

Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin und Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
genehmigte Dissertation

von

Maik Siebke, M. Sc.

[2021]

Referent: Prof. Dr. Andreas Kirschning

Korreferent: Prof. Dr. Markus Kalesse

Tag der Promotion: 25.03.2021

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum vom November 2013 bis November 2020 unter Anleitung von Herrn Professor Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organischen Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover angefertigt.

Meiner Familie gewidmet

Zusammenfassung

Maik Siebke

Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin und Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek

Schlagwörter: Peptidantibiotika, Naturstoffsynthese, Oligopeptid, Dehydroaminosäuren, Dehydrovalin, Dehydroisoleucin, β -Tyrosin, Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung, Nitroeliminierung, Festphasenpeptidsynthese, diastereoselektive Aza-MICHAEL-Reaktion

Myxovalargin, ein lineares Peptid bestehend aus 14 Aminosäuren (AS), welches am C-Terminus mit 3-Methylbutansäure beginnt und am N-Terminus mit dem Amin Agmitin endet, wurde im Jahr 1981 aus dem Bakterium *Myxococcus fulvus* Mx f65 isoliert und entstammt ursprünglich einer Bodenprobe der Kaiserstuhl-Gebirge. Neben der nicht-kanonischen AS β -Tyrosin beinhaltet die Struktur des Myxovalargins Dehydrovalin und (*E*)-Dehydroisoleucin, Aminosäuren, deren Synthesen einen zentralen Aspekt dieser Arbeit darstellen. Seine bakterizide Wirkung gegenüber GRAM-positiven Bakterien beruht auf der Inhibierung der Proteinbiosynthese und macht das Myxovalargin zu einem Vertreter der Peptid-Antibiotika. Während ein Großteil der Aminosäuresequenz durch einen hohen Valin-Anteil sehr unpolar ist, besitzt das Peptid durch die Agmatin- und Arginin-Seitenketten einen kationischen Charakter in wässriger Lösung. Hieraus ergeben sich Sekundärinteraktionen mit der Zellmembran und voraussichtlich auch die gemessene, nicht unerhebliche cytotoxische Wirkung.

Der erste Teil dieser Promotionsschrift befasst sich mit den Studien zur Totalsynthese des Myxovalargins und damit, wie ein Dipeptid und ein Tetrapeptid synthetisiert werden können, welche jeweils einmal Dehydrovalin beinhalten. Es wird gezeigt, wie der Baustein 3-Nitrovalin verwendet werden kann, um Doppelbindungen in Peptiden durch die Eliminierung der NO₂-Funktion aufzubauen, was durch Verseifungsbedingungen oder den Einsatz starker Aminbasen gelingt.

Außerdem befasst sich der erste Teil damit wie die Synthese eines Tripeptides, welches Dehydroisoleucin beinhaltet mithilfe einer Kupfer-katalysierten Kreuzkupplung gelingt, welche ein Vinyljodid und ein primäres Amid als Substrate verwendet. Das Vinyljodid konnte in der erforderlichen (*E*)-Konfiguration durch eine Cuprat-Addition an einen 2-Butinester gewonnen werden.

Der zweite Teil dieser Arbeit handelt von der Synthese von vereinfachten Myxovalargin-Derivaten, welche für einen Festphasen-Ansatz optimiert werden und zwar mit dem Ziel, Informationen zu den Struktur-Wirk-Beziehungen der Dehydro-ASs zu erhalten und auf diese Weise zu überprüfen, ob diese eine Rolle für die biologische Aktivität spielen. Folglich werden Bestrebungen unternommen, zunächst alle Dehydroaminosäuren durch Kanonische Aminosäuren zu ersetzen. Im Laufe dieser Synthesestudien wurden entsprechend erste Erkenntnisse gewonnen, um Myxovalargin und seine Derivate unter den Bedingungen der Festphasenpeptidsynthese zugänglich zu machen.

Abstract

Maik Siebke

Studies towards the totalsynthesis of Myxovalargin and development of a Myxovalargin library

Keywords: peptide antibiotics, natural product synthesis, oligopeptide, dehydro amino acids, dehydrovaline, dehydroisoleucine, β -tyrosine, copper-mediated cross-coupling, nitro-elimination, solid-phase-peptide-synthesis, diastereoselective aza-MICHAEL-reaction

Myxovalargin, a linear peptide containing 14 amino acids (AA) and starting with 3-methylbutanic acid at its *N*-terminus and terminated with the amine agmatine at its *C*-terminus, was isolated from *Myxococcus fulvus* Mx f65 in 1981 after extraction from a soil sample of the Kaiserstuhl mountains. Beside the non-canonical AA β -tyrosine the structure of Myxovalargin contains dehydrovaline and dehydro-isoleucine, amino acids, whose syntheses represent the core of this work. Its bactericidal activity against GRAM-positive bacteria stems from the inhibition of protein synthesis and makes Myxovalargin a member of the peptide antibiotics. The structure of Myxovalargin is dominated by valine making its sequence unpolar to a great extent. But the peptide also contains agmatine and arginine sidechains making the molecule cationic in aqueous solution, which is supposed to cause cytotoxicity by secondary interactions with cell membranes.

The first part of this work covers efforts towards the total synthesis of Myxovalargin, especially strategies on how to synthesize a dipeptide and a tetrapeptide containing a single dehydro-valine, respectively. It will be demonstrated, how the building block 3-NO₂-valine can be used to build up α,β -alkenes in peptides by elimination of the NO₂-group, which is achieved by saponification or by the use of strong amine bases.

Furthermore, the first part will cover the synthesis of an (*E*)-dehydroisoleucine containing tripeptide, that can be achieved via copper-mediated cross-coupling starting from a primary amide and a vinyl iodide, whose (*E*)-selective synthesis was possible via a *syn*-selective cuprate-addition to a 2-pentyne ester.

The second part of this work will be about the syntheses of simplified Myxovalargin derivatives, which are optimized for a solid phase approach with the main goal of getting insights into the structure-activity relationship of dehydro AAs and thus verifying their importance to the biologic activity. Therefore progress towards derivatives free of dehydro AAs has been pursued, replacing those AAs through canonical ones. In the course of these studies first insights into synthesizing Myxovalargin and its derivatives under solid-phase conditions were gained.

Inhaltsverzeichnis

<i>Allgemeine Information</i>	<i>i</i>
<i>Widmung</i>	<i>ii</i>
Zusammenfassung	iii
Abstract	iv
Inhaltsverzeichnis	v
Abürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung	6
1.1 Naturstoffe als Quelle pharmakologisch aktiver Substanzen	6
1.2 Von Naturstoffen zu Antibiotika	8
1.2.1 Penicilline	9
1.2.2 Cephalosporine	10
1.2.3 Carbapeneme	10
1.2.4 Wirkmechanismus der β -Lactam-Antibiotika	11
1.2.5 Surfactin, ein Vertreter der Lipopeptide.....	12
1.2.6 Amikacin, ein Vertreter der Aminoglycoside.....	12
1.2.7 Telavancin, ein Vertreter der Glycopeptide	12
1.2.8 Tigecyclin, ein Vertreter der Tetracycline.....	13
1.2.9 Rifampicin, ein Vertreter der Ansamycine.....	13
1.3 Peptidische Naturstoffe	15
1.3.1 Yaku' Amid B	15
1.3.2 GE81112.....	16
1.3.3 Cystobactamide	17
1.4 Myxovalargin, ein Antibiotikum aus <i>Myxococcus fulvus</i> Mx f65.....	18
1.4.1 Isolation, Struktur und biologische Aktivität	18
1.4.2 Biosynthese des Myxovalargins	20
2 Zielsetzung	24
3 Diskussion der Ergebnisse – Teil 1: Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin	26
3.1 Vorarbeiten und Retrosynthese	26

3.2	Studien zur Synthese von Fragment A	29
3.2.1	Vorarbeiten und alternative Synthesesequenz.....	29
3.2.2	Synthese von Fragment A (39).....	31
3.3	Studien zur Synthese von Fragment B	36
3.3.1	Vorarbeiten und Retrosynthese	36
3.3.2	Synthese des Tripeptides 71	37
3.3.3	Synthese des β -Tyrosin Derivates 72	37
3.3.4	Synthese von Fragment B (40).....	38
3.3.5	Neue Route zu Fragment B (40).....	40
3.4	Studien zur Synthese der Fragmente C1 und C2.....	42
3.4.1	Retrosynthese und Vorarbeiten der Fragmente C1 (41) und C2 (44).....	42
3.4.2	Synthese von Fragment C1 (41) und C2 (44).....	43
3.5	Studien zur Synthese von Fragment D	51
3.5.1	Vorarbeiten zu und Retrosynthese von Fragment D (42).....	51
3.5.2	Synthese von Fragment D (42).....	52
3.6	Studien zur Synthese von Fragment E.....	55
3.6.1	Vorarbeiten und Retrosynthese von Fragment E (43)	55
3.6.2	Synthese von Fragment E (43)	56
3.7	Endspiel.....	58
3.7.1	Studien zur Kupplung der Fragmente A und B	58
3.7.2	Alternative Route zu Fragment AB (130)	61
3.7.3	Alternative Synthese von Fragment AB (130)	62
3.7.4	Darstellung von Fragment DE (144)	64
4	Diskussion der Ergebnisse - Teil 2: Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek	66
4.1	Retrosynthese der Hexahydrodeoxy-Myxovalargine	66
4.2	Synthese von Fragment B.....	68
4.3	Synthese von LLL-(160)- und DLL-(161)-Fragment A.....	69
4.3.1	Synthese der benötigten Festphasen-Vorläufer für Fragment A	70
4.3.2	Festphasensynthese von LLL-(160) und DLL-(161)-Fragment A.....	73
4.3.3	Neue Retrosynthese der Hexahydrodeoxy-Myxovalargine (145)	77

5 Zusammenfassung und Ausblick – Teil 1.....	81
5.1 Zusammenfassung – Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin	81
5.2 Ausblick – Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin.....	86
6 Zusammenfassung und Ausblick – Teil 2.....	88
6.1 Zusammenfassung – Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek.....	88
6.2 Ausblick – Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek	91
7 Experimenteller Teil	94
7.1 Allgemeine Hinweise	94
7.2 Analytische Methoden.....	97
7.3 Zum Thema „Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin“ durchgeführte Synthesen	99
7.3.1 Fragment A.....	99
7.3.2 Fragment B.....	108
7.3.3 Fragment C1	121
7.3.4 Fragment C2.....	127
7.3.5 Fragment D.....	133
7.3.6 Fragment E.....	139
7.3.7 Endspiel - Fragment-Kupplungen	144
7.3.8 Fragment DE	167
7.4 Zum Thema „Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek“ durchgeführte Synthesen.....	169
7.4.1 Allgemeine Vorschriften	169
7.4.2 Festphasensynthese.....	173
7.4.3 Synthesevorläufer für die Festphasensynthese	184
7.4.4 Fragment B	190
8 Spektrenanhang.....	199
Danksagung.....	259
Curriculum Vitae	261

Abürzungsverzeichnis

AA	<i>amino acids</i> - Aminosäuren
AAHPA	<i>2-amino-5-[(aminocarbonyl)oxy]-4-hydroxypentanoic acid</i> - 2-Amino-5-[(aminocarbonyl)-oxy]-4-hydroxypentansäure
Ac	Acetyl
ADME	Adsorption, Distribution, Metabolismus, Elimination
Ala	Alanin
Alloc	Allyloxycarbonyl
Arg	Arginin
AS	Aminosäuren
ATP	Adenosintriphosphat
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
ca.	<i>circa</i>
Cbz	Benzyloxycarbonyl
COMU	(1-Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)dimethylamino-morpholino-carbenium-hexafluorophosphat
COSY	<i>correlation spectroscopy</i> (2D-NMR-Methode)
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCE	1,2-Dichlorethan
DHP I	Dehydropeptidase I

DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> - Desoxyribonukleinsäure
<i>d.r.</i>	<i>diastereoisomeric ratio</i> - Diastereoisomerenverhältnis
EDC•HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid
ESBL	<i>extended spectrum beta lactamase</i> –Beta-Lactamasen mit ausgeweitetem Wirkspektrum
ESI	<i>electron-spray-ionisation</i> – Methode zur milden Ionisation in der Massenspektrometrie
Et	Ethyl
EtOAc	Ethylacetat
F ₀ F ₁ -ATP-Syn.	F ₀ F ₁ -ATP-Synthase bzw. F ₀ F ₁ -ATPase, Gruppe von Enzymen, welche als Protonenpumpe agieren und ATP-abhängig sind oder welche Protonen-abhängig ATP synthetisieren
FA	<i>formic acid</i> - Ameisensäure
fMet- <i>t</i> RNA	<i>N</i> -Formyl-Methionyl- <i>t</i> RNA
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
gef.	gefunden
GyrA	Gyrase A – Gyrasen sind bakterielle Topoisomerasen vom Typ II, welche in der Lage sind, die Verdrillung (Scherstress) innerhalb der prokaryotischen DNA durch einen Doppelstrang-Schnitt abzubauen. Die Verdrillung ist eine Folge der lokalen Entwindung der helikalen DNA, was eine Notwendigkeit für das Ablesen der DNA während der Transkription ist.
h	Stunde (Einheit)
HATU	(7-Azabenzotriazol)tetramethyluronium Hexafluorophosphat

HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i> (2D-NMR-Methode)
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOSu	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
HPA	<i>3-hydroxy pipercolic acid</i> – 3-Hydroxypipercolinsäure
HPLC	<i>high-performance-liquid-chromatography</i> - Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i> (2D-NMR-Methode)
HWE	HORNER-WADSWORTH-EMMONS
IBCF	Isobutylchloroformiat
Ile	Isoleucin
IR	Infrarot
konz.	konzentriert
mCPBA	<i>meta</i> -chlorperbenzoic acid - <i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
Me	Methyl
MeAla	<i>N</i> -Methylalanin
MIC	<i>minimal inhibitory concentration</i> – Minimale Hemmkonzentration
min	Minute (Einheit)
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> oder Multiresistenter SA
MS	Messenspektrometrie
n. Chr.	nach Christus (Zeitangabe)
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	Nuklear-magnetische Resonanz
NP	<i>normal phase</i> - Normalphase (Chromatographie)

NRPS	Nicht-Ribosomale-Peptid-Synthase
Oxyma®	Hydroxyiminocyanessigsäureethylester
Orn	Ornithin
PABA	<i>para-amino benzoic acid</i> – <i>para</i> -Aminobenzoessäure
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PBP	<i>penicilline binding proteins</i> – Penicillin bindende Proteine, Transpeptidasen, welche am Aufbau der Zellwand beteiligt sind
PE	Petrolether
PIC	<i>pre-initiation complex</i> – Ein Komplex der 30S-Untereinheit mit der 50S-Untereinheit in dem Zustand kurz bevor der Zusammenschluss zum 70S Ribosom begonnen wird.
pNZ	(<i>para</i> -NO ₂ -Benzyl)oxycarbonyl
PyAOP	(7-Azabenzotriazol-1-yloxy)-tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphat
PyBOB	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
PyBrOP	Bromotripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
quant.	quantitativ
R	Rest
<i>rac</i>	<i>racemic</i> - racemisch
RNA	<i>ribonucleic acid</i> – Ribonukleinsäure
RP	<i>reverse phase</i> – Umkehrphase (Chromatographie)
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde (Einheit)
SAM	<i>S</i> -Adenosylmethionin
Ser	Serin
Su	Succinimidyl
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid

TBD	1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en
TBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
^t Bu od. <i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy
Teoc	2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl
Tf	Trifluormethylsulfonyl
Tf ₂ O	Trifluormethylsulfonsäureanhydrid
TFA	Trifluoressigsäure
TFE	2,2,2-Trifluorethanol
TFFH	Tetramethylfluoroformamidinium hexafluorophosphat
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
TMSE	2-(Trimethylsilyl)ethyl
TMSI	Trimethylsilyliodid
TMG	Tetramethylguanidin
TOF	<i>time-of-flight</i> – Methode der Massenspektrometrie
<i>t</i> RNA	Transfer-RNA
trt	Trityl
Tyr	Tyrosin
ü2S	über zwei Stufen
UPLC	<i>ultra-performance-liquid-chromatography</i> - Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie
Val	Valin
v. Chr.	vor Christus (Zeitangabe)
Z	Benzyloxycarbonyl

1 Einleitung

1.1 Naturstoffe als Quelle pharmakologisch aktiver Substanzen

Naturstoffe spielen seit Jahrtausenden eine zentrale Rolle im Leben der Menschen. Der Begriff „Naturstoff“ umfasst dabei jegliche natürlich vorkommende Verbindungen bzw. deren Substanzgemische sowie organische Materialien im Allgemeinen, welche von Organismen produziert werden.^[1,2] Im weitesten Sinne werden diese Stoffe und Materialien von Tieren, Pflanzen, Pilzen und Mikroorganismen produziert. Typische Beispiele aus dem Alltag sind Gewürze, Hölzer sowie pflanzliche Öle und tierische Fette. In der Wissenschaft ist der Begriff „Naturstoff“ etwas enger gefasst und beschreibt in der Regel einzelne Verbindungen aus besagten Organismen, welche, isoliert und gereinigt, meist pharmakologische Wirkung besitzen. Diese Verbindungen werden grob in zwei Klassen unterteilt, in Primär- und Sekundärmetabolite.^[3]

Die Primärmetabolite stellen die Summe aller organischen Verbindungen dar, welche für das Überleben der einzelnen Zellen eines Organismus‘ überlebensnotwendig sind, wie beispielsweise Kohlenhydrate, Fette, Proteine und Nucleotide sowie die Bausteine dieser Substanzklassen. Sie sind mit einigen Variationen als Bestandteil aller Lebensformen anzutreffen und entfalten ihre Wirkung meist innerhalb einer Zelle. Als Sekundärmetabolite werden jene Verbindungen bezeichnet, welche von Organismen nur zu bestimmten Zeiten erzeugt werden und häufig anschließend an ihre Umgebung abgegeben werden. Diese Verbindungen werden nur von einzelnen Arten oder aber einer geringen Anzahl an Spezies produziert. Ihr Nutzen kann die interzelluläre Kommunikation (Botenstoffe), die Abwehr von Fraßfeinden oder die Färbung eines Organismus‘ sein. In vielen Fällen ist ihre Wirkung und ihr Nutzen für den Organismus jedoch gänzlich unbekannt.^[4]

Dass von Naturstoffen eine medizinische Wirkung ausgeht, ist ebenfalls seit Tausenden von Jahren bekannt.^[5] Ein häufig zitiertes Beispiel stellt die Weidenrinde dar, deren Teeaufgüsse (Salicin genannt nach der weißen Weide, lat.: *salix alba*) zur Schmerzmilderung eingesetzt und bereits von HIPPOCRATES VON KOS um ca. 460 v.Chr. beschrieben wurden.^[6]

¹ www.spektrum.de, Lexikon der Biologie, Stichwort: “Naturstoffe”, abgerufen unter <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/naturstoffe/45488>, am 20.01.2020.

² The Free Dictionary, Stichwort “Natural Product” zitiert von “Webster’s Revised Unabridged Dictionary, G. & C. Merriam Co., 1913”, abgerufen unter <https://www.thefreedictionary.com/Natural+product>, am 20.01.2020.

³ J. R. Hanson, *Natural Products: The Secondary Metabolites*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2003, S.1.

⁴ P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition; John Wiley and Sons Ltd. Verlag, Chichester 2009, S.7f.

⁵ R. I. Aminov, *Frontiers in Microbiology: Antimicrobials, Resistenz and Chemotherapy*, Review, 8. Dez. 2010, Vol. 1, Art. 134.

⁶ K.-C. Bergmann, J. Ring, *History of Allergy, Chem. Immunol Allergy*, Karger Verlag, Basel 2014, 100, S. 132-139.

Des Weiteren ist für einige rote Erden aus Jordanien historisch eine antibakterielle Wirkung festgestellt worden, sodass diese vor Ort auch heute noch als günstige Alternative für die Behandlung von Hautinfektionen und Windelausschlag eingesetzt werden.^[7]

Als letztes sei hier noch das Beispiel der chinesischen Pflanze *Artimisia annua* (chin.: *qinghao*) genannt, welche laut traditionellem chinesischem Pharmakopöa schon ca. 168 v. Chr. gegen Hämorrhoiden und später auch gegen Fieber eingesetzt wurde.^[8]

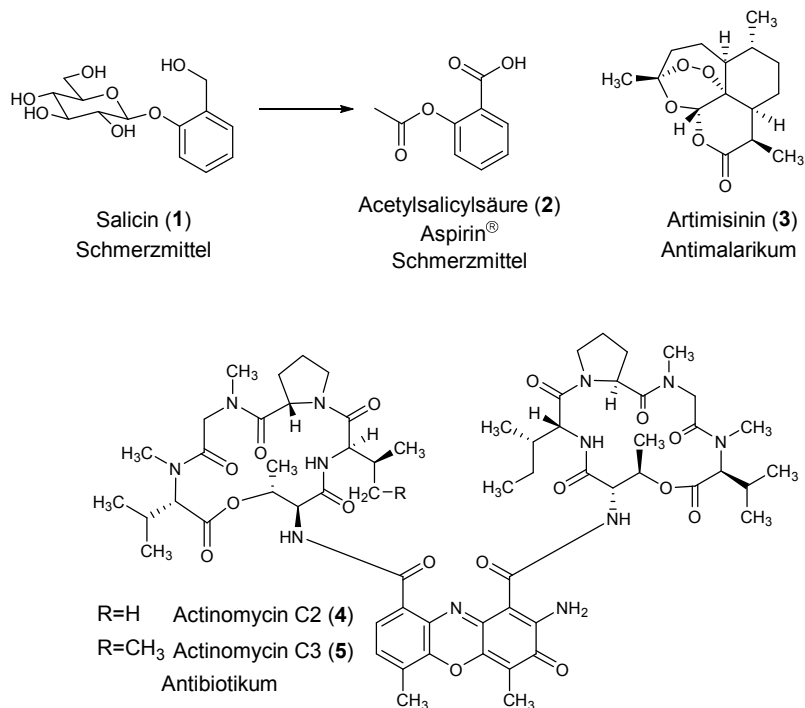


Abbildung 1: Historische Beispiele für Naturstoffe mit medizinischer Wirkung.

Allen drei Beispielen ist gemein, dass ihre Wirkung auf wenige, pharmakologisch aktive Substanzen zurückzuführen ist. Die Weidenrinde enthält zu größeren Anteilen das Salicin (1), einen synthetischen Vorläufer der Salicylsäure, aus welcher schließlich von der Firma BAYER die Acetylsalicylsäure (2) entwickelt wurde, welche noch bis heute unter dem Markennamen Aspirin® als Schmerzmittel verkauft wird (Abbildung 1).^[9] Die antibakterielle Wirkung der Roten Erden aus Jordanien wurde auf Bakterien der Ordnung *Actinomycetales* zurückgeführt, welche die antibiotisch wirksamen Peptide Actinomycin C2 (4) und C3 (5) freisetzen. Schließlich konnte aus der *Artimisia annua* (chin.: *qinghao*) der Anti-Malaria Wirkstoff Artemisinin (3, chin.: *qinghaosu*) gewonnen werden.^[5,8]

⁷ J. O. Falkinham III, T. E. Wall, J. R. Tanner, K. Tawaha, F. Q. Alali, C. Li, N. H. Oberlies, *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, 75, 2735-2741.

⁸ L. Cui, X.-z. Su, *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* **2009**, 7, 999-1013.

⁹ B. Schmidt, C. Biegert, I. Kötter, L. Heide, *Phytopharmaka VII*, Springer Verlag, Heidelberg **2002**, S. 93-100.

1.2 Von Naturstoffen zu Antibiotika

Die Idee, dass es möglich sein könnte, mit kleinen einfachen chemischen Verbindungen Bakterien zu töten, ohne dabei dem Patienten zu schaden, wurde von PAUL EHRLICH geprägt, der feststellte, dass Bakterien mit Anilinen und anderen Färbemitteln unterschiedlich und teilweise selektiv anfärbbar waren.^[5] Ein unter ihm angeleitetes *Screening* zur Entdeckung eines Mittels gegen die Syphilis, einer zu seiner Zeit weit verbreiteten und als nahezu unheilbar geltenden Infektionskrankheit, führte schließlich zur Entdeckung von Salvarsan (**6**, Abbildung 2) im Jahre 1909, einer arsenhaltigen Verbindung, deren Wirkmechanismus bis heute nicht aufgeklärt werden konnte.^[5,10]

1935 entdeckten deutsche Chemiker der Firma BAYER, dass Sulfonamide antibakterielle Wirkung haben und brachten mit PRONTOSIL® (**7**) ein erstes breit anwendbares Antibiotikum auf den Markt. Rein synthetische Antibiotika-Klassen wie Salvarsan und PROTOSIL sollten jedoch in den folgenden Jahren die Ausnahme darstellen.

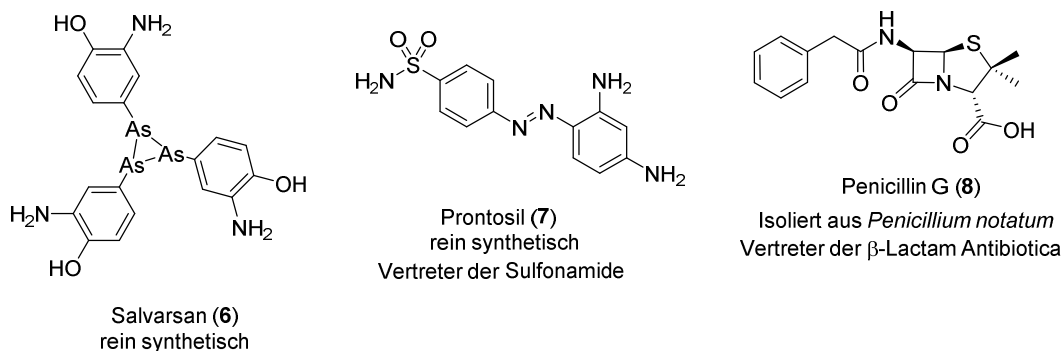


Abbildung 2: Die Anfänge der Antibiotika.

Bereits 1928 beobachtete ALEXANDER FLEMING, dass *Penicillium* Schimmel antibiotische Wirksamkeit hat, was zur ersten Isolation von Penicilin G (**8**) 1929 führte.^[11] Jedoch gelang es erst 1940 einem Oxforder Team unter Leitung von HOWARD FLOREY und ERNST CHAIN mit einer neuen Methode, große Mengen des Penicilins in ausreichender Reinheit darzustellen.^[12] Dies führte schließlich zur Massenproduktion und der Verteilung von Penicilin im Jahre 1945.^[5] Mit der Entdeckung der Penicilline brach das goldene Zeitalter der Antibiotika an. Die Untersuchung zahlreicher Bakterien und Pflanzen auf antibiotisch wirksame Sekundärmetabolite förderte bis 1970 eine große Anzahl neuer Antibiotika-Klassen zu Tage, wodurch viele Infektionskrankheiten zurückgedrängt werden konnten, jedoch wurde bereits von Anfang an festgestellt, dass Bakterien Resistenzen entwickelten. Dies führte zur sogenannten „arms race“, einem stetigen Kampf gegen die Resistenzbildung der Keime durch fortlaufende Derivatisierung der Antibiotika-Motive.^[5,10]

¹⁰ K. Gould, *J. Antimicrob. Chemother.* **2016**, *71*, 572-575.

¹¹ A. Fleming, *Br. J. Exp. Patol.* **1929**, *10*, 226-236.

¹² M. Lobanovska, G. Pilla, *Yale J. Biol. Med.* **2017**, *90*, 135-145.

Eine Übersicht über typische Vertreter der einzelnen Antibiotika-Klassen wird im Folgenden vorgestellt. Die Weiterentwicklung der Antibiotika lässt sich am einfachsten an den Beispielen der β -Lactam-Antibiotika erläutern (Abbildung 3).

1.2.1 Penicilline

So hatten die ersten Penicilline wie Penicillin G (**8**, Abbildung 2) die Einschränkung, dass sie nur ein sehr geringes Wirkspektrum aufwiesen, da viele Bakterien über β -Lactamasen (ehem. Penicillinasen) verfügen, welche in der Lage sind, den β -Lactam-Ring der β -Lactam-Antibiotika hydrolytisch zu öffnen und den Wirkstoff so zu deaktivieren.^[12]

Mit dem im Jahre 1959^[13] eingeführten Methicillin (**9**, Abbildung 3) wurde erstmals ein Penicillin-Derivat entwickelt, das gegen einige β -Lactamasen stabil war. Hierdurch konnte das Wirkspektrum beispielsweise gegen Staphylokokken erweitert werden. Jedoch führte auch eine weitere Resistenzbildung schließlich zu Methicillin-resistenten Keimen. Das wohl bekannteste Beispiel stellt der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) dar. Außerdem zeigten Penicilline bis zu diesem Zeitpunkt vor allem gegen GRAM-positive Erreger Wirkung.^[12] Mit der Einführung der Aminopenicilline, wie z.B. das Amoxicillin (**10**), konnte das Wirkspektrum der Penicilline erstmals auch auf einige GRAM-negative Erreger ausgeweitet werden, da die Aminopenicilline sich als weniger anfällig gegenüber vielen β -Lactamasen einiger GRAM-negativer Bakterien erwiesen. Aufgrund des ausgeweiteten Wirkspektrums wird diese Gruppe der Penicilline den Breitband-Antibiotika zugeordnet.^[12]

Mit dem Aufkommen neuartiger und mutierter β -Lactamasen (ESBL - *extended spectrum beta lactamase*) musste schließlich auf die Clavulansäure (**15**) zurückgegriffen werden. Dieses im Jahre 1976 aus *Streptomyces clavuligerus* isolierte^[14] β -Lactam besitzt keine nennenswerte antibiotische Wirkung, es inhibiert jedoch viele β -Lactamasen.^[15] Die Verabreichung von Penicillinen in Kombination mit einem β -Lactamase-Inhibitor ist bis heute üblich. Amoxicillin/Clavulansäure ist eine typische Kombination.^[16]

¹³ M. C. Enright, D. A. Robinson, G. Randle, E. J. Feil, H. Grundmann, B. G. Spratt, *PNAS USA* **2002**, *99*, 7687-7692.

¹⁴ T. T. Howarth, A. G. Brown, T. J. King, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 266-267.

¹⁵ C. Reading, M. Cole, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 852-857.

¹⁶ D. Nathwani, M. J. Wood, *Drugs* **1993**, *45*, 866-894.

1.2.2 Cephalosporine

Cephalosporin C (**11**, Abbildung 3) wurde aus *Acremonium* Pilzen (ehem. *Cephalosporium*) im Jahre 1956 isoliert und ist der Begründer der Klasse der Cephalosporine.^[17] Diese Untergruppe der β -Lactam-Antibiotika wird häufig anstelle von Penicillinen verabreicht, wenn allergische Reaktionen auftreten. Bis auf einige Spezialanwendungen sind sie keine Antibiotika der ersten Wahl.^[18] Die Cephalosporine besitzen generell denselben Wirkmechanismus wie Penicilline, jedoch erlaubt das Strukturmotiv eine beidseitige Derivatisierung. Neuere Generationen dieser Antibiotika-Klasse, wie beispielsweise das Ceftolozan (**12**), tragen viele polare Gruppen, was eine orale Verabreichung unmöglich macht, dafür jedoch das Wirkspektrum auf den GRAM-negativen Bereich ausdehnt. Cephalosporine sind ebenso wie die Penicilline anfällig für neuartige und mutierte β -Lactamasen (ESBL).^[18] Die Kombination mit β -Lactamase-Inhibitoren gleicht diesen Nachteil teilweise aus. Ceftolozan wird daher in Kombination mit Tazobactam (**16**), einem synthetischen β -Lactamase-Inhibitor, verabreicht.^[19]

1.2.3 Carbapeneme

Das bei der Suche nach β -Lactamase-Inhibitoren isolierte Thienamycin (**13**, Abbildung 3) zeigte ebenfalls antibiotische Wirkung, sodass hieraus ein weiteres Struktur-Motiv der β -Lactam-Antibiotika, die Carbapeneme, abgeleitet werden konnte.^[20] Die Carbapeneme sind aufgrund ihrer *trans*-Konfiguration am Lactam-Ring (vgl. *cis*-Konfiguration der Penicilline und Cephalosporine) weniger anfällig für β -Lactamasen (inkl. einiger ESBL), jedoch ist ihre Halbwertszeit im Organismus sehr begrenzt, da die Carbapeneme durch die Dehydropeptidase I (DHP-I) in den Nieren abgebaut werden, was die zusätzliche Verabreichung eines DHP-I-Inhibitors notwendig macht.^[10,21] Während der Suche nach neuen Derivaten wurde festgestellt, dass die Erweiterung der Grundstruktur um eine Methylgruppe am 5-Ring, wie beispielsweise beim Meropenem (**14**, Abbildung 3, blau hinterlegt), Carbapeneme weniger anfällig gegenüber der Dehydropeptidase I macht.^[20] Carbapeneme wie das Meropenem (**14**) werden häufig in Krankenhäusern und bei multibakteriellen Infektionen verwendet, da sich das Wirkspektrum der Carbapeneme auf viele Vertreter der GRAM-positiven und GRAM-negativen Bakterien erstreckt. Carbapeneme wirken nicht bei MRSA und *Enterococcus faecium*.^[22]

¹⁷ G. G. F. Newton, E. P. Abraham, *Biochem. J.* **1956**, 62(4), 651-658.

¹⁸ C. J. Harrison, D. Bratcher, *Pediatr. Rev.* **2008**, 29(8), 264-267.

¹⁹ J. Sabaaly, J. A. Woods, K. A. Wargo, *Infect. Dis. Clin. Pract.* **2018**, 26(4), 198-203.

²⁰ K. M. Papp-Wallace, A. Endimiani, M. A. Taracila, R. A. Bonomo, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 4943-4960.

²¹ G. L. Drusano, *J. Antimicrob. Chemother.* **1986**, 18, Suppl. E, 79-82.

²² G. G. Zhanel, R. Wiebe, L. Dilay, K. Thomson, E. Rubinstein, D. J. Hoban, A. M. Noreddin, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2007**, 67(7), 1027-1052.

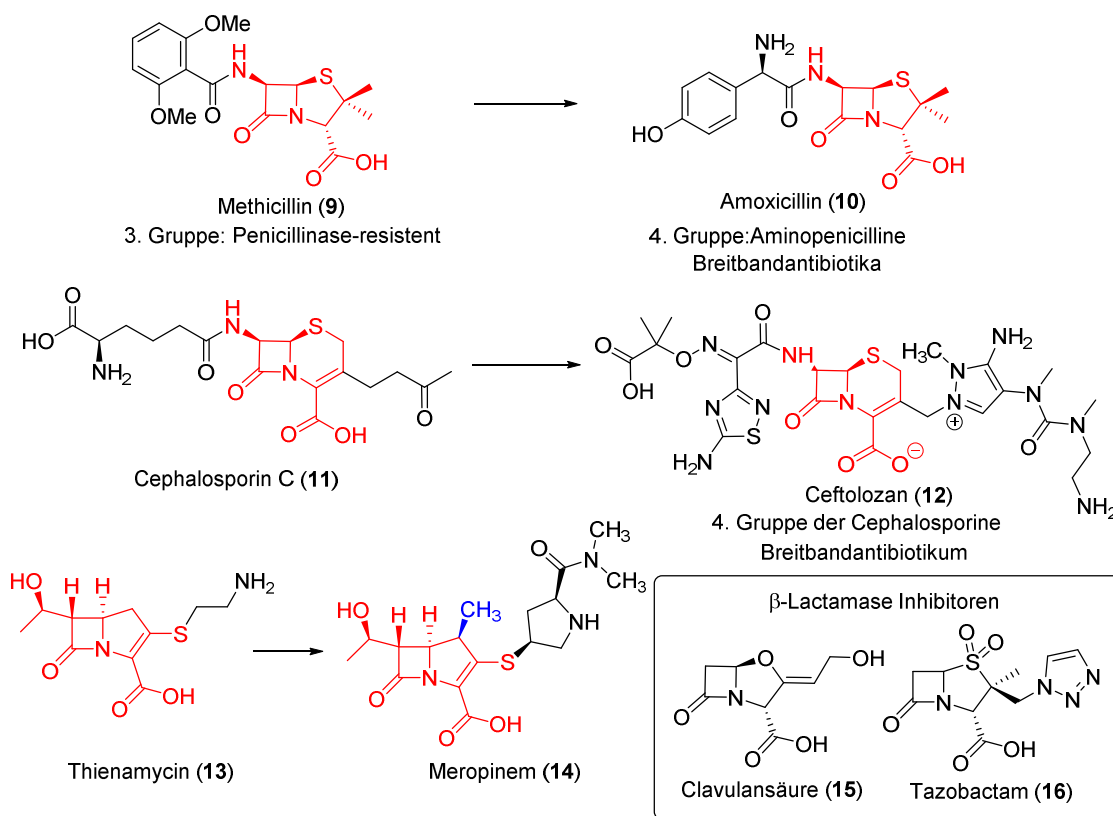


Abbildung 3: Übersicht über einige Vertreter der β -Lactam-Antibiotika. Weitere Derivatisierung und Ausweitung des Wirkspektrums. Unten rechts: β -Lactamase-Inhibitoren – Naturstoff Clavulansäure und das rein synthetische Tazobactam. Die Pharmakophore der Antibiotika sind rot hervorgehoben. Meropenem: Erweiterung des Pharmakophors durch einen Methylrest, blau hervorgehoben.

