

**Studien zur Total- und Mutasyntese von
Myxovalargin
und synthetische Untersuchungen
zu den Cystobactamiden**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktorin der Naturwissenschaften
-Dr. rer. nat.-

genehmigte Dissertation

von
M. Sc. Franziska Gille
geboren am 19.10.1987 in Leinefelde

2016

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Andreas Kirschning

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. Markus Kalesse

Tag der Promotion: 05.02.2016

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2012 bis Oktober 2015 unter der Anleitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover angefertigt.

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel, sowie eventuell zur Hilfestellung herangezogene Institutionen vollständig angegeben wurden.

Die Dissertation wurde nicht bereits als Master- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 06.10.2015

für meine Mutter

Zusammenfassung

Franziska Gille

Studien zur Total- und Mutasyntese von Myxovalargin und synthetische Untersuchungen zu den Cystobactamiden

Schlagworte: Myxovalargin – Cystobactamide – Totalsynthese – Oligopeptide – BUCHWALD-Kreuzkupplung

Der Extrakt des Myxobakteriums *Myxococcus fulvus*, Stamm Mx f65, zeigte eine sehr starke antibiotische Aktivität gegenüber einer Vielzahl GRAM-positiver und GRAM-negativer Bakterien. Als biologisch aktive Komponente konnte am HZI in Braunschweig das Myxovalargin isoliert werden. Dessen antibiotische Aktivität beruht sowohl auf einer Inhibierung der Proteinbiosynthese als auch auf einer Interaktion mit der Zellmembran.

Auf der Suche nach Substanzen mit einem neuartig adressierten Wirkort fiel die Aufmerksamkeit auf die Naturstoffklasse der Cystobactamide aus *Cystobacter* sp, Stamm Cbv34, deren biologisches Potential auf einer Inhibierung der bakteriellen Topoisomerase beruht.

Im ersten Teil der vorliegenden Dissertation wurden Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin durchgeführt. So konnte eine konvergente Syntheseroute etabliert werden, welche ebenfalls einen Zugang zu neuen Derivaten ermöglicht. Basierend darauf konnten die einzelnen Fragmente synthetisiert und anschließend zu größeren Peptidfragmenten gekuppelt werden. Ebenso wurde ein allgemein gültiger Zugang zu den im Naturstoff vorherrschenden seltenen Dehydroaminosäuren und –peptiden geschaffen, welcher über eine Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung als Schlüsselschritt erfolgt.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde an einem mutasyntetischen Ansatz zur Herstellung neuer Myxovalargin-Derivate gearbeitet. Hierfür wurden neben dem natürlichen Mutasynton sieben weitere Analoga synthetisiert. Die durchgeführten Supplimentierungsexperimente mit dem natürlichen Mutasynton lieferten jedoch keine Informationen hinsichtlich deren Akzeptanz, was auf eine schlechte Membranpermeabilität des Substrates zurückgeführt werden kann.

Im letzten Teil dieser Dissertation wurden Studien zur Synthese der Cystobactamide durchgeführt. Dabei lag der Fokus auf einem generellen, stereoselektiven Zugang zu der zentral verbrückten Aminosäure Methoxyasparagin. Ebenso wurden Kupplungsstudien dieser nicht-kanonischen Aminosäure mit den PABA-Einheiten durchgeführt.

Abstract

Franziska Gille

Studies towards the Total- and Mutasynthesis of Myxovalargin and Synthetic Investigations towards the Cystobactamides

Keywords: Myxovalargin – Cystobactamides – total synthesis – oligopeptides – BUCHWALD cross coupling

An extract of the myxobacteria *Myxococcus fulvus* Mx f65 showed strong antibiotic activity against various GRAM positive and GRAM negative bacteria. The biologically active compound is the secondary metabolite myxovalargin, it was isolated by the HZI in Braunschweig. The antibiotic activity is based on an inhibition of the bacterial protein biosynthesis as well as an interaction with the cell membrane.

By searching for substances with a new addressed site of action, the natural product class of cystobactamides from *Cystobacter* sp Cbv34 gained attention. The biological potential of this natural products is based on an inhibition of the bacterial topoisomerase.

In the first part of this thesis, a total synthesis towards the oligopeptide myxovalargin was investigated. A convergent synthetic route has been established providing access to new natural product derivatives. Based on this strategy all fragments were synthesized as well as coupled towards bigger peptides. After extensive investigations, a route towards the challenging dehydroamino acids and peptides was established, which utilized a copper-mediated BUCHWALD cross coupling as a key step.

In the second part of this work, a mutasynthetic approach towards new myxovalargin derivatives were examined. Besides the natural substrate seven analogs were synthesized. However, the feeding results of the natural substrate did not provide satisfying informations probably due to poor membrane permeability.

In the last part of this thesis, a total synthesis approach towards the cystobactamides was investigated. Therefore, a general stereoselective way to the central amino acid methoxyasparagine has been established. Furthermore, coupling studies of this nonnatural amino acid with PABA units were carried out.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen und Vorbemerkungen	1
Abkürzungen	1
Vorbemerkungen	6
1 Einleitung	7
1.1 Naturstoffe als Quelle neuer Antibiotika	7
1.2 Myxobakterien – Produzenten neuartiger biologisch aktiver Naturstoffe	8
1.3 Myxovalargin – Ein antimikrobielles Oligopeptid des Myxobakteriums <i>Myxococcus fulvus</i>	11
1.3.1 Isolierung und Strukturaufklärung.....	11
1.3.2 Biologische Aktivität des Antibiotikums Myxovalargin	13
1.3.3 Biosynthese des Naturstoffs Myxovalargin.....	14
1.4 Cystobactamide – Topoisomerase-Inhibitoren aus Myxobakterien.....	18
1.4.1 Isolierung und Strukturaufklärung.....	18
1.4.2 Biologische Aktivität der Cystobactamide	20
1.4.3 Biosynthese der Cystobactamide.....	21
1.5 Mutasythese.....	24
2 Problemstellung und Zielsetzung.....	26
2.1 Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin.....	26
2.2 Synthese von Thioester-aktivierten Peptidfragmenten des Myxovalargins für die Mutasythese.....	27
2.3 Studien zur Totalsynthese der Cystobactamide	29
3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse	30
3.1 Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin.....	30
3.1.1 Retrosynthese des Naturstoffs Myxovalargin.....	30
3.1.2 Vorarbeiten	31
3.1.3 Synthese des Fragments A.....	36
3.1.4 Synthese des Fragments B.....	79
3.1.5 Synthese des Fragments C.....	92
3.1.6 Synthese des Fragments D.....	95
3.1.7 Studien zum Endspiel der Totalsynthese des Naturstoffs Myxovalargin	97

3.2 Synthese von Thioester-aktivierten Peptidfragmenten des Myxovalargins für die Mutasynthese.....	114
3.2.1 Synthese des natürlichen Mutasynthons.....	114
3.2.2 Synthese des nicht-methylierten Mutasynthons	115
3.2.3 Darstellung der Thioester-aktivierten Peptidfragmente ohne die Doppelbindungs-funktionalität.....	116
3.2.4 Verfütterungsstudien des natürlichen Mutasynthons.....	123
3.3 Studien zur Totalsynthese der Cystobactamide	124
3.3.1 Retrosynthetische Hauptschnitte für die Totalsynthese der Cystobactamide	124
3.3.2 Studien zur Synthese des Fragments A	125
3.3.3 Synthese des enantiomeren TMS-Ethylesters	133
3.3.4 Synthese des Fragments B.....	134
3.3.5 Verknüpfung der Fragmente A und B	135
4 Zusammenfassung und Ausblick	137
4.1 Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin.....	137
4.1.1 Zusammenfassung	137
4.1.2 Ausblick.....	145
4.2 Synthese von Thioester-aktivierten Peptidfragmenten des Myxovalargins für die Mutasynthese.....	150
4.2.1 Zusammenfassung	150
4.2.2 Ausblick.....	151
4.3 Studien zur Totalsynthese der Cystobactamide	152
4.3.1 Zusammenfassung	152
4.3.2 Ausblick.....	154
5 Experimenteller Teil	157
5.1 Allgemeine Hinweise	157
5.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1	161
5.3 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.2	242
5.4 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3	269
6 Anhang	288

Abkürzungen und Vorbemerkungen

Abkürzungen

A	Adenylierung
Ac	Acetyl
AD	Asymmetrische Dihydroxylierung
Ala	Alanin
Alloc	Allyloxycarbonyl
AllocCl	Allylchlorformiat
aq.	aqueous
Ar	Aryl
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Äq.	Äquivalente
Bn	Benzyl
Boc	Butyloxycarbonyl
BOP	Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphoniumhexafluoro- phosphat
br	breit (NMR)
brsm	<i>by recovering starting material</i>
bspw.	beispielsweise
Bu	Butyl
Bz	Benzoyl
bzw.	beziehungsweise
C	Kondensation
c	Konzentration
°C	Grad Celsius
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CbzCl	Benzylchlorformiat
cm	Zentimeter
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
Δ	Erhitzen bis zum Rückfluss

Abkürzungen und Vorbemerkungen

δ	chemische Verschiebung (NMR)
d	Tag
d	Dublett (NMR)
DBBP	4,4'-Di- <i>tert</i> -butylbiphenyl
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	<i>desoxyribonucleic acid</i>
DPPA	Diphenylphosphorylazid
<i>d.r.</i>	<i>diastereomeric ratio</i>
E	Epimerase
EDC·HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid
<i>ee</i>	<i>enantiomeric excess</i>
Eoc	Ethyloxycarbonyl
EocCl	Ethylchlorformiat
ESI	<i>electrospray ionization</i>
Et	Ethyl
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (und andere)
EtOAc	Essigsäureethylacetat
EWG	<i>electron withdrawing group</i>
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FT	Fourier-Transformation
g	Gramm
h	Stunde
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>

HMDS	Hexamethyldisilazan
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HOAt	<i>N</i> -Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	<i>N</i> -Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectroscopy</i>
HSQC	<i>heteronuclear single quantum correlation</i>
Hz	Hertz
HZI	Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
IBCF	Isobutylchlorformiat
IC ₅₀	<i>half maximal inhibitory concentration</i>
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kopplungskonstante
kg	Kilogramm
konz.	konzentriert
L	Ligand
LC	<i>liquid chromatography</i>
LD ₅₀	mittlere tödliche Dosis
LD ₁₀₀	absolut tödliche Dosis
Lit.	Literatur
lls	<i>longest linear sequence</i>
M	Molarität
m	Multipllett (NMR)
m	mittel (IR)
max.	maximal
Me	Methyl
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
min	Minute
MHK	Minimale Hemmkonzentration
mL	Milliliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
mmol	Millimol

Abkürzungen und Vorbemerkungen

μmol	Mikromol
MS	Massenspektrometrie
Ms	Mesyl
MT	<i>N</i> -Methyltransferase
<i>m/z</i>	<i>mass to charge ratio</i>
NaDCC	Natriumdichlordiisocyanurat
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
nm	Nanometer
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
nOe	<i>nuclear Overhauser effect</i>
NOESY	<i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i>
NRPS	nichtribosomale Peptidsynthase
Nu	Nukleophil
OPA	<i>ortho</i> -Phthaldialdehyd
Orn	Ornithin
p	primär (NMR)
PABA	<i>para</i> -Aminobenzoessäure
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PCP	<i>peptidyl carrier protein</i>
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PE	Petroleumether
PG	<i>protecting group</i>
Ph	Phenyl
pH	<i>potentia Hydrogenii</i>
PNBA	<i>para</i> -Nitrobenzoessäure
ppm	<i>parts per million</i>
Pr	Propyl
PyAOP	[(7-Azabenzotriazol-1-yl)oxy]tris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluorophosphat
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
PyBroP	Bromotripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat

q	Quartett (NMR)
q	quartär (NMR)
quant.	quantitativ
Q-Tof	<i>quadrupole time of flight</i>
R	Rest
<i>rac</i>	racemisch
R_f	Retentionsfaktor
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
ROESY	<i>rotating frame Overhauser effect spectroscopy</i>
RP	<i>reversed phase</i>
s.	siehe
s	Singulett (NMR)
s	sekundär (NMR)
s	stark (IR)
SAM	<i>S</i> -Adenosylmethionin
sept	Septett (NMR)
Ser	Serin
SM	<i>starting material</i>
SNAC	<i>N</i> -Acetylcysteamin
Su	Succinimid
t	Triplett (NMR)
t	tertiär (NMR)
TAM	Tyrosin Aminomutase
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyl-diphenylsilyl
TBTU	<i>N</i> -[(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylen]- <i>N</i> -methylmethanaminium-tetrafluoroborat- <i>N</i> -oxid
TE	Thioesterase
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy
Teoc	2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl
TeocCl	(2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyloxy)chlorid
TeocOBt	1 <i>H</i> -Benzo[<i>d</i>][1,2,3]triazol-1-yl-2-(trimethylsilyl)ethylcarbonat
TeocOSu	2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-2(trimethylsilyl)ethylcarbonat

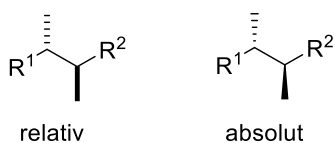
Tf	Triflat, Trifluormethansulfonyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
T _M	Schmelzpunkt
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin
TMG	1,1,3,3-Tetramethylguanidin
TMP	1,1,5,5-Tetramethylpiperidin
TMS	Trimethylsilyl
TMSE	2-(Trimethylsilyl)ethyl
t _R	Retentionszeit
tRNA	<i>transfer ribonucleic acid</i>
Tyr	Tyrosin
UPLC	<i>ultrahigh performance liquid chromatography</i>
UV	ultraviolett
Val	Valin
vgl.	vergleiche
vs.	versus
v/v	Volumen/Verhältnis
w	schwach (IR)
WHO	<i>world health organization</i>

Vorbemerkungen

Die Nummerierung der Protonen- bzw. Kohlenstoff-Atome im Experimentellen Teil entspricht nicht den IUPAC-Regeln.

Die Darstellung der Stereochemie in der Arbeit erfolgt folgendermaßen:

Zur Darstellung der relativen Stereochemie werden Balken verwendet, während für die absolute Stereochemie Keile verwendet werden.



1 Einleitung

1.1 Naturstoffe als Quelle neuer Antibiotika

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts waren Infektionskrankheiten eine der am weit verbreitesten Todesursachen. Mit der Einführung der Penicilline konnte die Mortalität bei Infektionskrankheiten stark verringert werden. Der Erfolg führte zur Suche nach weiteren antibakteriell wirkenden Verbindungen, sodass im Zeitraum von 1940-1970 eine große Vielzahl an Wirkstoffen als Therapeutika etabliert werden konnten.¹ Jedoch sind Infektionskrankheiten weltweit immer noch die zweithäufigste Todesursache. Ein wesentlicher Grund dieses Problems liegt in dem Auftreten von Pathogenen, die bereits gegenüber einer Vielzahl der derzeit eingesetzten Antibiotika resistent sind. Auch Multiresistenzen gegen die in Ausnahmefällen verabreichten Antibiotika wie bspw. Vancomycin treten vermehrt auf. Diese Situation wird zusätzlich dadurch verschärft, dass die schwierige und wenig profitable Entwicklung neuer Antibiotika in der Pharmaindustrie weitestgehend minimiert oder sogar eingestellt wurde.^{2,3} Jedoch ist die Anzahl neuartiger Antibiotika, die in Target-orientierten Screening-Ansätzen gefunden wurde nicht ausreichend, um das Problem der Antibiotikaresistenz zu bekämpfen, was insbesondere Pathogene betrifft, die Biofilme ausbilden können (bspw. *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acetivobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.).^{4,5} Angesichts dieser Tatsache, sowie der evolutionsbedingten Entstehung neuer Krankheiten wird der Menschheit täglich vor Augen geführt, dass der Bedarf an neuen Wirkstoffen, insbesondere Antibiotika nicht gestillt werden kann. Aufgrund dessen ist die Suche nach neuen Antibiotika weiterhin aktuell, da die Resistenzbildung bei Wirkstoffen, die einen neuen, adressierten Wirkort aufweisen, verlangsamt auftritt.⁶

Zur Bewältigung dieses aktuellen Problems bedarf es einer komplexen Herangehensweise. Naturstoffe bilden hierbei einen wichtigen Ansatzpunkt. Hierbei handelt es

¹ A. L. Demain, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *33*, 486–495.

² A. L. Demain, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, *52*, 455–463.

³ WHO (2014), *Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance*: <http://who.int/drugresistance/documents/surveillance-report/en/> (Zugriffsdatum: 25.07.2015).

⁴ D. J. Payne, M. N. Gwynn, D. J. Holmes, D. L. Pompliano, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 29–40.

⁵ H. W. Boucher, G. H. Talbot, J. S. Bradley, J. E. Edwards, D. Gilbert, L. B. Rice, M. Scheld, B. Spellberg, J. Bartlett, *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48*, 1–12.

⁶ A. L. Demain, *Medicinal Res. Rev.* **2009**, *29*, 821–842.

sich jedoch meistens um Sekundärmetabolite, die nur in geringen Mengen aus den natürlichen Quellen isolierbar sind und häufig nicht das komplexe Anforderungsprofil eines Medikamentes erfüllen. Abhilfe bietet hierbei neben der Naturstoff-Fermentationen von Bakterien, die synthetische bzw. semi-synthetische Modifizierung von bereits bekannten Naturstoffen,⁷ sowie die Suche nach unbekanntem Mikroben in weniger erforschten Lebensräumen.⁶

1.2 Myxobakterien – Produzenten neuartiger biologisch aktiver Naturstoffe

Mikroorganismen produzieren eine große Vielfalt an Sekundärmetaboliten, die verschiedenste biologische Aktivitäten besitzen. Gerade in den letzten Jahren haben die Myxobakterien ein steigendes Ausmaß an Bedeutung erlangt, da diese einzigartigen Strukturen ein enormes biosynthetisches Potential aufweisen.^{8,9}

Myxobakterien sind obligate, aerobe GRAM-negative Stäbchen mit einer Länge von 3 – 12 µm und einem Durchmesser von 0.7 – 1 µm. Die Bakterien gehören der δ -Gruppe der Proteobakterien an.¹⁰ Sie sind im Boden, auf verrottendem Pflanzenmaterial, Baumrinden und auf Dung zu finden. Aufgrund ihrer Vielfältigkeit treten sie ubiquitär auf, obwohl sie häufiger in warmen, semiariden Regionen aufzufinden sind (bspw. Ägypten, Indien, Südwesten der USA). Des Weiteren konnten Myxobakterien auch in Frischwasser und marinen Sedimenten nachgewiesen werden.¹¹ Jedoch wurden echte marine, halotolerante Myxobakterien lediglich im Pazifischen Ozean in der Nähe Japans beobachtet.¹²

In den letzten 25 Jahren wurden am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig (ehemals Gesellschaft für Biotechnologische Forschung) etwa 7500 myxobakterielle Arten mit über 100 verschiedenen Sekundärmetaboliten und darüber hinaus weitere 500 Strukturderivate identifiziert.^{11,13} Die myxobakteriellen Naturstoffe gehören den unterschiedlichsten chemischen Verbindungsklassen an (Abbildung 1). So wurden

⁷ A. Kirschning, F. Hahn, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 4086-4096; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4012-4022.

⁸ T. Iizuka, Y. Jojima, R. Fudou, S. Yamanaka, *FEMS Microbiol. Lett.* **1998**, *169*, 317-322.

⁹ H. Reichenbach, K. Gerth, H. Irschik, B. Kunze, G. Höfle, *Trends Biotechnol.* **1988**, *6*, 115-121.

¹⁰ H. Reichenbach, G. Höfle, *Biotech. Adv.* **1993**, *11*, 219-277.

¹¹ H. Reichenbach, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *27*, 149-156.

¹² T. Iizuka, Y. Jojima, R. Fudou, S. Yamanaka, *FEMS Microbiol. Lett.* **1998**, *169*, 317-322.

¹³ R. O. Garcia, D. Krug, R. Müller, *Methods Enzymol.* **2009**, *458*, 59-91.

Makrozyklen, Polyene, Polyether, Peptide, Depsipeptide und Terpene identifiziert.^{14,15} Aufgrund der strukturellen Diversität ergeben sich verschiedenste biologische Aktivitäten. Zum einen gibt es Naturstoffe, die sowohl die prokaryontische ribosomale (bspw. Myxovalargin) als auch die eukaryontische ribosomale Proteinbiosynthese (bspw. Gephyronsäure (**1**)¹⁶) hemmen. Zum anderen gibt es Substanzen, die den Respirationstrakt inhibieren (bspw. Myxothiazol (**2**)¹⁷, Thuggacin A (**3**)¹⁸), wobei sich diese im Hinblick auf den Angriffspunkt innerhalb der Atmungskette unterscheiden. Des Weiteren produzieren Myxobakterien eine Vielzahl an Sekundärmetaboliten, die auf das Zytoskelett eukaryontischer Zellen wirken und somit als Leitsubstanz für die Entwicklung von Antitumor-Verbindungen dienen. Dabei wird zwischen Naturstoffen, welche auf das Aktingerüst (bspw. Chivosazol (**4**)¹⁹) und das Tubulingerüst wirken, unterschieden. Bei der antimitotischen Wirkung auf das Tubulingerüst werden wiederum zwei Gruppen unterschieden; zum einen diejenigen, welche eine Stabilisierung der Mikrotubuli induzieren und zur Polymerisation führen (bspw. Epothilon (**5**)²⁰). Zum anderen kann eine Destabilisierung der Tubuli eintreten, welche folglich in deren Abbau resultiert (bspw. Tubulysin (**6**)²¹). Letztendlich führen beide Wirkungen in den Zellen zum Zusammenbruch des Mikrotubuli-Apparates und dadurch bedingt zu einem programmierten Zelltod (Apoptose).²²

¹⁴ Einen umfassenden Überblick über alle derzeit bekannten myxobakteriellen Metabolite und deren Aktivität gibt die Übersicht: K. J. Weissman, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1276-1295.

¹⁵ S. C. Wenzel, R. Müller, *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2009**, *12*, 220-230.

¹⁶ F. Sasse, H. Steinmetz, G. Höfle, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 21-25.

¹⁷ a) K. Gerth, H. Irschik, H. Reichenbach, W. Trowitzsch, *J. Antibiot.* **1980**, *33*, 1474-1479; b) H. Steinmetz, E. Forche, H. Reichenbach, G. Höfle, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1681-1684.

¹⁸ a) H. Irschik, H. Reichenbach, G. Höfle, R. Jansen, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 733-738; b) H. Steinmetz, H. Irschik, B. Kunze, H. Reichenbach, G. Höfle, R. Jansen, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5822-5832.

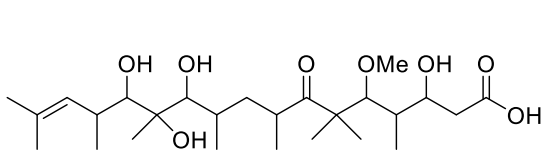
¹⁹ a) H. Irschik, R. Jansen, K. Gerth, G. Höfle, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 962-966; b) R. Jansen, H. Irschik, H. Reichenbach, G. Höfle, *Liebigs Ann. Chem.* **1997**, 1725-1732; c) R. Diestel, H. Irschik, R. Jansen, M. W. Khalil, H. Reichenbach, F. Sasse, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 2900-2903.

²⁰ a) K. Gerth, N. Bedorf, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 560-563; b) P. F. Mühlradt, F. Sasse, *Cancer Res.* **1997**, *57*, 3344-3346.

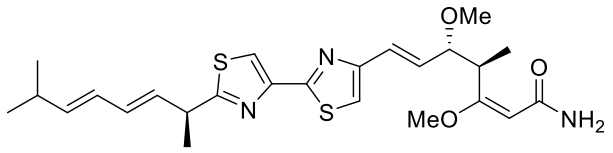
²¹ a) H. Steinmetz, N. Glaser, E. Herdtweck, F. Sasse, H. Reichenbach, G. Höfle, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4996-5000; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4888-4892; b) A. Ullrich, Y. Chai, D. Pistorius, Y. A. Elnakady, J. E. Herrmann, K. J. Weissman, U. Kazmaier, R. Müller, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4486-4489; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4422-4425.

²² K. H. Altmann, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2137-2152.

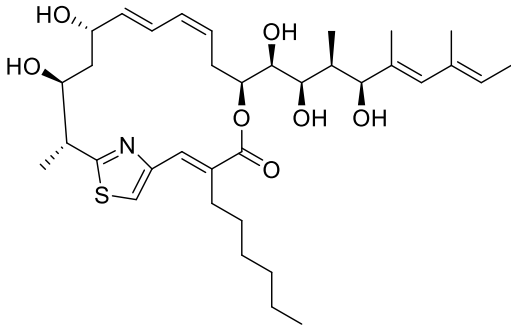
1 Einleitung



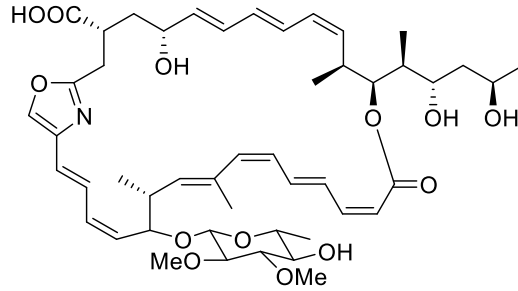
Gephyronsäure (1)
Inhibitor der Proteinbiosynthese



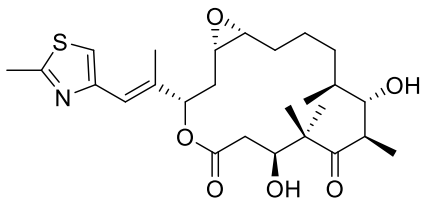
Myxothiazol (2)
Inhibitor der Atmungskette



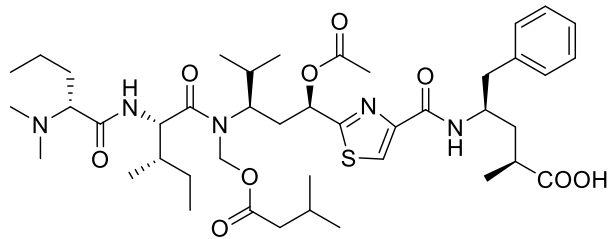
Thuggacin A (3)
Inhibitor der Atmungskette



Chivosazol (4)
Inhibitor der Aktinpolymerisation



Epothilon (5)
Stabilisierung der Mikrotubuli



Tubulysin (6)
Destabilisierung der Mikrotubuli

Abbildung 1: Eine Auswahl myxobakterieller Naturstoffe und deren biologische Aktivitäten.

1.3 Myxovalargin – Ein antimikrobielles Oligopeptid des Myxobakteriums *Myxococcus fulvus*

Bei einem am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig durchgeführten Screening-Programm zeigte der Kulturüberstand des Myxobakteriums *Myxococcus fulvus*, Stamm Mx f65, eine biologische Aktivität gegenüber einer Vielzahl GRAM-positiver Bakterien. Daraufhin wurde der Zellkulturüberstand untersucht und die aktiven Komponenten isoliert. Hierbei wurden vier neue Substanzen isoliert, welche als Myxovalargin A, B, C und D bezeichnet wurden.²³

1.3.1 Isolierung und Strukturaufklärung

Der Myxobakterienstamm *Myxococcus fulvus*, Stamm Mx f65, wurde 1969 aus einer Bodenprobe aus dem Kaiserstuhl (Baden-Württemberg) isoliert.

Anhand einer Großfermentation konnten die Myxovalargine A-D isoliert werden, wobei die antibiotische Aktivität ausschließlich in dem Zellkulturüberstand nachgewiesen werden konnte. Dazu wurde die Zellsuspension zunächst mit *n*-Butanol extrahiert, anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in destilliertem Wasser aufgenommen, sowie mit einem anionischen Austauschharz gerührt. Nach Entfernung des Resins wurde zweimal mit *n*-Butanol extrahiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der konzentrierte Extrakt wurde säulenchromatographisch an Aluminiumoxid gereinigt. Abschließend erfolgte eine präparative HPLC mittels *reversed phase* Silicagel RP-18 mit dem Eluenten 2-Propanol-Acetonitril-3%-Trimethylformiat-Puffer pH 6.0 (2:2:3). Dabei wurden vier neue Substanzen isoliert. Diese wurden Myxovalargin A (etwa 90%), B, C und D in Abhängigkeit der Reihenfolge ihrer Eluation genannt.²³

Bei den Myxovalarginen handelt es sich um lineare Peptide mit einem Molekulargewicht zwischen 1500 und 1700. Wie bereits erwähnt, wurde Myxovalargin A als Hauptkomponente des Zellkulturüberstands des *Myxococcus fulvus* Mx f65 identifiziert. Bei den Nebenkomponten Myxovalargin B-D handelt es sich um Homologe des Myxovalargins A mit vermindertem Molekulargewicht.²⁴

²³ H. Irschik, K. Gerth, T. Kemmer, H. Steinmetz, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 6-12.

²⁴ H. Steinmetz, H. Irschik, H. Reichenbach, G. Höfle, *Sixth USSR-FRG Symposium on Chemistry of Peptides and Proteins*, **1987**, Hamburg, Attempto Verlag Tübingen **1989**, Volume 4, page 13-18.

Myxovalargin A, im Folgenden nur noch Myxovalargin (**7**) genannt, ist ein lineares Peptid bestehend aus 14 Aminosäuren, einer Carbonsäure und einem Amin. Dabei befindet sich die 3-Methylbutansäure am Amino-Terminus und das Amin Agmatin am Carboxy-Terminus. Des Weiteren sind neben den proteinogenen auch einige außergewöhnliche Aminosäuren vertreten, wie *N*-Methylalanin, β -Tyrosin, β -Hydroxyvalin, α,β -Dehydrovalin und α,β -Dehydroisoleucin (Abbildung 2).²⁵

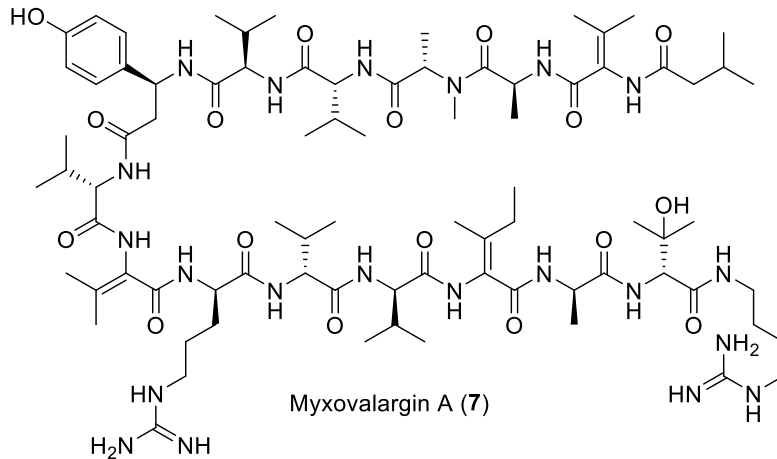


Abbildung 2: Struktur des Myxovalargins (7).

Die Strukturaufklärung der peptidischen Naturstoffe Myxovalargin A-D erfolgte 1987 durch STEINMETZ *et al.*²⁴. Mit Hilfe der sauren Totalhydrolyse wurden die Hauptbestandteile des Naturstoffes Myxovalargin identifiziert. Dabei handelt es sich um fünf Moleküle Valin, zwei Moleküle Alanin, Arginin, *N*-Methylalanin, Agmatin und 3-Methylbutansäure. Die unnatürlichen Aminosäuren wurden durch Protonen- und Kohlenstoff-NMR-Spektroskopie identifiziert. Jedoch konnte mit Hilfe spektroskopischer Methoden keine Information hinsichtlich der Sequenz des Naturstoffs gewonnen werden. Daher wurden chemische Degradationsreaktionen wie der Edman-Abbau und die Dansylierung verwendet. Die Positionen der α,β -Dehydroaminosäuren wurden durch Deuterierung mit D_2/Pt und anschließender massenspektrometrischer Untersuchung bestimmt. Des Weiteren erfolgte die Bestimmung der absoluten Konfiguration der Aminosäuren durch Derivatisierung mit *ortho*-Phthaldialdehyd (OPA), sowie 2-Mercapto-2-methylbutanol und anschließender Säulenchromatographie an RP-18 Silicagel. Diese Methode eignet sich lediglich zur Bestimmung der absoluten Konfiguration primärer Aminosäuren. Die Konfiguration des *N*-Methylalanins konnte anhand der chiralen Gaschromatographie bestimmt werden.

²⁵ H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1985**, 38, 1237-1245.

1.3.2 Biologische Aktivität des Antibiotikums Myxovalargin

Nach der Isolierung von Myxovalargin wurden Studien hinsichtlich deren biologischer Aktivität durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die Verbindung in geringen Konzentrationen eine antibiotische Wirkung gegenüber GRAM-positiven Bakterien (MHK 0.30 – 5.00 µg/mL; Tabelle 1) aufweist. Des Weiteren zeigt Myxovalargin in höher Konzentrationen eine Wirkung gegen GRAM-negative Bakterien (MHK 6.00 – 100 µg/mL; Tabelle 1). Keine Wirkungen hingegen wurden bei Hefen und Pilzen beobachtet. Außerdem weist der Naturstoff eine erhöhte Toxizität gegenüber Mäusen auf; der LD₅₀-Wert (subkutan) beträgt 10 mg/kg, der LD₁₀₀-Wert 30 mg/kg.²³

Tabelle 1: Antibakterielle Aktivität von Myxovalargin.

Testorganismus	MHK (µg/mL)
<i>Corynebacterium mediolanum</i>	5.00
<i>Bacillus subtilis</i>	0.60
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.60
<i>Micrococcus luteus</i>	0.30
<i>Salmonella typhimurium</i>	6.00
<i>Escherichia coli</i>	6.00
<i>Serratia marcescens</i>	25.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.0
<i>Pseudomonas aerobacter</i>	25.0
<i>Proteus morgani</i>	50.0
<i>Proteus mirabilis</i>	100

Die antibiotische Aktivität des Myxovalargins beruht einerseits auf der Inhibierung der bakteriellen Proteinbiosynthese. Dieses konnte durch Experimente mit *S. aureus* gezeigt werden. Myxovalargin ist in der Lage, bei Konzentrationen von < 1.00 µg/mL die Proteinbiosynthese abrupt zu unterbinden, während die Syntheseleistung von DNA, RNA und Zellwandbestandteilen innerhalb der nächsten 15 Minuten verringert wird. Die unverzügliche Unterbindung der Proteinbiosynthese ist vermutlich auf eine Interaktion mit der Aminoacyl-tRNA an der A-Seite des Ribosoms zurückzuführen. Da bei höheren Konzentrationen von Myxovalargin die DNA- und RNA-Synthese ohne Verzögerung unterbunden wird, wird hier

allerdings ein alternativer, von der Inhibierung der Proteinbiosynthese unabhängiger Wirkmechanismus angenommen.

Weiterhin schädigt Myxovalargin die Zellmembran, was eine Reihe von Sekundäreffekten mit sich bringt; wie bspw. ein verringerter Sauerstoffverbrauch. Auch die Verringerung der RNA-Syntheseleistung lässt sich ebenfalls auf die Schädigung der Zellmembran zurückführen. Des Weiteren zeigten Experimente mit Erythrozyten, dass der Membraneffekt nicht nur bei Prokaryonten beobachtet wurde. Dieses würde die erhöhte Toxizität gegenüber Mäusen erklären.²⁵

1.3.3 Biosynthese des Naturstoffs Myxovalargin²⁶

Das Myxobakterium *Myxococcus fulvus* produziert das Myxovalargin vermutlich in einer nicht-ribosomalen Proteinbiosynthese katalysiert durch eine nicht-ribosomale Peptidsynthase (NRPS). Dabei handelt es sich um große multifunktionalisierte Enzymkomplexe, welche aus einfachen Bausteinen wie Aminosäuren komplexe Moleküle aufbauen.^{27,28} Diese Multienzymkomplexe weisen eine modulare Architektur auf. Spezialisierte Module sind für die Kettenverlängerung oder auch –modifizierung zuständig, sowie für das Weiterreichen der wachsenden Peptidkette an das folgende Modul.

Zunächst initiiert die Adenylierungsdomäne (A) die Biosynthese, wobei diese die richtigen Bausteine durch Thiolierung auswählt und auf die *peptidyl carrier protein* (PCP)-Domäne überträgt. Durch Autoacylierung wird die wachsende Peptidkette auf die Kondensationsdomäne (C) übertragen und dort mit der nächsten Aminosäure, welche bereits auf die PCP-Domäne des nächsten Moduls geladen wurde, unter Ausbildung einer Amidbindung verknüpft.²⁹ Weitere modifizierende Module können in Form einer Epimerase (E)- oder *N*-Methyltransferase (MT)- Domäne im NRPS-Modul vorhanden sein. Die Freisetzung des Naturstoffs von dem Multienzymkomplex erfolgt in der Regel durch Hydrolyse oder Zyklisierung. Weitere Funktionalitäten können nachträglich durch sogenannte *Tailoring*-Enzyme installiert werden (post-NRPS-Modifizierungen).³⁰

²⁶ U. Scheid, R. Müller, Unveröffentlichte Ergebnisse, Universität des Saarlandes, Saarbrücken.

²⁷ J. Staunton, K. J. Weissman, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 380-416.

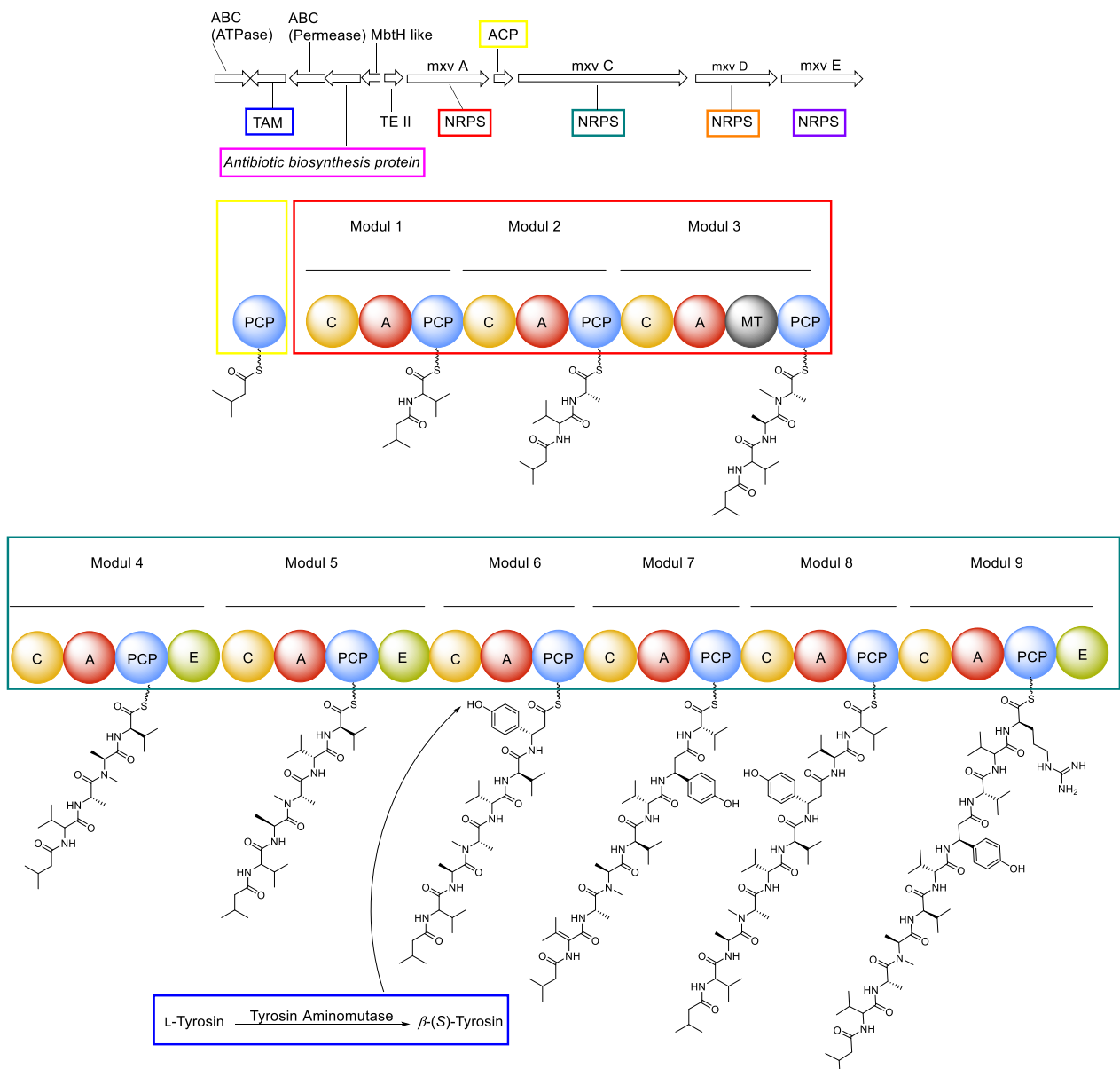
²⁸ R. Finking, M. A. Marahiel, *Annu. Rev. Microbiol.* **2004**, *58*, 453-488.

²⁹ K. J. Weissmann, R. Müller, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 826-848.

³⁰ C. T. Walsh, H. W. Chen, T. A. Keating, B. K. Hubbard, H. C. Losey, L. S. Luo, C. G. Marshall, D. A. Miller, H. M. Patel, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 525-534.

1 Einleitung

Der derzeit postulierte Biosyntheseweg des Myxoalargins kann in 14 Module unterteilt werden, wobei jedes Modul wiederum mehrere Enzyme umfasst. Diese Module werden durch die vier großen Gencluster *mxvA*, *mxvC*, *mxvD* und *mxvE* kodiert. Als Startbaustein der Biosynthese dient die 3-Methylbutansäure, welche entweder aus Valin³¹ oder aus Leucin³² gebildet wird. Als Produkt der Biosynthese entsteht vermutlich zunächst das prä-Myxoalargin (**8**), welches dann durch post-NRPS-Modifizierung zum Myxoalargin (**7**) umgesetzt wird (Schema 1 – 3).

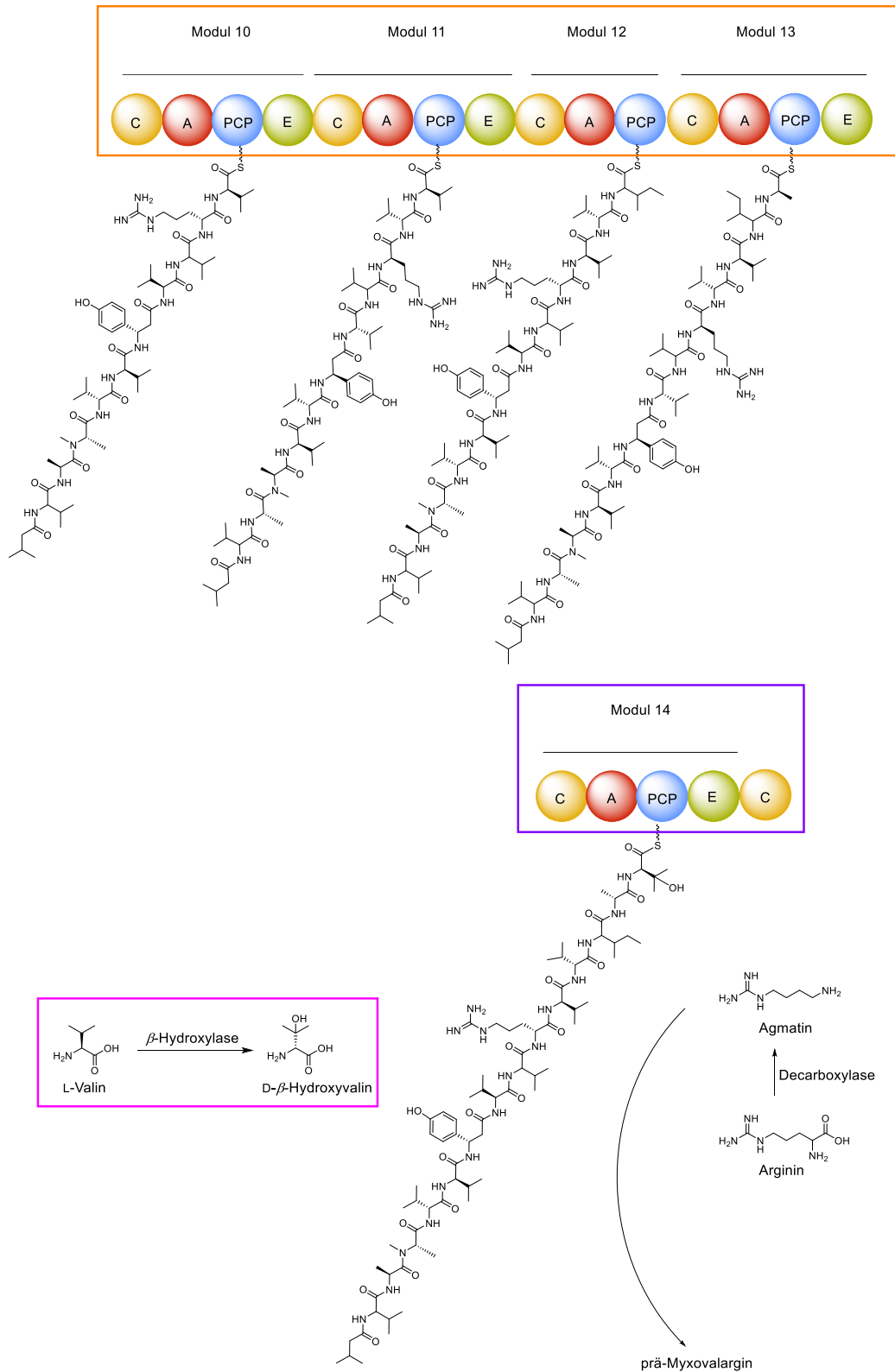


Schema 1: Postulierte Biosynthese des Myxoalargins: Modul 1 – 9; PCP = *peptidyl carrier protein*, A = Adenylierung, C = Kondensation, E = Epimerase, MT = *N*-Methyltransferase.²⁶

³¹ Durch Transaminierung.

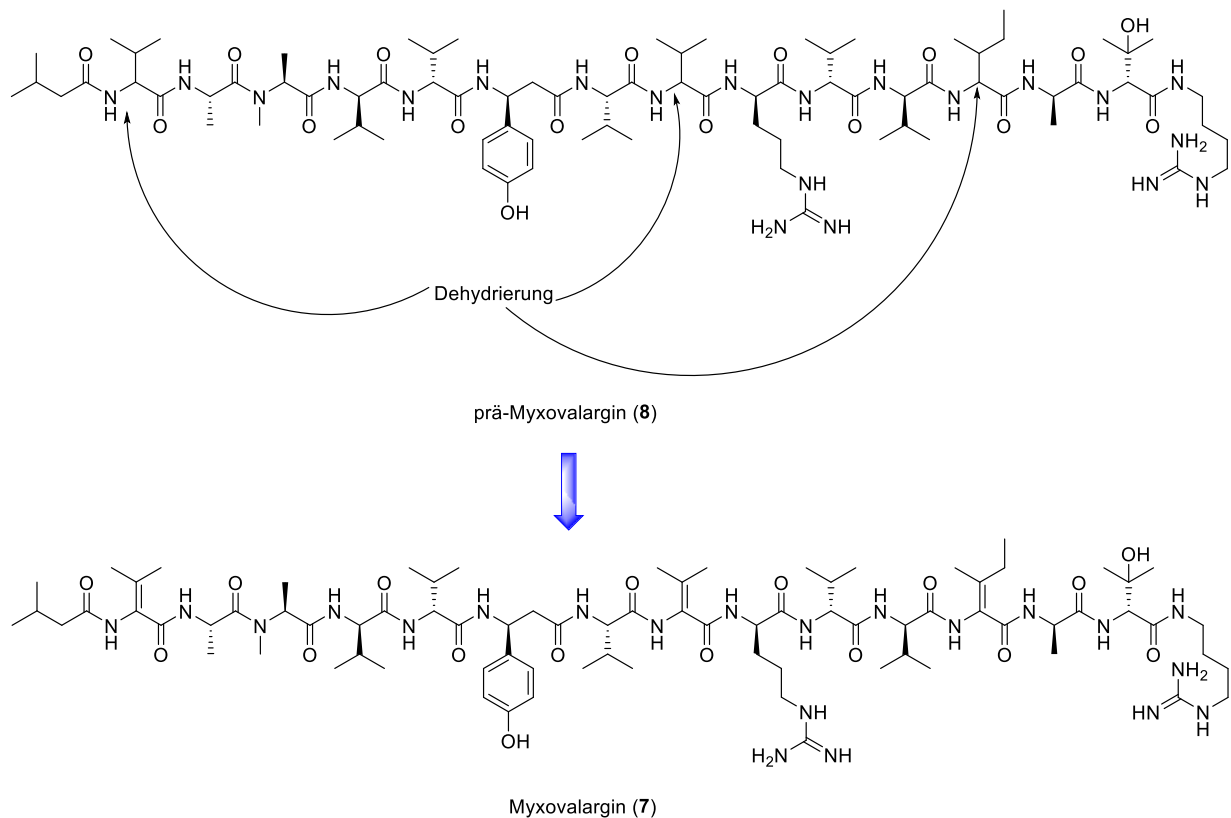
³² Durch Transaminierung und anschließende Decarboxylierung.

1 Einleitung



Schema 2: Postulierte Biosynthese des Myxovalargins bis zum prä-Myxovalargin: Modul 10 – 13; PCP = *peptidyl carrier protein*, A = Adenylierung, C = Kondensation, E = Epimerase.²⁶

In der Biosynthese des Myxoalargins gibt es einige Besonderheiten; zum einen kommt eine β -Aminosäure, das β -Tyrosin vor. Die Synthese dieser nicht-proteinogenen Aminosäure erfolgt aus dem natürlichen L-Tyrosin, welches durch das Enzym Tyrosin Aminomutase (TAM) katalysiert wird.³³ Zum anderen wird ein in β -Position hydroxyliertes Valin eingebaut, wobei dies aus L-Valin durch die β -Hydroxylase (*antibiotic biosynthesis protein*) synthetisiert wird. Eine weitere Besonderheit umfasst das terminale Amin Agmatin, das durch Decarboxylierung aus der Aminosäure Arginin durch eine Decarboxylase hergestellt wird. Neben diesen unnatürlichen Aminosäuren weist das Oligopeptid Myxoalargin noch drei α,β -Dehydroaminosäuren (Dehydrovalin und -isoleucin) auf, wobei diese durch Dehydrierung der korrespondierenden gesättigten Aminosäuren entstehen (Schema 3). Bis zum derzeitigen Zeitpunkt kann jedoch noch nicht sichergestellt werden, wann diese Dehydrierung erfolgt (*assembly line* vs. *post-NRPS*), wobei derzeit eher von einer *post-NRPS*-Modifizierung auszugehen ist.



Schema 3: Postulierte Biosynthese des Myxoalargins (7) ausgehend vom prä-Myxoalargin (8).²⁶

³³ D. Krug, R. Müller, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 741-750.

1.4 Cystobactamide – Topoisomerase-Inhibitoren aus Myxobakterien

1.4.1 Isolierung und Strukturaufklärung

Auf der Suche nach neuen antibakteriellen Naturstoffen, gerieten gerade in den letzten Jahren vermehrt gleitende Bakterien wie beispielsweise die Myxobakterien in den Fokus der Forschung. Bei einem am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig durchgeführten Screening-Programm im Hinblick auf neue Substanzen mit einer Aktivität gegenüber GRAM-negativen Bakterien, fiel die Aufmerksamkeit auf eine neuartige Naturstoffklasse aus *Cystobacter* sp, Stamm Cbv34.³⁴ Die anhand von Fermentationen gewonnenen Rohextrakte wiesen eine bemerkenswerte Aktivität sowohl gegenüber GRAM-positiven als auch GRAM-negativen Bakterien auf. Basierend auf einem LC-HRMS-unterstützten Screening-Ansatzes konnten die Cystobactamide 919-1 (**9**), 919-2 (**11**) und 507 (**10**) als aktive Bestandteile analysiert und identifiziert werden (Abbildung 3).

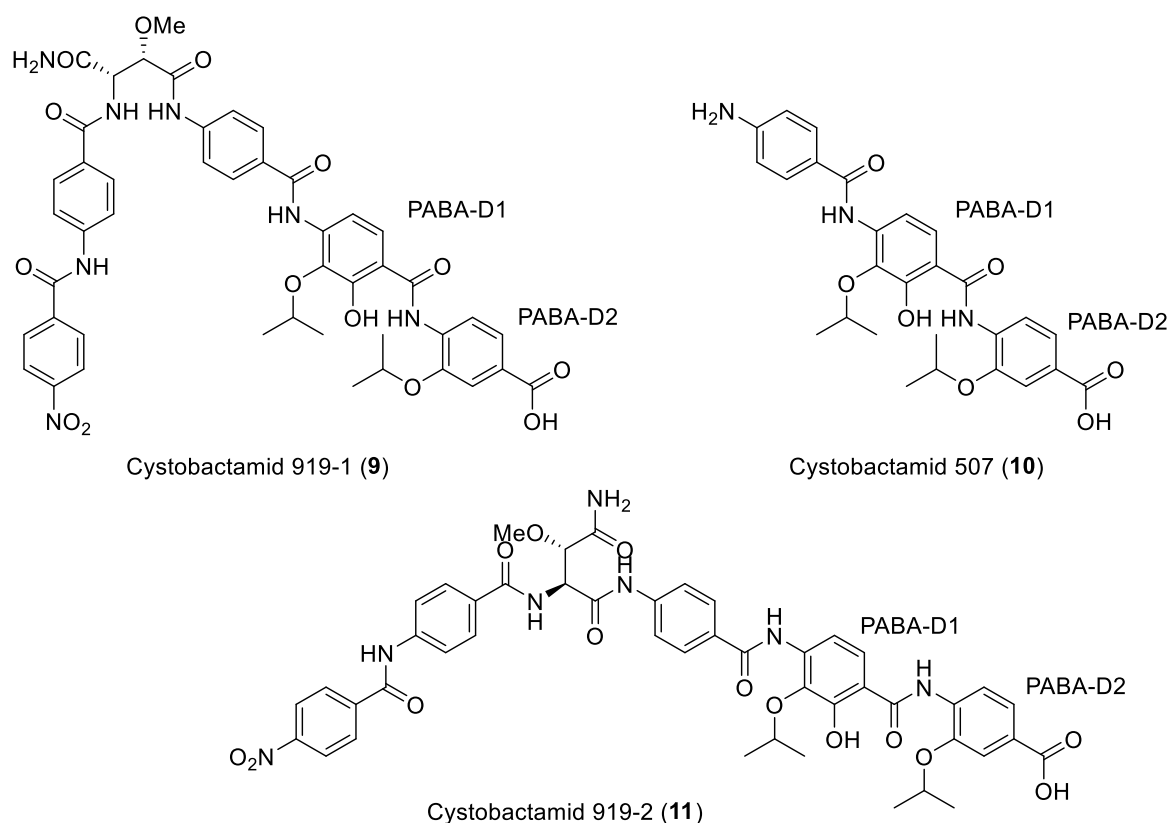


Abbildung 3: Strukturen der Cystobactamide.

³⁴ S. Baumann, J. Herrmann, R. Raju, H. Steinmetz, K. I. Mohr, S. Hüttel, K. Harmrolfs, M. Stadler, R. Müller, *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 14835-14839; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 14605-14609.

Nach der Isolierung der neuen Naturstoffe erfolgte deren Strukturaufklärung mittels verschiedener spektroskopischer bzw. spektrometrischer Analysemethoden. Bei den Cystobactamiden handelt es sich um planare, lineare Peptide, welche strukturverwandt mit den von SÜSSMUTH *et al.*³⁵ beschriebenen Albicidinen sind. Die Cystobactamide 919-1 (**9**) und 919-2 (**11**) sind dabei aus fünf aromatischen Ringen aufgebaut; einer *para*-Nitrobenzoesäure (PNBA), zwei *para*-Aminobenzoessäureeinheiten (PABA), sowie zwei PABA-Derivate, welche einen unterschiedlichen Oxidationsgrad (PABA-D1 und PABA-D2) aufweisen. Die einzelnen PABA-Einheiten werden dabei entweder über eine Iso- β -methoxyasparagin- (Cystobactamid 919-1) oder über eine β -Methoxyasparagineinheit (Cystobactamid 919-2) miteinander verknüpft. Bei dem Cystobactamid 507 (**10**) hingegen handelt es sich um ein verkürztes Tripeptid bestehend aus der Sequenz PABA-PABA-D1-PABA-D2.

Die Cystobactamide zeichnen sich durch einige ungewöhnliche Strukturmerkmale aus. So ist die PABA-Kettenstruktur einzigartig innerhalb der Naturstoffe. Eine weitere Besonderheit ist das Vorhandensein der Nitrogruppe bei den Cystobactamiden 919-1 und 919-2. Diese kann möglicherweise durch Oxidation der Aminofunktion der PABA-Einheit entstanden sein. Des Weiteren sind die Isopropoxyether der beiden 3-Hydroxy-4-aminobenzoessäureeinheiten einzigartig. Wie bereits erwähnt, erfolgt die Verknüpfung der einzelnen aromatischen Systeme über β -Methoxyasparagin, wobei diese entweder über eine 1,2- oder eine 2,4-Verknüpfung miteinander verbrückt sind und stellt somit auch eine Besonderheit in der Struktur der Cystobactamide dar. Die relative Konfiguration des β -Methoxyasparagins konnte anhand der homonuklearen vicinalen Kopplungskonstante ($^3J_{\text{HH}} \sim 7 - 8 \text{ Hz}$) als *anti* bestimmt werden. Weiterhin lieferte die Interpretation der ROESY-NMR-Daten für die beiden Naturstoffe **9** und **11** eine *threo*-Konfiguration. Die absolute Konfiguration der beiden in der Aminosäure β -Methoxyasparagin enthaltenen Stereozentren wurde als *SS* bestimmt, wobei deren Ermittlung durch Drehwertmessungen und Vergleich mit den Literaturdaten für das β -Oxyasparagin erfolgte.³⁴

³⁵ J. Kretz, D. Kerwat, V. Schubert, S. Grätz, A. Pesic, S. Semsary, S. Cociancich, M. Royer, R. D. Süßmuth, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1992-1996; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1969-1973.

1.4.2 Biologische Aktivität der Cystobactamide

Die von MÜLLER *et al.*³⁴ isolierten Cystobactamide **9**, **10** und **11** zeigen teilweise eine sehr starke antibakterielle Aktivität sowohl gegenüber GRAM-positiven als auch GRAM-negativen Bakterien (Tabelle 2). So hemmte jedes der drei Derivate das Wachstum von *E. coli*, teilweise in sehr niedrigen Konzentrationen von ~ 1 µg/mL. Generell zeigte Cystobactamid 919-2 (**11**) die stärkste antibakterielle Aktivität und inhibierte das Wachstum vieler pathogener Bakterienstämme einschließlich *A. baumannii*. Weiterhin zeigte das lineare Peptid **11** eine starke antibiotische Aktivität gegenüber GRAM-positiven Bakterien wie bspw. *E. faecalis* und *S. pneumoniae*, welche derjenigen von Ciprofloxacin gleicht oder sogar noch deutlich übertrifft. Des Weiteren ist hervorzuheben, dass keines der getesteten Cystobactamide bis zu einer Konzentration von 50 – 100 µg/mL eine antifugale oder zytotoxische Aktivität aufweist.³⁴

Tabelle 2: Antibakterielle Aktivität der Cystobactamide, MHK (µg/mL).

	Cystobactamid 919-1 (9)	Cystobactamid 919-2 (11)	Cystobactamid 507 (10)	Ciprofloxacin
<i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i>	> 59.0	7.4	32.5 – 65.0	0.2 – 0.4
<i>Escherichia coli</i>	14.7 – 29.4	0.9	16.3	0.013
<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	3.7 – 7.4	0.1	4.1	0.8
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	32.5	0.1	8.1	0.05 – 0.1
<i>Streptococcus</i> <i>pneumoniae</i>	14.7	0.1	4.1	0.8 – 1.6

Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Cystobactamide in der Lage sind, die bakterielle Topoisomerase, wie Gyrase und Topoisomerase IV aus *E. coli*, zu inhibieren. So konnten für das Cystobactamid 919-2 (**11**) mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀) für die *E. coli*-Gyrase im nanomolaren Bereich ermittelt werden. Im Gegensatz dazu wiesen die beiden anderen Cystobactamid-Derivate **9** und **10** 80-fach höhere IC₅₀-Werte auf.³⁴ Dies lässt somit die Schlussfolgerung zu, dass die Anwesenheit der beiden ersten PABA-Einheiten und die Anordnung der zentralen Aminosäure Asparagin (L-iso-Asn bzw. L-Asn) einen entscheidenden Einfluss auf die biologische Aktivität dieser Naturstoffe ausübt. Bemerkenswerterweise wiesen

die Cystobactamide **9** – **11** nur eine moderate Aktivität gegenüber der Topoisomerase IV auf, sodass davon ausgegangen werden kann, dass es sich bei der DNA-Gyrase um die primäre Zielstruktur der Cystobactamide handelt (Tabelle 3).³⁴

Tabelle 3: Mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀ in µM) der Cystobactamide.

	Cystobactamid 919-1 (9)	Cystobactamid 919-2 (11)	Cystobactamid 507 (10)
<i>E. coli</i> Gyrase	21.3 ± 6.0	0.26 ± 0.06	20.2 ± 2.2
<i>E. coli</i> Topoisomerase IV	89.5 ± 0.8	38.0 ± 0.7	86.0 ± 2.8

1.4.3 Biosynthese der Cystobactamide

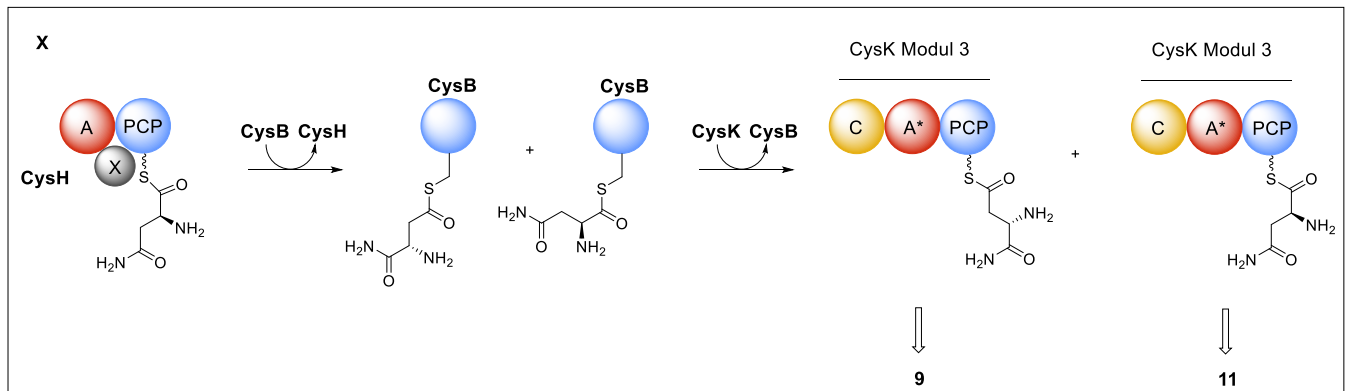
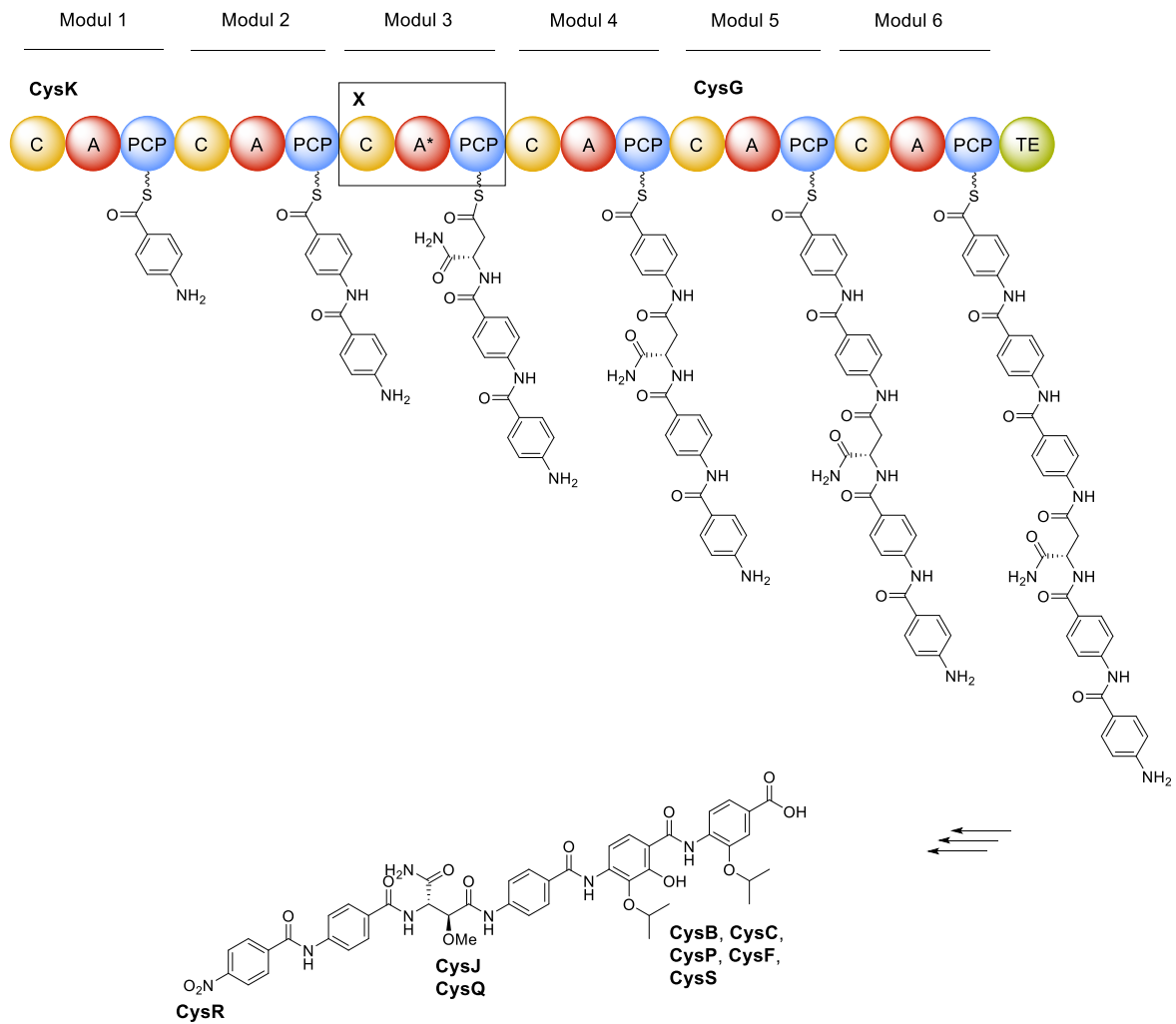
Nach der Isolierung und der Strukturaufklärung der Cystobactamide wurde deren Biosynthese näher untersucht. Aufgrund der chemischen Struktur dieser Naturstoffe kann davon ausgegangen werden, dass die Cystobactamide durch nicht-ribosomale Peptidsynthetasen gebildet werden.³⁶ Als Startbaustein wurde die PABA identifiziert, welche nur äußerst selten in Sekundärmetaboliten zu finden ist.³⁷ Das Gencluster der Cystobactamid-Biosynthese umfasst drei NRPS-Gene, sowie eine Vielzahl an *Tailoring*-Enzymen. Durch eine detaillierte Analyse der modularen Struktur der NRPS und Fütterungsexperimente konnte ein Modell für die Biosynthese der Cystobactamide entwickelt werden (Schema 4). Die Biosynthese umfasst sechs Module, welche durch die beiden Gene CysK und CysG kodiert werden. Wie bereits oben erwähnt, wurde PABA als Startbaustein der Biosynthese identifiziert. Die Aktivierung erfolgt über eine Thiolierung der Adenylierungsdomäne des ersten Moduls. Die PCP-Domäne des zweiten Moduls trägt einen weiteren PABA-Baustein. Durch Autoacylierung wird die PABA des ersten Moduls dann auf die Kondensationsdomäne übertragen und mit der auf der PCP-Domäne befindlichen PABA-Einheit unter Ausbildung einer Amidbindung verknüpft. Die Adenylierungsdomäne des Moduls drei ist eine Besonderheit, da diese voraussichtlich inaktiv ist. Es wird daher angenommen, dass die PCP-Domäne in Modul drei *trans* durch CysH/CysB beladen wird. CysH aktiviert die Aminosäure Asparagin, welche auf der einen Seite direkt auf die PCP-Domäne geladen werden kann, sodass sich nach dem Durchlaufen der Biosynthese und post-NRPS-Transformationen Cystobactamid

³⁶ M. Strieker, A. Tanovic, M. A. Marahiel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2010**, *20*, 234-240.

³⁷ C. T. Walsh, S. T. Haynes, B. D. Ames, *Nat. Prod. Rep.* **2012**, *29*, 37-59.

919-2 (**11**) bildet. Auf der anderen Seite kann auch eine ungewöhnliche Isomerisierung der Aminosäure Asparagin zu Isoasparagin eintreten, welche durch die Ammoniak/Amin-Ligase-ähnliche Domäne von CysH katalysiert wird. Die so isomerisierte Aminosäure wird anschließend auf die PCP-Domäne von CysK in Modul drei geladen, sodass nach Abschluss der Biosynthese Cystobactamid 919-1 (**9**) gebildet wird. Der Transfer der beiden Bausteine (Asn oder iso-Asn) auf das PCP wird möglicherweise durch CysB, welches als eine Art Transportprotein agiert, gewährleistet. Nach Elongation mit drei weiteren PABA-Einheiten wird das lineare Hexapeptid durch die Thioesterase von CysG frei gesetzt. Abschließend erfolgen eine Reihe von Modifizierungen, welche durch *Tailoring*-Enzyme katalysiert werden. So wird bspw. eine Aminogruppe zur korrespondierenden Nitrofunktionalität oxidiert. Des Weiteren werden zwei PABA-Einheiten oxidiert und anschließend isopropoxyliert, wobei dies über eine *S*-Adenosylmethionin (SAM)-abhängige Methylierung einer phenolischen Hydroxylgruppe gefolgt von zwei weiteren Methylierungen (katalysiert durch eine radikalische SAM-Methyltransferase) realisiert wird. Zudem wird die zentrale Aminosäure Asparagin oxidiert und anschließend methyliert (Schema 4).³⁴

1 Einleitung



Schema 4: Modell der Cystobactamid-Biosynthese; PCP = *peptidyl carrier protein*, A = Adenylierung, C = Kondensation, TE = Thioesterase.³⁴

1.5 Mutasyntese

Für die Entwicklung neuer medizinisch anwendbarer Wirkstoffe ist es trotz des hohen biologischen Potentials der Naturstoffe von Interesse, die Strukturen hinsichtlich der Eigenschaften wie biologischer Potenz und verringerter Toxizität zu optimieren. Für die Derivatisierung von Naturstoffen stehen prinzipiell drei Möglichkeiten zur Verfügung: Erstens die Totalsynthese, zweitens die Semisyntese und drittens die Manipulation der Biosynthese. Der totalsynthetische Ansatz bringt hierbei das größte Potential mit sich, da sich so die Struktur effektiv manipulieren lässt. Dementsprechend können eine Vielzahl an Derivaten synthetisiert werden, die zu einem besseren Verständnis der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen führen. Dieses trägt wiederum zu pharmakologisch verbesserten Molekülen bei. Der entscheidende Nachteil der Totalsynthese liegt jedoch in deren Komplexität und der damit verbundenen verminderten Anwendbarkeit.³⁸ Dem gegenüber steht die Semisyntese, welche sich jedoch nur begrenzt für die Manipulation von Naturstoffen eignet. Neben diesen beiden chemischen Modifizierungsmöglichkeiten, hat sich gerade in den letzten Jahren die Manipulation der Biosynthese von Naturstoffen insbesondere die Mutasyntese^{39,40} als besonderes effektiv erwiesen, wobei es sich prinzipiell um eine Weiterführung der Vorläufer-dirigierten Biosynthese handelt.⁴¹ Hierbei werden Bausteine verfüttert, die mit den Biosyntheseintermediaten chemisch verwandt sind, sodass diese teilweise aufgenommen werden und neben dem Naturstoff ein Derivat gewonnen werden kann. Problematisch jedoch sind hierbei die sehr geringen Ausbeuten des Derivats, falls der synthetische Baustein angenommen wird. Dieses lässt sich darauf zurückführen, dass die Enzyme der Biosynthese auf das natürliche Substrat zugeschnitten sind und dieses meist bevorzugen. Weiterhin problematisch ist die Tatsache, dass der Naturstoff und das Derivat oft strukturell eng miteinander verwandt sind und sich so deren Reinigung und Trennung als kompliziert erweist.

Im Gegensatz dazu werden bei der Mutasyntese Mutanten der Naturstoffproduzenten, welche in einem Schritt ihrer Biosynthese gehemmt sind, verwendet, sodass die aus der Vorläufer-dirigierten Biosynthese resultierenden Probleme gelöst werden können.⁴² Aufgrund der Tatsache, dass der Biosyntheseapparat in der Regel bis auf ein Enzym intakt ist, fehlt den

³⁸ J. Kennedy, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, 25, 25-34.

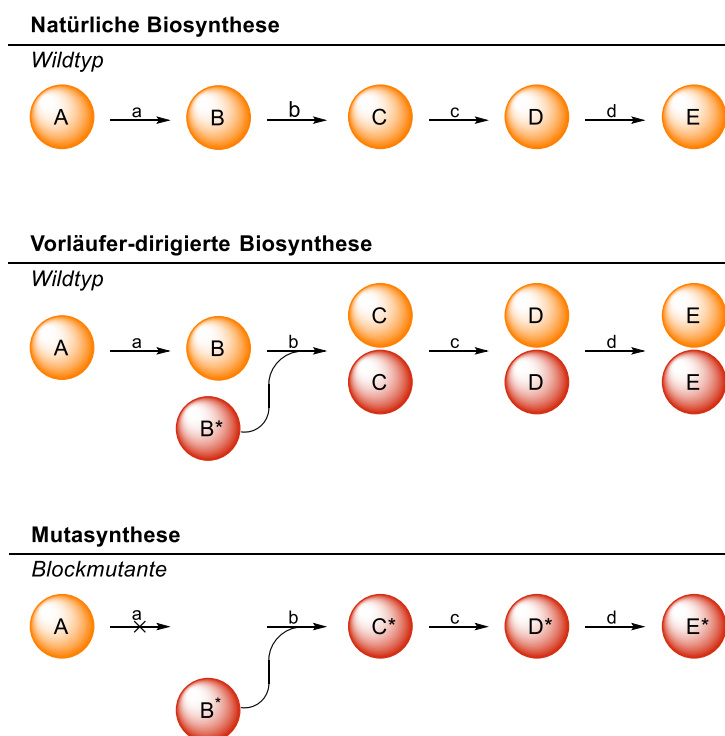
³⁹ A. J. Birch, *Pure Appl. Chem.* **1963**, 7, 527-538.

⁴⁰ K. L. Rinehart, Jr., *Pure Appl. Chem.* **1977**, 49, 1361-1384.

⁴¹ R. Thiericke, J. Rohr, *Nat. Prod. Rep.* **1993**, 10, 265-289.

⁴² S. Weist, R. D. Süssmuth, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, 68, 141-150.

Blockmutanten die Fähigkeit den Naturstoff zu produzieren. Daher lassen sich chemisch verwandte, synthetisch gewonnene Fragmente, sogenannte Mutasyntone, verfüttern, die anschließend aufgenommen werden und zu neuen Naturstoffstoffderivaten führen können.^{43,44} In Folge der konkurrenzlosen Synthese können theoretisch höhere Ausbeuten erzielt und anschließende Schritte, wie die Isolierung und Reinigung wesentlich vereinfacht werden (Schema 5).³⁸



Schema 5: Schematische Darstellung der drei Konzepte: natürliche Biosynthese, Vorläufer-dirigierte Biosynthese und Mutasyntese; a – d = Enzyme, A – D = Intermediate der Biosynthese, E = Naturstoff, B* = Mutasynton, C* – D* = intermediäre Derivate, E* = Naturstoffderivat.

⁴³ A. Kirschning, F. Taft, T. Knobloch, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3245-3259.

⁴⁴ F. Taft, M. Brünjes, H. G. Floss, N. Czempinski, S. Grond, F. Sasse, A. Kirschning, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1057-1060.

2 Problemstellung und Zielsetzung

2.1 Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin

Obwohl der peptidische Naturstoff Myxovalargin, welcher sich neben der biologischen Aktivität durch das Vorhandensein einer Vielzahl an nicht-kanonischen Aminosäuren auszeichnet, schon mehrere Dekaden bekannt ist, ist bisher keine Totalsynthese in der Literatur beschrieben. Daher sollte im Rahmen dieser Promotionsarbeit ein totalsynthetischer Zugang zu diesem antiinfektiv wirkenden Naturstoff geschaffen werden. Diese Route zur Totalsynthese sollte möglichst über einen konvergenten Fragmentansatz verlaufen, da so die Anzahl linearer Syntheseschritte reduziert wird. Nach der Totalsynthese des Naturstoffs Myxovalargin, welche die Basis für die weitergehenden Arbeiten liefert, kann der Aufbau einer Derivat-Bibliothek erfolgen, welche einen Einblick in Struktur-Aktivitätsbeziehungen und pharmakophore Gruppen dieses Antibiotikums liefert.

Der initiale Schwerpunkt dieser von der Autorin vorlegten Arbeit lag in einem generellen Zugang zu den im Naturstoff vorhandenen nicht-proteinogenen Aminosäuren, insbesondere den α,β -Dehydroaminosäuren, sowie Studien hinsichtlich des Peptidkupplungsvermögens dieser seltenen Aminosäuren durchzuführen. Aufbauend auf diesen Resultaten sollte die erste Totalsynthese von Myxovalargin erfolgen und finalisiert werden.

Die Retrosynthese über einen konvergenten Fragmentansatz, sowie die synthetischen Arbeiten werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.

2.2 Synthese von Thioester-aktivierten Peptidfragmenten des Myxovalargins für die Mutasynthese

Grundlage der in diesem Kapitel beschriebenen Arbeiten war eine in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. MÜLLER, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, erzeugte *knock-out*-Mutante, bei der das *mxvA*-Gen, welches die für die Module 1-3 der Myxovalargin-Biosynthese benötigten Enzyme kodiert, nicht vorhanden ist (Abbildung 4).

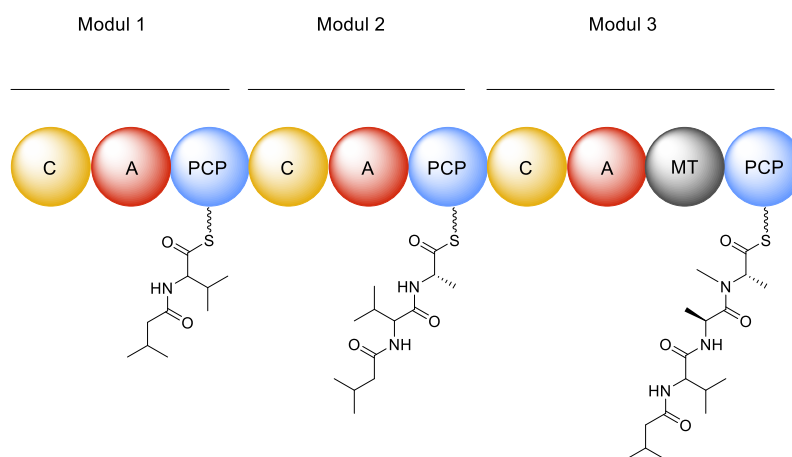


Abbildung 4: Module 1-3 der Myxovalargin Biosynthese; PCP = *peptidyl carrier protein*, A = Adenylierung, C = Kondensation, E = Epimerase, MT = *N*-Methyltransferase.

Somit sollte getestet werden, ob sich über die Zufütterung verschiedener *N*-Acetylcysteamin (**12**) (SNAC)-Thioester neue Myxovalargin-Derivate herstellen lassen. Der SNAC-Ester imitiert hierbei das 4'-Phosphopantethein (**13**) der PCP-Domäne der nicht-ribosomalen Proteinbiosynthese, sodass eine höhere Akzeptanz dieser Substrate bei den Enzymen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* erreicht werden kann (Abbildung 5).⁴⁵

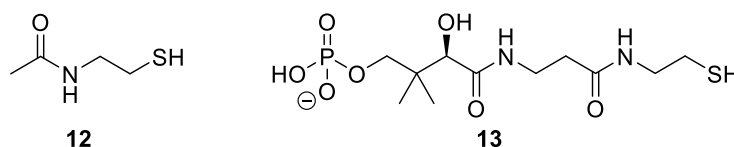


Abbildung 5: SNAC (**12**) vs. 4'-Phosphopantethein (**13**).

Zunächst sollte das eigentliche Substrat, das *N*-acylierte Tripeptid **14**, zugefüttert werden, um so die Funktionalität der *knock-out*-Mutanten sicherzustellen. Zum derzeitigen

⁴⁵ S. Yue, J. S. Duncan, Y. Yamamoto, C. R. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1253-1255.

2 Problemstellung und Zielsetzung

Zeitpunkt wurde davon ausgegangen, dass es sich bei dem natürlichen Substrat um jenes mit der Doppelbindung (Dehydrovalin) handelt, da anhand der Biosynthese nicht zweifelsfrei festgestellt werden kann, zu welchem Zeitpunkt die Dehydrierung der Aminosäure Valin erfolgt (*assembly line vs. post-NRPS*).

Parallel zur Synthese des natürlichen Mutasythons **14** sollte auch an den Tripeptiden ohne Dehydroaminosäure und *N*-methylierter Aminosäure gearbeitet werden (Abbildung 6).

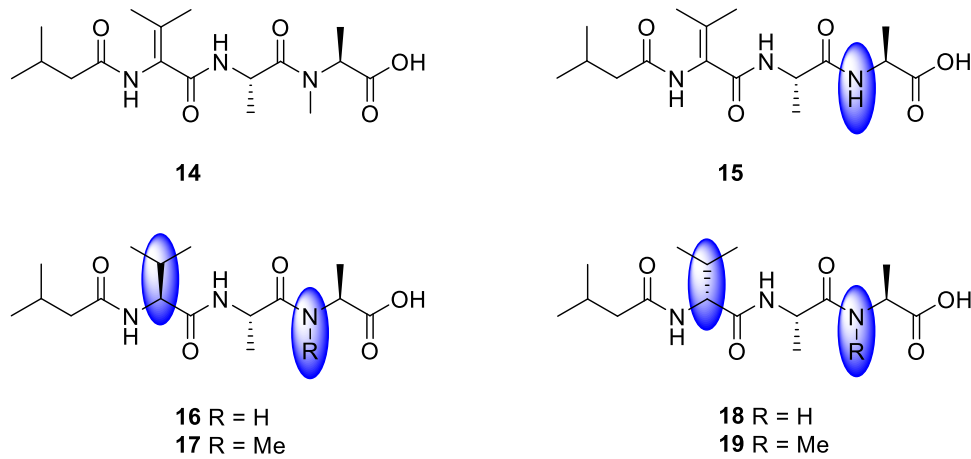


Abbildung 6: Natürliches Substrat **14** vs. Derivate **15 – 19**.

2.3 Studien zur Totalsynthese der Cystobactamide

Wie bereits beschrieben weisen die Cystobactamide eine sehr starke antibakterielle Aktivität gegenüber einer Vielzahl an Pathogenen auf und verfügen über ein großes Potential im Hinblick auf der Suche nach Antibiotika mit einem neu adressierten Wirkort. Die Antiinfektivität dieser Naturstoffe lässt sich auf eine Inhibierung der bakteriellen Topoisomerase zurückführen; so zeigen einige der Cystobactamide eine gleiche oder sogar noch verbesserte Aktivität als das derzeit verabreichte Ciprofloxacin.

Basierend auf diesem einzigartigen biologischen Profil sollte im Rahmen dieser Arbeit ein totalsynthetischer Zugang zu den einzelnen Cystobactamiden erarbeitet und etabliert werden, wobei dieser möglichst konvergent gehalten werden sollte. Aufbauend auf diesen Ergebnissen können Derivate synthetisiert werden, welche einen Einblick in Struktur-Aktivitätsbeziehungen und pharmakophore Gruppen liefern.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag in einem generellen, stereoselektiven Zugang zu der zentral verbrückten Aminosäure Methoxyasparagin. Des Weiteren sollten Kupplungsstudien dieser nicht-kanonischen Aminosäure mit den PABA-Einheiten durchgeführt werden.

Die Retrosynthese über einen konvergenten Fragmentansatz, sowie die synthetischen Arbeiten werden in den folgenden Kapiteln dargestellt.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

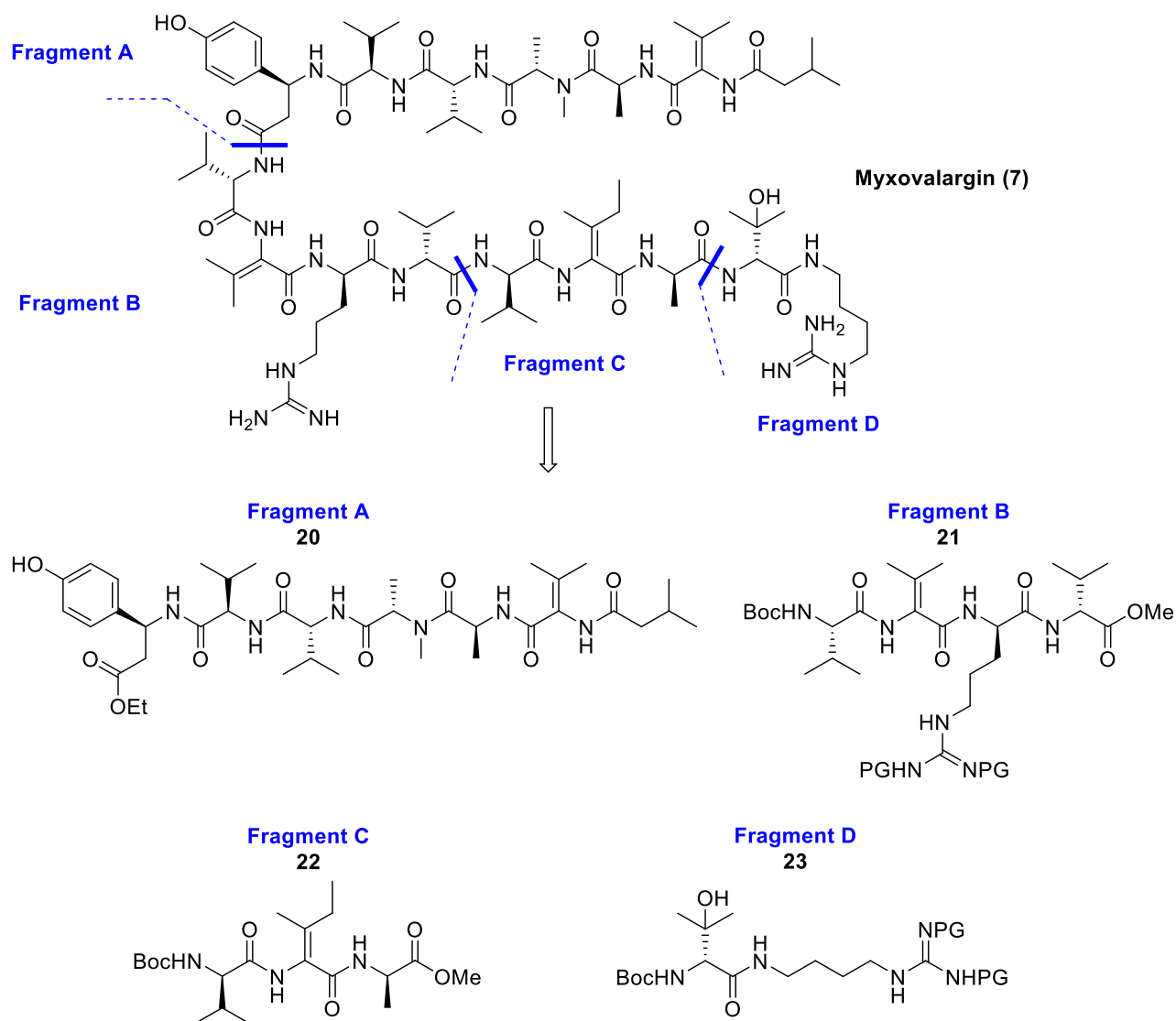
3.1 Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin

3.1.1 Retrosynthese des Naturstoffs Myxovalargin

Zu Beginn der Totalsynthese sollte der Naturstoff Myxovalargin retrosynthetisch zerlegt werden, um so über eine konvergente Synthese einen möglichst direkten Zugang zu erzielen. Dabei sollte besonders beachtet werden, dass empfindliche Struktureinheiten wie die α,β -Dehydroaminosäuren, die β -Hydroxyaminosäure oder die Guanidineinheiten, welche unter Aminosäurekupplungsbedingungen Acylierungen eingehen können,⁴⁶ möglichst spät eingeführt werden. Deshalb wurde Myxovalargin (**7**) durch drei Hauptschnitte in vier, unterschiedlich große Fragmente A-D unterteilt, welche separat synthetisiert und anschließend verknüpft werden sollten (Schema 6).

Fragment A **20** sollte durch eine Esterhydrolyse und anschließende Peptidkupplung mit dem geschützten Tetrapeptid **21** unter der Verwendung des Kupplungsreagenzes 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid (EDC·HCl) und dem Additiv *N*-Hydroxybenzotriazol (HOBt) zu dem linearen Decapeptid verknüpft werden. Das lineare Tripeptid **22** sollte nach vorhergehender Esterhydrolyse mit der freien Aminogruppe des Fragments D **23** mit Hilfe von EDC·HCl und HOBt zu einem linearen Tetrapeptid gekuppelt werden. Die Peptidkupplung der beiden verbliebenen Fragmente AB und CD könnte nach der Hydrolyse des Methylesters des Decapeptids und der *tert*-Butyloxycarbonyl- (Boc) Schutzgruppe des Tetrapeptids, sowie den Guanidin-Schutzgruppen den Naturstoff Myxovalargin (**7**) liefern.

⁴⁶ A. Isidro-Llobet, M. Álvarez, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2455-2504.



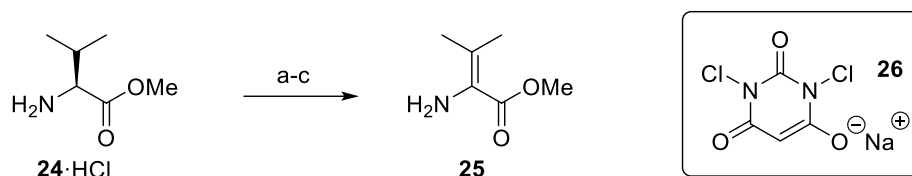
Schema 6: Retrosynthetische Hauptschnitte zur Totalsynthese von Myxoalargin.

3.1.2 Vorarbeiten⁴⁷

3.1.2.1 Studien zur Synthese des Fragments A

Zunächst wurde die unnatürliche Aminosäure α,β -Dehydrovalin **25** ausgehend von L-Valinmethylester (**24**) in einer dreistufigen Reaktionsfolge, welche unter anderem eine Monochlorierung der Aminogruppe beinhaltet, hergestellt (Schema 7).

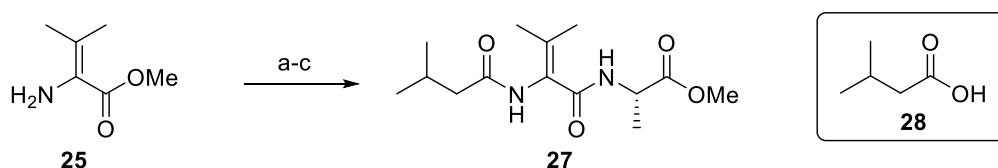
⁴⁷ F. Gille, Masterarbeit, *Studien zur Totalsynthese von Myxoalargin*, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2012.



Schema 7: Synthese des α,β -Dehydrovalins **25** ausgehend von L-Val-OMe·HCl (**24**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) NaDCC **26**, NaHCO₃, Et₂O, H₂O, RT, 1 h; b) DBU, Et₂O, RT, 1 h; c) HCl (1.0 M in Et₂O), -78 °C → 0 °C, 5 h, dann -20 °C für 24 h, 94% über 3 Stufen.

Die Peptidkupplung dieser Aminosäure **25** mit dem Startbaustein des Fragments A, der Carbonsäure 3-Methylbutansäure (**28**), konnte erfolgreich durchgeführt werden. Bei der nachfolgenden Kupplungsreaktion mit dem L-Alaninmethylester traten erhebliche Probleme auf, die auf die verminderte Reaktivität der *N*-acylierten α,β -Dehydroaminosäure, bedingt durch deren Doppelbindungsfunktionalität, zurückgeführt wurden. So wurden für die Amidbildung verschiedenste Peptidkupplungsreagenzien, Additiva, Basen und Lösungsmittel, sowie unterschiedlichste Temperaturen erprobt. Jedoch ließ sich unter den durchgeführten Reaktionsbedingungen das gewünschte Dipeptid **27** nicht isolieren, da unter allen erprobten Bedingungen⁴⁸ keine Reaktion zu dem *N*-acylierten Dehydropeptid **27** eintrat (Schema 8).



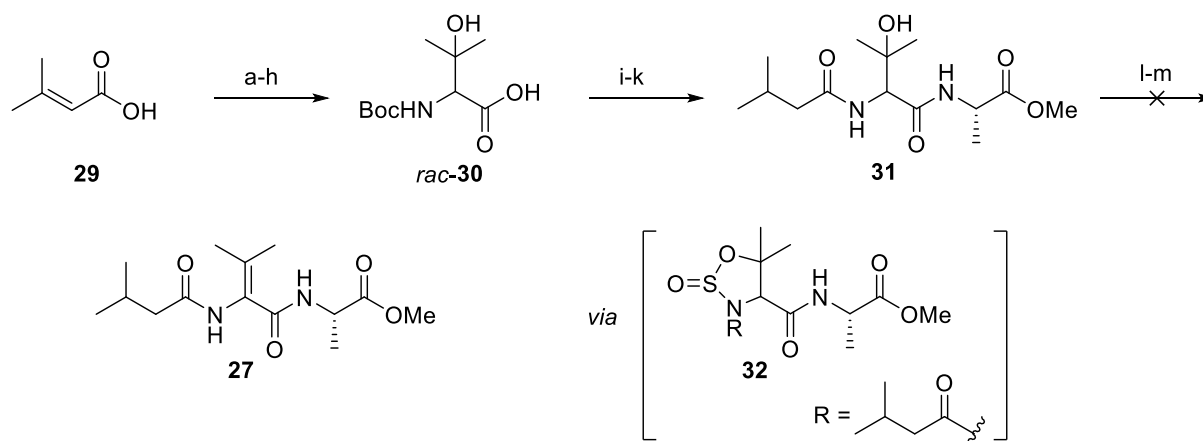
Schema 8: Studien zur Synthese des α,β -Dehydropeptids **27**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) 3-Methylbutansäure (**28**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 18 h, 52%; b) NaOH (1.0 M), 1,4-Dioxan, RT, 24 h, quant.; c) L-Ala-OMe·HCl, verschiedene Reaktionsbedingungen⁴⁸; kein Produkt **27**.

Daraufhin wurde ein neuer Syntheseansatz zu dem Dipeptid **27** gewählt, welcher die β -Eliminierung eines tertiären Alkohols als Schüsselschritt beinhaltet. Die Frage der *E/Z*-Selektivität dieser Eliminierungsreaktion stellt sich hierbei nicht, da es sich bei den weiteren Substituenten in der β -Position um geminale Methylgruppen handelt.

⁴⁸ Es wurden die folgenden Reagenziensysteme getestet: EDC·HCl/HOBT, EDC·HCl/*N*-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt), *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (DIC), *N*-[(1*H*-Benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylen]-*N*-methylmethan-aminium-tetrafluoroborat-*N*-oxid (TBTU)/HOBT, [(7-Azabenzotriazol-1-yl)oxy]tris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluorophosphat (PyAOP)/HOAt, Diphenylphosphorylazid (DPPA), in Kombination mit verschiedenen Basen (*N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA), 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), Et₃N, Collidin) und Lösungsmittel (CH₂Cl₂, *N,N*-Dimethylformamid (DMF)), Aktivierung über das Säurechlorid von Verbindung **28**.

Der für diese Eliminierungsreaktion benötigte Vorläufer *N*-Boc- β -Hydroxyvalin *rac*-**30** wurde in einer achtstufigen Synthesesequenz ausgehend von der kommerziell erhältlichen 3-Methylbut-2-ensäure (**29**) erfolgreich hergestellt. In einer nachfolgenden Peptidkupplungs-, Boc-Entschützungs- und erneuter Kupplungskaskade mit 3-Methylbutansäure (**28**) wurde der tertiäre Alkohol **31** erhalten. Hierbei zeigte sich, dass für die erfolgreiche Amidbildung äußerst reaktive Kupplungsreagenzien des Phosphonium-Typs notwendig waren. Die β -Eliminierung des tertiären Alkohols **31** wurde unter den von WANDLESS *et al.*⁴⁹ beschriebenen Reaktionsbedingungen durchgeführt; jedoch konnte das gewünschte Eliminierungsprodukt **27** nicht erhalten werden, da sich vermutlich das intermediär gebildete, zyklische Sulfamid **32** bereits zersetzt hatte (Schema 9).



Schema 9: Neuer synthetischer Ansatz zur Synthese des α,β -Dehydropeptids **27**.

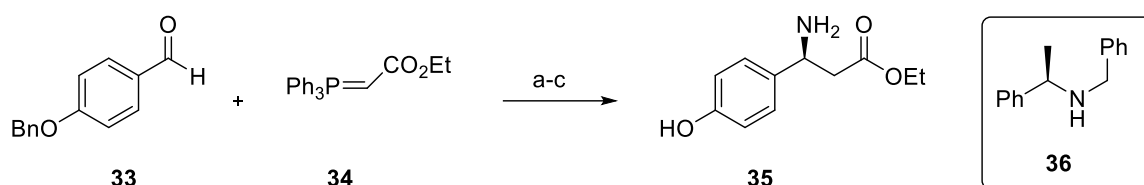
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) $C_6H_5CH_2Br$, Bu_4NBr , KOH , $CHCl_3$, Δ , 18 h, 92%; b) $K_3[Fe(CN)_6]$, K_2CO_3 , $NaHCO_3$, $K_2OsO_2(OH)_4$, $CH_3SO_2NH_2$, $tBuOH/H_2O$ (1:1), RT, 4 d, 51%; c) $SOCl_2$, CH_2Cl_2 , 40 °C, 6 h; d) KIO_4 , $RuCl_3$, CH_2Cl_2 , CH_3CN , H_2O , 40 °C, 8 h, 80% über 2 Stufen; e) NaN_3 , Aceton, H_2O , 50 °C, 6 h; f) H_2SO_4 (20%), Et_2O , H_2O , RT, 48 h, 88% über 2 Stufen; g) Pd/C (10%), H_2 , CH_3OH , RT, 36 h; h) $(Boc)_2O$, $NaHCO_3$, 1,4-Dioxan, 0 °C \rightarrow RT, 2 h, 83% über 2 Stufen, i) L-Ala-OMe-HCl, PyAOP, HOAt, DIPEA, CH_2Cl_2 , 0 °C \rightarrow RT, 18 h, 87%; j) HCl (6.0 N), 1,4-Dioxan, 0 °C \rightarrow RT, 1 h; k) PyAOP, HOAt, DIPEA, CH_2Cl_2 , 0 °C \rightarrow RT, 20 h, dann 3-Methylbutansäure (**28**) in DMF, 0 °C \rightarrow RT, 20 h, 81% über 2 Stufen; l) $SOCl_2$, Et_3N , CH_2Cl_2 , -78 °C, 1 h; m) DBU, CH_2Cl_2 , 0 °C, 2 h.

Ebenso wurde die weitere unnatürliche Aminosäure des Fragments A, das β -Tyrosin, in einer dreistufigen Synthesesequenz ausgehend von dem Aldehyd **33** und dem WITTIG-Reagenz **34** hergestellt.⁵⁰ Der Aufbau des stereogenen Zentrums und die Einführung der

⁴⁹ M. M. Stohlmeyer, H. Tanaka, T. J. Wandless, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6100-6101.

⁵⁰ B. Das, K. Suneel, G. Satyalakshmi, D. N. Kumar, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 1536-1540.

Aminofunktion erfolgten über eine konjugierte Addition mittels Lithium-*N*-benzylphenylethylamid als Schlüsselschritt (Schema 10).^{51,52}



Schema 10: Synthese der unnatürlichen Aminosäure β -Tyrosin **35**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CH_2Cl_2 , RT, 18 h, 84%, *E*-Isomer; b) *N*-Benzylphenylethylamin (**36**), *n*BuLi (2.5 M in Hexan), THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h, 84% (vs. 97%), *d.r.* > 10:1; c) Pd/C (10%), H_2 , CH_3OH , $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, RT, 3 d, 98%.

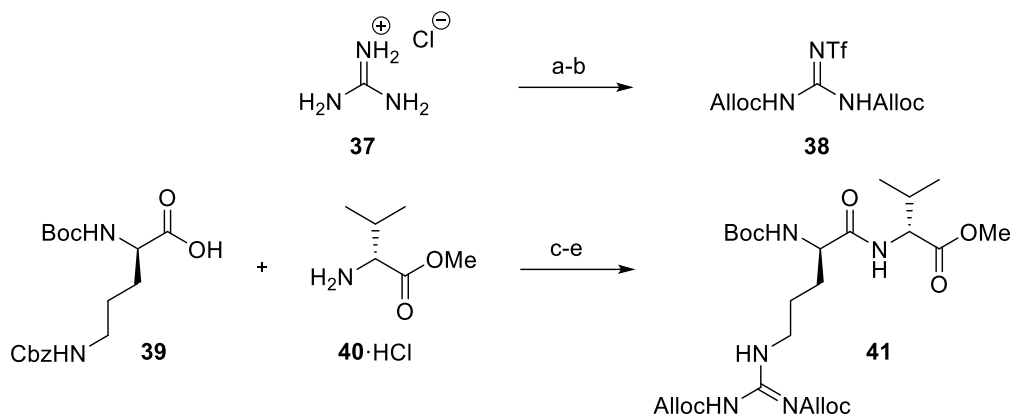
3.1.2.2 Studien zur Synthese des Fragments B

Neben Studien zu dem Aufbau der Dehydroaminosäuren, sowie deren Kupplungsverhalten, wurden in der von der Autorin vorlegten Masterarbeit auch Studien zur Synthese des Fragments B durchgeführt. Dabei wurde sich vorrangig mit der Herstellung des Dipeptids **41**, bestehend aus den Aminosäuren Arginin und Valin beschäftigt. So konnte die Autorin dieser Arbeit eine Syntheseroute etablieren, bei der die Guanidineinheit des Arginins zu einem späteren Zeitpunkt eingeführt wird, um so eine mögliche δ -Lactambildung, welche unter Kupplungsbedingungen eintreten kann, zu umgehen. So konnte das Dipeptid **41** ausgehend von den beiden kommerziell erhältlichen Aminosäuren Boc-D-Orn(Cbz)-OH (**39**) und D-Val-OMe (**40**) unter Verwendung der Reagenzien EDC·HCl und HOBt erfolgreich synthetisiert werden. Nach der Entfernung der Schutzgruppe und der Amidinierung der δ -Aminogruppe im Ornithin mit dem Reagenz **38**, welches zunächst in einer zweistufigen Sequenz ausgehend von Guanidin Hydrochlorid (**37**)⁵³ synthetisiert wurde, konnte das Dipeptid **41** des Fragments B des Naturstoffs Myxovalargin fertiggestellt werden (Schema 11).

⁵¹ S. G. Davies, A. W. Mulvaney, A. J. Russell, A. D. Smith, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1554-1566.

⁵² Die Ausbeute der Aza-MICHAEL-Reaktion konnte in dieser von der Autorin vorgelegten Dissertation von 84% auf 97% gesteigert werden.

⁵³ a) K. Feichtinger, C. W. Zapf, H. L. Sings, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3804-3805; b) T. J. Baker, M. Tomioka, M. Goodman, *Org. Synth.* **2002**, *78*, 91-94; c) C. W. Zapf, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 10092-10097.

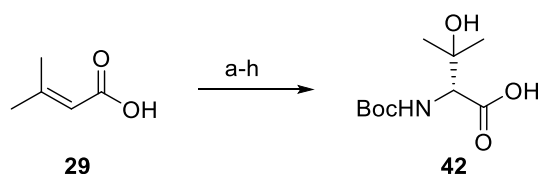


Schema 11: Synthese des Dipeptids **41** ausgehend von Boc-D-Orn(Cbz)-OH (**39**) und D-Val-OMe·HCl (**40**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) AllocCl, NaOH (6.0 N), BnEt₃NCl, CH₂Cl₂, 0 °C, 7 h, 76%; b) Et₃N, Tf₂O, CH₂Cl₂, -78 °C → RT, 7 h, 51%; c) D-Val-OMe·HCl (**40**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, 99%; d) Pd/C (10%), H₂, CH₃OH, RT, 20 h; e) Guanidinderivat **38**, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 15 h, 95% über 2 Stufen.

3.1.2.3 Synthese des Fragments D

Zunächst wurde die unnatürliche Aminosäure Boc-D-β-Hydroxyvalin (**42**) ausgehend von der 3-Methyl-2-butensäure (**29**) in einer 8-stufigen Synthesesequenz hergestellt. Die Einführung des stereogenen Zentrums erfolgte hierbei über eine von SHARPLESS entwickelte asymmetrische Dihydroxylierung (AD) mit dem AD mix β (Schema 12).⁵⁴

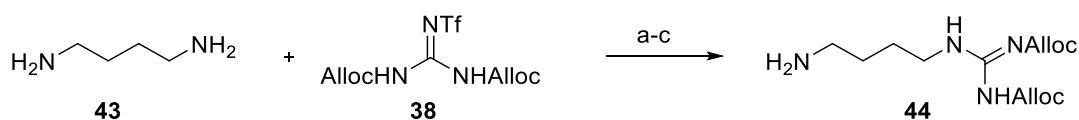


Schema 12: Synthese des Boc-D-β-Hydroxyvalins (**42**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) C₆H₅CH₂Br, Bu₄NBr, KOH, CHCl₃, Δ, 18 h, 92%; b) AD mix β, CH₃SO₂NH₂, *t*BuOH/H₂O (1:1), 0 °C, 5 d, 80%, 80% *ee*; c) SOCl₂, CH₂Cl₂, 40 °C, 6 h; d) KIO₄, RuCl₃, CH₂Cl₂, CH₃CN, H₂O, 40 °C, 5 h, 73% über 2 Stufen; e) NaN₃, Aceton, H₂O, 50 °C, 5 h; f) H₂SO₄ (20%), Et₂O, H₂O, RT, 48 h, 84% über 2 Stufen; g) Pd/C (10%), H₂, CH₃OH, RT, 36 h; h) (Boc)₂O, *n*BuOH, RT, 20 h, 85% über 2 Stufen.

Des Weiteren wurde das Amin Agmatin in einer dreistufigen Syntheseroute ausgehend von 1,4-Diaminobutan (**43**) hergestellt. Hierbei wurde wiederum auf das Prinzip der Amidinierung einer primären Aminogruppe zurückgegriffen (Schema 13).

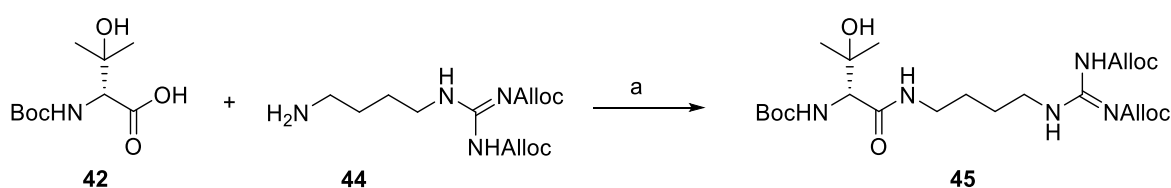
⁵⁴ a) H. C. Kolb, M. S. VanNieuwenhze, K. B. Sharpless, *Chem. Rev.* **1994**, *34*, 2483-2547; b) D. J. Berrisford, C. Bolm, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1159-1171; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1059-1070.



Schema 13: Synthese des Agmatins **44**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) (Boc)₂O, 1,4-Dioxan, RT, 20 h, 89%; b) Guanidinderivat **38**, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 16 h, 95%; c) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h, quant.

Abschließend konnte die Verknüpfung des Amins **44** mit dem Boc-D-β-Hydroxyvalin (**42**) unter Standardkupplungsbedingungen⁵⁵ erfolgreich realisiert werden (Schema 14).



Schema 14: Synthese des Fragments D **45**.

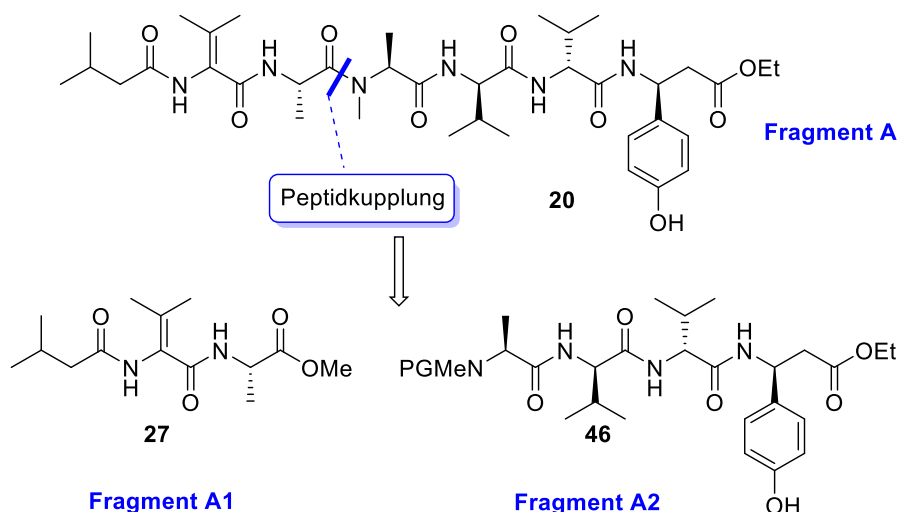
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 20 h, 73%.

3.1.3 Synthese des Fragments A

Bei dem Fragment A des Naturstoffs Myxovalargin handelt es sich um ein lineares *N*-acyliertes Hexapeptid, welches aus der kanonischen Aminosäure L-Alanin, sowie den nicht-proteinogenen Aminosäuren α,β-Dehydrovalin, *N*-Methyl-L-alanin, D-Valin und β-Tyrosin aufgebaut ist. Weiterhin befindet sich an dem Amino-Terminus die 3-Methylbutansäure.

Bereits zu Beginn dieser Arbeit lagen äußerst wichtige Informationen hinsichtlich des Peptidkupplungsverhaltens der unnatürlichen Aminosäuren vor.⁴⁷ Es zeigte sich, dass die Synthese der Dehydroaminosäuren und –peptide sich als äußerst schwierig erwies und hinsichtlich dessen ein erhöhter Optimierungsbedarf notwendig ist. Deswegen wurde das Fragment A in zwei Teilfragmente A1 und A2 geteilt, welche zunächst einzeln synthetisiert werden sollten und anschließend über Peptidkupplung miteinander verknüpft werden können (Schema 15). Im Folgenden soll nun auf die Darstellung des α,β-Dehydropeptids **27** (Fragment A1) näher eingegangen werden.

⁵⁵ J. Paleček, G. Dräger, A. Kirschning, *Synthesis* **2011**, 4, 653-661.

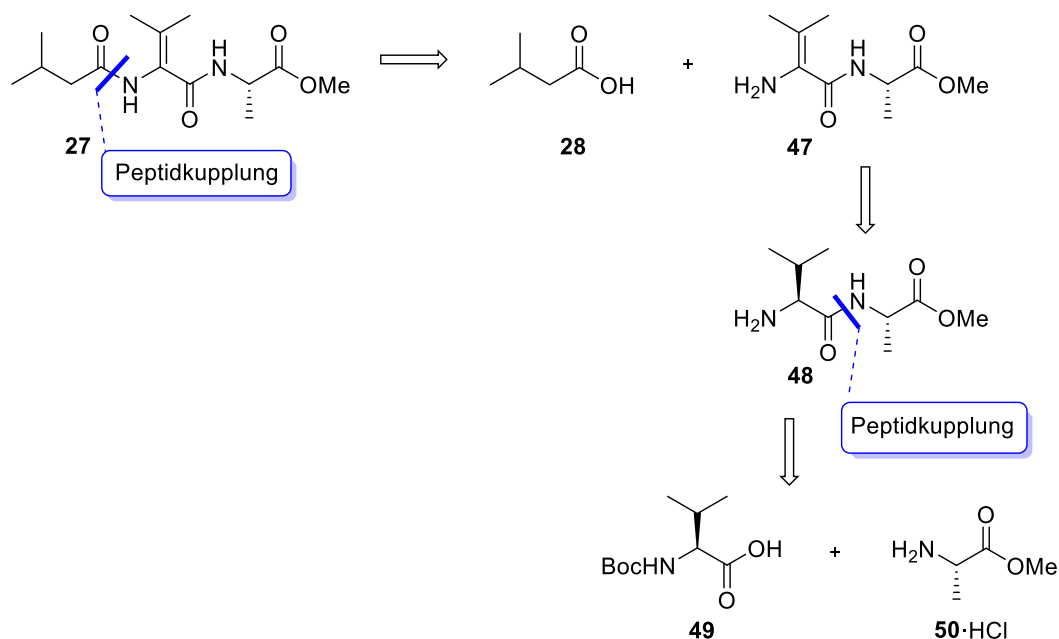


Schema 15: Retrosynthetischer Ansatz zur Darstellung des Fragments A ausgehend von den beiden Teilfragmenten A1 und A2.

3.1.3.1 Studien zur Darstellung von α,β -Dehydroaminosäuren und -peptiden

3.1.3.1.1 Darstellung des α,β -Dehydropeptids **27** über eine direkte Peptidkupplung am Amino-Terminus

Bereits in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit wurden Studien zur Synthese des Dehydropeptids **27** über eine direkte Peptidkupplung ausgehend von dem *N*-acylierten Dehydrovalin durchgeführt. Jedoch konnte unter den getesteten Reaktionsbedingungen das gewünschte Dehydropeptid **27** nicht erhalten werden. Diese Tatsache wurde auf die verminderte Reaktivität am Carboxy-Terminus bedingt durch den Enamincharakter des *N*-acylierten Dehydrovalins zurückgeführt (vgl. Kapitel 3.1.2). Da sich jedoch die Peptidkupplung am Amino-Terminus des Dehydrovalins mit der 3-Methylbutansäure erfolgreich realisieren ließ, sollte zunächst das Dehydropeptid **27** ausgehend vom dem Dipeptid L-Val-L-Ala-OMe **48** aufgebaut werden. Davon ausgehend kann die Doppelbindungsfunktionalität eingeführt werden; die hierfür benötigten Bedingungen wurden bereits in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit etabliert. Das Dipeptid **48** sollte in einer zweistufigen Synthesesequenz ausgehend von den kommerziell erhältlichen Aminosäuren Boc-L-Valin (**49**) und L-Alaninmethylester (**50**) dargestellt werden (Schema 16).



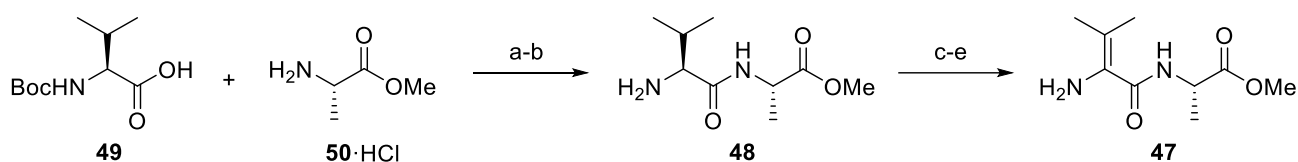
Schema 16: Retrosynthese zur Darstellung des Dipeptids **27** über eine direkte Peptidkupplung ausgehend von Boc-L-Val-OH (**49**) und L-Ala-OMe·HCl (**50**).

Zunächst sollte das für die Synthese des α,β -Dehydropeptids **47** benötigte Dipeptid **48** in zwei Stufen ausgehend von den kommerziell erhältlichen Aminosäuren Boc-L-Valin (**49**) und L-Alaninmethylester (**50**) hergestellt werden. Die Verknüpfung beider Aminosäuren konnte unter der Verwendung des Kupplungsreagenzes EDC·HCl in Kombination mit dem Additiv HOBt erfolgreich realisiert werden. Die anschließende Entfernung der Boc-Schutzgruppe unter sauren Reaktionsbedingungen mittels Trifluoressigsäure (TFA) lieferte das gewünschte Dipeptid **48** in einer sehr guten Ausbeute von 91%. Ausgehend von der Verbindung **48** kann nun die Synthese des α,β -Dehydropeptids **47** erfolgen (Schema 17).⁵⁶ Dazu wurde zunächst die Aminofunktion des Peptids **48** mittels Natriumdichlordiisocyanurat (NaDCC; **26**) selektiv monochloriert. Anschließend erfolgte eine Eliminierungsreaktion unter Verwendung der Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zu dem korrespondierenden Imin, welches unter Zugabe von Hydrogenchlorid in absolutem Diethylether zu dem entsprechenden Enamin **47** tautomerisierte.⁵⁷

⁵⁶ Einen Überblick über Synthesemöglichkeiten von α,β -Dehydroaminosäuren geben die Reviews: a) U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild, *Synthesis* **1988**, 159-172; b) C. Bonauer, T. Walenzky, B. König, *Synthesis* **2006**, *1*, 1-20.

⁵⁷ a) U. Schmidt, E. Öhler, *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 344-345; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1977**, *16*, 327-328; b) S.-P. Lu, A. H. Lewin, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15097-15104; c) M. Pallavicini, C. Bolchi, L. Fumagalli, O. Piccolo, E. Valoti, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5540-5542.

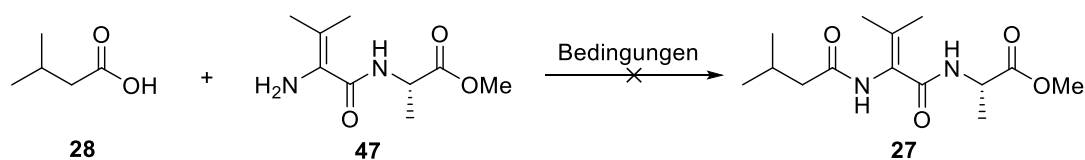
3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 17: Synthese des α,β -Dehydropeptids **47** ausgehend von Boc-L-Val-OH (**50**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 14 h, 72%; b) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 6 h, 91%; c) NaDCC **26**, NaHCO₃, Et₂O, H₂O, RT, 90 min; d) DBU, Et₂O, RT, 60 min; e) HCl (1.0 M in Et₂O), Et₂O, -78 °C → 0 °C, 5 h; dann -20 °C für 24 h, 85% über 3 Stufen.

Bei der Peptidkupplung der 3-Methylbutansäure (**28**) mit dem α,β -Dehydropeptid **47** zu dem korrespondierenden *N*-acylierten Dipeptid **27** wurden verschiedene Peptidkupplungsmethoden getestet (Schema 18). Dabei wurden Kupplungsreagenzien, Basen, sowie Temperaturen variiert (Tabelle 4).



Schema 18: Synthese des α,β -Dehydropeptids **27** ausgehend von der 3-Methylbutansäure (**28**) und dem α,β -Dehydropeptid **47**.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Tabelle 4: Reaktionsbedingungen für die Peptidkupplung der 3-Methylbutansäure (**28**) mit dem Peptid **47**.

Eintrag	Kupplungs-Reagenz	Additiv ^d	Base ^e	Ergebnisse ^f
1 ^a	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOBt	DIPEA	Aktivester
2 ^a	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	Aktivester
3 ^a	DIC (1.25 Äq.)	HOBt	DIPEA	Aktivester
4 ^a	DIC (1.25 Äq.)	-	DMAP (5 mol%)	Aktivester
5 ^a	TBTU (1.10 Äq.)	HOBt	DIPEA	Aktivester
6 ^a	PyAOP (1.10 Äq.)	HOAt	DIPEA	Aktivester
7 ^b	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	Aktivester
8 ^c	TBTU (1.10 Äq.)	HOBt	DIPEA	Aktivester
9 ^c	PyAOP (1.10 Äq.)	HOAt	DIPEA	Aktivester
10 ^c	DIC (1.25 Äq.)	HOBt	DIPEA	Aktivester

Reaktionsbedingungen: ^a CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 20 h. ^b CH₂Cl₂, 0 °C, SM **47** wurde nach 6 h zu der Reaktionsmischung hinzugefügt, 0 °C → RT; nach 20 h wurde das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt, 4 d. ^c CH₂Cl₂, 0 °C, SM **47** wurde nach 6 h zu der Reaktionsmischung hinzugefügt, 0 °C → RT, 5 d. ^d Sofern nicht anders angegeben, wurden von dem Additiv HOBt oder HOAt 1.50 Äq. verwendet. ^e Sofern nicht anders angegeben, wurden 1.50 Äq. Base verwendet. ^f Bestimmt anhand DC.

Die Kupplung des α,β -Dehydropeptids **47** mit der 3-Methylbutansäure (**28**) sollte zunächst unter Verwendung von Carbodiimiden durchgeführt werden.

In den anfänglichen Studien mit dem Carbodiimid EDC·HCl und dem Additiv HOBt, sowie der Base DIPEA in Methylchlorid konnte das gewünschte Produkt **27** nicht erhalten werden (Tabelle 4, Eintrag 1). Auch unter der Verwendung des reaktiveren Additivs HOAt anstelle des HOBt konnte kein Kupplungsprodukt **27** erzeugt werden (Tabelle 4, Eintrag 2). In beiden Fällen konnte lediglich die Bildung des Aktivesters anhand der Dünnschichtchromatographie beobachtet werden. Ein ähnliches Resultat lieferte die Reaktion mit DIC als Peptidkupplungsreagenz (Tabelle 4, Eintrag 3-4). Wiederum konnte das gewünschte Dehydropeptid **27** nicht erhalten werden.

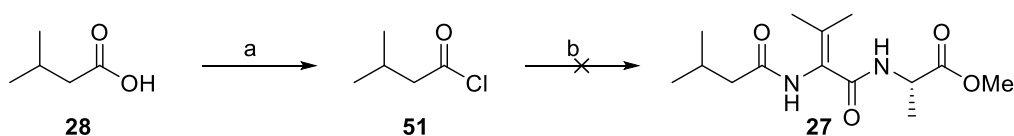
Die gesteigerte Reaktivität des HOAts gegenüber dem HOBt lässt sich auf Nachbargruppeneffekte, insbesondere des Stickstoff-Atoms des Pyridinrings des HOAts,

zurückführen. Der entscheidende Faktor ist hierbei die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Aktivesterintermediat und der nukleophilen Aminofunktion der angreifenden Aminosäure.⁵⁸

Weiterhin wurden reaktivere Kupplungsreagenzien vom Aminium/Uronium- und Phosphonium-Typ getestet. Jedoch konnte in beiden Fällen lediglich der intermediär gebildete Aktivester anhand der Dünnschichtchromatographie nachgewiesen werden (Tabelle 4, Eintrag 5-6).

Aufgrund der Tatsache, dass bei der Peptidkupplung der 3-Methylbutansäure (**28**) mit dem α,β -Dehydropeptid **47** in den durchgeführten Studien kein Kupplungsprodukt erhalten wurde, wurden die Reaktionen mit dem jeweiligen Kupplungsreagenz erneut durchgeführt, wobei die Reihenfolge der Reagenzien variiert wurde. Die 3-Methylbutansäure (**28**) wurde zunächst mit dem jeweiligen Kupplungsreagenz, dem Additiv und der Base DIPEA in Methylenchlorid bei RT umgesetzt, sodass sich der Aktivester bilden konnte. Anschließend wurde zu dieser Reaktion das α,β -Dehydropeptid **47** hinzugegeben. Jedoch konnte auch unter diesen Reaktionsbedingungen das gewünschte Dipeptid **27** nicht erhalten werden (Tabelle 4, Eintrag 7-10). Auch durch Erhöhung der Temperatur auf 40 °C wurde kein positiver Effekt erzielt (Tabelle 4, Eintrag 7).

Des Weiteren sollte die Peptidkupplung mit dem Säurechlorid von Verbindung **28** erprobt werden. Dazu wurde die Carboxylgruppe der 3-Methylbutansäure (**28**) mittels Thionylchlorid in das korrespondierende Säurechlorid überführt. Die anschließende Peptidkupplung wurde in Methylenchlorid bei RT durchgeführt. Jedoch konnte auch nach 2 Tagen kein Umsatz zu dem α,β -Dehydropeptid **27** festgestellt werden (Schema 19). Weitere Reaktionsbedingungen wurden nicht getestet.



Schema 19: Synthese des Dehydropeptids **27** ausgehend von 3-Methylbutansäure (**28**) mittels Säurechlorid. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) SOCl₂, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; b) Peptid **47**, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 2 d.

⁵⁸ a) L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398; b) L. A. Carpino, A. El-Faham, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3561-3564.

Die so erzielten Resultate lassen die Vermutung zu, dass das α,β -Dehydropeptid **47** aufgrund der Doppelbindungsfunktionalität sehr unreaktiv ist. Des Weiteren kann nicht ausgeschlossen werden, dass das Dehydropeptid **47**, bei dem es sich formal um ein Enamin handelt, in seiner tautomeren Iminform vorliegt bzw. ein Enamin-Imin-Gleichgewicht herrscht, sodass unter klassischen Peptidkupplungsbedingungen keine Reaktion erfolgen kann.

Aufgrund der Tatsache, dass die direkte Peptidkupplung des α,β -Dehydropeptids **47** mit der 3-Methylbutansäure (**28**) in den durchgeführten Studien nicht realisiert werden konnte, wurde diese Strategie nicht weiter verfolgt.

3.1.3.1.2 Darstellung des α,β -Dehydropeptids **27** über eine HORNER-Kondensation

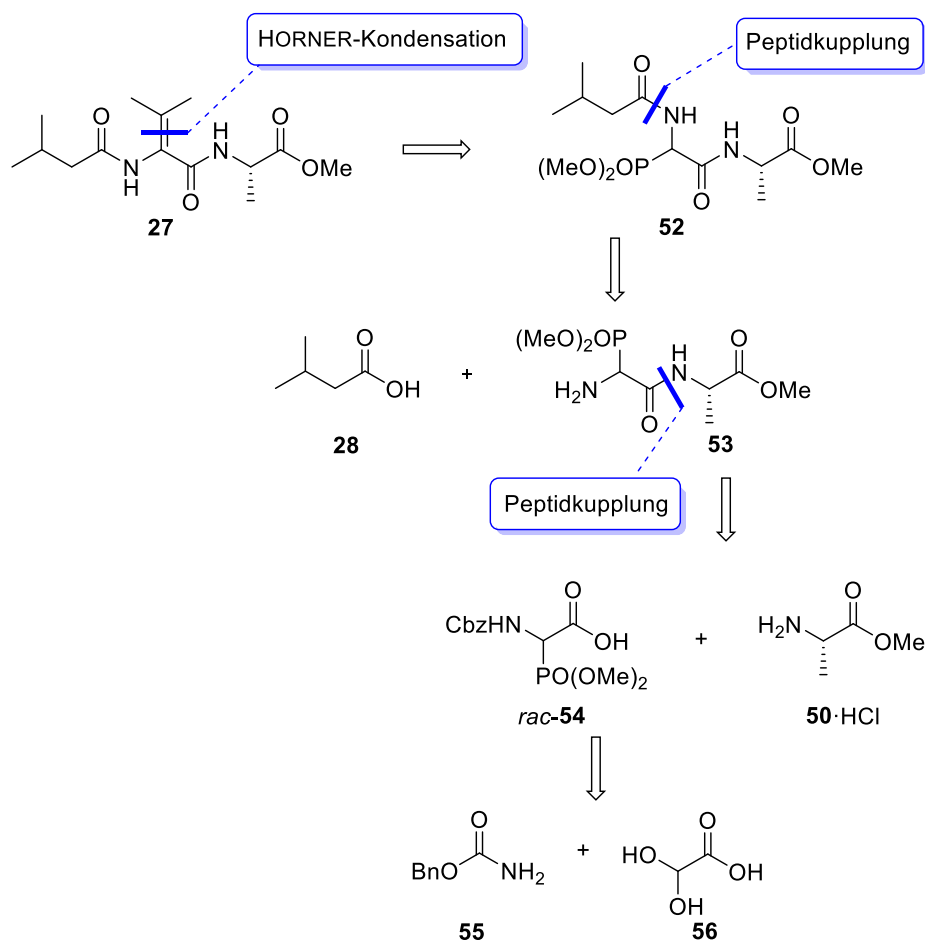
Bereits 1982 beschrieben SCHMIDT *et al.*⁵⁹ den Aufbau von Dehydroaminosäureestern über eine Kondensation von Dimethoxyphosphorylglycin mit Ketonen unter DBU- oder 1,1,3,3-Tetramethylguanidin⁶⁰ (TMG)-Katalyse. Dieser Ansatz sollte auf die in dieser Arbeit vorherrschende Problematik im Hinblick auf die Dehydroaminosäuren bzw. -peptide angewendet werden.

Die Einführung der Doppelbindungsfunktionalität sollte über eine HORNER-Kondensation des Dipeptids **52** mit Aceton unter basischen Bedingungen zu dem korrespondierenden α,β -Dehydropeptid **27** realisiert werden.⁶¹ Die Verbindung **52** könnte in einer Kupplungsreaktion des Peptids **53** mit der 3-Methylbutansäure (**28**) erhalten werden. Das Peptid **53** wäre wiederum in einer Kupplungsreaktion der Aminosäure *rac*-**54** und dem L-Alaninmethylester (**50**) zugänglich. Die Aminosäure *rac*-**54** könnte in vier Stufen ausgehend von Benzylcarbammat (**55**) und Glyoxylsäure (**56**) erhalten werden (Schema 20).

⁵⁹ a) U. Schmidt, A. Lieberknecht, U. Schanbacher, T. Beuttler, J. Wild, *Angew. Chem. Suppl.* **1982**, 1682-1683; *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 797-798; b) U. Schmidt, J. Wild, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 996-998; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 991-993.

⁶⁰ U. Schmidt, H. Griesser, V. Leitenberger, A. Lieberknecht, R. Mangold, R. Meyer, B. Riedl, *Synthesis* **1992**, 487-490.

⁶¹ U. Schmidt, B. Riedl, *Synthesis* **1993**, 815-818.



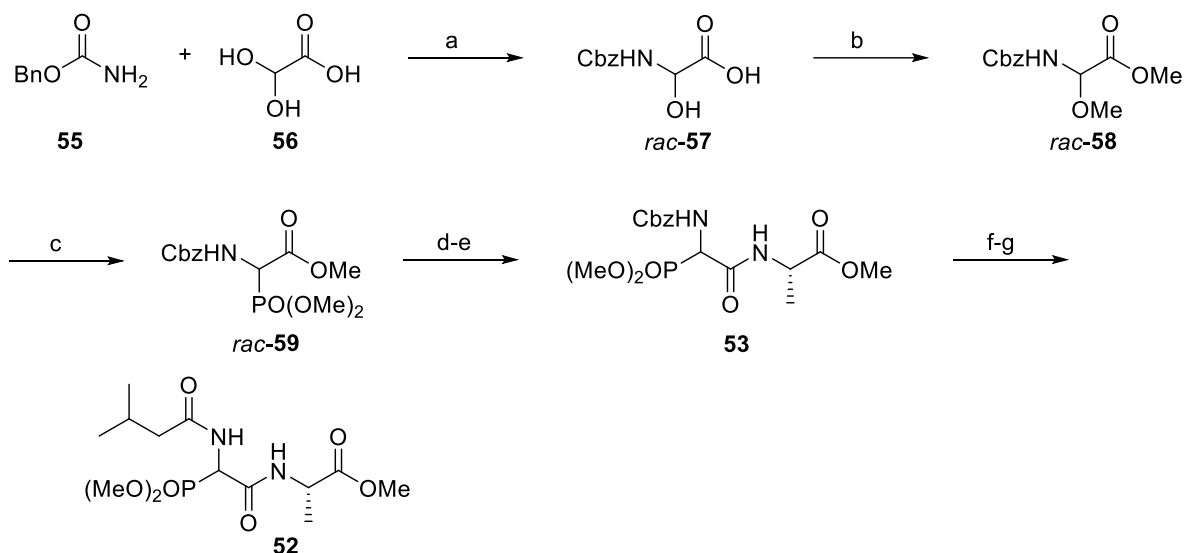
Schema 20: Neue Retrosynthese zur Darstellung des α,β -Dehydropeptids **27** ausgehend von Benzylcarbammat (**55**) und Glyoxylsäure (**56**).

Bevor die Herstellung des α,β -Dehydropeptids **27** über eine HORNER-Kondensation erfolgen konnte, musste die hierfür benötigte Aminosäure *rac*-**54** synthetisiert werden.

Die Synthese der Benzyloxycarbonyl (Cbz)-geschützten Aminosäure *rac*-**54** erfolgte ausgehend von den beiden kommerziell erhältlichen Startbausteinen Benzylcarbammat (**55**) und Glyoxylsäure (**56**).⁶² Die Einführung des Phosphorsubstituenten erfolgte durch Chlorierung mittels Phosphortrichlorid und anschließender MICHAELIS-ARBUSOV-Reaktion mit dem Trimethylphosphit $\text{P}(\text{OMe})_3$. Der Phosphormethylester *rac*-**59** konnte hierbei in einer guten Ausbeute von 86% erhalten werden. Esterhydrolyse unter basischen Reaktionsbedingungen mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M) lieferte die Aminosäure *rac*-**54** in quantitativer Ausbeute (Schema 21).

⁶² a) H. Azuma, K. Okano, T. Fukuyama, H. Tokuyama, *Org. Synth.* **2011**, *88*, 152-161; b) M. Berwe, W. Jöntgen, J. Krüger, Y. Cancho-Grande, T. Lampe, M. Michels, H. Paulsen, S. Raddatz, S. Weigand, *Org. Process Rev. Dev.* **2011**, *15*, 1348-1357.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 21: Synthese des Dipeptids **52** ausgehend von Benzylcarbammat (**55**) und Glyoxylsäure (**56**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Toluol, 40 °C, 5 h, quant.; b) H₂SO₄, CH₃OH, 0 °C → RT, 12 h, 98%; c) PCl₃, P(OMe)₃, Toluol, 70 °C, 60 h, 86%; d) LiOH (1.0 M), 1,4-Dioxan, 0 °C → RT, 12 h, quant.; e) L-Ala-OMe·HCl (**50**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 40 h, 82%; f) Pd/C (10%), H₂, CH₃OH, RT, 4 h, quant; g) 3-Methylbutansäure (**28**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 2 d, 74%.

Für die anschließende Peptidkupplung der Aminosäure *rac*-**54** mit dem L-Alaninmethylester (**50**) wurden verschiedenste Reaktionsbedingungen untersucht. So wurden die Kupplungsreagenzien EDC·HCl, TBTU und PyAOP in Kombination mit den beiden Additiven HOAt und HOBT getestet. Weiterhin wurde die Reaktionszeit variiert (Schema 21, Tabelle 5).

Tabelle 5: Reaktionsbedingungen für die Peptidkupplung von Aminosäure *rac*-**54** mit dem L-Ala-OMe·HCl (**50**).

Eintrag	Kupplungsreagenz	Additiv ^e	Base ^f	Ausbeute
1 ^a	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	39%
2 ^a	TBTU (1.10 Äq.)	HOBT	DIPEA	25%
3 ^a	PyAOP (1.10 Äq.)	HOAt	DIPEA	Spuren
4 ^b	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	Spuren
5 ^c	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	28%
6^d	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOBT	DIPEA	82%
7 ^d	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	76%

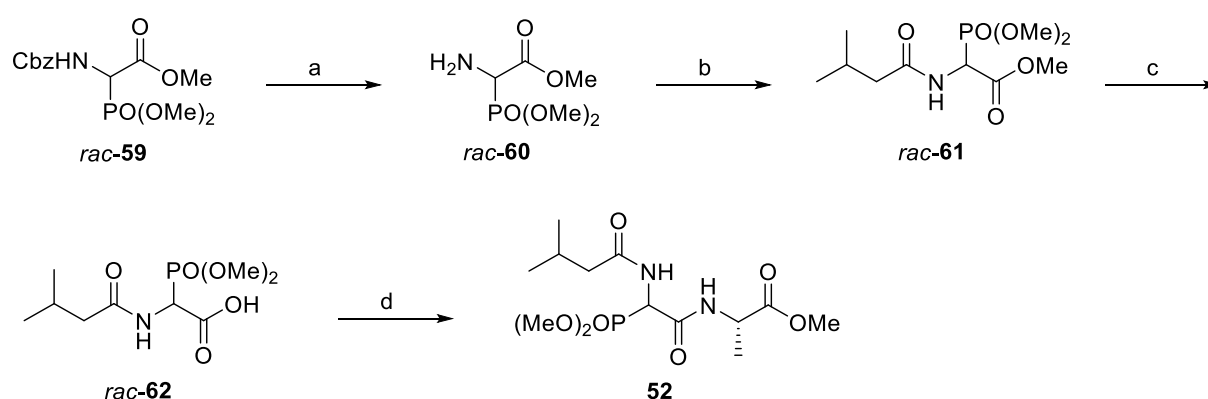
Reaktionsbedingungen: ^a CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 15 h. ^b CH₂Cl₂, 0 °C, L-Ala-OMe·HCl (**50**) wurde nach 8 h zu der Reaktionsmischung hinzugefügt, 0 °C → RT. ^c DMAP (20 mol%), CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 15 h. ^d CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 40 h. ^e Sofern nicht anders angegeben, wurden von dem Additiv HOBT oder HOAt 1.50 Äq. verwendet. ^f Sofern nicht anders angegeben, wurden 1.50 Äq. Base verwendet.

In den anfänglichen Studien mit dem Carbodiimid EDC·HCl und dem Additiv HOAt wurde das gewünschte Kupplungsprodukt **53** in einer Ausbeute von 39% erhalten (Tabelle 5, Eintrag 1). Durch die Verwendung des Aminiums Salzes TBTU konnte die Ausbeute an dem Produkt **53** nicht gesteigert werden; es wurden hierbei lediglich 25% erzielt (Tabelle 5, Eintrag 2). Entgegen der Erwartungen konnten unter Verwendung des Phosphoniumreagenzes PyAOP in Kombination mit dem Additiv HOAt lediglich Spuren an dem gewünschten Dipeptid **53** isoliert werden (Tabelle 5, Eintrag 3). Erfreulicherweise konnte eine Steigerung der Ausbeute von Produkt **53** durch die Verwendung von EDC·HCl und HOBt, sowie eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 40 h erzielt werden. Unter diesen Bedingungen wurde das Dipeptid **53** in einer Ausbeute von 82% erhalten (Tabelle 5, Eintrag 6). Auch unter Verwendung des Additivs HOAt anstelle von HOBt und längerer Reaktionszeit von 40 h konnte eine Steigerung der Ausbeute des gewünschten Peptids **53** erzielt werden. Unter diesen Bedingungen wurde das Produkt **53** in einer geringfügig niedrigeren Ausbeute von 76% erhalten (Tabelle 5, Eintrag 7).

Anhand dieser Optimierungsstudien konnte gezeigt werden, dass für eine erfolgreiche Peptidkupplung ungewöhnlich lange Reaktionszeiten von zwei Tagen erforderlich sind. Diese Tatsache kann darauf zurückgeführt werden, dass die Phosphor-enthaltene Aminosäure eine verminderte Reaktivität aufweist und nur langsam mit einer weiteren Aminosäure eine Amidbindung eingeht. Eine Verkürzung der Reaktionszeit auf 15 Stunden resultierte in einem massiven Ausbeuteverlust von bis zu 70% in Abhängigkeit der jeweils verwendeten Kupplungsreagenzien.

Reduktive Entfernung der Cbz-Schutzgruppe des Dipeptids **53** mittels Palladium auf Aktivkohle und Wasserstoff, sowie erneute Peptidkupplung mit dem Startbaustein des Fragments A, der 3-Methylbutansäure (**28**) lieferten das für die HORNER-Kondensation benötigte Dipeptid **52** in einer Ausbeute von 74% über zwei Stufen (Schema 21). Die Peptidkupplung mit der 3-Methylbutansäure (**28**) konnte unter Verwendung der Standardkupplungsreagenzien EDC·HCl und HOBt erfolgreich realisiert werden. Hierbei zeigte sich ebenfalls, dass für die Kupplung eine verlängerte Reaktionszeit von zwei Tagen notwendig war. Bei einer verringerten Reaktionszeit von 18 Stunden wurde zwar auch das gewünschte Dipeptid **52** erhalten, jedoch in einer geringeren Ausbeute von 59%. Diese Tatsache lässt sich möglicherweise auf eine reduzierte Nukleophilie des Phosphor-enthaltenen primären Amins zurückführen.

Parallel zu der bereits beschriebenen Route zu dem Dipeptid **52** wurde an einem alternativen Zugang gearbeitet. Dieser ist in dem Schema 22 gezeigt. Ausgehend von dem Methylester *rac-59* wurde zunächst durch Hydrierung mittels Palladium auf Aktivkohle die Cbz-Schutzgruppe entfernt. Das Amin *rac-60* wurde anschließend mit dem Startbaustein des Fragments A der 3-Methylbutansäure (**28**) unter der Verwendung von EDC·HCl und HOBT verknüpft. Hierbei konnte das Peptid *rac-61* in einer Ausbeute von 74% erhalten werden. Die anschließende Verseifung des Methylesters lieferte das Produkt *rac-62* in quantitativer Ausbeute. Die abschließende Peptidkupplung mit dem L-Alaninmethylester (**50**) ergab das Dipeptid **52** in 63% (Schema 22).



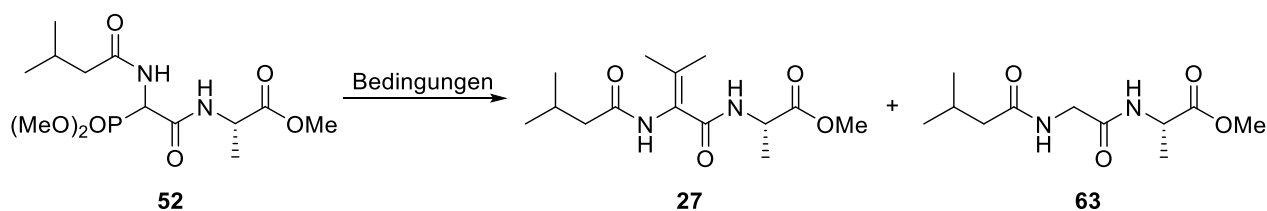
Schema 22: Alternative Darstellung des Dipeptids **52** ausgehend von Aminosäure *rac-59*.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Pd/C (10%), H₂, CH₃OH, RT, 5 h, quant.; b) 3-Methylbutansäure (**28**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 60 h, 74%; c) LiOH (1.0 M), 1,4-Dioxan, 0 °C → RT, 16 h, 97%; d) L-Ala-OMe·HCl (**50**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 4 d, 63%.

Anhand dieser beiden Routen konnte das Dipeptid **52** in einer vierstufigen Synthesesequenz ausgehend von der Aminosäure *rac-59* erhalten werden. Die erste Route ergab das Dipeptid **52** in einer Gesamtausbeute von 61% (vgl. Schema 21). Im Vergleich dazu lieferte die alternative Darstellung das gewünschte Produkt **52** in einer Gesamtausbeute von 45% (vgl. Schema 22).

Die anschließende Einführung der Doppelbindungsfunktionalität sollte in einer HORNER-Kondensation des Dipeptids **52** mit Aceton zu dem korrespondierenden α,β -Dehydropeptid **27** realisiert werden. Hierzu wurden verschiedenste Reaktionsbedingungen untersucht (Schema 23, Tabelle 6).

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 23: Einführung der Doppelbindungsfunktionalität über eine HORNER-Kondensation.

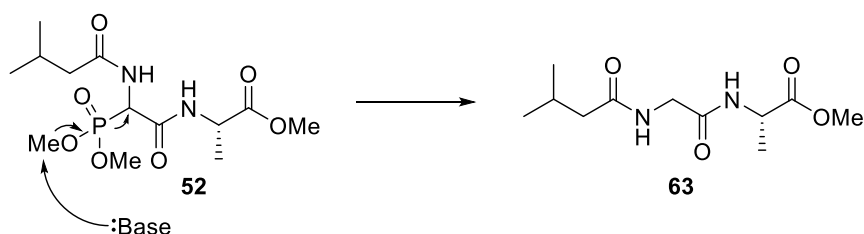
Tabelle 6: Reaktionsbedingungen für die HORNER-Kondensation (exemplarischer Auszug).

Eintrag	Base	Lösungs- mittel	Verhältnis 27:63	Ergebnisse
1 ^a	DBU (1.00 Äq.)	Aceton	1:2 ^j	50% Produktgemisch 27 und 63
2 ^b	TMG (1.00 Äq.)	Aceton	2:1 ^k	~ 10% Produkt 27 , SM 52 reisoliert
3 ^b	DIPEA (1.00 Äq.)	Aceton	1:2 ^k	Spuren von 27 , SM 52 reisoliert
4 ^c	TMG (1.00 Äq.)	CH ₃ CN	2:1 ^k	~ 5% Produkt 27 , SM 52 reisoliert
5 ^d	TMG (1.00 Äq.)	Aceton	Hauptprodukt 27 , Spuren von 63 ^k	15% Produkt 27 , SM 52 reisoliert
6 ^e	TMG (1.00 Äq.)	Aceton	-	Zersetzung
7 ^f	<i>n</i> BuLi (2.00 Äq.)	Aceton	-	Zersetzung
8 ^f	KHMDS (2.00 Äq.), DBU (3.00 Äq.)	Aceton	-	Zersetzung
9 ^g	Pyridin (1.00 Äq.), DMAP (0.10 Äq.)	Aceton	1:1 ^k	Ausbeute wurde nicht bestimmt
10 ^h	TMG (1.00 Äq.)	Aceton	-	Zersetzung
11ⁱ	TMG (5.00 Äq.)	Aceton	Hauptprodukt 27^k	18% Produkt 27, SM 52 reisoliert

Reaktionsbedingungen: ^a RT, 2 d. ^b RT, 7 d. ^c Aceton (1.50 Äq.), RT, 4 d. ^d Aceton (*c* (**52**) = 1.0 M), RT, 4 d. ^e Aceton (*c* (**52**) = 1.0 M), 65 °C, 4 d. ^f Aceton (*c* (**52**) = 1.0 M), -20 °C → RT, 26 h. ^g Aceton (*c* (**52**) = 1.0 M), RT, 7 d. ^h LiI (5.00 Äq.), Aceton (*c* (**52**) = 1.0 M), RT, 24 h. ⁱ Aceton (*c* (**52**) = 1.0 M), RT, 14 d. ^j Bestimmt anhand NMR. ^k Bestimmt anhand UPLC-MS-Analyse.

Zunächst wurden die von SCHMIDT *et al.*⁶¹ beschriebenen Reaktionsbedingungen untersucht (Tabelle 6, Eintrag 1). Interessanterweise wurde unter diesen Bedingungen ein Produktgemisch aus dem gewünschten Produkt **27** und dem Nebenprodukt **63** in einem Verhältnis von 1:2 erhalten. Die Bildung der Verbindung **63** wurde gemäß des Dünnschichtchromatogramms nicht detektiert. Die Charakterisierung erfolgte durch NMR-Spektroskopie und durch Massenspektrometrie. Die mögliche Entstehung des Produkts **63** an einer früheren Stelle kann jedoch ausgeschlossen werden, da die genaue Analyse der NMR-Spektren von der Ausgangsverbindung keinen Hinweis auf eine weitere Verbindung ergab.

Eine mögliche Erklärung für die Bildung des Nebenprodukts **63** könnte eine KRAPCHO⁶³-ähnliche Reaktion sein, bei der die Base den Methoxyrest am Phosphor unter Bildung des Glycinderivats nukleophil angreift (Schema 24).



Schema 24: Mögliche Erklärung für die Bildung des Glycinderivats **63**.

Daraufhin wurde nach Reaktionsbedingungen gesucht, welche das Verhältnis Produkt zu Nebenprodukt in die Richtung des gewünschten Kondensationsproduktes **27** verschieben. Zunächst wurden Studien mit verschiedenen Stickstoffbasen (TMG, DIPEA, Et₃N, Pyridin, 2,4,6-Trimethylpyridin, 1,1,5,5-Tetramethylpiperidin (TMP)) durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass lediglich die Verwendung der Stickstoffbase TMG zu einer Verbesserung des Produktverhältnisses führte (Tabelle 6, Eintrag 2). Erfreulicherweise konnten unter diesen Bedingungen die beiden erhaltenen Produkte säulenchromatographisch erfolgreich voneinander getrennt werden. Allerdings ist die Ausbeute für das gewünschte Produkt **27** mit ~10% nicht zufriedenstellend. Weitere der untersuchten Stickstoffbasen lieferten das gleiche Resultat, welches schon zuvor mit der Base DBU erzielt wurde (Tabelle 6, Eintrag 3). Darauf folgend wurde der Effekt verschiedenster Lösungsmittel (CH₃CN, Tetrahydrofuran (THF), CH₂Cl₂, EtOAc) in Kombination mit der Base TMG untersucht (Tabelle 2, Eintrag 4). Es ließ sich jedoch unter den getesteten Bedingungen sowohl die Ausbeute für das gewünschte

⁶³ a) A. P. Krapcho, G. A. Glynn, B. J. Grenon, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 8, 215-217; b) A. P. Krapcho, E. G. E. Jahngen, Jr., A. J. Lovey, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 15, 1091-1094.

Kondensationsprodukt **27** als auch das Verhältnis Produkt zu Nebenprodukt nicht verbessern. Daher wurde wieder auf die ursprünglichen Bedingungen TMG und Aceton zurückgegriffen.

Des Weiteren wurde der Effekt der Konzentrationserhöhung des Lösungsmittels/Reagenzes Aceton auf c (**52**) = 1.0 M untersucht. Erfreulicherweise konnten unter diesen Bedingungen lediglich Spuren für das Nebenprodukt **63** beobachtet werden. Allerdings war die Ausbeute für das gewünschte Produkt **27** mit 15% noch nicht zufriedenstellend (Tabelle 6, Eintrag 5).

Darüber hinaus wurde der Effekt der Konzentrationserhöhung des Lösungsmittels Aceton in Verbindung mit einer Temperaturerhöhung auf 65 °C untersucht (Tabelle 6, Eintrag 6). Jedoch resultierte dies in der Zersetzung des Startmaterials **52**.

Die Verwendung reaktiverer Basen wie *n*-Butyllithium oder Kaliumhexamethyldisilazan (KHMDs) führten ebenfalls zur Zersetzung des Kondensationsvorläufers **52** (Tabelle 6, Eintrag 7-8).

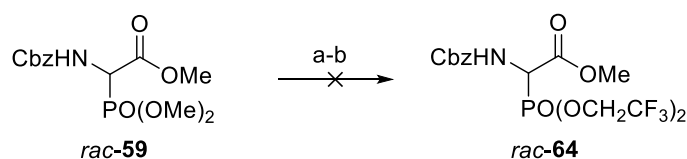
Des Weiteren wurden MASAMUNE-ROUSH-Bedingungen getestet. Durch die Verwendung von Lithiumsalzen, welche an die Carbonyl-Sauerstoffatome koordinieren, sollte die Acidität des Protons, welches sich in α -Position zu dem Phosphor befindet, gesteigert werden und folglich sich unter Zugabe einer Base leichter abstrahieren lassen. Jedoch konnte unter diesen Reaktionsbedingungen weder das gewünschte Produkt **27** noch das Startmaterial **52** isoliert werden, sodass von Zersetzung ausgegangen werden muss (Tabelle 6, Eintrag 10). Auch anhand UPLC-MS-Analyse konnten beide Verbindungen nicht nachgewiesen werden.

Darüber hinaus wurde noch die Erhöhung der Äquivalente an Base TMG in der Kondensationsreaktion untersucht (Tabelle 6, Eintrag 11). Jedoch konnte auch unter diesen Bedingungen keine signifikante Ausbeutesteigerung erzielt werden. Das gleiche Resultat lieferte die Reaktion in Anwesenheit von Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPA); wiederum konnte keine signifikante Steigerung der Ausbeute an dem gewünschten Kondensationsprodukt **27** erzielt werden.

Möglicherweise lassen sich durch reaktivere Phosphonate, wie beispielsweise das STILL-GENNARI-Derivat, höhere Ausbeuten in der HORNER-Kondensation erzielen. Deshalb sollte zunächst die modifizierte Aminosäure *rac*-**64** ausgehend von dem Methoxyphosphonat *rac*-**59** synthetisiert werden (Schema 25). Der Ausgangspunkt hierfür sind die von STILL *et al.*⁶⁴

⁶⁴ W. C. Still, C. Gennari, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 4405-4408.

beschriebenen Reaktionsbedingungen. Jedoch führten diese Bedingungen lediglich zur Zersetzung der Phosphor-enthaltenden Aminosäure *rac*-**59**.



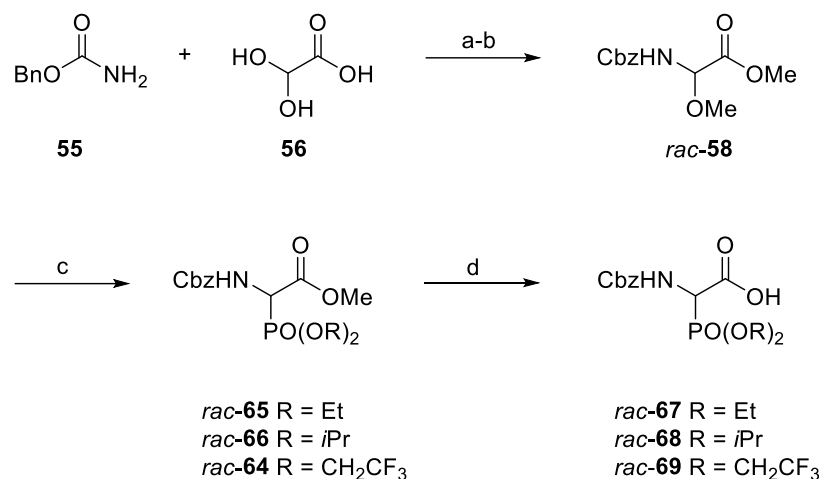
Schema 25: Synthese des STILL-GENNARI-Derivats *rac*-**64**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) PCl_5 , $0\text{ }^\circ\text{C}$, dann RT für 1 h, anschließend $75\text{ }^\circ\text{C}$ für 3 h; b) $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$, DIPEA, Toluol, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 16 h.

Da die direkte Synthese der Aminosäure *rac*-**64** ausgehend von dem Methoxyphosphonat *rac*-**59** lediglich zur Zersetzung der Ausgangsverbindung führte, sollte diese analog zu der Aminosäure *rac*-**59** hergestellt werden. Die Verwendung dieser Syntheseroute soll ebenso das korrespondierende Ethoxy- (*rac*-**65**) und das Isopropoxyphosphonat (*rac*-**66**) liefern.

Der für die Synthese der Cbz-geschützten Aminosäuren *rac*-**64**, *rac*-**65**, *rac*-**66** benötigte Startbaustein Benzylcarbamat (**55**) wurde zunächst mit Glyoxylsäure (**56**) umgesetzt.⁶² Die nachfolgende Methylierung der Carboxy- und Hydroxylgruppe der Verbindung *rac*-**57** unter sauren Reaktionsbedingungen lieferte den Methylester *rac*-**58** in einer Ausbeute von 98% (vgl. Schema 21). Die Einführung des Phosphorsubstituenten erfolgte durch Chlorierung mittels Phosphortrichlorid und anschließender MICHAELIS-ARBUSOV-Reaktion mit dem entsprechenden Trialkylphosphit $\text{P}(\text{OR})_3$. Die korrespondierenden Phosphorester *rac*-**64**, *rac*-**65**, *rac*-**66** konnten hierbei in moderaten bis guten Ausbeuten erhalten werden. Esterhydrolyse unter basischen Reaktionsbedingungen mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M) lieferte die korrespondierenden Säuren in guten Ausbeuten (Schema 26).

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 26: Synthese der Phosphor-enthaltenden Aminosäuren *rac*-**67** – *rac*-**69** ausgehend von Benzylcarbammat (**55**) und Glyoxylsäure (**56**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Toluol, 40 °C, 5 h, 99%; b) H₂SO₄, CH₃OH, 0 °C → RT, 12 h, 98%; c) PCl₃, P(OR)₃, Toluol, 70 °C, 66 h, 69% für *rac*-**65**, 74% für *rac*-**66**, 54% für *rac*-**64**; d) LiOH (1.0 M), 1,4-Dioxan, 0 °C → RT, 24 h, 81% für *rac*-**67**, 75% für *rac*-**68**.

Anhand von Kupplungsreaktionen der Phosphor-enthaltenden Aminosäuren *rac*-**67** und *rac*-**68** mit dem L-Alaninmethylester (**50**) konnten die Dipeptide **70** und **71** in guten Ausbeuten von 67-73% erhalten werden. Dies konnte durch Verwendung der Standardkupplungsreagenzien EDC·HCl und HOBT realisiert werden (Schema 27).

