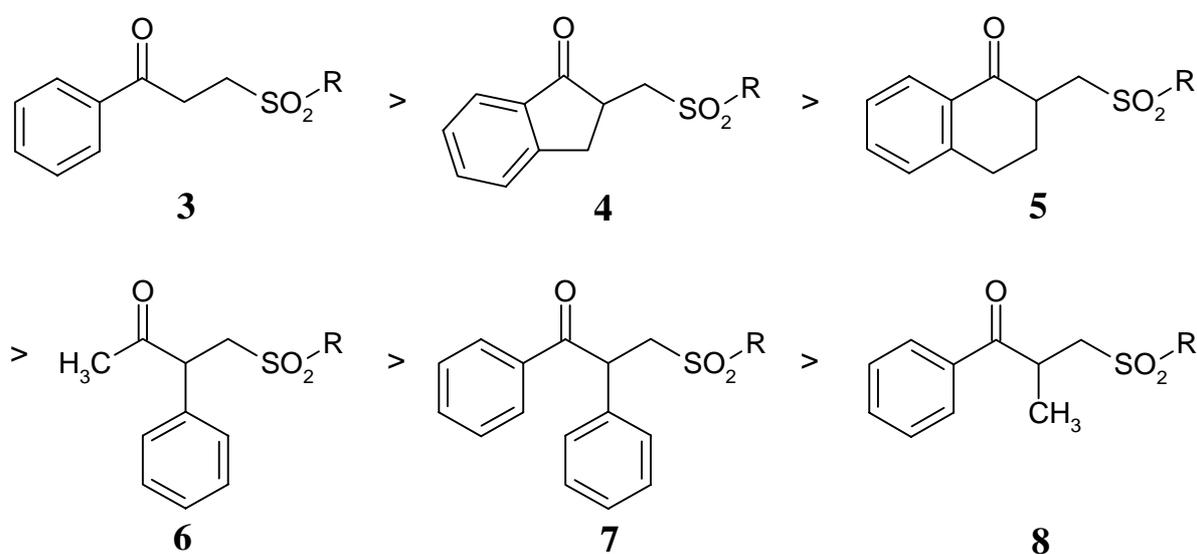
Z



* Die in der Zusammenfassung verwendeten Nummern weichen von der in den anderen Kapiteln verwendeten Numerierung ab.

37 systematisch variierte Verbindungen **1** wurden durch Addition von Sulfin- säure an die α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen **2** bzw. durch Umsetzung von entsprechenden β -Aminoketonen mit Sulfin- säure synthetisiert. Ihre Reak- tivität in Abhängigkeit von Grundstruktur und Substitutionsmuster wurde anhand der Reaktion mit 4-Methylthiophenol als Modellnucleophil untersucht. Zur Messung der Reaktionsgeschwindigkeit wurde die Restkonzentration des mit einem Sulfonüberschuß umgesetzten 4-Methylthiophenols in bestimmten Zeitintervallen mittels Ellmans Reagenz photometrisch bestimmt.

Aus den erhaltenen Zeit-Umsatz-Kurven wurden die Reaktionsgeschwindig- keitskonstanten k berechnet. Die Grundstrukturen **3** bis **8** unterscheiden sich deutlich hinsichtlich ihrer Reaktivität gegenüber 4-Methylthiophenol; sie sind nach abnehmender Reaktionsgeschwindigkeit geordnet.



Die Untersuchung von 22 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanonen **7** ergab lineare Beziehungen mit Bestimmtheitsmaßen von 0,971 bis 0,999 zwischen den $\text{p}K$ -Werten und den σ -Hammett-Konstanten für die Substituenten an den Phenylresten an C-1 und C-2 des Propanongrundgerüsts. Substituenten mit elektronenziehenden Eigenschaften (positiver σ -Hammett-Wert) erhöhen die

Reaktionsgeschwindigkeit mit dem Nucleophil, elektronenliefernde Substituenten (negativer σ -Hammett-Wert) senken sie.

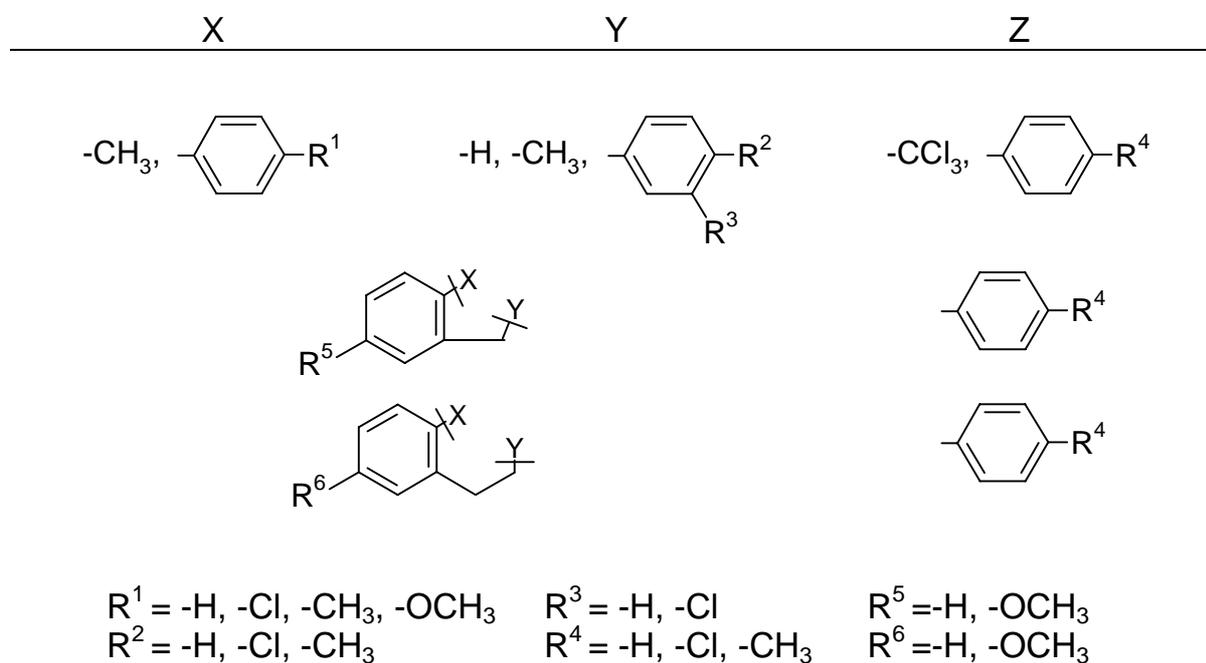
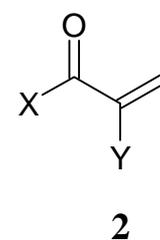
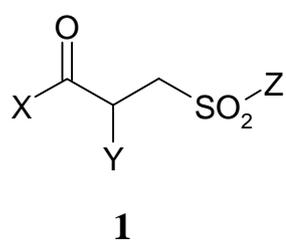
Auf diesen Ergebnissen basierend wurde ein Rechenmodell entwickelt, mit dem der Einfluß der Substituenten R^1 - R^4 auf die Zeit, nach der die Hälfte an 4-Methylthiophenol umgesetzt ist, berechnet werden kann. Die berechneten Werte stimmen in hohem Maße mit den gemessenen überein.

Die Bestimmung der Hemmwirkung auf die Aktivität von Enzymen ergab keinen Einfluß gegenüber Glutathion-Reduktase bis zu Sulfonkonzentrationen von $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Dagegen hemmen die Sulfone bei gleicher Konzentration zum Teil deutlich die Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase, vor allem solche Verbindungen, die auch eine hohe Reaktivität gegenüber 4-Methylthiophenol aufweisen. Bei den 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanonen **7** bewirkt die Einführung von zwei Chlorsubstituenten die stärkste Wirkungssteigerung, während elektronenliefernde Substituenten ebenso wie bei den Indanon-Derivaten **4** und den Tetrahydronaphthalinonen **5** zum Wirkungsabfall führen. In fungistatischen Untersuchungen hemmen die meisten der untersuchten Verbindungen das Wachstum von Dermatophyten in Konzentrationen zwischen 10 und 100 ppm. Bei den 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanonen **7** führen elektronenliefernde Substituenten an den Phenylresten an C-1 und C-2 zum Wirkungsabfall, am wirksamsten sind unsubstituierte oder einfach chlor-substituierte Verbindungen. Die Indanon- und Tetrahydronaphthalinon-Derivate **4** bzw. **5** hemmen neben den Dermatophyten auch das Wachstum von *Candida albicans* in Konzentrationen bis 10 ppm.

Ein Zusammenhang zwischen der biologischen Aktivität der Sulfone und den mittels HPLC als Lipophilieparameter bestimmten Kapazitätsquotienten k' wurde nicht festgestellt.

8. Summary*

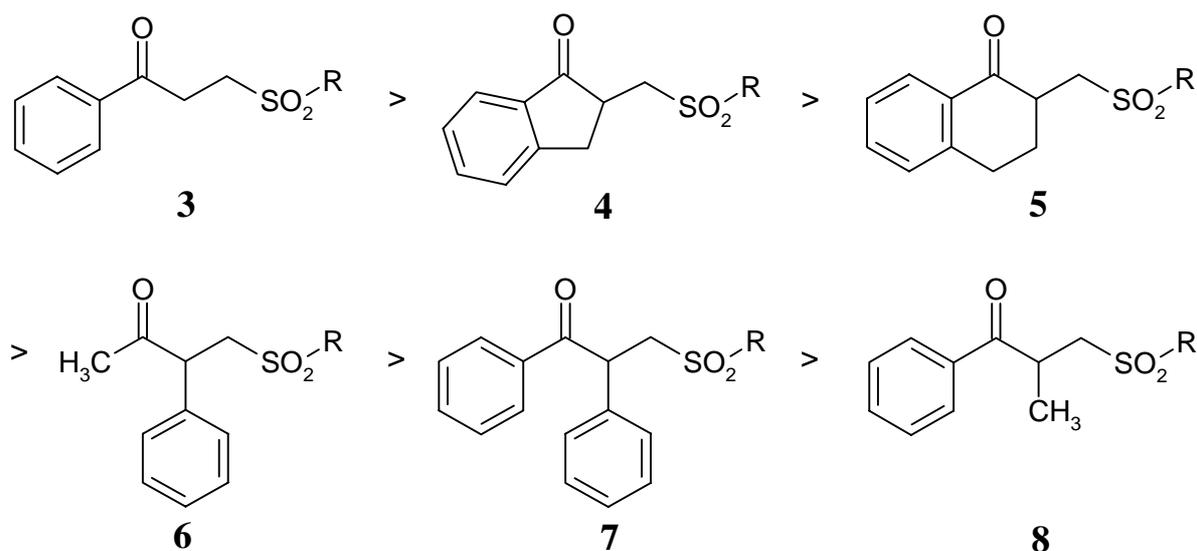
The preparation of β -substituted γ -oxosulfones **1** has been investigated. Furthermore the suitability of these γ -oxosulfones as chemical transport forms for α,β -unsaturated carbonyl compounds **2** was evaluated. The known structures **2** show particularly remarkable antimicrobial activity which is probably based on their property to add nucleophilic structures like SH groups in enzymes.



* The numbers used in the summary do not correspond to the numbering in the other chapters.

By addition of sulfinic acid to α,β -unsaturated ketones **2** or by reaction of the corresponding β -amino ketones with sulfinic acid thirty-seven systematically varied compounds **1** have been synthesised. The reactivity of the compounds **1** has been studied by the reaction with 4-methylthiophenol as a nucleophilic model substance. The rate of reaction was measured colorimetrically by determining the concentration of 4-methylthiophenol in defined intervals with Ellmans reagent. K-values have been calculated from the resulting time versus concentration curves.

The basic structures **3** to **8** show distinct differences concerning their reactivity with 4-methylthiophenol; the reactivity is decreasing by the order given below:



The evaluation of twenty-two 1,2-bisphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanones **7** has disclosed linear relationships between pK -values of the compounds and σ -Hammett values of the substituents at the phenyl rings at C-1 and C-2 of the basic propanone structure, expressed by correlation coefficients from 0,971 to 0,999. Substituents with electron-withdrawing properties (positive σ -Hammett

value) increase the rate of reaction with the nucleophile, electron-donating substituents (negative σ -Hammett value) decrease it.

Based on these results parameters for the characterisation of the influence of substituents R^1 - R^4 on the reaction rate have been developed. Using these parameters the time needed for 50% of the reaction was calculated. A high correlation between calculated and measured values has been found.

The examined sulfones do not inhibit glutathione reductase up to concentrations of 10^{-4} mol·l⁻¹, but some show marked inhibition to aldehyde dehydrogenase at the same concentration, especially those compounds that react fast with 4-methylthiophenol. Concerning 1,2-bisphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanones **7**, two chloro substituents at the phenyl rings lead to the highest effects, while electron-donating substituents decrease it, likewise with the indanones **4** and tetrahydronaphthalinones **5**.

In antifungal tests most of the sulfones displayed activity against dermatophytes in concentrations between 10 and 100 ppm. Electron-donating substituents at phenyl rings at C-1 and C-2 of 1,2-bisphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanones **7** decrease activity, whereas unsubstituted or simply chloro substituted compounds exhibit the highest potency. Indanones **4** and tetrahydronaphthalinones **5** additionally inhibit *Candida albicans* in concentrations up to 10 ppm.

Lipophilicity of the compounds was determined by measuring the k' -values for reversed phase HPLC. A relationship between biological activity and the lipophilic parameter was not detected.

9. Experimenteller Teil

9.1. Verzeichnis der Geräte und Analysemethoden

Elementaranalysen:

C, H, N : Heraeus CHN-O-Rapid, Heraeus (Gießen).

S : Titration mit 0,005 M $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ -Lösung gegen Sulfonazo III nach Verbrennung in der „Mikroverbrennungsapparatur nach Schöniger“ und anschließender Oxidation mit Wasserstoffperoxid.

Cl : Titration des Chlorids mit 0,005 M $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ -Lösung gegen Diphenylcarbazon, nach Verbrennung in der „Mikroverbrennungsapparatur nach Schöniger“.

Angabe der berechneten (Ber.) und gefundenen (Gef.) Werte in Prozent.

Schmelztemperatur:

Schmelzpunktapparat nach Linström (unkorrigiert)

Dünnschichtchromatographie (DC):

DC-Mikrokarten Polygram Sil G/UV₂₅₄, Macherey-Nagel (Düren), 40×80 mm, Schichtdicke 0,25 mm.

Alle DC-Untersuchungen wurden über eine Laufstrecke von 6 cm bei Kammer-sättigung durchgeführt. Als Laufmittel wurde, soweit nicht anders angegeben, Dichlormethan verwendet.

¹H-NMR-Spektren:

Bruker AC 250 P (250 MHz)

Bruker AMX 400 (400 MHz)

Bruker DRX 500 (500 MHz)

Wenn nicht anders vermerkt, wurden die Messungen routinemäßig mit dem Gerät Bruker AMX 400 aufgenommen.

Angabe der chemischen Verschiebung in δ -Werten (ppm), bezogen auf Tetramethylsilan (TMS) als innerer Standard; Ermittlung der Protonenverhältnisse durch Integration.

¹³C-NMR-Spektren:

Bruker AC 250 P (62,90 MHz)

Bruker AMX 400 (100,62 MHz)

Wenn nicht anders vermerkt, wurden die Messungen routinemäßig mit dem Gerät Bruker AMX 400 aufgenommen.

Angabe der chemischen Verschiebung in δ -Werten (ppm), bezogen auf Tetramethylsilan (TMS) als innerer Standard; die Spektren wurden breitbandentkoppelt und zusätzlich als DEPT-Spektren aufgenommen.

IR-Spektren (KBr):

Philips Pye-Unicam SP 3-200 S

Perkin Elmer 1600 FTIR

Ausbeuten:

Ausbeuten sind, falls nicht anders erwähnt, Reinausbeuten. Die Reinheit wurde dünnschichtchromatographisch, NMR-spektroskopisch und durch Elementaranalysen überprüft.

Relative Molmassen

Relative Molmassen wurden nach der Atomgewichtstabelle von 1964 - bezogen auf ^{12}C - berechnet.

Temperaturangaben:

Alle Angaben beziehen sich auf °C.

HPLC:

System: Merck Hitachi La Chrom
Autosampler L-7200
Pumpe L-7100
Solvent Degasser L-7612
Column Oven L-7350
Peltier Cooling Module for L-7350/7351
UV-Detektor L-7400

Software: Merck D-7000 HPLC System Manager für Windows NT 4.0

UV-Spektren:

Philips PU 8730 UV/VIS-Spektralphotometer

Die Messungen wurden mit verschließbaren Quarzküvetten in einem temperierbaren Küvettenhalter (Philips 8751) durchgeführt, der von einem Thermostaten (Haake, Modell D1) auf $\pm 0,05^\circ\text{C}$ der angegebenen Temperatur temperiert wurde.