1.2.4 Wirkmechanismus der β -Lactam-Antibiotika

Allen β -Lactam-Antibiotika ist der gleiche Wirkmechanismus gemein. Sie inhibieren die Zellwand-Biosynthese, indem sie an Transpeptidasen binden, welche für die Vernetzung der Peptidoglycan-Bausteine zuständig sind (PBPs – *penicillin binding proteins*) und behindern hierdurch den effektiven Aufbau der Zellwand, was schließlich zur Lyse der Zelle führt.^[12] Die PBPs befinden sich am inneren Rand der Zellmembran, weshalb die ersten Generationen der β -Lactam-Antibiotika vorrangig gegen GRAM-positive Bakterien wirken, deren Zellwand im Vergleich zu Gram-negativen Bakterien dünner und leichter zu überwinden ist. Die Resistenzbildung erfolgt durch Veränderung der PBPs, durch neuartige β -Lactamasen (ESBL) oder Efflux-Pumpen.^[23]

Im Folgenden sollen in aller Kürze einige Vertreter weiterer bekannter Antibiotika Klassen genannt werden. Die Auswahl beschränkt sich hierbei auf Naturstoffe oder deren Derivate (Abbildung 4).

²³ E. L. Miller, *Journal of Midwifery & Woman's Health* **2002**, 47, 426-434.

1.2.5 Surfactin, ein Vertreter der Lipopeptide

Isoliert aus einigen Stämmen des *Bacillus subtilis* gehört das Surfactin (**17**, Abbildung 4) zur Gruppe der Lipopeptid-Antibiotika.^[24] Es besitzt mit einer β -Hydroxy-Fettsäure einen lipophilen Schwanz, welcher in ein peptidisches Lacton eingebettet ist, das mit Asparaginsäure und Glutaminsäure negativ geladen ist. Surfactine besitzen viele nützliche Eigenschaften: Als Biosurfaktanten haben sie viele Vorteile gegenüber synthetischen Tensiden, da sie wenig toxisch, biologisch leichter abbaubar und zudem thermisch stabiler als andere Tenside sind.^[25] Surfactine wirken darüber hinaus antibakteriell, da sie die Permeabilität von Zellmembranen verändern und künstliche Ionenkanäle erzeugen. Die Surfactine sind besonders wirkungsvoll beim Einsatz gegen Mycoplasmen, genetisch sehr einfache Bakterien ohne Zellwand, welche gegen viele Antibiotika resistent sind und aufgrund ihres geringen Durchmessers von vielen Filtern nicht erfasst werden. Durch die antifungalen, antiviralen und antitumoralen Eigenschaften ergeben sich weitere mögliche Anwendungsgebiete.^[26]

1.2.6 Amikacin, ein Vertreter der Aminoglycoside

Aminoglycoside werden zu den Breitband-Antibiotika gezählt.^[27] Viele Vertreter dieser Klasse besitzen als strukturelle Gemeinsamkeit das Desoxystreptamin, welches glycosidisch mit weiteren Amino-Zuckern verknüpft ist. Die Aminoglycoside entfalten ihre Wirkung durch die Inhibierung der Protein-Biosynthese der Bakterien. Um von den Erregern aufgenommen werden zu können, bedarf es jedoch eines aktiven Elektronentransfers durch die Membran, weshalb die Aminoglycoside keine Wirkung bei anaeroben Keimen zeigen.^[27] Zell-Wand-aktive Antibiotika wie β -Lactame können sowohl das Wirkspektrum der Aminoglycoside erweitern als auch die Effektivität erhöhen.^[27] Amikacin (**18**, Abbildung 4) ist ein Derivat von Kanamycin A und wird als Reserve-Antibiotikum für *Mycobacterium tuberculosis* gehandelt.^[27]

1.2.7 Telavancin, ein Vertreter der Glycopeptide

Glycopeptide gehören zu älteren Klassen der Antibiotika. Ihre antibiotische Wirkung beruht auf der Inhibierung der Zellwand-Synthese, indem sie sehr spezifisch an die synthetischen Vorläufer des Peptidoglycans, Lipid II, binden.^[28] Die spezifische Affinität kommt dabei über die Komplexierung des für Lipid II typischen D-Ala-D-Ala-Motivs zustande. Die Resistenzbildung erfolgt beispielsweise durch eine Mutation, die den Austausch des terminalen D-Alanin-Restes gegen D-Lactose oder D-Serin

²⁴ K. Arima, A. Kakinuma, G. Tamura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1968**, *31*, 488-494.

²⁵ P. Singh, S. Singh Cameotra, *TRENDS in Biotechnology* **2004**, *22*, 142-146.

²⁶ V. S. V. Santos, E. Silveira, B. B. Pereira, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* **2018**, *21*, 382-399.

²⁷ K. M. Krause, A. W. Serio, T. R. Kane, L. E. Connolly, *Cold. Spring. Harb. Respect. Med.* **2016**, *6*, a027029.

²⁸ M. A. T. Blaskovich, K. A. Hansford, M. S. Butler, Z. G. Jia, A. E. Mark, M. A. Cooper, *Am. Chem. Soc., Infect. Dis.* **2018**, *4*, 715-735.

bedingt.^[28] Telavancin (**20**, Abbildung 4), ein Glycopeptid der zweiten Generation und ein Derivat des ersten isolierten Glycopeptids Vancomycin, besitzt durch die zusätzliche lipophile Seitenkette ein verbessertes Wirkspektrum, sowie durch die Einführung des Phosphonsäure-Restes bessere ADME^[29]-Eigenschaften.^[28] Glycopeptide sind nur bei GRAM-positiven Erregern effektiv und werden als Standard-Therapie für MRSA verwendet.^[28]

1.2.8 Tigecyclin, ein Vertreter der Tetracycline

Tetracycline zählen zu den Breitband-Antibiotika. Sie finden in der Viehzucht als Wachstumsverstärker Anwendung und zählen zu den günstigsten Verbindungen aller Antibiotika-Klassen.^[30] Tigecyclin (**19**, Abbildung 4), das erste Glycylcyclin in klinischer Anwendung und das erste neuzugelassene Tetracyclin seit Jahrzehnten, wird zur dritten Generation der Tetracycline gezählt. Es überkommt die meisten für Tetracycline üblichen Resistenzen und besitzt darüber hinaus ein ausgeweitetes Anwendungsspektrum (*extended spectrum antibiotics*).^[31] Tetracycline wirken durch die Inhibierung der Proteinbiosynthese, indem sie die Komplexbildung der 30S Untereinheit des Ribosoms mit der Aminoacyl-*t*RNA verhindern.^[32] Resistenzbildung gegen Tetracycline erfolgt oft durch selektive und nicht-selektive Efflux-Pumpen, sowie durch Schutz-Proteine, welche das Ribosom abschirmen.^[32]

1.2.9 Rifampicin, ein Vertreter der Ansamycine

Rifamycine gehören zu den Ansamycin-Antibiotika. Sie wirken hauptsächlich auf GRAM-positive Bakterien wie zum Beispiel *Mycobacterien* sowie auf einige GRAM-negative Bakterien. Die Wirkung beruht auf der Inhibierung der DNA-abhängigen RNA-Polymerasen. Da eine schnelle Resistenzbildung erfolgt, werden die Rifamycine wie das Rifampicin (**21**, Abbildung 4) in Kombination mit anderen Antibiotika verabreicht. Rifampicin ist ein Derivat der zweiten Generation der Rifamycine, welches über verbesserte ADME-Eigenschaften verfügt.^[33]

²⁹ ADME – Adsorption, Distribution, Metabolismus, Elimination

³⁰ R. Daghri, P. Drogui, *Environ. Chem. Lett.* **2013**, *11*, 209-227.

³¹ D. M. Livermore, *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *56*, 611-614.

³² I. Chopra, M. Roberts, *Microb. Mol. Biol. Rev.* **2001**, *65*, 232-260.

³³ H. G. Floss, T.-W. Yu, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 621-632.

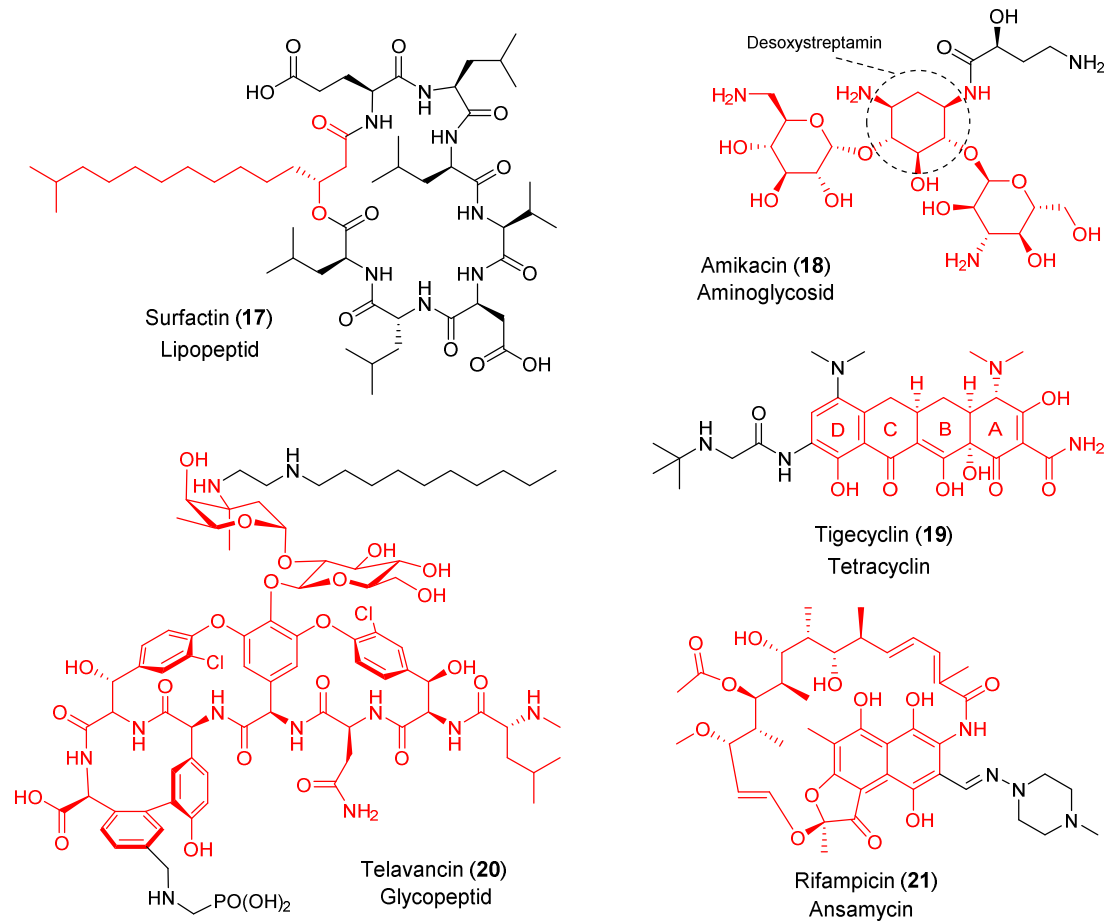


Abbildung 4: Weitere Antibiotika-Klassen. Surfactin (17): β -Hydroxy-Fettsäure farblich hervorgehoben; Amikacin (18): Kanamycin-Gerüst farblich hervorgehoben, Streptamin durch Kreis hervorgehoben; Telavancin (20): Vancomycin-Gerüst farblich hervorgehoben; Tigecyclin (19): Pharmakophor farblich hervorgehoben; Rifampicin (21): Rifamycin SV-Gerüst hervorgehoben.

1.3 Peptidische Naturstoffe

Obleich bereits viele Naturstoffe mit vielen unterschiedlichen biologischen Aktivitäten isoliert wurden, ist es dennoch von essentieller Bedeutung, weitere Naturstoffe zu isolieren und zu analysieren. Insbesondere auf dem Gebiet der Antibiotika werden aufgrund der Resistenzbildung neuartige Antibiotika-Klassen benötigt, welche sich hinsichtlich des Wirkmechanismus von anderen Antibiotika hinreichend unterscheiden, um Kreuzresistenzen zu minimieren. Die nachfolgenden Beispiele von peptidischen Naturstoffen sollen als Beweis dafür angesehen werden, dass immer noch neuartige Naturstoffe mit biologisch wertvollen Eigenschaften gefunden werden können.

1.3.1 Yaku'Amid B

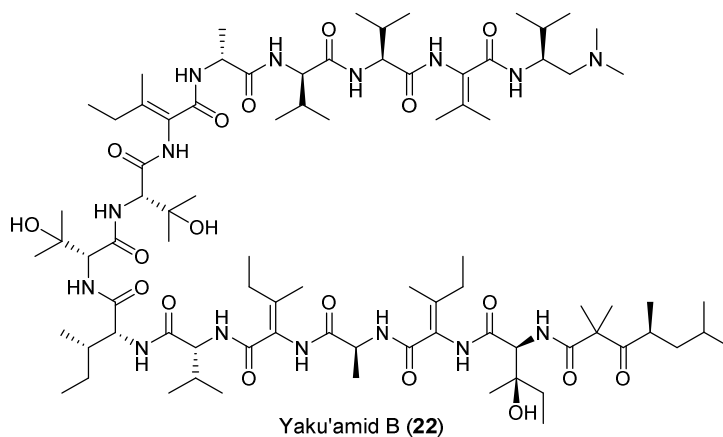


Abbildung 5: Struktur von Yaku'Amide B (22).

Isoliert aus *Ceratopsion sp.*, einem Tiefseeschwamm aus der ostchinesischen See^[34], stellt das Yaku'Amid B (22, Abbildung 5) ein wirkungsvolles Cytostatikum dar.^[35] Das lineare Peptid beinhaltet eine Reihe nicht proteinogener Aminosäuren, darunter Dehydrovalin, Dehydroisoleucin (*E*- u. *Z*-Isomere), 3-Hydroxyisoleucin, 3-Hydroxyvalin, sowie ein chirales Amin am *C*-Terminus und eine chirale β -Ketosäure am *N*-Terminus.^[36] Die cytostatische Wirkung beruht auf der Hemmung der F_0F_1 -ATP-Synthase in den Mitochondrien, sowie der Verstärkung der ATP-Hydrolyse. Infolgedessen wird ein ATP-Mangel herbeigeführt, der das weitere Wachstum der Zelle unmöglich macht. Dieser neuartige Mechanismus macht das Yaku'Amid B zu einem potentiellen Antitumor-Reagenz.^[35]

³⁴ R. Ueoka, Y. Ise, S. Ohtsuka, S. Okada, T. Yamori, S. Matsunaga, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17692-17694.

³⁵ K. Kitamura, H. Itoh, K. Sakurai, S. Dan, M. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 12189-12199.

³⁶ a) T. Kuranaga, Y. Sesoko, K. Sakata, N. Meada, A. Hayata, M. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5467-5474; b) T. Kuranaga, H. Mutoh, Y. Sesoko, T. Goto, S. Matsunaga, M. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9443-9451.

1.3.2 GE81112

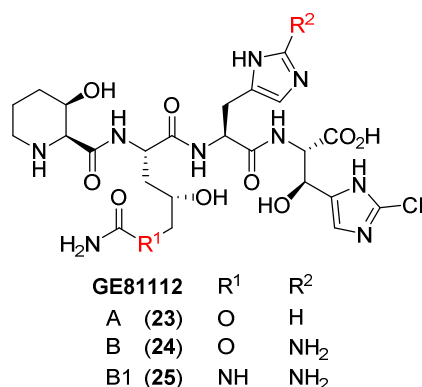


Abbildung 6: Struktur von GE81112 (A, 23), (B, 24), (B1, 25).

GE81112 steht für eine Gruppe von antibiotisch wirksamen, nicht-ribosomalen und linearen Tetrapeptiden, welche aus einigen Streptomyceten isoliert wurden (Abbildung 6). Sie werden in (A, 23), (B, 24) und (B1, 25) unterschieden.^[37]

GE81112 (A) besteht aus vier L-Aminosäuren, beginnend beim *N*-Terminus mit 3-Hydroxy-pipecolinsäure (HPA), 2-Amino-5-[(aminocarbonyl)oxy]-4-hydroxypentansäure (AAHPA), Histidin und Chlorhydroxyhistidin [2-(5-Chlorimidazolyl)serin]. Für das GE81112 (A) wurde eine Totalsynthese beschrieben.^[38] GE81112 (B) und (B1) besitzen im Gegensatz zu (A) anstelle des Histidins ein 5-Aminohistidin. Darüber hinaus wurde bei (B1) anstelle des Urethans eine Harnstoff-Gruppe gefunden.

Bei den Peptiden handelt es sich um Bakteriostatika, welche die Protein-Biosynthese inhibieren. Sie sind gegen einige GRAM-negative und GRAM-positive Bakterien wirksam.^[37] Die genaue Aktivität gegenüber vielen Bakterien ist bis *dato* nur schwierig zu bestimmen, da GE81112 mit anderen Oligopeptiden um die bestehenden Transportwege in die bakteriellen Zellen konkurriert und daher eine genaue Messung in Komplett-Medien erschwert ist.

Innerhalb der Zelle bindet das GE81112 an die P-Seite der 30S-Untereinheit. Hierdurch kommt es zu einer Konformationsänderung, wodurch die Interaktion der fMet-*t*RNA mit der RNA gestört ist. Infolgedessen kann der 30S-PIC (*pre-initiation complex*) nicht in den „locked“-Status übergehen, der für den Zusammenschluss der 30S-Untereinheit mit der 50S-Untereinheit zum vollständigen 70S-Ribosom notwendig ist.^[39]

³⁷ a) L. Brande, A. Lazzarini, L. Cavaletti, M. Abbondi, E. Corti, I. Ciciliato, L. Gastaldo, A. Marazzi, M. Feroggio, A. Fabbretti, A. Maio, L. Colombo, S. Donadio, F. Marinelli, D. Losi, C. O. Gualerzi, E. Selva, *Biochemistry* **2006**, *45*, 3692-3702; b) A. Maio, L. Brandi, S. Donadio, C. O. Gualerzi, *Antibiotics*. **2016**, *5*, 17.

³⁸ G. Jürjens, S. M. M. Schuler, M. Kurz, S. Petit, C. Couturier, F. Jeannot, F. Nguyen, R. C. Wende, P. E. Hamman, D. N. Wilson, E. Bacqué, C. Pöverlein, A. Bauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 12157-12161.

³⁹ Y. S. Polikanov, N. A. Aleksashin, B. Beckert, D. N. Wilson, *Front. Mol. Biosci.* **2018**, *5*, 00048.

1.3.3 Cystobactamide

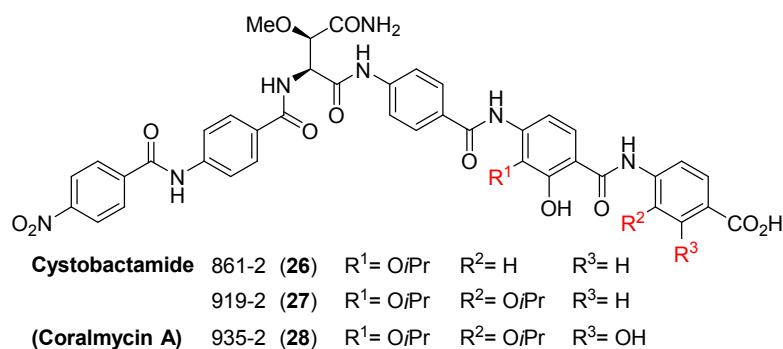


Abbildung 7: Struktur der Cystobactamide 861-2 (**26**), 919-2 (**27**), 935-2 (**28**).

Aus *Cystobacter* sp. wurden eine Reihe *para*-Aminobenzoesäure-(PABA)-haltiger Peptide isoliert (Abbildung 7, **26**, **27**), welche Cystobactamide getauft wurden und welche sich als wirksam gegen einige GRAM-negative sowie einige GRAM-positive Erreger erwiesen. Zu den besonders aktiven Vertretern dieser Gruppe gehören das Cystobactamid 861-2 (**26**) sowie das 919-2 (**27**).^[40,41] Weitere Derivate wie z.B. das 935-2 (**28**) bzw. Coralmycin A konnten auch aus dem aus Korea stammenden Myxobakterium *Corallococcus coraloides* M23 isoliert werden.^[42] Die Gruppe der Naturstoffe besitzt darüber hinaus auch starke strukturelle Ähnlichkeit mit den Albicidinen.^[43]

Stukturelle Besonderheiten sind neben den unterschiedlich substituierten PABA-Derivaten auch der Methoxyasparagin-Linker, welcher sich als besonders wichtig für die biologische Aktivität herausgestellt hat. Von allen getesteten Derivaten ist 861-2 (**26**) biologisch am aktivsten.

Bei den Cystobactamiden handelt es sich um Gyrase-Gifte mit einer vergleichbaren biologischen Aktivität wie sie bei den Fluorochinolonen wie Ciprofloxacin beobachtet wird. Experimente in *E. coli* weisen darauf hin, dass die primäre Bindungsstelle die GyrA-DNA-Schnittstelle darstellt. Zu Ciprofloxacin liegt nur eine teilweise Kreuzresistenz vor, was darauf hindeutet, dass der Bindungsmodus nicht exakt identisch zu den Fluorochinolonen ist.

⁴⁰ 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.

⁴¹ S. Hüttel, G. Testolin, J. Herrmann, T. Planke, F. Gille, M. Moreno, M. Stadler, M. Brönstrup, A. Kirschning, R. Müller, *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12934-12938.

⁴² Y. J. Kim, H.-J. Kim, G.-W. Kim, K. Cho, S. Takahashi, H. Koshino, W.-G. Kim, *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 2223-2228.

⁴³ a) R. G. Birch, S. S. Patil, *Microbiol. Soc. ehem. J. Gen. Microbiol.* **1985**, *131*, 1069-1075; b) J. Kretz, S. Kerwat, V. Schubert, S. Grätz, A. Pesic, S. Semsary, S. Cociancich, M. Royer, R. D. Süßmuth, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1992-1996.

1.4 Myxovalargin, ein Antibiotikum aus *Myxococcus fulvus* Mx f65

1.4.1 Isolation, Struktur und biologische Aktivität

Das nicht-ribosomale Peptid wurde aus dem Myxobakterium *Myxococcus fulvus* Mx f65 isoliert,^[44] einem Bakterium, das ursprünglich Teil einer Bodenprobe aus dem Kaiserstuhl-Gebirge war. Die erste öffentliche Erwähnung des Myxovalargins erfolgte bereits im Jahre 1981.^[45]

Das auf den Namen Myxovalargin A (**29**, Abbildung 8 - im Folgenden Myxovalargin genannt) getaufte, lineare Peptid besitzt eine Sequenz von 14 kanonischen und nicht-kanonischen Aminosäuren, deren C-Terminus auf dem Amin Agmatin und deren N-Terminus auf der Carbonsäure 3-Methylbutansäure endet. Die exakte Sequenz wurde durch STEINMETZ^[46] ursprünglich wie folgt ausgehend vom C-Terminus bestimmt: Agmatin, D-3-Hydroxyvalin, D-Alanin, (*E*)-Dehydroisoleucin, D-Valin, D-Valin, D-Arginin, Dehydrovalin, L-Valin, (*S*)- β -Tyrosin, D-Valin, D-Valin, *N*-Methyl-L-alanin, L-Alanin, Dehydrovalin, 3-Methylbutansäure. Jedoch sagen neue bioinformatische Untersuchungen eine alternative Konfiguration für die Valine „5“ und „8“ voraus (siehe Kapitel 2, Zielsetzung).

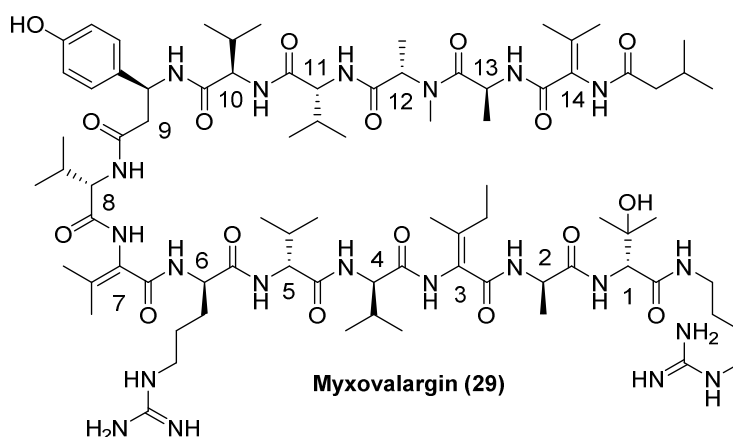


Abbildung 8: Nach STEINMETZ^[46] festgelegte Struktur des Myxovalargin A (**29**).

Als strukturelle Besonderheiten sind das (*S*)- β -Tyrosin (Abbildung 8, AS-9), sowie Dehydrovalin (AS-7 u. AS-14) und (*E*)-Dehydroisoleucin (AS-3) zu nennen. Die vorwiegend unpolare Sequenz erhält durch die Arginin- und die Agmatin-Seitenketten einen kationischen Charakter in wässriger Lösung. Die Untersuchungen der biologischen Aktivität^[47] zeigen, dass das Myxovalargin vorrangig gegen GRAM-positive Bakterien wirkt (0.3-5.0 $\mu\text{g/mL}$) und erst bei höherer Konzentration (6-50 $\mu\text{g/mL}$) ebenfalls Wirkung gegen GRAM-negative Bakterien aufweist, während es gegenüber Pilzen wirkungslos bleibt (Tabelle 1).

⁴⁴ H. Irschik, K. Gerth, T. Kemmer, H. Steinmetz, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1983**, 36, 6-12.

⁴⁵ T. Kemmer, S. Santoso, H. Steinmetz, H. Irschik, L. Witte, G. Hoefle, *Int. Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Act. Nat. Prod.*, 1st **1981**, 3, 285-289.

⁴⁶ H. Steinmetz, H. Irschik, H. Reichenbach, *Sixth USSR-FRG Symposium on Chemistry on Peptides and Proteins*, Hamburg **1987**, abgedruckt in *Chemistry of Peptides and Proteins*, Vol. 4, ed. W. Voelter, Atempo Verlag Tübingen **1989**, S. 13-18.

⁴⁷ H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1985**, 38, 1237-1245.

Tabelle 1: MIC in Lösung^[47]

Test-Organismus	MIC* (µg/mL)
<i>Corynebacterium mediolanum</i>	5
<i>Bacillus subtilis</i>	0.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.6
<i>Micrococcus luteus</i>	0.3
<i>Salmonella typhimurium</i>	6
<i>Escherichia coli</i>	6
<i>Serratia marcescens</i>	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
<i>Pseudomonas aerobacter</i>	25
<i>Proteus morgani</i>	50
<i>Proteus mirabilis</i>	100
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	>100
<i>Candida albicans</i>	>100

*MIC – *minimal inhibitory concentration* – minimale Hemmkonzentration

Hinsichtlich des Wirkmechanismus⁴ wurde festgestellt, dass das Myxovalargin bereits bei sehr geringen Konzentrationen die bakterielle Proteinbiosynthese hemmt. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass zeitlich verzögert oder bei erhöhten Konzentrationen ebenfalls die RNA- und DNA-Synthesen unterbunden werden. Außerdem tritt zeitlich verzögert und konzentrationsabhängig eine Störung des Sauerstofftransfers durch die Membran auf. IRSCHIK führt dies auf unterschiedliche biologische Aktivitäten zurück.^[47]

In vitro Experimente legen nahe, dass die primäre Wirkung darauf beruht, dass das Myxovalargin in einer frühen Stufe der Proteinbiosynthese eingreift. Aus denselben Experimenten schlussfolgert IRSCHIK, dass Myxovalargin wahrscheinlich an die A-Seite des bakteriellen Proteosoms bindet.^[47]

Als Sekundärwirkung kommt es durch den lipophilen und kationischen Charakter des Myxovalargins wahrscheinlich zu starken Interaktionen mit der Zellmembran, deren Permeabilität hierdurch stark beeinträchtigt wird. Diese sekundäre Interaktion mit der Zellmembran wird ebenfalls als Ursache für die nicht unerhebliche Toxizität des Myxovalargins im Rattenversuch (LD₅₀= 10 mg/kg) angesehen. Vergleichbare Wechselwirkungen von Peptidantibiotika mit Zellmembranen sind bekannt.^[48] Auch die verzögerten Inhibierungen der RNA- und DNA-Synthesen werden als mögliche Folgen der Membran-Interaktion angesehen.

⁴⁸ J. Li, J.-J. Koh, S. Liu, R. Lakshminarayanan, C. S. Verma, R. W. Beuerman, *Front. Neurosci.* **2017**, *11*, Art. Nr. 73, <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00073>.

1.4.2 Biosynthese des Myxovalargins

Zur möglichen Biosynthese des Myxovalargins existiert eine Dissertation von SCHULZ^[49], die sich in erster Linie auf Verfütterungsexperimente stützt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Auszug über die von SCHULZ^[49] durchgeführten Verfütterungsexperimente

Verfütterung von Isotopenmarkierten Bausteinen ^a	Relative Häufigkeit ^b	Beschreibung der Resultate	Deutung
D-Alanin	0	nicht-eingebaut	Epimerasen liegen vor
D-Valin	0	nicht-eingebaut	Epimerasen liegen vor
L-Alanin	1.4	Signal unerwartet niedrig	Evtl. werden ein oder mehrere Alanin-Bausteine durch einen alternativen Syntheseweg gewonnen
L-Asparaginsäure	0	nicht-akzeptiert	L-Asparaginsäure kein synthetischer Vorläufer von L/D-Alanin
L-Serin	0	nicht-eingebaut	L-Serin kein synthetischer Vorläufer von L/D-Alanin
L-N-(Methyl- ¹⁴ C)-alanin	0	nicht-eingebaut	N-Methylalanin wird nicht akzeptiert
L-Methionin (S-Methyl- ¹⁴ C)	1.6	wird eingebaut	SAM-abhängige Methylierung findet statt
L-Valin	5.2	fünfmal verbaut, Ketosäuren aus dem Totalhydrolysat sind nicht markiert	L-Valin ist kein synthetischer Vorläufer von Dehydrovalin. L-Valin ist wahrscheinlich auch kein Vorläufer von 3-Hydroxy-D-valin
L-Isoleucin	1.4	wird einmal verbaut	L-Isoleucin ist synthetischer Vorläufer von Dehydroisoleucin
L-Arginin	2.4	wird zweimal verbaut	Agmatin ist ein Abbauprodukt von L-Arginin
1-[1,2- ³ H (N)]-Agmatin	3.8	wird eingebaut	Agmatin wird unabhängig von der Myxo-NRPS synthetisiert und ist ein regulärer Baustein
L-Leucin	1.1	wird eingebaut	3-Methylbutansäure-Baustein ist ein Abbauprodukt von L-Leucin
L-Tyrosin	0.5	wird eingebaut	L-Tyrosin ist synthetischer Vorläufer von (S)- β -Tyrosin
L-Phenylalanin	1.0	wird eingebaut	L-Phenylalanin ist ein bekannter Vorläufer von L-Tyrosin

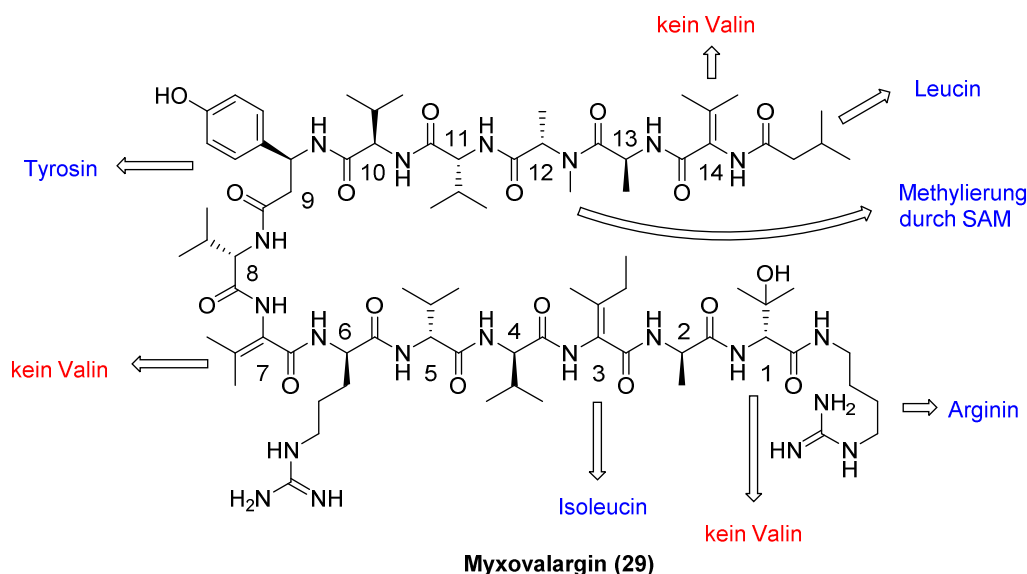
^a Wenn nicht anders erwähnt, wurden [U-¹⁴C]-Isotope verwendet; ^b Einheit in Anzahl verbauter isotopenmarkierter Vorläufer pro Myxovalarginmolekül [mol/mol] normiert auf den Einbau von Phenylalanin, es handelt sich um Durchschnittswerte aus zwei Verfütterungsexperimenten.

Zunächst wurde nachgewiesen, dass D-Alanin und D-Valin nicht akzeptiert werden, wodurch davon ausgegangen werden kann, dass Epimerasen an der Biosynthese beteiligt sind. Interessanterweise wurde bei der Verfütterung von L-Alanin beobachtet, dass dieses nur bis zu zweimal (1,4 Mal) in der Struktur verbaut wird. Dies könnte bedeuten, dass ein bis zwei Alanin-Bausteine von anderen Aminosäuren abgeleitet wurden. Als denkbare Beispiel nennt SCHULZ hier die Asparaginsäure,

⁴⁹ R. Schulz, Dissertation: *Untersuchungen zur Biosynthese von Myxovalargin, einem Antibiotikum aus Myxococcus fulvus (Myxobacterales)*, Technische Universität Carolo-Wilhelmina, Braunschweig **1984**, S. 90-103.

welche über eine Decarboxylase in Alanin überführt werden könnte, jedoch konnte gezeigt werden, dass Asparaginsäure nicht verbaut wird. Eine weitere Möglichkeit wäre Serin in Kombination mit einer Epimerase/Dehydratase und einer Reduktase zum Alanin. Ein solcher Mechanismus ist aus der Biosynthese von ribosomalen Peptid-Antibiotika wie zum Beispiel den Lantibiotika bekannt.^[50] Jedoch konnte auch hier gezeigt werden, dass L-Serin wahrscheinlich kein Vorläufer der Alanine ist. Weshalb das Signal für Alanin hier besonders niedrig ausfällt, bleibt also weiterhin offen.

Dass die Methylierung zu *N*-Methyl-L-alanin erst während der nicht-ribosomalen-Peptidsynthese (NRPS) oder nach der NRPS erfolgt, konnte dadurch gezeigt werden, dass *N*-Methyl-L-alanin nicht verbaut wird, während die Verfütterung von L-Methionin(S-Methyl-¹⁴C) zu markiertem *N*-Methylalanin im Totalhydrolysat führte.



Schema 1: Übersicht über die durch Fütterungsexperimente erhaltenen Informationen für die Biosynthese des Myxovalargins (29). Einige synthetische Vorläufer sowie die Beteiligung von SAM wurden nachgewiesen. Synthetischer Vorläufer von Dehydrovalin bleibt bisher unbekannt (Rot).