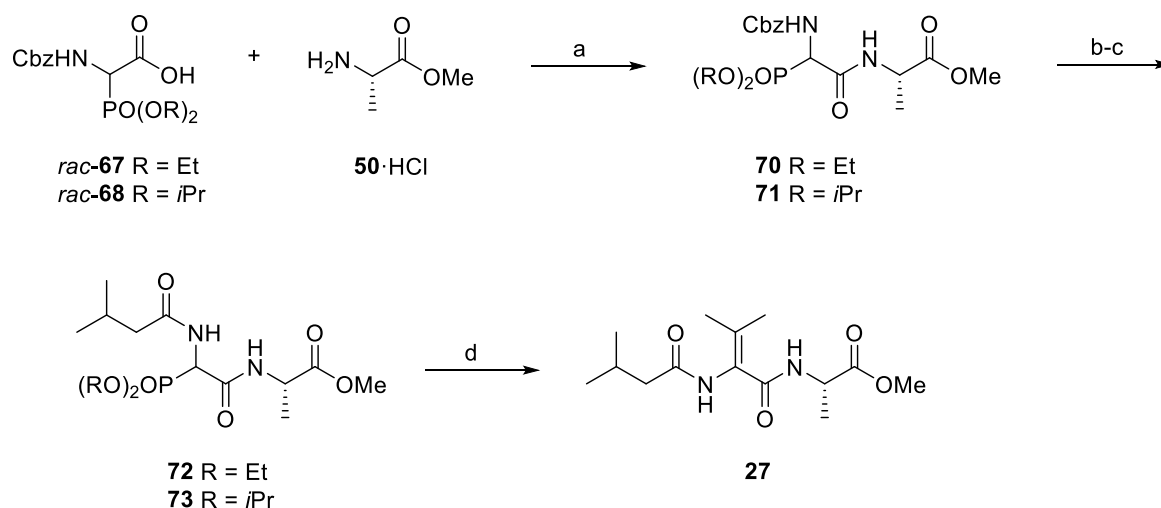
Die Peptidkupplung des 2-Trifluorethoxyphosphonates *rac*-**69** mit dem L-Alaninmethylester (**50**) lieferte jedoch nicht das gewünschte Kupplungsprodukt. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass bei der Verseifung der Verbindung *rac*-**64** sowohl der Methylester als auch die beiden Phosphorester, welche sich deutlich leichter hydrolysieren lassen als die korrespondierenden Ethoxy- oder Isopropoxyphosphonate, gespalten wurden. Andere Verseifungsbedingungen als Lithiumhydroxid wurden an dieser Stelle nicht untersucht. Des Weiteren kann auch nicht zweifelsfrei gesagt werden, ob die Aminosäure *rac*-**64** erfolgreich hergestellt wurde. Es wurde zwar die exakte Masse anhand der hochauflösende Massenspektrometrie gefunden. Auch die NMR-spektroskopische-Daten geben Hinweise darauf, dass es sich um die gewünschte Verbindung *rac*-**64** handelt, jedoch sind die charakteristischen quartären Kohlenstoffatome der CF₃-Gruppe nicht sichtbar. Weiterhin war die Zuordnung der einzelnen Signale aufgrund von Signalverbreiterung schwierig.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Für die anschließende Peptidkupplung mit dem Startbaustein des Fragments A, der 3-Methylbutansäure (**28**), muss zunächst die Cbz-Schutzgruppe entfernt werden. Diese erfolgte unter reduktiven Bedingungen mittels Palladium auf Aktivkohle und Wasserstoff.

Die Kupplung der Peptide **70** und **71** mit dem Startbaustein **28** konnte wiederum unter Verwendung des Carbodiimids EDC·HCl in Kombination mit dem Additiv HOBt erfolgreich realisiert werden. Die entsprechenden Dipeptide **72** und **73** wurden hierbei in guten Ausbeuten erhalten (Schema 27).

Nach erfolgreicher Synthese der Phosphor-enthaltenden Dipeptide **72** und **73** sollte nun die HORNER-Kondensation dieser mit Aceton zu dem α,β -Dehydropeptid **27** erfolgen. Jedoch wurden auch hier unter Verwendung der bereits optimierten Reaktionsbedingungen (TMG (5.00 Äq.), Aceton, RT, 14 d; vgl. Tabelle 6) wie schon zuvor nur unzureichende Ausbeuten von 15 bzw. 18% erzielt (Schema 27).



Schema 27: Synthese des α,β -Dehydropeptids **27** ausgehend von den einzelnen Phosphonaten *rac*-**67** und *rac*-**68**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 3 d, 73% für **70**, 67% für **71**; b) Pd/C (10%), H₂, CH₃OH, RT, 12 h; c) 3-Methylbutansäure (**28**), EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 3 d, 78% über 2 Stufen für **72**, 71% über 2 Stufen für **73**; d) TMG, Aceton, RT, 14 d, 15% bzw. 18%.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass die Einführung der Doppelbindung über eine HORNER-Kondensation einen interessanten Ansatz darstellt. Jedoch trugen die durchgeführten Optimierungen nicht zu einer Ausbeutesteigerung bei; bestenfalls konnte eine Ausbeute von 18% für das gewünschte α,β -Dehydropeptid **27** erhalten werden.

3.1.3.1.3 Darstellung des α,β -Dehydropeptids **27** über die β -Eliminierung eines tertiären Alkohols

Parallel zu der Einführung der Doppelbindungsfunktionalität über die HORNER-Kondensation wurde an einem weiteren Syntheseansatz, der Eliminierung eines tertiären Alkohols, zum Aufbau des Dehydrosystems **27** gearbeitet. Dieser wurde bereits in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit in Betracht gezogen, konnte jedoch nicht erfolgreich realisiert werden (vgl. Kapitel 3.1.2.1). Dementsprechend sollten weitere Reaktionsbedingungen untersucht werden.

Die Frage der *E/Z*-Selektivität der Eliminierung stellt sich hierbei nicht, da es sich bei den weiteren Substituenten in der β -Position um geminale Methylgruppen handelt. Zunächst wurde der Eliminierungsvorläufer **75** in einer dreistufigen Synthesesequenz ausgehend von Boc-D- β -Hydroxyvalin (**42**) und der kommerziell erhältlichen Aminosäure L-Alaninmethylester (**50**) hergestellt (Schema 28). Die Peptidkupplung beider Aminosäuren konnte unter Verwendung von Isobutylchlorformiat (IBCF) und der Base *N*-Methylmorpholin (NMM) erfolgreich realisiert werden.⁶⁵ Die Reaktion verläuft über ein gemischtes Anhydrid als reaktives Intermediat. Dieses bildet sich durch die nukleophile Addition des Chlorformiates an das Carboxylat, welches durch Deprotonierung der Säure durch das tertiäre Amin NMM generiert wird.^{66,67} Das gemischte Anhydrid bildet sich innerhalb weniger Minuten und die anschließende Aminolyse liefert dann das gewünschte Produkt. Weiterhin zu beachten ist, dass die Aktivierung der Säure nicht in Anwesenheit eines *N*-Nukleophils erfolgen kann, da dieses ebenfalls mit dem Chlorformiat reagieren würde.⁶⁷

Ausgehend von dem Dipeptid **74** sollte der Eliminierungsvorläufer fertiggestellt werden. Hierfür musste zunächst die Boc-Schutzgruppe unter sauren Bedingungen entfernt werden. Dabei fiel die Wahl auf die LEWIS-Säure Trimethylsilyliodid (TMSI).^{68,69} Dieses Reagenz bringt zwei entscheidende Vorteile mit sich. Erstens bedarf es keiner Aufarbeitung bzw. Extraktion, was besonders bei sehr polaren Verbindungen von enormer Bedeutung ist. Die Reaktion wird einfach durch Zugabe von Methanol beendet. Anschließend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das gewünschte Produkt als Salz

⁶⁵ J. R. Vaughan, R. L. Osato, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 5553-5555.

⁶⁶ J. R. Vaughan, R. L. Osato, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 676-678.

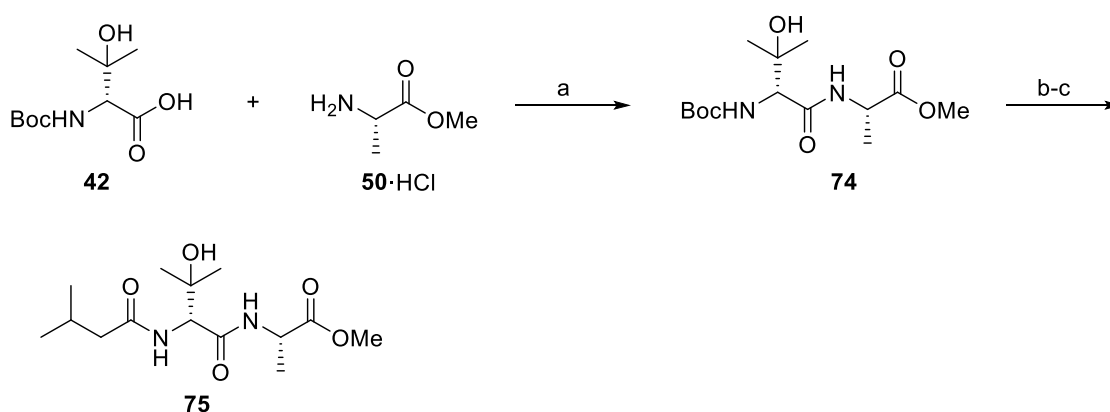
⁶⁷ A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2011**, 6557-6602.

⁶⁸ R. S. Lott, V. S. Chauhan, C. H. Stammer, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 495-496.

⁶⁹ G. A. Olah, S. C. Narang, *Tetrahedron* **1982**, 38, 2225-2277.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

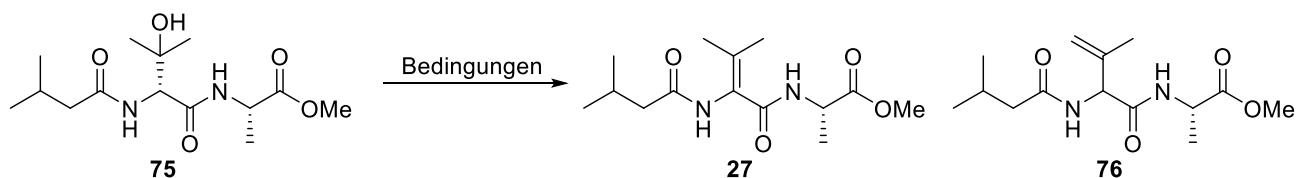
erhalten. Der zweite Vorteil liegt in der kurzen Reaktionszeit. Unter diesen Bedingungen konnte die Boc-Schutzgruppe des Dipeptids **74** selektiv entfernt werden, ohne dass die Eliminierung des tertiären Alkohols des Hydroxyvalins eintrat. Für die sich daran anschließende Peptidkupplung fiel die Wahl auf das Anhydrid der 3-Methylbutanäure (**28**), da dieses eine deutlich gesteigerte Reaktivität aufweist und keine weiteren Peptidkupplungsreagenzien von Nöten sind. So konnte unter basischen Bedingungen das *N*-acylierte Dipeptid **75** in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten werden (Schema 28).



Schema 28: Synthese des β -Eliminierungsvorläufers **75**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) Aminosäure **42**, IBCF, NMM, THF, $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 min, *ii*) L-Ala-OMe·HCl (**50**), NMM, DMF, $-15\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 22 h, 76%; b) TMSI, CH_2Cl_2 , RT, 15 min; c) 3-Methylbutan säureanhydrid, DIPEA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 24 h, 99% über 2 Stufen.

Ausgehend von dem Eliminierungsvorläufer **75** sollten verschiedene Reaktionsbedingungen für die β -Eliminierung des tertiären Alkohols erprobt werden (Schema 29, Tabelle 7).



Schema 29: Einführung der Doppelbindungsfunktionalität über eine β -Eliminierung.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Tabelle 7: Reaktionsbedingungen für die β -Eliminierung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnisse
1	1. MsCl (1.50 Äq.), Et ₃ N (2.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C, 4 h 2. DBU (2.00 Äq.), DMF, 65 °C, 12 h	Zersetzung
2	1. EocCl (1.10 Äq.), Pyridin (2.50 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 4 h 2. DBU (2.00 Äq.), DMF, 65 °C, 12 h	Zersetzung
3	MsCl (1.50 Äq.), Et ₃ N (2.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 24 h	kein Produkt
4	EocCl (1.10 Äq.), Pyridin (2.50 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 24 h	kein Produkt
5	CbzCl (1.10 Äq.), Pyridin (2.50 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 24 h	16% Produkt 27
6	MsCl (2.50 Äq.), Pyridin (2.50 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 24 h	Zersetzung
7	CbzCl (2.50 Äq.), Pyridin (2.50 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 24 h	16% Produkt 27
8	konz. HCl (5.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C, 6 h	keine Reaktion
9	TFA (10.0 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C, 7 h	keine Reaktion
10	TFA (50.0 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 0 °C, 24 h	keine Reaktion
11	TFA (50.0 Äq.), 0 °C, 24 h	keine Reaktion
12 ⁷⁰	BURGESS-Reagenz (1.10 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , RT, 1 h; dann Δ , 16 h	Zersetzung
13	MARTIN's Sulfuran (1.50 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , RT, 2 h	56% Produkt 76

In den anfänglichen Eliminierungsstudien sollte der tertiäre Alkohol zunächst in eine bessere Abgangsgruppe überführt werden. Dazu wurde das Dipeptid **75** sowohl mesyliert als auch in das korrespondierende *O*-Ethylchlorformiatderivat⁷¹ überführt (Tabelle 7, Eintrag 1-2). Anschließend sollte durch Verwendung der Base DBU unter erhöhter Reaktionstemperatur die Eliminierung des aktivierten Alkohols erzielt werden. Diese Reaktionsbedingungen wurden in einer Einstufensynthese ohne Aufarbeitung des Zwischenprodukts getestet. Jedoch konnten in

⁷⁰ Diese Reaktion wurde von M. Siebke durchgeführt. M. Siebke, Unveröffentlichte Ergebnisse, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2015.

⁷¹ R. Ramesh, K. De, S. Chandrasekaran, *Tetrahedron* **2007**, 63, 10534-10542.

beiden Fällen lediglich nur die Bildung der Zersetzungsprodukte beobachtet werden. Deshalb wurden die Bedingungen noch einmal getestet, wobei die Produkte während der Reaktion massenspektrometrisch (UPLC-MS-Analyse) charakterisiert wurden. Die Überführung des tertiären Alkohols in eine bessere Abgangsgruppe sollte hierbei unter basischen Bedingungen durch die Verwendung von Mesylchlorid (MsCl), Ethylchlorformiat (EocCl) und Benzylchlorformiat (CbzCl) erfolgen (Tabelle 7, Eintrag 3-5). Interessanterweise konnten unter diesen Reaktionsbedingungen lediglich Spuren des jeweiligen aktivierten Alkohols beobachtet werden; als Hauptprodukt bildete sich das α,β -Dehydropeptid **27**. Des Weiteren konnte nicht umgesetztes Startmaterial **75** massenspektrometrisch identifiziert werden. Die Aktivierung des tertiären Alkohols **75** mittels Benzylchlorformiat lieferte das Dehydropeptid **27** in einer Ausbeute von 16% und das Startmaterial **75** wurde reisoliert. Im Fall des *O*-Eoc-Derivats konnte jedoch kein Eliminierungsprodukt isoliert werden. Das gleiche Resultat wurde bei der Mesylierung des tertiären Alkohols erzielt. Eine Erhöhung der Äquivalente an Mesylchlorid oder Benzylchlorformiat führte zu keiner Verbesserung (Tabelle 7, Eintrag 6-7). Im Fall des Mesylchlorid wurde lediglich Zersetzung beobachtet.

Anschließend wurde die Eliminierung des tertiären Alkohols unter sauren Reaktionsbedingungen getestet (Tabelle 7, Eintrag 8-11). Hierbei wurden Studien mit konzentrierter Salzsäure und Trifluoressigsäure durchgeführt. Jedoch konnte unter den getesteten Bedingungen das gewünschte Dehydropeptid **27** nicht erhalten werden, da jeweils keine Reaktion eintrat. Das Startmaterial konnte reisoliert werden.

Abschließend sollte die β -Eliminierung des tertiären Alkohols mit milden Dehydratisierungsreagenzien erfolgen. Hierfür wurden zum einen Bis[α,α -bis(trifluormethyl)benzenmethanolat]diphenylsulfur (MARTIN's Sulfuran)⁷² und zum anderen Methyl-*N*-(triethylammoniumsulfonyl)carbammat (BURGESS-Reagenz)⁷³ gewählt. Im Falle des BURGESS-Reagenzes konnte keine Reaktion zu dem gewünschten Produkt beobachtet werden. Lediglich das nicht umgesetzte Startmaterial wurde dünnschichtchromatographisch detektiert (Tabelle 7, Eintrag 12). Unter Verwendung des Dehydratisierungsreagenzes MARTIN's Sulfuran konnte erfreulicherweise, wenn auch in einer moderaten Ausbeute von 56% ein Eliminierungsprodukt erhalten werden; diese Reaktion wies einen vollständigen Umsatz auf (Tabelle 7, Eintrag 13). Jedoch zeigten die NMR-spektroskopischen Analysen, dass es sich hierbei nicht um das gewünschte Produkt **27** handelt. Anstelle dessen wurde ein Produkt mit einer terminalen anstelle einer internen Doppelbindung erhalten. Durch nOe- und NOESY-Experimente sollte

⁷² F. Yokokawa, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8679-8682.

⁷³ J. S. O'Grodnick, R. C. Ebersole, T. Wittstruck, E. Caspi, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 2124-2126.

analysiert werden, auf welcher Seite sich die terminale Doppelbindung befindet; also in Orientierung zu der 3-Methylbutansäure oder zu der Aminosäure Alanin. Jedoch gaben die Experimente keinen eindeutigen Hinweis auf die Orientierung der terminalen Doppelbindung. Möglicherweise kann diese in ihrem Verhalten mit einem Propeller verglichen werden, sodass diese ständig rotiert und keine Vorzugskonformation eingenommen werden kann. Anschließend sollte die Isomerisierung der terminalen zur internen Doppelbindung untersucht werden. Hierfür wurden sowohl basische (DBU, TMG, LiOH), als auch saure (HCl, TFA, HCO₂H) Reaktionsbedingungen gewählt. Die Reaktionsansätze wurden anhand von massenspektrometrischen Daten (Vergleich der LC-MS-Läufe mit dem Startmaterial **76**) und ¹H-NMR-Daten analysiert. Lediglich unter Verwendung von konzentrierter Salzsäure konnte eine Isomerisierung der terminalen zur internen Doppelbindung beobachtet werden; diese Reaktion verlief jedoch nicht mit vollständigen Umsatz, neben dem Produkt **27** lag auch noch die Verbindung **76** vor. Des Weiteren konnte auch eine Isomerisierung der Aminosäure Alanin, welches sehr leicht bei dem Alanin aufgrund des verminderten sterischen Anspruches erfolgen kann, anhand der ¹H-NMR-spektroskopischen Daten beobachtet werden. Die anderen erprobten Reaktionsbedingungen lieferten lediglich das nicht umgesetzte Startmaterial **76**, wobei unter einigen Bedingungen eine Epimerisierung zu verzeichnen war. Weitere Studien hierzu wurden nicht mehr durchgeführt, da zu diesem Zeitpunkt ein vielversprechenderer Syntheseansatz zum Aufbau des Dehydropeptids **27** untersucht wurde (s. Kapitel 3.1.3.1.4).

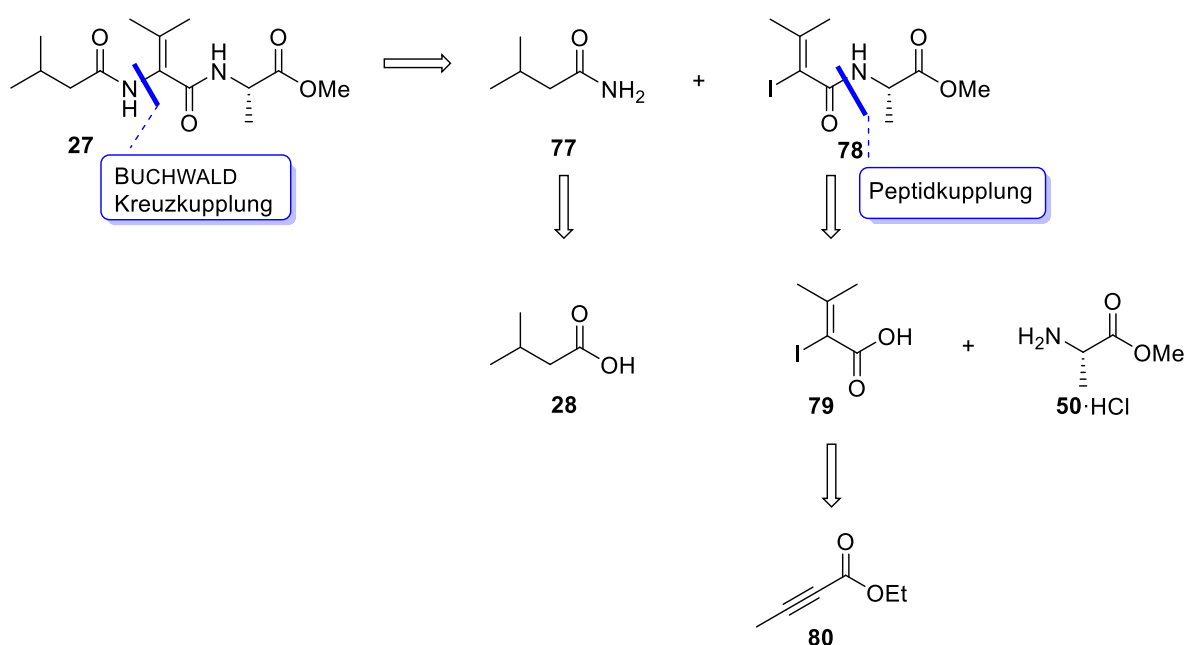
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Einführung der Doppelbindung über die Eliminierung eines tertiären Alkohols als ein interessanter Ansatz zeigte. Jedoch konnte das gewünschte Eliminierungsprodukt unter den erprobten Reaktionsbedingungen lediglich in einer Ausbeute von 16% erhalten werden. Zwar konnte im Falle des Reagenzes Bis[α,α -bis(trifluormethyl)benzenmethanolat]diphenylsulfur (MARTIN's Sulfuran) ein Eliminierungsprodukt erhalten werden, welches jedoch anstelle der gewünschten internen Doppelbindung eine Terminale aufwies; alle sich daran anschließenden Isomerisierungsexperimente (DBU, TMG, LiOH, HCl, TFA, HCO₂H) schlugen jedoch fehl.

*3.1.3.1.4 Darstellung des α,β -Dehydropeptids **27** über eine BUCHWALD-Kreuzkupplung*

Aufgrund der Tatsache, dass sich der Aufbau der α,β -Dehydroaminosäuren bzw. der -peptide in den bereits durchgeführten Synthesen nicht erfolgreich realisieren ließ (direkte Kupplung) oder unzureichende Ausbeuten lieferte (β -Eliminierung, HORNER- Kondensation),

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

wurde ein neuer retrosynthetischer Ansatz entwickelt (Schema 30). Der Schlüsselschritt der neuen Synthese des Dehydropeptids **27** sollte eine Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung des 3-Methylbutanamids (**77**) mit dem Vinylidiodid **78** beinhalten.⁷⁴ Die Verbindung **77** könnte ausgehend von der 3-Methylbutansäure (**28**) erhalten werden. Die Peptidkupplung der Carbonsäure **79** mit dem L-Alaninmethylester (**50**) sollte das Vinylidiodid **78** liefern. Der literaturbekannte Baustein **79** sollte in einer zweistufigen Synthesesequenz aus dem kommerziell erhältlichen Alkin **80** synthetisiert werden (Schema 30).⁷⁵



Schema 30: Retrosynthetischer Ansatz zur Darstellung des α,β -Dehydropeptids **27** ausgehend von 3-Methylbutansäure (**28**), Ethyl-2-butinoat (**80**) und L-Ala-OMe-HCl (**50**).

Bereits 1991 berichteten OGAWA⁷⁶ und Mitarbeiter eine Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung zwischen einem Alkenylbromid und einem Amid in Anwesenheit stöchiometrischer Mengen an Kupfer(Diodid) in Hexamethylphosphorsäuretriamid als Lösungsmittel. Die ersten milden Reaktionsbedingungen bzw. Protokolle für die Enamidsynthese über eine Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung, wurden 2000 von PORCO⁷⁷ und

⁷⁴ Einen guten Überblick über Kupfer-katalysierte Kreuzkupplungen geben: a) A. Klapars, J. C. Antilla, X. Huang, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7727-7729; b) A. Klapars, X. Huang, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7421-7428; c) F. Y. Kwong, S. L. Buchwald, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 793-796; d) L. Jiang, G. E. Job, A. Klapars, S. L. Buchwald, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3667-3669; e) D. Ma, Q. Cai, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1450-1460; f) D. S. Surry, S. L. Buchwald, *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 13-31.

⁷⁵ T. Kuranaga, Y. Sesoko, K. Sakata, N. Maeda, A. Hayata, M. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5467-5474.

⁷⁶ T. Ogawa, T. Kiji, K. Hayami, H. Suzuki, *Chem. Lett.* **1991**, 1443-1446.

⁷⁷ a) R. Shen, J. A. Porco, Jr., *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1333-1336; b) R. Shen, C. T. Lin, E. J. Bowman, B. J. Bowman, J. A. Porco, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7889-7901.

seinen Mitarbeitern entwickelt; so wurde dort die Verwendung von Kupfer(I)thiophencarboxylat als Katalysator und Cäsiumcarbonat als Base in *N*-Methylpyrrolidon (NMP) beschrieben. In 2003, publizierten dann BUCHWALD *et al.*⁷⁸ eine vielseitige Methode zum Aufbau von Enamiden unter der Verwendung von Kupfer(I)iodid, Kaliumcarbonat und *N,N*-Dimethylethylendiamin als Ligand. Ein weiteres effizientes System zum Aufbau von Enamiden wurde 2004 von MA und seinen Mitarbeitern beschrieben.⁷⁹ Diese führten Studien mit verschiedensten Aminosäuren als Liganden durch. Dabei zeigte sich, dass Alkenylhalogenide sich sehr leicht und effizient mit Amidien unter Verwendung von Kupfer(I)iodid, *N,N*-Dimethylglycin und Cäsiumcarbonat in 1,4-Dioxan kuppeln lassen. Diese drei Reaktionen ebneten den Weg für die stereoselektive Bildung von C(sp²)-N-Bindungen unter milden Reaktionsbedingungen.⁸⁰

Im Vergleich zur Palladium-Katalyse ist der Mechanismus der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung deutlich schlechter verstanden.⁸¹ Formal können zwei mögliche Wege für die Enamidbildung betrachtet werden. Im ersten Fall findet zunächst eine oxidative Addition des Alkenylhalogenids an den Kupferkomplex statt. Anschließend erfolgt die nukleophile Substitution, gefolgt von der Bildung des Kupplungsproduktes und Regenerierung der aktiven Kupferspezies. Im zweiten Fall findet zunächst die nukleophile Substitution der aktiven Kupferspezies **82** mit dem Amid **81** unter Ausbildung des Kupferamidates **83** statt. Anschließend erfolgt die oxidative Addition des Kupferamidates **83** an das Vinylhalogenid **84**, gefolgt von reduktiver Eliminierung, welche das gewünschte Kupplungsprodukt **85** frei setzt und die aktive Spezies **82** wieder regeneriert. Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, dass der Mechanismus dieser Reaktion über den nukleophilen Weg verläuft (Schema 31).⁸²

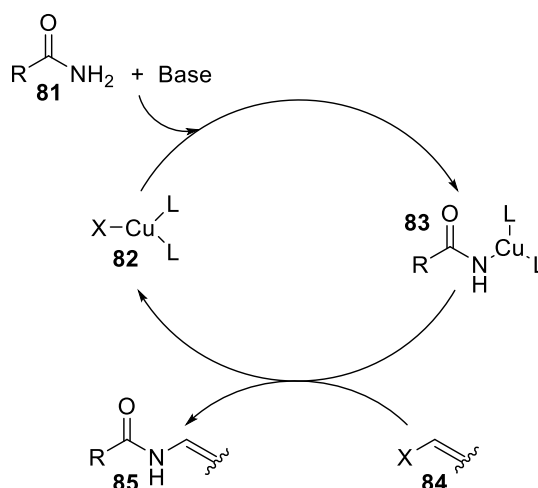
⁷⁸ L. Jiang, G. E. Job, A. Klapars, S. L. Buchwald, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3667-3669.

⁷⁹ X. Pan, Q. Cai, D. Ma, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1809-1812.

⁸⁰ T. Kuranaga, Y. Sesoko, M. Inoue, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 514-532.

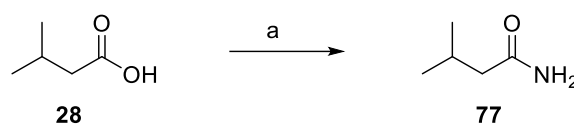
⁸¹ Mechanistische Studien sind in den folgenden Veröffentlichungen beschrieben: a) R. A. Altman, A. M. Hyde, X. Huang, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9613-9620; b) J. W. Tye, Z. Weng, A. M. Johns, C. D. Incarvito, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9971-9983; c) L. M. Huffman, S.S. Stahl, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9196-9197; d) E. R. Strieter, B. Bhayana, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 78-88; e) A. Casitas, A. E. King, T. Parella, M. Costas, S. S. Stahl, X. Ribas, *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 326-330.

⁸² F. Monnier, M. Taillefer, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7088-7105; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6954-6971.



Schema 31: Möglicher Mechanismus der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung.

Zunächst wurden die für die BUCHWALD-Kreuzkupplung benötigten Bausteine, das Amid **77** und das Vinyljodid **78**, synthetisiert. Das Amid **77** wurde ausgehend von der 3-Methylbutansäure (**28**) hergestellt, wobei diese zunächst in das korrespondierende gemischte Anhydrid unter Verwendung von Isobutylchlorformiat und der Base *N*-Methylmorpholin überführt wurde.⁷⁵ Durch Zugabe wässriger Ammoniak-Lösung erfolgte die Reaktion zu dem entsprechenden Amid **77**, welches in einer Ausbeute von 70% erhalten wurde (Schema 32).

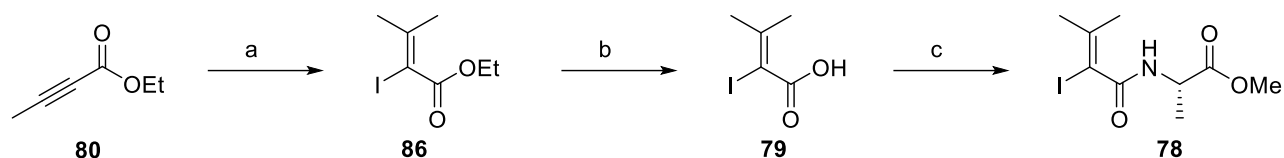


Schema 32: Synthese von 3-Methylbutanamid (**77**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) NMM, IBCF, DME, 0 °C, 15 min, *ii*) aq. NH₃-Lösung (25% ig), 0 °C → RT, 16 h, 70%.

Die Synthese des Vinyljodids **78** erfolgte unter Verwendung der von INOUE *et al.*⁷⁵ beschriebenen Reaktionsbedingungen. Die konjugierte Addition von Lithiumdimethylcuprat an Ethyl-2-butinoat (**80**), gefolgt von *in situ* Umsetzung mit einer Iod-Lösung lieferte den Ethylester **86**. Die anschließende Verseifung unter basischen Reaktionsbedingungen ergab die korrespondierende Carbonsäure **79** in einer Ausbeute von 86% über zwei Stufen. Nachfolgend sollte die Peptidkupplung des Vinyljodids **79** mit der Aminosäure L-Ala-OMe (**50**) realisiert werden. Unter Verwendung des Phosphoniumreagenzes PyAOP und des Additivs HOAt in DMF konnte das gewünschte Kupplungsprodukt **78** in sehr guter Ausbeute von 86% erhalten werden (Schema 33).

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

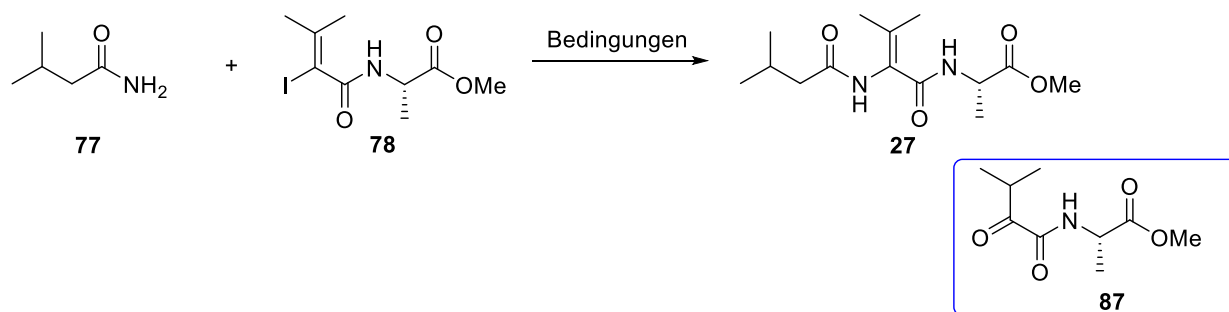


Schema 33: Synthese des Vinyliodids **78**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) CuI , MeLi (1.6 M in Et_2O), THF, -10°C , 30 min, *ii*) Alkinester **80** in THF, -78°C , 2.5 h, *iii*) I_2 in THF, -78°C , 30 min; b) LiOH , H_2O , EtOH , 60°C , 3.5 h, 86% über 2 Stufen; c) $\text{L-Ala-OMe}\cdot\text{HCl}$ (**50**), PyAOP , HOAt , DIPEA , DMF , 0°C \rightarrow RT, 23 h, 86%.

Ausgehend von den für die BUCHWALD-Kreuzkupplung benötigten Bausteinen **77** und **78** sollte die Verknüpfung beider erfolgen. Hierbei wurde auf die von INOUE *et al.*⁷⁵ entwickelte Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung, bei der es sich um eine milde Methode zur stereo- und chemoselektiven Bildung von $\text{C}(\text{sp}^2)\text{-N}$ -Bindungen primärer Amide mit Alkenyliodiden handelt, zurückgegriffen. INOUE *et al.*⁷⁵ zeigten, dass das Reagenziensystem Kupfer(I)iodid, N,N -Dimethylethylendiamin und Cäsiumcarbonat als Base am besten geeignet ist.

Bei der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung von 3-Methylbutanamid (**77**) mit dem Vinyliodid **78** zu dem N -acylierten Dehydropeptid **27** wurden verschiedene Reaktionsbedingungen untersucht (Schema 34, Tabelle 8).



Schema 34: Synthese des N -acylierten Dehydropeptids **27** via BUCHWALD-Kreuzkupplung.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Tabelle 8: Reaktionsbedingungen für die Kreuzkupplung.

Eintrag	Äquivalente Vinyljodid 78	Temperatur	Reaktionszeit	Ergebnis
1	2.00	90 °C	18 h	Zersetzung Vinyljodid ?
2	2.00	50 °C	16 h	Zersetzung Vinyljodid ?
3 ^a	1.50	50 °C	16 h	31% Produkt 27
4 ^a	1.50	70 °C	24 h	Produkt 27 ⁿ , Zersetzungsprodukt 87
5 ^a	1.50	50 °C	26 h	kein Produkt 27 , Zersetzungsprodukt 87
6 ^b	1.50	50°C oder 85 °C	24 h	Spuren an 27 , Zersetzungsprodukt 87
7 ^c	1.50	50 °C	6-24 h	Produkt 27 ⁿ , Zersetzungsprodukt 87
8 ^d	1.50	90 °C	24 h	Zersetzung
9 ^e	1.50	50°C oder 90 °C	16 h	Zersetzungsprodukt 87 , HMPA
10 ^f	1.50	RT	24 h	~ 15% Produkt 27 , Iodid 78 reisoliert (60%) ^m
11 ^f	1.50	RT	2-5 d	Spuren an 27 , Iodid 78 reisoliert (34%) ^m , Zersetzungsprodukt 87
12 ^g	1.00 oder 5.00	RT	20 h	keine Reaktion
13 ^h	2.00	RT oder 50 °C	20 h	keine Reaktion
14 ⁱ	2.00	RT	20 h	~ 10% Produkt 27 , Iodid 78 reisoliert (63%) ^m
15 ^j	2.00	RT	20 h	27% Produkt 27 , Iodid 78 reisoliert (66%) ^m
16 ^k	2.00	50 °C	22 h	Spuren an 27 , Iodid 78 reisoliert (66%) ^m
17 ^l	2.00	50 °C	22 h	35% Produkt 27, Iodid 78 reisoliert (43%) ^m
18 ^l	2.00	70 °C	20 h	35% Produkt 27, Iodid 78 reisoliert (57%) ^m
19 ^m	2.00	70 °C	20 h	25% Produkt 27 , Iodid 78 reisoliert (66%) ^m

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Reaktionsbedingungen: Amid (1.00 Äq.), CuI (0.60 Äq.), Cs₂CO₃ (2.00 Äq.), *N,N*-Dimethylethylen-diamin (4.05 Äq.), 1,4-Dioxan. ^a Das Lösungsmittel 1,4-Dioxan wurde entgast. ^b THF oder Toluol wurden anstelle von 1,4-Dioxan als Lösungsmittel verwendet. Bei der Verwendung von Toluol als Lösungsmittel diente K₂CO₃ (2.00 Äq.) als Base. ^c Konzentration des Lösungsmittels 1,4-Dioxan $c = 1.0$ M. ^d Pd₂(dba)₃ (1 mol%), verschiedene Liganden (JohnPhos, DavePhos, XPhos, RuPhos, *t*BuMePhos; 5 mol%), K₂CO₃ (1.50 Äq.), Toluol (entgast). ^e HMPA (2.00 Äq.) wurde hinzugefügt, 1,4-Dioxan (entgast). ^f CuI (1.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast). ^g Amid (5.00 Äq. oder 1.00 Äq.), CuI (1.00 Äq.), Cs₂CO₃ (2.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast), kein Ligand. ^h Verwendung von verschiedenen Liganden: TMEDA (frisch destilliert; 4.05 Äq.), Piperidin-2-carbonsäure (4.05 Äq.). Bei der Verwendung von Piperidin-2-carbonsäure als Ligand diente K₂CO₃ (2.00 Äq.) anstelle von Cs₂CO₃ als Base. ⁱ *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (4.05 Äq.), CuI (1.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast). ^j *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (4.05 Äq.), CuI (1.00 Äq.), K₂CO₃ (2.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast). ^k *N,N*-Dimethylethylen-diamin (4.05 Äq.), CuI (0.60 Äq.), K₂CO₃ (2.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast). ^l *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (4.05 Äq.), CuI (0.60 Äq.), K₂CO₃ (2.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast). ^m *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (4.05 Äq.), CuI (0.60 Äq.), Na₂CO₃ (2.00 Äq.), 1,4-Dioxan (entgast). ⁿ Die Ausbeute wurde nicht bestimmt. ^m Die Ausbeute an dem reisolieren Vinylidid **78** bezieht sich auf die eingesetzte Vinylidid-Menge.

In den anfänglich durchgeführten Studien konnte das gewünschte α,β -Dehydropeptid **27** unter Verwendung der von INOUE *et al.*⁷⁵ beschriebenen Reaktionsbedingungen nicht erhalten werden (Tabelle 8, Eintrag 1-2). Es wurde ein Produkt isoliert, welches neben einem Isopropylrest lediglich die Alaninsignale aufweist. Eventuell kann von einer teilweisen Zersetzung des Vinylidids ausgegangen werden; zu einem späteren Zeitpunkt konnte das Zersetzungsprodukt identifiziert und charakterisiert werden, dabei handelt es sich um die Verbindung **87**. Möglicherweise lässt sich diese Tatsache auf das im Lösungsmittel 1,4-Dioxan enthaltene Gas (Sauerstoff) zurückführen, welches die aktive Spezies Kupfer(I) zu Kupfer(II) oxidiert. Um dieses auszuschließen, wurde das Lösungsmittel in dem nächsten Reaktionsansatz entgast. Erfreulicherweise konnte unter diesen Reaktionsbedingungen das gewünschte α,β -Dehydropeptid **27** erhalten werden, wenn auch in einer moderaten Ausbeute von 31% (Tabelle 8, Eintrag 3).⁸³ Weitere Optimierungsstudien schlugen jedoch fehl. So wurden unter anderem verschiedene, entgaste Lösungsmittel (THF, Toluol), Reaktionstemperaturen und -zeiten, Katalysatoren (Pd in Kombination mit verschiedenen Liganden)⁸⁴, sowie Additiva (HMPA) getestet (Tabelle 8, Eintrag 4-9). In den meisten Fällen konnte lediglich ein Zersetzungsprodukt erhalten werden, bei dem es sich möglicherweise um die Verbindung **87** handelt. Das eingesetzte Vinylidid **78** konnte in fast allen durchgeführten Studien lediglich im

⁸³ Die unter diesen Reaktionsbedingungen erzielte Ausbeute war nicht reproduzierbar.

⁸⁴ X. Huang, K. W. Anderson, D. Zim, L. Jiang, A. Klapars, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6653-6655.

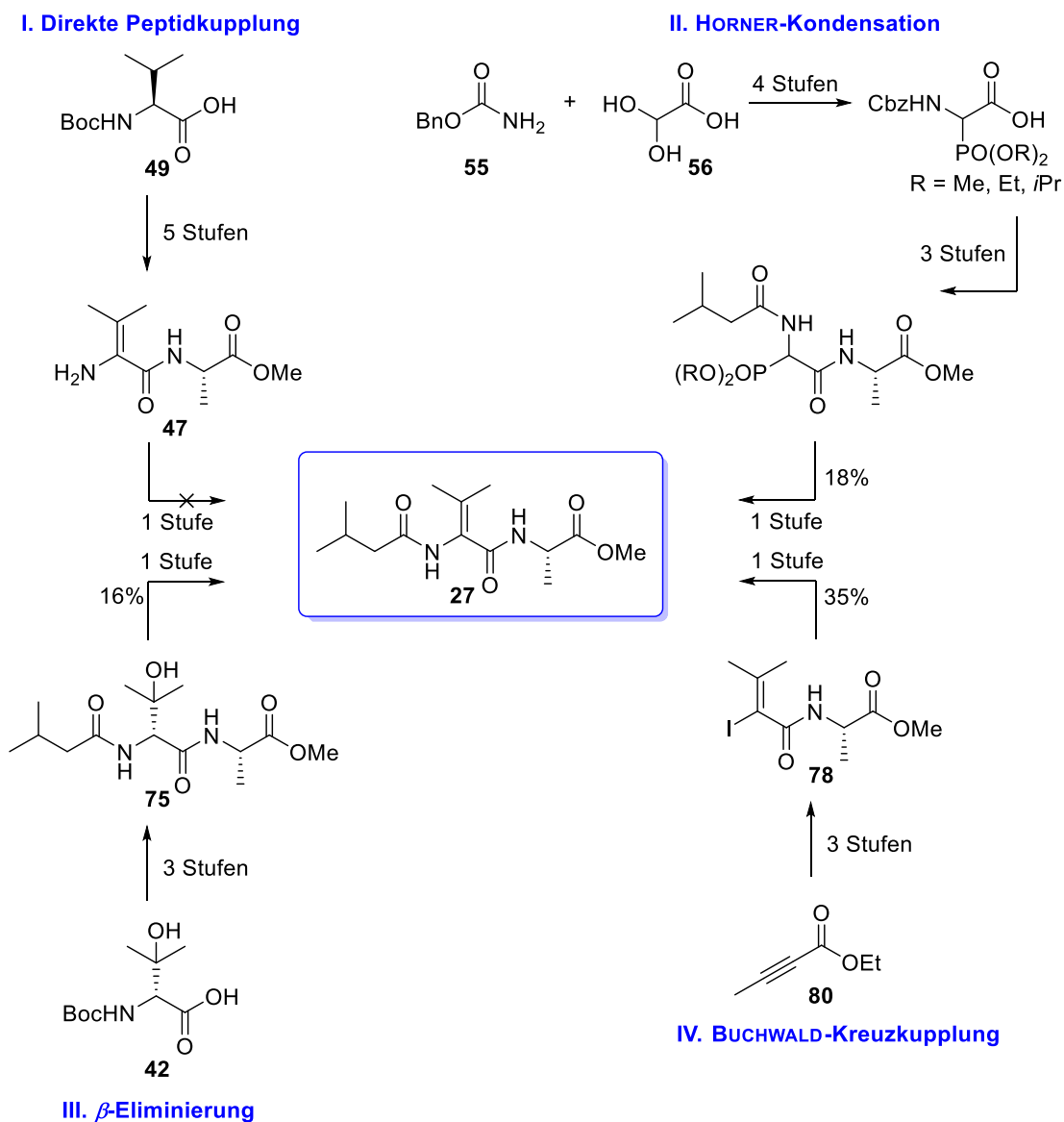
Spurenbereich reisolieren. Interessanterweise konnte bei dem Reaktionsansatz bei RT das Vinyljodid in 60% Ausbeute reisolieren werden; jedoch war auch die Ausbeute des gewünschten Produkts nicht zufriedenstellend (Tabelle 8, Eintrag 10). Die Verlängerung der Reaktionsdauer resultierte unter anderem in dem Zersetzungsprodukt **87** (Tabelle 8, Eintrag 11).

In einer weiteren Studie sollte die Kreuzkupplung unter ligandfreien Bedingungen realisiert werden; jedoch mit dem Resultat das keine Reaktion erfolgte (Tabelle 8, Eintrag 12). Auch unter Verwendung zweier weiterer Liganden *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und Piperidin-2-carbonsäure in Kombination mit Kaliumcarbonat als Base trat keine Reaktion zu dem gewünschten Produkt **27** ein (Tabelle 8, Eintrag 13). Als weiterer Ligand sollte *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin in Kombination mit den Basen Cäsiumcarbonat und Kaliumcarbonat bei RT in 1,4-Dioxan untersucht werden (Tabelle 8, Eintrag 14-15). Bemerkenswerterweise konnte das gewünschte Kupplungsprodukt **27** unter Verwendung der schwächeren Base Kaliumcarbonat in einer deutlich höheren Ausbeute von 27% erhalten werden. Im Vergleich dazu lieferte der Reaktionsansatz mit Cäsiumcarbonat als Base lediglich 10% des Dehydropeptids **27**. Anhand des erzielten positiven Ergebnisses sollte der Einfluss des Liganden für die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung untersucht werden. Dementsprechend wurde die Reaktion sowohl mit *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin als auch mit dem ursprünglichen Ligandensystem *N,N*-Dimethylethylendiamin in Kombination mit Kaliumcarbonat als Base bei 50 °C durchgeführt (Tabelle 8, Eintrag 16-17). Hierbei zeigte sich, dass der Ligand eine entscheidende Rolle spielt; unter Verwendung des anfänglich eingesetzten Ligandensystems *N,N*-Dimethylethylendiamin konnte das Dehydropeptid **27** lediglich in Spuren erhalten werden (Tabelle 8, Eintrag 16). Dem gegenüberstehend lieferte das zyklische Diamin eine Ausbeute von 35% (Tabelle 8, Eintrag 17). In beiden Fällen wurde das nicht umgesetzte Vinyljodid **78** reisolieren. Als mögliche Erklärung für diesen drastischen Unterschied kann der große Bisswinkel für das *trans-N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin angesehen werden. Somit ist eine bessere Koordinierung des Kupfers zu den Stickstoffatomen des Liganden möglich, welches letztendlich zu einer gesteigerten Reaktivität, sowie einer höheren Ausbeute führt.

Anhand dieser positiven Ergebnisse sollte versucht werden, die Ausbeute der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung durch Erhöhung der Reaktionstemperatur zu steigern. Zunächst wurde die Reaktion bei 70 °C durchgeführt. Hierbei konnte jedoch die Ausbeute nicht gesteigert werden; erfreulicherweise ließ sich aber das Vinyljodid in 57% reisolieren (Tabelle 8, Eintrag 18). Die weitere Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 90 °C führte in Spuren zu der

Zersetzung des Vinyliodids **78**. Die vollständige Zersetzung des Vinyliodids **78** trat bei einer Temperatur von 120 °C ein. Abschließend wurde der Effekt der schwächeren Base Natriumcarbonat erprobt (Tabelle 8, Eintrag 19). Unter Verwendung dieser Bedingungen wurde das gewünschte Dehydropeptid **27** in einer verminderten Ausbeute von 25% erhalten. Das Vinyliodid **78** konnte wie schon zuvor in guter Ausbeute wieder gewonnen werden.

Der Syntheseansatz über die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung eines Amids und eines Vinyliodids stellt einen äußerst interessanten und vielversprechenden Ansatz dar; so konnte das gewünschte Dehydropeptid **27** in einer Ausbeute von 35% erhalten werden. Im Hinblick auf die Tatsache, dass eine Vielzahl an Syntheserouten zum Aufbau von Dehydroaminosäuren und -peptiden erprobt wurden, bei denen bestenfalls eine Ausbeute von 18% erzielt werden konnte, ist die durch die Kreuzkupplung erzielte Ausbeute von 35% zufriedenstellend. Das Dehydropeptid **27** konnte somit in einer Ausbeute von 26% über vier Stufen (längste lineare Sequenz) hergestellt werden (Schema 35).



Schema 35: Übersicht der Routen zu dem Dehydropeptid **27**.

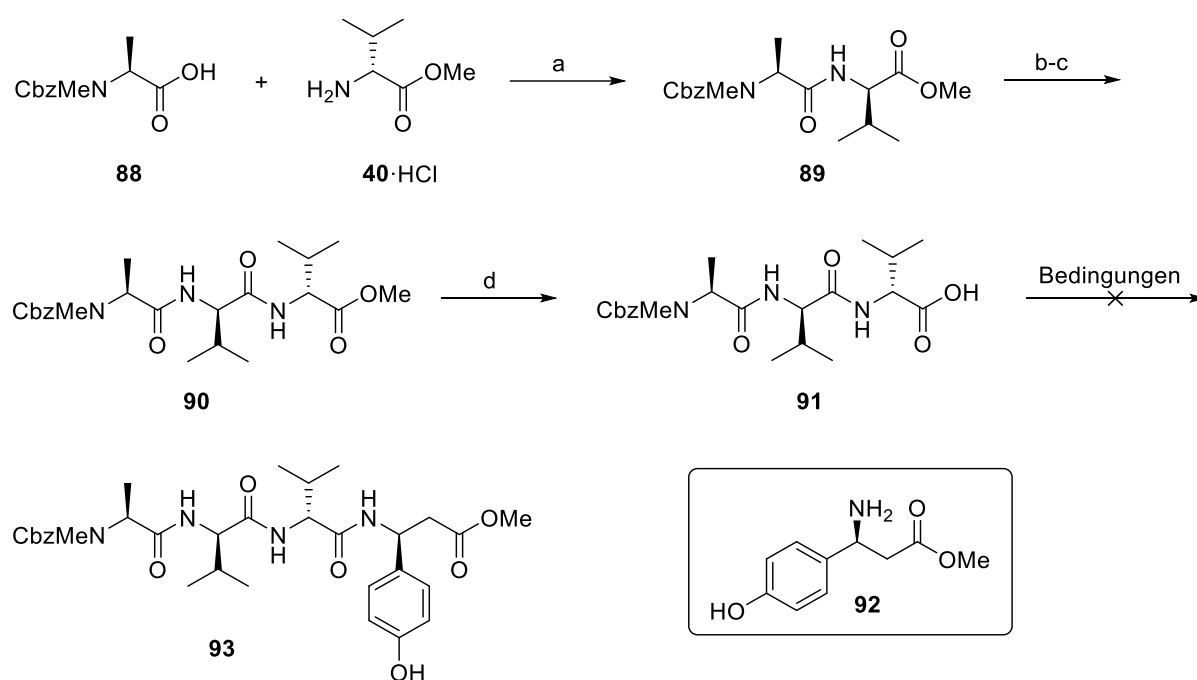
Die beiden weiteren im Naturstoff Myxoalargin vorhandenen Dehydroaminosäuren bzw. -peptidsysteme sollen daher ebenfalls über die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung eines Amids und eines Vinyljodids unter Verwendung der optimierten Reaktionsbedingungen aufgebaut werden.

3.1.3.2 Synthese des Fragments A2

3.1.3.2.1 Studien zur Darstellung des Tetrapeptids **46** ausgehend von Cbz-N-Me-L-Ala-OH (**88**)

Um weitere Fortschritte in der Darstellung des Fragments A zu erzielen, sollte ausgehend von der Cbz-geschützten Aminosäure **88** mit der Synthese des Fragments A2

begonnen werden. Die Peptidkupplung der *N*-methylierten Aminosäure **88** mit dem D-Valinmethylester (**40**) konnte unter Verwendung des Kupplungsreagenzes EDC·HCl und des Additivs HOBt erfolgreich realisiert werden. Das Peptid **89** wurde hierbei in einer exzellenten Ausbeute erhalten. Anschließend wurde unter basischen Reaktionsbedingungen der Methylester verseift. Die erneute Peptidkupplung mit dem D-Valinmethylester (**40**) lieferte das Tripeptid **90** in einer Ausbeute von 79% über zwei Stufen. Dieses konnte wiederum unter Verwendung der Reagenzien EDC·HCl und HOBt realisiert werden (Schema 36). Die anschließende Verseifung des Tripeptids **90** erfolgte mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M). Während der Hydrolyse des Esters **90** traten jedoch einige Probleme auf (s. Kapitel 3.1.3.2.3). Anschließend sollte die Peptidkupplung der Säure **91** mit dem bereits synthetisierten β -Tyrosinderivat **92**⁸⁵ (vgl. Kapitel 3.1.2) erfolgen. Hierfür wurden verschiedene Kupplungsbedingungen getestet (Tabelle 9).



Schema 36: Synthese des Tetrapeptids **93** ausgehend von Cbz-*N*-Me-L-Ala-OH (**88**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 14 h, 99%; b) LiOH (1.0 M), 1,4-Dioxan, 0 °C → RT, 6.5 h; c) D-Val-OMe-HCl (**40**), EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, 79% über 2 Stufen; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 20 h.

⁸⁵ Nach der Entfernung der Benzylschutzgruppen unter reduktiven Bedingungen mittels Pd/C und Wasserstoff in Methanol, lag das gewünschte Tyrosinderivat **35** als ein Gemisch bestehend aus Ethyl- und Methylester vor. Dabei variierte das Verhältnis beider Ester zueinander in Abhängigkeit der Reaktionsdauer und der jeweiligen Lösemittelkonzentration. In den meisten Fällen lag der Methylester als Hauptprodukt vor, sodass die Autorin in der hier vorgelegten Arbeit den Fokus auf den Methylester legt.

Tabelle 9: Reaktionsbedingungen für die Peptidkupplung von Säure **91** mit β -Tyrosin **92**.

Eintrag	Kupplungsreagenz	Additiv ^c	Base ^d	Ergebnis
1 ^a	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOBt	DIPEA	keine Reaktion
2 ^a	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	keine Reaktion
3 ^a	TBTU (1.10 Äq.)	HOBt	DIPEA	keine Reaktion
4 ^a	PyAOP (1.10 Äq.)	HOAt	DIPEA	keine Reaktion
5 ^b	PyAOP (1.10 Äq.)	HOAt	DIPEA	keine Reaktion

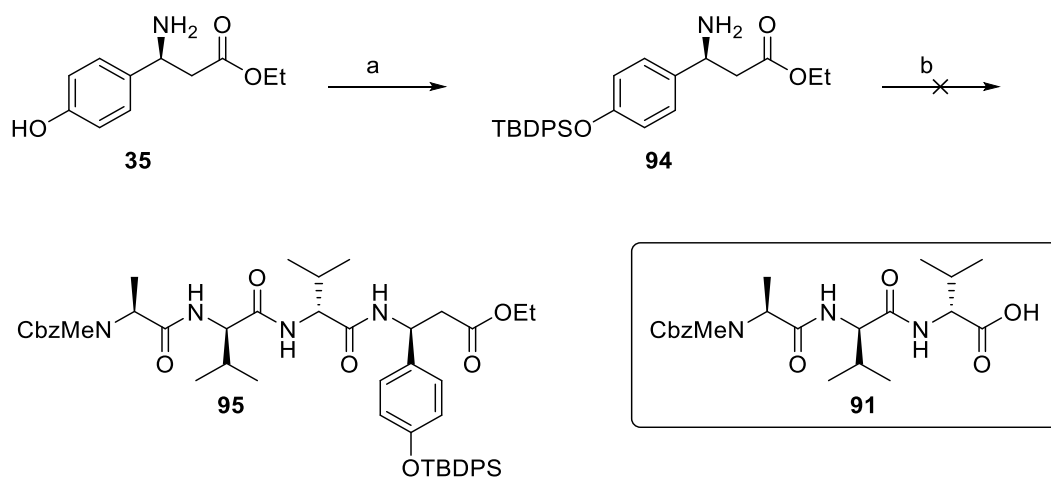
Reaktionsbedingungen: ^a CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 20 h. ^b DMF, 0 °C → RT, 20 h. ^c Sofern nicht anders angegeben, wurden von dem Additiv 1.50 Äq. verwendet. ^d Sofern nicht anders angegeben, wurden 1.50 Äq. Base verwendet.

In den anfänglich durchgeführten Studien mit dem Carbodiimid EDC·HCl und dem Additiv HOBt, der Base DIPEA in Methylenchlorid konnte das gewünschte Tetrapeptid **93** nicht erhalten werden (Tabelle 9, Eintrag 1). Auch unter der Verwendung des reaktiveren Additivs HOAt anstelle des HOBt konnte kein Kupplungsprodukt **93** erzeugt werden (Tabelle 9, Eintrag 2). In beiden Fällen trat keine Reaktion zu dem Peptid **93** ein.

Daraufhin wurde auf reaktivere Kupplungsreagenzien vom Aminium/Uronium- und Phosphonium-Typ zurückgegriffen. Auch die Verwendung des Aminiumsalzes TBTU lieferte nicht das gewünschte Tetrapeptid **93** (Tabelle 9, Eintrag 3). Das gleiche Resultat wurde mit dem Phosphoniumreagenz PyAOP erzielt (Tabelle 9, Eintrag 4-5).

3.1.3.2.2 Schützung der phenolischen Hydroxylgruppe der Aminosäure Tyrosin

Möglicherweise lassen sich die zuvor erzielten Ergebnisse auf die freie Phenolfunktionalität des Tyrosins zurückführen. Es ist bekannt, dass unter Kupplungsbedingungen *ortho*-Alkylierungen eintreten können, wenn die Hydroxylgruppe des Tyrosins nicht geschützt ist.⁴⁶ Um dieses auszuschließen, sollte die phenolische Hydroxylgruppe geschützt werden. Als Schutzgruppe hierfür wurde zunächst die *tert*-Butyl-diphenylsilylschutzgruppe (TBDPS) gewählt. Die Reaktion von β -Tyrosin **35** mit TBDPSCl und Imidazol, sowie einer katalytischen Menge an DMAP in THF lieferte den Silylether **94** in einer Ausbeute von 79%. Die nachfolgende Peptidkupplung von **94** mit dem Tripeptid **91** sollte unter Verwendung des Reagenzes PyAOP und des Additivs HOAt realisiert werden. Als Lösungsmittel wurde zum einen Methylenchlorid und zum anderen DMF gewählt. Jedoch konnte in beiden Fällen das gewünschte Tetrapeptid **95** nicht erhalten werden. Der Silylether **94** wurde hierbei unverändert zurückgewonnen (Schema 37).



Schema 37: Synthese des silylgeschützten Tetrapeptids **95**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TBDPSCl, Imidazol, DMAP, THF, 0 °C → RT, 20 h, 79%;
b) Tripeptid **91**, PyAOP, HOAt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 24 h.

In einem zweiten Ansatz sollte die Hydroxylgruppe als Allylether geschützt werden. Der Vorteil besteht darin, dass diese am Ende der Totalsynthese simultan mit den Allyloxycarbonyl- (Alloc) Schutzgruppen, welche sich auf den Stickstoffatomen der Guanidineinheiten befinden, entfernt werden kann. Zunächst sollte die Aminofunktion des Tyrosins **92** mit der *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe versehen werden. Unter basischen Bedingungen in einem 1,4-Dioxan/Wasser-Gemisch (1:1) wurde ein Boc-geschütztes Produkt in einer Ausbeute von 92% erhalten (Schema 38).⁸⁶ An dieser Stelle wurde davon ausgegangen, dass es sich hierbei um die Verbindung **96** handelt. Diese Schlussfolgerung lässt sich unter anderem darauf zurückführen, dass die Boc-Schutzgruppe auf einer Hydroxylfunktion instabil ist, da Carbonate unter wässrigen Bedingungen zerfallen. Des Weiteren wurde davon ausgegangen, dass die Aminogruppe nukleophiler ist und folglich unter den basischen Reaktionsbedingungen zunächst reagiert; zumal sich hierbei ein stabiles Carbamat bildet. Überraschenderweise konnte zu einem späteren Zeitpunkt dieser Arbeit gezeigt werden, dass diese Hypothese nicht gültig ist (s. Seite 71-72).

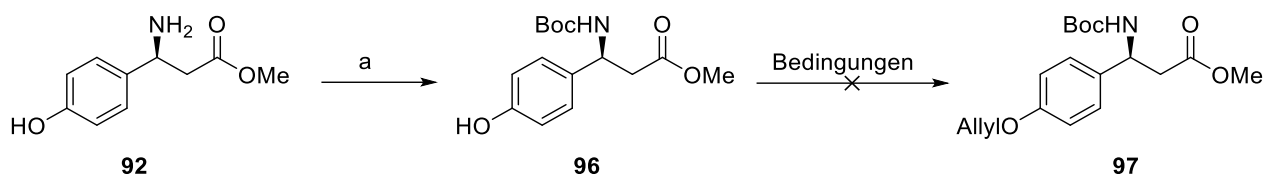
Ausgehend von der Verbindung **96** sollte die Schützung des Phenols als Allylether in einer WILLIAMSON-Ethersynthese erfolgen (Schema 38).⁸⁷ Dabei wurden verschiedenste Reaktionsbedingungen wie Lösungsmittel und Temperatur untersucht (Tabelle 10). Jedoch konnte das gewünschte Produkt **97** unter den getesteten Bedingungen nicht erhalten werden

⁸⁶ C. Bello, M. Cea, G. Dal Bello, A. Garuti, I. Rocco, G. Cirmena, E. Moran, A. Nahimana, M. A. Duchosal, F. Fruscione, P. Pronzato, F. Grossi, F. Patrone, A. Ballestrero, M. Dupius, B. Sordat, A. Nencioni, P. Vogel, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3320-3334.

⁸⁷ M. Ishizaki, M. Yamada, S.-I. Watanabe, O. Hoshino, K. Nishitani, M. Hayashida, A. Tanaka, H. Hara, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7973-7981.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

(Tabelle 10, Eintrag 1-6). In allen Fällen wurde das Startmaterial **96** in einer Ausbeute von 80% bis 99% reisoliert.⁸⁸



Schema 38: Synthese des geschützten Tyrosinderivates **97**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) (Boc)₂O, Et₃N, 1,4-Dioxan/H₂O (1:1), RT, 24 h, 92%.

Tabelle 10: Reaktionsbedingungen für die Schützung der Phenolfunktionalität des β -Tyrosins **96**.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	AllylBr, K ₂ CO ₃ , Aceton, RT, 18 h	Startmaterial 96 reisoliert (80%)
2	AllylBr, DIPEA, TBAI, DMF, RT, 24 h	Startmaterial 96 reisoliert (95%)
3	AllylBr, K ₂ CO ₃ , TBAI, DMF, RT, 24 h	Startmaterial 96 reisoliert (99%)
4	AllylBr, K ₂ CO ₃ , TBAI, DMF, 50 °C, 24 h	Startmaterial 96 reisoliert (99%)
5 ^a	AllylBr, K ₂ CO ₃ , TBAI, DMF, 50 °C, 24 h	Startmaterial 96 reisoliert (90%)
6 ^a	AllylBr, K ₂ CO ₃ , TBAI, Aceton, 50 °C, 24 h	Startmaterial 96 reisoliert (99%)

Reaktionsbedingungen: ^a Allylbromid wurde frisch destilliert verwendet.

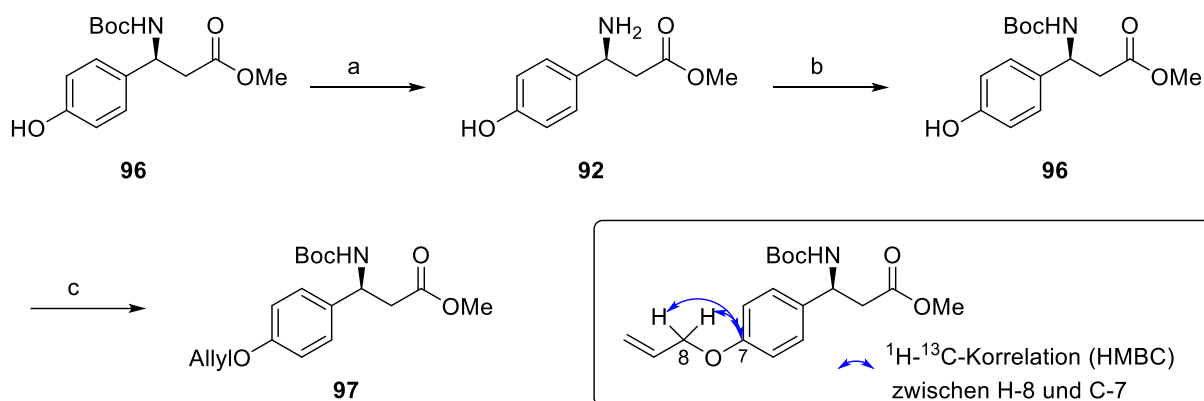
Daraufhin wurde die Boc-Schutzgruppe der Verbindung **96** unter sauren Reaktionsbedingungen entfernt. Anschließend wurde die Aminosäure **92** erneut mit der Boc-Gruppe versehen. Jedoch wurde dieses unter neutralen Reaktionsbedingungen in THF durchgeführt.⁸⁹ Wiederum konnte ein Produkt mit einer Boc-Schutzgruppe in einer Ausbeute von 93% über zwei Stufen erhalten werden. Erneut wurde davon ausgegangen, dass es sich hierbei um die Verbindung **96** handelt. Jedoch muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass im Protonen-NMR Spektrum der beiden Boc-geschützten Verbindungen unterschiedliche chemische Verschiebungen der aromatischen Protonen zu verzeichnen waren. Dieses lässt die Schlussfolgerung zu, dass zwei Tyrosinderivate hergestellt wurden, welche beide eine Boc-Schutzgruppe enthalten, jedoch an unterschiedlichen Heteroatomen. Daher sollten die Reaktionsbedingungen (basisch vs. neutral) dahingehend untersucht werden, welches Produkt sie jeweils bevorzugt liefern. So wurde das geschützte Produkt, welches unter neutralen

⁸⁸ Verwendung von DIPEA als Base: S. D. Erickson, J. A. Simon, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1305-1308.

⁸⁹ H. Kogen, N. Toda, K. Tago, S. Marumoto, K. Takami, M. Ori, N. Yamada, K. Koyama, S. Nasuto, K. Abe, R. Yamazaki, T. Hara, A. Aoyagi, Y. Abe, T. Kaneko, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3359-3362.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

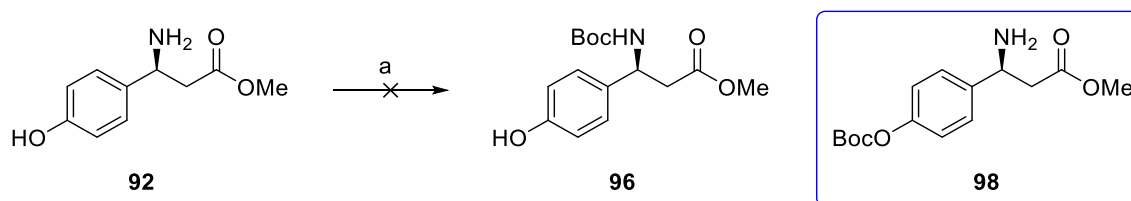
Reaktionsbedingungen erhalten wurde, in der WILLIAMSON-Ethersynthese umgesetzt. Dabei konnte unter Verwendung von frisch destilliertem Allylbromid, Kaliumcarbonat als Base und Tetrabutylammoniumiodid (TBAI) in Aceton das gewünschte Produkt **97** in 92% erhalten werden (Schema 39). Den Beweis für die Existenz des Tyrosinderivats **97** liefern die NMR-Spektren, genauer gesagt das HMBC. Anhand dieser lässt sich eine ^1H - ^{13}C -Korrelation zwischen den beiden Protonen H-8 und dem Kohlenstoff C-7 belegen (Schema 39).



Schema 39: Erneute Synthese des geschützten Tyrosinderivates **97**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TFA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 3,5 h; b) $(\text{Boc})_2\text{O}$, THF, RT, 16 h, 93% über 2 Stufen; c) AllylBr, K_2CO_3 , TBAI, Aceton, $50\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h, 92%.

So lässt sich anhand dieser Ergebnisse schlussfolgern, dass die basischen Reaktionsbedingungen nicht das gewünschte Tyrosinderivat **96** lieferten, sondern dass sich die Boc-Schutzgruppe auf der Phenolfunktionalität befand und somit eine weitere Umsetzung dieser mit Allylbromid blockierte (Schema 40).



Schema 40: Synthese des Tyrosinderivates **98**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) $(\text{Boc})_2\text{O}$, Et_3N , 1,4-Dioxan/ H_2O (1:1), RT, 24 h, 92% für **98**.

An dieser Stelle soll noch einmal auf die bereits erwähnten NMR-spektroskopischen Daten eingegangen werden (Abbildung 7). Besonders charakteristisch sind die chemischen Verschiebungen der aromatischen Signale. Des Weiteren sind geringfügige Verschiebungen im Bereich der Boc-Schutzgruppe sowohl im ^1H - als auch im ^{13}C -NMR-Spektrum zu verzeichnen.

Weiterhin zeigt das Proton am stereogenen Zentrum geringfügige Unterschiede in der chemischen Verschiebung auf.

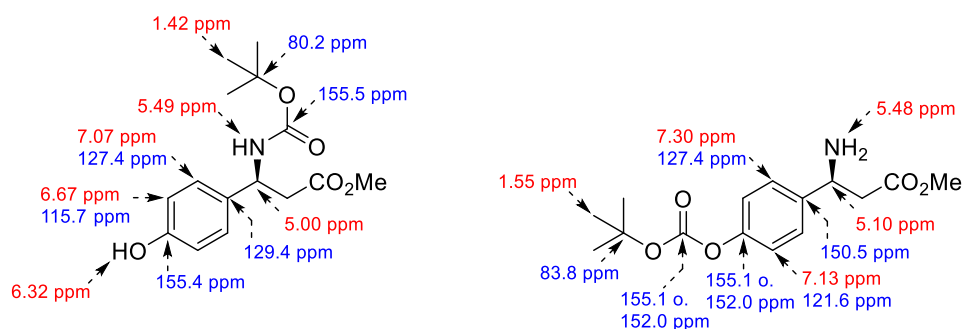
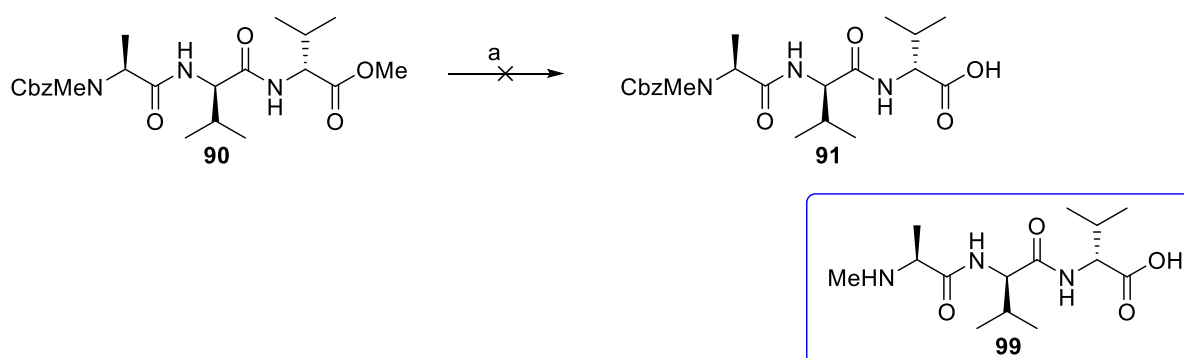


Abbildung 7: Vergleich der chemischen Verschiebungen beider Produkte ($^1\text{H-NMR}$ und $^{13}\text{C-NMR}$).

3.1.3.2.3 Peptidkupplung des Tripeptids Cbz-N-Me-L-Ala-D-Val-D-Val-OH (**90**) mit dem Tyrosinderivat **97**

Für die anschließende Peptidkupplung mit dem bereits synthetisierten Tripeptid **90** muss sowohl der Methyl ester als auch die Boc-Schutzgruppe des β -Tyrosinderivates **97** entfernt werden. Die Verseifung des Tripeptids **90** sollte unter basischen Reaktionsbedingungen realisiert werden. Überraschenderweise wurde unter diesen Bedingungen ebenfalls die Cbz-Schutzgruppe entfernt, sodass anstelle des gewünschten Produktes **91** das Amin **99** als Hauptprodukt (86%) erhalten wurde (Schema 41). Das gewünschte Tripeptid **91** lag lediglich als Nebenprodukt (~5%) vor.



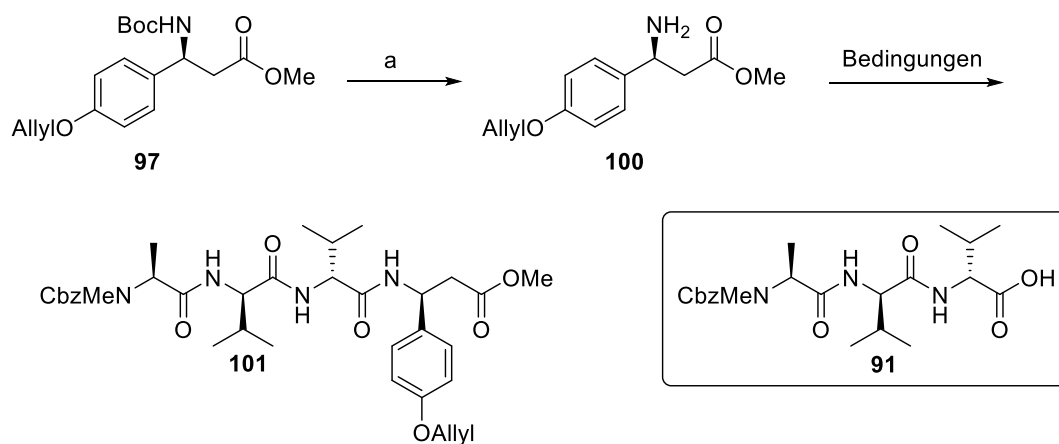
Schema 41: Verseifung des Tripeptids **90**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C \rightarrow RT, 20 h, 86% für Amin **99**.

Nachfolgend sollte die Boc-Schutzgruppe im β -Tyrosinderivat **97** entfernt werden. Dieses wurde unter sauren Bedingungen durch den Einsatz von TFA realisiert (Schema 42). Trotz der Schwierigkeiten, sowie der unzureichenden Ausbeute aus der Verseifung des

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Tripeptids **90**, sollte die Kupplung mit β -Tyrosin **100** zu dem Tetrapeptid **101** erprobt werden. Dabei wurden Kupplungsreagenzien, Basen, sowie das Lösungsmittel variiert (Tabelle 11).



Schema 42: Synthese des allylgeschützten Tetrapeptids **101**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 3 h, quant.

Tabelle 11: Reaktionsbedingungen für die Synthese des Tetrapeptids **101** ausgehend von **91** und **100**.

Eintrag	Kupplungsreagenz	Additiv ^c	Base ^d	Ergebnis ^e
1 ^a	EDC·HCl (1.25 Äq.)	HOAt	DIPEA	keine Reaktion
2 ^b	PyAOP (1.10 Äq.)	HOAt	DIPEA	keine Reaktion
3 ^b	TBTU (1.10 Äq.)	HOBt	DIPEA	keine Reaktion
4 ^b	PyBroP (1.00 Äq.)	-	DIPEA	keine Reaktion
5 ^b	PyBroP (1.00 Äq.)	-	NMM	Produkt 101 ^f

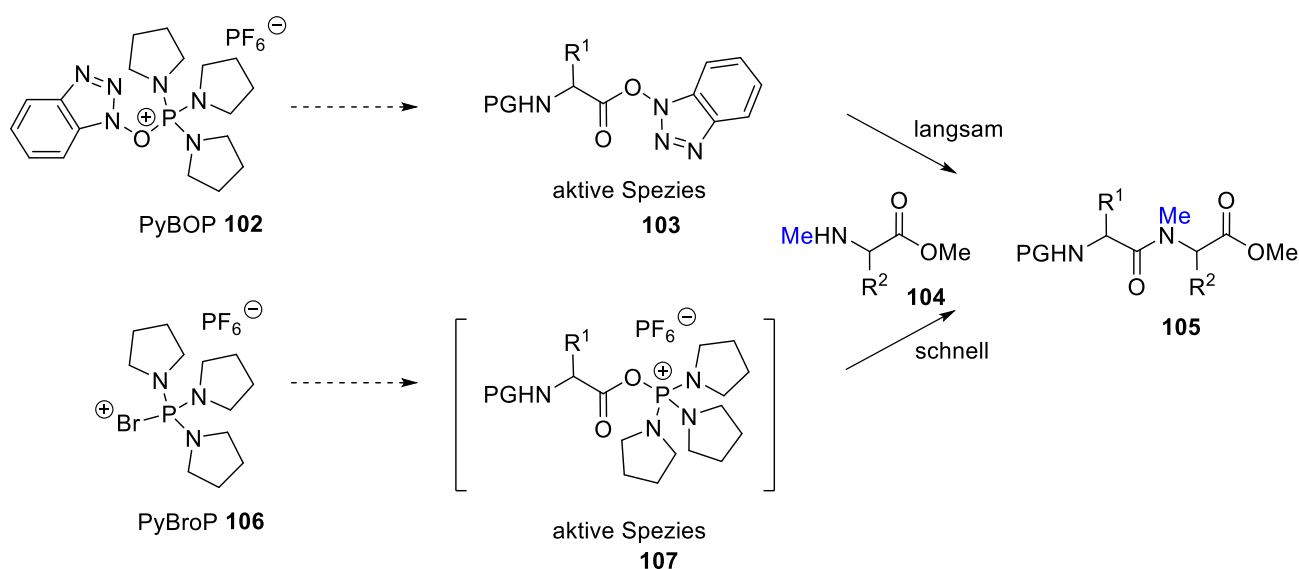
Reaktionsbedingungen: ^a DMF, 0 °C → RT, 20 h. ^b CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 20 h. ^c Sofern nicht anders angegeben, wurden von dem Additiv 1.50 Äq. verwendet. ^d Sofern nicht anders angegeben, wurden 1.50 Äq. Base verwendet. ^e Die Reaktion wurde anhand von massenspektrometrischer Analyse verfolgt. ^f Die Ausbeute wurde nicht bestimmt.

Die Kupplung des β -Tyrosinderivates **100** mit der Säure **91** sollte zunächst unter Verwendung von Carbodiimid EDC·HCl und des Additivs HOAt in DMF als Lösungsmittel realisiert werden (Tabelle 11, Eintrag 1).⁹⁰ Jedoch trat unter diesen Reaktionsbedingungen keine Reaktion zu dem Tetrapeptid ein. Auch die Reaktionen mit den reaktiveren Kupplungsreagenzien TBTU und PyAOP lieferten das gleiche Resultat (Tabelle 11, Eintrag 2-4). Wiederum konnten nur die nicht umgesetzten Startmaterialien zum Ende der

⁹⁰ X. Just-Baringo, P. Bruno, L. K. Ottesen, L. M. Cañedo, F. Albericio, M. Álvarez, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7972-7975; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7818-7821.

Reaktionszeit nachgewiesen werden. Daraufhin sollte die Peptidkupplung mit Bromotripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBroP), welches vorzugsweise für die Kupplung sekundärer Amine, verwendet wird, und mit DIPEA als Base realisiert werden (Tabelle 11, Eintrag 5). Jedoch wurde das gleiche Resultat wie zuvor erzielt. Daraufhin wurde die Reaktion wiederholt, jedoch wurde NMM anstelle von DIPEA als Base verwendet (Tabelle 11, Eintrag 6). Erfreulicherweise konnte unter diesen Reaktionsbedingungen das gewünschte Tetrapeptid **101** erhalten werden.

Sekundäre Aminosäuren gehen unter Standardkupplungsreagenzien nur äußerst langsam eine Peptidbindung mit einer weiteren Aminosäure ein, was sich auf die aktive Spezies zurückführen lässt. Der Vergleich der Phosphoniumreagenzien Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP; **102**) und PyBroP **106** zeigt sehr deutlich, dass sich im Falle der PyBOP der Aktivester **103** als aktive Kupplungsspezies bildet, welcher langsam mit der *N*-methylierten Aminosäure **104** unter Ausbildung einer Amidbindung reagiert. Im Gegensatz dazu bildet sich bei halogenierten Phosphoniumreagenzien eine Phosphor-enthaltene aktive Spezies **107**, welche äußerst schnell mit der gehinderten Aminosäure **104** eine Amidbindung eingeht (Schema 43).^{67,91}



Schema 43: Peptidkupplung sekundärer Aminosäuren.

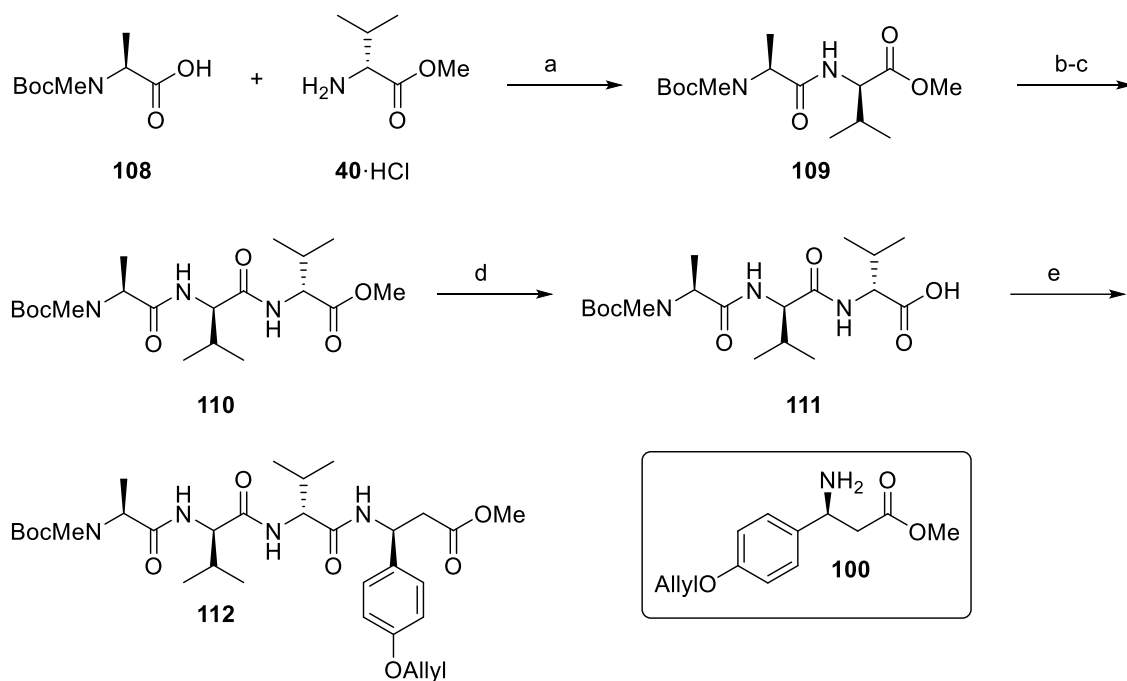
⁹¹ J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 2437-2446.

3.1.3.2.4 Änderung der Schutzgruppenstrategie: Synthese des Tetrapeptids A2 ausgehend von Boc-N-Me-L-Ala-OH (**108**)

Da sich die Cbz-Schutzgruppe als nicht stabil unter den Verseifungsbedingungen herausstellte, sollte diese durch die Boc-Schutzgruppe ersetzt werden. Die Peptidkupplung der Boc-geschützten Aminosäure **108** mit dem D-Valinmethylester (**40**) konnte unter Einsatz des Kupplungsreagenzes EDC·HCl und des Additivs HOBt erfolgreich realisiert werden. Das Peptid **109** wurde hierbei in einer exzellenten Ausbeute erhalten. Anschließend wurde unter basischen Reaktionsbedingungen der Methylester verseift. Die nachfolgende Peptidkupplung mit dem D-Valinmethylester (**40**) lieferte das Tripeptid **110** wie schon zuvor in einer exzellenten Ausbeute von 99% über zwei Stufen. Dieses konnte wiederum unter Nutzung der Reagenzien EDC·HCl und HOBt realisiert werden. Die anschließende Verseifung des Tripeptids **110** erfolgte mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M). Die darauf folgende Kupplung mit dem β -Tyrosinderivat **100** zu dem Tetrapeptid **112** gelang mittels des Phosphoniumreagenzes PyAOP⁹² und des Additivs HOAt, wobei das gewünschte Produkt in einer guten Ausbeute von 74% über zwei Stufen erhalten wurde (Schema 44).

⁹² Bemerkenswerterweise konnte unter Verwendung des Phosphoniumreagenzes PyAOP eine bessere Ausbeute erzielt werden als bei der Nutzung von PyBroP.

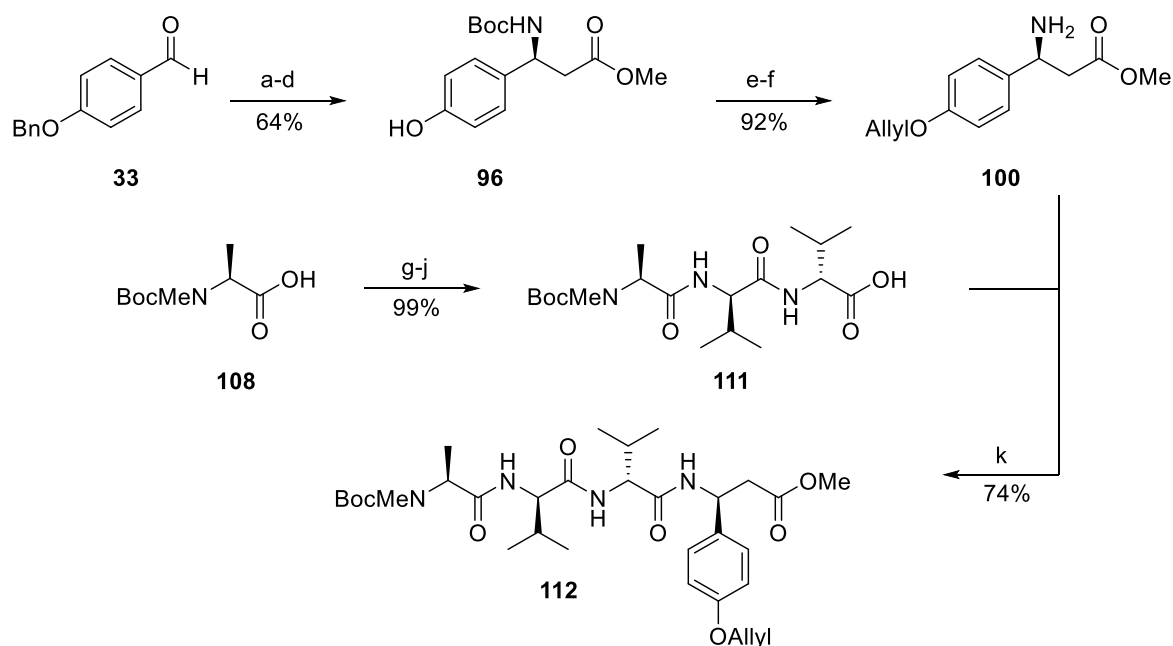
3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 44: Synthese des Tetrapeptids **112** ausgehend von Boc-*N*-Me-L-Ala-OH (**108**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, quant.; b) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 20 h; c) D-Val-OMe-HCl (**40**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 20 h, 99% über 2 Stufen; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; e) Tyrosin **100**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 26 h, 74% über 2 Stufen.

Das Tetrapeptid **112** konnte somit in 43% Ausbeute über sieben Stufen (längste lineare Sequenz) ausgehend von 4-(Benzyloxy)benzaldehyd (**33**) dargestellt werden (Schema 45).



Schema 45: Synthese des Tetrapeptids **112**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Et}$ **34**, CH_2Cl_2 , RT, 18 h, 84%, *E*-Isomer; b) *N*-Benzylphenylethylamin (**36**), *n*BuLi (2.5 M in Hexan), THF, -78°C , 12.5 h, 97%, *d.r.* > 10:1; c) Pd/C (10%), H_2 , CH_3OH , RT, 3 d; d) $(\text{Boc})_2\text{O}$, THF, RT, 15 h, 78% über 2 Stufen; e) AllylBr, K_2CO_3 , TBAI, Aceton, 50°C , 21 h, 92%; f) TFA, CH_2Cl_2 , 0°C , 3 h, quant.; g) D-Val-OMe-HCl (**40**), EDC-HCl, HOBt, DIPEA, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 16 h, quant.; h) LiOH (1.0 M), THF, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 h; i) D-Val-OMe-HCl (**40**), EDC-HCl, HOBt, DIPEA, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 h, 99% über 2 Stufen; j) LiOH (1.0 M), THF, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 16 h; k) Tyrosin **100**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 26 h, 74% über 2 Stufen.

3.1.3.3 Verknüpfung der Teilfragmente A1 und A2

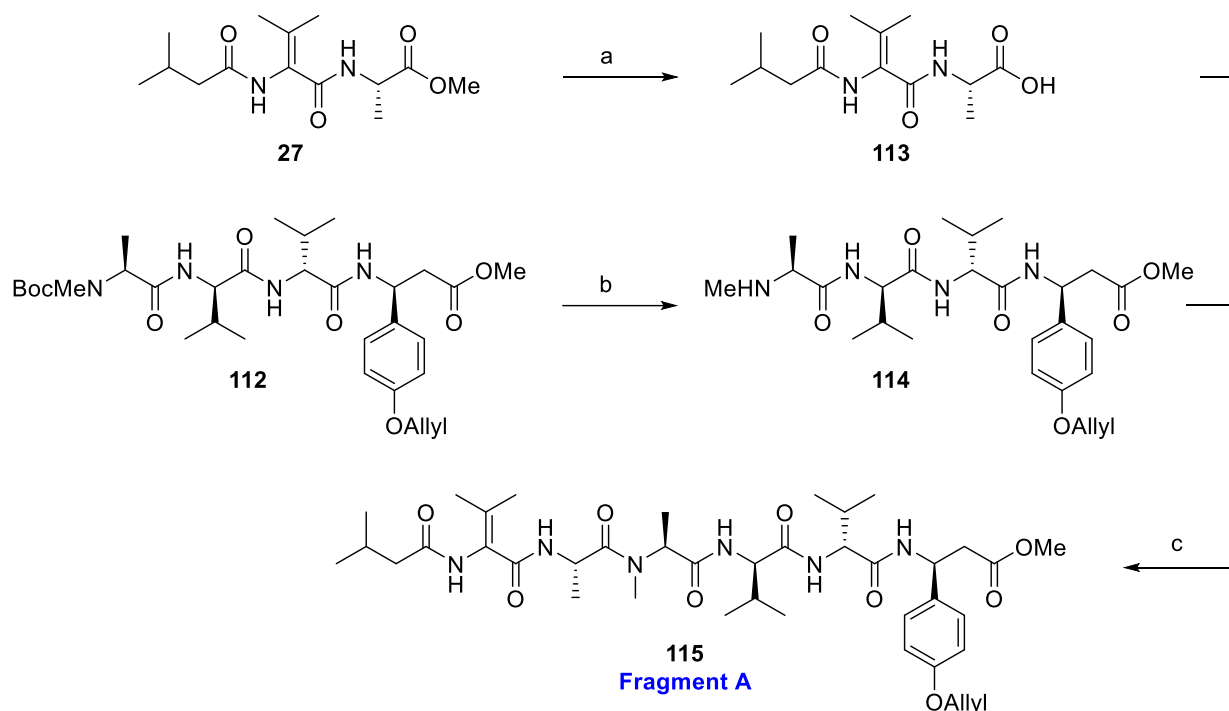
Ausgehend von dem *N*-acylierten Dehydropeptid **27** und dem Tetrapeptid **112** sollte die Synthese des Fragments A abgeschlossen werden. Um eine erfolgreiche Kupplung zu dem am Amino-Terminus acylierten Hexapeptid **115** zu gewährleisten, muss zum einen der Methyl ester des Dehydropeptids **27** verseift und zum anderen die Boc-Schutzgruppe des Tetrapeptids **112** gespalten werden. Die Esterhydrolyse konnte unter basischen Bedingungen mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M) erfolgreich realisiert werden. Die Entfernung der auf dem *N*-Methylalanin befindlichen Boc-Gruppe sollte unter LEWIS-sauren Bedingungen erfolgen; dabei fiel die Wahl auf TMSI.⁶⁸ Dieses Reagenz eignet sich hervorragend für die Entfernung von Stickstoff-Schutzgruppen wie bspw. Boc und Alloc; ebenso können unter diesen Bedingungen Ether und Ester gespalten werden. In Abhängigkeit der gewählten Reaktionszeit lässt sich eine Chemoselektivität erzielen; so werden Boc-Schutzgruppen innerhalb weniger Minuten selektiv gespalten, während alle weiteren im Molekül befindlichen Schutzgruppen

intakt bleiben. Unter diesen Bedingungen konnte das Tetrapeptid **114** problemlos und in einer quantitativen Ausbeute erhalten werden.

Für die nachfolgende Peptidkupplung des so synthetisierten Amins **114** mit der Säure **113** wurden verschiedenste Reaktionsbedingungen erprobt. Dabei fiel zunächst die Wahl auf das Uroniumreagenz *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU) in Kombination mit dem Additiv HOAt und der Base DIPEA.⁹³ Jedoch konnte unter diesen Bedingungen das Fragment A **115** lediglich in einer Ausbeute von 30% erhalten werden. Des Weiteren wurde das Reagenz PyBroP, welches vorzugsweise für die Kupplung sekundärer Amine bzw. Aminosäuren, aufgrund deren verminderter Reaktivität, zum Einsatz kommt, untersucht. Jedoch trat unter Verwendung des bromierten Phosphoniumreagenzes PyBroP keine Reaktion zu dem gewünschten Kupplungsprodukt **115** ein; lediglich die nicht umgesetzten Startmaterialien **113** und **114** konnten anhand massenspektrometrischer Daten detektiert werden. Als Nächstes sollte die Peptidkupplung unter Zuhilfenahme des Reagenzes Isobutylchlorformiat und *N*-Methylmorpholin als Base realisiert werden; dabei wird zunächst die Carboxylfunktionalität in das reaktivere gemischte Anhydrid überführt, welches dann mit dem Amin unter Ausbildung einer Amidbindung reagiert.⁶⁵ Jedoch konnte auch unter diesen Bedingungen das Fragment A in lediglich 30% Ausbeute erhalten werden. Abschließend wurden noch die Standardkupplungsbedingungen EDC·HCl und HOAt in Kombination mit der Base Natriumhydrogencarbonat in einem CH₂Cl₂/DMF-Gemisch (1:1) untersucht.⁹⁴ Erfreulicherweise konnte das gewünschte Produkt **115** unter Verwendung dieser Reaktionsbedingungen in einer für die Kupplung von sekundären Aminosäuren exzellenten Ausbeute von 77% über zwei Stufen erhalten werden (Schema 46).

⁹³ J. Tulla-Puche, N. Bayó-Puxan, J. A. Moreno, A. M. Francesch, C. Cuevas, M. Álvarez, F. Albericio, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5322-5323.

⁹⁴ Y. Chen, M. Bilban, C. A. Foster, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5431-5440.



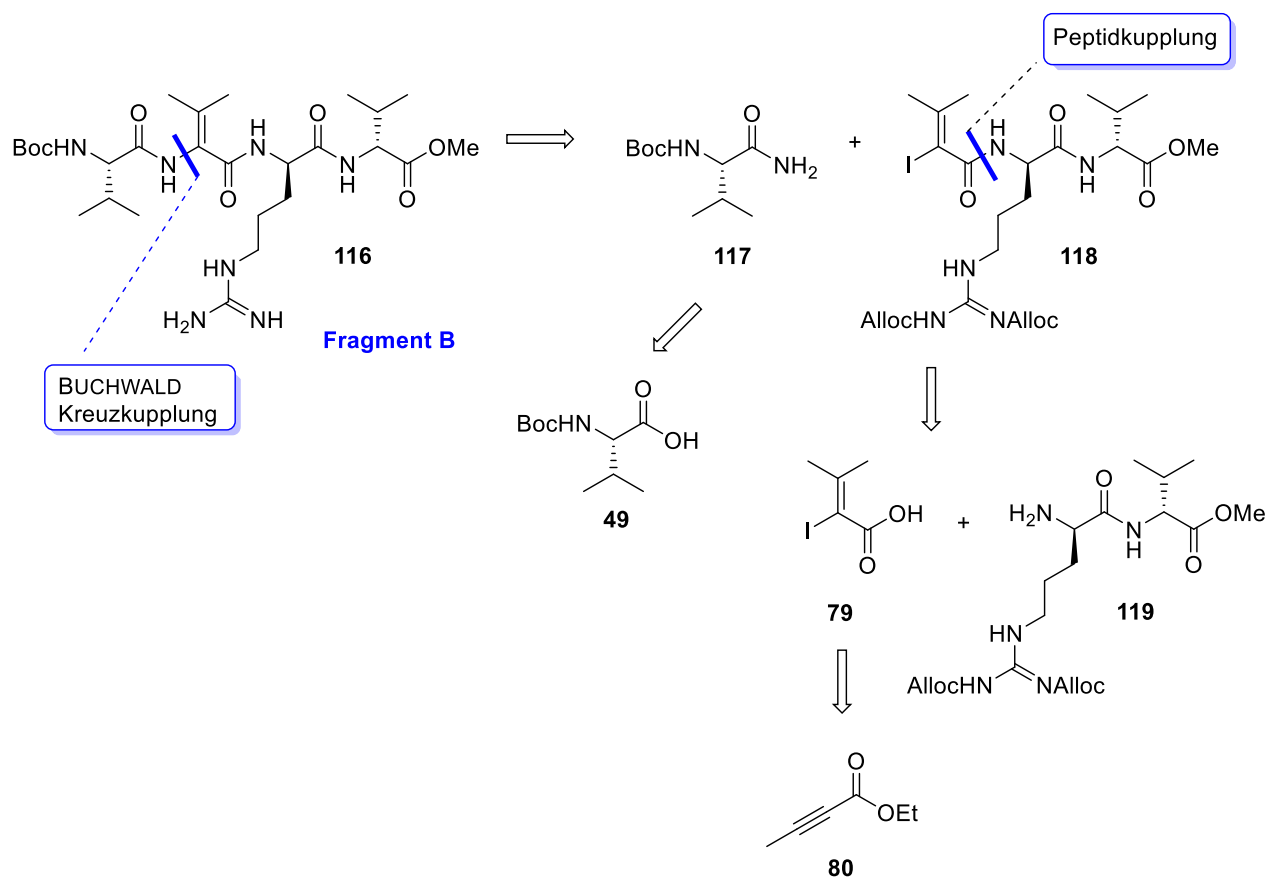
Schema 46: Synthese des Fragments A **115** ausgehend von den beiden Teilfragmenten A1 **27** und A2 **112**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 20 h; b) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min, quant.; c) EDC-HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (1:1), 0 °C → RT, 20 h, 77% über 2 Stufen.

Unter Berücksichtigung der beiden Teilfragmente A1 **27** und A2 **112** konnte das Fragment A **115** in einer Ausbeute von 33% über 9 Stufen (längste lineare Sequenz) hergestellt werden.

3.1.4 Synthese des Fragments B

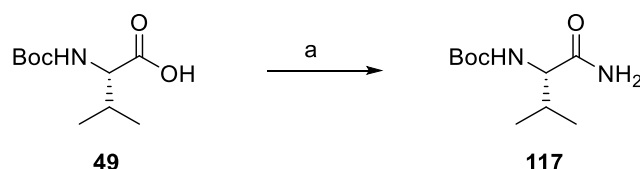
Bei dem Fragment B des Naturstoffs Myxovalargin handelt es sich um ein lineares Tetrapeptid, welches aus den Aminosäuren L-Valin, α,β -Dehydrovalin, D-Arginin, sowie D-Valin aufgebaut ist. Der Schlüsselschritt der Synthese des Fragments B ist die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung unter Verwendung der bereits etablierten Reaktionsbedingungen (Schema 47).



Schema 47: Retrosynthetischer Ansatz zur Darstellung des Fragments B ausgehend von Boc-L-Val-OH (**49**), Ethyl-2-butinoat (**80**) und Dipeptid **119**.

3.1.4.1 Kreuzkupplung von Boc-L-Val-NH₂ (**117**) mit dem Vinylidid **118**

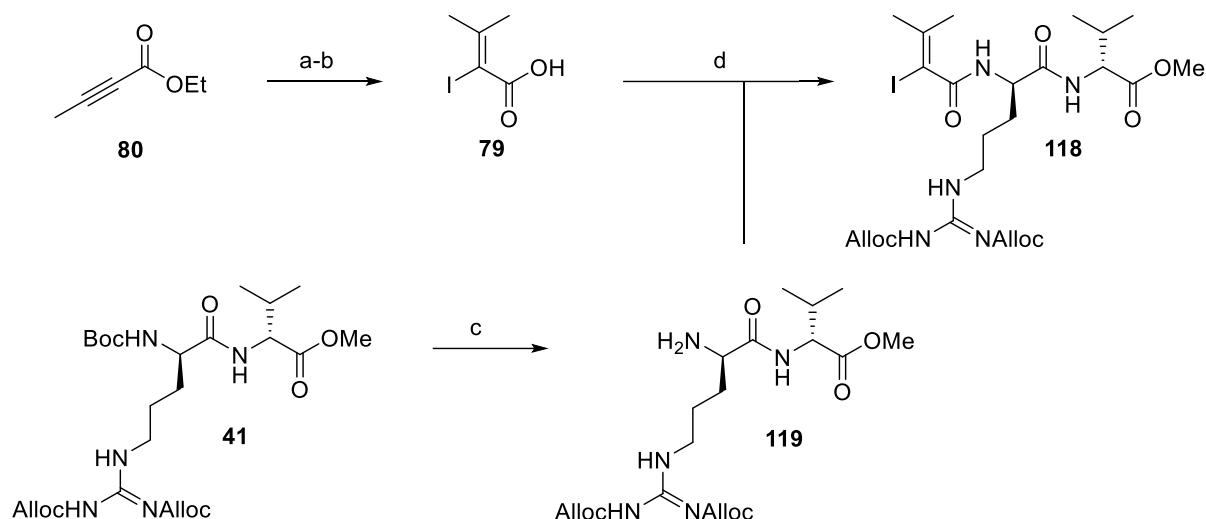
Zunächst wurden die für die Kreuzkupplung benötigten Startbausteine, das Amid **117** und das Vinylidid **118**, hergestellt. Die Synthese des Amids **117** erfolgte ausgehend von der korrespondierenden Säure **49**.⁷⁵ Unter Verwendung der bereits etablierten Reaktionsbedingungen Isobutylchlorformiat und der Base *N*-Methylmorpholin wurde zunächst das gemischte Anhydrid hergestellt, welches *in situ* durch Zugabe von wässriger Ammoniak-Lösung in das gewünschte Amid **117** überführt wurde. Dieses konnte dabei in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten werden (Schema 48).



Schema 48: Synthese von *tert*-Butyl-(*S*)-1-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamate (**117**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) NMM, IBCF, DME, 0 °C, 15 min, *ii*) aq. NH₃-Lösung (25% ig), 0 °C → RT, 22.5 h, 98%.

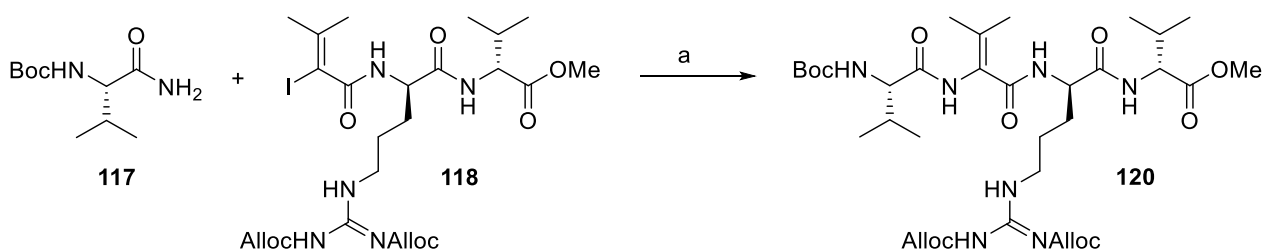
Das Vinyljodid **118** wurde ausgehend von dem Alkin Ethyl 2-butinoat (**80**), wie bereits beschrieben, synthetisiert. Die nukleophile 1,4-Addition des GILMAN-Reagenzes Lithiumdimethylcuprat an das Alkin **80**, gefolgt von *in situ* Umsetzung mit einer Iod-Lösung, sowie anschließende Verseifung unter basischen Reaktionsbedingungen lieferte die Carbonsäure **79** in guter Ausbeute von 86% über zwei Stufen. Nachfolgend sollte die Peptidkupplung des Vinyljodids **79** mit dem Dipeptid **119**, welches bereits als Boc-geschützte Verbindung in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit synthetisiert wurde, verwirklicht werden. Dafür muss zunächst die Boc-Schutzgruppe des Dipeptids **41** entfernt werden. Dieses konnte unter sauren Reaktionsbedingungen mittels TFA erfolgreich realisiert werden. Die Peptidkupplung der beiden Bausteine **79** und **119** sollte analog zu der Synthese des α,β -Dehydropeptids **27** des Fragments A erfolgen. Wie schon zuvor wurde auf das Reagenziensystem PyAOP/HOAt in *N,N*-Dimethylformamid zurückgegriffen, wobei das gewünschte Tripeptid **118** in einer sehr guten Ausbeute von 90% erhalten werden konnte (Schema 49).



Schema 49: Synthese des Vinyliodids **119**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) CuI, MeLi (1.6 M in Et₂O), THF, -10 °C, 30 min, *ii*) Alkinester **80** in THF, -78 °C, 2.5 h, *iii*) I₂ in THF, -78 °C, 30 min; b) LiOH, H₂O, EtOH, 60 °C, 3.5 h, 86% über 2 Stufen; c) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h, quant.; d) PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 23 h, 90%.

Ausgehend von den für die BUCHWALD-Kreuzkupplung benötigten Bausteinen **117** und **118** sollte die Verknüpfung beider erfolgen. Umfangreiche Optimierungsstudien zum Aufbau des Dehydropeptids **27** zeigten, dass sich das Reagenziensystem Kupfer(I)iodid, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin und Kaliumcarbonat als Base am besten eignet. Diese Reaktionsbedingungen sollten nun auf das Fragment B übertragen werden. Bedauerlicherweise ließen sich hierbei nur unzureichende Ausbeuten von 13% für das Kupplungsprodukt **120** erzielen. Auch das eingesetzte Vinyliodid **118** konnte lediglich in Spuren zurückgewonnen werden (Schema 50).



Schema 50: Synthese des Tetrapeptids **120** via BUCHWALD-Kreuzkupplung.

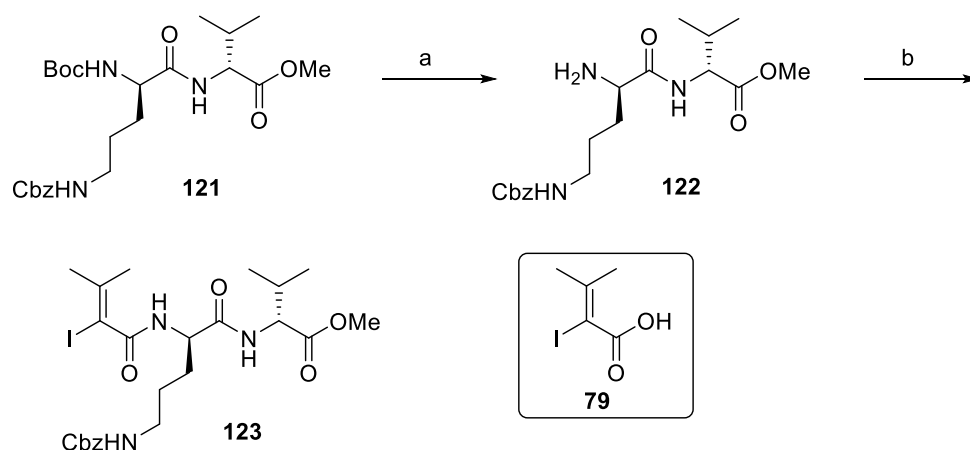
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CuI, K₂CO₃, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 22 h, 13%.

Als mögliche Ursache für die nicht zufriedenstellende Ausbeute kann die Größe des Tripeptids **118** angesehen werden. Weiterhin weist das Vinyliodid **118** eine Guanidineinheit auf. Jene könnte in der Lage sein, Kupfer stärker zu koordinieren als der eingesetzte Ligand,

sodass die gewünschte Kreuzkupplung nicht mehr bzw. unzureichend erfolgt. Dementsprechend sollte diese Reaktion im Folgenden mit einem Vinyljodid durchgeführt werden, welches die Guanidineinheit nicht enthält. Weiterhin könnte ein um die Aminosäure Valin verkürztes Dipeptid getestet werden.

3.1.4.2 Synthese der verkürzten Vinyljodide und deren Kreuzkupplung

Zunächst wurde das Vinyljodid **123** ohne die Guanidinfunktionalität ausgehend von dem vorrätigen Dipeptid **121**, welches bereits in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit synthetisiert wurde, hergestellt. Die Entfernung der Boc-Schutzgruppe unter sauren Reaktionsbedingungen lieferte das Amin **122** in quantitativer Ausbeute. Anschließend konnte die Peptidkupplung mit der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) unter Verwendung des Reagenziensystems PyAOP/HOAt in DMF, welches sich schon zuvor als erfolgreich erwiesen hatte, realisiert werden. Das gewünschte Produkt **123** wurde dabei in einer sehr guten Ausbeute von 90% erhalten (Schema 51). Es zeigte sich, dass die 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) teilweise instabil ist und zuvor frisch für die Peptidkupplung synthetisiert werden muss, da ansonsten ein Ausbeuteverlust von 45% für die Kupplung zu verzeichnen war. Der korrespondierende Ethylester der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) ist hingegen stabil und kann unter Lichtausschluss und Argonatmosphäre für mehrere Monate bei -20°C gelagert werden.



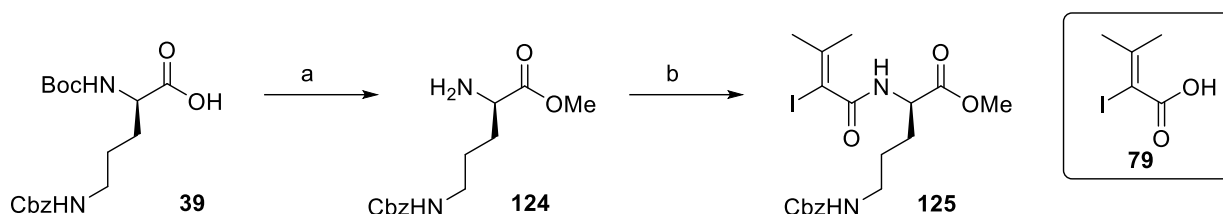
Schema 51: Synthese des Vinyljodids **123**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TFA, CH_2Cl_2 , 0°C , 2,5 h, quant.; b) Säure **79**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, $0^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 22 h, 90%.

Parallel zur Synthese der Verbindung **123** wurde an dem um die Aminosäure D-Valin verkürzten Vinyljodid **125** gearbeitet. Die Aminosäure Boc-D-Orn(Cbz)-OH (**39**) wurde

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

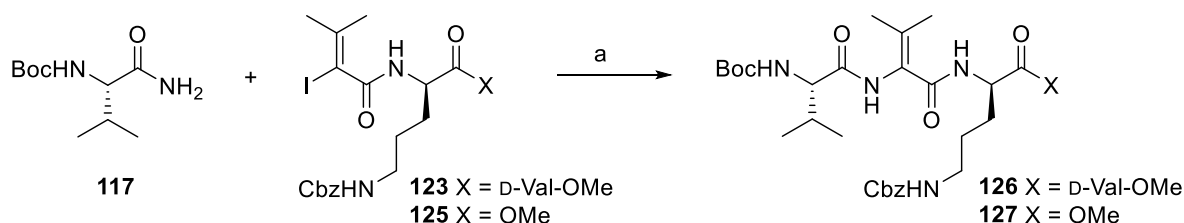
zunächst in den Methylester **124** überführt, dabei wurde unter den sauren Bedingungen die Boc-Schutzgruppe der α -Aminofunktion entfernt. Durch Peptidkupplung mit der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) konnte die Synthese des verkürzten Vinyliodids **125** abgeschlossen werden, welches in einer guten Ausbeute von 66% über zwei Stufen erhalten wurde (Schema 52).



Schema 52: Synthese des Dipeptids **125**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) SOCl_2 , CH_3OH , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h; b) Säure **79**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 22 h, 66% über 2 Stufen.

Ausgehend von den synthetisierten Vinyliodiden **123** und **125** sollte die BUCHWALD-Kreuzkupplung erprobt werden. Hierfür wurde auf die bereits optimierten Reaktionsbedingungen zurückgegriffen; so konnten erfreulicherweise die beiden gewünschten Kreuzkupplungsprodukte **126** und **127** in guter Ausbeute erhalten werden (Schema 53).

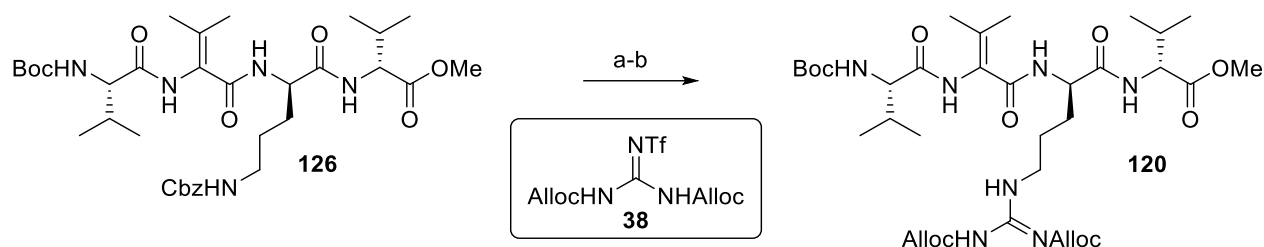


Schema 53: Synthese der Peptide **126** und **127** via BUCHWALD-Kreuzkupplung.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CuI , K_2CO_3 , *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin, 1,4-Dioxan (entgast), $70\text{ }^\circ\text{C}$, 22 h, 50% für **126**, 50% für **127**.

Basierend auf den positiven Resultaten der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung sollte die Synthese des Fragment B abgeschlossen werden. Hierfür mussten lediglich zwei weitere Stufen, die Entfernung der Cbz-Schutzgruppe der Ornithin-Seitenkette und die darauffolgende Einführung der Guanidinfunktionalität mittels des Alloc-geschützten Guanidinderivats **38**, durchgeführt werden. Für die Entfernung der Cbz-Schutzgruppe konnten keine reduktiven Bedingungen mittels Palladium und Wasserstoff gewählt werden, da diese nicht chemoselektiv sind und die Dehydroaminosäure ebenfalls reduziert werden würde. Daher fiel die Wahl auf

eine Entfernung mittels radikal-anionischer Reduktion.⁹⁵ Mithilfe von 4,4'-Di-*tert*-butylbiphenyl (DBBP) und Lithiummetall ließ sich die Cbz-Schutzgruppe entfernen. Die nachfolgende Amidinierung mit dem Guanidinderivat **38** lieferte das Fragment B **120**, jedoch in einer unzufriedenstellenden Ausbeute von lediglich 19% über zwei Stufen (Schema 54). Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass unter den reduktiven Bedingungen, welche für die Entfernung der Cbz-Schutzgruppe gewählt wurden, ebenfalls eine Reduktion der Dehydroaminosäure zum gesättigten System eintrat. Weitere Entschützungsbedingungen wurden nicht erprobt, da sie nicht chemoselektiv mit der Boc-Schutzgruppe bzw. mit dem Methylester einhergehen, sodass diese in Abhängigkeit der gewählten Bedingungen ebenfalls gespalten werden würden.



Schema 54: Fertigstellung des Fragments B **120**.

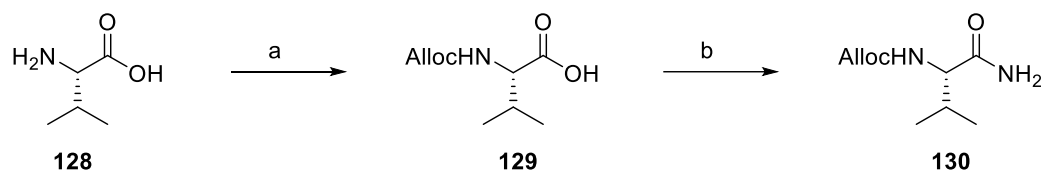
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) DBBP, Li, THF, -78 °C, 5 h; b) Guanidinderivat **38**, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 19% über 2 Stufen.

3.1.4.3 Änderung der Schutzgruppenstrategie: Synthese von Alloc-*L*-Val-NH₂ (**130**) und die der Vinyliodide **134** und **135**, sowie deren Kreuzkupplung

Basierend auf den Erkenntnissen, dass sich die Cbz-Gruppe als ungeeignet herausstellte, musste die Schutzgruppenstrategie überarbeitet werden. Anstelle der Cbz-Schutzgruppe sollte die Boc-Gruppe verwendet werden, da sich diese selektiv unter sauren Bedingungen entfernen lässt. Dementsprechend wurden die weiteren Schutzgruppen so gewählt, dass eine chemoselektive Entschützung möglich ist. So wurde anstelle des Boc-geschützten D-Ornithins **39** zum Aufbau des Vinyliodids die korrespondierende Fmoc-geschützte Aminosäure **131** verwendet. Das für die Kreuzkupplung benötigte Amid sollte die Alloc-Schutzgruppe tragen. Zunächst wurde dieses in einer zweistufigen Synthesesequenz ausgehend von *L*-Valin (**128**) hergestellt. Die Schützung der Aminofunktion mit Allylchlorformiat unter basischen Bedingungen verlief problemlos und lieferte die Säure **129** in quantitativer Ausbeute.

⁹⁵ G. Jürjens, Dissertation, *Synthese eines Ansamycin Hybrids – Studien zur Identifikation der ungewöhnlichen Azidreduktaseaktivität in A. pretiosum*, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2014.

Die nachfolgende Überführung der Carboxylfunktionalität in das entsprechende Amid **130** mit Isobutylchlorformiat, *N*-Methylmorpholin und wässriger Ammoniak-Lösung erfolgte ebenfalls problemlos und lieferte Alloc-L-Val-NH₂ (**130**) in einer sehr guten Ausbeute von 88% (Schema 55).



Schema 55: Synthese von Allyl-(*S*)-1-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbammat (**130**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) AllocCl, K₂CO₃, THF/H₂O (1:1), 0 °C → RT, 16 h, quant.; b) *i*) NMM, IBCF, DME, 0 °C, 20 min, *ii*) aq. NH₃-Lösung (25% ig), 0 °C → RT, 23 h, 88%.

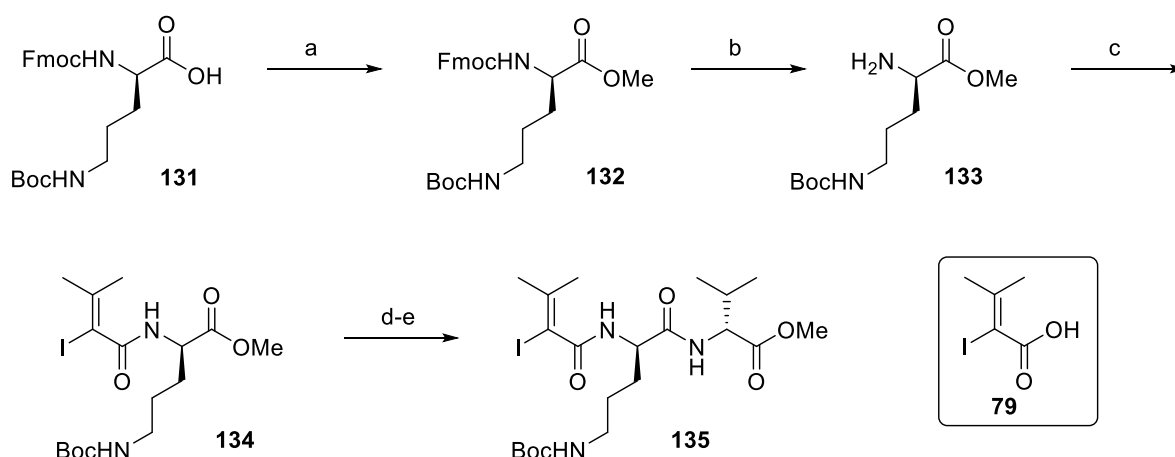
Die Synthese des Vinylidids **134** sollte ausgehend von der kommerziell erhältlichen Aminosäure Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (**131**) realisiert werden. Aufgrund der Tatsache, dass die Fmoc-Schutzgruppe sehr basenlabil ist und unter Reaktionsbedingungen, wie sie in der Peptidkupplung vorherrschen, abgespalten werden kann, sollte die Aminosäure Ornithin zunächst in den korrespondierenden Methylester **132** überführt und anschließend die Fluorenylmethoxycarbonyl- (Fmoc) Schutzgruppe entfernt werden, um so die Peptidkupplung mit dem Vinylidid **79** zu realisieren. Für die Methylesterbildung wurden neutrale und milde Reaktionsbedingungen gewählt, sodass die beiden Schutzgruppen (Boc und Fmoc), vor allem die Boc-Gruppe, intakt bleiben. Dabei fiel die Wahl auf TMS-Diazomethan in Toluol und Methanol als Lösungsmittel; so konnte unter diesen Reaktionsbedingungen der Methylester **132** in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Nachfolgend sollte die Fmoc-Schutzgruppe unter basischen Bedingungen entfernt werden. Dieses konnte unter Zuhilfenahme von Tris(2-aminoethyl)amin erfolgreich realisiert werden und lieferte ohne Probleme das Amin **133**.^{96,97} Die nachfolgende Peptidkupplung desamins **133** mit der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) lieferte das für die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung benötigte Vinylidid **134** in einer sehr guten Ausbeute von 86%. Dabei wurde wieder auf das bereits etablierte Reagenziensystem PyAOP/HOAt in *N,N*-Dimethylformamid zurückgegriffen. Ebenso sollte die BUCHWALD-Kreuzkupplung mit dem um die Aminosäure D-Valin verlängertem Vinylidid **135** erprobt werden. Hierfür wurde zunächst der Methylester **134** unter basischen Bedingungen verseift. Die

⁹⁶ L. A. Carpino, D. Sadat-Aalae, M. Beyermann, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1673-1675.

⁹⁷ P. Lewer, R. R. Graupner, D. R. Hahn, L. L. Karr, D. O. Duebelbeis, J. M. Lira, P. B. Anzeveno, S. C. Fields, J. R. Gilbert, C. Pearce, *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1506-1510.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

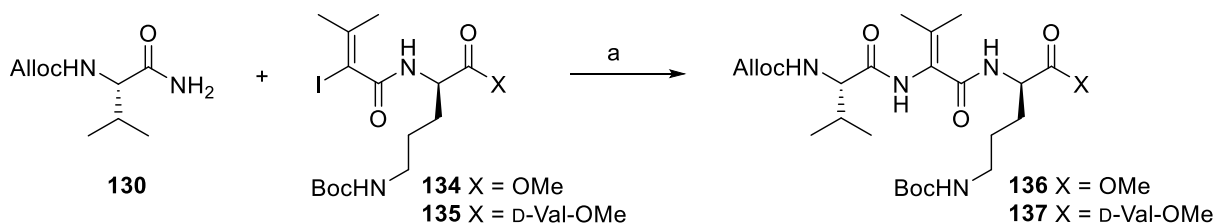
darauffolgende Peptidkupplung mit dem D-Valinmethyl ester (**40**) lieferte das gewünschte Vinylid **135** in einer sehr guten Ausbeute von 87% über zwei Stufen (Schema 56).



Schema 56: Synthese der Vinylidide **134** und **135**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TMSCHN₂ (2.0 M in Et₂O), Toluol, CH₃OH, 0 °C → RT, 22 h, quant.; b) (NH₂CH₂CH₂)₃N, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 3 h, 92%; c) Säure **79**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 22 h, 86%; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; e) D-Val-OMe·HCl (**40**), PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 23 h, 87% über 2 Stufen.

Ausgehend von den synthetisierten Vinylididen **134** und **135** sollte die BUCHWALD-Kreuzkupplung dieser mit dem Alloc-geschützten Amid **130** erprobt werden. Umfangreiche Optimierungsstudien zum Aufbau des Dehydropeptids **27** zeigten, dass sich das Reagenziensystem Kupfer(I)iodid, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin und Kaliumcarbonat als Base am besten eignet. Diese Reaktionsbedingungen sollten nun in der Kreuzkupplung zum Aufbau des Fragments B Anwendung finden. Bedauerlicherweise ließen sich hierbei nur unzureichende Ausbeuten von 11% bzw. 13% erzielen (Schema 57).



Schema 57: Synthese der Peptide **136** und **137** via BUCHWALD-Kreuzkupplung.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CuI, K₂CO₃, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 22 h, 11% für **136**, 13% für **137**.

Diese Resultate lassen die Schlussfolgerung zu, dass nicht die Guanidineinheit des Vinylidids **118** als Ursache für die schlechte Ausbeute in der Kupfer-katalysierten

Kreuzkupplung zu betrachten ist, sondern der Allylrest der Alloc-Schutzgruppe. Jener könnte in der Lage sein, Kupfer zu koordinieren, sodass sich ähnlich wie bei Palladium ein Allyl-Kation bildet.

Der Vergleich der Kreuzkupplungsausbeuten der einzelnen Vinyl iodide mit den beiden Amiden, mit Boc- bzw. Alloc-Schutzgruppe, zeigt sehr deutlich, dass im Falle des verwendeten Boc-L-Val-NH₂ (**117**) Ausbeuten von 50% erzielt wurden. Dem gegenüber stehen Ausbeuten von 11% bzw. 13%, welche aus den Reaktionen resultieren bei denen mindestens eine Alloc-Gruppe involviert war. Dementsprechend lässt sich in Abhängigkeit der verwendeten Schutzgruppe ein Trend in der Ausbeute dieser Kupfer-katalysierten Reaktion verzeichnen.

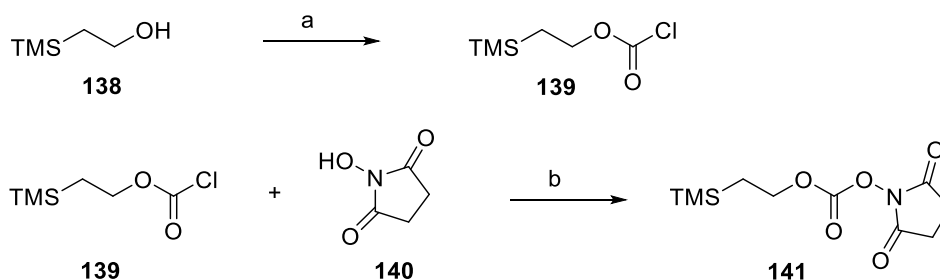
3.1.4.4 Synthese von Teoc-L-Val-NH₂ (143) und dessen Verhalten in der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung

Resultierend aus den zuvor gewonnenen Erkenntnissen musste die Schutzgruppenstrategie hinsichtlich des Amides für die BUCHWALD-Kreuzkupplung überarbeitet werden. Dabei sollte diese so gewählt werden, dass eine chemoselektive Entschützung möglich ist. Standardschutzgruppen wie Cbz und Benzyl eignen sich an dieser Stelle leider nicht, da bei deren reduktiver Entfernung keine Chemoselektivität hinsichtlich der Dehydroaminosäure erzielt werden kann. Im Falle der Cbz-Gruppe konnte bereits gezeigt werden, dass sich diese als unzureichend herausstellte. Ebenso sollte die Fmoc-Schutzgruppe, die standardmäßig für die Festphasenpeptidsynthese verwendet wird, vermieden werden, da diese sehr leicht unter basischen Bedingungen gespalten werden kann; weiterhin kann es bei der Reinigung der Produkte zu Problemen kommen, wobei sich die Trennung des gewünschten Produktes von dem Fmoc-Abbauprodukt (9-Methylen-9H-fluoren) als schwierig erweist. Säurelabile Schutzgruppen eignen sich ebenso nicht, da wiederum die Chemoselektivität mit der Boc-Gruppe nicht gewährleistet werden kann. Aufgrund dessen fiel die Wahl auf die 2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl- (Teoc) Schutzgruppe, welche anhand von Tetraalkylammoniumfluoriden, starken Säuren, sowie LEWIS-Säuren entfernt werden kann.⁹⁸

Da es sich bei dem (2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyloxy)chlorid- (TeocCl) Reagenz um eine käuflich nicht zugängliche Verbindung handelt, wurde dieses nach der Vorschrift von RICH *et al.*⁹⁸ hergestellt. Ausgehend von 2-Trimethylsilylethanol (**138**) und Phosgen (20% in Toluol) konnte TeocCl **139** problemlos synthetisiert werden. Anschließend wurde dieses Reagenz in das aktivierte gemischte Carbonat 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-

⁹⁸ R. E. Shute, D. H. Rich, *Synthesis* **1987**, 346-349.

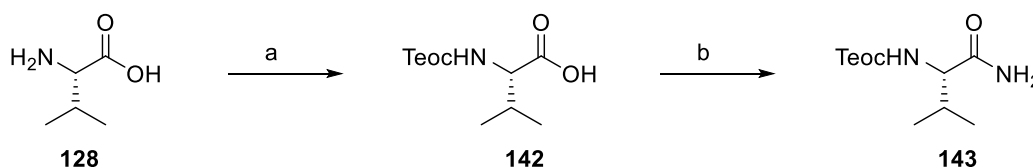
2(trimethylsilyl)ethylcarbonat (TeocOSu; **141**) überführt. Dazu wurde TeocCl **139** mit *N*-Hydrosuccinimid (NHS; **140**) umgesetzt, wobei das gewünschte Produkt **141** in einer sehr guten Ausbeute von 85% über zwei Stufen erhalten wurde (Schema 58). Anstelle von NHS kann auch HOBt zur Aktivierung verwendet werden. Im Gegensatz zu TeocOSu kann allerdings bei dem gemischten Carbonat 1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-yl-2-(trimethylsilyl)ethylcarbonat (TeocOBt) Oligopeptidbildung auftreten.⁹⁸



Schema 58: Darstellung des aktivierten Teoc-Reagenzes TeocOSu **141**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) K_2CO_3 , Toluol, $-10\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min, dann RT, 60 min; b) NHS **140**, Et_3N , CH_3CN , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow RT$, 16 h, 85% über 2 Stufen.

Die Synthese des Teoc-geschützten Amids **143** konnte ausgehend von der kommerziell erhältlichen Aminosäure L-Valin (**128**) erfolgreich realisiert werden. Die Schützung der Aminofunktion mit dem zuvor hergestellten TeocOSu-Reagenz **141** unter basischen Bedingungen lieferte die Säure **142**. Die nachfolgende Überführung der Carboxylfunktionalität in das entsprechende Amid **143** mit Isobutylchlorformiat, *N*-Methylmorpholin und wässriger Ammoniak-Lösung erfolgte problemlos und lieferte Teoc-L-Val-NH₂ (**143**) in quantitativer Ausbeute (Schema 59).



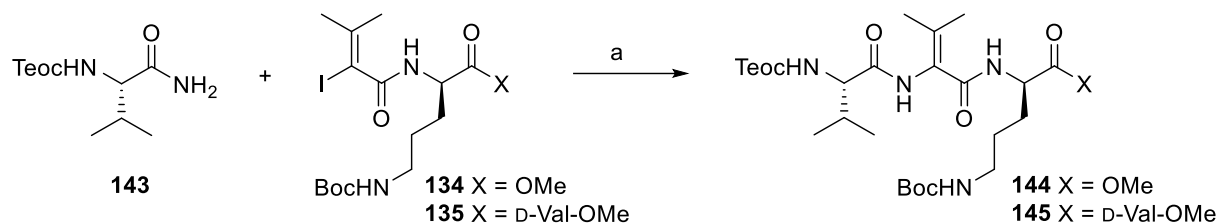
Schema 59: Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-(*S*)-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat (**143**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TeocOSu **141**, Et_3N , 1,4-Dioxan/ H_2O (1:1), RT, 15 h; b) *i*) NMM, IBCF, DME, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 20 min, *ii*) aq. NH_3 -Lösung (25% ig), $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow RT$, 23 h, quant. über 2 Stufen.

Ausgehend von den bereits synthetisierten Vinyljodiden **134** und **135** sollte die BUCHWALD-Kreuzkupplung dieser mit dem Teoc-geschützten Amid **143** erprobt werden. Hierfür wurde auf die bereits optimierten Reaktionsbedingungen (Kupfer(I)iodid, *trans-N,N*-

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin und Kaliumcarbonat) zurückgegriffen; so konnten erfreulicherweise die beiden gewünschten Kreuzkupplungsprodukte **144** und **145** in einer moderaten bzw. guten Ausbeute erhalten werden (Schema 60).

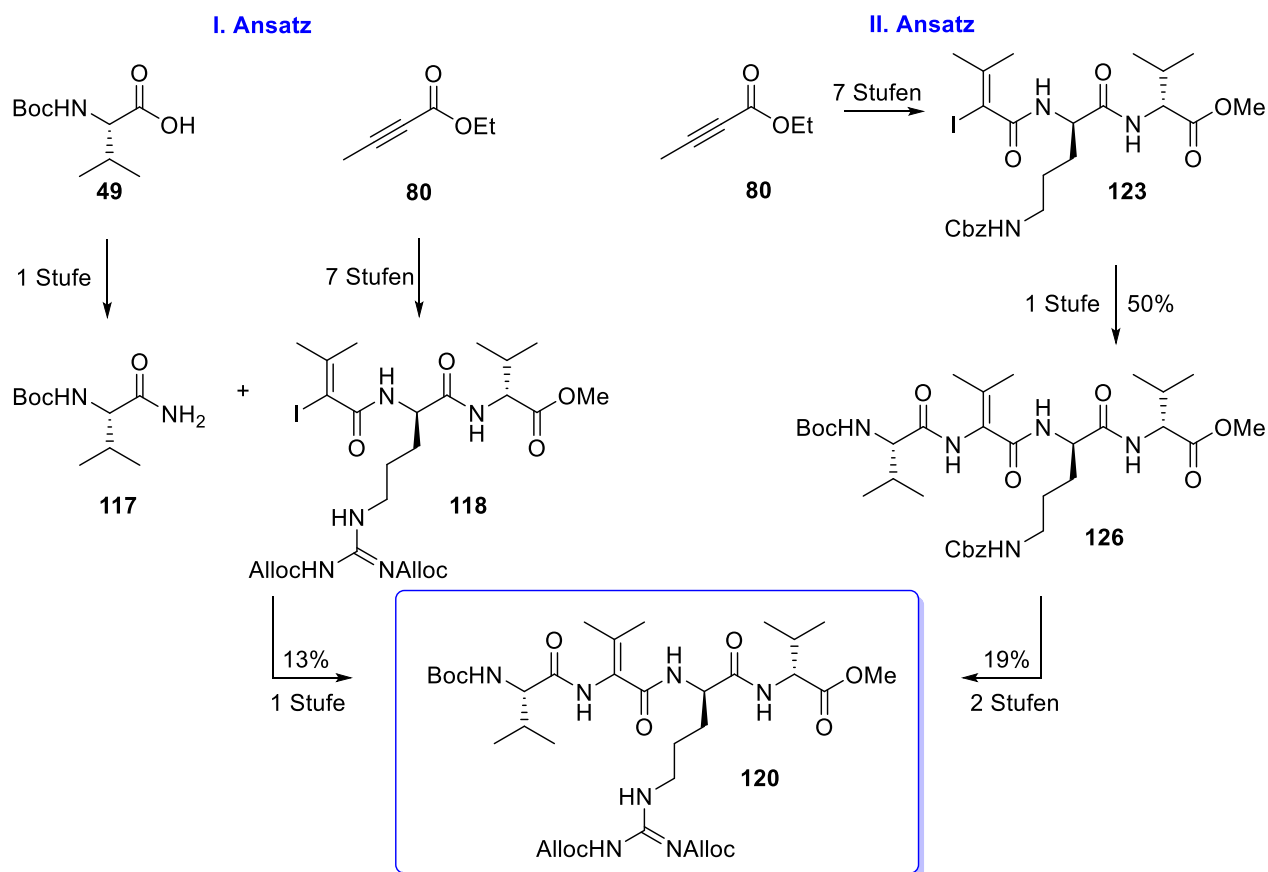


Schema 60: Synthese der Peptide **144** und **145** via BUCHWALD-Kreuzkupplung.

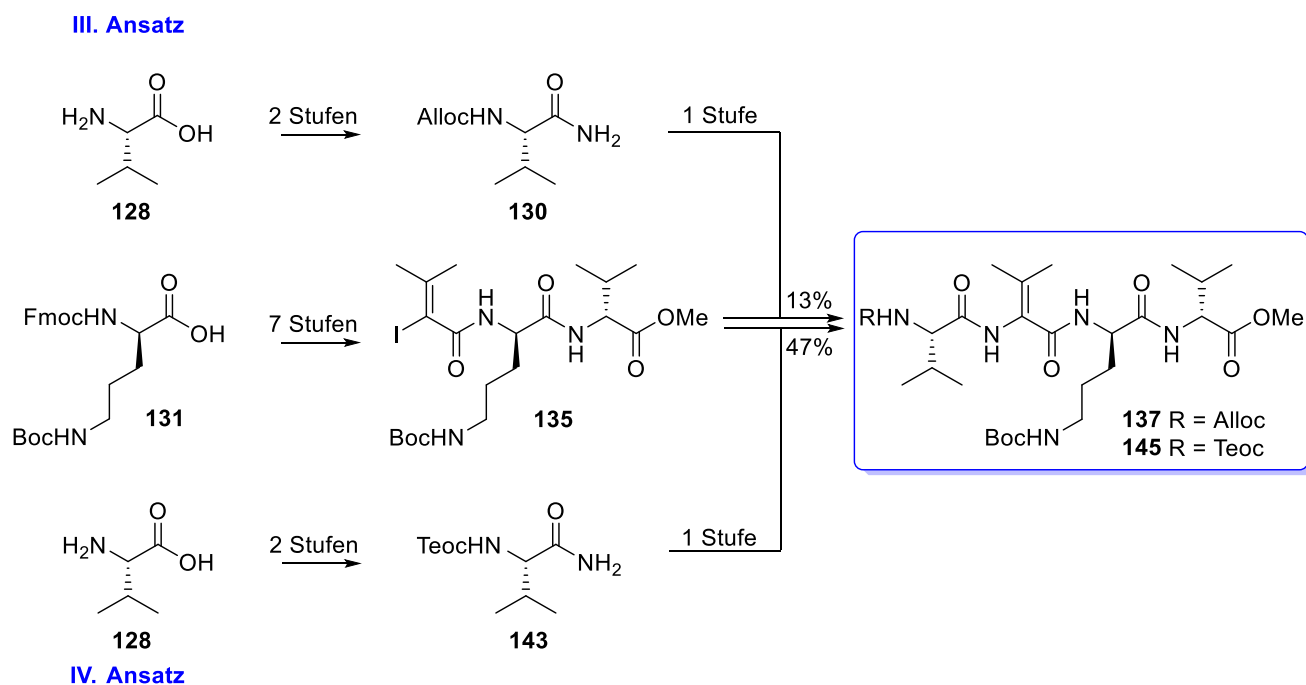
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CuI, K₂CO₃, *trans*-N,N-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 18 h, 33% für **144**, 47% für **145**.

Damit konnte ein synthetischer Zugang zu dem Fragment B entwickelt werden. Der erste Ansatz lieferte das Tetrapeptid **120** über die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung mit einer Ausbeute von 13%. In dem zweiten Ansatz wurde dann das Vinyljodid **123** ohne die Guanidinfunktionalität verwendet, so konnte das Tetrapeptid **126** in einer für diese Reaktion guten Ausbeute von 50% erhalten werden. Jedoch lieferten die Cbz-Entschützung und die sich daran anschließende Amidinierung das Fragment B **120** in lediglich 19% (Schema 61). Für den dritten Syntheseansatz wurde das Alloc-geschützte Amid **130** für die BUCHWALD-Kreuzkupplung verwendet. Es zeigte sich jedoch, dass die Alloc-Schutzgruppe nicht geeignet ist und das gewünschte Produkt **137** wurde in 13% Ausbeute erhalten. Im letzten Syntheseansatz wurde ein Teoc-geschütztes Amid **143** verwendet; erfreulicherweise konnte so das Kreuzkupplungsprodukt **145** in einer guten Ausbeute von 47% isoliert werden. Das Tetrapeptid **145** wurde damit in einer Gesamtausbeute von 32% über sechs Stufen (längste lineare Sequenz) hergestellt (Schema 62).

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 61: Übersicht der Routen zu dem Fragment B: Ansatz I und II.



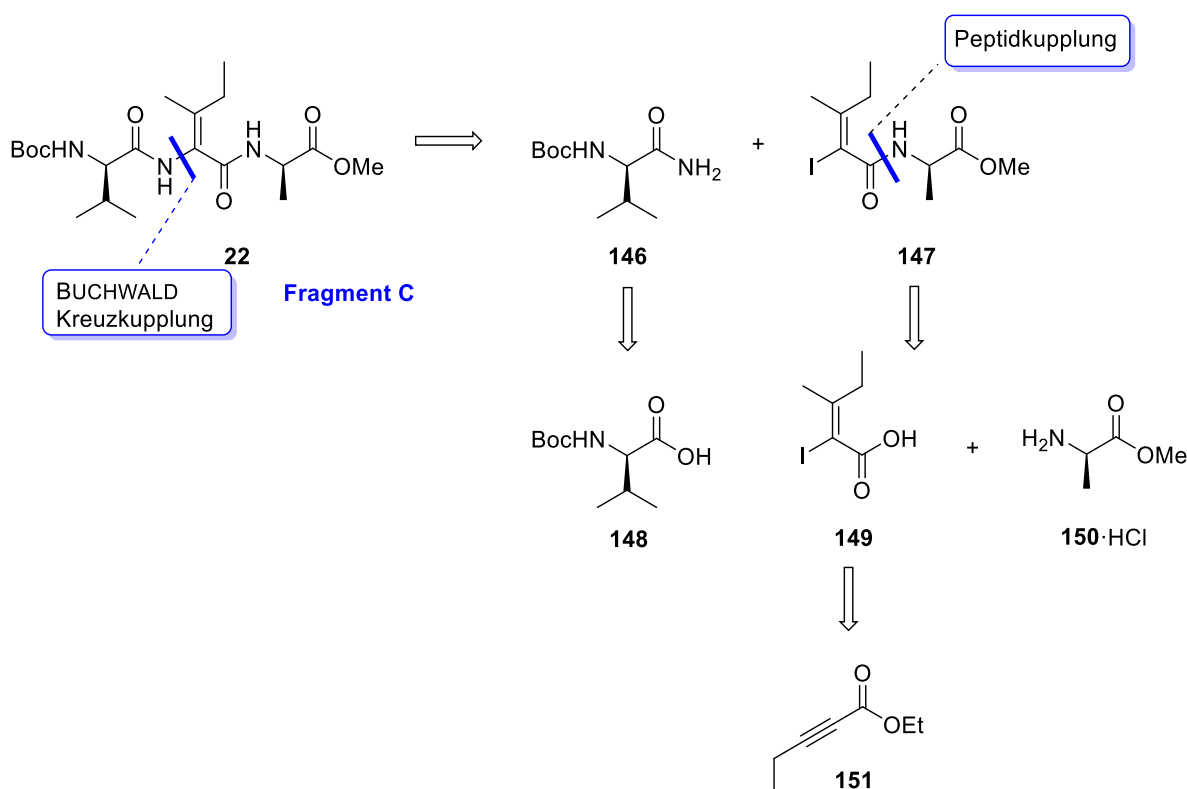
Schema 62: Übersicht der Routen zu dem Fragment B: Ansatz III und IV.

Somit fehlten zur Fertigstellung des Fragments B lediglich zwei Stufen, die Entfernung der Boc-Schutzgruppe und die Einführung der Guanidinfunktionalität. Da sich jedoch die Boc-

Gruppe der Ornithin-Seitenkette nicht chemoselektiv in Anwesenheit der Teoc-Schutzgruppe entfernen lässt und diese ebenfalls abgespalten wird, sollte die Teoc-Schutzgruppe des Valins als Erstes entfernt werden. Anschließend sollte die Peptidkupplung am Amino-Terminus mit dem verseiften Fragment A realisiert werden (s. Kapitel 3.1.7.1).

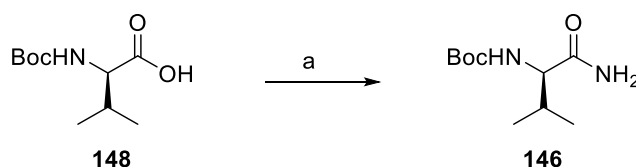
3.1.5 Synthese des Fragments C

Das Fragment C des Naturstoffs Myxovalargin besteht aus den nicht kanonischen Aminosäuren D-Valin, α,β -Dehydroisoleucin und D-Alanin. Dieses Dehydropeptid sollte analog zu den beiden anderen Fragmenten über die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung als Schlüsselschritt aufgebaut werden (Schema 63).



Schema 63: Retrosynthetischer Ansatz zur Darstellung des Fragments C ausgehend von Boc-D-Val-OH (**148**), Ethyl-pent-2-inoat (**151**) und D-Ala-OMe-HCl (**150**).

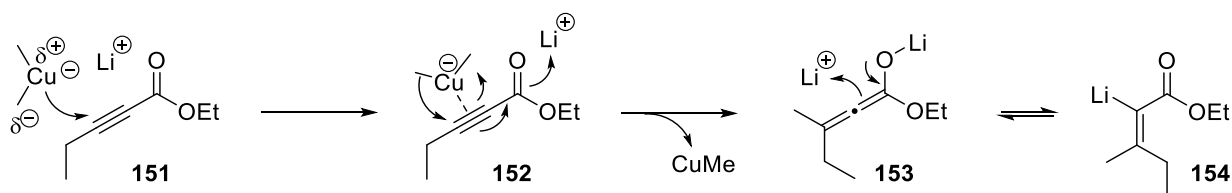
Zunächst wurden die für die Kreuzkupplung benötigten Startbausteine, das Amid **146** und das Vinyljodid **147**, hergestellt. Die Synthese des Amids **146** erfolgte ausgehend von der korrespondierenden Säure **148**.⁷⁵ Unter Verwendung der bereits etablierten Reaktionsbedingungen Isobutylchlorformiat, *N*-Methylmorpholin und wässriger Ammoniak-Lösung wurde das gewünschte Amid **146** in quantitativer Ausbeute erhalten (Schema 64).



Schema 64: Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-1-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat (**146**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) NMM, IBCF, DME, 0 °C, 15 min, *ii*) aq. NH₃-Lösung (25% ig), 0 °C → RT, 20 h, quant.

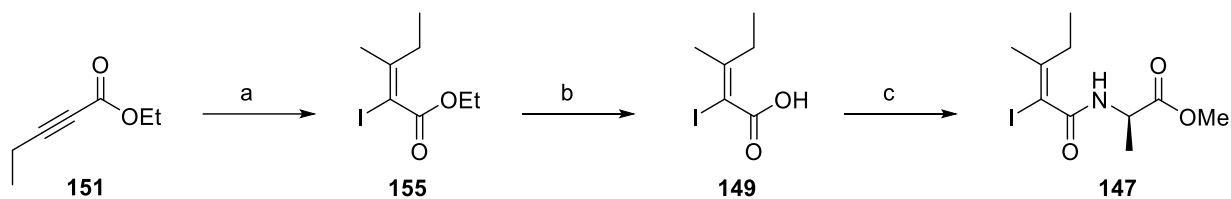
Das Vinylidid **147** wurde ausgehend von dem Alkin Ethyl-pent-2-inoat (**151**) unter Nutzung der bereits etablierten Reaktionsbedingungen synthetisiert. Die konjugierte Addition von Lithiumdimethylcuprat an das Alkin **151**, gefolgt von *in situ* Umsetzung mit einer Iod-Lösung lieferte ausschließlich den *E*-konfigurierten Ethylester **155**, welcher durch nOe-Experimente bestätigt wurde. Die *E*-Konfiguration der Doppelbindung ergibt sich aus der *syn*-Addition des *in situ* gebildeten GILMAN-Cuprats Lithiumdimethylcuprat an das Alkin **151** (Schema 65).⁹⁹ Anschließender Halogen-Metall-Austausch des gebildeten Lithium-Intermediates **154** liefert das Vinylidid **155**.



Schema 65: Mechanismus der nukleophilen 1,4-Addition.

Die nachfolgende Verseifung des Esters **155** war jedoch mit einigen Problemen behaftet. Die Hydrolyse des Ethyl-(*E*)-2-iod-3-methylpent-2-enoates (**155**) erfolgte nur sehr langsam, sodass eine wesentlich längere Reaktionszeit von fast 24 Stunden nötig war. Währenddessen trat jedoch auch die Zersetzung des Vinylidids **155** ein. Dieses konnte durch das Entgasen des Lösungsmittelgemisches Wasser/Ethanol unterbunden werden, wobei das Verseifungsprodukt **149** in sehr guter Ausbeute von 86% über zwei Stufen erhalten werden konnte. Die nachfolgende Peptidkupplung der so synthetisierten Säure **149** mit dem D-Alaninmethylester (**150**) lieferte den für die Kreuzkupplung benötigten Baustein **147** in einer moderaten Ausbeute (Schema 66).

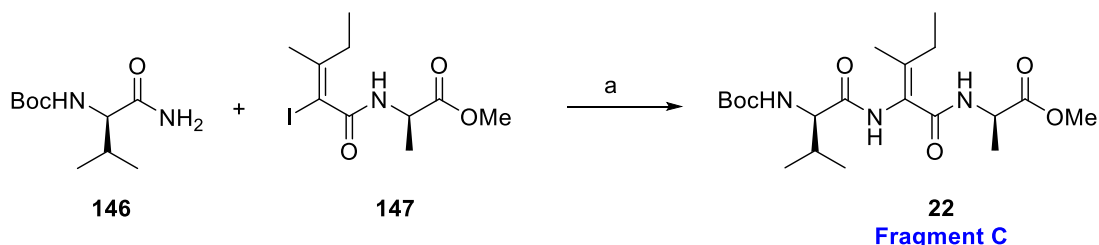
⁹⁹ S. V. Gagnier, R. C. Larock, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1525-1529.



Schema 66: Synthese des Vinyliodids **147**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) CuI, MeLi (1.6 M in Et₂O), THF, 0 °C, 30 min, *ii*) Alkinester **151** in THF, -78 °C, 3 h, *iii*) I₂ in THF, -78 °C, 15 min; b) LiOH, H₂O/EtOH (entgast; 7.5:1), 60 °C, 22.5 h, 86% über 2 Stufen; c) D-Ala-OMe·HCl (**150**), PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 22 h, 58%.

Ausgehend von den beiden Bausteinen **146** und **147** sollte das Fragment C **22** *via* BUCHWALD-Kreuzkupplung fertiggestellt werden. Hierfür wurde auf die bereits etablierten Reaktionsbedingungen Kupfer(I)iodid, Kaliumcarbonat und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin in entgastem 1,4-Dioxan zurückgegriffen. Erfreulicherweise konnte so das Fragment C in einer für diese Reaktion sehr guten Ausbeute von 48%¹⁰⁰ erhalten werden. Das eingesetzte Vinyliodid konnte in 63%¹⁰¹ reisoliert werden (Schema 67). Das Fragment C **22** wurde in einer Gesamtausbeute von 24% über vier Stufen (längste lineare Sequenz) ausgehend von Ethyl-pent-2-inoat (**151**) erhalten.



Schema 67: Synthese des Fragments C **22** *via* BUCHWALD-Kreuzkupplung.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CuI, K₂CO₃, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 20 h, 48%.

Sowohl die Peptidkupplung der Säure **149** mit dem D-Alaninmethylester (**150**) als auch die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung verliefen unter Retention der Konfiguration des Dehydroisoleucins. Die *E*-Konfiguration der Doppelbindung dieser Aminosäure in dem Fragment C **22** konnte durch nOe-Experimente bestätigt werden (Abbildung 8). Charakteristisch hierfür sind die Antworten der Methyl- und der Methylengruppe der Doppelbindung. So konnten im Falle der Methylgruppe Kontakte zu dem stickstofftragenden

¹⁰⁰ Die Ausbeute bezieht sich auf die eingesetzte Substanzmenge des Amids **146**.

¹⁰¹ Die Ausbeute an dem reisolierten Vinyliodid **147** bezieht sich auf die eingesetzte Vinyliodid-Menge.

Proton des Isoleucins, der Methylengruppe- und der Methylgruppe des an der Doppelbindung befindlichen Ethylsubstituenten beobachtet werden. Im Gegensatz dazu waren für die CH₂-Gruppe des Ethylrestes Antworten zu dem NH-Proton, dem am stereogenen Zentrum befindlichen Proton und der direkt an der Doppelbindung befindlichen Methylgruppe zu verzeichnen. Diese strukturelevanten Kontakte aus dem nOe-Experiment bestätigen eindeutig, dass sich die an der Doppelbindung des Dehydroisoleucins befindliche CH₃-Gruppe auf der Aminosäure D-Valin zugewandten Seite befindet. Weiterhin ist ersichtlich, dass sich der Ethylsubstituent des Dehydroisoleucins zu der Aminosäure D-Alanin orientiert, sodass die *E*-Konfiguration der Doppelbindung bestätigt werden konnte.

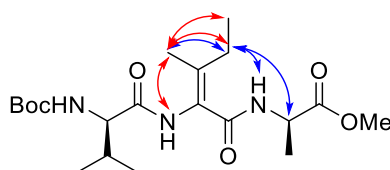


Abbildung 8: Strukturelevante Kontakte aus dem nOe-Experiment von Fragment C **22**; in rot sind die Kontakte der Methylgruppe und in blau die der Methylengruppe dargestellt.

3.1.6 Synthese des Fragments D

Das Fragment D des Naturstoffs Myxovalargin besteht aus der nicht-kanonischen Aminosäure D- β -Hydroxyvalin und dem Amin Agmatin, ein Decarboxylierungsprodukt der Aminosäure Arginin.

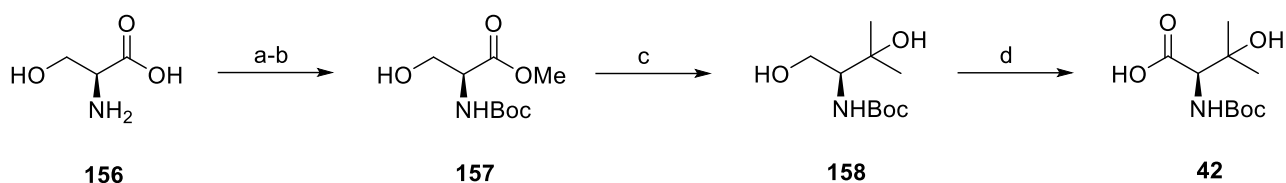
Während der in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit wurde die Aminosäure Boc-D- β -Hydroxyvalin (**42**) in einer 8-stufigen Synthesesequenz hergestellt, welche sich als äußerst kosten- und zeitintensiv herausstellte. Deshalb ist es erstrebenswert, die Aminosäure **42** in einer kürzeren Reaktionsfolge herzustellen. Dieses wurde ausgehend von der kommerziell erhältlichen Aminosäure L-Serin (**156**) in einer vierstufigen Synthesesequenz realisiert. Zunächst wurde der Methylester **157** nach einem Protokoll von FOSS¹⁰² hergestellt. Anschließend erfolgte eine zweifache GRIGNARD-Addition von Methylmagnesiumbromid an den Ester **157**, sodass das Diol **158** in einer sehr guten Ausbeute von 93% erhalten wurde.¹⁰³ Die nicht-proteinogene Aminosäure **42** konnte durch die abschließende Oxidation des primären

¹⁰² F. W. Foss, A. H. Snyder, M. D. Davies, M. Rouse, M. D. Okusa, K. R. Lynch, T. L. Macdonald, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 663-667.

¹⁰³ J. E. Dettwiler, W. D. Lubell, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 177-179.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

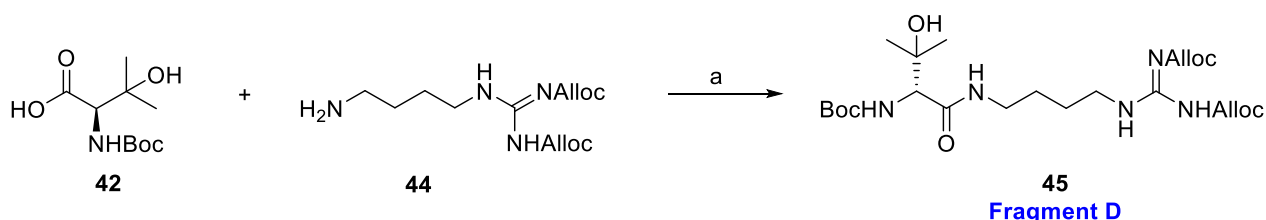
Alkohols **158** zur korrespondierenden Carbonsäure **42** in Anwesenheit des tertiären Alkohols erfolgen (Schema 68).



Schema 68: Verkürzte Darstellung des Boc-D-β-Hydroxyvalins (**42**) ausgehend von L-Ser-OH (**156**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) SOCl₂, CH₃OH, 0 °C → RT, 14 h; b) (Boc)₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, quant. über 2 Stufen; c) CH₃MgBr (3.0 M in Et₂O), Et₂O, -78 °C → RT, 2 h, 93%; d) TEMPO, NaClO, NaClO₂, CH₃CN, Phosphatpuffer pH 7, 35 °C, 24 h, 90%.

Das Amin Agmatin konnte ebenfalls in der von der Autorin vorgelegten Mastarbeit synthetisiert werden und stand bereits zu Beginn dieser Arbeit in ausreichenden Mengen zur Verfügung (s. Kapitel 3.1.2). Darauf aufbauend konnte das Fragment D **45** problemlos in ausreichenden Mengen fertiggestellt werden. Die Kupplung der Aminosäure Boc-D-β-Hydroxyvalin (**42**) mit dem Amin **44** unter Standardbedingungen (EDC·HCl, HOBt und DIPEA)¹⁰⁴ lieferte das Fragment D **45** in einer guten Ausbeute von 74% (Schema 69).