Einstellung der Pufferlösungen

Alle Pufferlösungen wurden mit einem Metrohm E520 pH-Meter (Metrohm Herisau) und einer kombinierten Glaselektrode (Metrohm 6.0203.000) eingestellt. Die Geräteeichung erfolgte nach der im DAB 1997, Kapitel V.6.3.1¹⁰² beschriebenen Methode bei 25°C mit:

- Kaliumhydrogenphthalat-Lösung 0,05 M pH 4,01
- Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung 0,0087 M und
Natriummonohydrogenphosphatlösung 0,0303 M pH 7,41
- Natriumcarbonat-Lösung 0,025 M und
Natriumhydrogencarbonat-Lösung 0,025 M pH 10,01

Tabellenkalkulation:

Die Berechnungen und graphischen Darstellungen zu den Auswertungen der Meßdaten in den Kapiteln 3 bis 6 erfolgten unter Anwendung des Tabellenkalkulationprogramms Microsoft Excel.

¹⁰²Amtliche Ausgabe *Deutsches Arzneibuch 1997*, V.6.3.1, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart und Govi-Verlag GmbH, Frankfurt a.M./Eschborn, 1997

9.2. Versuche zu Kapitel 2

Alle bereits publizierten Verbindungen sind im experimentellen Teil nicht gesondert aufgeführt, sofern die Darstellung und Analytik den in der zitierten Literatur beschriebenen Methoden und Daten entspricht.

Darstellung der 3-Dimethylamino-1,2-diphenyl-1-propanon-hydrochloride 23

Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (AAV 1)

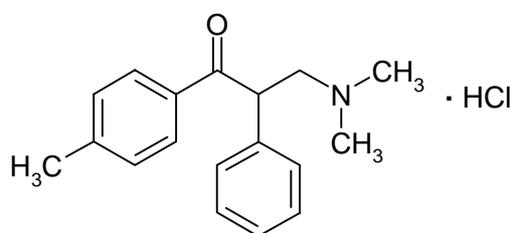
100 mmol Dimethylamin-Lösung 40% in 50 ml Ethanol werden im Eisbad bei 5-10°C unter Rühren tropfenweise mit 150 mmol Formaldehyd-Lösung 37% versetzt. Nach Erwärmung auf Raumtemperatur werden 100 mmol 1,2-Diphenylethanon hinzugegeben und der Ansatz nach einer Stunde Rühren vier Stunden lang unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung und Eingießen in 300 ml Wasser scheidet sich die Mannich-Base über Nacht im Kühlschrank als hochviskoses Öl oder als Feststoff ab. Das Lösungsmittel wird abdekantiert, der Rückstand zweimal mit wenig Wasser gewaschen und nach Aufnahme in Toluol am Rotationsverdampfer zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird in absolutiertem Diethylether aufgenommen, der mit ethanolischer HCl (20%) angesäuert wird. Der Niederschlag wird mit absolutiertem Diethylether gewaschen und wie angegeben umkristallisiert.

Allgemeine Arbeitsvorschrift 2 (AAV 2)

100 mmol Dimethylammoniumchlorid und 100 mmol 1,2-Diphenylethanon werden in 50 ml absolutiertem Ethanol gelöst und unter Rühren portionsweise mit 100 mmol Paraformaldehyd versetzt. Nach Zusatz von 1 ml ethanolischer

HCl (20%) wird während zwei Stunden unter Feuchtigkeitsausschluß zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlung auf ca. 30°C werden 50 mmol Paraformaldehyd zugesetzt, dann wird für weitere sechs Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach Erkalten wird filtriert und auf ein Volumen von ca. 10 ml eingengt. Der Rückstand wird mit absolutiertem Diethylether gewaschen und wie angegeben umkristallisiert.

3-Dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-2-phenyl-1-propanon-hydrochlorid 23-3



Aus 1-(4-Methylphenyl)-2-phenyl-ethanon nach AAV 1. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

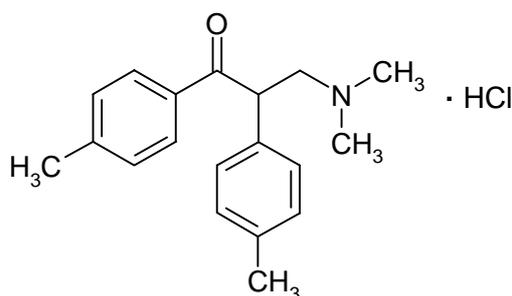
Ausbeute: 61 % Schmp.: 151.5-153.0°C

IR (KBr) : 2478-2675 cm^{-1} (HN^+R_3) 1673 cm^{-1} (C=O)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.32 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.78 (s, 6H, N-(CH_3) $_2$), 3.36 (dd, 1H, $J = 13.2/4.6$ Hz, CH_2), 3.97 (dd, 1H, $J = 13.2/8.1$ Hz, CH_2), 5.58 (dd, 1H, $J = 8.1/4.6$ Hz, CH), 7.24-7.41 (m, 7H, aromat. H), 7.97 (d, 2H, aromat. H), 10.44 (s, 1H, N^+H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar- CH_3), 43.2 (N-(CH_3) $_2$), 47.6 (CH), 58.4 (CH_2), 127.8, 128.2, 129.0, 129.2 (4C, aromat. CH, ein Signal fehlt aufgrund einer Überlappung), 132.4, 136.2, 144.2 (3C, quart. aromat. C), 196.2 (C=O)

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClNO}$	Ber. (%)	C 71.16	H 7.30	N 4.61	Cl 11.67
(303.84)	Gef. (%)	C 70.95	H 7.34	N 4.66	Cl 11.54

3-Dimethylamino-1,2-di-(4-methylphenyl)-1-propanon-hydrochlorid 23-4

Aus 1,2-Di-(4-methylphenyl)-ethanon nach AAV 1. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

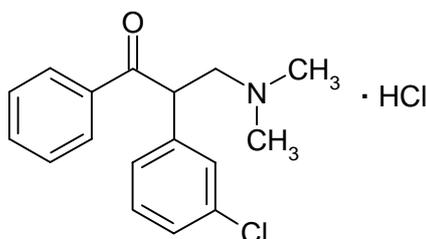
Ausbeute: 28 % Schmp.: 159.5-161.0°C

IR (KBr) : 2463-2663 cm^{-1} (HN^+R_3) 1670 cm^{-1} (C=O)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.21 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.32 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.75 (s, 6H, N-(CH_3) $_2$), 3.35 (dd, 1H, $J = 13.2/4.6$ Hz, CH_2), 3.94 (dd, 1H, $J = 13.2/8.1$ Hz, CH_2), 5.52 (dd, 1H, $J = 8.1/4.6$ Hz, CH), 7.13-7.94 (m, 8H, aromat. H), 10.34 (s, 1H, N^+H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 20.5 (Ar- CH_3), 21.0 (Ar- CH_3), 43.0 (N- CH_3), 43.3 (N- CH_3), 47.3 (CH), 58.4 (CH_2), 128.1, 128.9, 129.2, 129.8 (4C, aromat. CH), 132.5, 133.1, 137.2, 144.1 (4C, quart. aromat. C), 196.3 (C=O)

$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClNO}$	Ber. (%)	C 71.80	H 7.61	N 4.41	Cl 11.15
(317.86)	Gef. (%)	C 71.56	H 7.56	N 4.48	Cl 11.19

2-(3-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid 23-7

Aus 2-(3-Chlorphenyl)-1-phenyl-ethanon nach AAV 2. 3×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 26 % Schmp.: 147.0-149.0°C

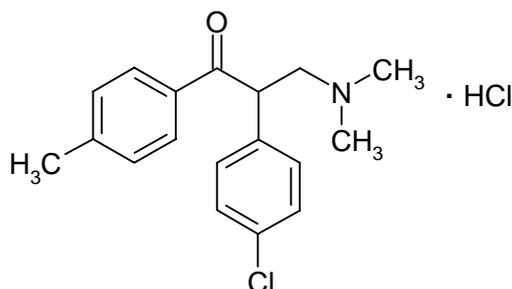
IR (KBr) : 2461-2672 cm^{-1} (HN^+R_3) 1675 cm^{-1} (C=O)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.79 (s, 6H, N-(CH_3) $_2$), 3.47 (dd, 1H, J = 13.2/5.1 Hz, CH_2), 3.99 (dd, 1H, J = 13.2/7.6 Hz, CH_2), 5.68 (dd, 1H, J = 7.6/5.1 Hz, CH), 7.32-7.61 (m, 7H, arom. H), 8.09 (d, 2H, arom. H), 10.41 (s, 1H, N^+H)

$^{13}\text{C-NMR}$: 62,90 MHz (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 43.1 (N- CH_3), 43.3 (N- CH_3), 47.2 (CH), 58.0 (CH_2), 126.9, 128.0, 128.2, 128.8, 128.9, 131.1, 133.8 (7C, arom. CH), 133.7, 134.7, 138.2 (3C, quart. arom. C), 196.2 (C=O)

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO}$	Ber. (%)	C 62.97	H 5.91	N 4.32	Cl 21.87
(324.25)	Gef. (%)	C 62.46	H 5.94	N 4.42	Cl 22.06

2-(4-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-1-propanon-
hydrochlorid **23-8**



Aus 2-(4-Chlorphenyl)-1-(4-methylphenyl)-ethanon nach AAV 1. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 35 % Schmp.: 166.0-167.0°C

IR (KBr) : 2443-2545 cm^{-1} (HN^+R_3) 1671 cm^{-1} (C=O)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.32 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.78 (s, 6H, N-(CH_3) $_2$), 3.40 (dd, 1H, J = 13.2/5.1 Hz, CH_2), 3.95 (dd, 1H, J = 13.2/7.6 Hz, CH_2), 5.61 (dd, 1H, J = 7.6/5.1 Hz, CH), 7.28-7.96 (m, 8H, arom. H), 10.31 (s, 1H, N^+H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar- CH_3), 43.2 (N-(CH_3) $_2$), 46.9 (CH), 58.1 (CH_2), 129.0, 129.2, 129.3, 130.2 (4C, arom. CH), 132.3, 132.7, 135.0, 144.4 (4C, quart. arom. C), 195.9 (C=O)

$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{NO}$	Ber. (%)	C 63.91	H 6.25	N 4.14	Cl 20.96
(338.28)	Gef. (%)	C 63.54	H 6.23	N 4.14	Cl 21.07

Darstellung der 1,2-disubstituierten-3-Sulfonyl-1-propanone **18** und **26**

Allgemeine Arbeitsvorschrift 3 (AAV 3)

10 mmol 1,2-Diphenylpropenon und 10 mmol Sulfinsäure werden in DMF gelöst und 15 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wird die Lösung in 200 ml Eiswasser (mit Salzsäure versetzt) gegossen und 24 Stunden bei 4°C stengelassen. Der abgeschiedene Rückstand wird in wenig Ethanol aufgenommen und mit einigen Tropfen Wasser versetzt. Nach einiger Zeit bei 4°C bilden sich Kristalle, die wie angegeben umkristallisiert werden.

Allgemeine Arbeitsvorschrift 4 (AAV 4)

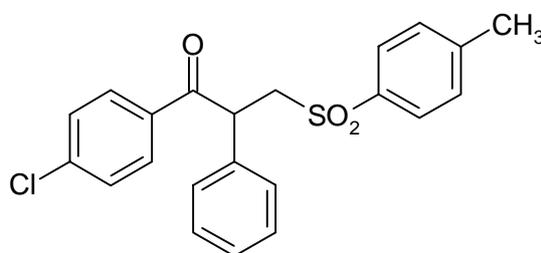
10 mmol 1,2-Diphenylpropenon und 10 mmol Sulfinsäure werden in absolutiertem THF gelöst, mit 5 Tropfen N-Ethyl-diisopropylamin versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur stengelassen. Nach Ansäuern mit wenig HCl (konz.) wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand wie angegeben umkristallisiert.

Allgemeine Arbeitsvorschrift 5 (AAV 5)

10 mmol Mannich-Base-hydrochlorid und 20 mmol Sulfinsäure werden in 10 ml absolutiertem DMF suspendiert. Unter Rühren werden 20 mmol N-Ethyl-diisopropylamin in 15 ml absolutiertem DMF zugetropft, dann wird unter Stickstoffeinleitung während 10 bis 30 Minuten (DC-Kontrolle) zum Sieden

erhitzt. Nach Erkalten wird in 200 ml Wasser gegossen und 24 Stunden lang bei 4°C aufbewahrt. Der Rückstand wird mit Wasser gewaschen und mit wenig Ethanol zur Kristallisation gebracht. Anschließend wird wie angegeben umkristallisiert.

1-(4-Chlorphenyl)-2-phenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **18-2**



Aus 1-(4-Chlorphenyl)-2-phenyl-propenon und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 3. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 32 % Schmp.: 142.0-145.0°C

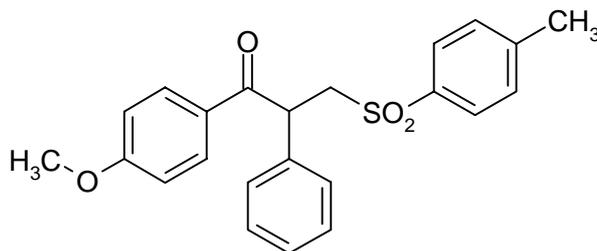
IR (KBr) : 1680 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1300 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.72 (dd, 1H, *J* = 14.2/4.1 Hz, CH₂), 4.35 (dd, 1H, *J* = 14.21/8.7 Hz, CH₂), 5.28 (dd, 1H, *J* = 8.7/4.1 Hz, CH), 7.19-7.38 (m, 7H, aromat. H), 7.54 (d, 2H, aromat. H), 7.70 (d, 2H, aromat. H), 7.99 (d, 2H, aromat. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 46.3 (CH), 57.7 (CH₂), 127.6 (gedehnt: 2 Signale), 128.2, 128.8, 128.9, 129.7, 130.5 (7C, aromat. CH), 133.5, 135.9, 136.3, 138.5, 144.3 (5C, quart. aromat. C), 194.8 (C=O)

C ₂₂ H ₁₉ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 66.24	H 4.80	Cl 8.89	S 8.04
(398.91)	Gef. (%)	C 65.89	H 4.88	Cl 9.10	S 8.12

1-(4-Methoxyphenyl)-2-phenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon 18-3



Aus 1-(4-Methoxyphenyl)-2-phenyl-propenon und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 3. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 8 % Schmp.: 114.0-115.0°C

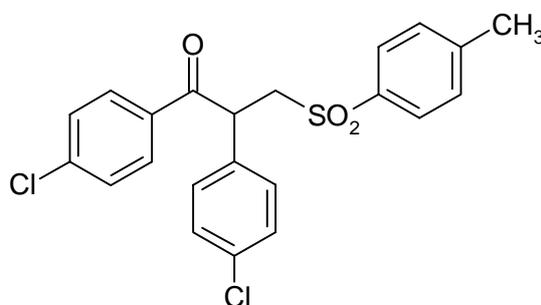
IR (KBr) : 2840 cm⁻¹ (OCH₃), 1660 cm⁻¹ (C=O), 1130, 1300 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.64 (dd, 1H, *J* = 14.2/3.6 Hz, CH₂), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 4.34 (dd, 1H, *J* = 14.2/9.2 Hz, CH₂), 5.21 (dd, 1H, *J* = 9.2/3.6 Hz, CH), 6.98 (d, 2H, aromat. H), 7.13-7.39 (m, 7H, aromat. H), 7.70 (d, 2H, aromat. H), 7.96 (d, 2H, aromat. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 45.9 (CH), 55.5 (OCH₃), 57.9 (CH₂), 113.9, 127.4, 127.6, 128.1, 128.8, 129.7, 131.1 (7C, aromat. CH), 127.7, 136.4, 136.8, 144.2, 163.4 (5C, quart. aromat. C), 194.0 (C=O)

C ₂₃ H ₂₂ O ₄ S	Ber. (%)	C 70.03	H 5.62	S 8.13
(394.49)	Gef. (%)	C 69.82	H 5.66	S 8.08

1,2-Di-(4-chlorphenyl)-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon 18-4



Aus 1,2-Di-(4-chlorphenyl)-propenon und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 4. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 90 % Schmp.: 131.6-132.9°C