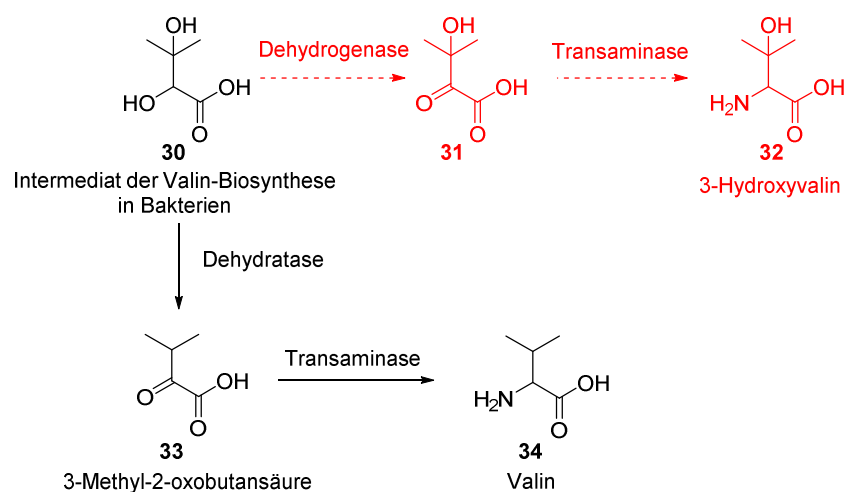
Durch die Experimente mit isotope markiertem Arginin konnte wiederum gezeigt werden, dass es sich bei dem am C-Terminus befindlichen Agmatin um ein Abbauprodukt aus Arginin handelt. Zudem konnte gezeigt werden, dass isotope markiertes Agmatin ebenfalls akzeptiert wird, sodass es wahrscheinlich ist, dass der Agmatin-Baustein unabhängig von Myxovalargin-NRPS an anderer Stelle produziert wird.

Ebenso konnte gezeigt werden, dass die am N-Terminus befindliche 3-Methylbutansäure ein Abbauprodukt von Leucin ist.

Bei der Verfütterung von isotope markiertem L-Valin wurde festgestellt, dass nur fünf der acht möglichen Valin-Positionen (Schema 1, 8 mögliche Valin-Positionen: AS 1, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 14) tatsächlich Valin-Bausteinen entsprechen, sodass es wahrscheinlich ist, dass 3-Hydroxy-D-valin sowie beide Dehydrovaline nicht aus Valin gebildet wurden. Zur weiteren Stütze dieser These zieht SCHULZ

⁵⁰ P. D. Cotter, P. M. O’Conner, L. A. Draper, E. M. Lawton, L. H. Deegan, C. Hill, R. P. Ross, *PNAS* **2005**, *102*, 18584-18589.

heran, dass bei der Totalhydrolyse des markierten Myxovalargins, die aus Dehydrovalinen freigesetzten α -Ketosäuren ebenfalls keine Markierung aufwiesen. SCHULZ zieht den möglichen Analogieschluss zu Dehydroalanin-enthaltenden Naturstoffen, in welchen Serin häufig als Vorläufer von Dehydroalanin beobachtet wird. Dieses wird durch eine Dehydratase in das Dehydroalanin überführt. In Analogie zu Dehydroalanin würde entsprechendes 3-Hydroxyvalin in der NRPS verbaut werden und durch weitere Modifikationen in das Dehydrovalin überführt werden. Ein möglicher Vorläufer wäre die 2,3-Dihydroxy-3-methyl-butansäure (**30**), ein bekanntes Intermediat der bakteriellen Valin-Synthese (Schema 2).^[51] Anstelle über eine Dehydratase und Transaminase wie bei der Valin-Synthese könnte eine Dehydrogenase zunächst zur 3-Hydroxy-3-methyl-2-oxobutansäure (**31**) führen, welche anschließend über eine Transaminase in das 3-Hydroxyvalin (**32**) überführt werden könnte.

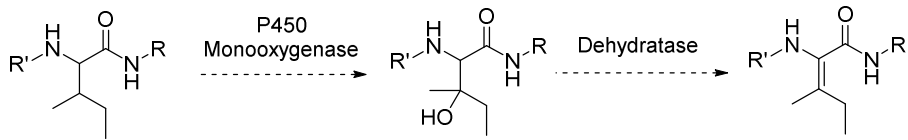


Schema 2: Hypothese zur Biosynthese von 3-Hydroxyvalin. Von der Valin-Biosynthese abweichende Biosynthese hervorgehoben.

Im Kontrast hierzu konnte SCHULZ zeigen, dass das Dehydroisoleucin sehrwohl aus Isoleucin gebildet wird. Dies könnte ähnlich wie bei dem Dehydrotyrosin-Baustein des Peptid-Naturstoffs WS9326^[52] durch eine P450 Monooxygenase in Kombination mit einer Dehydratase erfolgen (Schema 3).

⁵¹ C.-Y. Chen, T.-P. Ko, K.-F. Lin, B.-L. Lin, C.H. Huang, C.-H. Chiang, J.-C. Horng, *Nat. Sci. Rep.* **2018**, *8*, Art. Nr. 7176.

⁵² a) M. Hashimoto, K. Hayashi, M. Murai, T. Fujii, M. Nishikawa, S. Kiyoto, M. Okuhara, M. Kohsaka, H. Imanaka, *J. Antibiot.* **1992**, *45*, 1064-1070; b) S. Zhang, J. Zhu, D. L. Zechel, C. Jessen-Trefzer, R. T. Eastman, T. Paululat, A. Bechthold, *Chembiochem.* **2018**, *19*, 272-279.



Schema 3: Hypothese zur Biosynthese von Dehydroisoleucin.

Schließlich konnte gezeigt werden, dass L-Tyrosin ein Vorläufer von (*S*)- β -Tyrosin darstellt. Wie später gezeigt werden konnte, erfolgt dies mithilfe einer 2,3-Aminomutase.^[53]

⁵³ a) C. V. Christianson, T. J. Montavon, G. M. Festin, H. A. Cooke, B. Shen, S. D. Bruner, *J. Am. Chem. Soc., Commun.* **2007**, 129, 15744-15745; b) D. Krug, R. Müller, *ChemBioChem* **2009**, 10, 741-750.

2 Zielsetzung

Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei Myxovalargin um ein peptidisches Antibiotikum mit neuartigem Wirkmechanismus, dessen Wirkspektrum einige GRAM-positive Erreger umfasst und das bei höherer Konzentration auch wirksam gegen einige GRAM-negative Bakterien ist. Ziel dieser Arbeit ist zum einen Teil die Totalsynthese von Myxovalargin, um den Strukturvorschlag von STEINMETZ^[46] zu verifizieren und den synthetischen Zugang von Strukturderivaten zu ermöglichen. Unveröffentlichte Ergebnisse bezüglich einer Gencluster-Analyse der Myxovalargin-NRPS sagen für zwei Aminosäuren des von STEINMETZ veröffentlichten Strukturvorschlags eine alternative Konfiguration^[54] voraus. Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit die Totalsynthese beider Isomere **29** und **35** (Abbildung 9) angestrebt.

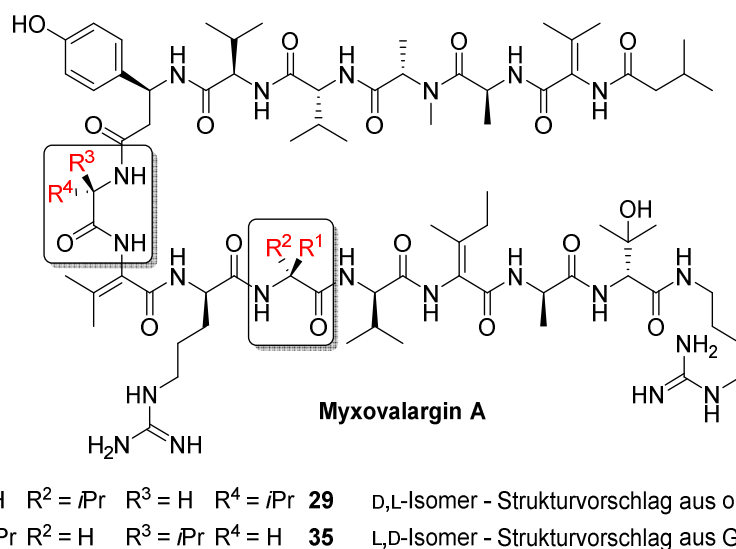


Abbildung 9: Von STEINMETZ postulierte Struktur für Myxovalargin (**29**) sowie ein alternativer Vorschlag aus einer Gencluster Analyse (**35**).

In einem weiteren Teil dieser Arbeit soll im Rahmen eines Netzwerkforschungsprogrammes mit der SANOFI AG Deutschland außerdem die Möglichkeit einer Strukturvereinfachung untersucht werden. Der Naturstoff Myxovalargin (**29**) besitzt für eine schnelle und einfache Synthese schwer zu synthetisierende strukturelle Besonderheiten. Insbesondere die Inkorporation der Dehydroaminoacide Dehydrovalin und (*E*)-Dehydroisoleucin in die Myxovalargin Struktur sind bisher nur unter großem Aufwand, in mäßigen Ausbeuten und kleinen Maßstäben möglich.^[55, 56]

Die Derivatisierung der Myxovalargin Leitstruktur fokussiert sich dabei auf die partielle bzw. komplette Substitution der Dehydroaminoacide und des 3-Hydroxyvalins durch die jeweils

⁵⁴ Konfiguration der Aminosäuren wurde mithilfe des EDMAN-Abbaus und der Analyse der Drehwinkel der daraus resultierenden Hydantoin-Derivate ermittelt.

⁵⁵ F. Gille, Promotionsschrift, Leibniz Universität Hannover, Hannover **2015**.

⁵⁶ F. Gille, A. Kirschning, *Beilstein J. Chem.* **2016**, *12*, 564-570.

entsprechenden kanonischen Aminosäuren (Abbildung 10). Bedingt durch die Vereinfachung der molekularen Struktur soll diesbezüglich ebenfalls die Möglichkeit einer Festphasenpeptidsynthese diskutiert werden.

Da bereits bewiesen werden konnte, dass die üblichen Methoden für Peptidkupplungen bei Dehydroaminosäuren versagen^[55,57], soll zunächst eine Festphasenpeptidsynthese für solche Fragmente angestrebt werden, die keine Dehydroaminosäuren enthalten. Molekülbausteine, welche Dehydroaminosäuren enthalten, sollen hingegen in Lösung dargestellt werden. Die sich anschließende Kupplung der Fragmente soll entweder in Lösung oder auf der Festphase erfolgen.

Durch diese Derivatisierung sollen Erkenntnisse über Struktur-Wirkbeziehungen und Ansatzpunkte für eine spätere Strukturoptimierung gewonnen werden, um so die pharmakologischen Eigenschaften des Myxovalargins zu verbessern, welches zusätzlich zu seinem antibakteriellen Potential auch über eine gewisse Toxizität ($LD_{50, \text{Ratte}} = 10 \text{ mg/Kg}$) verfügt.^[47]

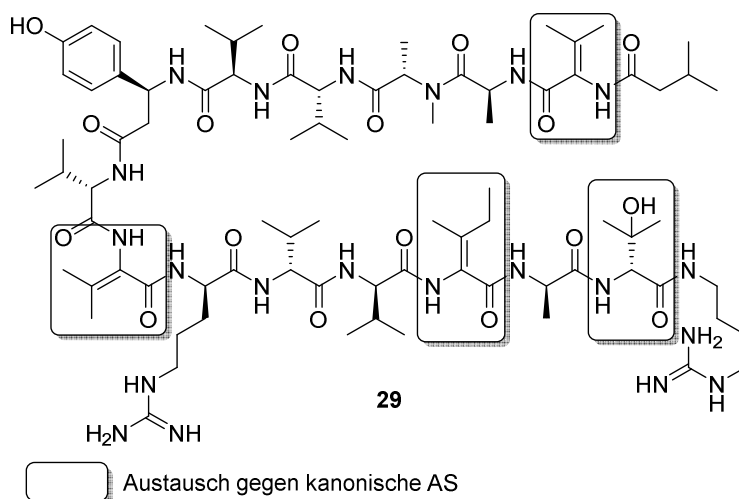
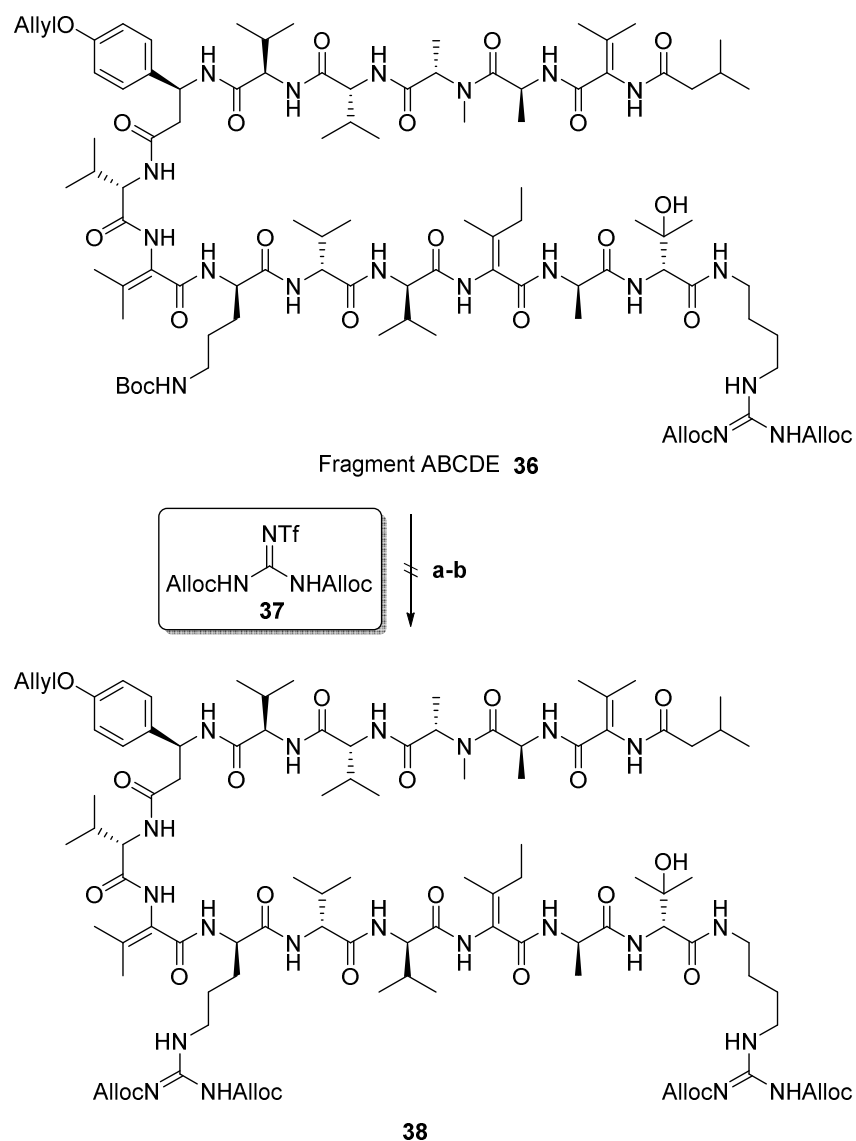


Abbildung 10: Myxovalargin (29). Hervorgehoben sind die Strukturmerkmale, welche im Zuge der Derivatisierung verändert werden sollen.

⁵⁷ F. Gille, Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2012.

3 Diskussion der Ergebnisse – Teil 1: Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin

3.1 Vorarbeiten und Retrosynthese



Schema 4: Von GILLE durchgeführte Reaktionen zur Einführung der Guanidin-Funktion der Arginin Seitenkette mittels des Guanidinierungsreagenzes von GOODMAN.^[55,77] a) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min; b) **37**, DIPEA, CH₂Cl₂, RT, 18 h.

Zu Myxovalargin existieren bereits einige Vorarbeiten von GILLE in Form einer Masterarbeit^[57] und einer Doktorarbeit^[55] sowie einer Publikation^[56], welche sich mit der Totalsynthese des Myxovalargins und mit dem Aufbau von α,β -ungesättigten Aminosäuren unter GOLDBERG-Bedingungen befassen.

In ihren Vorarbeiten gelang GILLE die formelle Synthese des Myxovalargin-Grundgerüsts (**36**, Schema 4). Die späte Einführung der Guanidin-Seitenkette war jedoch nicht erfolgreich, da unter den gewählten Bedingungen das Substrat zerstört wurde. Für weitere Versuche war nicht mehr ausreichend Material vorhanden, sodass es nicht möglich war nahtlos auf die Ergebnisse von GILLE aufzubauen, da

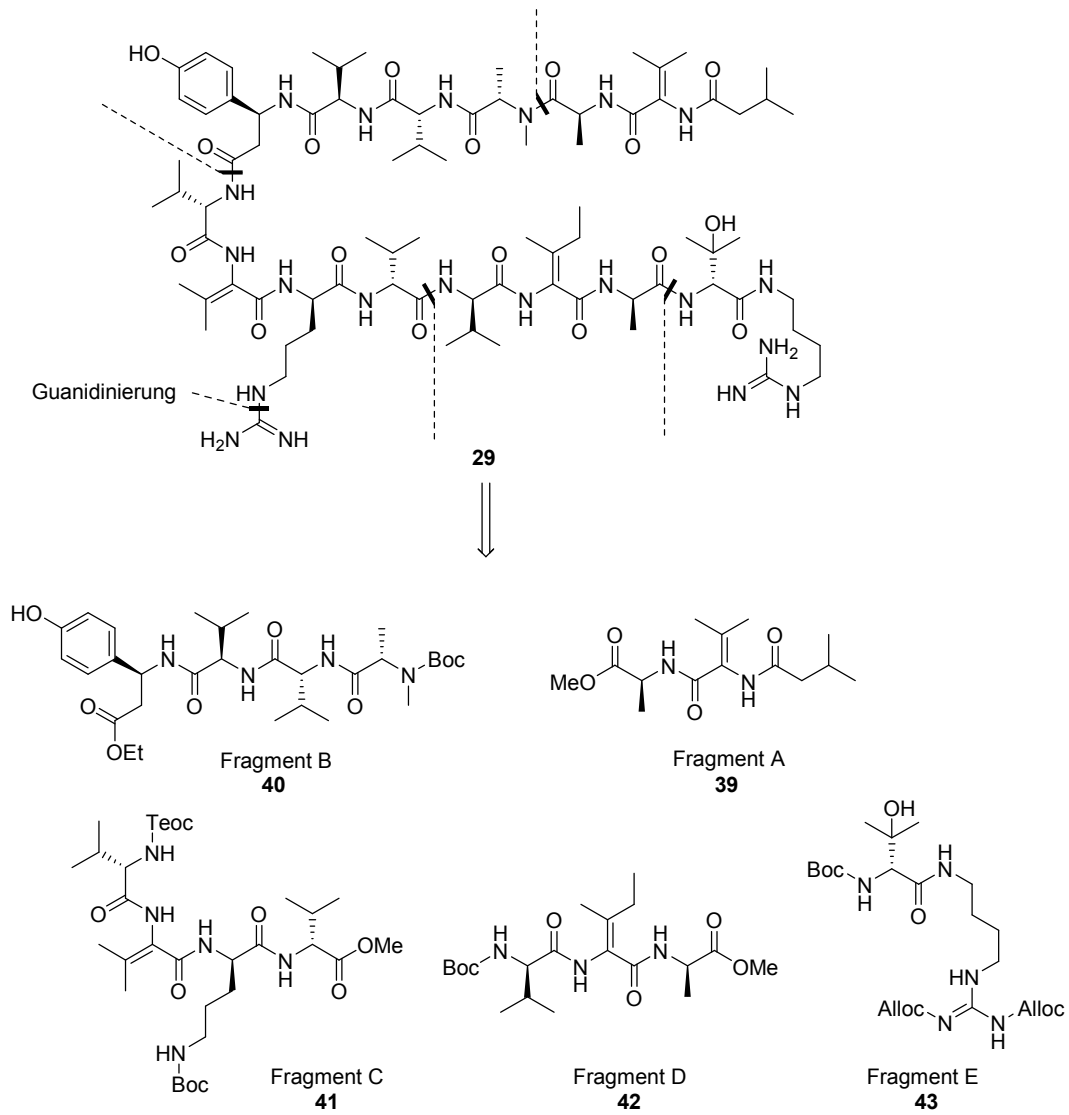
zunächst neues Material synthetisiert werden musste. Vor diesem Hintergrund, dass durch die angestrebte Totalsynthese auch Derivate der Struktur zugänglich gemacht werden sollten, wurde ebenfalls versucht, die Reaktionen in größerem Maßstab durchzuführen und, wo notwendig, auch Synthesen weiter zu optimieren. Besonderen Optimierungsbedarf sah der Autor bei der Synthese der Fragmente A (**39**), C (**41**) und D (**42**), da Ausbeute und Maßstabgröße bei der Synthese dieser Fragmente nicht zufriedenstellend waren.^[58]

Auf die dargestellten Ergebnisse aufbauend fußt die in dieser Promotion angewandte Synthese-Route auf der Retrosynthese von GILLE und teilt das Molekül in fünf Teile auf, wobei die Fragmente entgegen dem Uhrzeigersinn und vom *N*-Terminus hin zum *C*-Terminus aufsteigend mit den Buchstaben A-E benannt wurden (Schema 5). Die Schutzgruppenstrategie sieht dabei eine finale Entschützung aller Funktionalitäten in Form von Allyl- und Alloc-Gruppen vor. In Anlehnung an die Retrosynthese von GILLE soll die Guanidin-Funktion der Arginin-Seitenkette zu einem späteren Zeitpunkt eingeführt werden.

Schließlich sollen zwei Konfigurationsisomere des Fragmentes C, namentlich C1 (**41**) und C2 (**44**) dargestellt werden (Abbildung 11), da sich die aus dem EDMAN-Abbau abgeleitete Konfiguration der im Fragment C enthaltenen Valin-Einheiten (C1 (**41**)) von der Vorhersage durch eine Gen-Cluster-Analyse der Myxovalargin-NRPS unterscheidet (C2 (**44**)) (vgl. Kap. 2, Zielsetzung).

Weitere Informationen zu vorangegangenen Synthesen der einzelnen Fragmente werden zu Beginn der Diskussion eines jeden einzelnen Fragmentes erläutert.

⁵⁸ Für weitere Informationen verweist der Autor auf die Kapitel, welche sich mit der Synthese dieser drei Fragmente befassen.



Schema 5: Retrosynthese von Myxovalargin **29**.

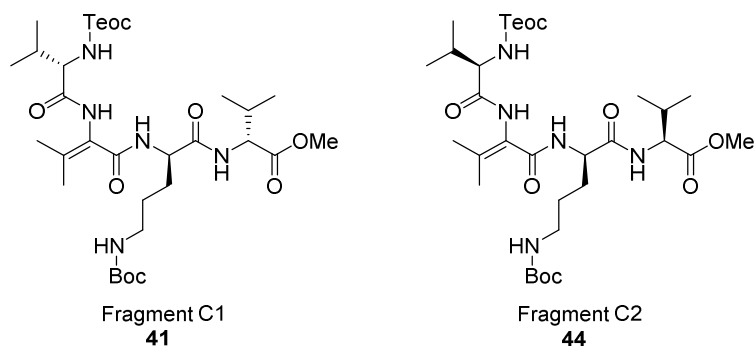


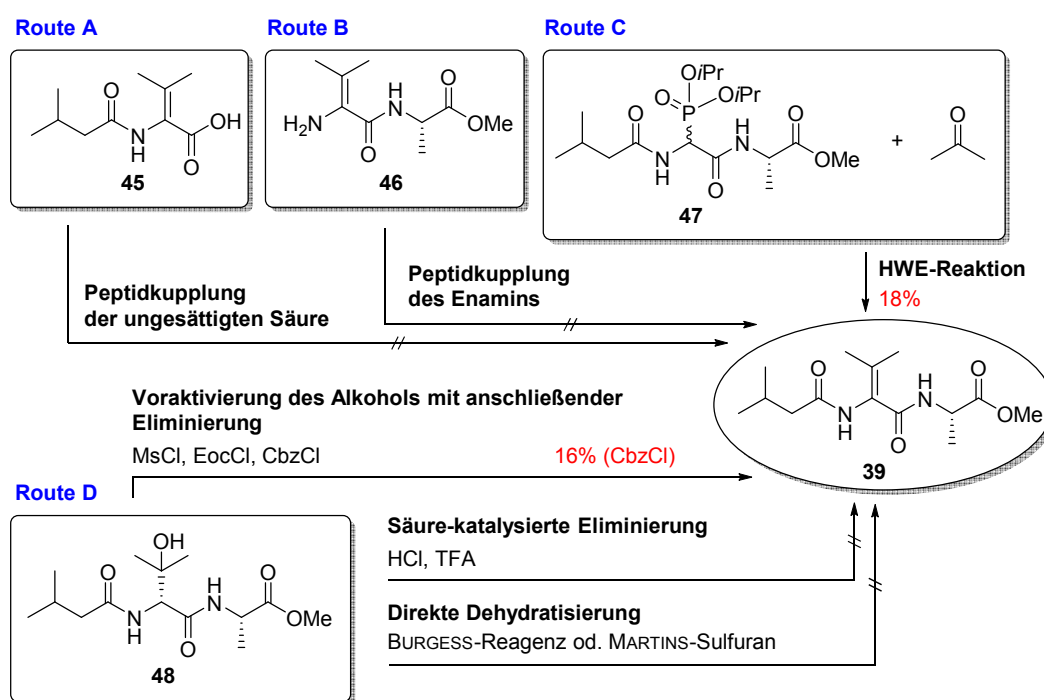
Abbildung 11: Fragment C1 (**41**, offizielle Konfiguration) und Fragment C2 (**44**, alternative Konfiguration).

3.2 Studien zur Synthese von Fragment A

3.2.1 Vorarbeiten und alternative Synthesesequenz

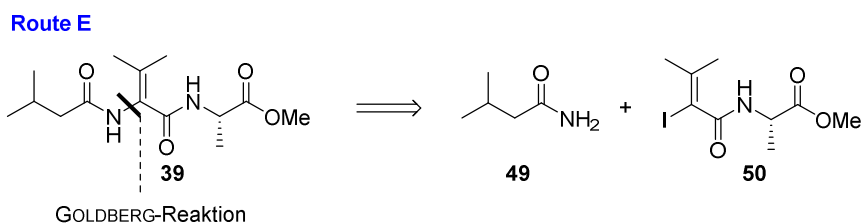
Bei Fragment A (**39**) handelt es sich um ein Dipeptid, dessen Sequenz ausgehend vom *N*-Terminus mit einer Isovaleriansäure beginnt, welche peptidisch an eine Dehydrovalin-Einheit gekuppelt ist, woran sich wiederum eine L-Alanin-Einheit anschließt. Für dieses Fragment existieren bereits einige Synthesansätze, welche von GILLE^[57,55] hinreichend diskutiert wurden (Schema 6).

Aus ihrer Arbeit geht hervor, dass eine direkte Peptidkupplung mit der Säure **45** (Route A) und dem Amin **46** (Route B) nicht gelingt, sodass der Aufbau der problematischen Peptidbindungen in den weiteren Synthesestudien vorgezogen wurde. Die nächste Strategie sah den Aufbau des Phosphonsäureesters **47** vor, welcher in einer HWE-Reaktion zum Dehydrovalin-Derivat umgesetzt werden sollte (Route C). Dies gelang GILLE nur in Ausbeuten von bis zu 18%. Ein weiterer Ansatz sah die Verwendung von 3-Hydroxyvalin als synthetischen Vorläufer vor, welches durch Eliminierung der Hydroxy-Gruppe in Dehydrovalin überführt werden sollte (**48**, Route D). Die Eliminierung konnte jedoch nur durch Voraktivierung mithilfe von CbzCl mit einer Ausbeute von lediglich 16% bewerkstelligt werden. Die säurekatalysierte Eliminierung oder die direkte Dehydratisierung mittels BURGESS-Reagenz oder MARTINS-Sulfuran schlugen fehl bzw. führten zu nicht verwertbaren Nebenprodukten.



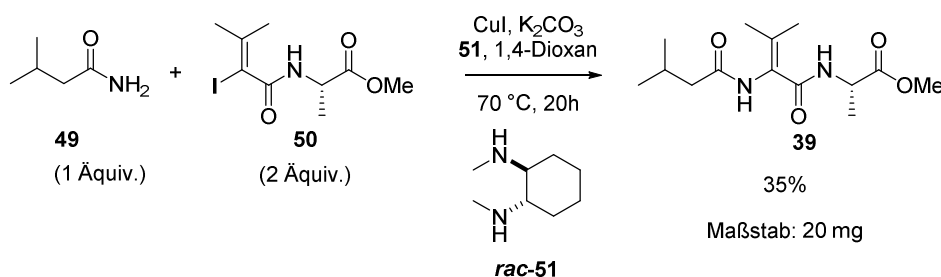
Schema 6: Zusammenfassung der von GILLE durchgeführten Synthesestudien zu Fragment A (**39**)^[57,55] (HWE = HORNER-WADSWORTH-EMMONS-Reaktion).

Der letzte und schließlich vielversprechendste Ansatz von GILLE zur Synthese von Fragment A (**39**) sieht den Aufbau der Dehydrovalin-Einheit über eine GOLDBERG-Reaktion vor (Route E, Schema 7) und spaltet das Molekül retrosynthetisch in ein primäres Amid **49** und ein Vinyliodid **50**.



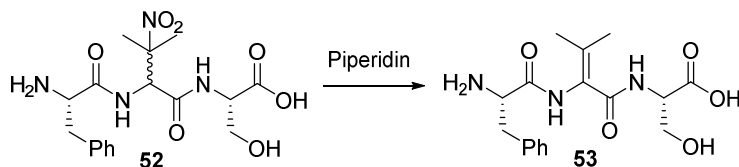
Schema 7: Von GILLE vorgeschlagene Retrosynthese für das Fragment A (**39**).

Es zeigte sich jedoch in der Arbeit, dass zwar die Synthese der Startmaterialien **49** und **50** in hervorragenden Ausbeuten gelingt, aber für die GOLDBERG-Reaktion als solche nur Ausbeuten von maximal 35% bezogen auf das primäre Amid erreicht werden konnten. Außerdem war die Reaktion nur in geringen Maßstäben (20 mg) durchführbar und das Vinyljodid **50** wurde im Überschuss benötigt (Schema 8).



Schema 8: Synthese von Fragment A (**39**) mittels einer GOLDBERG-Reaktion.^[55]

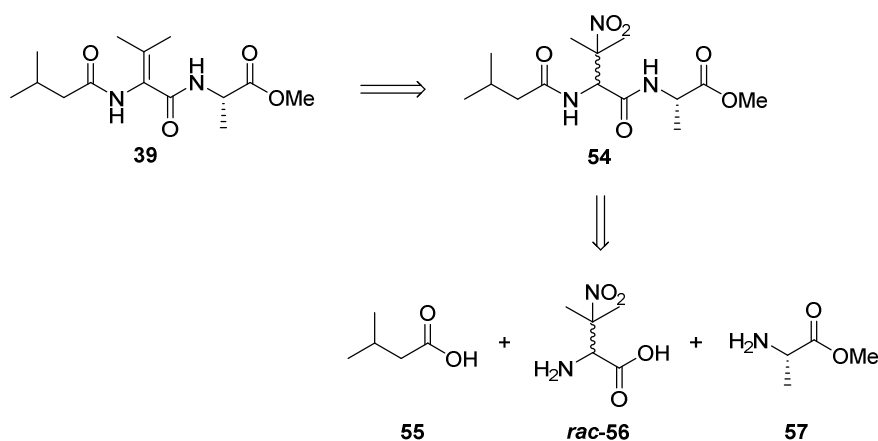
Um diese Probleme zu beheben, wurde die Synthese erneut umgestellt. Für einen Eliminierungsansatz nach Vorbild von Route D (Schema 6) sollte eine alternative Abgangsgruppe verwendet werden. Ein potentielle Methode hierfür wurde von COGHLAN^[59] entwickelt. Dieser konnte zeigen, dass mit einer Eliminierungsstrategie von 3-Nitroamino-säuren Doppelbindungen in Tripeptide eingeführt werden können, welche zuvor auf der Festphase synthetisiert wurden (Schema 9). Dieser Umstand wäre interessant für einen späteren Festphasenansatz zur Synthese von Myxovalargin-Teilfragmenten, welche Dehydrovalin oder Dehydroisoleucin enthalten.



Schema 9: Nitro-Eliminierung bei einem auf der Festphase synthetisierten Tripeptid.^[59]

Analog hierzu sollte auch bei Fragment A (**39**) zunächst Dehydrovalin durch 3-Nitrovalin ersetzt werden. Das so erhaltene Tripeptid **54** könnte somit aus Isovaleriansäure (**55**), 3-Nitrovalin (**56**) und einem L-Alaninmethylester (**57**) aufgebaut werden (Schema 10).

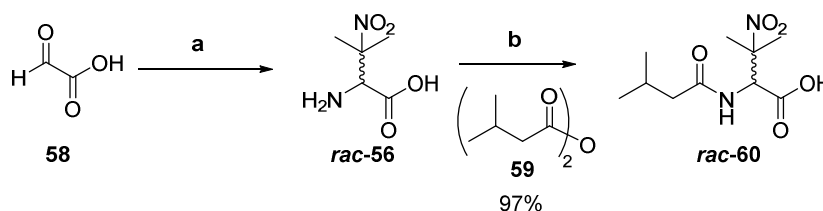
⁵⁹ P. A. Coghlan, C. J. Easton, *ARKIVOC* **2004**, (x), 101-108.



Schema 10: Retrosynthese von Fragment A (**39**).

3.2.2 Synthese von Fragment A (**39**)

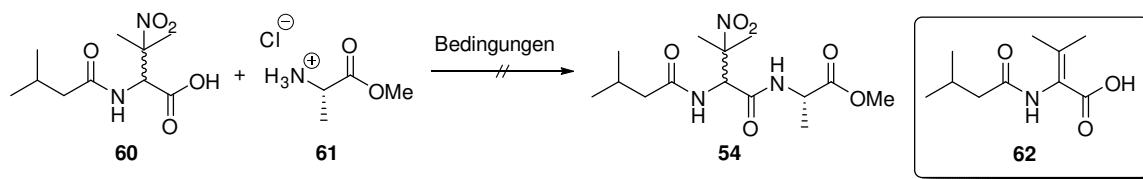
Die Synthese von Fragment A (**39**) beginnt mit der Darstellung von 3-Nitrovalin (**56**, Schema 11). Eine racemische Synthese gelang nach der Vorschrift von COGHLAN^[60] erfolgreich mit einer Ausbeute von 54%. Zur Minimierung der Stufen sollte im nächsten Schritt zunächst der Isovaleriat-Rest eingeführt werden. Dies gelang in einer Ausbeute von 97% unter Verwendung von Et₃N und Isovaleriansäure-anhydrid (**59**).



Schema 11: Darstellung von 3-NO₂-Valin (**rac-56**) und Einführung des Isovaleriat-Restes. a) 2-NO₂-Propan, NH₃ (konz., 25%), KOH, H₂O, 2 h, 54%; b) ((CH₃)₂CHCH₂CO)₂O (**59**), Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 16 h, 97%.

Die Synthese des Dipeptides sollte nun durch Kupplung der Säure **60** mit L-Alaninmethylester Hydrochlorid (**61**) erfolgen (Tabelle 3). Ein erster Kupplungsversuch mit EDC•HCl und der Base DIPEA waren jedoch nicht erfolgreich (Eintrag 1), sodass weitere Synthesestudien durchgeführt wurden. Untersucht wurden weitere Carbodiimide in Verbindung mit dem Additiv HOBt und der Base DIPEA (Eintrag 2-3), HATU als Vertreter der Uronium-Salze (Eintrag 4) in Verbindung mit dem Additiv HOAt und DIPEA als Base, PyAOP als Vertreter der Phosphonium Salze (Eintrag 5) mit dem Additiv HOAt und der milden Base 2,6-Lutidin, sowie IBCF mit NMM als Base zur Darstellung eines gemischten Anhydrides (Eintrag 6). In allen Fällen konnte die Bildung des Produkts nicht detektiert werden. Das aus Eintrag 1 und 6 isolierte Nebenprodukt (**62**, Abbildung 12) weist darauf hin, dass die Nitroeliminierung als Konkurrenzreaktion stattfindet. Aus den Vorarbeiten von GILLE ist bekannt, dass Dehydroaminosäuren dieser Art nicht unter den hier erprobten Bedingungen umsetzbar sind.^[55]

⁶⁰ P. A. Coghlan, C. J. Easton, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 2659-2660.

Tabelle 3: Kupplung der Säure **60** mit Alaninmethylester Hydrochlorid (**61**).