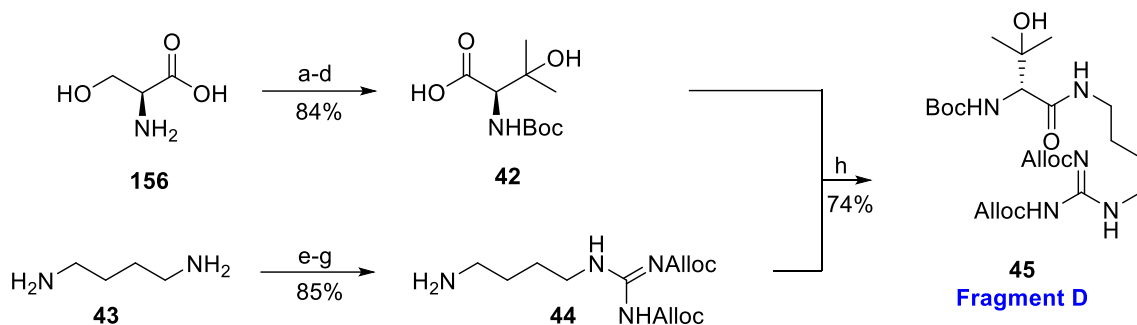


Schema 69: Peptidkupplung von Boc-D-β-Hydroxyvalin (**42**) und dem Amin Agmatin **44**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 24 h, 74%.

Das Fragment D **45** konnte in einer Gesamtausbeute von 62% über fünf Stufen (längste lineare Sequenz) ausgehend von L-Serin (**156**) erhalten werden (Schema 70).

¹⁰⁴ D. L. Boger M. W. Ledebor, M. Kume, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1098-1099.



Schema 70: Synthese des Fragments D **45**.

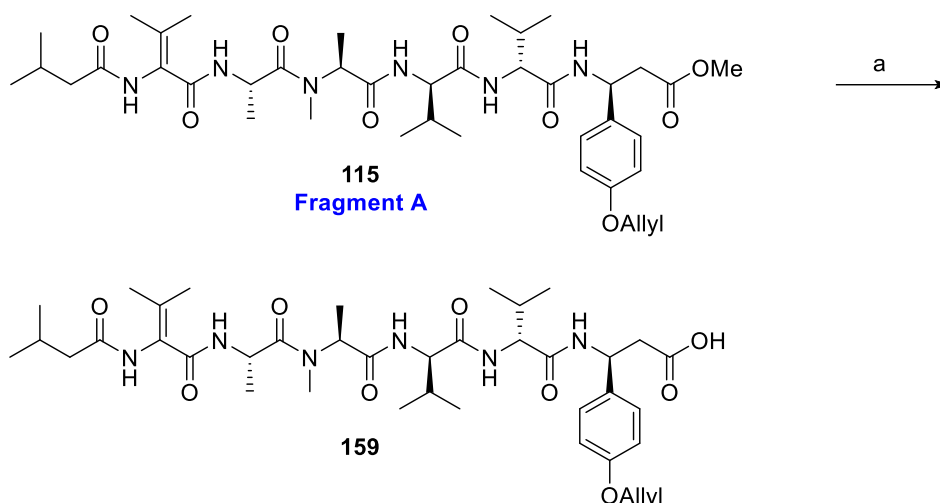
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) SOCl_2 , CH_3OH , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 14 h; b) $(\text{Boc})_2\text{O}$, Et_3N , CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 16 h, quant. über 2 Stufen; c) CH_3MgBr (3.0 M in Et_2O), Et_2O , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 2 h, 93%; d) TEMPO, NaClO, NaClO_2 , CH_3CN , Phosphatpuffer pH 7, $35\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h, 90%; e) $(\text{Boc})_2\text{O}$, 1,4-Dioxan, RT, 20 h, 89%; f) Guanidinderivat **38**, Et_3N , CH_2Cl_2 , RT, 16 h, 95%; g) TFA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2.5 h, quant.; h) EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 24 h, 74%.

3.1.7 Studien zum Endspiel der Totalsynthese des Naturstoffs Myxovalargin

3.1.7.1 Peptidkupplung des Fragments A 115 mit dem Tetrapeptid 145

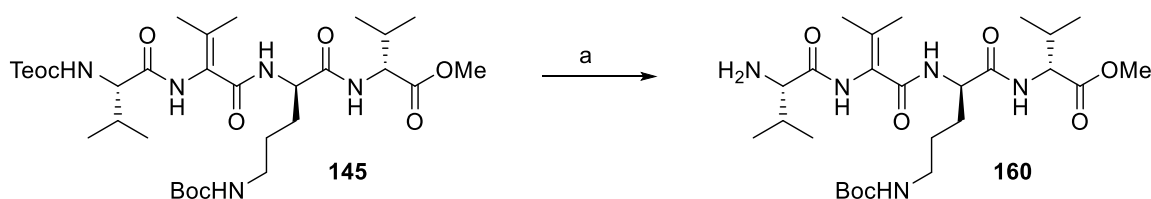
Ausgehend von den so synthetisierten Fragmenten A – D sollte die Verknüpfung zu größeren Peptidfragmenten erfolgen und so die Totalsynthese des Naturstoffs Myxovalargin abgeschlossen werden.

Als ideale Reihenfolge in der Durchführung der finalen Stufen erschien es, zunächst das Fragment A **115** mit dem Tetrapeptid **145** zu koppeln. Hierfür wurde zunächst das *N*-acylierte Hexapeptid **115** unter basischen Reaktionsbedingungen verseift, wobei die korrespondierende Säure **159** in einer Ausbeute von 80% erhalten wurde (Schema 71).

**Schema 71:** Verseifung des Fragments A **115**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 22 h, 80%.

Anschließend sollte die Teoc-Schutzgruppe des Tetrapeptids **145** chemoselektiv in Anwesenheit der Boc-Schutzgruppe entfernt werden. Wie bereits erwähnt, werden standardmäßig für die Entfernung der Teoc-Gruppe Tetraalkylammoniumfluoride, starke Säuren oder LEWIS-Säuren verwendet.⁹⁸ Jedoch kann unter Zuhilfenahme der Letzteren keine Chemoselektivität im Hinblick auf die Boc-Schutzgruppe erzielt werden, sodass hier die Wahl auf die Tetraalkylammoniumfluoride, genauer gesagt auf Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) fiel.¹⁰⁵ Die Entschützung der Teoc-Gruppe mittels TBAF (1.0 M in THF) verlief problemlos und lieferte das gewünschte Amin **160** in einer quantitativen Ausbeute (Schema 72).

**Schema 72:** Teoc-Entschützung des Tetrapeptids **145**.

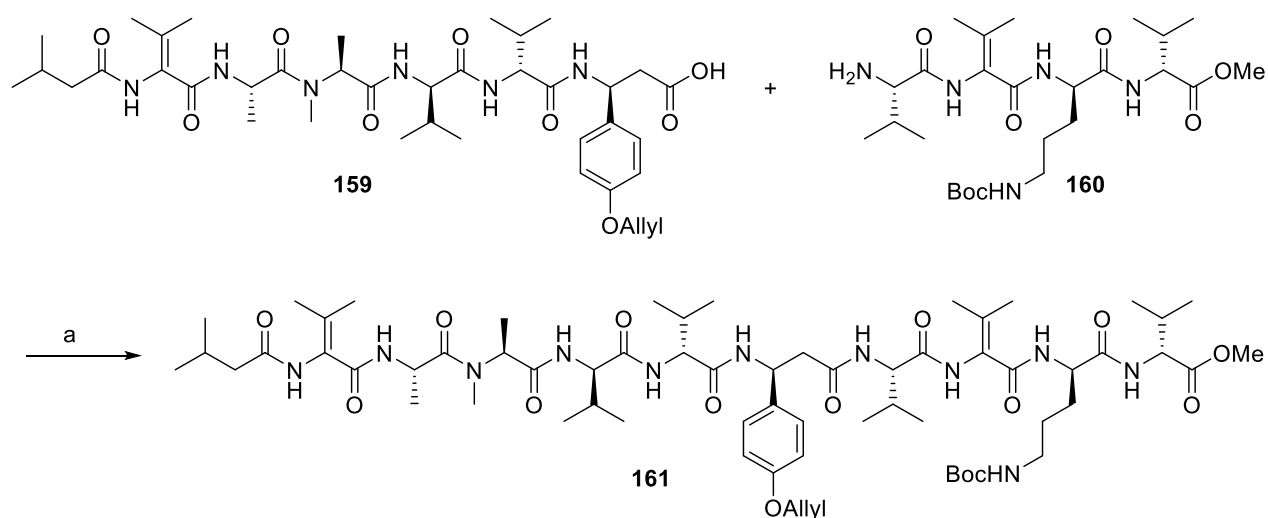
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TBAF (1.0 M in THF), THF, RT, 20 h, quant.

Basierend auf den so synthetisierten Peptidfragmenten **159** und **160** sollte deren Verknüpfung zu dem am Amino-Terminus acylierten Decapeptid **161** realisiert werden. Hierfür mussten zunächst geeignete Kupplungsreagenzien gefunden werden, wobei die Wahl auf das Aminiumreagenz HATU in Kombination mit dem Additiv HOAt und DIPEA als Base in DMF fiel. Unter Verwendung dieser Reaktionsbedingungen wurde das Decapeptid **161** in einer

¹⁰⁵ S. Pothukanuri, Z. Pianowski, N. Winssinger, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *18*, 3141-3148.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Ausbeute von 46% erhalten (Schema 73). Weitere Bedingungen wurden an dieser Stelle nicht untersucht.

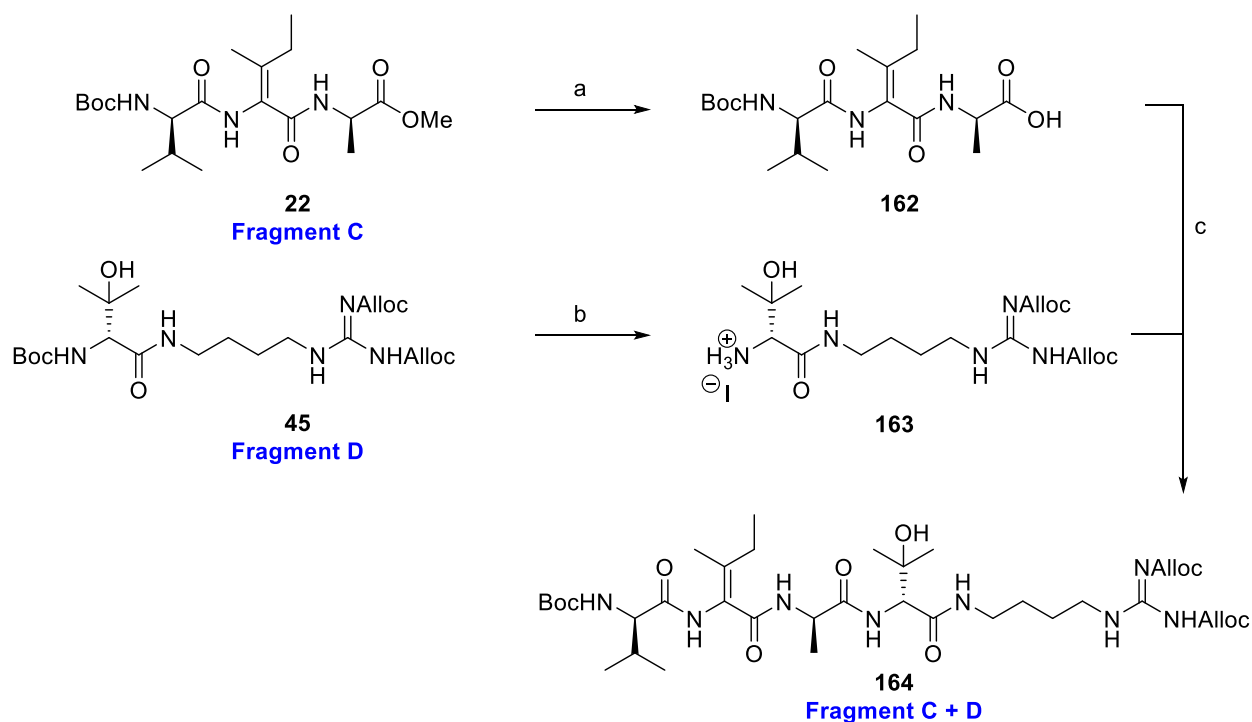


Schema 73: Peptidkupplung der Fragmente **159** und **160**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) HATU, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 20 h, 46%.

3.1.7.2 Peptidkupplung der Fragmente C 22 und D 45

Als Nächstes sollte das Fragment C **22** mit dem Fragment D **45** zu dem linearen Tetrapeptid **164** gekuppelt werden. Hierfür wurde zunächst der Methyl ester des Tripeptids **22** unter basischen Bedingungen mittels einer Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M) verseift, sodass die freie Säure **162** erhalten wurde. Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe des Fragments D **45** LEWIS-sauer mit TMSI abgespalten. Dabei wurde das korrespondierende Amin **163** erhalten. Die nachfolgende Kupplung der Säure **162** mit dem Amin **163** konnte unter Verwendung des Reagenziensystems PyAOP/HOAt in DMF realisiert werden, wobei das Tetrapeptid **164** in einer Ausbeute von 58% über drei Stufen erhalten wurde (Schema 74).



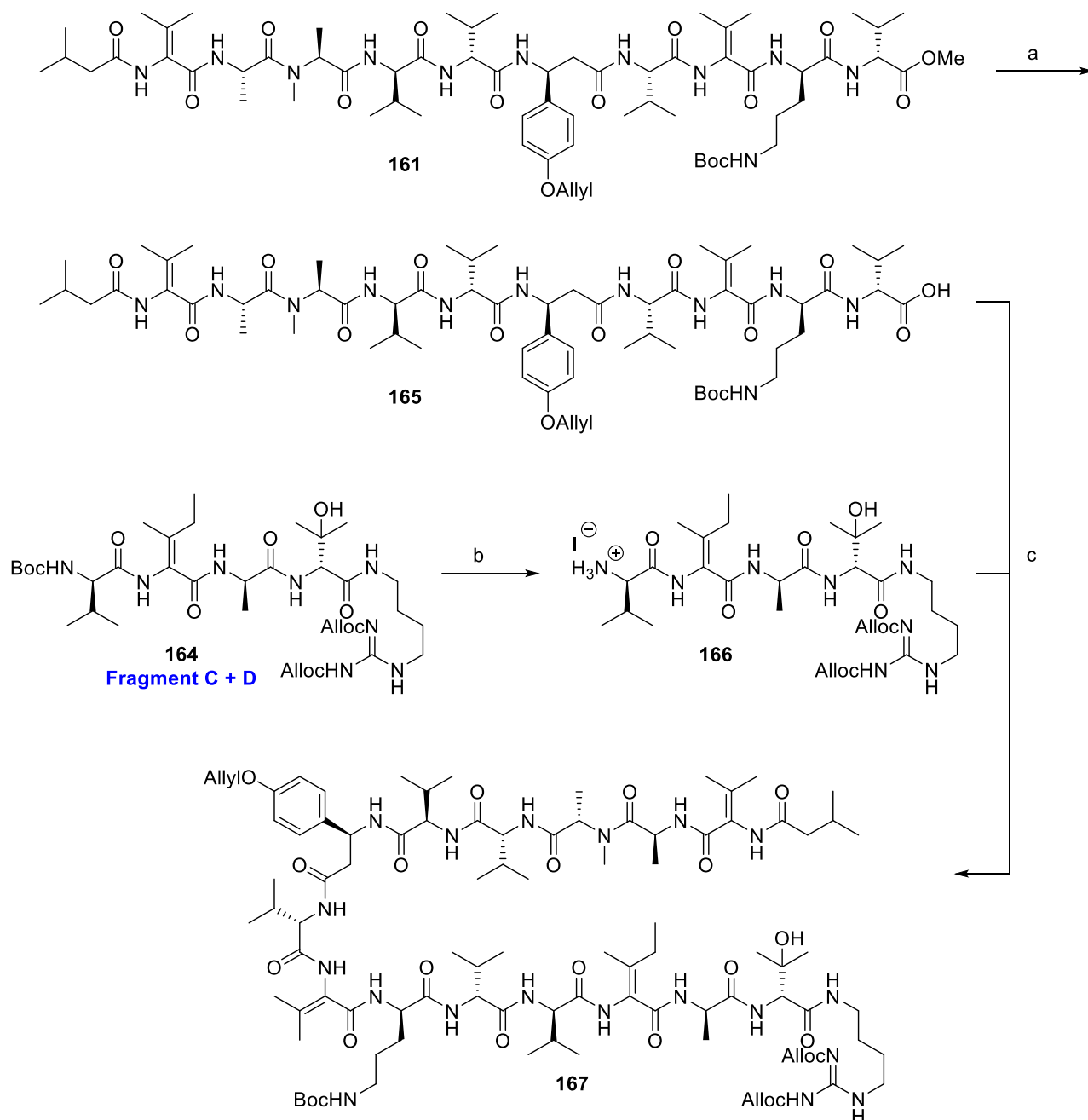
Schema 74: Verknüpfung der Fragmente C **22** und D **45**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 22 h; b) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 15 min; c) PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 25 h, 58% über 3 Stufen.

3.1.7.3 Studien zur Fertigstellung des Myxovalargin-Grundgerüsts

Ausgehend von den größeren Peptidfragmenten **161** und **164** sollte die Fertigstellung des Myxovalargin-Peptidrückgrates erfolgen. Dafür musste zunächst das Decapeptid **161** verseift werden, um so die korrespondierende Säure **165** zu generieren. Des Weiteren erfolgte die Entfernung der Boc-Schutzgruppe des Tetrapeptids **164** wiederum unter LEWIS-sauren Reaktionsbedingungen. Dabei fiel die Wahl wieder auf TMSI, da es sich hier keiner Aufarbeitung bzw. Extraktion bedarf, was besonders bei sehr polaren Verbindungen wie dem Peptid **166** von enormer Bedeutung ist.

Für die nachfolgende Kupplung der Säure **165** mit dem Amin **166** wurde wiederum auf das Reagenziensystem HATU/HOAt und DIPEA als Base in DMF, welches sich schon bei der Verknüpfung des Decapeptids **159** mit dem Tetrapeptid **160** als erfolgreich erwies, zurückgegriffen. Diese Peptidkupplung verlief problemlos und lieferte das gewünschte Oligopeptid **167** in einer Ausbeute von 60% über drei Stufen (Schema 75).



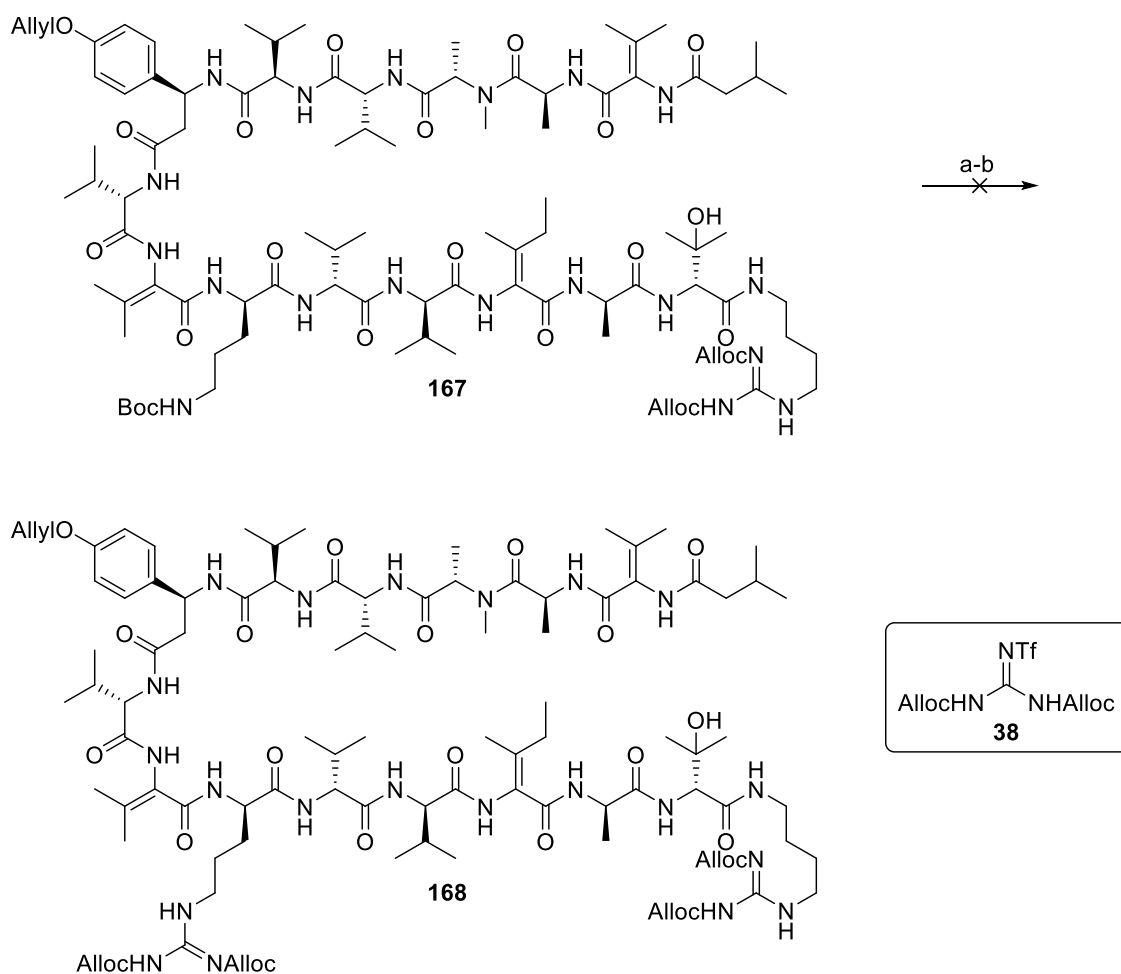
Schema 75: Verknüpfung der Fragmente **161** und **164**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 22 h; b) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min; c) HATU, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 25 h, 60% über 3 Stufen.

Das Kupplungsprodukt **167** wurde anhand massenspektrometrischer Daten nachgewiesen. Eine vollständige Charakterisierung der Verbindung **167** erfolgte aus zeitlichen Gründen nicht; vielmehr sollte an dieser Stelle die Einführung der Guanidinfunktionalität in der Ornithin-Seitenkette erprobt und so der Aufbau der Myxovalargin-Grundstruktur finalisiert werden. Dafür musste zunächst die Boc-Schutzgruppe der primären Aminofunktionalität in der Ornithin-Seitenkette entfernt werden. Hierbei wurde wie schon zuvor auf die LEWIS-Säure TMSI zurückgegriffen. Anschließend sollte die Einführung der Guanidinfunktionalität unter

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

basischen Bedingungen unter Verwendung des Guanidinderivats **38** realisiert werden. Jedoch konnte das gewünschte Produkt **168** nicht erhalten werden. Der Reaktionsverlauf wurde massenspektrometrisch analysiert, wobei lediglich das Guanidinderivat **38** anhand dieser Daten nachgewiesen werden konnte. Sowohl die Masse des Startmaterials als auch die des gewünschten Produktes **168** konnte nicht anhand dieser Daten nicht detektiert werden, sodass von einer Zersetzung ausgegangen werden muss (Schema 76).



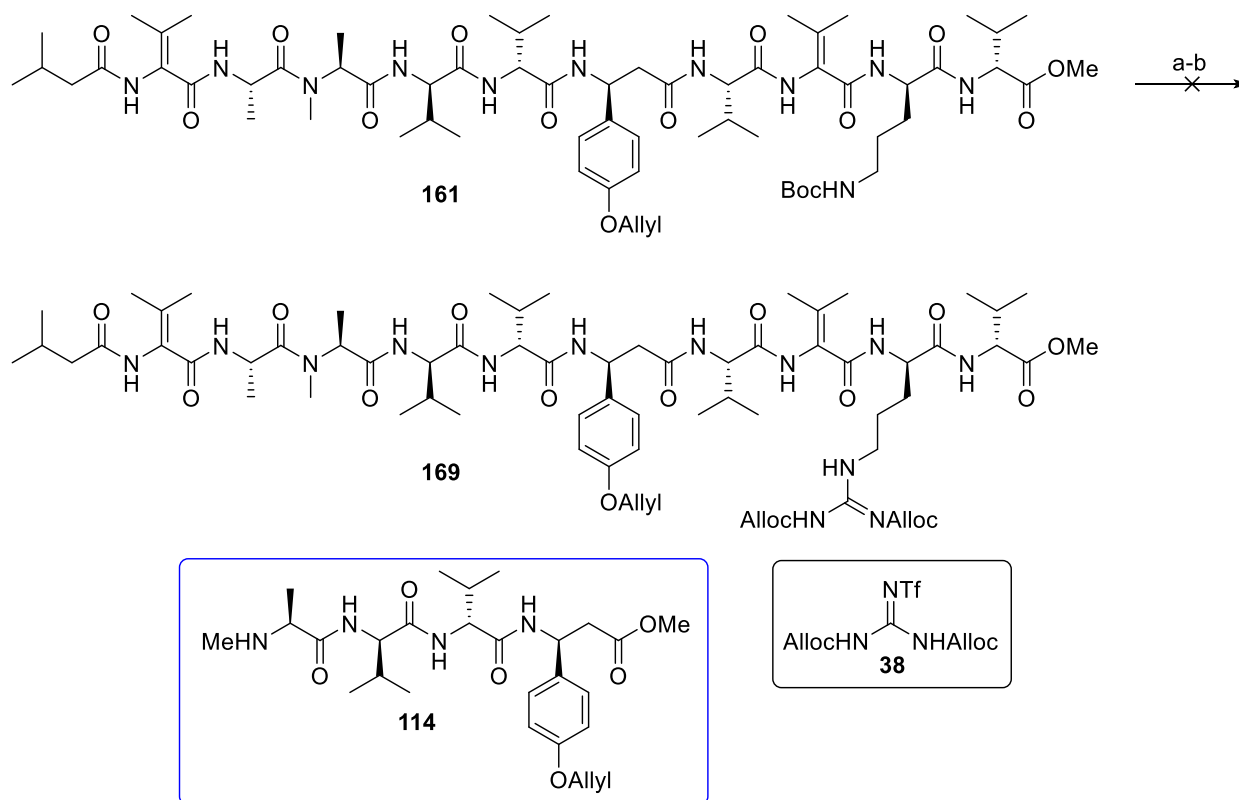
Schema 76: Einführung der Guanidinfunktionalität in der Ornithin-Seitenkette des Oligopeptids **167**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min; b) Guanidinderivat **38**, DIPEA, CH₂Cl₂, RT, 20 h.

Basierend auf diesen Resultaten sollte die Guanidinfunktionalität an einer früheren Stelle in der Totalsynthese implementiert werden. Dieses sollte ausgehend von dem *N*-acylierten Decapeptid **161** realisiert werden. Dafür wurde zunächst die Boc-Schutzgruppe der primären Aminofunktion der Ornithin-Seitenkette unter LEWIS-sauren Reaktionsbedingungen entfernt. Nachfolgend sollte nun die Einführung der Guanidineinheit unter basischen Bedingungen realisiert werden. Die Reaktionskontrolle erfolgte hier per LC-

MS; so konnte die Masse für das gewünschte Produkt **169** detektiert werden. Anschließend wurde zur Isolierung und Reinigung des Produkts **169** eine präparative HPLC (C18; Eluent H₂O + 0.1% HCO₂H/CH₃OH + 0.1% HCO₂H) durchgeführt. Die massenspektrometrischen Daten des HPLC-Laufes deuteten auf das Vorhandensein des gewünschten Produktes **169** hin; so konnte anhand dieser die Masse des Produkts **169** eindeutig detektiert werden. Die anschließende NMR-spektroskopische Untersuchung des isolierten Materials lieferte jedoch entgegen der Erwartungen ein völlig anderes Resultat. Anstelle des gewünschten Produkts **169** lag das *N*-methylierte Tetrapeptid **114** (Fragment A2) in einer Ausbeute von 50% vor; die Bildung des Methylesters kann auf den HPLC-Eluenten CH₃OH + 0.1% HCO₂H zurückgeführt werden (Schema 77). Die Existenz des Amins **114** wurde durch NMR-spektroskopische Daten (¹H-NMR) nachgewiesen. Dementsprechend kann von einer teilweisen Zersetzung des Decapeptids **161** ausgegangen werden. Formal gesehen wurden die stärksten Amidbindungen des Peptids gespalten. Jedoch kann an dieser Stelle keine zufriedenstellende Erklärung für das erhaltene Resultat geliefert werden. Als eine Möglichkeit wurde zunächst die Zersetzung des Guanidinderivats **38** in Betracht gezogen, da dies bereits vor geraumer Zeit synthetisiert wurde. Eventuell ist diese Verbindung nicht hinreichend stabil und hat sich trotz der Lagerung unter Argon-Atmosphäre bei -20 °C zersetzt. Diese Tatsache konnte jedoch durch Vergleich der erneut gemessenen NMR-spektroskopischen Daten mit denen nach der Synthese ausgeschlossen werden, da hier keine Unterschiede oder Zersetzungsprodukte zu verzeichnen waren.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 77: Fertigstellung des Fragments A + B **169**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min; b) Guanidinderivat **38**, DIPEA, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 50% für **114**.

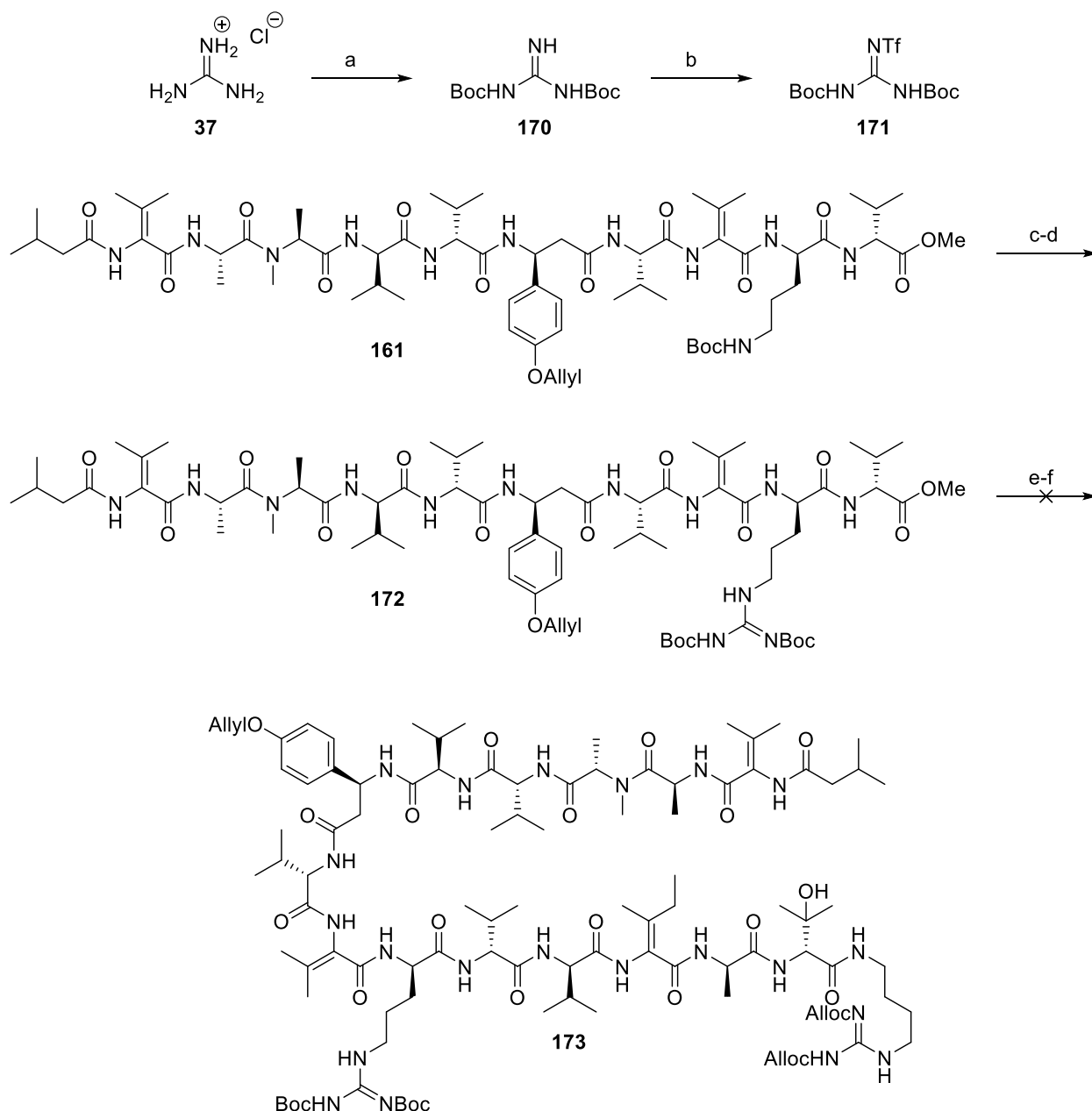
Ausgehend von diesen Resultaten sollte die Einführung der Guanidinfunktionalität in der Ornithin-Seitenkette des Decapeptids **161** erneut durchgeführt werden. Jedoch wurde hierbei anstelle des Bisalloc-geschützten Guanidins **38** das entsprechende zweifach Boc-geschützte Derivat **171** verwendet. Die Synthese der Verbindung **171** erfolgte in einer zweistufigen Sequenz ausgehend von Guanidin Hydrochlorid (**37**) nach einem Protokoll von GOODMAN¹⁰⁶. Zunächst wurde unter basischen Bedingungen das zweifach Boc-geschützte Guanidin **170** in einer Ausbeute von 51% erhalten. Die moderate Ausbeute dieser Reaktion lässt sich auf die Tatsache zurückführen, dass neben dem gewünschten Produkt **170** die korrespondierenden einfach- und dreifach-geschützten Derivate erhalten wurden. Anschließend wurde die Iminfunktionalität durch Zugabe von Trifluormethansulfonsäureanhydrid in das Sulfonamid **171** überführt (Schema 78).

Mit dem so synthetisierten Guanidinderivat **171** sollte die Implementierung dieser funktionellen Gruppe realisiert werden. Nach Entfernung der Boc-Gruppe der Verbindung **161**

¹⁰⁶ K. Feichtinger, C. W. Zapf, H. L. Sings, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3804-3805.

wurde die Amidinierung des primärenamins der Ornithin-Seitenkette erprobt.¹⁰⁷ Unter basischen Bedingungen (DIPEA) konnte das gewünschte Produkt **172** erhalten werden. Jedoch verlief diese Reaktion nicht mit vollständigem Umsatz, sodass neben dem Produkt **172** das korrespondierende Amin des Decapeptids **161** vorlag. Diese beiden Verbindungen konnten jedoch nicht per HPLC voneinander getrennt werden, sodass für die weiteren Reaktionen das Gemisch verwendet wurde. Anschließend sollte die Peptidkupplung der Verbindung **172** mit dem bereits geschützten Fragment C + D **166** untersucht werden. Dafür wurde zunächst der Methylester des Peptids **172** mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M) verseift. Nachfolgend sollte die Verknüpfung der so erhaltenen Säure mit dem Amin **166** untersucht werden. Dabei wurde wieder auf das Reagenziensystem HATU/HOAt und DIEPA in DMF zurückgegriffen. Jedoch konnte das gewünschte Kupplungsprodukt **173** anhand der massenspektrometrischen Daten nicht detektiert werden. Des Weiteren ließ sich das Startmaterial nicht reisolieren. Weitere Kupplungsbedingungen wurden an dieser Stelle nicht mehr untersucht, da von der Verbindung **172** nur unzureichende Mengen zur Verfügung standen (Schema 78).

¹⁰⁷ A. Wohlrab, R. Lamer, M. S. VanNieuwenhze, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4175-4177.



Schema 78: Fertigstellung des Myxovalargin-Grundgerüsts **173**.

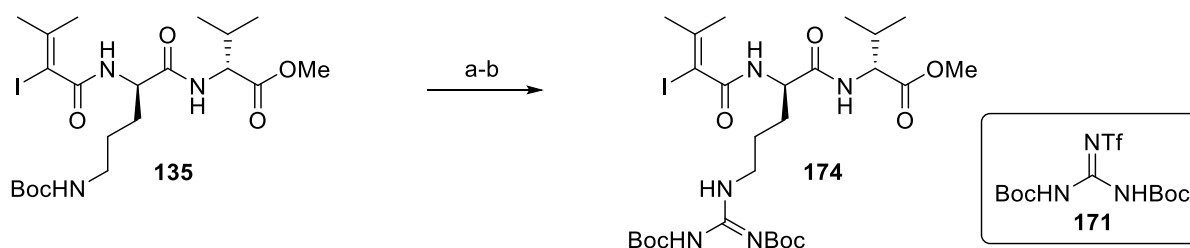
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) $(\text{Boc})_2\text{O}$, NaOH, 1,4-Dioxan/ H_2O (2:1), $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 21 h, 51%; b) Et_3N , Tf_2O , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 6 h, 83%; c) TMSI, CH_2Cl_2 , RT, 10 min; d) Guanidinderivat **171**, DIPEA, CH_2Cl_2 , RT, 18 h; e) LiOH (1.0 M), THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 16 h; f) Tetrapeptid **166**, HATU, HOAt, DIPEA, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 h.

3.1.7.4 Neuer Synthesansatz zur Darstellung des Fragments B: Synthese von Arginin-basierten Vinyliodiden und deren Kreuzkupplungsvermögen

Resultierend aus zuvor erzielten Ergebnissen und den damit verbundenen Problemen sollte die Einführung der Guanidineinheit an einer deutlich früheren Stelle erfolgen. Als möglicher Zeitpunkt wurde zunächst das Vinyliodid **135** als Basis dessen in Betracht gezogen.

Nach erfolgreicher Installation der Guanidinfunktionalität soll dann die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung mit dem Teoc-L-Val-NH₂ (**143**) erfolgen und ausgehend von dem so erhaltenen Kupplungsprodukt die Totalsynthese des Myxoalargins abgeschlossen werden.

Ausgehend von dem Vinyljodid **135** wurde zunächst die Boc-Schutzgruppe entfernt. Anstelle der normalerweise verwendeten LEWIS-Säure TMSI wurde hier TFA verwendet. Die Entfernung dieser Schutzgruppe verlief ohne Probleme und lieferte das freie Amin. Nachfolgend sollte die Installation der Guanidineinheit mit dem Derivat **171** erfolgen. Das Bisalloc-Guanidin **38** eignet sich an dieser Stelle nicht, da in dieser Arbeit bereits gezeigt werden konnte, dass bei der Kreuzkupplung des Vinyljodids mit den Alloc-Schutzgruppen **118** das entsprechende Kupplungsprodukt in lediglich 13% Ausbeute erhalten wurde (vgl. Kapitel 3.1.4.1). Dementsprechend wurde hier auf das Derivat **171** zurückgegriffen. Die Amidinierung lieferte das gewünschte Produkt **174**, jedoch als ein nicht trennbares Gemisch (30% Ausbeute) mit dem freien Amin, wobei die Verbindung **174** in lediglich ~10% vorlag (Schema 79). Weitere Untersuchungen wurden an dieser Stelle nicht mehr durchgeführt.

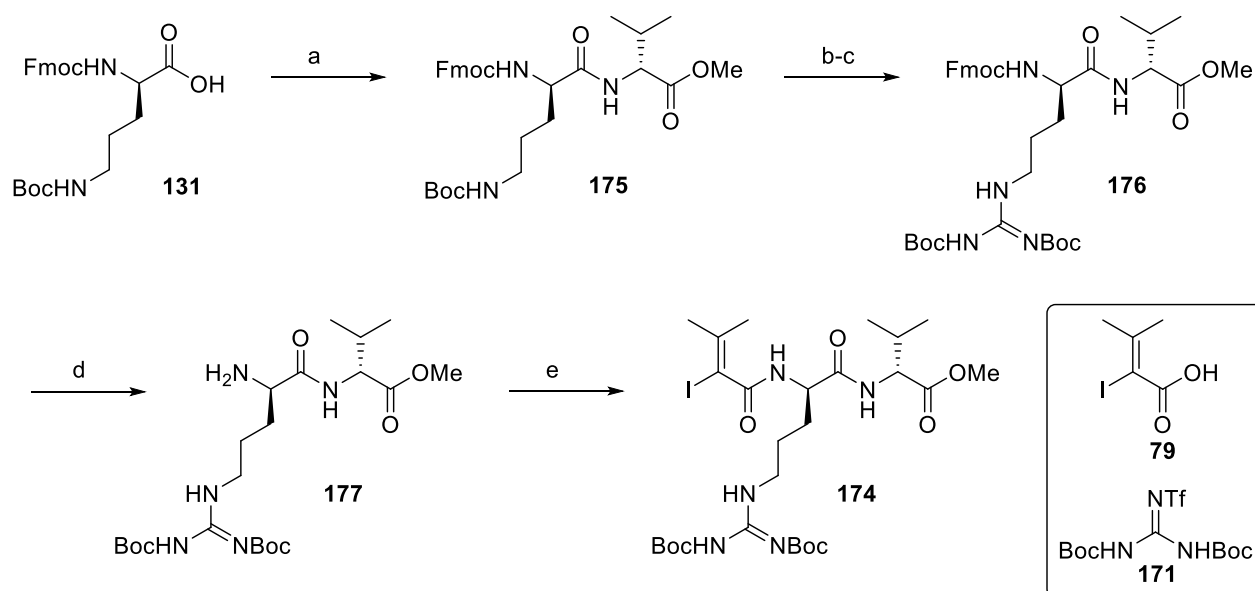


Schema 79: Einführung der Guanidinfunktionalität auf der Stufe des Vinyljodids **135**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; b) Guanidinderivat **171**, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 18 h, ~10%.

Aufgrund der Tatsache, dass sich die Einführung der Guanidineinheit auf der Stufe des Vinyljodids **135** nicht realisieren ließ, musste die Synthese des Fragments B umgestellt werden. Die neue Syntheseroute sah vor zunächst das Guanidin in der Ornithin-Seitenkette zu installieren und im Anschluss daran die Kupplung mit der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) durchzuführen. Dementsprechend sollte die Synthese des Vinyljodids **174** ausgehend von den kommerziell erhältlichen Aminosäuren Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (**131**) und D-Val-OMe (**40**) realisiert werden. Aufgrund der Tatsache, dass die Fmoc-Schutzgruppe sehr labil gegenüber Aminbasen ist, welche standardmäßig für Peptidkupplungen verwendet werden, sollte hier die Kupplung beider Aminosäuren in Anwesenheit von Natriumhydrogencarbonat als Base untersucht werden. So konnte unter Verwendung des Reagenziensystems EDC·HCl/HOAt und

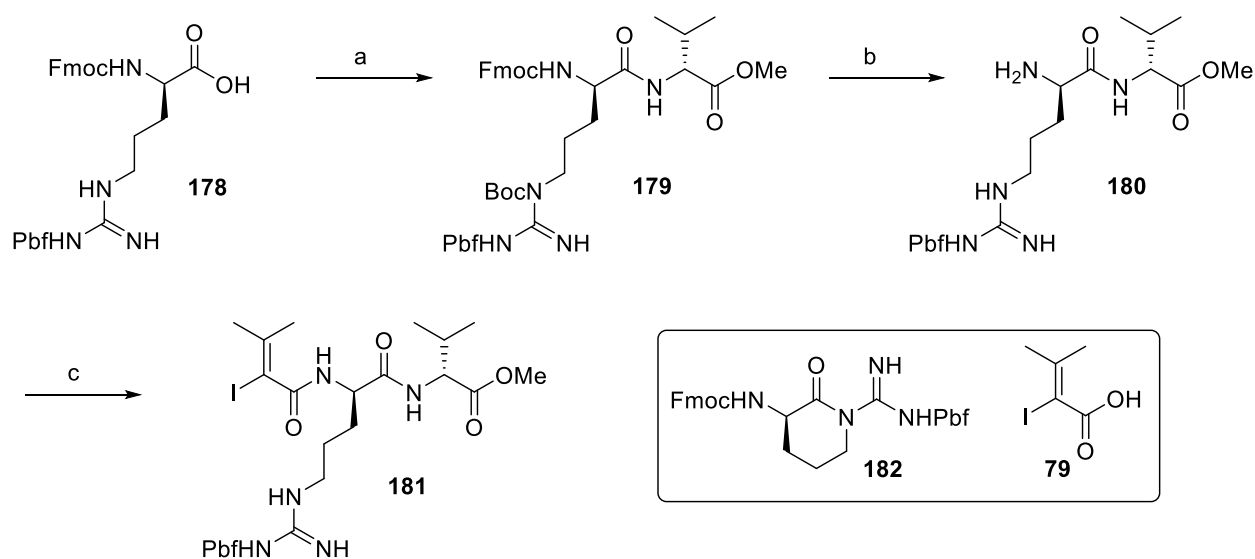
Natriumhydrogencarbonat in Methylenchlorid das gewünschte Kupplungsprodukt **175** in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten werden. Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe der δ -Aminofunktionalität des Ornithins unter sauren Bedingungen mit Hilfe von TFA entfernt. Die nachfolgende Amidinierung mit dem Guanidinderivat **171** wurde in Anwesenheit von Natriumhydrogencarbonat als Base anstelle der normalerweise verwendeten Aminbasen Et₃N und DIPEA durchgeführt, um so die Beständigkeit der Fmoc-Schutzgruppe der α -Aminofunktion des Ornithins zu gewährleisten. Das gewünschte Produkt **176** wurde hierbei jedoch in einer moderaten Ausbeute von 54% über zwei Stufen erhalten. Im Vergleich dazu konnte bei der Amidinierung mit dem zweifach Alloc-geschützten Guanidin **38** zur Darstellung des Dipeptids **41** eine Ausbeute von 95% über zwei Stufen erzielt werden (vgl. Kapitel 3.1.2.2). Die verringerte Ausbeute der Amidinierung kann auf die reduzierte Basizität des Natriumhydrogencarbonats zurückgeführt werden. Nachfolgend sollte die Fmoc-Schutzgruppe unter basischen Bedingungen entfernt werden. Dieses konnte unter Zuhilfenahme von Tris(2-aminoethyl)amin erfolgreich realisiert werden und lieferte ohne Probleme das Amin **177**. Die nachfolgende Peptidkupplung desamins **177** mit der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) lieferte das Vinyljodid **174** in einer moderaten Ausbeute von 60%. Dabei wurde wieder auf das bereits etablierte Reagenziensystem PyAOP/HOAt in DMF zurückgegriffen (Schema 80).



Schema 80: Synthese des Vinyljodids **174** ausgehend von Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (**131**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) D-Val-OMe-HCl (**40**), EDC·HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 22 h, 98%; b) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2,5 h; c) Guanidinderivat **171**, NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 5 d, 54% über 2 Stufen; d) (NH₂CH₂CH₂)₃N, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 3 h, 90%; e) Säure **79**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 22 h, 60%.

Parallel zur Darstellung des oben beschriebenen Vinyljodids **174** wurde an einem weiteren Vinyljodid gearbeitet, welches die Guanidinfunktionalität von Beginn an mit sich führt. So sollte die Synthese des Vinyljodids **181** ausgehend von der kommerziell erhältlichen Aminosäure Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH (**178**) realisiert werden. Zunächst wurde das Arginin am Carboxy-Terminus um die Aminosäure D-Valin verlängert. Dabei wurde auf das bereits etablierte Reagenziensystem EDC·HCl/HOAt und Natriumhydrogencarbonat als Base in Methylenchlorid zurückgegriffen. Neben dem gewünschten Dipeptid **179** wurde auch die Bildung des sechsgliedrige δ -Lactams **182** (~5%) beobachtet, welches sich durch eine intramolekulare Zyklisierung bildet, sobald die Carboxylgruppe des Arginins in den Aktivester überführt wird. Anschließend erfolgte die Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe mittels Tris(2-aminoethyl)amin, wobei das Dipeptid **180** in einer sehr guten Ausbeute von 94% über zwei Stufen erhalten wurde. Abschließend wurde noch die Peptidkupplung mit der 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**79**) durchgeführt. Unter Verwendung des Phosphoniumreagenzes PyAOP in Kombination mit dem Additiv HOAt in DMF konnte das Vinyljodid **181** in einer guten Ausbeute von 80% erhalten werden (Schema 81).

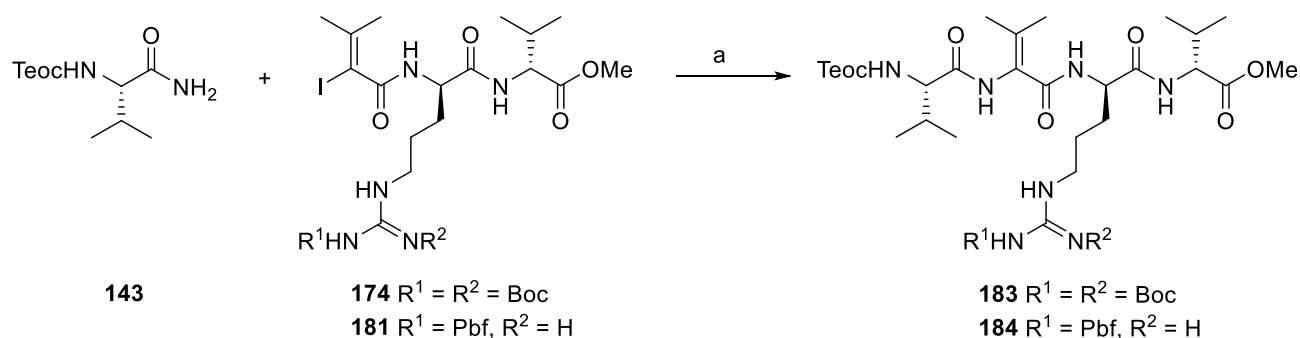


Schema 81: Synthese des Vinyljodids **181** ausgehend von Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH (**178**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) D-Val-OMe·HCl (**40**), EDC·HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 22 h; b) (NH₂CH₂CH₂)₃N, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 2.5 h, 94% über 2 Stufen; c) Säure **79**, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 22 h, 80%.

Basierend auf den so synthetisierten Vinyljodiden **174** und **181** sollte die BUCHWALD-Kreuzkupplung dieser mit dem Teoc-geschützten Amid **143** erprobt werden. Hierfür wurde auf die bereits optimierten Reaktionsbedingungen (Kupfer(I)iodid, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin und Kaliumcarbonat) zurückgegriffen. Im Falle des Vinyljodids **174** konnte

weder das gewünschte Kreuzkupplungsprodukt **183** anhand der massenspektrometrischen Daten detektiert werden noch das eingesetzte Vinylidiod **174**, sodass von einer Zersetzung des Vinylidiods **174** während der Reaktion auszugehen ist. Für das Vinylidiod **181** konnten sowohl das Kupplungsprodukt **184** als auch das eingesetzte Peptid **181** anhand der LC-MS-Daten des Reaktionsansatzes analysiert werden. Die anschließende Reinigung dieser Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung per HPLC lieferte das Tetrapeptid **184** jedoch lediglich in einer Ausbeute von 2.5%, sodass von einer hohen Ionenbildungseffizienz des Tetrapeptids **184** ausgegangen werden kann (Schema 82). Des Weiteren konnte das Vinylidiod **181** in 16%¹⁰⁸ reisoliert werden. Neben diesen beiden Verbindungen wurde noch ein weiteres Produkt isoliert. Anhand von ¹H-NMR-spektroskopischen Daten konnten neben Verunreinigungen lediglich die Aminosäuren Arginin inklusive der Pbf-Schutzgruppe und Valin analysiert werden. Die charakteristischen Methylgruppen der Doppelbindung des Vinylidiods **181** waren jedoch nicht mehr sichtbar, sodass von einer teilweisen Zersetzung des Vinylidiods während der Reaktion auszugehen ist. Des Weiteren war auch eine Epimerisierung der Aminosäure Valin anhand dieser ¹H-NMR-spektroskopischen Daten erkennbar.



Schema 82: Synthese der Peptide **183** und **184** via BUCHWALD-Kreuzkupplung.

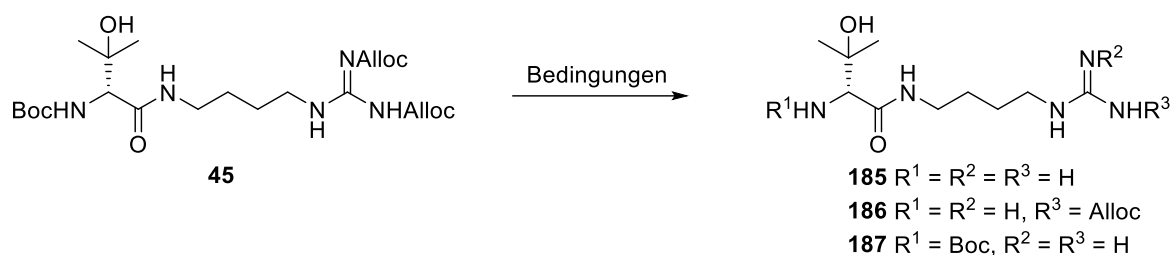
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) CuI, K₂CO₃, *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 18 h, 0% für **183**, 2.5% für **184**.

Abschließend kann gesagt werden, dass sich die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung mit Vinylidioden, welche bereits die Guanidinfunktionalität beinhalten, unter den gewählten Reaktionsbedingungen nicht erfolgreich realisieren lässt, da sich herausstellte, dass die eingesetzten Vinylidiodide **174** und **181** unter den verwendeten Kreuzkupplungsbedingungen instabil sind. Weitere Bedingungen wurden an dieser Stelle aus zeitlichen Gründen nicht mehr erprobt.

¹⁰⁸ Die Menge an dem reisolierten Vinylidiod **181** bezieht sich auf deren eingesetzte Substanzmenge.

3.1.7.5 Etablierung der finalen Entschützungsbedingungen für die Fertigstellung der Myxovalargin-Synthese

Für die Entfernung der im Naturstoff Myxovalargin enthaltenen Schutzgruppen (Alloc, Allyl und Boc) sollte eine finale Strategie etabliert werden, die es vorsieht, dass möglichst alle Schutzgruppen simultan entfernt werden. Als Testsystem hierfür sollte zunächst das Fragment D **45** dienen (Schema 83, Tabelle 12).



Schema 83: Etablierung der finalen Entschützungsbedingungen an dem Fragment D **45**.

In den anfänglichen Studien wurde die Entfernung der Alloc- und der Boc-Schutzgruppen unter LEWIS-sauren Reaktionsbedingungen mittels TMSI untersucht (Tabelle 12, Eintrag 1-4). Hierbei wurde jedoch in den meisten Fällen das Produkt **186** erhalten (Tabelle 12, Eintrag 1-3). Lediglich die Reaktionsbedingungen TMSI (6.00 Äq.) in Chloroform bei 50 °C lieferten das gewünschte, vollständig entschützte Produkt **185**; jedoch lag dieses als ein 1:1 Gemisch mit dem entsprechenden mono-Alloc-geschützten Derivat **186** vor (Tabelle 12, Eintrag 4). Weitere Reaktionsbedingungen mit TMSI wurden an dieser Stelle nicht mehr erprobt, da keine vollständige Entschützung unter den getesteten Bedingungen erzielt werden konnte. Ferner besteht auch die Möglichkeit, dass neben den Schutzgruppen auch die Amidbindungen gespalten werden, wenn diese Reaktionsbedingungen auf das Myxovalargin übertragen werden. Daher sollte die Entfernung der Alloc-Schutzgruppen unter Palladium-Katalyse realisiert werden (Tabelle 12, Eintrag 5-6).¹⁰⁹ Zunächst wurden die von KALESSE *et al.*¹¹⁰ beschriebenen Reaktionsbedingungen untersucht, die eine selektive Entschützung von Allylestern in Anwesenheit einer Doppelbindung diskutierten. So konnte unter Verwendung einer katalytischen Menge Palladium ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$) und Tributylzinnhydrid (10.0 Äq.) das gewünschte Produkt **187** erhalten werden (Tabelle 12, Eintrag 5). Da jedoch eine mögliche Interaktion des Tributylzinnhydrids mit den

¹⁰⁹ E. C. Ross, P. Bernabé, H. Hiemstra, W. N. Speckamp, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1733-1740.

¹¹⁰ G. Ehrlich, J. Hassfeld, U. Eggert, M. Kalesse, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2232-2247.

Dehydroaminosäuren im Myxovalargin nicht ausgeschlossen werden kann, welches folglich eine Reduktion dieser Aminosäuren zu den korrespondierenden gesättigten Peptiden mit sich bringen würde, wurde nach alternativen *Scavengern* für das intermediäre Allylkation gesucht. Dabei werden in der Literatur vorrangig Amine wie Morpholin¹¹¹, *n*-Butylamin¹¹² oder auch Diethylamin¹¹³ verwendet. Die Entschützung der Alloc-Schutzgruppen des Fragments D **45** wurde dann unter Verwendung von Pd(PPh₃)₄ in Anwesenheit des sekundären Amins Morpholin durchgeführt (Tabelle 12, Eintrag 6).¹⁰⁹ Anhand von massenspektrometrischen Analysen konnte ausschließlich das gewünschte Produkt **187** identifiziert werden.

Tabelle 12: Reaktionsbedingungen für die finale Entschützung.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	TMSI (4.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , RT, 20 h	Produkt 186 ^b
2 ^a	TMSI (2.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , RT, 15 h	teilweise Zersetzung des Amins 186 ^b
3	TMSI (4.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , 35 °C, 20 h	Produkt 186 ^b
4	TMSI (6.00 Äq.), CHCl ₃ , 50 °C, 22 h	1:1 Gemisch aus 185 und 186 ^b
5	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ , Bu ₃ SnH (10.0 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , RT, 20 min	Produkt 187 ^c
6	Pd(PPh ₃) ₄ , Morpholin (5.00 Äq.), CH ₂ Cl ₂ , RT, 1 h	Produkt 187 ^c

^a Anstelle des Fragments D **45** wurde die Verbindung **186** als SM verwendet. ^b Die Ausbeute wurde nicht bestimmt.

^c Laut LC-MS verlief die Reaktion quantitativ.

Abschließend sollte noch untersucht werden, ob unter diesen Bedingungen (Pd(PPh₃)₄, Morpholin) eine selektive Entfernung der Alloc-Schutzgruppen in Anwesenheit der Dehydroaminosäuren ohne deren Reduktion möglich ist. Als Testsystem hierfür wurde das Tetrapeptid **164** gewählt. Die Analysierung der massenspektrometrischen und der ¹H-NMR-spektroskopischen Daten des Reaktionsansatzes zeigte sehr deutlich, dass eine selektive Entschützung der Alloc-Gruppen in Anwesenheit des Dehydroisoleucins möglich ist. Als

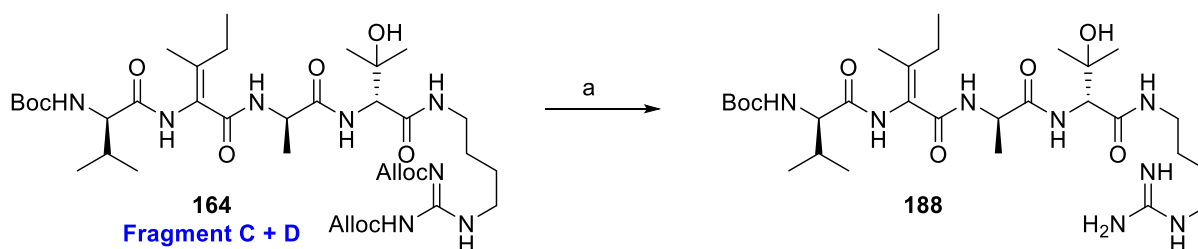
¹¹¹ H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 49-50; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *23*, 71-72.

¹¹² a) Y. Hayakawa, H. Kato, M. Uchiyama, H. Kajino, R. Noyori, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2400-2402; b) Y. Hayakawa, S. Wakabayashi, H. Kato, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1691-1696.

¹¹³ J. P. Genêt, E. Blart, M. Savignac, S. Lemeune, S. Lemaire-Audoire, J. M. Bernard, *Synlett* **1993**, 680-682.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

Produkt wurde ausschließlich das Tetrapeptid **188** erhalten, sodass von einem quantitativen Umsatz ausgegangen werden kann (Schema 84). Dementsprechend sollen diese Reaktionsbedingungen ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Morpholin) auf das Myxovalargin übertragen werden und dort bei der finalen Entfernung des Allylethers und der Alloc-Schutzgruppen zur Anwendung kommen.



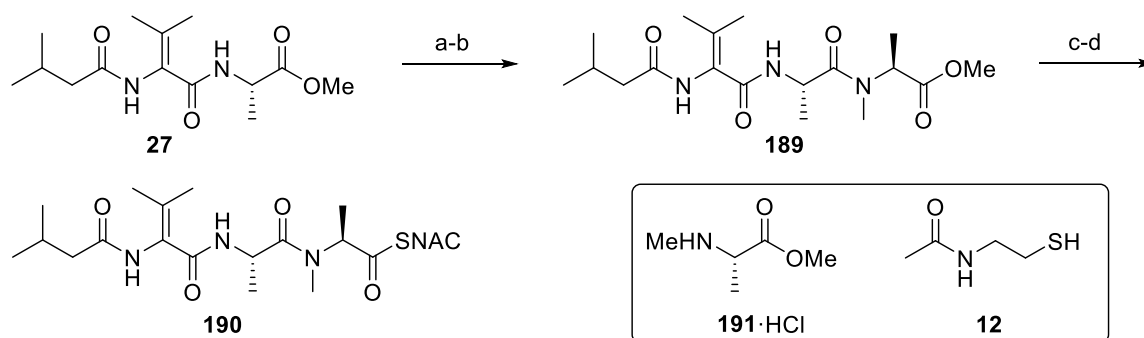
Schema 84: Entfernung der Alloc-Schutzgruppen des Fragments C + D **164**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Morpholin, CH_2Cl_2 , RT, 1 h.

3.2 Synthese von Thioester-aktivierten Peptidfragmenten des Myxovalargins für die Mutasyntese

3.2.1 Synthese des natürlichen Mutasynthons

Der SNAC-Thioester des natürlichen Substrates, das *N*-acylierte Tripeptid **190**, wurde in einer vierstufigen Sequenz ausgehend von dem bereits synthetisierten Dehydropeptid **27** hergestellt (vgl. Kapitel 3.1.3.1, Schema 34). Zunächst wurde der Methylester **27** unter basischen Reaktionsbedingungen verseift. Die nachfolgende Peptidkupplung mit dem *N*-Methyl-L-alaninmethylester (**191**) lieferte das *N*-acylierte Tripeptid **189** in einer, für die Kupplung von sekundären Aminosäuren betreffend, guten Ausbeute von 63% über zwei Stufen. Dieses konnte unter Verwendung des Uroniumreagenzes HATU und des Additives HOAt in DMF realisiert werden. Die anschließende Verseifung des Peptids **189** erfolgte mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M). Die finale Kupplung mit *N*-Acetylcysteamin (**12**) ergab das natürliche Substrat **190** in Form des Thioesters. Dabei wurde auf die von J. HERMANE beschriebenen Reaktionsbedingungen zurückgegriffen.¹¹⁴ Das gewünschte Produkt **190** konnte so in einer moderaten, jedoch für diese Reaktion üblichen Ausbeute von 42% über zwei Stufen erhalten werden (Schema 85).



Schema 85: Synthese des natürlichen SNAC-Thioesters **190**.

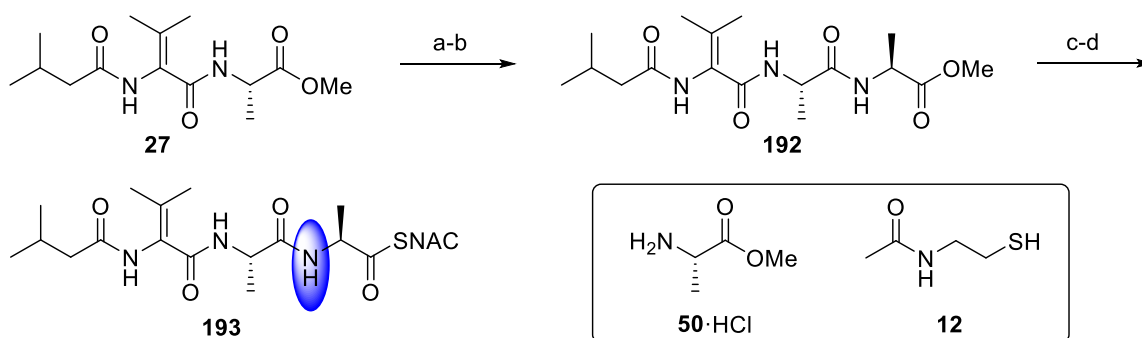
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; b) *N*-Me-L-Ala-OMe·HCl (**191**), HATU, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 3 d, 63% über 2 Stufen; c) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; d) *N*-Acetylcysteamin (**12**), EDC·HCl, DMAP, DMF, 0 °C → RT, 3 d, 42% über 2 Stufen.

¹¹⁴ J. Hermane, Dissertation, *Synthetische und mutasyntetische Zugänge zu neuen Hsp90 Inhibitoren*, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2013.

Basierend auf dem bereits synthetisierten Dehydropeptid **27** (s. Kapitel 3.1.3.1) konnte die Synthese des natürlichen Substrates in einer vierstufigen Synthesesequenz und einer Ausbeute von 26% erfolgreich realisiert werden. Unter Einbeziehung der Darstellung des Dehydropeptids **27** ergibt sich eine Gesamtausbeute von 6.8% über 8 Stufen (längste lineare Sequenz).

3.2.2 Synthese des nicht-methylierten Mutasythons

Ausgehend von der erfolgreichen Synthese des natürlichen Substrates **190** sollte nun das Derivat hergestellt werden, welches an Stelle des *N*-Methyl-L-alaninmethylesters die korrespondierende nicht-methylierte Aminosäure **50** enthält. Die Synthese des Derivats **193** sollte analog zu der des natürlichen Substrates **190** erfolgen. Zunächst wurde der Methylester **27** unter basischen Reaktionsbedingungen verseift. Anschließend konnte die Peptidkupplung mit dem L-Alaninmethylester (**50**) zu dem Tripeptid **192** erfolgreich realisiert werden. Das gewünschte Produkt **192** wurde hierbei in einer moderaten Ausbeute von 53% erhalten; dieses wurde unter Nutzung des PyAOP-Reagenzes in Kombination mit HOAt in DMF realisiert. Abschließend erfolgten die Verseifung des Tripeptids **192** mit Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M), sowie die Kupplung mit *N*-Acetylcysteamin (**12**), welche das erste Derivat **193** für die Verfütterungsstudien in einer zufriedenstellenden Ausbeute von 47% über zwei Stufen lieferte (Schema 86).



Schema 86: Synthese des Tripeptids **193** als SNAC-Thioester.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; b) L-Ala-OMe·HCl (**50**), PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 20 h, 53% über 2 Stufen; c) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; d) *N*-Acetylcysteamin (**12**), EDC·HCl, DMAP, DMF, 0 °C → RT, 24 h, 47% über 2 Stufen.

Basierend auf dem bereits synthetisierten Dehydropeptid **27** (s. Kapitel 3.1.3.1, Schema 34) konnte die Darstellung des Derivates ohne das methylierte Alanin in einer

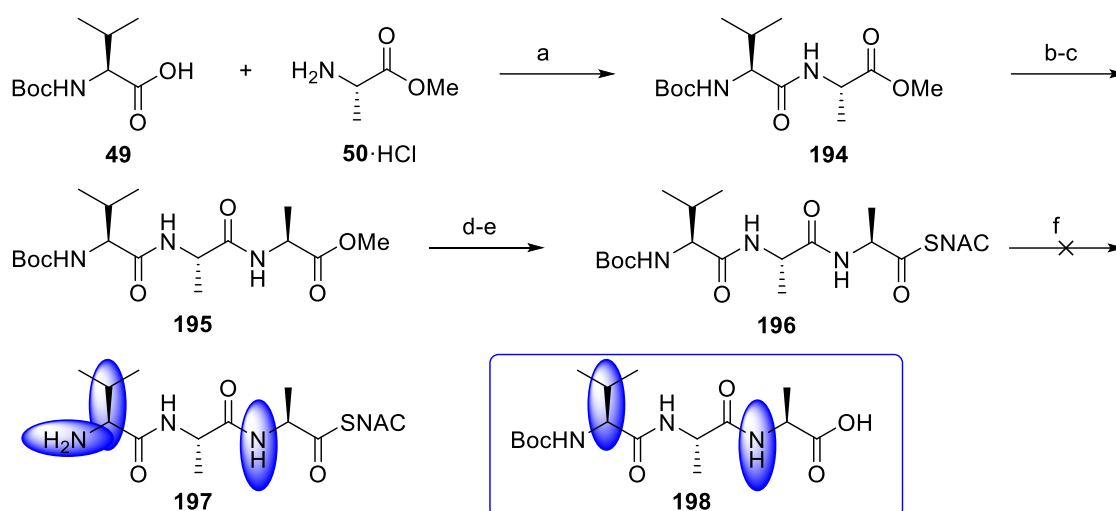
vierstufigen Sequenz und einer Ausbeute von 25% erfolgreich realisiert werden. Unter Einbeziehung der Darstellung des Dehydropeptids **27** ergibt sich eine Gesamtausbeute von 6.4% über 8 Stufen (längste lineare Sequenz).

3.2.3 Darstellung der Thioester-aktivierten Peptidfragmente ohne die Doppelbindungsfunktionalität

Die Herstellung der Tripeptid-Derivate ohne die Dehydrofunktionalität sollte ausgehend von Boc-L-Valin oder Boc-D-Valin erfolgen, sodass am Amino-Terminus neben der eigentlichen Säurefunktionalität 3-Methylbutansäure weitere Carbonsäuren zum *Cappen* eingesetzt werden können. Des Weiteren lassen sich so auch die entsprechenden Derivate ohne Startbaustein einfach synthetisieren.

3.2.3.1 Synthese der L-Valin-basierten Derivate

Zunächst sollte das Tripeptid **197** ausgehend von Boc-L-Valin (**49**) synthetisiert werden. Die Peptidkupplung mit dem L-Alaninmethylester (**50**) unter Verwendung der Standardbedingungen EDC·HCl/HOBt ergab das gewünschte Dipeptid **194** in einer exzellenten Ausbeute. Die darauffolgende Verseifung und erneute Peptidkupplung mit EDC·HCl und HOBt lieferte das Tripeptid **195** ebenfalls in quantitativer Ausbeute. Anschließend sollte die Kupplung mit *N*-Acetylcysteamin (**12**) zu dem korrespondierenden Thioester **196** realisiert werden. Hierfür wurde zunächst der Methylester **195** verseift und danach mit dem Thiol **12** unter Verwendung von EDC·HCl und DMAP in DMF erfolgreich zu dem Thioester **196** gekuppelt. Somit fehlte für die Vollendung des nächsten Derivates, jenes ohne *N*-Acylierung, lediglich eine Stufe, die Entfernung der Boc-Schutzgruppe. Hierfür sollte die Boc-Schutzgruppe am *N*-Terminus mittels TFA entfernt werden (Schema 87). Jedoch zeigte sich hierbei, dass der SNAC-Thioester unter diesen stark sauren Reaktionsbedingungen instabil ist und ebenfalls entfernt wurde. Anstelle des gewünschten Amins **197** wurde die Säure **198** in einer Ausbeute von 18% erhalten. Bedauerlicherweise konnte das Tripeptid **196** nicht reisoliert werden, sodass von einer teilweisen Zersetzung ausgegangen werden muss. Weitere Entschützungsbedingungen wurden nicht erprobt. Stattdessen sollte der Thioester **196**, jener mit der Boc-Schutzgruppe, direkt für die mutasynthetischen Experimente verwendet werden.

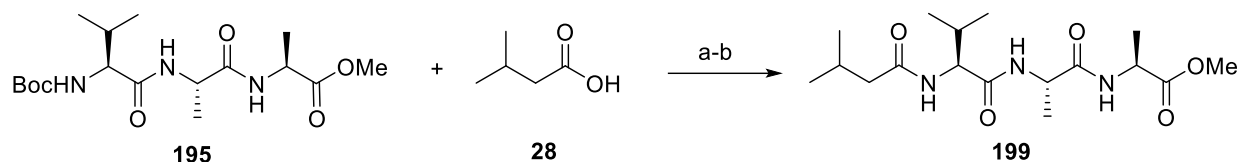


Schema 87: Synthese des Tripeptids **197**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, quant.; b) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 6 h; c) L-Ala-OMe-HCl (**50**), EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, quant. über 2 Stufen; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 6 h; e) *N*-Acetylcysteamin (**12**), EDC·HCl, DMAP, DMF, 0 °C → RT, 3 d, 53% über 2 Stufen; f) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h, 18% für **198**.

Der SNAC-Ester des geschützten Tripeptids **196** wurde damit über fünf Stufen in einer Gesamtausbeute von 53% erhalten.

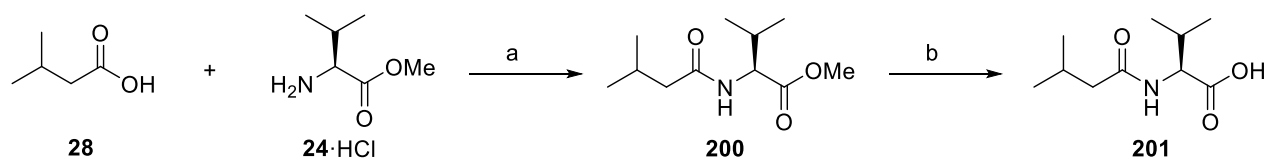
Aufgrund der Tatsache, dass Thioester basenlabil sind und sehr leicht unter Reaktionsbedingungen, wie sie während einer Peptidkupplung vorliegen, mit Nukleophilen reagieren können, sollte die Synthese des SNAC-Derivates mit Startereinheit ausgehend von dem bereits synthetisierten Tripeptid **195** erfolgen. Hierfür musste zunächst die Boc-Schutzgruppe der Aminofunktion entfernt werden. Dieses konnte durch die Verwendung von TFA erzielt werden, wobei das Amin lediglich in einer Ausbeute von 62% erhalten wurde. Allerdings handelt, dass es sich bei dem Boc-entschützten Tripeptid um eine sehr polare Verbindung, welche sich lediglich mit EtOAc/CH₃OH (10:1) aus der wässrigen Phase nach Beendigung der Reaktion extrahieren ließ. Dementsprechend kann die verminderte Ausbeute auf eine unvollständige Extraktion zurückgeführt werden. Die abschließende Peptidkupplung des Amins mit dem Startbaustein 3-Methyl-butansäure (**28**) unter Verwendung von PyAOP und HOAt in DMF ergab das *N*-acylierte Tripeptid **199**. Jedoch konnte das gewünschte Produkt **199** in einer Ausbeute von lediglich 17% erhalten werden. Des Weiteren ließ sich das eingesetzte Startmaterial nicht reisolieren. Weitere Optimierungsstudien wurden nicht durchgeführt, da von dem Tripeptid **195** nur geringe Substanzmengen zur Verfügung standen (Schema 88).



Schema 88: Synthese des *N*-acylierten Tripeptids **199**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h, 62%; b) 3-Methylbutansäure (**28**), PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 24 h, 17%.

Da die Peptidkupplung mit der 3-Methylbutansäure (**28**) zu der Verbindung **199** nur unzureichende Ausbeuten lieferte, wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt und eine alternative Syntheseroute ausgearbeitet, bei der der korrespondierende SNAC-Ester der Verbindung **199** ausgehend von dem Startbaustein **28** aufgebaut werden sollte. Die Kupplung mit dem L-Valinmethylester (**24**) ergab das gewünschte Produkt **200**. Da sich deren säulenchromatographische Reinigung aufgrund der Polarität als schwierig herausstellte und die Trennung des gewünschten Produkts von den eingesetzten Kupplungsreagenzien nicht möglich war, wurde die Verbindung **200** direkt unter basischen Reaktionsbedingungen verseift. Entgegen den Erwartungen konnte die *N*-acylierte Aminosäure **201** in lediglich ~10% Ausbeute erhalten werden, sodass dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde (Schema 89).



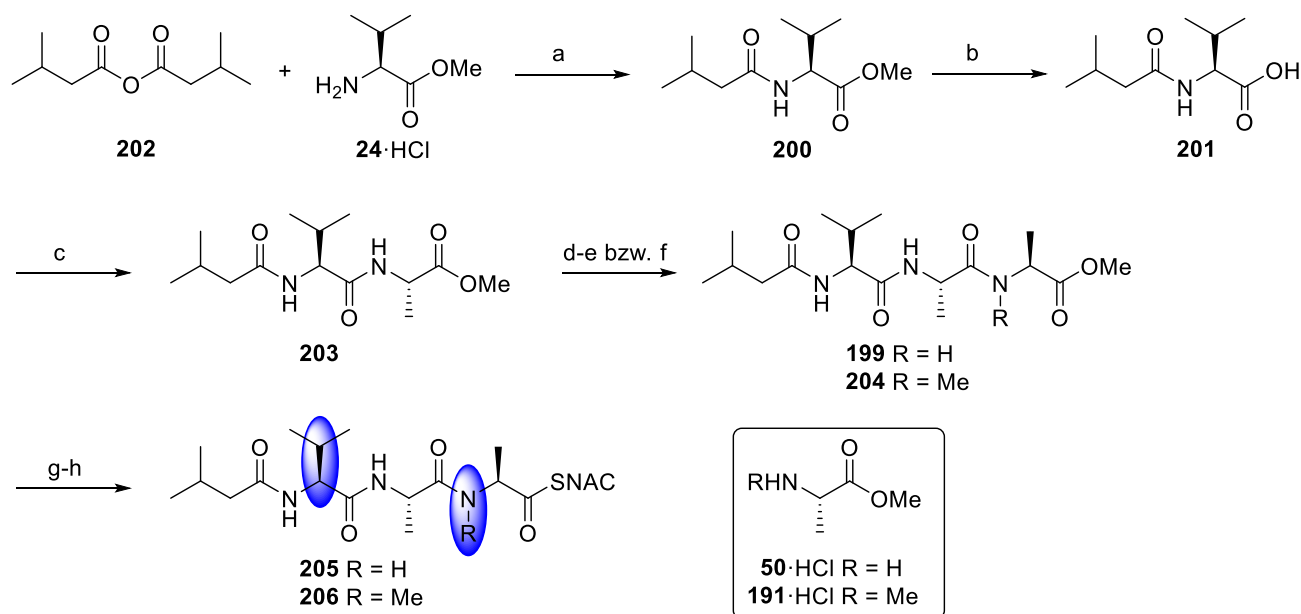
Schema 89: Synthese des *N*-acylierten Valins **201** ausgehend von 3-Methylbutansäure (**28**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 22 h; b) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 24 h, ~10% über 2 Stufen.

Ein weiterer Zugang zu dem SNAC-Thioester des Tripeptids **199** besteht darin, anstelle der 3-Methylbutansäure (**28**) das entsprechende, reaktivere symmetrische Anhydrid **202** zu verwenden. Dessen Reaktion mit L-Valinmethylester (**24**) lieferte unter basischen Reaktionsbedingungen den *N*-acylierten Aminosäuremethylester **200**. Die darauffolgende Verseifung mittels Lithiumhydroxid-Lösung (1.0 M) ergab die korrespondierende Säure **201** in quantitativer Ausbeute. Anschließend erfolgte die Kupplung mit dem L-Alaninmethylester (**50**) zu dem *N*-acylierten Dipeptid **203** (Schema 90). Interessanterweise handelt es sich bei dem Dipeptid **203** um eine äußerst polare Verbindung, welche lediglich in Dimethylsulfoxid (DMSO) löslich ist. Im Vergleich dazu ist die Verbindung **27**, jene mit der Dehydrofunktionalität anstelle

des Valins, in Chloroform oder Methanol gut löslich. Des Weiteren zeigte sich bei der Aufnahme des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums der Verbindung **203** eine konzentrationsabhängige Veränderung der einzelnen Peaks. So konnte beobachtet werden, dass bei größeren Substanzmengen (10 mg) eine Linienverbreiterung der einzelnen Peaks, sowie des Lösemittelsignals auftrat, sodass keine Kopplungen untereinander zu erkennen waren. Hingegen wurde diese Problematik bei geringerer Substanzmengen (1.8 mg) nicht beobachtet. Dieses kann auf mögliche intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen, eventuell auch die Ausbildung von Sekundärstrukturen in höheren Konzentrationen zurückgeführt werden. Aufgrund dieser Tatsachen ist davon auszugehen, dass die Dehydrofunktionalitäten essentiell für die biologische Aktivität sind. Weiterhin scheint es, dass die Doppelbindungen einen entscheidenden Einfluss auf die korrekte Faltung des Naturstoffs Myxovalargin haben, sodass hier dann eine Vorzugskonformation für die Interaktion mit dem biologischen Target erzielt werden kann.

Ausgehend von dem Dipeptid **203** sollte die Kupplung zum einen mit dem L-Alanin-methylester (**50**) und zum anderen mit der korrespondierenden *N*-methylierten Aminosäure **191** durchgeführt werden. Zunächst wurde das Dipeptid **203** unter basischen Reaktionsbedingungen verseift. Die anschließenden Kupplungen konnten mit PyAOP, HOAt und DIPEA beziehungsweise HATU, sowie HOAt und DIPEA realisiert werden. Hierbei konnte das nicht methylierte Tripeptid **199** in einer moderaten Ausbeuten von 45% über zwei Stufen erhalten werden. Die Synthese des *N*-methylierten Tripeptids **204** lieferte eine gute, für diese Reaktion übliche Ausbeute von 64% über zwei Stufen. Die erneute Verseifung der Tripeptide **199** und **204** lieferte die entsprechenden Säuren. Somit fehlte für die Vollendung der nächsten Derivate lediglich eine Stufe, die Kupplung mit dem *N*-Acetylcysteamin (**12**). Dabei wurde auf die bereits etablierten Bedingungen EDC·HCl und DMAP in DMF zurückgegriffen, sodass die beiden Thioester **205** und **206** in einer moderaten bis guten Ausbeute erhalten werden konnten (Schema 90).



Schema 90: Synthese der L-Valin basierten Thioester **205** und **206** ausgehend von 3-Methylbutansäureanhydrid (**202**).

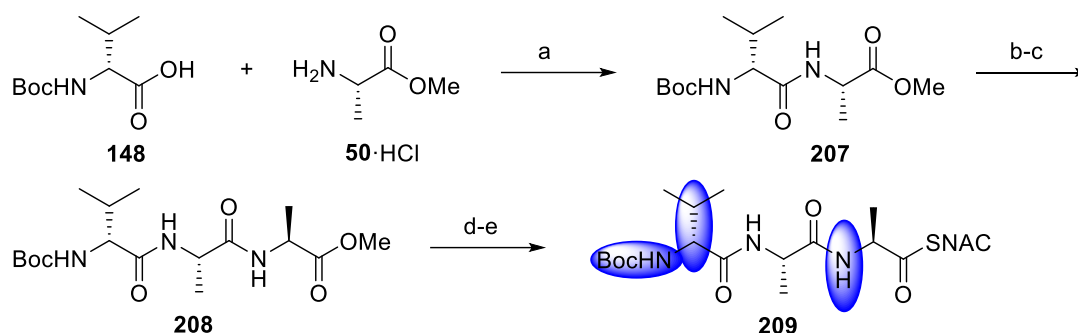
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) DIPEA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 24 h; b) LiOH (1.0 M), THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 h, quant. über 2 Stufen; c) L-Ala-OMe·HCl (**50**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h, 81%; d) LiOH (1.0 M), THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 24 h; e) L-Ala-OMe·HCl (**50**), PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 h, 45% über 2 Stufen für **199**; f) *N*-Me-L-Ala-OMe·HCl (**191**), HATU, HOAt, DIPEA, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 3 d, 64% über 2 Stufen für **204**; g) LiOH (1.0 M), THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h; h) *N*-Acetylcysteamin (**12**), EDC·HCl, DMAP, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 3 d, 42% über 2 Stufen für **205**; 76% über 2 Stufen für **206**.

Der SNAC-Ester des Tripeptids **205** wurde damit über sieben Stufen (längste lineare Sequenz) in einer Gesamtausbeute von 15%. Der entsprechende Thioester **206**, welcher das *N*-Methyl-Alanin beinhaltet, konnte ebenfalls in sieben Stufen (längste lineare Sequenz) und einer Gesamtausbeute von 39% synthetisiert werden.

3.2.3.2 Synthese der D-Valin-basierten Derivate

Parallel zur Darstellung des SNAC-Thioesters **196** ausgehend von Boc-L-Valin (**49**) erfolgte die Synthese des von Boc-D-Valin (**148**) ausgehenden diastereomeren Tripeptids **209**. Die Peptidkupplung des Valins **148** mit dem L-Alaninmethylester (**50**) unter Verwendung der Standardbedingungen EDC·HCl/HOBt ergab das gewünschte Dipeptid **207** in einer exzellenten Ausbeute. Die darauffolgende Verseifung und erneute Peptidkupplung mit EDC·HCl/HOBt lieferte das Tripeptid **208** in einer sehr guten Ausbeute von 88%. Anschließend sollte die Kupplung mit *N*-Acetylcysteamin (**12**) zu dem korrespondierenden Thioester **209** realisiert werden. Hierfür wurde zunächst der Methylester **208** verseift und danach mit dem Thiol **12**

unter Verwendung von EDC·HCl und DMAP in DMF erfolgreich zu dem Thioester **209** gekuppelt, sodass das Tripeptid **209** in einer Ausbeute von 71% über zwei Stufen erhalten wurde (Schema 91). Die Entfernung der Boc-Schutzgruppe wurde an dieser Stelle nicht erprobt, da bereits Entschützungsstudien mit dem diastereomeren Tripeptid **196** zeigten, dass der Thioester unter den gewählten sauren Bedingungen instabil ist und ebenfalls gespalten wurde. Deshalb wurde der Entschluss getroffen den mit der Boc-Schutzgruppe versehenen Thioester **209** direkt für die Verfütterungsexperimente zu verwenden und die Akzeptanz der *knock-out*-Mutanten zu untersuchen.



Schema 91: Synthese des SNAC-Thioesters **209**.

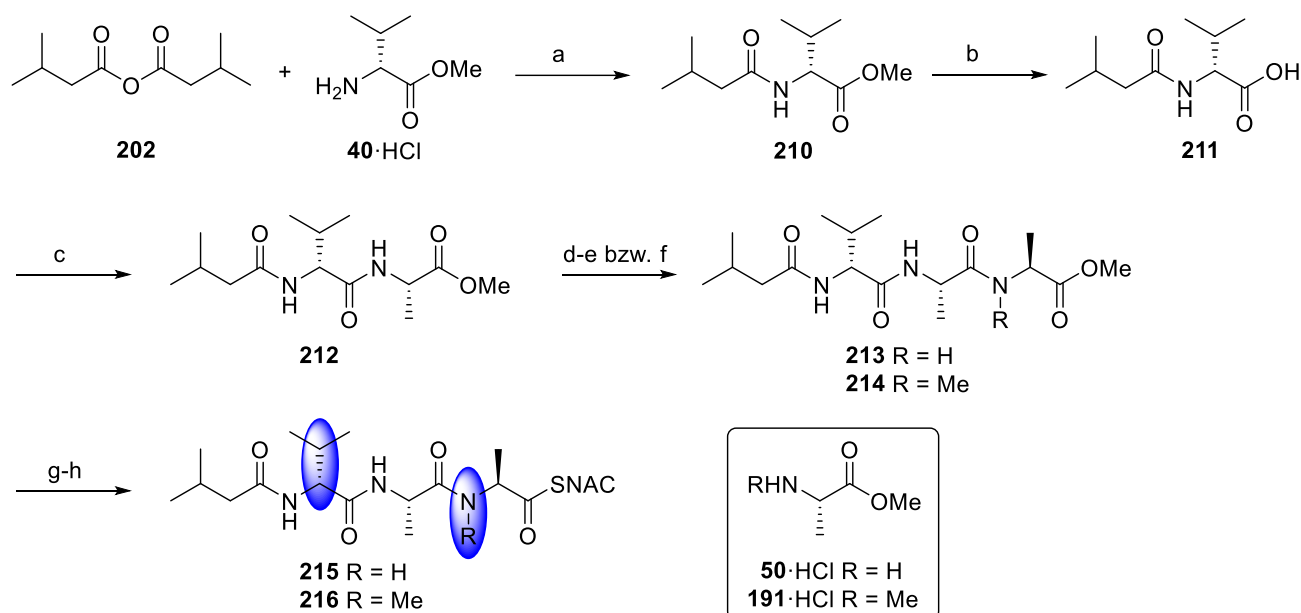
Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, 98%; b) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 6 h; c) L-Ala-OMe·HCl (**50**), EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h, 88% über 2 Stufen; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 6 h; e) *N*-Acetylcysteamin (**12**), EDC·HCl, DMAP, DMF, 0 °C → RT, 4 d, 71% über 2 Stufen.

Der SNAC-Ester des geschützten Tripeptids **209** wurde damit über fünf Stufen in einer Gesamtausbeute von 61% erhalten.

Die Darstellung der D-Valin-basierten Thioester **215** und **216** erfolgte analog zu den korrespondierenden diastereomeren Peptidfragmenten **205** und **206**. Deren Synthese erfolgte ausgehend von dem symmetrischen Anhydrid **202**. Die Kupplung mit dem D-Valinmethylester (**40**) unter basischen Reaktionsbedingungen lieferte den korrespondierenden *N*-acylierten Ester **210**. Verseifung und erneute Peptidkupplung am Carboxy-Terminus mit dem L-Alaninmethylester (**50**) unter Verwendung der Standardbedingungen EDC·HCl und HOBt ergab das Dipeptid **212** in einer guten Ausbeute von 77%. Basierend auf dem Dipeptid **212** sollte die Kupplung zum einen mit dem L-Alaninmethylester (**50**) und zum anderen mit der korrespondierenden *N*-methylierten Aminosäure **191** durchgeführt werden. Zunächst wurde das Dipeptid **212** unter basischen Reaktionsbedingungen verseift. Die anschließenden Kupplungen

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

konnten unter Verwendung der bereits etablierten Bedingungen, PyAOP, HOAt und DIPEA beziehungsweise HATU, sowie HOAt und DIPEA realisiert werden. Hierbei konnte das nicht methylierte Tripeptid **213** in einer guten Ausbeuten von 71% über zwei Stufen erhalten werden. Die Synthese des *N*-methylierten Tripeptids **214** lieferte ebenfalls eine gute Ausbeute von 68% über zwei Stufen. In einer erneuten Verseifung der Tripeptide **213** und **214** konnten die entsprechenden Säuren erhalten werden. Somit fehlte für die Vollendung der nächsten Derivate lediglich eine Stufe, die Kupplung mit dem *N*-Acetylcysteamin (**12**). Dabei wurde auf die bereits etablierten Bedingungen EDC·HCl und DMAP in DMF zurückgegriffen, sodass die beiden Thioester **215** und **216** in einer moderaten bis sehr guten Ausbeute erhalten werden konnten (Schema 92).



Schema 92: Synthese der D-Valin basierten Thioester **215** und **216** ausgehend von 3-Methylbutansäureanhydrid (**202**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 22 h; b) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 20 h, quant. über 2 Stufen; c) L-Ala-OMe·HCl (**50**), EDC·HCl, HOBT, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 20 h, 77%; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 16 h; e) L-Ala-OMe·HCl (**50**), PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 18 h, 71% über 2 Stufen für **213**; f) *N*-Me-L-Ala-OMe·HCl (**191**), HATU, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C → RT, 2 d, 68% über 2 Stufen für **214**; g) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C → RT, 22 h; h) *N*-Acetylcysteamin (**12**), EDC·HCl, DMAP, DMF, 0 °C → RT, 3 d, 88% über 2 Stufen für **215**; 37% über 2 Stufen (85% brsm) für **216**.

Der SNAC-Ester des Tripeptids **215** wurde damit über sieben Stufen (längste lineare Sequenz) in einer Gesamtausbeute von 48%. Der entsprechende Thioester **216**, welcher das

N-Methyl-Alanin beinhaltet, konnte ebenfalls in sieben Stufen (längste lineare Sequenz) und einer Gesamtausbeute von 19% synthetisiert werden.

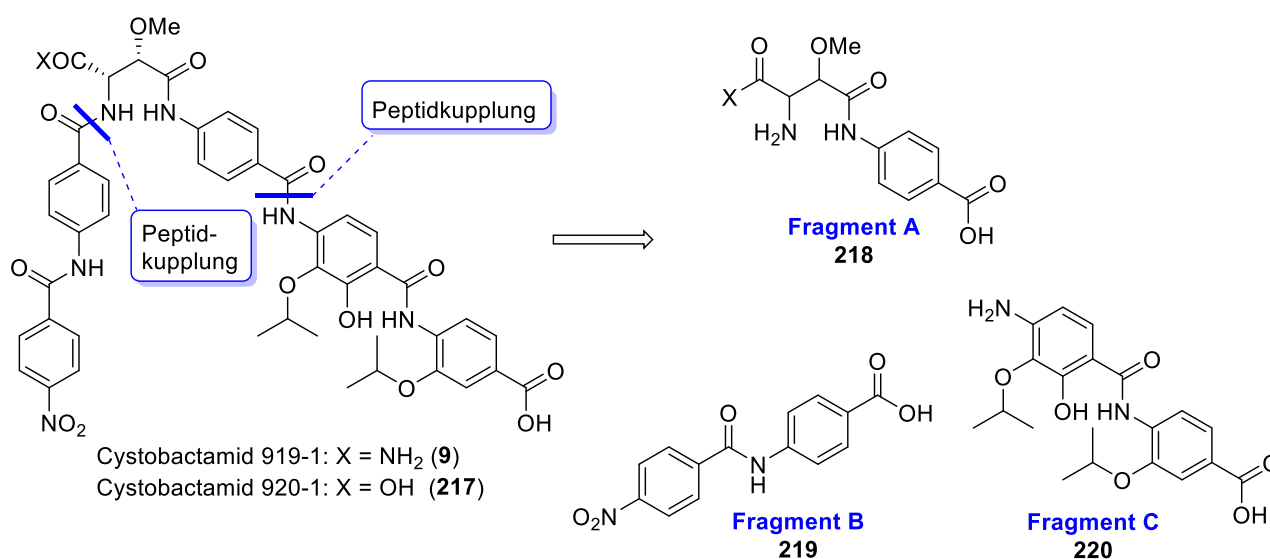
3.2.4 Verfütterungsstudien des natürlichen Mutasythons

Bis zum derzeitigen Zeitpunkt konnten neben dem natürlichen Mutasythons sieben weitere Thioester-Derivate für die mutasythetischen Studien synthetisiert werden. Erste Verfütterungsstudien des Mutasythons **190** zu der *knock-out*-Mutante (Gen *mxvA*) waren jedoch nicht vielversprechend; der Thioester wurde entgegen der Erwartungen von der Mutante nicht akzeptiert. Durch massenspektrometrische Analyse des Verfütterungsmediums konnte die Masse des Mutasythons **190** lediglich in dem Medium nachgewiesen werden. Dieses Resultat kann darauf hindeuten, dass das entsprechende Synthon erst gar nicht von der Zelle aufgenommen wurde. Eine Erhöhung der Zellpermeabilität kann durch erhöhte DMSO-Konzentrationen erzielt werden. Jedoch wurden auch unter diesen Bedingungen, sowie unter Verwendung höherer Mutasythons-Konzentration ähnliche Resultate wie zuvor erzielt. Möglicherweise lässt sich durch Zugabe weiterer Detergenzien oder durch Hitzeschock-Behandlung die Zellpermeabilität erhöhen.²⁶ Weitere Studien konnten nicht durchgeführt werden, da bis zu dem jetzigen Zeitpunkt nur unzureichende Substanzmengen von dem natürlichen Mutasythons **190** zur Verfügung standen und aus zeitlichen Gründen der Fokus dieser Arbeit auf der Vollendung der Totalsynthese des Myxovalargins lag.

3.3 Studien zur Totalsynthese der Cystobactamide

3.3.1 Retrosynthetische Hauptschnitte für die Totalsynthese der Cystobactamide

Als Einstieg in die Totalsynthese wurde der Naturstoff Cystobactamid retrosynthetisch zerlegt, um so in einer konvergenten Syntheseroute einen Zugang zu beiden Cystobactamiden 919-1 (**9**) und 920-1 (**217**) zu verwirklichen. Daher wurde Cystobactamid durch zwei Hauptschnitte in drei, etwa gleichgroße Fragmente A – C unterteilt (Schema 93). Die anschließende Verknüpfung dieser sollte durch Amidbildung realisiert werden. Die absolute Konfiguration der beiden stereogenen Zentren im Naturstoff war zu Beginn dieser Arbeit noch nicht bekannt. Die NMR-spektroskopischen Daten, genauer gesagt die vicinale Kopplungskonstante, gaben jedoch Hinweise darauf, dass eine Konfiguration (*threo*) wie in dem Schema 93 dargestellt, vorliegt.



Schema 93: Retrosynthetischer Zugang zu den Cystobactamiden 919-1 (**9**) und 920-1 (**217**).

In Zusammenarbeit mit Dr. M. MORENO sollte die Totalsynthese der peptidischen Naturstoffe Cystobactamid 919-1 und 920-1¹¹⁵ realisiert werden. Während sich Dr. M. MORENO mit der Synthese der beiden aromatischen Fragmente B und C¹¹⁶ beschäftigte,

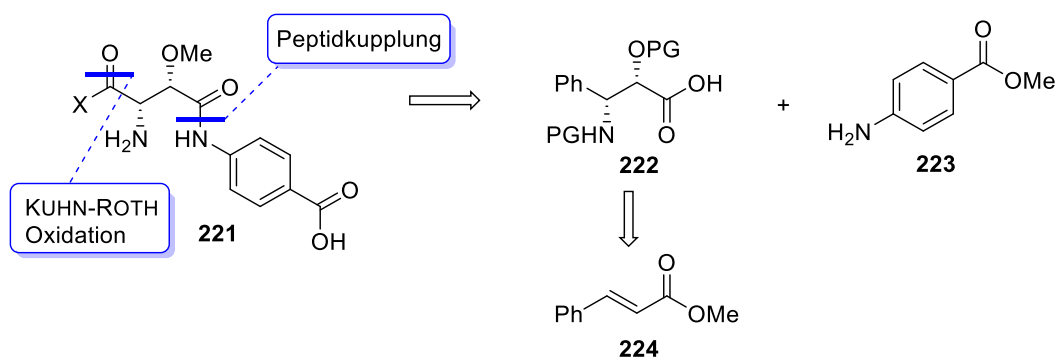
¹¹⁵ M. Moreno, L. Wang, F. Gille, R. Müller, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2015**, Manuskript in Bearbeitung.

¹¹⁶ Die Synthese der Fragments C wurde bereits als Synthese des linearen aromatischen Tripeptids mit der Sequenz PABA-PABA-D1-PABA-D2 (Cystobactamid 507) veröffentlicht: M. Moreno, W. Elgaher, J. Herrmann, N. Schläger, M. Hamed, S. Baumann, R. Müller, R. Hartmann, A. Kirschning, *Synlett* **2015**, 26, 1175-1178.

sollte die Autorin dieser Arbeit einen generellen Zugang zu dem Fragment A, insbesondere der zentral 1,2-verbrückten Aminosäure β -Methoxyasparagin, erarbeiten und diesen etablieren.

3.3.2 Studien zur Synthese des Fragments A

Der Syntheseansatz zu dem Fragment A ist in dem Schema 94 zusammengefasst, welcher als Schlüsselschritt eine KUHN-ROTH-Oxidation nutzt. Die Peptidkupplung der Carbonsäure **222** mit dem Anilinderivat **223**, gefolgt von der zuvor erwähnten Oxidation sollte das Fragment A liefern. Die Carbonsäure **222** könnte aus dem kommerziell erhältlichen Zimtsäuremethylester (**224**) erhalten werden.



Schema 94: Retrosynthese des Fragments A.

Die Synthese des Esters **227** erfolgte ausgehend von dem kommerziell erhältlichen Zimtsäuremethylester (**224**) unter Verwendung den von SHIOIRI *et al.*^{117,118} beschriebenen Reaktionsbedingungen. Die asymmetrische Dihydroxylierung des *E*-Alkens **224** mit dem AD mix β -Reagenziengemisch lieferte das Diol **225** in 79% Ausbeute und einem exzellenten Enantiomerenüberschuss (> 99.9% *ee*), wobei dieser mittels chiraler HPLC bestimmt wurde.¹¹⁹ Die nachfolgende Bromierung des *threo*-2,3-Dihydroxyesters **225** mit Hilfe von Bromwasserstoff in Essigsäure (33% HBr) lieferte den in β -Position bromierten Acetoxyester **226**. Diese Transformation verläuft über ein zyklisches Acetoxoniumion, welches stereospezifisch unter Inversion der Konfiguration von dem Bromidanion geöffnet wird. Die Regioselektivität dieser Reaktion kann auf den Substituenten in β -Position zurückgeführt werden. Diolester, welche in β -Stellung einen Alkylsubstituenten tragen, reagieren zu

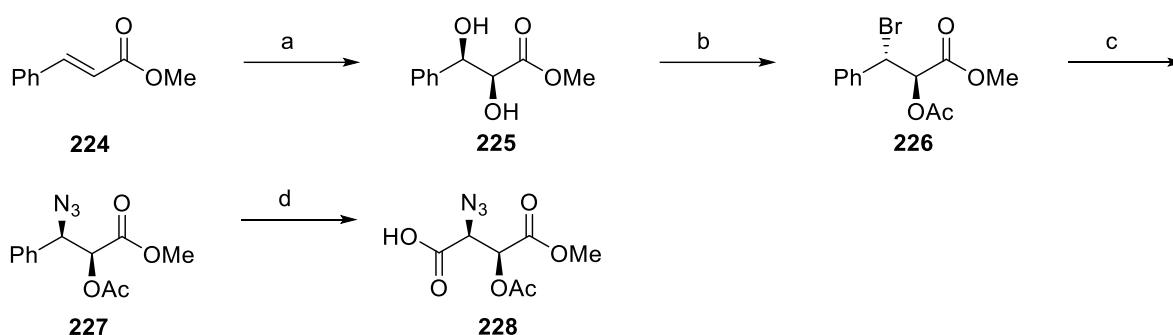
¹¹⁷ J. Deng, Y. Hamada, T. Shiori, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7824-7825.

¹¹⁸ J. Deng, Y. Hamada, T. Shioiri, *Synthesis* **1998**, 627-638.

¹¹⁹ Die Methode für die chirale HPLC wurde anhand des Racemates entwickelt.

β -Acetoxy- α -bromoestern. Dieses Resultat lässt sich auf die Carbonylgruppe zurückführen, welche die Reaktivität der α -Position erhöht. Wird jedoch das β -Kohlenstoffatom durch einen Phenylsubstituenten aktiviert, so bildet sich ausschließlich der α -Acetoxy- β -bromoester.¹²⁰

In einer erneuten nukleophilen Substitutionsreaktion des Bromids mit Natriumazid konnte der Ester **227** unter Inversion der Konfiguration in einer sehr guten Ausbeute von 89% erhalten werden. Das Azid soll als Schutzgruppe für die später in Fragment A benötigte Aminofunktion dienen. Die nachfolgende KUHN-ROTH-Oxidation des Phenylrests zur korrespondierenden Carbonsäure sollte unter Ruthenium-Katalyse (6 mol% Ru) und in Anwesenheit des stöchiometrischen Oxidationsmittels Natriumperodat das gewünschte Produkt **228** liefern. Erfreulicherweise konnte unter Verwendung der von SHIOIRI *et al.*¹¹⁸ beschriebenen Reaktionsbedingungen das gewünschte Produkt **228** erhalten werden (Schema 95).



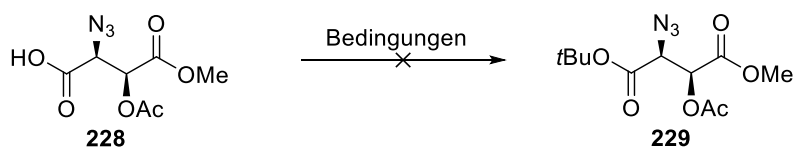
Schema 95: Synthese der Säure **228** ausgehend von Zimtsäuremethylester (**224**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) AD mix β , $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{NH}_2$, *t*BuOH/ H_2O (1:1), 0 °C, 16 h, dann RT, 12 h, 79%, *ee* > 99.9%; b) 33% HBr/HOAc, 45 °C, 30 min, 71%; c) NaN_3 , DMF, RT, 3 h, dann 40 °C, 2 h, 89%; d) $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaIO_4 , CH_3CN , EtOAc, H_2O , RT, 12 h.

Anschließend sollte die Carbonsäure als *tert*-Butylester **229** geschützt werden, um so eine Differenzierung der beiden im Molekül enthaltenen Esterfunktionalitäten zu verwirklichen. Hierfür wurden zunächst verschiedene Reaktionsbedingungen untersucht, wobei auf Standardbedingungen zurückgegriffen wurde. Jedoch konnte in allen drei Fällen der gewünschte *tert*-Butylester **229** nicht erhalten werden, da keine Reaktion zu dem Produkt eintrat (Schema 96, Tabelle 13).

¹²⁰ P. R. Fleming, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2869-2875.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 96: Schützungsexperimente der Carbonsäure **228** als *tert*-Butylester **229**.

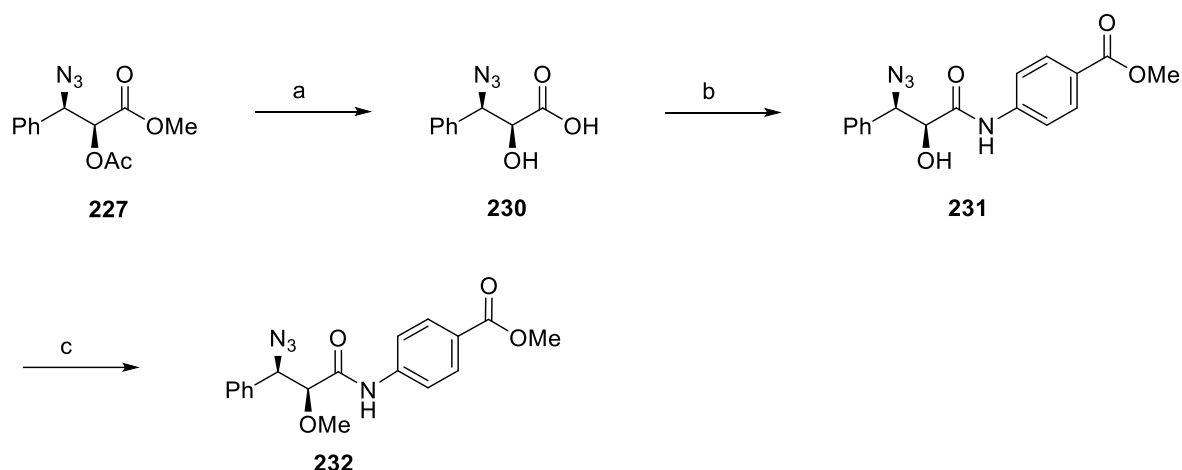
Tabelle 13: Reaktionsbedingungen für die Schützung als *tert*-Butylester **229**.

Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	<i>t</i> BuOH, EDC·HCl, DMAP, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 16 h	keine Reaktion
2	<i>t</i> BuOH, EDC·HCl, DMAP, CH ₂ Cl ₂ , 50 °C, 16 h	keine Reaktion
3	<i>t</i> BuOH, DIC, HOSu, DIPEA, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C → RT, 6 h	keine Reaktion

Darüber hinaus wurde an einem weiteren Syntheseansatz für das Fragment A gearbeitet. Hierbei sollte untersucht werden, ob die Oxidation des Phenylrests zur korrespondierenden Carbonsäure in Anwesenheit eines weiteren aromatischen Substituenten möglich ist. Hierfür muss zunächst der Ester **227** unter basischen Reaktionsbedingungen verseift werden, wobei die Acetatgruppe ebenfalls entfernt wurde. Die anschließende Peptidkupplung der Säure **230** mit dem Anilinderivat **223** lieferte das Amid **231** in 70% Ausbeute. Aufgrund der Tatsache, dass Aniline und deren Derivate eine verminderte Nucleophilie aufweisen, musste für die erfolgreiche Kupplung dieser auf Dichlortriphenylphosphan (Cl₂PPh₃) als Kupplungsreagenz zurückgegriffen werden.¹²¹ Jedoch bringt dieses Reagenz einen entscheidenden Nachteil mit sich; während der Reaktion entsteht Triphenylphosphanoxid als Nebenprodukt, welches die säulenchromatographische Reinigung des gewünschten Produkts **231** erschwert. Im Vergleich zu dem Produkt **231** ist Triphenylphosphanoxid deutlich unpolarer und eluiert folglich zuerst von der Silicagelsäule.

Anschließend wurde die freie Hydroxylgruppe mit Hilfe von Iodmethan (22.5 Äq.) methyliert. Hierbei konnte das gewünschte Produkt **232** in moderater Ausbeute von 50% erhalten werden (Schema 97). Auch eine Erhöhung der Äquivalente an Iodmethan (53.0 Äq.) trug nicht zur Umsatzsteigerung bei, ebenso die Verlängerung der Reaktionszeit auf vier Tage. In allen Fällen konnte nicht umgesetztes Startmaterial **231** reisoliert werden. Des Weiteren wurde die Reaktion ohne Verwendung des Lösungsmittels Aceton durchgeführt. Jedoch trat unter diesen Bedingungen keine Reaktion zu dem gewünschten Produkt **232** ein.

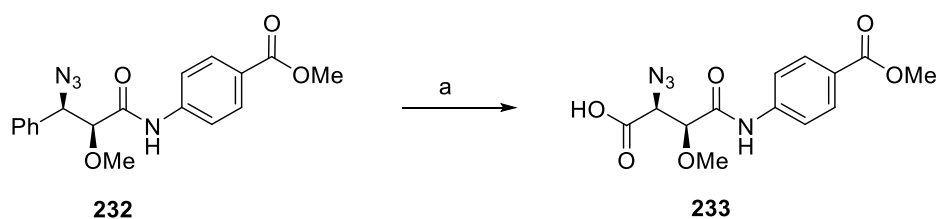
¹²¹ a) D. J. Burton, W. A. Koppes, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 3026-3032; b) S.-Z. Dong, H. Fu, Y.-F. Zhao, *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 2067-2075; c) I. Azumaya, T. Okamoto, F. Imabeppu, H. Takayanagi, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2325-2331; d) M. K. Urlam, R. Pireddu, Y. Ge, X. Zhang, Y. Sun, H. R. Lawrence, W. C. Guida, S. M. Sebt, N. J. Lawrence, *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 932-941.



Schema 97: Synthese des Peptids **232**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C, 4 h, quant.; b) Anilinderivat **223**, Cl₂PPh₃, CH₂Cl₂, 40 °C, 2 d, 70%; c) MeI, K₂CO₃, Aceton, 50 °C, 2 d, 50%.

Da das Fragment A nun nahezu vollständig aufgebaut war und bis auf die Carboxylgruppe alle Funktionalitäten beinhaltet, sollte nun die Einführung dieser mittels KUHN-ROTH-Oxidation des Phenylsubstituenten realisiert werden (Schema 98). Dabei wurde auf die bereits etablierten Reaktionsbedingungen zurückgegriffen (s. Schema 95). Unter Ruthenium-Katalyse wurde chemoselektiv der elektronenreichere Phenylring in die korrespondierende Carbonsäure überführt, wobei der *para*-substituierte, elektronenärmere Aromat intakt blieb.

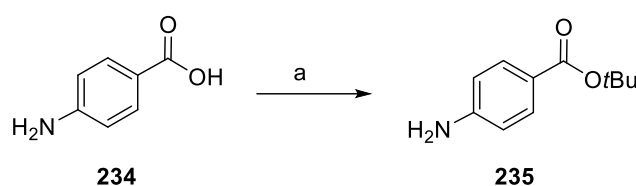


Schema 98: Oxidation des Peptids **232**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) RuCl₃·H₂O, NaIO₄, CH₃CN, EtOAc, H₂O, RT, 12 h. Die Ausbeute wurde nicht bestimmt.

Die so erhaltene Carbonsäure **233** muss zunächst als Ester geschützt werden, um mögliche Reaktionen dieser unter den nachfolgenden Reaktions- bzw. Kupplungsbedingungen auszuschließen. Idealerweise sollte der neu eingeführte Ester unter Verseifungsbedingungen stabil sein. Zunächst wurde der *tert*-Butylester in Betracht gezogen, jedoch traten schon zuvor erhebliche Probleme auf und eine erfolgreiche Esterbildung konnte nicht realisiert werden (s. Schema 96). Deshalb sollte an dieser Stelle der Methyl ester eingeführt werden, welcher

möglicherweise aufgrund der sterischen Gegebenheiten deutlich einfacher synthetisierbar ist. Da sich dann jedoch zwei Methylester im Fragment A befänden, würde eine Differenzierung beider wahrscheinlich schwierig sein. Um die Unterscheidung beider Ester im Fragment A zu gewährleisten, soll auf der Aromatenseite der *tert*-Butylester eingeführt werden. Dafür wurde zunächst das entsprechende Anilinderivat **235** ausgehend von 4-Aminobenzoesäure (**234**) synthetisiert. Dieses konnte unter Verwendung von EDC·HCl in *tert*-Butanol erfolgreich realisiert werden.¹²² Der gewünschte Ester **234** wurde in 83% Ausbeute erhalten (Schema 99).

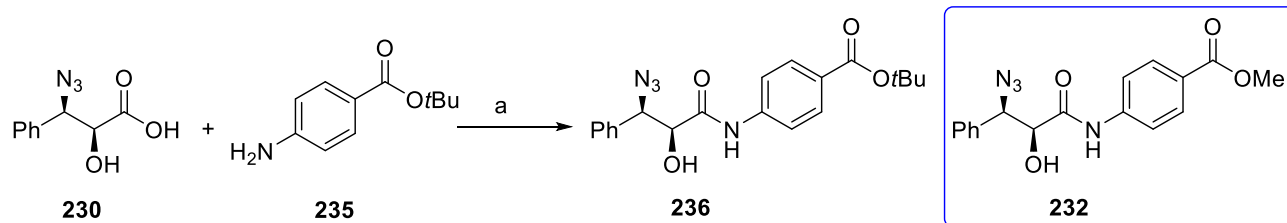


Schema 99: Synthese des Anilinderivats **235**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) EDC·HCl, *t*BuOH, Δ, 19 h, 83%.

Die anschließende Peptidkupplung des Anilinderivats **235** mit der Carbonsäure **230** unter Verwendung von Dichlortriphenylphosphan sollte das gewünschte Amid **236** liefern. Interessanterweise wurde jedoch der korrespondierende Methylester **232** nach säulenchromatographischer Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99.5:0.5 → 99:1 → 98:2) erhalten (Schema 100). Neben Triphenylphosphanoxid als Nebenprodukt entsteht zusätzlich Hydrogenchlorid. Diese sauren Bedingungen könnten zur Spaltung des *tert*-Butylesters unter Bildung der korrespondierenden Carbonsäure geführt haben. Die so erhaltene Säure würde dann mit dem Methanol im Eluenten aufgrund der leichten Acidität des Silicagels zu dem entsprechenden Methylester reagieren. Daraufhin wurde die Peptidkupplung in Anwesenheit der Base DIPEA, welche das bei der Reaktion entstehende Hydrogenchlorid neutralisieren sollte, erneut durchgeführt. Zusätzlich wurde dem Eluenten Triethylamin (1%) hinzugefügt. Jedoch konnte auch unter diesen Reaktionsbedingungen das gewünschte Kupplungsprodukt **236** nicht erhalten werden. Darüber hinaus wurde *tert*-Butanol anstelle von Methanol als Eluentenzusatz verwendet. Aber auch unter diesen Bedingungen wurde das gewünschte Produkt **236** nicht erhalten.

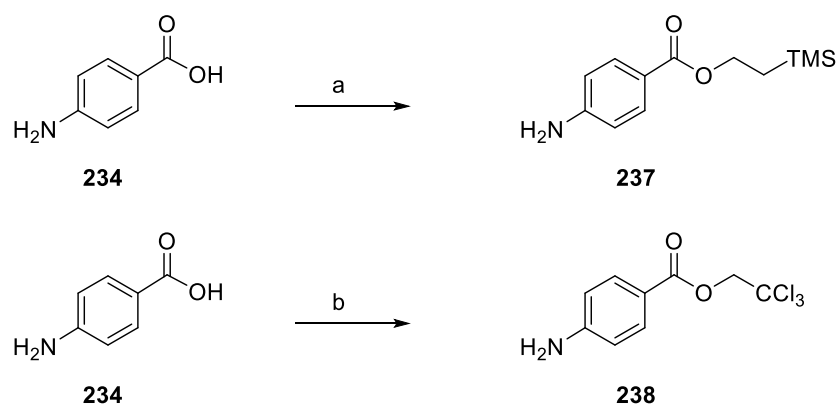
¹²² T. K. Venkatachalam, H. Huang, G. Yu, F. M. Uckun, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1489-1497.



Schema 100: Peptidkupplung der Carbonsäure **230** mit dem Amin **235**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Cl_2PPh_3 , CH_2Cl_2 , $40\text{ }^\circ\text{C}$, 2 d, 70% für **232**.

Da sich der *tert*-Butylester unter den Peptidkupplungsbedingungen als nicht stabil herausstellte, wurden zwei weitere Ester zum einen ein Trimethylsilylethyl- **237**¹²³ und zum anderen ein Trichlorethylester **238**¹²⁴, synthetisiert. Unter Standardbedingungen konnten die beiden gewünschten Produkte **237** und **238** in guter bzw. moderater Ausbeute erhalten werden (Schema 101).



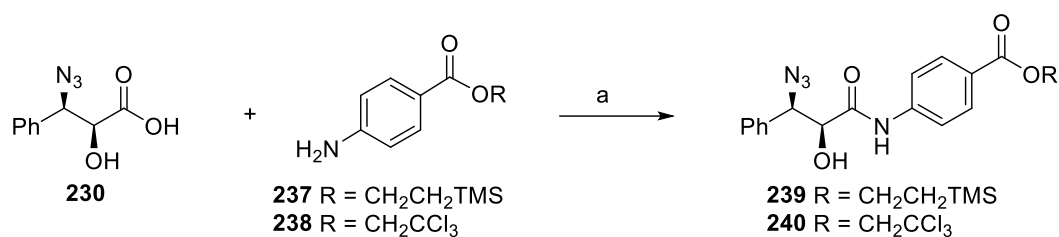
Schema 101: Synthese der Anilinderivate **237** und **238**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) 2-(Trimethylsilyl)ethanol, DCC, DMAP, CH_2Cl_2 , RT, 24 h, 72%; b) Trichlorethanol, DCC, DMAP, Pyridin, RT, 24 h, 51%.

Anschließend sollte die Peptidkupplung beider Anilinderivate **237**, **238** mit der Carbonsäure **230** unter Verwendung von Dichlortriphenylphosphan realisiert werden. Im Falle des Anilins **237** konnte das gewünschte Kupplungsprodukt **239** in einer moderaten Ausbeute von 61% erhalten werden. Im Gegensatz dazu wurden für den Trichlorethylester **240** lediglich ~15% erzielt, sodass hier von einer verminderten Nucleophilie des Stickstoffs bedingt durch den Estersubstituenten ausgegangen werden kann. Auch die Verlängerung der Reaktionszeit von zwei auf 7 Tage trug nicht zu einer Umsatzsteigerung bei (Schema 102).

¹²³ T. G. Back, J. E. Wulff, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6655-6658; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6493-6496.

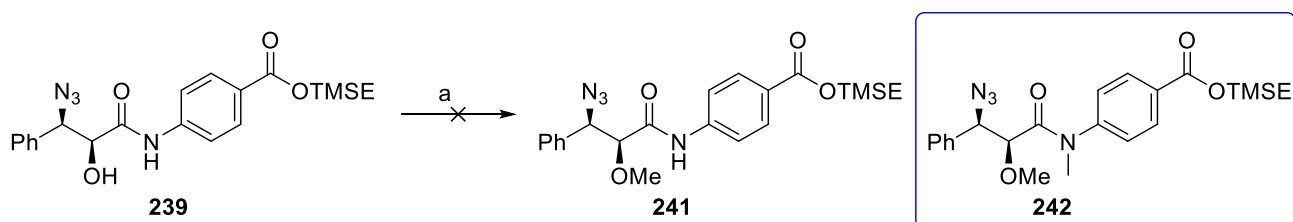
¹²⁴ R. B. Woodward, K. Heusler, J. Gosteli, P. Naegeli, W. Oppolzer, R. Ramage, S. Ranganathan, H. Vorbrüggen, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 852-853.



Schema 102: Peptidkupplung der Carbonsäure **230** mit dem Amin **237** und **238**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Cl₂PPh₃, CH₂Cl₂, 40 °C, 2 d, 61% für **239**, ~15% für **240**.

Als Nächstes sollte die freie Hydroxylgruppe der Verbindung **239** methyliert werden. Zunächst wurde die Reaktion mit MEERWEIN-Salz (Trimethyloxonioiumtetrafluoroborat) als Methylierungsreagenz und *Proton-Sponge*[®] als Base durchgeführt. Interessanterweise wurde unter diesen Bedingungen jedoch nicht das gewünschte Produkt **241** erhalten, sondern ausschließlich das sowohl am Sauerstoff-Atom auch als am Stickstoff-Atom methylierte Produkt **242** und zwar in einer moderaten Ausbeute von 40% (Schema 103).

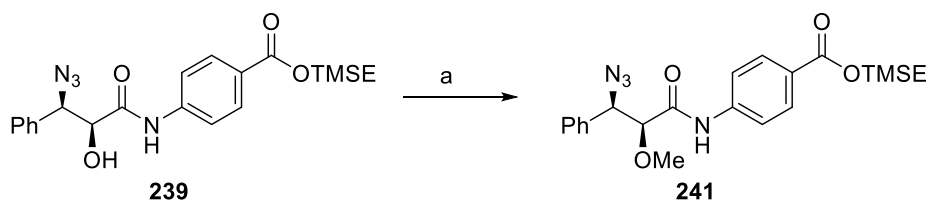


Schema 103: Methylierung des Amids **239**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) MEERWEIN-Salz, *Proton-Sponge*[®], CH₂Cl₂, 40 °C, 18 h, 40% für **242**.

TMSE = 2-(Trimethylsilyl)ethyl.

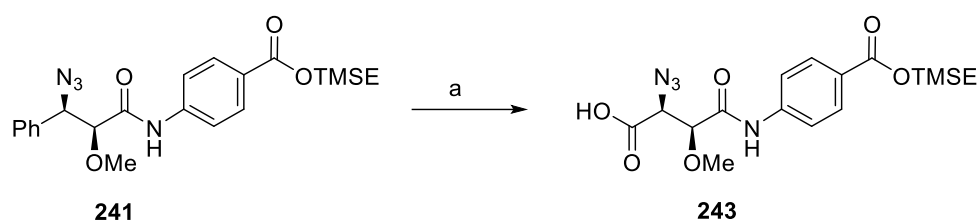
Daraufhin wurde die Reaktion erneut durchgeführt, wobei Iodmethan als Methylierungsreagenz und Kaliumcarbonat als Base verwendet wurden. Erfreulicherweise konnte unter diesen Reaktionsbedingungen das gewünschte Produkt **241** in einer Ausbeute von 48% erhalten werden (Schema 104).



Schema 104: Methylierung des Amids **239**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) MeI, K₂CO₃, Aceton, 50 °C, 48 h, 48%.

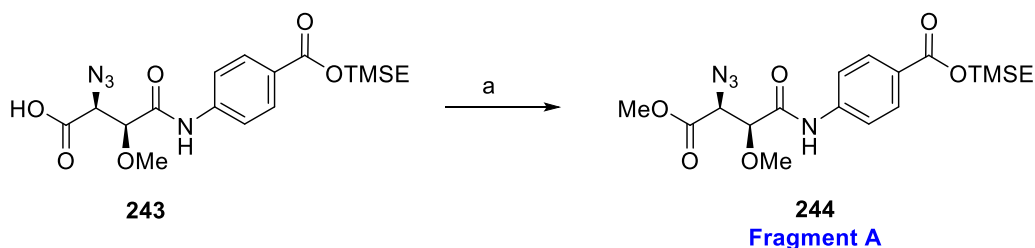
Da das Fragment A nun nahezu vollständig aufgebaut war und bis auf die Carboxylgruppe alle Funktionalitäten beinhaltete, sollte nun die Einführung dieser mittels KUHN-ROTH-Oxidation des Phenylsubstituenten realisiert werden (Schema 105). Dabei wurde auf die bereits etablierten Reaktionsbedingungen zurückgegriffen. Unter Ruthenium-Katalyse wurde chemoselektiv der elektronenreichere Phenylring in die korrespondierende Carbonsäure überführt, wobei der *para*-substituierte, elektronenarme Aromat intakt blieb. Das gewünschte Produkt **243** konnte massenspektrometrisch nachgewiesen werden.



Schema 105: Oxidation des Peptids **241**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaIO_4 , CH_3CN , EtOAc , H_2O , RT, 4 h. Die Ausbeute wurde nicht bestimmt.

Die so erhaltene Carbonsäure **243** muss zunächst als Methylester geschützt werden, um mögliche Nebenreaktionen dieser unter den nachfolgenden Reaktions- bzw. Kupplungsbedingungen auszuschließen. Ein erster Ansatz zur Synthese des entsprechenden Esters **244** wurde mittels Thionylchlorid in Methanol unternommen. Jedoch konnte unter diesen Reaktionsbedingungen lediglich die Zersetzung des Startmaterials **243** beobachtet werden. Daraufhin wurde TMS-Diazomethan als Methylierungsreagenz verwendet,¹²⁵ sodass unter diesen Reaktionsbedingungen der gewünschte Ester **244** erhalten werden konnte (Schema 106).



Schema 106: Synthese des Methylesters **244**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TMSCHN_2 , CH_3OH , Toluol, RT, 4 h, ~65%.

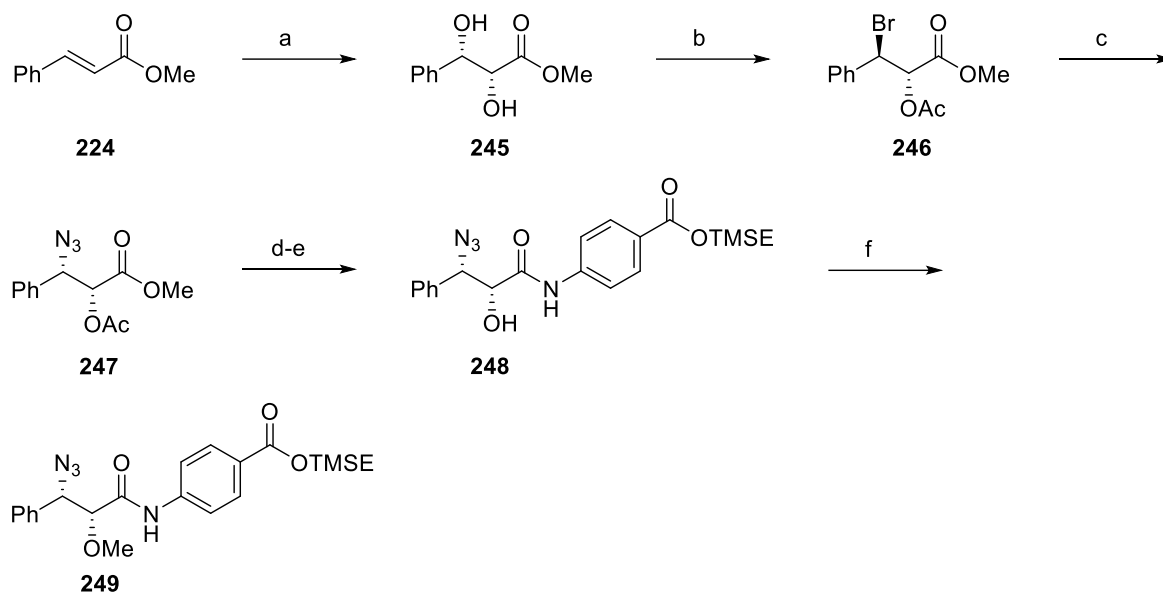
¹²⁵ N. Hashimoto, T. Aoyama, T. Shioiri, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29, 1475-1478.

3.3.3 Synthese des enantiomeren TMS-Ethylesters

Aufgrund der Tatsache, dass nur die relative Konfiguration der beiden im Naturstoff enthaltenen Stereozentren bekannt war, wurde auch das Enantiomer der Verbindung **241** hergestellt. Die Synthese des Esters **249** erfolgte analog zu der bereits beschriebenen.

Die asymmetrische Dihydroxylierung des Zimtsäuremethylesters (**224**) mit dem Reagenziengemisch AD mix α lieferte das Diol **245** in 77% Ausbeute und ebenfalls mit exzellentem Enantiomerenüberschuss ($> 99.9\%$ *ee*), wobei deren Ermittlung wiederum über eine chirale HPLC erfolgte.¹¹⁹ Die anschließende Bromierung des Diols **245** mit Hilfe von Bromwasserstoff in Essigsäure (33% HBr) lieferte unter Inversion der Konfiguration den in β -Position bromierten Ester **246**. Das gewünschte Produkt wurde hierbei in einer Ausbeute von 80% erhalten. In einer erneuten nukleophilen Substitutionsreaktion des Bromids mit Natriumazid konnte der Ester **247** unter erneuter Inversion der Konfiguration in sehr guter Ausbeute von 89% erhalten werden. Der Ester **247** wurde unter basischen Reaktionsbedingungen verseift, wobei die Acetatgruppe ebenfalls entfernt wurde. Die nachfolgende Peptidkupplung der Säure mit dem Anilinderivat **237** unter Verwendung von Dichlortriphenylphosphan (Cl_2PPh_3) lieferte das gewünschte Amid **248** in 46% Ausbeute über zwei Stufen. Abschließend wurde die freie Hydroxylgruppe methyliert. Unter Einsatz von Iodmethan als Methylierungsreagenz und Kaliumcarbonat als Base konnte das gewünschte Produkt **249** in einer moderaten Ausbeute von 48% erhalten werden (Schema 107).

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

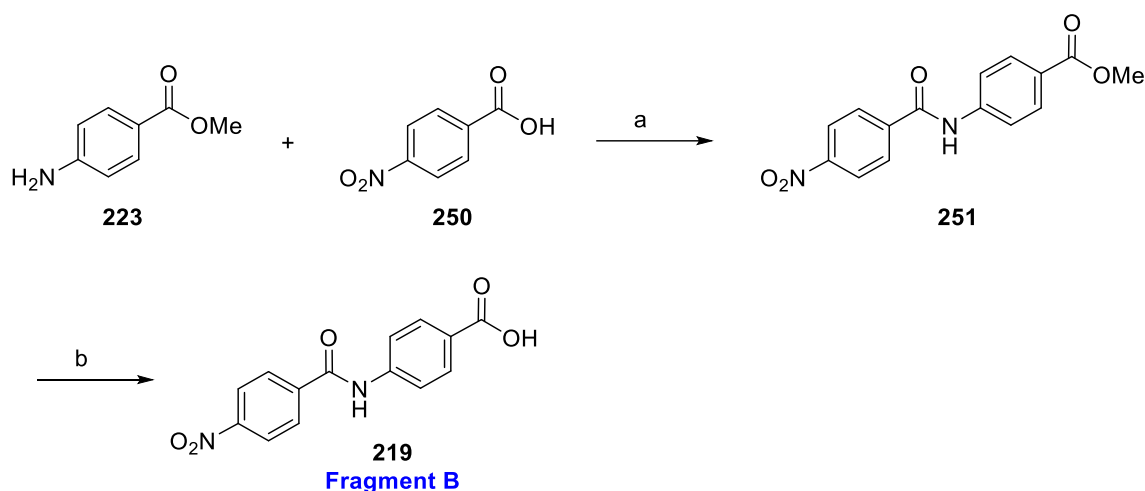


Schema 107: Synthese des enantiomeren Esters **249** ausgehend von Zimtsäuremethylester (**224**).

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) AD mix α , $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{NH}_2$, *t*BuOH/H₂O (1:1), 0 °C, 16 h, dann RT, 12 h, 77%, *ee* > 99.9%; b) 33% HBr/HOAc, 45 °C, 30 min, 80%; c) NaN₃, DMF, RT, 3 h, dann 40 °C, 2 h, 89%; d) LiOH (1.0 M), THF, 0 °C, 6 h, quant.; e) Anilinderivat **237**, Cl₂PPh₃, CH₂Cl₂, 40 °C, 2 d, 46%; f) MeI, K₂CO₃, Aceton, 50 °C, 2 d, 48%.

3.3.4 Synthese des Fragments B

Das Fragment B besteht aus zwei jeweils *para*-substituierten Aromaten, welche über Amidbildung miteinander verknüpft werden können. Ausgehend von 4-Aminobenzoesäuremethylester (**223**) und 4-Nitrobenzoesäure (**250**) sollte die Synthese von Fragment B realisiert werden. Die Peptidkupplung der beiden Aromaten unter Verwendung von Dichlortriphenylphosphan ergab das gewünschte Produkt **251** in 72% Ausbeute. Wie bereits zuvor erfahren, erwies es sich als schwierig, dass bei der Reaktion entstehende Nebenprodukt Triphenylphosphanoxid vollständig von dem Produkt **251** zu trennen. Die nachfolgende Verseifung mit Lithiumhydroxid in THF/H₂O (1:1) verlief problemlos und lieferte dann das Fragment B **219** in guter Ausbeute (Schema 108).



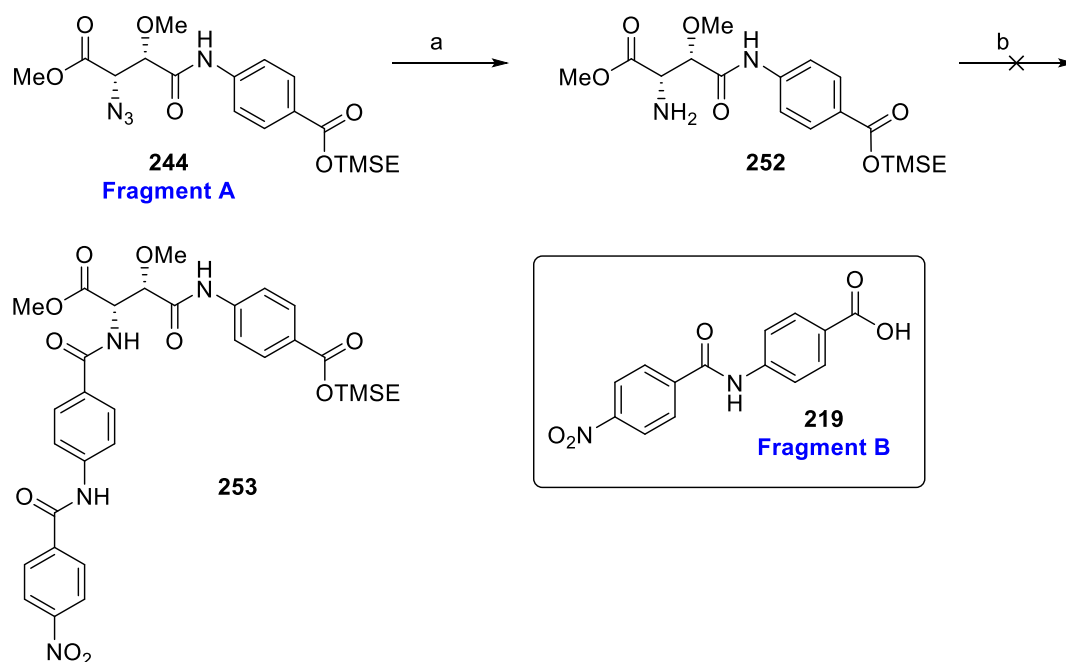
Schema 108: Synthese des Fragments B **219**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Cl_2PPh_3 , CH_2Cl_2 , 40 °C, 4 d, 72%; b) LiOH, THF/ H_2O (1:1), 25°C, 20 h, 75%.

3.3.5 Verknüpfung der Fragmente A und B

Ausgehend von dem Fragment A **244** wurde das Endspiel der Cystobactamid-Totalsynthese unternommen. Zunächst sollte dieser Baustein mit dem Fragment B **219**, den beiden *para*-substituierten Aromaten, verknüpft werden. Jedoch musste zuvor die Azidfunktionalität in die korrespondierende Aminofunktion überführt werden. Unter katalytischen, reduktiven Reaktionsbedingungen mittels Palladium und Wasserstoff konnte das gewünschte Produkt **252**, welches per massenspektrometrischer Analyse nachgewiesen wurde, erhalten werden. Die nachfolgende Kupplung mit dem Fragment B **219** sollte mit Hilfe des Peptidkupplungsreagenzes EDC·HCl und des Additivs HOAt realisiert werden. Als Lösungsmittel wurde eine Kombination aus Methylenchlorid und DMSO gewählt, um die Löslichkeit des Fragments B **219** zu gewährleisten. Jedoch trat unter diesen Bedingungen keine Reaktion zu dem gewünschten Produkt **253** ein. Lediglich die beiden Startmaterialien **219** und **252** konnten, wie die massenspektrometrische Analyse zeigte, nachgewiesen werden. Weitere Kupplungsbedingungen wurden aus zeitlichen Gründen an dieser Stelle nicht mehr untersucht (Schema 109).

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse



Schema 109: Peptidkupplung des Esters **252** mit dem Fragment B **219**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Pd/C (10%), H₂, CH₃OH, RT, 6 h; b) Peptid **219**, EDC·HCl, HOAt, DIPEA, CH₂Cl₂/DMSO (6:1), 0 °C → RT, 18 h.

An dieser Stelle wurde das Cystobactamid-Projekt an Dr. L. WANG übergeben, welcher sich mit der Vollendung der Totalsynthese beschäftigte.

Es wurde ein genereller Zugang zu dem Fragment A insbesondere der zentralen β -Methoxyasparagineinheit herausgearbeitet. Da die absolute Stereochemie der beiden stereogenen Zentren zum damaligen Zeitpunkt nicht bekannt war, sondern lediglich die relative, wurden beide Enantiomere synthetisiert. Die Kupplung des Fragments A mit dem Fragment B schlug jedoch unter den gewählten Reaktionsbedingungen fehl, sodass an dieser Stelle noch weitere Bedingungen untersucht werden müssen.

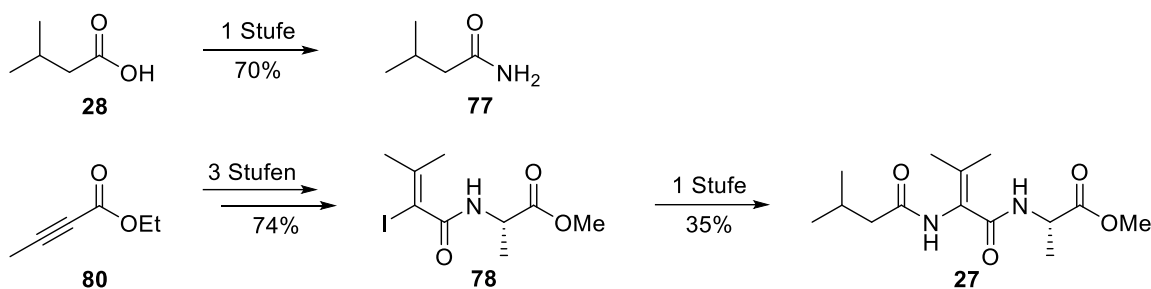
4 Zusammenfassung und Ausblick

4.1 Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin

4.1.1 Zusammenfassung

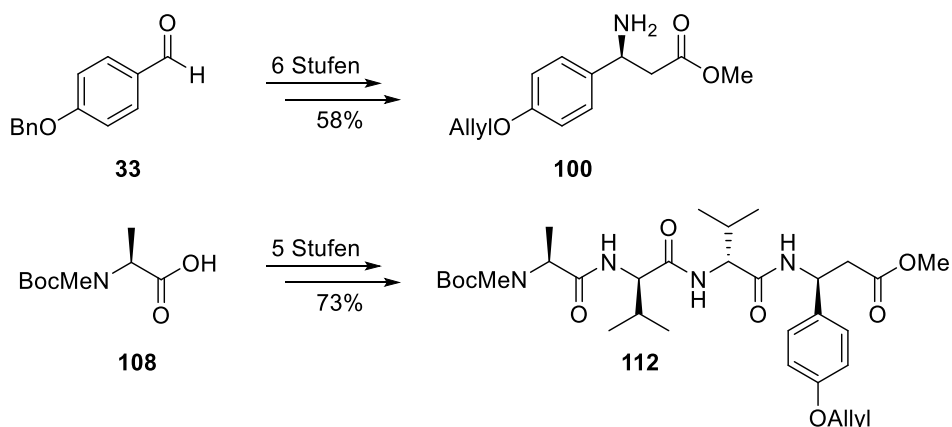
Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine konvergente Syntheseroute zur Totalsynthese des Naturstoffs Myxovalargin geschaffen. Hierfür wurde das Oligopeptid in vier Fragmente A – D unterteilt, welche zunächst einzeln synthetisiert und zu einem späteren Zeitpunkt über eine Peptidkupplungskaskade zu größeren Peptidfragmenten verknüpft wurden. Des Weiteren wurde ein allgemeiner Zugang, zu den im Naturstoff vorhandenen, unnatürlichen Aminosäuren geschaffen.

Die erste große Herausforderung in der Totalsynthese des Myxovalargins bestand darin, einen Syntheseweg zu den Dehydroaminosäuren bzw. –peptiden zu entwickeln und diesen anschließend für alle weiteren im Naturstoff vorhandenen Dehydropeptidsysteme zu etablieren. Für die Entwicklung eines praktikablen Syntheseweges zu diesen seltenen Aminosäuren bzw. Peptiden fiel die Wahl auf das *N*-acylierte Dehydropeptid **27** des Fragments A. Zur Darstellung des Dehydropeptids **27** wurden verschiedene Syntheserouten gewählt, die von einer direkten Peptidkupplung des Dehydrovalins über eine HORNER-Kondensation verschiedenster Phosphonate mit Aceton bis hin zu einer β -Eliminierung eines tertiären Alkohols reichten. Jedoch ließ sich der Aufbau der α,β -Dehydroaminosäuren bzw. –peptide anhand dieser Synthesewege nicht realisieren oder lieferte nur unzureichende Ausbeuten. Daraufhin wurde ein neuer Ansatz, welcher als Schlüsselschritt der Synthese eine Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung eines Amids **77** und eines Vinyljodids **78** beinhaltet, gewählt. Die Synthese des Amids **77** erfolgte ausgehend von der korrespondierenden Säure **28** in einer Stufe. Das benötigte Vinyljodid **78** wurde ausgehend von dem kommerziell erhältlichen Alkinester **80** in einer dreistufigen Synthesesequenz hergestellt. Für die anschließende Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung wurden verschiedenste Reaktionsbedingungen untersucht. Das gewünschte Kreuzkupplungsprodukt **27** konnte nach umfangreichen Optimierungsstudien in einer moderaten Ausbeute erhalten werden (Schema 110).



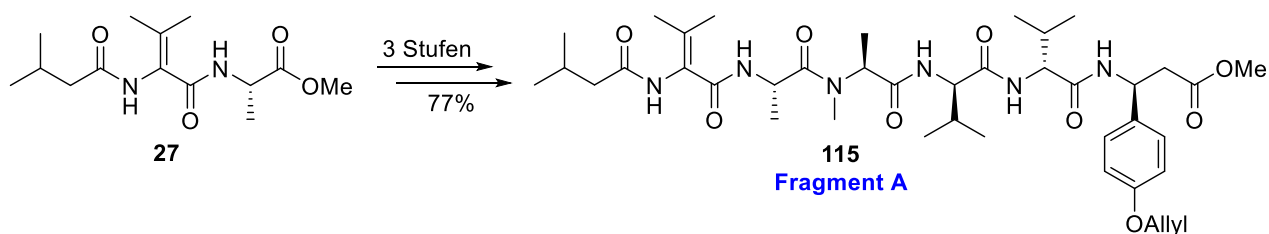
Schema 110: Zusammenfassung der Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung zu dem Dehydropeptid **27** (Fragment A1).

Parallel dazu wurde an der Synthese des Tetrapeptids **112** (Fragment A2) gearbeitet. Ausgehend von Boc-*N*-Me-L-Alanin (**108**) und dem Tyrosinderivat **100** konnte die Darstellung des Fragments A2 **112** erfolgreich und in einer guten Ausbeute von 73% über fünf Stufen abgeschlossen werden (Schema 111).



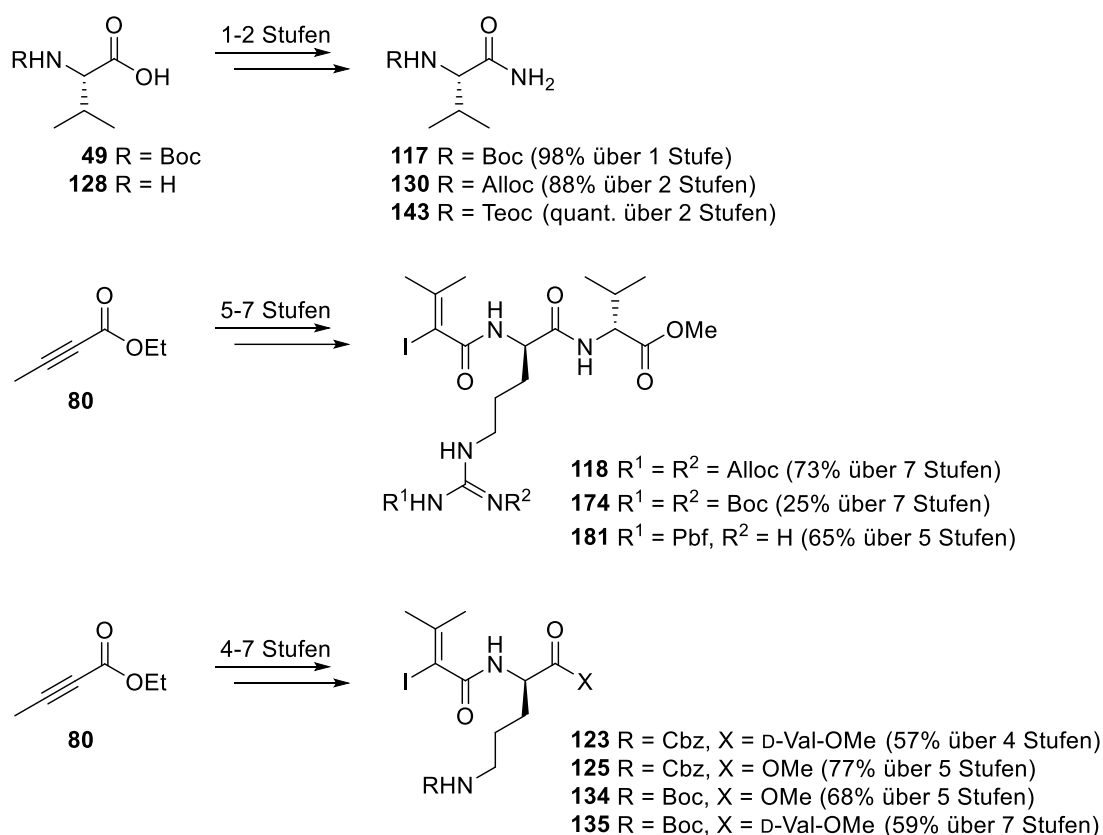
Schema 111: Zusammenfassung der Synthese des Fragments A2 **112**.

Basierend auf diesen beiden Peptiden **27** und **112** konnte die Synthese des *N*-acylierten Hexapeptids **115** in einer Peptidkupplungs- und Entschützungskaskade finalisiert werden. Ausgehend von dem Dehydropeptid **27** wurde das Fragment A in einer guten Ausbeute von 77% über drei Stufen erhalten (Schema 112).



Schema 112: Fertigstellung der Synthese des Fragments A **115**.

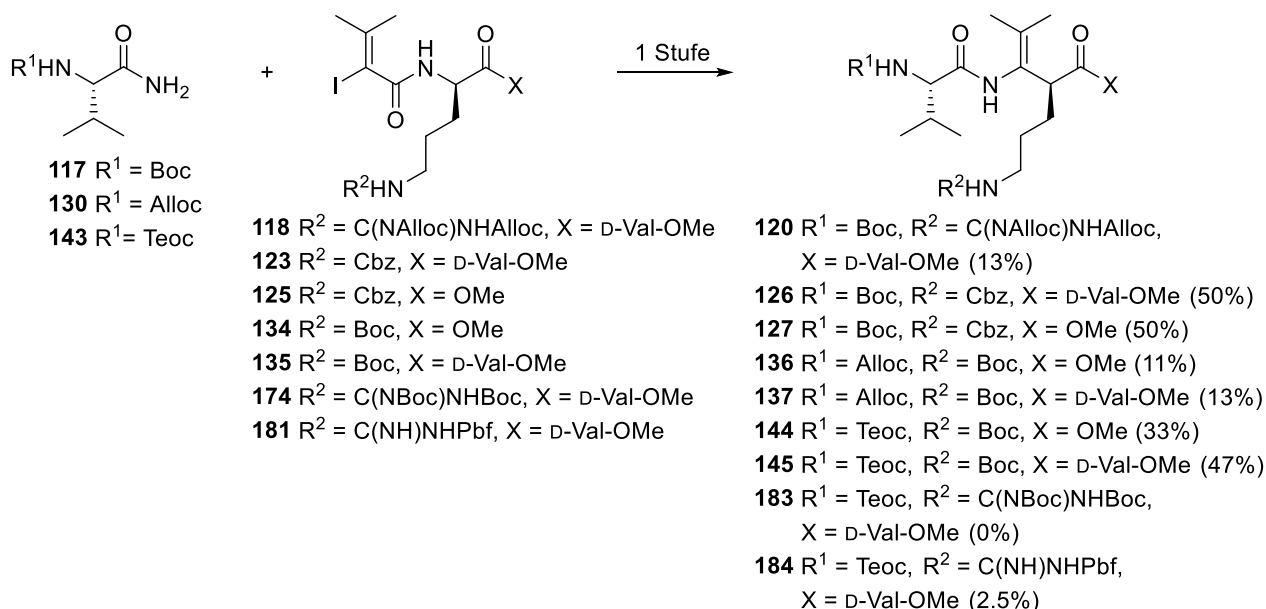
Die zweite große Herausforderung resultierte in einer geeigneten Schutzgruppenstrategie für das Fragment B, welches ebenfalls über die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung als Schlüsselschritt unter Verwendung der bereits etablierten Reaktionsbedingungen aufgebaut werden sollte. So wurden für die Kreuzkupplung drei verschiedene Amide **117**, **130** und **143** in einer ein- bis zweistufigen Synthesesequenz hergestellt. Des Weiteren wurden sieben verschiedene Vinylidide ausgehend von dem Alkinester **80** in vier bis sieben Stufen synthetisiert. Dabei wurden sowohl Arginin-basierte **118**, **174**, **181** als auch Ornithin-basierte Vinylidide **123**, **125**, **134**, **135** hergestellt (Schema 113).



Schema 113: Zusammenfassung der für die Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung benötigten Bausteine.

Ausgehend von den so synthetisierten Amiden und Vinylididen wurden Studien hinsichtlich deren Kupplungsvermögen in der BUCHWALD-Kreuzkupplung durchgeführt. In diesen durchgeführten Studien zeigte sich eine sehr deutliche Tendenz; so ist das Resultat der Kreuzkupplung sehr stark von den in dem Vinylidid befindlichen funktionellen Gruppen, sowie Schutzgruppen abhängig. Vinylidide, die die polaren Guanidinfunktionalitäten tragen, zeigten im Vergleich zu den Ornithin-basierten Vinylididen eine deutlich reduzierte Kupplungsfähigkeit. Hierbei wurde im besten Fall eine Ausbeute von 13% erzielt

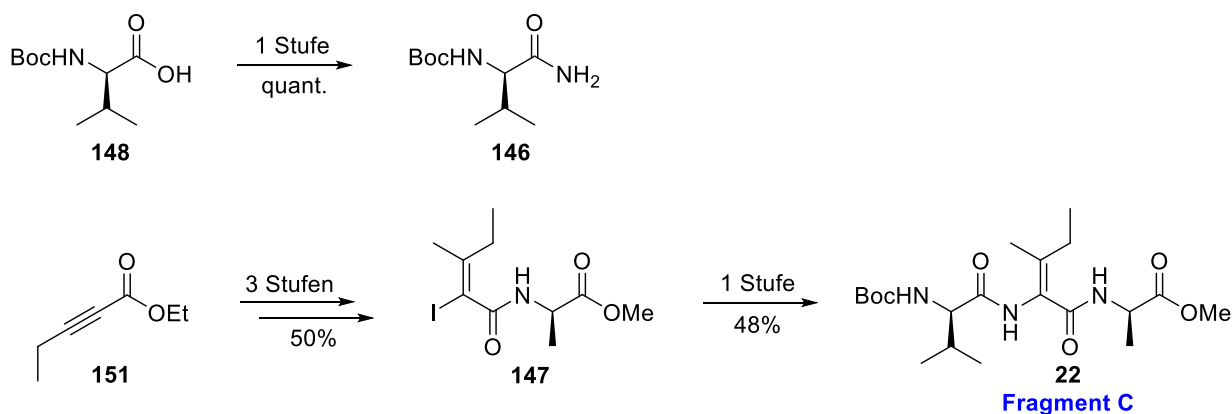
(Produkt **120**). Des Weiteren zeigte sich, dass die Vinyljodide **174** und **181** unter den für die Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung verwendeten Reaktionsbedingungen instabil sind und eine Zersetzung dieser eintrat. Ebenso konnte anhand dieser Studien gezeigt werden, dass sich die Alloc-Schutzgruppe nicht eignet. So wurde das Kupplungsverhalten des Alloc-geschützten Amids **130** mit den beiden Vinyljodiden **134** und **135** untersucht, wobei hier für die Produkte **136** und **137** lediglich eine Ausbeute von 11% bzw. 13% erzielt werden konnte. Auch das Bisalloc-geschützte Vinyljodid **118** erwies sich in dieser Reaktion als ungeeignet; so wurde hier zwar das gewünschte Kreuzkupplungsprodukt erhalten, jedoch in lediglich 13%. Die besten Resultate lieferten die Boc- und Teoc-geschützten Amide **117** und **143** in Kombination mit den Vinyljodiden **123**, **125**, **134**, **135**, so wurden hier Ausbeuten von bis zu 50% erzielt (Schema 114).



Schema 114: Zusammenfassung der BUCHWALD-Kreuzkupplung des Fragments B.

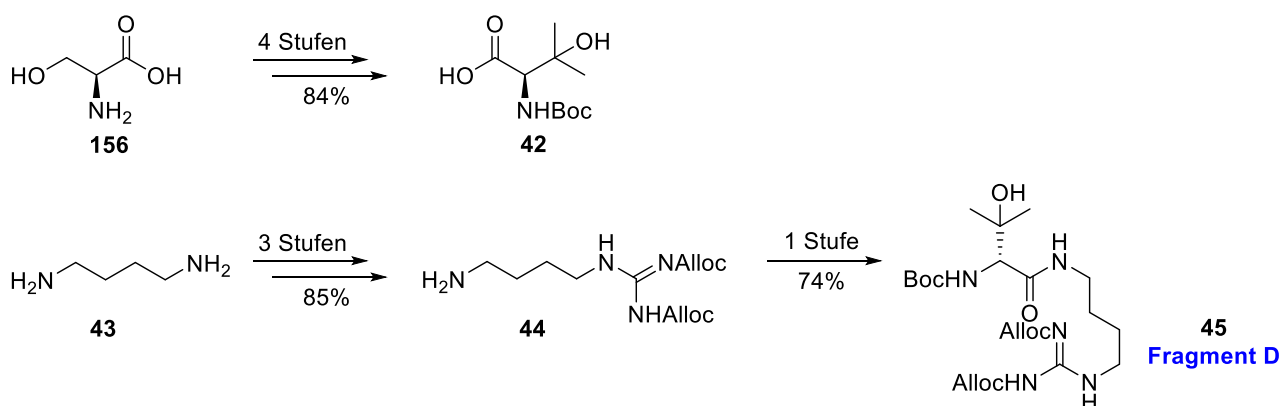
Des Weiteren wurden die Fragmente C und D des Naturstoffs Myxovalargin hergestellt, wobei deren Synthese problemlos verlief.

Bei der Darstellung des Tripeptids **22** kam ebenfalls die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung eines Amids **146** und eines Vinyljodids **147** zur Anwendung. Das Amid **146** wurde in einer einstufigen Synthesesequenz ausgehend von der korrespondierenden Säure **148** hergestellt. Die Synthese des Vinyljodids **147** betrug drei Stufen ausgehend von dem kommerziell erhältlichen Ethyl-pent-2-inoat (**151**). Die nachfolgende Kreuzkupplung unter Verwendung der optimierten Reaktionsbedingungen lieferte das gewünschte Dehydrotripeptid **22** in einer für diesen Reaktionstyp guten Ausbeute von 50% (Schema 115).



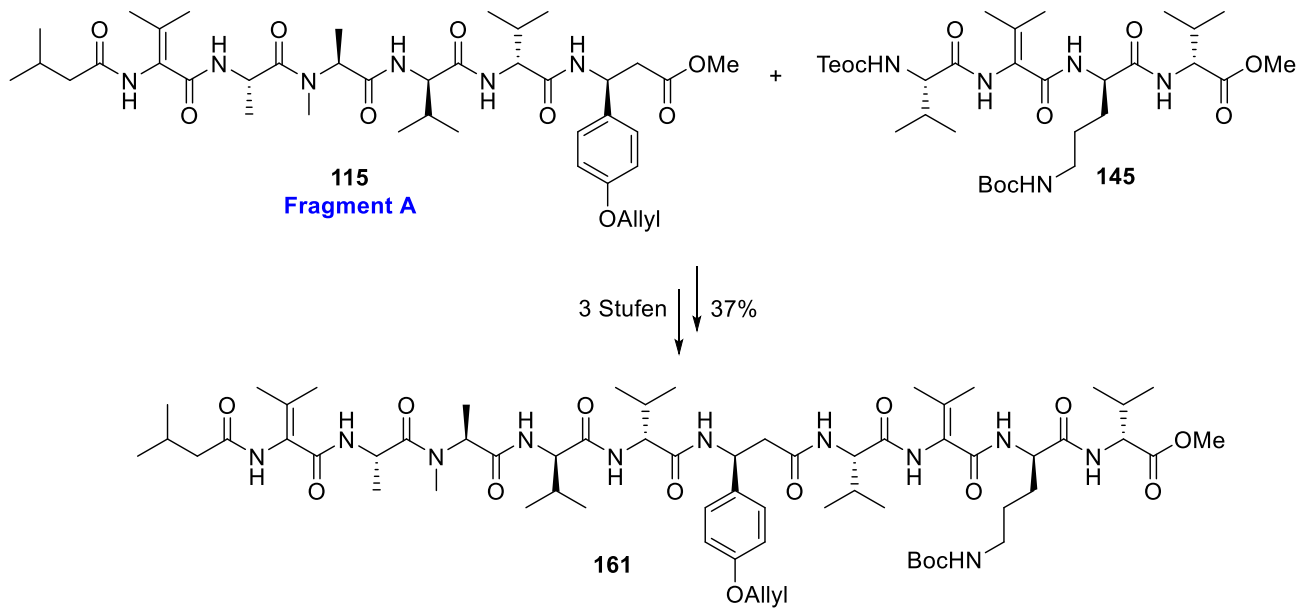
Schema 115: Zusammenfassung der Synthese des Fragments C 22.