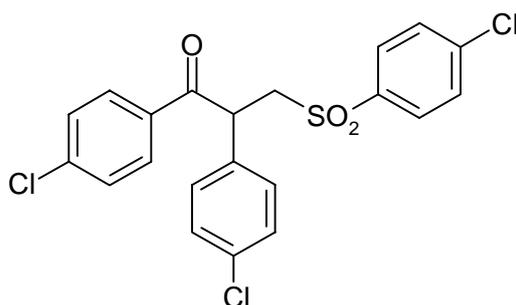
IR (KBr) : 1689 cm⁻¹ (C=O), 1138, 1324 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.82 (dd, 1H, *J* = 14.5/5.1 Hz, CH₂), 4.28 (dd, 1H, *J* = 14.5/8.2 Hz, CH₂), 5.31 (dd, 1H, *J* = 8.2/5.1 Hz, CH), 7.26-7.36 (m, 6H, arom. H), 7.54 (d, 2H, arom. H), 7.68 (d, 2H, arom. H), 8.02 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 45.7 (CH), 57.4 (CH₂), 127.6, 128.8, 128.9, 129.6, 130.2, 130.6 (6C, arom. CH), 132.5, 133.3, 134.7, 136.3, 138.6, 144.3 (6C, quart. arom. C), 194.7 (C=O)

C ₂₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₃ S	Ber. (%)	C 60.97	H 4.18	Cl 16.36	S 8.13
(433.33)	Gef. (%)	C 60.63	H 4.22	Cl 16.34	S 8.08

1,2-Di-(4-chlorphenyl)-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-propanon **18-5**



Aus 1,2-Di-(4-chlorphenyl)-propanon und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 4. 3×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

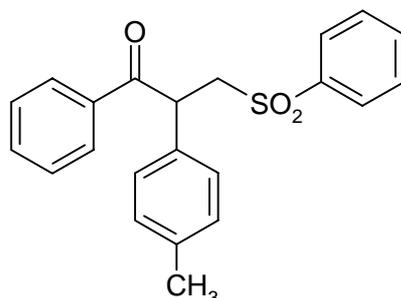
Ausbeute: 32 % Schmp.: 127.0-128.9°C

IR (KBr) : 1676 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1318 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 3.98 (dd, 1H, *J* = 14.8/5.6 Hz, CH₂), 4.32 (dd, 1H, *J* = 14.8/7.6 Hz, CH₂), 5.33 (dd, 1H, *J* = 7.6/5.6 Hz, CH), 7.25 (d, 2H, arom. H), 7.30 (d, 2H, arom. H), 7.53 (d, 2H, arom. H), 7.60 (d, 2H, arom. H), 7.79 (d, 2H, arom. H), 8.03 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 45.8 (CH), 57.1 (CH₂), 128.8, 128.9, 129.3, 129.6, 130.3, 130.6 (6C, arom. CH), 132.5, 133.3, 134.4, 138.0, 138.7, 138.8 (6C, quart. arom. C), 194.7 (C=O)

C ₂₁ H ₁₅ Cl ₃ O ₃ S	Ber. (%)	C 55.58	H 3.33	Cl 23.44	S 7.06
(453.75)	Gef. (%)	C 55.43	H 3.39	Cl 23.71	S 7.09

2-(4-Methylphenyl)-1-phenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanon 26-2

Aus 3-Dimethylamino-2-(4-methylphenyl)-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und Benzensulfinsäure nach AAV 5. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

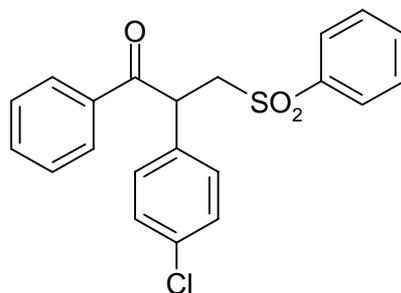
Ausbeute: 37 % Schmp.: 94.5-97.0°C

IR (KBr) : 1674 cm⁻¹ (C=O), 1137, 1315 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.18 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.72 (dd, 1H, *J* = 14.2/4.1 Hz, CH₂), 4.37 (dd, 1H, *J* = 14.2/8.6 Hz, CH₂), 5.27 (dd, 1H, *J* = 8.6/4.1 Hz, CH), 7.03 (d, 2H, aromat. H), 7.15 (d, 2H, aromat. H), 7.48-7.72 (m, 6H, aromat. H), 7.83 (d, 2H, aromat. H), 7.98 (d, 2H, aromat. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 20.4 (Ar-CH₃), 45.9 (CH), 57.6 (CH₂), 127.5, 128.1, 128.6, 128.7, 129.2, 129.5, 133.5, 133.7 (8C, aromat. CH), 133.1, 134.8, 136.9, 139.2 (4C, quart. aromat. C), 195.6 (C=O)

C ₂₂ H ₂₀ O ₃ S	Ber. (%)	C 72.50	H 5.53	S 8.80
(364.47)	Gef. (%)	C 72.48	H 5.57	S 8.79

2-(4-Chlorphenyl)-1-phenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanon 26-3

Aus 2-(4-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und Benzensulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 71 % Schmp.: 89.0-89.9°C

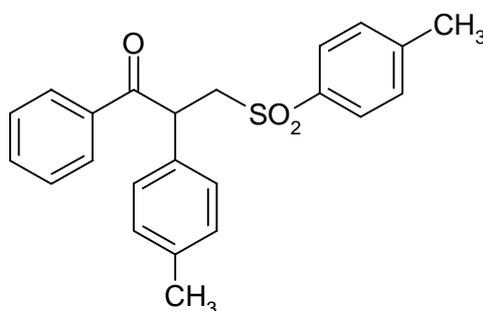
IR (KBr) : 1674 cm⁻¹ (C=O), 1137, 1316 cm⁻¹ (SO₂)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 3.88 (dd, 1H, $J = 14.8/5.1$ Hz, CH_2), 4.32 (dd, 1H, $J = 14.8/8.1$ Hz, CH_2), 5.38 (dd, 1H, $J = 8.1/5.1$ Hz, CH), 7.26-8.03 (m, 10H, arom. H), 7.81 (d, 2H, arom. H), 8.00 (d, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 46.6 (CH), 58.2 (CH_2), 128.5, 129.6, 129.7, 130.2, 131.2, 134.6 (6C, arom. CH, zwei Signale fehlen aufgrund Überlappungen), 133.4, 135.6, 136.0, 140.2 (4C, quart. arom. C), 196.5 (C=O)

$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{ClS}$	Ber. (%)	C 65.53	H 4.45	Cl 9.21	S 8.33
(384.86)	Gef. (%)	C 65.14	H 4.44	Cl 9.21	S 8.33

2-(4-Methylphenyl)-1-phenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon 26-5



Aus 3-Dimethylamino-2-(4-methylphenyl)-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und Toluen-4-sulfinsäure nach AAV 5. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Prismen.

Ausbeute: 73 % Schmp.: 93.8-94.8°C

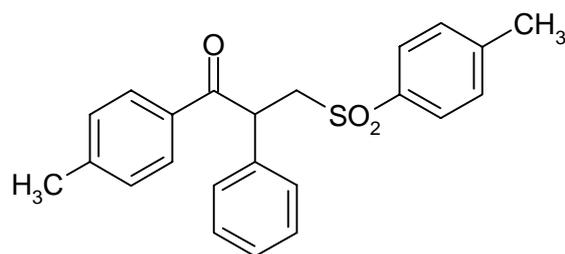
IR (KBr) : 1680 cm^{-1} (C=O), 1135, 1312 cm^{-1} (SO_2)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.18 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.38 (s, 3H, Ar- CH_3), 3.66 (dd, 1H, $J = 14.5/4.1$ Hz, CH_2), 4.32 (dd, 1H, $J = 14.5/8.9$ Hz, CH_2), 5.22 (dd, 1H, $J = 8.9/4.1$ Hz, CH), 7.02 (d, 2H, arom. H), 7.12 (d, 2H, arom. H), 7.36 (d, 2H, arom. H), 7.45-7.61 (m, 3H, arom. H), 7.70 (d, 2H, arom. H), 7.98 (d, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 20.4 (Ar- CH_3), 21.0 (Ar- CH_3), 46.0 (CH), 57.8 (CH_2), 127.6, 128.0, 128.6, 128.7, 129.4, 129.7, 133.4 (7C, arom. CH), 133.1, 134.9, 136.3, 136.9, 144.2 (5C, quart. arom. C), 195.7 (C=O)

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{S}$	Ber. (%)	C 72.99	H 5.86	S 8.47
(378.50)	Gef. (%)	C 72.72	H 5.88	S 8.52

1-(4-Methylphenyl)-2-phenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon 26-6



Aus 3-Dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-2-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 5. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 57 % Schmp.: 108.0-110.0°C

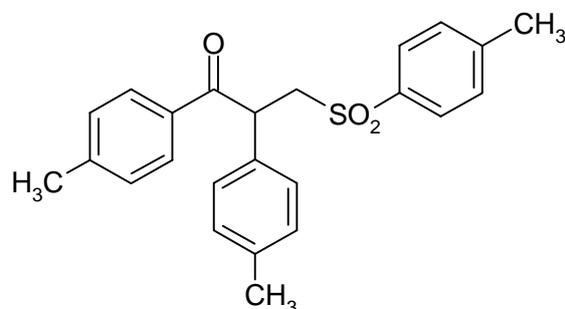
IR (KBr) : 1673 cm⁻¹ (C=O), 1136, 1315 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.34 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.68 (dd, 1H, *J* = 14.2/4.1 Hz, CH₂), 4.36 (dd, 1H, *J* = 14.2/9.2 Hz, CH₂), 5.23 (dd, 1H, *J* = 9.2/4.1 Hz, CH), 7.16-7.30 (m, 7H, arom. H), 7.37 (d, 2H, arom. H), 7.70 (d, 2H, arom. H), 7.88 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 20.9 (Ar-CH₃), 21.0 (Ar-CH₃), 46.1 (CH), 57.7 (CH₂), 127.4, 127.6, 128.1, 128.7, 128.8, 129.2, 129.7 (7C, arom. CH), 132.4, 136.3, 136.5, 144.0, 144.2 (5C, quart. arom. C), 195.2 (C=O)

C ₂₃ H ₂₂ O ₃ S	Ber. (%)	C 72.99	H 5.86	S 8.47
(378.50)	Gef. (%)	C 72.73	H 5.95	S 8.54

1,2-Di-(4-methylphenyl)-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon 26-7



Aus 3-Dimethylamino-1,2-di-(4-methylphenyl)-1-propanon-hydrochlorid und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 78 % Schmp.: 90.5-93.0°C

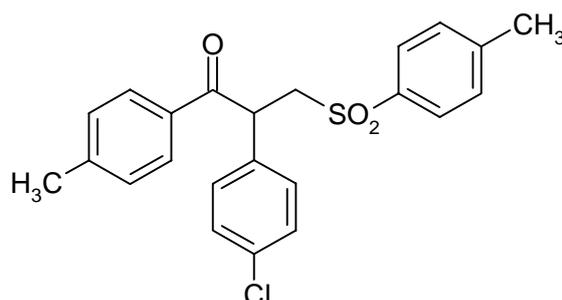
IR (KBr) : 1676 cm⁻¹ (C=O), 1137, 1300 cm⁻¹ (SO₂)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.18 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.64 (dd, 1H, $J = 14.2/4.1$ Hz, CH₂), 4.31 (dd, 1H, $J = 14.2/8.7$ Hz, CH₂), 5.18 (dd, 1H, $J = 8.7/4.1$ Hz, CH), 7.00 (d, 2H, arom. H), 7.11 (d, 2H, arom. H), 7.25 (d, 2H, arom. H), 7.32 (d, 2H, arom. H), 7.68 (d, 2H, arom. H), 7.87 (d, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: 62.90 MHz, (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 20.4 (Ar-CH₃), 20.9 (Ar-CH₃), 21.0 (Ar-CH₃), 45.9 (CH), 57.7 (CH₂), 127.6, 128.0, 128.7, 129.2, 129.4, 129.7 (6C, arom. CH), 132.4, 133.4, 136.4, 136.8, 143.9, 144.2 (6C, quart. arom. C), 195.2 (C=O)

$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$	Ber. (%)	C 73.44	H 6.16	S 8.17
(392.52)	Gef. (%)	C 73.28	H 6.20	S 8.09

2-(4-Chlorphenyl)-1-(4-methylphenyl)-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-8**



Aus 2-(4-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-1-propanonhydrochlorid und Toluol-4-sulfonsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 59 % Schmp.: 94.6-96.2°C

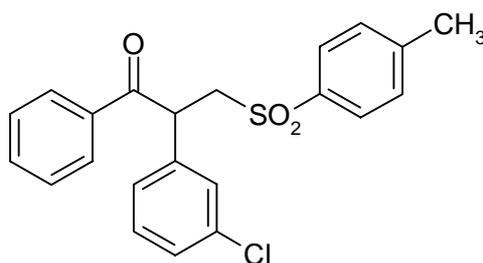
IR (KBr) : 1673 cm^{-1} (C=O), 1142, 1311 cm^{-1} (SO₂)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.78 (dd, 1H, $J = 14.4/5.0$ Hz, CH₂), 4.28 (dd, 1H, $J = 14.4/7.9$ Hz, CH₂), 5.29 (dd, 1H, $J = 7.9/5.0$ Hz, CH), 7.23-7.39 (m, 8H, arom. H), 7.69 (d, 2H, arom. H), 7.90 (d, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 20.9 (Ar-CH₃), 21.0 (Ar-CH₃), 45.5 (CH), 57.4 (CH₂), 127.6, 128.7, 128.8, 129.3, 129.6, 130.1 (6C, arom. CH), 132.2, 132.3, 135.3, 136.3, 144.2 (5C, quart. arom. C, ein Signal fehlt aufgrund einer Überlappung), 195.1 (C=O)

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClO}_3\text{S}$	Ber. (%)	C 66.90	H 5.12	Cl 8.58	S 7.76
(412.94)	Gef. (%)	C 66.81	H 5.13	Cl 8.62	S 7.77

2-(3-Chlorphenyl)-1-phenyl-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon 26-9



Aus 2-(3-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 19 % Schmp.: 90.3-92.0°C

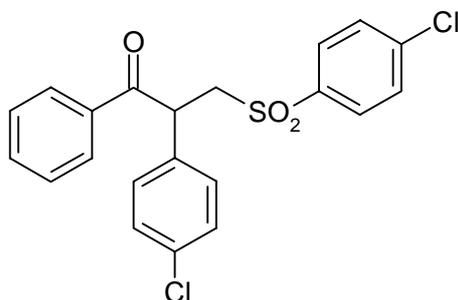
IR (KBr) : 1680 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1311 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.85 (dd, 1H, *J* = 14.2/5.1 Hz, CH₂), 4.31 (dd, 1H, *J* = 14.2/8.1 Hz, CH₂), 5.34 (dd, 1H, *J* = 8.1/5.1 Hz, CH), 7.22-7.66 (m, 9H, arom. H), 7.69 (d, 2H, arom. H), 8.02 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 45.8 (CH), 57.3 (CH₂), 127.0, 127.5, 127.6, 128.2, 128.7, 128.8, 129.6, 130.6, 133.7 (9C, arom. CH), 133.3, 134.6, 136.3, 138.3, 144.2 (5C, quart. arom. C), 195.5 (C=O)

C ₂₂ H ₁₉ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 66.24	H 4.80	Cl 8.89	S 8.04
(398.91)	Gef. (%)	C 65.93	H 4.82	Cl 9.31	S 7.95

2-(4-Chlorphenyl)-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-phenyl-1-propanon 26-11



Aus 2-(4-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. 3×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 25 % Schmp.: 69.0-71.0°C

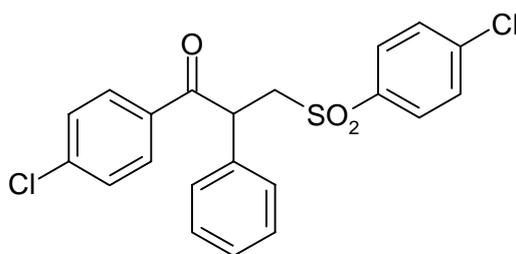
IR (KBr) : 1675 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1320 cm⁻¹ (SO₂)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 3.95 (dd, 1H, $J = 14.5/5.7$ Hz, CH_2), 4.32 (dd, 1H, $J = 14.5/7.6$ Hz, CH_2), 5.32 (dd, 1H, $J = 7.6/5.7$ Hz, CH), 7.24-7.61 (m, 9H, arom. H), 7.80 (d, 2H, arom. H), 8.00 (d, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: 62.90 MHz, (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 45.7 (CH), 57.2 (CH_2), 128.7, 128.7, 128.8, 129.3, 129.6, 130.3, 133.7 (7C, arom. CH), 132.5, 134.6, 134.8, 138.1, 138.8 (5C, quart. arom. C), 195.6 (C=O)