Eintrag	Reagenz (Äquiv.)	Additiv (Äquiv.)	Base (Äquiv.)	Ausbeute
1 ^a	EDC•HCl (1.25)	HOBt (1.50)	DIPEA (1.50)	ca. 54%, 62
2 ^a	DIC (1.05)	HOBt (1.05)	DIPEA (1.2)	kein Produkt
3 ^a	DCC (1.05)	HOBt (1.05)	DIPEA (1.2)	kein Produkt
4 ^b	HATU (1.05)	HOAt (1.07)	DIPEA (4.6)	kein Produkt
5 ^b	PyAOP (1.05)	HOAt (1.07)	2,6-Lutidin (4.59)	kein Produkt
6 ^c	IBCF (0.9)	----	NMM (2.2)	ca 41%, 62

^a CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 16 h; ^b DMF, 0 °C bis RT., 16 h; ^c THF, DMF, -15 °C bis RT, 16 h.

Von weiteren Kupplungsversuchen mit der Isovalerat geschützten NO₂-Aminosäure **60** wurde hier abgesehen und diese Route umgestellt.

Der nächste Ansatz sah zunächst die Boc-Schutzung der Nitroaminosäure **56** vor, um diese zunächst mit dem L-Alanin-Derivat **61** zu kuppeln (Schema 12, Route I). Die Boc-Schutzung konnte problemlos mit Boc₂O und Et₃N als Base in quantitativer Ausbeute bewerkstelligt werden. Die Kupplung der Boc-geschützten Aminosäure **63** gelang mit IBCF und NMM als Base mit einer Ausbeute von 87%.

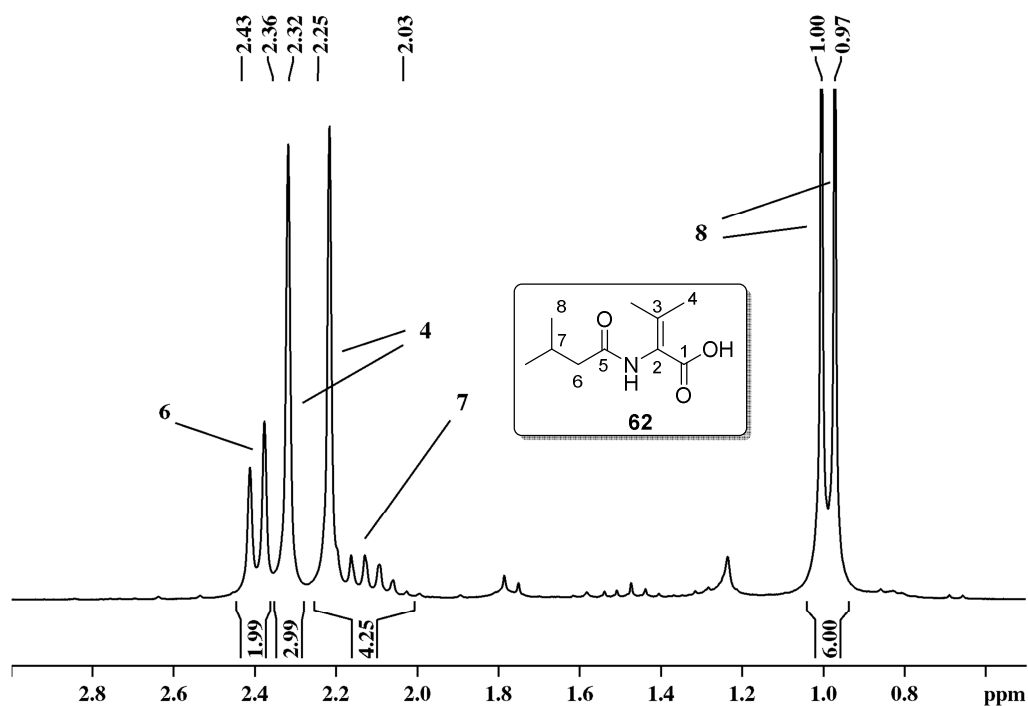
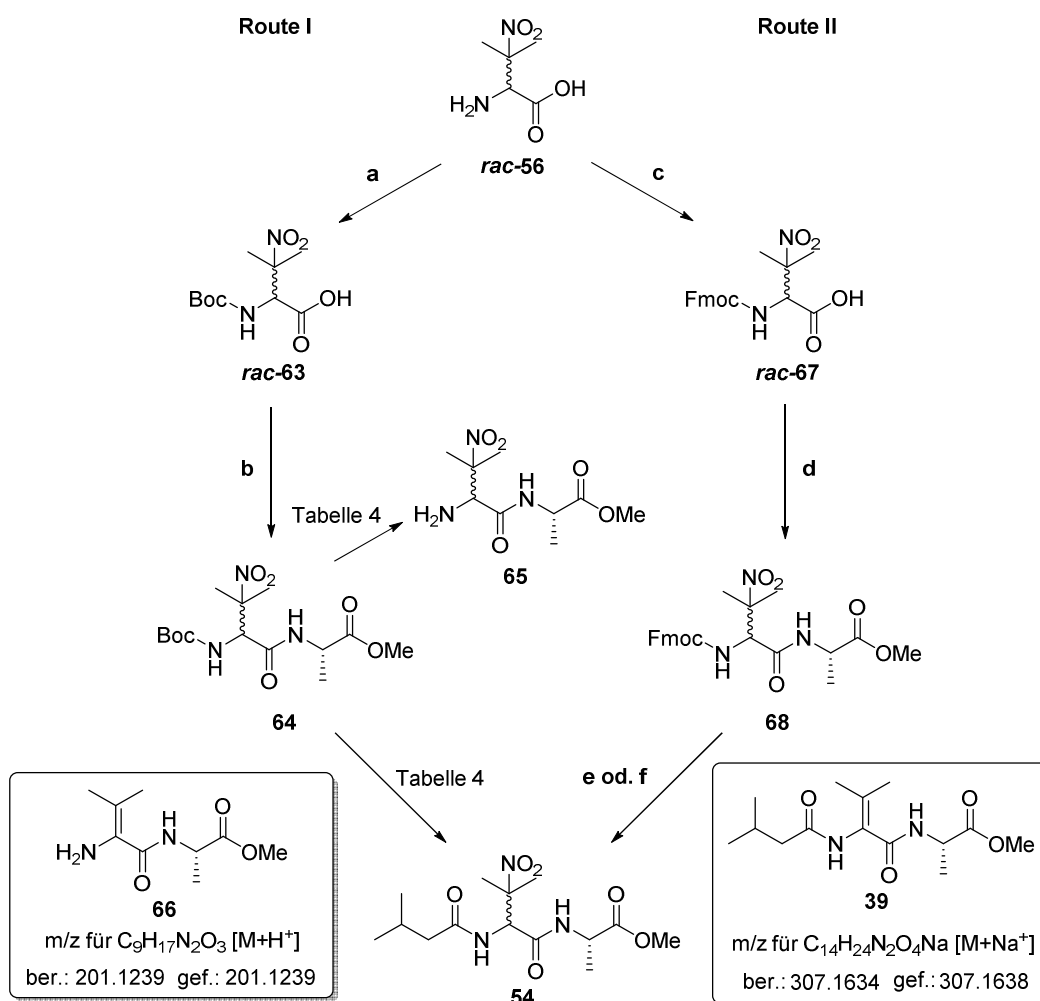


Abbildung 12: Spektrum des unter Tabelle 3, Eintrag 1 gebildeten Nebenproduktes mit Strukturvorschlag (CDCl₃). Besonderes Augenmerk gilt hier den Methylgruppen an der Doppelbindung (4), deren chemische Verschiebung im Vergleich

zur Nitro-Verbindung eine klare Tieffeldverschiebung erfährt. Analoge Methylgruppen von vergleichbaren Nitroverbindungen weisen chemische Verschiebungen von 1.6-1.7 ppm in CDCl₃ auf.⁶¹



Schema 12: Synthese von Dipeptid **54**: a) Boc₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, RT, 16 h, quant.; b) IBCF, NMM, L-Ala-OMe•HCl, -15 °C bis RT, 14 h, 87%; c) FmocCl, Na₂CO₃, 1,4-Dioxan, H₂O, 0 °C, 6 h, 72%; d) EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, L-Ala-OMe•HCl, 0 °C bis RT, 18 h, 97%; e) 1) 10% TAEA, CH₂Cl₂, 0 °C, 4 h; 2) (iVal)₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, -78 °C bis RT, 18 h, 46% (ü2S); f) 1) Me₂NH, DMF, RT, 4 h; 2) (iVal)₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, -78 °C bis RT, 18 h, 54% (ü2S).

Als nächstes sollte nun die Boc-Gruppe entfernt werden (Tabelle 4). Hierzu wurden zunächst einige Bedingungen getestet (Eintrag 1-5), um zu überprüfen, ob die NO₂-Gruppe unter diesen Bedingungen stabil ist. Dabei konnte bereits beim ersten Versuch (Eintrag 1) festgestellt werden, dass die wässrige Aufarbeitung mit NaHCO₃-Lösung aufgrund der guten Wasserlöslichkeit von Amin **65** vermieden werden muss. Des Weiteren führte die Verwendung von TFA bereits in geringem Maße zur Bildung des Eliminierungsproduktes **66**. Dieser Trend verstärkt sich bei Verwendung von 4N HCl in Dioxan (Eintrag 3). AcCl in MeOH (Eintrag 4.1) ergab schließlich das sauberste Rohprodukt und wurde daher für die Synthese des Dipeptides **54** weiterverwendet.

Das aus Eintrag 4.1 isolierte HCl-Salz konnte mithilfe von Isovaleriansäureanhydrid und NMM als Base erfolgreich in das gewünschte Dipeptid **54** überführt werden, war aber noch mit einer weiteren Verbindung verunreinigt. Eine LC-MS Analyse wies zusätzlich zum Produkt-Peak mit *m/z* = 332 noch

⁶¹ Weitere Analytik der Nebenverbindung wurde nicht durchgeführt.

eine weitere Komponente mit einem Massen-Peak von $m/z = 307$ auf, welcher für die Struktur von **39** spricht. Das Stoffmengenverhältnis von der NO_2 -enthaltenden Verbindung zum Eliminierungsprodukt verschlechterte sich außerdem von ca 50:1 zu 10:1. Dieser Umstand legt nahe, dass das freie Amin **65** unter den angewandten Reaktionsbedingungen nicht stabil ist. Schließlich konnten durch den Einsatz von TMSI die Reaktionszeit von 2 Tagen (vgl. Eintrag 4.1) auf 5 min und bei Ersatz der Base NMM durch Et_3N die Ausbeute auf 91% gesteigert werden (Eintrag 5).

Tabelle 4: Reaktionsbedingungen zur Synthese von Dipeptid **54** aus Dipeptid **64**

Eintrag	Substrat	Reagenz (Äquiv.)	Ausbeute, Kommentar
1 ^{a,f}	64	TFA (50)	A.n.b.
2 ^{a,g}	64	TFA (50)	quant. Umsatz, 65 niedriger Reinheitsgrad, 66 (2-3%)
3 ^{b,g}	64	4N HCl (10)	A.n.b., 65 (23%), 66 (77%)
4	64	1 ^{c,h} AcCl (1.8), MeOH 2 ^d (<i>i</i> Val) ₂ O (1.1), NMM (2.1)	1) 65 guter Reinheitsgrad, 66 (2-3%), 2) 83% (ü2S, 54:39 = 9:1)
5	64	1 ^e TMSI (1.2) 2 ^d (<i>i</i> Val) ₂ O (1.5), Et_3N (3.0)	quant. (ü2S)

^a CH_2Cl_2 , 0 °C, 4h; ^b 1,4-Dioxan, 0 °C bis RT, 4 h; ^c 0 °C bis RT, 48 h; ^d CH_2Cl_2 , -78 °C bis RT, 18 h; ^e CH_2Cl_2 , RT, 10 min; ^f mit anschließender wässriger Aufarbeitung; ^g simple Aufkonzentration des Reaktionsgemisches nach der Boc-Entschützung.

Unter dem Aspekt einer möglichen Festphasensynthese wurde außerdem geprüft, ob anstelle der Boc-Schutzgruppe auch die Fmoc-Schutzgruppe verwendet werden kann (Schema 12, Route II). Die Einführung der Fmoc-Gruppe gelang im 10 g Maßstab mit FmocCl und Na_2CO_3 in einer Ausbeute von 72%. Die anschließende Kupplung der Säure **67** mit L-Alaninmethylester Hydrochlorid gelang mittels EDC•HCl, HOAt und NaHCO_3 in einer Ausbeute von 97%.

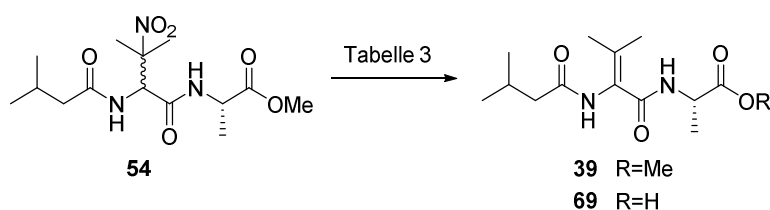
Für die Fmoc-Entschützung von **68** wurden nun zwei unterschiedliche Reaktionsbedingungen getestet (Schema 12), welche sich hauptsächlich in ihrer Aufarbeitung unterscheiden. Das in der ersten Vorschrift verwendete Tris(2-aminoethyl)amin konnte nicht komplett durch eine wässrige Aufarbeitung abgetrennt werden, weshalb eine Reinigung mittels Säulenchromatographie nötig war. Mit 46% fällt die Ausbeute dieser Reaktion moderat aus. Der Einsatz von Dimethylamin besitzt den Vorteil, dass als Aufarbeitung nur eine Aufkonzentration des Reaktionsgemisches nötig ist. Mit 54% ist die Ausbeute dieser Reaktion zwar besser als bei den zuvor genannten Reaktionsbedingungen, aber immer noch moderat. Weitere Optimierungen der Fmoc-Route wurden nicht durchgeführt.

Im nächsten Schritt sollte parallel zu den von COGLAN^[59] veröffentlichten Ergebnissen (vgl. Kap. 3.2.1, Schema 9) eine Eliminierung der NO_2 -Gruppe mittels Piperidin angestrebt werden. Dies führte lediglich zur Zerstörung des Startmaterials (Tabelle 5, Eintrag 1). In Anlehnung an eine Publikation von Shiraishi^[62] zur Darstellung von Dehydroaminosäuren aus vergleichbaren Substraten wurde als nächstes mit DABCO eine nucleophile, aber milde Base erwogen (Eintrag 2). Jedoch konnte

⁶² Y. Shiraishi, H. Yamauchi, T. Takamura, H. Kinoshita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2004**, 77, 2219-2229.

selbst nach 48 h nur Startmaterial reisoliert werden. Erst unter Verwendung von DBU konnte ein nennenswerter Umsatz verzeichnet werden (Eintrag 3). Die Verwendung von 2 Äquivalenten der Base in CH₂Cl₂ führte schließlich zu einer Ausbeute von ca. 93% (Eintrag 4). Die Reaktion war jedoch selbst nach 48 h nicht vollständig abgeschlossen. Auch war an dieser Stelle nicht sicher, ob das Stereozentrum im Alanin bei langzeitiger Einwirkung der starken Aminbase DBU epimerisieren könnte. Also wurde erwogen, die Verseifung des Methylesters vorzuziehen, um so eine Carboxyl-Gruppe zu erhalten, welche unter basischen Bedingungen die mögliche Epimerisierung des benachbarten Stereozentrums verhindern könnte. Nach der Durchführung der Verseifung wurde jedoch festgestellt, dass unter denselben Bedingungen auch die NO₂-Gruppe eliminierte (Eintrag 5). Somit konnte das Fragment A (**39**) in Form seiner freien Säure **69** in einer Ausbeute von 85% erhalten werden. Eine weitere Optimierung der NO₂-Eliminierung wurde an dieser Stelle nicht durchgeführt. Die Synthese des Fragmentes A (**69**) gelang somit in 6 Stufen und einer Gesamt-Ausbeute von 40% (Boc-Route) bzw. 17% (Fmoc-Route).

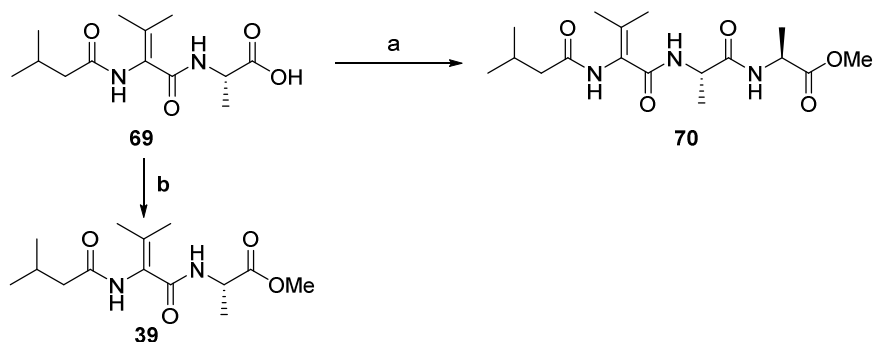
Tabelle 5: NO₂-Eliminierung zur Darstellung von Fragment A (**39**)



Eintrag	Base (Äquiv.)	Ausbeute, Kommentar
1 ^a	Piperidin (30)	Substrat zerstört
2 ^b	DABCO (8)	Keine Reaktion
3 ^c	DBU (1)	39 (13%), 54 (65%)
4 ^b	DBU (2)	39 (93%), 54 (7%)
5 ^d	LiOH (10)	69 (85%)

^a H₂O, THF, RT, 16 h; ^b CH₂Cl₂, RT, 48 h; ^c THF, -78 °C bis RT, 24 h; ^d H₂O, THF, 0 °C bis RT, 14 h.

Da das Fragment A (**69**) nur ein Stereozentrum besitzt, musste an dieser Stelle eine Möglichkeit gefunden werden, die Integrität dieses Stereozentrums auf einfache Weise festzustellen. In diesem Sinne wurde eine Peptidkupplung mit einer weiteren Aminosäure angestrebt, um somit ein Diastereoisomer zu erhalten. Aus dem Diastereoisomerenverhältnis der so erhaltenen Verbindung sollten dann Rückschlüsse auf das Enantiomerenverhältnis der Vorstufe gezogen werden. Die Wahl für den Kupplungspartner fiel dabei auf den L-Alaninmethylester, da dieser ein kleines Nukleophil darstellt. Eine entsprechende Peptidkupplung zum Tripeptid **70** gelang mit EDC•HCl, HOAt und NaHCO₃ mit einer Ausbeute von 97% (Schema 13). Das ermittelte Diastereomerenverhältnis konnte auf *ca. d.r.* = 14:1 festgelegt werden. Somit war bewiesen, dass die Integrität des Stereozentrums von Fragment A (**69**) hinreichend gut war, um eine spätere Fragment-Kupplung zu beginnen.



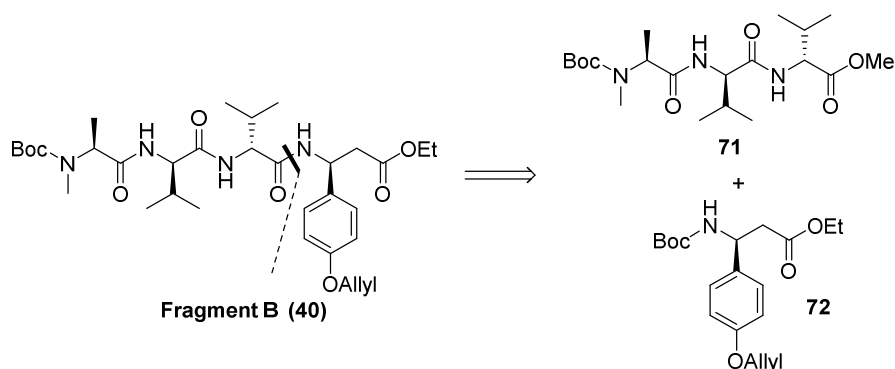
Schema 13: Peptidkupplung von Fragment A (**69**) mit L-Alaninmethylester. a) L-Ala-OMe•HCl, EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂, DMF, 0 °C bis RT, 16 h, 97%, *d.r.*=14:1; b) TMSCHN₂, Toluol, MeOH, 0 °C bis RT, 4 h, 68%.

Zum Abgleich mit dem von GILLE dargestellten Methylester **39** wurde aus der Säure **69** ebenfalls der Methylester dargestellt. Der gemessene Drehwinkel von -2.9° stimmt gut mit dem von GILLE beschriebenen überein (vgl. GILLE^[55], -2.1°). Somit konnte auch sichergestellt werden, dass dasselbe Enantiomer von Fragment A dargestellt worden war.

3.3 Studien zur Synthese von Fragment B

3.3.1 Vorarbeiten und Retrosynthese

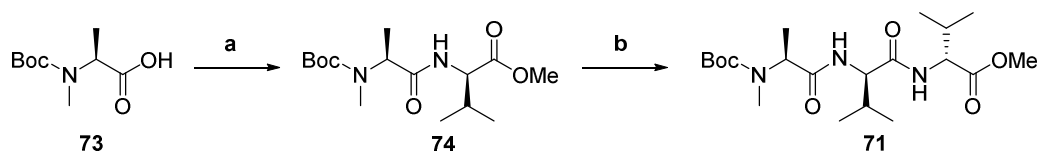
Fragment B (**40**) ist ein Tetrapeptid, dessen Sequenz ausgehend vom *N*-Terminus mit einer *N*-methylierten L-Alanin-Einheit beginnt, worauf zwei D-Valin-Einheiten folgen und schließlich am C-Terminus auf der nicht-kanonischen Aminosäure (*S*)- β -Tyrosin endet. Die von GILLE publizierte Synthese des Fragmentes schneidet das Molekül im Sinne einer möglichst kurzen linearen Sequenz in das Tripeptid **71** und ein nicht kommerziell erhältliches β -Tyrosin-Derivat **72**. Auf eine detaillierte Ausführung der weiteren Retrosynthese soll an dieser Stelle verzichtet werden. Sie kann in der Promotionschrift von GILLE^[55] eingesehen werden.



Schema 14: Retrosynthese von Fragment B (**40**).

3.3.2 Synthese des Tripeptides 71

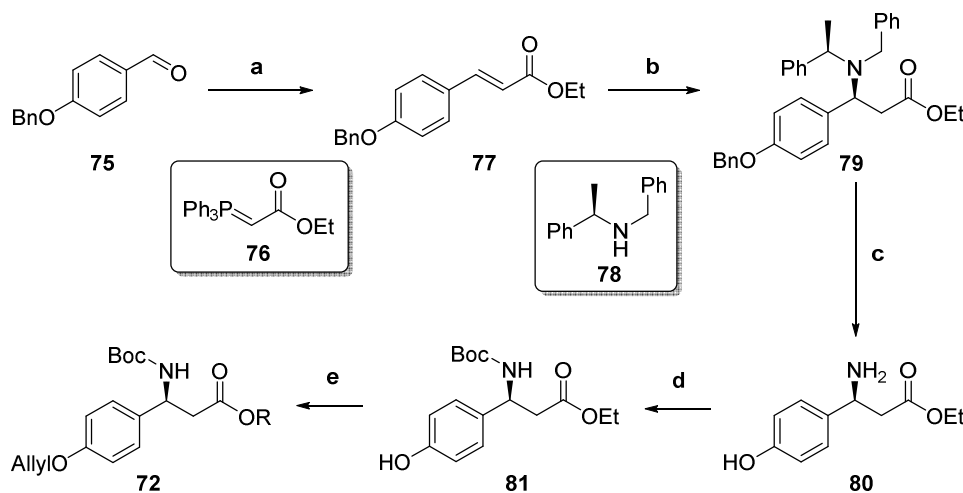
Die Synthese von Tripeptid **71** begann analog zu GILLE^[55] mit der Kupplung von Boc-*N*-methyl-L-alanin (**73**) mit D-Valinmethylester Hydrochlorid und lieferte das Dipeptid **74** in einer Ausbeute von 82% (Schema 15). Anschließende Verseifung mit LiOH und erneute Kupplung mit D-Valinmethylester Hydrochlorid führte zum Tripeptid **71** in einer Ausbeute von 99%.



Schema 15: Darstellung von Tripeptid **71**. a) D-Val-OMe·HCl, EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 16 h, 82%; b) i) LiOH, H₂O/THF, 0 °C bis RT, 16 h; ii) D-Val-OMe·HCl, EDC·HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 16 h, 99% (ü2S).

3.3.3 Synthese des β -Tyrosin Derivates 72

Die Synthese begann analog zu GILLE^[55] mit *para*-Benzyloxybenzaldehyd (**75**, Schema 16), welcher mit dem WITTIG-Reagenz **76** zum α,β -ungesättigten Ester **77** umgesetzt wurde. Hieran schloss sich nach dem Protokoll von DAVIES^[63] eine diastereoselektive Aza-MICHAEL-Reaktion an und ergab ein Diastereoisomerenverhältnis von *d.r.* > 10:1.



Schema 16: Darstellung des (*S*)- β -Tyrosin-Derivates **72**. a) **76**, CH₂Cl₂, RT, 24 h, quant., *E/Z* > 20:1; b) **78**, *n*-BuLi, THF, -78 °C, 30 min, dann **77**, -78 °C, 4 h, 49%, *d.r.* > 10:1; c) Pd(OH)₂/C, H₂(1 bar), AcOH, Toluol, MeOH, RT, 3 d, 97%; d) HCl (konz., 37%), Et₃N, Boc₂O, MeOH, 0 °C bis RT, 16 h, 83%; e) AllylBr, TBAI, K₂CO₃, Aceton, 50 °C, 24 h, 97%.

Die Diastereoselektivität führt DAVIES^[64] auf eine Chelatisierung durch ein Lithium-Ion zurück, was zu einem Boot-ähnlichen Übergangszustand führen soll (Abbildung 13). Die theoretischen Berechnungen sprechen für einen *Si*-Seitenangriff mit einem schmetterlingsähnlichen

⁶³ S. G. Davies, A. W. Mulvaney, A. J. Russel, A. D. Smith, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1554-1566.

⁶⁴ J. F. Costello, S. G. Davies, O. Ichihara, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 1999-2208.

Übergangszustand, bei welchem sich die Methylgruppe weg vom 6-Ring und weg vom Aryl-Rest orientiert.

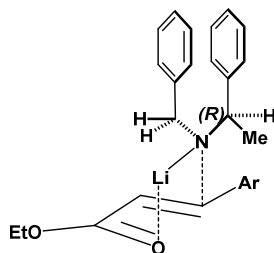
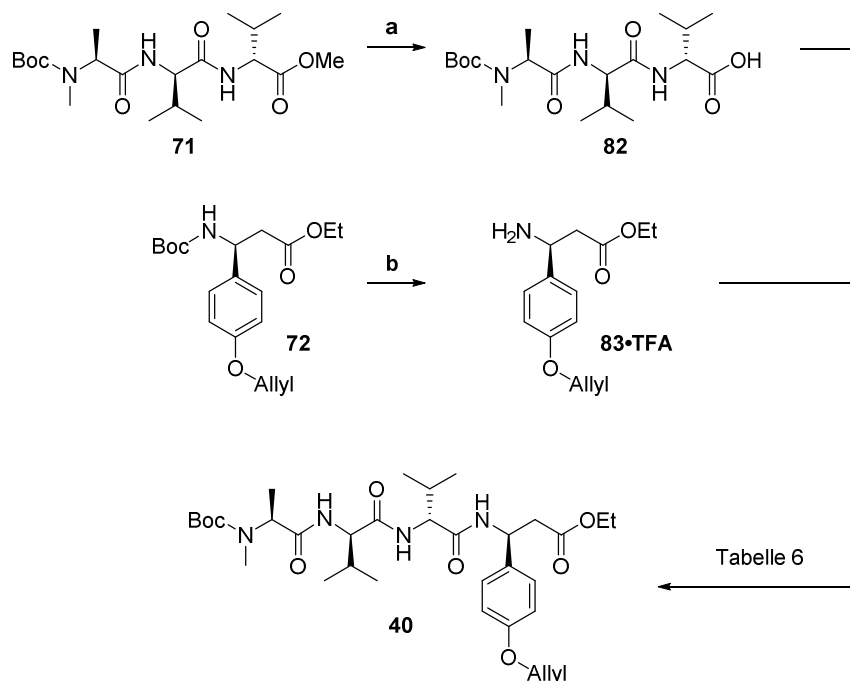


Abbildung 13: Übergangszustand der diastereoselektiven Aza-MICHAEL-Reaktion. Dargestellt ist der favorisierte *Si*-Seitenangriff der Lithiumamid Spezies mit (*R*)-Konfiguration.

Nach hydrogenolytischer Spaltung der drei Benzyl- bzw. Methylbenzyl-Substituenten mithilfe des PEARLMAN Katalysators wurde das Amin **80** zunächst Boc-geschützt und anschließend das Phenol **81** in einen Allylether **72** überführt. Das Tyrosin-Derivat **72** konnte somit in einer Sequenz von fünf Stufen in einer Gesamtausbeute von 38% erhalten werden.

3.3.4 Synthese von Fragment B (40)

Für die Darstellung des Tetrapeptides **40** wurde zunächst der Ester **71** verseift und das β -Tyrosin-Derivat **72** Boc-entschützt (Schema 17).



Schema 17: Darstellung von Fragment B. a) LiOH, H₂O/THF, 0 °C bis RT, 16 h; b) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 4 h.

Die Peptidkupplung erfolgte dann zunächst analog zu GILLE mit dem Phosphoniumsalz PyAOP in Anwesenheit von HOAt und DIPEA (Tabelle 6, Eintrag 1). Zwar konnte unter diesen Bedingungen die von GILLE publizierte Ausbeute von 72% erreicht bzw. sogar überboten werden, es war jedoch nicht möglich, unter den verwendeten Bedingungen das Tetrapeptid **40** diastereoisomerenrein darzustellen.

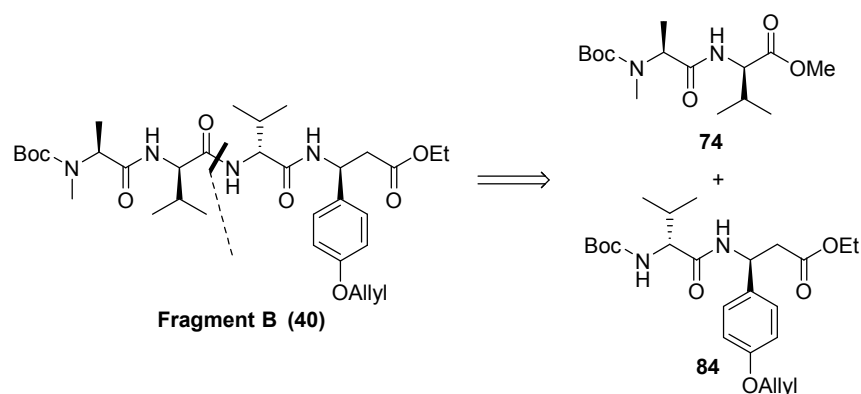
Es wurden daraufhin eine Reihe von Bedingungen geprüft, um die Diastereoselektivität zu verbessern. Durch das Auftreten von Rotameren und dem damit verbundenen Aufwand bei der NMR-spektroskopischen Analyse wurden für die Testreihe HPLC-MS Messungen genutzt, um durch die qualitative Abschätzung von Peakflächen die Diastereoisomerenverhältnisse zu bestimmen. Getestet wurde PyAOP mit der schwächeren Base Lutidin (Eintrag 2), EDC•HCl als Kupplungsreagenz mit unterschiedlichen Kombinationen aus Additiva und milden Basen wie Oxyma/NaHCO₃ (Eintrag 3), HOAt/NaHCO₃ (Eintrag 4) und HOAt/Lutidin (Eintrag 5), sowie COMU als Vertreter der Uronium-Salze mit Oxyma/DIPEA (Eintrag 6). Es konnte es kein besseres Diastereoisomerenverhältnis als 3:1 erreicht werden. Von einer Trennung der Diastereoisomere wurde an dieser Stelle abgesehen. Eine weitere Optimierung dieser Route wurde nicht durchgeführt.

Tabelle 6: Darstellung von Fragment B (**40**) über die Kupplung von Tripeptid **82**^a mit β -Tyrosin Derivat **83**.

Eintrag	Reagenz (Äquiv.)	Additiv (Äquiv.)	Base (Äquiv.)	Ausbeute,
1 ^b	PyAOP (1.2)	HOAt (1.2)	DIPEA (5.0)	82% (ü2S), <i>d.r.</i> =1:1
2 ^c	PyAOP (1.1)	HOAt (1.2)	Lutidin (5.0)	A.nb., <i>d.r.</i> =3:1 ^e
3 ^d	EDC•HCl (1.1)	Oxyma (1.2)	NaHCO ₃ (5.0)	A.nb., <i>d.r.</i> =3:1 ^e
4 ^d	EDC•HCl (1.1)	HOAt (1.2)	NaHCO ₃ (5.0)	A.nb., <i>d.r.</i> =3:1 ^e
5 ^d	EDC•HCl (1.1)	HOAt (1.2)	Lutidin (5.0)	A.nb., <i>d.r.</i> =3:1 ^e
6 ^c	COMU (1.1)	Oxyma (1.2)	DIPEA (3.0)	A.nb., <i>d.r.</i> =2:1 ^e

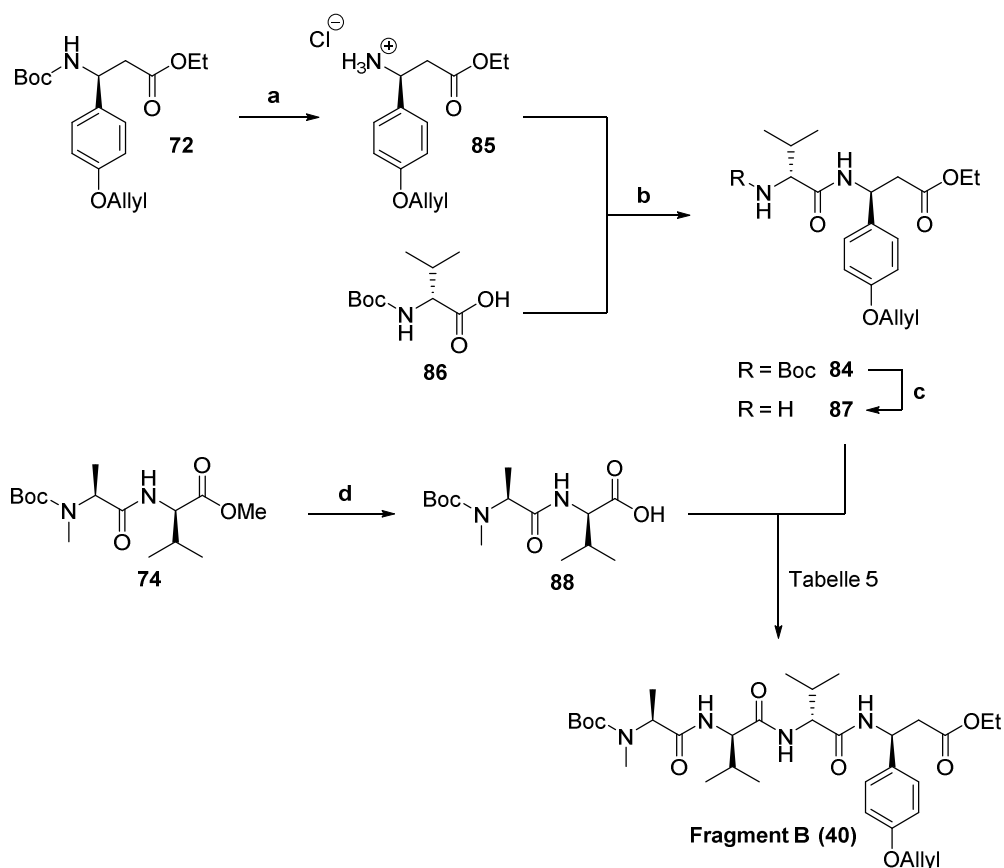
^a Säure wird äquimolar zum Reagenz eingesetzt, β -Tyrosin Derivat **83** (1.0 Äquiv.); ^b DMF, 0 °C bis RT, 20 h; ^c DMF, 0 °C bis RT, 16 h; ^d CH₂Cl₂, DMF, 0 °C bis RT, 16 h; ^e Ermittlung des Diastereoisomerenverhältnisses wurde qualitativ über den Abgleich von Peakflächen einer HPLC-MS Messung bestimmt.

3.3.5 Neue Route zu Fragment B (40)



Schema 18: Alternative Route zu Fragment B (40).