Für das Fragment D 45 wurde zunächst die nicht-proteinogene Aminosäure Boc-D- β -Hydroxyvalin (42) in einer vierstufigen Synthesesequenz ausgehend von L-Serin (156) hergestellt. Diese unnatürliche Aminosäure wurde bereits in der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit synthetisiert, jedoch in einer 8-stufigen Reaktionsfolge. Dementsprechend konnte in dieser Arbeit eine Halbierung der Stufenanzahl erzielt werden. Das Amin Agmatin 44 konnte ausgehend von dem 1,4-Diaminobutan (43) in einer dreistufigen Reaktionsfolge, welche eine Amidinierung einer primären Aminofunktion beinhaltet, hergestellt werden. Basierend auf diesen beiden Bausteinen konnte das Fragment D 45 in einer guten Ausbeute fertiggestellt werden (Schema 116).



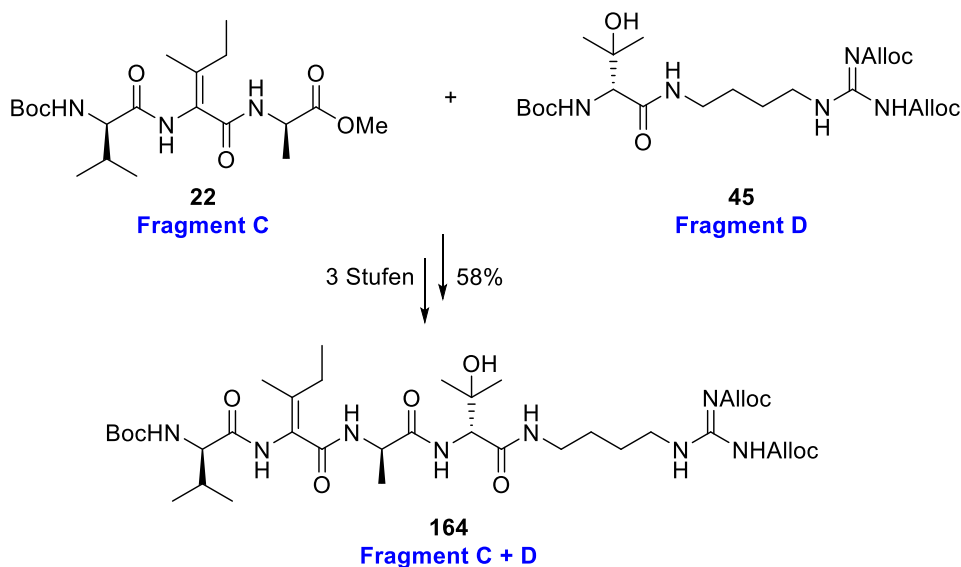
Schema 116: Zusammenfassung der Synthese des Fragments D 45.

Basierend auf den synthetisierten Fragmenten A – D wurden Studien zum Endspiel der Totalsynthese des Myxovalargins durchgeführt, wobei zunächst größere Peptidfragmente synthetisiert wurden. So konnte das Fragment A 115 mit dem Tetrapeptid 145 zu dem *N*-acylierten Decapeptid 161 verknüpft werden (Schema 117).



Schema 117: Zusammenfassung der Synthese des *N*-acylierten Decapeptids **161**.

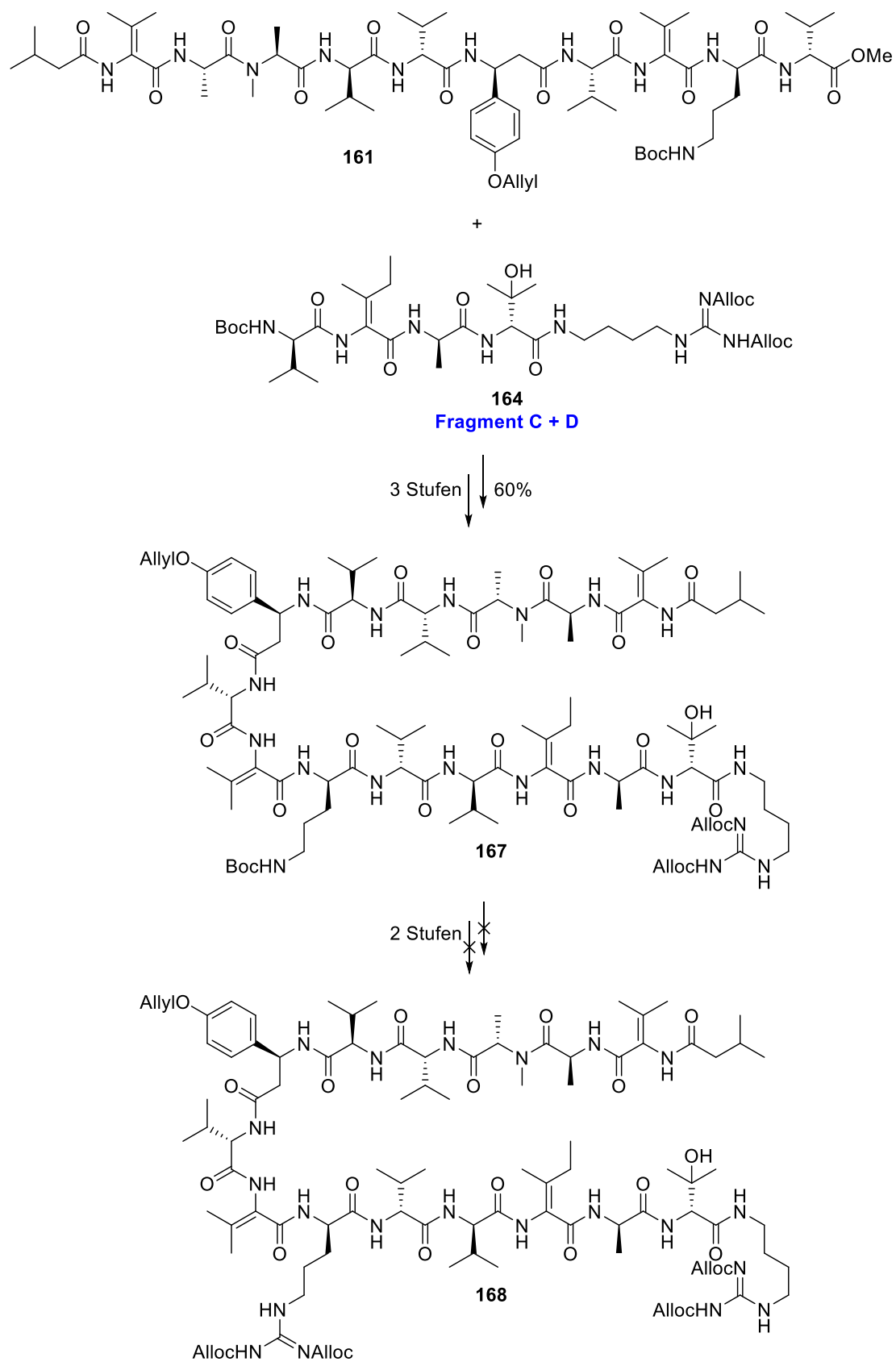
Ebenso erfolgte die Verknüpfung der Fragmente C **22** und D **45** zu dem Tetrapeptid **164** (Schema 118).



Schema 118: Zusammenfassung der Synthese des Fragments C + D **164**.

Ausgehend von den größeren Peptidfragmenten sollte nun die Fertigstellung des Myxovalargins erfolgen. Dafür wurden zunächst die Peptide **161** und **164** zu dem Oligopeptid **167** miteinander verknüpft. Anschließend sollte die Einführung der Guanidinfunktionalität in der Ornithin-Seitenkette erfolgen, um so das Myxovalargin-Peptidrückgrat fertigzustellen. Jedoch schlug die Amidinierung unter den gewählten Bedingungen, die bereits in der Synthese der Fragmente B und D erfolgreich Anwendung

fanden, fehl (Schema 119). Daraufhin wurde versucht, das Guanidin an einer früheren Stelle in der Synthese des Myxovalargins einzubauen. Als Basis dessen sollte das *N*-acylierte Decapeptid **161** dienen. Jedoch konnte auch hier das gewünschte Produkt nicht erhalten werden. Stattdessen wurde das *N*-methylierte Tetrapeptid **114** isoliert, sodass von einer teilweisen Zersetzung des Decapeptids unter den Amidinierungsbedingungen auszugehen ist. Ebenso wurde noch ein weiteres Amidinierungsreagenz das *N,N'*-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)-*N''*-trifluormethansulfonylguanidin (**171**) untersucht. Jedoch konnte auch unter Zuhilfenahme dieses Reagenzes das Myxovalargin-Grundgerüst nicht fertiggestellt werden. Anhand dieser Ergebnisse zeichnete sich ab, dass sich die Einführung der Guanidinfunktionalität als arbeitsintensiv erweisen könnte. Daher wurde die vorliegende Arbeit auf diesem Stand beendet.



Schema 119: Studien zur Fertigstellung der Myxovalargin-Grundstruktur.

4.1.2 Ausblick

Was an dieser Stelle noch einmal hervorgehoben werden soll ist, dass im Rahmen dieser Arbeit ein allgemein gültiger Zugang zu dem linearen Peptid Myxovalargin in Form der Fragmente A – D geschaffen werden konnte. Erste Reaktionen zur Verknüpfung der Fragmente zu größeren Peptidsequenzen konnten ebenfalls erfolgreich durchgeführt werden; so wurde das Fragment A **115** mit dem Tetrapeptid **145** verknüpft. Weiterhin erfolgte die Kupplung der Fragmente C **22** und D **45** zu dem linearen Tetrapeptid **164**. Ebenso konnte die Verknüpfung der großen Peptide **161** und **164** zu dem Myxovalargin-Vorläufer **167** realisiert werden. Lediglich die Einführung der Guanidinfunktionalität in der Ornithin-Seitenkette erwies sich als problematisch, sodass an dieser Stelle ein erhöhter Optimierungsbedarf von Nöten ist. Dementsprechend müssen hier weitere Bedingungen untersucht werden. Zunächst soll an dieser Stelle das bereits vorliegende Guanidinderivat **171** erprobt werden. Ebenso könnte die Amidinierung des primären Amins der Aminosäure Ornithin zu dem korrespondierenden ungeschützten Guanidin untersucht werden. Diese einstufige Transformation unter Verwendung des Pyrazols **255** und dessen Polymer-gebundener Variante wurde bereits von KIRSCHNING *et al.*¹²⁶ beschrieben und stellt einen vielversprechenden Ansatz dar. Ebenso sollten auch die Pyrazol **256**¹²⁷ und **257**¹²⁸ erprobt werden, dessen Cbz-Analoga wurde bereits von TROST *et al.*¹²⁹ verwendet und lieferte sehr gute Resultate (Schema 120).

Nach einer erfolgreichen Amidinierung der α -Aminofunktion der Ornithin-Seitenkette wäre das Myxovalargingrundgerüst vollständig aufgebaut, lediglich die Entfernung der Schutzgruppen würde noch ausstehen. Die Reaktionsbedingungen zur finalen Entschützung konnten bereits in dieser von der Autorin vorlegten Arbeit etabliert werden und sollen hier Anwendung finden (s. Kapitel 3.1.7.5). So konnte an dem Testsystem **164** gezeigt werden, dass eine Palladium-katalysierte chemoselektive Abspaltung der Alloc-Schutzgruppen der Guanidineinheit des Agmatins möglich ist ohne das eine Interaktion mit dem Dehydroisoleucin eintrat. Als *Scavenger* für die intermediär gebildete π -Allylpalladium(II)-Spezies wurde hier das sekundäre Amin Morpholin verwendet. Diese an dem Testsystem etablierten Bedingungen

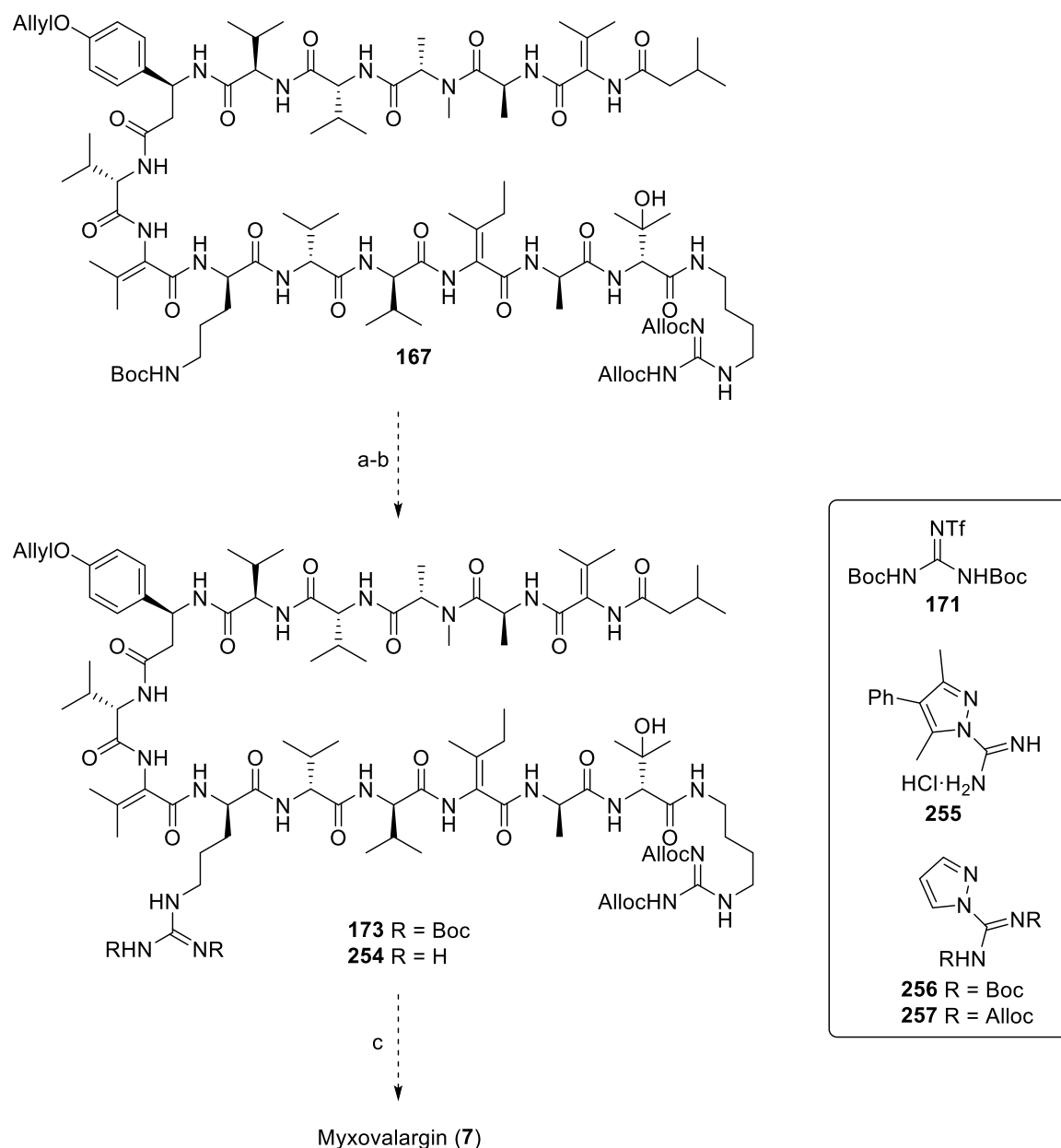
¹²⁶ a) G. Dräger, W. Solodenko, J. Messinger, U. Schön, A. Kirschning, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1401-1403; b) W. Solodenko, P. Bröker, J. Messinger, U. Schön, A. Kirschning, *Synthesis* **2006**, *3*, 461-466.

¹²⁷ a) B. Drake, M. Patek, M. Lebl, *Synthesis* **1994**, *6*, 579-582; b) T. Wakimoto, M. Nitta, K. Kasahara, T. Chiba, Y. Yiping, K. Tsuji, T. Kan, H. Nukaya, M. Ishiguro, M. Koike, Y. Yokoo, Y. Suwa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5905-5908.

¹²⁸ H. Konno, K. Kubo, H. Makabe, E. Toshiro, N. Hinoda, K. Nosaka, K. Akaji, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9502-9513.

¹²⁹ B. M. Trost, T. Kaneko, N. G. Andersen, C. Tappertzhofen, B. Fahr, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18944-18947.

sollen auch hier bei der Finalisierung der Totalsynthese des Myxovalargins zur Anwendung kommen (Schema 120).



Schema 120: Fertigstellung des Myxovalargins.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min oder TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; b) Guanidinderivat **171**, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 18 h oder Amidinierungsreagenz **255**, Cyclohexylamin, Et₃N, CH₃CN oder THF, RT (60 °C), 24 h; c) Boc-Entschützung: TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min oder TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; Allyl- und Alloc-Entschützung: Pd(PPh₃)₄, Morpholin, CH₂Cl₂, RT, 1 h.

Für den Fall, dass sich die Einführung der Guanidinfunktionalität der Ornithin-Seitenkette an dieser Stelle nicht realisieren lässt, muss diese deutlich früher in die Synthese des Fragments B eingebettet werden. Dieser Ansatz wurde bereits in der vorliegenden Arbeit

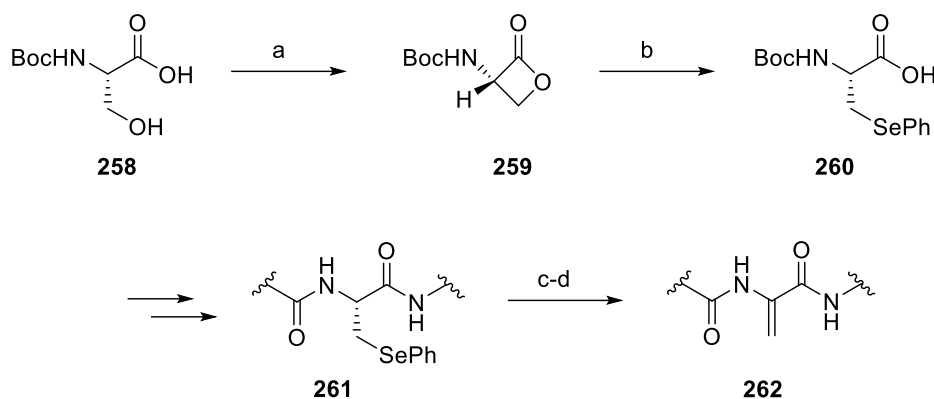
basierend auf den Vinyljodiden **174** und **181** in Betracht gezogen (s. Kapitel 3.1.7.4). Jedoch schlug die Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung beider Vinyljodide mit dem Teoc-L-Val-NH₂ (**143**) unter Verwendung der bereits optimierten Reaktionsbedingungen fehl, da in beiden Fällen vorrangig eine Zersetzung der Vinyljodide eintrat. Dementsprechend müssen an dieser Stelle weitere Bedingungen erprobt werden. So könnte unter anderem DMF anstelle von 1,4-Dioxan als Lösungsmittel untersucht werden. Ebenso wäre auch eine Reduzierung der Reaktionstemperatur denkbar, sowie die Durchführung der Reaktion in der Mikrowelle anstelle des normalerweise verwendeten Ölbad. Ein weiterer Ansatzpunkt wäre die Verwendung von Kupfer(I)thiophencarboxylat als Katalysator und Cäsiumcarbonat als Base in *N*-Methyl-pyrrolidon.⁷⁷ Ferner könnte auch das Kupplungsverhalten eines Vinyljodides mit freier Guanidineinheit in der BUCHWALD-Kreuzkupplung untersucht werden.

Ein weiterer Ansatzpunkt zum Aufbau des Dehydropeptidsystems des Fragments B wäre die β -Eliminierung eines tertiären Alkohols. Zwar konnten im Rahmen dieser Arbeit und in den durchgeführten Studien keine zufriedenstellenden Resultate erzielt werden, jedoch sollten an dieser Stelle weitere Bedingungen erprobt werden. So beschrieben LEY *et al.*¹³⁰ in deren Argyrin-Synthese einen interessanten Ansatz zum Aufbau von Dehydroalanin. Hierbei erfolgt die β -Eliminierung über einen Selenether **260**,¹³¹ welcher anschließend unter wässrigen Reaktionsbedingungen oxidiert wird (Schema 121). Die Eliminierung des entstandenen Selenoxids erfolgt *syn*-selektiv über eine [2,3]-sigmatropische Umlagerung.¹³²

¹³⁰ S. L. Ley, A. Priour, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3995-4004.

¹³¹ Weitere Beispiele für eine Selenether-vermittelte β -Eliminierung sind im Folgenden gegeben: a) N. M. Okeley, Y. Zhu, W. A. van der Donk, *Org. Lett.* **2000**, 2, 3603-3606; b) K. Nakamura, T. Isaka, H. Toshima, M. Kodaka, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 7221-7224.

¹³² P. A. Grieco, S. Gilman, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 1485-1487.



Schema 121: Synthese des α,β -Dehydropeptids nach LEY¹³⁰ über einen Selenether.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) DEAD, PPh₃, THF, -78 °C → RT; b) PhSe-SePh, NaBH(OMe)₃, EtOH, RT, 41% über 2 Stufen; c) NaIO₄, 1,4-Dioxan/H₂O, RT; d) NaHCO₃, CH₃CN/H₂O, RT, 66% über 2 Stufen.

Nach der erfolgreichen Totalsynthese des Naturstoffs Myxovalargin, welche die Basis für alle weitergehenden Arbeiten liefert, kann der Aufbau einer Derivat-Bibliothek erfolgen, die einen Einblick in Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und pharmakophore Gruppen des Myxovalargins geben wird. Myxovalargin hat sich bisher als ein sehr interessanter Naturstoff gezeigt. Aus der Sicht eines Chemikers eröffnen sich hier diverse herausfordernde Synthesemöglichkeiten. Ebenso handelt es sich bei dem Peptid um einen potentiell antibiotisch aktiven Wirkstoff, dessen Potential jedoch für die klinischen Anwendungen aufgrund der Toxizität stark eingeschränkt ist. Dementsprechend sollte eine Derivatisierung des Myxovalargins erfolgen, die sich mit dem hier vorgestellten konvergenten Syntheseansatz sehr gut realisieren lassen kann. Dieser Fragmentansatz öffnet bspw. den Weg für Derivate ohne die polare Guanidinfunktionalität des Arginins und des Agmatins oder auch ohne die Dehydroaminosäuren. Ferner kann auch das L-Tyrosin anstelle der korrespondierenden β -verzweigten Aminosäure eingebaut werden. Ebenso wäre auch die Verwendung von halogenierten Tyrosinderivaten (X = Cl, Br) denkbar; so könnten dann über verschiedenste Kreuzkupplungen wie die SUZUKI- und die STILLE-Reaktion neue Derivate synthetisiert werden.¹³³ Weiterhin wäre auch ein Azid-funktionalisiertes Tyrosin (anstelle der phenolischen OH-Funktionalität) von besonderem Interesse. In einer Kupfer-freien Click-Reaktion mit dem

¹³³ In der Arbeitsgruppe KIRSCHNING konnte für das Ansamitocin gezeigt werden, dass eine Funktionalisierung über die STILLE-Kreuzkupplung möglich ist: F. Taft, Dissertation, *Studien zur Ansamitocin-Biosynthese in Actinosynnema pretiosum – Synthese Tumor-gerichteter Ansamitocin-Derivate*, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2009.

RUTJES-Linker,¹³⁴ welcher in einer Peptidkupplung mit Fluorescein verknüpft ist,¹³⁵ könnten so Studien zum Wirkort des Myxovalargins durchgeführt werden.

¹³⁴ S. S. van Berkel, A. J. Dirks, M. F. Debets, F. L. van Delft, J. J. L. M. Cornelissen, R. J. M. Nolte, F. R. J. T. Rutjes, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1504-1508.

¹³⁵ Vorarbeiten zu dem RUTJES-Linker und Fluorescein lieferten : a) Tobias Knobloch, Dissertation, *Studien zur Flexibilität der Ansamitocin-Biosynthese in Actinosynnema pretiosum*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2010**; b) Yi Su, Dissertation, *Modification of Polysialic Acid towards Scaffolds for Tissue Engineering and Synthesis of Sialic Acid Derivatives*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2011**; c) Lena Möller, Dissertation, *Funktionalisierung von Oberflächen und Hyaluronsäure-basierte Hydrogele für die Anwendung in der Regenerativen Medizin*, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2012**.

4.2 Synthese von Thioester-aktivierten Peptidfragmenten des Myxovalargins für die Mutasynthese

4.2.1 Zusammenfassung

Im zweiten Teil dieser Arbeit konnten neben dem natürlichen Mutasynthons **190** sieben weitere Thioester-Derivate für mutasynthetische Anwendungen synthetisiert werden. Als erstes Derivat **193** wurde jenes hergestellt, welches an Stelle des *N*-Methyl-L-alanins die korrespondierende nicht-methylierte Aminosäure enthält. Weitere Derivatisierungen wurden im Hinblick auf die Dehydrofunktionalität durchgeführt. Basierend auf der Aminosäure Valin (L- bzw. D-Aminosäure) konnten sechs weitere SNAC-Thioester-Derivate synthetisiert werden. Dabei wurden Variationen an dem Amino-Terminus und an dem *N*-Methylalanin durchgeführt (Abbildung 9).

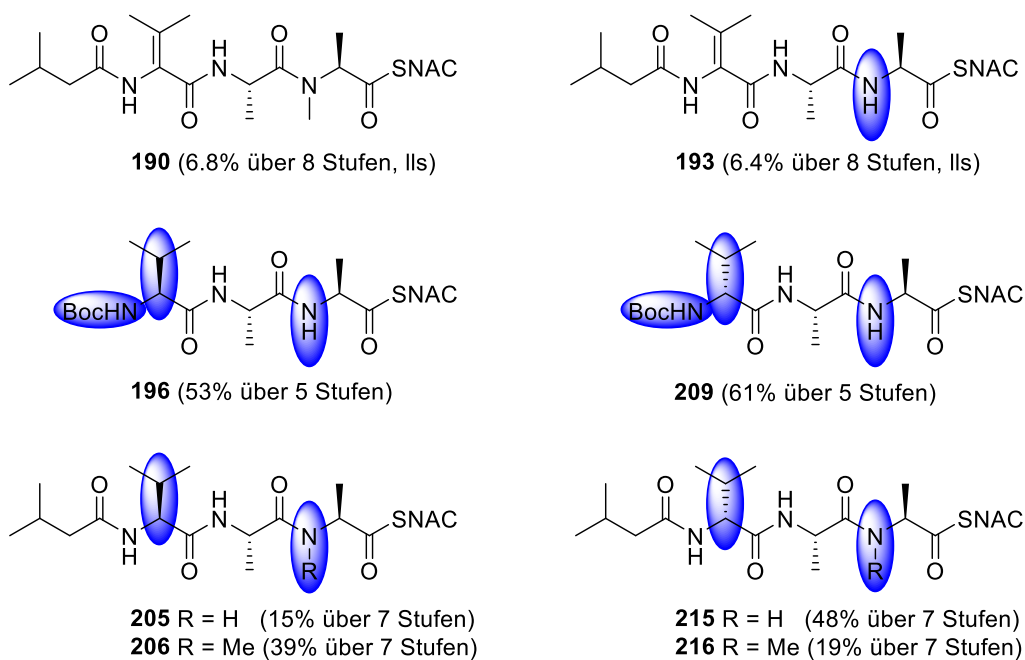


Abbildung 9: Zusammenfassung der synthetisierten Thioester-Derivate für die mutasynthetischen Anwendungen.

Nach der erfolgreichen Synthese dieser Derivate wurden erste Verfütterungsstudien des natürlichen Mutasynthons **190** zu der *knock-out*-Mutante (Gen *mxvA*) durchgeführt, um so eine intakte Funktionalität der Mutante sicher zu stellen. Jedoch waren diese Ergebnisse nicht vielversprechend, da der Thioester **190** nicht von der Mutante akzeptiert wurde.²⁶

4.2.2 Ausblick

Erst einmal muss die Funktionalität der Mutante sichergestellt werden. Wie bereits zuvor beschrieben, konnte das natürliche Synthon möglicherweise nicht von der Zelle aufgenommen werden. Die Erhöhung der Zellmembranpermeabilität lässt sich durch eine Vielzahl an Möglichkeiten wie bspw. höhere DMSO-Konzentrationen, Detergenzien¹³⁶ (wie Triton X-100 oder Tween 20) oder Hitzeschock beeinflussen. Neben der Verfütterung des *N*-Acetylcysteamin-Thioesters kann auch die Supplementierung der freien Säure des natürlichen Mutasythons getestet werden.

Insofern effektive Bedingungen zur Erhöhung der Membranpermeabilität gefunden werden, können Studien mit den bereits synthetisierten Thioester-Derivaten durchgeführt werden. Sollten diese von der Mutante akzeptiert werden, würden nach dem Durchlaufen der Biosynthese neue Myxovalargin-Derivate zur Verfügung stehen. Diese sollten dann hinsichtlich deren biologischer Wirkung untersucht werden und würden somit einen Einblick in Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, sowie pharmakophore Gruppen liefern.

Weiterhin lassen sich durch die Variation einzelner Aminosäuren der Tripeptidsequenz verschiedenste Derivate synthetisieren. Diese sollten dann ebenfalls hinsichtlich deren Akzeptanz untersucht werden.

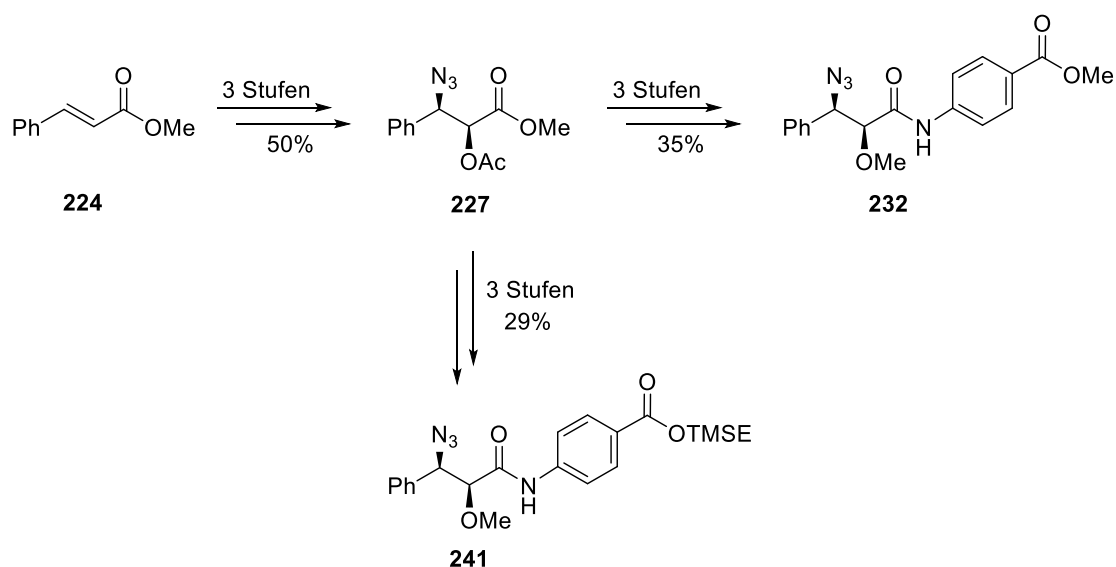
¹³⁶ A. Helenius, K. Simons, *Biochim. Biophys. Acta* **1975**, 415, 29-79.

4.3 Studien zur Totalsynthese der Cystobactamide

4.3.1 Zusammenfassung

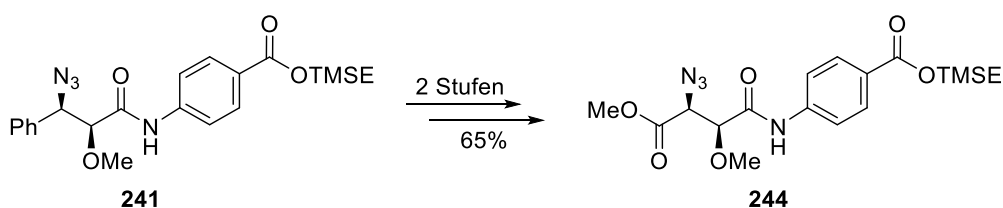
Im letzten Teil dieser Arbeit wurde in Zusammenarbeit mit Dr. M. MORENO eine konvergente Syntheseroute zu den beiden Cystobactamiden 919-1 (**9**) und 920-1 (**217**) entwickelt. Hierfür wurde das lineare Peptid in drei Fragmente A – C unterteilt, welche einzeln synthetisiert und zu einem späteren Zeitpunkt über eine Peptidkupplungskaskade verknüpft werden sollten. Des Weiteren wurde im Rahmen dieser Arbeit ein genereller, stereoselektiver Zugang zu der zentral verbrückten Aminosäure Methoxyasparagin bzw. Asparaginsäure geschaffen. Ebenso wurden Kupplungsstudien dieser nicht-kanonischen Aminosäure mit den PABA-Einheiten durchgeführt.

Die Synthese der Aminosäure Methoxyasparaginsäure wurde ausgehend von dem kommerziell erhältlichen Zimtsäuremethylester (**224**) realisiert. Dabei diente der Phenylsubstituent als eine Art Schutzgruppe für die Carboxylfunktionalität in der Seitenkette der Aminosäure. In einer dreistufigen Synthesesequenz wurde der funktionalisierte Methylester **227** erhalten. Die Einführung der stereogenen Zentren erfolgte über eine asymmetrische Dihydroxylierung nach SHARPLESS. Ausgehend von dem Ester **227** wurden Kupplungsstudien mit *para*-Aminobenzoessäurederivaten durchgeführt. Als Produkte konnte hier die beiden Peptide **232** und **241** erhalten werden (Schema 122).



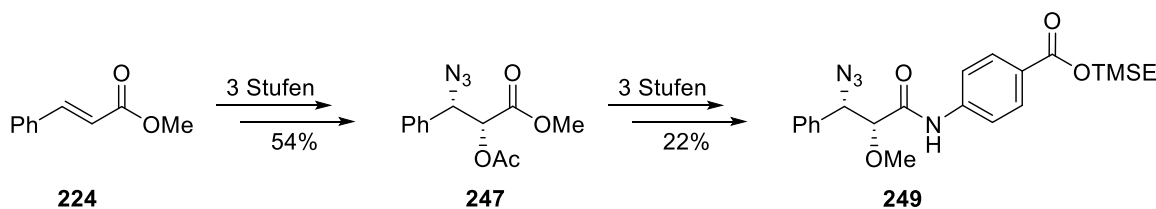
Schema 122: Zusammenfassung der Synthese zu den beiden Estern **232** und **241**.

Basierend auf dem Peptid **241** wurde die Oxidation des Phenylsubstituenten zur korrespondierenden Carbonsäure realisiert; so wurde unter Ruthenium-Katalyse chemoselektiv der Phenylring in die entsprechende Säure überführt, wobei der *para*-substituierte Aromat intakt blieb. Anschließend wurde die so erhaltene Carboxylfunktionalität als Methylester **244** geschützt (Schema 123).



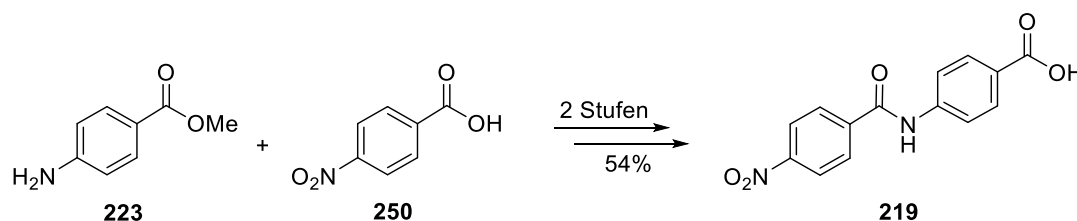
Schema 123: KUHN-ROTH-Oxidation des Peptids **241**.

Aufgrund der Tatsache, dass die absolute Konfiguration der stereogenen Zentren zum damaligen Zeitpunkt nicht bekannt war, sondern lediglich die relative, wurde auch das Enantiomer **249** der Verbindung **241** ausgehend von Zimtsäuremethylester (**224**) hergestellt (Schema 124).



Schema 124: Zusammenfassung der Synthese des enantiomeren Esters **249**.

Des Weiteren konnte noch das Fragment B **219** ausgehend von *para*-Aminobenzoessäuremethylester (**223**) und *para*-Nitrobenzoessäure (**250**) erfolgreich synthetisiert werden (Schema 125).



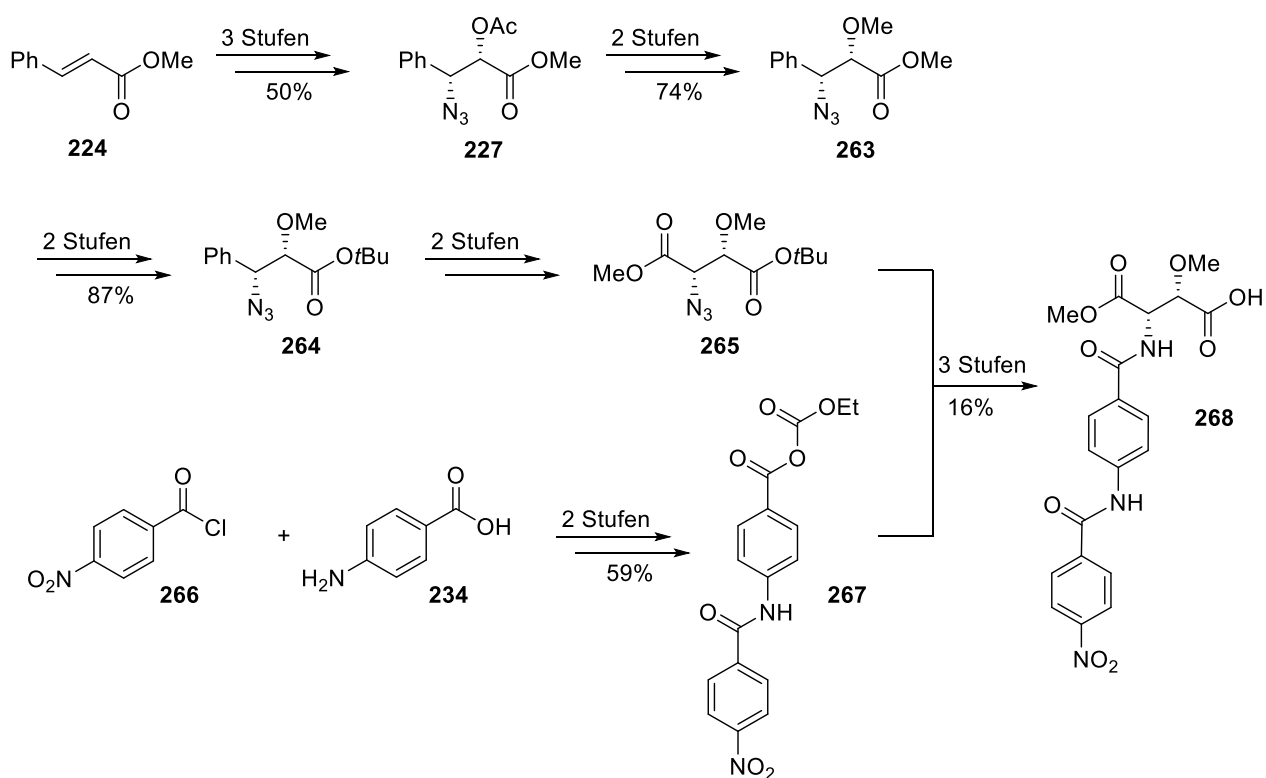
Schema 125: Zusammenfassung der Synthese des Fragments B **219**.

Abschließend sollte noch die Peptidkupplung des reduzierten Azids mit dem Fragment B realisiert werden. Jedoch konnte das gewünschte Kupplungsprodukt unter den gewählten Bedingungen nicht erhalten werden. Weitere Kupplungsstudien wurden an dieser Stelle aus zeitlichen Gründen nicht mehr durchgeführt und das Cystobactamid-Projekt wurde an Dr. L. WANG abgegeben.

4.3.2 Ausblick

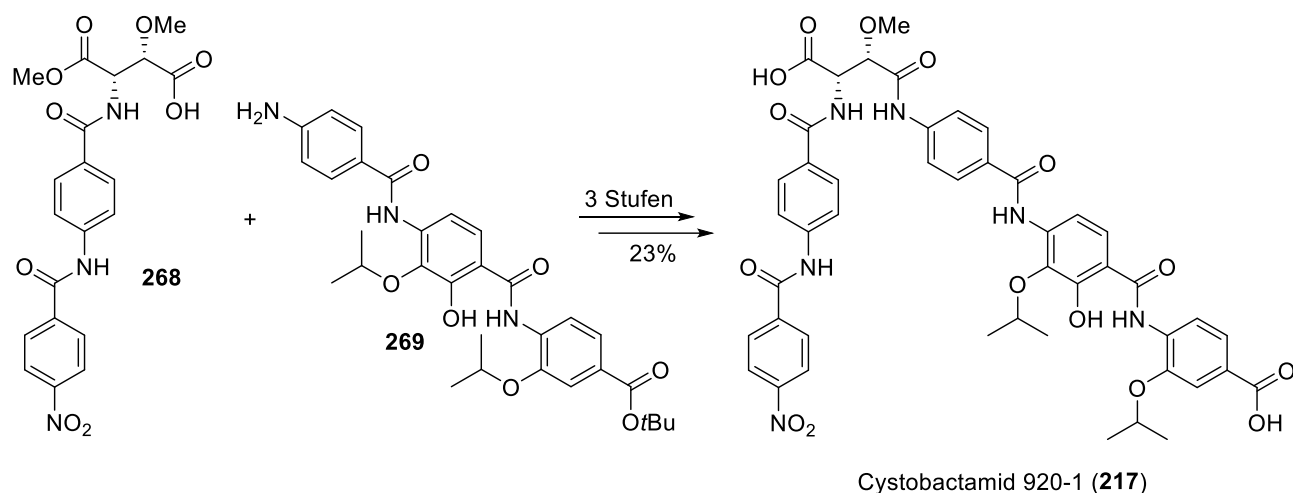
In Zusammenarbeit mit Dr. M. MORENO und Dr. L. WANG konnte die erste Totalsynthese von Cystobactamid 920-1 (**217**) erfolgreich abgeschlossen werden.¹¹⁵

Der Diester **265** wurde ausgehend von Zimtsäuremethylester (**224**) in einer 9-stufigen Synthesesequenz synthetisiert. Der Aufbau der stereogenen Zentren und die Einführung der weiteren Carboxylfunktionalität erfolgten über eine asymmetrische Dihydroxylierung nach SHARPLESS und eine KUHN-ROTH-Oxidation. Weiterhin wurde das Biarylsystem **267** in zwei Stufen ausgehend von den beiden *para*-substituierten Aromaten **266** und **234** synthetisiert. In einer Entschützungs- und Peptidkupplungskaskade konnte die Säure **268** erhalten werden (Schema 126).



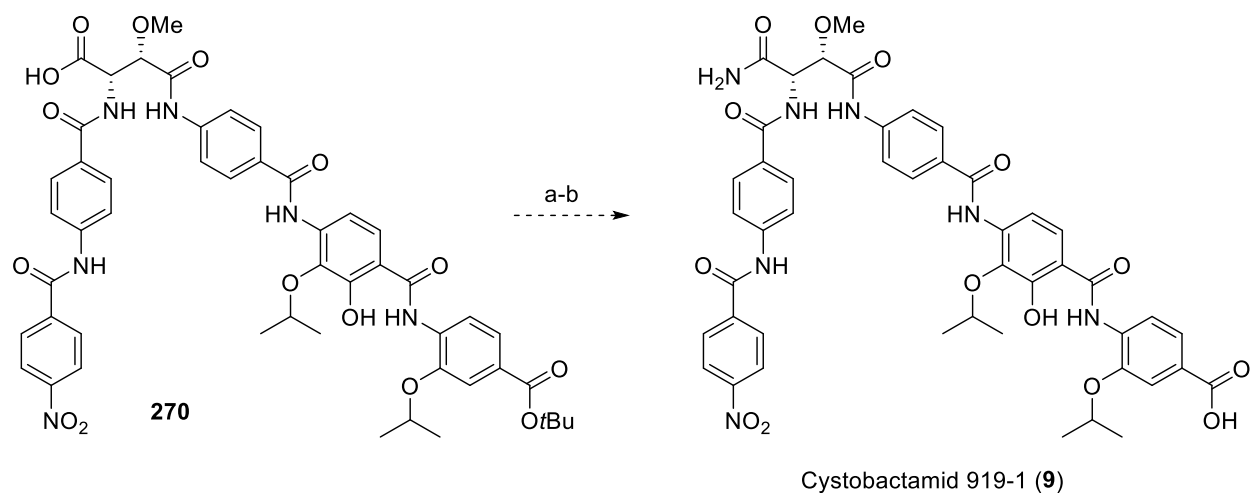
Schema 126: Zusammenfassung der Totalsynthese von Cystobactamid 920-1 (**217**) Teil I.

Eine erneute Peptidkupplung mit dem Tripeptid **269**,¹¹⁶ gefolgt von der Entschützung der beiden Carboxylgruppen, lieferte Cystobactamid 920-1 (**217**) (Schema 127).



Schema 127: Zusammenfassung der Totalsynthese von Cystobactamid 920-1 (**217**) Teil II.

Aufgrund der Tatsache, dass für die Synthese des Cystobactamids 920-1 (**217**) ein sehr konvergenter Fragmentansatz gewählt wurde, lässt sich ausgehend von dem linearen Vorläufer **270**, bei dem es sich um eine Zwischenstufe in der Cystobactamid 920-1 (**217**) Synthese handelt, in einer zweistufigen Synthesesequenz Cystobactamid 919-1 (**9**) darstellen. Formal gesehen handelt es sich bei dem Cystobactamid 919-1 um das korrespondierende Carbonsäureamid des Cystobactamids 920-1 (**217**). Die Einführung dieser Funktionalität kann über die Aktivierung der Carboxylgruppe als gemischtes Anhydrid mittels Isobutylchlorformiat und *N*-Methyl-morpholin als Base realisiert werden. Anschließende Zugabe von wässriger Ammoniak-Lösung generiert dann das gewünschte Amid. Diese Reaktionsbedingungen wurden bereits in dieser von der Autorin vorgelegten Arbeit etabliert (s. Kapitel 3.1.4) und sollen hier ebenfalls zur Anwendung kommen. Nach der Entfernung des *tert*-Butylesters unter sauren Bedingungen mittels TFA kann das lineare Peptid Cystobactamid 919-1 (**9**) erhalten werden (Schema 128).



Schema 128: Totalsynthese von Cystobactamid 919-1 (**9**) ausgehend von **270**.

Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) *i*) NMM, IBCF, DME, 0 °C, 20 min, *ii*) aq. NH₃-Lösung (25% ig), 0 °C → RT, 23 h; b) TFA, CH₂Cl₂, RT, 5 h.

Auf Basis dieser ersten Totalsynthese des Cystobactamids 920-1 (**217**) kann die Synthese weiterer Derivate erfolgen, welche dann einen Einblick in Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und pharmakophore Gruppen der Cystobactamide liefern würde. So wären bspw. Derivate ohne die seltene Nitrofunktionalität oder ohne die Isopropylether von besonderem Interesse. Des Weiteren kann auch der Einfluss der einzelnen PABA-Einheiten auf die biologische Wirksamkeit untersucht werden. Ebenso sollte auch der Effekt der Stereochemie der zentralen Methoxyasparagineinheit in Betracht gezogen werden.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine Hinweise

Glasgeräte

Alle Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurden unter Inertgasatmosphäre (Stickstoff oder Argon) durchgeführt. Die entsprechenden Glasgeräte wurden zuvor im Vakuum ausgeheizt. Wenn nicht anders angegeben, wurde ein Magnetrührer verwendet.

Lösungsmittel und Reagenzien

Lösungsmittel für die Verwendung bei feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden nach Standardverfahren¹³⁷ getrocknet und unter Stickstoffatmosphäre aufbewahrt bzw. frisch destilliert eingesetzt. Diethylether (Et₂O) und Tetrahydrofuran (THF) wurden über Natriumdraht mit Benzophenon als Indikator getrocknet. Triethylamin (Et₃N) wurde über Kaliumhydroxid getrocknet. Methylenchlorid (CH₂Cl₂) und *N,N*-Dimethylformamid (DMF) wurden aus einer mit einer Trocknungs-Kartusche versehenen MB SPS-Apparatur der Firma BRAUN entnommen. Weitere absolute Lösungsmittel wurden käuflich von ACROS und SIGMA-ALDRICH erworben. Alle weiteren Reagenzien, deren Herstellung nicht angegeben ist, stammen von den Firmen ACROS, SIGMA-ALDRICH, ABCR, BACHEM, IRIS-BIOTECH, FLUOROCHEM und GL BIOCHEM (SHANGHAI).

Insofern nötig wurden die Lösungsmittel vor der Verwendung entgast. Dafür wurde die *freeze-pump-thaw*-Technik angewendet. Das entsprechende Lösungsmittel wurde in einen zuvor im Vakuum ausgeheizten und mit Schutzgas (Argon) gespülten SCHLENK-Kolben überführt, welcher mit einem gefetteten Hahn und Stopfen versehen war. Anschließend wurde das Lösungsmittel in einem Kältebad mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nachdem das Lösungsmittel vollständig gefroren war, wurde der Kolben für einige Minuten evakuiert und das Kältebad danach entfernt. Es wurde gewartet, bis das Lösungsmittel vollständig aufgetaut war. Während des Tauvorganges sollte das Entweichen von Gas aus dem Lösungsmittel zu

¹³⁷ W. L. F. Armarego, D. D. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, 4th Ed., Butterworth and Heinemann, Oxford 1996.

beobachten sein. Sobald das Lösungsmittel vollständig aufgetaut war, wurde der Vorgang beginnend mit dem Einfrieren so oft wiederholt bis beim Tauvorgang keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Abschließend wurde der Kolben mit Schutzgas (Argon) gespült und das entgaste Lösungsmittel konnte verwendet werden.

Beim Aufarbeitungsschritt wurden wasserfreies Magnesiumsulfat oder Natriumsulfat verwendet. Bei den wässrigen Lösungen handelt es sich um gesättigte, sofern nicht anders angegeben.

Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie erfolgte mittels Kieselgel beschichteten Aluminiumfolien des Typs ALUGRAM®Xtra SIL G/UV₂₅₄ der Firma MACHEREY-NAGEL. Die Indikation erfolgte durch UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm, sowie verschiedene Färbereagenzien (Kaliumpermanganat und Ninhydrin) mit anschließender Wärmebehandlung.

Säulenchromatographie

Die Reaktionsprodukte wurden nach dem Prinzip der *Flash*-Chromatographie über Kieselgel als stationäre Phase gereinigt. Das verwendete Kieselgel der Firmen ACROS und MACHEREY-NAGEL hatte eine Korngröße von 35 bis 70 μm . Die verwendeten Lösungsmittel wurden einfach destilliert, das Eluentenverhältnis ist den entsprechenden Versuchsvorschriften zu entnehmen.

NMR-Spektroskopie

Die ¹H-NMR Spektren wurden mit den Geräten DPX-200 (200 MHz), AVS-400 (400 MHz), DPX-400 (400 MHz) und DRX-500 (500 MHz) der Firma BRUKER bei RT aufgenommen. Das jeweils verwendete Lösungsmittel ist angegeben. Die Kalibration erfolgte anhand des durch den Restprotonengehalt des Solvens verursachten Signals¹³⁸ und ist zusammen mit den experimentellen Daten der Substanzen angegeben. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm, die der Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz). Für die Signale werden folgende

¹³⁸ H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, sept = Septett, m = Multipllett und br = breit.

Die ^{13}C -NMR Spektren wurden mit den Geräten AVS-400 (100 MHz), DPX-400 (100 MHz) und DRX-500 (125 MHz) der Firma BRUKER bei RT aufgenommen. Das jeweils verwendete Lösungsmittel ist angegeben. Die Kalibration erfolgte anhand des durch den Restprotonengehalt des Solvens verursachten Signals¹³⁸ und ist zusammen mit den experimentellen Daten der Substanzen angegeben. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm. Für die Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: p = primär, s = sekundär, t = tertiär und q = quartär. Für Kopplungen mit Fluor und Phosphor werden folgende Abkürzungen verwendet: d = Dublett.

Für die vollständige Interpretation wurden zusätzlich ^1H - ^1H -Korrelationsspektren (COSY) und ^1H - ^{13}C -Korrelationsspektren (HMBC, HSQC) aufgenommen.

Massenspektrometrie

Hochaufgelöste Massenspektrometrie (HRMS) wurde mit einer MICROMASS LCT mit Lock-Spray-Einheit durchgeführt. Die Injektion erfolgte im Loop-Modus in einer HPLC-Anlage der Firma WATERS (Alliance 2695). Alternativ wurde mit einer MICROMASS Q-TOF in Verbindung mit einer WATERS Aquity UPLC-Anlage gemessen. Die Ionisierung erfolgte durch Elektronensprayionisation (ESI).

High Performance Liquid Chromatography

Präparative HPLC wurde an einer HPLC-Anlage der Firma MERCK HITACHI (Diode Array Detektor L-7450 [λ = 220-440 nm], Pumpe L-7150, Interface D-7000) durchgeführt. Als stationäre Phase wurde eine semipräparative Säule der Firma MACHEREY-NAGEL (Nucleodur C18 ISIS 5 μm , 250 mm \cdot 8 mm) mit einer entsprechenden Vorsäulenkartusche (TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18, AQ 5 μm , 40 mm \cdot 8 mm) verwendet. Ebenso wurde die präparative HPLC an einer WATERS HPLC-Anlage (WATERS Alliance 2695 Separation Module, WATERS 996 Photodiode Array Detector) mit paralleler Massendetektion (MICROMASS Typ Quattro LC) durchgeführt. Als stationäre Phase wurde eine semipräparative Säule der Firma TRENTEC (Reprosil-Pur 120 C18, AQ 5 μm , 250 mm \cdot 8 mm) mit einer entsprechenden Vorsäulenkartusche (TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18, AQ 5 μm , 40 mm \cdot 8 mm) verwendet. Alternativ wurde die präparative HPLC an einer VARIAN HPLC-Anlage (Pumpen Prepstar

Model 218, variabler Wellenlängendetektor Prostar [$\lambda = 248 \text{ nm}$]) mit paralleler Massendetektion (MICROMASS Typ ZMD ESI-Quad-Spektrometer) unter Verwendung der stationären Phase C18-P (TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18 AQ 5 μm , 250 mm \cdot 25 mm) mit einer entsprechenden Vorsäulenkartusche (TRENTEC Reprosil-Pur 120 C18, AQ 10 μm , 30 mm \cdot 20 mm) durchgeführt.

Chirale HPLC wurde an einer HPLC-Anlage der Firma BECKMAN (Detektor System Gold[®] 166 Detector, Pumpe System Gold[®] 125 Solvent Module) durchgeführt. Als stationäre Phase wurde eine chirale Säule der Firma DAICEL (CHIRALCEL[®] OD-H) verwendet.

Für die HPLC-Anwendungen wurden membran-filtriertes, bidestilliertes Wasser, sowie kommerziell verfügbare HPLC-Qualität-Lösungsmittel verwendet, welche zuvor im Ultraschallbad entgast wurden. Das Eluentenverhältnis, der Lösungsmittelgradient und die Retentionszeit t_R sind den jeweiligen Versuchsdurchführungen zu entnehmen.

Infrarotspektroskopie

IR-Spektren wurden mit einem FT-IR Gerät Vector 22 der Firma BRUKER gemessen. Die Verschiebung der Schwingungsbanden wird in cm^{-1} angegeben. Für die Intensitäten werden folgende Abkürzungen verwendet: s = stark, m = mittel und w = schwach.

Drehwerte

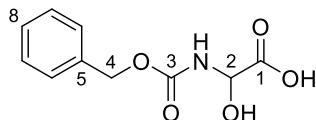
Spezifische optische Drehwerte $[\alpha]$ wurden mit einem Polarimeter des Typs 341 der Firma PERKIN-ELMER in einer 10 cm Quarzglasküvette bei einer Wellenlänge von $\lambda = 589.3 \text{ nm}$ (Natrium-D-Linie) gemessen. Die Angabe der Drehwerte erfolgt in $10^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ und die Konzentration c ist definitionsgemäß in $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ angegeben.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Gerät OptiMelt MPA100 der Firma STANFORD RESEARCH System bestimmt und sind nicht korrigiert.

5.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1

Synthese von 2-[[[(Benzyloxy)carbonyl]amino]-2-hydroxyessigsäure (*rac*-57)

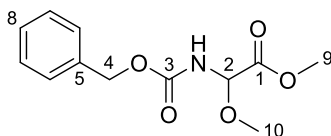


Benzylcarbammat (**55**; 25.0 g, 165 mmol, 1.00 Äq.) und Glyoxylsäure (**56**; 17.0 g, 179 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in Toluol (200 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 90 min bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel Toluol wurde bei 40 °C (90 mbar; 100 mL) unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde zu der Reaktionsmischung Toluol (100 mL) hinzugefügt und 1 h bei RT gerührt. Der erhaltene Feststoff wurde abfiltriert und mehrfach mit Toluol gewaschen. Das gewünschte Produkt *rac*-**57** (37.2 g, 165 mmol, quant.) wurde als farbloses Pulver erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹³⁹

T_M = 194 °C (Lit.¹³⁹: **T_M** = 198 – 200 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.14 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, NH), 7.40-7.29 (5H, m, ArH), 6.24 (1H, brm, OH), 5.22 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2), 5.05 (2H, s, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 171.1 (q, C-1), 155.5 (q, C-3), 136.8 (q, C-5), 128.4 (4C, t, C-6, C-7), 127.9 (t, C-8), 73.2 (t, C-2), 65.5 (s, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₁NO₅Na [M + Na]⁺: 248.0535; gefunden 248.0541.

Synthese von Methyl-2-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-2-methoxyacetat (*rac*-58)



2-[[[(Benzyloxy)carbonyl]amino]-2-hydroxyessigsäure (*rac*-**57**; 37.2 g, 165 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in CH₃OH (300 mL) gelöst und anschließend auf 0 °C abgekühlt. Die Reaktionsmischung wurde tropfenweise mit konzentrierter H₂SO₄ (12.0 mL) versetzt und bei

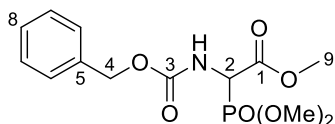
¹³⁹ M. Berwe, W. Jöntgen, J. Krüger, Y. Cancho-Grande, T. Lampe, M. Michels, H. Paulsen, S. Raddatz, S. Weigand, *Org. Process Rev. Dev.* **2011**, *15*, 1348-1357.

0 °C → RT gerührt. Nach 12 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Methylester *rac*-**58** (41.0 g, 162 mmol, 98%) als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁰

R_f = 0.40 (PE/EtOAc 2:1); **T_M** = 72 °C (Lit.¹⁴⁰: **T_M** = 70 – 72 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.39-7.31 (5H, m, ArH), 5.87 (1H, brn, NH), 5.36 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-2), 5.15 (2H, s, H-4), 3.53 (3H, s, H-9), 3.46 (3H, s, H-10) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 168.1 (q, C-1), 155.8 (q, C-3), 135.9 (q, C-5), 128.8 (2C, t, C-7), 128.6 (t, C-8), 128.4 (2C, t, C-6), 80.8 (t, C-2), 67.6 (s, C-4), 56.4 (p, C-10), 53.1 (p, C-9) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₁₅NO₅Na [M + Na]⁺: 276.0848; gefunden 276.0845.

Synthese von Methyl-2-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-2-(dimethoxyphosphoryl)acetat (*rac*-**59**)



Methyl-2-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-2-methoxyacetat (*rac*-**58**; 39.3 g, 155 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in Toluol (160 mL) gelöst und anschließend auf 70 °C erwärmt. Anschließend wurde Phosphortrichlorid (21.3 g, 155 mmol, 1.00 Äq.) hinzuge tropft und die Reaktionsmischung 60 h bei 70 °C gerührt. Danach wurde Trimethylphosphit (19.3 g, 155 mmol, 1.00 Äq.) hinzuge tropft und die Reaktionsmischung für weitere 2 h bei 70 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend unter vermindertem Druck aufkonzentriert (70 °C, 50 mbar). Das erhaltene, gelbe Öl wurde mit EtOAc versetzt und danach mit einer NaHCO₃-Lösung (3x) gewaschen. Darauf folgend wurden die vereinigten, wässrigen Phasen mit EtOAc gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen, anschließend über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene, farblose Öl wurde mit PE versetzt. Das Entfernen

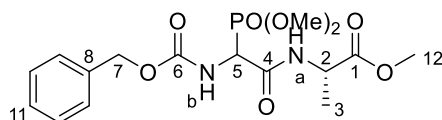
¹⁴⁰ H. Azuma, K. Okano, T. Fukuyama, H. Tokuyama, *Org. Synth.* **2011**, *88*, 152-161.

des Lösungsmittels PE unter vermindertem Druck lieferte das gewünschte Produkt *rac*-**59** (44.2 g, 134 mmol, 86%) als farblosen Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁰

R_f = 0.45 (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1); T_M = 76 °C (Lit.¹⁴⁰: T_M = 77 – 78 °C); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.39-7.30 (5H, m, ArH), 5.58 (1H, d, J = 9.2 Hz, NH), 5.14 (2H, s, H-4), 4.93 (1H, dd, J = 9.2, 22.2 Hz, H-2), 3.84-3.78 (9H, m, PO(OMe)₂, H-9) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 167.2 (q, d, J = 2.7 Hz, C-1), 155.7 (q, d, J = 7.5 Hz, C-3), 135.9 (q, C-5), 128.6 (2C, t, C-7), 128.3 (t, C-8), 128.2 (2C, t, C-6), 67.6 (s, C-4), 54.2 (p, d, J = 6.5 Hz, C-2), 53.4 (p, C-9), 52.8 (p, PO(OMe)₂), 51.4 (p, PO(OMe)₂) ppm; HRMS (ESI): m/z berechnet für C₁₃H₁₈NO₇PNa [M + Na]⁺: 354.0719; gefunden 354.0721.

Synthese von (2*S*)-Methyl-2-(2-[[*(benzyloxy)carbonyl*]amino]-2-(dimethoxyphosphoryl)-acetamido)propanoat (**53**)



Verseifung:

Methyl-2-[[*(benzyloxy)carbonyl*]amino]-2-(dimethoxyphosphoryl)acetat (*rac*-**59**; 10.0 g, 30.2 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in 1,4-Dioxan (30.0 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 60.0 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 16 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und es wurde CH₂Cl₂ hinzugefügt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (6x; 20:1 → 10:1) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt *rac*-**54** (9.58 g, 30.2 mmol, quant.) wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

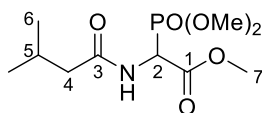
Aminosäure (*rac*-**54**; 3.75 g, 11.8 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 1.82 g, 13.0 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (560 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBT (2.41 g, 17.7 mmol,

1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (2.83 g, 14.8 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (2.29 g, 17.7 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 2 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) ergab das gewünschte Produkt **53** (3.90 g, 9.69 mmol, 82%) als gelbliches, hochviskoses Öl.

Das Produkt **53** lag als ein Diastereomerengemisch vor.

$R_f = 0.23$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -2.7^\circ$ ($c = 1.14$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.38$ -7.29 (5H, m, ArH), 7.14 (1H, m, NH-a), 5.70 (1H, m, NH-b), 5.13 (2H, s, H-7), 4.87 (1H, m, H-5), 4.58 (1H, m, H-2), 3.86-3.77 (6H, m, PO(OMe)₂), 3.74 (3H, s, H-12), 1.43 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.59$ (q, C-1), 172.57 (q, C-1), 164.3 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 164.1 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 156.02 (q, C-6), 155.99 (q, C-6), 136.03 (q, C-8), 136.02 (q, C-8), 128.69 (2C, t, C-10), 128.66 (2C, t, C-10), 128.42 (t, C-11), 128.39 (t, C-11), 128.3 (2C, t, C-9), 128.2 (2C, t, C-9), 67.7 (s, C-7), 67.4 (s, C-7), 54.5 (p, PO(OMe)₂), 54.4 (p, PO(OMe)₂), 54.1 (p, PO(OMe)₂), 53.9 (p, PO(OMe)₂), 52.7 (2C, p, C-12), 51.0 (2C, t, C-5), 48.9 (2C, t, C-2), 18.1 (p, C-3), 18.0 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₆H₂₃N₂O₈PNa [M + Na]⁺: 425.1090; gefunden 425.1088.

Synthese von Methyl-2-(dimethoxyphosphoryl)-2-(3-methylbutanamido)acetat (*rac*-61)



Cbz-Entschützung:

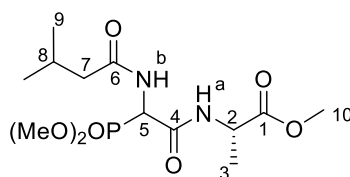
Methyl-2-[(benzyloxy)carbonylamino]-2-(dimethoxyphosphoryl)acetat (*rac*-**59**; 400 mg, 1.21 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₃OH (16.0 mL) bei RT gelöst. Es wurde Pd/C (10%; 70.8 mg, 0.55 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Wasserstoff gespült und anschließend unter H₂-Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 12 h wurde die Reaktionsmischung über Celite™ filtriert und mit CH₃OH gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand (238 mg, 1.21 mmol, quant.) wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

3-Methylbutansäure (**28**; 112 mg, 1.10 mmol, 1.00 Äq.) und das zuvor Cbz-entschützte Produkt *rac*-**60** (238 mg, 1.21 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (19.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (222 mg, 1.65 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (263 mg, 1.37 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (213 mg, 1.65 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 60 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) ergab das gewünschte Produkt Methyl-2-(dimethoxyphosphoryl)-2-(3-methylbutanamido)acetat (*rac*-**61**; 250 mg, 0.89 mmol, 74%) als farbloses Öl.

R_f = 0.17 (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.83 (1H, d, J = 8.5 Hz, NH), 5.22 (1H, dd, J = 8.5, 22.5 Hz, H-2), 3.78-3.72 (9H, m, PO(OMe)₂, H-7), 2.11-2.02 (3H, m, H-4, H-5), 0.89 (6H, d, J = 6.5 Hz) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.3 (q, d, J = 6.0 Hz, C-3), 167.2 (q, d, J = 2.7 Hz, C-1), 54.2 (p, d, J = 6.6 Hz, PO(OMe)₂), 53.9 (p, d, J = 6.6 Hz, PO(OMe)₂), 53.2 (p, C-7), 49.0 (t, d, J = 148.3 Hz, C-2), 45.2 (s, C-4), 26.2 (t, C-5), 22.32 (p, C-6), 22.31 (p, C-6) ppm; HRMS (ESI): m/z berechnet für C₁₀H₂₀NO₆PNa [M + Na]⁺: 304.0926; gefunden 304.0927.

Synthese von (2*S*)-Methyl-2-[2-(dimethoxyphosphoryl)-2-(3-methylbutanamido)acetamido]propanoat (**52**)



Variante A:

Cbz-Entschützung:

Peptid **53** (3.90 g, 9.69 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₃OH (370 mL) bei RT gelöst. Es wurde Pd/C (10%; 515 mg, 0.55 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Wasserstoff gespült und anschließend unter H₂-Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 14 h wurde die Reaktionsmischung über CeliteTM filtriert und mit CH₃OH gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand (2.60 g, 9.69 mmol, quant.) direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Peptidkupplung:

3-Methylbutansäure (**28**; 900 mg, 8.81 mmol, 1.00 Äq.) und das Cbz-entschützte Peptid (2.60 g, 9.69 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (390 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (1.79 g, 13.2 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (2.11 g, 11.0 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (1.71 g, 13.2 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 2 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) ergab das gewünschte Dipeptid **52** (2.30 g, 6.52 mmol, 74%) als farbloses Öl.

Variante B:

Verseifung:

Methyl-2-(dimethoxyphosphoryl)-2-(3-methylbutanamido)acetat (*rac*-**61**; 102 mg, 0.36 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (0.36 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde LiOH (1.0 M; 0.72 mL) hinzuge tropft und das Reaktionsgemisch auf RT erwärmt. Nach 14 h wurde das Reaktionsgemisch mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (10:1; 6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt *rac*-**62** (93.2 mg, 0.35 mmol, 97%) wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

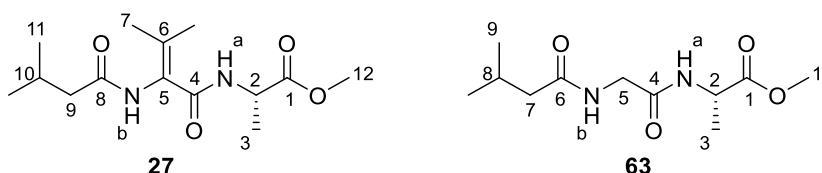
Säure *rac*-**62** (93.2 mg, 0.35 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 53.4 mg, 0.38 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (15.9 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (70.7 mg, 0.52 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (83.6 mg, 0.44 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (67.6 mg, 0.52 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 4 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) ergab das gewünschte Produkt **52** (78.0 mg, 0.22 mmol, 63%) als farbloses Öl.

Das Produkt **52** lag als ein Diastereomerenmisch vor.

$R_f = 0.23$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -2.9^\circ$ ($c = 0.98$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.55$ (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 7.45 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 6.81 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, NH-b), 5.30 (1H, m, H-5), 5.24 (1H, m, H-5), 4.50 (2H, m, H-2), 3.80-3.74 (12H, m, PO(OMe)₂), 3.69 (3H, s, H-10), 3.68 (3H, s, H-10), 2.13-2.03 (6H, m, H-7, H-8),

1.39 (3H, d, $J = 3.1$ Hz, H-3), 1.37 (3H, d, $J = 3.1$ Hz, H-3), 0.91 (12H, d, $J = 5.8$ Hz, H-9) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.5$ (2C, q, C-1), 172.4 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-6), 172.3 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-6), 164.7 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 164.5 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 54.32 (p, d, $J = 7.0$ Hz, $\text{PO}(\text{OMe})_2$), 54.25 (p, d, $J = 7.0$ Hz, $\text{PO}(\text{OMe})_2$), 53.9 (p, d, $J = 7.0$ Hz, $\text{PO}(\text{OMe})_2$), 53.7 (p, d, $J = 7.0$ Hz, $\text{PO}(\text{OMe})_2$), 52.5 (p, C-10), 52.4 (p, C-10), 50.4 (t, C-5), 50.1 (t, C-5), 48.8 (t, C-2), 48.7 (t, C-2), 45.5 (s, C-7), 45.4 (s, C-7), 26.3 (2C, t, C-8), 22.5 (p, C-9), 22.4 (p, C-9), 22.29 (p, C-9), 22.27 (p, C-9), 17.81 (p, C-3), 17.78 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_8\text{PNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 375.1297; gefunden 375.1292.

Synthese von (*S*)-Methyl-2-(3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-2-enamido)propanoat (27)



(*S*)-Methyl-2-[2-dimethoxyphosphoryl]-2-(3-methylbutanamido)acetamido]propanoat (**52**; 91.8 mg, 0.26 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in Aceton (1.15 mL) gelöst. Anschließend wurde DBU (39.7 mg, 0.26 mmol, 1.00 Äq.) langsam hinzugegeben und die Reaktionsmischung 4 d bei RT stehen gelassen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) lieferte ein Produktgemisch von **27**:**63** in einem Verhältnis von 1:2. Das Produktgemisch (37.1 mg, 0.13 mmol, 50%) wurde als farbloses Öl erhalten.

$R_f = 0.18$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2).

Analytische Daten für das Produkt 27:

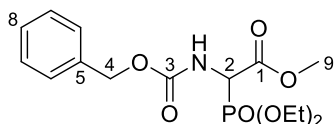
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.05$ (1H, s, NH-b), 6.95 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 4.58 (1H, q, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.74 (3H, s, H-12), 2.16-2.11 (3H, m, H-9, H-10), 1.98 (3H, s, H-7), 1.74 (3H, s, H-7), 1.42 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 0.97 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.3$ (q, C-1), 172.8 (q, C-8), 166.7 (q, C-4), 138.0 (q, C-5), 124.9 (q, C-6), 52.5 (p, C-12), 48.3 (t, C-2), 45.6 (s, C-9),

26.4 (t, C-10), 22.61 (p, C-11), 22.56 (p, C-11), 20.6 (p, C-7), 20.5 (p, C-7), 18.2 (p, C-3) ppm;
HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{14}H_{24}N_2O_4Na$ $[M + Na]^+$: 307.1634; gefunden 307.1641.

Analytische Daten für das Produkt 63:

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.13$ (1H, m, NH-a), 4.54 (1H, m, H-2), 3.94 (2H, s, H-5), 3.72 (3H, s, H-10), 2.15-2.10 (3H, m, H-7, H-8), 1.41 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 0.94 (6H, d, $J = 5.8$ Hz, H-9) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.4$ (q, C-1), 173.2 (q, C-6), 168.9 (q, C-4), 52.6 (p, C-10), 48.3 (t, C-2), 45.6 (s, C-7), 43.2 (s, C-5), 26.4 (t, C-8), 22.51 (p, C-9), 22.46 (p, C-9), 18.1 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{11}H_{21}N_2O_4$ $[M + H]^+$: 245.1501; gefunden 245.1499.

Synthese von Methyl-2-[[**(benzyloxy)carbonyl**]amino]-2-(diethoxyphosphoryl)acetat (*rac*-65)



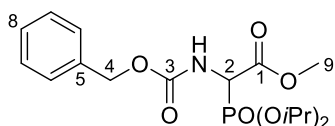
Methyl-2-[[**(benzyloxy)carbonyl**]amino]-2-methoxyacetat (*rac*-58; 5.00 g, 19.7 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in Toluol (20.3 mL) gelöst und anschließend auf 70 °C erwärmt. Anschließend wurde Phosphortrichlorid (2.71 g, 19.7 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für 60 h bei 70 °C gerührt. Danach wurde Triethylphosphit (3.28 g, 19.7 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für weitere 3 h bei 70 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend unter vermindertem Druck aufkonzentriert (60 °C, 50 mbar). Das erhaltene gelbe Öl wurde mit EtOAc versetzt und danach mit einer $NaHCO_3$ -Lösung (3x) gewaschen. Darauf folgend wurden die vereinigten, wässrigen Phasen mit EtOAc gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer $NaCl$ -Lösung gewaschen und anschließend über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Ethoxyphosphonat *rac*-65 (4.90 g, 13.6 mmol, 69%) als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴¹

¹⁴¹ T. Kunze, *Arch. Pharm. Med. Chem.* **1996**, 329, 503-509.

$R_f = 0.25$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1); $T_M = 78$ °C (Lit.¹⁴¹: $T_M = 79 - 81$ °C); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.39-7.30$ (5H, m, ArH), 5.60 (1H, brd, $J = 9.2$ Hz, NH), 5.13 (2H, d, $J = 12.3$ Hz, H-4), 4.89 (1H, dd, $J = 9.2, 22.2$ Hz, H-2), 4.23-4.08 (4H, m, $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 3.82 (3H, s, H-9), 1.39-1.25 (6H, m, $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.3$ (q, C-1), 155.7 (q, C-3), 136.0 (q, C-5), 128.7 (2C, t, C-7), 128.5 (t, C-8), 128.3 (2C, t, C-6), 67.8 (s, C-4), 64.0 (2C, t, d, $J = 5.4$ Hz, $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 53.3 (p, C-9), 52.0 (t, C-2), 16.4 (2C, p, d, $J = 2.5$ Hz, $\text{PO}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_7\text{PNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 382.1032; gefunden 382.1035.

Synthese von Methyl-2-[[**(benzyloxy)carbonyl**]amino]-2-(diisopropoxyphosphoryl)acetat (*rac*-66)



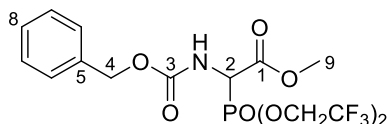
Methyl-2-[[**(benzyloxy)carbonyl**]amino]-2-methoxyacetat (*rac*-58; 5.00 g, 19.7 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in Toluol (20.3 mL) gelöst und anschließend auf 70 °C erwärmt. Anschließend wurde Phosphortrichlorid (2.71 g, 19.7 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für 60 h bei 70 °C gerührt. Danach wurde Triisopropylphosphit (4.11 g, 19.7 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für weitere 6 h bei 70 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend unter vermindertem Druck aufkonzentriert (60 °C, 50 mbar). Das erhaltene gelbe Öl wurde mit EtOAc versetzt und danach mit einer NaHCO_3 -Lösung (3x) gewaschen. Darauf folgend wurden die vereinigten, wässrigen Phasen mit EtOAc gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl -Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt *rac*-66 (5.66 g, 14.6 mmol, 74%) als gelbes, hochviskoses Öl erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴¹

$R_f = 0.25$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.40-7.27$ (5H, m, ArH), 5.60 (1H, brd, $J = 6.5$ Hz, NH), 5.11 (2H, d, $J = 11.9$ Hz, H-4), 4.90 (1H, m, H-2), 4.86-4.61 (2H, m, $\text{PO}(\text{OCH}(\text{CH}_3)_2)_2$), 3.79 (3H, s, H-9), 1.42-1.27 (12H, m, $\text{PO}(\text{OCH}(\text{CH}_3)_2)_2$) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.4$ (q, C-1), 155.8 (q, d, $J = 8.6$ Hz, C-3), 136.0 (q, C-5), 128.6 (2C, t, C-7), 128.4 (t, C-8), 128.3 (2C, t,

C-6), 73.0 (2C, t, d, $J = 6.9$ Hz, $\text{PO}(\text{OCH}(\text{CH}_3)_2)_2$), 67.6 (s, C-4), 54.2 (t, C-2), 53.4 (p, C-9), 23.9 (2C, p, $\text{PO}(\text{OCH}(\text{CH}_3)_2)_2$), 23.7 (2C, p, $\text{PO}(\text{OCH}(\text{CH}_3)_2)_2$) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_7\text{P}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 388.1525; gefunden 388.1523.

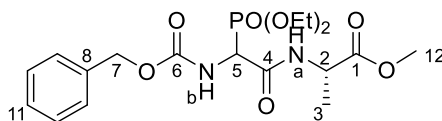
Synthese von Methyl-2-[[benzyloxy]carbonyl]amino}-2-[bis(2,2,2-trifluorethoxy)-phosphoryl]acetat (*rac*-64)



Methyl-2-[[benzyloxy]carbonyl]amino}-2-methoxyacetat (*rac*-58; 1.00 g, 3.95 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in Toluol (4.10 mL) gelöst und anschließend auf 70 °C erwärmt. Anschließend wurde Phosphortrichlorid (0.54 g, 3.95 mmol, 1.00 Äq.) hinzuge tropft und die Reaktionsmischung für 60 h bei 70 °C gerührt. Danach wurde Tris(2,2,2-trifluorethyl)-phosphit (1.30 g, 3.95 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für weitere 6 h bei 70 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend unter vermindertem Druck aufkonzentriert (60 °C, 50 mbar). Das erhaltene gelbe Öl wurde mit EtOAc versetzt und danach mit einer NaHCO_3 -Lösung (3x) gewaschen. Darauf folgend wurden die vereinigten, wässrigen Phasen mit EtOAc gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl -Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt *rac*-64 (1.00 g, 2.13 mmol, 54%) als farbloser Schaum erhalten.

$R_f = 0.19$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1); **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{F}_6\text{NO}_7\text{PNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 490.0466; gefunden 490.0467.

Synthese von (2*S*)-Methyl-2-{2-[[((benzyloxy)carbonyl)amino]-2-(diethoxyphosphoryl)acetamido]propanoat (70)



Verseifung:

Methyl-2-[[((benzyloxy)carbonyl)amino]-2-(diethoxyphosphoryl)acetat (*rac*-**65**; 2.01 g, 5.59 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in 1,4-Dioxan (5.60 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 5.60 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 24 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und CH₂Cl₂ wurde hinzugefügt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (6x; 20:1 → 10:1) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt *rac*-**67** (1.57 g, 4.53 mmol, 81%) wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

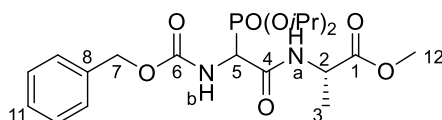
Aminosäure *rac*-**67** (313 mg, 0.91 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 139 mg, 0.99 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (45.5 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (184 mg, 1.36 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (217 mg, 1.13 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (176 mg, 1.36 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugeetropt. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) ergab das gewünschte Produkt **70** (284 mg, 0.66 mmol, 73%) als farblosen Schaum.

Das Produkt **70** lag als ein Diastereomergemisch vor.

R_f = 0.33 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20}$ = -4.4° (c = 1.23, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.41 (1H, d, J = 6.5 Hz, NH-a), 7.36-7.32 (10H, m, ArH), 7.16 (1H, d, J = 6.5 Hz, NH-a), 5.67 (1H, d, J = 8.5 Hz, NH-b), 5.62 (1H, d, J = 8.5 Hz, NH-b) 5.13 (2H, m, H-7), 4.86 (1H, m, H-5), 4.81 (1H, m, H-5), 4.57 (2H, m, H-2), 4.24-4.09 (8H, m, PO(OCH₂CH₃)₂), 3.74 (3H, s, H-12), 3.73 (3H, s, H-12), 1.43 (6H, d, J = 7.2 Hz, H-3), 1.33-1.25 (12H, m, PO(OCH₂CH₃)₂) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ =

172.6 (2C, q, C-1), 164.5 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 164.2 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 156.3 (q, C-6), 156.1 (q, C-6), 136.1 (2C, q, C-8), 128.69 (2C, t, C-10), 128.66 (2C, t, C-10), 128.5 (t, C-11), 128.4 (t, C-11), 128.24 (2C, t, C-9), 128.22 (2C, t, C-9), 67.7 (s, C-7), 67.6 (s, C-7), 64.2 (s, PO(OCH₂CH₃)₂), 64.1 (s, PO(OCH₂CH₃)₂), 63.9 (s, PO(OCH₂CH₃)₂), 63.7 (s, PO(OCH₂CH₃)₂), 52.7 (p, C-12), 52.6 (p, C-12), 51.5 (t, d, $J = 149.0$ Hz, C-5), 51.4 (t, d, $J = 149.0$ Hz, C-5), 49.0 (t, C-2), 48.8 (t, C-2), 18.2 (p, C-3), 18.1 (p, C-3), 16.5 (p, PO(OCH₂CH₃)₂), 16.4 (p, PO(OCH₂CH₃)₂), 16.4 (p, PO(OCH₂CH₃)₂), 16.3 (p, PO(OCH₂CH₃)₂) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₂₈N₂O₈P [M + H]⁺:431.1583; gefunden 431.1582.

Synthese von (2S)-Methyl-2-{2-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-(diisopropoxyphosphoryl)acetamidopropanoat (71)



Verseifung:

Methyl-2-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-(diisopropoxyphosphoryl)acetat (*rac*-**66**; 1.89 g, 4.89 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in 1,4-Dioxan (4.90 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 4.90 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 24 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und CH₂Cl₂ wurde hinzugefügt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (6x; 20:1 → 10:1) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt *rac*-**68** (1.37 g, 3.68 mmol, 75%) wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

Aminosäure *rac*-**68** (190 mg, 0.51 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 77.9 mg, 0.56 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (25.5 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (103 mg, 0.76 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (122 mg, 0.63 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (98.5 mg, 0.76 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

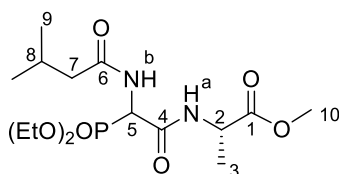
Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) ergab das gewünschte Produkt **71** (156 mg, 0.34 mmol, 67%) als farblosen Schaum.

Das Produkt **71** lag als ein Diastereomerenmisch vor.

$R_f = 0.28$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -5.7^\circ$ ($c = 1.13$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.48$ (1H, d, $J = 6.5$ Hz, NH-a), 7.37-7.30 (10H, m, ArH), 7.21 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, NH-a), 5.54 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-b), 5.49 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-b), 5.13 (4H, m, H-7), 4.85-4.66 (6H, m, H-5, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 4.58 (2H, m, H-2), 3.75 (3H, s, H-12), 3.73 (3H, s, H-12), 1.42 (6H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 1.37-1.25 (24H, m, PO(OCH(CH₃)₂)₂) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.6$ (2C, q, C-1), 164.8 (q, d, $J = 5.0$ Hz, C-4), 164.5 (q, d, $J = 5.0$ Hz, C-4), 136.2 (2C, q, C-8), 128.7 (2C, t, C-10), 128.6 (2C, t, C-10), 128.5 (t, C-11), 128.4 (t, C-11), 128.29 (2C, t, C-9), 128.26 (2C, t, C-9), 73.3 (t, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 73.0 (t, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 72.7 (t, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 72.6 (t, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 67.62 (s, C-7), 67.60 (s, C-7), 52.7 (p, C-12), 52.5 (p, C-12), 52.2 (t, C-5), 52.0 (t, C-5), 48.9 (t, C-2), 48.8 (t, C-2), 24.2 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 24.2 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 24.12 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 24.08 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.90 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.85 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.83 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.77 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 18.3 (p, C-3), 18.2 (p, C-3) ppm; **HRMS**(ESI): m/z berechnet für C₂₀H₃₂N₂O₈PNa [M + H]⁺: 459.1896; gefunden 459.1896.

Das quartäre Kohlenstoffatom C-6 ist im ¹³C-NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von (2S)-Methyl-2-[2-(diethoxyphosphoryl)-2-(3-methylbutanamido)-acetamido]propanoat (**72**)



Cbz-Entschützung:

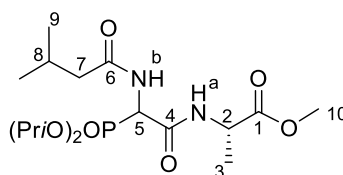
Peptid **70** (271 mg, 0.63 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₃OH (24.7 mL) bei RT gelöst. Es wurde Pd/C (10%; 36.9 mg, 0.55 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Wasserstoff gespült und anschließend unter H₂-Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 14 h wurde die Reaktionsmischung über CeliteTM filtriert und mit CH₃OH gewaschen. Das Lösungsmittel

wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Peptidkupplung:

3-Methylbutansäure (**28**; 58.5 mg, 0.57 mmol, 1.00 Äq.) und das Cbz-entschützte Peptid (187 mg, 0.63 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (28.8 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (116 mg, 0.86 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (137 mg, 0.72 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (111 mg, 0.86 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das gewünschte Dipeptid **72** (171 mg, 0.45 mmol, 78% über 2 Stufen) als farbloses Öl. Das Produkt **72** lag als ein Diastereomerenmisch vor.

$R_f = 0.11$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -2.2^\circ$ ($c = 1.40$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.42$ (1H, d, $J = 7.0$ Hz, NH-a), 7.17 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, NH-a), 6.34 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH-b), 6.29 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH-b), 5.22 (1H, m, H-5), 5.17 (1H, m, H-5), 4.56 (2H, m, H-2), 4.26-4.10 (8H, m, PO(OCH₂CH₃)₂), 3.74 (3H, s, H-10), 3.74 (3H, s, H-10), 2.21-2.08 (6H, m, H-7, H-8), 1.45-1.42 (6H, m, H-3), 1.35-1.29 (12H, m, PO(OCH₂CH₃)₂), 0.98-0.96 (12H, m, H-9) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.6$ (q, C-1), 172.5 (q, C-1), 172.4 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-6), 172.2 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-6), 164.7 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 164.4 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 64.2 (s, d, $J = 6.9$ Hz, PO(OCH₂CH₃)₂), 64.1 (s, d, $J = 6.9$ Hz, PO(OCH₂CH₃)₂), 63.7 (s, d, $J = 6.9$ Hz, PO(OCH₂CH₃)₂), 63.4 (s, d, $J = 6.9$ Hz, PO(OCH₂CH₃)₂), 52.7 (p, C-10), 52.6 (p, C-10), 50.7 (t, d, $J = 147.5$ Hz, C-5), 50.5 (t, d, $J = 147.5$ Hz, C-5), 49.0 (t, C-2), 48.9 (t, C-2), 45.84 (s, C-7), 45.82 (s, C-7), 26.5 (2C, t, C-8), 22.6 (2C, p, C-9), 22.44 (p, C-9), 22.42 (p, C-9), 18.2 (p, C-3), 18.1 (p, C-3), 16.52 (p, PO(OCH₂CH₃)₂), 16.46 (p, PO(OCH₂CH₃)₂), 16.4 (p, PO(OCH₂CH₃)₂), 16.3 (p, PO(OCH₂CH₃)₂) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₅H₂₉N₂O₇PNa [M + Na]⁺: 403.1610; gefunden 403.1604.

Synthese von (2S)-Methyl-2-[2-(diisopropoxyphosphoryl)-2-(3-methylbutanamido)-acetamido]propanoat (73)

Cbz-Entschützung:

Peptid **71** (141 mg, 0.31 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₃OH (12.0 mL) bei RT gelöst. Es wurde Pd/C (10%; 18.0 mg, 0.55 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Wasserstoff gespült und anschließend unter H₂-Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 14 h wurde die Reaktionsmischung über CeliteTM filtriert und mit CH₃OH gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Peptidkupplung:

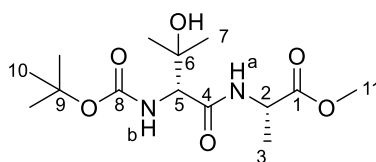
3-Methylbutansäure (**28**; 28.5 mg, 0.28 mmol, 1.00 Äq.) und das Cbz-entschützte Peptid (99.7 mg, 0.31 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (14.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (56.6 mg, 0.42 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (66.9 mg, 0.35 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (51.2 mg, 0.42 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) ergab das gewünschte Produkt **73** (80.9 mg, 0.20 mmol, 71% über 2 Stufen) als farbloses Öl.

Das Produkt **73** lag als ein Diastereomerenmisch vor.

$R_f = 0.17$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -2.5^\circ$ ($c = 1.00$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.50$ (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 7.23 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 6.21 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, NH-b), 6.15 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, NH-b), 5.20 (1H, m, H-5), 5.15 (1H, m, H-5), 4.82-4.66 (4H, m, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 4.56 (2H, m, H-2), 3.74 (3H, s, H-10), 3.73 (3H, s, H-10), 2.19-2.09 (6H, m, H-7, H-8), 1.43 (3H, d, $J = 4.1$ Hz, H-3), 1.42 (3H, d, $J = 4.1$ Hz, H-3), 1.37-1.30 (24H, m, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 0.99-0.96 (12H, m, H-9) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.61$ (q, C-1), 172.57 (q, C-1), 172.4 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-6), 172.2 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-6), 164.9 (q, d, $J = 4.0$ Hz, C-4), 164.6 (q, d, $J = 4.0$ Hz,

C-4), 73.4 (t, d, $J = 6.5$ Hz, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 73.4 (t, d, $J = 6.5$ Hz, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 72.7 (t, d, $J = 7.3$ Hz, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 72.3 (t, d, $J = 7.3$ Hz, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 52.7 (p, C-10), 52.5 (p, C-10), 51.3 (t, d, $J = 150.0$ Hz, C-5), 51.1 (t, d, $J = 150.0$ Hz, C-5), 48.9 (t, C-2), 48.8 (t, C-2), 45.9 (2C, s, C-7), 26.5 (t, C-8), 26.4 (t, C-8), 24.3 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 24.3 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 24.1 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 24.02 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.99 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.9 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.81 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 23.76 (p, PO(OCH(CH₃)₂)₂), 22.66 (p, C-9), 22.65 (p, C-9), 22.50 (p, C-9), 22.48 (p, C-9), 18.20 (p, C-3), 18.17 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₇H₃₃N₂O₈PNa [M + Na]⁺: 431.1923; gefunden 431.1923.

Synthese von Methyl-**[(R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-hydroxy-3-methylbutanoyl]-L-alaninat (74)**

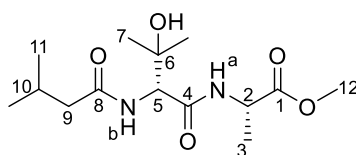


Boc-D-Hydroxyvalin (**42**; 1.00 g, 4.60 mmol, 1.10 Äq.) wurde in THF (100 mL) bei -15 °C gelöst. Anschließend wurden IBCF (571 mg, 4.18 mmol, 1.00 Äq.), gefolgt von NMM (466 mg, 4.60 mmol, 1.10 Äq.) langsam hinzuge tropft. Nach 5 minütigem Rühren bei -15 °C wurde zu diesem Reaktionsgemisch eine Lösung aus L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 642 mg, 4.60 mmol, 1.10 Äq.) und NMM (466 mg, 4.60 mmol, 1.10 Äq.) in DMF (40.0 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 22 h bei -15 °C → RT gerührt. Danach wurde der ausgefallene Feststoff abfiltriert und mit EtOAc gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit EtOAc und H₂O versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit 10%iger Zitronensäure, einer NaHCO₃- und einer NaCl-Lösung gewaschen. Danach wurden die vereinigten, organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Dipeptid **74** (956 mg, 3.16 mmol, 76%) wurde als farbloser Feststoff erhalten und direkt ohne weitere Reinigung verwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.02$ (1H, d, $J = 5.1$ Hz, NH-a), 5.48 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, NH-b), 4.53 (1H, dq, $J = 5.1, 7.2$ Hz, H-2), 3.97 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 3.73

(3H, s, H-11), 1.44 (9H, s, H-10), 1.42 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 1.30 (3H, s, H-7), 1.19 (3H, s, H-7) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.9$ (q, C-1), 171.8 (q, C-4), 156.3 (q, C-8), 80.4 (q, C-9), 71.9 (q, C-6), 60.2 (t, C-5), 52.6 (p, C-11), 48.2 (t, C-2), 28.4 (3C, p, C-10), 27.5 (p, C-7), 25.6 (p, C-7), 18.0 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 341.1689; gefunden 341.1685.

Synthese von Methyl- $\{(R)\text{-}3\text{-hydroxy-}3\text{-methyl-}2\text{-[}3\text{-methylbutanamido]butanoyl}\}$ -L-alaninat (**75**)



Boc-Entschützung:

Dipeptid **74** (756 mg, 2.38 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (21.5 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde TMSI (570 mg, 2.85 mmol, 1.20 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 15 min bei RT gerührt und die Reaktion danach durch Zugabe von CH_3OH beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde direkt ohne weitere Reinigung verwendet.

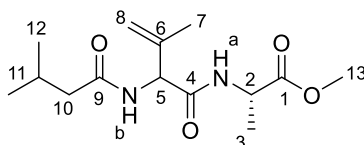
Peptidkupplung:

Das Amin wurde in CH_2Cl_2 (21.0 mL) bei 0 °C gelöst. Danach wurde 3-Methylbutansäureanhydrid (664 mg, 3.56 mmol, 1.50 Äq.), sowie DIPEA (1.23 g, 9.50 mmol, 4.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl -Lösung gewaschen und dann über MgSO_4 getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte *N*-acylierte Dipeptid **75** (710 mg, 2.35 mmol, 99% über 2 Stufen) als gelber Feststoff erhalten.

$R_f = 0.12$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2); $T_M = 90 - 93$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +49.2^\circ$ ($c = 1.43$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.20$ (1H, brm, NH-a), 6.48 (1H, brs, NH-b), 4.49 (1H, m, H-2), 4.32 (1H, m, H-5), 4.17 (1H, s, OH), 3.72 (3H, s, H-12), 2.17-2.08

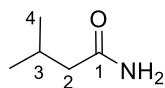
(3H, m, H-9, H-10), 1.42 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 1.33 (3H, s, H-7), 1.18 (3H, s, H-7), 0.95 (6H, m, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.5$ (q, C-8), 172.6 (q, C-1), 171.7 (q, C-4), 71.6 (q, C-6), 58.3 (t, C-5), 52.6 (p, C-12), 48.2 (t, C-2), 45.9 (s, C-9), 27.5 (p, C-7), 26.4 (p, C-7), 25.9 (t, C-10), 22.54 (p, C-11), 22.51 (p, C-11), 18.0 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 325.1739; gefunden 325.1737.

Synthese von Methyl-[3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-3-enoyl]-L-alaninat (76)



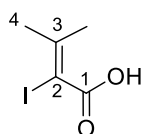
Dipeptid **75** (57.0 mg, 0.19 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (1.90 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde Bis[α,α -bis(trifluormethyl)benzenmethanolat]diphenylsulfur (MARTIN's Sulfuran; 190 mg, 0.28 mmol, 1.50 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei RT gerührt und die Reaktion danach durch Zugabe von H_2O beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1 $\rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) lieferte das Eliminierungsprodukt **76** (29.9 mg, 0.11 mmol, 56%) als farblosen Feststoff.

$T_M = 163 - 164$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -49.7^\circ$ ($c = 1.00$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.62$ (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 6.55 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, NH-b), 5.20 (1H, s, H-8), 5.06 (1H, s, H-8), 4.99 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-5), 4.55 (1H, dq, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.75 (3H, s, H-13), 2.15-2.07 (3H, m, H-10, H-11), 1.67 (3H, s, H-7), 1.40 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 0.95-0.93 (6H, m, H-12) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.0$ (q, C-1), 172.3 (q, C-9), 169.1 (q, C-4), 141.5 (q, C-6), 116.3 (s, C-8), 59.0 (t, C-5), 52.7 (p, C-13), 48.5 (t, C-2), 46.0 (s, C-10), 26.3 (t, C-11), 22.6 (p, C-12), 22.5 (p, C-12), 18.2 (p, C-3 o. C-7), 18.1 (p, C-3 o. C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 285.1814; gefunden 285.1818.

Synthese von 3-Methylbutanamid (77)

3-Methylbutansäure (**28**; 6.00 g, 58.7 mmol, 1.00 Äq.) und NMM (6.42 g, 63.4 mmol, 1.08 Äq.) wurden in DME (300 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurde IBCF (8.66 g, 63.4 mmol, 1.08 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 15 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde wässrige Ammoniak-Lösung (25%; 26.0 mL, 386 mmol, 6.57 Äq.) hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch Zugabe von HCl (1.0 M) beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4x). Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit HCl (0.1 M) gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt **77** (4.14 g, 40.8 mmol, 70%) als farbloser Feststoff erhalten.

T_M = 123 – 126 °C; **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 7.22 (1H, s, NH), 6.70 (1H, s, NH), 2.00-1.88 (3H, m, H-2, H-3), 0.96-0.89 (6H, m, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 173.8 (q, C-1), 44.5 (s, C-2), 25.3 (t, C-3), 22.3 (2C, p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₅H₁₂NONa [M + H]⁺: 102.0919; gefunden 102.0923.

Synthese von 2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (79)*1,4-Addition von Lithiumdimethylcuprat an Ethyl-2-butinoat (80):*

Zu einer Lösung aus Kupfer(I)iodid (2.46 g, 12.9 mmol, 1.50 Äq.) in THF (42.5 mL) wurde bei -10 °C Methylolithium (1.6 M in Et₂O; 16.2 mL, 25.9 mmol, 3.00 Äq.) hinzuge tropft. Nach 30 min wurde die Reaktionsmischung auf -78 °C gekühlt und Ethyl-2-butinoat (**80**; 967 mg, 8.62 mmol, 1.00 Äq.) in THF (5.00 mL) hinzuge tropft. Das Reaktionsgemisch wurde 2.5 h bei -78 °C gerührt und anschließend mit einer Lösung aus Iod (6.57 g, 25.9 mmol, 3.00 Äq.) in THF (5.00 mL) tropfenweise versetzt. Die Reaktionsmischung wurde erneut 30 min bei -78 °C

gerührt und anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von einer $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et_2O (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NH_4Cl -Lösung, sowie einer NaCl -Lösung gewaschen. Danach wurden die vereinigten, organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **86** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

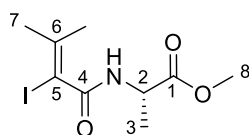
Verseifung:

Ethylester **86** wurde in Ethanol (2.00 mL) bei RT gelöst. Zu dieser Lösung wurde LiOH (826 mg, 34.5 mmol, 4.00 Äq.) in H_2O (15.0 mL) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf $60\text{ }^\circ\text{C}$ erhitzt und für 3.5 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf $\text{pH} \sim 1$ angesäuert und anschließend mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl -Lösung gewaschen und danach über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde die gewünschte Carbonsäure **79** (1.68 g, 7.41 mmol, 86% über 2 Stufen) als gelber Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁷⁵

$T_M = 74 - 78\text{ }^\circ\text{C}$ {Lit.⁹⁹: $79 - 80\text{ }^\circ\text{C}$ }; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26\text{ ppm}$): $\delta = 2.25$ (3H, s, H-4), 2.17 (3H, s, H-4) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16\text{ ppm}$): $\delta = 170.5$ (q, C-1), 157.1 (q, C-3), 84.5 (q, C-2), 33.5 (p, C-4), 23.5 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_5\text{H}_6\text{IO}_2[\text{M} - \text{H}]^-$: 224.9413; gefunden 224.9416.

Synthese von Methyl-(2-iod-3-methylbut-2-enonyl)-L-alaninat (**78**)

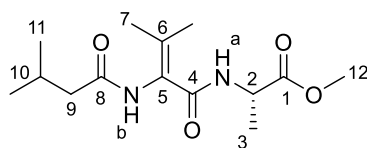


Carbonsäure **79** (600 mg, 2.65 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 482 mg, 3.45 mmol, 1.30 Äq.) wurden in DMF (14.4 mL) bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ gelöst. Es wurden HOAt (387 mg, 2.84 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (1.45 g, 2.79 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (1.57 g, 12.2 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ gerührt. Nach 23 h wurde die Reaktion durch Zugabe

von einer NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (7x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Na_2SO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1) lieferte das gewünschte Produkt **78** (710 mg, 2.28 mmol, 86%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.64$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98:2); $T_M = 74 - 76$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -10.8^\circ$ ($c = 1.18$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.26$ (1H, brm, NH), 4.61 (1H, dq, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.77 (3H, s, H-8), 2.06 (3H, s, H-7), 2.01 (3H, s, H-7), 1.45 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.4$ (q, C-1), 166.8 (q, C-4), 146.3 (q, C-6), 86.7 (q, C-5), 52.7 (p, C-8), 48.7 (t, C-2), 30.2 (p, C-7), 22.1 (p, C-7), 18.3 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{INO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 312.0097 gefunden 312.0096.

Synthese von Methyl-[3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-2-enoyl]-L-alaninat (**27**)

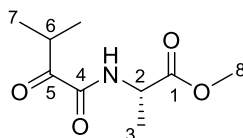


3-Methylbutanamid (**77**; 20.3 mg, 0.20 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **78** (125 mg, 0.40 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.25 mL) bei RT gelöst. Es wurden K_2CO_3 (125 mg, 0.40 mmol, 2.00 Äq.), CuI (23.0 mg, 0.12 mmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (116 mg, 0.81 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde nach 22 h unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit einer NH_4Cl -Lösung versetzt. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1 $\rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) lieferte das gewünschte α,β -Dehydropeptid **27** (20.0 mg, 70.3 μmol , 35%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.37$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2); $T_M = 126 - 129$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -2.1^\circ$ ($c = 0.81$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.15$ (1H, s, NH-b), 6.97 (1H, d, $J =$

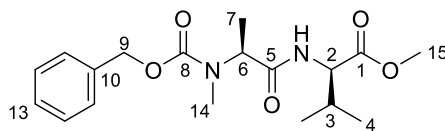
7.2 Hz, NH-a), 4.58 (1H, dq, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.73 (3H, s, H-12), 2.15 (3H, m, H-9, H-10), 1.98 (3H, s, H-7), 1.73 (3H, s, H-7), 1.42 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 0.99-0.97 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.3$ (q, C-1), 172.8 (q, C-8), 166.7 (q, C-4), 137.9 (q, C-5), 124.9 (q, C-6), 52.5 (p, C-12), 48.3 (t, C-2), 45.6 (s, C-9), 26.4 (t, C-10), 22.61 (p, C-11), 22.56 (p, C-11), 20.6 (p, C-7), 20.4 (p, C-7), 18.2 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 307.1634; gefunden 307.1633.

Analytische Daten für das Zeretzungsprodukt **87**:



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.44$ (1H, m, NH), 4.55 (1H, dq, $J = 7.5$ Hz, H-2), 3.76 (3H, s, H-8), 3.56 (1H, sept, $J = 6.8$ Hz, H-6), 1.45 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-3), 1.12 (6H, dd, $J = 1.4, 6.8$ Hz, H-7) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 201.7$ (q, C-5), 172.5 (q, C-1), 159.4 (q, C-4), 52.7 (p, C-8), 48.1 (t, C-2), 34.2 (t, C-6), 18.2 (p, C-3 o. C-7), 17.82 (p, C-3 o. C-7), 17.80 (p, C-3 o. C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 224.0899; gefunden 224.0902.

Synthese von Methyl-*N*-[(benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-alanyl-D-valinat (**89**)

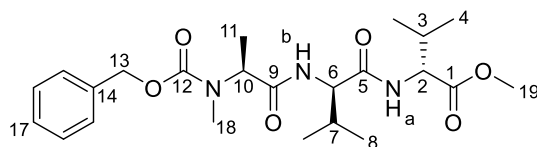


Cbz-*N*-Me-L-Alanin (**88**; 200 mg, 0.84 mmol, 1.00 Äq.) und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 155 mg, 0.93 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH_2Cl_2 (95.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (171 mg, 1.27 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (202 mg, 1.05 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (163 mg, 1.26 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 14 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und durch säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1) das Dipeptid **89** (293 mg, 0.84 mmol, 99%) als farbloses Öl erhalten.

$R_f = 0.39$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1); $[\alpha]_D^{20} = -64.2^\circ$ ($c = 1.16$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.40\text{--}7.29$ (5H, m, ArH), 6.57 (1H, brs, NH), 5.20 (2H, s, H-9), 4.89 (1H, m, H-6), 4.47 (1H, dd, $J = 4.8, 8.9$ Hz, H-2), 3.69 (3H, s, H-15), 2.87 (3H, s, H-14), 2.15 (1H, m, H-3), 1.37 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-7), 0.92 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4), 0.84 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.4$ (2C, q, C-1, C-5), 171.5 (q, C-8), 128.7 (2C, t, C-12), 128.3 (t, C-13), 128.0 (2C, t, C-11), 67.9 (s, C-9), 57.3 (t, C-2), 54.3 (t, C-6), 52.2 (p, C-15), 31.0 (t, C-3), 30.9 (p, C-14), 19.2 (p, C-4), 17.8 (2C, p, C-4, C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 373.1739; gefunden 373.1741.

Das quartäre Kohlenstoffatom C-10 ist im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl-*N*-[(benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-alanyl-D-valyl-D-valinat (**90**)



Verseifung:

Dipeptid **89** (293 mg, 0.84 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in 1,4-Dioxan (1.60 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 3.20 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 6.5 h gerührt. Danach wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

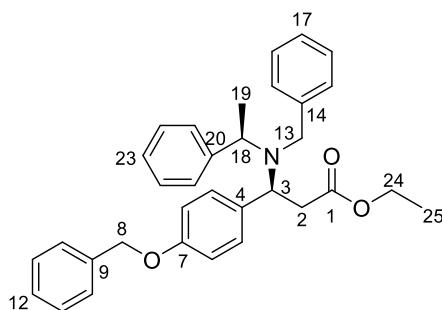
Peptidkupplung:

Das erhaltene Rohprodukt und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 154 mg, 0.92 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH_2Cl_2 (94.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (169 mg, 1.25 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (200 mg, 1.04 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (162 mg, 1.25 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegossen. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach

16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) lieferte das Tripeptid **90** (298 mg, 0.66 mmol, 79% über 2 Stufen) als farbloses Öl.

$R_f = 0.16$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -28.1^\circ$ ($c = 1.53$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.39$ (5H, m, ArH), 6.62 (1H, brs, NH-a), 6.37 (1H, brs, NH-b), 5.16 (2H, d, $J = 12.3$ Hz, H-13), 4.82 (1H, brm, H-10), 4.51 (1H, m, H-6), 4.23 (1H, m, H-2), 3.72 (3H, s, H-19), 2.86 (3H, s, H-18), 2.15 (2H, m, H-3, H-7), 1.38 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-11), 0.97-0.84 (12H, m, H-4, H-8) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.2$ (q, C-1), 171.6 (q, C-5), 171.1 (q, C-9), 170.9 (q, C-12), 136.5 (q, C-14), 128.7 (2C, t, C-16), 128.1 (t, C-17), 127.8 (2C, t, C-15), 67.9 (s, C-13), 65.5 (t, C-10), 58.8 (t, C-2), 57.3 (t, C-6), 52.3 (p, C-19), 31.2 (p, C-18), 30.0 (t, C-3 o. C-7), 29.8 (t, C-3 o. C-7), 19.4 (2C, p, C-4, C-8), 17.9 (3C, p, C-4, C-8, C-11) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₃H₃₆N₃O₆ [M + H]⁺:450.2604; gefunden 450.2599.

Synthese von (S)-Ethyl-3-{benzyl[(R)-1-phenylethyl]amino}-3-[4-(benzyloxy)phenyl]propanoat (E1)

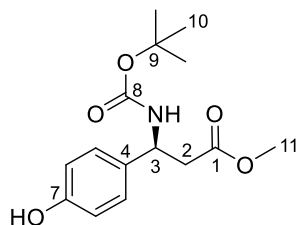


(R)-N-Benzyl-N-(α -methylbenzyl)amid (**36**; 4.79 g, 22.7 mmol, 1.60 Äq.) wurde in THF (26.0 mL) bei -78 °C gelöst. Zu dieser Lösung wurde langsam *n*BuLi (2.5 M in Hexan; 9.00 mL, 22.7 mmol, 1.60 Äq.) zugetropft und das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei -78 °C gerührt. In einem weiteren Reaktionskolben wurde Ethyl-(E)-3-(4-benzyloxy)phenylacrylat (4.00 g, 14.2 mmol, 1.00 Äq.) in THF (26.0 mL) bei -78 °C gelöst. Nach 30 min wurde diese Lösung zu dem Lithium-Amid-Gemisch *via* Transferkanüle gegeben und die Reaktionslösung für weitere 12.5 h bei -78 °C gerührt. Durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung bei -78 °C und anschließendem Erwärmen auf RT wurde die Reaktion beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden

über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit wässriger Zitronensäure (10%; 3x), gefolgt von der Zugabe einer NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 10:1) lieferte das gewünschte Amid **E1** (6.75 g, 13.7 mmol, 97%; *d.r.* >10:1) als farbloses, hochviskoses Öl.

R_f = 0.34 (PE/EtOAc 5:1); $[\alpha]_D^{20}$ = -5.3° (*c* = 1.39, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.57-7.53 (3H, m, ArH), 7.50-7.28 (14H, m, ArH), 7.08 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 5.15 (2H, s, H-8), 4.55 (1H, dd, *J* = 5.4, 9.5 Hz, H-3), 4.15 (1H, q, *J* = 6.6 Hz, H-18), 4.05 (2H, m, H-24), 3.82 (2H, dq, *J* = 14.8, 24.0 Hz, H-13), 2.79 (1H, dd, *J* = 5.4, 14.7 Hz, H-2), 2.66 (1H, dd, *J* = 9.5, 14.7 Hz, H-2'), 1.36 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-19), 1.16 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, H-25) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.8 (q, C-1), 158.0 (q, C-7), 144.2 (q, C-20), 141.6 (q, C-14), 137.1 (q, C-9), 134.1 (q, C-4), 129.2 (2C, t, C-5), 128.6 (2C, t, ArC), 128.2 (2C, t, ArC), 128.14 (2C, t, ArC), 128.08 (2C, t, ArC), 127.94 (2C, t, ArC), 127.86 (t, ArC), 127.5 (2C, t, ArC), 126.8 (t, ArC), 126.6 (t, ArC), 114.5 (2C, t, C-6), 70.0 (s, C-8), 60.2 (s, C-24), 58.9 (t, C-3), 56.8 (t, C-18), 50.7 (s, C-13), 37.8 (s, C-2), 16.1 (p, C-19), 14.0 (p, C-25) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₃₃H₃₆NO₃ [M + H]⁺: 494.2695; gefunden 494.2696.

Synthese von Methyl-(*S*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-(4-hydroxyphenyl)propanoat (**96**)



Hydrierung:

Ethylester **E1** (1.10 g, 2.23 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₃OH (50.0 mL) bei RT gelöst. Es wurde Pd/C (10%; 217 mg) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Wasserstoff gespült und anschließend unter H₂-Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 3 d wurde die Reaktionsmischung über CeliteTM filtriert und mit CH₃OH gewaschen. Das Lösungsmittel

wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

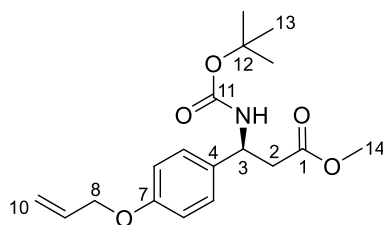
Boc-Schützung:

Das Amin **35** wurde in THF (7.70 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde (Boc)₂O (511 mg, 2.34 mmol, 1.05 Äq.) in THF (2.90 mL) über einen Zeitraum von 10 min zu der Amin-Lösung hinzuge tropft. Nach 15 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 97:3) lieferte das gewünschte Produkt **96** (512 mg, 1.73 mmol, 78% über 2 Stufen) als farblosen Feststoff.

Das Produkt **96** lag als ein Gemisch aus dem gewünschten Ethyl- und dem korrespondierenden Methylester (als Hauptprodukt) vor.

R_f = 0.34 (CH₂Cl₂/CH₃OH 96:4); **T_M** = 118 – 120 °C; **[α]_D²⁰** = -36.0° (*c* = 1.23, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.07 (2H, m, H-5), 6.67 (2H, m, H-6), 6.32 (1H, brs, OH), 5.49 (1H, brs, NH), 5.00 (1H, brm, H-3), 4.06 (0.3H, q, *J* = 7.2 Hz, OCH₂CH₃), 3.61 (3H, s, H-11), 2.89 (2H, m, H-2), 1.42 (9H, s, H-12), 1.16 (0.4H, t, *J* = 7.2 Hz, OCH₂CH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.9 (q, C-1), 155.6 (q, C-7), 155.5 (q, C-8), 129.5 (q, C-4), 127.4 (2C, t, C-5), 115.7 (2C, t, C-6), 80.2 (q, C-9), 61.0 (t, C-3), 52.0 (p, C-11), 51.0 (s, OCH₂CH₃) 41.0 (s, C-2), 28.5 (3C, s, C-10), 14.2 (p, OCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₅H₂₁NO₅Na [M + Na]⁺: 318.1317; gefunden 318.1317.

Synthese von Methyl-(S)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]propanoat (97)



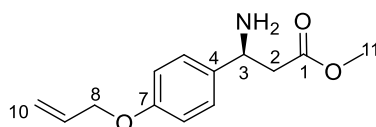
Ester **96** (487 mg, 1.65 mmol, 1.00 Äq.) wurde in Aceton (15.0 mL) bei RT gelöst. Es wurden Kaliumcarbonat (456 mg, 3.30 mmol, 2.00 Äq.), frisch destilliertes Allylbromid (240 mg, 1.98 mmol, 1.20 Äq.) und TBAI (60.9 mg, 0.16 mmol, 0.10 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 50 °C erhitzt und für 24 h gerührt. Durch Zugabe von einer

KHSO₄-Lösung (1.0 M) wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaHCO₃-Lösung, gefolgt von einer NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 97:3) ergab das gewünschte Produkt **97** (508 mg, 1.52 mmol, 92%) als farbloses Öl.

Das Produkt **97** lag als ein Gemisch aus Ethyl- und Methylester (als Hauptprodukt) vor.

R_f = 0.83 (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1); $[\alpha]_D^{20}$ = -30.6° (c = 0.97, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.20 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 6.86 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-6), 6.03 (1H, m, H-9), 5.40 (1H, m, H-10), 5.37 (1H, brs, NH), 5.27 (1H, m, H-10'), 5.04 (1H, brs, H-3), 4.50 (2H, dt, J = 1.7, 5.5 Hz, H-8), 4.06 (0.3H, q, J = 7.2 Hz, OCH₂CH₃), 3.60 (3H, s, H-14), 2.81 (2H, m, H-2), 1.41 (9H, s, H-13), 1.16 (0.5H, t, J = 7.2 Hz, OCH₂CH₃) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.6 (q, C-1), 171.1 (q, CO₂CH₂CH₃), 158.1 (q, C-7), 155.1 (q, C-11), 133.3 (2C, q, t, C-4, C-9), 127.4 (2C, t, C-5), 117.8 (s, C-10), 114.9 (2C, t, C-6), 79.8 (q, C-12), 68.9 (s, C-8), 60.7 (s, OCH₂CH₃), 51.9 (p, C-14), 50.9 (t, C-3), 41.0 (s, C-2), 28.5 (3C, p, C-13), 14.2 (p, OCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₂₅NO₅Na [M + Na]⁺: 358.1630; gefunden 358.1628.

Synthese von Methyl-(S)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-3-aminopropanoat (**100**)



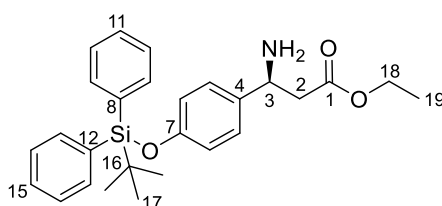
Methyl-(S)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propanoat (**97**; 252 mg, 0.72 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (8.00 mL) bei 0 °C gelöst. Danach wurde TFA (4.11 g, 36.1 mmol, 50.0 Äq.) hinzugegeben. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert, sowie das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **100** (180 mg, 0.72 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **100** lag als ein Gemisch aus Ethyl- und Methylester (als Hauptprodukt) vor.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 7.28 (2H, m, H-5), 6.91 (2H, m, H-6), 6.05 (1H, m, H-9), 5.38 (1H, m, H-10), 5.23 (1H, m, H-10'), 4.53 (2H, dt, *J* = 1.5, 5.1 Hz, H-8), 4.32 (1H, dd, *J* = 6.2, 8.1 Hz, H-3), 4.09 (0.3H, q, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 3.64 (3H, s, H-11), 2.78 (1H, dd, *J* = 8.1, 15.7 Hz, H-2), 2.71 (1H, dd, *J* = 6.2, 15.7 Hz, H-2'), 1.18 (0.5H, t, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₃H₁₈NO₃ [M + H]⁺: 236.1287; gefunden 236.1286.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

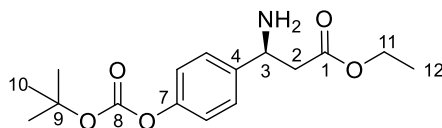
Synthese von Ethyl-(*S*)-3-amino-3-{4-[(*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy]phenyl}propanoat (**94**)



β -Tyrosin Ethylester **35** (20.0 mg, 95.5 μ mol, 1.00 Äq.) wurde in THF (0.22 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurden Imidazol (7.81 mg, 0.11 mmol, 1.10 Äq.), TBDPSiCl (28.9 mg, 0.11 mmol, 1.10 Äq.) und DMAP (1.17 mg, 9.55 μ mol, 0.10 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ \rightarrow CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) ergab das gewünschte Tyrosinderivat **94** (33.9 mg, 75.7 μ mol, 79%) als gelbes Öl.

R_f = 0.87 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.74-7.68 (4H, m, H-10, H-14), 7.44-7.34 (6H, m, H-9, H-11, H-13, H-15), 7.06 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 6.72 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-6), 4.30 (1H, brm, H-3), 4.11 (2H, q, *J* = 7.0 Hz, H-18), 2.59 (2H, brm, H-2), 2.13 (2H, brm, NH₂), 1.20 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, H-19), 1.10 (9H, s, H-17) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.2 (q, C-1), 155.0 (q, C-7), 135.6 (5C, q, t, C-4, C-10, C-14), 133.1 (2C, q, C-8, C-12), 130.0 (2C, t, C-11, C-15), 127.9 (4C, t, C-5, C-9, C-13), 127.2 (2C, t, C-9, C-13), 119.8 (2C, t, C-6), 60.6 (s, C-18), 51.5 (t, C-3), 43.3 (s, C-2), 26.7 (2C, p, C-17), 19.6 (q, C-16), 14.3 (p, C-19) ppm.

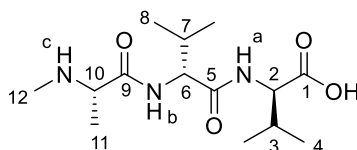
Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

Synthese von Ethyl-(S)-3-amino-3-[4-[(*tert*-butoxycarbonyl)oxy]phenyl]propanoat (98)

β -Tyrosin Ethylester **35** (50.0 mg, 0.24 mmol, 1.00 Äq.) wurde in einem Gemisch aus 1,4-Dioxan/H₂O (1:1; 0.90 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde (Boc)₂O (53.4 mg, 0.26 mmol, 1.10 Äq.) langsam hinzugegeben, sowie Et₃N bis ein pH-Wert von ~8.5 erreicht wurde. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei RT gerührt und danach mit EtOAc versetzt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NH₄Cl-Lösung, gefolgt von einer NaHCO₃- und einer NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂) lieferte das Produkt **98** (68.3 mg, 0.22 mmol, 92%) als gelbes Öl.

Die Verbindung **98** lag als ein Gemisch aus dem gewünschten Ethyl- (als Hauptprodukt) und dem korrespondierenden Methylester vor.

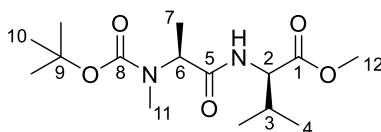
R_f = 0.93 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.30 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.13 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-6), 5.48 (2H, brs, NH₂), 5.10 (1H, m, H-3), 4.07 (2H, q, J = 7.1 Hz, H-11), 3.60 (0.5H, s, OCH₃), 2.80 (2H, m, H-2), 1.55 (9H, s, H-10), 1.17 (3H, t, J = 7.1 Hz, H-12) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.1 (q, C-1), 155.1 (q, C-7 o. C-8), 152.0 (q, C-7 o. C-8), 150.4 (q, C-4), 127.4 (2C, t, C-5), 121.5 (2C, t, C-6), 83.8 (q, C-9), 60.9 (s, C-11), 52.0 (t, C-3), 50.9 (p, OCH₃), 41.1 (s, C-2), 27.8 (3C, p, C-10), 14.2 (p, C-12) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₆H₂₄NO₅ [M + H]⁺: 310.1654; gefunden 310.1656.

Synthese von Methyl-L-alanyl-D-valyl-D-valin (99)

Tripeptid **90** (225 mg, 0.50 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (1.00 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 4.00 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 20 h gerührt. Es wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und anschließend mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die Säure **99** (187 mg, 0.43 mmol, 86%) wurde als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆, Aceton-d₅ = 2.05 ppm): δ = 10.75 (2H, brm, OH, NH-c), 7.43 (1H, m, NH-b), 5.75 (1H, t, *J* = 9.2 Hz, NH-a), 4.95 (1H, m, H-10), 4.40 (1H, m, H-6), 4.25 (1H, m, H-2), 2.92 (3H, s, H-12), 2.09-2.04 (2H, m, H-3, H-7), 1.37 (3H, dd, *J* = 2.7, 7.3 Hz, H-11), 0.97-0.91 (12H, m, H-4, H-6) ppm.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

Synthese von Methyl-N-(tert-butoxycarbonyl)-N-methyl-L-alanyl-D-valinat (109)

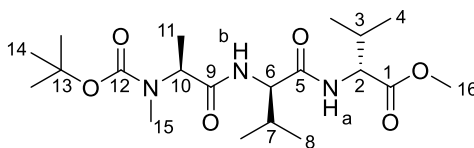
Boc-N-Me-L-Alanin (**108**; 200 mg, 0.92 mmol, 1.00 Äq.) und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 170 mg, 1.01 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (102 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (187 mg, 1.38 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (221 mg, 1.15 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (178 mg, 1.38 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) lieferte das Dipeptid **109** (291 mg, 0.92 mmol, quant.) als farbloses Öl.

R_f = 0.57 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20}$ = -88.3° (c = 1.06, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.71 (1H, brm, NH), 4.82 (1H, brm, H-6), 4.48 (1H, brm, H-2), 3.71 (3H, s, H-12), 2.78 (3H, s, H-11), 2.18 (1H, m, H-3), 1.49 (9H, s, H-10), 1.34 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-7), 0.94 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-4), 0.88 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.4 (q, C-1), 172.0 (q, C-5), 80.8 (q, C-9), 57.2 (2C, t, C-2, C-6), 52.2 (p, C-12), 31.0 (p, C-11), 29.9 (t, C-3), 28.5 (3C, p, C-10), 19.2 (2C, p, C-4), 17.7 (p, C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₅H₂₈N₂O₅Na [M + Na]⁺: 339.1896; gefunden 339.1894.

Das quartäre Kohlenstoffatom C-8 ist im ¹³C-NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-alanyl-D-valyl-D-valinat (**110**)



Verseifung:

Dipeptid **109** (280 mg, 0.89 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (1.40 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 1.40 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 20 h gerührt. Danach wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

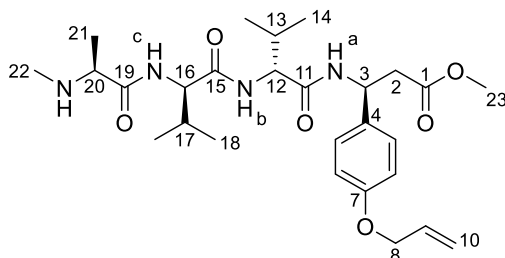
Das erhaltene Rohprodukt und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 163 mg, 0.97 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (98.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (179 mg, 1.33 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (212 mg, 1.11 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (172 mg, 1.33 mmol,

1.50 Äq.) langsam hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und durch säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) das Tripeptid **110** (366 mg, 0.88 mmol, 99% über 2 Stufen) als farbloses Öl erhalten.

$R_f = 0.38$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -31.1^\circ$ ($c = 1.01$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 6.71$ (1H, brm, NH-b), 6.33 (1H, brm, NH-a), 4.76 (1H, brm, H-10), 4.51 (1H, dd, $J = 4.8, 8.9$ Hz, H-6), 4.22 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-2), 3.73 (3H, s, H-16), 2.78 (3H, s, H-15), 2.06 (2H, m, H-3, H-7), 1.48 (9H, s, H-14), 1.36 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-11), 0.97-0.88 (12H, m, H-4, H-8) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.23$ (q, C-1), 172.21 (q, C-5), 171.0 (q, C-9), 80.9 (q, C-13), 58.8 (t, C-10), 57.2 (2C, t, C-2, C-6), 52.3 (p, C-16), 31.3 (p, C-15), 30.1 (2C, t, C-3, C-7), 28.5 (3C, p, C-14), 19.4 (2C, p, C-4 o. C-8), 19.1 (p, C-4 o. C-8), 18.0 (p, C-4 o. C-8), 17.9 (p, C-11) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₀H₃₇N₃O₆Na [M + Na]⁺: 438.2580; gefunden 438.2579.

Das quartäre Kohlenstoffatom C-12 ist im ¹³C-NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl-(3*S*,6*R*,9*R*,12*S*)-12-[4-(allyloxy)phenyl]-6,9-diisopropyl-3-methyl-4,7,10-trioxo-2,5,8,11-tetraazatetradecan-14-oat (**114**)



Verseifung:

Tripeptid **110** (176 mg, 0.42 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.42 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.42 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 20 h gerührt. Danach wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **111** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

Das erhaltene Rohprodukt **111** und das β -Tyrosinderivat **100** (137 mg, 0.55 mmol, 1.30 Äq.) wurden in DMF (2.60 mL) bei RT gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (60.5 mg, 0.45 mmol, 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde PyAOP (236 mg, 0.44 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (251 mg, 1.94 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 26 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min). Das Tetrapeptid **112** (196 mg, 0.31 mmol, 74% über 2 Stufen) wurde als teilweise trennbares Gemisch aus dem Ethyl- und dem Methylester erhalten.

$R_f = 0.58$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2).

Analytische Daten für Methyl-(6*S*,9*R*,12*R*,15*S*)-15-[4-(allyloxy)phenyl]-9,12-diisopropyl-2,2,5,6-tetramethyl-4,7,10,13-tetraoxo-3-oxa-5,8,11,14-tetraazaheptadecan-17-olat (112**):**

$t_R = 66.5$ min; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.23$ (2H, m, H-5), 7.18 (1H, m, NH-Tyr), 6.82 (2H, m, H-6), 6.77 (1H, m, NH-Val), 6.71 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH-Val), 6.02 (1H, m, H-9), 5.41-5.36 (2H, m, H-3, H-10), 5.27 (1H, m, H-10'), 4.48 (3H, m, H-8, H-20), 4.29 (1H, m, H-12 o. H-16), 4.13 (1H, m, H-12 o. H-16), 3.62 (3H, s, H-23), 2.92 (1H, m, H-2), 2.81 (1H, m, H-2'), 2.78 (3H; s, H-22), 2.26 (2H, m, H-13, H-17), 1.46 (9H, s, Boc), 1.34 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-21), 0.93-0.83 (12H, m, H-14, H-18) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₃₂H₅₀N₄O₈Na [M + Na]⁺: 641.3526; gefunden 641.3527.

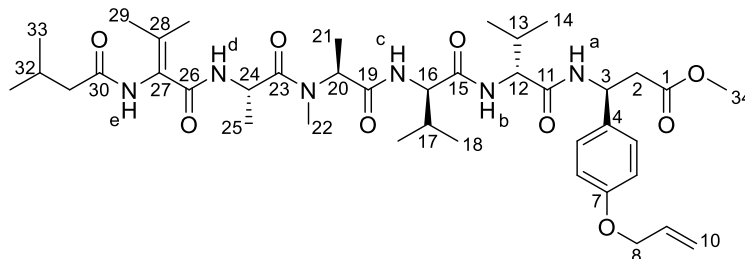
Analytische Daten für den korrespondierenden Ethylester:

$t_R = 69.5$ min; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.20$ (2H, m, H-5), 7.18 (1H, m, NH-Tyr), 6.78 (2H, m, H-6), 6.77 (1H, m, NH-Val), 6.71 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH-Val), 6.01 (1H, m, H-9), 5.41-5.34 (2H, m, H-3, H-10), 5.25 (1H, m, H-10'), 4.47 (3H, m, H-8, H-20), 4.33 (2H, m, H-12, H-16), 4.05 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, OCH₂CH₃), 2.89 (1H, m, H-2), 2.79 (1H, m, H-2'), 2.77 (3H; s, H-22), 2.15 (2H, m, H-13, H-17), 1.45 (9H, s, Boc), 1.33 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 1.16 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, OCH₂CH₃), 0.98-0.81 (12H, m, H-14, H-18) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₃₃H₅₂N₄O₈Na [M + Na]⁺: 655.3683; gefunden 655.3682.

Boc-Entschützung:

Tetrapeptid **112** (36.3 mg, 58.7 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in CH_2Cl_2 (0.68 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde tropfenweise mit TMSI (14.1 mg, 70.4 μmol , 1.20 Äq.) versetzt. Nach 10 min wurde die Reaktion durch Zugabe von CH_3OH beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH_3OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 10:90 {5 min} \rightarrow $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ = 100:0 {85 min} \rightarrow $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 47.8 min). Das Tetrapeptid **114** (30.4 mg, 58.7 μmol , quant.) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = +1.6^\circ$ ($c = 1.65$, CH_3OH); $T_M = 192 - 194^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 8.47$ (1H, brs, NH), 7.23 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.86 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 6.04 (1H, m, H-9), 5.37 (1H, m, H-10), 5.31 (1H, m, H-3), 5.23 (1H, m, H-10'), 4.52 (2H, dt, $J = 5.1, 7.6$ Hz, H-8), 4.19 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-12 o. H-16), 4.14 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12 o. H-16), 3.83 (1H, q, $J = 6.9$ Hz, H-20), 3.63 (3H, s, H-23), 2.83-2.80 (2H, m, H-2), 2.57 (3H, s, H-22), 2.00 (2H, sept, $J = 6.8$ Hz, H-13, H-17), 1.48 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-21), 0.94 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, H-14 o. H-18), 0.87 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-14 o. H-18), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-14 o. H-18) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.00$ ppm): $\delta = 173.2$ (q, C-11 o. C-15 o. C-19), 172.6 (q, C-11 o. C-15 o. C-19), 172.5 (q, C-11 o. C-15 o. C-19), 170.8 (q, C-1), 159.4 (q, C-7), 134.9 (t, C-9), 134.7 (q, C-4), 128.7 (2C, t, C-5), 117.4 (s, C-10), 115.8 (2C, t, C-6), 69.8 (s, C-8), 60.5 (t, C-12 o. C-16), 60.4 (t, C-12 o. C-16), 58.5 (t, C-20), 52.3 (p, C-23), 50.9 (t, C-3), 41.6 (s, C-2), 32.1 (p, C-22), 32.0 (t, C-13 o. C-17), 31.9 (t, C-13 o. C-17), 19.70 (p, C-14 o. C-18), 19.67 (p, C-14 o. C-18), 19.0 (p, C-14 o. C-18), 18.7 (p, C-14 o. C-18), 17.0 (p, C-21) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 519.3183; gefunden 519.3182.

Synthese von Methyl-(3*S*,6*R*,9*R*,12*S*,15*S*)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-6,9-diisopropyl-12,13,15,22-tetramethyl-5,8,11,14,17,20-hexaoxo-18-(propan-2-yliden)-4,7,10,13,16,19-hexaazatricosanoat (115)*Verseifung:*

Dehydropeptid **27** (58.3 mg, 0.21 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (2.05 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 2.05 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und für 20 h gerührt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und danach mit EtOAc (5x), sowie EtOAc/CH₃OH (10:1; 6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen, anschließend über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **113** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

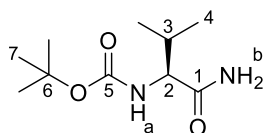
Peptidkupplung:

Säure **113** (9.48 mg, 35.1 µmol, 1.00 Äq.) und das *N*-methylierte Tetrapeptid **114** (20.0 mg, 38.6 µmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂/DMF (1:1; 0.60 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (7.16 mg, 52.6 µmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurden EDC·HCl (10.1 mg, 52.6 µmol, 1.50 Äq.) und NaHCO₃ (15.6 mg, 0.18 mmol, 5.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 74.5 min). Das Fragment A **115** (20.9 mg, 26.6 µmol, 77% über 2 Stufen) wurde als farbloser Schaum erhalten.

[α]_D²⁰ = -22.5° (*c* = 0.61, CH₃OH); ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.93 (1H, s, NH-e), 8.43 (1H, m, NH-a), 7.82 (1H, m, NH-b o. NH-c), 7.66 (1H, m, NH-d),

7.57 (1H, m, NH-b o. NH-c), 7.20 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.85 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.01 (1H, m, H-9), 5.36 (1H, m, H-10), 5.24 (1H, m, H-10'), 5.17 (1H, m, H-3), 5.00 (1H, m, H-20), 4.69 (1H, m, H-24), 4.53 (2H, m, H-8), 4.22-4.06 (2H, m, H-12, H-16), 3.53 (3H, s, H-34), 2.86 (3H, s, H-22), 2.74 (2H, m, H-2), 2.05 (2H, m, H-31), 1.98 (2H, m, H-13, H-17), 1.91 (4H, m, H-29, H-32), 1.65 (3H, s, H-29), 1.20-1.17 (6H, m, H-21, H-25), 0.89 (6H, m, H-33), 0.80-0.72 (12H, m, H-14, H-18) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.3$ (q, C-11 o. C-15 o. C-19), 172.1 (q, C-11 o. C-15 o. C-19), 172.0 (q, C-11 o. C-15 o. C-19), 170.9 (q, C-1 o. C-23), 170.7 (q, C-1 o. C-23), 169.9 (q, C-26 o. C-30), 164.5 (q, C-26 o. C-30), 157.2 (q, C-7), 134.3 (q, C-27), 134.0 (q, C-4), 133.8 (t, C-9), 127.5 (2C, t, C-5), 125.3 (q, C-28), 117.3 (s, C-10), 114.3 (2C, t, C-6), 68.1 (s, C-8), 58.0 (t, C-12 o. C-16), 57.5 (t, C-12 o. C-16), 51.7 (t, C-20), 51.4 (p, C-34), 48.6 (t, C-3), 45.1 (t, C-24), 44.3 (s, C-31), 40.5 (s, C-2), 30.39 (p, C-22), 30.36 (t, C-13 o. C-17), 30.1 (t, C-13 o. C-17), 25.6 (t, C-32), 22.4 (2C, p, C-33), 20.7 (p, C-29), 20.1 (p, C-29), 19.2 (p, C-14 o. C-18), 19.0 (p, C-14 o. C-18), 18.3 (p, C-14 o. C-18), 18.2 (p, C-14 o. C-18), 17.4 (p, C-21 o. C-25), 14.5 (p, C-21 o. C-25) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{40}\text{H}_{63}\text{N}_6\text{O}_9$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 771.4657; gefunden 771.4656.

Synthese von *tert*-Butyl-(*S*)-1-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbammat (**117**)



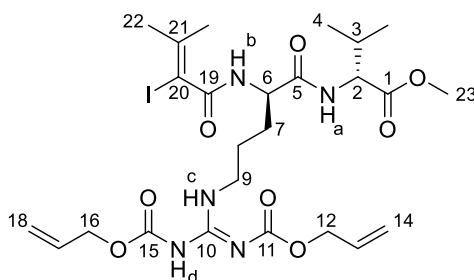
Boc-L-Valin (**49**; 4.00 g, 18.4 mmol, 1.00 Äq.) und NMM (2.01 g, 19.9 mmol, 1.08 Äq.) wurden in DME (94.0 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurde IBCF (2.72 g, 19.9 mmol, 1.08 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 15 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde wässrige Ammoniak-Lösung (25%; 8.20 mL, 121 mmol, 6.57 Äq.) hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von HCl (1.0 M) beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4 x). Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit HCl (0.1 M) gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **117** (3.91 g, 18.1 mmol, 98%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴²

¹⁴² E. A. Merritt, M. C. Bagley, *Synthesis* **2007**, 22, 3535-3541.

$R_f = 0.20$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2); $T_M = 155 - 157$ °C (Lit.¹⁴³: $T_M = 155 - 157$ °C); $[\alpha]_D^{20} = -2.4^\circ$ ($c = 1.16$, CH_3OH) {Lit.¹⁴³: $[\alpha]_D^{20} = -0.4^\circ$ ($c = 1.46$, CH_3OH)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.08$ (1H, brs, NH-b), 5.67 (1H, brs, NH-b), 5.08 (1H, brm, NH-a), 3.97 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-2), 2.14 (1H, m, H-3), 1.44 (9H, s, H-7), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 0.94 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 174.2$ (q, C-1), 156.1 (q, C-5), 80.2 (q, C-6), 59.6 (t, C-2), 30.8 (t, C-3), 28.5 (3C, p, C-7), 19.4 (2C, p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 239.1372; gefunden 239.1372.

Synthese von Methyl-(*E*)- $N^{\omega},N^{\omega'}$ -bis[(allyloxy)carbonyl]- N^2 -(2-iod-3-methylbut-2-enoyl)-D-arginyl-D-valinat (**118**)



Boc-Entschützung:

Das Boc-geschützte Dipeptid **41** (611 mg, 1.10 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (13.5 mL) bei 0 °C gelöst. Danach wurde TFA (5.31 g, 46.6 mmol, 50.0 Äq.) hinzugegeben. Nach 2.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert, sowie das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **119** (501 mg, 1.10 mmol, quant.) wurde als farbloser Schaum erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CD_3OD , $\text{CH}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 5.99$ (2H, m, H-13, H-17), 5.43-5.18 (4H, m, H-14, H-18), 4.70 (2H, dt, $J = 1.3, 5.8$ Hz, H-16), 4.59 (2H, dt, $J = 1.4, 5.6$ Hz, H-12), 4.36 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H-6), 3.79 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-2), 3.71 (3H, s, OCH_3), 3.43 (2H, m,

¹⁴³ J. E. Mangette, M. R. Johnson, V.-D. Le, R. A. Shenoy, H. Roark, M. Stier, T. Belliotti, T. Capiris, P. R. Guzzo, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 9536-9541.

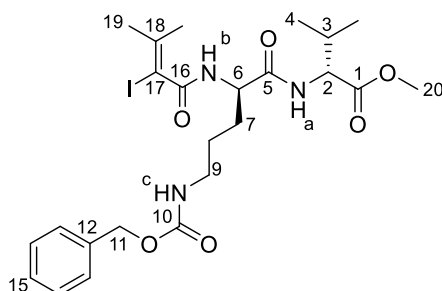
H-9), 2.19 (1H, m, H-3), 1.85-1.69 (4H, m, H-7, H-8), 0.97 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{20}H_{34}N_5O_7$ $[M + H]^+$: 456.2458; gefunden 456.2451.

Peptidkupplung:

Vinylidid **79** (219 mg, 0.97 mmol, 1.00 Äq.) und Dipeptid **119** (486 mg, 1.07 mmol, 1.10 Äq.) wurden in DMF (5.30 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (141 mg, 1.04 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (530 mg, 1.02 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (575 mg, 4.45 mmol, 4.59 Äq.) hinzugetropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 23 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (7x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer $NaCl$ -Lösung gewaschen, anschließend über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1 → PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Produkt **118** (576 mg, 0.87 mmol, 90%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.24$ (CH_2Cl_2/CH_3OH 98:2); $T_M = 127 - 132$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +11.7^\circ$ ($c = 2.47$, CH_2Cl_2); **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 11.71$ (1H, brs, NH-d), 8.38 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, NH-c), 6.62 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH-a), 6.56 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH-b), 6.01-5.85 (2H, m, H-13, H-17), 5.38-5.21 (4H, m, H-14, H-18), 4.64 (2H, m, H-16), 4.58 (2H, m, H-12), 4.55-4.48 (2H, m, H-2, H-6), 3.72 (3H, s, H-23), 3.49 (2H, m, H-9), 2.16 (1H, m, H-3), 2.01 (3H, s, H-22), 1.99 (3H, s, H-22), 1.95 (1H, m, H-7), 1.79-1.68 (3H, m, H-7', H-8), 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.0$ (q, C-1), 171.0 (q, C-5), 167.7 (q, C-19), 163.6 (q, C-10), 156.4 (q, C-11), 153.9 (q, C-15), 146.3 (q, C-21), 133.1 (t, C-13), 131.1 (t, C-17), 119.6 (s, C-18), 118.1 (s, C-14), 86.1 (q, C-20), 67.2 (s, C-16), 66.4 (s, C-12), 57.5 (t, C-2), 53.5 (t, C-6), 52.3 (p, C-23), 40.5 (s, C-9), 31.2 (t, C-3), 30.1 (p, C-22), 29.1 (s, C-7), 25.5 (s, C-8), 22.1 (p, C-22), 19.1 (p, C-4), 17.9 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{25}H_{39}IN_5O_8$ $[M + H]^+$: 664.1843; gefunden 664.1842.

Synthese von Methyl-[(*R*)-5{[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-(iod-3-methylbut-2-enamido)pentanoyl]-D-valinat (**123**)



Boc-Entschützung:

Dipeptid **121** (118 mg, 0.25 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (3.60 mL) bei 0 °C gelöst. Danach wurde TFA (1.41 g, 12.3 mmol, 50.0 Äq.) hinzugegeben. Nach 2.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **122** (93.6 mg, 0.25 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

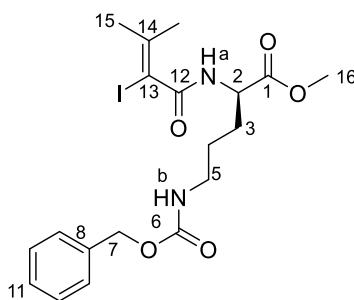
Peptidkupplung:

Vinyliodid **79** (50.7 mg, 0.22 mmol, 1.00 Äq.) und Amin **122** (93.6 mg, 0.25 mmol, 1.10 Äq.) wurden in DMF (1.20 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (32.7 mg, 0.24 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (123 mg, 0.24 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (133 mg, 1.03 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (7x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1 → PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Tripeptid **123** (119 mg, 0.20 mmol, 90%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.70$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 143 - 146$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +4.2^\circ$ ($c = 1.73$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.37-7.28$ (5H, m, ArH), 7.05 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, NH-a), 6.49 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH-b), 5.12 (2H, t, $J = 6.1$ Hz, H-11), 5.03 (1H, m,

NH-c), 4.80 (1H, m, H-6), 4.51 (1H, dd, $J = 4.9, 8.8$ Hz, H-2), 3.71 (3H, s, H-20), 3.57 (1H, m, H-9), 3.15 (1H, m, H-9^c), 2.19 (1H, m, H-3), 2.02 (3H, s, H-19), 1.99 (3H, s, H-19), 1.95 (1H, m, H-7^c), 1.69-1.53 (3H, m, H-7^c, H-8), 0.97-0.94 (6H, m, H-4) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.4$ (q, C-1), 171.8 (q, C-5), 167.5 (q, C-16), 157.5 (q, C-10), 145.8 (q, C-18), 136.6 (q, C-12), 128.7 (2C, t, C-14), 128.29 (t, C-15), 128.28 (2C, t, C-13), 86.8 (q, C-17), 67.0 (s, C-11), 57.5 (t, C-2), 52.3 (p, C-20), 51.9 (t, C-6), 39.5 (s, C-9), 30.9 (s, C-7), 30.4 (t, C-3), 30.1 (p, C-19), 26.6 (s, C-8), 22.1 (p, C-19), 19.2 (p, C-4), 17.9 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₄H₃₅IN₃O₆ [M + H]⁺: 588.1571; gefunden 588.1579.

Synthese von Methyl-(*R*)-5-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-2-(2-iod-3-methylbut-2-enamido)pentanoat (**125**)



Methylesterbildung und Boc-Entschützung:

Boc-D-Orn(Cbz)-OH (**39**; 400 mg, 1.09 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei 0 °C in CH₃OH (2.30 mL) gelöst. Es wurde frisch destilliertes Thionylchlorid (773 mg, 6.50 mmol, 5.95 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 18 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mehrfach mit Et₂O versetzt und das Lösungsmittel wiederholt unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **124** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

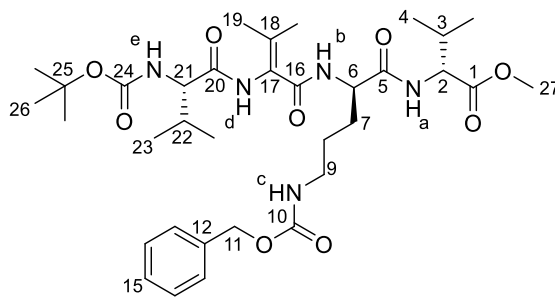
Peptidkupplung:

Vinyliodid **79** (138 mg, 0.61 mmol, 1.00 Äq.) und Amin **124** (222 mg, 0.79 mmol, 1.30 Äq.) wurden in DMF (3.30 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (88.7 mg, 0.65 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (333 mg, 0.64 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (361 mg, 2.79 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (7x) extrahiert. Die

vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1 → PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Dipeptid **125** (197 mg, 0.40 mmol, 66% über 2 Stufen) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.65$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 122 - 124$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +3.2^\circ$ ($c = 1.11$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.37-7.28$ (5H, m, ArH), 6.39 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, NH-a), 5.07 (2H, s, H-7), 4.98 (1H, brm, NH-b), 4.60 (1H, m, H-2), 3.74 (3H, s, H-16), 3.22 (2H, q, $J = 6.4$ Hz, H-5), 2.02 (3H, s, H-15), 1.99 (3H, s, H-15), 1.94 (1H, m, H-3), 1.76 (1H, m, H-3'), 1.55 (2H, m, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.4$ (q, C-1), 167.1 (q, C-12), 156.6 (q, C-6), 146.2 (q, C-14), 136.6 (q, C-8), 128.6 (3C, t, C-10, C-11), 128.2 (2C, t, C-9), 86.4 (q, C-13), 66.8 (s, C-7), 52.7 (p, C-16), 52.3 (t, C-2), 40.5 (s, C-5), 30.1 (p, C-15), 29.6 (s, C-3), 26.1 (s, C-4), 22.1 (p, C-15) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₉H₂₅N₂O₅Na [M + Na]⁺: 511.0706; gefunden 511.0704.

Synthese von Methyl-[(R)-5-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-2-{2-[(S)-2[(tert-butoxy-carbonyl)amino]-3-methylbutanamido]-3-methylbut-2-enamido}pentanoyl]-D-valinat (126)

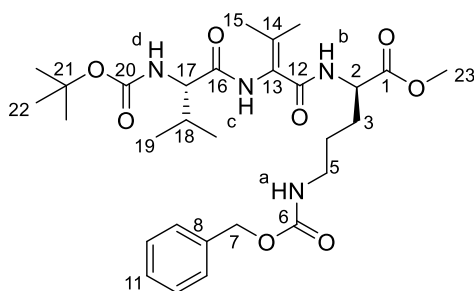


Boc-L-Val-NH₂ (**117**; 14.5 mg, 67.0 μ mol, 1.00 Äq.) und Vinyliodid **123** (78.8 mg, 0.13 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.13 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (18.5 mg, 0.13 mmol, 2.00 Äq.), CuI (7.66 mg, 40.2 μ mol, 0.60 Äq.) und *trans*-N,N-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (38.6 mg, 0.27 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 22 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit einer NH₄Cl-Lösung versetzt. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische

Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das gewünschte Dehydropeptid **126** (22.5 mg, 33.3 μmol, 50%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.21$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = +21.3^\circ$ ($c = 0.97$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.80$ (1H, s, NH-d), 7.37-7.28 (5H, m, ArH), 7.17 (2H, m, NH-a, NH-b), 5.32 (1H, t, $J = 4.1$ Hz, NH-c), 5.20 (1H, d, $J = 6.2$ Hz, NH-e), 5.07 (2H, s, H-11), 4.60 (1H, m, H-6), 4.45 (1H, dd, $J = 6.0, 8.0$ Hz, H-2), 3.90 (1H, m, H-21), 3.70 (3H, s, H-27), 3.27 (1H, m, H-9), 3.15 (1H, m, H-9'), 2.14 (2H, m, H-3, H-22), 2.06 (3H, s, H-19), 1.93 (1H, m, H-7), 1.76 (3H, s, H-19), 1.70-1.53 (3H, m, H-7', H-8), 1.42 (9H, s, H-26), 0.98 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 0.94-0.90 (6H, m, H-23) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.3$ (q, C-1), 172.0 (q, C-5 o. C-20), 171.6 (q, C-5 o. C-20), 166.4 (q, C-16), 157.1 (q, C-10), 156.6 (q, C-24), 140.7 (q, C-17), 136.7 (q, C-12), 128.6 (3C, t, C-14, C-15), 128.2 (2C, t, C-13), 123.5 (q, C-18), 80.7 (q, C-25), 66.8 (s, C-11), 60.8 (t, C-21), 57.5 (t, C-2), 52.5 (t, C-6), 52.2 (p, C-27), 40.2 (s, C-9), 31.0 (t, C-3 o. C-22), 30.3 (t, C-3 o. C-22), 28.6 (s, C-7), 28.4 (3C, p, C-26), 25.9 (s, C-8), 21.5 (p, C-19), 21.0 (p, C-19), 19.6 (p, C-4), 19.1 (p, C-4), 18.2 (p, C-23), 18.0 (p, C-23) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₃₄H₅₃N₅O₉Na [M + Na]⁺: 698.3741; gefunden 698.3740.

Synthese von Methyl-(6*S*,12*R*)-12-(3-[[*(benzyloxy)carbonyl*]amino]propyl)-6-isopropyl-2,2-dimethyl-4,7,10-trioxo-9-(propan-2-yliden)-3-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-olat (**127**)



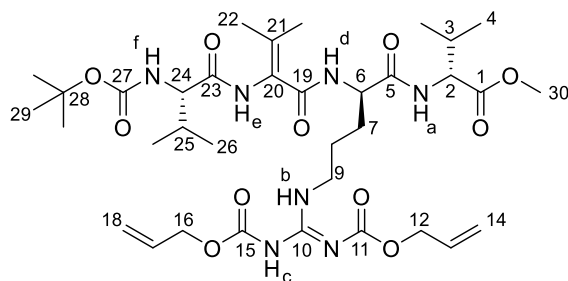
Boc-L-Val-NH₂ (**117**; 11.3 mg, 52.2 μmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **125** (50.8 mg, 0.10 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.11 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (14.4 mg, 0.10 mmol, 2.00 Äq.), CuI (5.94 mg, 31.1 μmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (30.0 mg, 0.21 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 22 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit einer NH₄Cl-Lösung versetzt. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit

einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das gewünschte Dehydropeptid **127** (15.1 mg, 26.2 μmol, 50%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.21$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.71 (1H, s, NH-c), 7.36-7.28 (5H, m, ArH), 7.04 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, NH-b), 5.45 (1H, t, *J* = 5.0 Hz, NH-a), 5.17 (1H, m, NH-d), 5.08 (2H, s, H-7), 4.61 (1H, m, H-2), 3.89 (1H, t, *J* = 4.4 Hz, H-17), 3.70 (3H, s, H-23), 3.19 (2H, m, H-5), 2.11 (1H, m, H-18), 2.06 (3H, s, H-15), 1.96 (1H, m, H-3), 1.85 (1H, m, H-3'), 1.75 (3H, s, H-15), 1.68-1.53 (2H, m, H-4), 1.44 (9H, s, H-22), 0.95-0.93 (6H, m, H-19) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₉H₄₄N₄O₈Na [M + Na]⁺: 599.3057; gefunden 599.3503.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

Synthese von Methyl-(*E*)-*N*^ω,*N*^{ω'}-bis[(allyloxy)carbonyl]-*N*²-{2-[(*S*)-2-[(*tert*-butoxy-carbonyl)amino]-3-methylbutanamido]-3-methylbut-2-enoyl}-*D*-arginyl-*D*-valinat (**120**)



Variante A:

Boc-L-Val-NH₂ (**117**; 32.6 mg, 0.15 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **118** (205 mg, 0.31 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.15 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (41.7 mg, 0.31 mmol, 2.00 Äq.), CuI (17.2 mg, 90.0 μmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (86.8 mg, 0.61 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde nach 22 h unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O = 20:80 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 50:50 {25 min} → CH₃OH/H₂O = 50:50 {15 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {40 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {20 min} 15.0 mL/min) (*t_R* = 69.5 min). Das Tetrapeptid **120** (13.6 mg, 18.1 μmol, 13%) wurde als farbloses Öl erhalten.

Variante B:

Bildung des Radikalanions:

DBBP (680 mg, 2.55 mmol, 10.0 Äq.) wurde in THF (5.00 mL) bei RT gelöst. Lithium (25.0 mg, 3.90 mmol, 15.0 Äq.) wurde zugegeben und das Gemisch gerührt. Nach etwa 15 min war eine Grünfärbung zu beobachten, das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und für weitere 6 h intensiv gerührt.

Cbz-Entschützung:

Das Tetrapeptid **126** (12.5 mg, 18.5 µmol, 1.00 Äq.) wurde in THF (0.20 mL) bei -78 °C gelöst. Anschließend wurde die Lösung des Radikalanions in THF solange zugetropft bis keine Entfärbung mehr auftritt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer NH₄Cl-Lösung beendet und danach auf RT erwärmt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x), gefolgt von EtOAc/CH₃OH (10:1; 4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit DMF und PE versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die PE-Phase wurde mit DMF (3x) gewaschen. Anschließend wurde das Lösungsmittel DMF unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung direkt verwendet.

Amidinierung:

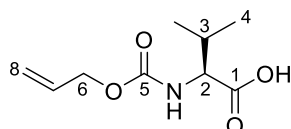
Das Amin und das Guanidinderivat **38** (6.65 mg, 18.5 µmol, 1.00 Äq.) wurden in CH₂Cl₂ (0.30 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde Et₃N (1.87 mg, 18.5 µmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 58.0 min). Das Tetrapeptid **120** (2.70 mg, 3.59 µmol, 19% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 11.71 (1H, brs, NH-c), 8.34 (1H, t, J = 5.1 Hz, NH-b), 7.34 (1H, s, NH-e), 7.05 (1H, m, NH-a o. NH-d), 6.97 (1H, d, J = 8.5 Hz, NH-a o. NH-d), 5.94 (2H, m, H-13, H-17), 5.38-5.20 (4H, m, H-14, H-18), 5.02 (1H, m, NH-f), 4.64-4.58 (4H, m, H-12, H-16), 4.45 (2H, m, H-2, H-6), 3.87 (1H, t, J = 5.6 Hz, H-24), 3.71 (3H, s, H-30), 3.47 (2H, m, H-9), 2.16 (2H, m, H-3, H-25), 2.09 (3H, s, H-22), 2.01 (1H, m, H-7), 1.78

(3H, s, H-22), 1.71 (3H, m, H-7', H-8), 1.43 (9H, s, H-29), 1.02 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-26), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-26), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-26) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{35}H_{57}N_7O_{11}Na$ $[M + Na]^+$: 774.4014; gefunden 774.4015.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

Synthese von [(Allyloxy)carbonyl]-L-valin (**129**)



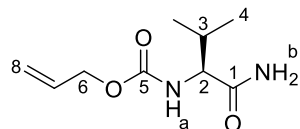
L-Valin (**128**; 2.00 g, 17.1 mmol, 1.00 Äq.) und K_2CO_3 (3.54 g, 25.6 mmol, 1.50 Äq.) wurden in THF/ H_2O (1:1; 80.0 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde Allylchlorformiat (2.47 g, 20.5 mmol, 1.20 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei 0 °C → RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit Et_2O (3x) extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit HCl (konz.) auf pH ~ 2 angesäuert und anschließend mit CH_2Cl_2 (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen, danach über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde die gewünschte Carbonsäure **129** (3.44 g, 17.1 mmol, quant.) als farbloses Öl erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁴⁴

$[\alpha]_D^{20} = -2.9^\circ$ ($c = 2.48$, DMSO) {Lit.¹⁴⁵: $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$ ($c = 1.00$, EtOH)}; **1H -NMR** (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 12.55$ (1H, brs, OH), 7.41 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH), 5.90 (1H, m, H-7), 5.30 (1H, dd, $J = 1.7, 17.4$ Hz, H-8), 5.17 (1H, dd, $J = 1.7, 10.6$ Hz, H-8), 4.48 (2H, dt, $J = 0.9, 5.1$ Hz, H-6), 3.85 (1H, dd, $J = 6.4, 8.5$ Hz, H-2), 2.04 (1H, m, H-3), 0.88 (6H, t, $J = 6.4$ Hz, H-4) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 173.3$ (q, C-1), 156.2 (q, C-5), 133.6 (t, C-7), 117.0 (s, C-8), 64.5 (s, C-6), 59.5 (t, C-2), 29.5 (t, C-3), 19.2 (p, C-4), 18.0 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_9H_{15}NO_4Na$ $[M + Na]^+$: 224.0899; gefunden 224.0900.