$\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{S}$	Ber. (%)	C 60.15	H 3.85	Cl 16.91	S 7.65
(419.33)	Gef. (%)	C 59.31	H 4.30	Cl 16.16	S 7.32

1-(4-Chlorphenyl)-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-2-phenyl-1-propanon 26-12



Aus 1-(4-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-2-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. $3\times$ Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

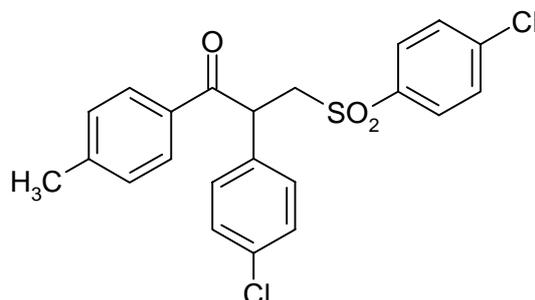
Ausbeute: 16 % Schmp.: 153.5-156.2°C

IR (KBr) : 1677 cm^{-1} (C=O), 1140, 1306 cm^{-1} (SO_2)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 3.88 (dd, 1H, $J = 14.5/4.6$ Hz, CH_2), 4.37 (dd, 1H, $J = 14.5/8.4$ Hz, CH_2), 5.29 (dd, 1H, $J = 8.4/4.6$ Hz, CH), 7.16-7.30 (m, 5H, arom. H), 7.54 (d, 2H, arom. H), 7.61 (d, 2H, arom. H), 7.81 (d, 2H, arom. H), 8.02 (d, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 46.4 (CH), 57.4 (CH_2), 127.6, 128.3, 128.9, 128.9, 129.3, 129.6, 130.6 (7C, arom. CH), 133.5, 135.6, 138.0, 138.6, 138.8 (5C, quart. arom. C), 194.8 (C=O)

$\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{S}$	Ber. (%)	C 60.15	H 3.85	Cl 16.91	S 7.65
(419.33)	Gef. (%)	C 60.04	H 3.97	Cl 16.76	S 7.61

2-(4-Chlorphenyl)-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-(4-methylphenyl)-1-propanon26-13

Aus 2-(4-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. 3×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

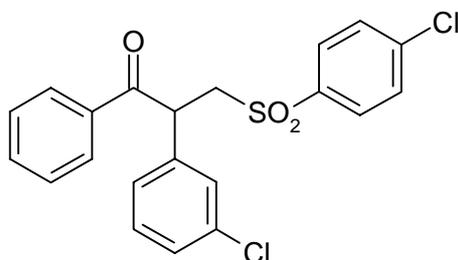
Ausbeute: 62 % Schmp.: 71.3-73.5°C

IR (KBr) : 1672 cm⁻¹ (C=O), 1139, 1321 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.92 (dd, 1H, *J* = 14.2/5.6 Hz, CH₂), 4.31 (dd, 1H, *J* = 14.2/7.6 Hz, CH₂), 5.29 (dd, 1H, *J* = 7.6/5.6 Hz, CH), 7.24-7.31 (m, 6H, arom. H), 7.60 (d, 2H, arom. H), 7.79 (d, 2H, arom. H), 7.91 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 45.6 (CH), 57.2 (CH₂), 128.7, 128.8, 128.9, 129.3, 130.2, 138.0 (6C, arom. CH), 129.3, 132.1, 132.4, 135.0, 138.7, 144.3 (6C, quart. arom. C), 195.0 (C=O)

C ₂₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₃ S	Ber. (%)	C 60.98	H 4.18	Cl 16.36	S 7.39
(433.33)	Gef. (%)	C 60.16	H 4.19	Cl 16.35	S 7.46

2-(3-Chlorphenyl)-3-(4-chlorphenylsulfonyl)-1-phenyl-1-propanon 26-14

Aus 2-(3-Chlorphenyl)-3-dimethylamino-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 64 % Schmp.: 99.8-101.0°C

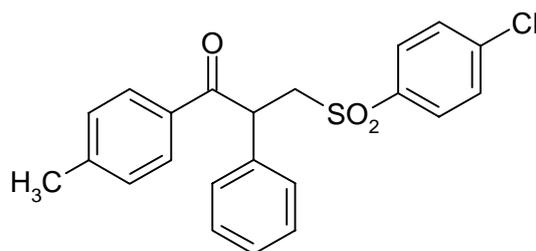
IR (KBr) : 1681 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1310 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 4.01 (dd, 1H, *J* = 14.5/5.6 Hz, CH₂), 4.33 (dd, 1H, *J* = 14.5/7.6 Hz, CH₂), 5.36 (dd, 1H, *J* = 7.6/5.6 Hz, CH), 7.21-7.61 (m, 9H, arom. H), 7.80 (d, 2H, arom. H), 8.03 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 46.8 (CH), 58.0 (CH₂), 128.1, 128.5, 129.3, 129.7, 129.8, 130.2, 130.5, 131.5, 134.7 (9C, arom. CH), 134.3, 135.5, 138.9, 139.0, 139.8 (5C, quart. arom. C), 196.5 (C=O)

C ₂₁ H ₁₆ Cl ₂ O ₃ S	Ber. (%)	C 60.15	H 3.85	Cl 16.91	S 7.65
(419.33)	Gef. (%)	C 59.75	H 3.84	Cl 16.91	S 7.58

3-(4-Chlorphenylsulfonyl)-1-(4-methylphenyl)-2-phenyl-1-propanon 26-15



Aus 3-Dimethylamino-1-(4-methylphenyl)-2-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. 2×Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 53 % Schmp.: 116.0-118.0°C

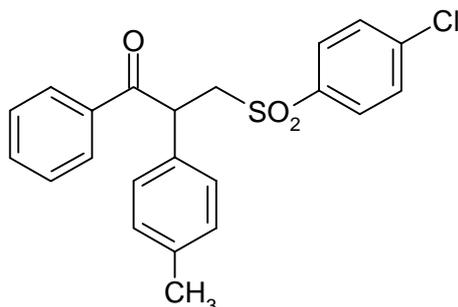
IR (KBr) : 1675 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1309 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.33 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.83 (dd, 1H, *J* = 14.8/4.6 Hz, CH₂), 4.37 (dd, 1H, *J* = 14.8/8.7 Hz, CH₂), 5.25 (dd, 1H, *J* = 8.7/4.6 Hz, CH), 7.13-7.28 (m, 7H, arom. H), 7.61 (d, 2H, arom. H), 7.81 (d, 2H, arom. H), 7.90 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 46.2 (CH), 57.5 (CH₂), 127.5, 128.2, 128.7, 128.8, 129.2, 129.3, 129.6 (7C, arom. CH), 132.3, 136.2, 138.1, 138.7, 144.1 (5C, quart. arom. C), 195.2 (C=O)

C ₂₂ H ₁₉ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 66.24	H 4.80	Cl 8.89	S 8.04
(398.91)	Gef. (%)	C 66.34	H 4.81	Cl 9.07	S 8.52

3-(4-Chlorphenylsulfonyl)-2-(4-methylphenyl)-1-phenyl-1-propanon 26-16



Aus 3-Dimethylamino-2-(4-methylphenyl)-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. 2× Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 55 % Schmp.: 76.0-78.0°C

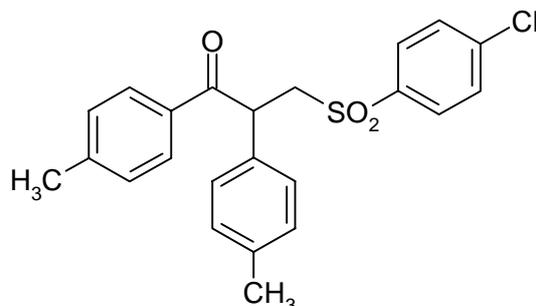
IR (KBr) : 1676 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1309 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.18 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.84 (dd, 1H, *J* = 14.3/5.1 Hz, CH₂), 4.33 (dd, 1H, *J* = 14.3/8.1 Hz, CH₂), 5.23 (dd, 1H, *J* = 8.1/5.1 Hz, CH), 6.99 (d, 2H, arom. H), 7.12 (d, 2H, arom. H) 7.43-7.59 (m, 5H, arom. H), 7.78 (d, 2H, arom. H), 7.97 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 20.4 (Ar-CH₃), 46.1 (CH), 57.5 (CH₂), 128.2, 128.6, 128.7, 129.3, 129.4, 129.5, 133.4 (7C, arom. CH), 132.8, 134.8, 136.9, 138.1, 138.7 (5C, quart. arom. C), 195.7 (C=O)

C ₂₂ H ₁₉ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 66.24	H 4.80	Cl 8.89	S 8.04
(398.91)	Gef. (%)	C 66.19	H 4.84	Cl 9.10	S 7.89

3-(4-Chlorphenylsulfonyl)-1,2-di-(4-methylphenyl)-1-propanon 26-17



Aus 3-Dimethylamino-1,2-di-(4-methylphenyl)-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Nadeln.

Ausbeute: 88 % Schmp.: 107.0-109.0°C

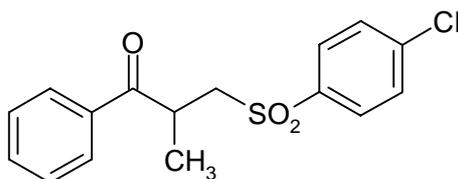
IR (KBr) : 1675 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1316 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.18 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.82 (dd, 1H, *J* = 14.5/5.0 Hz, CH₂), 4.32 (dd, 1H, *J* = 14.5/8.2 Hz, CH₂), 5.19 (dd, 1H, *J* = 8.2/5.0 Hz, CH), 6.99 (d, 2H, arom. H), 7.12 (d, 2H, arom. H) 7.26 (d, 2H, arom. H), 7.58 (d, 2H, arom. H), 7.78 (d, 2H, arom. H) 7.88 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : 62.90 MHz, (d₆-DMSO) δ (ppm) = 20.4 (Ar-CH₃), 21.0 (Ar-CH₃), 46.0 (CH), 57.5 (CH₂), 128.1, 128.8, 129.2, 129.2, 129.3, 129.5 (6C, arom. CH), 132.3, 133.0, 136.9, 138.1, 138.6, 144.0 (6C, quart. arom. C), 195.2 (C=O)

C ₂₃ H ₂₁ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 66.90	H 5.13	Cl 8.59	S 7.77
(412.94)	Gef. (%)	C 66.73	H 5.15	Cl 8.54	S 7.90

3-(4-Chlorphenylsulfonyl)-2-methyl-1-phenyl-1-propanon 26-19



Aus 3-Dimethylamino-2-methyl-1-phenyl-1-propanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

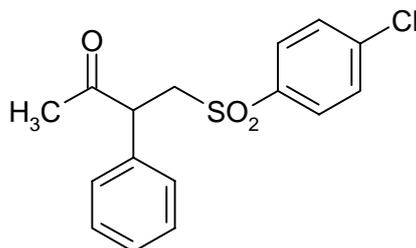
Ausbeute: 46 % Schmp.: 85.0-87.5°C

IR (KBr) : 1675 cm⁻¹ (C=O), 1140, 1316 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 1.18 (d, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.58 (dd, 1H, *J* = 14.5/4.1 Hz, CH₂), 3.89 (dd, 1H, *J* = 14.5/8.1 Hz, CH₂), 3.98-4.07 (m, 1H, CH), 7.49-7.56 (m, 2H, arom. H), 7.65-7.70 (m, 3H, arom. H), 7.81-7.92 (m, 4H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 18.1 (CH₃), 35.1 (CH), 57.2 (CH₂), 128.2, 128.8, 129.5, 129.6, 133.5 (5C, arom. CH), 134.7, 138.0, 138.9 (3C, quart. arom. C), 199.7 (C=O)

C ₁₆ H ₁₅ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 59.53	H 4.68	Cl 10.98	S 9.93
(322.81)	Gef. (%)	C 59.63	H 4.78	Cl 11.15	S 10.09

1-(4-Chlorphenylsulfonyl)-2-phenyl-3-butanon 26-20

Aus 1-Dimethylamino-2-phenyl-3-butanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzen-sulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Farblose Kristalle.

Ausbeute: 22 % Schmp.: 86.0-89.0°C

IR (KBr) : 1710 cm⁻¹ (C=O), 1139, 1309 cm⁻¹ (SO₂)

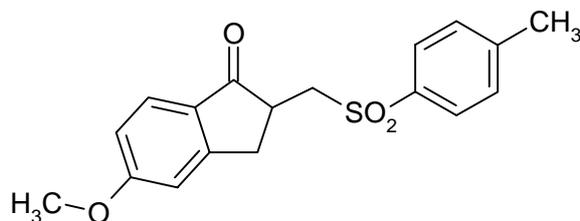
¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.01 (s, 3H, CH₃), 3.82 (dd, 1H, CH₂), 4.13 (dd, 1H, CH₂), 4.30 (dd, 1H, CH), 7.17-7.28 (m, 5H, arom. H), 7.60 (d, 2H, arom. H), 7.79 (d, 2H, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 28.1 (CH₃), 52.2 (CH), 56.0 (CH₂), 127.6, 128.3, 128.8, 129.3, 129.6 (5C, arom. CH), 135.6, 138.0, 138.7 (3C, quart. arom. C), 204.0 (C=O)

C ₁₆ H ₁₅ ClO ₃ S	Ber. (%)	C 59.53	H 4.68	Cl 10.98	S 9.93
(322.81)	Gef. (%)	C 59.11	H 4.68	Cl 11.53	S 9.89

Darstellung der 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone 29 und 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinone 30

5-Methoxy-2-[(4-methylphenylsulfonyl)methyl]-1-indanon 29-3



Aus 2-[(Dimethylamino)methyl]-5-methoxy-1-indanon-hydrochlorid und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Hellgelbe Kristalle.

Ausbeute: 78 % Schmp.: 155.5-157.5°C

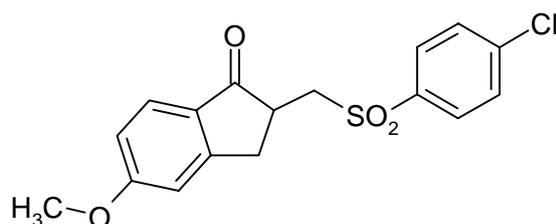
IR (KBr) : 1702 cm⁻¹ (C=O), 1150, 1315 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.42 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.90-2.99 (m, 2H, 2-CH u. 3-CH₂), 3.25 (dd, 1H, *J* = 18.3/9.2 Hz, 3-CH₂), 3.53-3.63 (m, 2H, CH₂-SO₂), 3.86 (s, 3H, O-CH₃), 6.96 (dd, 1H, *J* = 8.1/2.0 Hz, arom. H), 7.10 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, arom. H), 7.49 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, arom. H), 7.57 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, arom. H), 7.85 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 32.5 (3-CH₂), 41.8 (CH), 55.8 (OCH₃), 56.6 (CH₂-SO₂), 109.9, 115.6, 125.0, 127.8, 129.9 (5C, arom. CH), 128.0, 136.1, 144.5, 156.7, 165.3 (5C, quart. arom. C), 201.8 (C=O)

C ₁₈ H ₁₈ O ₄ S	Ber. (%)	C 65.43	H 5.49	S 9.70
(330.41)	Gef. (%)	C 65.33	H 5.60	S 9.81

2-[(4-Chlorphenylsulfonyl)methyl]-5-methoxy-1-indanon **29-4**



Aus 2-[(Dimethylamino)methyl]-5-methoxy-1-indanon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Hellgelbe Kristalle. Ausbeute: 73 % Schmp.: 152.0-154.0°C

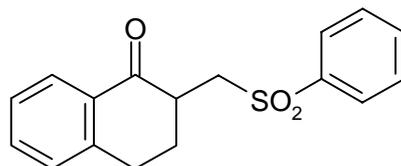
IR (KBr) : 1707 cm⁻¹ (C=O), 1148, 1316 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 2.91-3.03 (m, 2H, 2-CH u. 3-CH₂), 3.25 (dd, 1H, *J* = 16.8/7.1 Hz, 3-CH₂), 3.62-3.73 (m, 2H, CH₂-SO₂), 3.85 (s, 3H, O-CH₃), 6.97 (dd, 1H, *J* = 8.1/2.0 Hz, arom. H), 7.12 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, arom. H), 7.58 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, arom. H), 7.77 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, arom. H), 7.99 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, arom. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 32.4 (3-CH₂), 41.7 (CH), 55.8 (OCH₃), 56.4 (CH₂-SO₂), 109.9, 115.6, 125.0, 129.6, 129.8 (5C, arom. CH), 127.9, 137.8, 139.1, 156.7, 165.3 (5C, quart. arom. C), 201.6 (C=O)

C ₁₇ H ₁₅ ClO ₄ S	Ber. (%)	C 58.20	H 4.31	Cl 10.11	S 9.14
(350.83)	Gef. (%)	C 58.19	H 4.40	Cl 10.10	S 9.15

2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinon 30-1



Aus 2-[(Dimethylamino)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinon-hydrochlorid und Benzensulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Weiße Nadeln.