Die neue Route schnitt das Fragment B (40) in die zwei Dipeptide **74** und **84**. Das Ziel hierbei war es, die Synthese so konvergent wie möglich zu gestalten. Außerdem war die Synthese von Dipeptid **74** bereits bekannt. Die neue Route begann somit mit der Synthese von Dipeptid **84** (Schema 19).



Schema 19: Synthese von Fragment B (40) über die alternative Route. a) HCl, 1,4-Dioxan, 0 °C bis RT, 2 h, quant.; b) EDC•HCl, Oxyma, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 20 h, 93%; c) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h, quant.; d) LiOH, THF, H₂O, 0 °C bis RT, 20 h, quant.

Nach der Boc-Entschützung des β -Tyrosin-Derivates **72** gelang die Kupplung des so erhaltenen HCl-Salzes **85** mit Boc-D-Val-OH (**86**) mittels EDC/Oxyma/DIPEA in einer Ausbeute von 93%.

Anschließend wurde das Carbamat **84** Boc-entschützt und der Ester **74** verseift. Mit dem TFA-Salz **87** und der freien Säure **88** sollten nun erste Kupplungsbedingungen erprobt werden (Tabelle 7). Die Kombination aus EDC/Oxyrna/DIPEA ergab zunächst eine Ausbeute von 27% für den Fall, dass beide Startbausteine vorgelegt wurden (Eintrag 1). Es wurde außerdem ein nicht-identifiziertes Nebenprodukt gebildet, das nur schwer abtrennbar war und dessen NMR-Signale Ähnlichkeiten mit dem Startmaterial **87** aufwies. Entsprechend wurde die Säure **88** in der nächsten Reaktion zunächst voraktiviert und das TFA Salz **87** später hinzugegeben (Eintrag 2). Die Ausbeute der Reaktion konnte hierdurch auf 70% gesteigert werden. Das so isolierte Material zeigte jedoch ein Gemisch zweier Diastereoisomere im Verhältnis von 1:1 auf. Folglich musste die Säure **88** bei der Voraktivierung epimerisiert sein. Da Oxyrna als Additiv problematisch zu sein schien, sollten im Folgenden zunächst andere Additiva getestet werden. Die Kombination EDC/HOAt/NaHCO₃ führte zu einer guten Ausbeute von 81%. Diese wurde von EDC/HOBt/DIPEA überboten und erreichte mit 90% das beste Ergebnis. PyAOP/HOAt/DIPEA führte nur zu einer moderaten Ausbeute von ca. 60%. Außerdem konnte ein vergleichbares Trennproblem wie unter Eintrag 1 beobachtet werden. Der Beweis, dass das unter Eintrag 4 dargestellte Material epimerenrein erhalten werden konnte, wurde durch eine NMR-spektroskopische Messung bei erhöhten Temperaturen sichtbar gemacht (vgl. Kap. 7.3.2, Fragment B und Kap. 8, Spektrenanhang). Das Fragment B (**40**) wurde somit durch eine leicht veränderte Route erhalten, welche 9 Stufen (längste lineare Sequenz, 11 Stufen total) und eine Gesamtausbeute von 32% aufwies.

Tabelle 7: Kupplung der Säure **88** und des TFA Salzes **87**

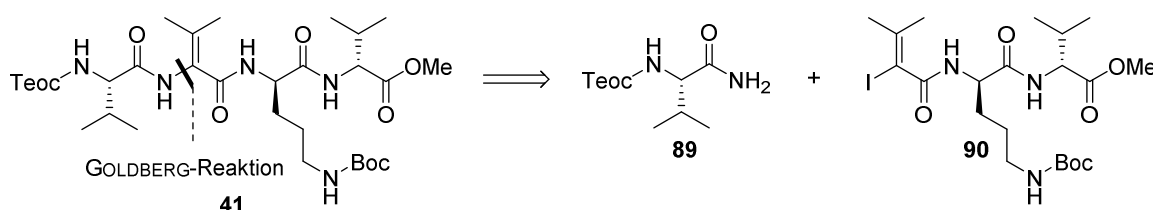
Eintrag	Reagenz (Äquiv.)	Additiv (Äquiv.)	Base (Äquiv.)	Ausbeute, Kommentar
1 ^{a,c}	EDC•HCl (1.5)	Oxyrna (1.8)	DIPEA (4.0)	27% ^e , <i>d.r.</i> > 10:1
2 ^{a,d}	EDC•HCl (1.5)	Oxyrna (1.8)	DIPEA (4.0)	70%, <i>d.r.</i> = 1:1
3 ^{b,c}	EDC•HCl (1.38)	HOAt (1.65)	NaHCO ₃ (3.0)	81%, <i>d.r.</i> > 10:1
4 ^{b,c}	EDC•HCl (1.38)	HOBt (1.65)	DIPEA (1.65)	90%, <i>d.r.</i> > 10:1
5 ^{b,c}	PyAOP (1.05)	HOAt (1.05)	DIPEA (2.1)	ca. 60% ^f

^a **88** (1.2 Äquiv.), **87** (1.0 Äquiv.), CH₂Cl₂/DMF (1:1), 0 °C bis RT, 16 h; ^b **88** (1.1 Äquiv.), **87** (1.0 Äquiv.), CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 16 h; ^c Beide Startmaterialien wurden gemeinsam vorgelegt; ^d Voraktivierung der Säure; ^e Probleme bei der Abtrennung einer Verunreinigung führten zu größeren Verlusten bei der Ausbeute; ^f Verunreinigung von Eintrag 1 tritt erneut auf, Abschätzung der Ausbeute durch Stoffmengenverhältnis, das aus einer NMR-spektroskopischen Messung bestimmt worden ist.

3.4 Studien zur Synthese der Fragmente C1 und C2

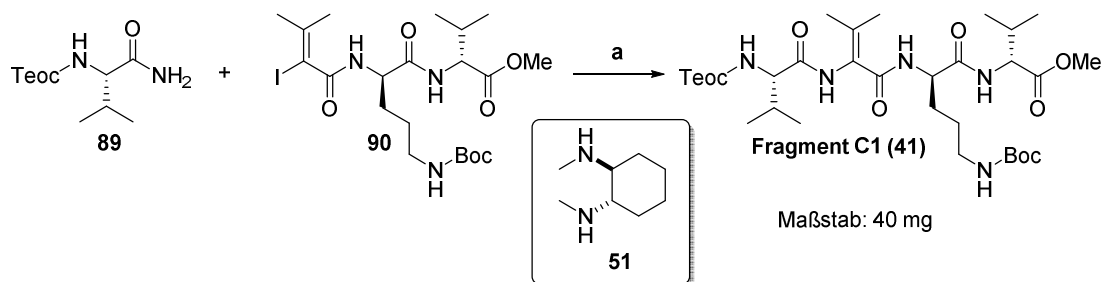
3.4.1 Retrosynthese und Vorarbeiten der Fragmente C1 (41) und C2 (44)

Bei Fragment C1 (**44**) handelt es sich um ein Tetrapeptid, das ausgehend vom *N*-Terminus aus einer L-Valin-, einer α,β -Dehydrovalin-, einer D-Ornitin- und einer D-Valin-Einheit aufgebaut ist. In ihren Vorarbeiten spaltet GILLE analog zu der ursprünglichen Retrosynthese von Fragment A (**39**, vgl. Kap. 3.2.1) das Tetrapeptid **41** in das primäre Amid **89** und das Vinyljodid **90**, welche anschließend wiederum über eine GOLDBERG-Reaktion miteinander gekuppelt wurden (Schema 20). Die Wahl der hierbei verwendeten Schutzgruppen Boc und Teoc bzw. der Entschluss D-Ornitin anstelle von D-Arginin zu verwenden, ist dabei auf den unter GOLDBERG-Bedingungen verwendeten Cu(I)-Katalysator zurückzuführen, welcher durch die Schutzgruppe Alloc bzw. der Anwesenheit einer Guanidin-Seitenkette deaktiviert wird. Für nähere Informationen bezüglich der diesem Fragment zu Grunde liegenden Schutzgruppen-Optimierung verweist der Autor auf die Promotionsschrift von GILLE.^[55]



Schema 20: Von GILLE^[55] publizierte Syntheseroute des Fragmentes C1 (**41**).

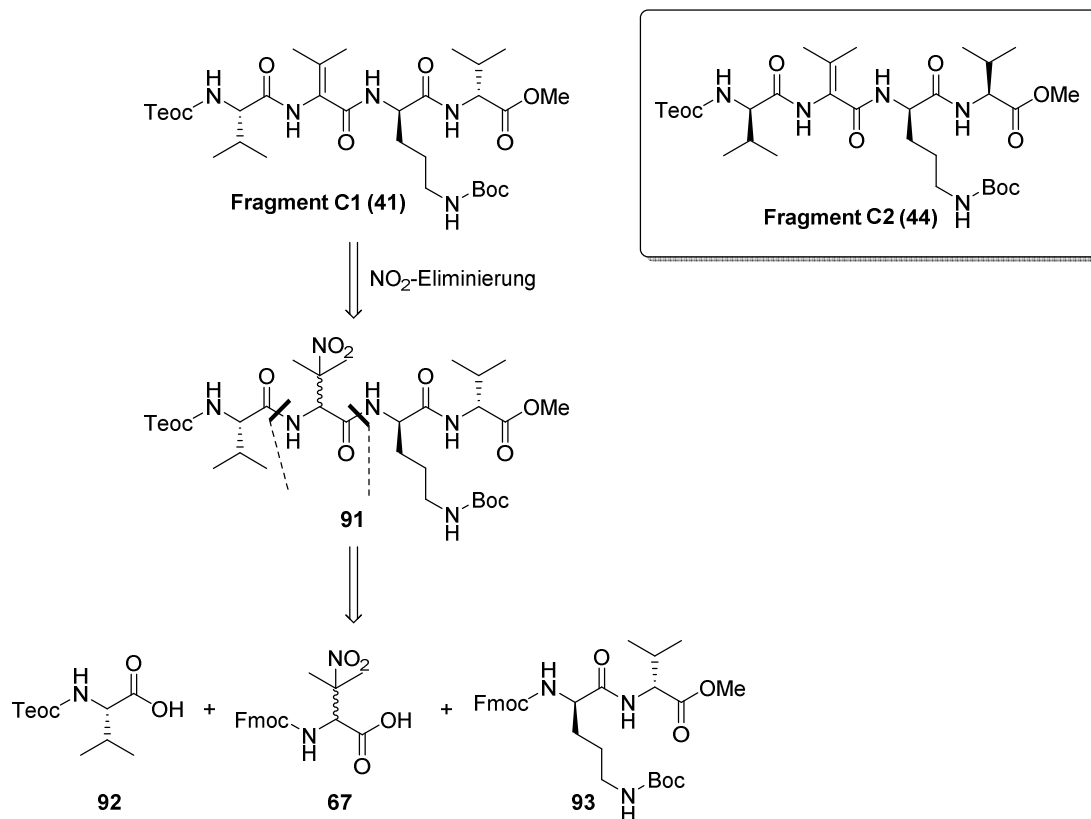
Die für die Synthese von Fragment C1 (**41**) erreichte Ausbeute von 47% ist im Vergleich mit der Ausbeute von Fragment A (**39**, 33% unter GOLDBERG-Bedingungen) zwar moderat, doch obliegt die Reaktion denselben Beschränkungen (Schema 21). Auch hier war eine Hochskalierung der Reaktion nur unter großen Ausbeuteverlusten möglich.



Schema 21: Synthese von Fragment C1 (**41**) mit den von GILLE optimierten Bedingungen. a) CuI, K₂CO₃, **51**, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 18 h, 47%.

Analog zur Synthese von Fragment A (**69**) sollte somit auch in Fragment C1 (**41**) die Doppelbindung durch die Eliminierung einer NO₂-Gruppe erzeugt werden (Schema 22). Das Tetrapeptid **91** sollte dann sequenziell ausgehend vom C-Terminus hin zum N-Terminus aufgebaut werden, wobei das Dipeptid **93** bereits aus den Vorarbeiten von GILLE bekannt war.^[56] Um nach der Synthese den

einfachen Abgleich der NMR-spektroskopischen Daten zu ermöglichen, sollten die von GILLE verwendeten Schutzgruppen zunächst beibehalten werden.



Schema 22: Neue Syntheseroute von Fragment C1 (41).

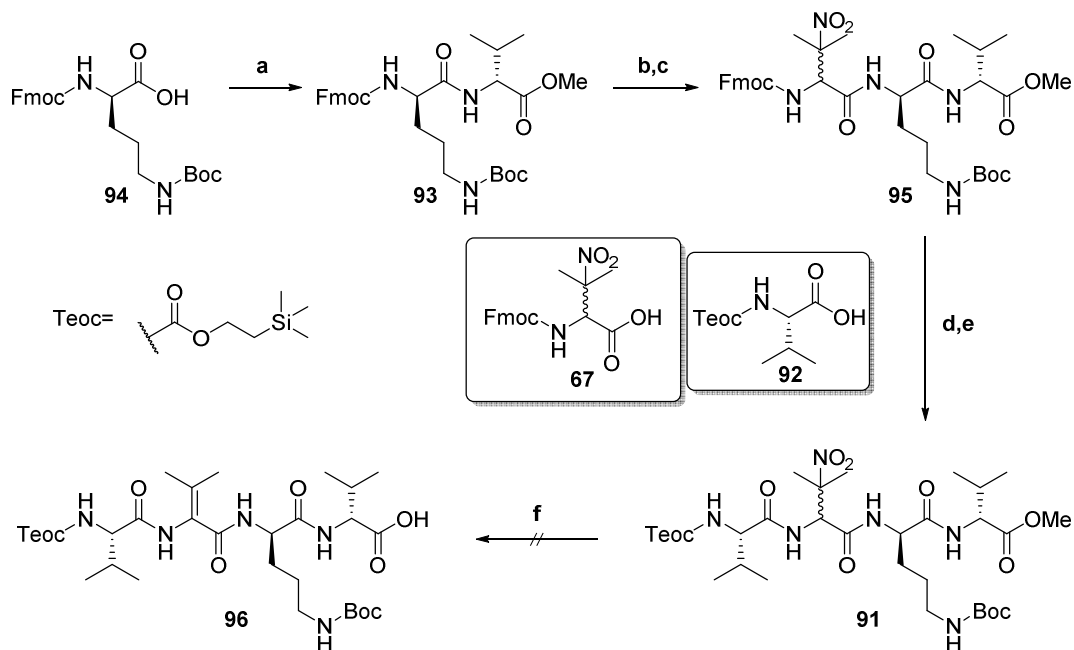
Ergebnisse einer Gen-Cluster-Analyse der Proteinbiosynthese^[65] zweifeln die Konfiguration der in Fragment C1 (41) vorhandenen Valin-Einheiten an und kommen zu einer alternativen Konfiguration der jeweiligen Stereozentren (vgl. Kap. 2, Zielsetzung und Kap. 3.1, Vorarbeiten und Retrosynthese). Da die Retrosynthese von Fragment C2 (44) analog zu Fragment C1 (41) verläuft, soll die oben gezeigte Retrosynthese stellvertretend für beide Moleküle sein.

3.4.2 Synthese von Fragment C1 (41) und C2 (44)

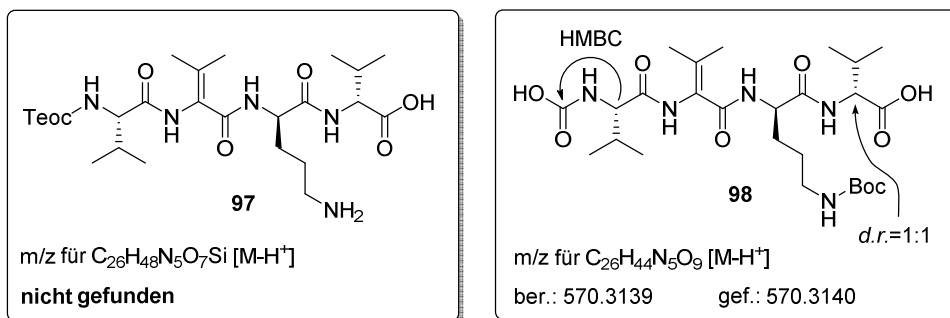
Analog zur Synthese-Route von GILLE begann die Arbeit an Fragment C1 (41) mit der Synthese des Dipeptides **93** (Schema 23). Diese gelang mit dem System EDC/HOAt/NaHCO₃ in einer Ausbeute von 93%. Anschließende Fmoc-Entschützung mit Tris(2-aminoethyl)amin und erneute Kupplung mit NO₂-Valin-Derivat **67** mittels EDC/HOAt/NaHCO₃ lieferte das Tripeptid **95** in einer Ausbeute von 75% (ü2S) und einem Diastereoisomerenverhältnis von *d.r.* = 1:1. Hieran schloss sich eine Fmoc-Entschützung mit Dimethylamin und eine Kupplung mit Teoc-L-valin (**92**) mittels EDC/HOAt/

⁶⁵ R. Müller, unveröffentlichte Ergebnisse.

NaHCO₃ an und lieferte das Tetrapeptid **91** in einer Ausbeute von 76% (ü2S) und einem Diastereoisomerenverhältnis von *d.r.* = 1:1.



Strukturvorschläge für *m/z*=570



Schema 23: Synthese von Fragment C1 (**96**). a) H-D-Val-OMe•HCl, EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 16 h, 93%; b) (H₂NCH₂CH₂)₃N, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 3 h; c) **67**, EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (5:1), 0 °C bis RT, 16 h, 75% (ü2S), *d.r.*=1:1; d) Me₂NH, DMF, RT, 4 h; e) **92**, EDC•HCl, HOAt, CH₂Cl₂/DMF (5:1), 0 °C bis RT, 16 h, 76% (ü2S), *d.r.*=1:1; f) LiOH, H₂O/THF (1:1), 0 °C bis RT.

Die NO₂-Eliminierung sollte nun genau wie bei Fragment A (**69**) über eine Verseifung mit LiOH stattfinden. Jedoch konnte unter diesen Bedingungen kein Produkt isoliert werden. Stattdessen wurde eine Verbindungen isoliert, welche bei einer negativen LCMS-Messung ein Massenverhältnis von *m/z* = 570 aufwies, was vordergründig auf einen Verlust der Boc-Gruppe hindeutete (vgl. Schema 23, **97**). Gegen diesen Strukturvorschlag sprachen gleich mehrere Indizien. Zum einen besaß die Verbindung unter Verwendung eines linearen Standard-Gradienten^[66] eine relativ hohe Retentionszeit (35-40 min). Für eine Peptidstruktur mit einer freien Amino- und einer freien Carboxyl-Gruppe

⁶⁶ RP-Büchi: 12x150 mm Säule, H₂O (0.1% FA)/ MeOH (0.1% FA), 10 mL/min; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}, R_t = 35-40 min.

wurden kürzere Retentionszeiten erwartet.^[67] Außerdem konnte für diese Struktur keine hoch aufgelöste Masse gefunden werden. Auch die NMR-Spektren des Nebenprodukts ergaben einige scheinbar widersprüchliche NMR-Signale (Abbildung 14).

Das doppelte Dublett bei $\delta = 5.3$ ppm aus dem Substrat konnte beim Nebenprodukt nicht gefunden werden. Somit hatte eindeutig die NO_2 -Eliminierung stattgefunden (Abbildung 14, **B**, Quadrate). Allerdings war das große, für die Trimethylsilyl-Gruppe typische Singulett nicht zu sehen (Abbildung 14, **B**, Kreise). Stattdessen konnte wiederum das für die Boc-Schutzgruppe typische Singulett bei *ca.* $\delta = 1.4$ ppm gefunden werden. Somit war eindeutig, dass die Boc-Gruppe unter diesen Reaktionsbedingungen stabil ist, wie auch zu erwarten war. Die Teoc-Gruppe schien gespalten worden zu sein, was bei negativer Massenanalyse einem Massenverhältnis von $m/z = 526$ entsprechen würde. Eine solche Masse wurde allerdings nicht detektiert. Die näherer Betrachtung der NH-Signale des Nebenprodukts ergab außerdem, dass kein freies Amin entstanden war, da die Signalintensität (1 Proton) und die Verschiebung ($\delta = 6.3$ ppm) trotz Hochfeldverschiebung eher der eines Carbamates entsprach als der eines freien Amines (Abbildung 14, **A**, Kreise).

Den finalen Hinweis auf die isolierte Struktur ergab ein HMBC-Spektrum, bei welchem ein Kontakt zwischen einem Carbamat-Kohlenstoffatom und dem entsprechenden Proton des Valin-Stereozentrums beobachtet werden konnte. Bei dem Nebenprodukt handelt es sich folglich um ein CO_2 -Addukt, namentlich um eine Carbamidsäure, wobei der hier unterbreitete Vorschlag (Schema 23, **98**) nicht ausschließen kann, dass evtl. auch ein Salz oder gemischtes Anhydrid vorliegen kann, welches unter LCMS-Bedingungen zur oben gezeigten Struktur hydrolysieren könnte. Carbamidsäuren sind häufig thermisch labile Intermediate. Isolierbare Carbamidsäuren sind selten und enthalten häufig größere aromatische Reste^[68,69].

Zusätzlich zur Teoc-Spaltung wurde außerdem festgestellt, dass hier unter den Verseifungsbedingungen eine Epimerisierung als Nebenreaktion auftritt (Abbildung 14, **A**, Quadrat) und somit das besagte Nebenprodukt **98** als Diastereoisomerengemisch von *ca.* *d.r.* = 1:1 erhalten wird.

⁶⁷ Das Tetrapeptid **141** mit freier Säure aus Kapitel 3.7.3 besaß eine Retentionszeit von t_R : 16-34 min bei gleichem Gradienten.

⁶⁸ D. B. Dell'Amico, F. Calderazzo, L. Labella, F. Marchetti, G. Pampaloni, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3857-3897.

⁶⁹ E. M. Hampe, D. M. Rudkevich, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 9619-9625.

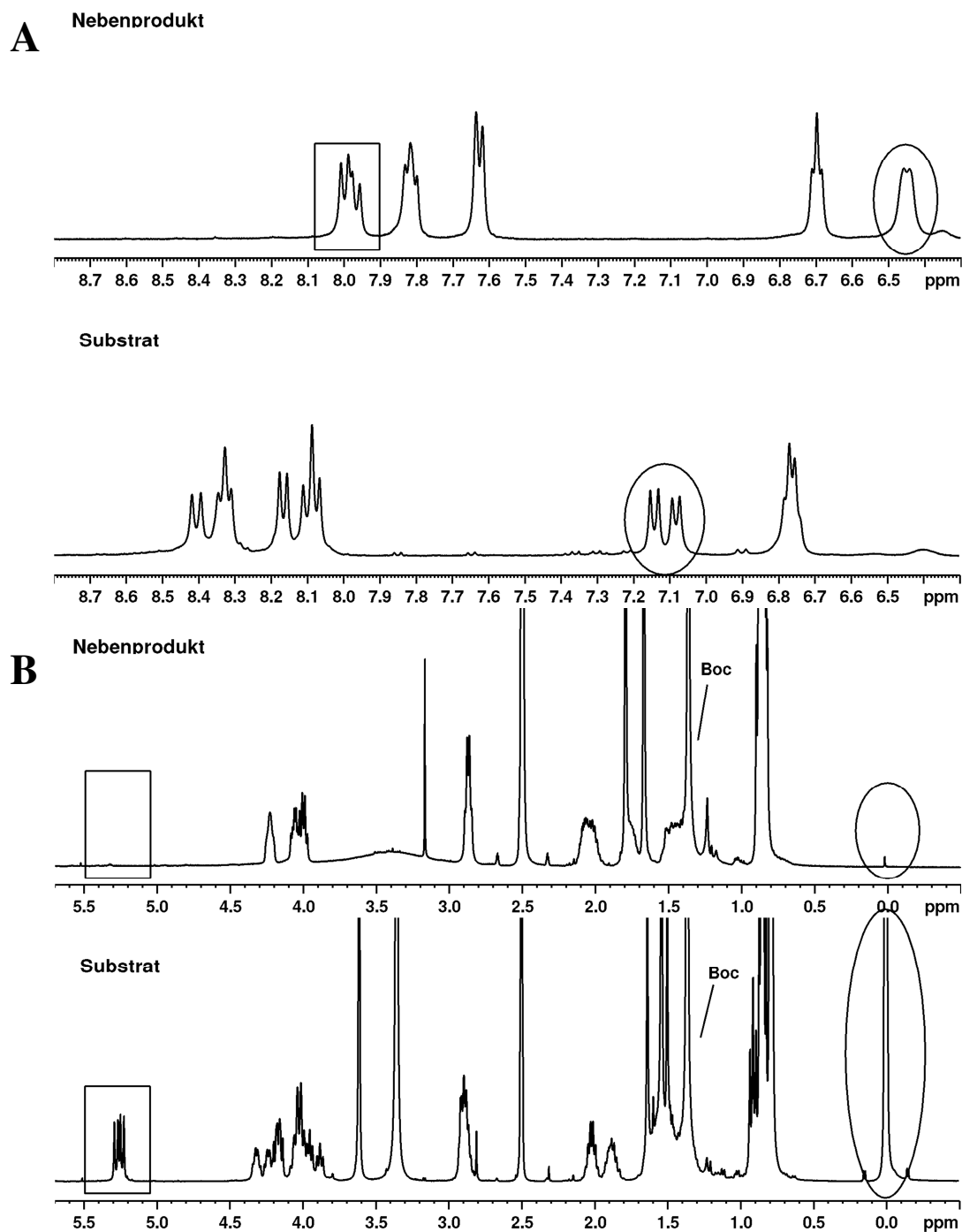
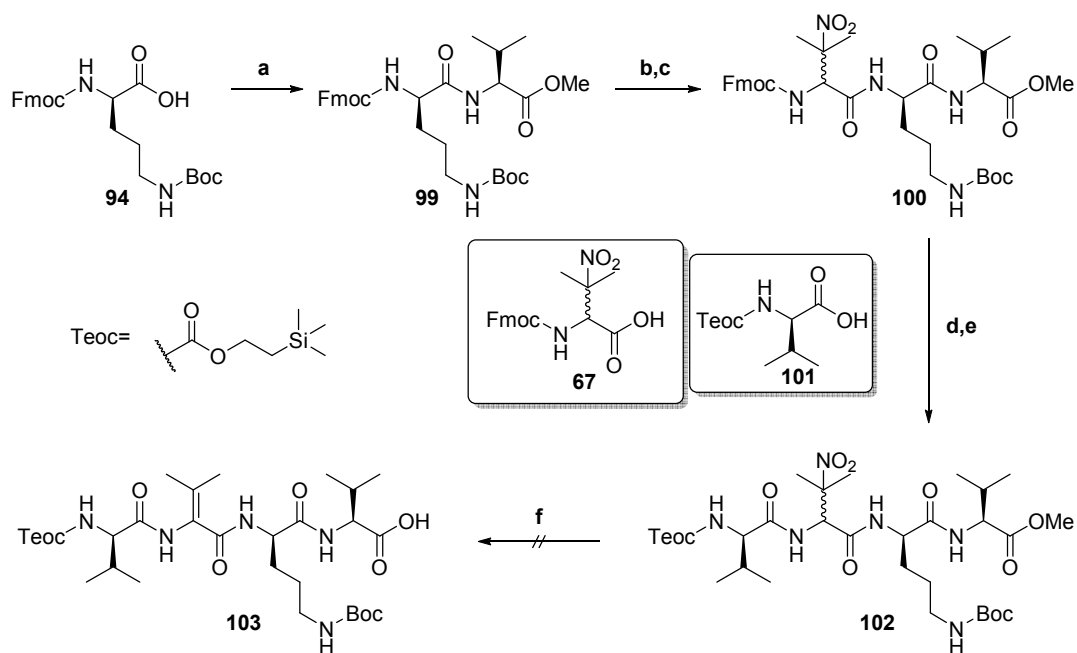
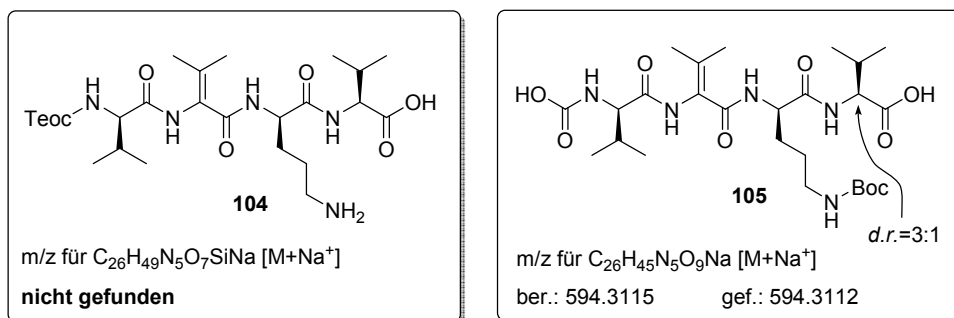


Abbildung 14: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren (DMSO-d_6) zwischen Substrat **91** und dem unter Verseifungsbedingungen gebildeten Nebenproduktes **98**. **A:** Ausschnitt der NH-Signale ($\delta = 8.8\text{--}6.3$ ppm). Hervorgehoben sind das NH-Signal des *N*-terminalen Valins (Kreis) sowie das NH-Signal des *C*-terminalen Valins des Nebenproduktes **98** (Quadrat); **B:** Ausschnitt der CH-Signale ($\delta = 5.7\text{--}(0.5)$ ppm). Hervorgehoben sind die Signal-Änderungen zwischen Substrat **91** und Nebenprodukt **98** bezüglich des NO_2 -Valin-Stereozentrums (Quadrat) und des TMS-Signals der Teoc-Schutzgruppe (Kreis). Ein Singulett der Boc-Schutzgruppe bei $\delta = 1.4$ ppm wurde für beide Moleküle gekennzeichnet.

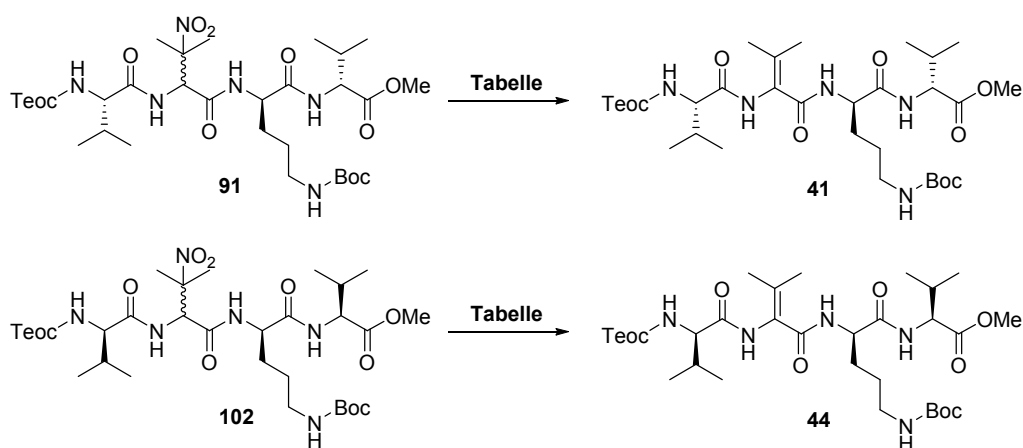

Strukturvorschläge für $m/z=594$


Schema 24: Synthese von Fragment C2 (**103**). a) EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (5:1), 0 °C bis RT, 16 h, 98%; b) (H₂NCH₂CH₂)₃N, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 4 h, 99%; c) EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (5:1), 0 °C bis RT, 18 h, 86%, $d.r. = 1.5:1$; d) Me₂NH, DMF, RT, 6 h; e) EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (5:1), 0 °C bis RT, 20 h, 79% (ü2S), $d.r. = 3:1$.

Parallel zur Synthese von Tetrapeptid **91** beginnt auch die Synthese von Fragment C2 (**44**) mit der Kupplung des kommerziell erhältlichen D-Ornithin-Derivates **94** zum Dipeptid **99** und wurde mit Hilfe von EDC/HOAt/NaHCO₃ in einer Ausbeute von 98% bewerkstelligt (Schema 24). Anschließende Fmoc-Entschützung mit Tris(2-aminoethyl)amin und Kupplung mit NO₂-Valin-Derivat **67** bei Verwendung von EDC/HOAt/NaHCO₃ ergab das Tripeptid **100** in einer Ausbeute von 85% (ü2S) als Diastereoisomerenmischung von $d.r. = 1.5:1$. Schließlich wurde nach Fmoc-Entschützung mit Me₂NH und anschließender Kupplung mit Teoc-D-valin mit Hilfe von EDC/HOAt/NaHCO₃ das Tetrapeptid **102** in einer Ausbeute von 79% (ü2S) und einem Diastereoisomerenverhältnis von ca. $d.r. = 3:1$ erhalten. Auch hier ergab die nun folgende Verseifung mit LiOH ein dem Fragment C1 (**96**) analoges Nebenprodukt (Schema 24, **105**), welches ebenfalls aufgrund von Epimerisierung während der Esterspaltung als Diastereoisomerenmischung von 3:1 erhalten wurde. Eine weitere Optimierung der Verseifungsbedingungen wurde an dieser Stelle nicht durchgeführt. Der Autor verweist für weitere Informationen hinsichtlich alternativer Reaktionsbedingungen auf das Kapitel 5.2 (Ausblick).

Da die Verseifung an dieser Stelle nicht erfolgreich war, sollte nun zunächst untersucht werden, ob eine NO₂-Eliminierung auch mit anderen Basen effektiv bewerkstelligt werden kann. Hierzu wurden einige Bedingungen getestet (Tabelle 8). Zunächst sollte die Amin-Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en (DBU, pK_{a,MeCN}=23.9^[70]) geprüft werden, da KINOSHITA hiermit bereits erfolgreich NO₂-Eliminierungen an Dipeptidstrukturen durchführen konnte.^[62] Erste Versuche bezüglich des Tetrapeptides **91** ergaben eine Ausbeute von 77% bei gleichzeitiger Epimerisierung (*d.r.* = 4:1) des C-terminalen Valin-Stereozentrums (Eintrag 1). Ähnliche Bedingungen bezüglich des Tetrapeptides **102** ergaben keine Epimerisierung, sondern vielmehr die Bildung eines schwer abtrennbaren Nebenproduktes, welches die für die Teoc-Schutzgruppe typischen Signale nicht mehr aufwies (Eintrag 2).

Tabelle 8: Optimierung der NO₂-Eliminierungsbedingungen für die Synthese von Fragment C1 (**41**) und C2 (**44**)



Eintrag	Start-material	Base (Äquiv.)	Lösungs-mittel	Temperatur	Reaktionszeit	Ausbeute, Kommentar
1	91	DBU (2.0)	CH ₂ Cl ₂	RT	24 h	77%, <i>d.r.</i> = 4:1
2	102	DBU (2.0)	CH ₂ Cl ₂	RT	24 h	70%, 30% NP ^c
3 ^a	102	DBU ^b (1.0 +0.5 +1.0)	CH ₂ Cl ₂	0 °C bis RT	4 h +14 h +2 h	60%, <i>d.r.</i> = 10:1, 20% NP ^c
4	102	DBU (2.0)	CH ₂ Cl ₂	RT	16 h	60%, <i>d.r.</i> =10:1
5	102	TMG (ÜS)	MeCN	RT	4 d	A.n.b., 102:44 ≈ 3:1, Epimerisierung ^f , <i>d.r.</i> = n.b.
6	102	TBD ^d (ÜS)	MeCN	RT	6 h	Substrat zerstört
7	102	TBD ^d (ÜS)	MeCN	RT	30 min	Substrat zerstört
8	102	TBD ^d (0.95)	CH ₂ Cl ₂	-15 °C bis RT	16 h	66%, <i>d.r.</i> > 15:1, 34% 102 reisoliert
9	91	TBD ^d (0.95)	CH ₂ Cl ₂	-15 °C bis RT	16 h	64%, <i>d.r.</i> > 15:1, 24% 91 reisoliert
10	102	TBD ^e (0.95)	CH ₂ Cl ₂	-78 °C bis RT	20 h	62%, <i>d.r.</i> > 15:1 (10% 102 , 3% 107)

⁷⁰ J. E. Taylor, S. D. Bull, J. M. J. Williams, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2109-2121.

Eintrag	Start-material	Base (Äquiv.)	Lösungs-mittel	Temperatur	Reaktionszeit	Ausbeute, Kommentar
11	91	TBD ^e (0.95)	CH ₂ Cl ₂	-78 °C bis RT	20 h	69%, <i>d.r.</i> > 15:1 (8% 106)

^a kein Feuchtigkeitsausschluss; ^b Schrittweise Zugabe der Äquivalente; ^c Nebenprodukt enthält keine Teoc-Gruppe; ^d TBD wurde unter normaler Atmosphäre abgewogen; ^e TBD wurde unter Glovebox-Bedingungen abgewogen, ^f Bewertung des Umsatzes und des *d.r.* nur qualitativ über DC und LC/MS.