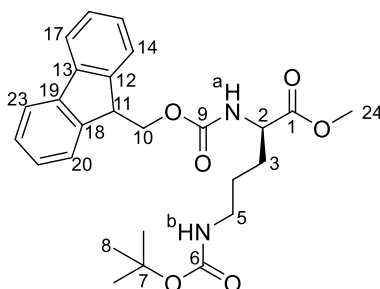
¹⁴⁴ F. Debaene, L. Mejias, J. L. Harris, N. Winssinger, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8677-8690.

¹⁴⁵ R. Chinchilla, D. J. Dodsworth, C. Nájera, J. M. Soriano, *Synlett* **2003**, *6*, 809-812.

Synthese von Allyl-(S)-1-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat (130)

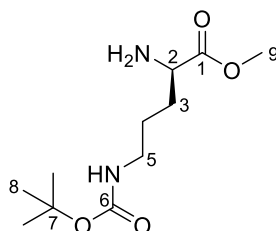
Alloc-L-Valin (**129**; 3.44 g, 17.1 mmol, 1.00 Äq.) und NMM (1.87 g, 18.4 mmol, 1.08 Äq.) wurden in DME (87.0 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurde IBCF (2.52 g, 18.4 mmol, 1.08 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 20 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde wässrige Ammoniak-Lösung (25%; 7.60 mL, 112 mmol, 6.57 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 23 h wurde die Reaktion durch Zugabe von HCl (1.0 M) beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (6x). Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit HCl (0.1 M) gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt **130** (3.00 g, 15.0 mmol, 88%) als farbloser Feststoff erhalten.

$R_f = 0.18$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 147 - 149$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -5.9^\circ$ ($c = 1.39$, CH₃OH); ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): $\delta = 7.32$ (1H, brs, NH-b), 7.06 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, NH-a), 7.01 (1H, brs, NH-b), 5.90 (1H, m, H-7), 5.29 (1H, ddd, $J = 1.4, 3.1, 17.1$ Hz, H-8), 5.17 (1H, ddd, $J = 1.4, 1.4, 10.6$ Hz, H-8), 4.47 (2H, dt, $J = 1.4, 5.1$ Hz, H-6), 3.78 (1H, dd, $J = 6.8, 9.0$ Hz, H-2), 1.94 (1H, m, H-3), 0.86 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): $\delta = 173.2$ (q, C-1), 156.0 (q, C-5), 133.7 (t, C-7), 116.9 (s, C-8), 64.4 (s, C-6), 59.9 (t, C-2), 30.1 (t, C-3), 19.3 (p, C-4), 18.0 (p, C-4) ppm; HRMS (ESI): m/z berechnet für C₉H₁₆N₂O₃Na [M + Na]⁺: 223.1059; gefunden 223.1059.

Synthese von Methyl-(R)-2-[[[(9H-fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl]amino]-5-[(tert-butoxycarbonyl)amino]pentanoat (132)


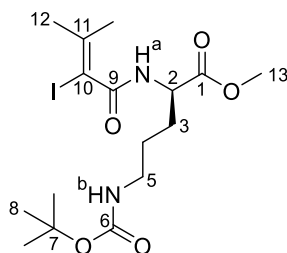
Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (**131**; 2.00 g, 5.50 mmol, 1.00 Äq.) wurde in Toluol (22.0 mL) und CH₃OH (8.80 mL) bei 0 °C gelöst. Danach wurde TMS-Diazomethan (2.0 M in Et₂O; 3.00 mL, 7.15 mmol, 1.30 Äq.) hinzugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 22 h bei 0 °C → RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit CH₂Cl₂ versetzt und anschließend mit einer NaHCO₃-Lösung (5%-ig) gewaschen. Weiterhin wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Methylester **132** (2.58 g, 5.50 mmol, quant.) als farbloser Feststoff erhalten.

$R_f = 0.60$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 123 - 124$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +5.8^\circ$ ($c = 1.04$, DMF); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.77$ (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-17, H-23), 7.61 (2H, m, H-14, H-20), 7.40 (2H, m, H-16, H-22), 7.32 (2H, m, H-15, H-21), 5.47 (1H, brm, NH-a), 4.59 (1H, brm, NH-b), 4.40 (3H, m, H-2, H-10), 4.22 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11), 3.76 (3H, s, H-24), 3.15 (2H, brm, H-5), 1.88 (1H, m, H-3), 1.68 (1H, m, H-3'), 1.60-1.48 (2H, m, H-4), 1.45 (9H, s, H-8) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.9$ (q, C-1), 156.11 (q, C-6), 156.05 (q, C-9), 144.0 (q, C-12 o. C-18), 143.9 (q, C-12 o. C-18), 141.5 (q, C-13 o. C-19), 141.4 (q, C-13 o. C-19), 129.2 (t, C-15 o. C-16 o. C-21 o. C-22), 128.4 (t, C-15 o. C-16 o. C-21 o. C-22), 127.8 (t, C-15 o. C-16 o. C-21 o. C-22), 127.2 (t, C-15 o. C-16 o. C-21 o. C-22), 125.4 (t, C-14 o. C-20), 125.2 (t, C-14 o. C-20), 120.11 (t, C-17 o. C-23), 120.09 (t, C-17 o. C-23), 79.4 (q, C-7), 67.1 (s, C-10), 53.7 (t, C-2), 52.6 (p, C-24), 47.3 (t, C-11), 40.1 (s, C-5), 30.0 (s, C-3), 28.5 (3C, p, C-8), 26.2 (s, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₆H₃₂N₂O₆Na $[M + Na]^+$: 491.2158; gefunden 491.2160.

Synthese von Methyl-(R)-2-amino-5-[(tert-butoxycarbonyl)amino]pentanoat (133)

Fmoc-D-Orn(Boc)-OMe (**132**; 1.00 g, 2.13 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (150 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde Tris(2-aminoethyl)amin (15.0 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 3 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O beendet. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit H₂O (2x) gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen mit einer NaCl-Lösung gewaschen, sowie über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2 → CH₂Cl₂/CH₃OH 96:4) ergab das gewünschte Amin **133** (484 mg, 1.96 mmol, 92%) als farbloses Öl.

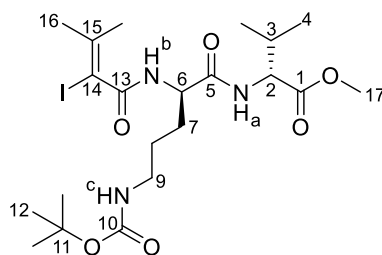
$R_f = 0.24$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -17.9^\circ$ ($c = 1.83$, CH₃OH); **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 3.72$ (3H, s, H-9), 3.45 (1H, t, $J = 6.3$ Hz, H-2), 3.05 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-5), 1.72 (1H, m, H-3), 1.61 (1H, m, H-3'), 1.56-1.49 (2H, m, H-4), 1.43 (9H, s, H-8) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 177.0$ (q, C-1), 158.4 (q, C-6), 79.8 (q, C-7), 54.8 (t, C-2), 52.4 (p, C-9), 41.0 (s, C-5), 32.8 (s, C-3), 28.8 (3C, p, C-8), 27.0 (s, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₁H₂₂N₂O₄Na [M + Na]⁺: 269.1477; gefunden 269.1476.

Synthese von Methyl-(R)-5[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-(2-iod-3-methylbut-2-enamido)pentanoat (134)

Säure **79** (371 mg, 1.64 mmol, 1.00 Äq.) und Amin **133** (445 mg, 1.81 mmol, 1.10 Äq.) wurden in DMF (9.80 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (239 mg, 1.76 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (897 mg, 1.72 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (974 mg, 7.53 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 4:1 → PE/EtOAc 3:1 → PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Vinyljodid **134** (641 mg, 1.41 mmol, 86%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.83$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 112 - 113$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +3.5^\circ$ ($c = 1.04$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 6.38$ (1H, d, $J = 6.1$ Hz, NH-a), 4.61 (2H, m, H-2, NH-b), 3.77 (3H, s, H-13), 3.15 (2H, m, H-5), 2.05 (3H, s, H-12), 2.01 (3H, s, H-12), 1.94 (1H, m, H-3), 1.73 (1H, m, H-3'), 1.57 (2H, m, H-4), 1.43 (9H, s, H-8) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.6$ (q, C-1), 167.1 (q, C-9), 156.3 (q, C-6), 146.2 (q, C-11), 86.3 (q, C-10), 79.4 (q, C-7), 52.7 (t, C-2), 52.4 (p, C-13), 40.1 (s, C-5), 30.2 (p, C-12), 29.7 (s, C-3), 28.5 (3C, p, C-8), 26.3 (s, C-4), 22.1 (p, C-12) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₆H₂₇IN₂O₅Na [M + Na]⁺: 477.0862; gefunden 477.0858.

Synthese von Methyl-[(*R*)-5[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-(2-iod-3-methylbut-2-enamido)pentanoyl]-D-valinat (**135**)



Verseifung:

Peptid **134** (262 mg, 0.58 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (3.20 mL) gelöst. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 3.20 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

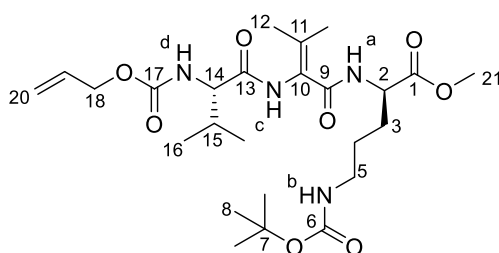
Peptidkupplung:

Das Rohprodukt und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 254 mg, 0.58 mmol, 1.30 Äq.) wurden in DMF (3.60 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (84.1 mg, 0.62 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (316 mg, 0.61 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (343 mg, 2.65 mmol, 4.59 Äq.) hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 23 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (8x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1 → PE/EtOAc 2:1) lieferte das gewünschte Vinylidiodid **135** (279 mg, 0.50 mmol, 87% über 2 Stufen) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.67$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 123 - 126$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +7.2^\circ$ ($c = 1.39$, CH₂Cl₂);
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 6.96$ (1H, brm, NH-a), 6.64 (1H, brm, NH-b), 4.83 (1H, brm, NH-c), 4.64 (1H, m, H-6), 4.46 (1H, dd, $J = 5.3, 8.4$ Hz, H-2), 3.70 (3H, s, H-17), 3.27 (1H, m, H-9), 3.09 (1H, m, H-9'), 2.16 (1H, m, H-3), 1.99 (3H, s, H-16), 1.96

(3H, s, H-16), 1.92 (1H, m, H-7), 1.67 (1H, m, H-7'), 1.56 (2H, m, H-8), 1.40 (9H, s, H-12), 0.93-0.90 (6H, m, H-4) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.1$ (q, C-1), 171.6 (q, C-5), 167.5 (q, C-13), 156.6 (q, C-10), 145.6 (q, C-15), 86.6 (q, C-14), 79.3 (q, C-11), 57.6 (t, C-2), 52.7 (t, C-6), 52.2 (p, C-17), 39.6 (s, C-9), 31.4 (t, C-3), 30.9 (p, C-16), 30.0 (s, C-7), 28.5 (3C, p, C-12), 26.4 (s, C-8), 22.0 (p, C-16), 19.2 (p, C-4), 18.0 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{IN}_3\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 576.1547; gefunden 576.1548.

Synthese von Methyl-(2*R*,8*S*)-2-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-8-isopropyl-4,7,10-trioxo-5-(propan-2-ylidene)-11-oxa-3,6,9-triazatetradec-13-enoat (136)



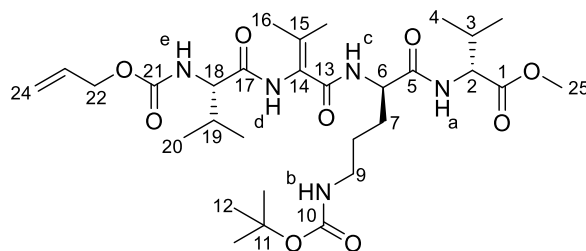
Alloc-L-Val-NH₂ (**130**; 35.3 mg, 0.18 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **134** (160 mg, 0.35 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.18 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (48.7 mg, 0.35 mmol, 2.00 Äq.), CuI (20.1 mg, 0.11 mmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (101 mg, 0.71 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 70.8$ min). Das Tripeptid **136** (10.4 mg, 19.7 μmol, 11%) wurde als farbloses Öl erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.64$ (1H, brs, NH-c), 7.01 (1H, brd, NH-a), 5.90 (1H, m, H-19), 5.43 (1H, brs, NH-d), 5.35-5.27 (2H, m, H-20), 4.88 (1H, brm, NH-b), 4.56 (2H, m, H-18), 4.46 (1H, m, H-2), 3.94 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-14), 3.71 (3H, s, H-21), 3.12 (2H, m, H-5), 2.17 (1H, m, H-15), 2.10 (3H, s, H-12), 1.91 (1H, m, H-3), 1.81 (3H,

s, H-12), 1.79 (1H, m, H-3'), 1.53 (2H, m, H-4), 1.42 (9H, s, H-8), 0.92 (6H, m, H-16) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{25}H_{42}N_4O_8Na$ $[M + Na]^+$: 549.2900; gefunden 549.2899.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

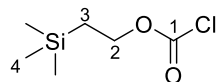
Synthese von Methyl-[(*R*)-2-{2-[(*S*)-2-[(allyloxy)carbonyl]amino}-3-methylbutanamido]-3-methylbut-2-enamido}-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pentanoyl]-*D*-valinat (**137**)



Alloc-L-Val-NH₂ (**130**; 28.0 mg, 0.14 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **135** (155 mg, 0.28 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.15 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (38.7 mg, 0.28 mmol, 2.00 Äq.), CuI (16.0 mg, 84.1 µmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (80.6 mg, 0.57 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 73.8 min). Das gewünschte Tetrapeptid **137** (11.5 mg, 18.4 µmol, 13%) wurde als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.64 (1H, brs, NH-e), 7.06 (1H, brd, NH-c), 7.01 (1H, brd, NH-a), 5.90 (1H, m, H-23), 5.43 (1H, brs, NH-d), 5.31-5.22 (2H, m, H-24), 4.88 (1H, brm, NH-b), 4.61-4.50 (2H, m, H-22), 4.44-4.39 (2H, m, H-2, H-6), 3.95 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-18), 3.71 (3H, s, H-25), 3.12 (2H, m, H-9), 2.17 (2H, m, H-3, H-19), 2.10 (3H, s, H-16), 1.92 (1H, m, H-7), 1.81 (3H, s, H-16), 1.79 (1H, m, H-7'), 1.55-1.50 (2H, m, H-8), 1.42 (9H, s, H-12), 0.98-0.92 (12H, m, H-4, H-20) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{30}H_{51}N_5O_9Na$ $[M + Na]^+$: 648.3584; gefunden 648.3588.

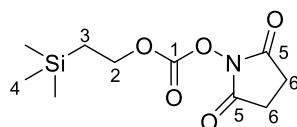
Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

Synthese von (2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyloxy)chlorid (139)

2-Trimethylsilylethanol (**138**; 4.13 g, 34.9 mmol, 1.00 Äq.) und K_2CO_3 (4.15 g, 30.0 mmol, 0.86 Äq.) wurden in Toluol (20.0 mL) bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gelöst. Anschließend wurde langsam Phosgen (20% in Toluol; 24.0 mL, 45.4 mmol, 1.30 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt und danach auf RT erwärmt und für weitere 60 min gerührt. Das überschüssige Phosgen wurde mittels eines Stickstoffstroms entfernt und durch eine Waschflasche mit einer K_2CO_3 -Lösung neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt (Wasserbadtemperatur max. $30\text{ }^\circ\text{C}$, Druck max. 45 mbar). Der erhaltene Rückstand wurde über $MgSO_4$ filtriert und mit Et_2O gewaschen. Das Lösungsmittel wurde erneut unter vermindertem Druck entfernt (Wasserbadtemperatur max. $30\text{ }^\circ\text{C}$, Druck max. 45 mbar). Das gewünschte Produkt **139** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁹⁸

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.41$ (2H, m, H-2), 1.13 (2H, m, H-3), 0.06 (9H, s, H-4) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 156.7$ (q, C-1), 71.5 (s, C-2), 17.6 (s, C-3), -1.5 (3C, p, C-4) ppm.

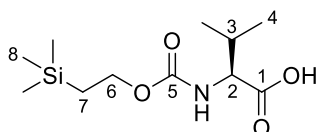
Synthese von 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-2(trimethylsilyl)ethylcarbonat (141)

TeocCl-Reagenz **139** wurde bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ in CH_3CN (105 mL) gelöst. Es wurden NHS **140** (5.22 g, 45.4 mmol, 1.30 Äq.) und Et_3N (4.59 g, 45.4 mmol, 1.30 Äq.; in 11.0 mL CH_3CN) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde bei $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch Zugabe von H_2O beendet. Die wässrige Phase wurde mit Et_2O (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H_2O (2x), HCl (1.0 M) und nochmals mit H_2O gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt **141** (7.72 g, 29.8 mmol, 85% über 2 Stufen) als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁹⁸

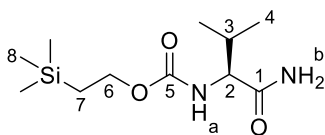
$R_f = 0.72$ (PE/EtOAc 1:1); $T_M = 92 - 97$ °C (Lit.⁹⁸: $T_M = 98 - 99$ °C); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.41$ (2H, m, H-2), 2.83 (4H, s, H-6), 1.15 (2H, m, H-3), 0.07 (9H, s, H-4) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.9$ (2C, q, C-5), 151.6 (q, C-1), 70.8 (s, C-2), 25.6 (2C, s, C-6), 17.7 (s, C-3), -1.5 (3C, p, C-4) ppm.

Synthese von [(2-(Trimethylsilyl)ethoxy)carbonyl]-L-valin (**142**)



L-Valin (**128**; 1.17 g, 10.0 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in H_2O (10.0 mL) gelöst. Es wurden Et_3N (1.52 g, 15.0 mmol, 1.50 Äq.) in 1,4-Dioxan (10.0 mL), gefolgt von TeocOSu **141** (2.85 g, 11.0 mmol, 1.10 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 15 h bei RT gerührt, anschließend mit H_2O versetzt und mit einer KHSO_4 -Lösung angesäuert. Danach wurde das Reaktionsgemisch mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H_2O (4x) gewaschen, danach über MgSO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **142** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

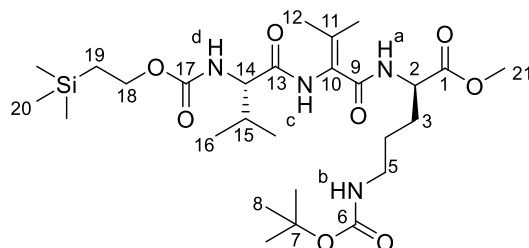
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 4.15$ (2H, m, H-6), 4.05 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-2), 2.15 (1H, m, H-3), 1.02 (2H, m, H-7), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 0.94 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 0.05 (9H, s, H-8) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 284.1294; gefunden 284.1295.

Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-(S)-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat (143)

Teoc-L-Valin (**142**) und NMM (1.09 g, 10.8 mmol, 1.08 Äq.) wurden in DME (51.0 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurde IBCF (1.48 g, 10.8 mmol, 1.08 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde wässrige Ammoniak-Lösung (25%; 5.00 mL, 65.7 mmol, 6.57 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 23 h wurde die Reaktion durch Zugabe von HCl (1.0 M) beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (7x). Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit HCl (0.1 M) gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt **143** (2.60 g, 10.0 mmol, quant. über 2 Stufen) als farbloser Feststoff erhalten.

T_M = 138 – 139 °C; [α]_D²⁰ = -4.5° (*c* = 1.21, CH₃OH); **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 7.28 (1H, s, NH-b), 7.00 (1H, s, NH-b), 6.80 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, NH-a), 4.03 (2H, m, H-6), 3.77 (1H, dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, H-2), 1.92 (1H, m, H-3), 0.92 (2H, t, *J* = 8.4 Hz, H-7), 0.85 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-4), 0.82 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-4), 0.02 (9H, s, H-8) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 173.3 (q, C-1), 156.3 (q, C-5), 61.7 (s, C-6), 59.8 (t, C-2), 30.1 (t, C-3), 19.3 (s, C-7), 17.9 (p, C-4), 17.4 (p, C-4), -1.4 (3C, p, C-8) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₁H₂₄N₂O₃SiNa [M + Na]⁺: 283.1454; gefunden 283.1457.

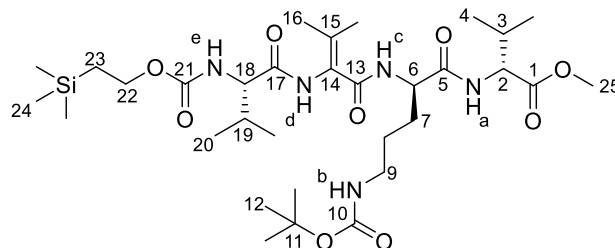
Synthese von Methyl-(8*S*,14*R*)-14-{3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-8-isopropyl-2,2-dimethyl-6,9,12-trioxo-11-(propan-2-yliden)-5-oxa-7,10,13-triaza-2-silapentadecan-15-olat (144**)**



Teoc-L-Val-NH₂ (**143**; 30.7 mg, 0.12 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **134** (107 mg, 0.24 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.24 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (32.6 mg, 0.24 mmol, 2.00 Äq.), CuI (13.5 mg, 70.9 μmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (67.9 mg, 0.48 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 18 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (8x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 79.9 min). Das Tripeptid **144** (22.7 mg, 38.7 μmol, 33%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -11.5^\circ$ (*c* = 1.39, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.52 (1H, brs, NH-c), 7.01 (1H, brm, NH-a), 5.24 (1H, brm, NH-d), 4.91 (1H, brm, NH-b), 4.59 (1H, m, H-2), 4.17 (2H, m, H-18), 3.95 (1H, t, *J* = 6.8 Hz, H-14), 3.71 (3H, s, H-21), 3.12 (2H, m, H-5), 2.15 (1H, m, H-15), 2.09 (3H, s, H-12), 1.91 (1H, m, H-3), 1.76 (3H, s, H-12), 1.73 (1H, m, H-3'), 1.57 (2H, m, H-4), 1.42 (9H, s, H-8), 1.04-0.98 (8H, m, H-16, H-19), 0.03 (9H, s, H-20) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.8 (q, C-1), 171.2 (q, C-13), 165.8 (q, C-9), 157.5 (q, C-17), 156.3 (q, C-6), 141.5 (q, C-10), 123.4 (q, C-11), 79.2 (q, C-7), 64.2 (s, C-18), 61.3 (t, C-14), 52.4 (p, C-21), 52.1 (t, C-2), 40.2 (s, C-5), 30.2 (t, C-15), 29.2 (s, C-3), 28.6 (3C, p, C-8), 25.9 (s, C-4), 21.6 (p, C-12), 21.0 (p, C-12), 19.6 (s, C-19), 18.2 (p, C-16), 17.9 (p, C-16), -1.4 (3C, p, C-20) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₇H₅₀N₄O₈SiNa [M + Na]⁺: 609.3296; gefunden 609.3298.

Synthese von Methyl-[(*R*)-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-(3-methyl-2-[(*S*)-3-methyl-2-[[2-(trimethylsilyl)ethoxy]carbonyl]amino]butanamido]but-2-enamido)pentanoyl]-*D*-valinat (145**)**

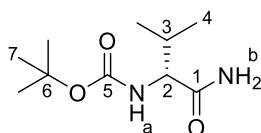


Teoc-L-Val-NH₂ (**143**; 31.6 mg, 0.12 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **135** (134 mg, 0.24 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.25 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (33.5 mg, 0.24 mmol, 2.00 Äq.), CuI (13.9 mg, 73.0 µmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (69.9 mg, 0.49 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 18 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (8x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 81.9 min). Das Tetrapeptid **145** (38.7 mg, 56.4 µmol, 47%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = +3.5^\circ$ ($c = 1.00$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.57 (1H, s, NH-d), 7.06 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, NH-c), 7.03 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, NH-a), 5.28 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, NH-e), 4.88 (1H, brm, NH-b), 4.52 (1H, m, H-6), 4.44 (1H, dd, *J* = 5.3, 7.8 Hz, H-2), 4.15 (2H, m, H-22), 3.92 (1H, t, *J* = 6.8 Hz, H-18), 3.70 (3H, s, H-25), 3.13 (2H, m, H-9), 2.16 (2H, m, H-3, H-19), 2.10 (3H, s, H-16), 1.92 (1H, m, H-7), 1.78 (3H, s, H-16), 1.74 (1H, m, H-7'), 1.59 (2H, m, H-8), 1.42 (9H, s, H-12), 1.03 (6H, d, *J* = 6.8 Hz, H-4), 0.98 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, H-23), 0.91 (6H, d, *J* = 6.8 Hz, H-20), 0.03 (9H, s, H-24) ppm; ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.3 (q, C-1), 171.8 (q, C-5), 171.3 (q, C-17), 166.1 (q, C-13), 157.5 (q, C-21), 156.5 (q, C-10), 141.2 (q, C-14), 123.5 (q, C-15), 79.2 (q, C-11), 64.2 (s, C-22), 61.2 (t, C-18), 57.6 (t, C-2), 52.9 (t, C-6), 52.2 (p, C-25), 40.0 (s, C-9), 31.0 (t, C-3 o. C-19), 30.3 (t, C-3 o. C-19), 28.6 (3C, p, C-12), 28.4 (s, C-7), 26.2 (s, C-8), 21.7 (p, C-16),

21.0 (p, C-16), 19.7 (s, C-23), 19.2 (p, C-4), 18.3 (p, C-4), 18.2 (p, C-20), 17.8 (p, C-20), -1.3 (3C, p, C-24) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{32}H_{59}N_5O_9SiNa$ $[M + Na]^+$: 708.3980; gefunden 708.3982.

Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-1-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat (**146**)



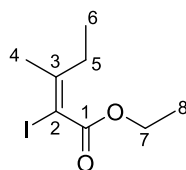
Boc-D-Valin (**148**; 2.00 g, 9.21 mmol, 1.00 Äq.) und NMM (1.01 g, 9.94 mmol, 1.08 Äq.) wurden in DME (47.0 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurde IBCF (1.36 g, 9.94 mmol, 1.08 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde für 15 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde wässrige Ammoniak-Lösung (25%; 4.10 mL, 60.5 mmol, 6.57 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde die Reaktion durch Zugabe von HCl (1.0 M) beendet. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (5x). Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit HCl (0.1 M) gewaschen und anschließend über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gewünschte Produkt **146** (1.99 g, 9.21 mmol, quant.) als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.⁷⁵

R_f = 0.20 (CH_2Cl_2/CH_3OH 98:2); T_M = 155 – 157 °C (Lit.¹⁴⁶: T_M = 156 – 157 °C); $[\alpha]_D^{20}$ = +2.5° (c = 1.14, CH_3OH) {Lit.¹⁴⁷: $[\alpha]_D^{20}$ = +2.5° (c = 1.05, CH_3OH)}; **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 6.22 (1H, brs, NH-b), 5.82 (1H, brs, NH-b), 5.14 (1H, d, J = 8.5 Hz, NH-a), 3.98 (1H, dd, J = 6.6, 8.5 Hz, H-2), 2.12 (1H, m, H-3), 1.44 (9H, s, H-7), 0.98 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-4), 0.94 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-4) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77.16 ppm): δ = 174.4 (q, C-1), 156.1 (q, C-5), 80.1 (q, C-6), 59.6 (t, C-2), 30.8 (t, C-3), 28.5 (3C, p, C-7), 19.4 (2C, p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{10}H_{20}N_2O_3Na$ $[M + Na]^+$: 239.1372; gefunden 239.1369.

¹⁴⁶ Z. Xia, C. D. Smith, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3459-3466.

¹⁴⁷ M. A. Ciufolini, Y.-C. Shen, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1843-1846.

Synthese von Ethyl-(E)-2-iod-3-methylpent-2-enoat (155)

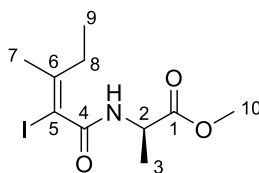
Zu einer Lösung aus Kupfer(I)iodid (2.86 g, 15.0 mmol, 1.50 Äq.) in THF (90.0 mL) wurde bei 0 °C Methyllithium (1.6 M in Et₂O; 18.8 mL, 30.0 mmol, 3.00 Äq.) hinzugegeben. Nach 30 min wurde die Reaktionsmischung auf -78 °C gekühlt und Ethyl-pent-2-inoat (**151**; 1.26 g, 10.0 mmol, 1.00 Äq.) in THF (10.0 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei -78 °C gerührt und anschließend mit einer Lösung aus Iod (7.61 g, 30.0 mmol, 3.00 Äq.) in THF (10.0 mL) tropfenweise versetzt. Die Reaktionsmischung wurde erneut 15 min bei -78 °C gerührt und anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von einer Na₂S₂O₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et₂O (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NH₄Cl-Lösung, sowie einer NaCl-Lösung gewaschen. Danach wurden die vereinigten, organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **155** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.25 (2H, q, *J* = 7.2 Hz, H-7), 2.45 (2H, q, *J* = 7.5 Hz, H-5), 2.05 (3H, s, H-4), 1.32 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, H-8), 1.08 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, H-6) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 165.9 (q, C-1), 155.6 (q, C-3), 84.8 (q, C-2), 62.0 (s, C-7), 30.1 (p, C-4), 28.8 (s, C-5), 14.2 (p, C-8), 13.0 (p, C-6) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₈H₁₄IO₂ [M + H]⁺: 269.0039; gefunden 269.0038.

nOe (400 MHz, CDCl₃):

Proton	nOe Kontakte
H-4	H-5, H-6
H-5	H-4, H-6
H-6	H-5
H-7	H-8
H-8	H-5, H-6, H-7

Synthese von Methyl-(*E*)-(2-iod-3-methylpent-2-enoyl)-D-alaninat (**147**)



Verseifung:

Ethylester **155** (348 mg, 1.30 mmol, 1.00 Äq.) wurde in einem Ethanol/H₂O-Gemisch (entgast, 1:7.5; 2.50 mL) bei RT gelöst. Zu dieser Lösung wurde LiOH (125 mg, 5.21 mmol, 4.00 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf 60 °C erhitzt und für 22.5 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 1 angesäuert und anschließend mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde die gewünschte Carbonsäure **149** (268 mg, 1.12 mmol, 86% über 2 Stufen) als gelber Feststoff erhalten. Das Produkt **149** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

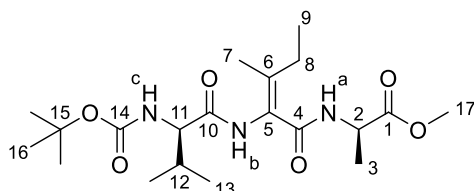
Peptidkupplung:

Carbonsäure **149** (268 mg, 1.12 mmol, 1.00 Äq.) und D-Alaninmethylester Hydrochlorid (**150**; 202 mg, 1.45 mmol, 1.30 Äq.) wurden in DMF (6.10 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (162 mg, 1.19 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (610 mg, 1.17 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (662 mg, 5.12 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (7x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Na₂SO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 4:1) ergab das gewünschte Produkt **147** (210 mg, 0.65 mmol, 58%) als farblosen Feststoff.

R_f = 0.73 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); **T_M** = 58 – 60 °C; [**α**]_D²⁰ = +12.5° (*c* = 1.00, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.26 (1H, brm, NH), 4.59 (1H, m, H-2), 3.75 (3H, s, H-10), 2.38 (2H, q, *J* = 7.4 Hz, H-8), 1.96 (3H, s, H-7), 1.42 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-3), 1.05 (3H, t, *J* = 7.4 Hz, H-9) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 173.2 (q, C-1), 166.7 (q, C-4), 151.0 (q, C-6), 87.0 (q, C-5), 52.6 (p, C-10), 48.5 (t, C-2),

29.3 (p, C-7), 27.2 (s, C-8), 18.2 (p, C-3), 13.2 (p, C-9) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{10}H_{16}INO_3Na$ $[M + Na]^+$: 348.0073; gefunden 348.0075.

Synthese von Methyl- $\{(E)-2-[(R)-2-[(tert\text{-butoxycarbonyl})\text{amino}]-3\text{-methylbutanamido}]-3\text{-methylpent-2-enoyl}\}$ -D-alaninat (**22**)

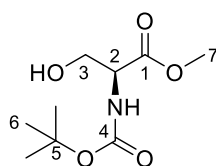


Boc-D-Val-NH₂ (**146**; 82.1 mg, 0.38 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **147** (245 mg, 0.76 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.38 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (105 mg, 0.76 mmol, 2.00 Äq.), CuI (43.4 mg, 0.23 mmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (216 mg, 1.52 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt und für 20 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit einer NH₄Cl-Lösung versetzt. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das gewünschte Dehydropeptid **22** (75.4 mg, 0.18 mmol, 48%) als farblosen Feststoff.

R_f = 0.27 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); T_M > 177 °C (Zersetzung); $[\alpha]_D^{20}$ = +21.2° (c = 1.82, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.47 (1H, brs, NH-b), 7.02 (1H, d, J = 6.2 Hz, NH-a), 5.08 (1H, d, J = 7.2 Hz, NH-c), 4.58 (1H, m, H-2), 3.91 (1H, m, H-11), 3.72 (3H, s, H-17), 2.48-2.30 (2H, m, H-8), 2.16 (1H, m, H-12), 1.72 (3H, s, H-7), 1.42-1.40 (12H, m, H-3, H-16), 1.09 (3H, t, J = 7.5 Hz, H-9), 1.00 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-13), 0.96 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-13) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 173.4 (q, C-1), 171.5 (q, C-10), 165.9 (q, C-4), 156.2 (q, C-14), 144.5 (q, C-6), 123.8 (q, C-5), 80.4 (q, C-15), 60.6 (t, C-11), 52.5 (p, C-17), 48.4 (t, C-2), 30.5 (t, C-12), 28.4 (3C, p, C-16), 27.3 (s, C-8), 19.5 (2C, p, C-13), 18.2 (p, C-3), 18.0 (p, C-7), 12.9 (p, C-9) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{20}H_{35}N_3O_6Na$ $[M + Na]^+$: 436.2424; gefunden 436.2425.

nOe (500 MHz, CDCl₃):

Proton	nOe Kontakte
H-2	H-8 α , H-8 β , NH-a
H-3	H-2, NH-a
H-7	H-8 α , H-8 β , H-9, NH-b
H-8 α	H-7, H-8 β , NH-a
H-8 β	H-8 α , NH-a
H-9	H-7, H-8 α , H-8 β , NH-a
H-11	H-12, H-13, NH-b, NH-c
H-12	H-11, H-13, NH-c
NH-a	H-2, H-8 (w)
NH-b	H-7, H-11, H-12 (w)

Synthese von (S)-Methyl-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-hydroxypropanoat (157)*Methylesterbildung:*

L-Serin (**156**; 15.0 g, 143 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei 0 °C in CH₃OH (300 mL) gelöst. Es wurde frisch destilliertes Thionylchlorid (101 g, 851 mmol, 5.95 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 14 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mehrfach mit Et₂O versetzt und das Lösungsmittel wiederholt unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Boc-Schützung:

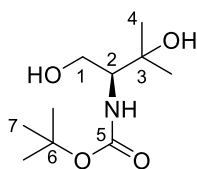
Der L-Serinmethylester wurde bei 0 °C in CH₂Cl₂ (300 mL) gelöst und Et₃N (39.4 g, 358 mmol, 2.50 Äq.) hinzugegeben. Zu dem Reaktionsgemisch wurde rasch (Boc)₂O (34.3 g, 157 mmol, 1.10 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in EtOAc gelöst und anschließend mit einer NaHCO₃- und einer NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das

Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 95:5) lieferte den geschützten Aminoester **157** (31.3 g, 143 mmol, quant. über 2 Stufen) als farbloses, hochviskoses Öl.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁰²

$R_f = 0.58$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 95:5); $[\alpha]_D^{20} = +8.2^\circ$ ($c = 1.63$, CH₂Cl₂) {Lit.¹⁴⁸: $[\alpha]_D^{26} = +9.7^\circ$ ($c = 4.29$, CHCl₃)}; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 5.47$ (1H, brm, NH), 4.38 (1H, m, H-2), 3.92 (2H, ddd, $J = 3.8, 7.5, 11.6$ Hz, H-3), 3.78 (3H, s, H-7), 2.29 (1H, brm, OH), 1.45 (9H, s, H-6) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 171.4$ (q, C-1), 155.8 (q, C-4), 80.5 (q, C-5), 63.7 (s, C-3), 55.9 (t, C-2), 52.8 (p, C-7), 28.4 (3C, p, C-6) ppm.

Synthese von (*S*)-*tert*-Butyl-(1,3-dihydroxy-3-methylbutan-2-yl)carbamat (**158**)



Boc-L-Ser-OMe (**157**; 12.1 g, 55.1 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei -78 °C in Et₂O (530 mL) gelöst. Zu der Reaktionsmischung wurde CH₃MgBr (3.0 M in Et₂O; 110 mL, 6.00 Äq.) langsam hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt. Nach 2 h wurde die entstandene Emulsion auf 0 °C abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (EtOAc/PE 3:2) lieferte das gewünschte Diol **158** (11.2 g, 51.2 mmol, 93%) als farblosen Feststoff.

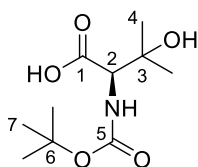
Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁰³

$R_f = 0.32$ (EtOAc/PE 7:3); $T_M = 83$ °C (Lit.¹⁰³: $T_M = 87 - 89$ °C); $[\alpha]_D^{20} = -3.9^\circ$ ($c = 1.27$, CH₃OH) {Lit.¹⁰³: $[\alpha]_D^{20} = -4.9^\circ$ ($c = 1.00$, CH₃OH)}; **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 3.80$ (1H, dd, $J = 4.1, 11.3$ Hz, H-2), 3.59 (1H, m, H-1), 3.50 (1H, m, H-1'), 1.45 (9H, s, H-7), 1.23 (3H, s, H-4), 1.15 (3H, s, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD,

¹⁴⁸ R. G. Vaswani, A. R. Chamberlin, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 1661-1681.

CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 158.7 (q, C-5), 80.1 (q, C-6), 73.6 (q, C-3), 62.6 (s, C-1), 61.1 (t, C-2), 28.8 (3C, p, C-7), 27.7 (p, C-4), 26.3 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₀H₂₁NO₄Na [M + Na]⁺: 242.1368; gefunden 242.1367.

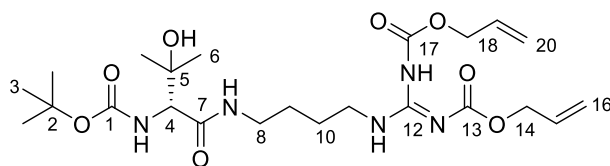
Synthese von (*R*)-2-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-3-hydroxy-3-methylbutansäure (**42**)



Diol **158** (11.0 g, 50.2 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in CH₃CN (200 mL) gelöst. Anschließend wurden Phosphatpuffer pH 7 (180 mL) und TEMPO (784 mg, 5.02 mmol, 0.10 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 35 °C erhitzt. Zu diesem Reaktionsgemisch wurde über einen Zeitraum von 2 h eine NaClO-Lösung (0.04 M; 0.66 mL handelsübliche NaClO in 25.0 mL H₂O; 26.3 mL, 1.00 mmol, 0.02 Äq.), sowie eine NaClO₂-Lösung (2.0 M; 5.71 g 80% NaClO₂ in 25.0 mL H₂O; 101 mL, 100 mmol, 2.00 Äq.) hinzuge tropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei 35 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Zitronensäure auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die organische Phase wurde unter vermindertem Druck konzentriert. Der erhaltene braune Rückstand wurde mit einer NaHCO₃-Lösung versetzt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (2x) gewaschen. Anschließend wurde die wässrige Phase mit einer H₃PO₄-Lösung (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert, sowie mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde die gewünschte Aminosäure **42** (10.5 g, 45.0 mmol, 90%) als farbloser Feststoff erhalten.

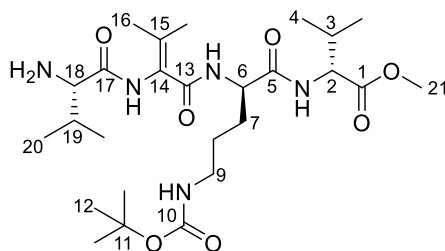
Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁰³

R_f = 0.15 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); **T_M** = 116 °C (Lit.¹⁰³: **T_M** = 125 – 126 °C); **[α]_D²⁰** = +2.2° (c = 2.97, CH₃OH) {Lit.¹⁰³: **[α]_D²⁰** = +2.5° (c = 1.00, CH₃OH)}; **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 4.08 (1H, s, H-2), 1.46 (9H, s, H-7), 1.29 (3H, s, H-4), 1.26 (3H, s, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 174.3 (q, C-1), 158.0 (q, C-5), 80.7 (q, C-6), 72.4 (q, C-3), 63.3 (t, C-2), 28.7 (3C, p, C-7), 27.1 (p, C-4), 27.0 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₀H₁₉NO₅Na [M + Na]⁺: 256.1161; gefunden 256.1157.

Synthese des Peptids **45**

Boc- β -D-Hydroxyvalin (**42**; 538 mg, 2.31 mmol, 1.00 Äq.) und das Amin **44** (757 mg, 2.54 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei 0 °C in CH₂Cl₂ (270 mL) gelöst. Zu der Reaktionsmischung wurden HOBt (467 mg, 3.46 mmol, 1.50 Äq.), EDC·HCl (553 mg, 2.88 mmol, 1.25 Äq.) und DIPEA (447 mg, 3.46 mmol, 1.50 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei 0 °C → RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das gewünschte Produkt **45** (880 mg, 1.71 mmol, 74%) als farbloses Öl.

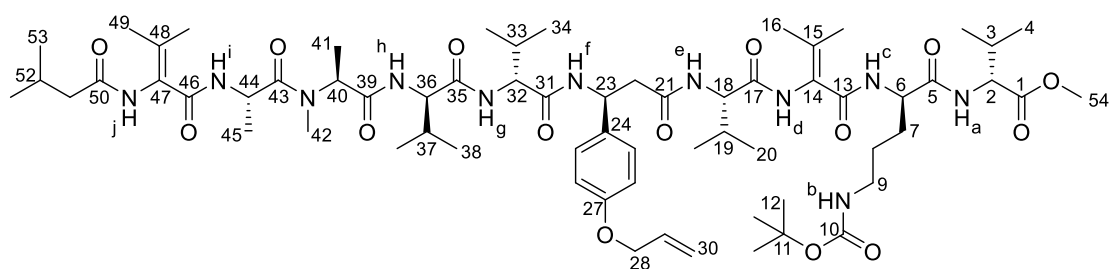
R_f = 0.34 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20}$ = +12.4° (c = 1.03, CH₃OH); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 6.02-5.95 (2H, m, H-15, H-19), 5.40-5.19 (4H, m, H-16, H-20), 4.69 (2H, d, J = 5.5 Hz, H-18), 4.58 (2H, d, J = 5.5 Hz, H-14), 3.94 (1H, s, H-4), 3.42 (2H, m, H-8), 3.23 (2H, m, H-11), 1.60 (4H, m, H-9, H-10), 1.44 (9H, s, H-3), 1.23, (3H, s, H-6), 1.19 (3H, s, H-6) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 173.3 (q, C-7), 166.8 (q, C-12), 164.8 (q, C-13), 157.5 (q, C-1), 154.7 (q, C-17), 134.4 (t, C-15), 132.8 (t, C-19), 119.5 (s, C-20), 117.9 (s, C-16), 72.4 (q, C-2), 68.1 (s, C-18), 67.3 (s, C-14), 63.5 (t, C-4), 63.4 (q, C-5), 41.6 (s, C-11), 40.0 (s, C-8), 28.7 (p, 3C, C-3), 27.5 (s, C-10), 27.4 (s, C-9), 26.6 (2C, p, C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₃H₄₀N₅O₈ [M + H]⁺: 514.2877; gefunden 514.2877.

Synthese von Methyl-[(R)-2-{2-[(S)-2-amino-3-methylbutanamido]-3-methylbut-2-enamido}-5-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pentanoyl]-D-valinat (160**)**

Tetrapeptid **145** (20.0 mg, 29.2 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.50 mL) gelöst. Es wurde TBAF (1.0 M in THF; 0.25 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Gemisch in CH₃OH (1.10 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 51.0 min). Das Amin **160** (15.8 mg, 29.2 μmol , quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = +25.6^\circ$ ($c = 1.40$, CH₃OH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 8.50$ (1H, s, NH), 4.52 (1H, dd, $J = 5.1, 8.5$ Hz, H-6), 4.28 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-2), 3.71 (3H, s, H-21), 3.61 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-18), 3.07 (2H, m, H-9), 2.19 (2H, sept, $J = 6.8$ Hz, H-3, H-19), 1.97 (3H, s, H-16), 1.81 (1H, m, H-7), 1.71 (3H, s, H-16), 1.63 (1H, m, H-7'), 1.57 (2H, m, H-8), 1.43 (9H, s, H-12), 1.09 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-20), 1.04 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-20), 0.98 (3H; d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-20), 0.96 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4 o. H-20) ppm; ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 174.4$ (q, C-1), 173.5 (2C, q, C-5, C-17), 168.2 (q, C-13), 158.6 (q, C-10), 136.0 (q, C-14), 126.0 (q, C-15), 80.0 (q, C-11), 60.0 (t, C-18), 59.5 (t, C-2), 54.2 (t, C-6), 52.5 (p, C-21), 40.8 (s, C-9), 31.8 (t, C-3 o. C-19), 31.6 (t, C-3 o. C-19), 30.5 (s, C-7), 28.8 (3C, p, C-12), 27.4 (s, C-8), 20.8 (p, C-16), 20.6 (p, C-16), 19.5 (p, C-4 o. C-20), 19.3 (p, C-4 o. C-20), 18.8 (p, C-4 o. C-20), 17.8 (p, C-4 o. C-20) ppm; HRMS (ESI): m/z berechnet für C₂₆H₄₈N₅O₇ [M + H]⁺: 542.3554; gefunden 542.3554.

Synthese von Methyl-[(R)-{2-[(S)-2[(S)-3-(4-(allyloxy)phenyl)-3-[(R)-3-methyl-2-[(R)-3-methyl-2-[(S)-2-[(S)-N-methyl-2-(3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-2-enamido)-propanamido]propanamido]butanamido]butanamido]propanamido]-3-methylbutanamido]-3-methylbut-2-enamido}-5-[(tert-butoxycarbonyl)amino]pentanoyl]-D-valinat (161)



Verseifung des Fragments A 115:

Hexapeptid **115** (20.9 mg, 27.1 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.40 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.40 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion mit Phosphatpuffer pH 7 versetzt und so das Reaktionsgemisch auf einen pH-Wert von \sim 7 gebracht. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 71.0 min). Die Säure **159** (16.4 mg, 21.7 μmol , 80%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

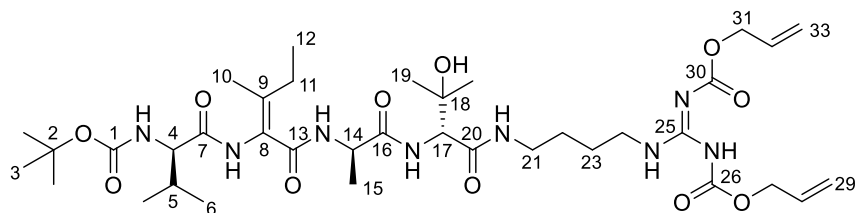
Peptidkupplung:

Säure **159** (6.00 mg, 7.93 μmol , 1.00 Äq.) und Amin **160** (4.70 mg, 8.72 μmol , 1.10 Äq.) wurden in DMF (0.60 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurden HOAt (1.15 mg, 8.48 μmol , 1.07 Äq.), PyAOP (3.16 mg, 8.32 μmol , 1.05 Äq.) und DIPEA (4.70 mg, 36.4 μmol , 4.59 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 81.8 min). Das Decapeptid **161** (4.70 mg, 3.67 μmol , 46%) wurde als farbloses Öl erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -5.5^\circ$ ($c = 0.29$, CH_3OH); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 9.15$ (1H, s, NH-d), 8.94 (1H, s, NH-j), 8.37 (1H, m, NH-f), 7.99 (2H, m, NH-a o. NH-e o. NH-g o. NH-h), 7.84 (1H, m, NH-i), 7.65 (1H, m, NH-c), 7.52 (2H, m, NH-a o. NH-e o. NH-g o. NH-h), 7.16 (2H, m, H-25), 6.80 (2H, m, H-26), 6.76 (1H, m, NH-b), 6.01 (1H, m, H-29), 5.36 (1H, m, H-30), 5.23 (1H, m, H-30'), 5.14 (1H, m, H-23), 4.99 (1H, m, H-40), 4.68 (1H, m, H-44), 4.50 (2H, m, H-28), 4.25 (1H, m, H-6), 4.17-4.03 (4H, m, H-2, H-18, H-32, H-36), 3.59 (3H, s, H-54), 2.90 (2H, m, H-9), 2.86 (3H, s, H-42), 2.71 (1H, m, H-22), 2.52 (1H, m, H-22'), 2.06-1.88 (13H, m, H-3, H-16, H-19, H-33, H-49, H-51, H-52), 1.69 (1H, m, H-7), 1.65 (3H, s, H-16 o. H-49), 1.62 (3H, s, H-16 o. H-49), 1.51 (1H, m, H-7'), 1.43 (2H, m, H-8), 1.36 (9H, s, H-12), 1.25-1.16 (6H, m, H-41, H-45), 0.90-0.72 (30H, m, H-4, H-20, H-34, H-38, H-53) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.0$ (q, C=O), 171.7 (q, C=O), 170.94 (q, C=O), 170.87 (q, C=O), 170.8 (q, C=O), 170.6 (q, C=O), 170.0 (q, C=O), 169.7 (q, C=O), 165.5 (q, C=O), 164.9 (q, C=O), 164.6 (q, C=O), 156.9 (q, C-27), 155.6 (q, C-10), 135.1 (q, C-47), 134.9 (q, C-24), 134.8 (q, C-14), 133.8 (t, C-29), 127.3 (2C, t, C-25), 125.6 (q, C-15 o. C-48), 124.9 (q, C-15 o. C-48), 117.2 (s, C-30), 114.2 (2C, t, C-26), 77.4 (q, C-11), 68.1 (s, C-28), 58.4 (t, C-2 o. C-18 o. C-32 o. C-36), 58.1 (t, C-2 o. C-18 o. C-32 o. C-36), 57.6 (t, C-2 o. C-18 o. C-32 o. C-36), 57.4 (t, C-2 o. C-18 o. C-32 o. C-36), 52.40 (t, C-6 o. C-40), 52.37 (t, C-6 o. C-40), 51.6 (p, C-54), 49.0 (t, C-23), 45.1 (t, C-44), 44.3 (s, C-51), 30.4 (p, C-42), 30.2 (t, C-3 o. C-19 o. C-33 o. C-37), 29.9 (t, C-3 o. C-19 o. C-33 o. C-37), 29.7 (t, C-3 o. C-19 o. C-33 o. C-37), 29.2 (t, C-3 o. C-19 o. C-33 o. C-37), 29.0 (s, C-7), 28.3 (3C, p, C-12), 26.1 (s, C-8), 25.6 (t, C-52), 22.4 (2C, p, C-53), 20.8 (p, C-16 o. C-49), 20.7 (p, C-16 o. C-49), 20.3 (p, C-16 o. C-49), 20.1 (p, C-16 o. C-49), 19.24 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 19.21 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 19.18 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 18.9 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 18.54 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 18.49 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 18.4 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 18.2 (p, C-4 o. C-20 o. C-34 o. C-38), 17.4 (p, C-41 o. C-45), 14.5 (p, C-41 o. C-45) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{65}\text{H}_{105}\text{N}_{11}\text{O}_{15}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 1302.7689; gefunden 1302.7689.

Die Kohlenstoffatome C-9 und C-22 liegen im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum unter dem DMSO-d_6 -Signal. Die quartären Carbonyl-Kohlenstoffatome C-1, C-5, C-13, C-17, C-21, C-31, C-35, C-39, C-43, C-46, C-50 können im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum nicht eindeutig zugeordnet werden.

Synthese des Tetrapeptids **164**



Verseifung des Fragments C 22:

Tripeptid **22** (38.4 mg, 92.9 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.70 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.70 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 22 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH \sim 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **162** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Boc-Entschützung des Fragments D 45:

Das Boc-geschützte Fragment D **45** (53.0 mg, 0.10 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (1.10 mL) bei RT gelöst. Danach wurde TMSI (24.8 mg, 0.12 mmol, 1.20 Äq.) hinzugegeben. Nach 15 min wurde die Reaktion durch Zugabe von CH_3OH beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt **163** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 414.2352; gefunden 414.2357.

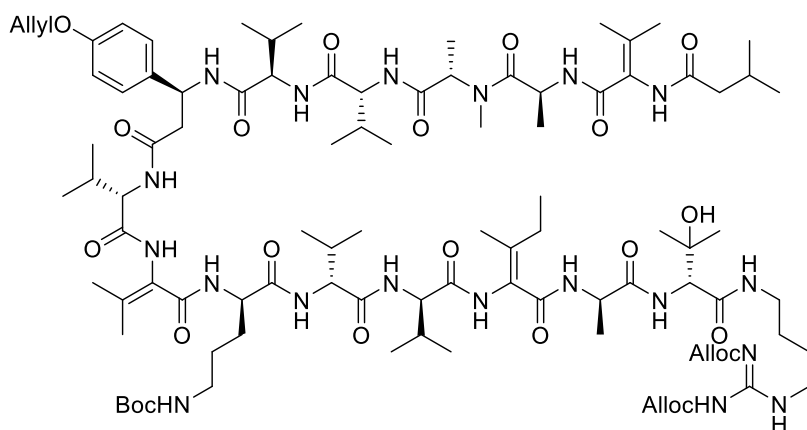
Peptidkupplung:

Säure **162** und Amin **163** (55.3 mg, 0.10 mmol, 1.10 Äq.) wurden in DMF (2.10 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurden HOAt (13.5 mg, 99.4 μmol , 1.07 Äq.), PyAOP (50.7 mg, 97.5 μmol , 1.05 Äq.) und DIPEA (55.1 mg, 0.43 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 25 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH_3OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 10:90 {5 min} \rightarrow $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ = 100:0 {85 min} \rightarrow $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min)

($t_R = 79.2$ min). Das Tetrapeptid **164** (42.9 mg, 54.0 μmol , 58% über 3 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = +13.1^\circ$ ($c = 0.74$, CH_3OH); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 6.02\text{-}5.93$ (2H, m, H-28, H-32), 5.39-5.19 (4H, m, H-29, H-33), 4.69 (2H, dd, $J = 0.7, 5.7$ Hz, H-31), 4.58 (2H, dd, $J = 1.5, 5.4$ Hz, H-27), 4.37-4.33 (2H, m, H-14, H-17), 3.91 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4), 3.39 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-24), 3.21 (2H, m, H-21), 2.49 (1H, m, H-11), 2.36 (1H, m, H-11'), 2.07 (1H, m, H-5), 1.83 (3H, s, H-10), 1.64-1.55 (4H, m, H-22, H-23), 1.47 (9H, s, H-3), 1.45 (3H, d, $J = 7.7$ Hz, H-15), 1.29 (6H, d, $J = 4.7$ Hz, H-19), 1.10 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-12), 1.01 (6H, t, $J = 6.8$ Hz, H-6) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.00$ ppm): $\delta = 175.5$ (q, C-16), 174.3 (q, C-7), 172.6 (q, C-20), 168.1 (q, C-13), 164.8 (q, C-25), 158.7 (q, C-1), 157.4 (q, C-30), 154.6 (q, C-26), 143.7 (q, C-9), 134.5 (t, C-32), 132.9 (t, C-28), 125.2 (q, C-8), 119.5 (s, C-29), 117.8 (s, C-33), 81.1 (q, C-2), 72.7 (q, C-18), 68.1 (s, C-27), 67.3 (s, C-31), 62.6 (t, C-4 o. C-17), 62.5 (t, C-4 o. C-17), 51.7 (t, C-14), 41.7 (s, C-24), 39.9 (s, C-21), 31.6 (t, C-5), 28.7 (3C, p, C-3), 28.0 (s, C-11), 27.5 (s, C-23), 27.32 (p, C-19), 27.31 (p, C-19), 27.1 (s, C-22), 19.6 (p, C-6), 19.0 (p, C-6), 18.6 (p, C-10), 17.6 (p, C-15), 13.2 (p, C-12) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{63}\text{N}_8\text{O}_{11}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 795.4616; gefunden 795.4616.

Synthese des Oligopeptids **167**



Verseifung des Decapeptids **161**:

Decapeptid **161** (1.20 mg, 0.94 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.10 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.10 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion mit Phosphatpuffer pH 7 versetzt und so das Reaktionsgemisch auf einen pH-Wert

von ~ 7 gebracht. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde über einen Spritzenfilter in CH₃OH aufgenommen und in einen Kolben überführt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt **165** wurde ohne weitere Reinigung direkt verwendet.

Boc-Entschützung des Fragments C + D 164:

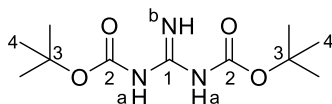
Tetrapeptid **164** (10.2 mg, 12.8 μmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (0.30 mL) bei RT gelöst. Danach wurde TMSI (5.13 mg, 25.7 μmol, 2.00 Äq.) hinzugegeben. Nach 10 min wurde die Reaktion durch Zugabe von CH₃OH beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt **166** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

Säure **165** (1.19 mg, 0.94 μmol, 1.00 Äq.) und Amin **166** (1.00 mg, 1.22 μmol, 1.10 Äq.) wurden in DMF (0.10 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurden HOAt (0.15 mg, 1.12 μmol, 1.07 Äq.), HATU (0.40 mg, 1.03 μmol, 1.05 Äq.) und DIPEA (0.61 mg, 4.68 μmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 25 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH/H₂O (1:1; 0.60 mL) aufgenommen und durch semipräparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {65 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 3.0 mL/min) (*t_R* = 71.5 min). Das Oligopeptid **167** (1.10 mg, 0.57 μmol, 60% über 3 Stufen) wurde als farbloser Film erhalten.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₉₆H₁₅₅N₁₉O₂₃ [M/2 + 2H]⁺: 972.0850; gefunden 972.0850.

Synthese von *N,N'*-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidin (170**)**



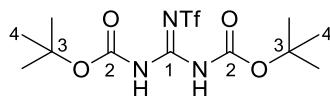
Guanidin Hydrochlorid (**37**; 4.00 g, 41.9 mmol, 1.00 Äq.) und Natriumhydroxid (6.70 g, 167 mmol, 4.00 Äq.) wurden in einem Gemisch aus 1,4-Dioxan/H₂O (2:1; 126 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde (Boc)₂O (20.1 g, 92.1 mmol, 2.20 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 21 h gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit H₂O

versetzt und anschließend mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit 10%iger Zitronensäure, H₂O, sowie einer NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 97:3) lieferte das gewünschte Produkt **170** (5.56 g, 21.4 mmol, 51%) als farblosen Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁰⁶

R_f = 0.29 (CH₂Cl₂/MeOH 97:3); **T_M** = 135 °C (Lit.¹⁰⁶: **T_M** = 144 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 10.42 (1H, brs, NH-b), 8.47 (2H, brs, NH-a), 1.41 (18H, s, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 158.5 (3C, q, C-1, C-2), 79.6 (2C, q, C-3), 27.8 (6C, p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₁H₂₂N₃O₄ [M + H]⁺: 260.1610; gefunden 260.1609.

Synthese von *N,N'*-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)-*N''*-trifluormethansulfonylguanidin (**171**)



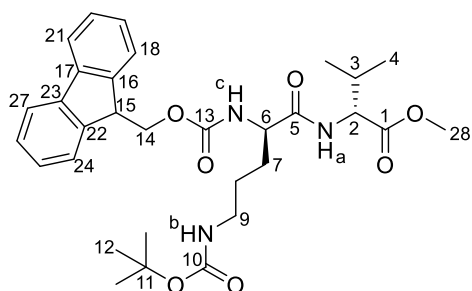
N,N'-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidin (**170**; 4.38 g, 16.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (84.4 mL) bei RT gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf -78 °C gekühlt und für 10 min gerührt. Anschließend wurde frisch destilliertes Et₃N (1.79 g, 17.7 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Es wurde Trifluormethansulfonsäureanhydrid (5.00 g, 17.7 mmol, 1.05 Äq.) unter starkem Rühren bei -78 °C hinzugegeben, sodass die Temperatur -65 °C nicht übersteigt. Die Reaktionsmischung wurde bei -78 °C → RT gerührt. Nach 6 h wurde das Reaktionsgemisch mit einer KHSO₄-Lösung (1.0 M) und H₂O gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂) ergab das gewünschte Produkt **171** (5.51 g, 14.1 mmol, 83%) als farblosen Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁰⁶

R_f = 0.74 (100% CH₂Cl₂); **T_M** = 115 °C (Lit.¹⁰⁶: **T_M** = 115 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 11.06 (2H, brs, NH), 1.46 (18H, s, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 152.3 (2C, q, C-2), 150.1 (q, C-1), 120.6 (q, d, J =

320.2 Hz, SO₂CF₃), 83.4 (2C, q, C-3), 27.5 (6C, p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₂H₂₀F₃N₃O₆SNa [M + Na]⁺: 414.0923; gefunden 414.0923.

Synthese von Methyl-[(R)-2-[[[(9H-fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl]amino]-5-[(tert-butoxycarbonyl)amino]pentanoyl]-D-valinat (175)

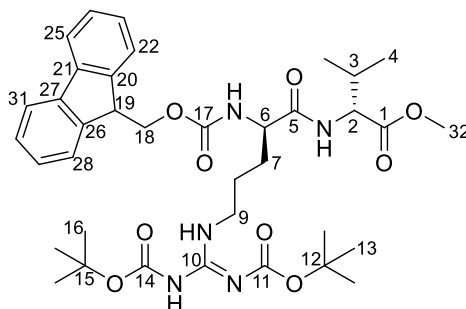


Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (**131**; 500 mg, 1.10 mmol, 1.00 Äq.) und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 221 mg, 1.32 mmol, 1.20 Äq.) wurden in CH₂Cl₂ (50.0 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (225 mg, 1.65 mmol, 1.50 Äq.), EDC·HCl (316 mg, 1.65 mmol, 1.50 Äq.) und NaHCO₃ (490 mg, 5.50 mmol, 5.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 97:3) ergab das gewünschte Dipeptid **175** (615 mg, 1.08 mmol, 98%) als farblosen Schaum.

$R_f = 0.24$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1); $[\alpha]_D^{20} = -1.8^\circ$ ($c = 1.44$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.76$ (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-21, H-27), 7.60 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-18, H-24), 7.40 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-20, H-26), 7.30 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-19, H-25), 6.69 (1H, brs, NH-a), 5.62 (1H, brs, NH-c), 4.70 (1H, brs, NH-b), 4.51 (1H, dd, $J = 6.5, 8.9$ Hz, H-2), 4.41-4.35 (3H, m, H-6, H-14), 4.22 (1H, t, $J = 7.00$ Hz, H-15), 3.72 (3H, s, H-28), 3.28 (1H, m, H-9), 3.11 (1H, m, H-9'), 2.19 (1H, m, H-3), 1.90 (1H, m, H-7), 1.69-1.52 (3H, m, H-7', H-8), 1.44 (9H, s, H-12), 0.92 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.3$ (q, C-1), 172.0 (q, C-5), 156.7 (q, C-13), 156.4 (q, C-10), 144.0 (q, C-15 o. C-22), 143.9 (q, C-15 o. C-22), 141.5 (q, C-17 o. C-23), 141.4 (q, C-17 o. C-23), 127.9 (2C, t, C-19 o. C-20 o. C-25 o. C-26), 127.2 (2C, t, C-19 o. C-20 o. C-25 o. C-26), 125.3 (2C, t, C-18, C-24), 120.12 (t, C-21 o. C-27), 120.10 (t, C-21 o. C-27), 79.5 (q, C-11), 67.2 (s, C-14), 57.5 (t, C-2), 54.0 (t, C-6), 52.3 (p, C-28), 47.3 (t, C-15), 31.0 (t, C-3), 30.1 (s, C-7), 28.6 (3C, p, C-12), 26.5 (s, C-8), 19.2 (p, C-4), 18.0 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₃₁H₄₁N₃O₇Na [M + Na]⁺: 590.2842; gefunden 590.2841.

Das Kohlenstoffatom C-9 ist im ^{13}C -NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl-(*E*)- N^2 -{[(9*H*-fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl}- $N^{\omega},N^{\omega'}$ -bis(*tert*-butoxycarbonyl)-D-arginyl-D-valinat (176**)**



Boc-Entschützung:

Dipeptid **175** (260 mg, 0.46 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (4.60 mL) bei 0 °C gelöst. Danach wurde TFA (2.61 g, 22.9 mmol, 50.0 Äq.) hinzuge tropft. Nach 2.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe einer NaHCO_3 -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

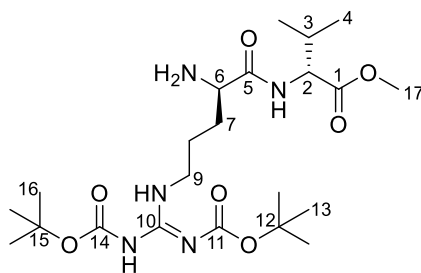
Amidinierung:

Das Rohprodukt wurde in CH_2Cl_2 (4.60 mL) bei RT gelöst. Es wurden NaHCO_3 (204 mg, 2.29 mmol, 5.00 Äq.) und das Guanidinderivat **171** (179 mg, 0.46 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5 d bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1 \rightarrow $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) lieferte das gewünschte Produkt **176** (175 mg, 0.25 mmol, 54% über 2 Stufen) als farblosen Schaum.

$R_f = 0.65$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 95:5); $[\alpha]_D^{20} = -2.2^\circ$ ($c = 0.87$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 7.75$ (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-25, H-31), 7.63 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-22, H-28), 7.36 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-24, H-30), 7.27 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-23, H-29), 4.40-4.31 (3H, m, H-2, H-20), 4.24-4.17 (2H, m, H-6, H-19), 3.68 (3H, s, H-32), 3.37 (2H, m, H-9), 2.13 (1H, m, H-3), 1.80 (1H, m, H-7), 1.70-1.59 (3H, m, H-7', H-8), 1.49 (9H, s, H-13 o. H-16), 1.46 (9H, s, H-13 o. H-16), 0.93 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD ,

CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 174.8 (q, C-1), 173.3 (q, C-5), 164.4 (q, C-10), 158.3 (q, C-17), 157.6 (q, C-11 o. C-14), 154.1 (q, C-11 o. C-14), 145.3 (q, C-20 o. C-26), 145.1 (q, C-20 o. C-26), 142.6 (q, C-21 o. C-27), 142.5 (q, C-21 o. C-27), 128.7 (2C, t, C-23 o. C-24 o. C-29 o. C-30), 128.1 (2C, t, C-23 o. C-24 o. C-29 o. C-30), 126.2 (2C, t, C-22, C-28), 120.9 (2C, t, C-25, C-31), 84.4 (q, C-12 o. C-15), 80.4 (q, C-12 o. C-15), 67.8 (s, C-18), 59.1 (t, C-2), 55.8 (t, C-6), 52.5 (p, C-32), 48.4 (t, C-19), 41.3 (s, C-9), 31.7 (t, C-3), 30.5 (s, C-7), 28.6 (3C, p, C-13 o. C-16), 28.2 (3C, p, C-13 o. C-16), 26.7 (s, C-8), 19.5 (p, C-4), 18.5 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₃₇H₅₂N₅O₉ [M + H]⁺: 710.3765; gefunden 710.3764.

Synthese von Methyl-(*E*)-*N*^ω,*N*^{ω'}-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-D-arginyl-D-valinat (**177**)

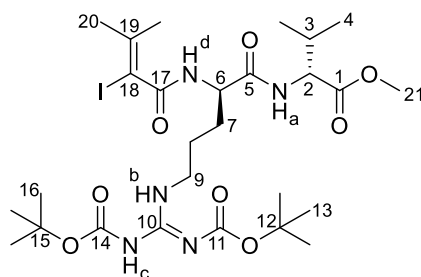


Dipeptid **176** (106 mg, 0.15 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (11.0 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde Tris(2-aminoethyl)amin (1.10 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 3 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O beendet. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit H₂O (2x) gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen mit einer NaCl-Lösung gewaschen, sowie über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2 → CH₂Cl₂/CH₃OH 96:4 → CH₂Cl₂/CH₃OH 94:6) ergab das gewünschte Amin **177** (65.5 mg, 0.13 mmol, 90%) als farbloses Öl.

R_f = 0.58 (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1); $[\alpha]_D^{20}$ = -1.4° (c = 1.31, CH₃OH); **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 4.33 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-2), 3.72 (3H, s, H-17), 3.45-3.37 (3H, m, H-6, H-9), 2.17 (1H, m, H-3), 1.76-1.59 (4H, m, H-7, H-8), 1.52 (9H, s, H-13 o. H-16), 1.47 (9H, s, H-13 o. H-16), 0.97 (6H, d, J = 6.6 Hz, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 177.6 (q, C-5), 173.4 (q, C-1), 164.6 (q, C-10), 157.6 (q, C-11 o. C-14), 154.1 (q, C-11 o. C-14), 84.4 (q, C-12 o. C-15), 80.3 (q, C-12 o. C-15), 59.1 (t, C-2), 55.4 (t, C-6), 52.5 (p, C-17), 41.4 (s, C-9), 33.7 (t, C-3), 31.7 (s, C-7), 28.6 (3C, p, C-13 o.

C-16), 28.2 (3C, p, C-13 o. C-16), 26.3 (s, C-8), 19.5 (p, C-4), 18.5 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{22}H_{42}N_5O_7$ $[M + H]^+$: 488.3084; gefunden 488.3081.

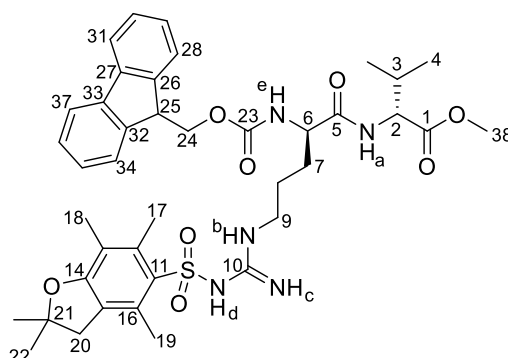
Synthese von Methyl-(*E*)- $N^{\omega},N^{\omega'}$ -bis(*tert*-butoxycarbonyl)- N^2 -(2-iod-3-methylbut-2-enyl)-D-arginyl-D-valinat (174**)**



Vinyliodid **79** (64.2 mg, 0.28 mmol, 1.20 Äq.) und Amin **177** (100 mg, 0.26 mmol, 1.00 Äq.) wurden in DMF (2.60 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (37.6 mg, 0.28 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (141 mg, 0.27 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (153 mg, 1.18 mmol, 4.59 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH_4Cl -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (7x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer $NaCl$ -Lösung gewaschen und anschließend über $MgSO_4$ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1 → PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Vinyliodid **174** (108 mg, 0.15 mmol, 60%) als farbloses Öl.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 11.47$ (1H, s, NH-c), 8.41 (1H, s, NH), 6.62 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, NH), 6.43 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, NH), 4.51 (2H, m, H-2, H-6), 3.74 (3H, s, H-21), 3.48 (2H, m, H-9), 2.18 (1H, m, H-3), 2.03 (3H, s, H-20), 2.00 (3H, s, H-20), 1.98 (1H, m, H-7), 1.77-1.59 (3H, m, H-7', H-8), 1.49 (18H, s, H-13, H-16), 0.95-0.92 (6H, m, H-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{27}H_{47}IN_5O_8$ $[M + H]^+$: 696.2469; gefunden 696.2458.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

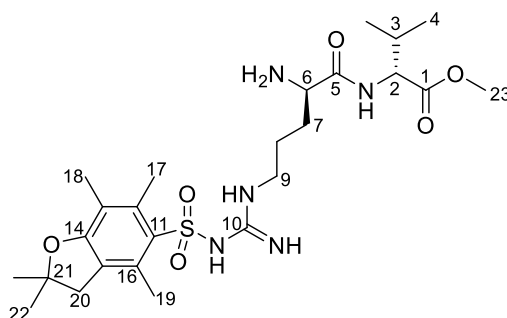
Synthese von Methyl-*N*²-[[*(9H*-fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl]-*N*^ω-[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)sulfonyl]-*D*-arginyl-*D*-valinat (179**)**

Fmoc-*D*-Arg(Pbf)-OH (**178**; 2.00 g, 3.08 mmol, 1.00 Äq.) und *D*-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 620 mg, 3.70 mmol, 1.20 Äq.) wurden in CH₂Cl₂ (140 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (629 mg, 4.62 mmol, 1.50 Äq.), EDC·HCl (886 mg, 4.62 mmol, 1.50 Äq.) und NaHCO₃ (1.37 g, 15.4 mmol, 5.00 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 97:3 → CH₂Cl₂/CH₃OH 96:4) lieferte das gewünschte Dipeptid **179** (2.53 g, verunreinigt mit *D*-Val-OMe) als farblosen Schaum. Das Produkt **179** wurde direkt weiter verwendet.

R_f = 0.20 (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.71 (2H, d, *J* = 7.3 Hz, H-31, H-37), 7.54 (2H, d, *J* = 7.3 Hz, H-28, H-34), 7.34 (3H, t, *J* = 7.3 Hz, H-30, H-36, NH-a), 7.21 (2H, t, *J* = 7.3 Hz, H-29, H-35), 6.40 (2H, s, NH), 6.24 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, NH-e), 4.40 (2H, m, H-2, H-6), 4.30 (2H, m, H-24), 4.12 (1H, m, H-25), 3.64 (3H, s, H-38), 3.24 (2H, m, H-9), 2.88 (2H, s, H-20), 2.58 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.50 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.11 (1H, m, H-3), 2.05 (3H, s, H-18), 1.90 (1H, m, H-7), 1.75 (1H, m, H-7'), 1.61 (2H, m, H-8), 1.40 (6H, s, H-22), 0.86 (6H, m, H-4) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₄₀H₅₁N₅O₈SNa [M + Na]⁺: 784.3356; gefunden 784.3350.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

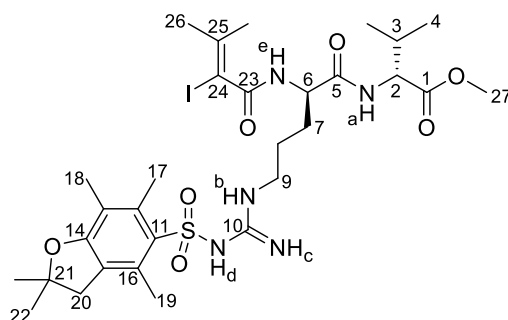
Synthese von Methyl-*N*^ω-[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)sulfonyl]-*D*-arginyl-*D*-valinat (**180**)



Dipeptid **179** (800 mg, 1.05 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (70.0 mL) bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde Tris(2-aminoethyl)amin (7.00 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 2.5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O beendet. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit H₂O (2x) gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen mit einer NaCl-Lösung gewaschen, sowie über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2 → CH₂Cl₂/CH₃OH 96:4 → CH₂Cl₂/CH₃OH 94:6 → CH₂Cl₂/CH₃OH 92:8 → CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1) ergab das gewünschte Amin **180** (535 mg, 0.99 mmol, 94% über 2 Stufen) als farblosen Schaum.

$R_f = 0.33$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1); $[\alpha]_D^{20} = +1.4^\circ$ ($c = 1.03$, CH₃OH); **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 4.31$ (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-2), 3.70 (3H, s, H-23), 3.40 (1H, m, H-6), 3.17 (2H, m, H-9), 2.99 (3H, s, H-20), 2.57 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.51 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.15 (1H, m, H-3), 2.08 (3H, s, H-18), 1.67 (1H, m, H-7), 1.54 (3H, m, H-7', H-8), 1.45 (6H, s, H-22), 0.95 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 177.5$ (q, C-5), 173.5 (q, C-1), 159.8 (q, C-14), 158.0 (q, C-10), 139.4 (q, C-11), 134.4 (q, C-12 o. C-13 o. C-16), 133.5 (q, C-15), 126.0 (q, C-12 o. C-13 o. C-16), 118.4 (q, C-12 o. C-13 o. C-16), 87.6 (q, C-21), 59.1 (t, C-2), 55.3 (t, C-6), 52.5 (p, C-23), 43.9 (s, C-20), 41.7 (s, C-9), 33.5 (t, C-3), 31.7 (s, C-7), 28.7 (2C, p, C-22), 26.6 (s, C-8), 19.6 (p, C-4 o. C-17 o. C-19), 19.5 (p, C-4 o. C-17 o. C-19), 18.5 (p, C-4 o. C-17 o. C-19), 18.4 (p, C-4 o. C-17 o. C-19), 12.5 (p, C-18) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₅H₄₂N₅O₆S [M + H]⁺: 540.2856; gefunden 540.2855.

Synthese von Methyl-*N*²-(2-iod-3-methylbut-2-enoyl)-*N*^ω-[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)sulfonyl]-*D*-arginyl-*D*-valinat (**181**)



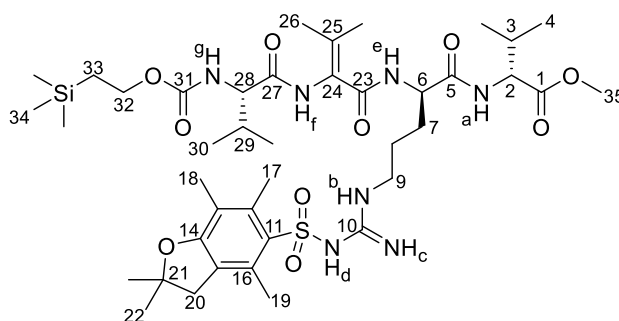
Vinyliodid **79** (114 mg, 0.50 mmol, 1.20 Äq.) und Amin **180** (227 mg, 0.42 mmol, 1.00 Äq.) wurden in DMF (4.20 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden HOAt (61.2 mg, 0.45 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (230 mg, 0.44 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Anschließend wurde DIPEA (249 mg, 1.93 mmol, 4.59 Äq.) hinzugetropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 2:1 → PE/EtOAc 1:1 → 100% EtOAc → EtOAc/CH₃OH 20:1) lieferte das gewünschte Vinyliodid **181** (250 mg, 0.33 mmol, 80%) als farbloses Öl.

$R_f = 0.11$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = +10.8^\circ$ ($c = 1.02$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.37$ (1H, d, $J = 7.9$ Hz, NH-a), 7.07 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, NH-e), 6.34 (2H, s, NH-b, NH-d), 4.62 (1H, m, H-6), 4.38 (1H, dd, $J = 5.5, 7.9$ Hz, H-2), 3.69 (3H, s, H-27), 3.27 (2H, brm, H-9), 2.94 (2H, s, H-20), 2.56 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.49 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.14 (1H, m, H-3), 2.08 (3H, s, H-18), 1.99 (1H, m, H-7), 1.96 (3H, s, H-26), 1.91 (3H, s, H-26), 1.79 (1H, m, H-7'), 1.63 (2H, m, H-8), 1.45 (6H, s, H-22), 0.90 (6H, m, H-4) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.4$ (q, C-1), 171.9 (q, C-5), 168.2 (q, C-23), 158.9 (q, C-14), 156.5 (q, C-10), 145.2 (q, C-25), 138.5 (q, C-11), 132.9 (q, C-12 o. C-13 o. C-15 o. C-16), 132.4 (q, C-12 o. C-13 o. C-15 o. C-16), 124.7 (q, C-12 o. C-13 o. C-16), 117.6 (q, C-12 o. C-13 o. C-16), 86.5 (q, C-21), 86.3 (q, C-24), 58.1 (t, C-2), 53.3 (t, C-6), 52.3 (p, C-27), 43.4 (s, C-20), 40.8 (s, C-9), 30.7 (t, C-3), 29.71 (s, C-7), 29.66 (p, C-26), 28.7 (2C, p, C-22), 25.5 (s, C-8), 22.0 (p, C-26), 19.5 (p, C-17 o. C-19), 19.2 (p, C-4), 18.3 (p,

C-4), 18.1 (p, C-17 o. C-19), 12.6 (p, C-18) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{30}H_{46}IN_5O_7SNa$ $[M + Na]^+$: 770.2060; gefunden 770.2052.

Das Proton NH-c ist im 1H -NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl- N^2 -(3-methyl-2-[(*S*)-3-methyl-2-[[2-(trimethylsilyl)ethoxy]-carbonyl]amino]butanamido]but-2-enoyl)- N^{ω} -[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)sulfonyl]-D-arginyl-D-valinat (184**)**



Teoc-L-Val-NH₂ (**143**; 43.5 mg, 0.17 mmol, 1.00 Äq.) und Vinyljodid **181** (250 mg, 0.33 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 1,4-Dioxan (entgast; 0.17 mL) bei RT gelöst. Es wurden K₂CO₃ (46.2 mg, 0.33 mmol, 2.00 Äq.), CuI (19.1 mg, 0.10 mmol, 0.60 Äq.) und *trans*-*N,N*-Dimethyl-1,2-cyclohexandiamin (96.3 mg, 0.68 mmol, 4.05 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt. Nach 18 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NH₄Cl-Lösung beendet. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 85.5 min). Das Tetrapeptid **184** (3.70 mg, 4.20 μmol, 2.5%) wurde als farbloser Film erhalten.

Das Produkt **184** konnte nicht analysenrein erhalten werden.

1H -NMR (500 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.16 (1H, s, NH-f), 7.22 (1H, m, NH-a), 7.13 (1H, m, NH-e), 6.34 (2H, brs, NH-b, NH-d), 5.32 (1H, m, NH-g), 4.50 (1H, m, H-6), 4.37 (1H, m, H-2), 4.17 (1H, m, H-32), 4.06 (1H, m, H-32'), 4.01 (1H, m, H-28), 3.70 (3H, s, H-35), 3.21 (2H, m, H-9), 2.95 (2H, s, H-20), 2.57 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.51 (3H, s, H-17 o. H-19), 2.16 (2H, m, H-3, H-29), 2.09 (6H, s, H-18, H-26), 1.98 (1H, m, H-7), 1.80 (3H, s, H-26), 1.70-

5 Experimenteller Teil

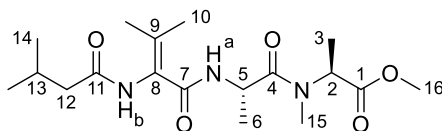
1.63 (3H, m, H-7', H-8), 1.46 (6H, s, H-22), 1.03-0.90 (14H, m, H-4, H-30, H-33), 0.02 (9H, s, H-34) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{41}H_{69}N_7O_{10}SSiNa$ $[M + Na]^+$: 902.4494; gefunden 902.4488.

Das Proton NH-c ist im 1H -NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

5.3 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.2¹⁴⁹

Synthese von Methyl-*N*-Methyl-*N*-{[3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-2-enoyl]-*L*-alanyl}-*L*-alaninat (**189**)



Verseifung:

Dehydropeptid **27** (30.0 mg, 0.11 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.50 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.50 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und danach mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

Das Rohprodukt und *N*-Methyl-*L*-Alaninmethylester Hydrochlorid (**191**; 21.1 mg, 0.14 mmol, 1.30 Äq.) wurden bei RT in DMF (0.57 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (15.4 mg, 0.11 mmol, 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde HATU (42.1 mg, 0.11 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (62.6 mg, 0.48 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzugegossen. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 20:80 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 20:80 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 25:75 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 30:70 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 60:40 {40 min} → CH₃OH/H₂O = 60:40 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 80:20 {5 min} →

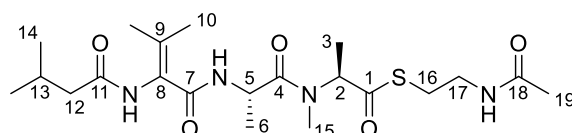
¹⁴⁹ Die in diesem Kapitel dargestellten Thioester wurden als Rotamerengemische erhalten; so war im ¹³C-NMR-Spektrum ein doppelter Signalsatz zu erkennen. In einigen Fällen lagen auch Di- bzw. Tripeptide als Rotamerengemische vor. Das Auftreten von Rotameren bei peptidischen Thioestern ist nicht ungewöhnlich und wurde bspw. von B. H. Rotstein, D. J. Winternheimer, L. M. Yin, C. M. Deber, A. K. Yudin, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 3775-3777 beschrieben.

CH₃OH/H₂O = 100:0 { 5 min } → CH₃OH/H₂O = 100:0 { 10 min }, 15.0 mL/min) (*t_R* = 52.8 min). Das gewünschte Tripeptid **189** (24.7 mg, 66.9 μmol, 63% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **189** wurde als *E/Z*-Isomerengemisch (Verhältnis 1:1) erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -26.0^\circ$ (*c* = 1.06, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.07 (4H, brm, 2NH-a, 2NH-b), 5.21 (1H, q, *J* = 7.3 Hz, H-2), 5.01 (1H, q, *J* = 7.3 Hz, H-2), 4.93 (2H, m, 2H-5), 3.69 (6H, s, 2H-16), 3.02 (3H, s, H-15), 3.00 (3H, s, H-15), 2.20-2.10 (6H, m, 2H-12, 2H-13), 2.00 (6H, s, 2H-10), 1.73 (6H, s, 2H-10), 1.41 (6H, m, 2H-3), 1.33 (6H, m, 2H-6), 0.98-0.96 (12H, brd, *J* = 6.1 Hz, 2H-14) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.9 (q, C-1), 172.8 (q, C-1), 172.2 (q, C-4), 172.12 (q, C-4), 172.08 (q, C-11), 171.8 (q, C-11), 165.6 (q, C-7), 165.5 (q, C-7), 137.8 (q, C-8), 137.7 (q, C-8), 124.7 (q, C-9), 124.7 (q, C-9), 53.3 (2C, t, C-2), 52.5 (p, C-16), 52.4 (p, C-16), 45.99 (t, C-5), 45.96 (t, C-5), 45.63 (s, C-12), 45.60 (s, C-12), 32.0 (p, C-15), 31.2 (p, C-15), 26.4 (t, C-13), 26.3 (t, C-13), 22.62 (2C, p, C-14), 22.60 (2C, p, C-14), 21.1 (p, C-10), 21.0 (p, C-10), 20.8 (p, C-10), 20.7 (p, C-10), 18.3 (p, C-6), 18.0 (p, C-6), 14.5 (p, C-3), 14.3 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₈H₃₁N₃O₅Na [M + Na]⁺: 392.2161; gefunden 392.2162.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(*S*)-2-[(*S*)-*N*-methyl-2-[3-methyl-2-(3-methylbutan-amido)but-2-enamido]propanamido]propanthioat (**190**)



Verseifung:

Dehydrotri-peptid **189** (24.7 mg, 66.9 μmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.50 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.50 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde die wässrige Phase mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (6x) und EtOAc/CH₃OH (10:1; 4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

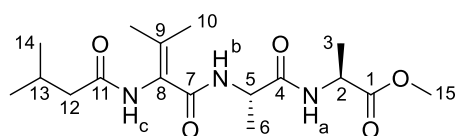
Thioesterbildung:

Das Rohprodukt wurde in DMF (0.31 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden EDC·HCl (15.4 mg, 80.3 µmol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 9.55 mg, 80.3 µmol, 1.20 Äq.) und DMAP (9.79 mg, 80.3 µmol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 20:80 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 20:80 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 25:75 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 30:70 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 60:40 {40 min} → CH₃OH/H₂O = 60:40 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 80:20 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 53.0 min). Der gewünschte SNAC-Ester **190** (12.7 mg, 27.8 µmol, 42% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **190** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -1.7^\circ$ (*c* = 0.60, CH₃OH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 5.20 (1H, q, *J* = 7.1 Hz, H-2), 4.92 (3H, m, H-2, H-5), 3.31 (4H, m, 2H-17), 3.14 (3H, s, H-15), 3.07 (3H, s, H-15), 3.00 (4H, m, 2H-16), 2.20-2.16 (4H, m, 2H-12), 2.10 (2H, m, 2H-13), 2.00 (6H, s, 2H-10), 1.91 (6H, s, 2H-19), 1.78 (6H, s, 2H-10), 1.42-1.34 (12H, m, 2H-3, 2H-6), 0.99-0.98 (12H, m, 2H-14) ppm; ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 200.4 (q, C-1), 199.9 (q, C-1), 175.0 (q, C-4 o. C-11), 174.92 (q, C-4 o. C-11), 174.91 (q, C-4 o. C-11), 174.8 (q, C-4 o. C-11), 173.5 (q, C-18), 167.81 (q, C-7), 167.75 (q, C-7), 137.8 (q, C-8), 137.7 (q, C-8), 126.09 (q, C-9), 126.07 (q, C-9), 62.8 (t, C-2), 61.2 (t, C-2), 47.2 (t, C-5), 47.1 (t, C-5), 45.80 (s, C-12), 45.78 (s, C-12), 40.0 (s, C-17), 39.9 (s, C-17), 33.5 (p, C-15), 32.1 (p, C-15), 29.1 (s, C-16), 29.0 (s, C-16), 27.4 (2C, t, C-13), 22.90 (p, C-14), 22.87 (p, C-14), 22.53 (p, C-19), 22.50 (p, C-19), 20.9 (p, C-10), 20.85 (p, C-10), 20.76 (p, C-10), 17.4 (p, C-6), 17.3 (p, C-6), 14.0 (p, C-3), 13.9 (p, C-3) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₁H₃₆N₄O₅SNa [M + Na]⁺: 479.2304; gefunden 479.2301.

Synthese von Methyl-[3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-2-enoyl]-L-alanyl-L-alaninat (192)



Verseifung:

Dehydropeptid **27** (23.0 mg, 80.9 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.36 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.36 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 16 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH \sim 2 angesäuert und danach mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

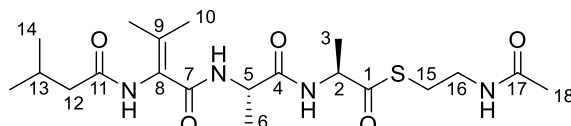
Peptidkupplung:

Das Rohprodukt und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 14.7 mg, 0.11 mmol, 1.30 Äq.) wurden bei RT in DMF (0.44 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (11.8 mg, 86.7 μmol , 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde PyAOP (44.3 mg, 85.1 μmol , 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (48.1 mg, 0.37 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH_3OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 10:90 {5 min} \rightarrow $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ = 100:0 {85 min} \rightarrow 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 45.5 min). Das gewünschte Tripeptid **192** (15.4 mg, 43.3 μmol , 53% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -55.7^\circ$ ($c = 0.92$, CH_2Cl_2); **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.42$ (2H, m, NH-a, NH-c), 6.58 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, NH-b), 4.55 (1H, dq, $J = 7.3$ Hz, H-5), 4.49 (1H, dq, $J = 7.3$ Hz, H-2), 3.71 (3H, s, H-15), 2.17-2.08 (3H, m, H-12, H-13), 1.93 (3H, s, H-10), 1.75 (3H, s, H-10), 1.43 (6H, d, $J = 7.3$ Hz, H-3, H-6), 0.97 (6H, d, $J = 6.4$ Hz, H-14) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.2$ (q, C-1), 172.9 (q, C-4), 171.9 (q, C-11), 166.7 (q, C-7), 134.5 (q, C-8), 125.6 (q, C-9), 52.4 (p, C-15), 49.1 (t, C-5), 48.5 (t,

C-2), 45.3 (s, C-12), 26.3 (t, C-13), 22.6 (p, C-14), 22.5 (p, C-14), 20.5 (p, C-10), 20.1 (p, C-10), 17.6 (2C, p, C-3, C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{17}H_{29}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$: 378.2005; gefunden 378.2004.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(*S*)-2-[(*S*)-2-[3-methyl-2-(3-methylbutanamido)but-2-enamido]propanamido]propanthioat (**193**)



Verseifung:

Dehydrotripeptid **192** (15.4 mg, 43.3 μ mol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.21 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.21 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 16 h wurde die wässrige Phase mit HCl (1.0 M) auf pH \sim 2 angesäuert. Danach wurde die wässrige Phase mit EtOAc (6x) und EtOAc/CH₃OH (10:1; 4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

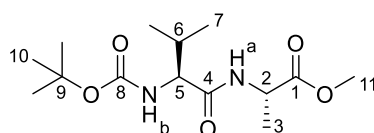
Das Rohprodukt wurde in DMF (0.20 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden EDC·HCl (9.96 mg, 52.0 μ mol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 6.19 mg, 52.0 μ mol, 1.20 Äq.) und DMAP (6.35 mg, 52.0 μ mol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 24 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {10 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {80 min} \rightarrow 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 49.0 min). Der gewünschte SNAC-Ester **193** (9.10 mg, 20.6 μ mol, 47% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **193** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -54.3^\circ$ ($c = 0.75$, CH₃OH); **¹H-NMR** (500 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 4.53$ - 4.38 (2H, m, H-2, H-5), 3.30 (2H, m, H-16), 2.97 (2H, m, H-15), 2.20- 2.17 (2H, m, H-12), 2.08 (1H, m, H-13), 1.93 (3H, s, H-10), 1.91 (3H, s, H-18), 1.80 (3H, s, H-10), 1.45- 1.42 (6H,

m, H-3, H-6), 0.97 (6H, m, H-14) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.00$ ppm): $\delta = 202.7$ (q, C-1), 202.6 (q, C-1), 175.19 (q, C-4), 175.18 (q, C-4), 174.54 (q, C-11), 174.45 (q, C-11), 173.42 (q, C-17), 173.41 (q, C-17), 168.8 (q, C-7), 168.5 (q, C-7), 133.5 (q, C-8), 132.9 (q, C-8), 127.02 (q, C-9), 126.99 (q, C-9), 57.0 (t, C-2), 56.9 (t, C-2), 50.7 (t, C-5), 50.2 (t, C-5), 45.58 (s, C-12), 45.57 (s, C-12), 40.01 (s, C-16), 39.95 (s, C-16), 28.9 (s, C-15), 28.8 (s, C-15), 27.33 (t, C-13), 27.31 (t, C-13), 22.92 (p, C-14), 22.87 (p, C-14), 22.86 (p, C-14), 22.8 (p, C-14), 22.51 (2C, p, C-18), 20.53 (p, C-10), 20.52 (p, C-10), 20.3 (p, C-10), 20.2 (p, C-10), 17.5 (p, C-3 o. C-6), 17.4 (p, C-3 o. C-6), 17.33 (p, C-3 o. C-6), 17.29 (p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5\text{SNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 465.2148; gefunden 465.2149.

Synthese von Methyl-(tert-butoxycarbonyl)-L-valyl-L-alaninat (**194**)

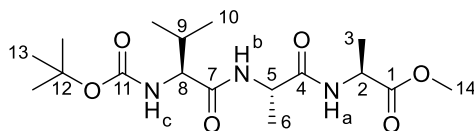


Boc-L-Valin (**49**; 500 mg, 2.30 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 353 mg, 2.53 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH_2Cl_2 (250 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (466 mg, 3.45 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (551 mg, 2.88 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (446 mg, 3.45 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugetropt. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1) lieferte das Dipeptid **194** (695 mg, 2.30 mmol, quant.) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.44$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2); $T_M = 95 - 98$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -12.1^\circ$ ($c = 1.03$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.38$ (1H, brd, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 5.05 (1H, brd, $J = 7.5$ Hz, NH-b), 4.59 (1H, dq, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.92 (1H, m, H-5), 3.75 (3H, s, H-11), 2.13 (1H, m, H-6), 1.45 (9H, s, H-10), 1.41 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 0.97 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-7), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-7) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.3$ (q, C-1), 171.2 (q, C-4), 60.0 (t, C-5), 52.6 (p, C-11), 48.1 (t, C-2), 31.1 (t, C-6), 28.5 (3C, p, C-10), 19.3 (p, C-7), 18.6 (p, C-7), 17.8 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 325.1739; gefunden 325.1743.

Die quartären Kohlenstoff-Atome C-8 und C-9 sind im ^{13}C -NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valyl-L-alanyl-L-alaninat (**195**)



Verseifung:

Dipeptid **194** (664 mg, 2.20 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (3.50 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 3.50 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 6 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und anschließend mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

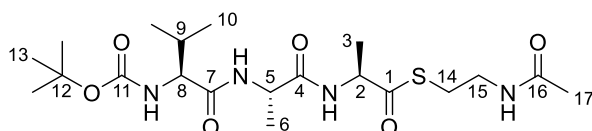
Peptidkupplung:

Das Rohprodukt und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 337 mg, 2.42 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (240 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (445 mg, 3.30 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (526 mg, 2.75 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (426 mg, 3.30 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das Tripeptid **195** (820 mg, 2.20 mmol, quant. über 2 Stufen) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.48$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 144 - 146$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -41.5^\circ$ ($c = 1.19$, CH₂Cl₂); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.12$ (1H, d, $J = 7.5$ Hz, NH-a), 6.94 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, NH-b), 5.29 (1H, brd, $J = 6.5$ Hz, NH-c), 4.56 (2H, m, H-2, H-5), 3.98 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-8), 3.72 (3H, s, H-14), 2.09 (1H, m, H-9), 1.41 (9H, s, H-13), 1.38-1.35 (6H, m, H-3, H-6), 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-10), 0.89 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-10) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 173.2$ (q, C-1), 171.9 (q, C-4), 171.8 (q, C-7), 156.1 (q, C-11), 80.0 (q, C-12), 59.9 (t, C-8), 52.5 (p, C-14), 48.8 (t, C-5), 48.2 (t, C-2), 31.2 (t, C-9), 28.4 (3C,

p, C-13), 19.4 (p, C-10), 18.3 (p, C-10), 18.1 (p, C-6), 17.8 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{17}H_{31}N_3O_6Na$ $[M + Na]^+$: 396.2111; gefunden 396.2111.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(6*S*,9*S*,12*S*)-6-isopropyl-2,2,9,12-tetramethyl-4,7,10-trioxo-3-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-thioat (196**)**



Verseifung:

Tripeptid **195** (150 mg, 0.40 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (4.00 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 4.00 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 6 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und anschließend mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

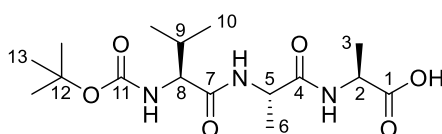
Die erhaltene Säure wurde bei 0 °C in DMF (1.70 mL) gelöst. Es wurden EDC·HCl (92.4 mg, 0.48 mmol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 57.4 mg, 0.48 mmol, 1.20 Äq.) und DMAP (58.9 mg, 0.48 mmol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 49.5 min). Der SNAC-Ester **196** (100 mg, 0.22 mmol, 54% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **196** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20}$ = -60.6° (c = 1.15, CH₃OH); **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 8.13 (brm, NH), 4.53-4.42 (2H, m, H-2, H-5), 3.91 (1H, m, H-8), 3.32 (2H, m, H-15), 3.00 (2H, m, H-14), 2.06 (1H, m, H-9), 1.93 (3H, s, H-17), 1.46 (9H, s, H-13), 1.45-1.39 (6H, m, H-3, H-6), 1.00-0.93 (6H, m, H-10) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ =

202.4 (q, C-1), 202.2 (q, C-1), 174.8 (q, C-7), 174.6 (q, C-7), 174.2 (q, C-4), 174.1 (q, C-4), 173.4 (2C, q, C-16), 158.2 (q, C-11), 158.0 (q, C-11), 80.8 (q, C-12), 80.6 (q, C-12), 61.8 (t, C-8), 61.3 (t, C-8), 56.7 (t, C-2), 56.6 (t, C-2), 50.3 (t, C-5), 50.1 (t, C-5), 40.0 (s, C-15), 39.9 (s, C-15), 32.1 (t, C-9), 31.8 (t, C-9), 28.9 (s, C-14), 28.8 (s, C-14), 28.7 (6C, p, C-13), 22.54 (p, C-17), 22.52 (p, C-17), 19.8 (2C, p, C-10), 18.41 (p, C-10), 18.37 (p, C-10), 18.0 (p, C-3 o. C-6), 17.9 (p, C-3 o. C-6), 17.8 (p, C-3 o. C-6), 17.7 (p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{20}H_{36}N_4O_6SNa$ $[M + Na]^+$: 483.2253; gefunden 483.2250.

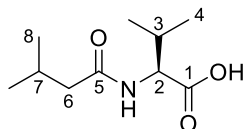
Synthese von (*tert*-Butoxycarbonyl)-L-valyl-L-alanyl-L-alanin (**198**)



SNAC-Thioester **196** (42.7 mg, 92.7 μ mol, 1.00 Äq.) wurde bei 0 °C in CH_2Cl_2 (0.92 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde tropfenweise mit TFA (532 mg, 4.64 mmol, 50.0 Äq.) versetzt und bei 0 °C gerührt. Nach 2.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer $NaHCO_3$ -Lösung beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH_3OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH_3OH/H_2O 10:90 {5 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 20:80 {5 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 20:80 {10 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 25:75 {5 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 30:70 {5 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 60:40 {40 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 60:40 {10 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 80:20 {5 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 100:0 {5 min} \rightarrow CH_3OH/H_2O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 58.0 min). Die Säure **198** (6.10 mg, 17.0 μ mol, 18%) wurde als farbloses Öl erhalten.

1H -NMR (200 MHz, CD_3OD , CD_3OH = 3.31 ppm): δ = 4.46-4.30 (2H, m, H-2, H-5), 3.89 (1H, m, H-8), 2.04 (1H, m, H-9), 1.45 (9H, s, H-13), 1.41-1.36 (6H, m, H-3, H-6), 0.98-0.90 (6H, m, H-10) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{16}H_{29}N_3O_6Na$ $[M + Na]^+$: 382.1954; gefunden 382.1952.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

Synthese von (3-Methylbutanoyl)-L-valin (201)*Peptidkupplung:*

3-Methylbutansäureanhydrid (**202**; 167 mg, 0.89 mmol, 1.50 Äq.) und L-Valinmethylester Hydrochlorid (**24**; 100 mg, 0.60 mmol, 1.00 Äq.) wurden bei 0 °C in CH₂Cl₂ (20.0 mL) gelöst. Anschließend wurde DIPEA (308 mg, 2.39 mmol, 4.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 24 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt **200** wurde direkt ohne weitere Reinigung verwendet.

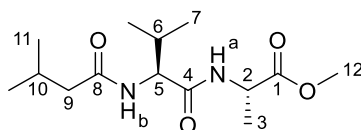
HRMS (ESI): m/z berechnet für C₁₁H₂₂NO₃ [M + H]⁺: 216.1600; gefunden 216.1600.

Verseifung:

Methylester **200** (128 mg, 0.60 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei 0 °C in THF (6.00 mL) gelöst und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 6.00 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde die wässrige Phase mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (6x), dann mit EtOAc/CH₃OH (10:1; 2x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **201** (120 mg, 0.60 mmol, quant. über 2 Stufen) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

R_f = 0.09 (CH₂Cl₂/CH₃OH 95:5); T_M = 175 – 177 °C; $[\alpha]_D^{20}$ = -8.4° (c = 1.06, CH₃OH); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 4.32 (1H, d, J = 5.8 Hz, H-2), 2.20-2.02 (4H, m, H-3, H-6, H-7), 0.99-0.95 (12H, m, H-4, H-8) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 175.8 (q, C-5), 174.9 (q, C-1), 59.0 (t, C-2), 45.9 (s, C-6), 31.5 (t, C-3), 27.5 (t, C-7), 22.8 (p, C-8), 22.7 (p, C-8), 19.6 (p, C-4), 18.4 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₀H₁₉NO₃Na [M + Na]⁺: 224.1263; gefunden 224.1263.

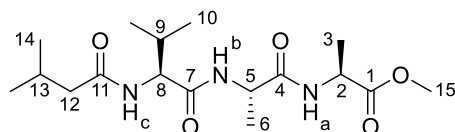
Synthese von Methyl-(3-methylbutanoyl)-L-valyl-L-alaninat (**203**)



Carbonsäure **201** (30.0 mg, 0.15 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 22.9 mg, 0.16 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (17.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (30.2 mg, 0.22 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (35.7 mg, 0.19 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (28.9 mg, 0.22 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugesetzt. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 18 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 47.6 min). Das gewünschte Dipeptid **203** (34.5 mg, 0.12 mmol, 81%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Das Produkt **203** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

[α]_D²⁰ = -1.44° (*c* = 0.18, DMSO); *T_M* = 168 – 171 °C; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.37 (1H, m, NH-a), 7.77 (1H, m, NH-b), 4.30-4.18 (2H, m, H-2, H-5), 3.60 (3H, s, H-12), 2.09-1.90 (4H, m, H-6, H-9, H-10), 1.26 (3H, m, H-3), 0.88-0.82 (12H, m, H-7, H-11) ppm; ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 173.0 (q, C-1), 172.9 (q, C-1), 171.49 (q, C-4 o. C-8), 171.48 (q, C-4 o. C-8), 171.2 (q, C-8 o. C-4), 171.0 (q, C-8 o. C-4), 57.2 (t, C-5), 57.0 (t, C-5), 51.8 (p, C-12), 51.7 (p, C-12), 47.5 (t, C-2), 47.4 (t, C-2), 44.44 (s, C-9), 44.37 (s, C-9), 30.64 (t, C-6), 30.56 (t, C-6), 25.7 (t, C-10), 25.6 (t, C-10), 22.4 (p, C-11), 22.31 (p, C-11), 22.27 (2C, p, C-11), 19.2 (p, C-7), 19.1 (p, C-7), 18.21 (p, C-7), 18.15 (p, C-7), 17.1 (p, C-3), 16.8 (p, C-3) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₂₆N₂O₄Na [M + Na]⁺: 309.1790; gefunden 309.1789.

Synthese von Methyl-(3-methylbutanoyl)-L-valyl-L-alanyl-L-alaninat (199)

Variante A:

Boc-Entschützung:

Tripeptid **195** (107 mg, 0.29 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in CH₂Cl₂ (2.80 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit TFA (1.64 g, 14.3 mmol, 50.0 Äq.) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C gerührt. Nach 2.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von einer NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (10:1; 16x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt (48.1 mg, 0.18 mmol, 62%) wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

3-Methylbutansäure (**28**; 16.3 mg, 0.16 mmol, 1.00 Äq.) und das erhaltene Rohprodukt (48.1 mg, 0.18 mmol, 1.20 Äq.) wurden bei 0 °C in DMF (0.90 mL) gelöst. Anschließend wurden HOAt (23.3 mg, 0.17 mmol, 1.07 Äq.) und PyAOP (87.4 mg, 0.17 mmol, 1.05 Äq.) hinzugegeben. Danach wurde DIPEA (94.9 mg, 0.73 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 48.0 min). Das gewünschte *N*-acylierte Tripeptid **199** (9.90 mg, 27.7 μmol, 17%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

Variante B:

Verseifung:

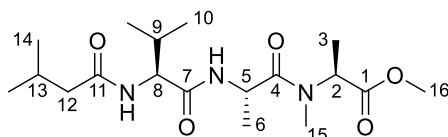
Dipeptid **203** (30.7 mg, 0.11 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (2.10 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 2.10 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 24 h wurde

die Reaktion mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x), gefolgt von EtOAc/CH₃OH (10:1; 8x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

Das Rohprodukt und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 16.5 mg, 0.12 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in DMF (0.58 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (15.6 mg, 0.11 mmol, 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde PyAOP (58.6 mg, 0.11 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (63.6 mg, 0.49 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 47.5 min). Das gewünschte *N*-acylierte Tripeptid **199** (17.2 mg, 48.1 μmol, 45% über 2 Stufen) wurde als farbloser Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -4.0^\circ$ (*c* = 0.15, DMSO); **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO-*d*₅ = 2.50 ppm): δ = 8.23 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, NH-a o. NH-b), 7.96 (1H, d, *J* = 7.3 Hz, NH-a o. NH-b), 7.79 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, NH-c), 4.30-4.21 (2H, m, H-2, H-5), 4.14 (1H, m, H-8), 3.61 (3H, s, H-15), 2.07-1.91 (4H, m, H-9, H-12, H-13), 1.26 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, H-3 o. H-6), 1.20 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-3 o. H-6), 0.86-0.81 (12H, m, H-10, H-14) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, (DMSO-*d*₆, DMSO-*d*₆ = 39.52 ppm): δ = 173.0 (q, C-1), 172.1 (q, C-4), 171.7 (q, C-7 o. C-11), 170.8 (q, C-7 o. C-11), 57.5 (t, C-8), 51.9 (p, C-15), 47.7 (t, C-2 o. C-5), 47.5 (t, C-2 o. C-5), 44.4 (s, C-12), 30.3 (t, C-9), 25.6 (t, C-13), 22.4 (p, C-14), 22.3 (p, C-14), 19.3 (p, C-10), 18.2 (p, C-10), 18.1 (p, C-3 o. C-6), 16.9 (p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₇H₃₁N₃O₅Na [M + Na]⁺: 380.2161; gefunden 380.2164.

Synthese von Methyl-*N*-methyl-*N*-(3-methylbutanoyl)-*L*-valyl-*L*-alanyl-*L*-alaninat (204)

Verseifung:

Dipeptid **203** (30.7 mg, 0.11 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (2.10 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 2.10 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 24 h wurde die Reaktion mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (4x), gefolgt von EtOAc/CH₃OH (10:1; 6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

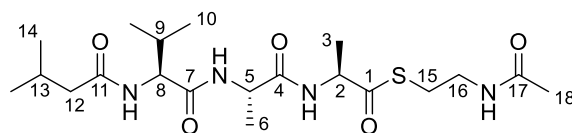
Das Rohprodukt und *N*-Methyl-*L*-Alaninmethylester Hydrochlorid (**191**; 21.4 mg, 0.14 mmol, 1.30 Äq.) wurden bei RT in DMF (0.58 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (15.6 mg, 0.11 mmol, 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde HATU (42.8 mg, 0.11 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (63.6 mg, 0.49 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {80 min} → 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 47.5$ min). Das gewünschte *N*-acylierte Tripeptid **204** (25.4 mg, 68.4 μmol, 64% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **204** wurde als *E/Z*-Isomerengemisch (Verhältnis 1:1) erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -35.8^\circ$ ($c = 1.02$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 8.10 (1H, brs, NH), 4.96 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, 2H-2), 4.83 (2H, m, 2H-5), 4.20 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, 2H-8), 3.69 (6H, s, 2H-16), 3.08 (3H, s, H-15), 3.07 (3H, s, H-15), 2.14-2.12 (4H, m, 2H-12), 2.10-2.02 (4H, m, 2H-9, 2H-13), 1.40 (6H, d, $J = 7.3$ Hz 2H-3), 1.32 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-6), 1.29 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-6), 0.96-0.93 (24H, m, 2H-10, 2H-14) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz,

CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 175.63 (q, C-1), 175.60 (q, C-1), 174.5 (q, C-11), 174.0 (q, C-11), 173.4 (q, C-7), 173.24 (q, C-7), 173.16 (q, C-4), 173.0 (q, C-4), 60.0 (t, C-8), 59.9 (t, C-8), 56.1 (t, C-2), 54.7 (t, C-2), 52.71 (p, C-16), 52.66 (p, C-16), 46.83 (t, C-5), 46.79 (t, C-5), 46.04 (s, C-12), 45.99 (s, C-12), 33.6 (p, C-15), 32.4 (p, C-15), 31.8 (t, C-9), 31.7 (t, C-9), 27.5 (t, C-13), 27.4 (t, C-13), 22.78 (p, C-14), 22.77 (p, C-14), 22.75 (p, C-14), 22.7 (p, C-14), 19.8 (p, C-10), 19.7 (p, C-10), 18.73 (p, C-10), 18.69 (p, C-10), 17.7 (p, C-6), 17.2 (p, C-6), 14.4 (p, C-3), 14.3 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₃₃N₃O₅Na [M + Na]⁺: 394.2318; gefunden 394.2319.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(*S*)-2-[(*S*)-2-[(*S*)-3-methyl-2-(3-methylbutanamido)butanamido]propanamido]propanthioat (205**)**



Verseifung:

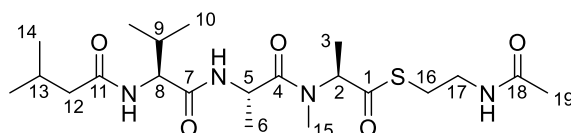
Tripeptid **199** (22.1 mg, 61.8 μ mol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.70 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.70 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 18 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH \sim 2 angesäuert und danach mit EtOAc (4x), sowie EtOAc/CH₃OH (10:1; 6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

Das Rohprodukt wurde bei 0 °C in DMF (0.35 mL) gelöst. Es wurden EDC·HCl (14.2 mg, 74.1 μ mol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 8.84 mg, 74.1 μ mol, 1.20 Äq.) und DMAP (9.06 mg, 74.1 μ mol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {10 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {80 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 57.8 min). Der SNAC-Ester **205** (11.6 mg, 26.1 μ mol, 42% über 2 Stufen) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -55.6^\circ$ ($c = 0.41$, CH_3OH); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 4.48$ (1H, m, H-2 o. H-5), 4.38 (1H, m, H-2 o. H-5), 4.16 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8), 3.31 (2H, m, H-15), 2.98 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-16), 2.16-2.11 (2H, m, H-12), 2.06 (2H, m, H-9, H-13), 1.91 (3H, s, H-18), 1.43-1.39 (6H, m, H-3, H-6), 0.98-0.93 (12H, m, H-10, H-14) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.00$ ppm): $\delta = 202.5$ (q, C-1), 175.8 (q, C-7), 174.7 (q, C-4), 173.6 (q, C-11), 173.4 (q, C-17), 60.1 (t, C-8), 56.6 (t, C-2), 50.1 (t, C-5), 46.0 (s, C-12), 39.9 (s, C-15), 31.7 (t, C-9), 28.9 (s, C-16), 27.5 (t, C-13), 22.8 (p, C-14), 22.7 (p, C-14), 22.5 (p, C-18), 19.8 (p, C-10), 18.8 (p, C-10), 17.81 (p, C-3 o. C-6), 17.77 (p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5\text{SNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 467.2304; gefunden 467.2305.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(*S*)-2-[(*S*)-*N*-methyl-2-[(*S*)-3-methyl-2-(3-methylbutanamido)butanamido]propanamido]propanthioat (206**)**



Verseifung:

Tripeptid **204** (25.4 mg, 68.4 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (0.50 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 0.50 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 18 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und danach mit EtOAc (6x), sowie EtOAc/ CH_3OH (10:1; 4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

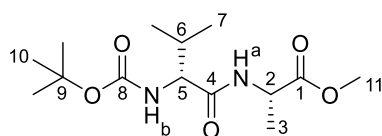
Das Rohprodukt wurde bei 0 °C in DMF (0.40 mL) gelöst. Es wurden EDC·HCl (15.7 mg, 81.9 μmol , 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 9.78 mg, 81.9 μmol , 1.20 Äq.) und DMAP (10.0 mg, 81.9 μmol , 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH_3OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC

(C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {80 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 59.8 min). Der SNAC-Ester **206** (23.9 mg, 52.1 μmol, 76% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **206** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -8.5^\circ$ (*c* = 1.00, CH₃OH); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 5.19 (1H, q, *J* = 7.2 Hz, H-2), 4.90 (2H, m, H-2, H-5), 4.83 (1H, m, H-5), 4.21 (2H, m, H-8), 3.34 (4H, m, 2H-16), 3.12 (3H, s, H-15), 3.04 (3H, s, H-15), 3.00 (4H, m, 2H-17), 2.14 (4H, m, 2H-12), 2.06 (4H, m, 2H-9, 2H-13), 1.92 (3H, s, H-19), 1.91 (3H, s, H-19), 1.39 (6H, m, 2H-3), 1.33 (6H, m, 2H-6), 0.97-0.94 (24H, m, 2H-10, 2H-14) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 200.4 (q, C-1), 200.0 (q, C-1), 175.7 (q, C-7), 175.6 (q, C-7), 175.0 (q, C-4), 174.8 (q, C-4), 174.6 (q, C-11), 174.4 (q, C-11), 173.5 (2C, q, C-18), 61.21 (t, C-5), 61.18 (t, C-5), 60.1 (t, C-2), 60.0 (t, C-2), 59.9 (2C, t, C-8), 46.1 (s, C-12), 46.0 (s, C-12), 40.0 (s, C-16), 39.9 (s, C-16), 32.1 (p, C-15), 31.9 (p, C-15), 31.8 (t, C-9), 31.8 (t, C-9), 29.1 (s, C-17), 29.0 (s, C-17), 27.5 (2C, t, C-13), 22.82 (p, C-14), 22.80 (p, C-14), 22.78 (p, C-14), 22.75 (p, C-14), 22.6 (p, C-18), 22.5 (p, C-18), 19.81 (p, C-10), 19.75 (p, C-10), 18.8 (p, C-10), 18.7 (p, C-10), 17.5 (p, C-6), 17.3 (p, C-6), 14.0 (p, C-3), 13.9 (p, C-3) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₁H₃₈N₄O₅SNa [M + Na]⁺: 481.2461; gefunden 481.2465.

Synthese von Methyl-(*tert*-butoxycarbonyl)-D-valyl-L-alaninat (**207**)

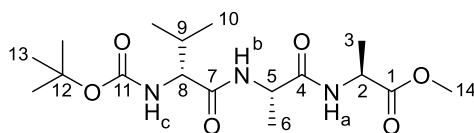


Boc-D-Valin (**148**; 500 mg, 2.30 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 353 mg, 2.53 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH₂Cl₂ (250 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (466 mg, 3.45 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (551 mg, 2.88 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (446 mg, 3.45 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) lieferte das Dipeptid **207** (681 mg, 2.25 mmol, 98%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.44$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2); $T_M = 96 - 98$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +12.0^\circ$ ($c = 1.05$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.47$ (1H, brd, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 5.00 (1H, brd, $J = 7.5$ Hz, NH-b), 4.59 (1H, dq, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.98 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, H-5), 3.75 (3H, s, H-11), 2.19 (1H, m, H-6), 1.45 (9H, s, H-10), 1.41 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 0.96 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7), 0.91 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.3$ (q, C-1), 171.1 (q, C-4), 59.9 (t, C-5), 52.6 (p, C-11), 48.1 (t, C-2), 30.9 (t, C-6), 28.4 (3C, p, C-10), 19.4 (p, C-7), 18.5 (p, C-7), 17.6 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 325.1739; gefunden 325.1740.

Die quartären Kohlenstoff-Atome C-8 und C-9 sind im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von Methyl-(*tert*-butoxycarbonyl)-D-valyl-L-alanyl-L-alaninat (**208**)



Verseifung:

Dipeptid **207** (674 mg, 2.23 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (3.60 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 3.60 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 6 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert und anschließend mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und danach über MgSO_4 getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

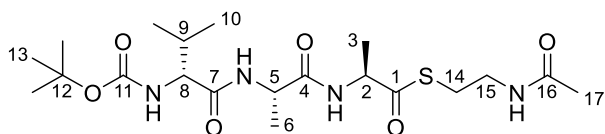
Peptidkupplung:

Carbonsäure und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 342 mg, 2.45 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH_2Cl_2 (240 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (452 mg, 3.35 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (534 mg, 2.79 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (432 mg, 3.35 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzutropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) lieferte das Tripeptid **208** (732 mg, 1.96 mmol, 88% über 2 Stufen) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.48$ (CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2); $T_M = 164 - 166$ °C; $[\alpha]_D^{20} = -19.6^\circ$ ($c = 1.12$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 6.81$ (1H, brd, $J = 7.2$ Hz, NH-a), 6.57 (1H, brd, $J = 7.2$ Hz, NH-b), 5.07 (1H, brd, $J = 6.8$ Hz, NH-c), 4.54 (2H, dq, $J = 7.2$ Hz, H-2, H-5), 3.91 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-8), 3.74 (3H, s, H-14), 2.16 (1H, m, H-9), 1.43 (9H, s, H-13), 1.41-1.38 (6H, m, H-3, H-6), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-10), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-10) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 173.2$ (q, C-1), 171.63 (q, C-4), 171.61 (q, C-7), 60.3 (t, C-8), 52.6 (p, C-14), 48.8 (t, C-5), 48.3 (t, C-2), 30.9 (t, C-9), 28.4 (3C, p, C-13), 19.4 (p, C-10), 18.3 (p, C-10), 18.2 (p, C-3 o. C-6), 17.9 (p, C-3 o. C-6) ppm; HRMS (ESI): m/z berechnet für C₁₇H₃₁N₃O₆Na [M + Na]⁺: 396.2111; gefunden 396.2112.

Die quartären Kohlenstoffatome C-11 und C-12 sind im ¹³C-NMR-Spektrum nicht sichtbar.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(6*R*,9*S*,12*S*)-6-isopropyl-2,2,9,12-tetramethyl-4,7,10-trioxo-3-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-thioat (**209**)



Verseifung:

Tripeptid **208** (59.8 mg, 0.16 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (1.60 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 1.60 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 6 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0M) auf pH ~ 2 angesäuert und danach mit EtOAc (6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

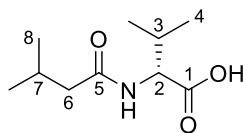
Das Rohprodukt wurde in DMF (0.70 mL) bei 0 °C gelöst. Es wurden EDC·HCl (37.6 mg, 0.20 mmol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 23.4 mg, 0.20 mmol, 1.20 Äq.) und DMAP (23.9 mg, 0.20 mmol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 4 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC

(C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 50.5 min). Der SNAC-Ester **209** (53.4 mg, 0.12 mmol, 71% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **209** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -34.5^\circ$ (*c* = 1.18, CH₃OH); **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): δ = 8.12 (1H, brs, NH), 4.48 (2H, m, H-2, H-5), 3.79 (1H, m, H-8), 3.29 (2H, m, H-15), 2.97 (2H, m, H-14), 1.99 (1H, m, H-9), 1.92 (3H, s, H-17), 1.44 (9H, s, H-13), 1.42-1.38 (6H, m, H-3, H-6), 0.96 (6H, d, *J* = 6.8 Hz, H-10) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 202.4 (q, C-1), 174.9 (q, C-7), 174.4 (q, C-4), 173.4 (q, C-16), 158.1 (q, C-11), 80.6 (q, C-12), 62.2 (t, C-8), 56.7 (t, C-2), 49.9 (t, C-5), 39.9 (s, C-15), 31.6 (t, C-9), 28.9 (s, C-14), 28.8 (3C, p, C-13), 22.5 (p, C-17), 19.6 (p, C-10), 18.9 (p, C-10), 17.7 (p, C-3 o. C-6), 17.6 (p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₀H₃₇N₄O₆S [M + H]⁺: 461.2434; gefunden 461.2436.

Synthese von (3-Methylbutanoyl)-D-valin (**211**)



Peptidkupplung:

3-Methylbutansäureanhydrid (**202**; 333 mg, 1.79 mmol, 1.50 Äq.) und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**40**; 200 mg, 1.19 mmol, 1.00 Äq.) wurden bei 0 °C in CH₂Cl₂ (40.0 mL) gelöst. Anschließend wurde DIPEA (617 mg, 4.77 mmol, 4.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 22 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt **210** wurde direkt ohne weitere Reinigung verwendet.

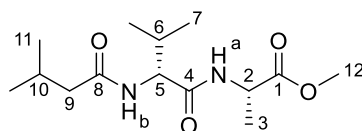
Verseifung:

Methylester **210** wurde bei 0 °C in THF (12.0 mL) gelöst und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 12.0 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde die wässrige Phase mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (7x), dann mit EtOAc/CH₃OH (10:1; 2x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄

getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **211** (240 mg, 1.19 mmol, quant. über 2 Stufen) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

$R_f = 0.09$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 95:5); $T_M = 176 - 178$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +8.1^\circ$ ($c = 1.06$, CH_3OH); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 4.32$ (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-2), 2.20-2.02 (4H, m, H-3, H-6, H-7), 0.99-0.95 (12H, m, H-4, H-8) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.00$ ppm): $\delta = 175.8$ (q, C-5), 174.9 (q, C-1), 59.0 (t, C-2), 45.9 (s, C-6), 31.5 (t, C-3), 27.5 (t, C-7), 22.8 (p, C-8), 22.7 (p, C-8), 19.7 (p, C-4), 18.4 (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 224.1263; gefunden 224.1262.

Synthese von Methyl-(3-methylbutanoyl)-D-valyl-L-alaninat (**212**)



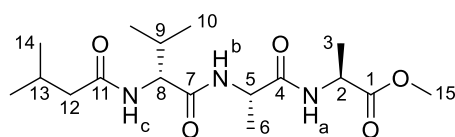
Carbonsäure **211** (100 mg, 0.50 mmol, 1.00 Äq.) und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 76.3 mg, 0.55 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in CH_2Cl_2 (50.0 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOBt (101 mg, 0.75 mmol, 1.50 Äq.) versetzt. Es wurde EDC·HCl (119 mg, 0.62 mmol, 1.25 Äq.) zugegeben und DIPEA (96.3 mg, 0.75 mmol, 1.50 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 20 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH_3OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 10:90 {5 min} → $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O} = 100:0$ {85 min} → $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O} = 100:0$ {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 44.5$ min). Das gewünschte Dipeptid **212** (110 mg, 0.38 mmol, 77%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Das Produkt **212** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -8.2^\circ$ ($c = 0.17$, DMSO); $T_M = 161 - 164$ °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.35$ (1H, d, $J = 7.4$ Hz, NH-a), 7.76 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, NH-b), 4.27 (1H, dq, $J = 7.4$ Hz, H-2), 4.22 (1H, m, H-5), 3.61 (3H, s, H-12), 2.09-1.88 (4H, m, H-6, H-9, H-10), 1.25 (3H, d, $J = 7.4$ Hz, H-3), 0.86-0.83 (12H, m, H-7, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 173.0$ (q, C-1), 172.9 (q, C-1), 171.49 (q, C-4 o. C-8), 171.48 (q, C-4 o. C-8), 171.2 (q, C-8 o. C-4), 171.0 (q, C-8 o. C-4), 57.2 (t, C-5),

57.0 (t, C-5), 51.8 (p, C-12), 51.7 (p, C-12), 47.5 (t, C-2), 47.4 (t, C-2), 44.44 (s, C-9), 44.37 (s, C-9), 30.7 (t, C-6), 30.6 (t, C-6), 25.67 (t, C-10), 25.65 (t, C-10), 22.4 (p, C-11), 22.33 (p, C-11), 22.30 (p, C-11), 22.27 (p, C-11), 19.2 (p, C-7), 19.1 (p, C-7), 18.21 (p, C-7), 18.15 (p, C-7), 17.1 (p, C-3), 16.8 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{14}H_{26}N_2O_4Na$ $[M + Na]^+$: 309.1790; gefunden 309.1789.

Synthese von Methyl-(3-methylbutanoyl)-D-valyl-L-alanyl-L-alaninat (213)



Verseifung:

Dipeptid **212** (35.9 mg, 0.13 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF/DMSO (10:1; 2.50 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 2.50 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (10:1; 8x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

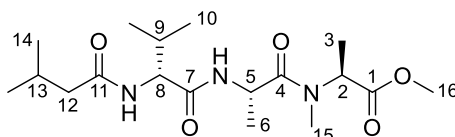
Peptidkupplung:

Das Rohprodukt und L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**50**; 25.0 mg, 0.16 mmol, 1.20 Äq.) wurden bei RT in DMF (0.68 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und anschließend mit HOAt (18.3 mg, 0.13 mmol, 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde PyAOP (68.5 mg, 0.13 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (74.4 mg, 0.58 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 18 h wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {85 min} → 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) ($t_R = 44.5$ min). Das gewünschte *N*-acylierte Tripeptid **213** (31.7 mg, 88.7 µmol, 71% über 2 Stufen) wurde als farbloser Schaum erhalten.

Das Produkt **213** lag als Rotamerengemisch vor.

$[\alpha]_D^{20} = -24.9^\circ$ ($c = 0.47$, DMSO); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.23$ (1H, d, $J = 7.0$ Hz, NH-a o. NH-b), 8.18 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, NH-a o. NH-b), 7.90 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NH-c), 4.32 (1H, m, H-2 o. H-5), 4.23 (1H, m, H-2 o. H-5), 4.06 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-8), 3.60 (3H, s, H-15), 2.08-1.86 (4H, m, H-9, H-12, H-13), 1.29 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3 o. H-6), 1.19 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-3 o. H-6), 0.86-0.82 (12H, m, H-10, H-14) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 173.0$ (q, C-1), 172.8 (q, C-1), 172.09 (q, C-4 o. C-7 o. C-11), 172.07 (q, C-4 o. C-7 o. C-11), 172.0 (q, C-4 o. C-7 o. C-11), 171.7 (q, C-4 o. C-7 o. C-11), 170.9 (q, C-4 o. C-7 o. C-11), 170.8 (q, C-4 o. C-7 o. C-11), 58.3 (t, C-8), 58.2 (t, C-8), 51.9 (p, C-15), 51.8 (p, C-15), 47.7 (t, C-2 o. C-5), 47.6 (t, C-2 o. C-5), 47.53 (t, C-2 o. C-5), 47.45 (t, C-2 o. C-5), 44.4 (s, C-12), 44.3 (s, C-12), 30.3 (t, C-9), 30.0 (t, C-9), 25.7 (t, C-13), 25.6 (t, C-13), 22.34 (p, C-14), 22.32 (p, C-14), 22.31 (p, C-14), 22.29 (p, C-14), 19.3 (p, C-10), 19.2 (p, C-10), 18.6 (p, C-10), 18.2 (p, C-10), 18.1 (p, C-3 o. C-6), 18.0 (p, C-3 o. C-6), 16.9 (p, C-3 o. C-6), 16.7 (p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 380.2161; gefunden 380.2161.

Synthese von Methyl-*N*-methyl-*N*-(3-methylbutanoyl)-*L*-valyl-*L*-alanyl-*L*-alaniat (**214**)



Verseifung:

Dipeptid **212** (35.9 mg, 0.13 mmol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF/DMSO (10:1; 2.50 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 2.50 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C → RT gerührt. Nach 16 h wurde die Reaktion mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc/CH₃OH (10:1; 8x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

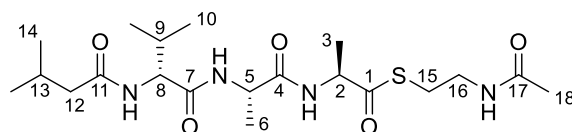
Das Rohprodukt und *N*-Methyl-*L*-Alaninmethylester Hydrochlorid (**191**; 19.3 mg, 0.14 mmol, 1.10 Äq.) wurden bei RT in DMF (0.68 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C

gekühlt und anschließend mit HOAt (18.3 mg, 0.13 mmol, 1.07 Äq.) versetzt. Es wurde HATU (50.0 mg, 0.13 mmol, 1.05 Äq.) zugegeben und DIPEA (74.4 mg, 0.58 mmol, 4.59 Äq.) langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C → RT gerührt. Nach 2 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 20:80 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 20:80 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 25:75 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 30:70 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 60:40 {40 min} → CH₃OH/H₂O = 60:40 {10 min} → CH₃OH/H₂O = 80:20 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {5 min} → CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (*t_R* = 53.7 min). Das gewünschte *N*-acylierte Tripeptid **214** (31.9 mg, 85.9 μmol, 68% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **214** wurde als *E/Z*-Isomerengemisch (Verhältnis 1:1) erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -29.2$ ($c = 1.02$, CH₃OH); **¹H-NMR** (500 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 8.11$ (1H, brs, NH), 5.00 (1H, q, $J = 7.3$ Hz, H-2), 4.85 (1H, q, $J = 6.9$ Hz, H-5), 4.19 (1H, m, H-8), 3.70 (3H, s, H-16), 3.03 (3H, s, H-15), 2.16-2.12 (2H, m, H-12), 2.07 (2H, m, H-9, H-13), 1.40 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-3), 1.31 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-6), 0.97-0.94 (12H, m, H-10, H-14) ppm; **¹³C-NMR** (125 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 175.6$ (q, C-1), 175.5 (q, C-1), 174.2 (q, C-11), 174.0 (q, C-11), 173.4 (2C, q, C-7), 173.1 (q, C-4), 172.7 (q, C-4), 60.1 (t, C-8), 59.7 (t, C-8), 54.6 (2C, t, C-2), 53.1 (p, C-16), 52.7 (p, C-16), 46.9 (t, C-5), 46.5 (t, C-5), 46.1 (s, C-12), 46.0 (s, C-12), 32.3 (p, C-15), 32.1 (p, C-15), 31.81 (t, C-9), 31.78 (t, C-9), 27.5 (t, C-13), 27.4 (t, C-13), 22.9 (p, C-14), 22.80 (p, C-14), 22.78 (p, C-14), 22.75 (p, C-14), 19.8 (p, C-10), 19.7 (p, C-10), 18.8 (p, C-10), 18.7 (p, C-10), 17.7 (p, C-6), 17.5 (p, C-6), 14.4 (p, C-3), 14.3 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₃₃N₃O₅Na [M + Na]⁺: 394.2318; gefunden 394.2315.

Synthese von S-(2-Acetamidoethyl)-(S)-2-[(S)-2-[(R)-3-methyl-2-(3-methylbutanamido)butanamido]propanamido]propanthioat (215)



Verseifung:

Tripeptid **213** (31.7 mg, 88.7 μmol , 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (1.00 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 1.00 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 22 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH \sim 2 angesäuert und danach mit EtOAc (4x), sowie EtOAc/CH₃OH (10:1; 6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

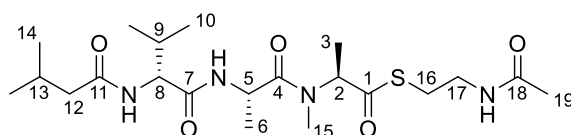
Das Rohprodukt wurde bei 0 °C in DMF (0.50 mL) gelöst. Es wurden EDC·HCl (20.4 mg, 0.11 mmol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 12.7 mg, 0.11 mmol, 1.20 Äq.) und DMAP (13.0 mg, 0.11 mmol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {10 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {80 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 46.5 min). Der SNAC-Ester **215** (34.6 mg, 77.8 μmol , 88% über 2 Stufen) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **215** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -21.0^\circ$ ($c = 1.21$, CH₃OH); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 8.15$ (s, NH), 8.01 (d, $J = 7.5$ Hz, NH), 4.45 (2H, m, H-2, H-5), 4.02 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8), 3.31 (2H, m, H-15), 2.97 (2H, m, H-16), 2.15-2.10 (2H, m, H-12), 2.05 (2H, m, H-9, H-13), 1.91 (3H, s, H-18), 1.43-1.39 (6H, m, H-3, H-6), 1.01-0.93 (12H, m, H-10, H-14) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 202.4$ (q, C-1), 202.3 (q, C-1), 176.0 (q, C-7), 175.9 (q, C-7), 174.9 (q, C-4), 174.4 (q, C-4), 173.9 (2C, q, C-11), 173.42 (q, C-17), 173.40 (q, C-17), 61.5 (t, C-8), 61.2 (t, C-8), 56.84 (t, C-2), 56.79 (t, C-2), 50.4 (t, C-5), 50.0

(t, C-5), 45.9 (s, C-12), 45.8 (s, C-12), 40.0 (s, C-15), 39.9 (s, C-15), 31.2 (t, C-9), 31.0 (t, C-9), 28.89 (s, C-16), 28.87 (s, C-16), 27.39 (t, C-13), 27.36 (t, C-13), 22.9 (p, C-14), 22.80 (p, C-14), 22.78 (p, C-14), 22.7 (p, C-14), 22.53 (p, C-18), 22.51 (p, C-18), 19.62 (p, C-10), 19.56 (p, C-10), 19.5 (p, C-10), 19.2 (p, C-10), 17.71 (2C, p, C-3 o. C-6), 17.68 (2C, p, C-3 o. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{20}H_{36}N_4O_5SNa$ $[M + Na]^+$: 467.2304; gefunden 467.2303.

Synthese von *S*-(2-Acetamidoethyl)-(*S*)-2-[(*S*)-*N*-methyl-2-[(*R*)-3-methyl-2-(3-methylbutanamido)butanamido]propanamido]propanthioat (216**)**



Verseifung:

Tripeptid **214** (31.9 mg, 85.9 μ mol, 1.00 Äq.) wurde bei RT in THF (1.00 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit LiOH (1.0 M; 1.00 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 16 h wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH \sim 2 angesäuert und danach mit EtOAc (4x), sowie EtOAc/CH₃OH (10:1; 6x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet, filtriert, sowie das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Thioesterbildung:

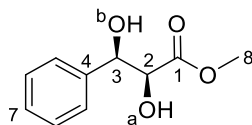
Das Rohprodukt wurde bei 0 °C in DMF (0.48 mL) gelöst. Es wurden EDC·HCl (19.7 mg, 0.10 mmol, 1.20 Äq.), *N*-Acetylcysteamin (**12**; 12.3 mg, 0.10 mmol, 1.20 Äq.) und DMAP (12.6 mg, 0.10 mmol, 1.20 Äq.) nacheinander hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C \rightarrow RT gerührt. Nach 3 d wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in CH₃OH (1.80 mL) aufgenommen und durch präparative HPLC (C18) gereinigt (Gradient CH₃OH/H₂O 10:90 {10 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {80 min} \rightarrow CH₃OH/H₂O = 100:0 {10 min}, 15.0 mL/min) (t_R = 48.5 min). Der SNAC-Ester **216** (14.6 mg, 31.8 μ mol, 37% über 2 Stufen; 85% brsm) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Produkt **216** wurde als Rotamerengemisch erhalten.

$[\alpha]_D^{20} = -2.8^\circ$ ($c = 0.95$, CH_3OH); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 5.21$ (1H, q, $J = 7.2$ Hz, H-2), 4.93 (2H, m, H-2, H-5), 4.85 (1H, m, H-5), 4.23 (2H, m, H-8), 3.36 (4H, m, 2H-16), 3.12 (3H, s, H-15), 3.05 (3H, s, H-15), 3.02 (4H, m, 2H-17), 2.16 (4H, m, 2H-12), 2.08 (4H, m, 2H-9, 2H-13), 1.94 (3H, s, H-19), 1.94 (3H, s, H-19), 1.41 (6H, m, 2H-3), 1.34 (6H, m, 2H-6), 0.99-0.97 (24H, m, 2H-10, 2H-14) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.00$ ppm): $\delta = 200.4$ (q, C-1), 200.0 (q, C-1), 175.58 (q, C-7), 175.55 (q, C-7), 174.6 (q, C-4), 174.3 (q, C-4), 173.4 (2C, q, C-11), 173.2 (q, C-18), 173.1 (q, C-18), 62.8 (t, C-5), 61.2 (t, C-5), 60.1 (t, C-2), 60.02 (t, C-2), 59.96 (t, C-8), 59.9 (t, C-8), 46.08 (s, C-12), 46.06 (s, C-12), 40.0 (s, C-16), 39.9 (s, C-16), 32.1 (p, C-15), 31.9 (p, C-15), 31.8 (t, C-9), 31.7 (t, C-9), 29.1 (s, C-17), 29.0 (s, C-17), 27.50 (t, C-13), 27.45 (t, C-13), 22.82 (p, C-14), 22.80 (p, C-14), 22.78 (p, C-14), 22.75 (p, C-14), 22.6 (p, C-18), 22.5 (p, C-18), 19.8 (p, C-10), 19.7 (p, C-10), 18.79 (p, C-10), 18.75 (p, C-10), 17.5 (p, C-6), 17.3 (p, C-6), 14.0 (p, C-3), 13.9 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_5\text{SNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 481.2461; gefunden 481.2461.

5.4 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3

Synthese von (2*S*,3*R*)-Methyl-2,3-dihydroxy-3-phenylpropanoat (**225**)

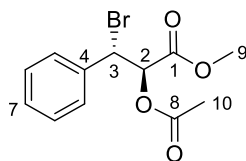


AD mix β (20.0 g) wurde in einem Gemisch aus *t*BuOH/H₂O (1:1; 142 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde CH₃SO₂NH₂ (1.36 g, 14.3 mmol, 1.00 Äq.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch auf 0 °C abgekühlt. Zimtsäuremethylester (**224**; 2.31 g, 14.3 mmol, 1.00 Äq.) wurde hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde unter starkem Rühren für 16 h bei 0 °C gerührt. Es wurde auf RT erwärmt und für weitere 6 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von Na₂SO₃ (21.4 g, 170 mmol, 12.0 Äq.) beendet. Es wurde auf RT erwärmt und für weitere 2.5 h gerührt. Anschließend wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H₂O gewaschen und danach über Na₂SO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Diol **225** (2.21 g, 11.3 mmol, 79%) als farblosen Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹¹⁸

R_f = 0.38 (PE/EtOAc 1:1); **T_M** = 84 – 85 °C (Lit.¹¹⁸: **T_M** = 80 – 81 °C); **[α]_D²⁰** = -9.8° (*c* = 1.28, CHCl₃) {Lit.¹¹⁸: **[α]_D²⁶** = -9.8° (*c* = 1.07, CHCl₃)}; **HPLC**: > 99.9% *ee*, CHIRALCEL[®] OD-H Säule (Gradient 10% *i*PrOH in *n*Hexan, 1.00 mL/min, 254 nm), *t_R* = 19.2 min; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.42-7.29 (5H, m, ArH), 5.03 (1H, dd, *J* = 2.7, 7.2 Hz, H-3), 4.38 (1H, dd, *J* = 2.7, 6.0 Hz, H-2), 3.82 (3H, s, H-8), 3.12 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, OH-a), 2.76 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, OH-b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 173.3 (q, C-1), 140.1 (q, C-4), 128.6 (2C, t, C-6), 128.3 (t, C-7), 126.3 (2C, t, C-5), 74.8 (t, C-2), 74.6 (t, C-3), 53.1 (p, C-8) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₂O₄Na [M + Na]⁺: 219.0633; gefunden 219.0630.

Synthese von (2*R*,3*S*)-Methyl-2-acetoxy-3-bromo-3-phenylpropanoat (**226**)

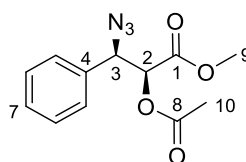


Diol **225** (2.15 g, 10.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde tropfenweise mit HBr/HOAc (33%; 16.9 mL) bei RT versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 45 °C erhitzt und für 30 min gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde das Reaktionsgemisch in eine Eis-gekühlte NaHCO₃-Lösung (40.0 mL) gegossen. Die wässrige Phase wurde mit Et₂O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H₂O, gefolgt von einer NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 12.5:1) ergab das gewünschte Produkt **226** (2.32 g, 7.71 mmol, 71%) als farblosen Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹¹⁸

R_f = 0.79 (PE/EtOAc 1:1); **T_M** = 78 – 82 °C (Lit.¹¹⁸: **T_M** = 78 – 79 °C); **[α]_D²⁰** = +89.9° (*c* = 1.74, CHCl₃) {Lit.¹¹⁸: **[α]_D²⁶** = +100.3° (*c* = 1.36, CHCl₃)}; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.46-7.44 (2H, m, H-6), 7.36-7.30 (3H, m, H-5, H-7), 5.65 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-3), 5.35 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-2), 3.71 (3H, s, H-9), 2.11 (3H, s, H-10) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.7 (q, C-1), 167.5 (q, C-8), 136.8 (q, C-4), 129.3 (t, C-7), 128.7 (4C, t, C-5, C-6), 75.4 (t, C-3), 52.9 (p, C-9), 49.3 (t, C-2), 20.6 (p, C-10) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₁₃O₄BrNa [M + Na]⁺: 322.9895; gefunden 322.9891.

Synthese von (2*S*,3*R*)-Methyl-2-acetoxy-3-azido-3-phenylpropanoat (**227**)



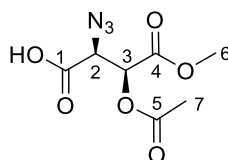
Bromid **226** (2.27 g, 7.55 mmol, 1.00 Äq.) wurde in DMF (27.0 mL) bei RT gelöst. Es wurde NaN₃ (1.96 g, 30.2 mmol, 4.00 Äq.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch für 3 h bei RT

gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 40 °C erhitzt und für weitere 2 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde EtOAc hinzugefügt und die Reaktionslösung mit H₂O, gefolgt von einer NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 10:1) ergab das gewünschte Produkt **227** (1.77 g, 6.71 mmol, 89%) als gelbes Öl.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹¹⁸

R_f = 0.24 (PE/EtOAc 10:1); **[α]_D²⁰** = -87.2° (*c* = 1.41, CHCl₃) {Lit.¹¹⁸: **[α]_D²⁶** = -104.2° (*c* = 2.33, CHCl₃)}; **IR**: $\tilde{\nu}$ = 2955 (w), 2103 (s, Azid), 1747 (s, C=O), 1495 (w), 1454 (m), 1437 (m), 1373 (m), 1210 (s), 1099 (m), 1030 (m), 910 (m), 751 (m), 701 (s) cm⁻¹; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.42-7.33 (5H, m, ArH), 5.24 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-2), 5.07 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-3), 3.69 (3H, s, H-9), 2.14 (3H, s, H-10) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.9 (q, C-1), 168.0 (q, C-8), 134.6 (q, C-4), 129.3 (t, C-7), 129.0 (2C, t, C-6), 127.6 (2C, t, C-5), 74.9 (t, C-2), 65.4 (t, C-3), 52.8 (p, C-9), 20.5 (p, C-10) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₁₃N₃O₄Na [M + Na]⁺: 286.0804; gefunden 286.0805.

Synthese von (2*S*,3*S*)-3-Acetoxy-2-azido-4-methoxy-4-oxobutansäure (**228**)

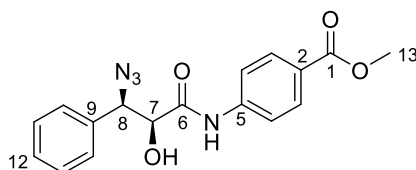


(2*S*,3*R*)-Methyl-2-acetoxy-3-azido-3-phenylpropanoat (**227**; 100 mg, 0.38 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₃CN (1.10 mL) und EtOAc (1.10 mL) bei RT gelöst. Es wurde NaIO₄ (2.03 g, 9.50 mmol, 25.0 Äq.) in H₂O (7.90 mL) hinzuge tropft. Anschließend wurde zu der Reaktionsmischung RuCl₃·H₂O (4.67 mg, 22.8 μmol, 0.06 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde für 12 h bei RT gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in Et₂O gelöst und anschließend über CeliteTM filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt **228** wurde als braunes Öl erhalten. Die Ausbeute wurde nicht bestimmt.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 5.62$ (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-2), 4.55 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-3), 3.80 (3H, s, H-6), 2.13 (3H, s, H-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 254.0389; gefunden 254.0385.

Eine weitergehende Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

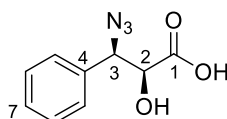
Synthese von Methyl-4-[(2*S*,3*R*)-3-azido-2-hydroxy-3-phenylpropanamido]benzoat (**231**)



Verseifung:

Ester **227** (100 mg, 0.38 mmol, 1.00 Äq.) wurde in THF (3.80 mL) bei 0 °C gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde mit LiOH (1.0 M; 3.80 mL) tropfenweise versetzt und für 6 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **230** (78.5 mg, 0.38 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

(2*S*,3*R*)-3-Azido-2-hydroxy-3-phenylpropansäure (**230**)

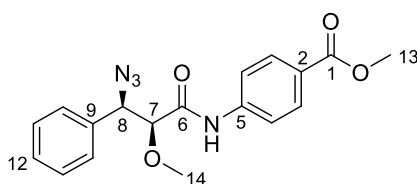


$[\alpha]_D^{20} = -121.6^\circ$ ($c = 1.23$, CH_3OH); **IR**: $\tilde{\nu} = 3499$ (w), 3401 (w), 3032 (m), 2924 (m), 2104 (s, Azid), 1724 (s), 1603 (m), 1495 (m), 1453 (m), 1342 (m), 1306 (m), 1245 (s), 1212 (s), 1102 (s), 1031 (m), 1001 (m), 959 (m), 920 (m), 875 (m), 780 (m), 742 (s), 698 (s), 667 (m), 620 (m) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Aceton- d_6 , Aceton- $d_5 = 2.05$ ppm): $\delta = 7.56$ -7.53 (2H, m, H-5), 7.44-7.34 (3H, m, H-6, H-7), 4.97 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3), 4.48 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-2), 2.82 (1H, brs, OH) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Aceton- d_6 , Aceton- $d_6 = 29.84$ ppm): $\delta = 173.0$ (q, C-1), 137.5 (q, C-4), 129.3 (2C, t, C-6), 129.3 (t, C-7), 129.0 (2C, t, C-5), 74.7 (t, C-2), 67.8 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 230.0542; gefunden 230.0540.

Peptidkupplung:

Carbonsäure **230** (39.4 mg, 0.19 mmol, 1.00 Äq.) und 4-Aminobenzoensäuremethylester (**223**; 31.6 mg, 0.21 mmol, 1.10 Äq.) wurden in CH₂Cl₂ (2.00 mL) bei RT gelöst. Das Kupplungsreagenz Cl₂PPh₃ (285 mg, 0.85 mmol, 4.50 Äq.) wurde hinzugegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt und für 2 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) lieferte das gewünschte Kupplungsprodukt **231** (45.2 mg, 0.13 mmol, 70%) als farblosen Schaum.

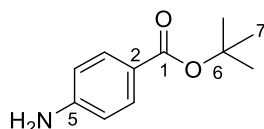
$R_f = 0.19$ (CH₂Cl₂/MeOH 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -84.7^\circ$ ($c = 0.65$, CH₃OH); **IR**: $\tilde{\nu} = 3328$ (w, OH), 2365 (w), 2104 (s, Azid), 1755 (w), 1711 (m), 1666 (s), 1602 (m), 1519 (s), 1439 (m), 1408 (m), 1311 (m), 1284 (s), 1179 (m), 1109 (s), 1018 (m), 849 (m), 770 (s), 755 (s), 706 (s), 635 (m) cm⁻¹; **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD, CD₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 7.97$ (2H, m, H-3), 7.70 (2H, m, H-4), 7.49-7.31 (5H, m, H-10, H-11, H-12), 5.04 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-8), 4.35 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-7), 3.88 (3H, s, H-13) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 172.4$ (q, C-1), 168.1 (q, C-6), 143.4 (q, C-5), 137.9 (q, C-9), 131.5 (2C, t, C-3), 129.6 (2C, t, C-11), 129.5 (t, C-12), 128.9 (2C, t, C-10), 126.9 (q, C-2), 120.7 (2C, t, C-4), 76.9 (t, C-7), 68.8 (t, C-8), 52.5 (p, C-13) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₇H₁₆N₄O₄Na [M + Na]⁺: 363.1069; gefunden 363.1064.

Synthese von Methyl-4-[(2*S*,3*R*)-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropanamido]benzoat (232**)**

Ester **231** (150 mg, 0.44 mmol, 1.00 Äq.) wurde in Aceton (7.00 mL) bei RT und unter Lichtausschluß gelöst. Kaliumcarbonat (305 mg, 2.20 mmol, 5.00 Äq.) und Iodmethan (3.32 g, 23.4 mmol, 53.0 Äq.) wurden hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 50 °C erhitzt und für 2 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) lieferte das gewünschte Produkt **232** (78.0 mg, 0.22 mmol, 50%) als farbloses Öl.

$R_f = 0.78$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98:2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Aceton- d_6 , Aceton- $d_5 = 2.05$ ppm): $\delta = 9.63$ (1H, s, NH), 7.98 (2H, m, H-3), 7.82 (2H, m, H-4), 7.51-7.24 (5H, m, H-10, H-11, H-12), 5.09 (1H, d, $J = 4.6$ Hz, H-8), 4.09 (1H, d, $J = 4.6$ Hz, H-7), 3.86 (3H, s, H-13), 3.37 (3H, s, H-14) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Aceton- d_6 , Aceton- $d_6 = 29.84$ ppm): $\delta = 169.0$ (q, C-6), 166.7 (q, C-1), 143.4 (q, C-5), 137.1 (q, C-9), 131.1 (2C, t, C-3), 129.44 (2C, t, C-11), 129.40 (t, C-12), 128.7 (2C, t, C-10), 126.4 (q, C-2), 120.1 (2C, t, C-4), 86.9 (t, C-7), 67.4 (t, C-8), 60.0 (p, C-14), 52.2 (p, C-13) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 377.1226 gefunden; 377.1228.

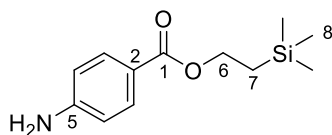
Synthese von *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (**235**)



4-Aminobenzoesäure (**234**; 500 mg, 3.65 mmol, 1.00 Äq.) wurde in *t*BuOH (24.0 mL) bei RT gelöst. Es wurde EDC·HCl (769 mg, 4.01 mmol, 1.10 Äq.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch für 19 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf 0 °C wurde H_2O hinzugegeben und die wässrige Phase wurde mit Et_2O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Ester **235** (588 mg, 3.04 mmol, 83%) als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹²²

$R_f = 0.52$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99:1); $T_M = 109$ °C (Lit.¹²²: $T_M = 106 - 108$ °C); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.80$ (2H, m, H-3), 6.62 (2H, m, H-4), 4.09 (2H, brs, NH_2), 1.57 (9H, s, H-7) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.1$ (q, C-1), 150.5 (q, C-5), 131.5 (2C, t, C-3), 121.9 (q, C-2), 113.9 (2C, t, C-4), 80.2 (q, C-6), 28.4 (3C, p, C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 216.1000; gefunden 216.0995.

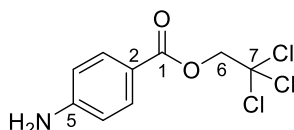
Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-aminobenzoat (237)

4-Aminobenzoesäure (**234**; 1.50 g, 10.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (56.0 mL) bei RT gelöst. Es wurden DCC (2.93 g, 14.2 mmol, 1.30 Äq.) und DMAP (1.34 g, 10.9 mmol, 1.00 Äq.) hinzugefügt. Anschließend wurde 2-(Trimethylsilyl)ethanol (1.53 g, 12.9 mmol, 1.18 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei RT gerührt und danach mit Et₂O versetzt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde erneut mit Et₂O versetzt und der erhaltene Feststoff wiederum abfiltriert. Das erhaltene Filtrat wurde unter vermindertem Druck aufkonzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1) lieferte den gewünschten Ester **237** (1.87 g, 7.90 mmol, 72%) als farblosen Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.¹⁵⁰

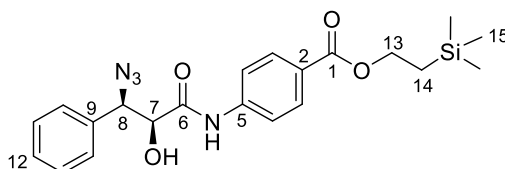
R_f = 0.68 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2); **T_M** = 67 – 68 °C (Lit.¹⁵⁰: **T_M** = 64 – 65 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.85 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3), 6.64 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-4), 4.36 (2H, m, H-6), 4.03 (2H, brs, NH₂), 1.10 (2H, m, H-7), 0.07 (9H, s, H-8) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 167.0 (q, C-1), 150.8 (q, C-5), 131.6 (2C, t, C-3), 120.5 (q, C-2), 114.0 (2C, t, C-4), 62.7 (s, C-6), 17.6 (s, C-7), -1.3 (3C, p, C-8) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₁₉NO₂SiNa [M + Na]⁺: 260.1083; gefunden 260.1087.

¹⁵⁰ P. Jones, G. B. Villeneuve, C. Fei, J. DeMarte, A. J. Haggarty, K. T. Nwe, D. A. Martin, A.-M. Lebus, J. M. Finkelstein, B. J. Gour-Salin, T. H. Chan, B. R. Leyland-Jones, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3062-3077.

Synthese von 2,2,2-Trichlorethyl-4-aminobenzoat (238)

4-Aminobenzoesäure (**234**; 500 mg, 3.65 mmol, 1.00 Äq.) wurde in Pyridin (10.0 mL) bei RT gelöst. Es wurden DCC (978 mg, 4.74 mmol, 1.30 Äq.) und DMAP (44.5 mg, 0.36 mmol, 0.10 Äq.) hinzugefügt. Anschließend wurde 2,2,2-Trichlorethanol (654 mg, 4.38 mmol, 1.20 Äq.) hinzugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei RT gerührt und danach mit Et₂O versetzt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde erneut mit Et₂O versetzt und der erhaltene Feststoff wiederum abfiltriert. Das erhaltene Filtrat wurde unter vermindertem Druck aufkonzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂) lieferte den gewünschten Ester **238** (499 mg, 1.86 mmol, 51%) als farblosen Feststoff.

R_f = 0.78 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2); **T_M** = 81 – 84 °C; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.94 (2H, m, H-3), 6.67 (2H, m, H-4), 4.92 (2H, s, H-6), 4.15 (2H, brs, NH₂) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 165.0 (q, C-1), 151.7 (q, C-5), 132.4 (2C, t, C-3), 118.1 (q, C-2), 114.0 (2C, t, C-4), 95.6 (q, C-7), 74.3 (s, C-6) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₉H₉NO₂Cl₃ [M + H]⁺: 267.9699; gefunden 267.9697.

Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-[(2*S*,3*R*)-3-azido-2-hydroxy-3-phenylpropanamido]benzoat (239)**Verseifung:**

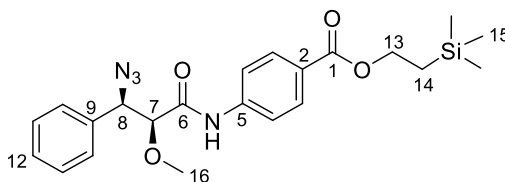
Ester **227** (50.0 mg, 0.19 mmol, 1.00 Äq.) wurde in THF (1.90 mL) bei 0 °C gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde mit LiOH (1.0 M; 1.90 mL) tropfenweise versetzt und für 6 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen

wurden über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **230** wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Peptidkupplung:

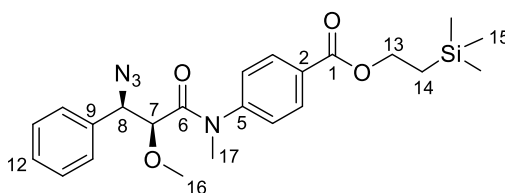
Carbonsäure **230** und 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-aminobenzoat (**237**; 54.1 mg, 0.23 mmol, 1.20 Äq.) wurden in CH₂Cl₂ (2.00 mL) bei RT gelöst. Das Kupplungsreagenz Cl₂PPh₃ (285 mg, 0.85 mmol, 4.50 Äq.) wurde hinzugegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt und für 2 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/CH₃OH 99.5:0.5 → CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98.5:1.5 → CH₂Cl₂/CH₃OH 98:2) lieferte das gewünschte Kupplungsprodukt **239** (49.4 mg, 0.12 mmol, 61% über 2 Stufen) als farblosen Feststoff.

R_f = 0.22 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2); **T_M** = 106 – 108 °C; **[α]_D²⁰** = -85.4° (*c* = 1.12, CH₂Cl₂); **IR**: $\tilde{\nu}$ = 3362 (w, OH), 2106 (s, Azid), 1721 (s), 1667 (s), 1591 (s), 1529 (s), 1452 (m), 1407 (m), 1315 (m), 1265 (s), 1248 (s), 1170 (s), 1114 (m), 1088 (s), 1045 (m), 1015 (w), 952 (w), 919 (w), 861 (s), 836 (s), 770 (s), 751 (m), 709 (s), 694 (s), 640 (m) cm⁻¹; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.61 (1H, s, NH), 8.03 (2H, m, H-3), 7.66 (2H, m, H-4), 7.48-7.38 (5H, m, H-10, H-11, H-12), 5.32 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H-8), 4.41 (2H, m, H-13), 4.37 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H-7), 1.14 (2H, m, H-14), 0.09 (9H, s, H-15) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 168.6 (q, C-6), 166.3 (q, C-1), 141.0 (q, C-5), 136.0 (q, C-9), 132.3 (t, C-3), 132.2 (t, C-3), 131.0 (2C, t, ArH), 129.4 (2C, t, ArH), 127.4 (2C, t, ArH), 126.9 (q, C-2), 119.2 (2C, t, C-4), 75.4 (t, C-7), 66.9 (t, C-8), 63.4 (s, C-13), 17.6 (s, C-14), -1.3 (3C, p, C-15) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₁H₂₆N₄O₄SiNa [M + Na]⁺: 449.1621; gefunden 449.1626.

Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-[(2*S*,3*R*)-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropan-amido]benzoat (241**)**

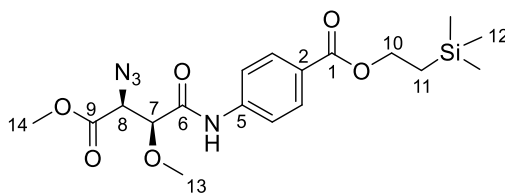
Ester **239** (40.0 mg, 93.8 μmol , 1.00 Äq.) wurde in Aceton (1.50 mL) bei RT und unter Lichtausschluß gelöst. Kaliumcarbonat (32.4 mg, 0.23 mmol, 2.50 Äq.) und Iodmethan (299 mg, 2.11 mmol, 22.5 Äq.) wurden hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 50 °C erhitzt und für 48 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 4:1) lieferte das gewünschte Produkt **241** (19.8 mg, 44.9 μmol , 48%) als farbloses Öl.

$R_f = 0.84$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98:2); $[\alpha]_D^{20} = -73.4^\circ$ ($c = 0.70$, CH_2Cl_2); **IR**: $\tilde{\nu} = 3321$ (w), 2953 (w), 2103 (s, Azid), 1695 (s), 1605 (m), 1520 (s), 1453 (s), 1408 (m), 1378 (m), 1311 (m), 1272 (s), 1248 (s), 1173 (s), 1102 (s), 1035 (m), 934 (m), 856 (s), 836 (s), 769 (s), 732 (m), 695 (s) cm^{-1} ; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.51$ (1H, s, NH), 8.05 (2H, m, H-3), 7.68 (2H, m, H-4), 7.49-7.38 (5H, m, H-10, H-11, H-12), 5.11 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 4.42 (2H, m, H-13), 3.90 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-7), 3.30 (3H, s, H-16), 1.14 (2H, m, H-14), 0.09 (9H, p, H-15) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.0$ (q, C-6), 166.3 (q, C-1), 141.0 (q, C-5), 136.2 (q, C-9), 131.0 (2C, t, C-3), 129.1 (2C, t, C-11), 129.0 (t, C-12), 127.6 (2C, t, C-10), 127.0 (q, C-2), 119.2 (2C, t, C-4), 85.8 (t, C-7), 66.5 (t, C-8), 63.4 (s, C-13), 61.0 (p, C-16), 17.6 (s, C-14), -1.3 (3C, p, C-15) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 463.1778; gefunden 463.1772.

Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-[(2*S*,3*R*)-3-azido-2-methoxy-*N*-methyl-3-phenylpropanamido]benzoat (242**)**

Trimethyloxoniumtetrafluoroborat (36.9 mg, 0.25 mmol, 8.00 Äq.) und *N,N,N',N'*-Tetramethylnaphthalin-1,8-diamin (*Proton-Sponge*[®]; 53.5 mg, 0.25 mmol, 8.00 Äq.) wurden in CH₂Cl₂ (1.50 mL) bei RT gelöst. Danach wurde der Ester **239** (13.3 mg, 31.1 μmol, 1.00 Äq.) in CH₂Cl₂ (1.50 mL) zur Reaktionsmischung hinzugegeben. Das Gemisch wurde auf 40 °C erhitzt und für 18 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von einer NaHCO₃-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et₂O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden jeweils mit einer KHSO₄-Lösung (0.5 M) und einer NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 4:1) ergab das Produkt **242** (5.50 mg, 12.1 μmol, 40%) als farbloses Öl.

$[\alpha]_D^{20} = +2.9^\circ$ ($c = 0.50$, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.89 (2H, m, H-4), 7.41-7.34 (5H, m, ArH), 7.18 (2H, m, ArH), 4.93 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-8), 4.43 (2H, m, H-13), 3.77 (1H, m, H-7), 3.43 (3H, s, H-16), 3.07 (3H, s, H-17), 1.14 (2H, m, H-14), 0.10 (9H, s, H-15) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 168.6 (q, C-6), 165.7 (q, C-1), 135.3 (q, ArC), 131.0 (2C, t, ArC), 128.9 (t, ArC), 128.8 (2C, t, ArC), 128.1 (2C, t, ArC), 127.5 (q, ArC), 82.0 (t, C-7), 67.4 (t, C-8), 63.9 (s, C-13), 58.0 (p, C-16), 37.6 (p, C-17), 17.6 (s, C-14), -1.3 (3C, p, C-15) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₂₃H₃₀N₄O₄SiNa [M + Na]⁺: 477.1934; gefunden 477.1934.

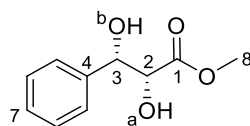
Synthese des Methylesters 244*Oxidation des Phenylrings mit RuCl₃·H₂O:*

Ester **241** (8.30 mg, 18.8 μmol , 1.00 Äq.) wurde in EtOAc (0.15 mL) und CH₃CN (0.15 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde eine Lösung aus NaIO₄ (101 mg, 0.42 mmol, 25.0 Äq.) in H₂O (0.45 mL) hinzugegeben, sowie RuCl₃·H₂O (0.23 mg, 1.13 μmol , 0.06 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei RT gerührt und anschließend mit EtOAc, sowie H₂O versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt **243** wurde direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Methylesterbildung:

Carbonsäure **243** wurde in Toluol (0.24 mL) und CH₃OH (0.08 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde TMSCHN₂ (2.0 M in Et₂O; 7.00 μL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 3:1) lieferte den gewünschten Methylester **244** (5.16 mg, 12.2 μmol , 65% über 2 Stufen). Das gewünschte Produkt konnte jedoch nicht sauber erhalten werden und wurde daher direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

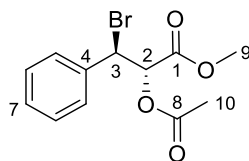
HRMS (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₂₇N₄O₆Si [M + H]⁺: 423.1700; gefunden 423.1700; m/z berechnet für C₁₈H₂₆N₄O₆SiNa [M + Na]⁺: 445.1519; gefunden 445.1526.

Synthese von (2*R*,3*S*)-Methyl-2,3-dihydroxy-3-phenylpropanoat (245)

AD mix α (20.0 g) wurde in einem Gemisch aus *t*BuOH/H₂O (1:1; 142 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde CH₃SO₂NH₂ (1.36 g, 14.3 mmol, 1.00 Äq.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch auf 0 °C abgekühlt. Zimtsäuremethylester (**224**; 2.31 g, 14.3 mmol, 1.00 Äq.) wurde hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde unter starkem Rühren für 16 h bei 0 °C gerührt. Es wurde auf RT erwärmt und für weitere 6 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von Na₂SO₃ (21.4 g, 170 mmol, 12.0 Äq.) beendet. Es wurde auf RT erwärmt und für weitere 2.5 h gerührt. Anschließend wurde EtOAc hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H₂O gewaschen und danach über Na₂SO₄ getrocknet, sowie filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 1:1) lieferte das gewünschte Diol **245** (2.17 g, 11.1 mmol, 77%) als farblosen Feststoff.

R_f = 0.38 (PE/EtOAc 1:1); T_M = 84 – 85 °C; $[\alpha]_D^{20}$ = +9.8° (c = 1.28, CHCl₃); **HPLC**: > 99.9% *ee*, CHIRALCEL[®] OD-H Säule (Gradient 10% *i*PrOH in *n*Hexan, 1.0 mL/min, 254 nm), t_R = 17.1 min; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.42-7.29 (5H, m, ArH), 5.02 (1H, dd, J = 2.7, 7.2 Hz, H-3), 4.38 (1H, dd, J = 2.7, 6.0 Hz, H-2), 3.81 (3H, s, H-8), 3.15 (1H, d, J = 6.0 Hz, OH-a), 2.81 (1H, d, J = 7.2 Hz, OH-b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 173.3 (q, C-1), 140.0 (q, C-4), 128.6 (2C, t, C-6), 128.2 (t, C-7), 126.3 (2C, t, C-5), 74.8 (t, C-2), 74.6 (t, C-3), 53.0 (p, C-8) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₀H₁₂O₄Na [M + Na]⁺: 219.0633; gefunden 219.0637.

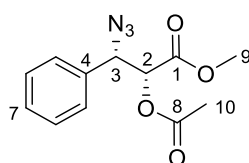
Synthese von (2*S*,3*R*)-Methyl-2-acetoxy-3-bromo-3-phenylpropanoat (**246**)



Diol **245** (2.13 g, 10.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde tropfenweise mit HBr/HOAc (33%; 16.9 mL) bei RT versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 45 °C erhitzt und für 30 min gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde das Reaktionsgemisch in eine Eis-gekühlte NaHCO₃-Lösung (40.0 mL) gegossen. Die wässrige Phase wurde mit Et₂O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H₂O, gefolgt von einer NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten, organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 12.5:1) ergab das gewünschte Produkt **246** (2.60 g, 8.65 mmol, 80%) als farblosen Feststoff.

R_f = 0.73 (PE/EtOAc 1:1); **T_M** = 78 – 82 °C; **[α]_D²⁰** = -93.5° (*c* = 1.35, CHCl₃); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.46-7.44 (2H, m, H-6), 7.36-7.31 (3H, m, H-5, H-7), 5.65 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-3), 5.35 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-2), 3.71 (3H, s, H-9), 2.11 (3H, s, H-10) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.6 (q, C-1), 167.5 (q, C-8), 136.8 (q, C-4), 129.3 (t, C-7), 128.73 (2C, t, C-6), 128.71 (2C, t, C-5), 75.4 (t, C-3), 52.8 (p, C-9), 49.3 (t, C-2), 20.6 (p, C-10) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₁₃O₄BrNa [M + Na]⁺: 322.9895; gefunden 322.9890.

Synthese von (2*R*,3*S*)-Methyl-2-acetoxy-3-azido-3-phenylpropanoat (**247**)

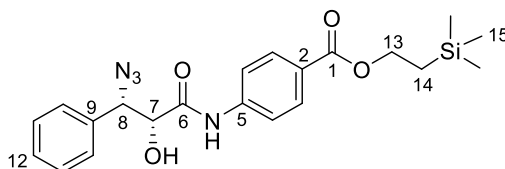


Bromid **246** (2.56 g, 8.51 mmol, 1.00 Äq.) wurde in DMF (30.5 mL) bei RT gelöst. Es wurde NaN₃ (2.21 g, 34.1 mmol, 4.00 Äq.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch für 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 40 °C erhitzt und für weitere 2 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde EtOAc hinzugefügt und die Reaktionslösung mit H₂O,

gefolgt von einer NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 10:1) lieferte das gewünschte Azid **247** (1.98 g, 7.53 mmol, 89%) als gelbes Öl.

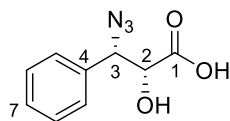
$R_f = 0.26$ (PE/EtOAc 10:1); $[\alpha]_D^{20} = +92.1^\circ$ ($c = 1.22$, CHCl_3); **IR**: $\tilde{\nu} = 2955$ (w), 2103 (s, Azid), 1747 (s, C=O), 1495 (w), 1454 (m), 1437 (m), 1373 (m), 1210 (s), 1099 (m), 1030 (m), 911 (m), 736 (m), 701 (s), 652 (m) cm^{-1} ; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.43\text{-}7.32$ (5H, m, ArH), 5.24 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-2), 5.07 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-3), 3.69 (3H, s, H-9), 2.14 (3H, s, H-10) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.9$ (q, C-1), 168.0 (q, C-8), 134.6 (q, C-4), 129.3 (t, C-7), 129.0 (2C, t, C-6), 127.6 (2C, t, C-5), 74.9 (t, C-2), 65.4 (t, C-3), 52.9 (p, C-9), 20.6 (p, C-10) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 286.0804; gefunden 286.0803.

Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-[(2*R*,3*S*)-3-azido-2-hydroxy-3-phenylpropan-amido]benzoat (**248**)



Verseifung:

Ester **247** (100 mg, 0.38 mmol, 1.00 Äq.) wurde in THF (3.80 mL) bei 0 °C gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde mit LiOH (1.0 M; 3.80 mL) tropfenweise versetzt und für 6 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt (78.5 mg, 0.38 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.

(2R,3S)-3-Azido-2-hydroxy-3-phenylpropansäure

$[\alpha]_D^{20} = +121.4^\circ$ ($c = 1.00$, CH_3OH); **IR**: $\tilde{\nu} = 3499$ (w), 3445 (w), 3032 (m), 2927 (m), 2103 (s, Azid), 1724 (s), 1603 (m), 1495 (m), 1453 (m), 1342 (m), 1306 (m), 1245 (s), 1211 (s), 1159 (m), 1102 (s), 1031 (m), 1001 (m), 959 (m), 920 (m), 875 (m), 779 (m), 742 (s), 698 (s), 667 (m) cm^{-1} ; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, Aceton- d_6 , Aceton- $d_5 = 2.05$ ppm): $\delta = 7.56\text{-}7.53$ (2H, m, H-5), 7.44-7.34 (3H, m, H-6, H-7), 4.97 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-3), 4.48 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-2), 2.88 (1H, brs, OH) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, Aceton- d_6 , Aceton- $d_6 = 29.84$ ppm): $\delta = 173.0$ (q, C-1), 137.5 (q, C-4); 129.3 (2C, t, C-6), 129.3 (t, C-7), 129.0 (2C, t, C-5), 74.7 (t, C-2), 67.8 (t, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 230.0542; gefunden 230.0547.

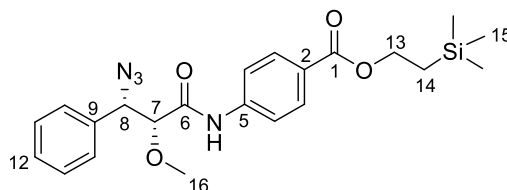
Peptidkupplung:

Carbonsäure (39.4 mg, 0.19 mmol, 1.00 Äq.) und 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-amino-benzoat (**237**; 54.1 mg, 0.23 mmol, 1.20 Äq.) wurden in CH_2Cl_2 (2.00 mL) bei RT gelöst. Das Kupplungsreagenz Cl_2PPh_3 (285 mg, 0.85 mmol, 4.50 Äq.) wurde hinzugegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 40°C erhitzt und für 2 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99.5:0.5 $\rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1 $\rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98.5:1.5 $\rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) lieferte das gewünschte Kupplungsprodukt **248** (37.4 mg, 87.7 μmol , 46%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.22$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2); $T_M = 106 - 108^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D^{20} = +85.6^\circ$ ($c = 1.23$, CH_2Cl_2); **IR**: $\tilde{\nu} = 3362$ (w, OH), 2106 (s, Azid), 1721 (s), 1667 (s), 1591 (s), 1529 (s), 1452 (m), 1407 (m), 1315 (m), 1265 (s), 1248 (s), 1170 (s), 1114 (m), 1088 (s), 1045 (m), 1015 (w), 952 (w), 919 (w), 861 (s), 836 (s), 770 (s), 751 (m), 709 (s), 694 (s), 640 (m) cm^{-1} ; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.95$ (1H, s, NH), 7.99 (2H, m, H-3), 7.66 (2H, m, H-4), 7.48-7.38 (5H, m, H-10, H-11, H-12), 5.32 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-8), 4.41 (2H, m, H-13), 4.37 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-7), 1.14 (2H, m, H-14), 0.09 (9H, s, H-15) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.6$ (q, C-6), 166.3 (q, C-1), 141.0 (q, C-5), 136.0 (q, C-9), 132.3 (t, C-3), 132.2 (t, C-3), 131.0 (2C, t, ArH), 129.4 (2C, t, ArH), 127.4 (2C,

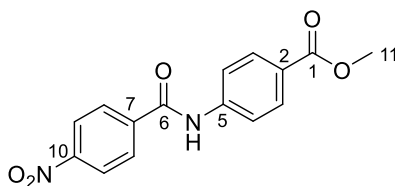
t, ArH), 126.9 (q, C-2), 119.2 (2C, t, C-4), 75.4 (t, C-7), 66.9 (t, C-8), 63.4 (s, C-13), 17.6 (s, C-14), -1.3 (3C, p, C-15) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{21}H_{26}N_4O_4SiNa$ $[M + Na]^+$: 449.1621; gefunden 449.1621.

Synthese von 2-(Trimethylsilyl)ethyl-4-[(2*R*,3*S*)-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropan-amido]benzoat (**249**)



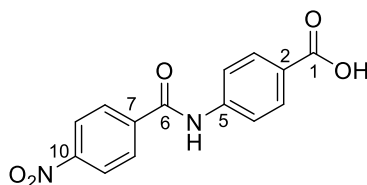
Ester **248** (37.4 mg, 87.7 μ mol, 1.00 Äq.) wurde in Aceton (1.10 mL) bei RT und unter Lichtausschluß gelöst. Kaliumcarbonat (30.3 mg, 0.22 mmol, 2.50 Äq.) und Iodmethan (280 mg, 1.97 mmol, 22.5 Äq.) wurden hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 50 °C erhitzt und für 2 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc 4:1) lieferte das gewünschte Produkt **249** (18.5 mg, 42.0 μ mol, 48%) als farbloses Öl.

R_f = 0.43 (PE/EtOAc 4:1); $[\alpha]_D^{20}$ = +72.2° (c = 1.04, CH_2Cl_2); **IR**: $\tilde{\nu}$ = 3317 (w), 2953 (w), 2898 (m), 2102 (s, Azid), 1695 (s), 1605 (m), 1595 (m), 1520 (s), 1454 (m), 1408 (s), 1378 (m), 1344 (m), 1311 (m), 1271 (s), 1248 (s), 1202 (m), 1174 (s), 1102 (s), 1061 (m), 1036 (m), 935 (m), 856 (s), 836 (s), 769 (s), 697 (s), 636 (m), 617 (m) cm^{-1} ; **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 8.52 (1H, s, NH), 8.05 (2H, m, H-3), 7.68 (2H, m, H-4), 7.49-7.36 (5H, m, H-10, H-11, H-12), 5.12 (1H, d, J = 2.7 Hz, H-8), 4.42 (2H, m, H-13), 3.90 (1H, d, J = 2.7 Hz, H-7), 3.30 (3H, s, H-16), 1.14 (2H, m, H-14), 0.09 (9H, p, H-15) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77.16 ppm): δ = 168.0 (q, C-6), 166.3 (q, C-1), 141.0 (q, C-5), 136.1 (q, C-9), 131.0 (2C, t, C-3), 129.1 (t, C-12), 129.0 (2C, t, C-11), 127.6 (2C, t, C-10), 126.9 (q, C-2), 119.1 (2C, t, C-4), 85.7 (t, C-7), 66.5 (t, C-8), 63.4 (s, C-13), 61.0 (p, C-16), 17.6 (s, C-14), -1.3 (3C, p, C-15) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{22}H_{29}N_4O_4Si$ $[M + H]^+$: 441.1958; gefunden 441.1954.

Synthese von Methyl-4-(4-nitrobenzamido)benzoat (251)

4-Aminobenzoesäuremethylester (**223**; 150 mg, 0.99 mmol, 1.00 Äq.) und 4-Nitrobenzoesäure (**250**; 232 mg, 1.39 mmol, 1.40 Äq.) wurden in CH_2Cl_2 (4.00 mL) bei RT gelöst. Das Kupplungsreagenz Cl_2PPh_3 (1.49 g, 4.47 mmol, 4.50 Äq.) wurde hinzugegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt und für 4 d gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (100% CH_2Cl_2) lieferte das Amid **251** (215 mg, 0.71 mmol, 72%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.58$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98:2); $T_M = 245 - 246$ °C; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 10.88$ (1H, s, NH), 8.39 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-9), 8.20 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-8), 8.00-7.95 (4H, dd, $J = 8.9, 18.4$ Hz, H-3, H-4), 3.84 (3H, s, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 166.2$ (q, C-6), 164.9 (q, C-1), 149.8 (q, C-10), 143.6 (q, C-5), 140.7 (q, C-7), 130.7 (2C, t, C-3), 129.8 (2C, t, C-8), 125.3 (q, C-2), 124.1 (2C, t, C-9), 120.2 (2C, t, C-6), 51.9 (p, C-11) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 301.0824; gefunden 301.0828.

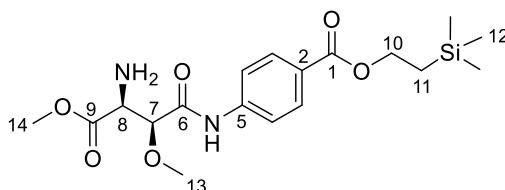
Synthese von 4-(4-Nitrobenzamido)benzoesäure (219)

Peptid **251** (200 mg, 0.67 mmol, 1.00 Äq.) wurde in einem Gemisch aus $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1; 38.0 mL) bei RT gelöst. Es wurde LiOH (246 mg, 10.3 mmol, 15.4 Äq.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 h bei RT gerührt. Anschließend wurde CH_2Cl_2 hinzugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit HCl (1.0 M) auf pH ~ 1 angesäuert. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und getrocknet. Die gewünschte Carbonsäure **219** (144 mg, 0.50 mmol, 75%) wurde als gelblicher Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit denen in der Literatur beschriebenen überein.^{151,152}

$T_M = 322 - 324^\circ\text{C}$ {Lit.¹⁵¹: $T_M = 335 - 340^\circ\text{C}$ }; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 10.85$ (1H, s, OH), 8.41 (2H, m, H-9), 8.31 (2H, m, H-8), 8.23-8.00 (4H, m, H-3, H-4), 7.75 (1H, s, NH) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 168.2$ (q, C-1), 164.6 (q, C-6), 162.2 (q, C-10), 149.7 (q, C-5), 143.9 (q, C-7), 141.1 (2C, t, C-3), 131.1 (2C, t, C-8), 129.8 (q, C-2), 123.5 (2C, t, C-9), 120.4 (2C, t, C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_5$ [$\text{M} - \text{H}$]: 285.0511; gefunden 285.0506.

Synthese des Amins 252



Methylester **244** (17.3 mg, 40.9 μmol , 1.00 Äq.) wurde in CH_3OH (2.30 mL) bei RT gelöst. Es wurde Pd/C (10%; 2.90 mg, 0.10 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Wasserstoff gespült und anschließend unter H_2 -Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 6 h wurde die Reaktionsmischung über CeliteTM filtriert und mit CH_3OH gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt **252** wurde direkt in die nächste Stufe eingesetzt.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 397.1795; gefunden 397.1798.

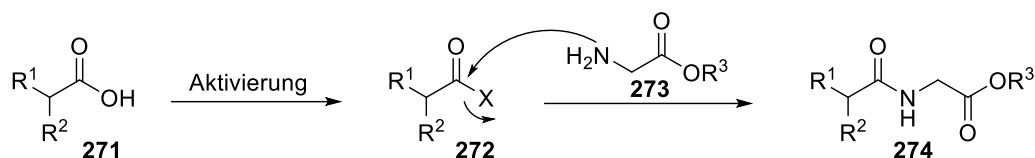
¹⁵¹ R. Abbel, H. Frey, D. Schollmeyer, A. Kilbinger, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 2170-2176.

¹⁵² L. Xu, Y. Huang, J. Li, D. Wang, M. Chen, J. Tao, K. Cui, G. Pan, N. Huang, L. Li, *Langmuir* **2013**, *29*, 3813-3820.

6 Anhang

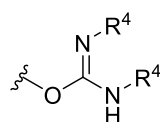
6.1 Peptidkupplungsreagenzien und Additiva¹⁵³

Die Verknüpfung zweier Aminosäure-Reste zu einem Peptid wird als Kupplung bezeichnet und beinhaltet den nukleophilen Angriff der Aminogruppe der einen Aminosäure **273** an das Carbonyl-Atom der anderen Aminosäure **271**, welche zuvor durch die Einführung elektronenziehender Reste (EWG) aktiviert wird. Die Aktivierung der Carboxylgruppe einer Aminosäure kann über eine Vielzahl an Möglichkeiten wie bspw. Aktivester **275-277**, Acylhalogenide und -azide, sowie symmetrische **278** oder unsymmetrische Anhydride **279** realisiert werden (Schema 129).

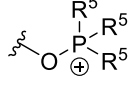


X = Halogenid (F, Cl), Azid, Aktivester, symm. oder unsymm. Anhydride

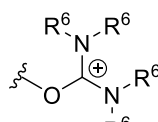
Aktivester:



275
O-Acylharnstoff

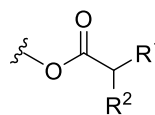


276
O-Acylphosphonium



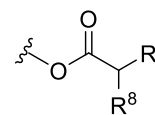
277
O-Acyluronium

symm. Anhydride:



278

unsymm. Anhydride:



279

Schema 129: Möglichkeiten zur Carboxylgruppenaktivierung.⁶⁷

Im Folgenden werden die Peptidkupplungsreagenzien des Carbodiimid¹⁵⁴-, des Aminium/Uronium- und des Phosphonium-Typs¹⁵⁵ näher betrachtet.

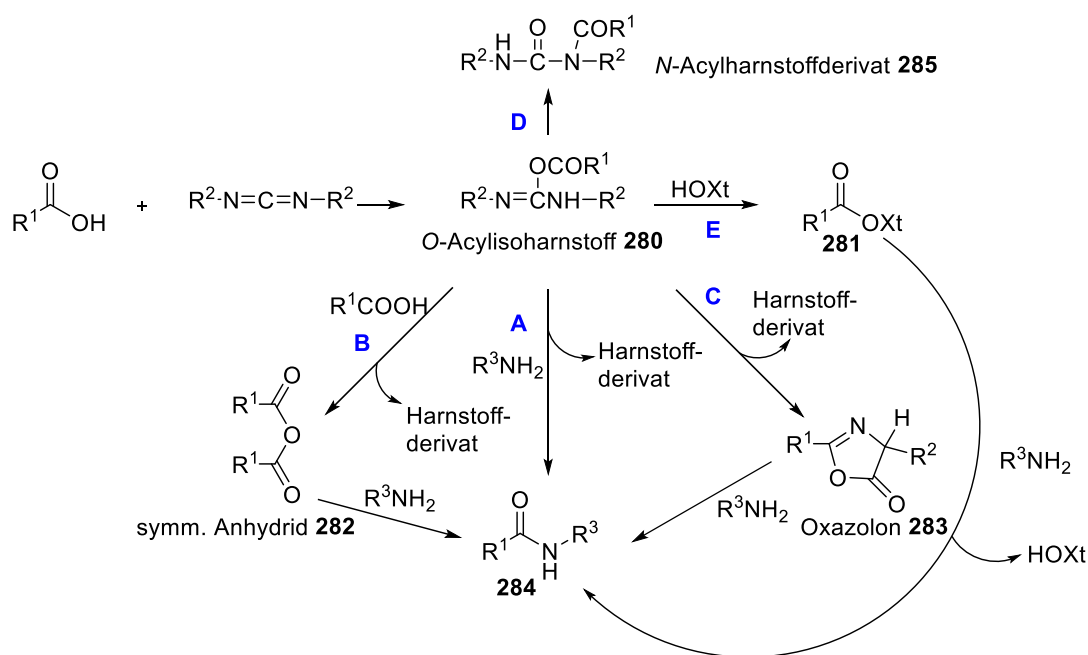
Carbodiimide zeichnen sich durch zwei Stickstoff-Atome und ein elektrophiles Kohlenstoff-Atom aus. Die Elektrophilie des Carbodiimid Kohlenstoff-Atoms ist ausreichend, um mit der Carboxylgruppe einer Aminosäure eine Reaktion zu einem O-Acyliso-

¹⁵³ Dieses Kapitel wurde teilweise aus der von der Autorin vorgelegten Masterarbeit übernommen und durch persönliche Erfahrungen während dieser Arbeit ergänzt.

¹⁵⁴ In dieser Arbeit wurden die Carbodiimide vorrangig für die Peptidkupplung kanonischer Aminosäuren verwendet.

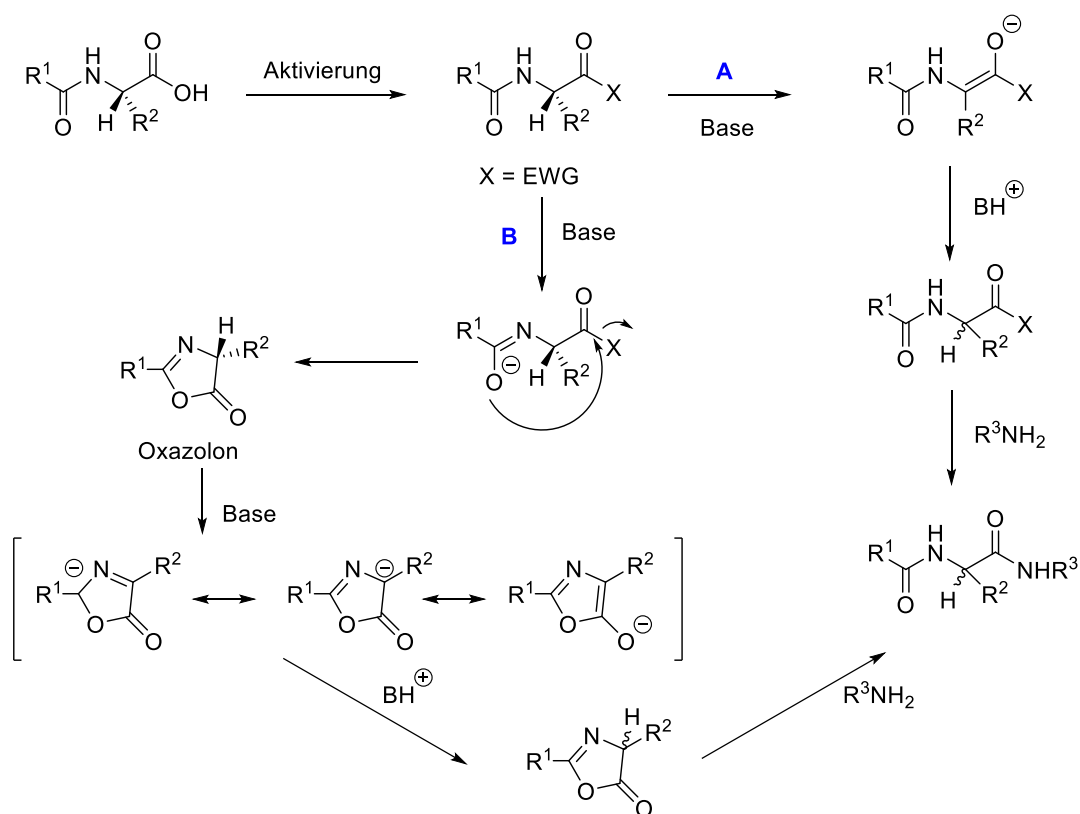
¹⁵⁵ Aminium- und Phosphoniumreagenzien wurden in dieser von der Autorin vorgelegten Arbeit hauptsächlich für die Kupplung unnatürlicher Aminosäuren und großer Peptidfragmente verwendet.

harnstoffderivat **280** einzugehen. Bei diesem Isoharnstoffderivat handelt es sich um eine außerordentlich reaktive Verbindung. Die Zugabe eines Amins führt zu einer Aminolyse des Isoharnstoffderivats **280**, wobei das Peptid **284** und ein Harnstoffderivat als Nebenprodukt entstehen (Schema 130, Weg A). In Anwesenheit eines Überschusses an Carbonsäure kann sich ein symmetrisches Anhydrid **282** bilden. Eine nachfolgende Aminolyse liefert dabei ebenfalls das Peptid **284** (Schema 130, Weg B). Darüber hinaus ist eine Zyklisierung des *O*-Acylisoharnstoffderivats **280** zu einem Oxazolone **283**, welches eine verringerte Reaktivität gegenüber dem *O*-Acylisoharnstoffderivat **280** aufweist, möglich (Schema 130, Weg C). Ausgehend von dem Oxazolone **283** wird das Peptid **284** ebenfalls durch Aminolyse gebildet. Bedingt durch die Reaktivität des *O*-Acylisoharnstoffderivats **280** kann sich diese Verbindung irreversibel in das stabile, inerte *N*-Acylharnstoffderivat **285** umlagern (Schema 130, Weg D). In Anwesenheit eines Additivs HOXt wird das Isoharnstoffderivat **280** in den korrespondierenden Aktivester des Additivs **281** überführt (Schema 130, Weg E). Im Vergleich zu dem *O*-Acylisoharnstoffderivat **280** handelt es sich bei dem Additivaktivester **281** um eine weniger reaktive Verbindung. Jedoch können Additiva (bspw. HOAt oder HOBT) die Effizienz der Carbodiimid-vermittelten Reaktion steigern, welches durch die Verringerung der *N*-Acylharnstoffbildung **285** erzielt wird. Ein weiterer Vorteil der Additiva besteht darin, dass sie die Racemisierungstendenz des stereogenen Zentrums reduzieren; wie dieses erfolgt ist noch nicht bekannt. Es wird vermutet, dass neben den Additiva auch die verwendete Base und das Lösungsmittel einen Einfluss haben könnten.⁶⁷



Schema 130: Mechanismus der Peptidbindungsbildung über eine Carbodiimid-vermittelte Reaktion.⁶⁷

Generell kann die Racemisierung des stereogenen Zentrums über zwei mögliche Mechanismen, eine direkte Enolisierung (Schema 131, Weg A) oder eine Oxazolombildung (Schema 131, Weg B), verlaufen. In beiden Fällen befindet sich in α -Position zur Carbonylgruppe ein acides Proton, welches unter basischen Bedingungen leicht abstrahiert werden kann.¹⁵⁶



Schema 131: Mechanismus der Racemisierung des stereogenen Zentrums über eine direkte Enolisierung (Weg A) oder Oxazolombildung (Weg B).⁶⁷

In der hier vorgelegten Arbeit wurden die folgenden Carbodiimide DCC **286**, DIC **287** und vorrangig EDC·HCl **288** verwendet (Abbildung 10). Der große Vorteil des EDCs besteht darin, dass dieses Kupplungsreagenz im Gegensatz zu den beiden anderen (DCC und DIC) wasserlöslich ist. Ebenso ist das bei der Reaktion mit EDC entstehende Harnstoffderivat wasserlöslich und kann einfach durch Extraktion nach Reaktionsende entfernt werden. Im Gegensatz dazu bildet sich unter Verwendung von DCC ein durch Chromatographie schwer trennbares Harnstoffderivat, welches in den meisten Fällen eine ähnliche Polarität wie das Kupplungsprodukt aufweist und somit deren Reinigung erschwert. In einigen Fällen kann

¹⁵⁶ a) L. A. Carpino, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 875-878; b) T. T. Romoff, M. Goodman, *J. Pept. Res.* **1997**, 49, 281-292.

dieses Harnstoffderivat durch Zugabe von Diethylether ausgefällt werden, jedoch nicht vollständig.

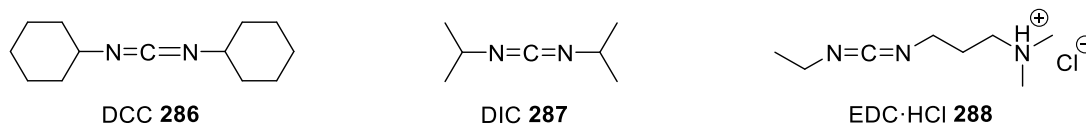


Abbildung 10: Strukturen von DCC **286**, DIC **287** und EDC·HCl **288**.

Wie bereits zuvor beschrieben weist das Additiv HOAt **289** gegenüber dem HOBt **290** eine gesteigerte Reaktivität auf. Dieses lässt sich auf Nachbargruppeneffekte, insbesondere des Stickstoff-Atoms des Pyridinrings, zurückführen. Der entscheidende Faktor ist hierbei die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Aktivesterintermediat und der Aminofunktion (Abbildung 11).⁵⁸

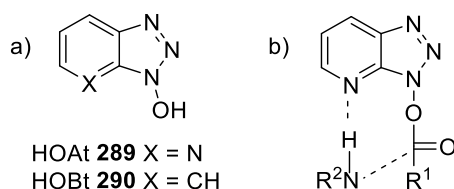


Abbildung 11: a) Strukturen von HOAt **289** und HOBt **290**; b) Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Aktivesterintermediat und der Aminogruppe einer Aminosäure.

Neben den Carbodiimiden gibt es die reaktiveren Peptidkupplungsreagenzien des Aminium/Uronium- und Phosphonium-Typs, welche bevorzugt bei der Amidbindungsbildung von sterisch anspruchsvollen Aminosäuren oder größeren Peptidfragmenten eingesetzt werden.¹⁵⁷

Aminiumsalze zeichnen sich durch ein positiv polarisiertes Kohlenstoff-Atom aus. Im Gegensatz dazu verfügen Reagenzien vom Phosphonium-Typ über einen Phosphor-tragenden Rest (Abbildung 12).¹⁵⁸ Durch Röntgenstrukturanalyse konnte gezeigt werden, dass die Uroniumsalze als Aminiumanaloga (Guanidinium *N*-Oxide) kristallisieren.¹⁵⁹

¹⁵⁷ G. Jou, I. González, F. Albericio, P. Lloyd-Williams, E. Giralt, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 354-366.

¹⁵⁸ M. Gairi, P. Lloyd-Williams, F. Albericio, E. Giralt, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 7363-7366.

¹⁵⁹ a) L. A. Carpino, P. Henklein, B. M. Foxman, I. Abdelmoty, B. Costisella, V. Wray, T. Domke, A. El-Faham, C. Mugge, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5245-5247; b) L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, R. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyerman, M. Bienert, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 457-461; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 441-445.

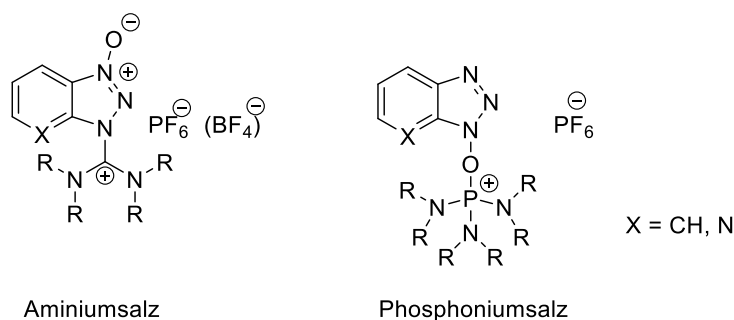
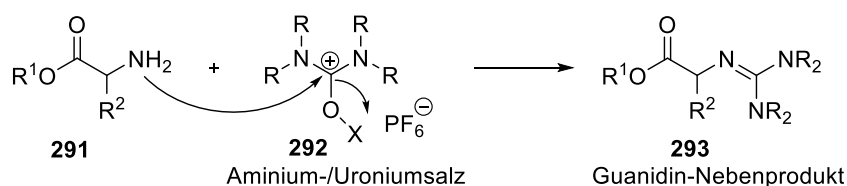


Abbildung 12: Allgemeine Struktur der Aminium- und Phosphoniumsalze.¹⁶⁰

Der große Vorteil der Peptidkupplungsreagenzien vom Phosphonium-Typ besteht darin, dass diese nicht wie die Aminiumreagenzien mit der Aminogruppe der Aminosäure reagieren können. Bei Letzteren kann ein unreaktives Guanidin-Nebenprodukt **293** gebildet werden (Schema 132).¹⁶⁰ Die Bildung des Guanidin-Nebenproduktes wird umgangen, indem zunächst die Aktivierung der Carbonylgruppe der einen Aminosäure in Abwesenheit eines *N*-Nukleophils durchgeführt wird. Nach Ausbildung des intermediär gebildeten Aktivesters erfolgt dann die Aminolyse.



Schema 132: Mögliche Nebenreaktion der Aminiumreagenzien.⁶⁷

Der genaue Mechanismus der Phosphoniumsalz-vermittelten Peptidkupplung ist noch nicht bekannt. Es wird angenommen, dass das Acyloxyphosphoniumsalz **295** die aktive Spezies darstellt.⁶⁷ CASTRO *et al.*¹⁶¹ postulierten, dass dieses Intermediat sehr reaktiv ist und bereits bei niedrigen Temperaturen zu dem symmetrischen Anhydrid **282** reagiert. Kinetische Studien von HUDSON belegten diese Vermutung.¹⁶² Ähnliche Resultate lieferten die Untersuchungen von COSTE *et al.*¹⁶³ Wiederum wurde eine erhöhte Reaktivität des Acyloxyphosphonium-Intermediats **295** postuliert, welches bei niedrigen Temperaturen zu dem Aktivester **297** reagierte.

¹⁶⁰ F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9678-9683.

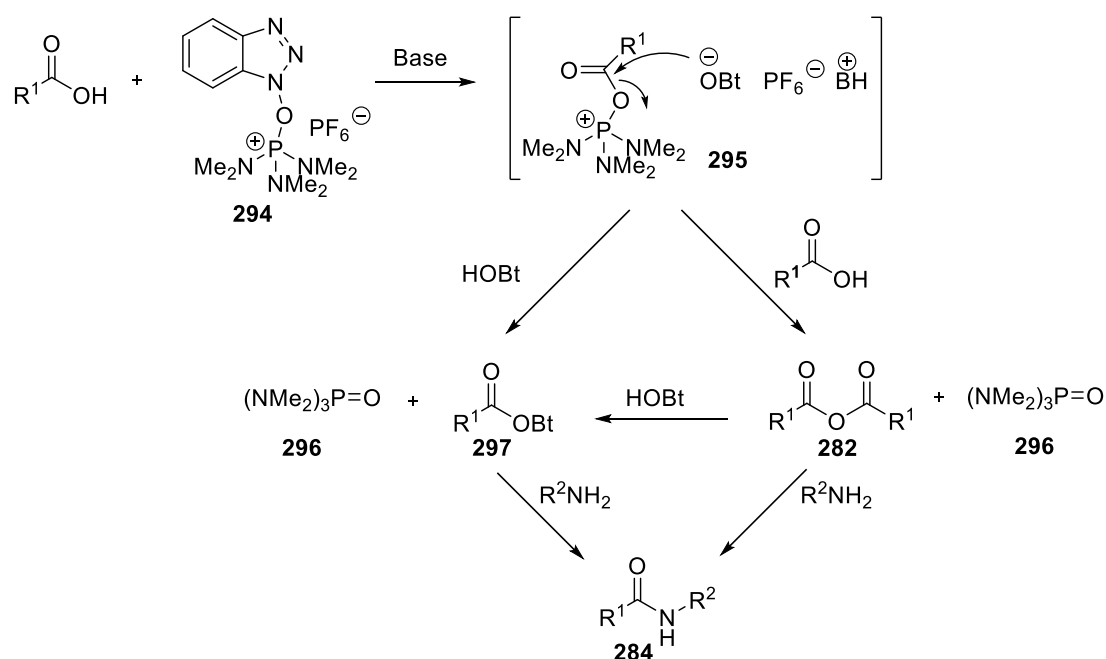
¹⁶¹ B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 1219-1222.

¹⁶² D. Hudson, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 617-624.

¹⁶³ J. Coste, J. M. Campagne, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4253-4256.

Das Schema 133 zeigt den Mechanismus der Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat- (BOP; **294**) vermittelten Peptidkupplung. Hierbei handelt es sich um das einfachste Peptidkupplungsreagenz vom Phosphonium-Typ. Obwohl es ein exzellentes Kupplungsreagenz darstellt, wird es aufgrund des toxischen Nebenprodukts HMPA **296** selten verwendet.¹⁶⁴

Der Mechanismus der Aminiumsalz-vermittelten Peptidkupplung (bspw. HATU **298**, Abbildung 13) verläuft analog; als Nebenprodukt der Reaktion bildet sich ein Harnstoffderivat.



Schema 133: Mechanismus der BOP-vermittelten Peptidkupplung.¹⁶²

Aufgrund der Tatsache, dass sich bei der BOP-vermittelten Peptidkupplung HMPA als Nebenprodukt bildet, wurde in dieser Arbeit das Phosphoniumreagenz PyAOP **297** verwendet (Abbildung 13).

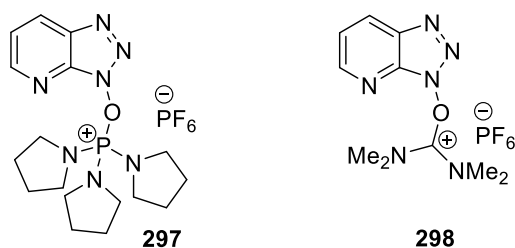


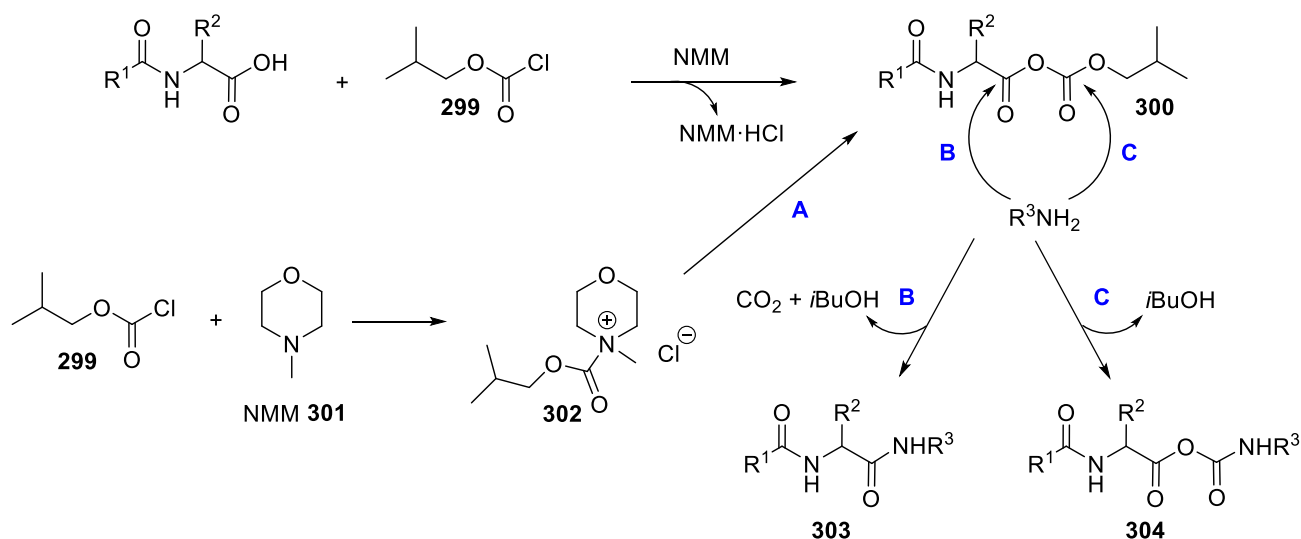
Abbildung 13: Strukturen von PyAOP **297** und HATU **298**.

¹⁶⁴ S.-Y. Han, Y.-A. Kim, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447-2467.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die Aminium- und Phosphoniumreagenzien besonders bei der Kupplung großer Peptidfragmente eignen, wobei in den meisten Fällen das Phosphoniumreagenz PyAOP verwendet wurde, um die mögliche Bildung eines Guanidin-Nebenproduktes **293** von vornherein auszuschließen. Für die Kupplung sekundärer Aminosäuren oder sterisch anspruchsvoller Peptide (s. Kapitel 3.1.7.1 und 3.1.7.3), wie bspw. das *N*-Methylalanin (**191**) wurde auf das Aminiumreagenz HATU zurückgegriffen. Zwar werden in der Literatur^{67,91} bei der Kupplung sekundärer Aminosäuren halogenierte Phosphoniumreagenzien wie PyBroP **106** präferiert (s. Schema 43), jedoch konnte die Autorin dieser Arbeit zeigen, dass EDC·HCl in Kombination mit dem Additiv HOAt und Natriumhydrogencarbonat als Base (vgl. Schema 46), sowie das Reagenziensystem HATU/HOAt (s. Kapitel 3.2.1 und 3.2.3) deutlich bessere Resultate liefern. Ebenso wurde gezeigt, dass sich das Carbodiimid EDC·HCl in Kombination mit HOAt und Natriumhydrogencarbonat als Base hervorragend für die Kupplung von Aminosäuren mit Aminbasenlabilen Schutzgruppen (Fmoc; s. Kapitel 3.1.7.4) eignet.

Für die Peptidkupplung einzelner Aminosäuren zu Dipeptiden (s. Kapitel 3.1.3.1.3) oder auch sehr polarer Aminosäuren eignet sich das Isobutylchlorformiat (**299**; Aktivierung über das gemischte Anhydrid **300**) in Kombination mit der Base *N*-Methylmorpholin (**301**; Schema 134). Die Rolle der Base NMM ist noch nicht komplett verstanden. Zum einen wird vermutet, dass die Base die Säure deprotoniert und das bei der Reaktion frei werdene HCl neutralisiert.^{66,67} Zum anderen besteht auch die Möglichkeit, dass zunächst eine Reaktion des Kupplungsreagenzes IBCF **299** mit dem NMM **301** zu der aktivierten Spezies **302** eintritt, welche dann mit der Aminosäure zu dem gemischten Anhydrid **300** reagiert (Schema 134, Weg A).⁶⁷ In Anwesenheit eines *N*-Nukleophils erfolgt dann die Aminolyse zu dem gewünschten Produkt **303**, wobei der nukleophile Angriff an dem Carbonyl-Atom mit der geringsten Elektronendichte erfolgt (Schema 134, Weg B). Jedoch bringt die Aktivierung der Carboxylgruppe einer Aminosäure über das gemischte Anhydrid einen entscheidenden Nachteil mit sich. Neben dem gewünschten Kupplungsprodukt **303** kann auch das Urethan **304** durch den nukleophilen Angriff desamins an das Carbonyl-Atom des Carbonats gebildet werden (Schema 134, Weg C).⁶⁷ In den meisten Fällen ist diese Nebenreaktion nicht von besonderer Bedeutung, jedoch kann bei sterisch anspruchsvollen Resten die Ausbeute an Kupplungsprodukt bis zu 10% reduziert sein. Ebenfalls kann das Isobutylchlorformiat mit dem *N*-Nukleophil reagieren. Dieser Fall wird beobachtet, wenn ein Überschuss an Kupplungsreagenz verwendet wird oder die Bildung des gemischten Anhydrids unvollständig

verläuft. Ebenfalls kann es zu Epimerisierungen während der Peptidkupplung kommen. Dieses wird umgangen, indem die Aktivierung der Carboxylgruppe bei niedrigen Temperaturen (-15 °C) erfolgt. Der Vorteil dieser Anhydrid-vermittelten Peptidkupplung besteht darin, dass sich die Nebenprodukte der Reaktion einfach anhand von wässriger Aufarbeitung entfernen lassen und es keiner säulenchromatographischen Reinigung bedarf.

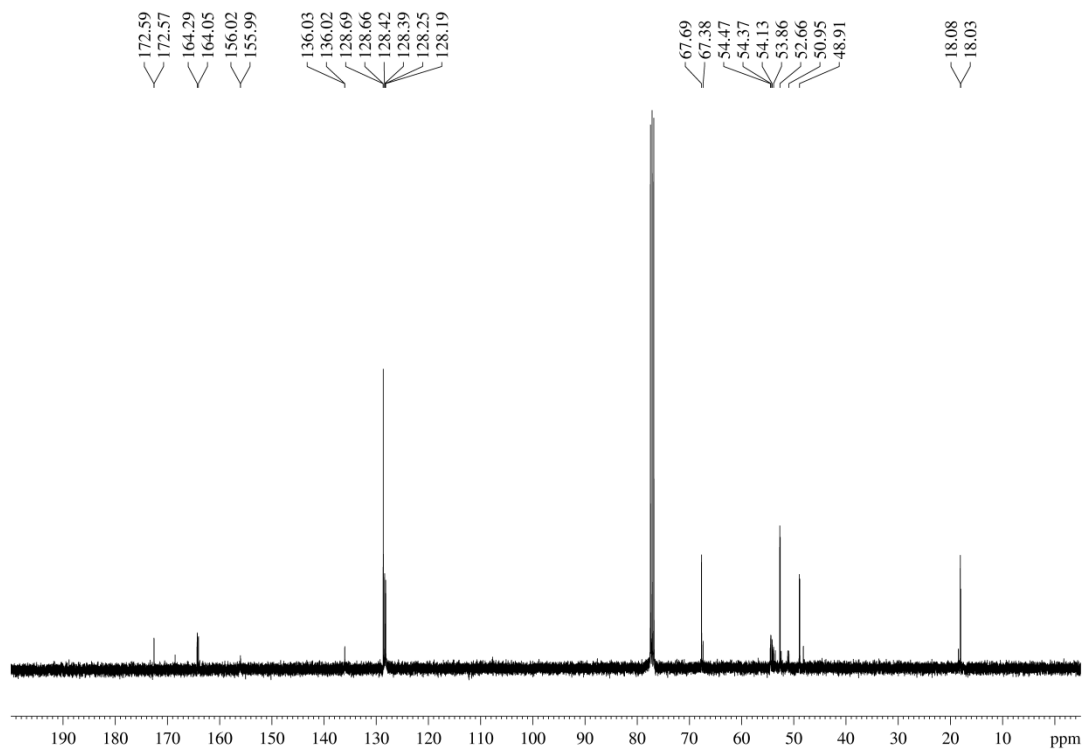
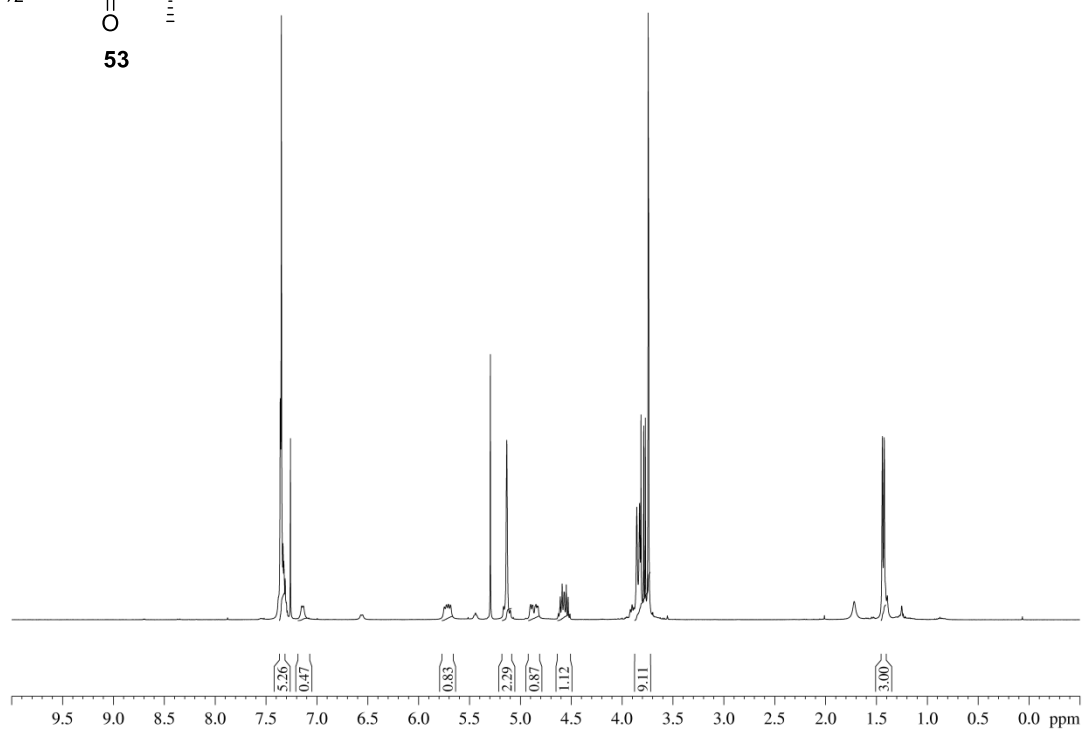
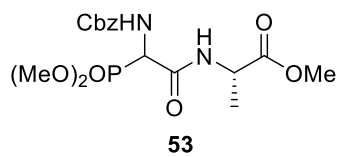


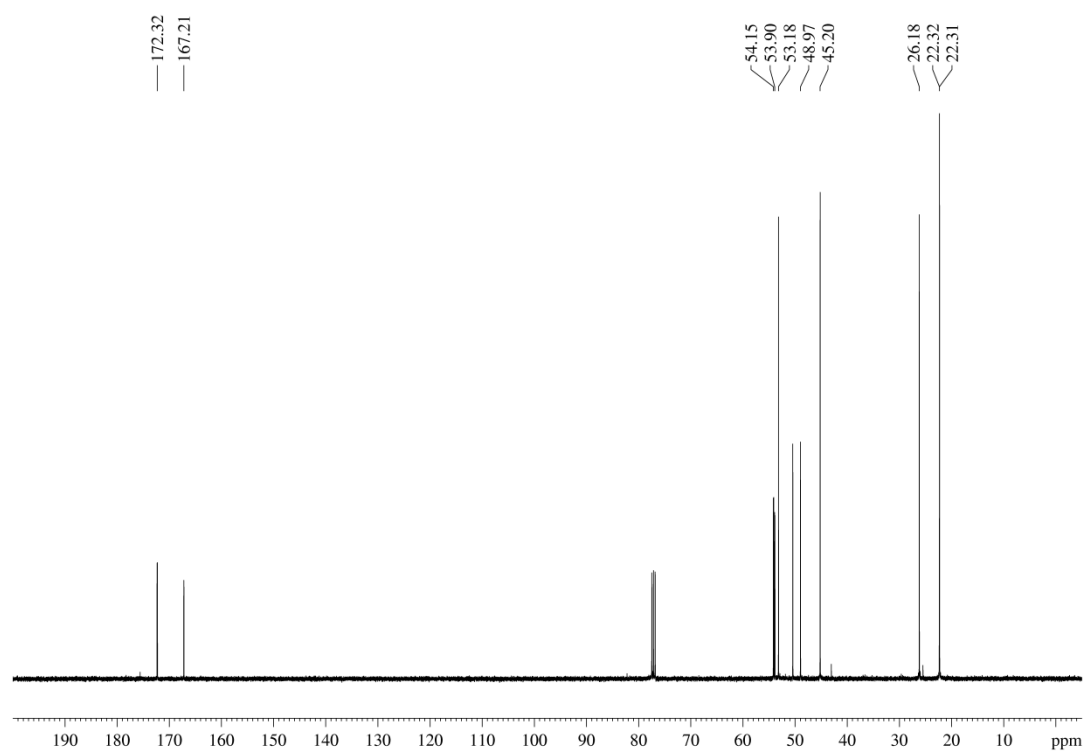
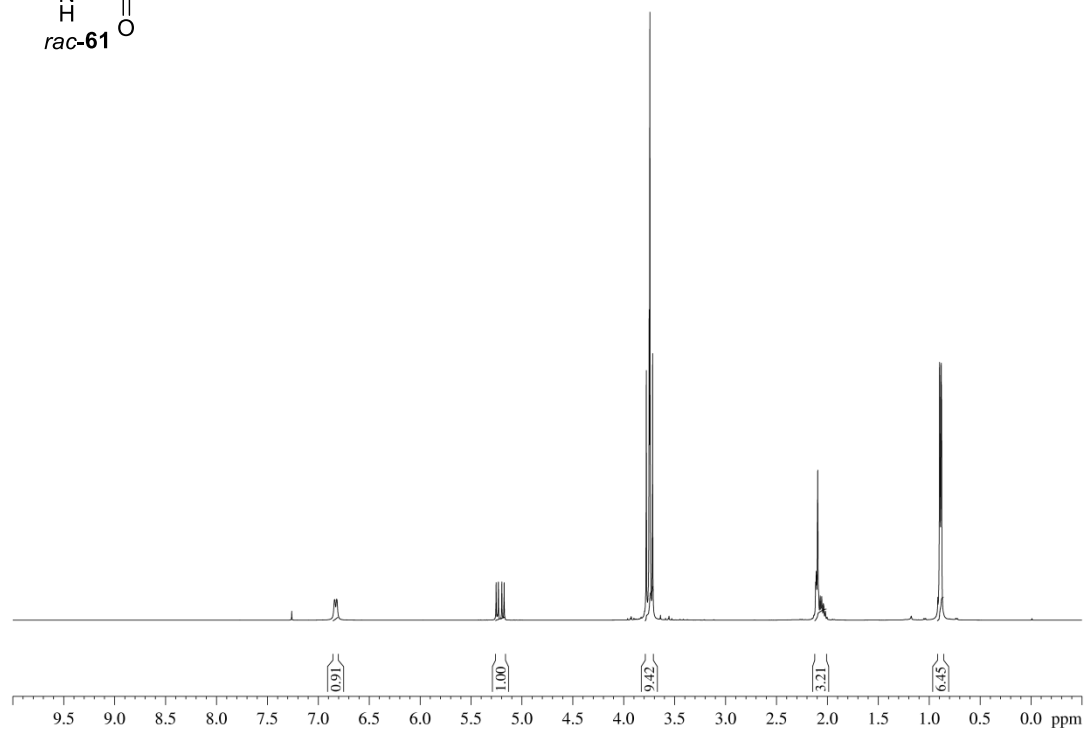
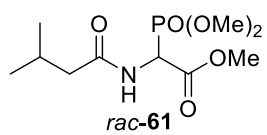
Schema 134: Mechanismus der IBCF-vermittelten Peptidkupplung.⁶⁷

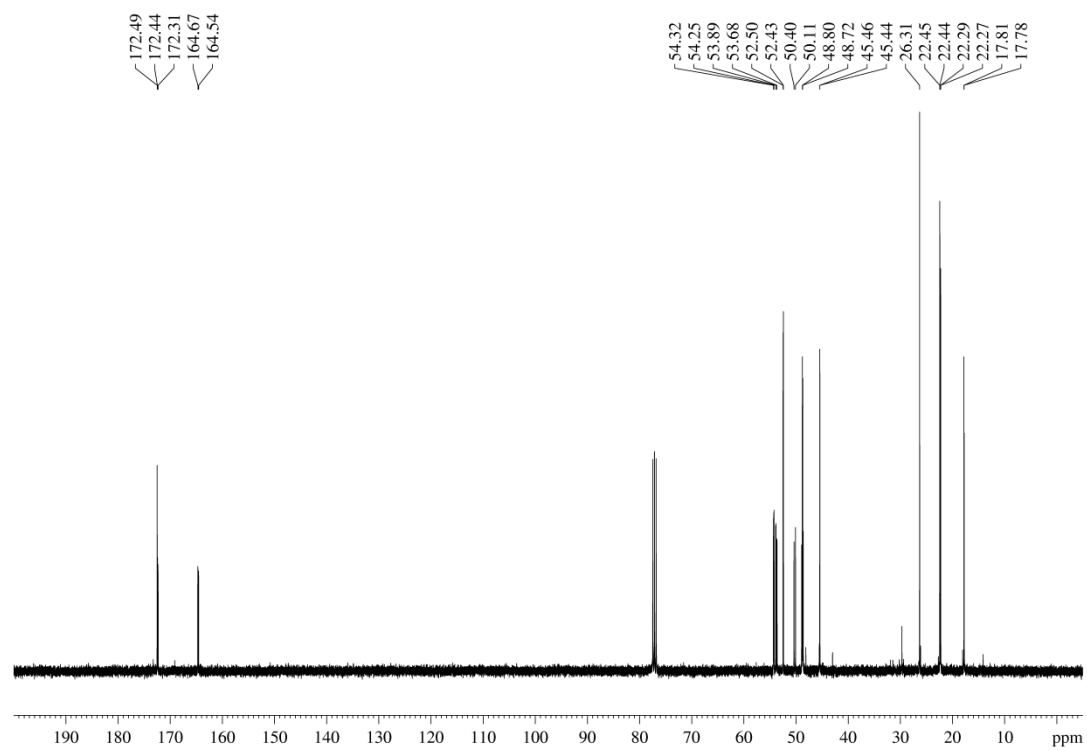
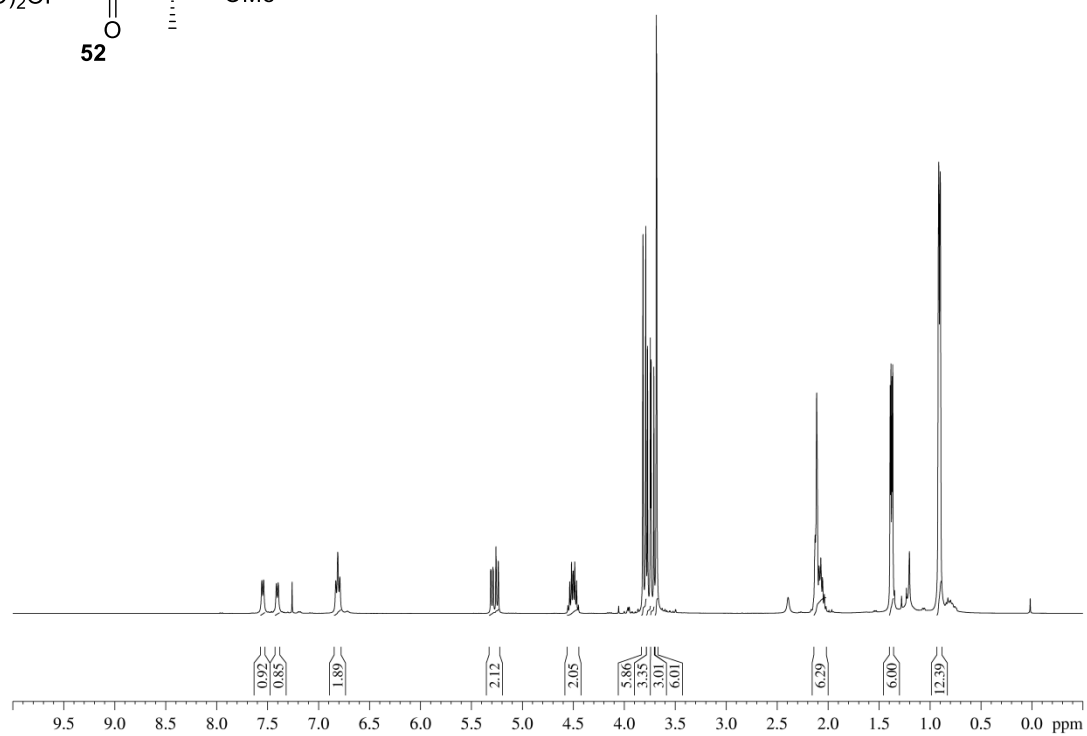
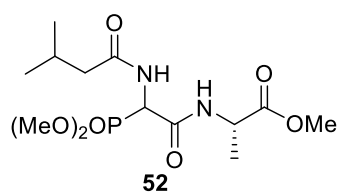
Weiterhin konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass sich das Isobutylchloroformiat hervorragend für die Überführung einer Carboxylgruppe in das korrespondierende Amid eignet (vgl. Schemata 32, 48, 55, 59 und 64).

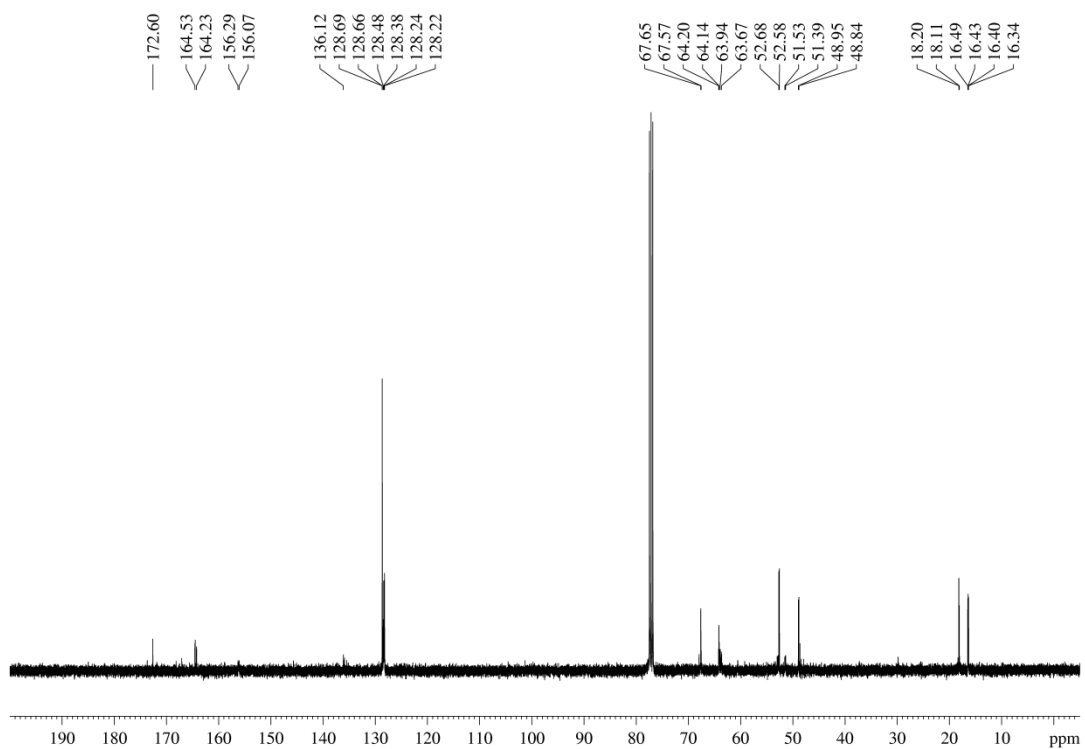
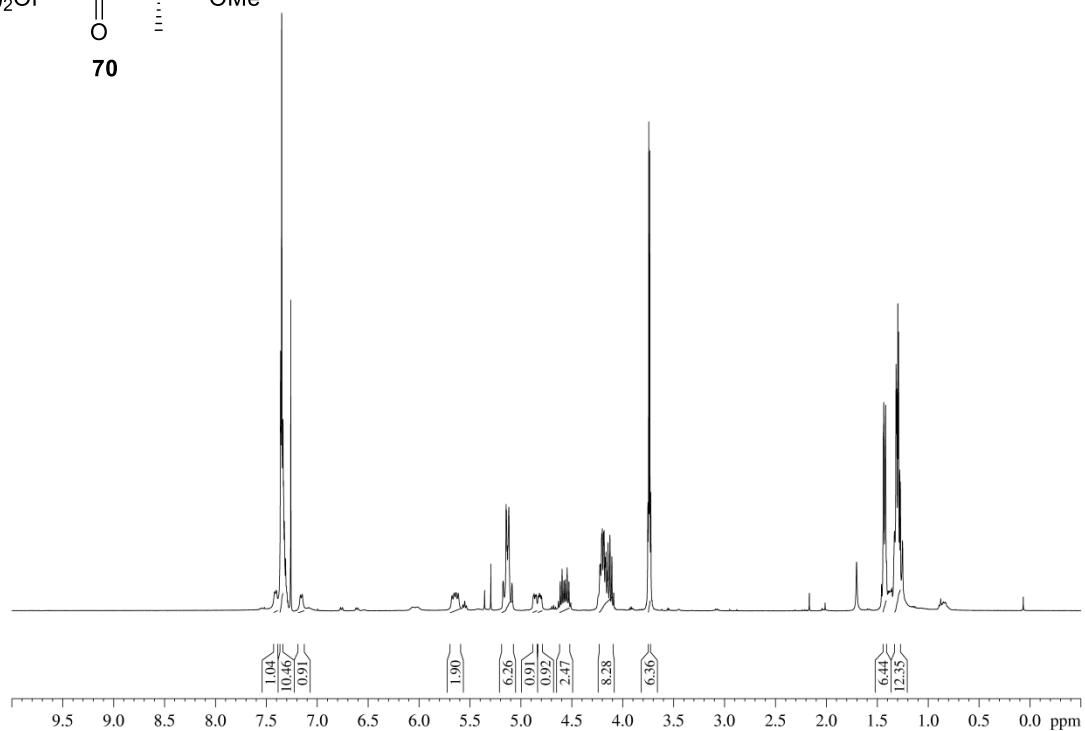
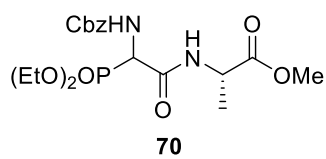
Auf die Aktivierung der Carboxylgruppe einer Aminosäure über ein Acylchlorid wurde in den meisten Fällen dieser Arbeit bewusst verzichtet, da die Säurechloride zur Racemisierung von α -chiralen Verbindungen neigen. Lediglich für die Kupplung von Anilinen musste auf diese Aktivierungsform zurückgegriffen werden (s. Kapitel 3.3.2).

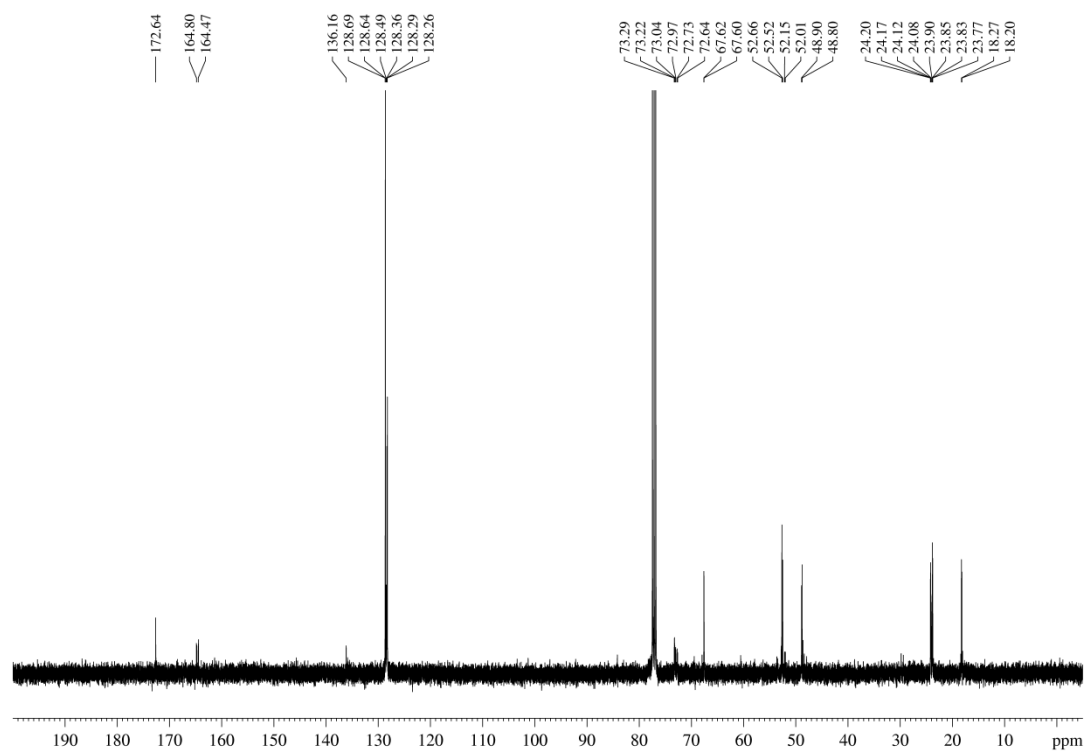
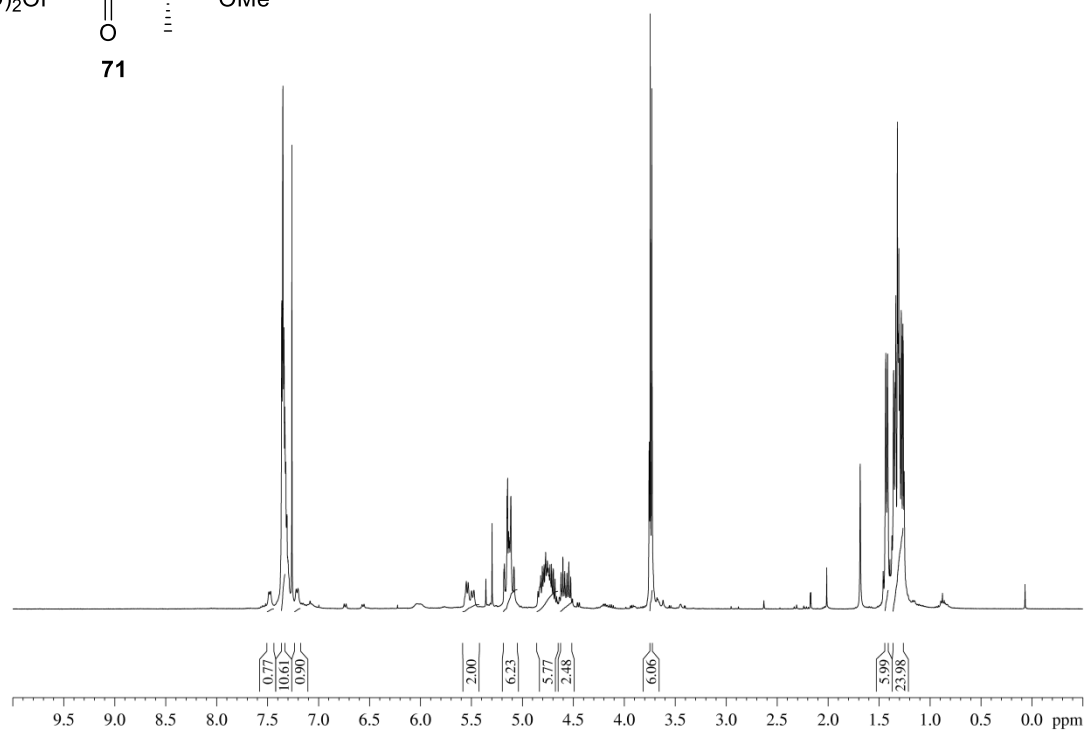
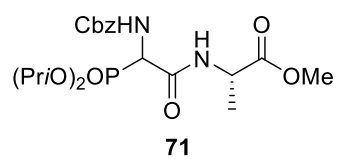
6.2 NMR-Spektren

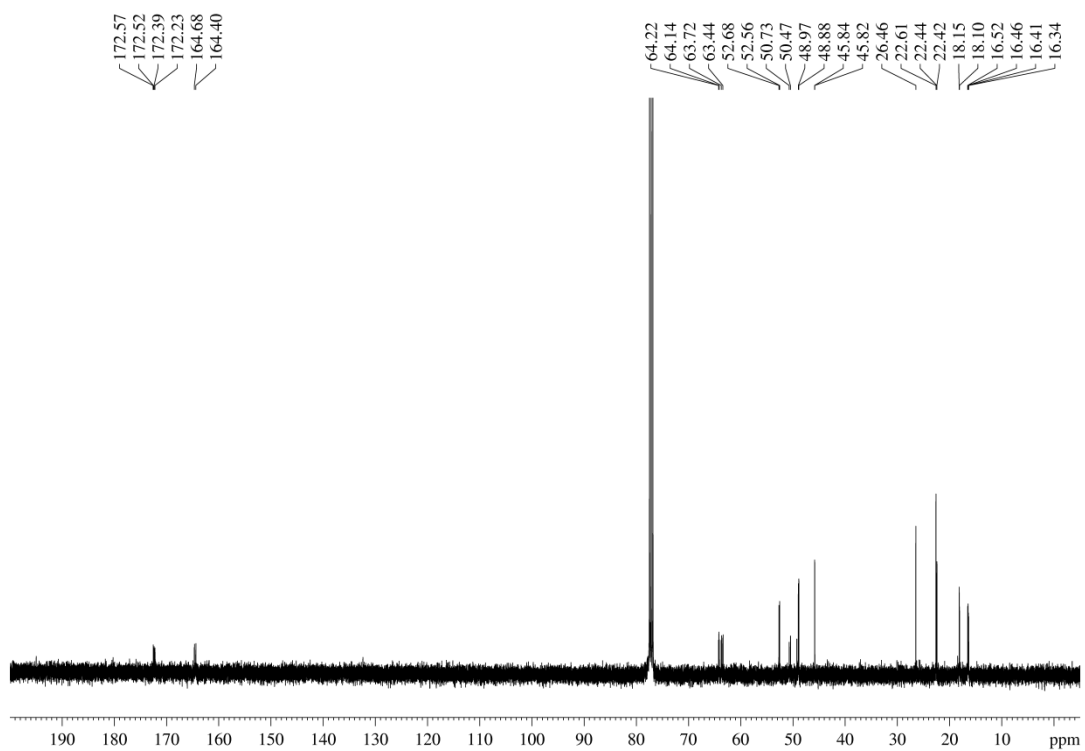
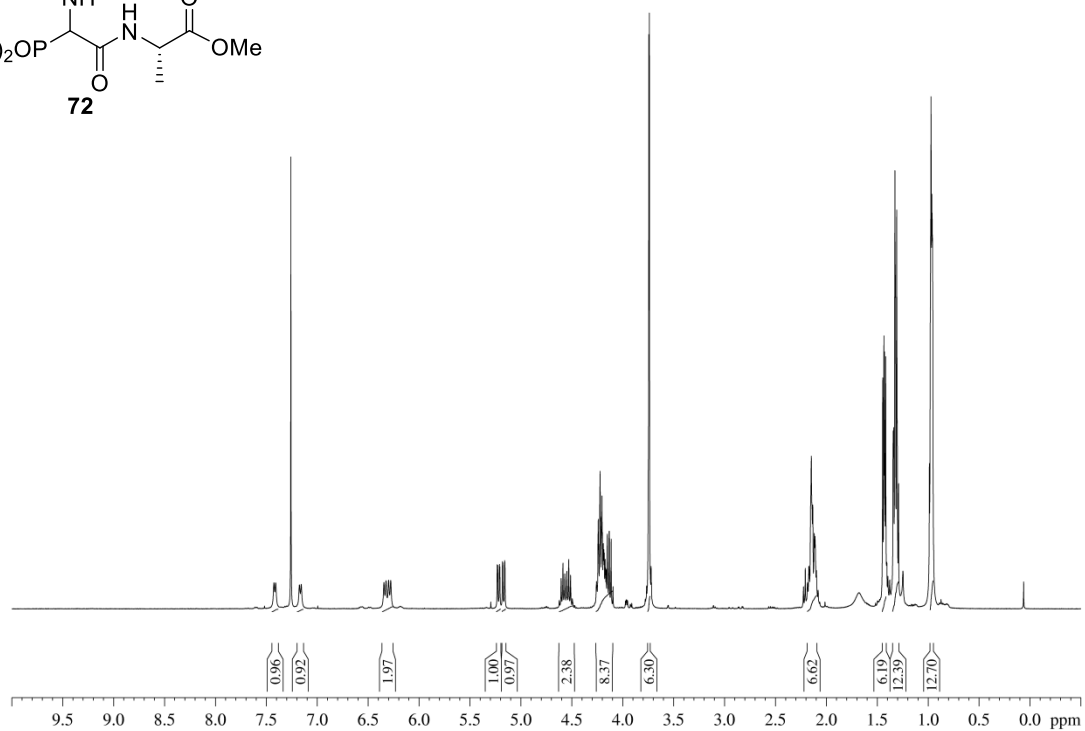
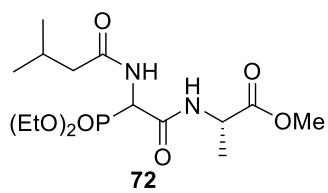


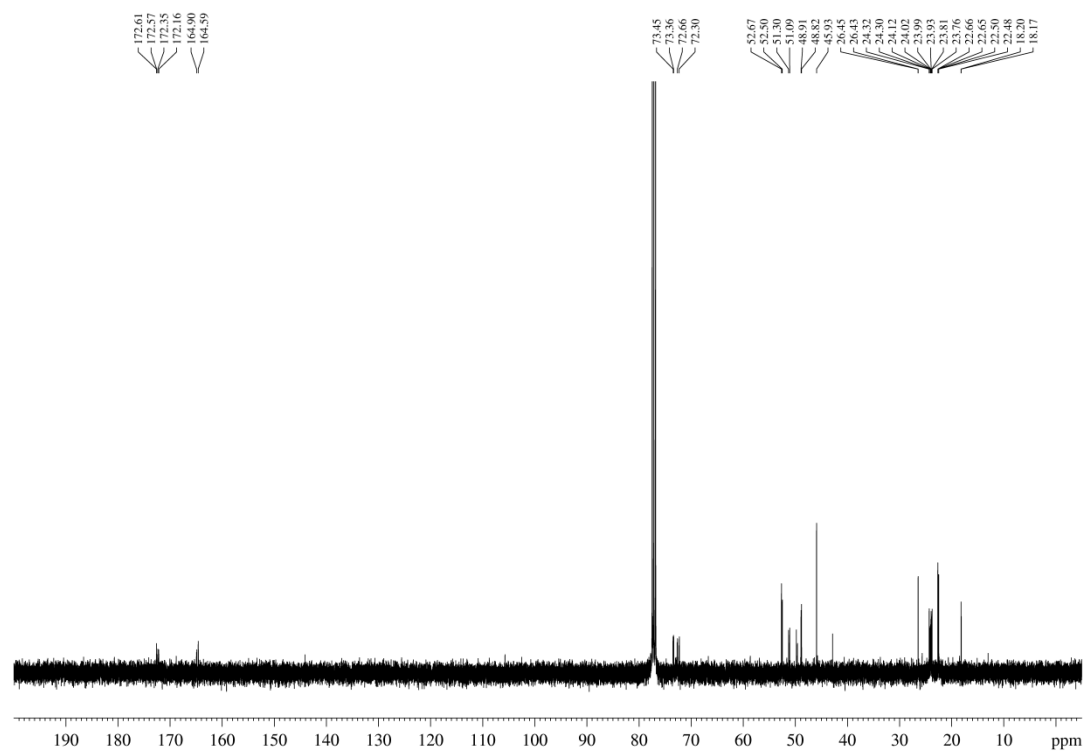
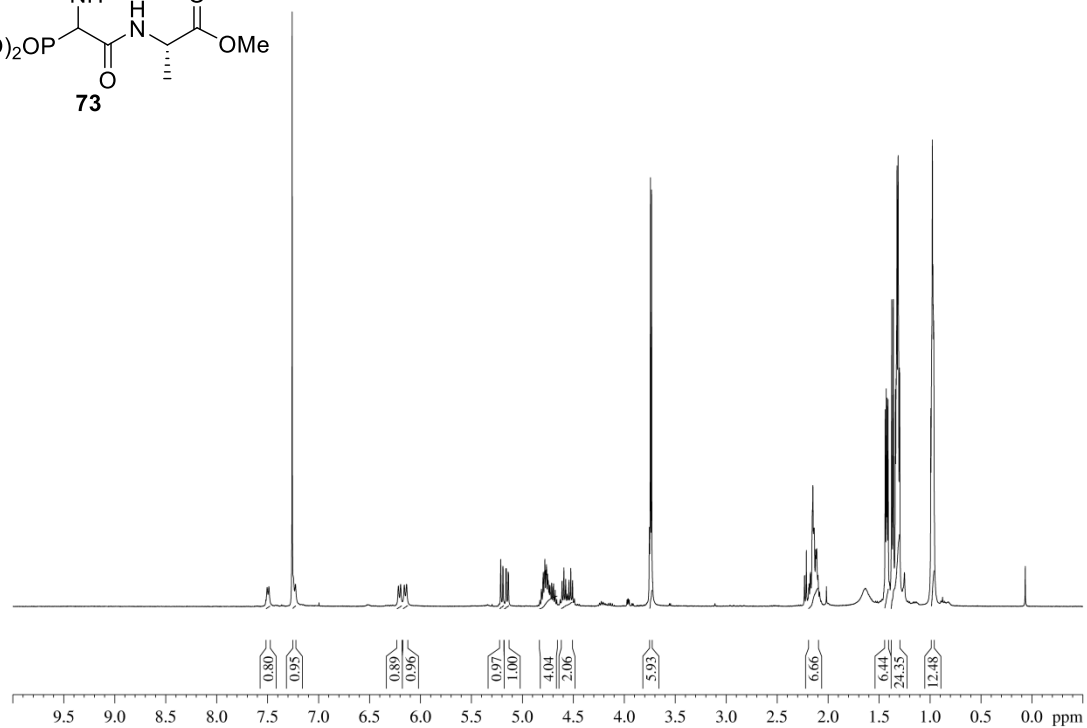
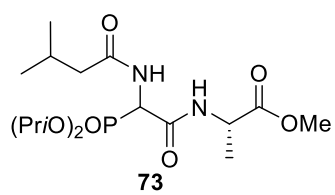


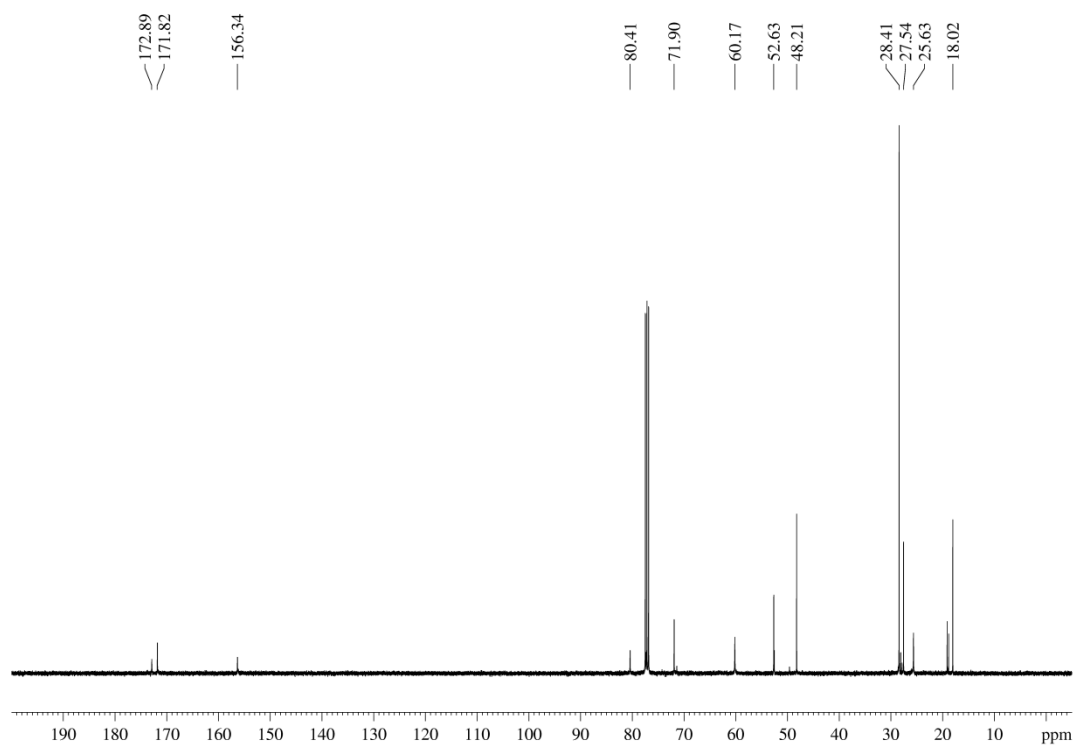
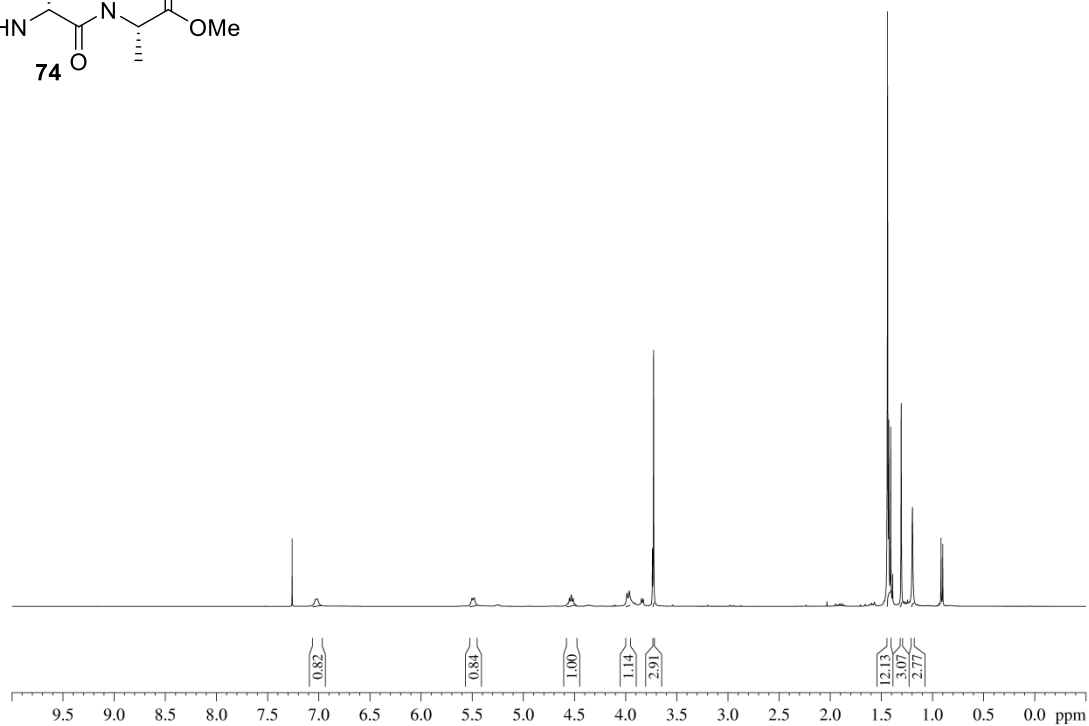
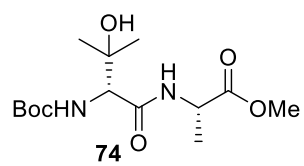


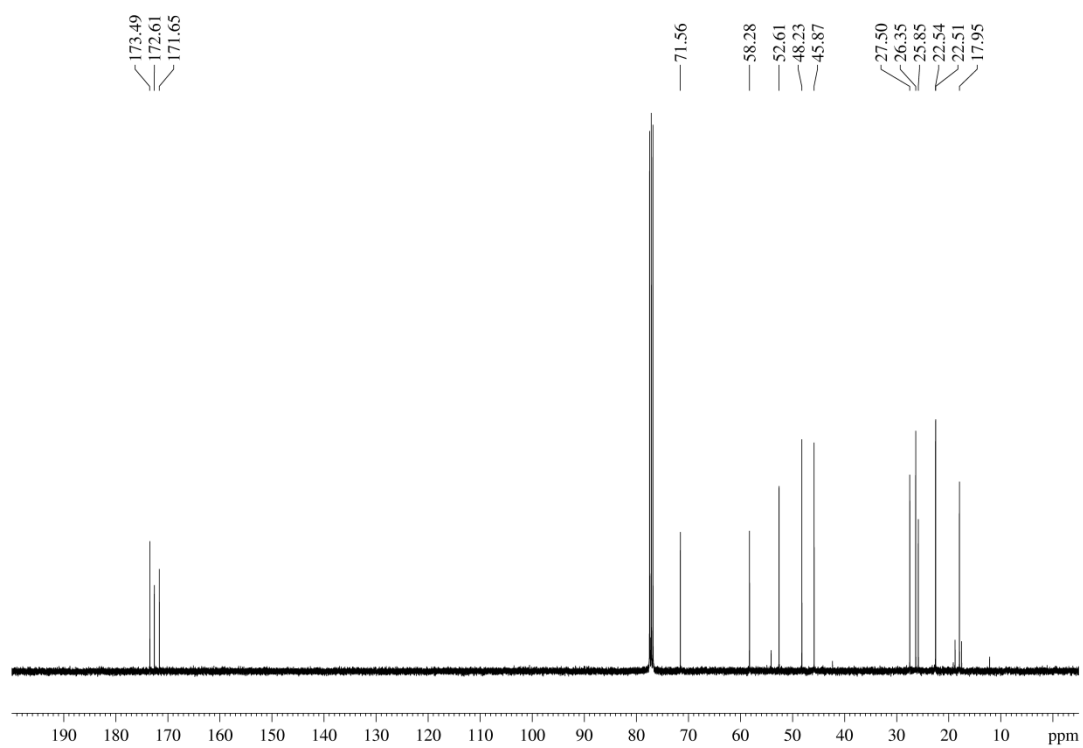
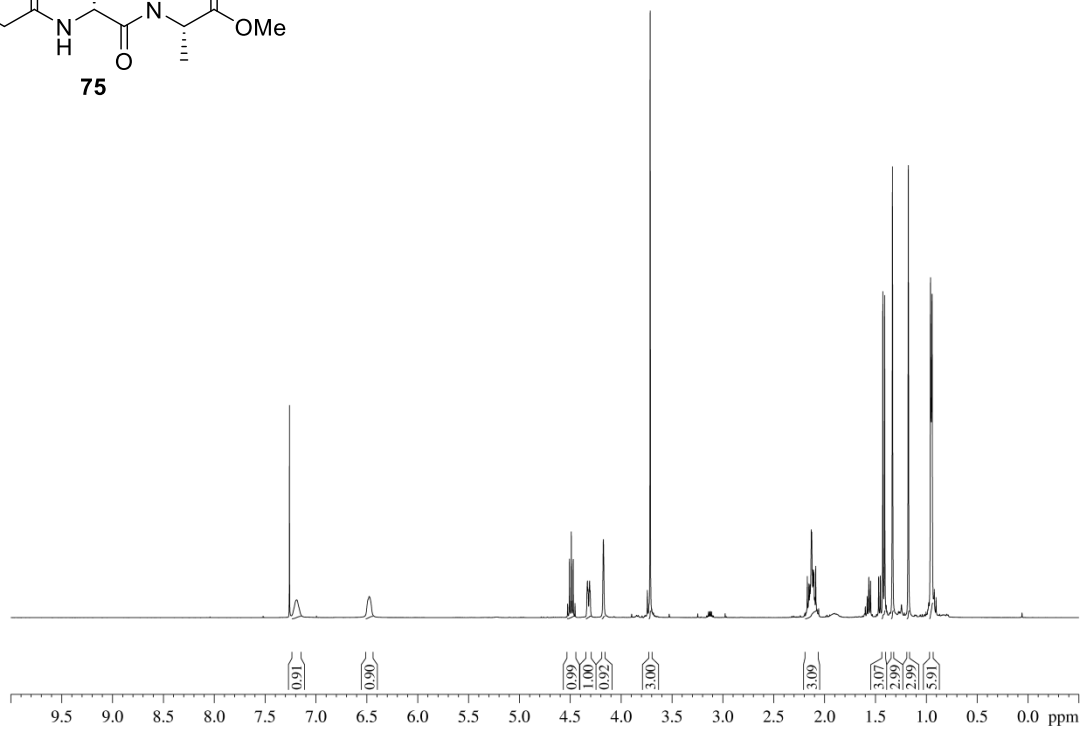
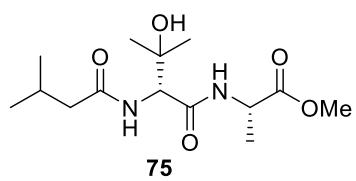


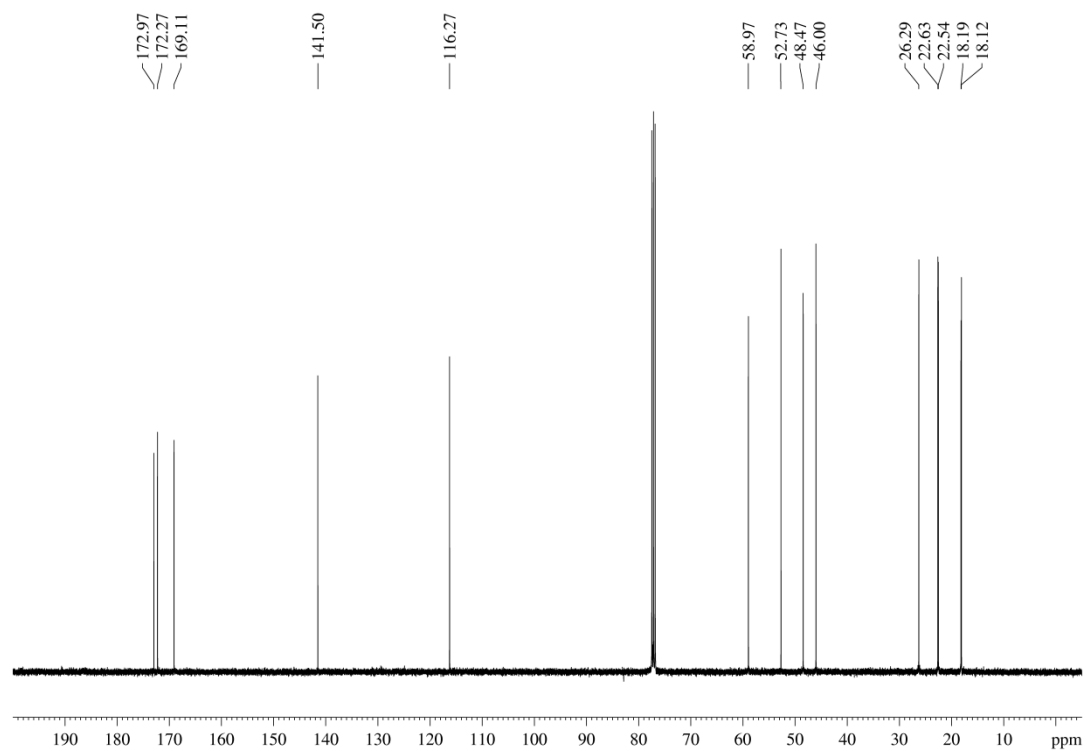
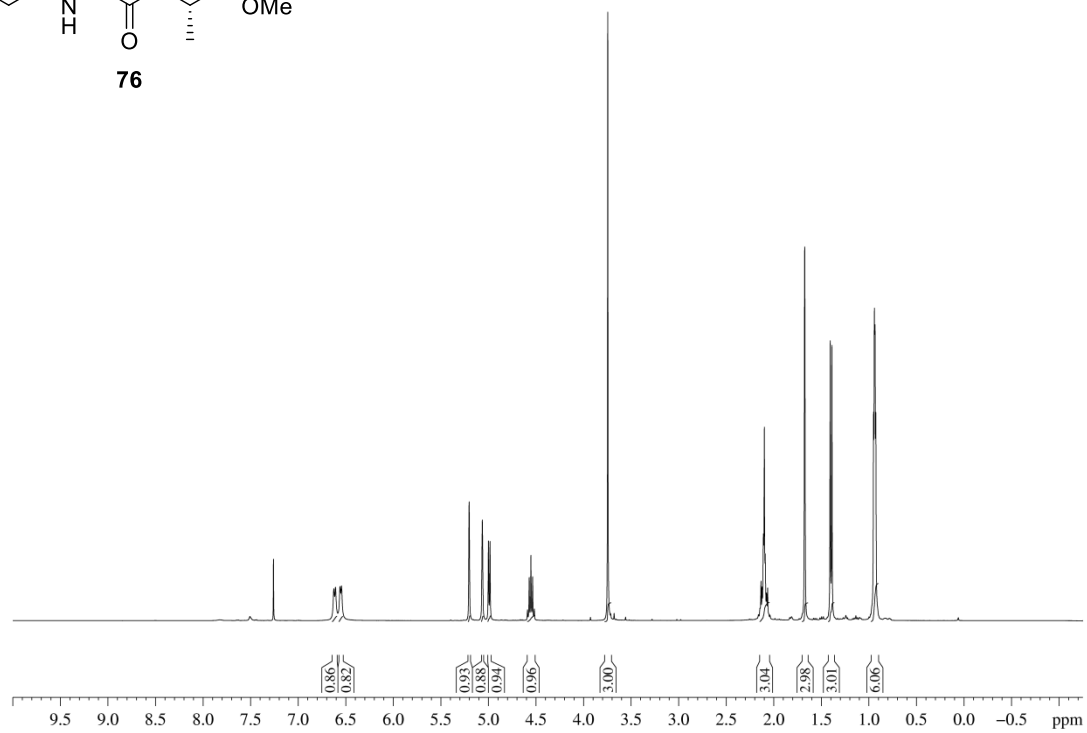
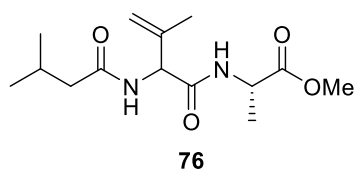


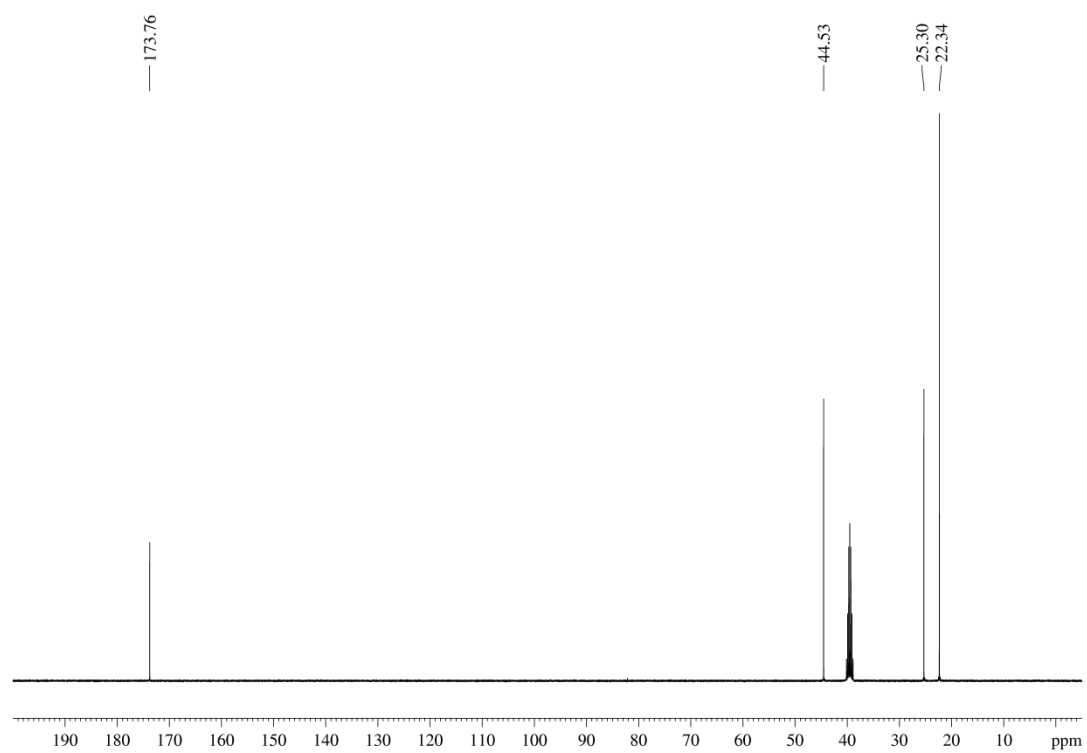
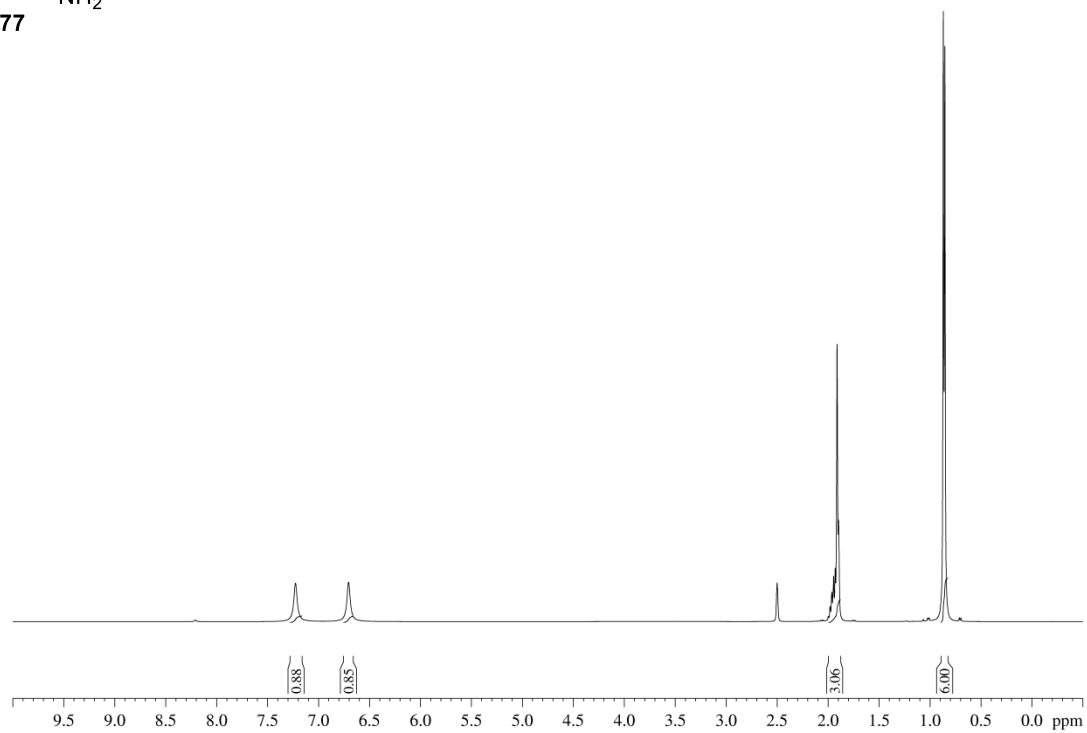
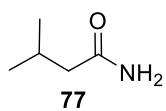


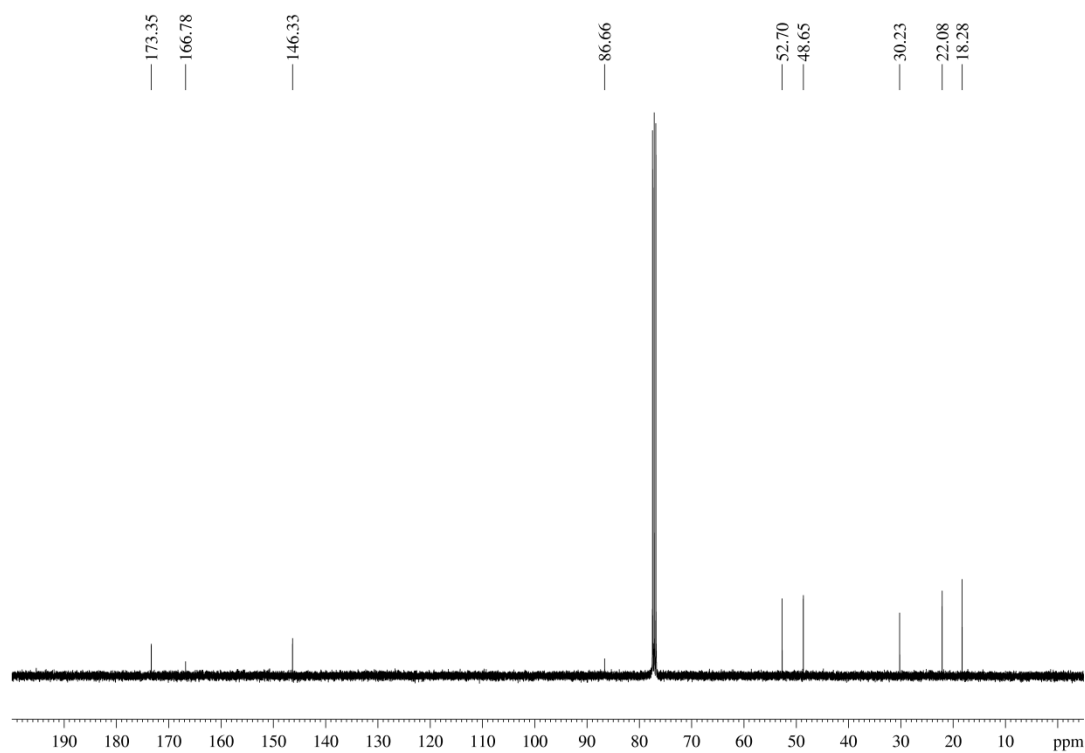
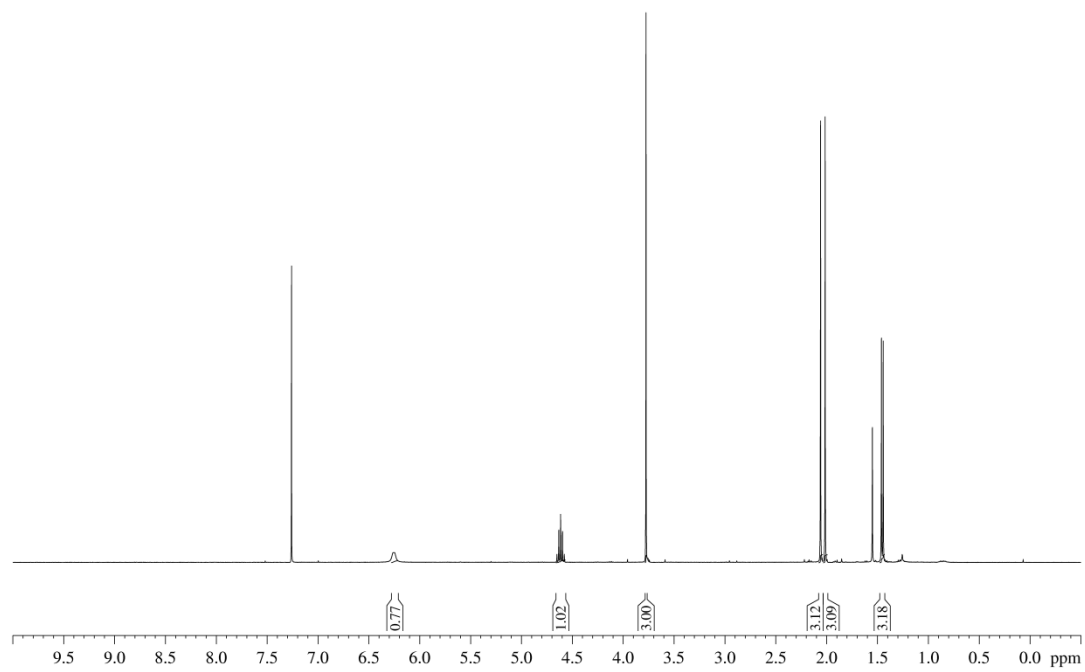
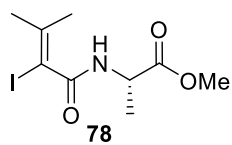


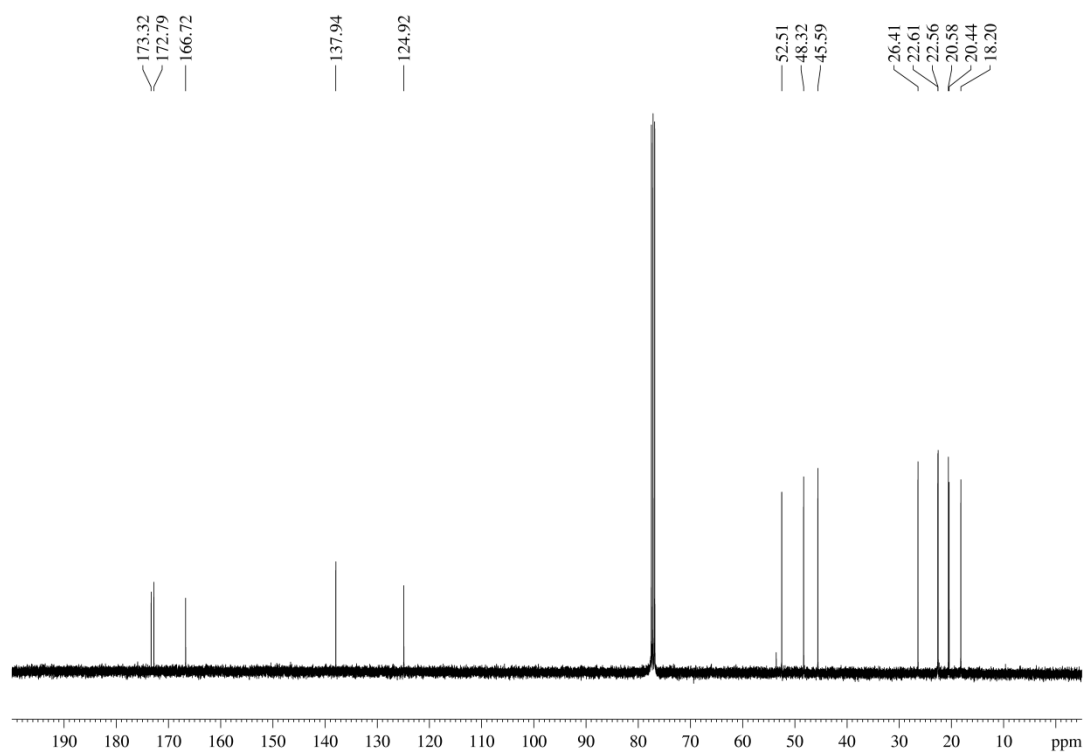
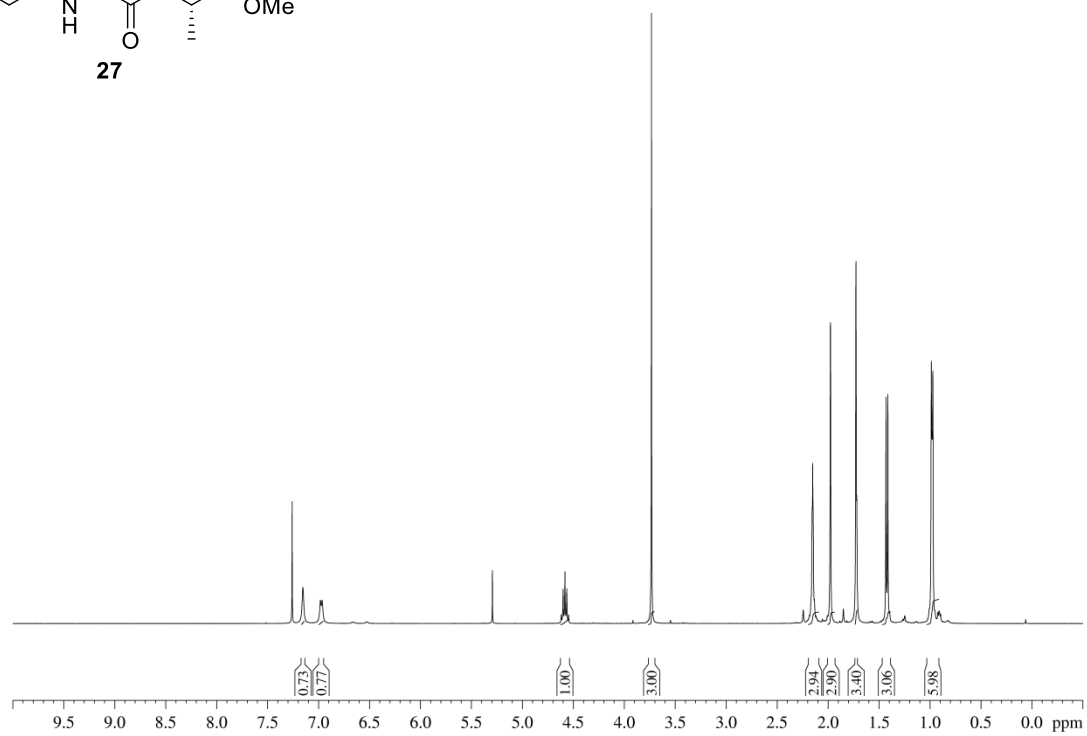
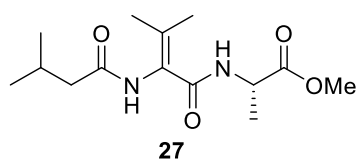


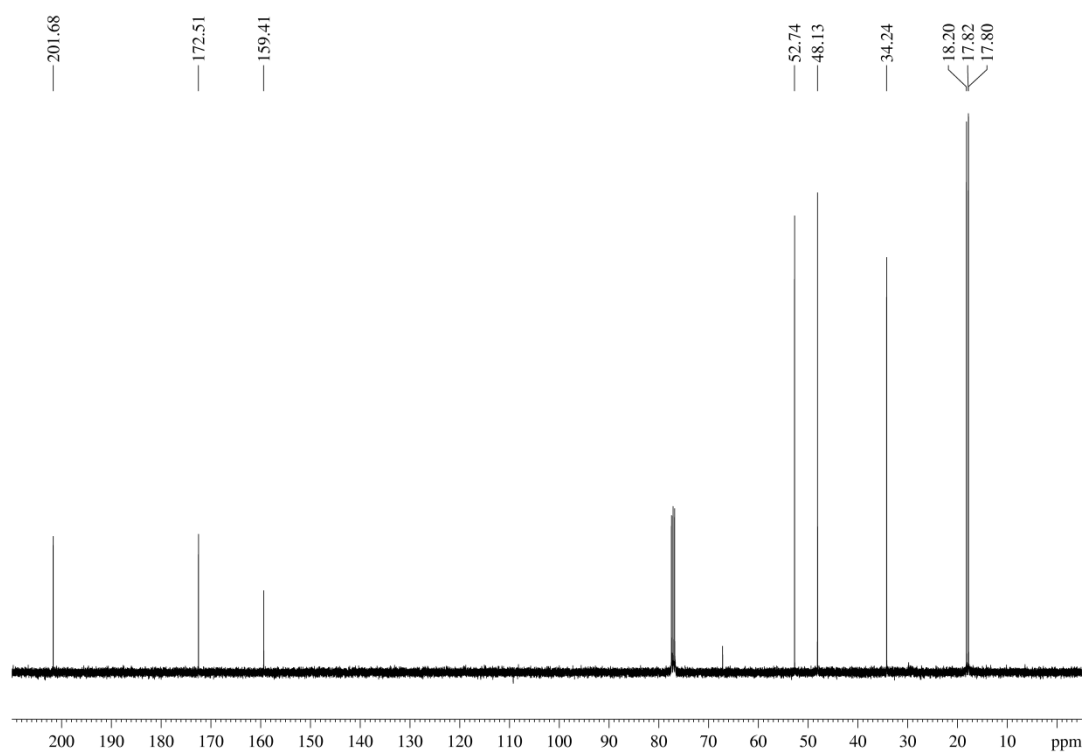
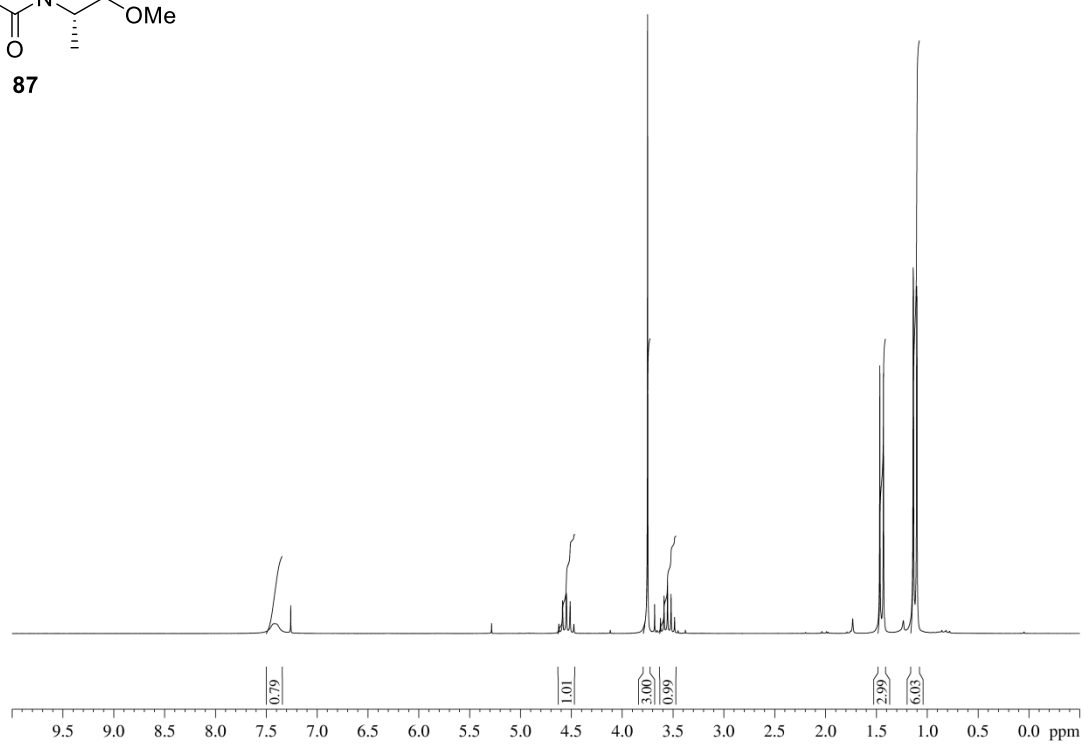
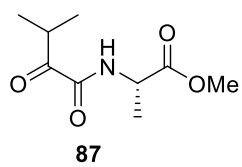


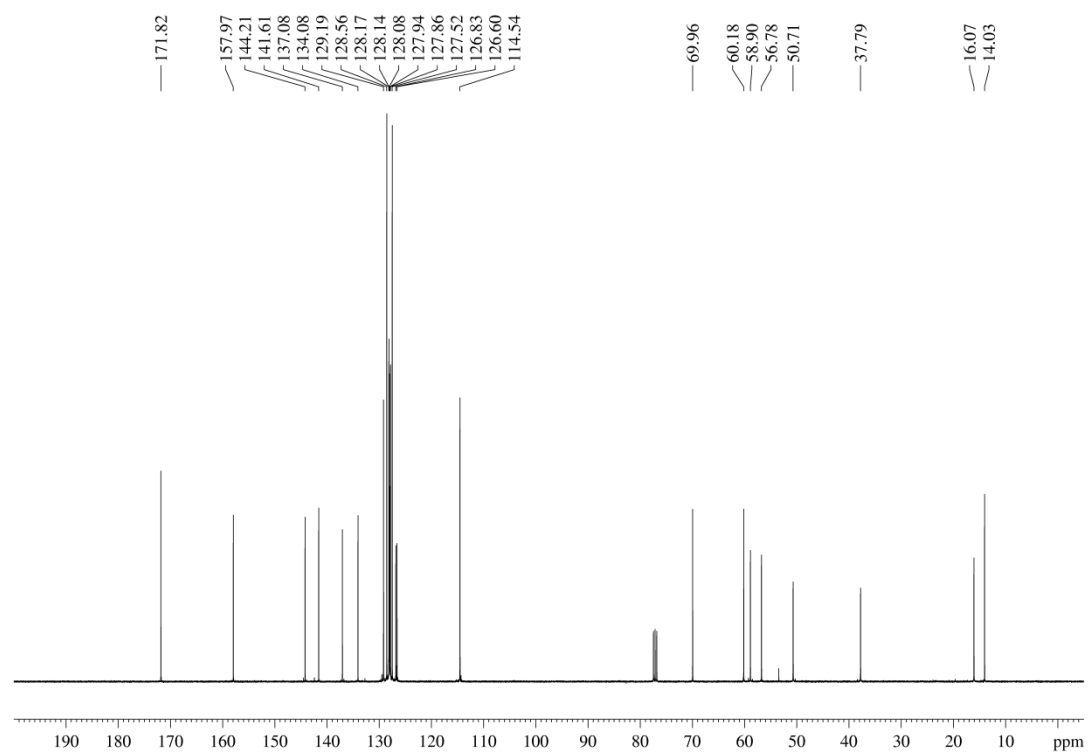
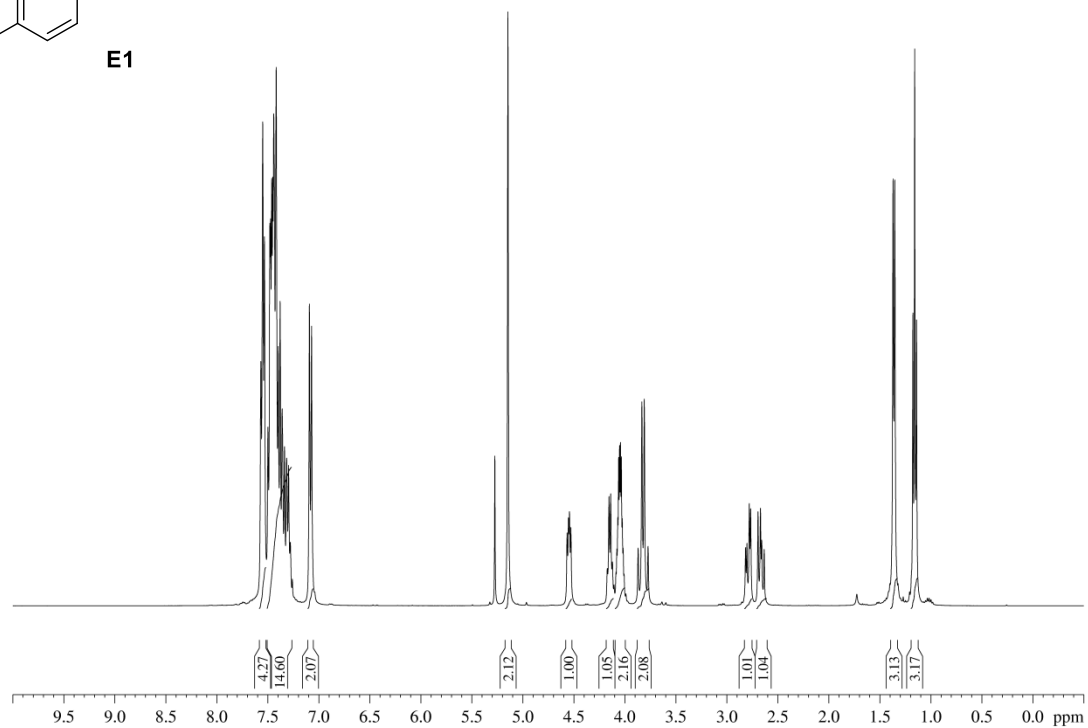
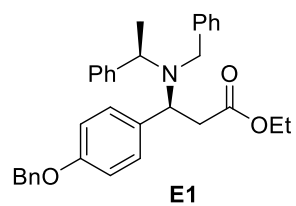


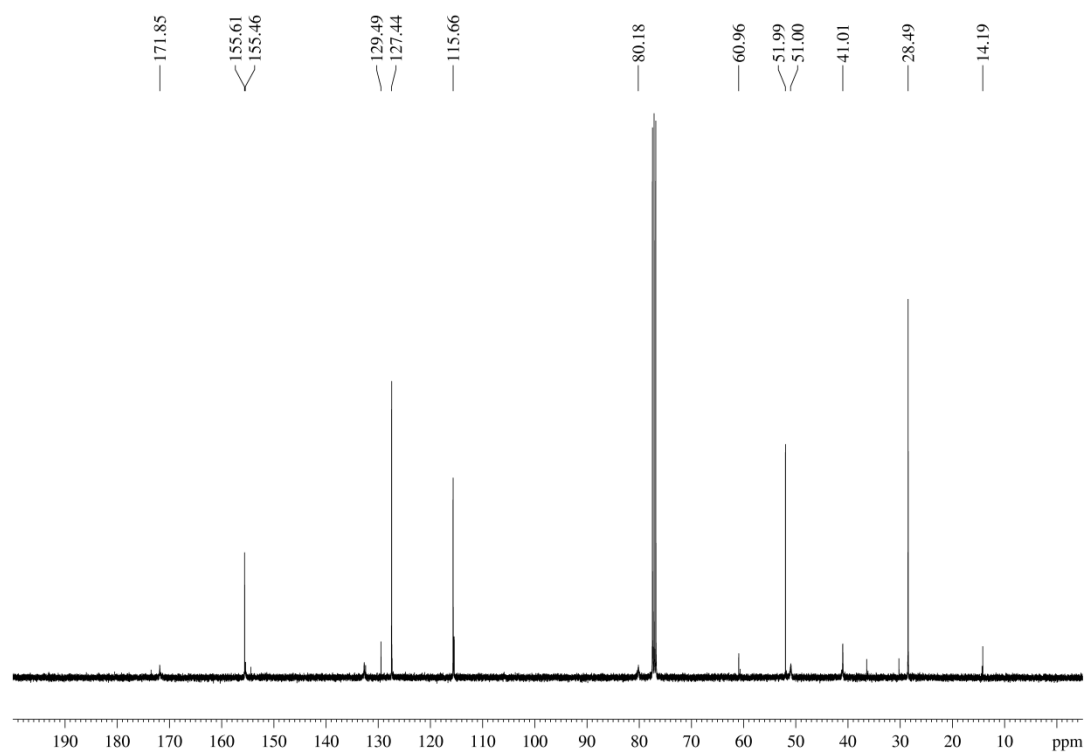
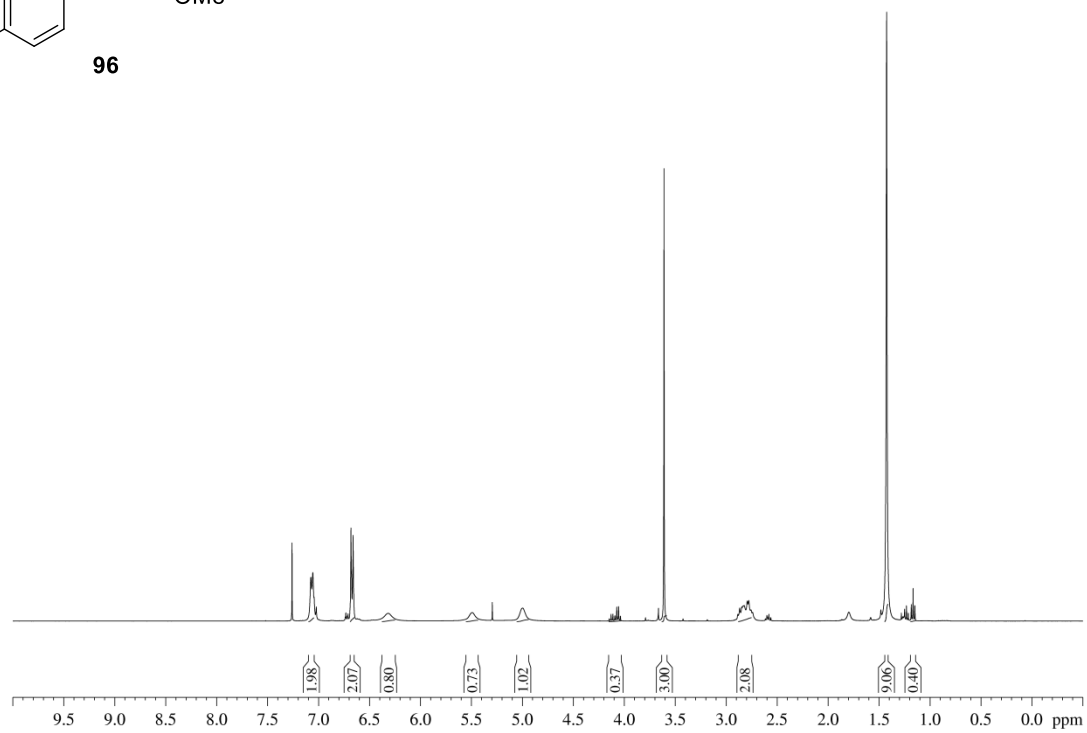
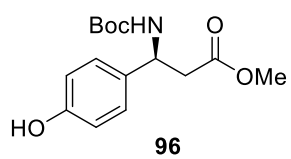


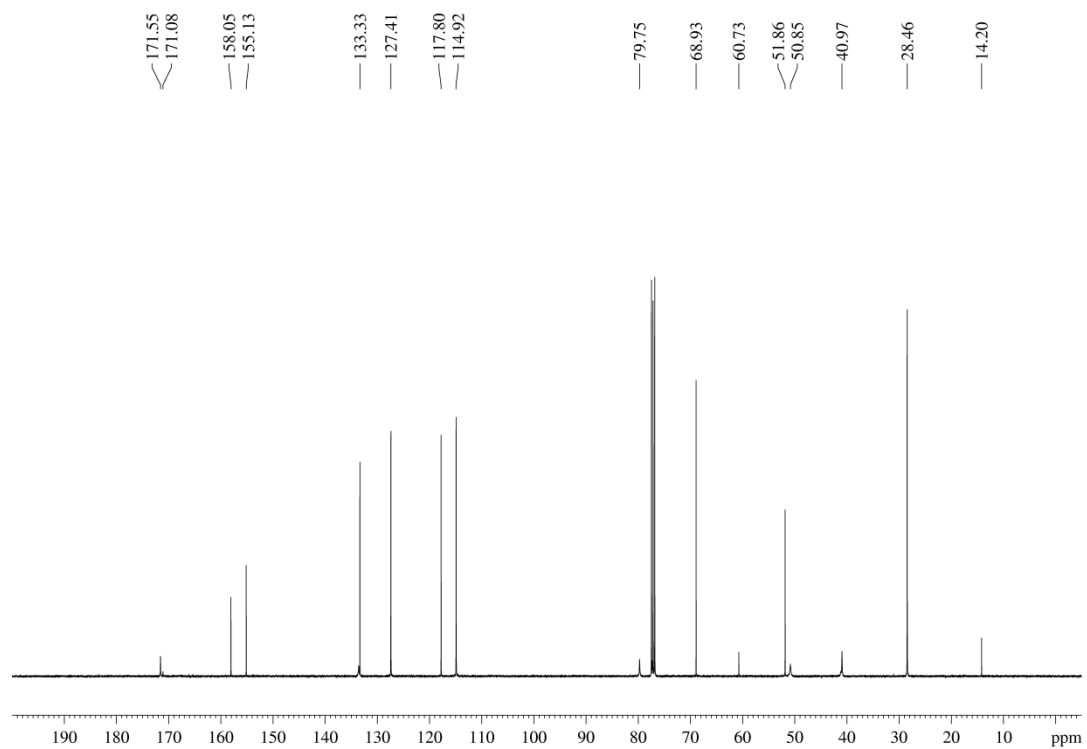
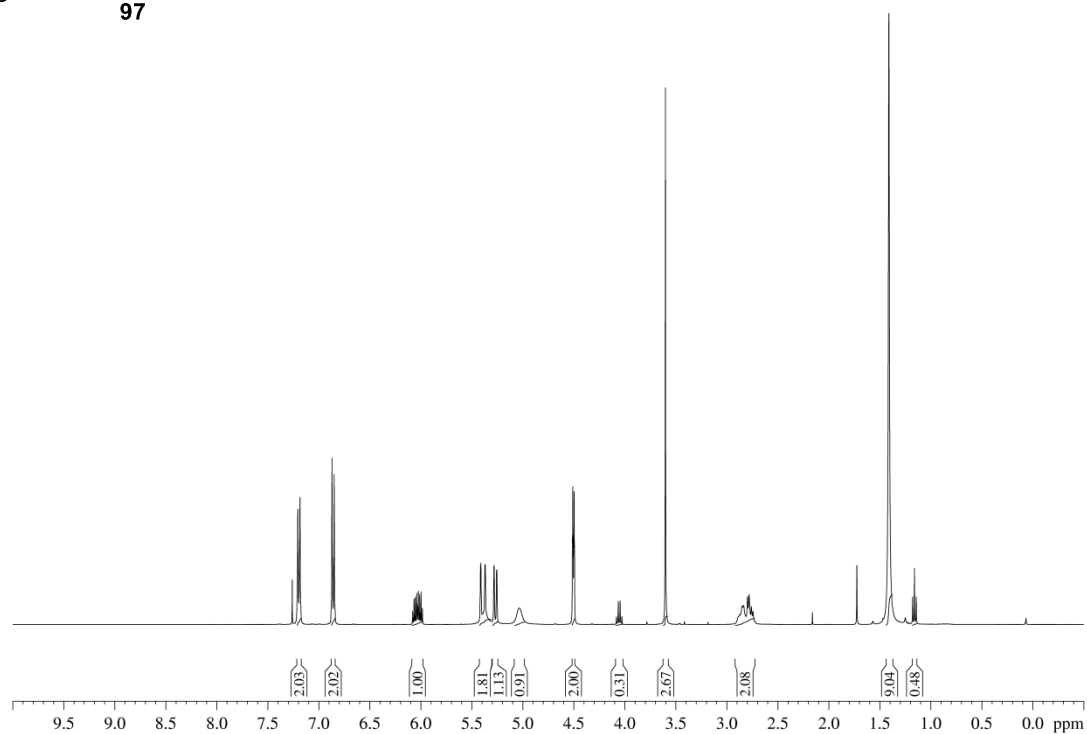
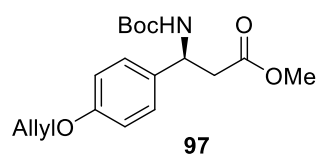


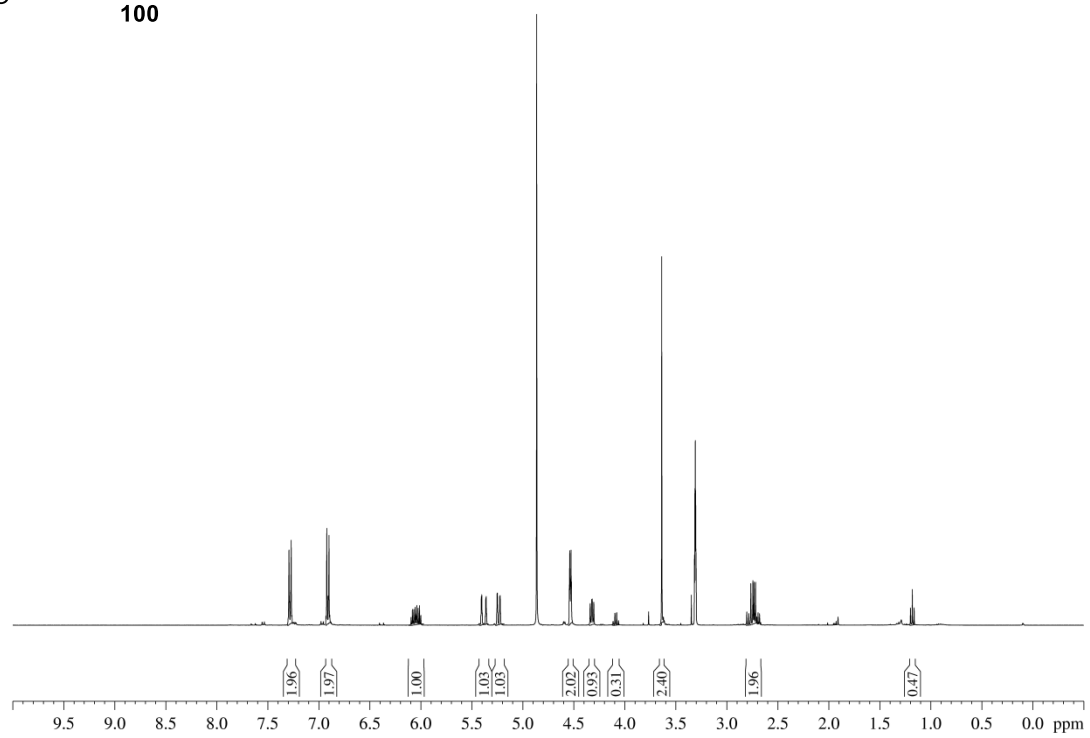
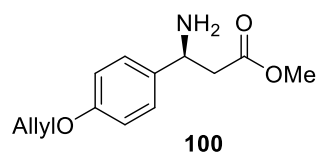


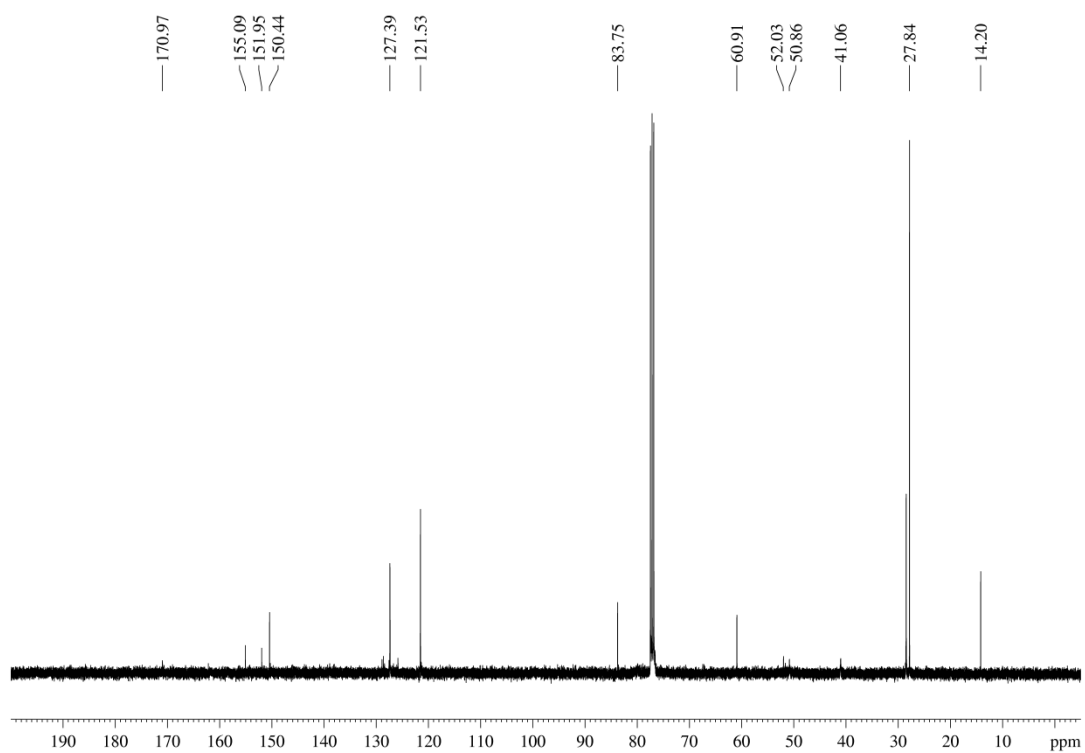
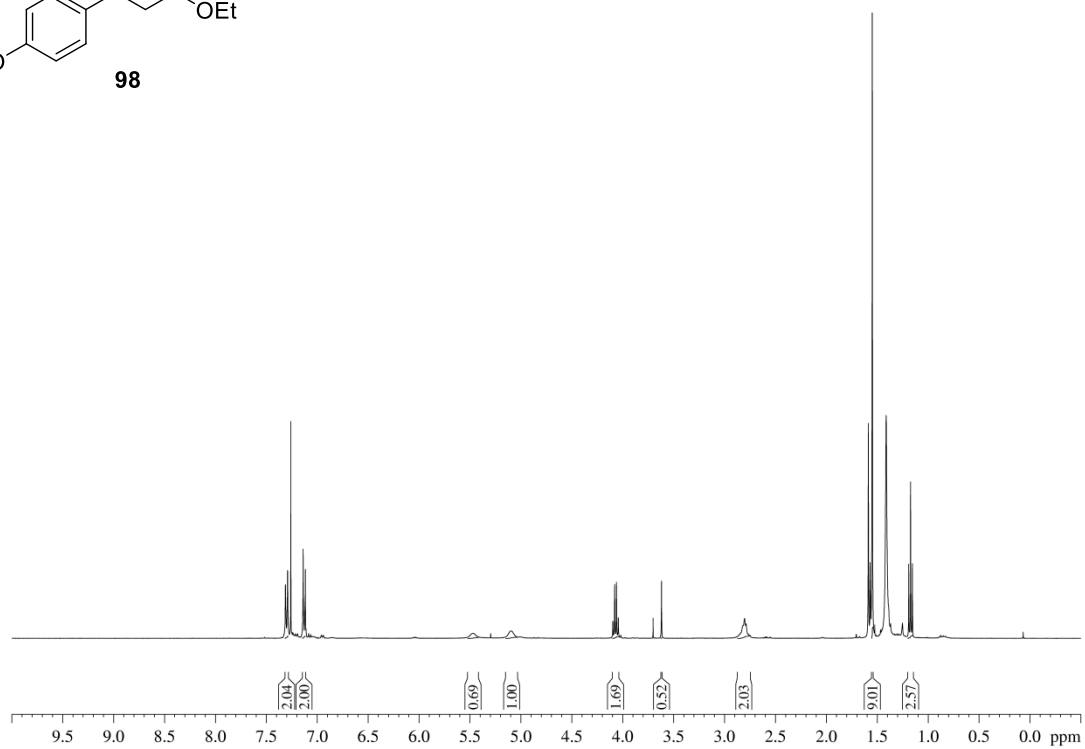
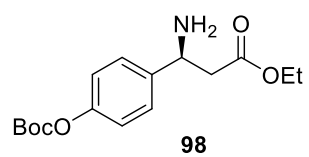


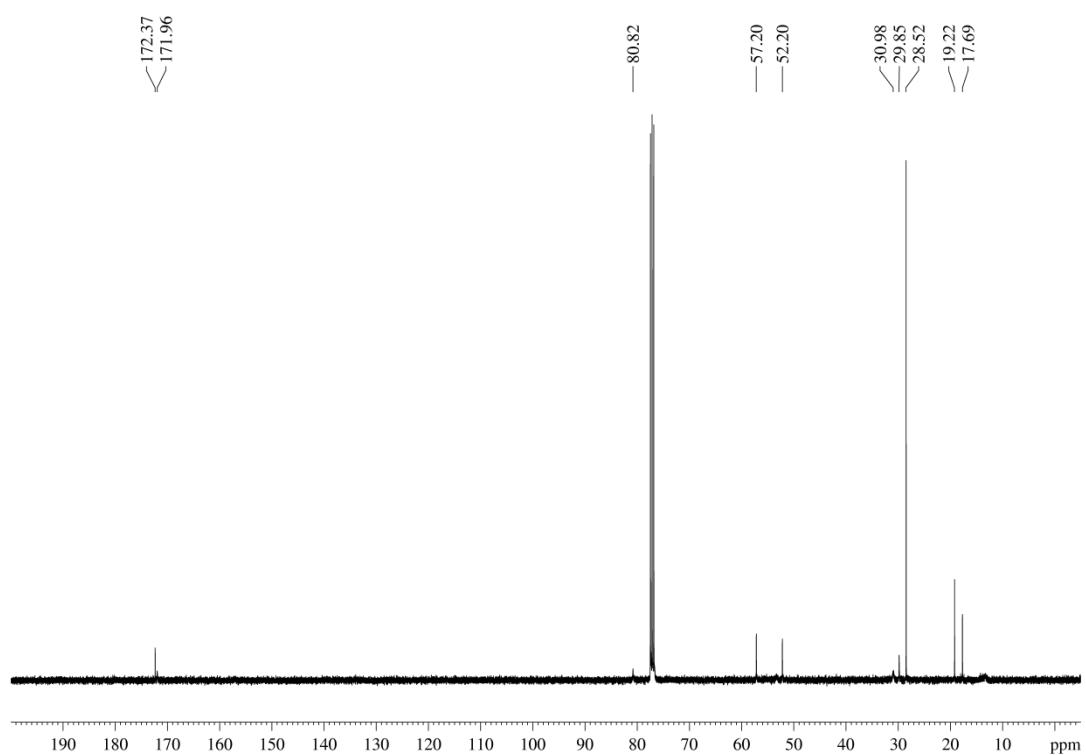
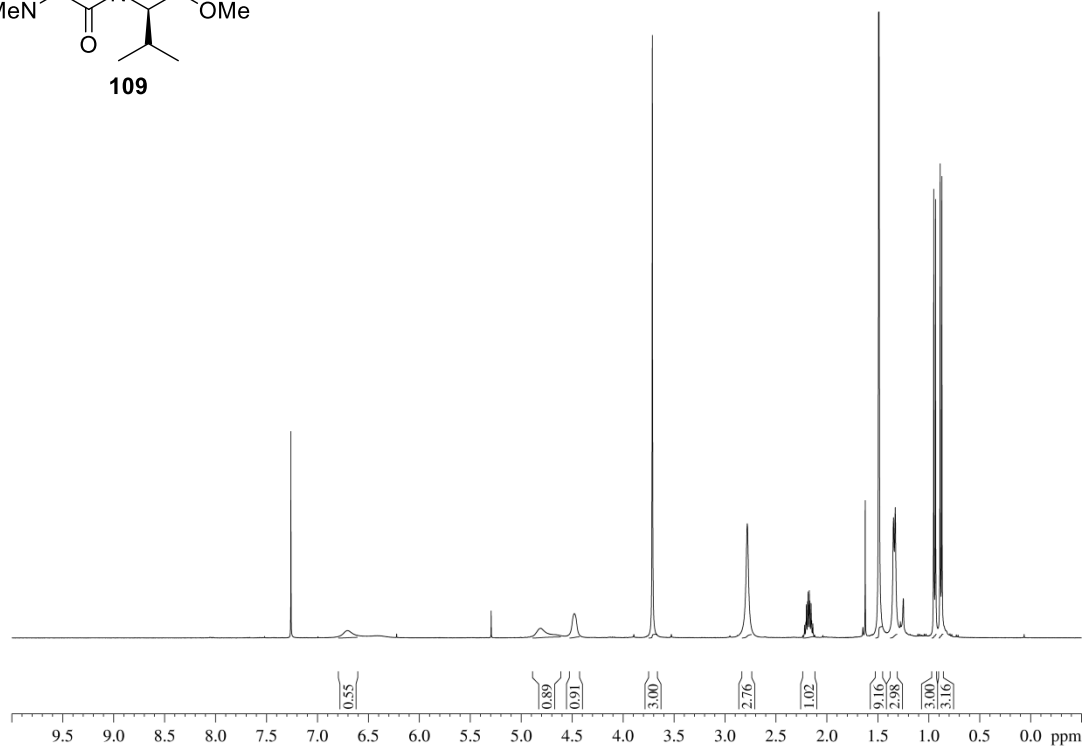
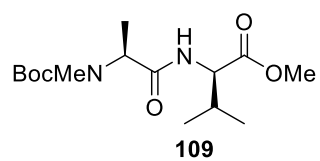