Ausbeute: 45 % Schmp.: 92.6-93.2°C

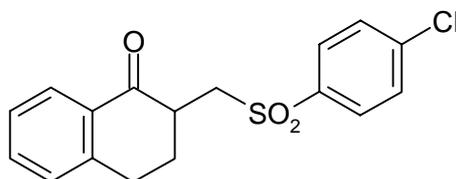
IR (KBr) : 1676 cm⁻¹ (C=O), 1145, 1315 cm⁻¹ (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 1.92-2.06 (m, 1H, 3-CH₂), 2.29-2.37 (m, 1H, 3-CH₂), 2.93 (ddd, 1H, *J* = 16.8/3.6/3.6 Hz, 4-CH₂), 3.01-3.13 (m, 2H, 2-CH u. 4-CH₂), 3.46 (dd, 1H, *J* = 14.8/8.6 Hz, CH₂-SO₂), 3.96 (dd, 1H, *J* = 14.8/3.1 Hz, CH₂-SO₂), 7.31-7.38 (m, 2H, aromat. H), 7.53-7.86 (m, 5H, aromat. H), 7.94-8.00 (m, 2H, aromat. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 27.8 (4-CH₂), 28.3 (3-CH₂), 42.5 (CH), 54.7 (CH₂-SO₂), 126.5, 126.8, 127.5, 128.9, 129.5, 133.7, 133.8 (7C, aromat. CH), 131.1, 139.4, 144.2 (3C, quart. aromat. C), 195.3 (C=O)

C ₁₇ H ₁₆ O ₃ S	Ber. (%)	C 67.98	H 5.36	S 10.67
(300.36)	Gef. (%)	C 67.86	H 5.36	S 10.64

2-[(4-Chlorphenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinon 30-3



Aus 2-[(Dimethylamino)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinon-hydrochlorid und 4-Chlorbenzonsulfinsäure nach AAV 5. 2×Umkrist. aus Ethanol. Weiße Prismen.

Ausbeute: 56 % Schmp.: 127.5-128.5°C

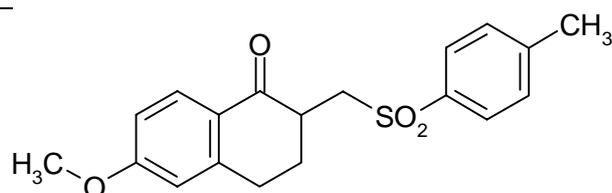
IR (KBr) : 1676 cm⁻¹ (C=O), 1146, 1318 cm⁻¹ (SO₂)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 1.94-2.06 (m, 1H, 3-CH₂), 2.31-2.40 (m, 1H, 3-CH₂), 2.94 (ddd, 1H, $J = 16.8/3.6/3.6$ Hz, 4-CH₂), 3.03-3.14 (m, 2H, 2-CH u. 4-CH₂), 3.50 (dd, 1H, $J = 14.8/8.1$ Hz, CH₂-SO₂), 3.99 (dd, 1H, $J = 14.8/3.1$ Hz, CH₂-SO₂), 7.31-7.37 (m, 2H, aromat. H), 7.53-7.59 (m, 1H, aromat. H), 7.75 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, aromat. H), 7.81-7.86 (m, 1H, aromat. H), 7.99 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, aromat. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 27.9 (4-CH₂), 28.3 (3-CH₂), 42.4 (CH), 54.8 (CH₂-SO₂), 126.5, 126.8, 128.9, 129.6, 129.6, 133.7 (6C, aromat. CH), 131.1, 138.3, 138.9, 144.2 (4C, quart. aromat. C), 195.3 (C=O)

$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClO}_3\text{S}$	Ber. (%)	C 60.98	H 4.52	Cl 10.59	S 9.58
(334.82)	Gef. (%)	C 60.99	H 4.55	Cl 10.58	S 9.61

6-Methoxy-2-[(4-methylphenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinon **30-4**



Aus 2-[(Dimethylamino)methyl]-6-methoxy-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinonhydrochlorid und Toluol-4-sulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Hellgelbe Prismen.

Ausbeute: 58 % Schmp.: 109.0-112.8°C

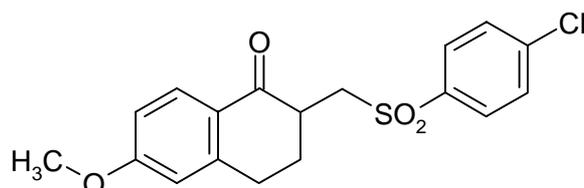
IR (KBr) : 1677 cm⁻¹ (C=O), 1146, 1314 cm⁻¹ (SO₂)

$^1\text{H-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 1.85-2.00 (m, 1H, 3-CH₂), 2.27-2.36 (m, 1H, 3-CH₂), 2.42 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.89 (ddd, 1H, $J = 13.2/3.6/3.6$ Hz, 4-CH₂), 2.90-3.07 (m, 2H, 2-CH u. 4-CH₂), 3.37 (dd, 1H, $J = 14.8/8.6$ Hz, CH₂-SO₂), 3.82 (s, 3H, O-CH₃), 3.93 (dd, 1H, $J = 14.8/2.5$ Hz, CH₂-SO₂), 6.85 (d, 1H, $J = 2.5$ Hz, aromat. H), 6.89 (dd, 1H, $J = 8.7/2.5$ Hz, aromat. H), 7.49 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, aromat. H), 7.80 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, aromat. H), 7.84 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, aromat. H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (d_6 -DMSO) δ (ppm) = 21.0 (Ar-CH₃), 28.2 (4-CH₂), 28.4 (3-CH₂), 42.2 (CH), 54.9 (CH₂-SO₂), 55.5 (O-CH₃), 112.4, 113.4, 127.5, 129.3, 129.9 (5C, aromat. CH), 124.6, 136.6, 144.4, 146.8, 163.3 (5C, quart. aromat. C), 193.8 (C=O)

$C_{19}H_{20}O_4S$	Ber. (%)	C 66.28	H 5.85	S 9.31
(344.43)	Gef. (%)	C 66.18	H 5.68	S 9.15

2-[(4-Chlorphenylsulfonyl)methyl]-6-methoxy-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinon 30-5



Aus 2-[(Dimethylamino)methyl]-6-methoxy-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinonhydrochlorid und 4-Chlorbenzoesulfinsäure nach AAV 5. Umkrist. aus Ethanol. Hellgelbe Prismen.

Ausbeute: 56 % Schmp.: 125.0-126.5°C

IR (KBr) : 1668 cm^{-1} (C=O), 1146, 1315 cm^{-1} (SO₂)

¹H-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 1.89-2.03 (m, 1H, 3-CH₂), 2.28-2.38 (m, 1H, 3-CH₂), 2.91 (ddd, 1H, *J* = 16.8/3.6/3.6 Hz, 4-CH₂), 3.93-3.10 (m, 2H, 2-CH u. 4-CH₂), 3.47 (dd, 1H, *J* = 14.5/8.1 Hz, CH₂-SO₂), 3.82 (s, 3H, O-CH₃), 3.98 (dd, 1H, *J* = 14.5/3.1 Hz, CH₂-SO₂), 6.85 (d, 1H, *J* = 2.5 Hz, aromat. H), 6.89 (dd, 1H, *J* = 8.7/2.5 Hz, aromat. H), 7.75 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz, aromat. H), 7.80 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, aromat. H), 7.98 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz, aromat. H)

¹³C-NMR : (d₆-DMSO) δ (ppm) = 28.2 (4-CH₂), 28.4 (3-CH₂), 42.1 (CH), 54.8 (CH₂-SO₂), 55.5 (O-CH₃), 112.3, 112.5, 113.4, 129.3, 129.6 (5C, aromat. CH), 124.6, 138.3, 138.9, 146.8, 163.4 (5C, quart. aromat. C), 193.7 (C=O)

$C_{18}H_{17}ClO_4S$	Ber. (%)	C 59.26	H 4.70	Cl 9.72	S 8.79
(364.85)	Gef. (%)	C 59.45	H 4.83	Cl 9.64	S 8.81

9.3. Versuche zu Kapitel 3

Verwendete Reagenzien

Lösungsmittel:

Methanol LiChrosolv[®], Merck

Phosphatpuffer pH 8.0 ($6,67 \cdot 10^{-2}$ M):

Lösung A:	di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat		2,96675 g
	destilliertes Wasser	zu	250,0 ml
Lösung B:	Kaliumdihydrogenphosphat		2,26825 g
	destilliertes Wasser	zu	250,0 ml

96,9 ml Lösung A und 3,1 ml Lösung B mischen

Phosphatpuffer pH 8.0 ($1,33 \cdot 10^{-2}$ M):

	Phosphatpuffer pH 8.0 ($6,67 \cdot 10^{-2}$ M)		20,0 ml
	destilliertes Wasser	zu	100,0 ml

Boratpuffer pH 10.0 nach DAB 10:

	Borsäure		0,620 g
	Kaliumchlorid		0,75 g
	destilliertes Wasser	zu	100,0 ml

Die Lösung wird mit 87,8 ml 0,1 N-Natriumhydroxid-Lösung versetzt.

Sulfonlösung:

0,05 mmol Sulfon werden in Methanol zu 50,0 ml gelöst.

Nucleophilösung:

0,5 mmol 4-Methylthiophenol werden in Methanol zu 50,0 ml gelöst. 1000 µl dieser Lösung werden mit Methanol zu 50,0 ml verdünnt.

DTNB-Lösung:

0,05 mmol DTNB werden in Methanol zu 50,0 ml gelöst und auf 25°C temperiert.

Kinetische Messungen

Für jede Substanz werden 3 Zeit-Umsatz-Diagramme nach einem der folgenden Meßverfahren aufgenommen.

Meßverfahren I:

Durch Mischen von 40,0 ml Sulfon-, 40,0 ml Nucleophil- und 10,0 ml Phosphatpufferlösung pH 8.0 ($1,33 \cdot 10^{-2}$ M) wird ein für ca. 40 Messungen ausreichender Reaktionsansatz erstellt und in einem thermostatisierten Wasserbad auf 25°C temperiert. Die Zeitnahme wird bei Zugabe des Puffers gestartet. In geeigneten Abständen - die Absorptionsabnahme zwischen zwei Messungen sollte nicht mehr als 0,05 betragen - werden aus dem Reaktionsansatz 2000 µl in eine Meßküvette pipettiert und mit 1000 µl DTNB-Lösung versetzt (Zeitpunkt der DTNB-Zugabe notieren). Nach Umschütteln erfolgt die Absorptionsmessung bei 413 nm und 25°C gegen eine Referenzlösung aus 2000 µl Ansatz und 1000 µl Methanol.

Meßverfahren II:

Alle benötigten Lösungen werden in einem thermostatisierten Wasserbad auf 25°C temperiert. Man pipettiert 889 µl Nucleophil- und 222 µl Phosphatpufferlösung pH 8.0 ($1,33 \cdot 10^{-2}$ M) in eine Meßküvette und versetzt sie mit 889 µl Sulfonlösung (Beginn der Zeitnahme). Die Reaktion wird nach einer festgelegten Zeit durch Zugabe von 1000 µl DTNB-Lösung gestoppt; die Absorptionsmessung erfolgt bei 413 nm und 25°C gegen eine Referenzlösung aus je 889 µl Nucleophil- und Sulfonlösung, 222 µl Puffer sowie 1000 µl Methanol. Es werden so viele Ansätze mit variierenden Reaktionszeiten gemessen, daß die Dichte an Meßdaten der nach Verfahren I erhaltenen entspricht.

Auswertung der kinetischen Messungen

Für die Auswertung werden nur Meßpunkte im Bereich zwischen 20% und 70% Umsatzrate berücksichtigt. Die Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten erfolgt graphisch durch Auftragung der natürlichen Logarithmen der gemessenen Absorptionen gegen die Zeit. Aus den Werten wird nach der „Methode der Summe der kleinsten Quadrate“ eine Regressionsgerade berechnet, deren Steigung dem negativen Wert der Geschwindigkeitskonstanten entspricht (s. Abbildung 16). Am Beispiel von 2-(4-Chlorphenyl)-1-(4-methylphenyl)-3-(4-methylphenylsulfonyl)-1-propanon **26-8** wird die Auswertung der Meßdaten gezeigt:

Zeichenerklärung:

ES = Einwaage Sulfon

 C_0S = Anfangskonzentration des Sulfons im Reaktionsansatz

EN = Einwaage Nucleophil

 C_0N = Anfangskonzentration des Nucleophils im Reaktionsansatz

Ggl = Gleichung der Regressionsgeraden (Geradengleichung)

Bst = Bestimmtheitsmaß

1.

2.

3.

ES : 20,6 mg

ES : 20,7 mg

ES : 20,7 mg

 $C_0S : 4,42 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $C_0S : 4,42 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $C_0S : 4,42 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

EN : 62,2 mg

EN : 62,2 mg

EN : 62,2 mg

 $C_0N : 8,90 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $C_0N : 8,90 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $C_0N : 8,90 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Ggl : $y = -0,0251 x$
+ 0,089Ggl : $y = -0,0249 x$
+ 0,0822Ggl : $y = -0,0253 x$
+ 0,092

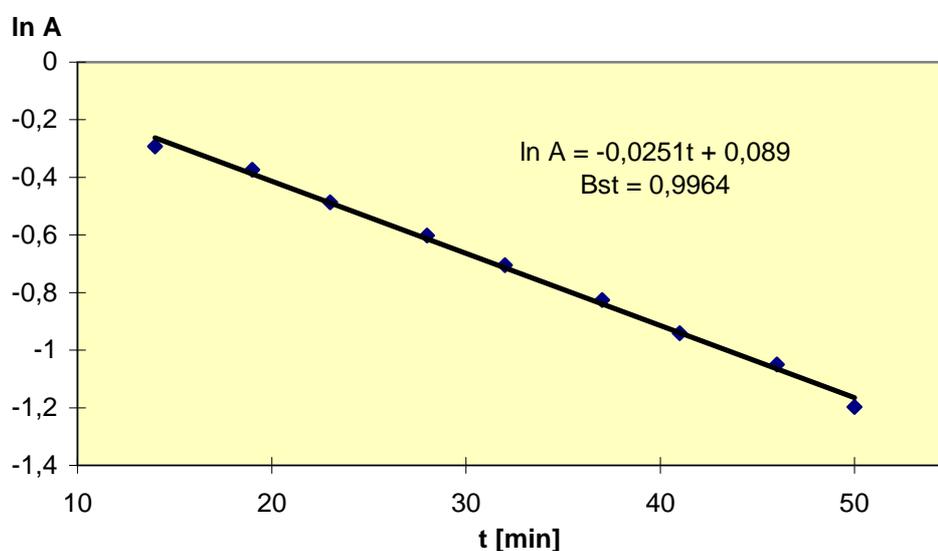
Bst : 0,9964

Bst : 0,9956

Bst : 0,9973

t [min]	A	ln A	t [min]	A	ln A	t [min]	A	ln A
14	0,746	-0,293	13	0,766	-0,267	16	0,718	-0,331
19	0,688	-0,374	17	0,703	-0,352	20	0,657	-0,420
23	0,615	-0,486	22	0,635	-0,454	25	0,588	-0,531
28	0,548	-0,601	26	0,574	-0,555	29	0,536	-0,624
32	0,494	-0,705	31	0,507	-0,679	34	0,472	-0,751
37	0,438	-0,826	35	0,463	-0,770	38	0,422	-0,863
41	0,390	-0,942	40	0,410	-0,892	43	0,368	-1,000
46	0,350	-1,050	44	0,360	-1,022	47	0,328	-1,115
50	0,302	-1,197	49	0,309	-1,174			

 $k = 2,51 \cdot 10^{-2} [\text{min}^{-1}]$ $k = 2,49 \cdot 10^{-2} [\text{min}^{-1}]$ $k = 2,53 \cdot 10^{-2} [\text{min}^{-1}]$ $\bar{k} = 2,51 \cdot 10^{-2} [\text{min}^{-1}] \Rightarrow \text{pk} = 1,60$

Abbildung 16: Berechnung der Regressionsgeraden am Beispiel von **26-8 / 1**.

Die Zeit-Umsatz-Kurven aller übrigen Sulfone wurden analog ausgewertet. Die Einzelergebnisse der in den Tabellen **13** bis **16** angegebenen Mittelwerte sind zusammen mit den Bestimmtheitsmaßen (Bst) für die Funktionsanpassung an die Meßwerte in den Tabellen **41** bis **44** aufgeführt.