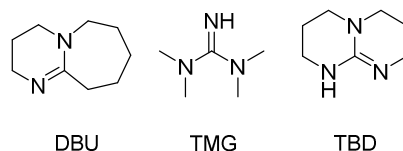


Abbildung 15: Struktur der in Tabelle 8 verwendete Aminbasen. DBU: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en; TMG: Tetramethylguanidin; TBD: 1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en.

Nachfolgend wurde die Optimierung der Eliminierungsbedingungen zunächst anhand des Tetrapeptides **102** erprobt. Als erstes wurde versucht unter nicht-trockenen Bedingungen zu arbeiten, um die Basizität von DBU zu schwächen. Außerdem wurde zunächst nur ein Äquivalent der Base verwendet, das bei 0 °C hinzugegeben wurde. Dem langsamen Reaktionsfortschritt entsprechend wurden dann in unterschiedlichen Abständen weitere Äquivalente bei Raumtemperatur hinzugegeben. Der vollständige Umsatz des Startmaterials wurde erst nach Zugabe von 2.5 Äquivalenten erreicht. Aber auch hier wurde erneut das bereits unter Eintrag 2 genannte Nebenprodukt gebildet. Außerdem konnte eine leichte Epimerisierung (*d.r.* = 10:1) beobachtet werden (Eintrag 3). Schließlich konnte durch Zugabe von 2.0 Äquivalenten DBU unter trockenen Bedingungen und einem vorzeitigen Abbruch der Reaktion nach 16 h das bis dahin beste Ergebnis erzielt werden, wobei auch hier eine leichte Epimerisierung beobachtet werden konnte (70%, *d.r.* = 10:1, Eintrag 4). Der Wechsel des Lösungsmittels führte generell zu einem langsameren Reaktionsfortschritt und zu einer verstärkten Ausbildung des zuvor genannten Nebenproduktes; dennoch wurde für das weitere *Screening* im mg-Maßstab zunächst das weniger flüchtige Acetonitril gewählt, um die Reaktionsbedingungen über mehrere Tage leichter konstant halten zu können.

Im weiteren Verlauf sollten nun zunächst andere Aminbasen getestet werden. Tetramethylguanidin (TMG), als leicht schwächere Base ($pK_{a,MeCN} = 23.3^{[70]}$), reagierte sehr langsam. Selbst ein Überschuss der Base ergab keinen vollständigen Umsatz nach mehreren Tagen (Eintrag 5). Außerdem konnte die Bildung von Diastereoisomeren und Nebenprodukten beobachtet werden. Die Verwendung der stärkeren Base 1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en (TBD, $pK_{a,MeCN} = 26.0^{[70]}$) im Überschuss bei Raumtemperatur führte zur vollständigen Zerstörung des Startmaterials **102** (Eintrag 6). Dies war auch der Fall bei Verminderung der Reaktionszeit auf 30 min (Eintrag 7). Unter der Annahme, dass das unter den Reaktionsbedingungen gebildete Produkt in Anwesenheit überschüssiger Aminbase weiterreagierte, sollten nun im nächsten Schritt die Äquivalente der eingesetzten TBD-Base verringert werden. Außerdem sollte die Reaktion mit der sehr starken Aminbase bei niedrigeren Temperaturen starten, um eine eventuell auftretende Epimerisierung zu unterdrücken. Auch wurde für diese Reaktion

anstelle von Acetonitril nun wieder Dichlormethan verwendet, da dieses für diese Reaktion die besseren Lösungsmittleigenschaften besaß. Die Verwendung von TBD im leichten Unterschuss (0.95 Äquiv.) bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ als Starttemperatur führte schließlich zu einer Ausbeute von 66%, wobei der Rest des Startmaterials **102** reisoliert werden konnte (Eintrag 8). Ähnliche Bedingungen führten bei Tetrapeptid **91** zu einer Ausbeute von 64% und einer Reisolation des Startmaterials von 24% (Eintrag 9). Da es sich bei TBD um einen Feststoff handelt, der hygroskopisch und CO_2 -sensitiv ist, sollte außerdem getestet werden, ob durch die Handhabung des Feststoffes unter *Glovebox*-Bedingungen und unter Verwendung niedrigerer Starttemperaturen ($-78\text{ }^{\circ}\text{C}$) die Ausbeute weiter verbessert werden könnte. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Ausbeute nicht wesentlich veränderte (Eintrag 10 und 11). Es traten lediglich größere Verluste des reisolierten Startmaterials **102** auf. Außerdem konnte ebenfalls die Bildung von Nebenprodukten beobachtet werden. Unter Verwendung beider Startmaterialien **91** und **102** konnte jeweils ein Nebenprodukt mit einem Massenverhältnis von $m/z = 568$ [$\text{M} + \text{H}^+$] bzw. 590 [$\text{M} + \text{Na}^+$] nachgewiesen werden, was strukturell einer Cyclokondensation der Eliminierungsprodukte **41** und **44** unter Abspaltung einer 2-(Trimethylsilyl)ethanol-Gruppe entspricht. Abbildung 16 zeigt die Summenformeln und zwei mögliche Konstitutionsisomere **106** und **107** für beide isolierte Nebenprodukte. Die Struktur jener Verbindungen konnte allerdings nicht belegt werden, da die diesen Summenformeln entsprechenden Nebenprodukte nicht in Reinform isoliert werden konnten.

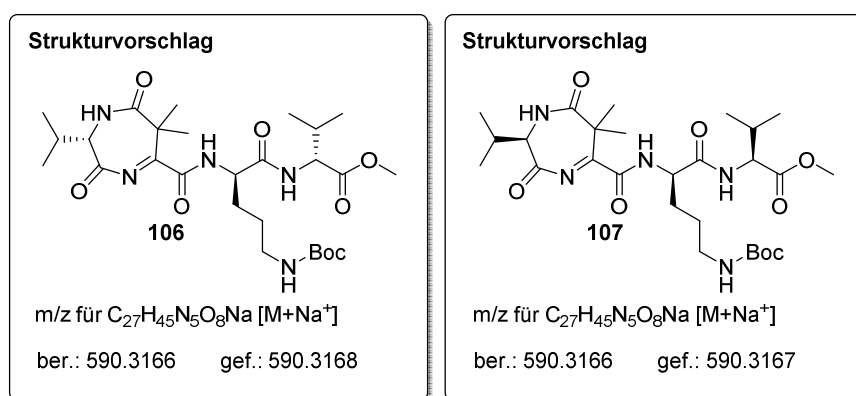


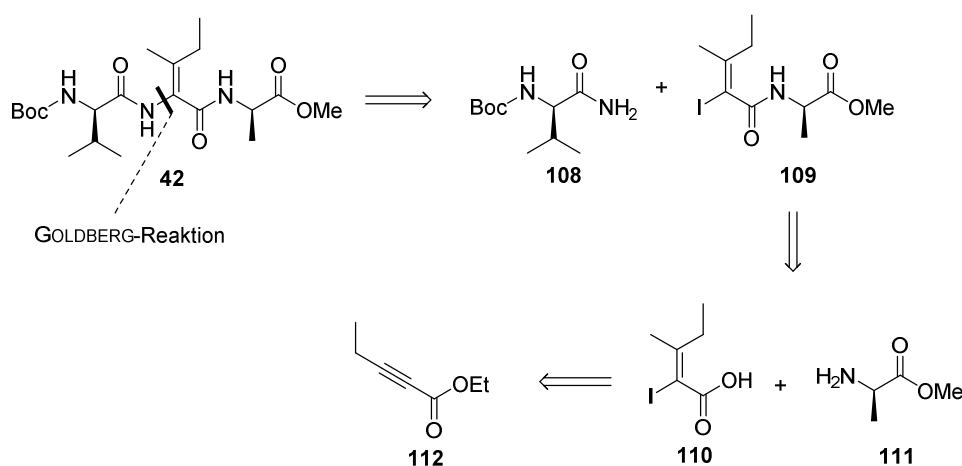
Abbildung 16: Mögliche Konstitutionsisomere für die unter Tabelle 8, Eintrag 10 und Eintrag 11 erwähnten Nebenprodukte.

Schließlich kann gesagt werden, dass TBD unter den getesteten Bedingungen zu den besten Resultaten führte, wenn zumindest ein kleiner Anteil der Base durch CO_2 und/oder Wasser deaktiviert war (Eintrag 8 und 9, TBD unter Normalatmosphäre eingewogen), da dann zusätzlich zum Produkt auch Startmaterial reisoliert werden konnte. Eine weitere Optimierung der Eliminierungsbedingungen wurde nicht mehr durchgeführt. Die Fragmente C1 (**41**) und C2 (**44**) konnten somit in jeweils 6 Stufen und in einer Gesamtausbeute von 37% (C1) bzw. 41% (C2) dargestellt werden.

3.5 Studien zur Synthese von Fragment D

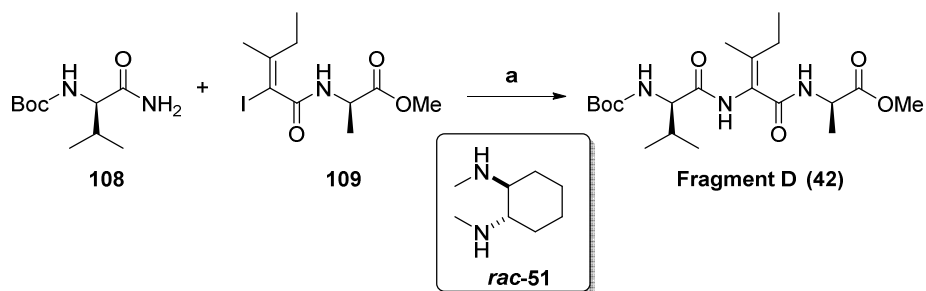
3.5.1 Vorarbeiten zu und Retrosynthese von Fragment D (42)

Bei Fragment D (**42**) handelt es sich um ein Tripeptid, welches ausgehend vom *N*-Terminus aus einer *D*-Valin-, (*E*)- α,β -Dehydroisoleucin- und *D*-Alanin-Einheit besteht. In ihren Vorarbeiten schnitt GILLE^[55] das Fragment D (**42**) analog zu den Fragmenten A (**39**) und C1 (**41**) (vgl. Kap. 3.2.1 und 3.4.1) zum primären Amid **108** und dem Vinyljodid **109**, welches aus (*E*)-2-Iod-3-methylbut-2-ensäure (**110**) und *D*-Alaninmethylester (**111**) aufgebaut werden sollte (Schema 25). Besagte Säure **110** sollte schließlich aus 2-Pentinsäureethylester (**112**) durch eine *syn*-selektive Cuprat-Addition mit anschließender Iodierung und Verseifung gewonnen werden. Der Vorteil dieser Syntheseroute liegt vor allem in dem (*E*)-selektiven Aufbau von Vinyljodid **110**.



Schema 25: Syntheseroute von GILLE für das Fragment D (**42**).^[55]

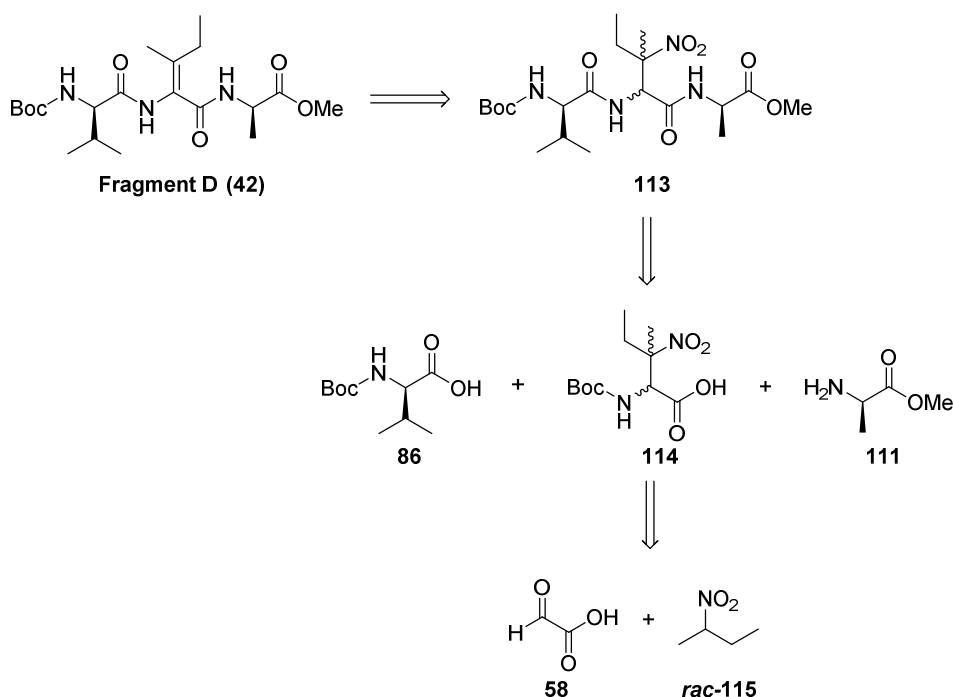
Die GOLDBERG-Reaktion zwischen dem Vinyljodid **109** und dem primären Amid **108** gelang GILLE schließlich in einer Ausbeute von 48% (Schema 26). Da diese Reaktion nicht skalierbar (vgl. Kap. 3.2.1 und 3.4.1) und maximal im 80 mg Maßstab durchführbar war, sollte auch hier zunächst versucht werden, die NO₂-Eliminierungsstrategie zu nutzen. Wie bereits erwähnt, könnte eine solche Strategie auch kompatibel zu einem möglichen Festphasensynthese-Ansatz dieses Fragmentes sein.



Schema 26: Synthese von Fragment D (**42**) durch GOLDBERG-Reaktion. a) CuI, K₂CO₃, **51**, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 20 h, 48%.

In einer alternativen Retrosynthese würde zunächst die Aminosäure (*E*)- α,β -Dehydroisoleucin durch die Aminosäure 3-NO₂-Isoleucin substituiert werden, welche später durch eine NO₂-Eliminierung in die besagte Dehydroaminosäure überführt werden sollte (Schema 27).

Das so erhaltene Tripeptid **113** sollte schließlich durch sequenzielle Kupplung von D-Alanin-methylester (**111**), *N*-Boc-3-NO₂-isoleucin (*rac*-**114**) und Boc-D-valin (**86**) ausgehend vom C-Terminus hin zum *N*-Terminus aufgebaut werden. *N*-Boc-3-NO₂-Isoleucin (*rac*-**114**) sollte schließlich analog zur Synthese von 3-NO₂-Valin (*rac*-**56**) aus Glyoxalsäure (**58**) und 2-NO₂-Butan (*rac*-**115**) dargestellt werden.



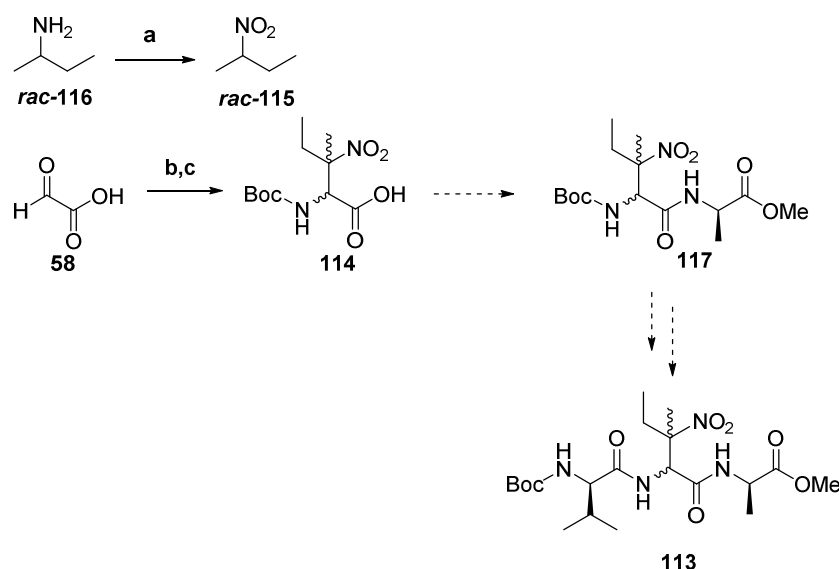
Schema 27: Alternative Syntheseroute unter Verwendung der bereits zuvor angewandten NO₂-Eliminierungsstrategie.

3.5.2 Synthese von Fragment D (42)

Hinsichtlich der neuen Syntheseroute stellten sich gleich zu Beginn einige Probleme. Das Startmaterial 2-NO₂-Butan (*rac*-**115**), welches für die Synthese von 3-NO₂-Isoleucin notwendig war, war nicht kommerziell erhältlich und musste entsprechend synthetisiert werden. Als Syntheseansatz wurde eine Vorschrift von GILBERT verwendet, der als Startmaterial 2-Aminobutan (*rac*-**116**) verwendete.^[71] Diese lieferte das Produkt jedoch lediglich in einer Ausbeute von 38% (Schema 28). Außerdem verwendete GILBERT zur Erhöhung der Ausbeute das teure Oxidationsmittel mCPBA im großem Überschuss (4 Äquiv.), was diese Reaktion für die Anwendung im großen Maßstab unwirtschaftlich und Recourcen ineffizient machte. Weiterhin führte das in der Literatur verwendete Lösungsmittel 1,2-Dichlorethan zu weiteren Problemen und Verlusten bei der Reinigung, da hier eine Azeotropbildung

⁷¹ K. E. Gilbert, W. T. Borden, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 659-661.

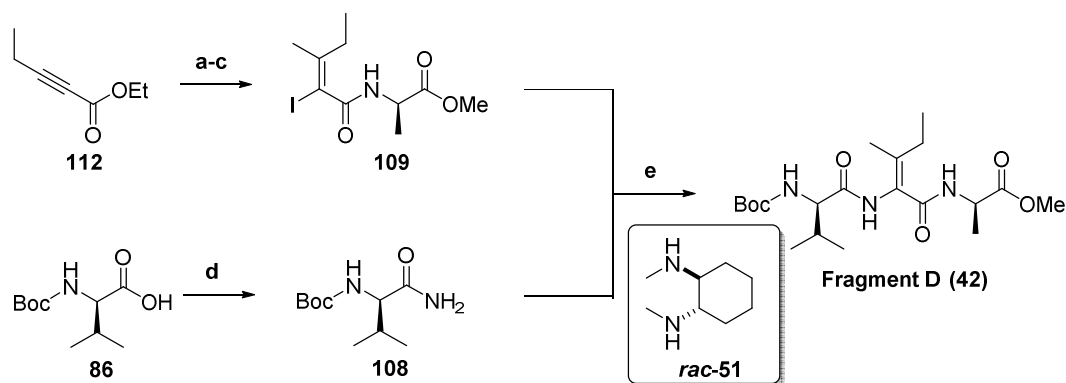
während der Destillation beobachtet werden konnte. Folglich konnte das Produkt nicht in absoluter Reinform erhalten werden. Eine weitere Optimierung dieser bekannten Literaturvorschrift zur Oxidation wurde nicht durchgeführt.



Schema 28: Synthese von *N*-Boc-3- NO_2 -isoleucin (**rac-114**). a) mCPBA, 1,2-DCE, Rückfluss, 3 h, 38%; b) *rac*-115, NH_3 (25%, H_2O), KOH, H_2O , RT, 2 h, 36%, *d.r.* = 1.2:1; c) Boc_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 , RT, 16 h, 70%, *d.r.* = 1.7:1.

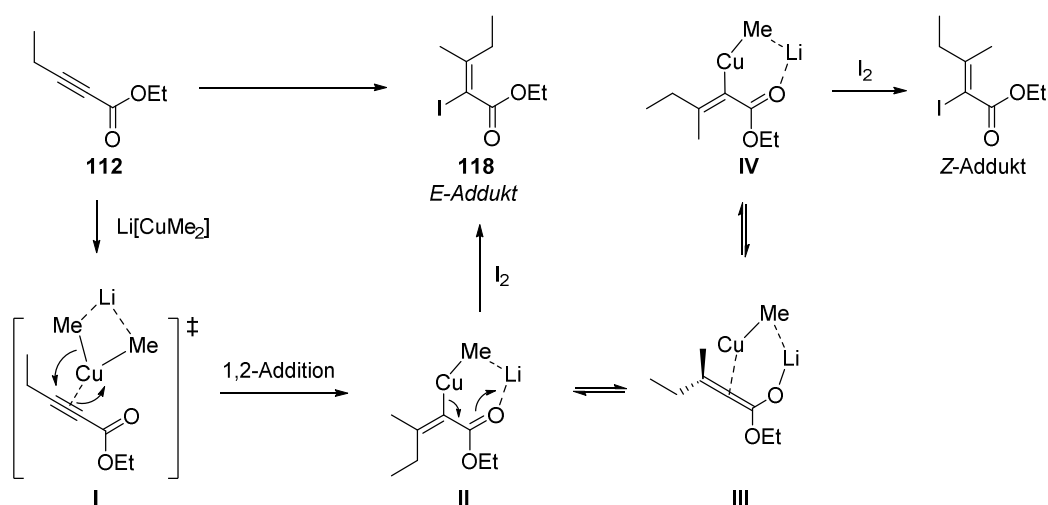
Mit dem Startmaterial in der Hand sollte nun die Darstellung der NO_2 -Aminosäure erprobt werden. Die Synthese von 3- NO_2 -Isoleucin ausgehend von Glyoxalsäure (**58**) in Anwesenheit von NH_3 und KOH gelang mit einer Ausbeute von 36%. Die hier verwendeten Reaktionsbedingungen sahen einen Überschuss (2 Äquiv.) des Nitroalkans vor, was wiederum zu einer Verschlechterung der allgemeinen Wirtschaftlichkeit dieser Syntheseroute führte. Die anschließende Boc-Schützung gelang in einer Ausbeute von 70%.

Die Syntheseroute wurde an dieser Stelle nicht mehr weiterverfolgt und verworfen, da sie im Vergleich zur Synthese von GILLE (vgl. Kap. 3.5.1) keine besseren Ausbeuten lieferte, eine größere Stufenanzahl besaß (6 anstelle von 5) und darüber hinaus zu unwirtschaftlich für eine Synthese im großen Maßstab war. Außerdem war davon auszugehen, dass während der Eliminierung der NO_2 -Gruppe ein Gemisch aus *E/Z*-Isomeren von Dehydroisoleucin erhalten werden würde,^[62] was zu einem weiteren Ausbeuteverlust gegen Ende der Fragment-Synthese führen würde. Im Folgenden wurde daher die Synthesesequenz von GILLE beibehalten (Schema 29).



Schema 29: Synthese von Fragment D (**42**). a) CuI, MeLi (2 Äquiv.), THF, 0 °C, 30 min, dann **112**, -78 °C, 3 h, dann I₂, THF, -78 °C, 15 min, quant., *E/Z* > 20:1; b) LiOH, Ethanol (entgast), H₂O (entgast), 60 °C, 22 h, 83%; c) D-Ala-OMe•HCl, PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C bis RT, 20 h, 69%; d) IBCF, NMM, THF, -15 °C, 30 min, dann NH₃ (25% in H₂O), -15 °C bis RT, 16 h, 79%; e) CuI, *rac*-**51**, K₂CO₃, 1,4-Dioxan (entgast), 70 °C, 20 h, 65%.

Analog zur Synthese von GILLE wurde 2-Pentinsäureethylester (**112**) in einer *syn*-selektiven Cuprat-Addition mit anschließender Iodierung zunächst zum (*E*)-3-Methyl-2-iodpent-2-ensäureethylester (**118**) umgesetzt (quant., Schema 29).



Schema 30: Von NAKAMURA postulierter Mechanismus einer Cuprat-Addition an Dreifachbindungen mit elektronenziehenden Resten.^[72] Metallkomplexe sind hier im Sinne der Übersichtlichkeit vereinfacht dargestellt.

Die *syn*-Selektivität von Cuprat-Additionen an Dreifachbindungen mit einem elektronenziehenden Rest wurde von NAKAMURA^[72] auf eine 1,2-Addition zurückgeführt (Schema 30). Ausgehend von einem π-Komplex **I** wird zunächst eine α-Cuprato-Spezies **II** gebildet, welche je nach Art des elektronenziehenden Restes unterschiedlich stabil sein soll. Stärkere elektronenziehende Reste (beispielsweise eine Ketogruppe) oder höhere Temperaturen sollen als Nebenreaktion zur Ausbildung eines Allenolates **III** führen, welches im Gleichgewicht zur α-Cuprato-Spezies **II** und **IV** steht und somit zur Ausbildung eines *E/Z*-Gemisches führen kann.

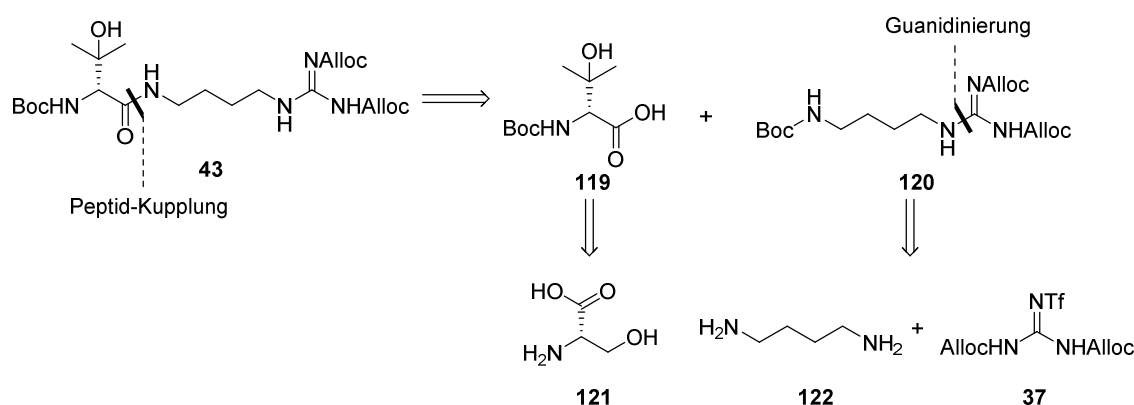
⁷² S. Mori, E. Nakamura, K. Morokuma, *Organometallics* **2004**, *23*, 1081-1088.

Im weiteren Verlauf wurde durch Verseifung^[73] des Esters **118** zur Säure und anschließende Kupplung mit H-D-Ala-OMe•HCl das Vinylidiodid **109** in einer Ausbeute von 57% (ü2S, Schema 29) erhalten. Das primäre Amid **108** wurde nach Aktivierung von Säure **86** mittels IBCF in einer Ausbeute von 79% erhalten. Schließlich wurde die Kupplung des Vinylidiodids **109** mit dem primären Amid **108** unter den von GILLE^[55,56] optimierten GOLDBERG-Bedingungen erfolgreich durchgeführt und eine Ausbeute von 65% erreicht.^[74] Das Fragment D (**42**) konnte somit in 4 Stufen (längste lineare Sequenz, 5 Stufen total) und einer Gesamtausbeute von 37% dargestellt werden.

3.6 Studien zur Synthese von Fragment E

3.6.1 Vorarbeiten und Retrosynthese von Fragment E (**43**)

Bei Fragment E (**43**) handelt es sich um ein Monopeptid bestehend aus einer nicht-kanonischen D-3-Hydroxyvalin- und einer Agmatin-Einheit. GILLE schnitt in ihren Vorarbeiten^[57,55] das Monopeptid **43** in die nicht-kanonische Aminosäure Boc-D-3-hydroxyvalin (**119**) und das Agmatin-Derivat **120** (Schema 31). Die Wahl für die Schutzgruppen des Guanidylrestes fiel hier auf die Alloc-Gruppe, welche orthogonal zu der in Fragment C (**41**) verwendeten Boc-Gruppe ist, wo diese als Schutzgruppe der D-Ornitin-Seitenkette Anwendung findet (vgl. Kap. 3.4).



Schema 31: Retrosynthese zu Fragment E (**43**).

Die Synthese des Hydroxyvalin-Derivates **119** war literaturbekannt und sollte über das Protokoll von LUBELL erfolgen.^[75] Die Synthese des Agmatin-Derivates **120** sollte mit 1,4-Diaminobutan (**122**)

⁷³ Der Autor weist an dieser Stelle darauf hin, dass eine Hochskalierung der Verseifung auf einen Maßstab größer als fünf Gramm zur teilweisen Ausbildung des (Z)-Konfigurationsisomers führt. Das so entstandene E/Z-Gemisch kann nach der Kupplung mit H-D-Ala-OMe•HCl getrennt werden.

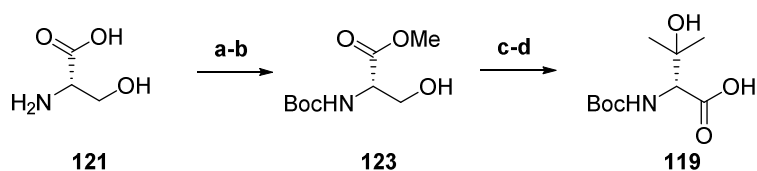
⁷⁴ Umkristallisation des primären Amids **108** führte zu einer leichten Steigerung der Ausbeute der GOLDBERG-Reaktion.

⁷⁵ J. E. Dettwiler, W. D. Lubell, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 177-179.

beginnen^[76] und mithilfe des von GOODMAN publizierten Guanidinierungsreagenzes **37** in das Agmatin-Derivat **120** überführt werden.^[77]

3.6.2 Synthese von Fragment E (43)

Analog zur Route von GILLE startete diese Synthese-Sequenz zunächst mit der Darstellung von Boc-L-Ser-OMe (**123**) und gelang nach dem Protokoll von FOSS^[78] in einer Ausbeute von 68% (ü2S, Schema 32). Nach dem Protokoll von LUBELL^[75] wurde der Ester **123** dann durch eine doppelte GRIGNARD-Addition und anschließende Oxidation in die Säure **119** überführt (77%, ü2S). Die Darstellung der von *N*-Boc-3-hydroxy-D-valin (**119**) gelang somit in 4 Stufen und einer Gesamtausbeute von 52%.



Schema 32: Synthese von *N*-Boc-3-hydroxy-D-valin (**119**). a) SOCl₂, MeOH, 0 °C bis RT, 20 h; b) Boc₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 16 h, 68% (ü2S); c) MeMgBr, Et₂O, -78 °C bis RT, 2 h, 95%; d) TEMPO, NaOCl, NaClO₂, Phosphat-Puffer (pH = 7), MeCN, 35 °C, 48 h, 81%.

Zur Darstellung des Agmatin-Derivates **120** wurde zunächst 1,4-Diaminobutan (**122**) Boc-geschützt (Schema 33).^[76] Die von GOODMAN^[77] publizierte Synthese des Guanidinierungsreagenzes **37** war jedoch nicht reproduzierbar, da bei der zweifachen Alloc-Schätzung von Guanidin viele Nebenprodukte entstanden, welche zu niedrigen Ausbeuten und Trennproblemen führten.

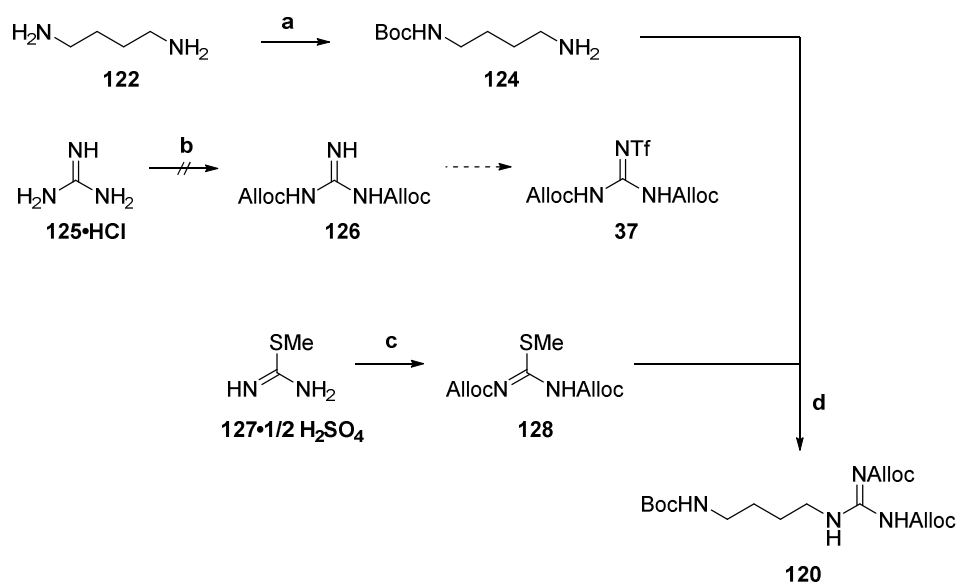
In Anbetracht dessen, dass von GILLE außerdem eine Guanidinierung des vollständigen Myxovalargin-Grundgerüsts mit dem Reagenz **37** nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte (vgl. Kap. 3.1), sollte an dieser Stelle ein alternatives Guanidinierungsreagenz erprobt werden. Die Synthese des auf Methylisothioharnstoff basierten Guanidinierungsreagenzes **128** gelang nach einem Patent der Firma MERCK^[79] in einer Stufe mit einer Ausbeute von 55%. Die anschließende Umsetzung des Amins **124** zum Agmatin-Derivat **120** gelang mit 93%.

⁷⁶ C. G. Evans, M. C. Smith, J. P. Carolan, J. E. Gestwicki, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 2587-2590.

⁷⁷ C. W. Zapf, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 10092-10097.

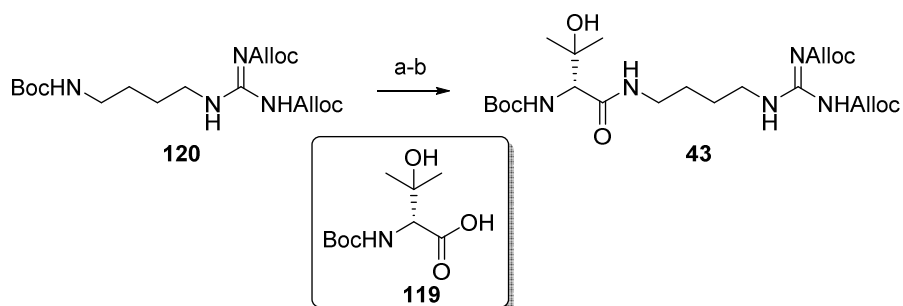
⁷⁸ F. W. Foss, Jr., A. H. Snyder, M. D. Davis, M. Rouse, M. D. Okusa, K. R. Lynch, T. L. Macdonald, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 663-667.

⁷⁹ Merck and Co., Inc., Patent: US6140318 A1, **2000**.



Schema 33: Darstellung des Agmatin-Derivates **120**. a) Boc₂O, 1,4-Dioxan, RT, 20 h, 95%; b) AllocCl, NaOH, BnNEt₃Cl, H₂O, CH₂Cl₂, 0 °C, 6 h; c) AllocCl, NaOH, 10% NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, 3 h, 55%; d) Et₃N, THF, RT, 72 h, 93%.

Schließlich konnte das Agmatin-Derivat **120** nach Boc-Entschützung erfolgreich mit der Säure **119** gekuppelt werden und ergab das Fragment E (**43**) in einer Ausbeute von 71% (Schema 34). Das Fragment konnte somit in 5 Stufen (längste lineare Sequenz, 9 Stufen total) und einer Gesamtausbeute von 37% dargestellt werden.

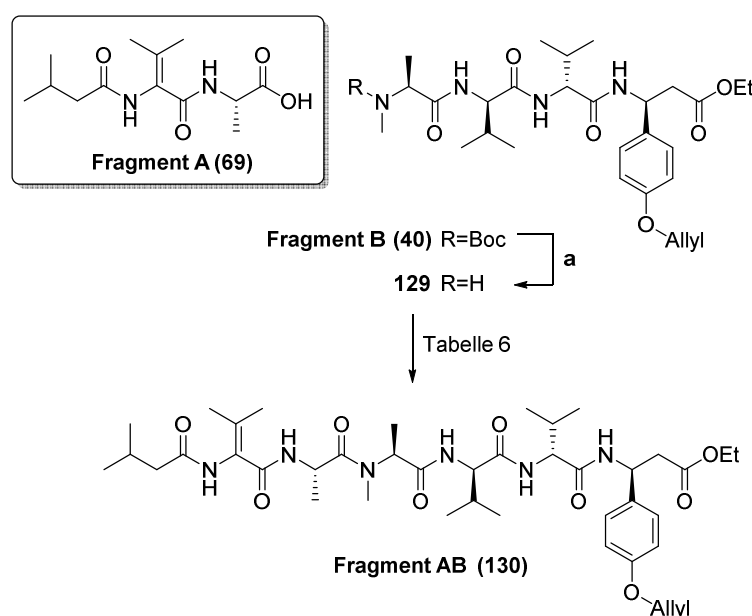


Schema 34: Synthese von Fragment E (**43**). a) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 5 min; b) **119**, EDC·HCl, Oxyma, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (6:1), 0 °C bis RT, 20 h, 71%.