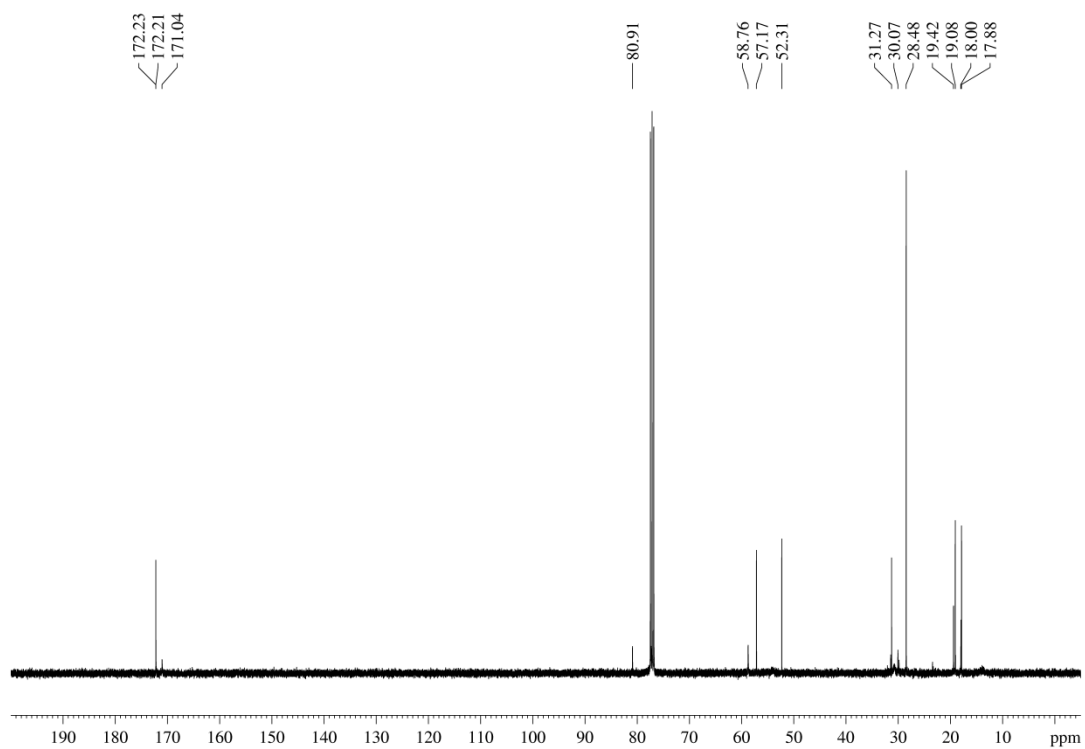
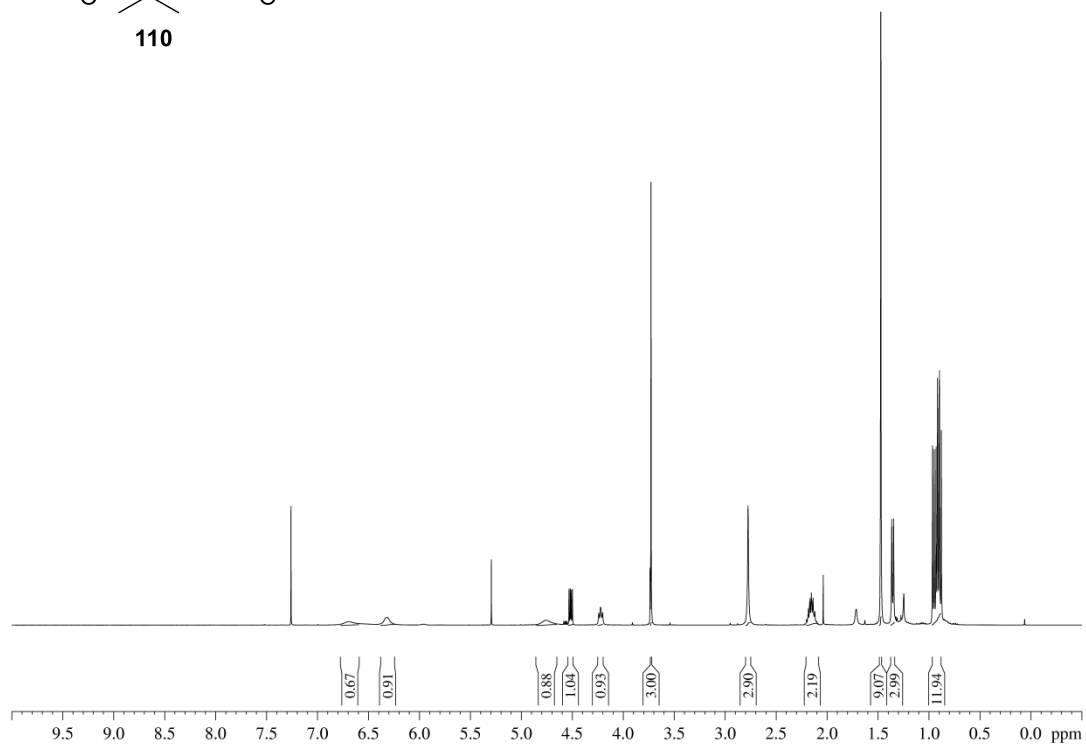
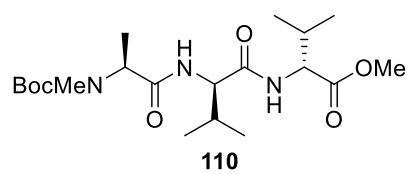


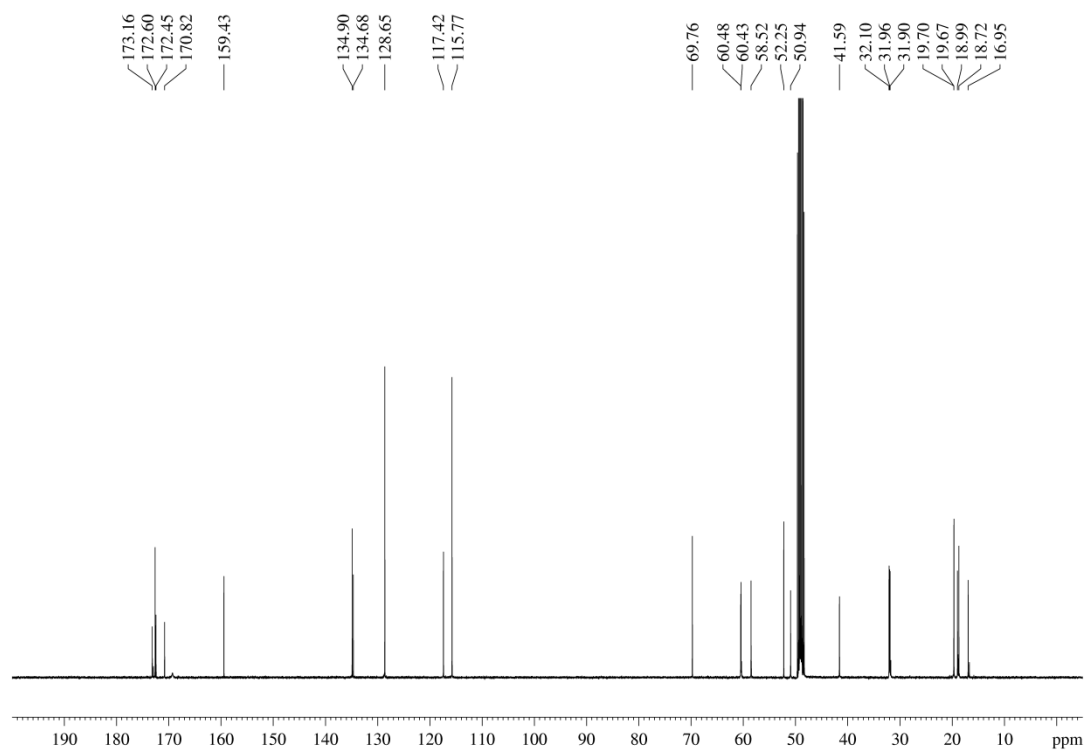
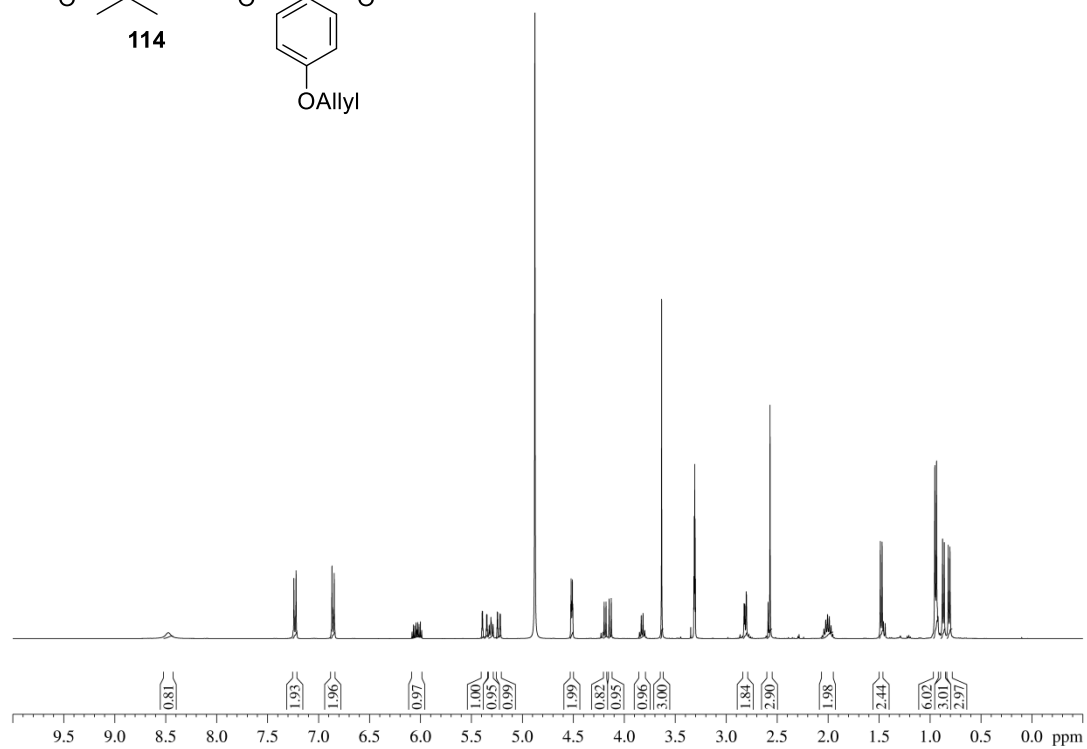
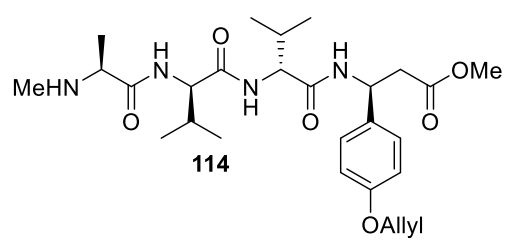


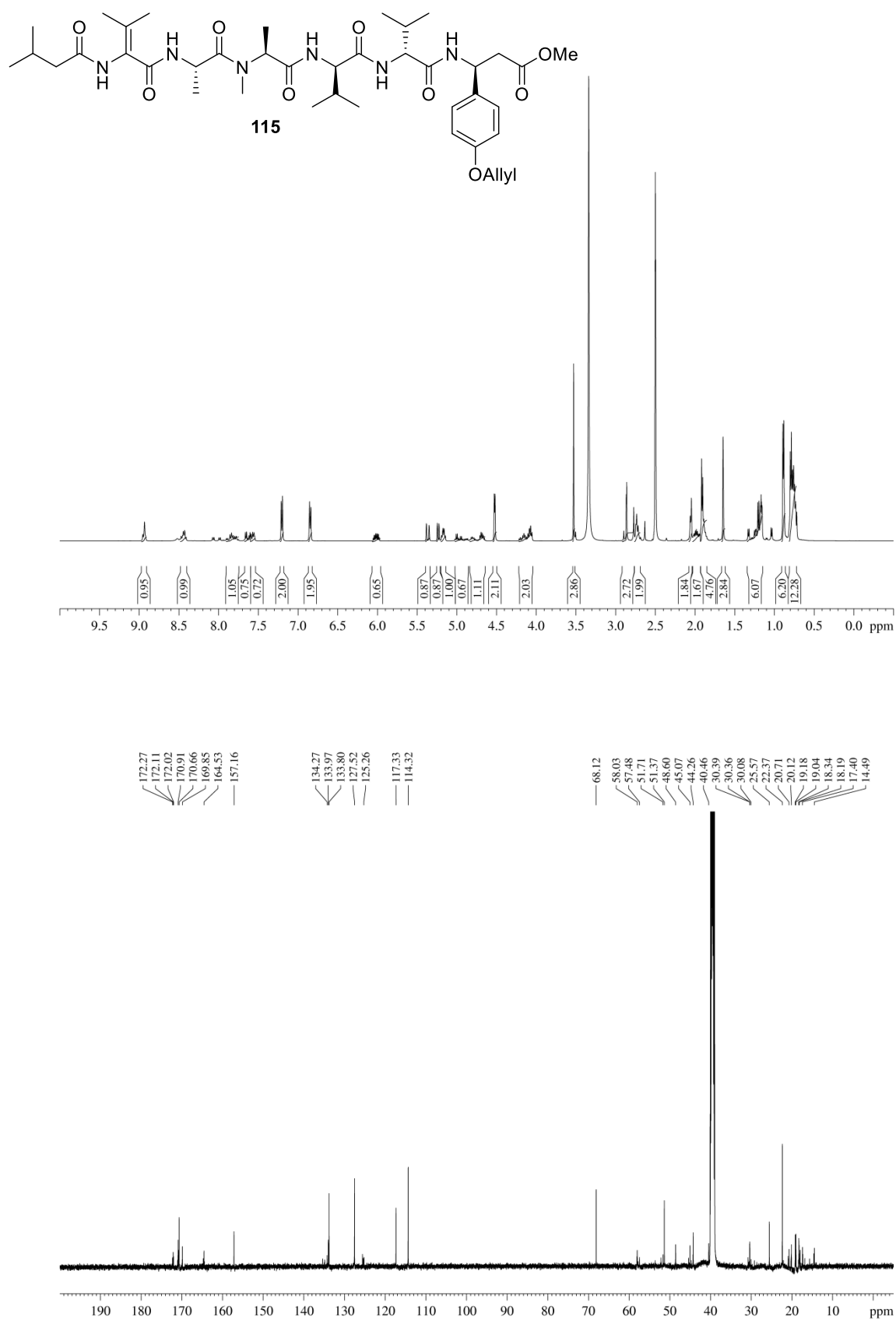


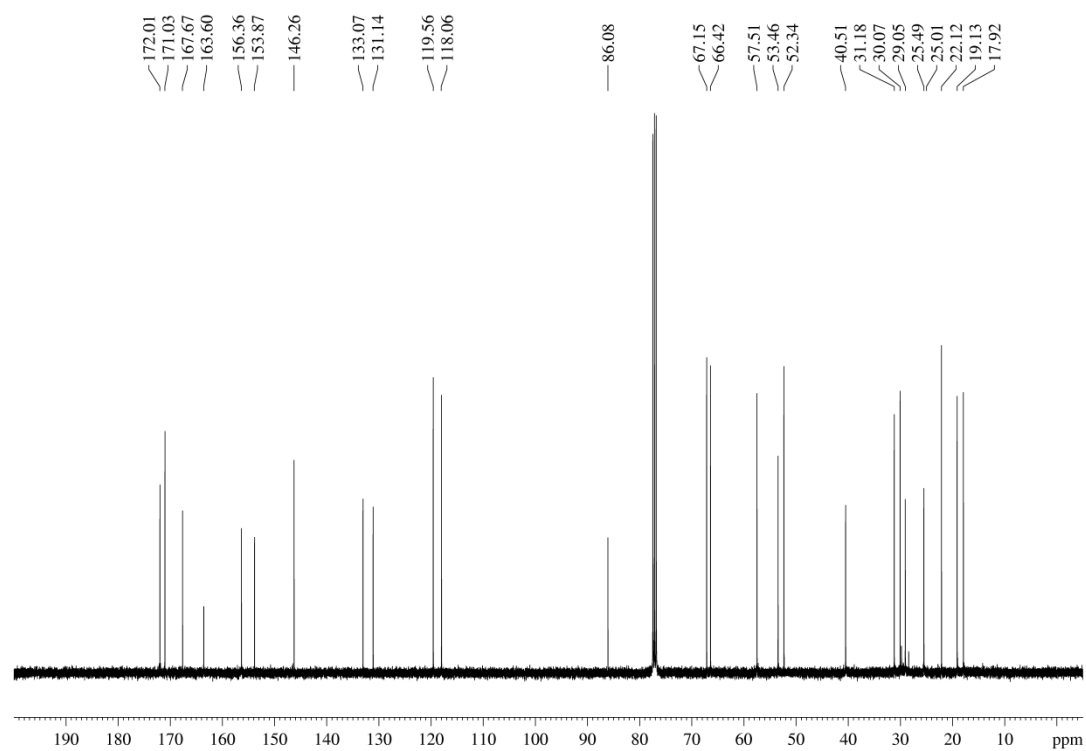
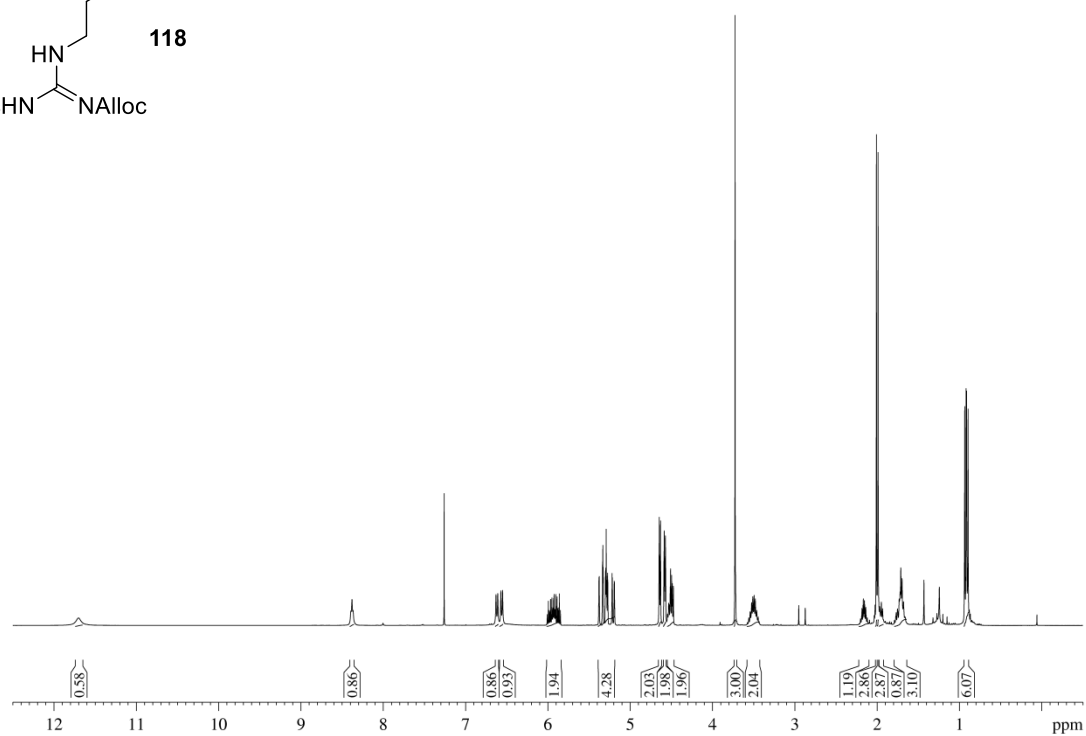
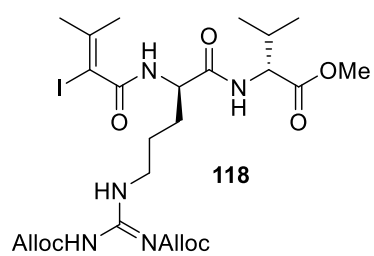


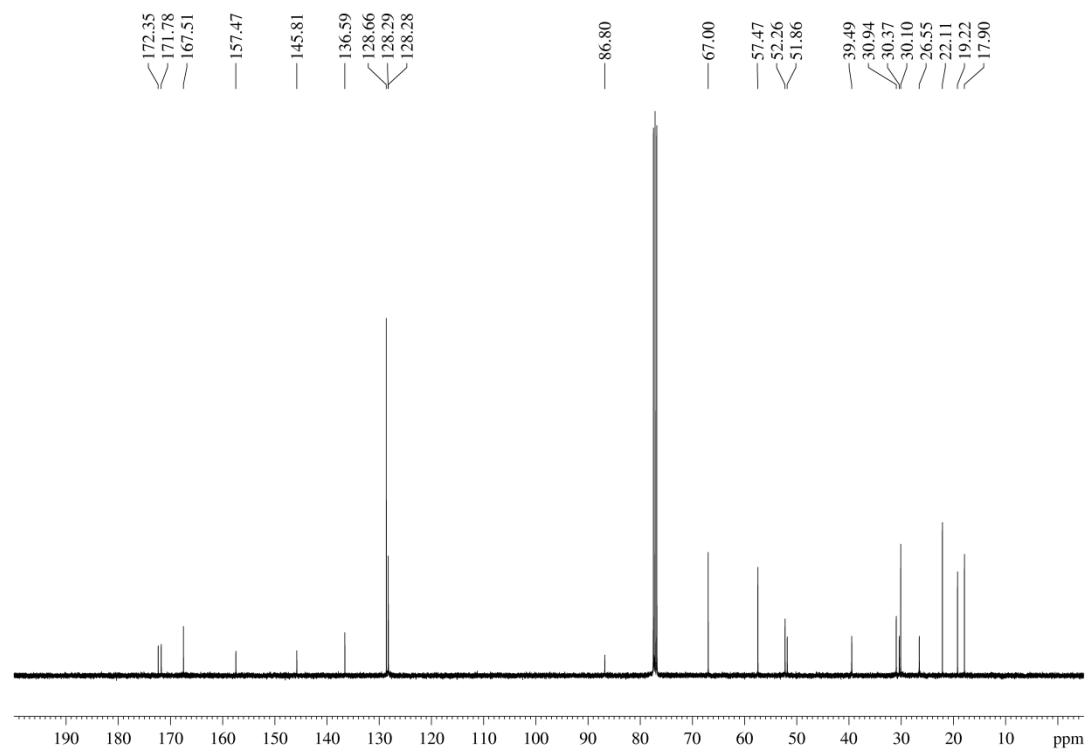
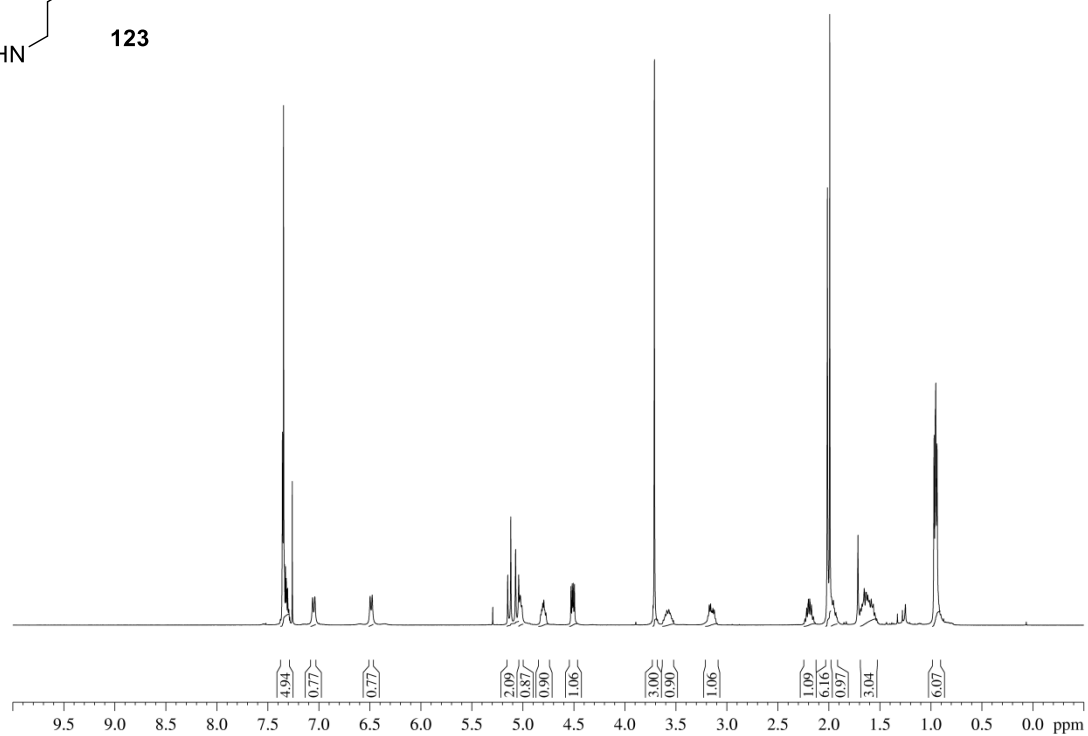
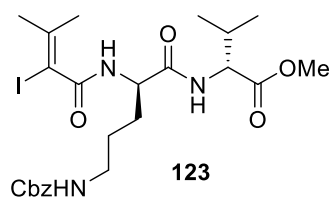


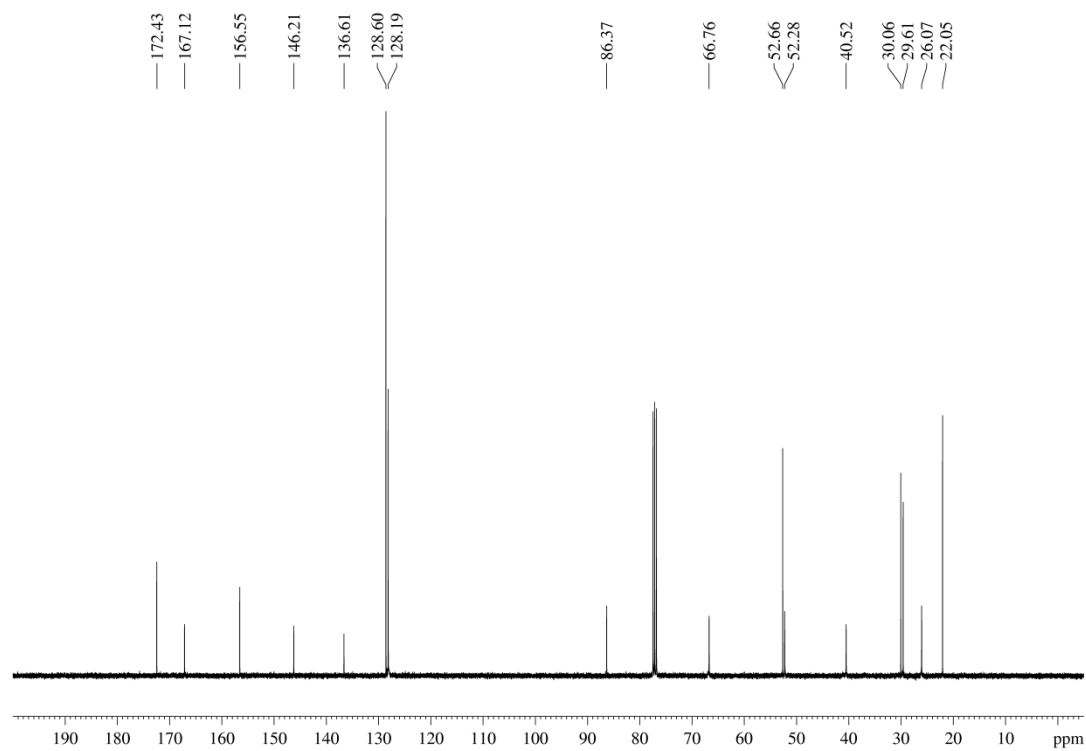
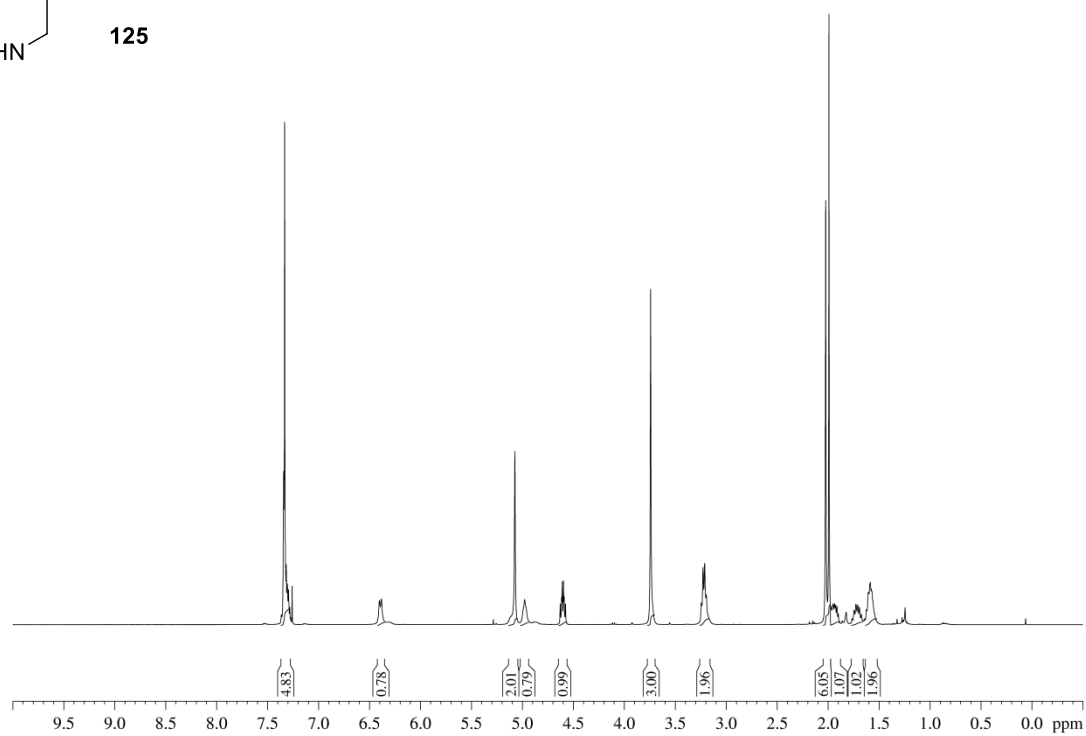
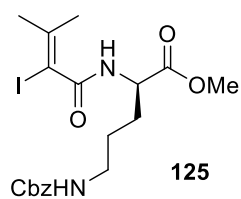


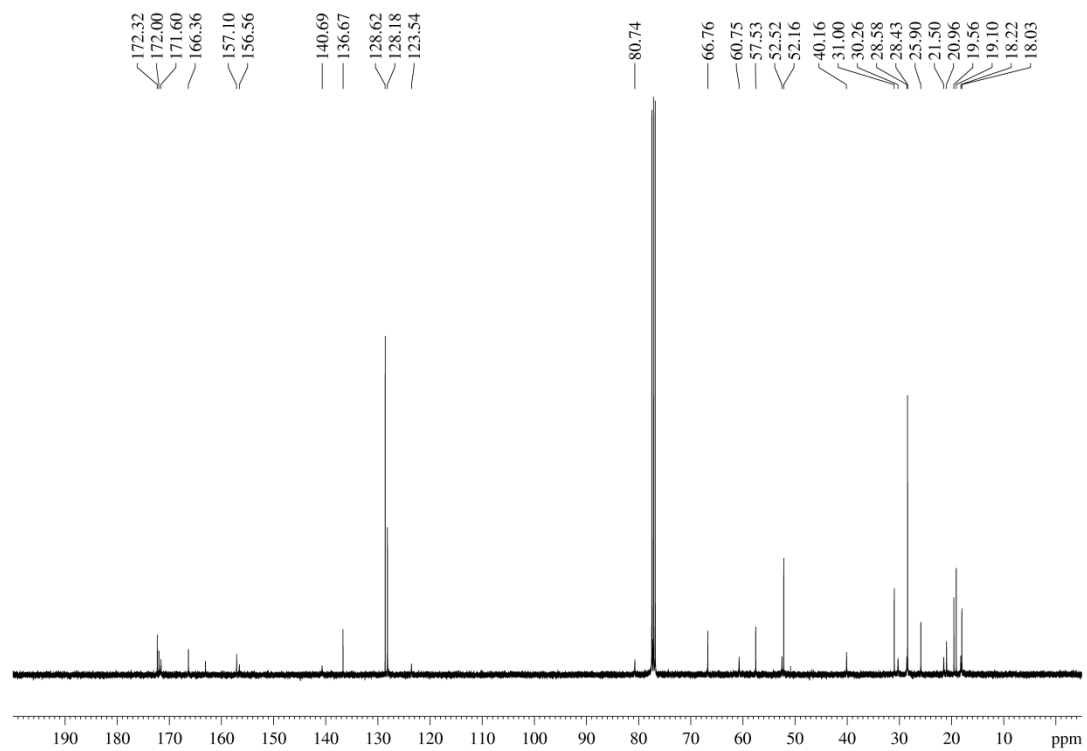
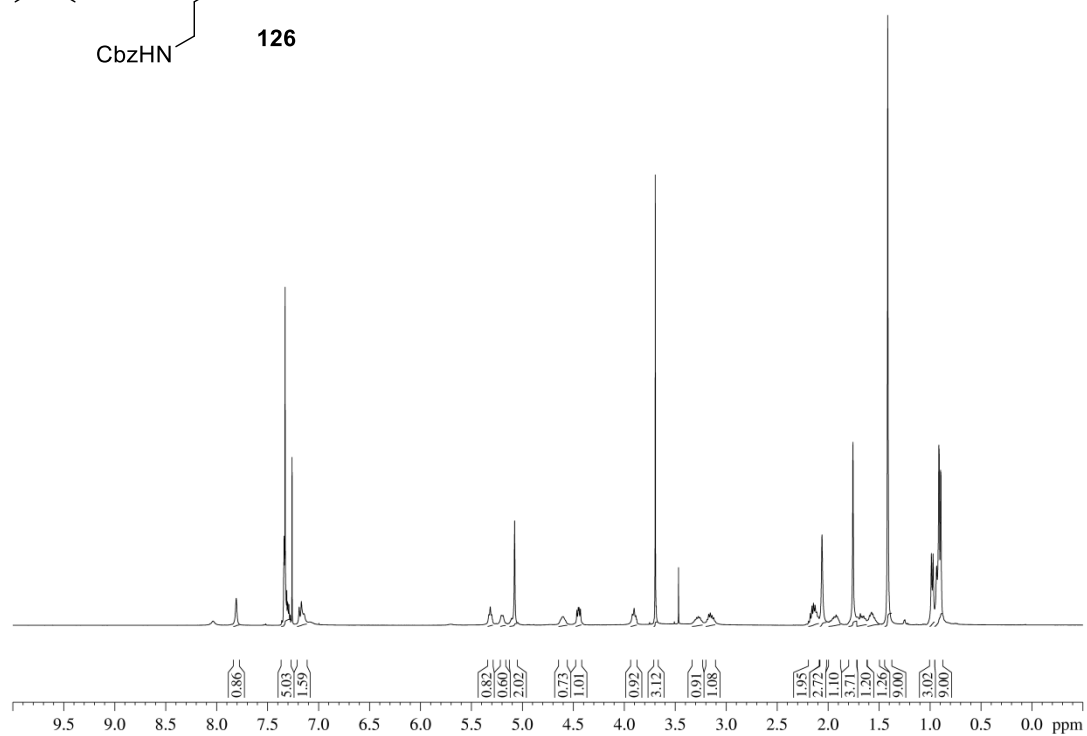
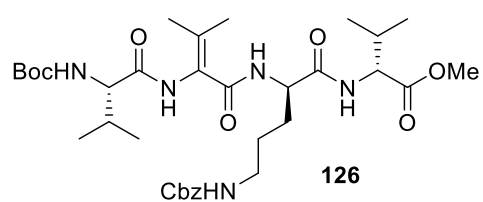


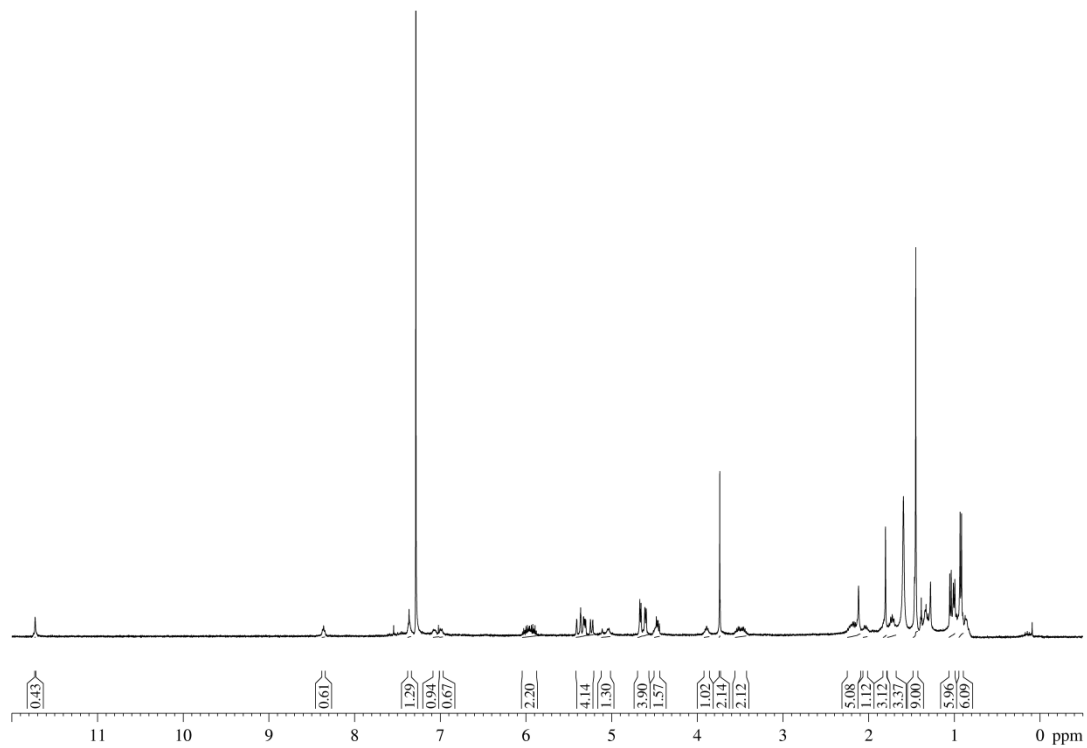
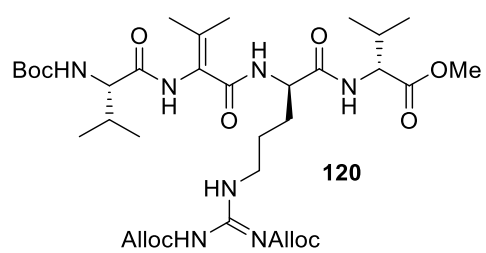


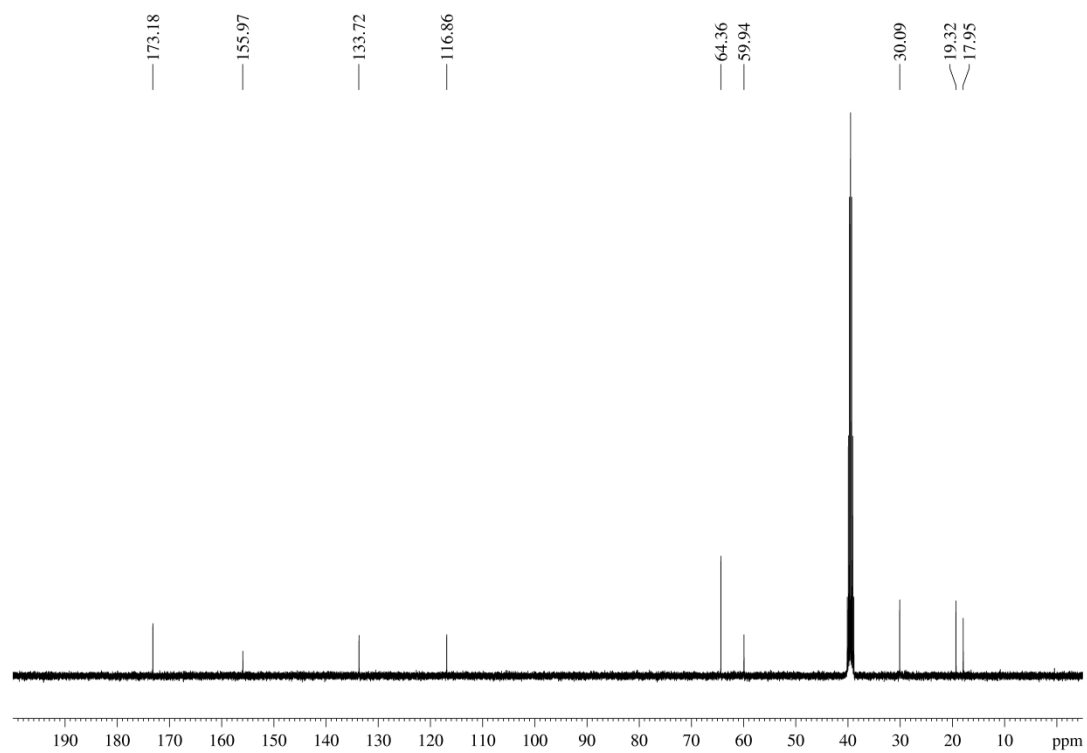
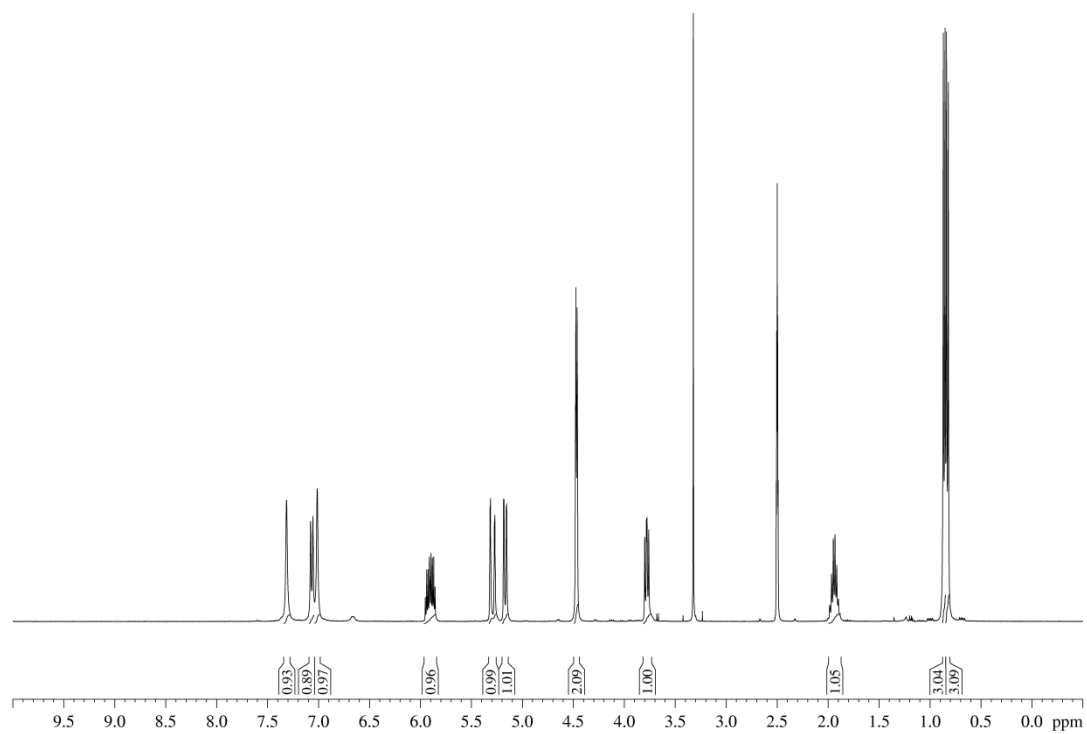
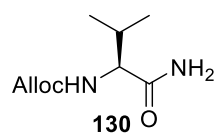


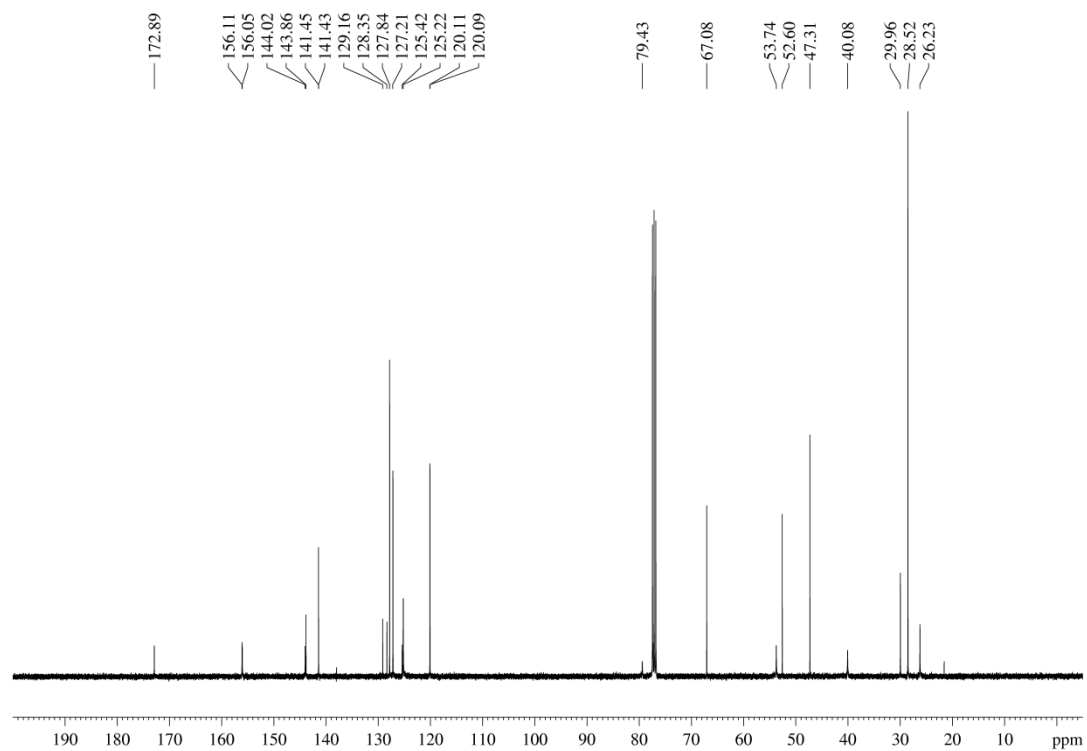
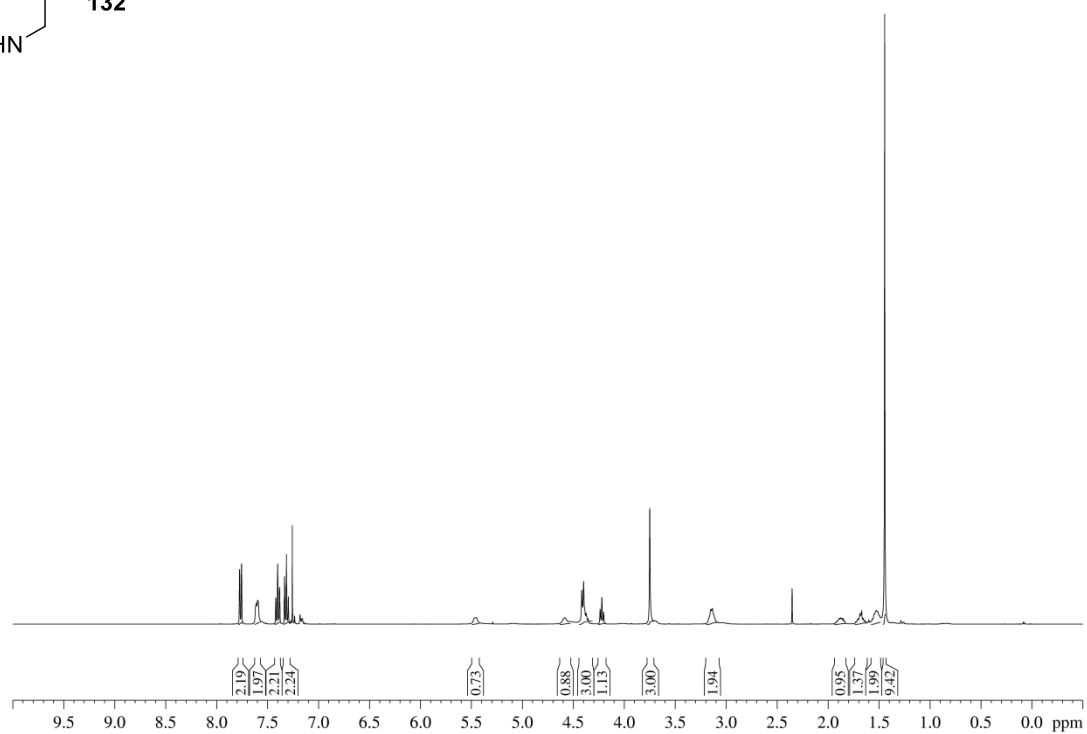
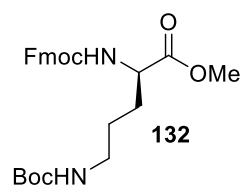


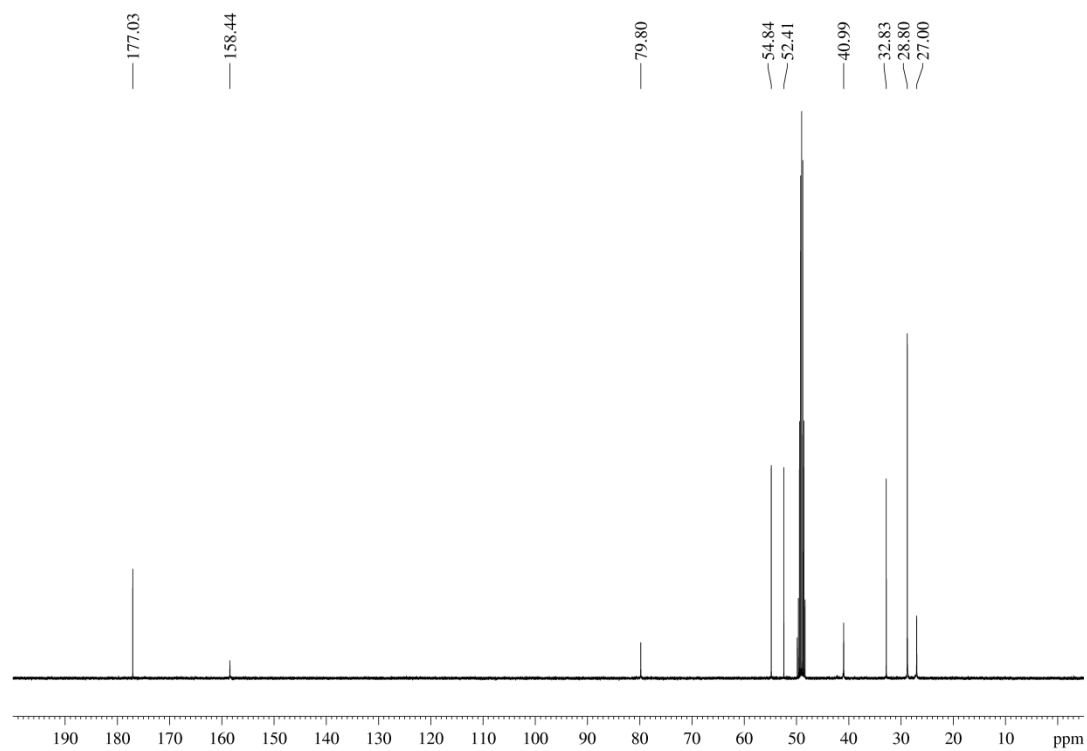
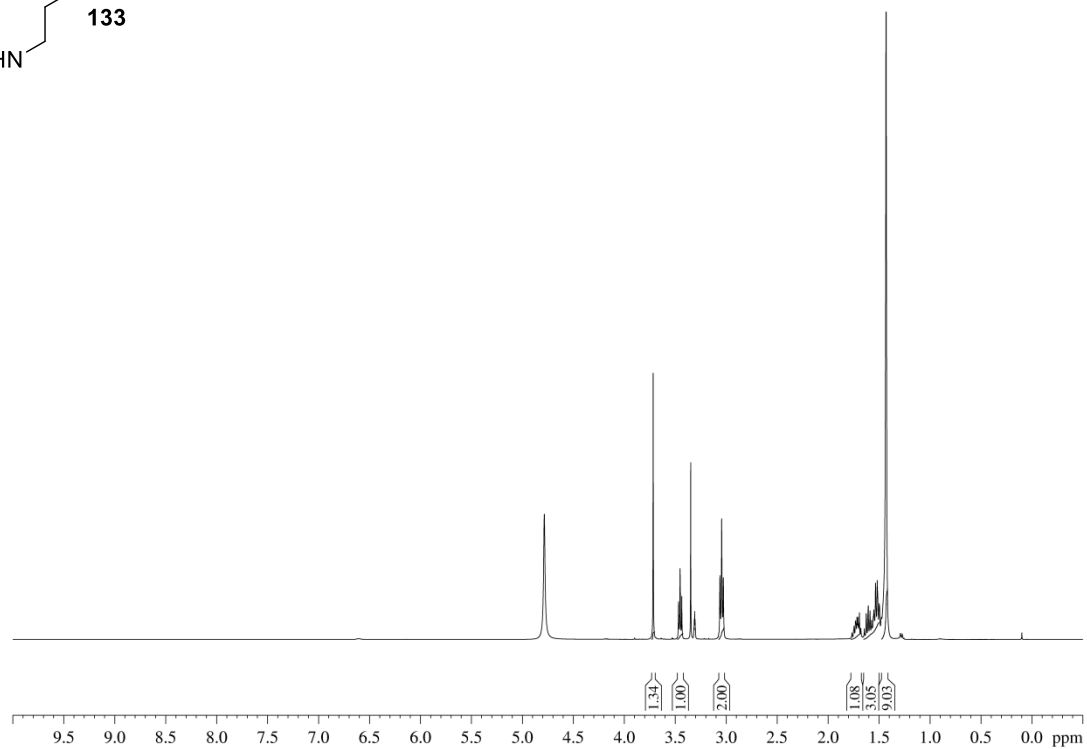
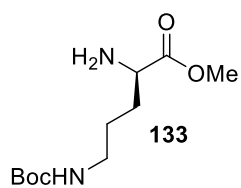


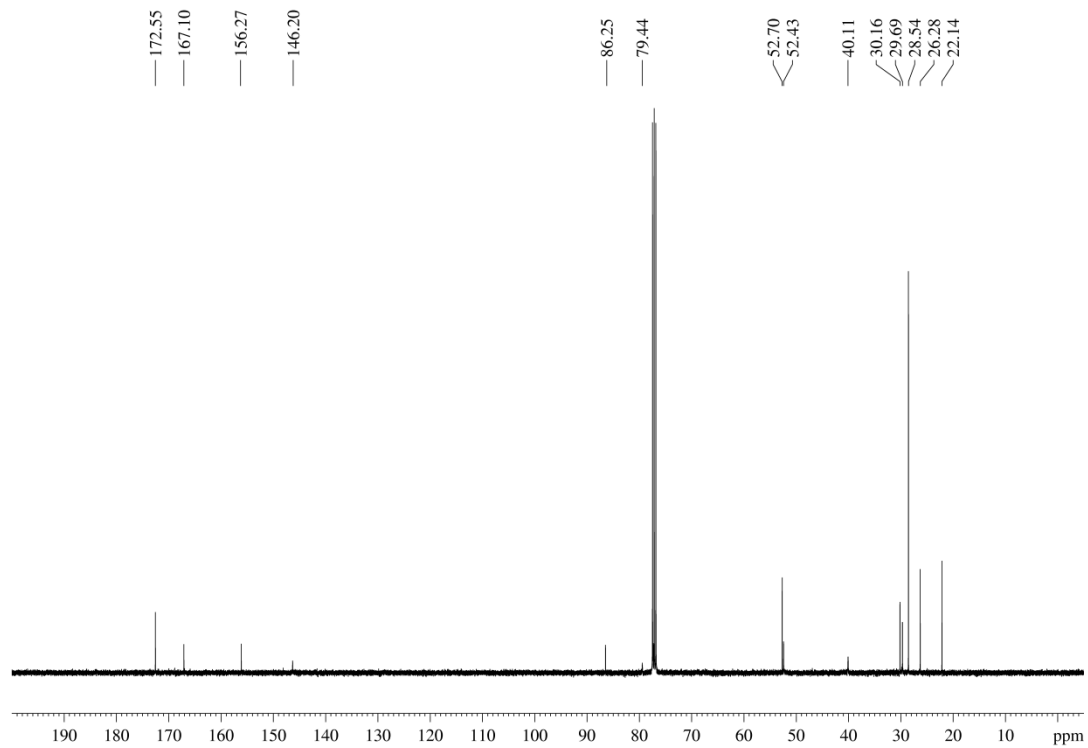
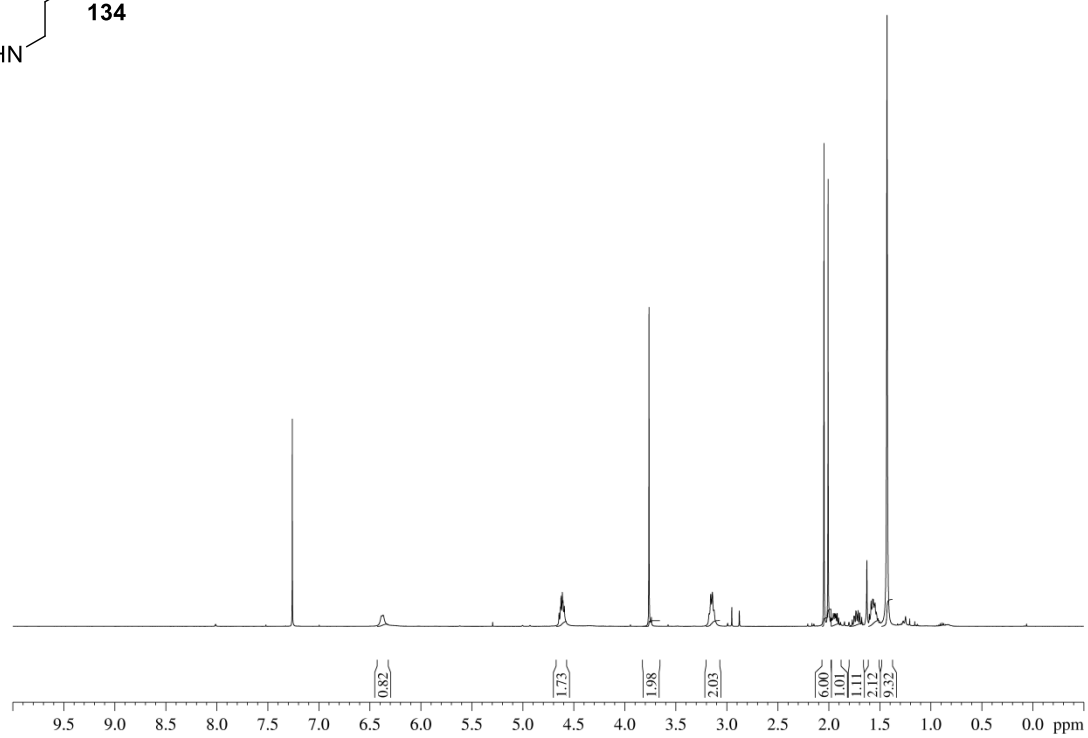
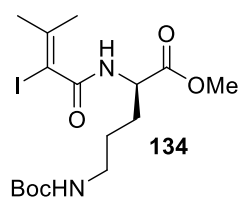


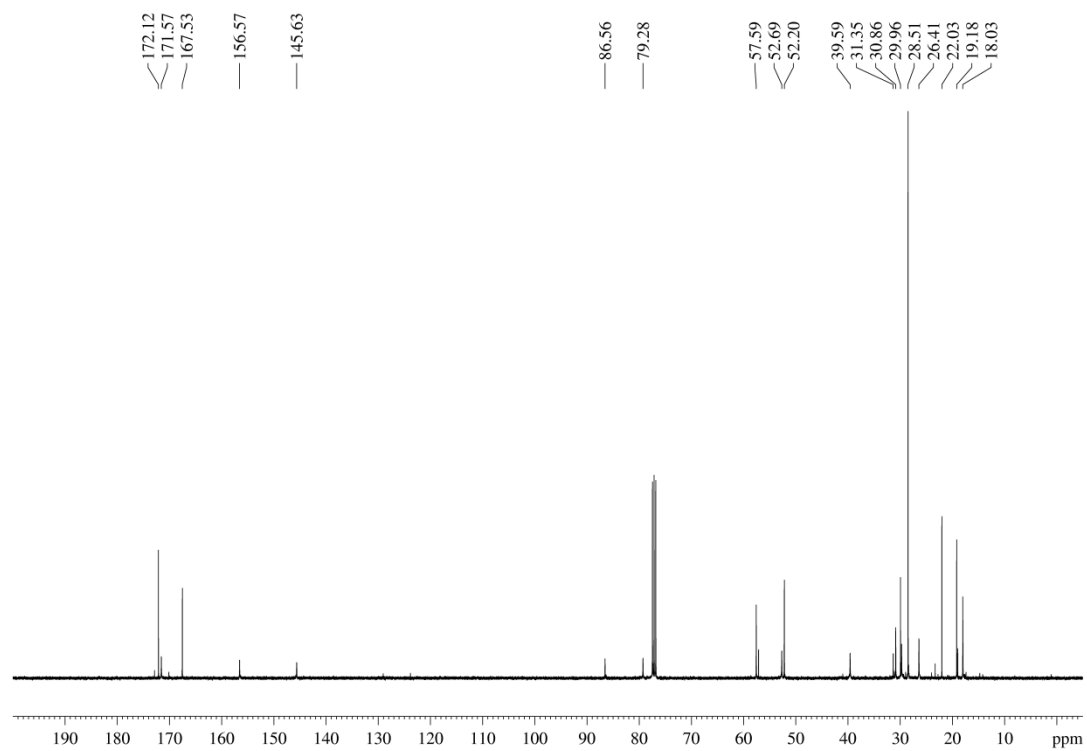
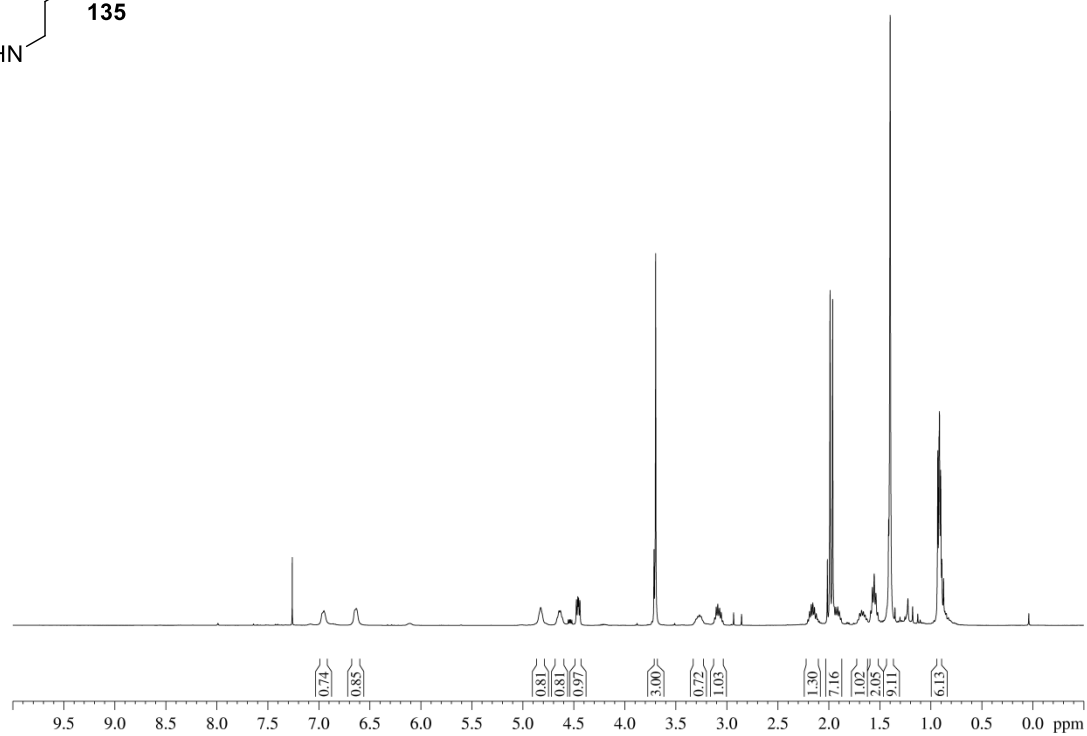
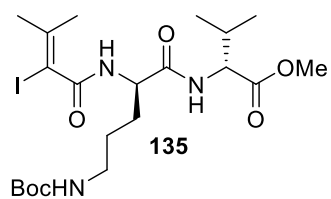


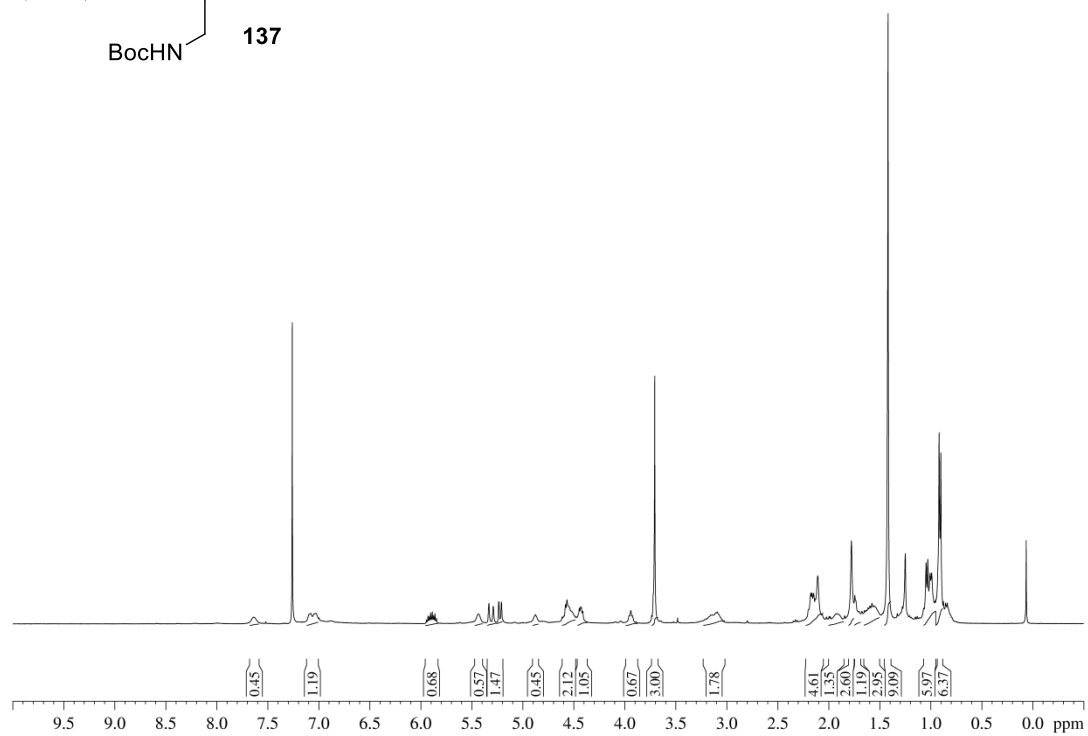
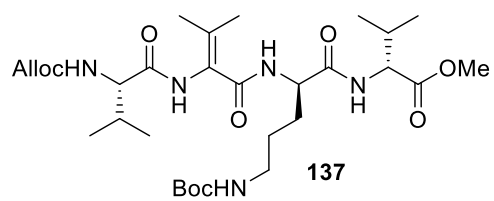


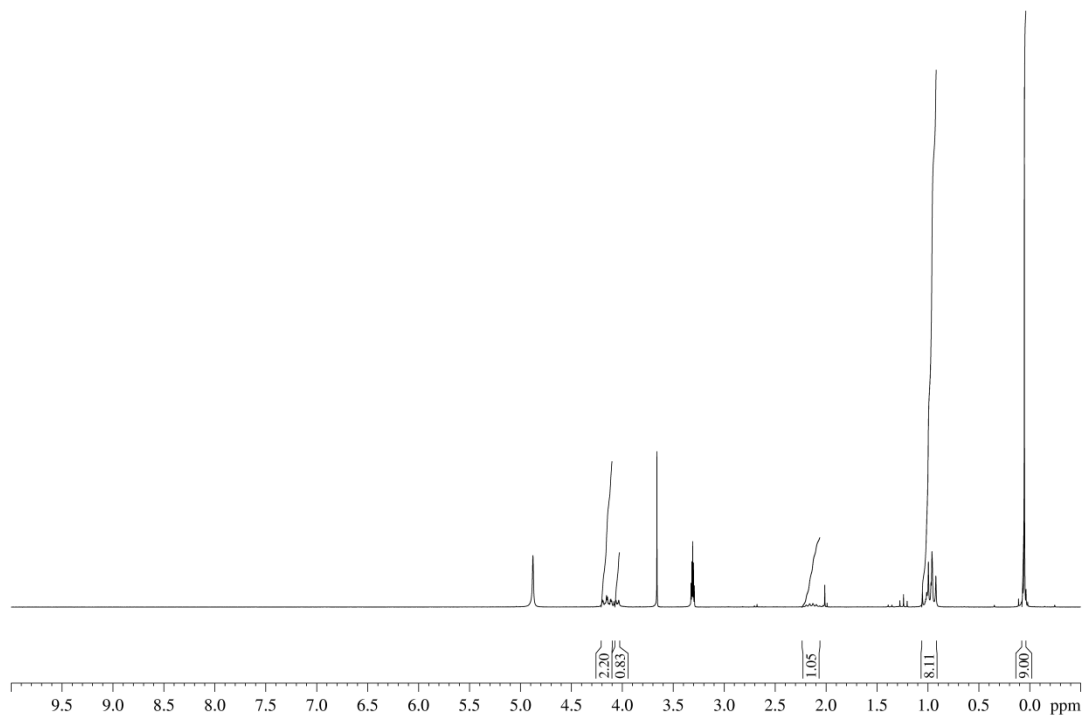
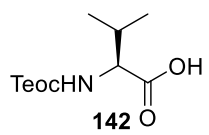


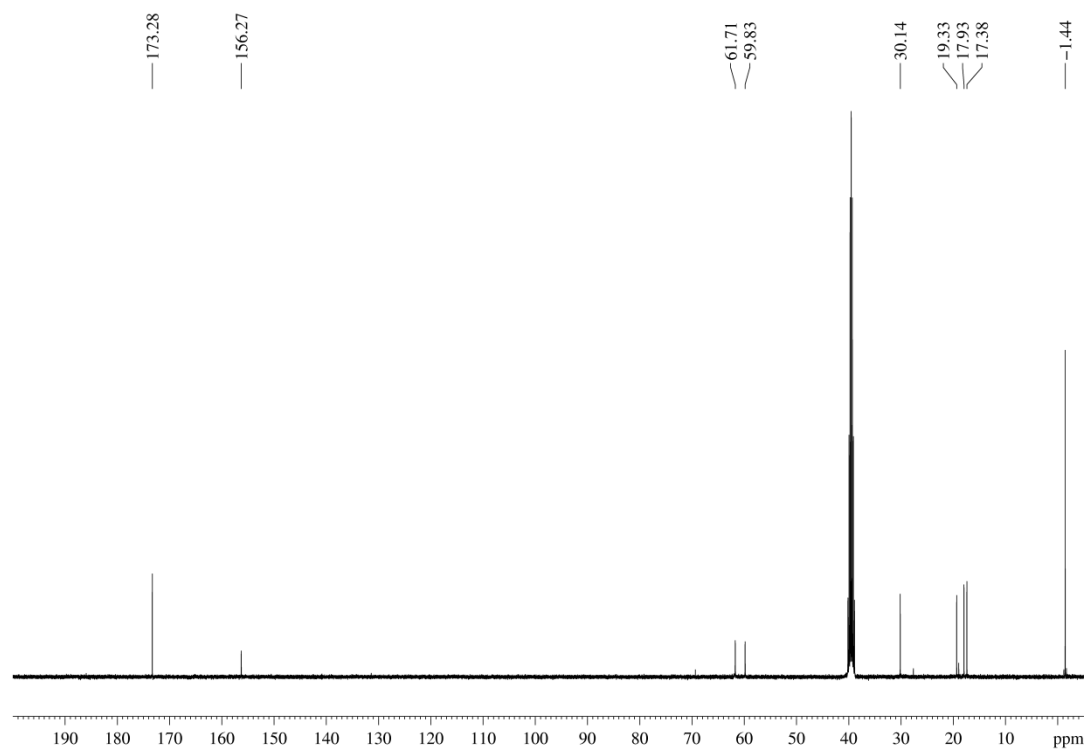
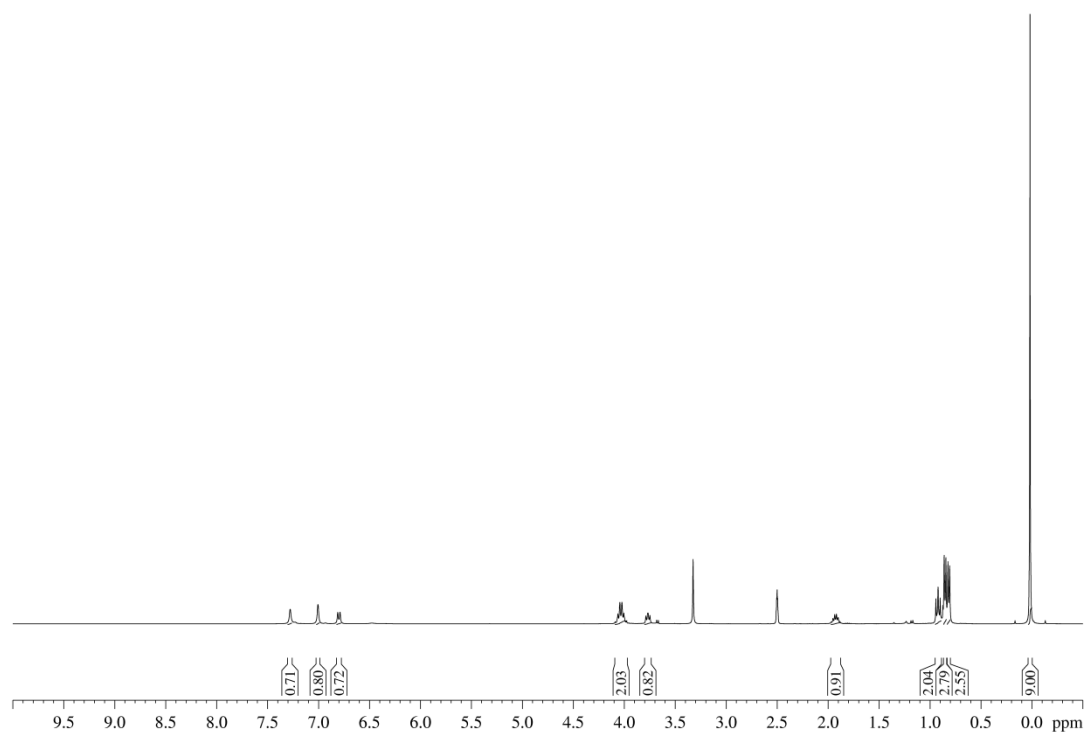
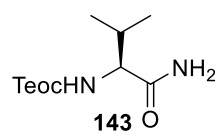


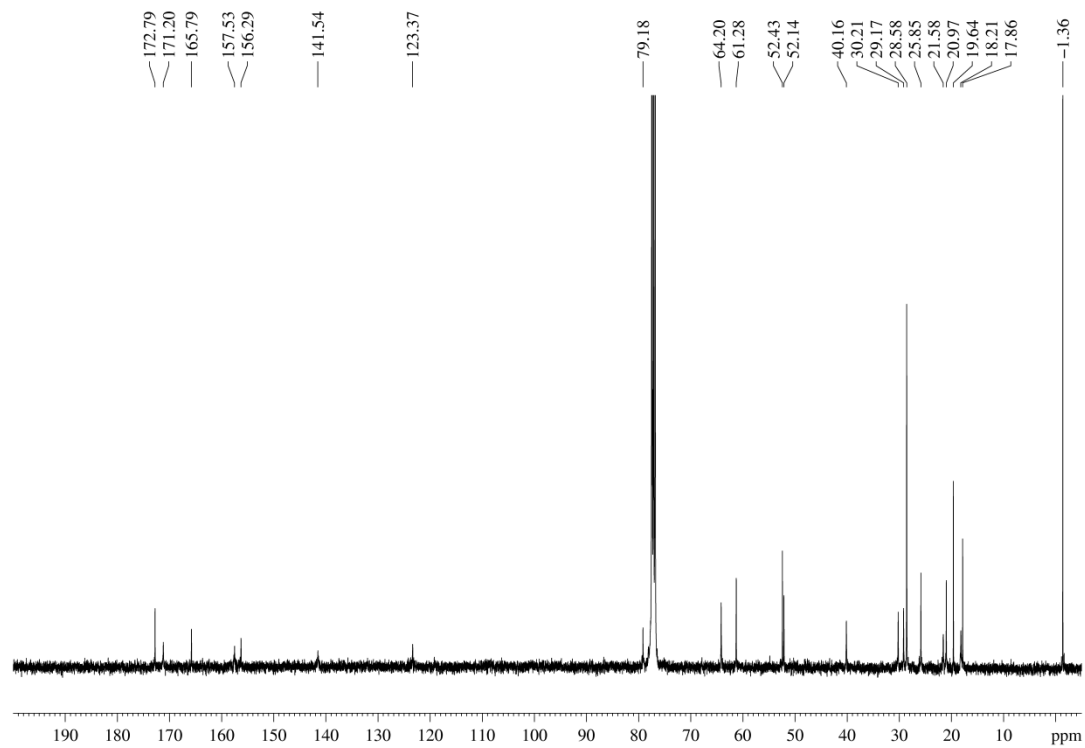
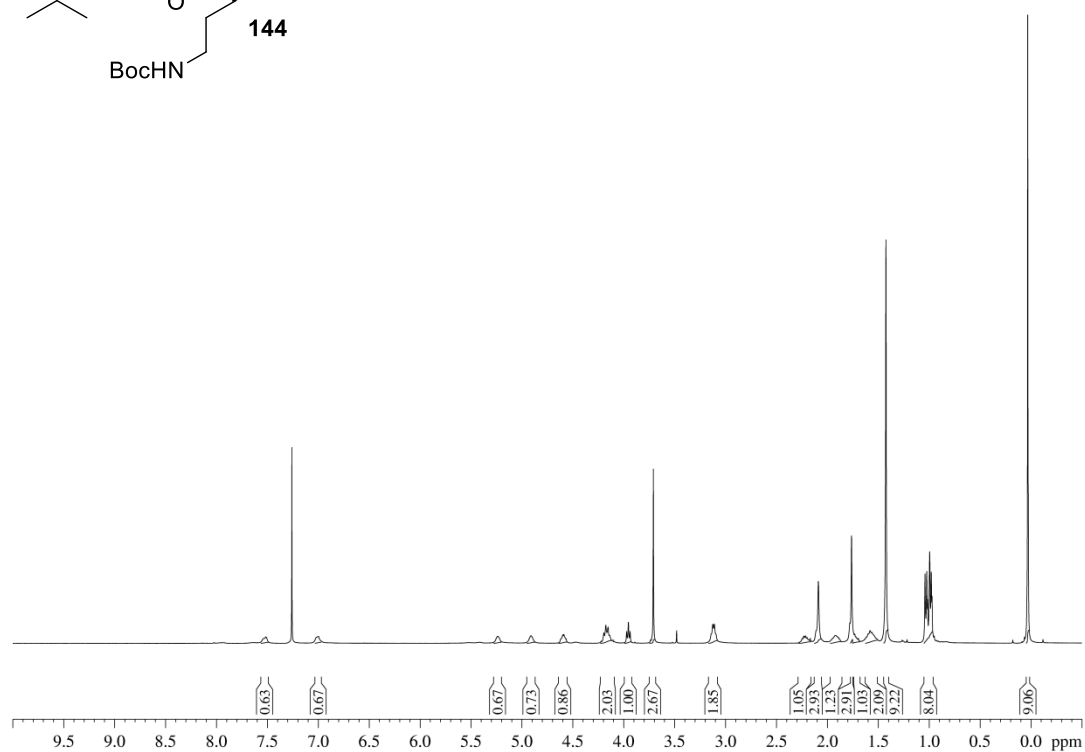
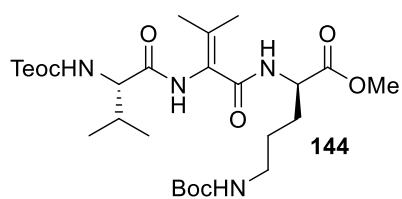


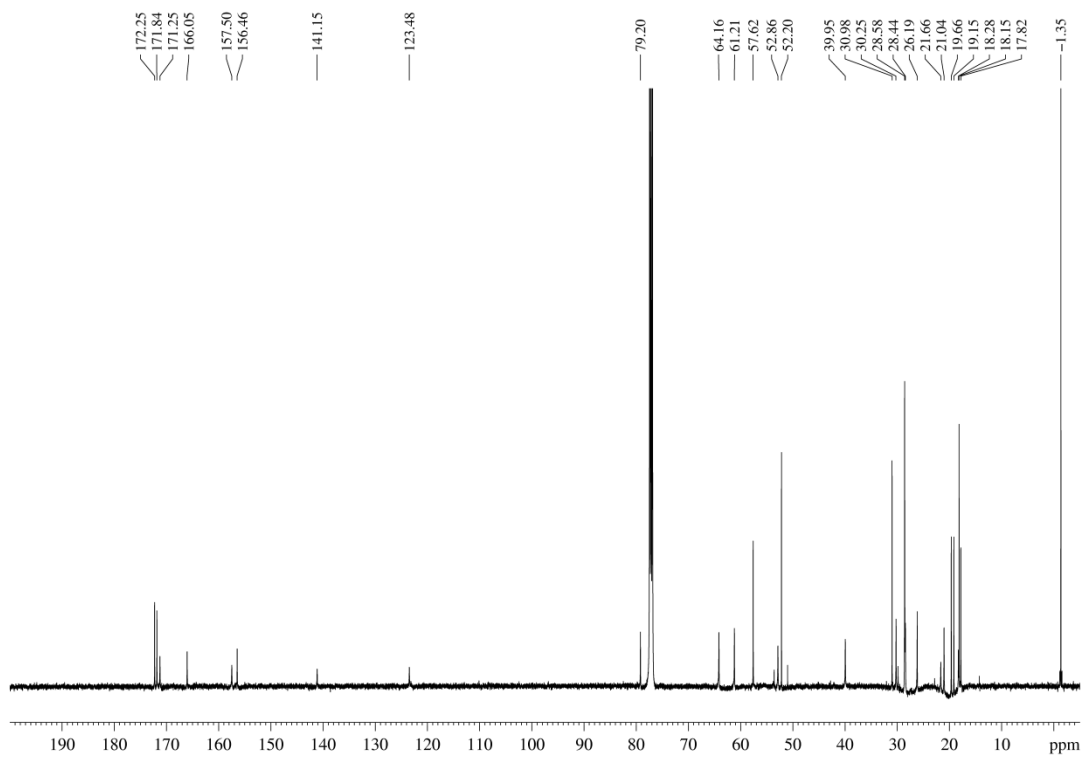
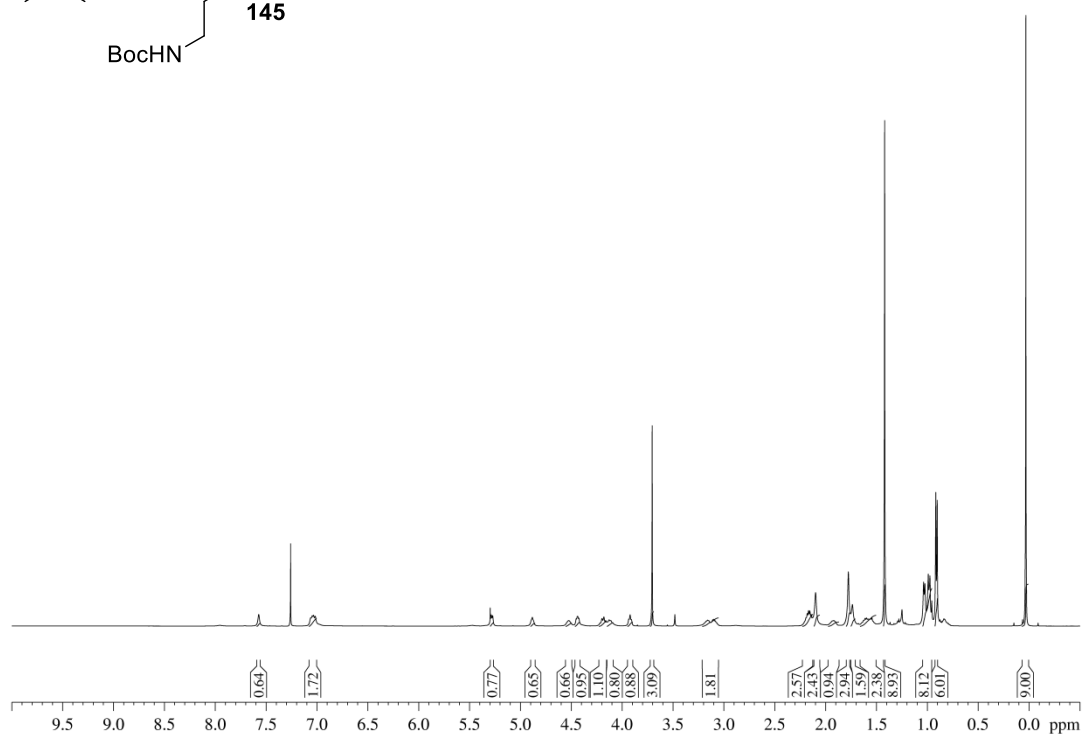
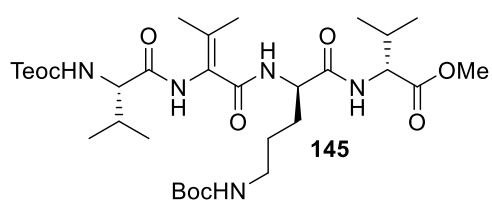


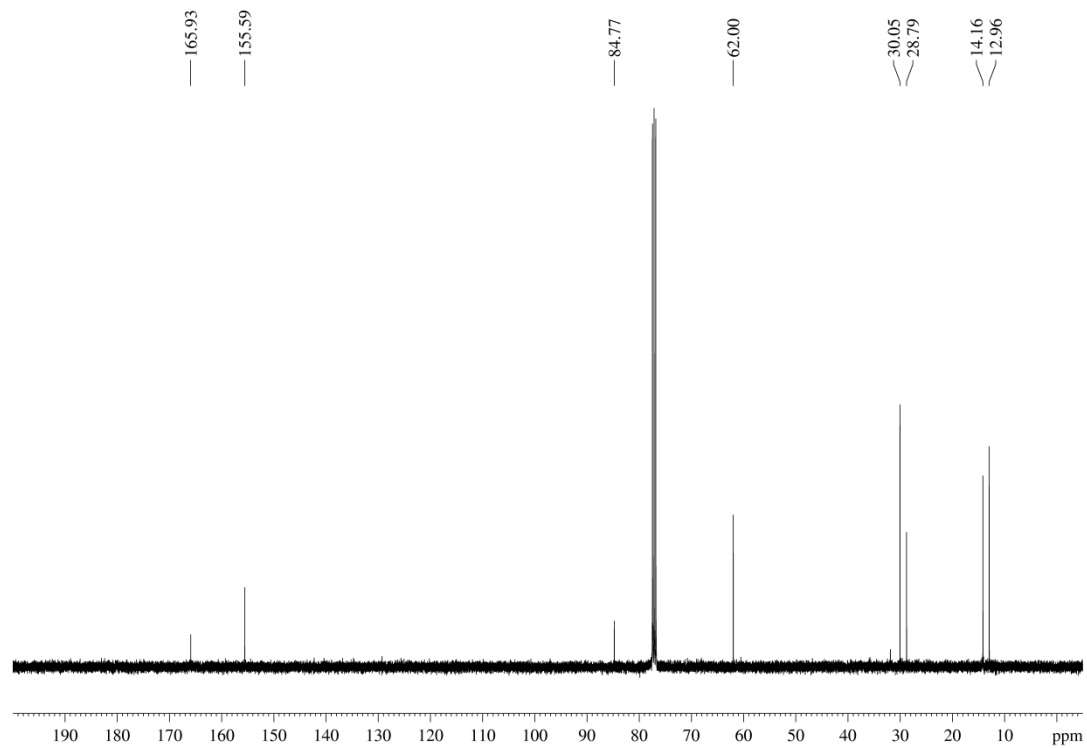
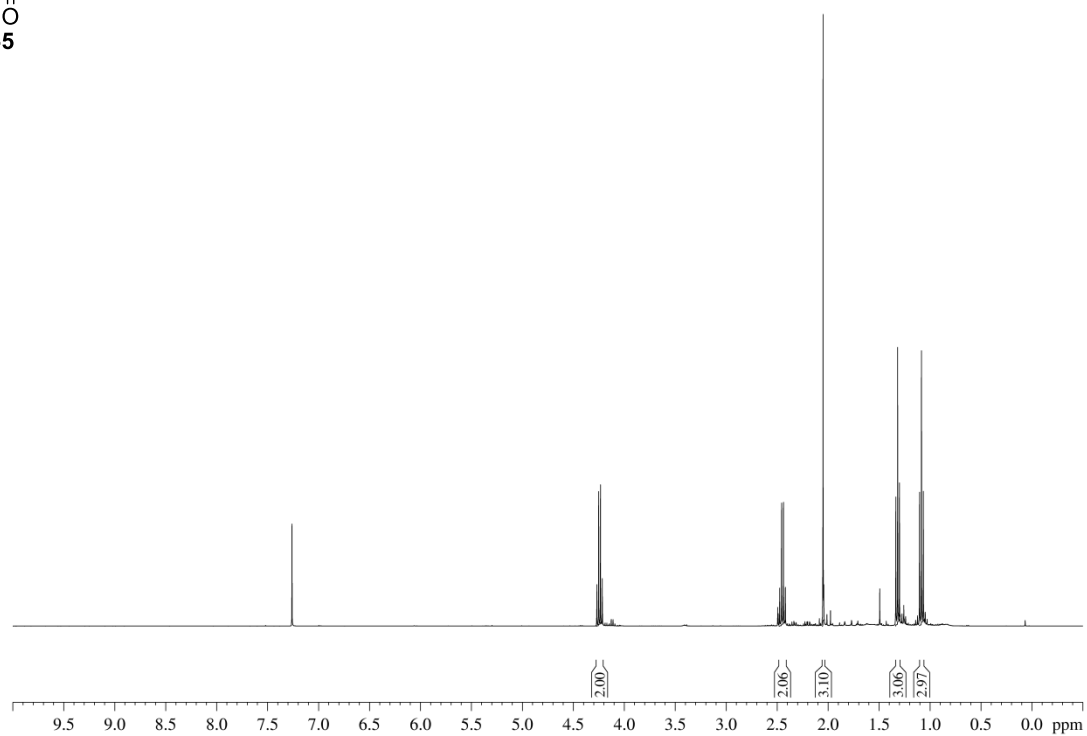
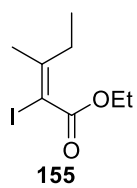


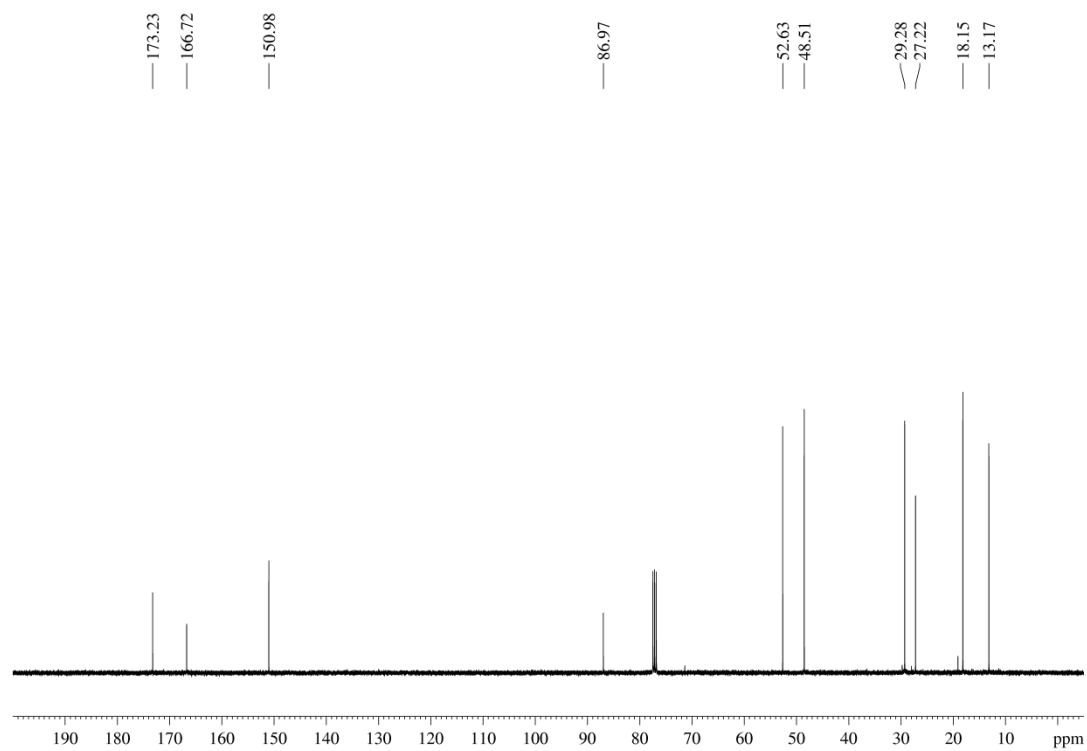
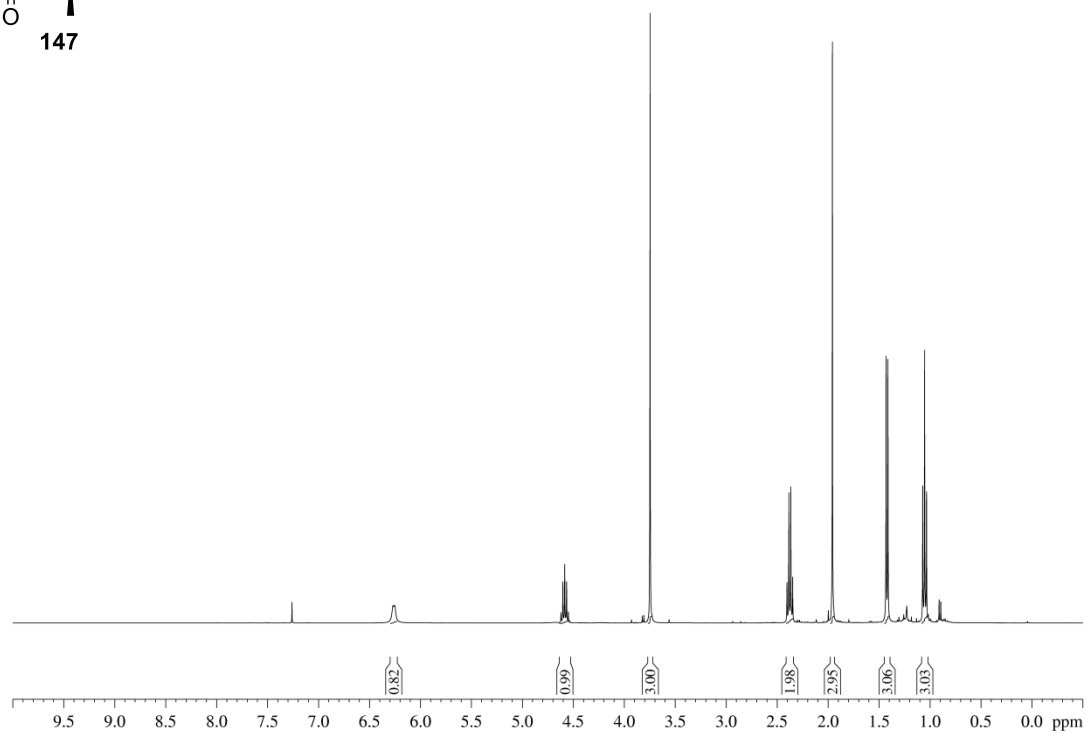
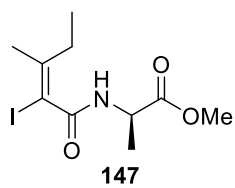


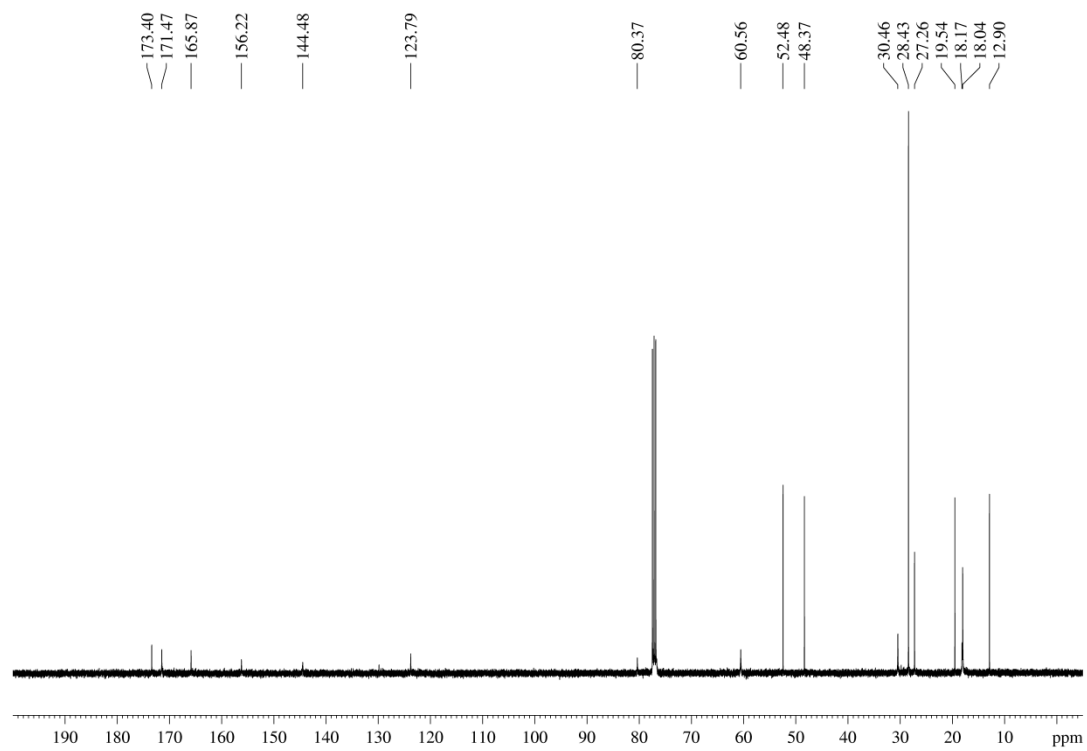
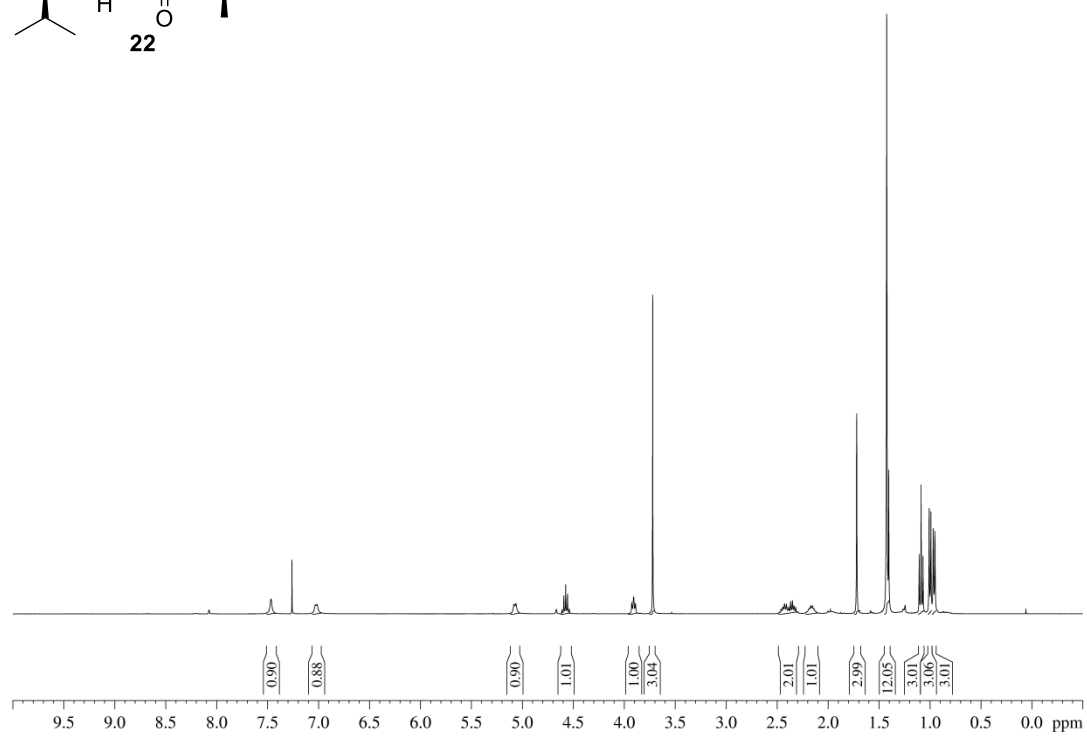
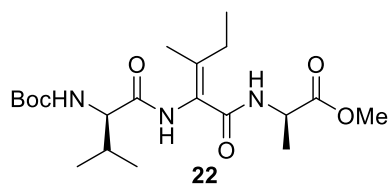


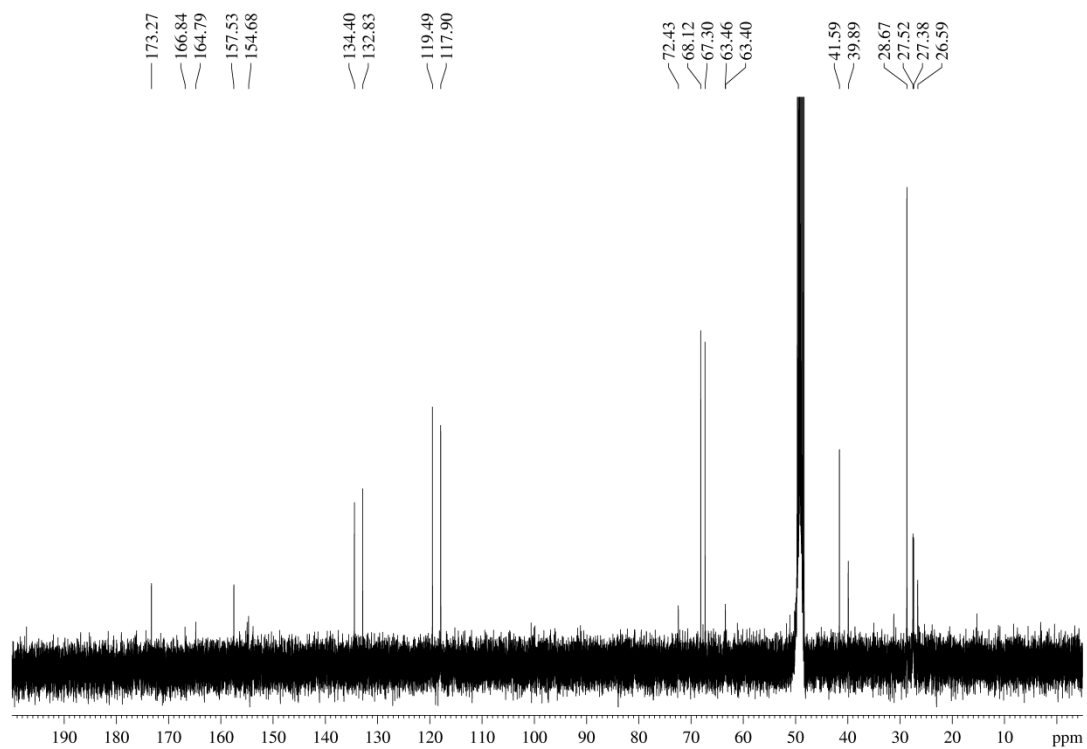
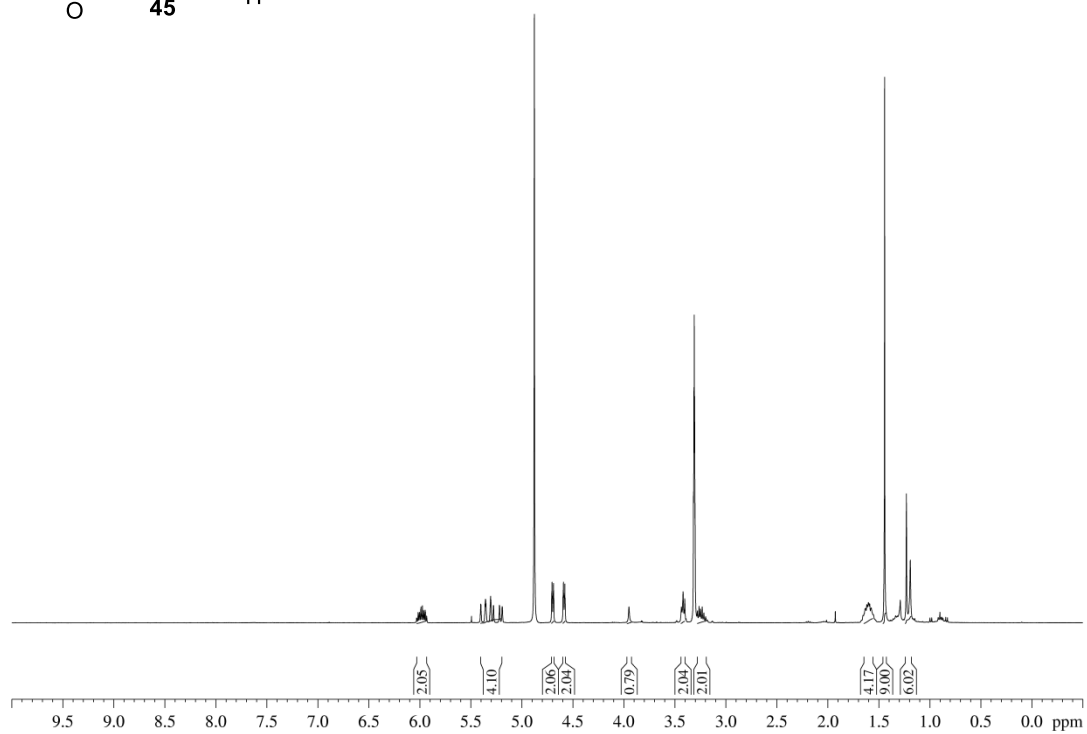
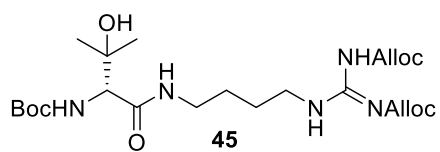


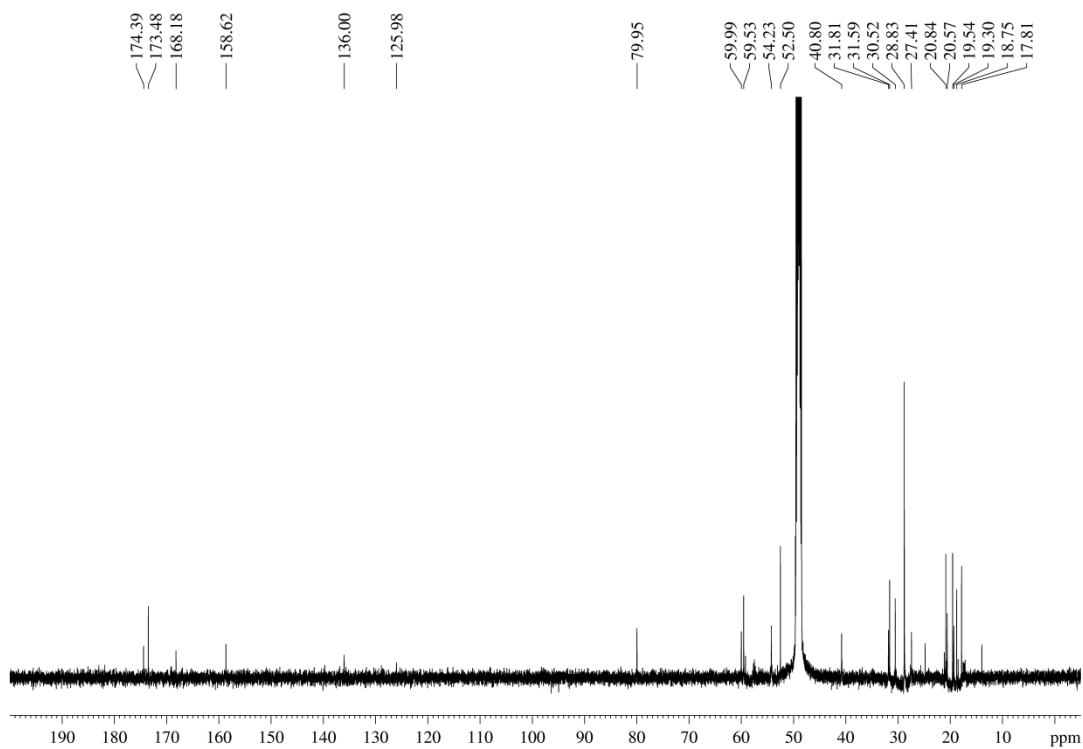
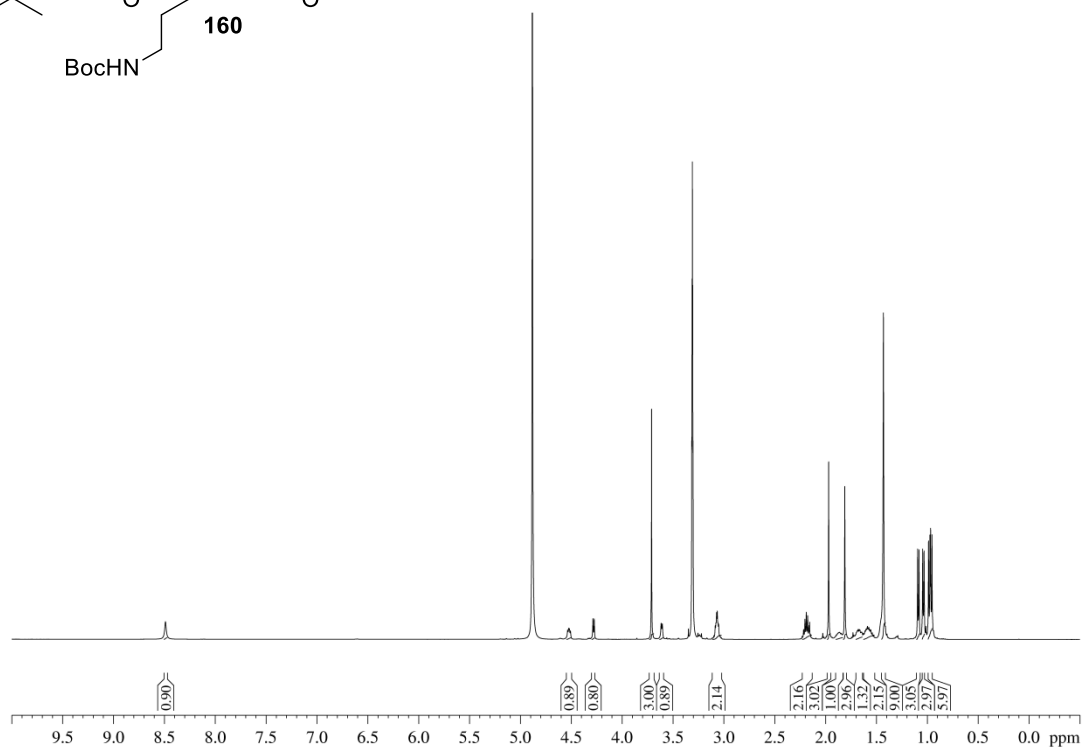
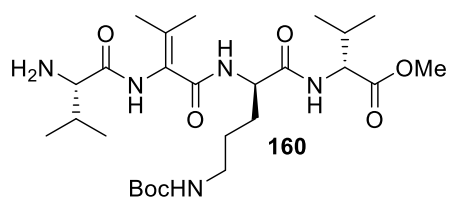


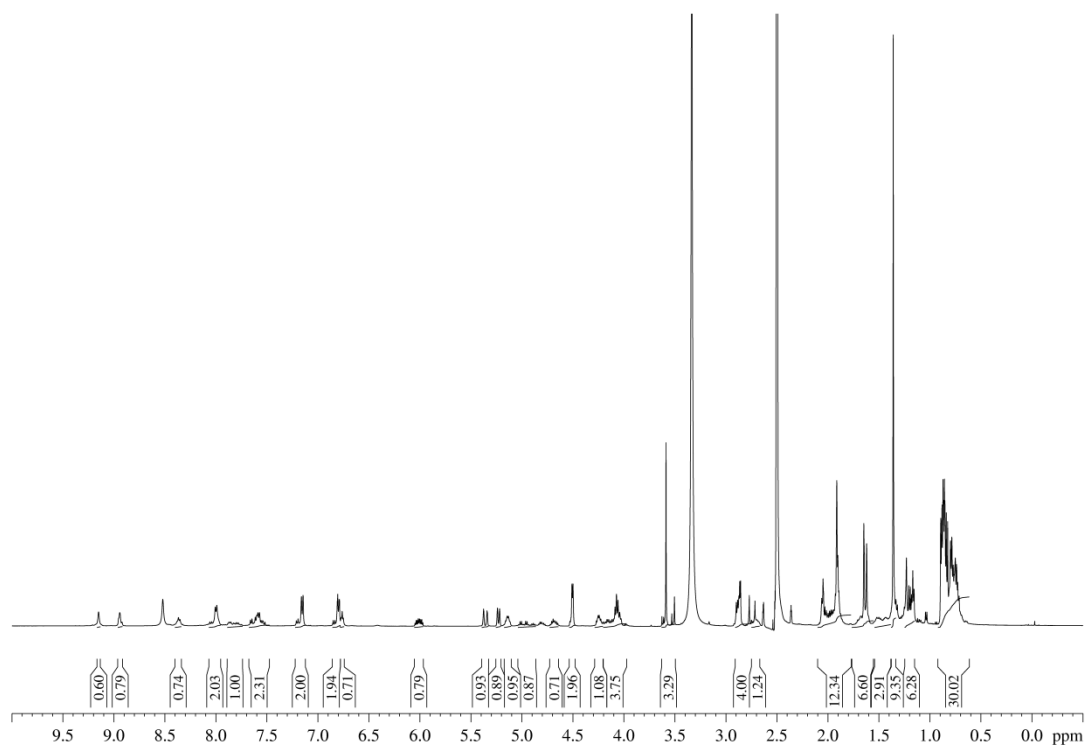
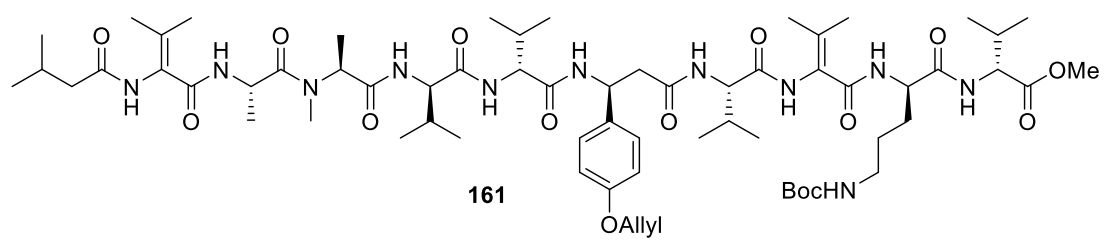


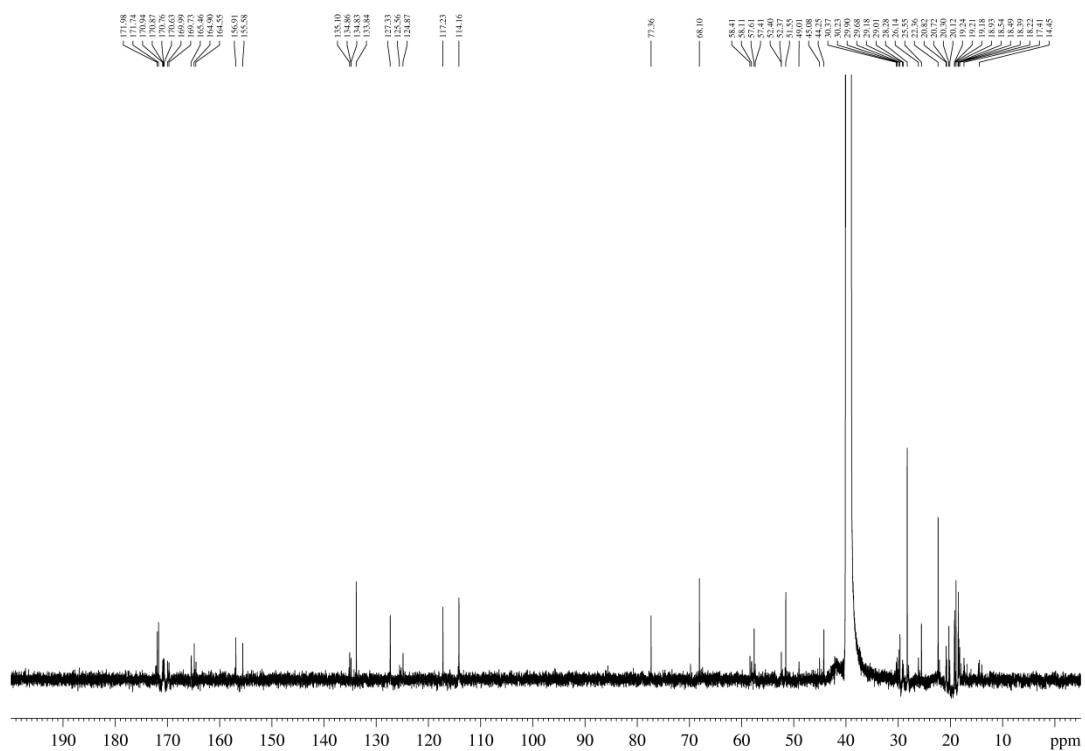


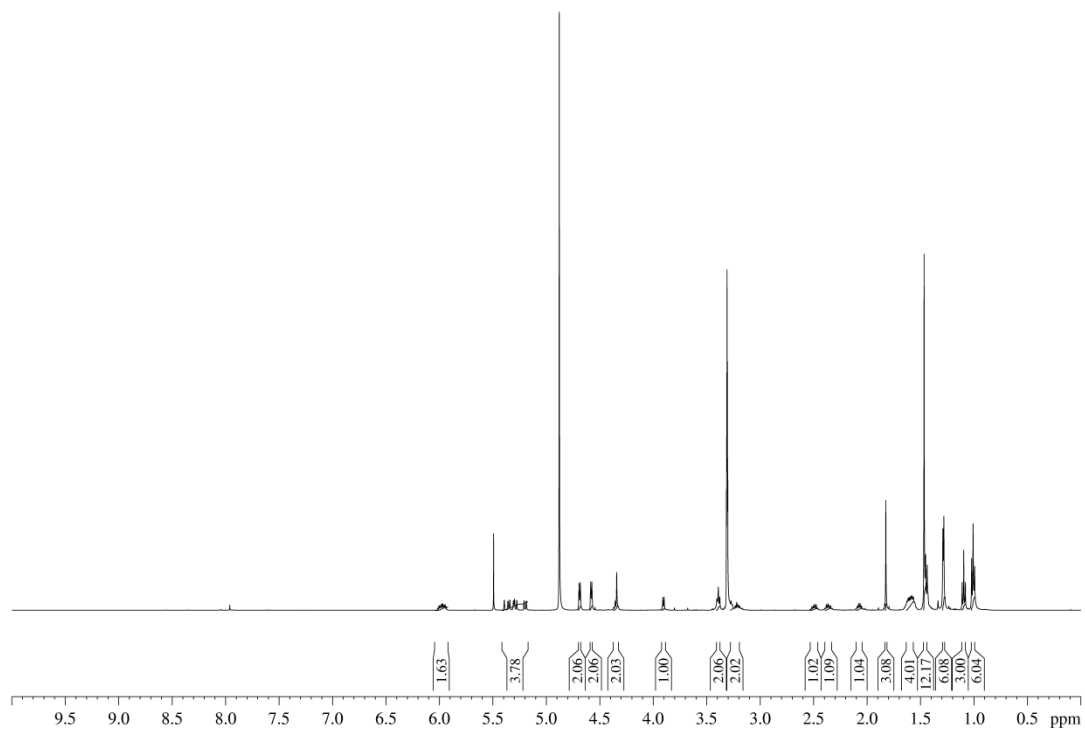
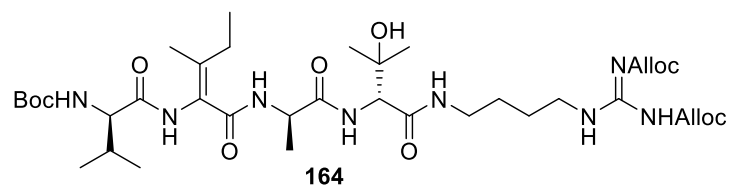


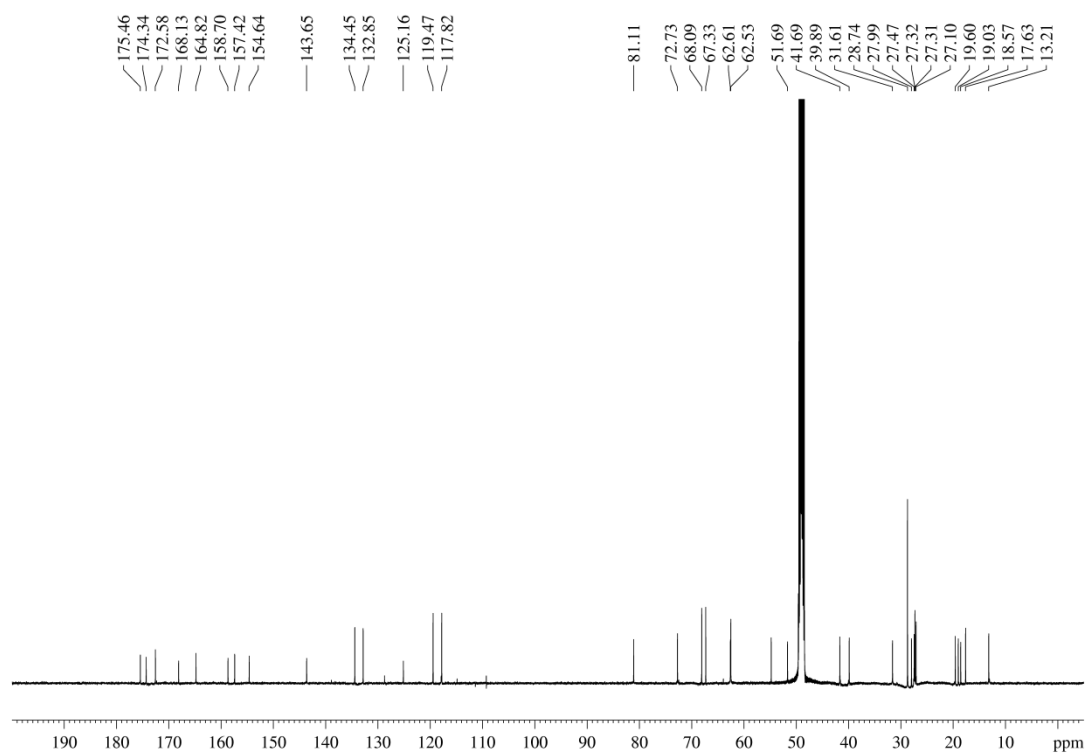


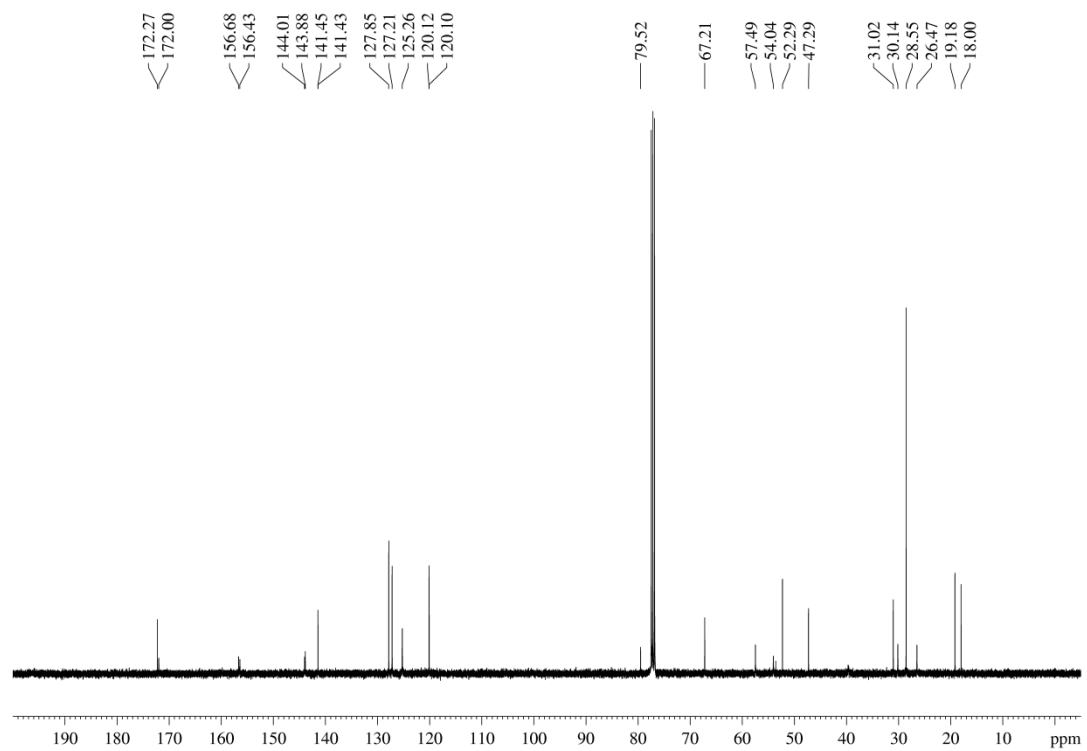
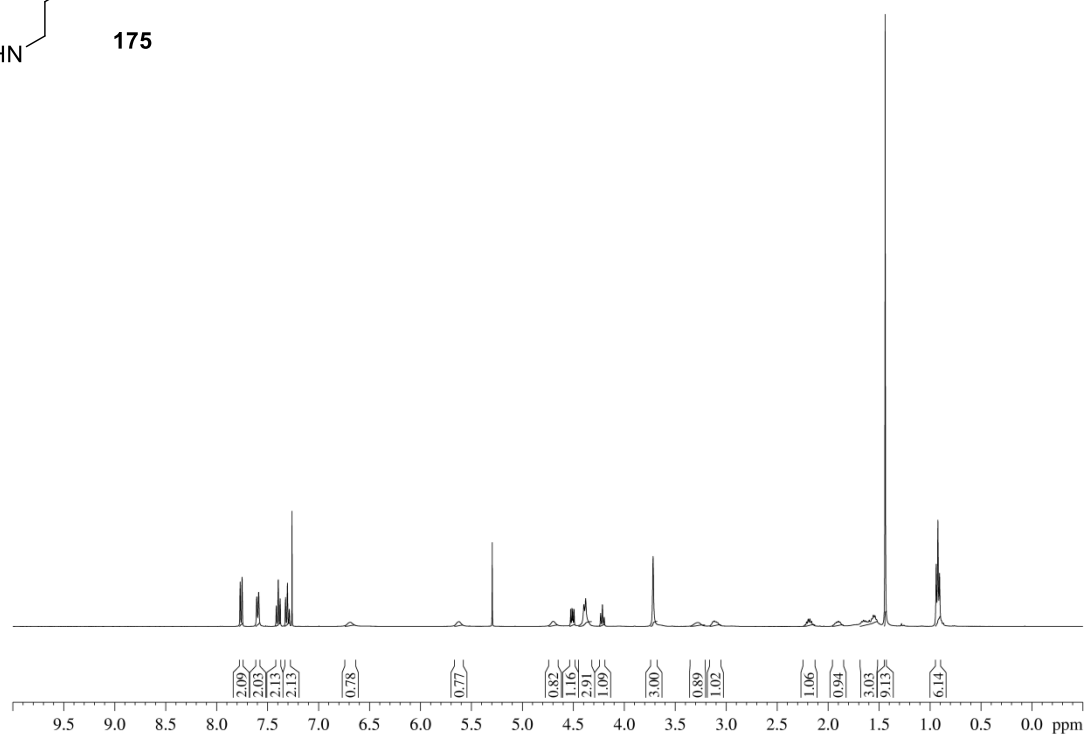
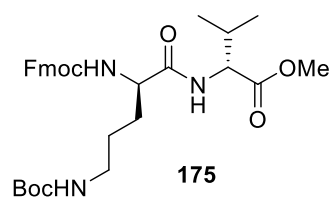


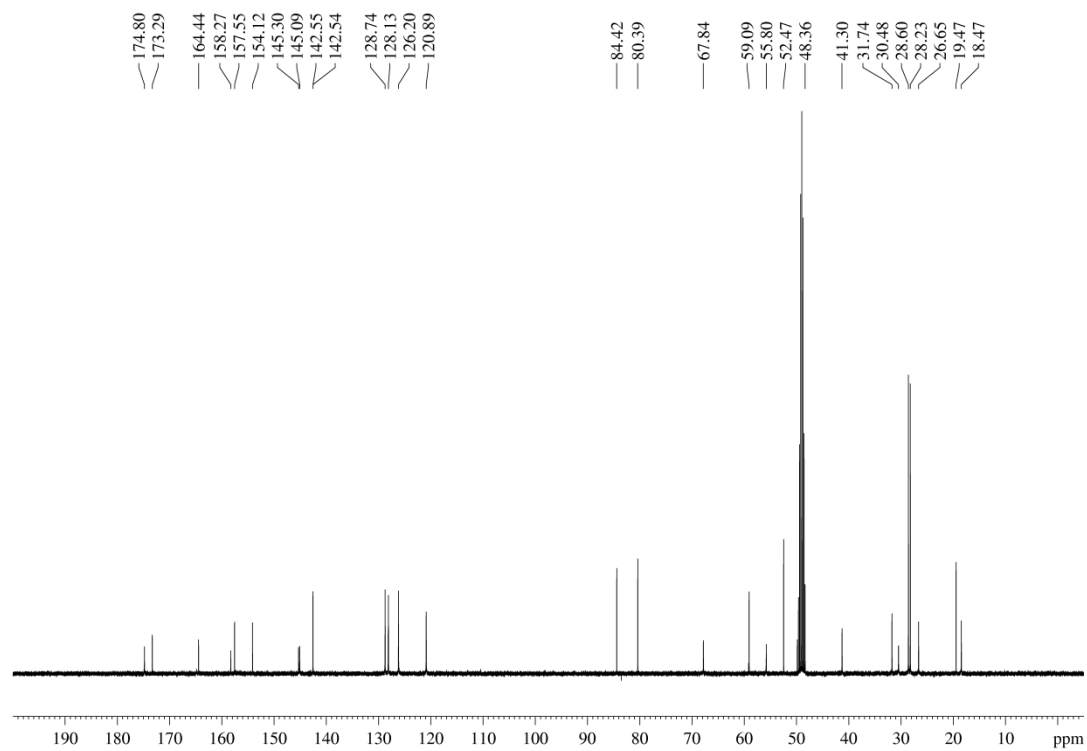
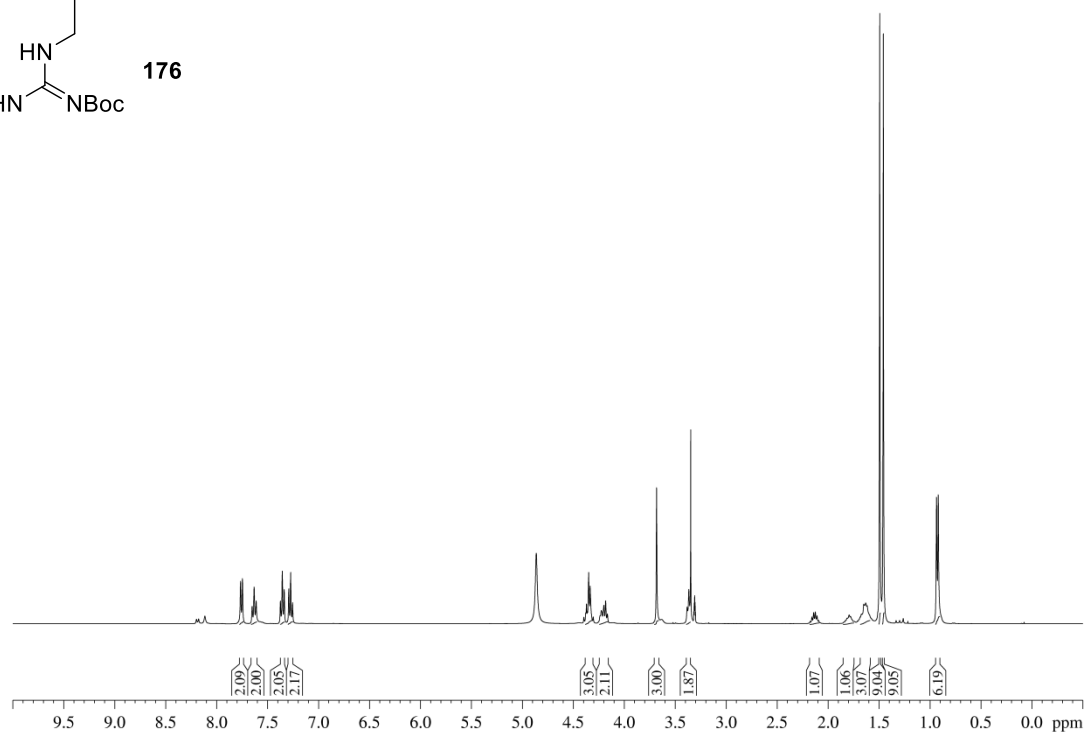
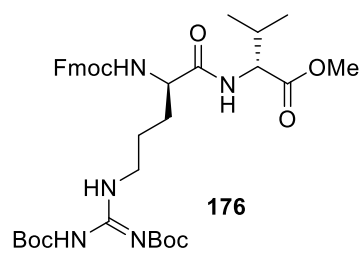


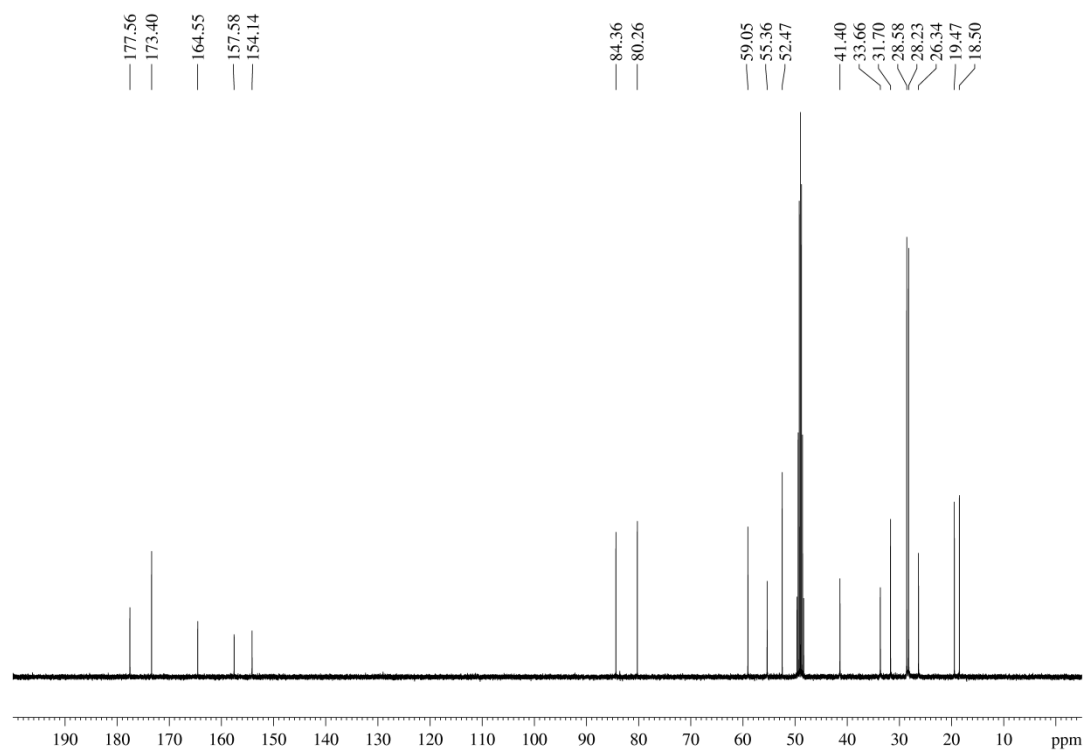
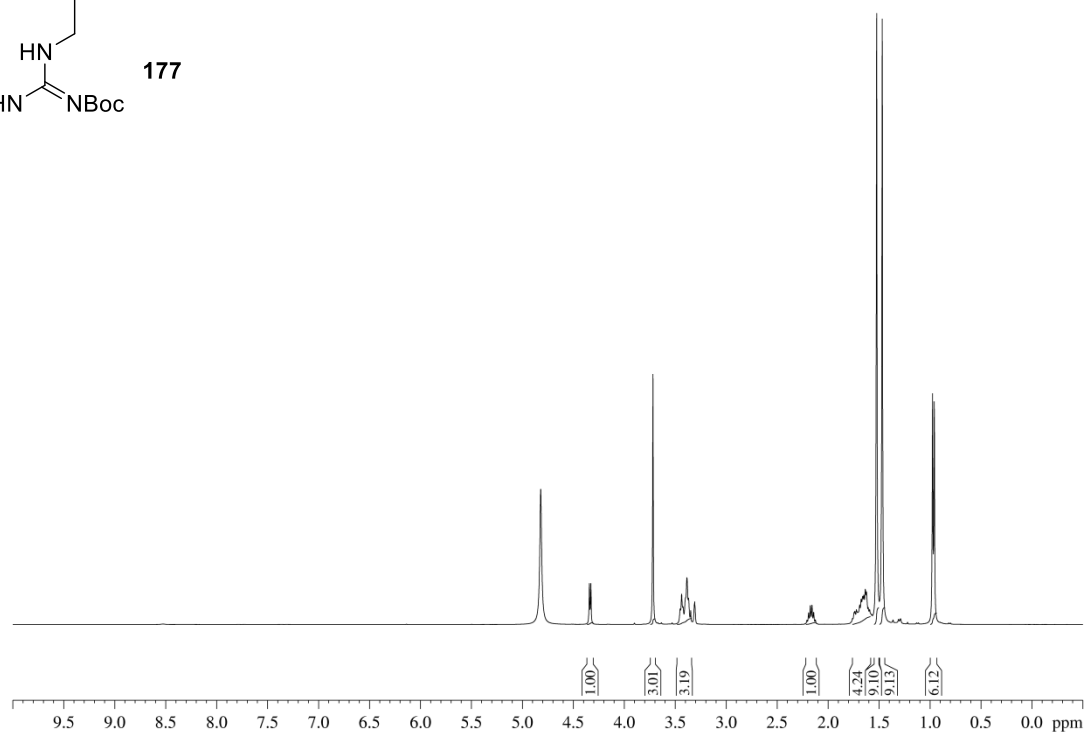
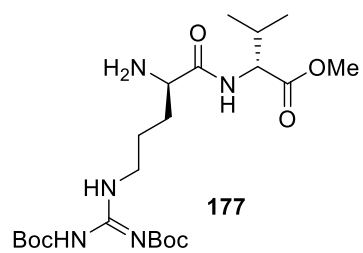


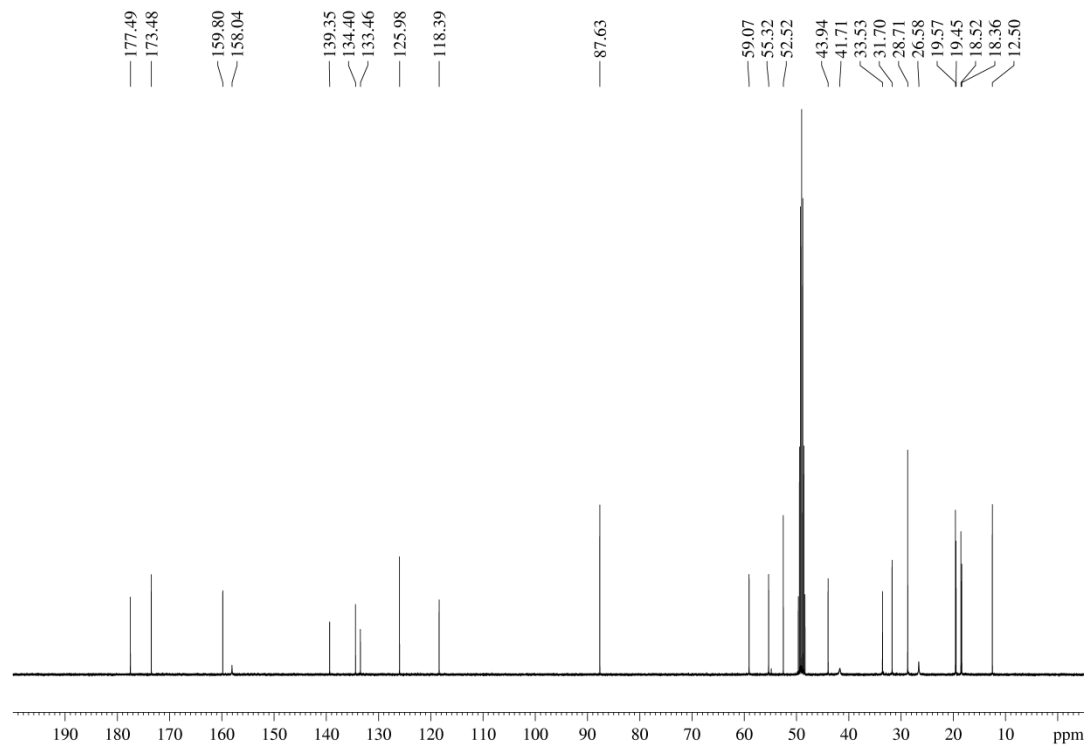
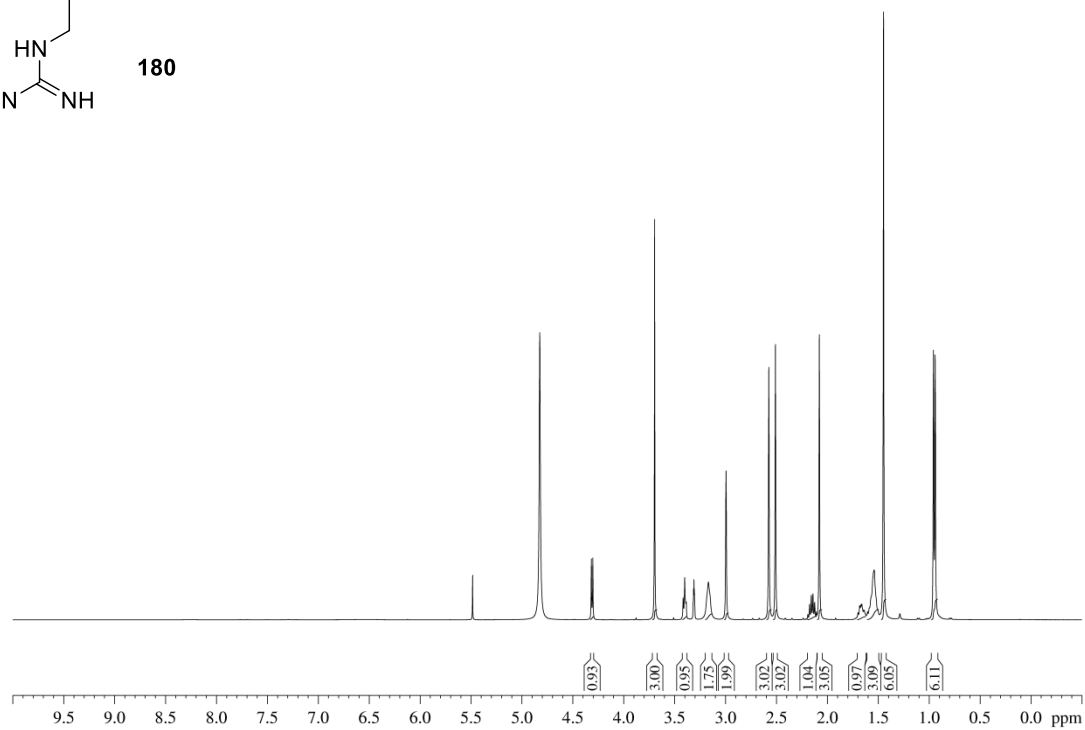
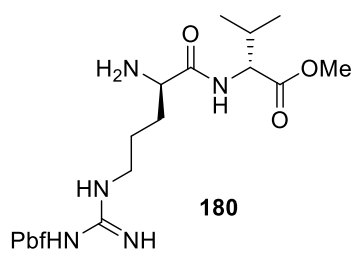


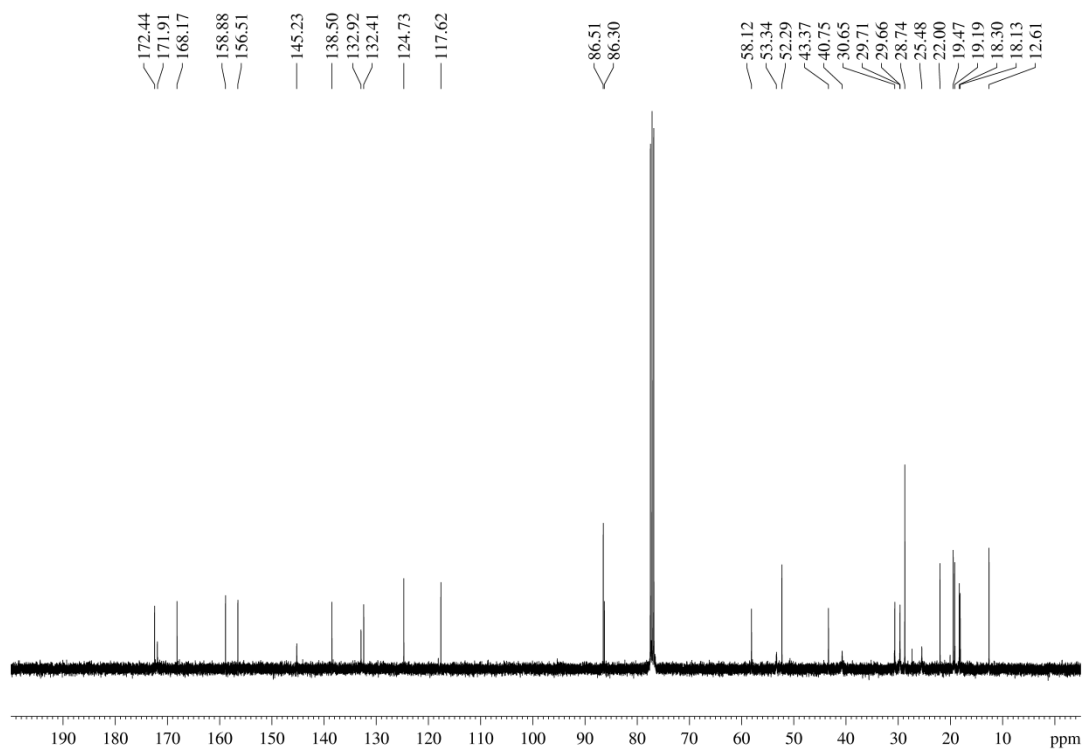
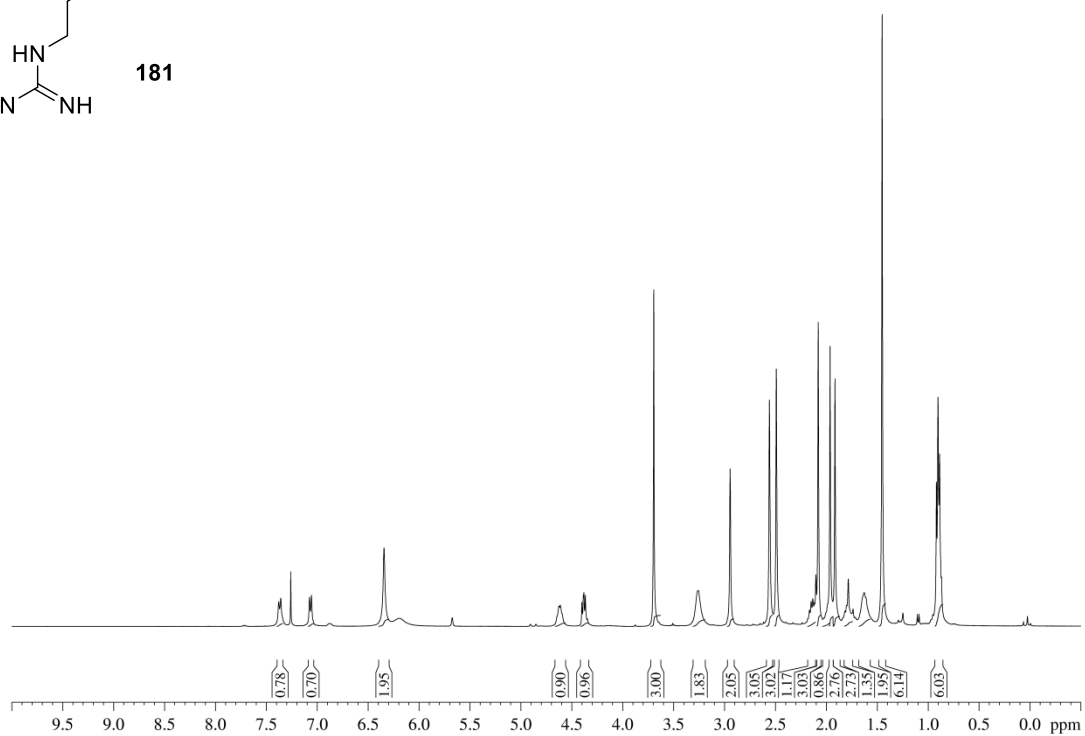
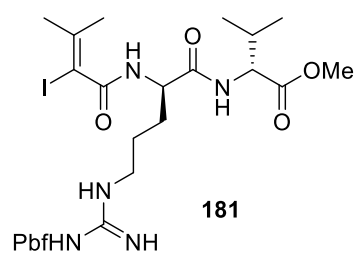


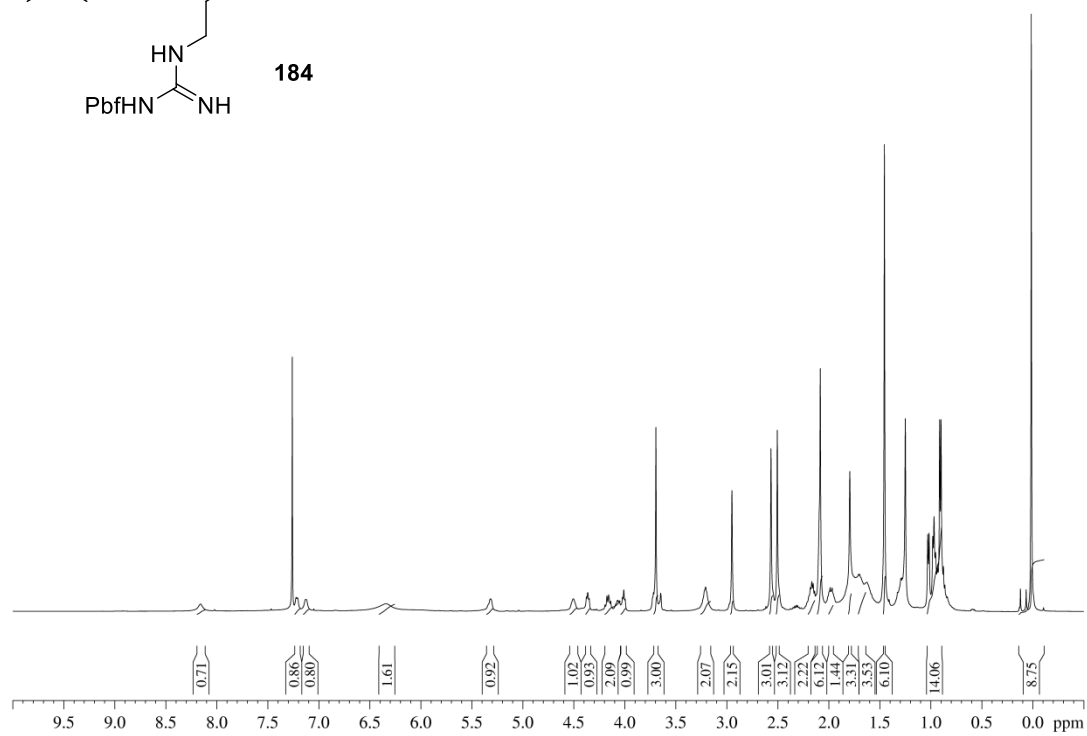
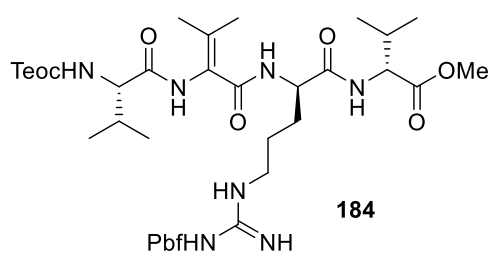


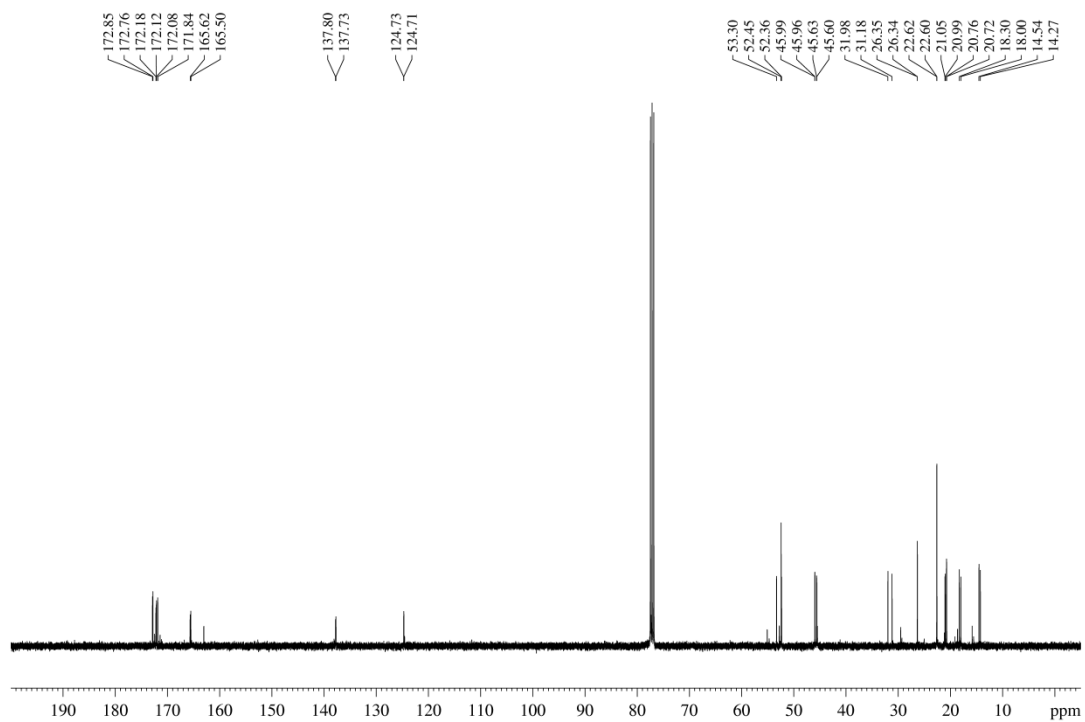
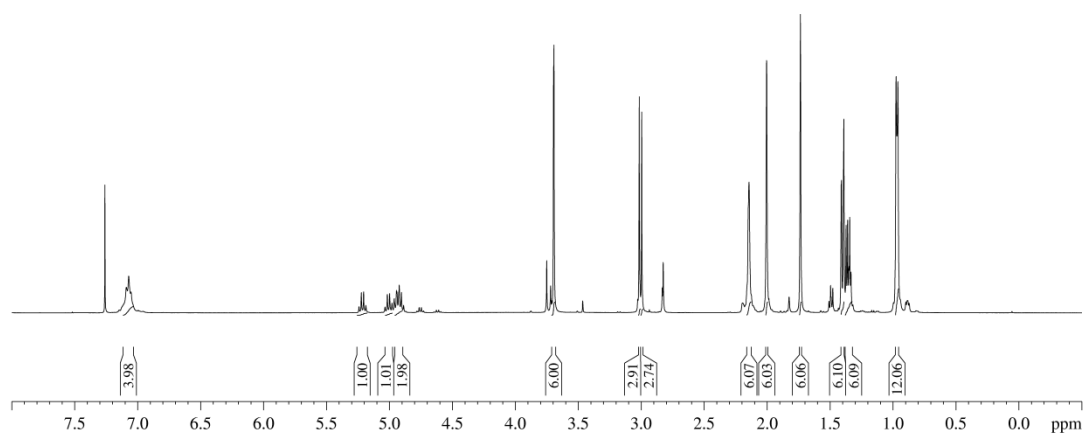
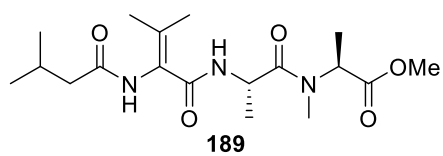