Tabelle 41: 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
18-1	I	$4,10 \cdot 10^{-2}$	0,999	$4,11 \cdot 10^{-2}$	1,39
	I	$4,10 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$4,13 \cdot 10^{-2}$	0,999		
18-2	I	$2,46 \cdot 10^{-2}$	0,998	$2,39 \cdot 10^{-2}$	1,62
	I	$2,34 \cdot 10^{-2}$	0,993		
	I	$2,38 \cdot 10^{-2}$	0,992		

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
18-3	I	$2,70 \cdot 10^{-3}$	0,995	$3,03 \cdot 10^{-3}$	2,52
	I	$3,10 \cdot 10^{-3}$	0,998		
	I	$3,30 \cdot 10^{-3}$	0,997		
18-4	I	$1,27 \cdot 10^{-1}$	0,994	$1,24 \cdot 10^{-1}$	0,91
	I	$1,25 \cdot 10^{-1}$	0,993		
	I	$1,21 \cdot 10^{-1}$	0,993		
18-5	I	$1,46 \cdot 10^{-1}$	0,999	$1,41 \cdot 10^{-1}$	0,85
	I	$1,36 \cdot 10^{-1}$	0,996		
	I	$1,42 \cdot 10^{-1}$	0,995		
26-1	I	$1,12 \cdot 10^{-2}$	0,996	$1,13 \cdot 10^{-2}$	1,95
	I	$1,15 \cdot 10^{-2}$	0,996		
	I	$1,12 \cdot 10^{-2}$	0,991		
26-2	I	$7,00 \cdot 10^{-3}$	0,968	$7,40 \cdot 10^{-3}$	2,13
	I	$7,50 \cdot 10^{-3}$	0,998		
	I	$7,70 \cdot 10^{-3}$	0,995		
26-3	I	$3,93 \cdot 10^{-2}$	0,997	$3,89 \cdot 10^{-2}$	1,41
	I	$3,89 \cdot 10^{-2}$	0,997		
	I	$3,86 \cdot 10^{-2}$	0,998		
26-4	I	$8,40 \cdot 10^{-3}$	0,989	$1,03 \cdot 10^{-2}$	1,99
	I	$1,12 \cdot 10^{-2}$	0,997		
	I	$1,14 \cdot 10^{-2}$	0,997		
26-5	I	$6,20 \cdot 10^{-3}$	0,998	$6,57 \cdot 10^{-3}$	2,18
	I	$6,60 \cdot 10^{-3}$	0,999		
	I	$6,90 \cdot 10^{-3}$	0,999		
26-6	I	$5,40 \cdot 10^{-3}$	0,998	$5,40 \cdot 10^{-3}$	2,27
	I	$5,40 \cdot 10^{-3}$	0,998		
	I	$5,40 \cdot 10^{-3}$	0,999		

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
26-7	I	$3,60 \cdot 10^{-3}$	0,999	$3,93 \cdot 10^{-3}$	2,41
	I	$4,10 \cdot 10^{-3}$	0,998		
	I	$4,10 \cdot 10^{-3}$	0,997		
26-8	I	$2,49 \cdot 10^{-2}$	0,996	$2,51 \cdot 10^{-2}$	1,60
	I	$2,51 \cdot 10^{-2}$	0,996		
	I	$2,53 \cdot 10^{-2}$	0,997		
26-9	I	$6,09 \cdot 10^{-2}$	0,999	$6,17 \cdot 10^{-2}$	1,21
	I	$6,19 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$6,24 \cdot 10^{-2}$	0,999		
26-10	I	$1,20 \cdot 10^{-2}$	0,999	$1,38 \cdot 10^{-2}$	1,86
	I	$1,50 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$1,43 \cdot 10^{-2}$	0,999		
26-11	I	$5,21 \cdot 10^{-2}$	0,998	$5,41 \cdot 10^{-2}$	1,27
	I	$5,42 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$5,61 \cdot 10^{-2}$	0,998		
26-12	I	$4,07 \cdot 10^{-2}$	0,999	$3,87 \cdot 10^{-2}$	1,41
	I	$3,77 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$3,76 \cdot 10^{-2}$	0,999		
26-13	I	$3,79 \cdot 10^{-2}$	0,988	$3,74 \cdot 10^{-2}$	1,43
	I	$3,63 \cdot 10^{-2}$	0,992		
	I	$3,79 \cdot 10^{-2}$	0,994		
26-14	I	$8,51 \cdot 10^{-2}$	0,996	$8,56 \cdot 10^{-2}$	1,07
	I	$8,38 \cdot 10^{-2}$	0,996		
	I	$8,78 \cdot 10^{-2}$	0,984		
26-15	I	$6,90 \cdot 10^{-3}$	0,999	$6,93 \cdot 10^{-3}$	2,16
	I	$6,80 \cdot 10^{-3}$	0,999		
	I	$7,10 \cdot 10^{-3}$	0,999		

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
26-16	I	$1,10 \cdot 10^{-2}$	0,999	$9,70 \cdot 10^{-3}$	2,01
	I	$9,10 \cdot 10^{-3}$	0,999		
	I	$9,00 \cdot 10^{-3}$	0,999		
26-17	I	$5,60 \cdot 10^{-3}$	0,998	$6,07 \cdot 10^{-3}$	2,22
	I	$5,60 \cdot 10^{-3}$	0,999		
	I	$7,00 \cdot 10^{-3}$	0,991		

Tabelle 42: 3-Sulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
21-1	II	1,94	0,999	1,77	-0,25
	II	1,90	0,982		
	II	1,48	0,994		
21-2	II	4,80	0,980	4,31	-0,63
	II	3,84	0,988		
	II	4,29	0,975		
18-6	I	$2,30 \cdot 10^{-2}$	0,945	$3,40 \cdot 10^{-2}$	1,47
	I	$4,10 \cdot 10^{-2}$	0,927		
	I	$3,81 \cdot 10^{-2}$	0,891		
26-18	I	$2,80 \cdot 10^{-3}$	0,999	$4,07 \cdot 10^{-3}$	2,39
	I	$4,70 \cdot 10^{-3}$	0,993		
	I	$4,70 \cdot 10^{-3}$	0,993		
26-19	I	$3,80 \cdot 10^{-3}$	0,997	$3,87 \cdot 10^{-3}$	2,41
	I	$3,90 \cdot 10^{-3}$	0,998		
	I	$3,90 \cdot 10^{-3}$	0,998		
26-20	I	$1,90 \cdot 10^{-2}$	0,996	$2,11 \cdot 10^{-2}$	1,68
	I	$2,17 \cdot 10^{-2}$	0,994		
	I	$2,25 \cdot 10^{-2}$	0,994		

Tabelle 43: 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone **29**

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
29-1	II	$8,16 \cdot 10^{-1}$	0,999	$8,55 \cdot 10^{-1}$	0,07
	II	$9,35 \cdot 10^{-1}$	0,982		
	II	$8,14 \cdot 10^{-1}$	0,994		
29-2	II	1,04	0,993	1,04	-0,02
	II	$9,94 \cdot 10^{-1}$	0,982		
	II	1,07	0,982		
29-3	I	$2,47 \cdot 10^{-1}$	0,999	$2,42 \cdot 10^{-1}$	0,62
	I	$2,39 \cdot 10^{-1}$	0,999		
	I	$2,41 \cdot 10^{-1}$	0,999		
29-4	I	$4,45 \cdot 10^{-1}$	0,948	$4,45 \cdot 10^{-1}$	0,35
	II	$4,49 \cdot 10^{-1}$	0,970		
	I	$4,42 \cdot 10^{-1}$	0,890		

Tabelle 44: 2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinone **30**

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
30-1	I	$1,78 \cdot 10^{-1}$	0,995	$1,71 \cdot 10^{-1}$	0,77
	II	$1,78 \cdot 10^{-1}$	0,999		
	I	$1,57 \cdot 10^{-1}$	0,884		
30-2	I	$9,24 \cdot 10^{-2}$	0,999	$9,71 \cdot 10^{-2}$	1,01
	I	$9,73 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$1,02 \cdot 10^{-1}$	0,999		
30-3	I	$1,49 \cdot 10^{-1}$	0,994	$1,54 \cdot 10^{-1}$	0,81
	I	$1,64 \cdot 10^{-1}$	0,998		
	I	$1,50 \cdot 10^{-1}$	0,999		

Verb.-Nr.	Meßverf.	k_{1-3} [min^{-1}]	Bst	\bar{k} [min^{-1}]	pk
30-4	I	$3,44 \cdot 10^{-2}$	0,999	$3,59 \cdot 10^{-2}$	1,44
	I	$3,35 \cdot 10^{-2}$	0,999		
	I	$3,99 \cdot 10^{-2}$	0,998		
30-5	I	$4,09 \cdot 10^{-2}$	0,998	$5,07 \cdot 10^{-2}$	1,29
	I	$4,29 \cdot 10^{-2}$	0,996		
	I	$6,83 \cdot 10^{-2}$	0,998		

Bestimmung der reaktionsspezifischen Substituentenkonstanten

Die Ermittlung der reaktionsspezifischen Substituentenkonstanten für die Substituenten R^1 - R^4 der in Tabelle **13** zusammengefaßten 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone erfolgte aus den experimentell ermittelten Zeiten, nach denen die Hälfte des Nucleophils umgesetzt war (= $t_{0,5}$ exp).

Die Bestimmung wird am Beispiel der Ermittlung der Substituentenkonstante für eine Methylgruppe an der Position R^1 gezeigt:

Verb.-Nr.	R^1	R^2	R^3	R^4	$t_{0,5}$ exp [min]	Quotient
26-6	-CH ₃	-H	-H	-CH ₃	128,36	1,88
26-4	-H	-H	-H	-CH ₃	68,40	
26-8	-CH ₃	-Cl	-H	-CH ₃	27,62	1,64
18-1	-H	-Cl	-H	-CH ₃	16,87	
26-7	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃	176,89	1,67
26-5	-H	-CH ₃	-H	-CH ₃	105,76	
26-15	-CH ₃	-H	-H	-Cl	100,01	1,97
26-10	-H	-H	-H	-Cl	50,81	

Verb.-Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	t _{0,5} exp [min]	Quotient
26-13	-CH ₃	-Cl	-H	-Cl	18,56	1,45
26-11	-H	-Cl	-H	-Cl	12,82	
26-17	-CH ₃	-CH ₃	-H	-Cl	115,52	1,60
26-16	-H	-CH ₃	-H	-Cl	72,07	

Der Mittelwert der Quotienten beträgt 1,70 und wurde als reaktionsspezifische Substituentenkonstanten für eine Methylgruppe an der Position R¹ zugrunde gelegt. Die Konstanten für die übrigen Substituenten wurden analog ermittelt und sind in Tabelle **22** (s. S. 62) zusammengefaßt.

9.4. Versuche zu Kapitel 4

9.4.1. Versuche zu Abschnitt 4.1.

Verwendete Reagenzien

Lösungsmittel:

N,N-Dimethylformamid Uvasol[®], Merck
 bidestilliertes Wasser

Natriumhydrogencarbonat-Lösung 1% (m/v):

Natriumhydrogencarbonat p.A.		1,00 g
bidestilliertes Wasser	zu	100,0 ml

Phosphatpuffer pH 9.0 (0,12 M):

Kaliumdihydrogenphosphat		16,33 g
bidestilliertes Wasser	zu	800 ml
einstellen mit 1M Natronlauge auf pH 9.0		
bidestilliertes Wasser	zu	1000,0 ml

EDTA-Lösung:

Titriplex [®] III p.A., Merck		0,56 g
bidestilliertes Wasser	zu	100,0 ml

NADPH-Lösung:

β -NADPH-Na ₄ (98%), Boehringer Mannheim		8 mg
Natriumhydrogencarbonat-Lösung 1%	zu	1000 μ l

Substratlösung:

oxidiertes Glutathion, Boehringer Mannheim	80 mg
bidestilliertes Wasser	zu 2000 µl

Enzymlösung:

Glutathion-Reduktase aus Hefe (120U/mg), Boehringer Mannheim	80 mg
bidestilliertes Wasser	zu 2000 µl

Sulfonlösung:

0,05 mmol Sulfon werden in DMF zu 10,0 ml gelöst und
666 µl dieser Lösung mit DMF zu 10,0 ml verdünnt.

Durchführung der Messungen

Alle Lösungen werden vor Gebrauch frisch hergestellt und im thermostatisierten Wasserbad auf 25°C temperiert. Man pipettiert direkt in die Meßküvette:

Phosphatpuffer pH 9.0	1750 µl
Sulfonlösung	900 µl
umschütteln	
EDTA-Lösung	100 µl
Substratlösung	100 µl
umschütteln	
Enzymlösung	100 µl

Bei Zugabe der Enzymlösung wird die Stoppuhr betätigt und erneut gut geschüttelt. Nach genau 5 Minuten Inkubationszeit wird die Reaktion durch Zusatz von NADPH-Lösung gestartet:

NADPH-Lösung

50 μ l

Sofort nach Zugabe der Substratlösung erfolgt die photometrische Messung, indem über einen Zeitraum von 20 Sekunden kontinuierlich die Absorptionsabnahme bei 339 nm aufgezeichnet wird. Unmittelbar vor und nach der Messung bestimmt man die Enzymaktivität ohne Hemmstoff. Anstelle der Sulfonlösung werden 900 μ l DMF zugesetzt, die Messung erfolgt auf analoge Weise. Die Ausgangsaktivität ergibt sich aus dem Mittelwert beider Messungen. Als Referenzlösung werden 1750 μ l Puffer-, 900 μ l Sulfon-, jeweils 100 μ l EDTA-, Substrat- und Enzymlösung sowie 50 μ l bidestilliertes Wasser miteinander gemischt.

Hemmung der Glutathion-Reduktase durch β -Aminoketone

Einwaagen, Verdünnungen und Durchführung entsprechen, wenn nicht anders vermerkt, dem oben beschriebenen Verfahren.

Auswertung der Messungen

Da keine Enzymhemmung eintrat, wurde jede Substanz nur einmal vermessen. Die Auswertung erfolgte über die auf ein Zeitintervall von einer Minute extrapolierten Absorptionsänderungen. Die in Gegenwart von Hemmstoff

verbleibende Restaktivität wurde in Prozent der Ausgangsaktivität berechnet (s. S. 68). Die Ergebnisse sind in den Tabellen **45** bis **48** zusammengefaßt.

Tabelle 45: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	% Restaktivität
18-1	10 ⁻⁴	0,542	0,511	94,3
18-2	10 ⁻⁴	0,542	0,524	96,7
18-3	10 ⁻⁴	0,542	0,534	98,5
18-4	10 ⁻⁴	0,544	0,525	96,5
18-5	10 ⁻⁴	0,540	0,554	102,6
26-1	10 ⁻⁴	0,540	0,553	102,4
26-2	10 ⁻⁴	0,537	0,539	100,4
26-3	10 ⁻⁴	0,540	0,552	102,2
26-4	10 ⁻⁴	0,467	0,486	104,1
26-5	10 ⁻⁴	0,544	0,543	99,8
26-6	10 ⁻⁴	0,544	0,532	97,8
26-7	10 ⁻⁴	0,540	0,538	99,6
26-8	10 ⁻⁴	0,537	0,543	101,1
26-9	10 ⁻⁴	0,531	0,528	99,4
26-10	10 ⁻⁴	0,542	0,551	101,7

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	% Restaktivität
26-11	10 ⁻⁴	0,529	0,525	99,2
26-12	10 ⁻⁴	0,540	0,540	100,0
26-13	10 ⁻⁴	0,537	0,543	101,1
26-14	10 ⁻⁴	0,626	0,668	106,7
26-15	10 ⁻⁴	0,544	0,537	98,7
26-16	10 ⁻⁴	0,544	0,531	97,6
26-17	10 ⁻⁴	0,540	0,548	101,5

Tabelle 46: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
3-Sulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	% Restaktivität
21-1	10 ⁻⁴	0,560	0,567	101,3
21-2	10 ⁻⁴	0,465	0,484	104,1
18-6	10 ⁻⁴	0,560	0,563	100,5
26-18	10 ⁻⁴	0,531	0,520	97,9
26-19	10 ⁻⁴	0,545	0,549	100,7
26-20	10 ⁻⁴	0,560	0,558	99,6

Tabelle 47: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone **29**

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	% Restaktivität
29-1	10 ⁻⁴	0,626	0,636	101,6
29-2	10 ⁻⁴	0,537	0,560	104,3
29-3	-	n.b.	n.b.	-
29-4	-	n.b.	n.b.	-

Tabelle 48: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch
2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **30**

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	% Restaktivität
30-1	10 ⁻⁴	0,588	0,587	99,8
30-2	10 ⁻⁴	0,540	0,542	100,4
30-3	10 ⁻⁴	0,601	0,589	98,0
30-4	10 ⁻⁴	0,540	0,551	102,0
30-5	10 ⁻⁴	0,520	0,523	100,6

Tabelle 49: Hemmung der Aktivität von Glutathion-Reduktase durch β -Aminoketone

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	% Restaktivität
23-1	10 ⁻⁴	0,551	0,554	100,5
23-5	10 ⁻⁴	0,592	0,585	98,8
28-1	10 ⁻⁴	0,592	0,597	100,8
24-3	10 ⁻⁴	0,581	0,604	104,0
24-3	1,5·10 ⁻³ *	0,581	0,465	80,0
		0,581	0,462	79,5

Bestimmung des Aktivitätsverlustes von Glutathion-Reduktase durch Zusatz von N,N-Dimethylformamid

Die Herstellung der Lösungen und Durchführung der Messungen erfolgte wie auf den Seiten 149 bis 151 beschrieben. Aufgrund der großen Aktivitätsunterschiede wurden verschiedene Meßintervalle gewählt: Während bei den Ansätzen mit DMF-Zusatz die Reaktion in den ersten 20 Sekunden nach einer Kinetik nullter Ordnung verlief, verkürzte sich diese Zeit bei den Ansätzen ohne DMF-Zusatz auf 5 Sekunden. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden beide Absorptionsänderungen auf 60 Sekunden berechnet.