3.7 Endspiel

3.7.1 Studien zur Kupplung der Fragmente A und B

Nachdem die Fragmente A (**69**) und B (**40**) zugänglich sind, sollte versucht werden, diese zu dem großen Fragment AB (**130**) zu verbinden (Schema 35). Hierzu wurde Fragment B (**40**) zunächst mittels TFA Boc-entschützt, um dann mit der Säure **69** gekuppelt zu werden. Bezüglich der Kupplung der beiden Fragmente existieren bereits Vorarbeiten von GILLE^[55], welche als geeignete Reaktionsbedingung EDC/HOAt/NaHCO₃ beschreiben und zwar in 77% Ausbeute. Das unter vergleichbaren Bedingungen synthetisierte Material konnte durch den Abgleich der NMR-Spektren als Material ähnlicher Qualität identifiziert werden. Bei genauerer Betrachtung der NMR-Signale kamen dennoch Zweifel bezüglich der Reinheit des Materials auf.



Schema 35: Synthese von Fragment AB (**130**). a) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h.

Unter der Annahme, dass Rotamere auftreten, da das Vorhandensein einer *N*-methylierten Peptidbindung zu der Ausbildung von zwei stabilen Konformeren führen kann, wurde für eine reine Verbindung maximal ein zweiter Signalsatz bei RT erwartet. Bei genauer Betrachtung der NMR-Signale wurde jedoch festgestellt, dass vier Signalsätze sichtbar waren, was besonders durch die Signale der *N*-Methylgruppe deutlich wurde (Abbildung 17, **B**, 298K, 1-4). Den Beweis für die Existenz von zwei Diastereoisomeren lieferte schließlich die Messung eines NMR-Spektrums bei 410 K (Abbildung 17, **A** u. **B**, 410 K). Hier konnte beobachtet werden, dass sich die meisten Signalsätze vereinfachten. Jedoch konnten für einige Protonen weiterhin zwei Signalsätze beobachtet werden. Besonders stachen hierbei die beiden Quartetts bei $\delta = 4.98$ ppm und $\delta = 4.89$ ppm ins Auge (Abbildung 17, **A**, 410 K, Kreis), welche für das Stereozentrum von *N*-Methyl-L-alanin stehen, aber auch die Signale für die *N*-Methylgruppe, welche sich als zwei Singulets zeigten (Abbildung 17, **B**, 410 K, 1 und 2), sowie die Signale der Methylgruppen der beiden Alanine, welche vier Dubletts

aufwiesen anstelle von zweien (Abbildung 17, **B**, 410 K, Kreis). Das Auftreten eines zweiten Signalsatzes bei diesen Temperaturen legt nahe, dass das Fragment AB (**130**) nicht diastereoisomerenrein, sondern als Gemisch von zwei Diastereoisomeren in einem Verhältnis von 1.4:1 vorliegt.

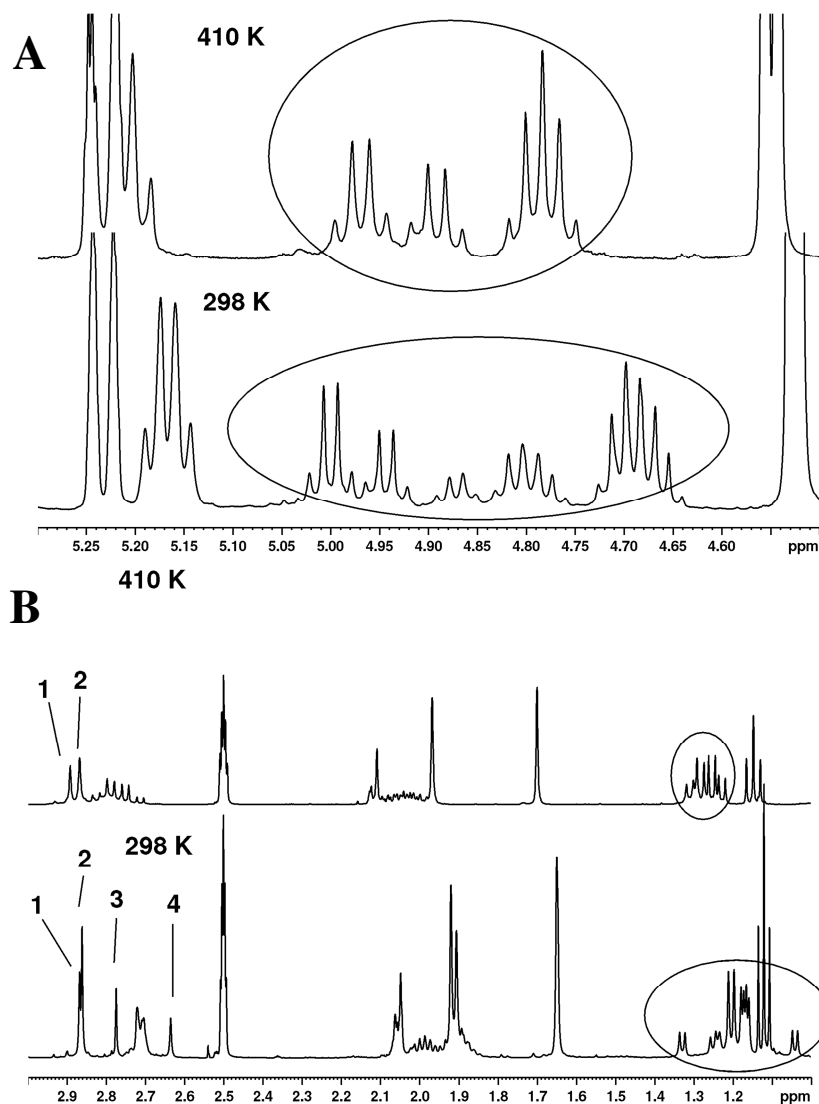


Abbildung 17: Auschnitte des NMR-Spektrums von Fragment AB (**130**) gemessen in DMSO bei 298K (unten) und 410K (oben). **A:** Auschnitt des Bereichs $\delta = 5.3$ - 4.5 ppm. Mit Kreisen hervorgehoben sind Multipletts der beiden Stereozentren von L-Alanin-(Pentett) und N-Methyl-L-alanin (Quartett). **B:** Auschnitt des Bereichs $\delta = 3.0$ - 1.0 ppm. Mit Kreisen hervorgehoben sind die Methylgruppen der beiden Aminosäuren L-Alanin-(Dubletts) und N-Methyl-L-alanin (Dubletts), sowie mit Zahlen gekennzeichnet die Signale der N-Methylgruppe.

Eine Separation der Diastereoisomere an dieser Stelle führte zu keinem Vorteil, da bei einem Diastereoisomerenverhältnis von 1.4:1 nicht abschätzbar war, um welche Konfiguration es sich handelte. Somit wäre ein Beweis der absoluten Konfiguration des Naturstoffs nicht mehr möglich. Dementsprechend sollte zunächst versucht werden, das Diastereoisomerenverhältnis zu verbessern, um einen Anhaltspunkt für das richtige Diastereoisomer zu erhalten. Hierzu wurden unterschiedliche Kupplungssysteme geprüft (Tabelle 9, Eintrag 1-3). Als Lösungsmittelkombination wurde MeCN und DMF gewählt, sodass eine komplette Injektion der Reaktionsgemische auf die Umkehrphase möglich

wurde. Außerdem wurde jede Kupplung bei einer tieferen Temperatur begonnen, um nach Möglichkeit einer Epimerisierung der Säure **69** vorzubeugen. Die Kombination von EDC/HOAt/NaHCO₃ führte bei neu gewählten Bedingungen nur zu 32% des Produkts bei einem gleichbleibenden Diastereoisomerenverhältnis (1.4:1, Eintrag 1). Als nächstes sollte versucht werden, mit der von CARPINO publizierten Methode^[80] *in situ* ein Acylfluorid zu erzeugen. Unter der Annahme, dass die aktivierte Säure **69** sterisch stark gehindert ist, sollte mit der Bildung eines kleinen Elektrophils die Elektrophilie der Säure verbessert werden, jedoch ohne Erfolg (Eintrag 2). Als Letztes sollte mit PyBOB, einem Phosphonium-Salz auf HOBt Basis, eine alternative Art der Aktivierung und mit HOBt auch ein anderes Additiv getestet werden. Doch auch hier konnte keine Verbesserung der Ausbeuten und der Diastereoselektivität erzielt werden (Eintrag 3). Die von GILLE gewählten Bedingungen mit EDC/HOAt/NaHCO₃ in CH₂Cl₂/DMF (Eintrag 4) führten schließlich zu der besten Ausbeute mit 49%, jedoch konnte auch durch die Verringerung der Starttemperatur der Reaktion keine Besserung der Diastereoselektivität beobachtet werden. Eine weitere Optimierung der Reaktion wurde nicht durchgeführt und die Syntheseroute wurde umgestellt.

Tabelle 9: Kupplung Säure **69**^a und des Amins **129**^a. (Auszug)

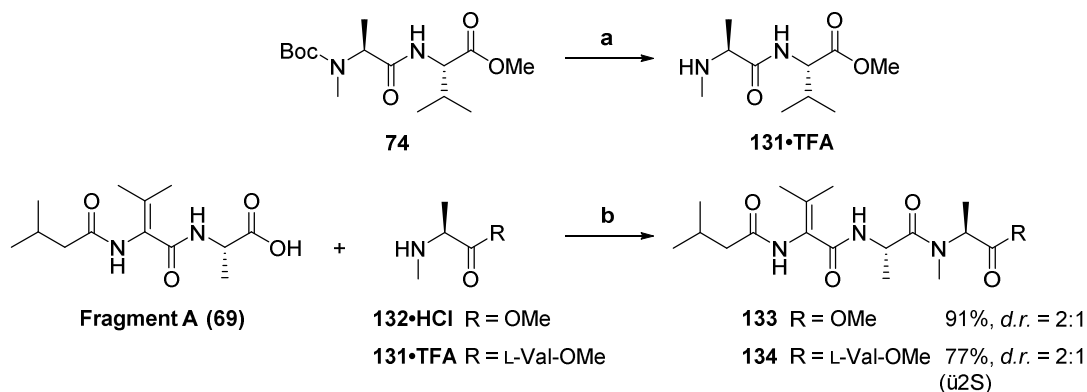
Eintrag	Kupplungsreagenz (Äquiv.)	Additiv (Äquiv.)	Base (Äquiv.)	Ausbeute, Kommentar
1 ^b	EDC•HCl (1.2)	HOAt (1.3)	NaHCO ₃ (5.0)	32%, <i>d.r.</i> = 1.4:1
2 ^b	HATU (1.1)	BnPPH ₃ H ₂ F ₃ (3.3)	DIPEA (5.0)	19%, <i>d.r.</i> ≈ 1.5:1
3 ^b	PyBOB (1.1)	---	DIPEA (3.0)	17%, <i>d.r.</i> ≈ 1.5:1
4 ^c	EDC•HCl (1.5)	HOAt (1.5)	NaHCO ₃ (5.0)	49%, <i>d.r.</i> = 1.4:1

^a **69** (1.1 Äquiv.), **129** (1.0 Äquiv.); ^b MeCN/DMF (1:1), -15 °C bis RT, 16 h; ^c CH₂Cl₂/DMF (1:1), -15 °C bis RT.

Mit der Gewissheit, dass die Säure **69** erfolgreich kuppelbar ist, was bereits zuvor anhand der Kupplung mit L-Alaninmethylester Hydrochlorid bewiesen werden konnte (vgl. Kap. 3.2.2), sollte nun zunächst versucht werden, einen einfacheren Kupplungspartner zu finden. Hierzu wurden zwei Verbindungen gewählt: Komerzielles *N*-Methyl-L-alaninmethylester Hydrochlorid (**132**) und das bereits synthetisierte, für die Synthese von Fragment B (**40**) verwendete Dipeptid **74** (vgl. Kap. 3.3.2), welches zunächst mittels TFA Boc-entschützt wurde. Als Kupplungsbedingungen wurden die für die Synthese von Fragment AB (**130**) optimierten Bedingungen EDC/HOAt/NaHCO₃ verwendet. Es wurde erwartet, dass die Ausbeuten der Peptidkupplung bei Verwendung eines kleineren Nucleophils steigen würden und außerdem erhofft, dass durch eine schnellere Reaktionsgeschwindigkeit evtl. die Epimerisierung der Säure **69** unter den verwendeten Kupplungsbedingungen unterdrückt werden könnte. Zwar konnten die Ausbeuten der Kupplungen wie erwartet gesteigert werden (77% für das Tetrapeptid **134** und 91% für das Tripeptid **133**), die erhoffte Steigerung der Diastereoselektivität blieb jedoch aus. Die Kupplung der Säure **69** mit *N*-methylierten Aminen konnte bis zu diesem Zeitpunkt

⁸⁰ L. A. Carpino, D. Ionescu, A. El-Faham, M. Beyermann, P. Henklein, C. Hanay, H. Wenschuh, M. Bienert, *Org. Letters* **2003**, *5*, 975-977.

also nicht erfolgreich durchgeführt werden. Hierdurch wurde deutlich, dass nicht nur die Synthese von Fragment B (**40**) sondern auch die Synthese von Fragment A (**69**) umgestellt werden musste.



Schema 36: Kupplung von Fragment A (**69**) mit H-L-MeAla-OMe (**132**) und H-L-MeAla-D-Val-OMe (**131**). a) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; b) EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, MeCN/DMF (5:1), -15 °C bis RT, 16 h.

3.7.2 Alternative Route zu Fragment AB (**130**)

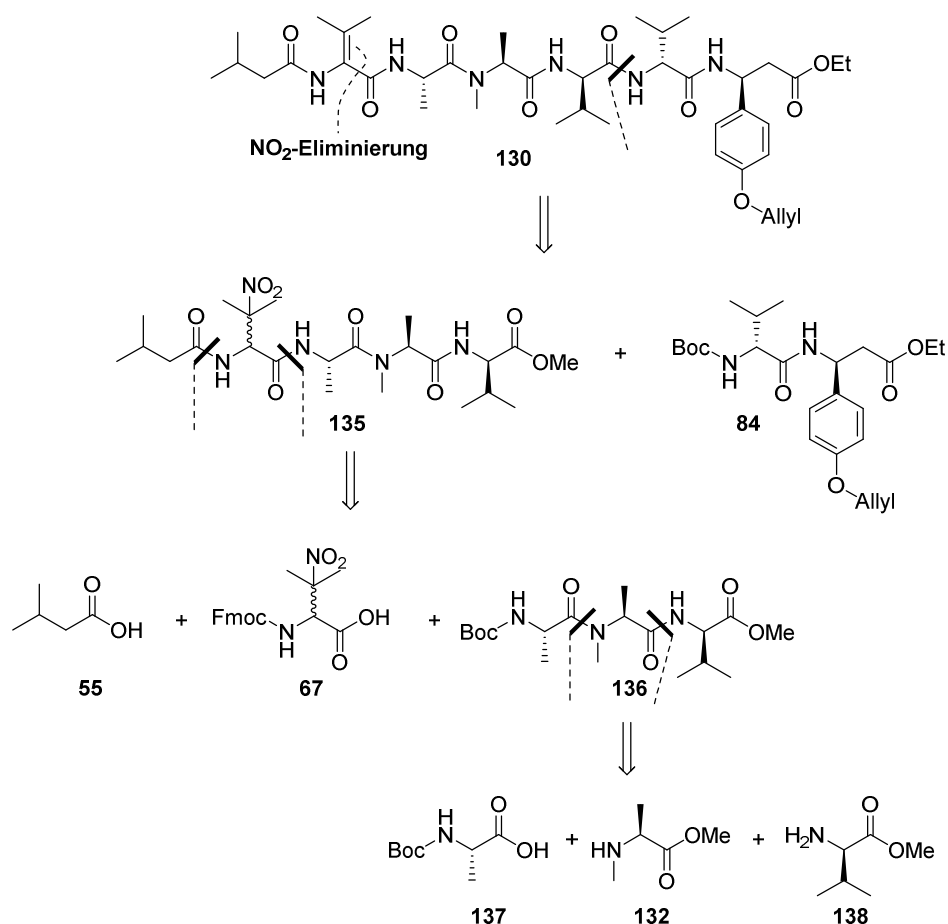
Ziel der neuen Route war es, eine Kupplung zwischen den beiden Alaninen auf einen möglichst frühen Zeitpunkt vorzulegen. BOGER führt in seinen Publikationen über die Totalsynthese von HUN-7293^[81] und einigen seiner Derivate^[82] Kupplungen mit *N*-methylierten Aminen immer am Anfang seiner Synthesesequenzen durch. Analog zu BOGERS Synthesen sollte daher auch hier die Synthesesequenz mit der Kupplung der Alanine beginnen. Ein erster Syntheseschritt wurde folglich zwischen den beiden D-Valin-Einheiten vollzogen und spaltet das Molekül in das bereits synthetisierte Dipeptid **84** und das Tetrapeptid **135**, wobei die Doppelbindung wiederum über einen NO₂-Vorläufer generiert werden soll.

Dieser Syntheseschritt wurde hauptsächlich deshalb gewählt, weil die hier benötigte D-Valin/ D-Valin-Kupplung bereits in ähnlicher Art und Weise während der Synthese von Fragment B (**40**) durchgeführt werden konnte (vgl. Kap. 3.3.5).

Besagtes Tetrapeptid **135** wird dann wiederum in das Tripeptid **136** gespalten, an welches später sequenziell zunächst eine NO₂-Valin-Einheit und anschließend der Isovaleriansäurerest gekuppelt werden sollen. Für die Hintergründe einer sequentiellen Kupplungsstrategie verweist der Autor auf die bereits diskutierte Synthese von Fragment A (vgl. Kap. 3.2.2). Die Synthese des Tripeptides **136** soll mit der Kupplung der Alanine starten und dann mit D-Valinmethylester (**138**) zum Tripeptid umgesetzt werden.

⁸¹ D. L. Boger, H. Keim, B. Oberhauser, E. P. Schreiner, C. A. Foster, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6197-6205. HUN-7293 ist Inhibitor der Expression von Zellenadhäsionsmolekülen wie VCAM-1, ICAM-1 und E-Selektin

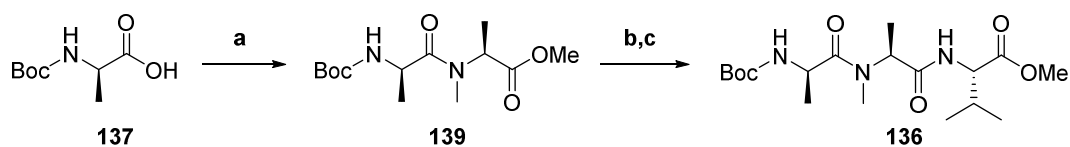
⁸² Y. Chen, M. Bilban, C. A. Foster, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5431-5440.



Schema 37: Neue Retrosynthese zu Fragment AB (**130**).

3.7.3 Alternative Synthese von Fragment AB (**130**)

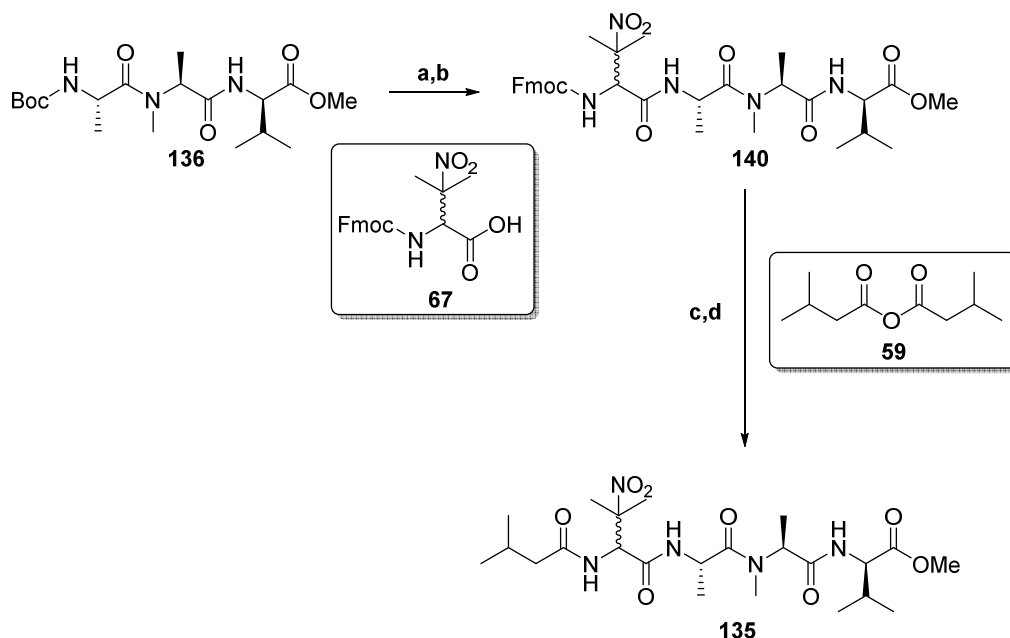
Die Synthese von Dipeptid **139** gelang in quantitativer Ausbeute nach einer abgeänderten Vorschrift von BOGER^[82] (Schema 38). Verseifung mit LiOH und anschließende Kupplung mit D-Valinmethylester Hydrochlorid (**138**) mithilfe von EDC/HOBt/DIPEA ergab das Tripeptid **136** in einer Ausbeute von 89% (ü2S).



Schema 38: Synthese von Tripeptid **136**. a) H-L-MeAla-OMe•HCl (**132**), EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, CH₂Cl₂/DMF (5:1), -15 °C bis RT, 20 h, quant.; b) LiOH, H₂O/THF, 0 °C bis RT, 20 h; c) H-D-Val-OMe•HCl (**138**), EDC•HCl, HOBt, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 20 h, 89% (ü2S).

Als nächstes sollte nun der *N*-Terminus um NO₂-Valin und den Isovaleriansäure-Rest verlängert werden (Schema 39). Hierzu wurde zunächst mithilfe TFA Boc-entschützt. Die Kupplung mit NO₂-Valin-Derivat **67** gelang mit EDC/HOAt/NaHCO₃ in einer Ausbeute von 90% (ü2S). Anschließend

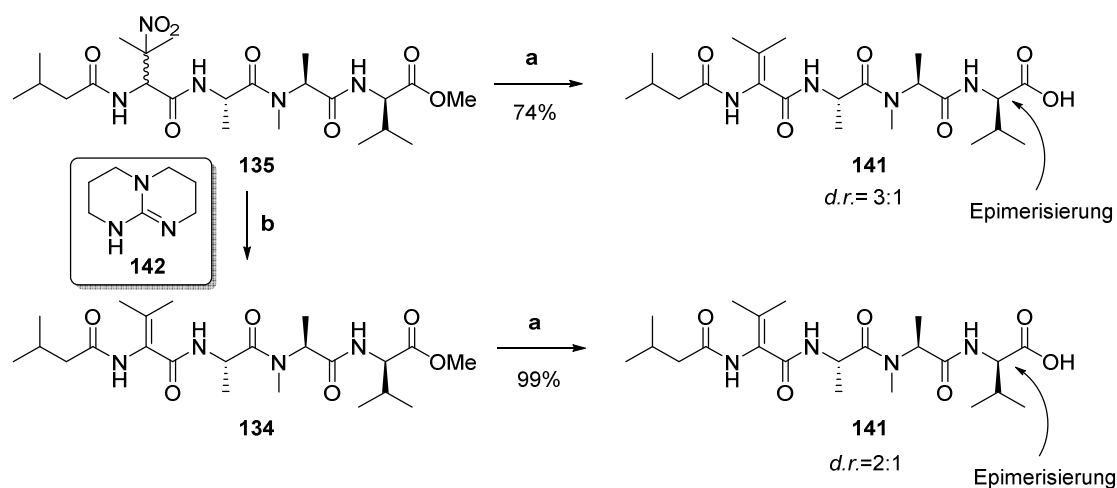
wurde mithilfe von Me_2NH Fmoc-entschützt und das freie Amin anschließend mit Anhydrid **59** zum Tetrapeptid **140** weiter umgesetzt. Die dabei verwendete milde Base Lutidin (vgl. Kap. 3.2.2, Et_3N) sowie eine Konzentration der Fmoc-Eenschutzung bei RT waren notwendig, um die vorzeitige Eliminierung der NO_2 -Gruppe zu verhindern und auf diese Weise eine quantitative Ausbeute zu erzielen.



Schema 39: Synthese des Tetrapeptides **135**. a) TFA, CH_2Cl_2 , 0°C , 2 h; b) **67**, EDC \cdot HCl, HOAt, NaHCO_3 , 0°C bis RT, 20 h, 90% (ü2S), *d.r.* = 2:1; c) Me_2NH , DMF, RT, 2 h; d) **59**, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , -78°C bis RT, 20 h, quant. (ü2S), *d.r.* = 2:1.

Als nächstes sollte nun analog zur Synthese von Fragment A (**69**) die Eliminierung der NO_2 -Gruppe zunächst unter Verseifungsbedingungen getestet werden. Dabei stellte sich jedoch heraus, dass das Stereozentrum des C-terminalen D-Valins epimerisierte. So wurde nun eine Eliminierung der NO_2 -Gruppe durch andere Basen angestrebt. Eine Testreihe von unterschiedlichen Basen wurde hierzu an einem anderen System getestet, wobei die Amin-Base TBD (**142**) sich als am besten geeignet herausstellte. Für nähere Informationen verweist der Autor auf die Synthese von Fragment C1 und C2 (Kap. 3.4.2).

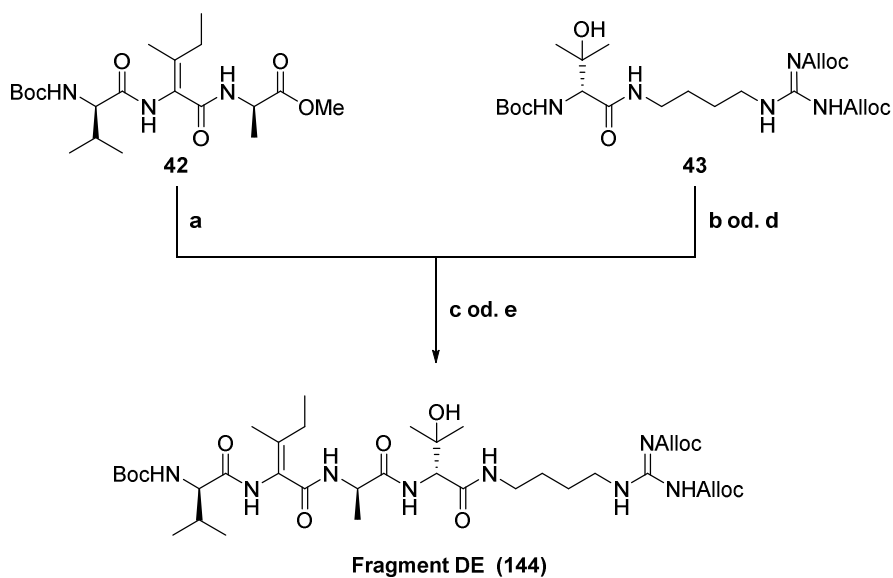
Das so erhaltene Peptid **143** wurde nun ebenfalls verseift, aber auch hier stellte sich heraus, dass die Epimerisierung des stereogenen Zentrums im D-Valin als Nebenreaktion auftrat. Weitere Bedingungen hinsichtlich der Verseifung des Tetrapeptides wurden nicht mehr durchgeführt. Nähere Informationen hinsichtlich der weiteren Vorgehensweise sind dem Kapitel 5.2 (Ausblick) zu entnehmen.



Schema 40: NO₂-Eliminierung und Verseifung von Tetratrapeptid **135**. a) LiOH, THF/H₂O, 0 °C bis RT, 20 h; b) TBD (**142**), CH₂Cl₂, -78 °C bis RT, 20 h, 65%.

3.7.4 Darstellung von Fragment DE (**144**)

Die Synthesesequenz von GILLE^[55] sah nun die Verseifung von Fragment D (**42**) und die Boc-Entschützung von Fragment E (**43**) mittels TMSI vor (Schema 41). Anschließend sollten beide Fragmente gekuppelt werden, was GILLE erfolgreich mit dem Kupplungssystem PyAOP/HOAt/DIPEA in DMF gelang. Diese Kupplungsbedingungen waren ähnlich wie bei anderen Kupplungen mit dem Kupplungsreagenz PyAOP nicht reproduzierbar. Zwar konnte die publizierte Ausbeute von 58% erreicht werden, jedoch wurde hier, ähnlich wie bei den Synthesestudien zu Fragment B (**40**, Kap. 3.3.4), ein Diastereoisomerenmisch erhalten (*d.r.* = 1:1, Schema 41). Folglich mussten auch hier alternative Kupplungsbedingungen gefunden werden. Hinsichtlich der strukturellen Ähnlichkeit von Fragment D (**42**) mit Fragment A (**69**) sollte hier ebenfalls versucht werden, die dort optimierte Alanin-Kupplung mit EDC/HOAt/NaHCO₃ auf diese Problemstellung anzuwenden. Gleichzeitig konnte an einigen Reaktionen beobachtet werden, dass die Reaktivität von TMSI bei einer neuen Charge zu vermehrten Auftreten von Nebenprodukten führte, sodass für die Boc-Entschützung stattdessen TFA verwendet wurde. Schließlich konnte somit Fragment DE (**144**) in einer Ausbeute von 60% (ü2S) und einem Diastereoisomerenverhältnis von 14:1 erhalten werden. Weitere Kupplungen mit Myxovalargin-Fragmenten wurden im Zuge dieser Promotion nicht mehr durchgeführt.

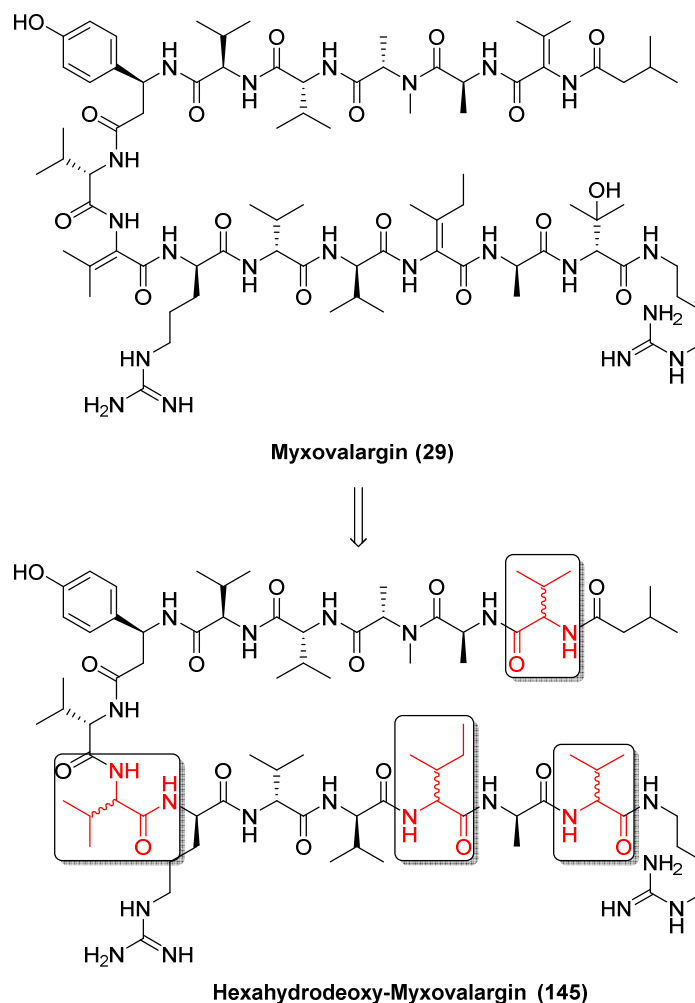


Schema 41: Kupplung der Fragmente D (**42**) und E (**43**). a) LiOH, H₂O, THF, 0 °C bis RT, 20 h, quant.; b) TMSI, CH₂Cl₂, RT, 10 min; c) PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C bis RT, 18 h, 62% (ü2S), *d.r.* = 1:1; d) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h; e) EDC•HCl, HOAt, NaHCO₃, MeCN/DMF (1:1), -15 °C bis RT, 20 h, 60% (ü2S), *d.r.* = 14:1.

4 Diskussion der Ergebnisse - Teil 2: Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek

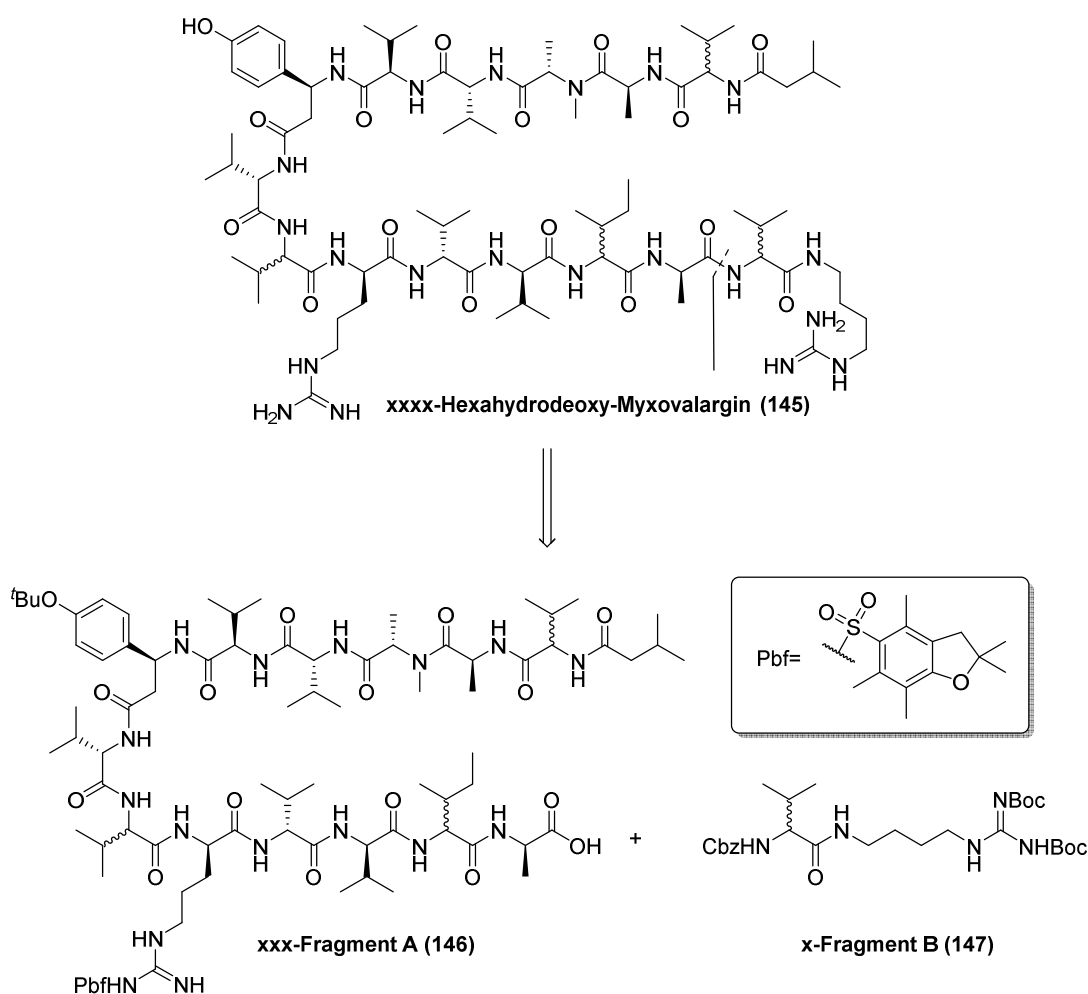
4.1 Retrosynthese der Hexahydrodeoxy-Myxovalargin

Die einfachsten, im Sinne der Zielsetzung denkbaren Derivate der Myxovalargin-Grundstruktur werden durch die Substitution aller Dehydroaminosäuren und von 3-Hydroxy-D-valin durch kanonische Aminosäuren, namentlich dreimal L/D-Valin und einmal L/D-Isoleucin, erhalten (Schema 42). Diese Strukturen werden im weiteren Verlauf folglich als XXXX-Hexahydrodeoxy-Myxovalargin (**145**) bezeichnet, wobei für das „x“ in der Nomenklatur die jeweiligen L- und D-Präfixe Anwendung finden. Die hier angewandte L/D-Nomenklatur bezieht sich dabei chronologisch auf die Konfiguration der durch Substitution eingefügten kanonischen Aminosäuren ausgehend vom N-Terminus hin zum C-Terminus.