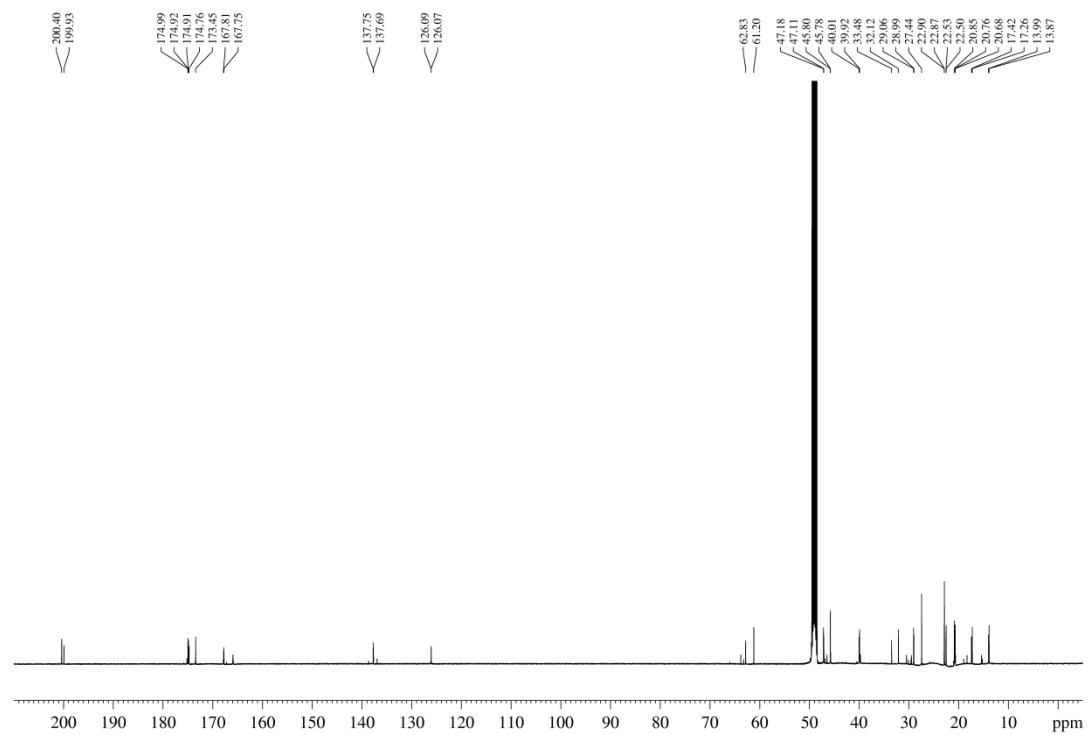
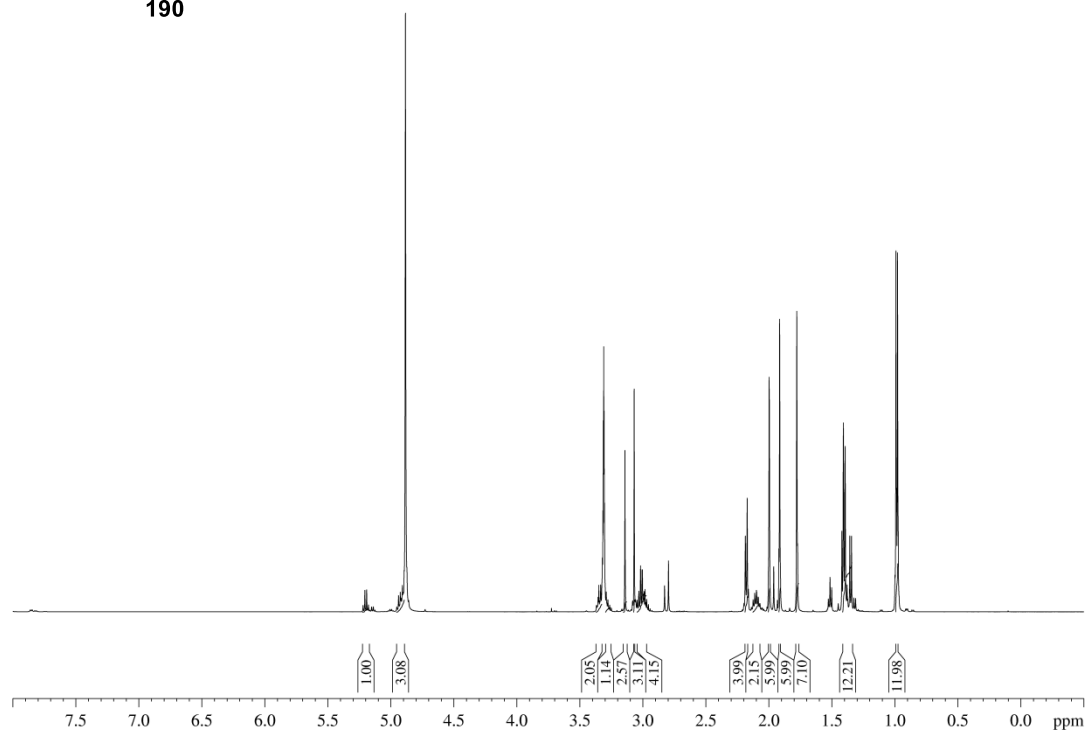
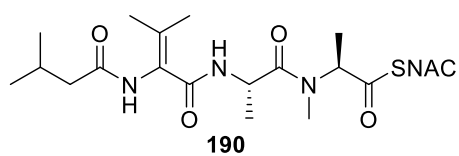


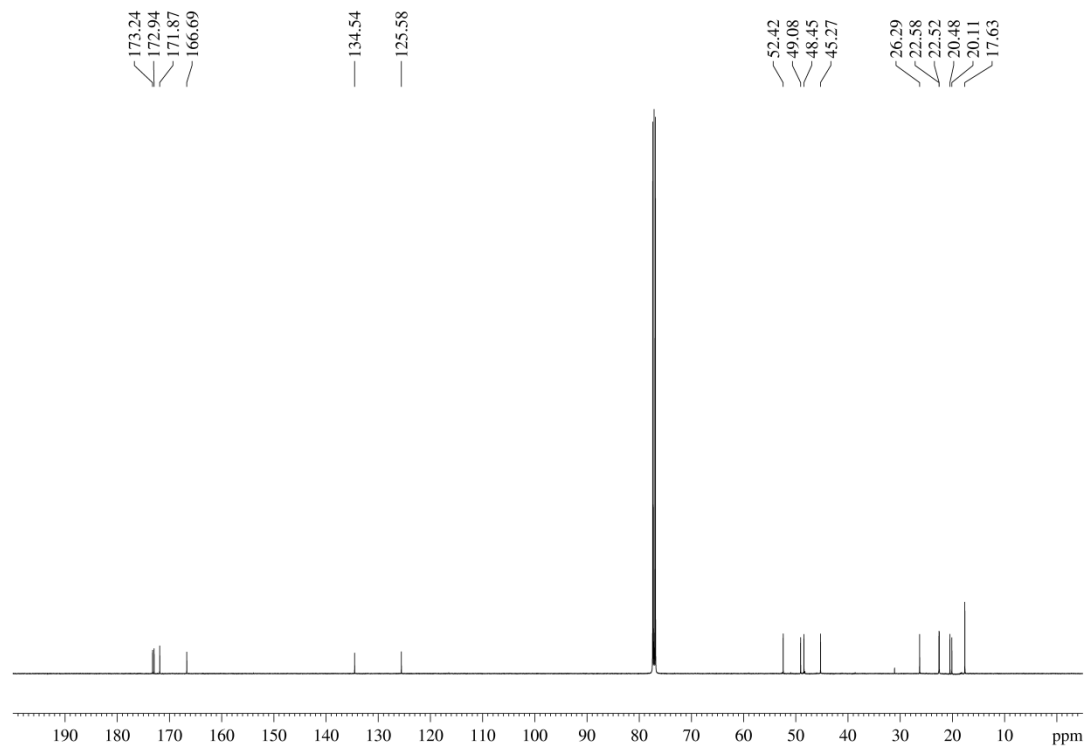
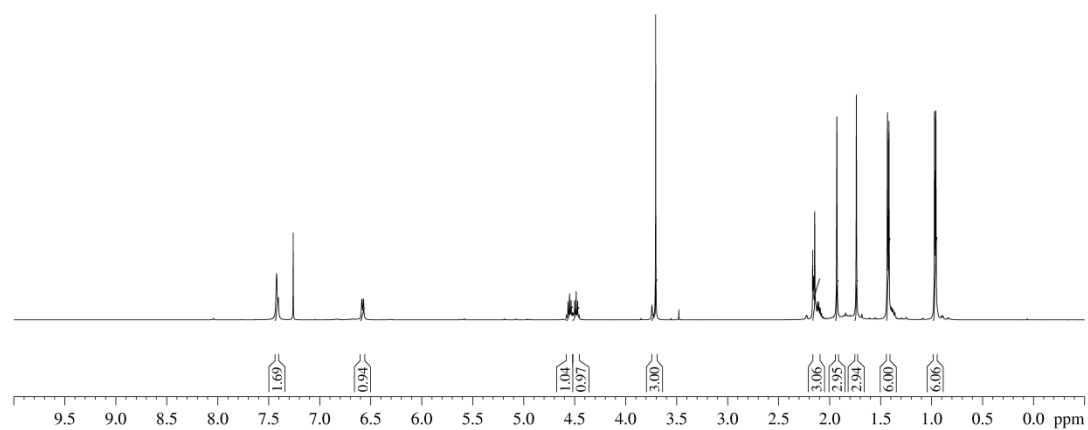
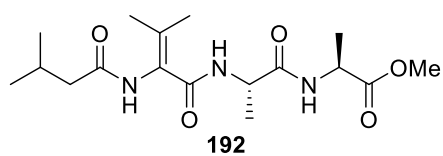


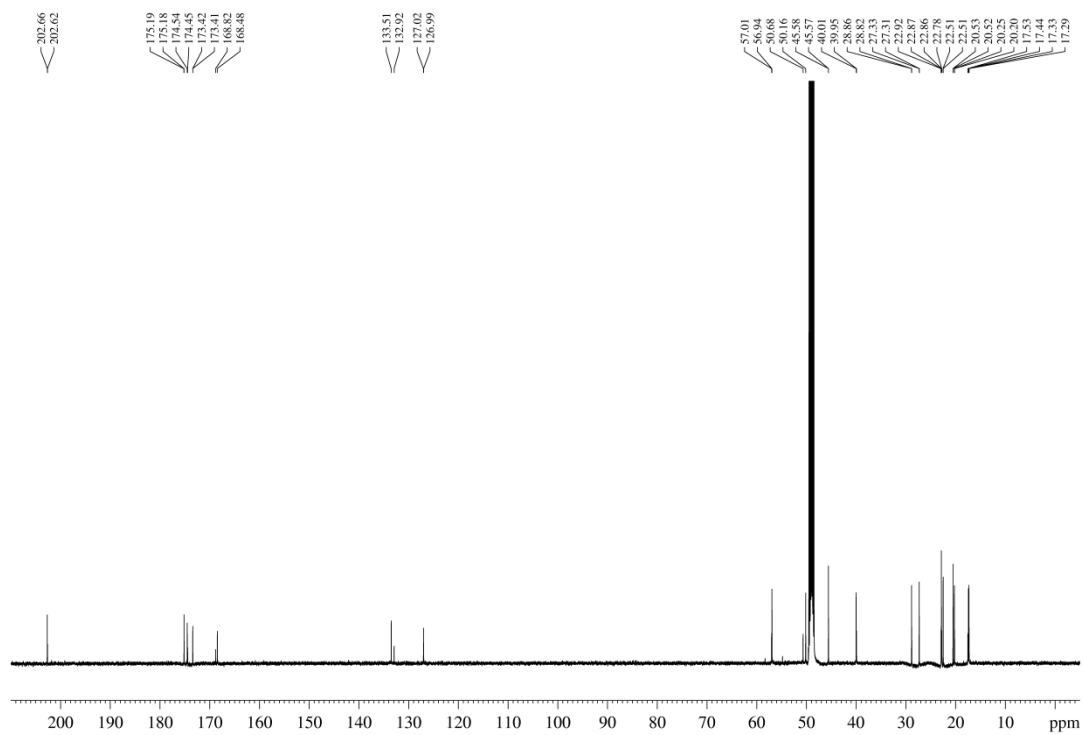
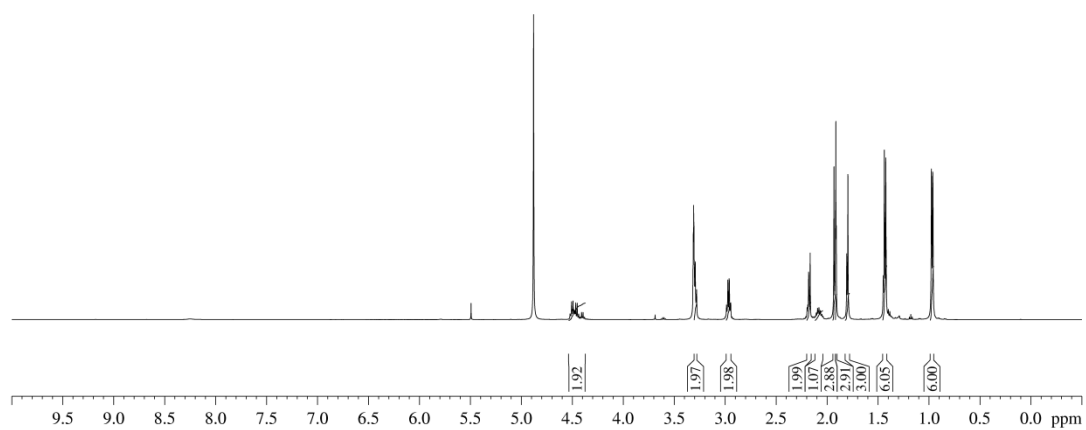
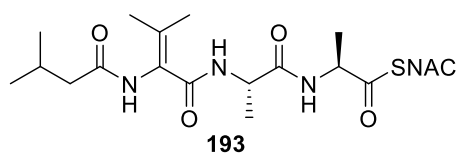


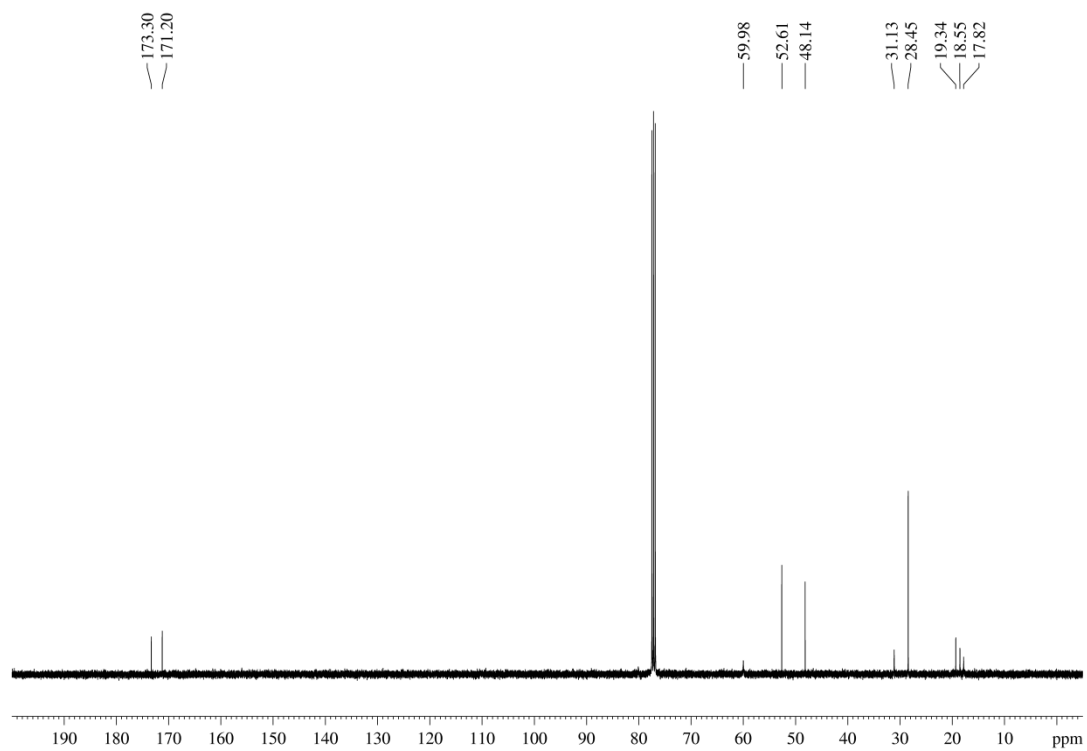
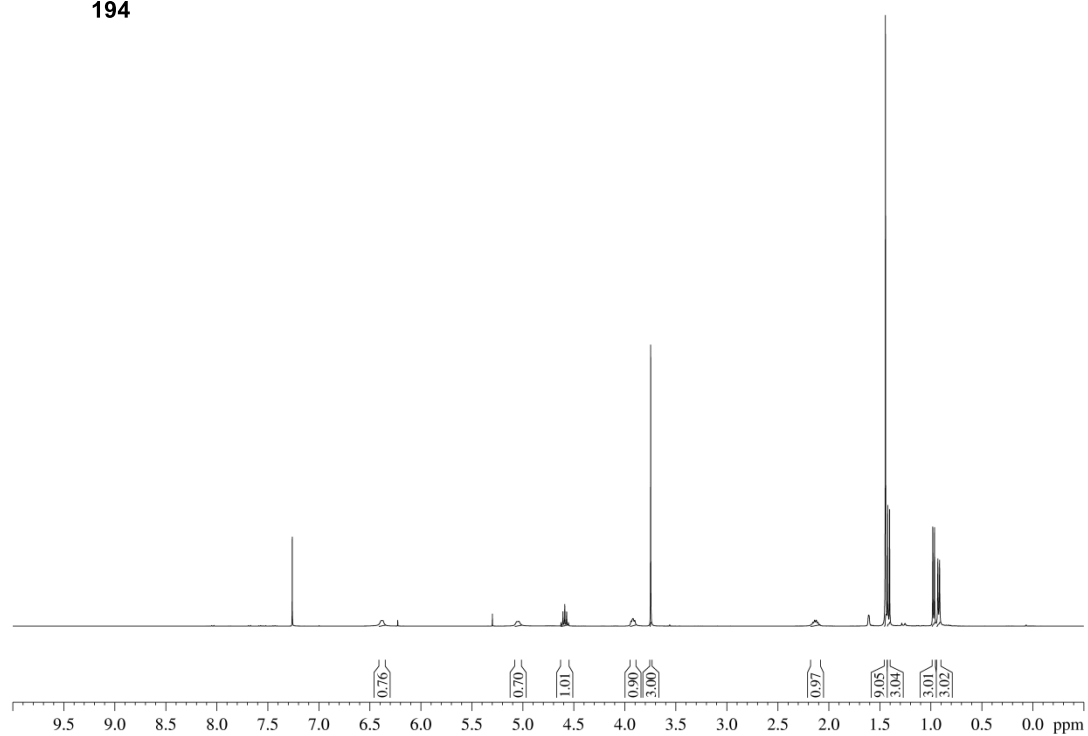
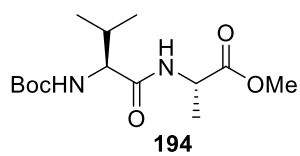


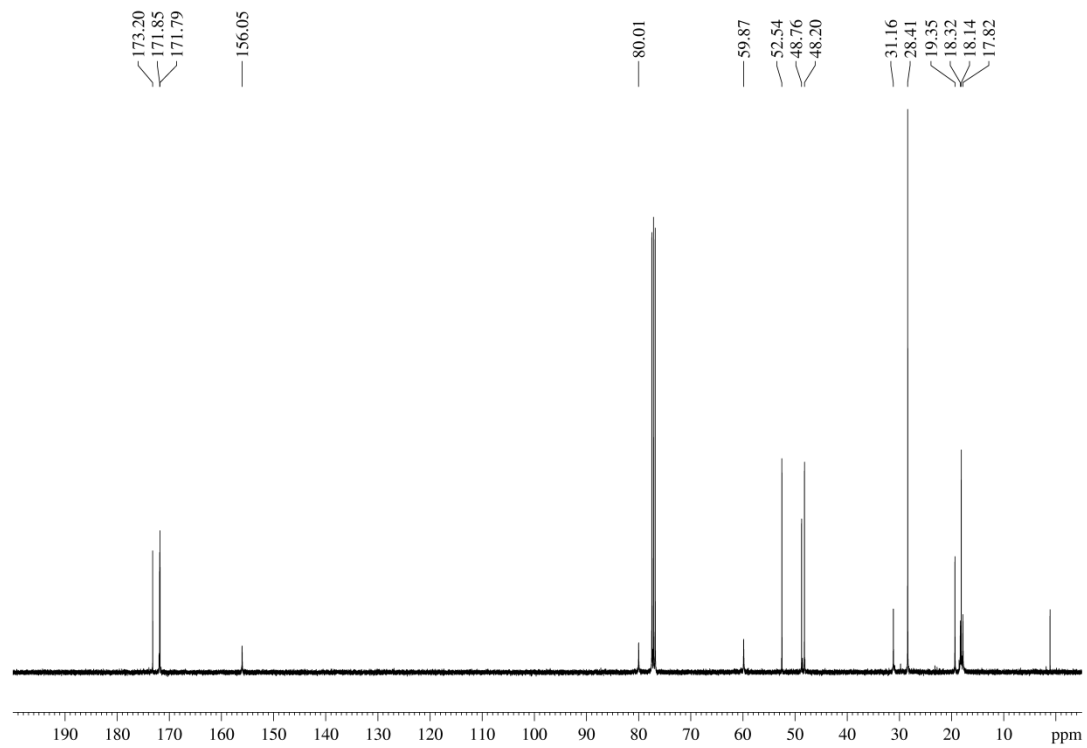
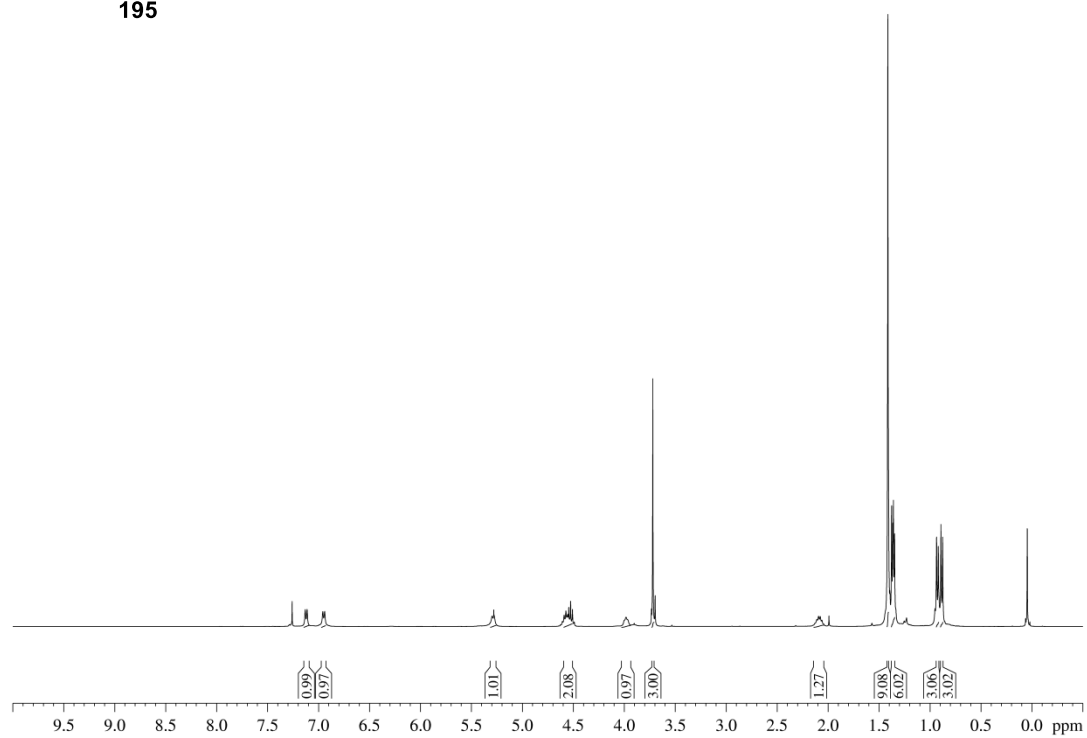
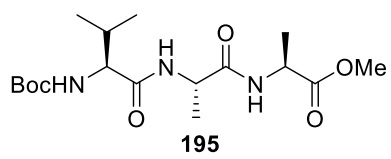


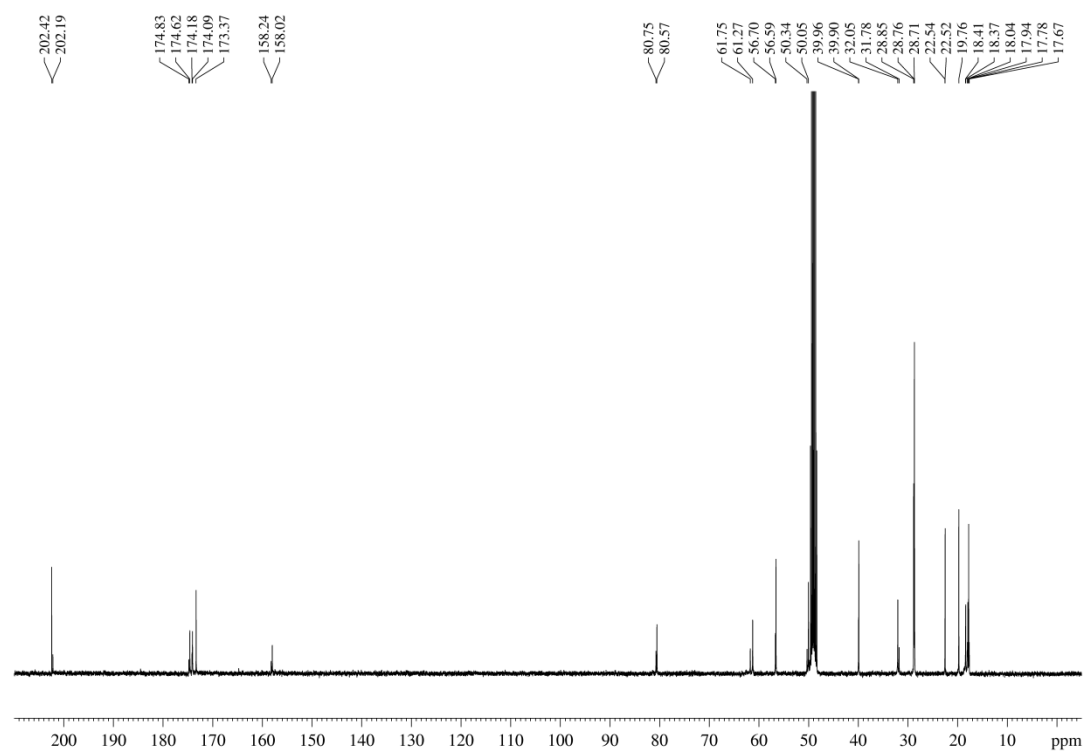
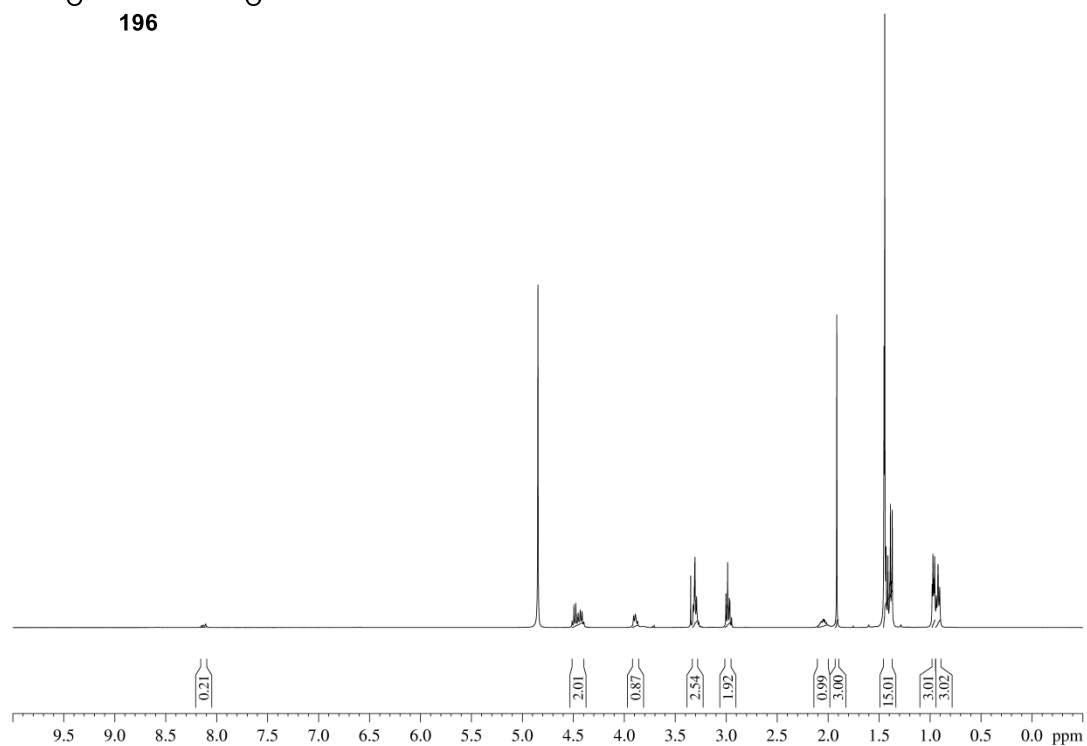
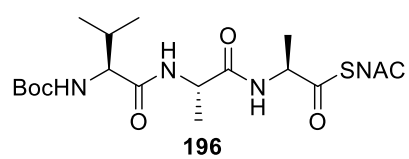


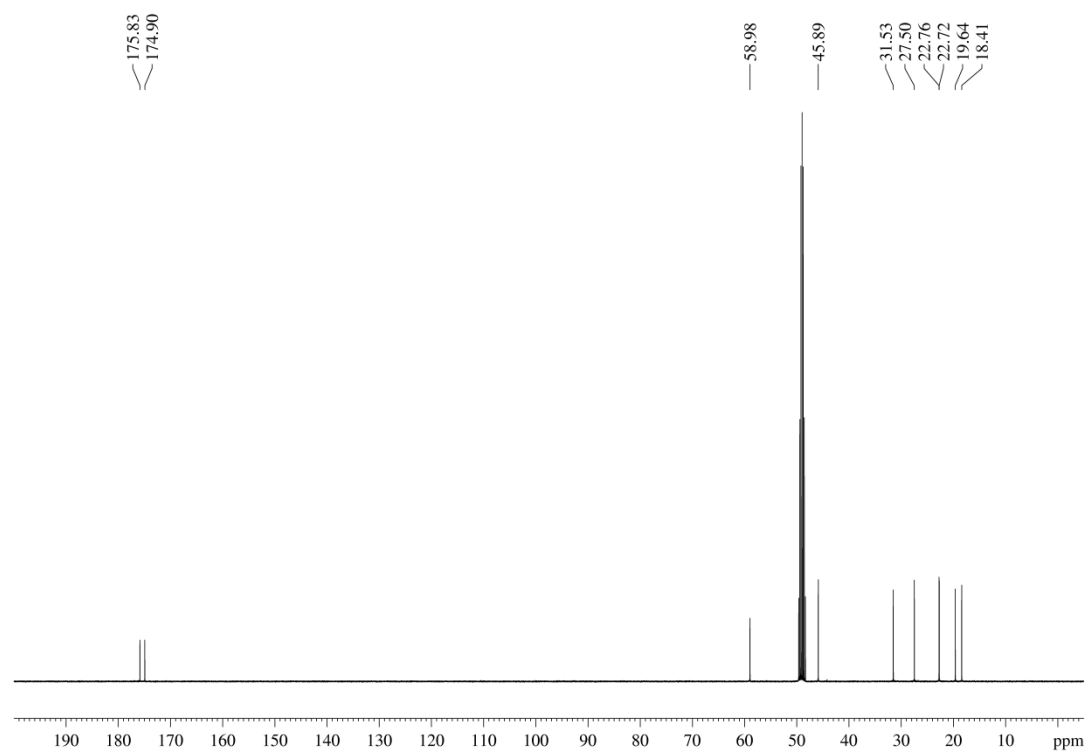
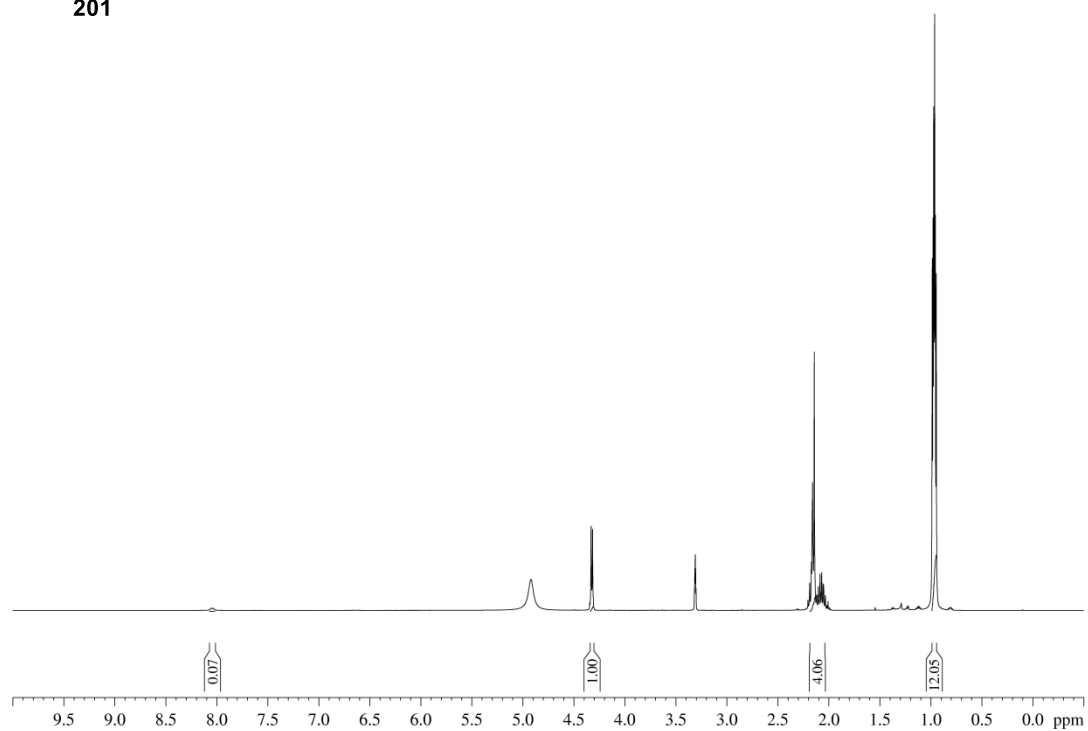
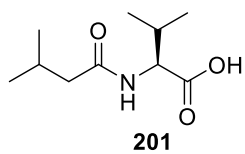


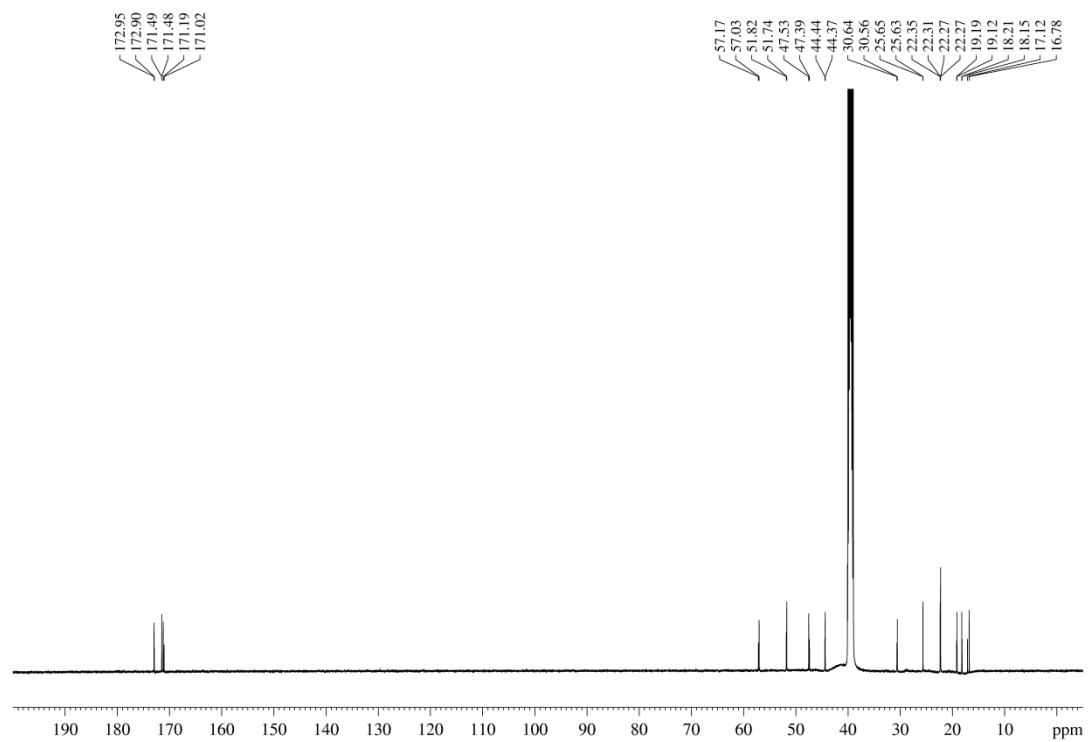
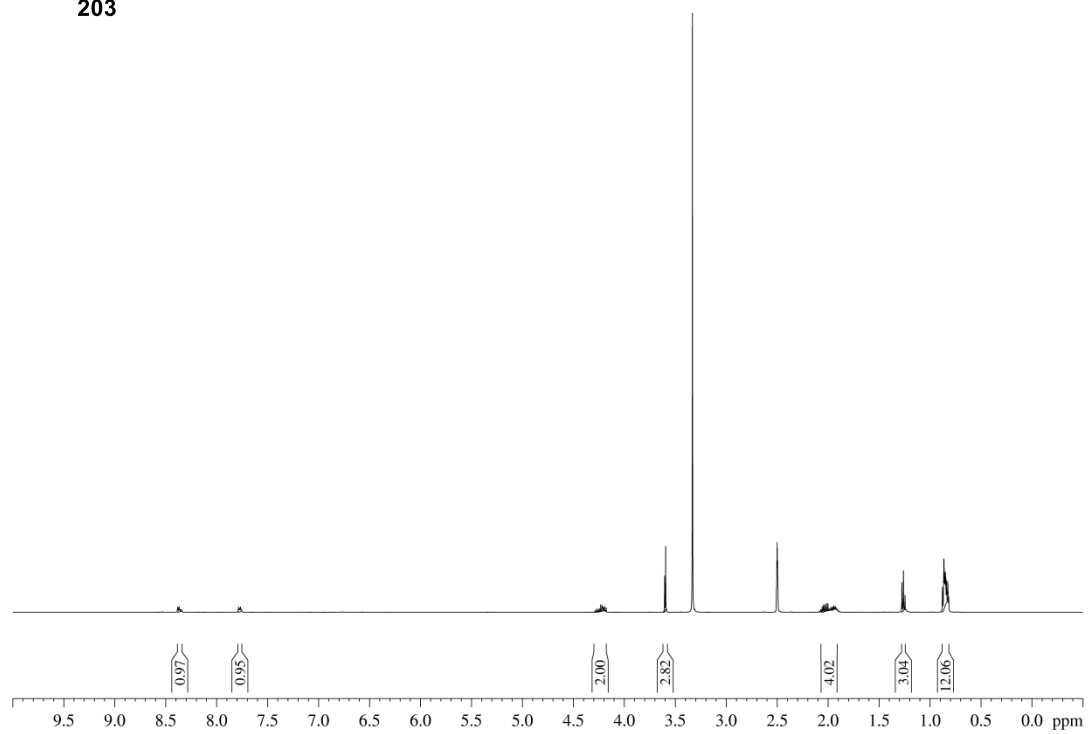
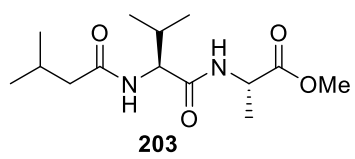


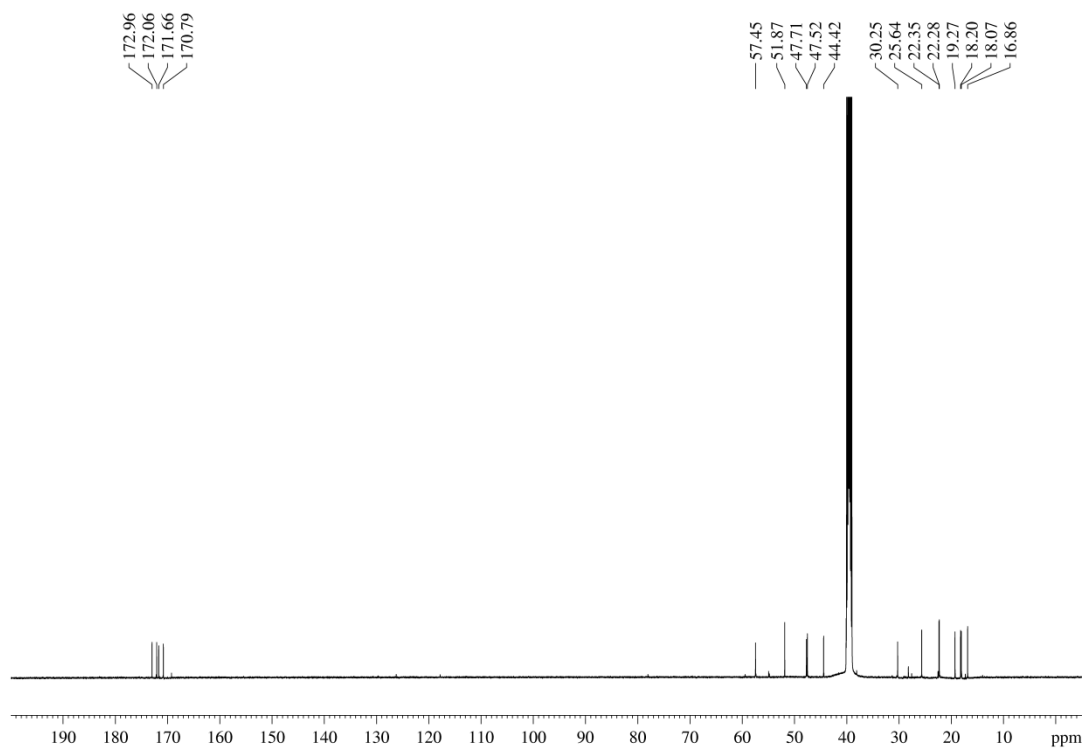
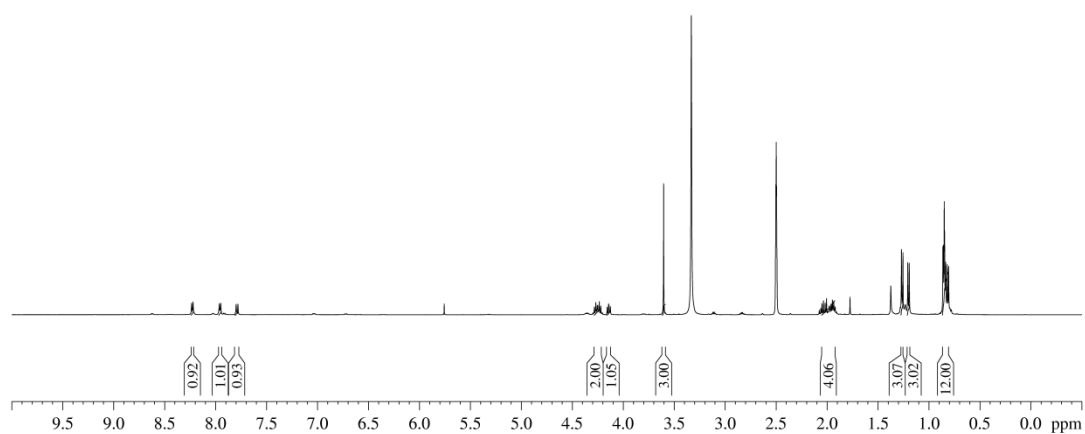
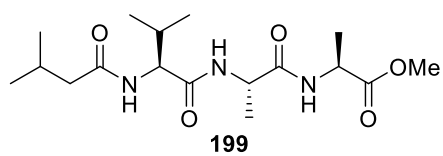


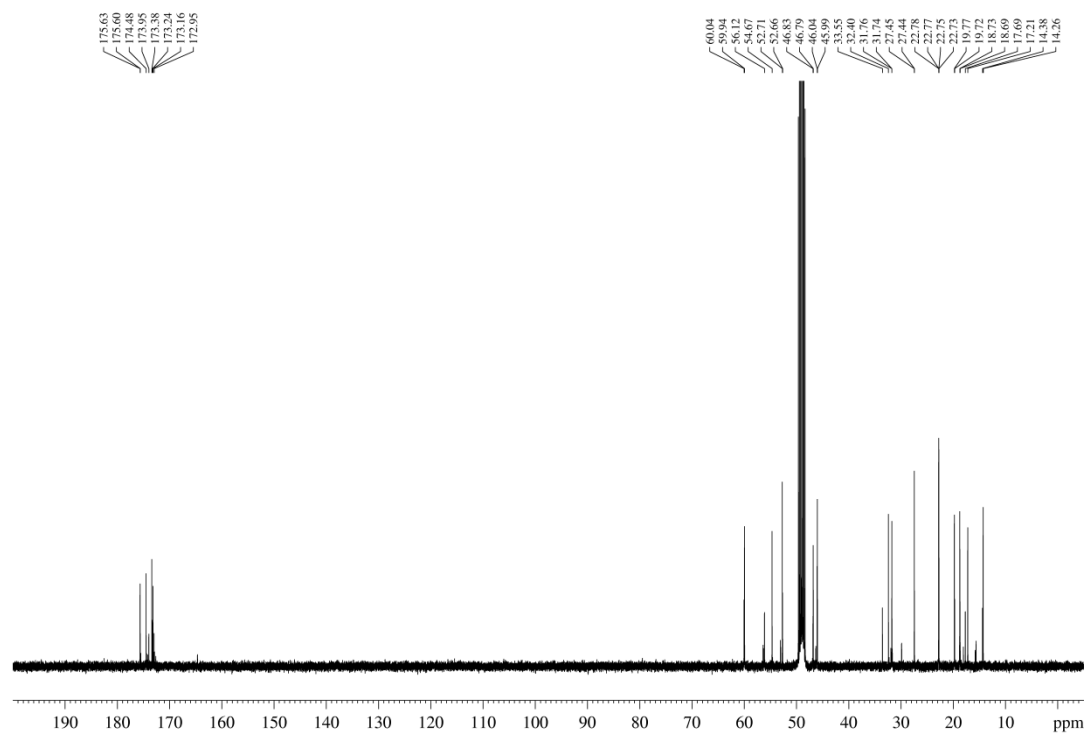
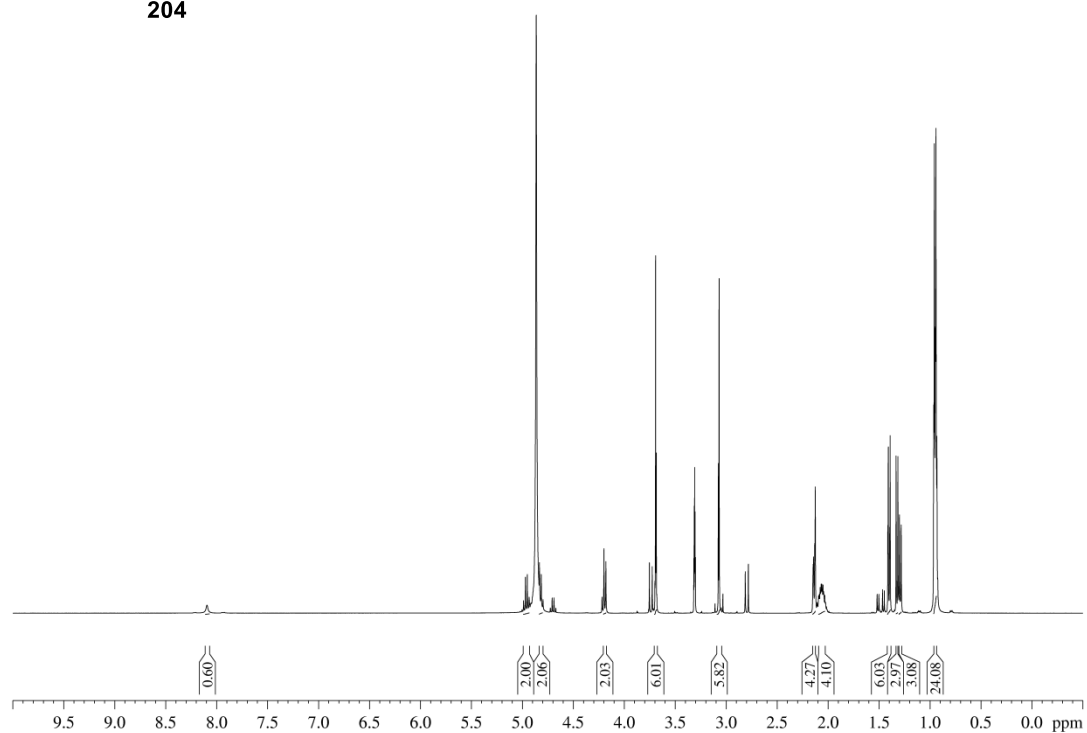
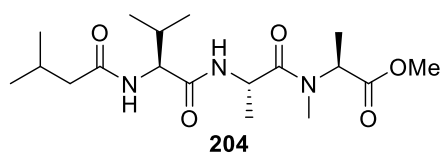


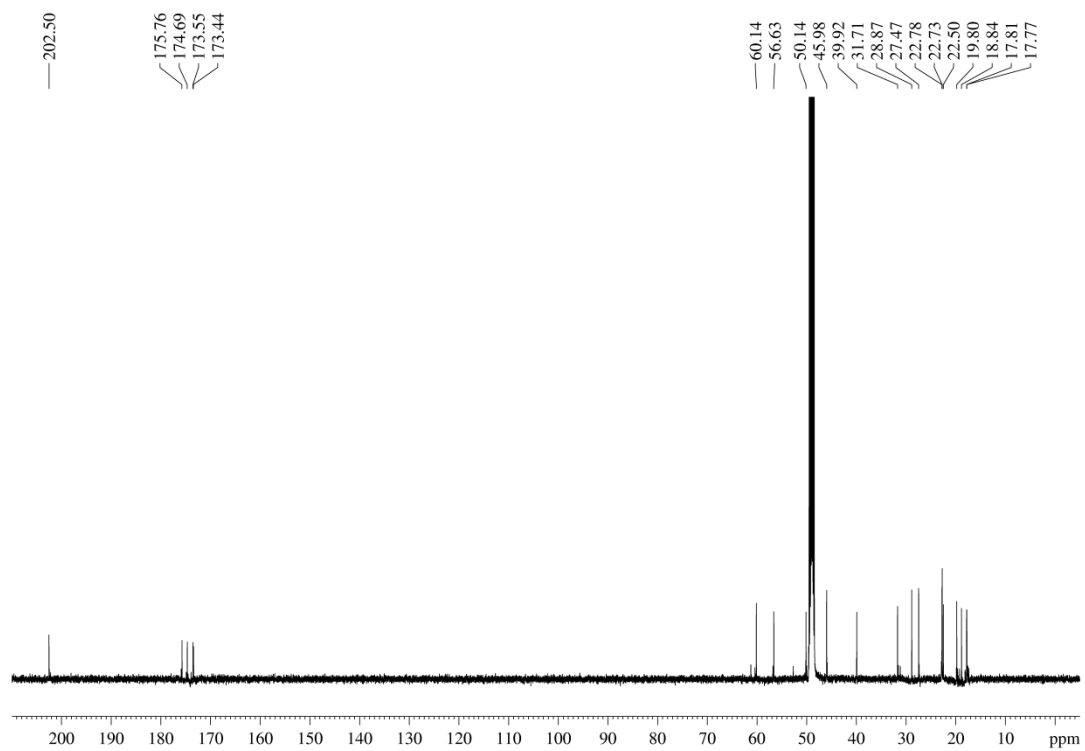
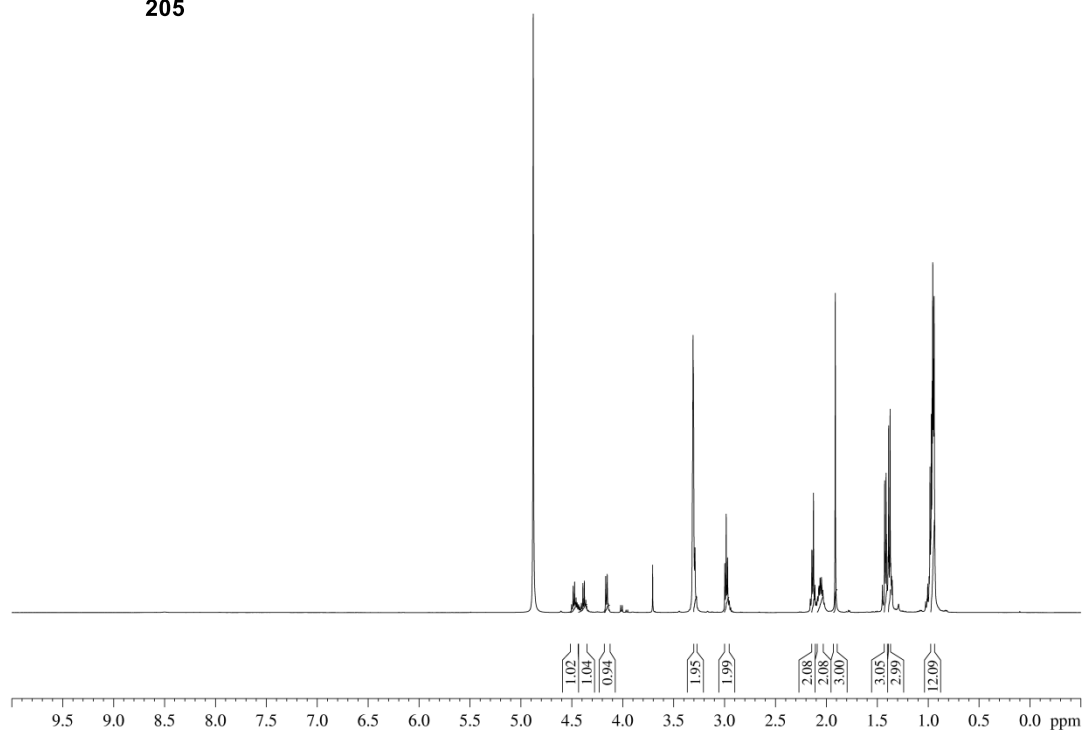
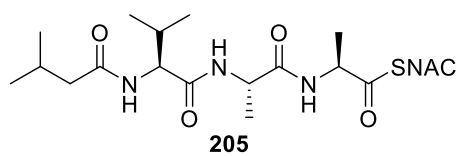


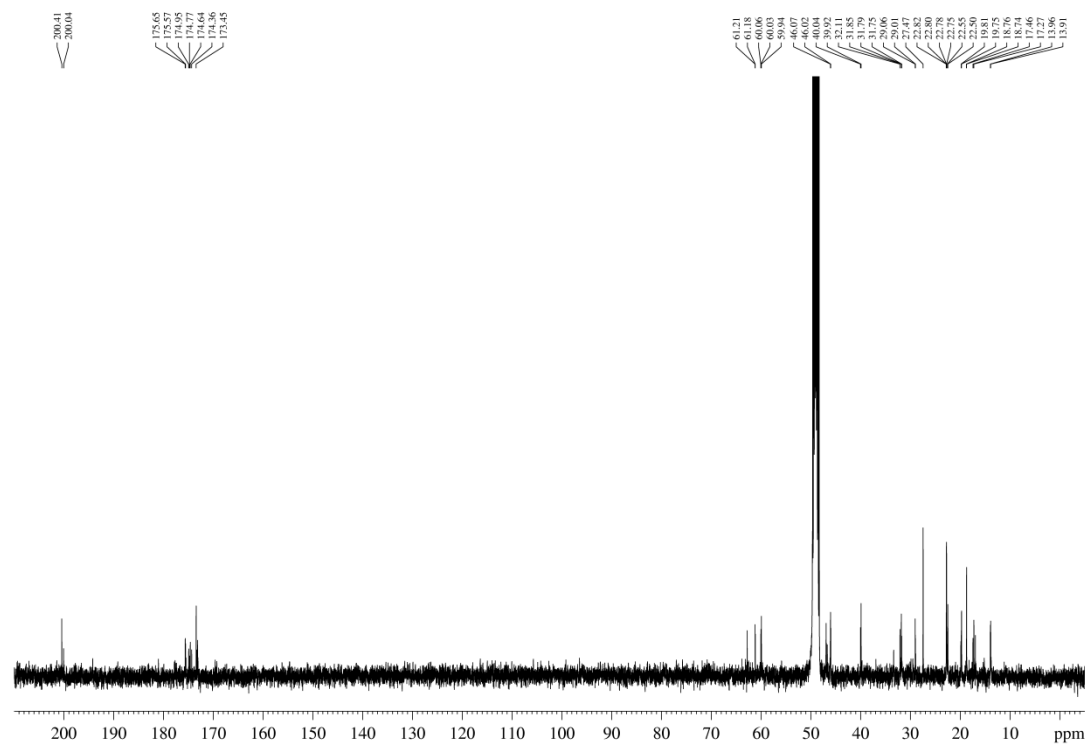
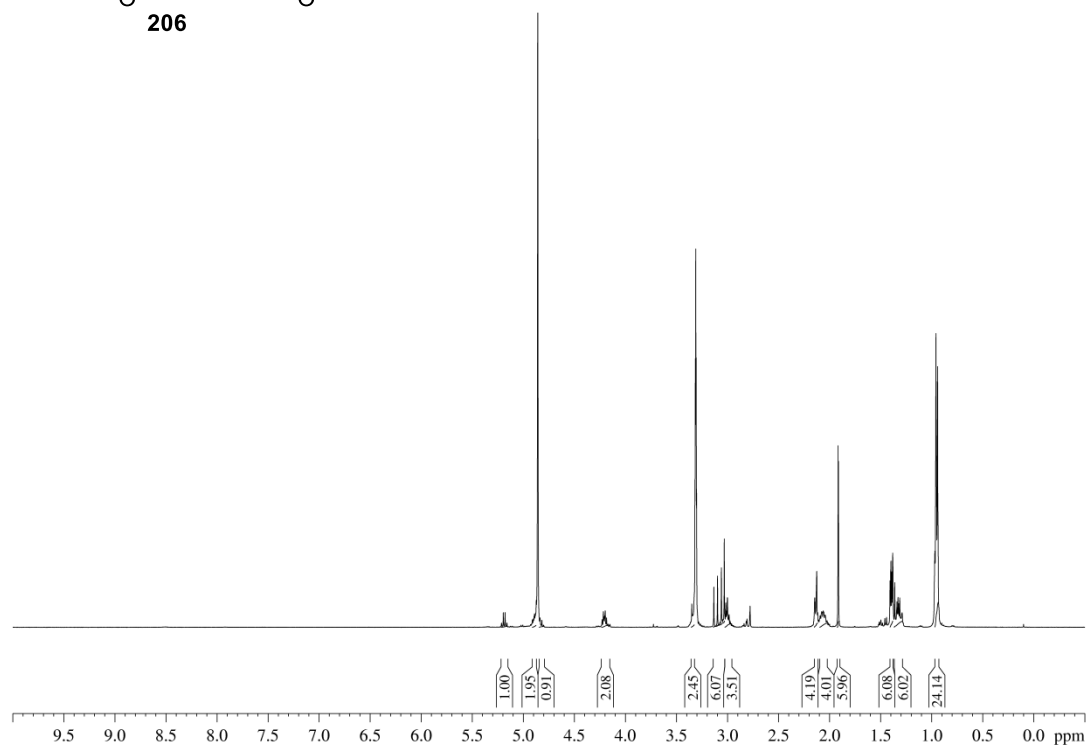
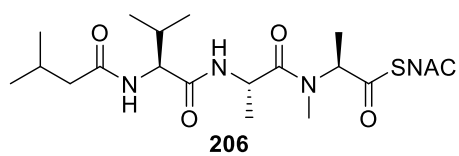


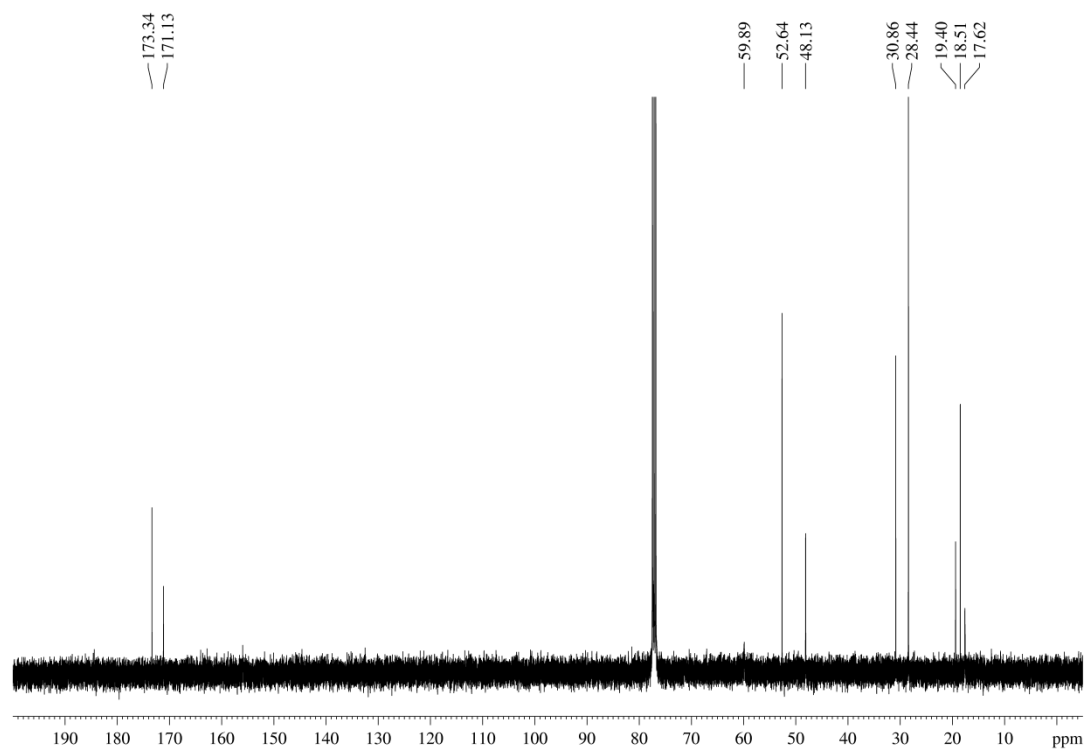
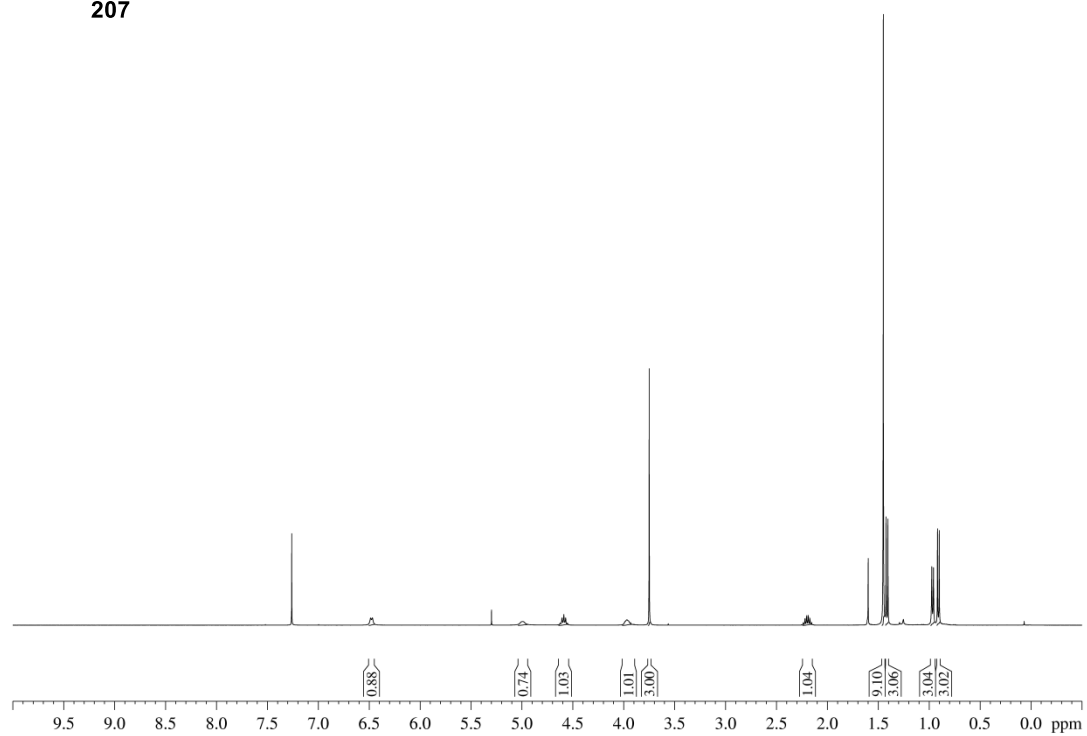
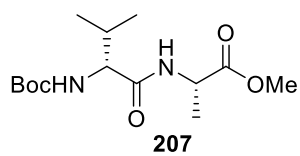


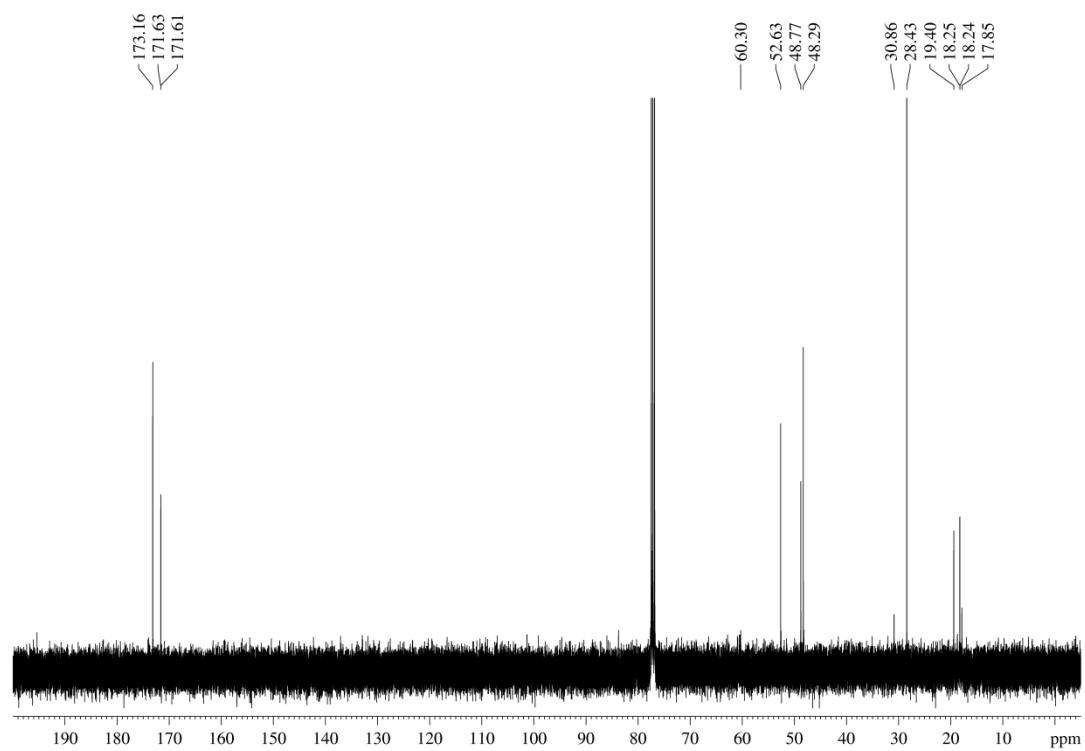
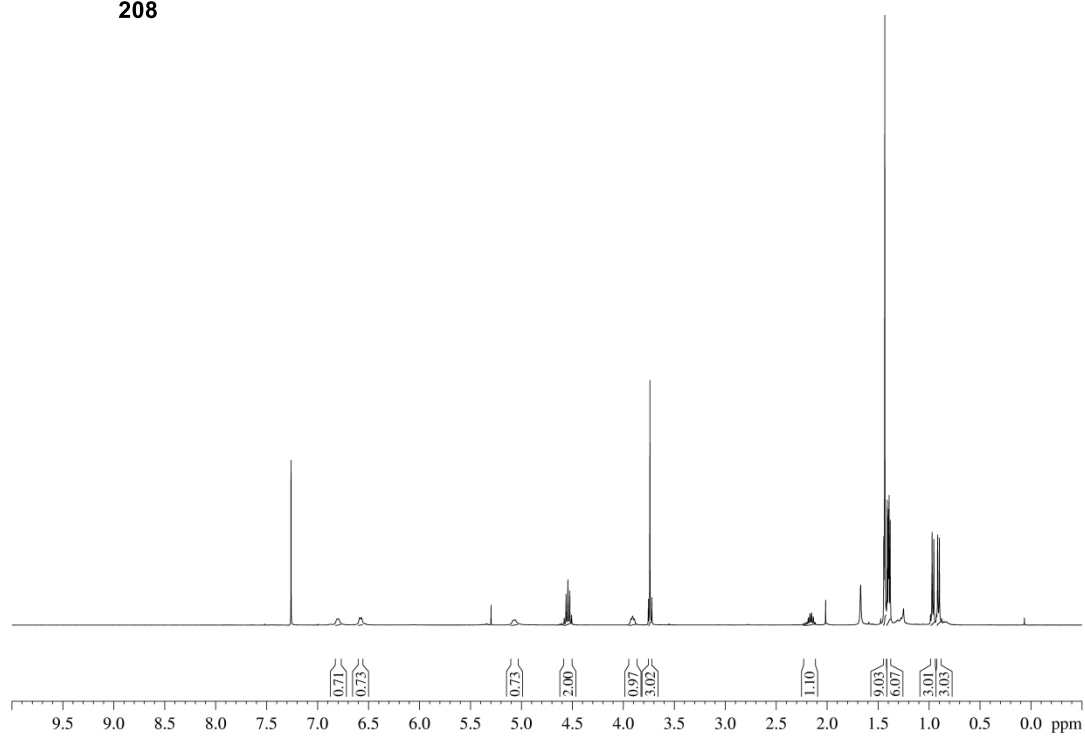
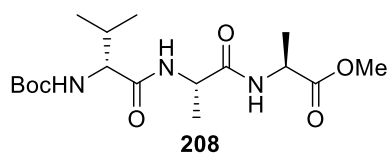


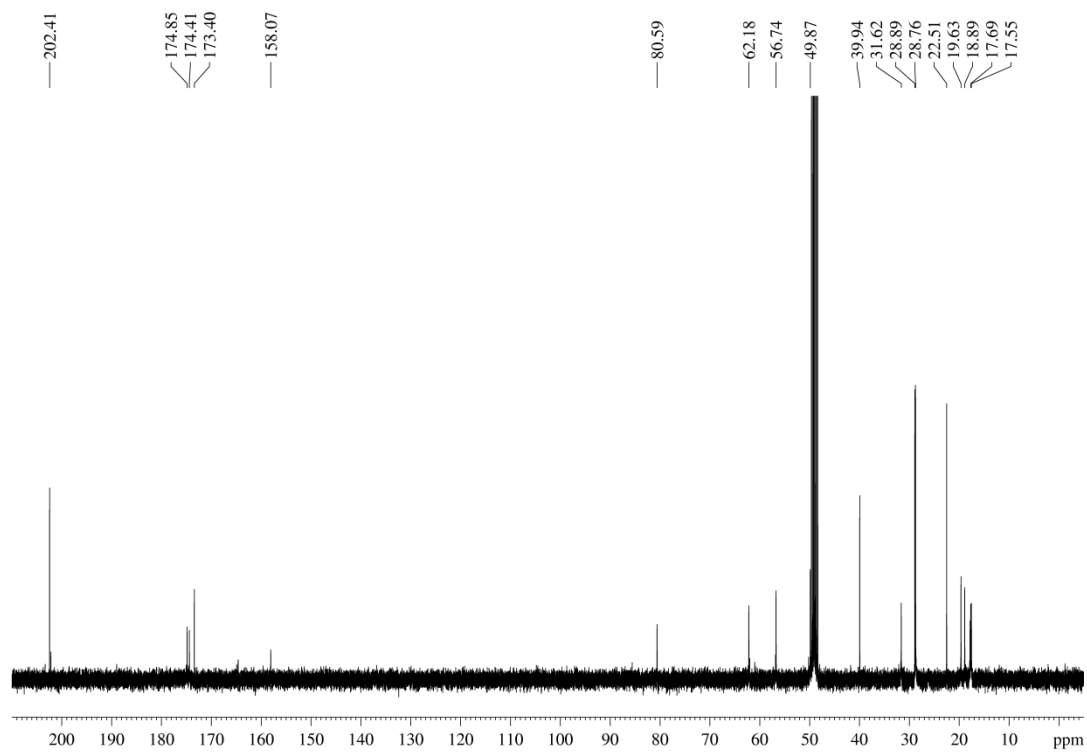
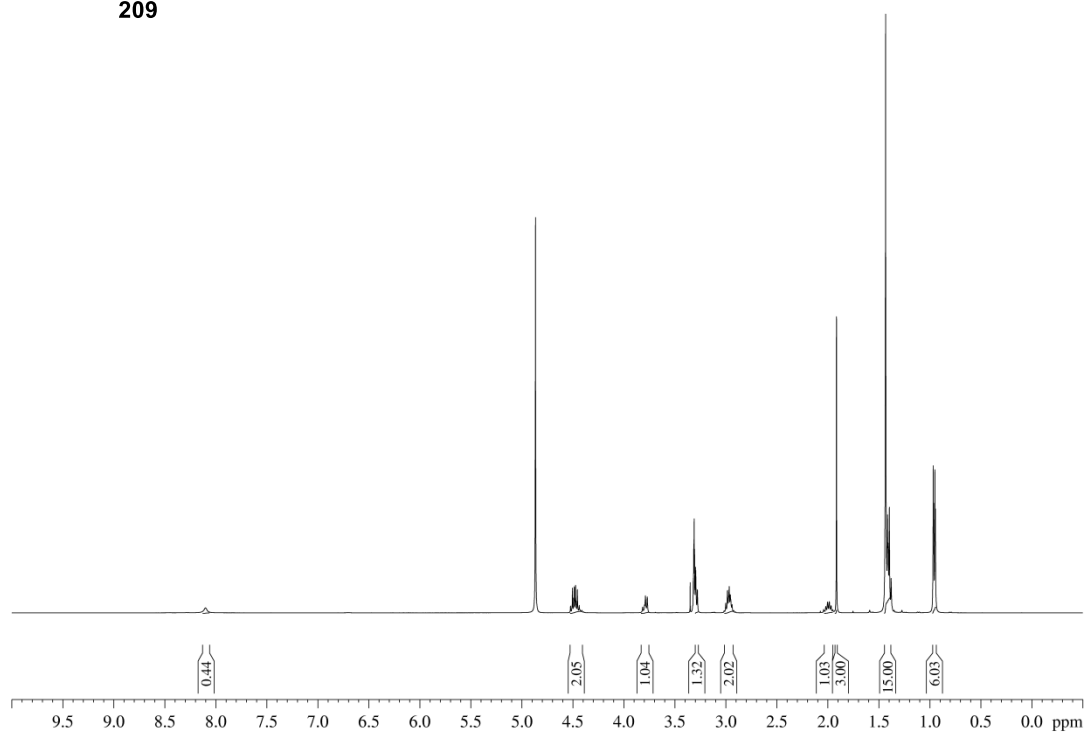
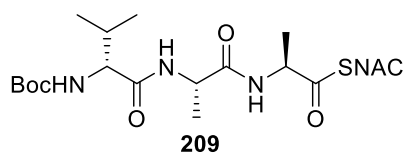


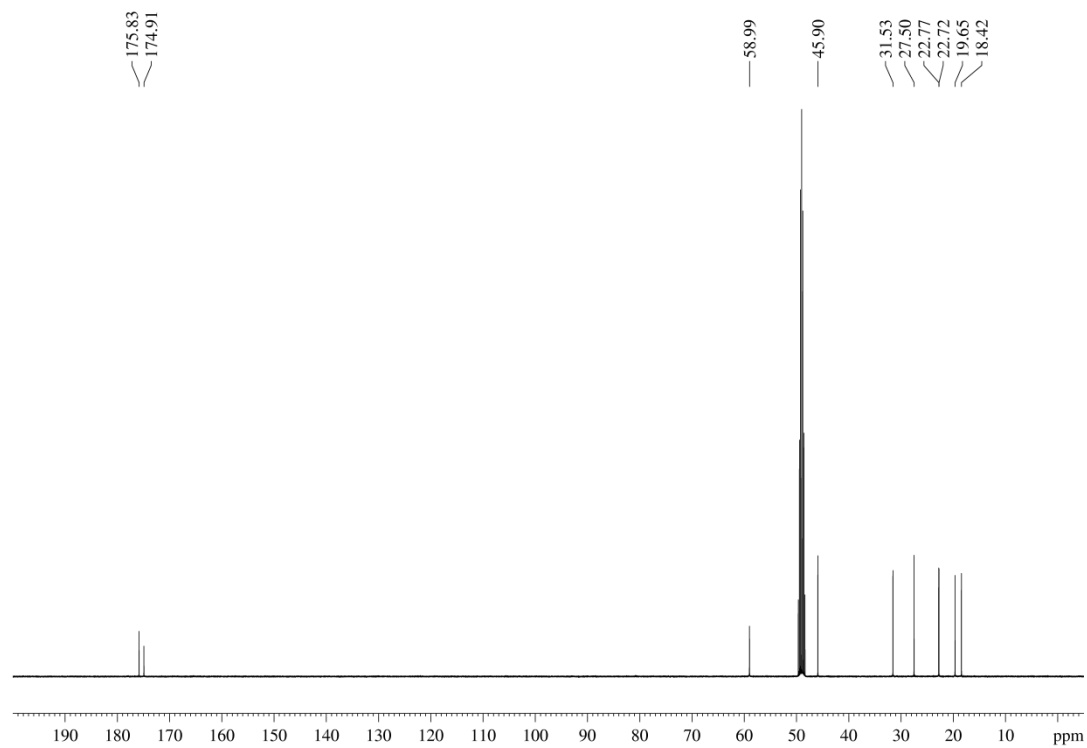
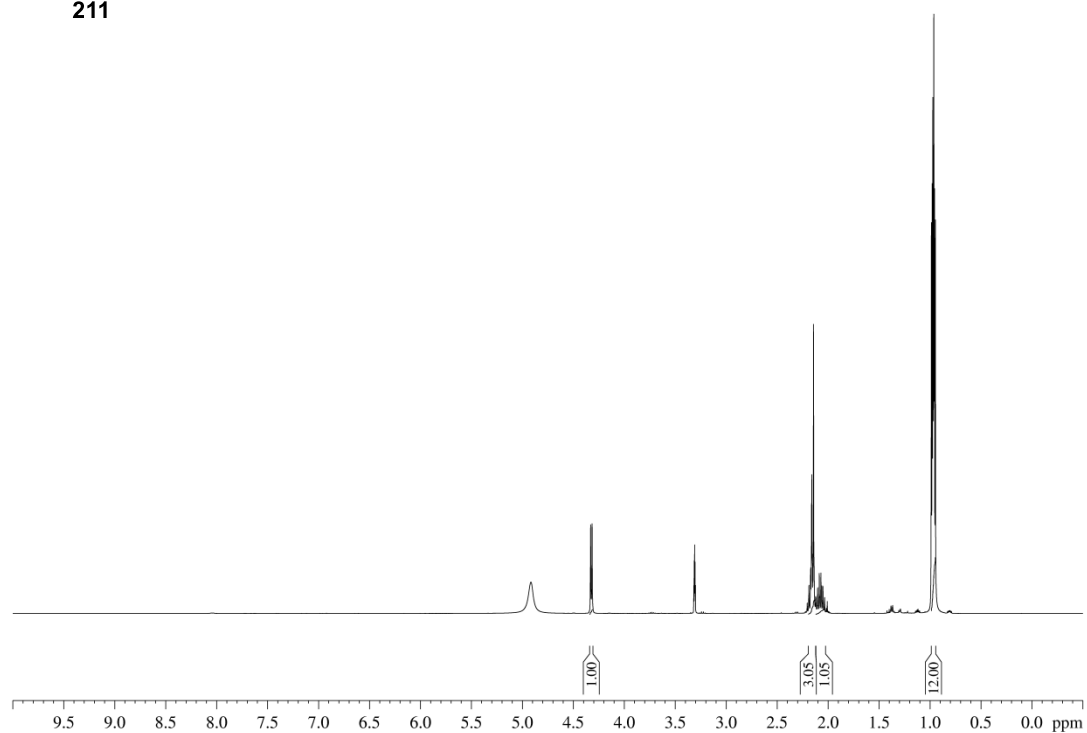
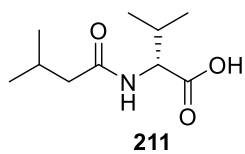


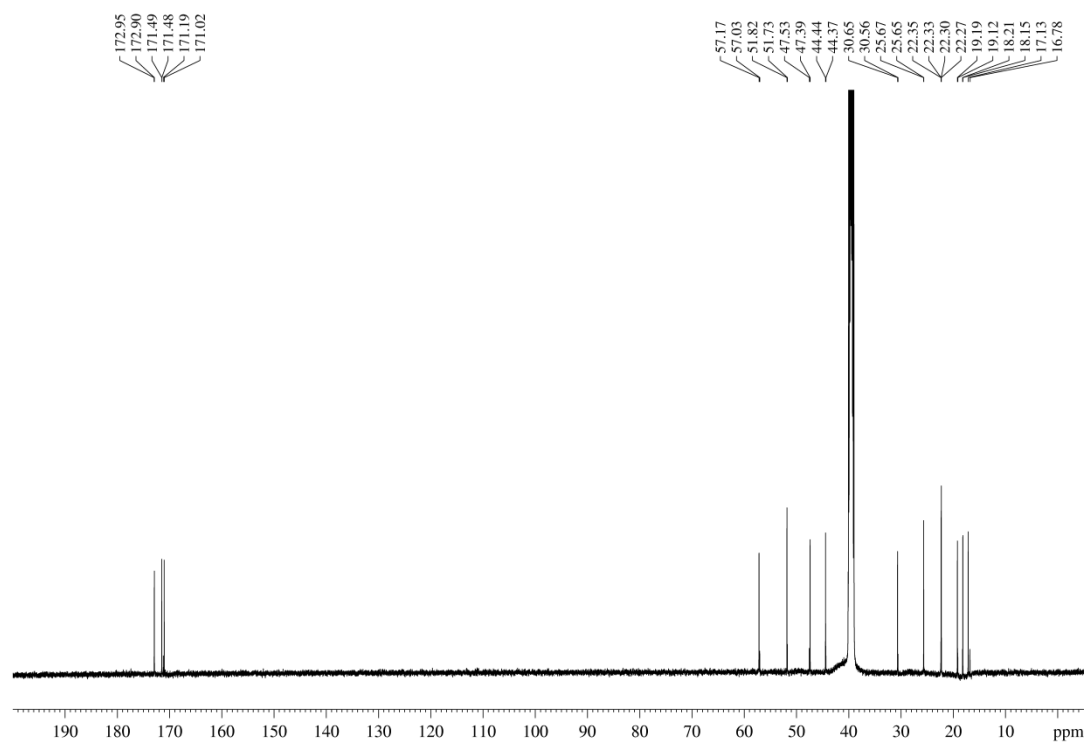
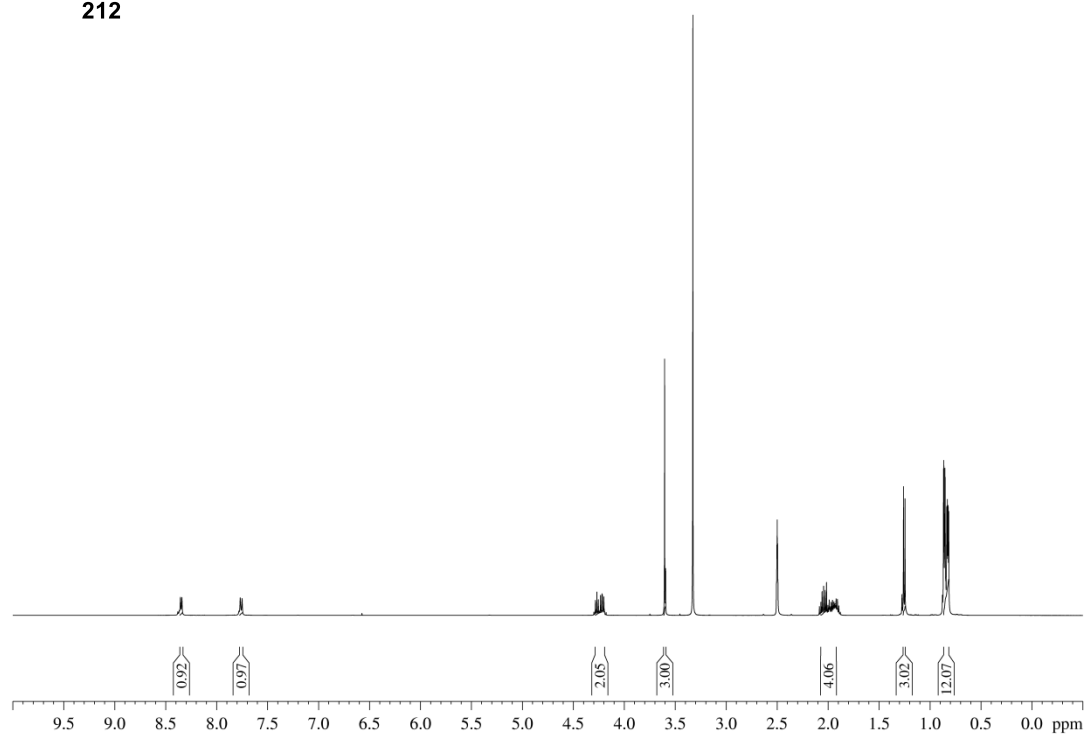
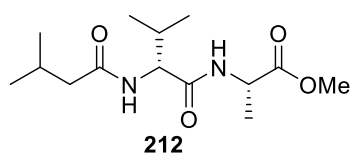


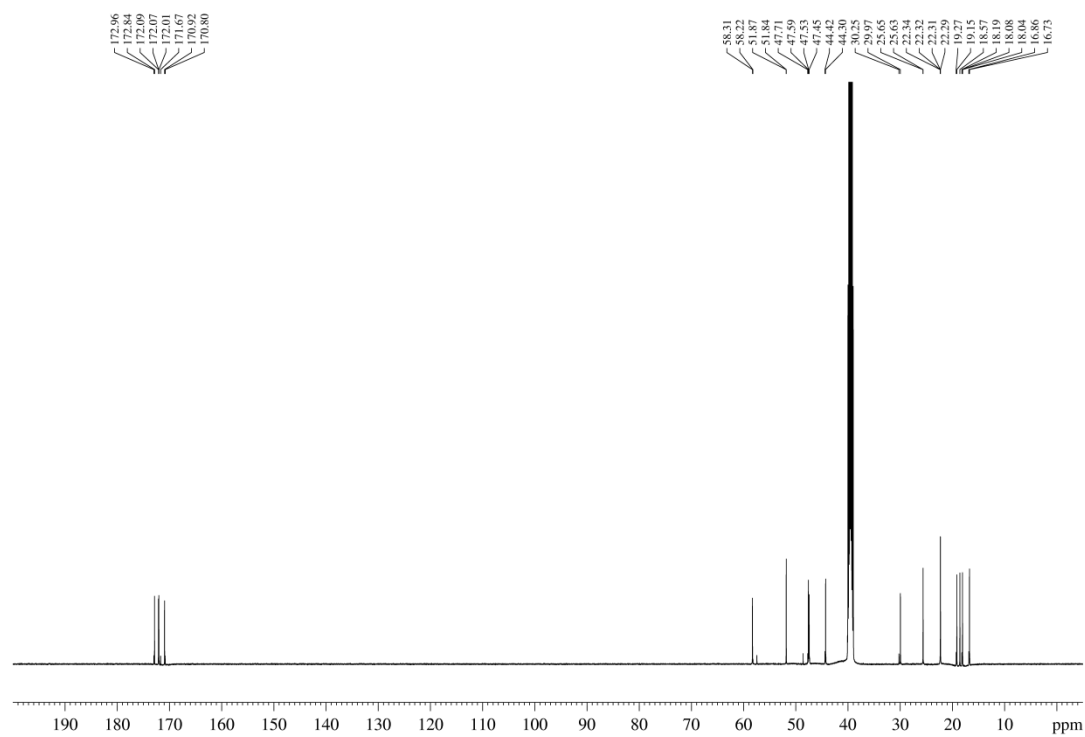
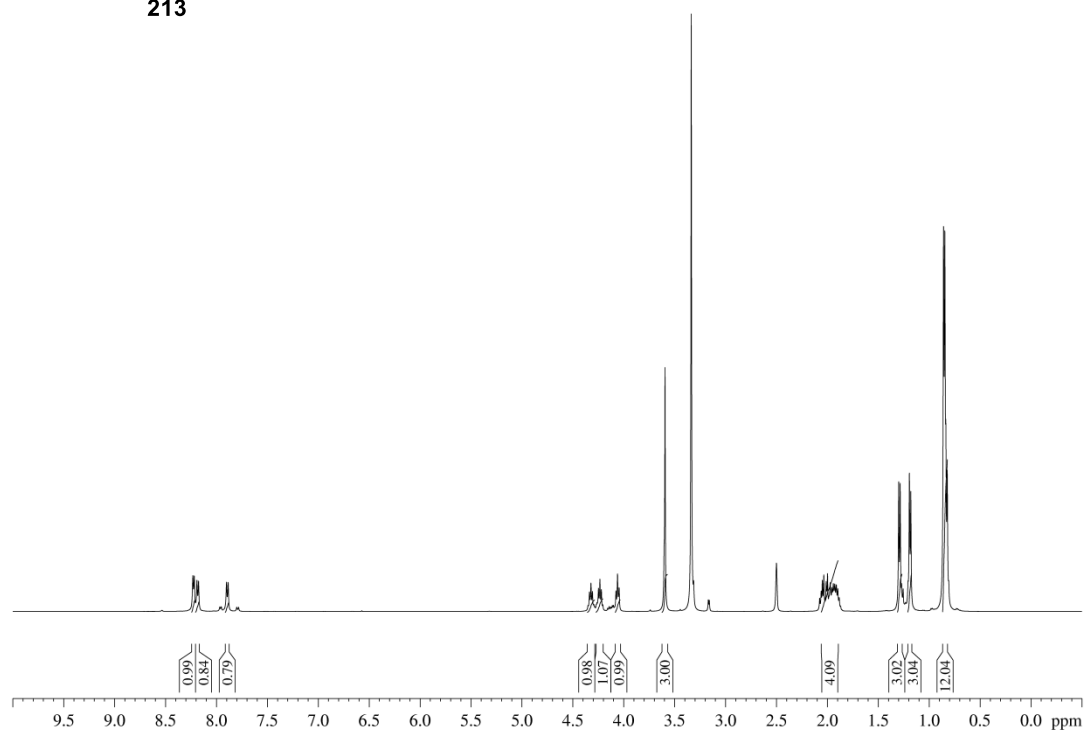
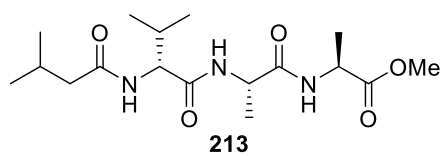


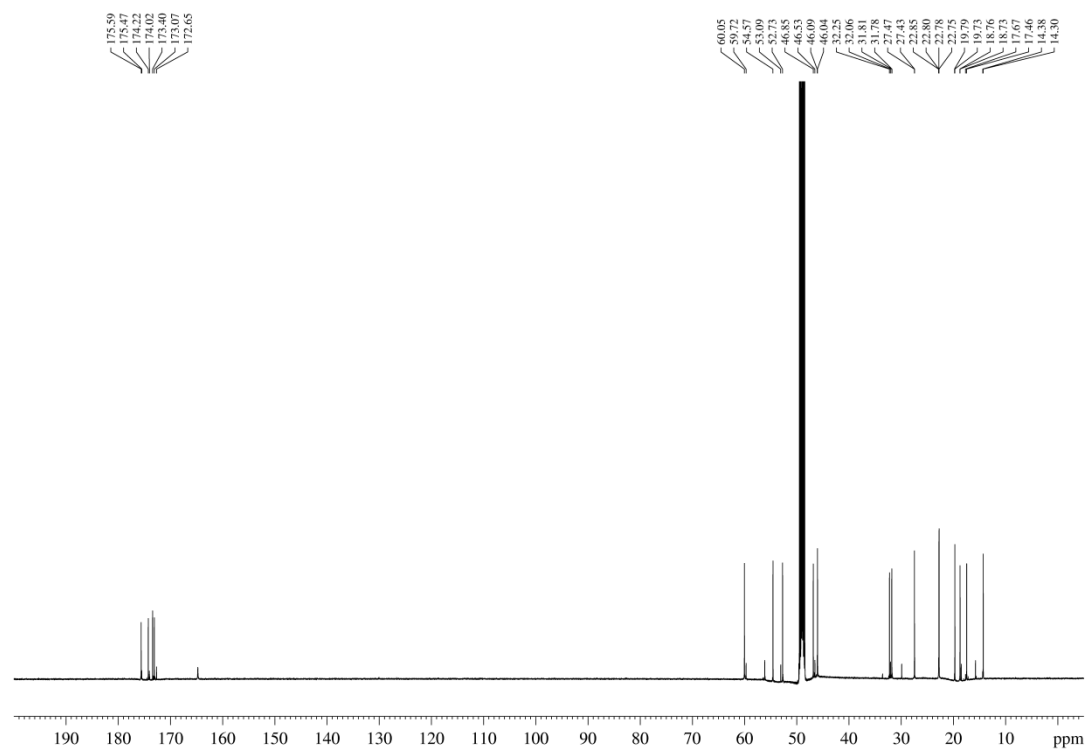
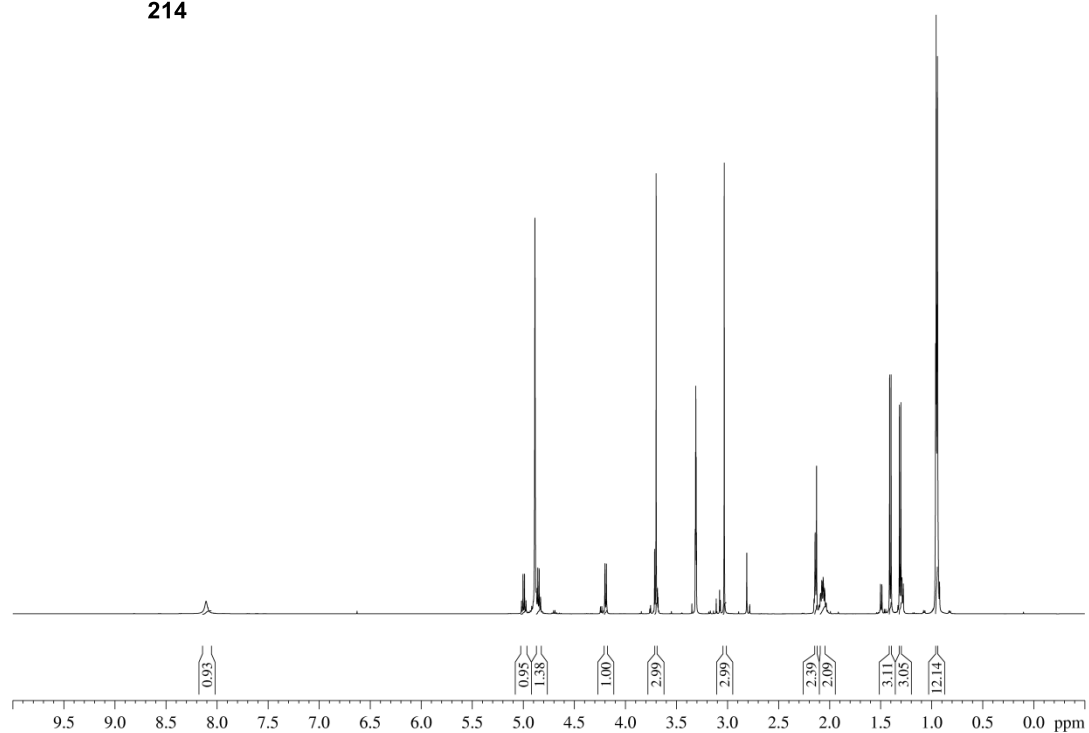
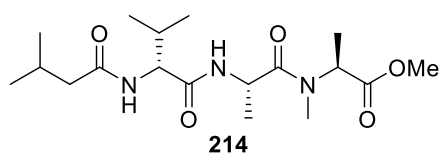


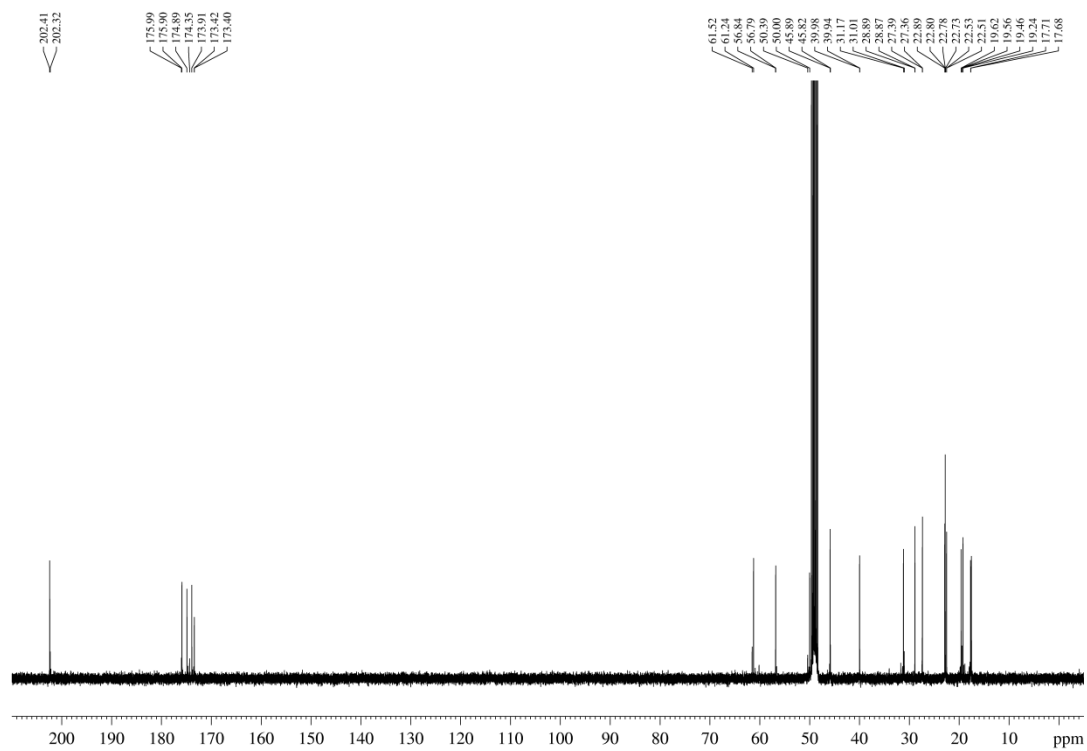
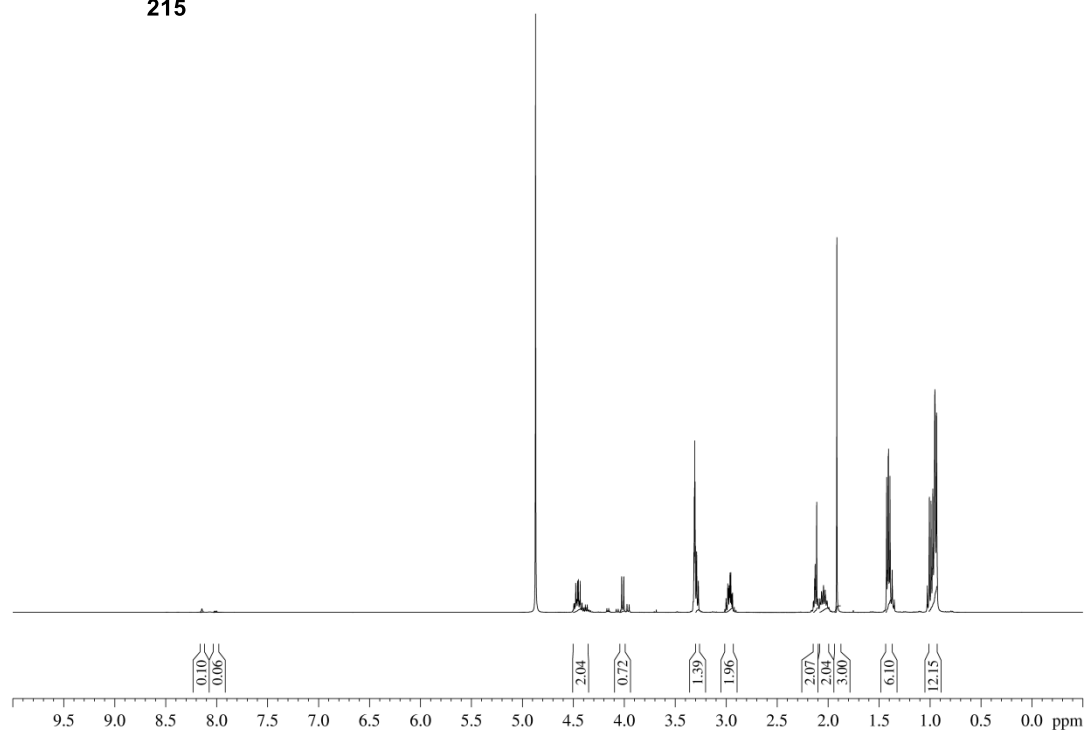
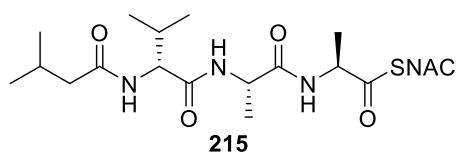


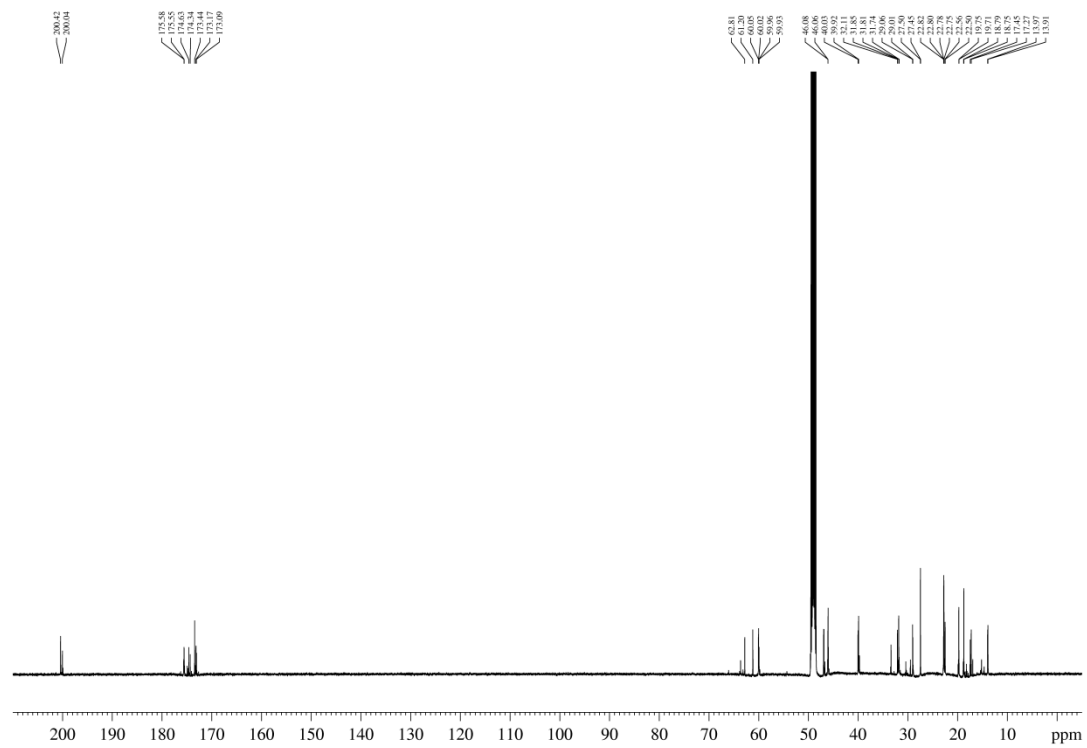
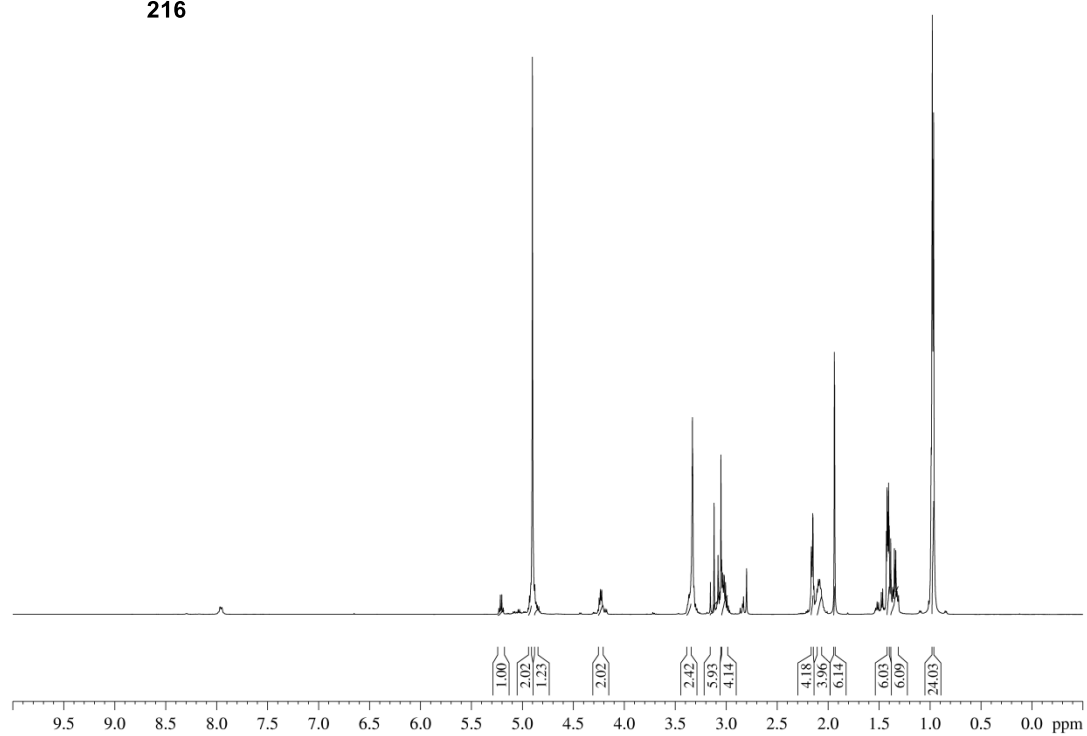
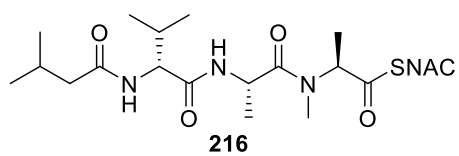


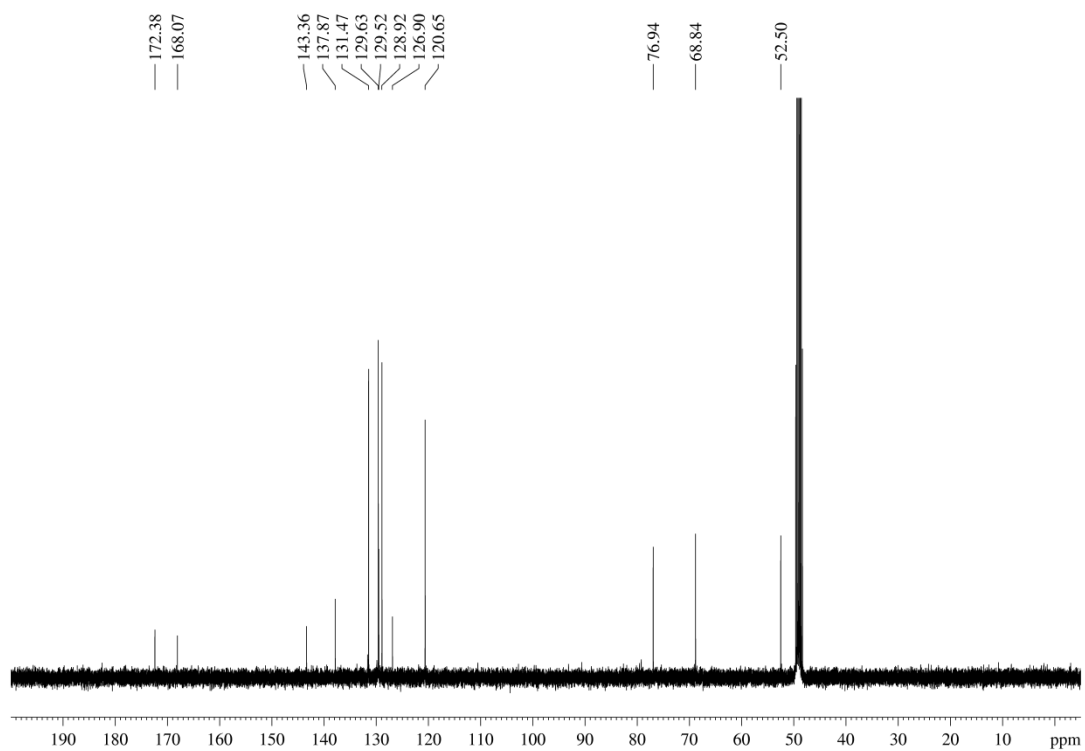
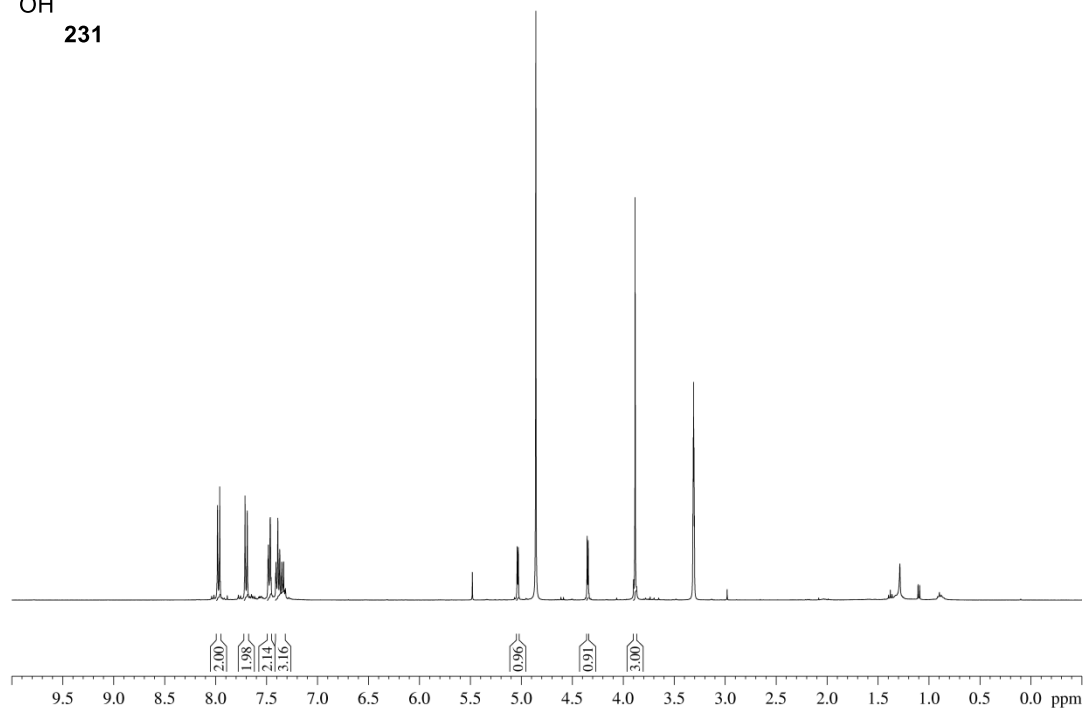
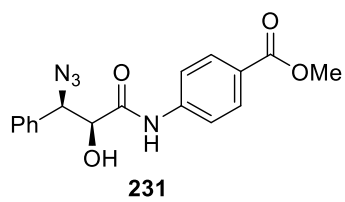


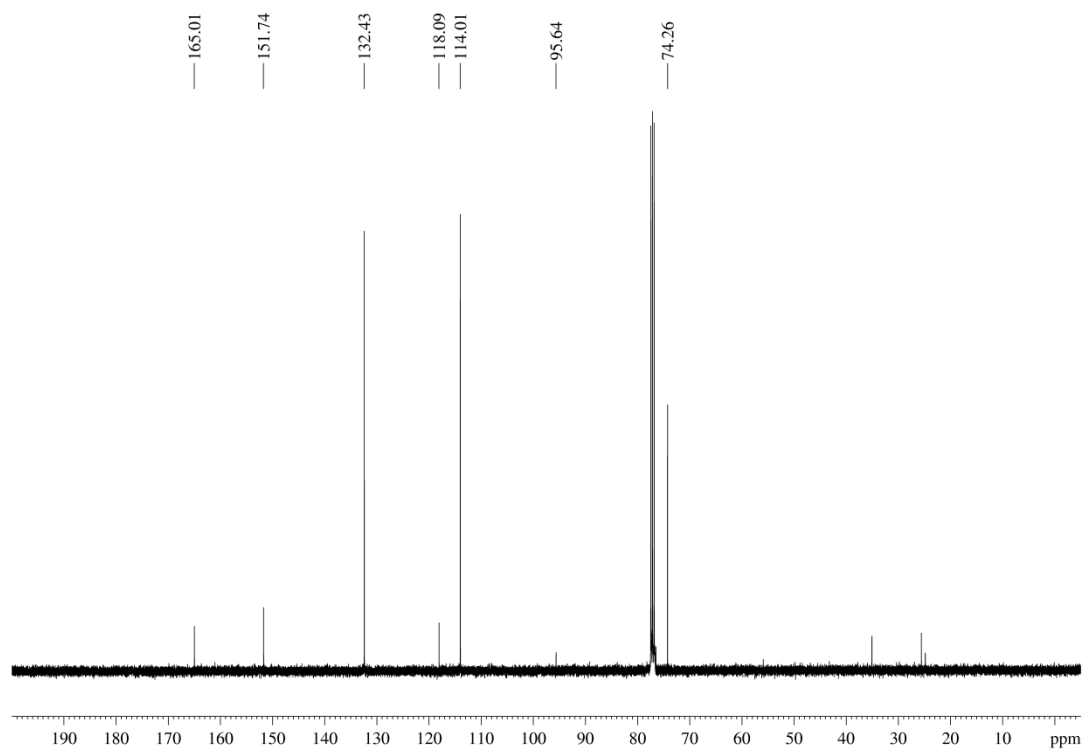
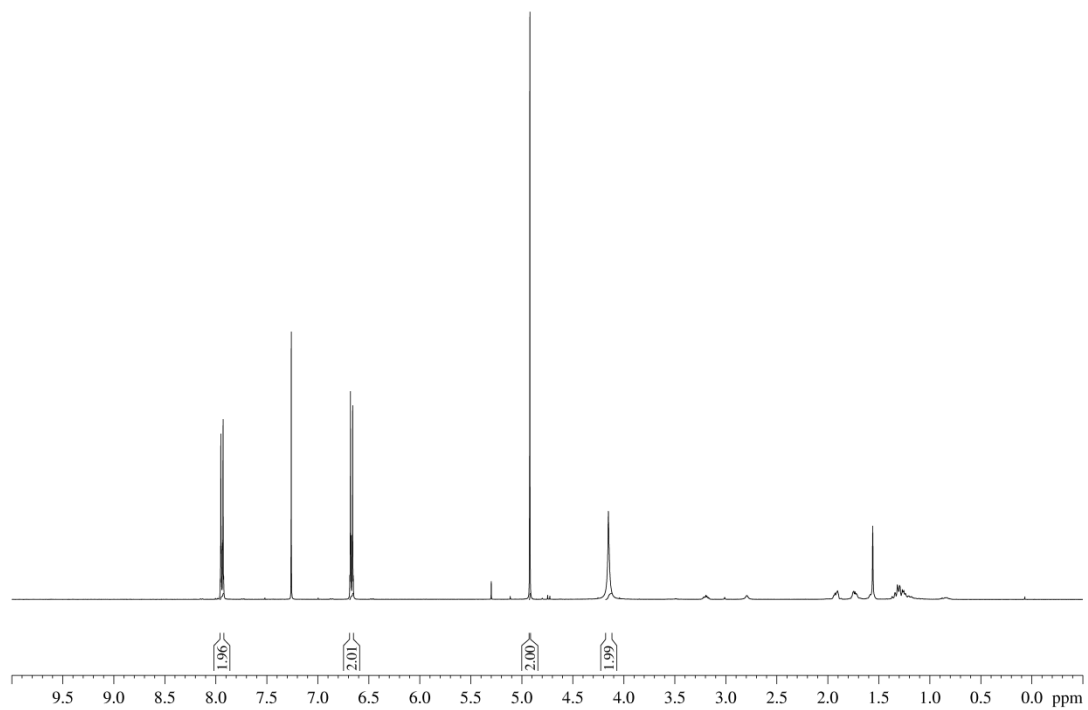
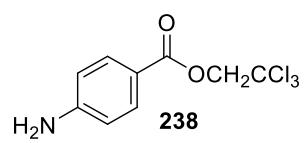


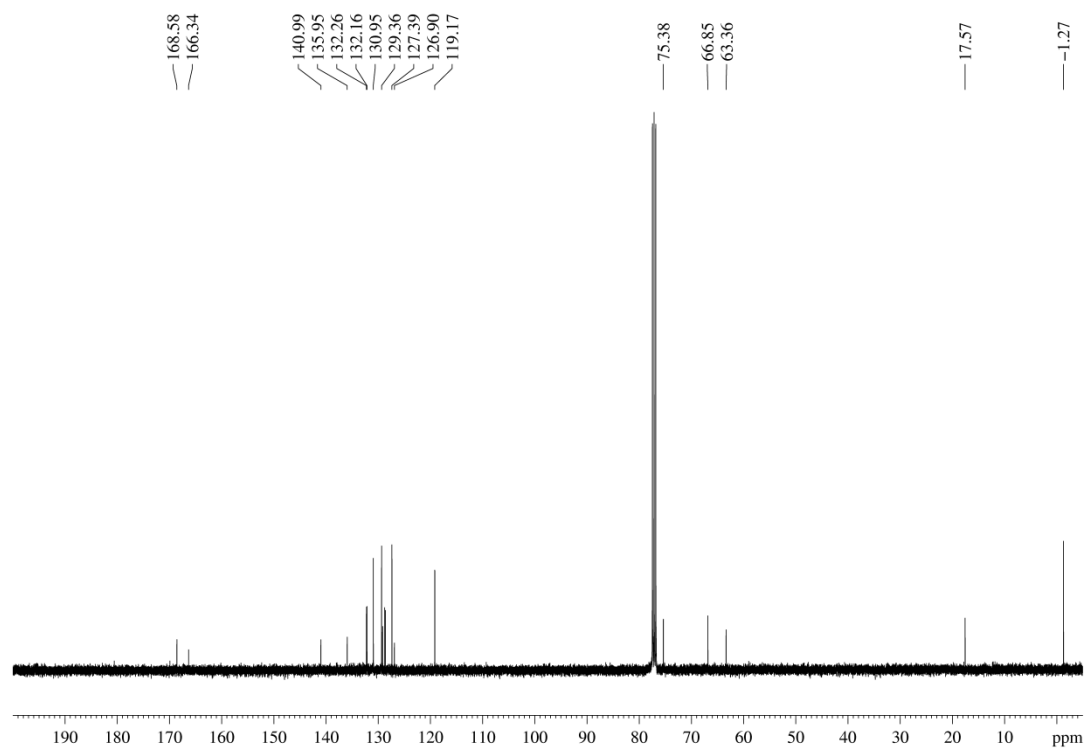
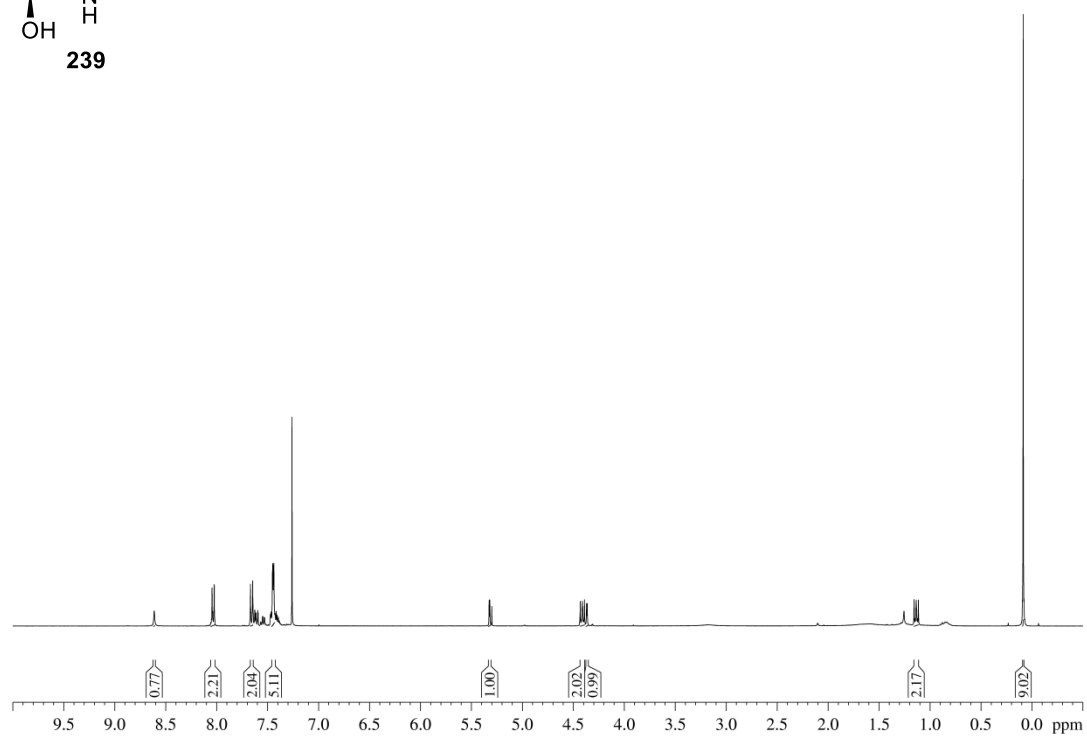
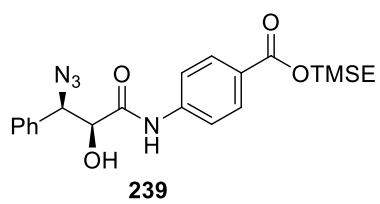


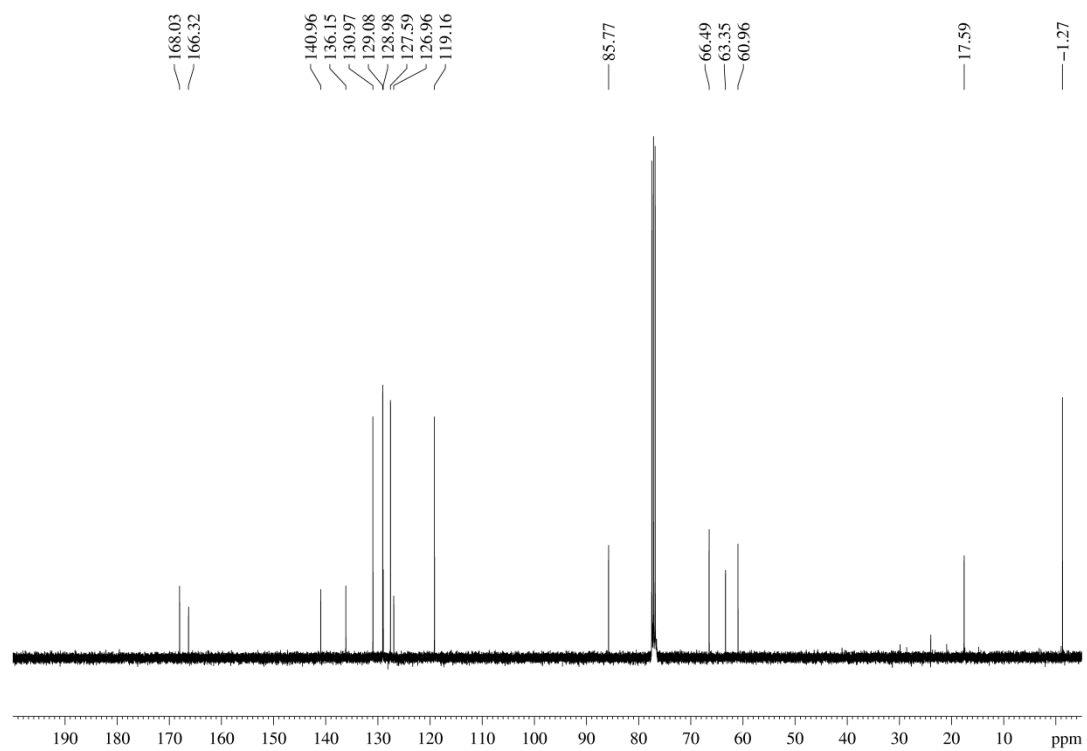
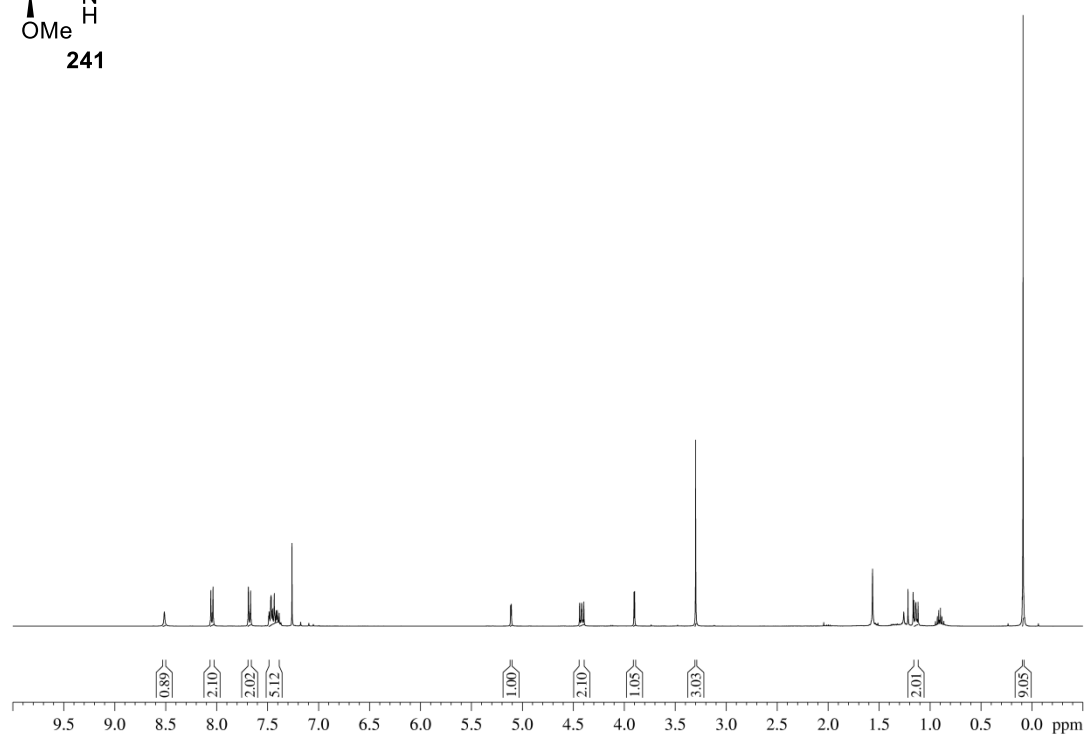
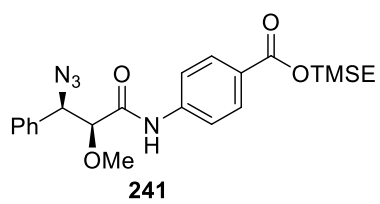


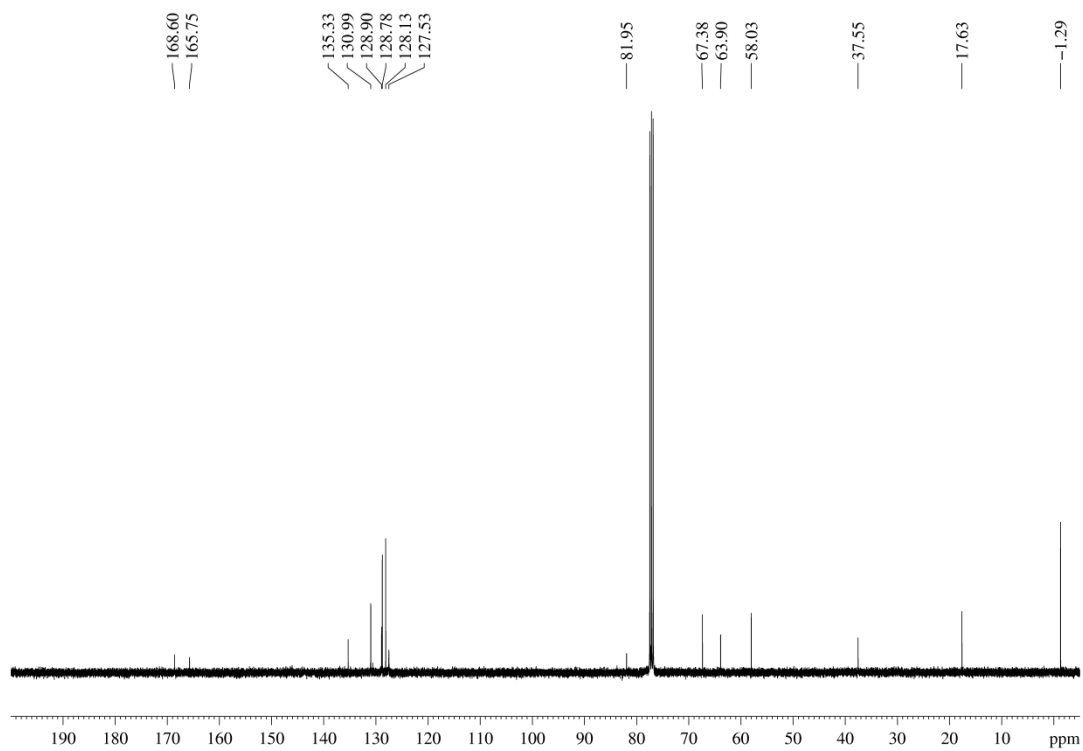
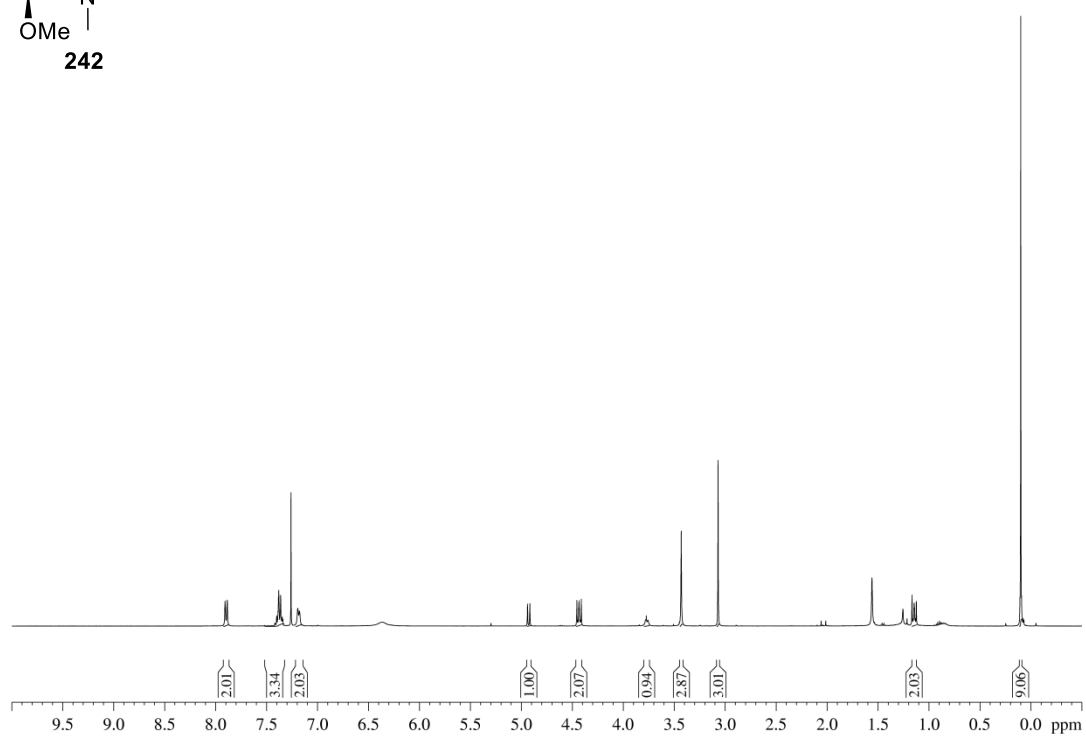
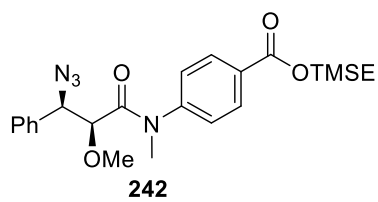


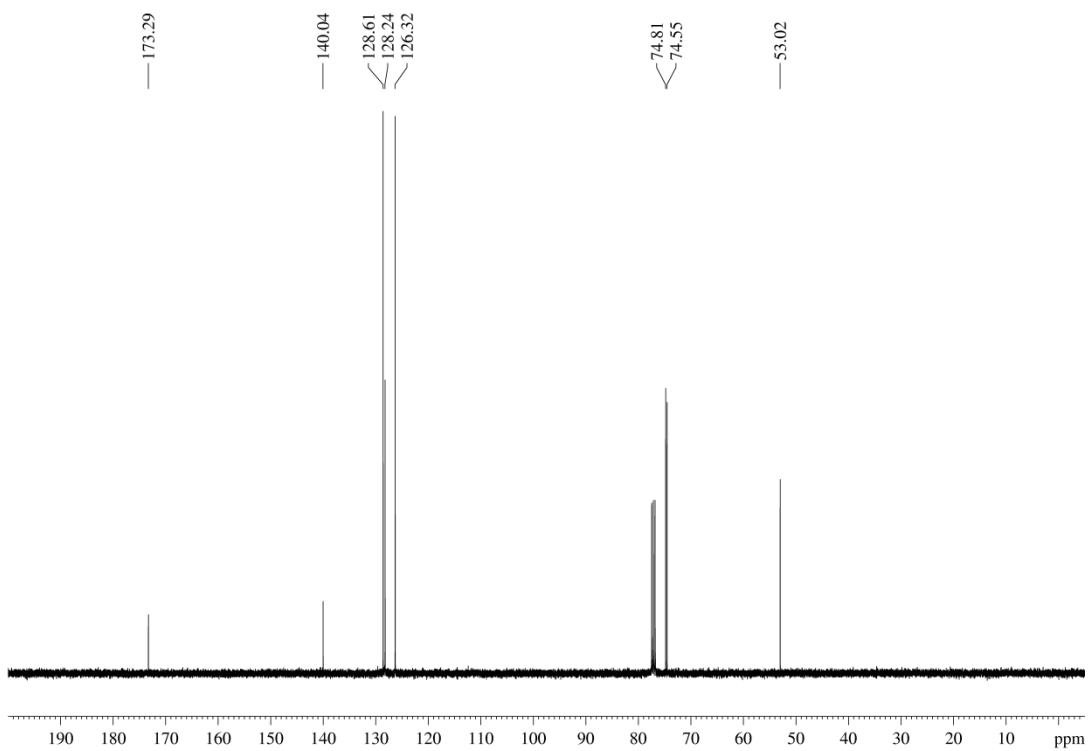
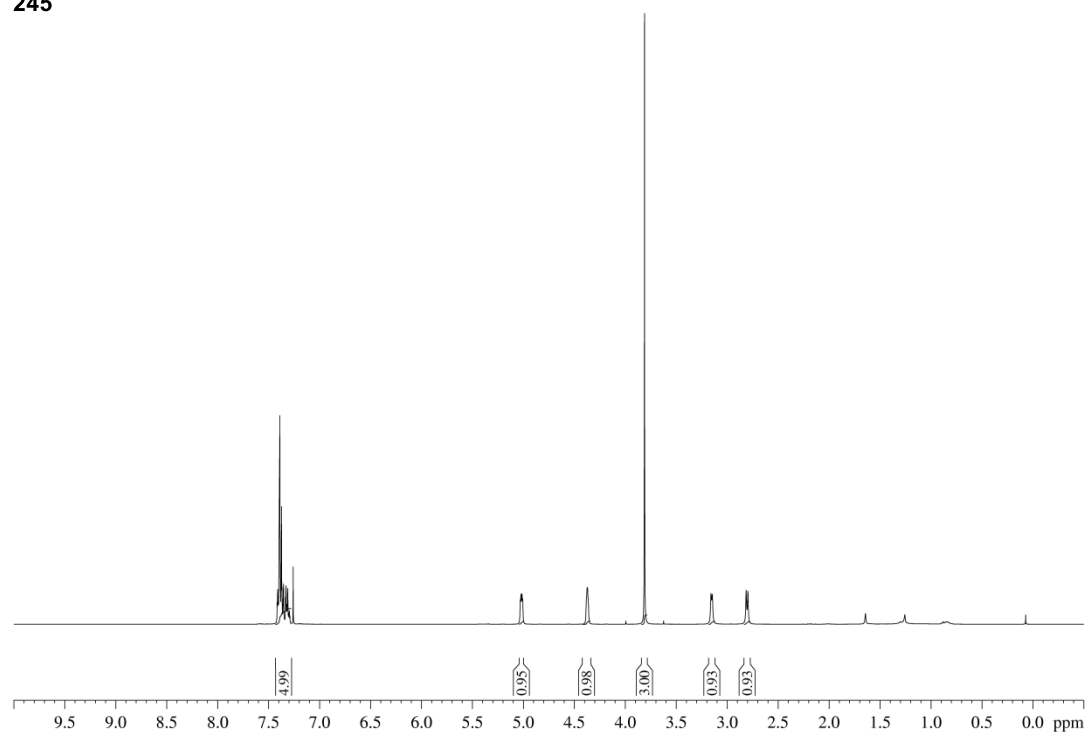
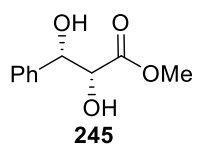


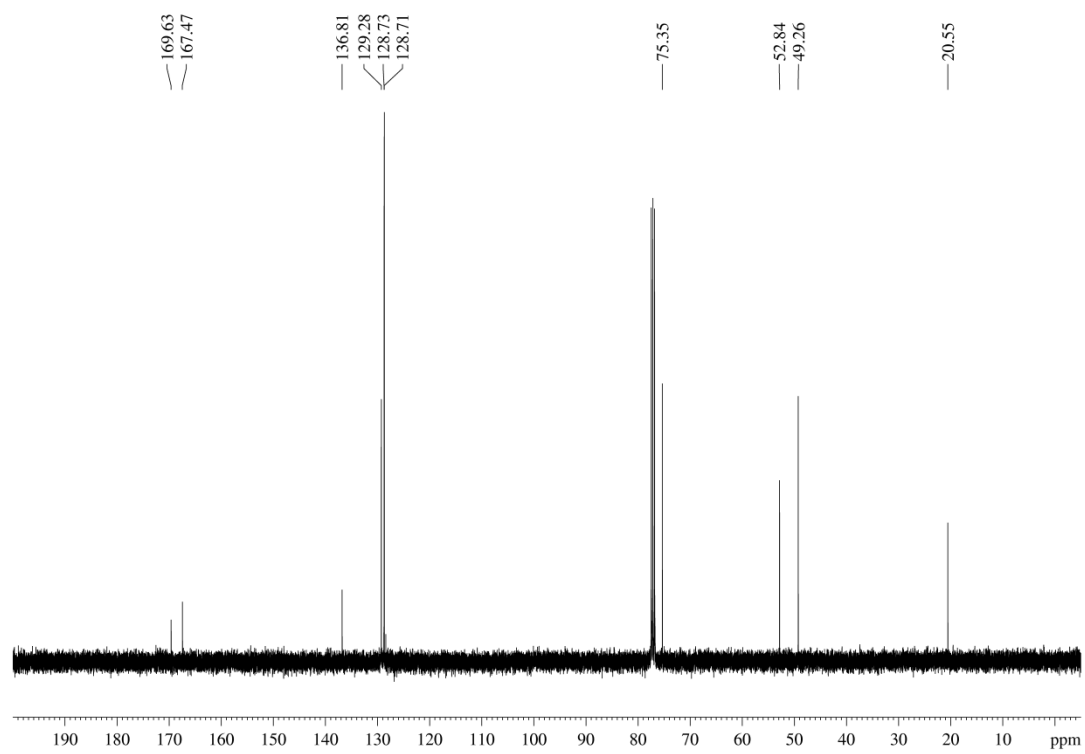
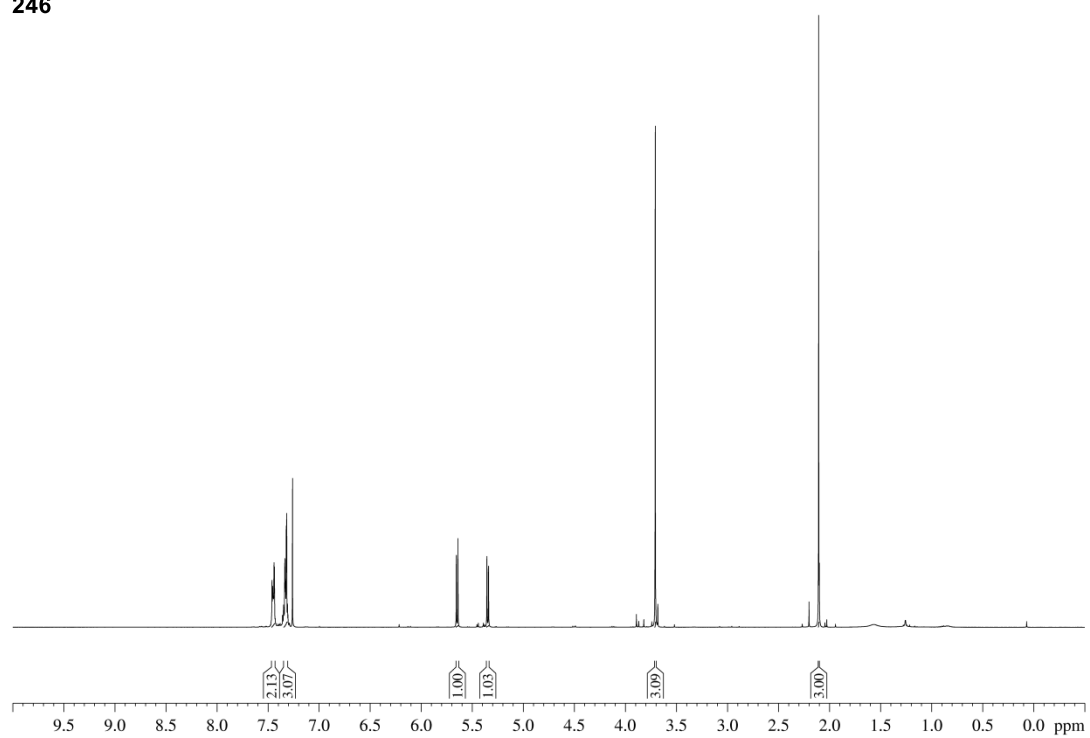
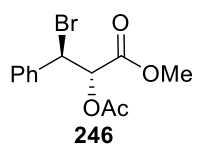


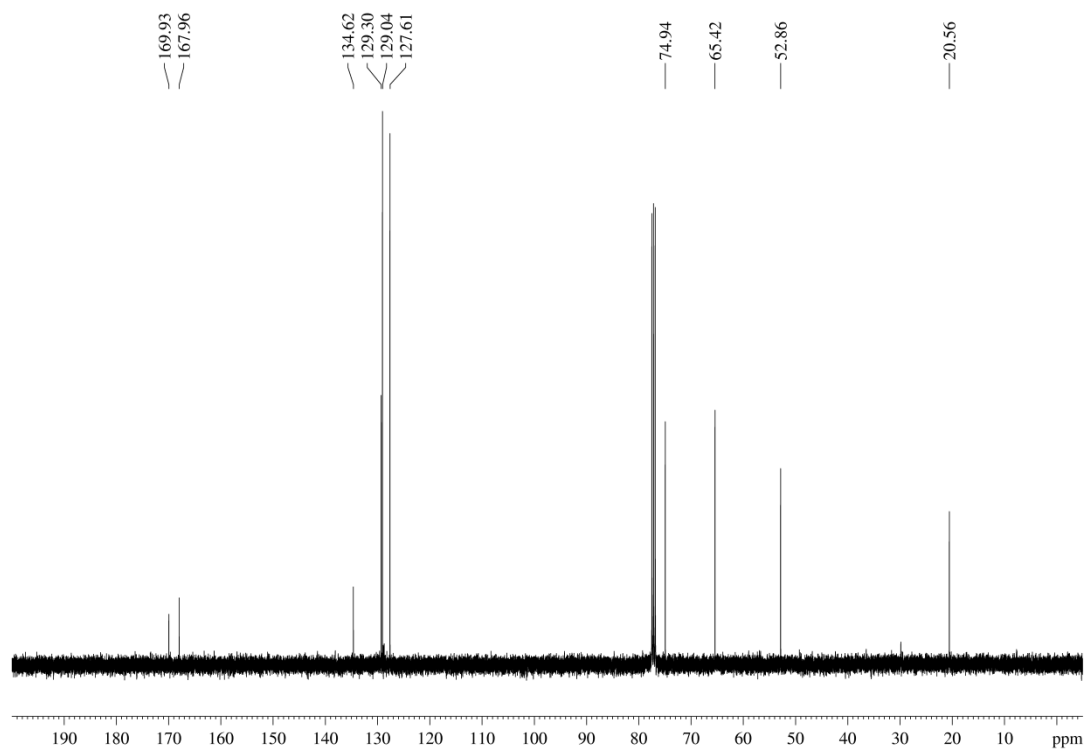
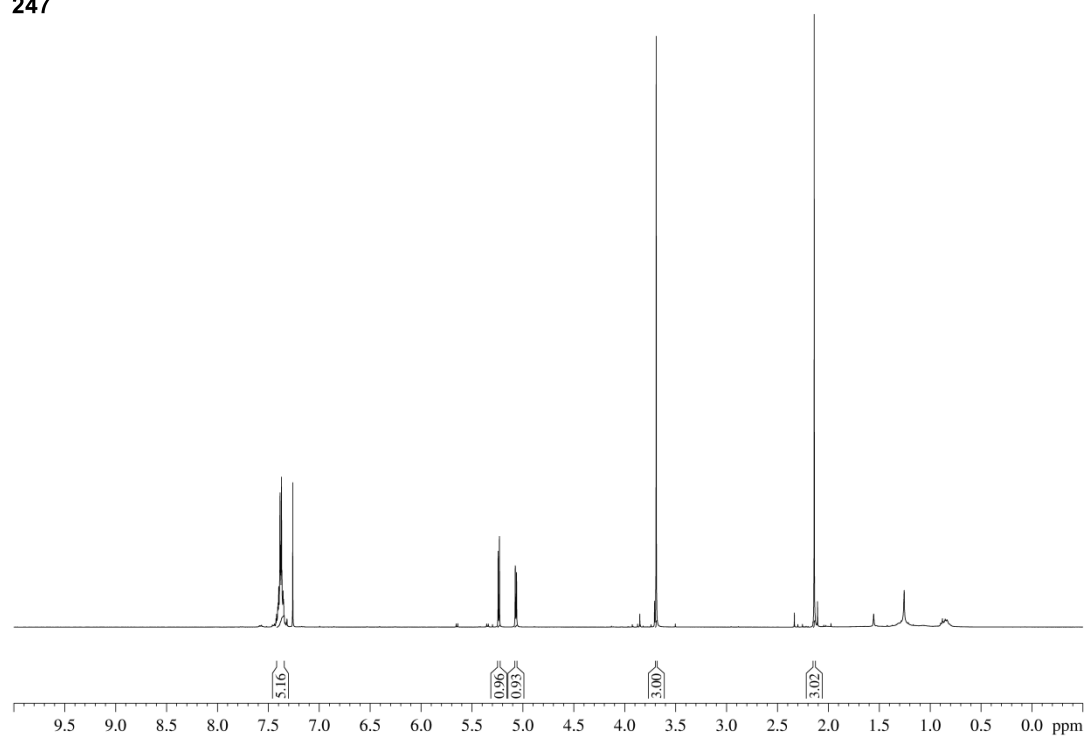


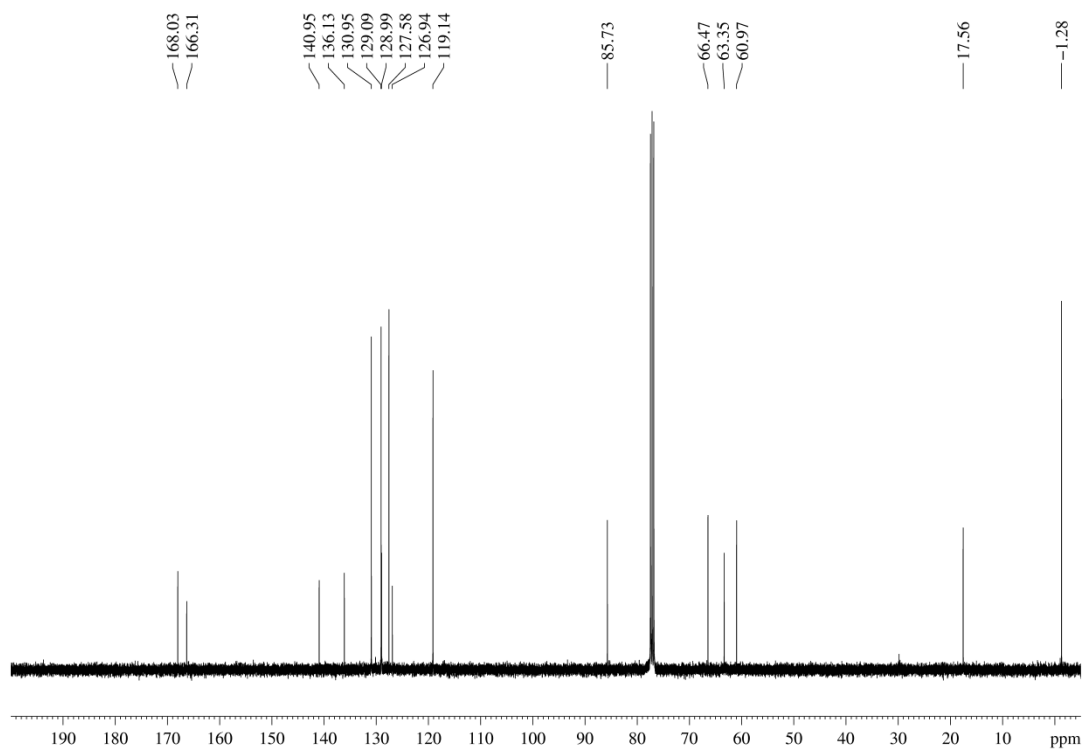
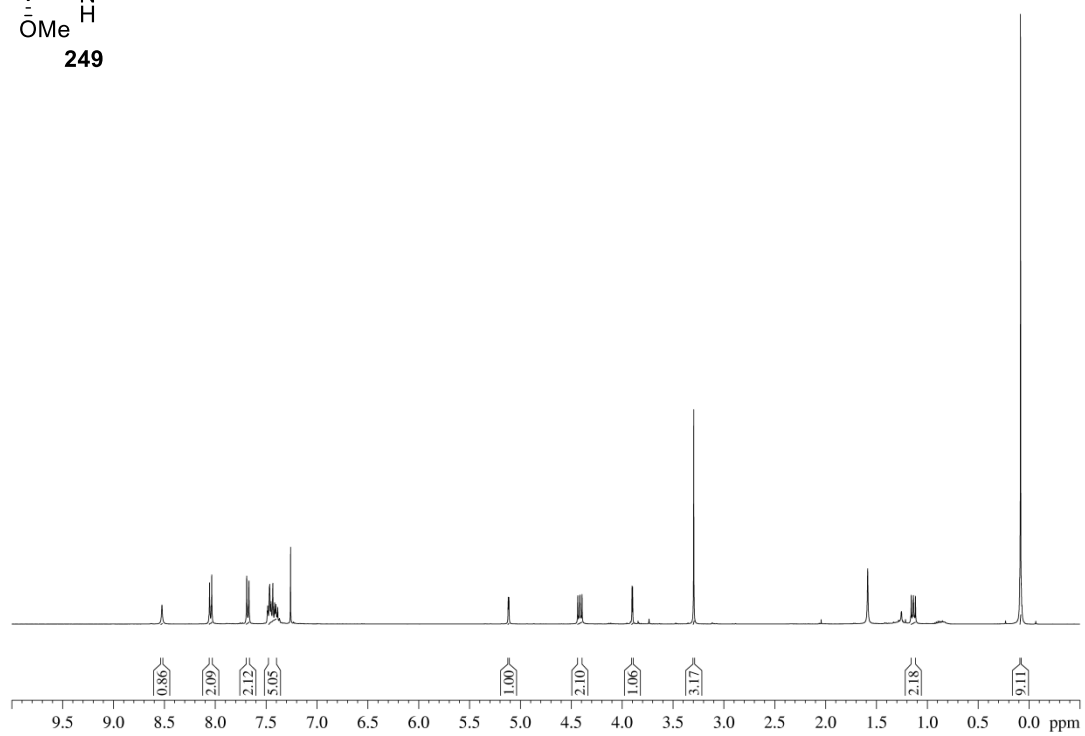
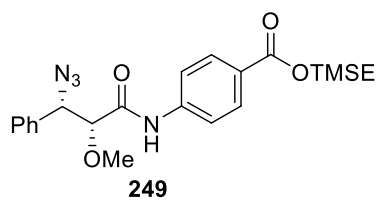












Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Andreas Kirschning nicht nur für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die interessante und immer wieder fordernde Themenstellung, sondern auch für die Betreuung, die ständige Diskussions- und Hilfsbereitschaft, sowie die Freiheiten bei der Umsetzung dieser Arbeit bedanken.

Für die Übernahme des Korreferats und des Prüfungsvorsitzes möchte ich mich bei Prof. Dr. Markus Kalesse bedanken.

Ebenso möchte ich mich bei Prof. Dr. Thomas Scheper für die Übernahme des Drittprüfers bedanken.

Mein Dank gilt auch Dr. Gerald Dräger für seine ständige Hilfsbereitschaft und das Reparieren aller möglichen technischen Geräte.

Monika Griese, Kristina Struckmeier und Christine Bartetzko danke ich für den reibungslosen Ablauf aller bürokratischen Dinge. Monika Griese darüber hinaus auch für die Versorgung mit Socken.

Bedanken möchte ich mich auch bei dem gesamten Arbeitskreis Kirschning, allen ehemaligen und aktuellen Mitgliedern, die dazu beigetragen haben, dass das Arbeiten und die Kaffeepausen, aber auch die legendären Paddeltouren in guter Erinnerung bleiben.

Für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die abwechslungsreichen Themen im Labor 129 danke ich Dr. Gerrit Jürjens, Maik Siebke und Michael Wolling. Meinem langjährigen Abzugspartner Maik Siebke danke ich für die erfolgreiche Zusammenarbeit am Myxovalargin.

Jessica Buchholz, Katja Seidel, Mona Oltmanns, Egor Geist, Jonas Ammermann, Maik Siebke, Michael Wolling und Dr. Florian Taft danke ich ganz herzlich für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Ein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern der NMR und der Masse: Monika Rettstadt, Dagmar Körtje, Dr. Edgar Hofer und Dr. Jörg Fohrer, sowie Roswitha Reichel und Anne Schulz für Ihre ständige Hilfsbereitschaft und die Bearbeitung der vielen Proben.

Schlussendlich gilt der größte Dank meiner Familie ohne deren Unterstützung und Motivation vieles nicht möglich gewesen wäre. Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Mutter dafür, dass sie mir das alles ermöglicht hat und immer für mich da ist. Ebenso großer Dank gebührt Florian, der mir verständnisvoll und unterstützend zur Seite stand.

Lebenslauf

Persönliche Daten: Name: Franziska Gille
Geburtsdatum/ -ort: 19.10.1987 in Leinefelde
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Akademischer Werdegang

- 05.2012-10.2015 **Promotion** im Arbeitskreis von Prof. Dr. A. Kirschning
Institut für Organische Chemie, Leibniz Universität Hannover
Titel: „*Studien zur Total- und Mutasyntese von Myxovalargin und synthetische Untersuchungen zu den Cystobactamiden*“
- 09.2011-03.2012 **Masterarbeit** im Arbeitskreis von Prof. Dr. A. Kirschning
Institut für Organische Chemie, Leibniz Universität Hannover
Titel: „*Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin*“ (1.0)
- 09.2010-06.2011 **Auslandsstudium** im Arbeitskreis von Prof. Dr. P. A. Wender
Stanford University, Kalifornien, USA
Titel: „*The Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Macrocyclic Diacylglycerol Analogs*“
- 10.2009-03.2012 **Master-Studium** der Wirk- und Naturstoffchemie, Leibniz Universität Hannover
Abschluss: *Master of Science* Chemie, Gesamtnote: „Mit Auszeichnung“
- 10.2006-09.2009 **Bachelor-Studium** der Biochemie, Leibniz Universität Hannover, Medizinische Hochschule Hannover
Bachelorarbeit: Titel: „*Analyse viraler Faktoren, die für die Replikation des Hepatitis C Viruses erforderlich sind*“ (1.0)
Abschluss: *Bachelor of Science* Biochemie, Gesamtnote: „Sehr Gut“
- 08.1998-06.2006 Staatliches Gymnasium „Marie Curie“, Worbis
Allgemeine Hochschulreife

Stipendien

- 07.2012-06.2015 **Promotionsstipendium** von dem Beilstein Institut
- 09.2010-06.2011 **DAAD-Auslandsstipendium** für den Forschungsaufenthalt an der Stanford University

Berufliche Tätigkeiten

- 05.2012-10.2015 Betreuung von Studierenden der Chemie (Bachelor- und Master-Studiengang): Betreuung von Bachelor- und Masterarbeiten, Forschungspraktika, Grundpraktikum, sowie weiterführende Praktika in der Organischen Chemie
- 08.2009-02.2010 Wissenschaftliche Hilfskraft im Arbeitskreis von Prof. Dr. P. Behrens
Institut für Anorganische Chemie, Leibniz Universität Hannover
- 10.2008-12.2008 Praktikumsassistent im biochemischen Grundpraktikum von Studierenden der Medizin und Zahnmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

Publikationen

- A. Kirschning, F. Gille, M. Wolling, „Brook rearrangement as key step in cascade reactions“, *Science of Synthesis* **2015**, akzeptiert.

Wissenschaftliche Präsentationen

- 02.2015 Posterpräsentation, 27. Irseer Naturstofftage der DECHEMA e.V.,
„Aktuelle Entwicklungen in der Naturstoff-Forschung“, 2015, Irsee
- 09.2014 Posterpräsentation auf der ORCHEM, 2014, Weimar
- 01.2014 Vortrag auf dem 2. MINAS-Stipendiatentreffen, 2014, Hannover
- 12.2013 Vortrag auf dem Beilstein-Stipendiatentreffen, 2013, Frankfurt am Main
- 06.2013 Posterpräsentation auf dem 14th Tetrahedron Symposium: „Challenges in Organic & Bioorganic Chemistry“, 2013, Wien
- 07.2012 Posterpräsentation auf der BOSS 13th Belgian Organic Synthesis Symposium 2012, Leuven