* Substanzlösung: 0,05 mmol der Mannich-Base werden in DMF zu 10,0 ml gelöst.

Ansatz ohne DMF-Zusatz:

Phosphatpuffer pH 9.0	1750 μ l
bidestilliertes Wasser	900 μ l
EDTA-Lösung	100 μ l
Substratlösung	100 μ l
Enzymlösung	100 μ l
NADPH-Lösung	50 μ l

Ansatz mit 30% DMF:

Phosphatpuffer pH 9.0	1750 μ l
DMF	900 μ l
EDTA-Lösung	100 μ l
Substratlösung	100 μ l
Enzymlösung	100 μ l
NADPH-Lösung	50 μ l

Enzymaktivität:

Messung	ΔA ohne DMF-Zusatz	ΔA mit DMF-Zusatz	% Restaktivität mit DMF-Zusatz
1	1,818	0,469	25,8
2	1,882	0,505	26,8

Hieraus resultiert, daß durch Zusatz von 30% DMF die Aktivität von Glutathion-Reduktase auf 26,3% reduziert wird.

9.4.1. Versuche zu Abschnitt 4.2.**Verwendete Reagenzien****Lösungsmittel:**

N,N-Dimethylformamid Uvasol[®], Merck
 bidestilliertes Wasser

Glycerollösung:

Glycerol 87% p.A., Merck		30,0 ml
bidestilliertes Wasser	zu	100,0 ml

Citronensäurelösung (1 M):

Citronensäure-Monohydrat p.A., Merck		2,1 g
bidestilliertes Wasser	zu	10,0 ml

Kaliumdiphosphat / Citronensäure-Puffer pH 9.0 (0,1 M):

Kaliumdiphosphat reinst, Riedel-de Haen		3,3 g
Glycerollösung		70,0 ml
einstellen mit Citronensäure-Lösung (1 M) auf pH 9.0		
Glycerollösung	zu	100,0 ml

NAD-Lösung:

NAD, freie Säure, Grad I (100%), Boehringer Mannheim		250 mg
bidestilliertes Wasser	zu	6250 µl

Substratlösung:

Acetaldehyd für biochemische Zwecke, Merck 300 µl
 bidestilliertes Wasser zu 100,0 ml
 10,0 ml dieser Lösung mit bidestilliertem Wasser zu
 100,0 ml verdünnen

Enzymlösung:

Aldehyd-Dehydrogenase aus Hefe (20 U/mg), 5,0 mg
 Boehringer Mannheim
 bidestilliertes Wasser zu 1000 µl

Sulfonlösung:

0,05 mmol Sulfon werden in DMF zu 10,0 ml gelöst und
 1000 µl dieser Lösung mit DMF zu 10,0 ml verdünnt.

Durchführung der Messungen

Alle Lösungen werden vor Gebrauch im thermostatisierten Wasserbad auf 25°C temperiert. Man pipettiert direkt in die Meßküvette:

Kaliumdiphosphat / Citronensäure-Puffer pH 9.0	1750 µl
NAD-Lösung	100 µl
Sulfonlösung	600 µl
umschütteln und genau 4 min. auf 25°C temperieren	
Enzymlösung	100 µl
umschütteln	

Die Inkubationszeit beginnt mit Zusatz der Enzymlösung. Nach Ablauf von genau zwei Minuten wird die Messung durch Zugabe von Acetaldehyd gestartet:

Substratlösung

100 μ l

Unmittelbar nach Zugabe der Substratlösung bestimmt man die Enzymaktivität durch kontinuierliches Aufzeichnen der Absorptionszunahme bei 339 nm während 30 Sekunden.

Mit jedem Sulfon werden drei Messungen durchgeführt. Die Ausgangsaktivität ohne Hemmstoff wird unmittelbar vor Beginn und nach Ablauf dieser drei Messungen auf analoge Weise mit 600 μ l DMF anstelle der Sulfonlösung bestimmt. Das gemittelte Ergebnis wird als 100% Ausgangsaktivität für den jeweiligen Meßzyklus zugrunde gelegt. Als Referenzlösung für den Basislinienabgleich des Photometers werden 2000 μ l Puffer-, 600 μ l Sulfon-, 100 μ l NAD- und 200 μ l Substratlösung sowie 100 μ l bidestilliertes Wasser miteinander gemischt.

Auswertung der Messungen

Die Auswertung der Meßergebnisse erfolgt nach dem auf Seite 68 beschriebenen Verfahren: Für jede Messung mit Hemmstoff wird der prozentuale Restwert der Ausgangsaktivität berechnet. In den Tabellen **50** bis **53** sind die auf eine Meßzeit von einer Minute extrapolierten Absorptionsänderungen, die daraus resultierenden Restaktivitäten und deren Mittelwerte zusammengefaßt.

Tabelle 50: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch
1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
18-1	10 ⁻⁴	0,273	0,254	93,04	<u>93,3</u>
			0,255	93,41	
			0,255	93,41	
18-2	10 ⁻⁴	0,267	0,244	91,39	<u>96,0</u>
			0,273	102,25	
			0,252	94,38	
18-3	10 ⁻⁴	0,316	0,310	98,10	<u>96,8</u>
			0,309	97,78	
			0,299	94,62	
18-4	10 ⁻⁴	0,279	0,225	80,65	<u>88,1</u>
			0,251	89,96	
			0,261	93,55	
18-5	10 ⁻⁴	0,251	0,243	96,81	<u>95,62</u>
			0,243	96,81	
			0,234	93,23	
26-1	10 ⁻⁴	0,363	0,366	100,83	<u>101,9</u>
			0,377	103,86	
			0,367	101,10	
26-2	10 ⁻⁴	0,256	0,252	98,44	<u>97,79</u>
			0,251	98,05	
			0,248	96,88	
26-3	10 ⁻⁴	0,269	0,253	94,05	<u>93,9</u>
			0,253	94,05	
			0,252	93,68	
26-4	10 ⁻⁴	0,333	0,335	100,60	<u>99,2</u>
			0,328	98,50	
			0,328	98,50	

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA _{o. Hemmstoff}	ΔA _{m. Hemmstoff}	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
26-5	10 ⁻⁴	0,396	0,393	99,24	<u>100,3</u>
			0,406	102,53	
			0,392	98,99	
26-6	10 ⁻⁴	0,216	0,218	100,93	<u>99,7</u>
			0,215	99,54	
			0,213	98,61	
26-7	10 ⁻⁴	0,371	0,347	93,53	<u>94,1</u>
			0,341	91,91	
			0,359	96,77	
26-8	10 ⁻⁴	0,269	0,265	98,51	<u>93,8</u>
			0,243	90,33	
			0,249	92,57	
26-9	10 ⁻⁴	0,268	0,243	90,67	<u>94,7</u>
			0,259	96,64	
			0,259	96,64	
26-10	10 ⁻⁴	0,295	0,288	97,63	<u>99,0</u>
			0,292	98,98	
			0,296	100,34	
26-11	10 ⁻⁴	0,326	0,241	73,93	<u>72,7</u>
			0,223	68,40	
			0,247	75,77	
26-12	10 ⁻⁴	0,356	0,308	86,52	<u>87,9</u>
			0,315	88,48	
			0,316	88,76	
26-13	10 ⁻⁴	0,257	0,276	107,39	<u>99,0</u>
			0,243	94,55	
			0,244	94,94	
26-14	10 ⁻⁴	0,258	0,196	75,97	<u>74,9</u>
			0,195	75,58	
			0,189	73,26	
26-15	10 ⁻⁴	0,397	0,404	101,76	<u>99,5</u>
			0,391	98,49	
			0,390	98,24	

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
26-16	10 ⁻⁴	0,356	0,334	93,82	<u>97,8</u>
			0,350	98,31	
			0,360	101,12	
26-17	10 ⁻⁴	0,371	0,353	95,15	<u>97,8</u>
			0,366	98,65	
			0,369	99,46	

Tabelle 51: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch
3-Sulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
18-6	10 ⁻⁴	0,374	0,356	95,19	<u>93,9</u>
			0,351	93,85	
			0,346	92,51	
21-1	10 ⁻⁴	0,360	0,094	26,11	<u>25,9</u>
			0,091	25,28	
			0,095	26,39	
21-2	10 ⁻⁴	0,271	0,078	28,78	<u>28,7</u>
			0,068	25,09	
			0,087	32,10	
26-18	10 ⁻⁴	0,414	0,388	93,72	<u>95,1</u>
			0,389	93,96	
			0,404	97,58	
26-19	10 ⁻⁴	0,217	0,203	93,55	<u>97,1</u>
			0,216	99,55	
			0,213	98,16	
26-20	10 ⁻⁴	0,400	0,322	80,50	<u>84,8</u>
			0,357	89,25	
			0,339	84,75	

Tabelle 52: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch
2-[(Phenylsulfonyl)methyl]-1-indanone 29

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
29-1	10 ⁻⁴	0,368	0,210	56,91	<u>57,0</u>
			0,206	55,83	
			0,215	58,27	
29-2	10 ⁻⁴	0,316	0,165	52,22	<u>51,9</u>
			0,165	52,22	
			0,162	51,27	
29-3	10 ⁻⁴	0,367	0,307	83,65	<u>82,3</u>
			0,305	83,11	
			0,294	80,11	
29-4	10 ⁻⁴	0,390	0,282	72,31	<u>71,5</u>
			0,271	69,49	
			0,284	72,82	

Tabelle 53: Hemmung der Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase durch 2-
[(Phenylsulfonyl)methyl]-3,4-dihydro-1(2H)-naphthalinone 30

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
30-1	10 ⁻⁴	0,242	0,201	83,06	<u>89,0</u>
			0,220	90,91	
			0,225	92,98	
30-2	10 ⁻⁴	0,373	0,304	81,50	<u>79,8</u>
			0,294	78,82	
			0,295	79,09	

Verb.-Nr.	Konz. [mol·l ⁻¹]	ΔA o. Hemmstoff	ΔA m. Hemmstoff	Restaktivität [%]	Mittelwert [%]
30-3	10 ⁻⁴	0,315	0,216	68,57	<u>69,0</u>
			0,212	67,30	
			0,224	71,11	
30-4	10 ⁻⁴	0,380	0,376	98,95	<u>98,3</u>
			0,373	98,16	
			0,371	97,63	
30-5	10 ⁻⁴	0,380	0,367	96,58	<u>95,7</u>
			0,362	95,26	
			0,362	95,26	

Bestimmung des Aktivitätsverlusts von Aldehyd-Dehydrogenase durch Zusatz von N,N-Dimethylformamid

Die Herstellung der Lösungen und Durchführung der Messungen entsprechen den auf den Seiten 157 bis 159 beschriebenen Verfahren. Die Umsetzungen beider Ansätze verliefen innerhalb des Meßzeitraums von 30 Sekunden nach einer Kinetik nullter Ordnung, so daß die Aktivitäten direkt aus den Absorptionsänderungen bestimmt werden konnten.

Ansatz ohne DMF-Zusatz:

Kaliumdiphosphat / Citronensäurepuffer pH 9.0	2000 µl
NAD-Lösung	100 µl
bidestilliertes Wasser	600 µl
Enzymlösung	100 µl
Substratlösung	200 µl

Ansatz mit 30% DMF:

Kaliumdiphosphat / Citronensäurepuffer pH 9.0	2000 μ l
NAD-Lösung	100 μ l
N,N-Dimethylformamid	600 μ l
Enzymlösung	100 μ l
Substratlösung	200 μ l

Enzymaktivität:

Messung	ΔA ohne DMF-Zusatz	ΔA mit DMF-Zusatz	% Restaktivität mit DMF-Zusatz
1	1,250	0,373	29,8
2	1,274	0,381	29,9

Die Aktivität von Aldehyd-Dehydrogenase wird durch einen Zusatz von 20% N,N-Dimethylformamid auf 29,9% des Ausgangswertes reduziert.

9.5. Versuche zu Kapitel 6

Verwendete Trennsäule und Reagenzien

Trennsäule:

Alle Messungen wurden unter Verwendung einer Merck LiChroCART[®] 125-4 Kartusche mit Merck LiChrospher[®] 100 RP-18 (5µm) als Säulenmaterial durchgeführt.

Lösungsmittel:

Methanol LiChrosolv[®], Merck

Wasser LiChrosolv[®], Merck

Untersuchungslösung:

5 mg des zu untersuchenden Sulfons und der als innerer Standard dienenden Verbindung **26-4** werden in Methanol zu 10,0 ml gelöst. 200 µl dieser Lösung werden mit Methanol zu 10,0 ml verdünnt.

Optimierung der Meßmethode

Zur Ermittlung eines geeigneten Eluenten und einer zweckmäßigen Fließgeschwindigkeit wurden Läufe mit verschiedenen Methanol-Wasser-Gemischen im Verhältnis von 100:0 bis 40:60 und Sulfon **26-4** als Referenzsubstanz durchgeführt. Die Detektion erfolgte UV-spektralphotometrisch im Absorptionsmaximum von **26-4** bei 253 nm.

Durchführung der Messungen

Die Bestimmung der Retentionszeit erfolgte für jedes Sulfon einzeln mit frisch hergestellter Untersuchungslösung. Die Messungen wurden bei 20°C isokratisch mit einem Methanol-Wasser-Eluenten im Verhältnis 65:35 und einer Fließgeschwindigkeit von $0,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ durchgeführt. Das Einspritzvolumen betrug $20 \mu\text{l}$, die Detektion erfolgte UV-spektralphotometrisch bei 253 nm.

Ermittlung der Totzeit und der mittleren Retentionszeit des inneren Standards

Die Totzeit (t_0) und die mittlere Retentionszeit des inneren Standards (t_{RSt}) wurden unter den bei „Durchführung der Messungen“ beschriebenen Bedingungen mit einer der Sulfoneinwaage äquivalenten Menge Thioharnstoff bestimmt. Die Mittelwerte aus drei Messungen wurden als t_0 - bzw. t_{RSt} -Wert zugrunde gelegt:

Messung	Totzeit t_0 [min]	Retentionszeit des inneren Standards t_{RSt} [min]
1	1,42	10,44
2	1,41	10,39
3	1,41	10,42
	<u>$\bar{x} = 1,41$</u>	<u>$\bar{x} = 10,42$</u>

Auswertung der ErgebnisseZeichenerklärung

t_R	=	korrigierte Retentionszeit
$t_{R'}$	=	gemessene Retentionszeit
t_{RSt}	=	mittlere Retentionszeit des inneren Standards
$t_{R'St}$	=	gemessene Retentionszeit des inneren Standards

Um die Einzelmessungen miteinander vergleichen zu können, muß man für jedes Sulfon die ermittelte Retentionszeit ($t_{R'}$) nach der Formel

$$t_R = \frac{t_{R'} \cdot t_{RSt}}{t_{R'St}}$$

korrigieren: Über den Bezug auf die mittlere Retentionszeit des inneren Standards (t_{RSt}) wird so der Einfluß systembedingter Schwankungen auf die Retentionszeiten der Verbindungen ausgeglichen; das Verhältnis der korrigierten Retentionszeiten zueinander entspricht dann dem einer Messung der Retentionszeiten aller Substanzen in einem Lauf.

Aus den korrigierten Retentionszeiten (t_R) werden die Kapazitätsquotienten k' berechnet:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

In den Tabellen **54** bis **57** sind die gemessenen Retentionszeiten für die Sulfone ($t_{R'}$) und den inneren Standard ($t_{R'St}$) sowie die korrigierten Retentionszeiten (t_R) und die daraus berechneten k' - und $\log k'$ -Werte zusammengefaßt.

Tabelle 54: Retentionszeiten und Kapazitätsquotienten für 1,2-Diphenyl-3-phenylsulfonyl-1-propanone

Verb.-Nr.	$t_{R'}$ [min]	$t_{R'St}$ [min]	t_R [min]	k'	$\log k'$
18-1	19,69	10,40	19,73	12,991	1,114
18-2	21,77	10,43	21,75	14,425	1,159
18-3	11,30	10,57	11,14	6,900	0,839
18-4	41,99	10,41	42,03	28,809	1,460
18-5	52,32	10,51	51,87	35,789	1,554
26-1	7,22	10,43	7,21	4,116	0,614
26-2	11,64	10,48	11,57	7,208	0,858
26-3	13,25	10,45	13,21	8,370	0,923
26-4	10,42	10,42	10,42	6,390	0,806
26-5	17,15	10,45	17,10	11,128	1,046
26-6	15,76	10,42	15,76	10,177	1,008
26-7	25,98	10,27	26,36	17,695	1,248
26-8	30,39	10,42	30,39	20,553	1,313
26-9	18,18	10,50	18,04	11,795	1,072
26-10	13,49	10,44	13,46	8,549	0,932

Verb.-Nr.	$t_{R'}$ [min]	$t_{R'St}$ [min]	t_R [min]	k'	$\log k'$
26-11	24,20	10,39	24,27	16,213	1,210
26-12	27,85	10,37	27,98	18,847	1,275
26-13	38,85	10,37	39,04	26,686	1,426
26-14	22,74	10,51	22,55	14,990	1,176
26-15	20,95	10,52	20,75	13,717	1,137
26-16	22,39	10,51	22,20	14,743	1,169
26-17	34,84	10,30	35,25	23,997	1,380

Tabelle 55: Retentionszeiten und Kapazitätsquotienten für 3-Sulfonyl-
1-propanone

Verb.-Nr.	$t_{R'}$ [min]	$t_{R'St}$ [min]	t_R [min]	k'	$\log k'$
18-6	12,45	10,41	12,46	7,838	0,894
21-1	4,56	10,34	4,60	2,259	0,354
21-2	5,61	10,38	5,63	2,994	0,476
26-18	4,85	10,34	4,89	2,466	0,392
26-19	6,17	10,42	6,17	3,376	0,528
26-20	5,48	10,44	5,47	2,879	0,459

Tabelle 56: Retentionszeiten und Kapazitätsquotienten für 2-[(Phenylsulfonyl)-methyl]-1-indanone **29**

Verb.-Nr.	$t_{R'}$ [min]	$t_{R'St}$ [min]	t_R [min]	k'	$\log k'$
29-1	4,70	10,39	4,71	2,343	0,370
29-2	5,63	10,31	5,69	3,036	0,482
29-3	5,30	10,45	5,29	2,748	0,439
29-4	6,45	10,53	6,38	3,527	0,547

Tabelle 57: Retentionszeiten und Kapazitätsquotienten für 2-[(Phenylsulfonyl)-methyl]-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalinone **30**

Verb.-Nr.	$t_{R'}$ [min]	$t_{R'St}$ [min]	t_R [min]	k'	$\log k'$
30-1	5,09	10,42	5,09	2,610	0,417
30-2	7,37	10,34	7,43	4,267	0,630
30-3	9,13	10,37	9,17	5,506	0,741
30-4	8,17	10,44	8,15	4,783	0,680
30-5	10,48	10,48	10,42	6,390	0,806

10. Literaturverzeichnis

1. W. B. Geiger, J. E. Conn, *J. Amer. Chem. Soc.* **67**, 112 (1945)
2. H. Rinderknecht, J. L. Ward, F. Bergel, A. L. Morrison, *Biochem. J.* **41**, 463 (1947)
3. W. B. Geiger, *Arch. Biochem. Biophys.* **16**, 423 (1948)
4. G. Lambrecht, *Pharmazie heute* Bd. 2, 63 (1977)
5. J. Gutzmann, Dissertation, Hamburg **1994**
6. H. Schönenberger, G. Bastung, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **21**, 68 (1971)
7. A. Braun, Dissertation, Hamburg **1991**
8. P. Messinger, Habilitationsschrift, Hamburg **1973**
9. R. Borchert-Bremer, Dissertation, Hamburg **1980**
10. K. Treudler, Dissertation, Hamburg **1980**
11. H. Greve, Dissertation, Hamburg **1976**
12. P. Messinger, *Pharmazie* **29**, 172 (1974)
13. H. Schönenberger, et al., *Pharm. Acta Helv.* **44**, 691 (1969)
14. H. Schönenberger, T. Bastung, D. Adam, *Arzneim.-Forsch/Drug Res.* **19**, 1082 (1969)
15. E. P. Kohler, M. Reimer, *Amer. Chem. Journ.* **31**, 163 (1904)
16. P. Messinger, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **306**, 458 (1973)
17. H. Beyer, W. Walter; *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 20. Aufl., 309, Hirzel Verlag, Stuttgart, **1984**
18. H. Fiesselmann, J. Ribka, *Chem. Ber.* **89**, 33 (1956)
19. R. B. Moffett, J. B. Hester, *J. Med. Chem.* **15**, 1247 (1972)
20. H. Fiesselmann, J. Ribka, *Chem. Ber.* **89**, 40 (1956)
21. R. P. Kopinski, J. T. Pinhey, *Aust. J. Chem.* **36**, 312 (1983)
22. C. Hansch, et al., *J. Med. Chem.* **16**, 1207 (1973)

23. O. R. Hansen, R. Hammer, *Acta Chem. Scand.* **7**, 1331 (1953)
24. P. Messinger, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **306**, 603 (1973)
25. E. Krauthausen in: *Methoden der Organischen Chemie* (Houben-Weyl-Müller), 4. Aufl., Bd. E11, 618, Thieme-Verlag, Stuttgart, **1985**
26. B. Lindberg, *Acta. Chem. Scand.* **17**, 377 (1963)
27. J. L. Kice, G. Guaraldi, C. G. Venier, *J. Org. Chem.* **31**, 3561 (1966)
28. H. Bredereck, E. Bäder, *Chem. Ber.* **87**, 129 (1954)
29. H. Hellmann, G. Opitz; *α -Aminoalkylierung*, 1. Aufl., 108, Verlag Chemie, Weinheim, **1960**
30. C. Mannich, D. Lammering, *Chem. Ber.* **55**, 3510 (1922)
31. J. J. Denton, R. J. Turner, *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 2048 (1949)
32. Leiter, Hartwell, Kline, *J. nat. Cancer Inst.* **14**, 645-654 (1953)
33. H. Ball, M. Schneider, H. Schönenberger, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **317**, 565-571 (1984).
34. W. Wilson, Z. K. Kyi, *J. Chem. Soc.* **1952**, 1324
35. E. B. Knott, *J. Chem. Soc.* **1947**, 1193
36. R. Jacquier, M. Mousseron, S. Boyer, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1956**, 1662
37. M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Aufl., 46ff, Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**
38. K. Hofmann, H. Schellenberg, *Helv. Chim. Acta* **27**, 1785 (1944)
39. K. Ohkata, M. Akiyama, *J. Org. Chem.* **49**, 2517 (1984)
40. C. Mannich, F. Borkowsky, H. L. Wan, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **275**, 57 (1937)
41. D. J. Collins, G. D. Fallon, C. E. Skene, *Aust. J. Chem.* **47**, 636 (1994)
42. J. Crutze, K. Thomas, D. Jerchel, in *Pat. Boehringer Ingelheim* (S. African, 1969) pp. 6808, 173; Chem.Abstr. **72**, 90290h (1970)
43. P. Messinger, R. Borchert - Bremer, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **316**, 657 (1983)
44. P. Messinger, Unveröffentlichte Ergebnisse

45. H. Rücker, M. Neugebauer, G. G. Willems; *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 1. Aufl., 53, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1988**
46. M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Aufl., 8, Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**
47. F. G. Bordwell, H. M. Andersen, *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 6019 (1953)
48. A. Braun, Dissertation, Hamburg **1991**, 231
49. J. Knabe, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **297**, 312 (1964)
50. E. L. R. Krug, W. E. Hirt, *Anal. Chem.* **49**, 1865 (1977)
51. P. Hajdu, A. Häussler, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **14**, 709 (1964)
52. E. Emerson, *J. Org. Chem.* **8**, 417 (1943)
53. H. Rücker, M. Neugebauer, G. G. Willems; *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 1. Aufl., 82, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1988**
54. G. L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.* **82**, 70 (1959)
55. P. W. Riddles, R. L. Blakeley, B. Zerner, *Anal. Biochem.* **94**, 75 (1979)
56. G. L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.* **74**, 443 (1958)
57. D. R. Grassetti, J. F. Murray, *Arch. Biochem. Biophys.* **119**, 49 (1967)
58. K. Brocklehurst, G. Little, *Biochem. J.* **133**, 67 (1973)
59. J. P. Danehy, V. J. Elia, C. J. Lavelle, *J. Org. Chem.* **36**, 1003 (1971)
60. A. A. Frost, R. G. Pearson; *Kinetik und Mechanismen homogener chemischer Reaktionen*, 37, Verlag Chemie, Weinheim, **1973**
61. E. S. Swinbourne; *Auswertung und Analyse kinetischer Messungen*, 68, Verlag Chemie, Weinheim, **1975**
62. E. S. Swinbourne; *Auswertung und Analyse kinetischer Messungen*, 70, Verlag Chemie, Weinheim, **1975**
63. P. Sykes; *Reaktionsmechanismen der Organischen Chemie*, 9. Aufl., 427, Verlag Chemie, Weinheim, **1988**

64. E. S. Gould; *Mechanismus und Struktur in der organischen Chemie*, 568 ff, Verlag Chemie, Weinheim, **1962**
65. R. Borchert-Bremer, Dissertation, Hamburg **1980**, 143 ff
66. H. F. Ebel; *Die Acidität der CH-Säuren*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1969**
67. V. Massey, C. H. Williams, Jr., *J. Biol. Chem.* **240**, 4470 (1965)
68. R. D. Mavis, E. Stellwagen, *J. Biol. Chem.* **243**, 809 (1968)
69. J. R. Dimmock, P. Kumar, E. K. Manavathu, N. Obedeanu, J. Grewal, *Pharmazie* **49**, 909 (1994)
70. D. M. Goldberg, J. Spooner, in *Methods of enzymatic analysis*, 3. Aufl., 258, Verlag Chemie, Weinheim, **1983**
71. I. Carlberg, B. Mannervik, *Methods Enzymol.* **113**, 484 (1985)
72. B. Halliwell, C. H. Foyer, *Planta* **139**, 9 (1978); Enzyme Handbook, 1.6.4.2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **1994**
73. W. Bielawski, K. W. Joy, *Phytochemistry* **25**, 2261 (1986); Enzyme Handbook, 1.6.4.2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **1994**
74. S. Ida, Y. Morita, *Agric. Biol. Chem.* **35**, 1550 (1971); Enzyme Handbook, 1.6.4.2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **1994**
75. C. H. Williams, L. D. Arscott, *Methods Enzymol.* **17**, 503 (1971)
76. H. U. Bergmeyer; *Grundlagen der enzymatischen Analyse*, 58, Verlag Chemie, Weinheim, **1977**
77. C. R. Steinman, W. B. Jakoby, *J. Biol. Chem.* **243**, 730 (1968)
78. A. O. M. Stoppani, C. Milstein, *Biochem. J.* **67**, 406 (1957)
79. G. L. Hart, F. M. Dickinson, *Biochem. J.* **163**, 261 (1977)
80. C. Siew, R. A. Deitrich, *Arch. Biochem. Biophys.* **176**, 638 (1976)
81. J. Gutzmann, Dissertation, Hamburg **1994**, 69 ff
82. R. Borchert-Bremer, Dissertation, Hamburg **1980**, 182 ff
83. J. H. Eckfeldt, T. Yonetani, *Methods Enzymol.* **89**, 474 (1982)
84. J. Eckfeldt, L. Mope, K. Takio, T. Yonetani, *J. Biol. Chem.* **251**, 236 (1976)

85. Biochemica-Information über Acetaldehyd, Boehringer Mannheim GmbH, **1989**
86. G. F. Betts, Poole, P.L., M. G. Springham, K. A. Bostian, *Biochem. J.* **183**, 633 (1979)
87. K. A. Bostian, G. F. Betts, *Biochem. J.* **173**, 773 (1978)
88. H. U. Bergmeyer; *Methods of enzymatic analysis*, 3. Aufl., 144, Verlag Chemie, Weinheim, **1983**
89. N. J. Greenfield, R. Pietrusko, *Biochim. Biophys. Acta* **483**, 35 (1977)
90. *Biochemicals Catalog*, 434, Boehringer Mannheim GmbH, **1996**
91. K. Lührs, *Mykosen* **15** (1), 39 (1972)
92. B.-R. Tolf, et al., *Acta Chem. Scand. Ser. B* **33**, **7**, 483 (1979)
93. J. Seydel, K.-J. Schaper; *Chemische Struktur und biologische Aktivität von Wirkstoffen*, 73 ff, Verlag Chemie, Weinheim, **1979**
94. V. Austel, E. Kutter; *Arzneimittelentwicklung*, 72 f, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1978**
95. M. Kuchar, M. Jelinkova in: *QSAR in Design of Bioactive Compounds*, 65, J. R. Prous, S.A., **1992**
96. H. Könemann, R. Zelle, F. Busser, W. E. Hammers, *J. Chromatogr.* **178**, 559 (1979)
97. T. Hanai, *Chromatographia* **12**, 77 (1979)
98. I. Molnar, C. Horvath, *J. Chromatogr.* **142**, 623 (1977)
99. R. M. Carlson, R. E. Carlson, H. L. Kopperman, *J. Chromatogr.* **107**, 219 (1975)
100. T. Braumann, L. H. Grimme, *J. Chromatogr.* **206**, 7 (1981)
101. *Merck ChromBook*, 47, Merck KGaA, Darmstadt, **1996**
102. Amtliche Ausgabe *Deutsches Arzneibuch 1997*, V.6.3.1, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart und Govi-Verlag GmbH, Frankfurt a.M./Eschborn, **1997**

11. Anhang: Gefahrstoffe

Über die toxikologischen Eigenschaften der meisten von mir verwendeten Chemikalien und dargestellten Verbindungen liegen im Sinne des Chemikaliengesetzes keine Daten vor. Gefährliche Eigenschaften können nicht ausgeschlossen werden. Die Substanzen sind mit der bei gefährlichen Chemikalien üblichen Vorsicht zu handhaben.

Nachfolgende von mir verwendete Reagenzien und Lösungsmittel sind nach Anhang 6 der Gefahrstoffverordnung mit Gefahrensymbolen und Sicherheitsratschlägen versehen:

Lösungsmittel	Gefahrensymbole	Sicherheitsratschläge
Aceton	F	S: -
Chloroform	Xn	36/37
Dichlormethan	Xn	23.2-24/25-36/37
Diethylether	Xn	9-16-29-33
Dimethylformamid	T	53-45
Ethanol	F	7-16
n-Hexan	Xn, F	9-16-24/25-29-51
Methanol	T	7-16-24-45
Petroleumbenzin	F	9-16-29-33
Tetrahydrofuran	Xi, F	16-29-33
Toluen	Xn, F	16-25-29-33

Reagenzien	Gefahrensymbole	Sicherheitsratschläge
Acetaldehyd	Xn, F+	16-33-36/37
Aluminiumchlorid	C	7/8-28.1-45
Benzen	T,F	53-45
Calciumchlorid	Xi	22-24
4-Chlorbenzonnitril	Xn	36/37
Dimethylamin-Lösung 40%	Xi,F	26-29
Dimethylammoniumchlorid	Xn	24/25
N-Ethyl-diisopropylamin	Xi,F	-
Formaldehyd-Lösung 37%	T	26-36/37/39-45-51
Iodmethan	T	36/37-38-45
4-Methoxy-phenylessigsäure	Xn	22-24/25
4-Methylthiophenol	T	45
Natriumcarbonat	Xi	22-26
Natronlauge	C	2-26-27-37/39
Paraformaldehyd	Xn	22-26-36/37
Phenylacetylchlorid	C	26-36/37/39-45
Salzsäure	C	2-26
α -Tetralon	Xn	-
Tetramethylsilan	F	9-16-29-43.3
Thioharnstoff	Xn	22-24-36/37
Thionylchlorid	C	26-45
Titriplex [®] III	Xn	-