Schema 42: Herleitung der Struktur der Hexahydrodeoxy-Derivate **145**. Hervorgehoben sind die Aminosäuren, welche im Zuge der Derivatisierung verändert werden sollen.

Retrosynthetisch wurden die Hexahydrodeoxy-Myxovalargine (**145**) zunächst in zwei Fragmente unterteilt (Schema 43). Der Schnitt erfolgte hierbei am C-Terminus vor der Aminosäure D-Alanin und erzeugte somit ein großes Fragment A (**146**), welches drei der vier möglichen Zentren der Derivatisierung enthielt und ein Fragment B (**147**), welches aus einem Valin-Derivat und einer Agmatineinheit bestand. Ziel war es, hierdurch einen möglichst großen Anteil des Moleküls über Festphasensynthese zu erzeugen, um einen einfachen, schnellen und sauberen Zugang zu großen Molekülfragmenten zu erhalten, welche dann mit unterschiedlichen Derivaten des Fragmentes B (**147**) gekuppelt werden sollten. Die finale Entschützung der Myxovalargin-Derivate sollte unter sauren Bedingungen erfolgen.



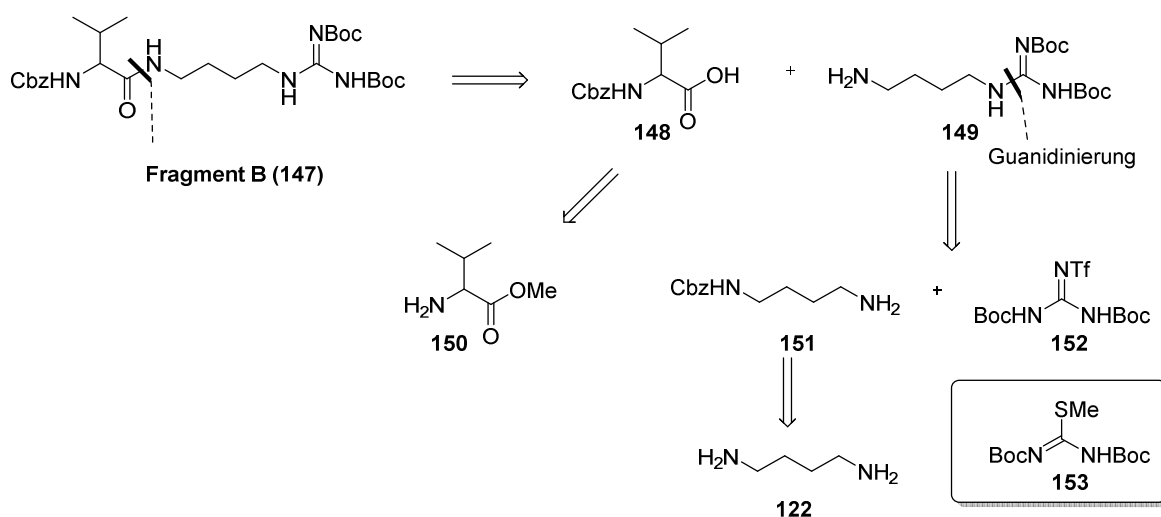
Schema 43: Retrosynthese Hexahydrodeoxy-Myxovalargine (**145**). Pbf = 2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl.

Somit fiel die Wahl der Schutzgruppen auf den *tert*-Butylether für das β -Tyrosin und Pbf für das Arginin als typische Schutzgruppen einer Fmoc-Festphasensynthese.^[83] Für den Agmatinrest im Fragment B (**147**) wurde eine Diboc-Schutzgruppenstrategie erwogen.

⁸³ W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, Oxford Univ. Press, Oxford **2000**.

Da bereits bewiesen werden konnte, dass die üblichen Methoden für Peptidkupplungen bei Dehydroaminosäuren versagen^[55,57], sollte zunächst lediglich eine Peptidfestphasensynthese für Derivate und Teilfragmente angestrebt werden, welche nur aus kanonischen Aminosäuren bestehen. Fragmente, welche Dehydroaminosäuren enthalten, sollten in Lösung dargestellt und hinterher entweder in Lösung oder aber als ganze Fragmente mit anderen Fragmenten auf der Festphase gekuppelt werden. Im Folgenden wird zunächst auf die Synthese des Fragmentes B (**147**) eingegangen. Anschließend wird die Festphase-Synthese von der Hexahydro-Derivate von Fragment A (**146**) diskutiert.

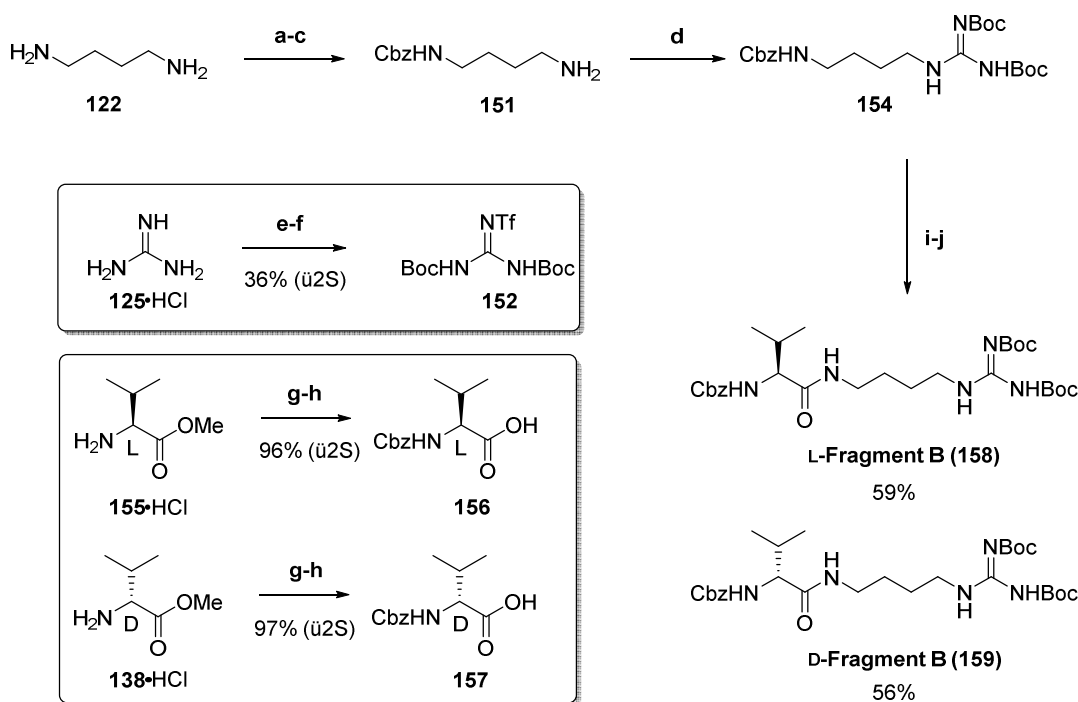
4.2 Synthese von Fragment B



Schema 44: Retrosynthese von x-Fragment B (**147**).

Eine Synthese des Fragmentes B (**147**, Schema 45) sollte an dieser Stelle analog zur Synthese von Fragment E (**43**) der Myxovalargin-Totalsynthese gewählt werden (vgl. Kap. 3.6.2). Als Schutzgruppen-Strategie wurde hier Diboc für den Agmatin-Rest und Cbz für die Valin-Einheit gewählt, da sie orthogonal zur Boc-Gruppe gespalten werden kann und keines der zukünftig geplanten Derivate von Fragment B (**147**) über Doppelbindungen verfügen würde. Die Boc-Schutzgruppen würden dann, nach erfolgreicher Fragment-Kupplung mit Fragment A (**146**), parallel zu den in Fragment A (**146**) verwendeten *tert*-Butylether und dem Pbf-Amid unter sauren Bedingungen totalentschützt werden. Für die Synthese des Cbz-Val-OH (**148**) sollte von H-Val-OMe•HCl (**150**) ausgegangen werden. Die Agmatin-Synthese war für diese Schutzgruppen-Kombination literaturbekannt.^[84] Anstelle des von WAGNER verwendeten Isothioharnstoff-Derivates **153** sollte hier jedoch auf das Reagenz **152** von GOODMAN^[77] zurückgegriffen werden, welches für erste Tests von GILLE bereitgestellt werden konnte.

⁸⁴ J. Wagner, J. Kallen, C. Ehrhardt, J.-P. Evenou, D. Wagner, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3664-3674.



Schema 45: Synthese von L-(**158**)- und D-(**159**)-Fragment B. a) Boc_2O , 1,4-Dioxan, RT, 20 h, 95%; b) CbzCl , NaHCO_3 , H_2O , EtOAc , 0 °C bis RT, 16 h, 85%; c) TFA , CH_2Cl_2 , 0 °C, 4 h; d) **152**, Et_3N , CH_2Cl_2 , RT, 16 h, 63% (ü2S); e) Boc_2O , NaOH , 1,4-Dioxan, H_2O , 0 °C bis RT, 16 h, 49%; f) Tf_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 , -78 °C bis RT °C, 7 h, 73%; g) CbzCl , NaHCO_3 , H_2O , EtOAc , 0 °C bis RT, 16 h; h) LiOH , H_2O , THF , 0 °C bis RT, 24 h; i) 10% Pd/C , H_2 (1 bar), MeOH , RT, 20 h, 96%; j) **156** oder **157**, $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$, HOBT , DIPEA , CH_2Cl_2 , 0 °C bis RT, 16 h, 59% für **158** und 56% für **159**.

Die Synthese von *N*-Cbz-1,4-diaminobutan (**151**) erfolgte über eine dreistufige Synthese-Sequenz ausgehend von einer Boc-Schätzung, gefolgt von einer Cbz-Schätzung und einer Boc-Entschätzung. Die Synthese des Guanidierungsreagenzes **152** erfolgte nach der von GOODMAN^[77] vorgeschlagenen Synthese zunächst über eine zweifache Boc-Schätzung von Guanidin (**125**) und anschließende Behandlung mit Tf_2O . Hierbei konnte über zwei Stufen eine Gesamtausbeute von 36% erreicht werden. Anschließend konnte das Amin **151** erfolgreich mit dem Guanidierungsreagenz **152** zum Agmatin-Derivat **154** umgesetzt werden. Darauf folgend konnten durch das Hydrieren von Agmatin-Derivat **154** und durch Kupplung mit Cbz-L-Valin (**156**) und Cbz-D-Valin (**157**) erfolgreich beide Konfigurationsisomere von Fragment B (59%, **158**; 56%, **159**) erhalten werden. Insgesamt erfolgte somit die Synthese beider Konfigurationsisomere in 6 Stufen (längste lineare Sequenz, 10 Stufen total) und in einer Gesamtausbeute von 29% (L-Isomer) bzw. 27% (D-Isomer).

4.3 Synthese von LLL-(160)- und DLL-(161)-Fragment A

Da die für eine Fmoc-Synthese üblichen^[83] säurelabilen Schutzgruppen *ter.*-Butylether (β -Tyrosin) und Pbf-Amid (Arginin) Anwendung fanden, sollte ein Polymer verwendet werden, welches unter milden Bedingungen abzuspalten war. Die Wahl viel dabei auf ein stark säurelabiles, Polystyryl-

basiertes Harz mit 2-Chlor-trityl-(2-Cl-Trt)-Linker, welches von BARLOS publiziert worden ist.^[85,86] Dieser konnte zeigen, dass eine Entschützung des Polymers unter vollständigem Erhalt säurelabiler Schutzgruppen wie *tert*-Butylethern für anschließende Fragment-Kupplungen möglich ist.

4.3.1 Synthese der benötigten Festphasen-Vorläufer für Fragment A

Die für Fmoc-basierte Festphasensynthesen benötigten Aminosäuren sind in den meisten Fällen kommerziell erhältlich. Im Folgenden wird auf die Synthese des Fmoc- β -tyrosin-Derivates **162** sowie die Synthese von Fmoc-D-Ile-OH (**163**) eingegangen (Abbildung 18).

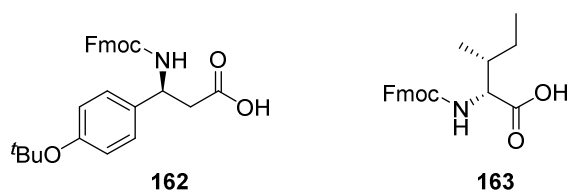
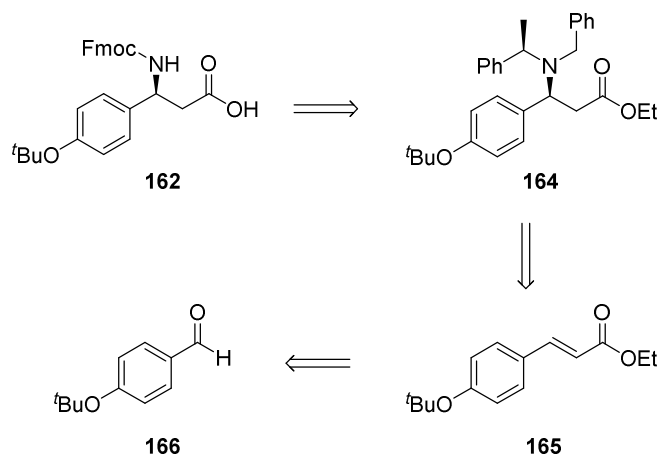


Abbildung 18: Für Festphasen-Synthese nicht-kommerziell verfügbare bzw. kostenintensive Synthesebausteine.

4.3.1.1 Synthese von (*S*)-*N*-Boc-*O*-(*tert*-butyl)- β -tyrosin (**162**)

Das β -Tyrosin-Derivat **162** soll nach Hydrierung, Verseifung und anschließender Fmoc-Schützung aus dem tertiären Amin **164** dargestellt werden (Schema 46). Dieses sollte wiederum nach einem Protokoll von DAVIES^[63] aus dem α,β -ungesättigtem Ester **165** erhalten werden. Der Ester **165** würde in einer WITTIG-Reaktion aus kommerziell erhältlichem 4-*tert*-Butoxybenzaldehyd (**166**) synthetisiert werden.



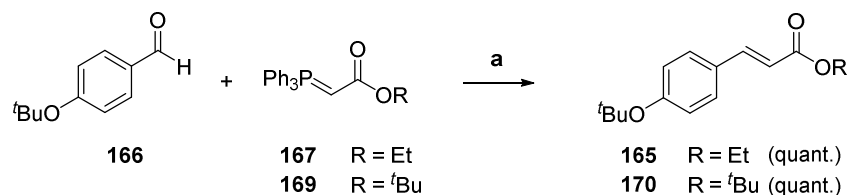
Schema 46: Retrosynthese von β -Tyrosin-Derivat **162**.

Analog zu der in der Totalsynthese von Myxovalargin angewandten Synthese des Allylether geschützten β -Tyrosin-Derivates **72** (vgl. Kap. 3.3.3) begann die Synthese zunächst mit der Darstellung

⁸⁵ K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiu, P. Sotiriu, Y. Wenging, W. Schäfer, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 3943-3946.

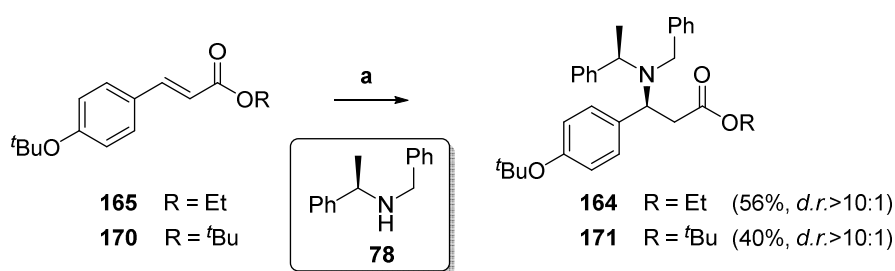
⁸⁶ K. Barlos, D. Gatos, W. Schäfer, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 572-575.

des ungesättigten Esters **165** (Schema 47). Diese gelang durch Umsetzung des Aldehyds **166** mit dem WITTIG-Reagenz **167** in quantitativer Ausbeute.



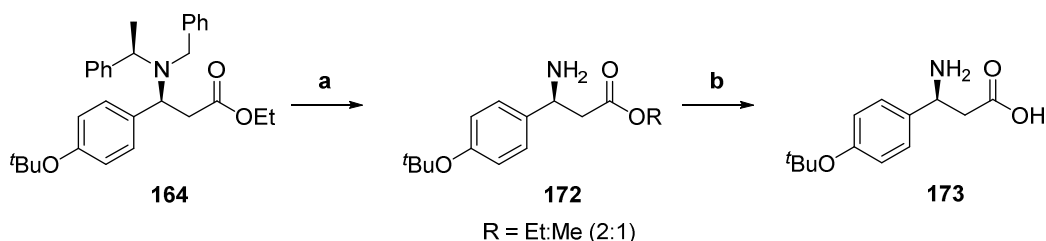
Schema 47: Synthese der ungesättigten Ester **168** und **170**. a) CH₂Cl₂, RT, 20 h, quant.

Mit dem α,β -ungesättigtem Ester **165** konnte nun die Methode von DAVIES angewendet werden. Diese ergab in dem benötigten Multigramm Maßstab lediglich Ausbeuten von maximal 56%. Aus diesem Grund wurde die Reaktion analog zur Methode von DAVIES mit einem entsprechenden *tert*-Butylester **170** durchgeführt, welcher auf ähnliche Weise mit dem *tert*-Butyl-geschützten WITTIG-Reagenz **169** darstellt werden konnte. Jedoch führte dies zu keiner Verbesserung der Ausbeute für **171**. Die Wahl des Esters wurde somit als Ursache für die geringe Ausbeute in Multigramm-Maßstäben ausgeschlossen. Die Reaktion wurde nicht weiter optimiert.



Schema 48: Aza-MICHAEL-Reaktion nach Vorschrift von DAVIES.^[63] a) **78**, *n*-BuLi, THF, -78°C, 30 min, dann **165** / **170**, -78°C, 16 h.

Die nächste Stufe stellt die Freisetzung des primären Amins **172** aus dem tertiären Amin **164** durch Hydrierung dar. Diese gelang unter Normalwasserstoffdruck (1 atm) mit Palladium auf Aktivkohle innerhalb von 7 Tagen zu 97%, wobei eine teilweise Umesterung zum Methylester beobachtet werden konnte.

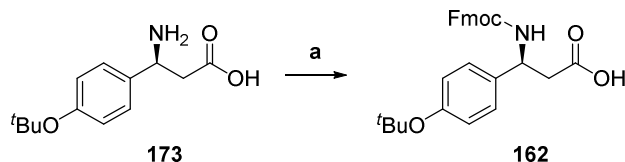


Schema 49: Darstellung von H-(*S*)- β -Tyr(^tBu)-OH (**173**). a) H₂ (1 bar), Pd/C (10%), MeOH, RT, 7 d, 97%, Et:Me = 2:1.; b) LiOH, H₂O, THF, 0 °C bis RT, 16 h, 86%.

Auf diese Weise erhaltenes Amin **172** wurde direkt weiter verseift mit wässriger LiOH-Lösung in THF. Nach der Verseifung zur freien Aminosäure **173** stellte sich in diesem Fall die Frage nach der

geeigneten Methode zur Isolation aus einem komplexen Salzgemisch. Unter der Annahme, dass besagtes Tyrosin-Derivat **173** einen ähnlichen isoelektrischen Punkt aufweist, wie die ähnlich unpolare Aminosäure Phenylalanin ($pI = 5.48^{[87]}$) und dabei ähnlich schwerlöslich in wässriger Lösung sein könnte, wurde eine Fällung aus wässriger Lösung angestrebt. Die Isolation der freien Aminosäure gelang schließlich durch Fällung aus wässriger Lösung bei $pH = 5.5$ und führte zu einer Ausbeute von 86%.

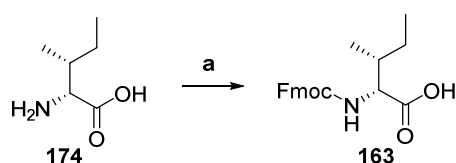
Die letzte Stufe dieses Festphasenvorläufers stellte die Fmoc-Schützung der freien Aminosäure **173** dar (Schema 50). Diese wurde mithilfe von FmocCl in einer Ausbeute von bis zu 94% bewerkstelligt.^[88] Hierbei spielte der Verdünnungsgrad der Reaktion eine entscheidende Rolle (max. 0.03M), da das Natriumsalz der Fmoc-geschützten Aminosäure bei zu hoher Konzentration zum starken Ansteigen der Viskosität und damit zur schlechten Durchmischung führte, woraus wiederum ein langsamer Reaktionsfortschritt und schließlich niedrige Ausbeuten resultierten. Des Weiteren war durch die Instabilität des Produktes unter basischen Bedingungen nur eine Reaktionsdauer von max. 5 Stunden ratsam, da gerade bei größeren Ansatzgrößen (> 8 mmol) nach dieser Zeitspanne die Zersetzung des Produktes beobachtet werden konnte, was sich durch das Abscheiden eines schwer löslichen Feststoffes bemerkbar machte. War dies der Fall, konnte ein großer bis quantitativer Ausbeuteverlust beobachtet werden. Insgesamt konnte der für die Festphase erforderliche Synthesebaustein **162** in 5 Stufen und einer Gesamtausbeute von 44% erhalten werden.



Schema 50: Darstellung von Fmoc-(S)- β -Tyr(^tBu)-OH (**162**). a) FmocCl, Na_2CO_3 , H_2O , 1,4-Dioxan, 0 °C, 4 h, 94%.

4.3.1.2 Synthese des Fmoc-D-isoleucin Derivates (**163**)

Die Darstellung der Fmoc-geschützten Aminosäure **163** gelang in einem Gemisch aus Wasser und 1,4-Dioxan mit Fmoc-Cl und Na_2CO_3 als Base in einer Ausbeute von 97% (Schema 51).

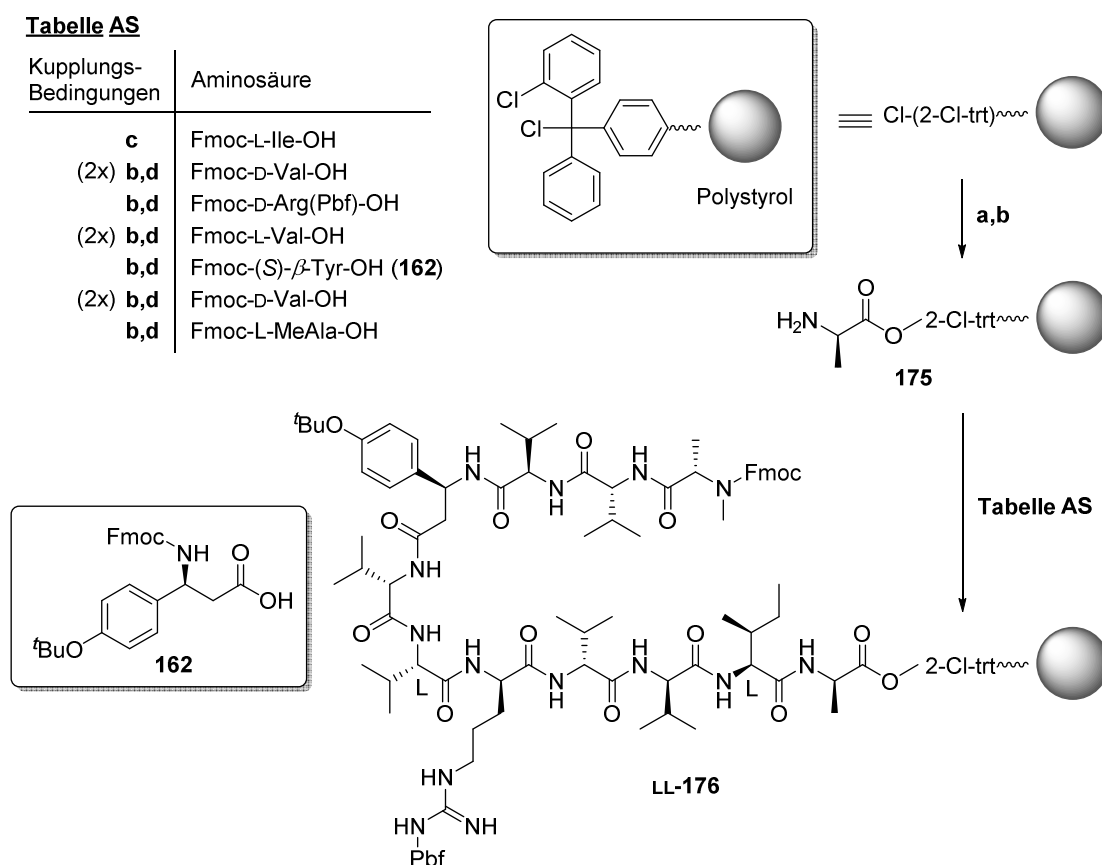


Schema 51: Synthese von Fmoc-D-isoleucin (**163**). a) FmocCl, Na_2CO_3 , H_2O , 1,4-Dioxan, 0 °C, 4 h, 97%.

⁸⁷ H.-D. Jakube, H. Jeschke: *Aminosäuren, Peptide, Proteine*, Verlag Chemie, Weinheim **1982**.

⁸⁸ G. A. G. Sulyok, C. Gibson, S. L. Goodman, G. Hölzemann, M. Wiesner, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1938-1950.

4.3.2 Festphasensynthese von LLL-(160) und DLL-(161)-Fragment A

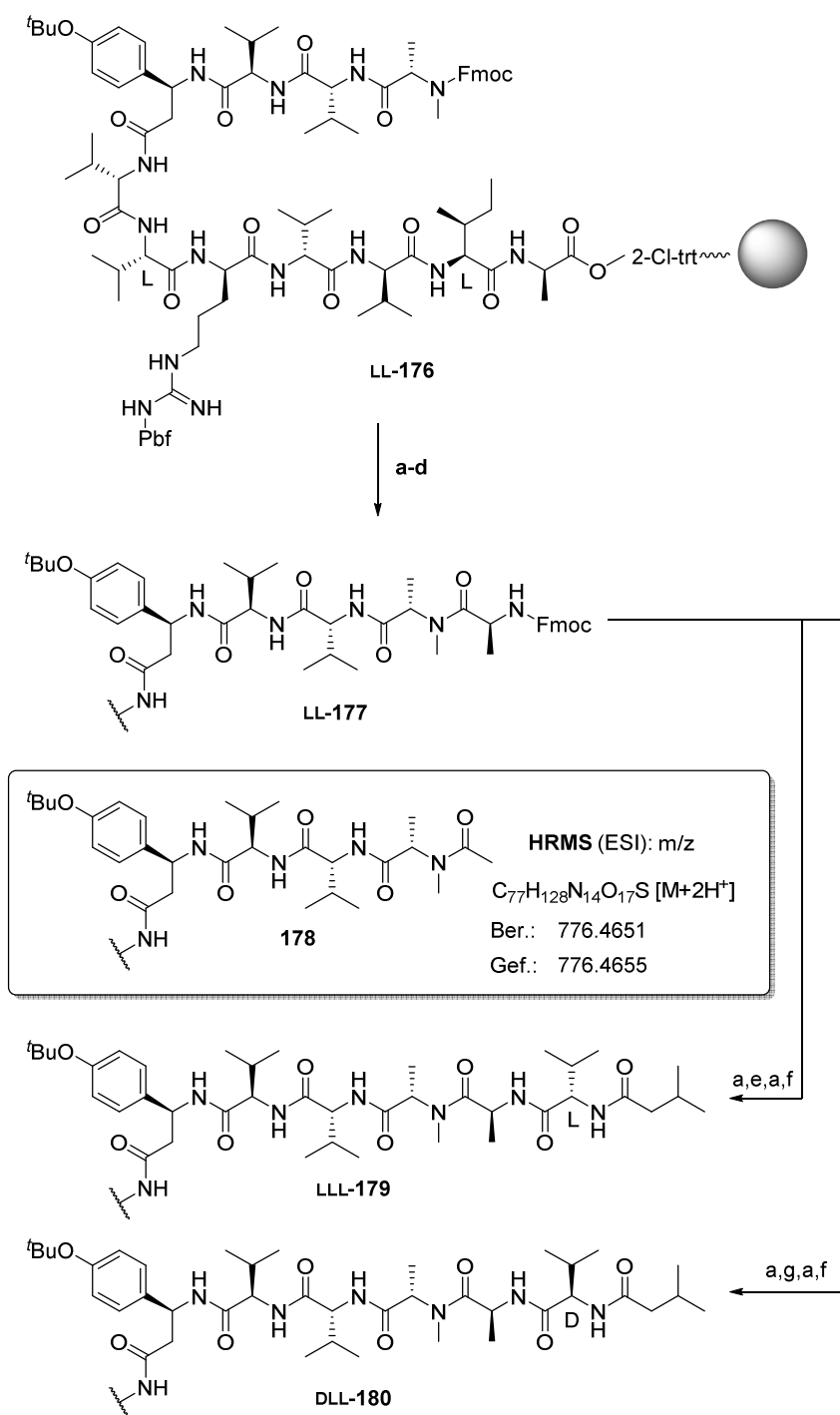


Schema 52: Festphasen-Synthese der LLL-(160) und DLL-(161)-Konfigurationsisomere von Fragment A, Teil I: Kupplung der ersten 11 Aminosäuren. a) Fmoc-D-Ala-OH, DIPEA, CH_2Cl_2 , RT, 30 min, dann $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{DIPEA}$ (80:15:5), 3x 10 min; b) 20% Piperidin in DMF (4x 10 min); c) TBTU, HOBt, DIPEA, DMF, RT, 1-4 h; d) DIC, HOBt, DMF, RT, 1-4 h.

Nach erfolgreicher Beladung des Polymers mittels Fmoc-D-Ala-OH/DIPEA konnte durch eine konsekutive Fmoc-Entschützens- und Peptid-Kupplungskaskade die Peptidkette LL-176 erzeugt werden (Schema 52). Für die Fmoc-Entschützung wurde eine 20%ige Piperidin-Lösung in DMF verwendet. Die Peptid-Kupplung wurde mittels TBTU/HOBt/DIPEA (Darstellung des Dipeptides) oder DIC/HOBt durchgeführt. Der Fortschritt jeder Peptid-Kupplung wurde dabei mittels KAISER-Test^[83,89,90] überwacht. Im nächsten Schritt sollte der *N*-Methylalanin-Rest Fmoc-entschützt und mit Alanin zur Kette 177 gekuppelt werden. Für eine Kupplung von *N*-methylierten Aminosäuren auf der Festphase können Acylfluoride eingesetzt werden.^[83] Zur *in situ* Darstellung eines Acylfluorides wurde TFFH/DIPEA verwendet.

⁸⁹ KAISER-Test: Der KAISER-Test ist eine auf Ninhydrin basierte Färbereaktion von meist primären Aminen. Ninhydrin führt normalerweise zu einer Rot- bzw. Braunfärbung von Aminen. Im KAISER-Test finden darüber hinaus auch Additiva wie Kaliumcyanid und Pyridin Anwendung, welche in Verbindung mit Ninhydrin zu einer intensiven Blaufärbung führen und somit freie Amine im Polymer nachweisen können. Für die genaue Durchführung des KAISER-Testes verweist der Autor auf den experimentellen Teil.

⁹⁰ C. B. Bottom, S. S. Hanna, D. J. Siehr, *Biochem. Educ.* **1978**, *6*, 4-5.



Schema 53: Festphasen-Synthese der LLL-(160) und DLL-(161)-Konfigurationsisomere von Fragment A, Teil II: *N*-Methylalanin/Alanin Kupplung auf der Festphase und Vollendung der Synthesesequenz. a) 20% Piperidin in DMF (3x 10 min); b) Fmoc-L-Ala-OH, TFFH, DIPEA, DMF, RT, 4.5 h; c) Fmoc-L-Ala-OH, PyBrOP, DIPEA, DMF, RT, 4 h; d) Ac₂O, DIPEA, RT, 3.5 h; e) Fmoc-L-Val-OH, DIC, HOBt, DMF, RT, 1-4 h; f) Isovaleriansäure, DIC, HOBt, DMF, RT, 1-4 h; g) Fmoc-D-Val-OH, DIC, HOBt, DMF, RT, 1-4 h.

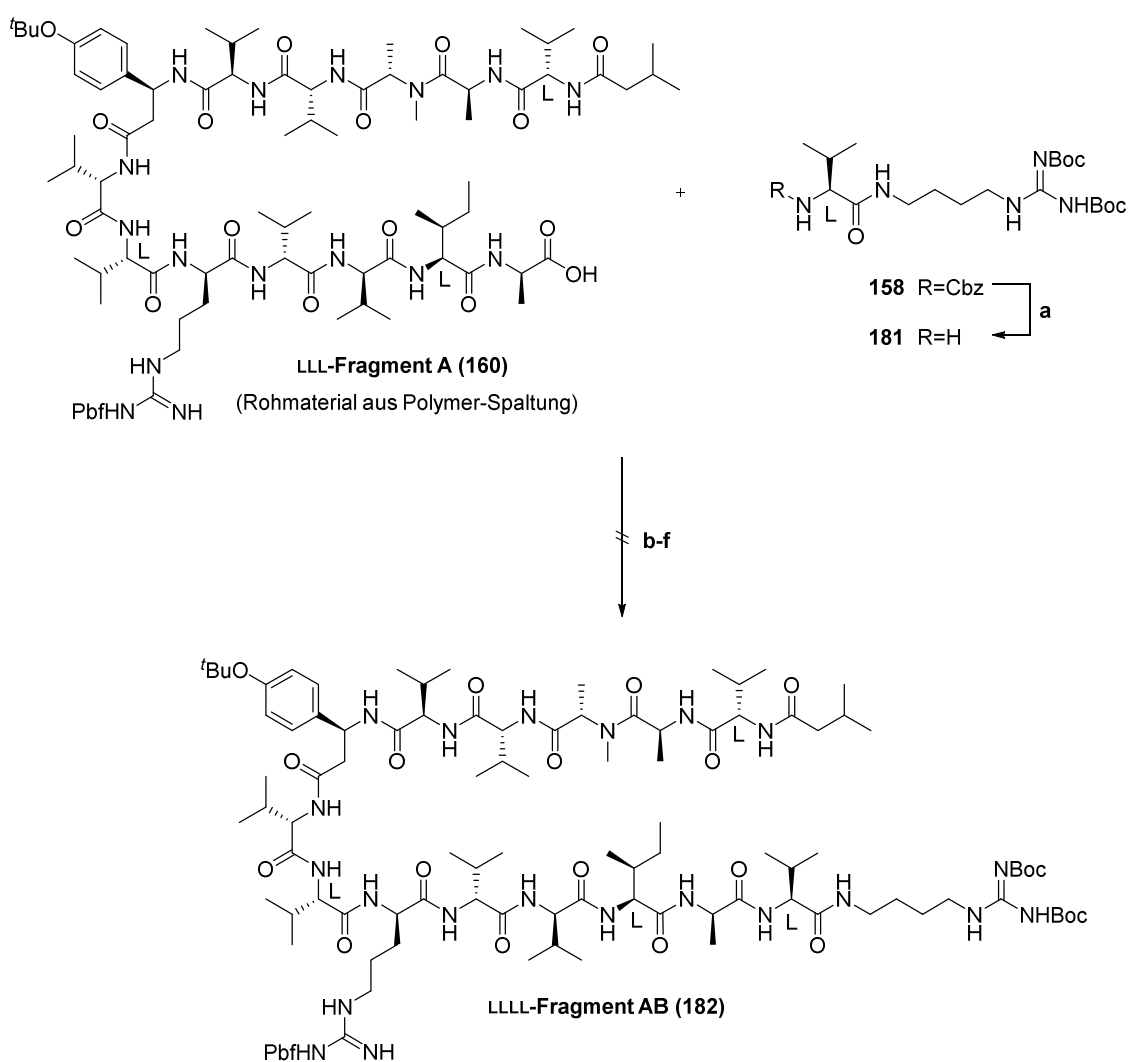
Da der KAISER-Test bei sekundären Aminen ungenau ist und zu anderen Farben führt^[83], wurde der Reaktionsfortschritt bei dieser Kupplung mittels Acetaldehyd/Chloranil-Test^[83,91] durchgeführt. Auch nach 4.5 h konnte kein kompletter Umsatz des Amines beobachtet werden, sodass anschließend eine weitere Kupplung mittels PyBrOP/DIPEA angestrebt wurde, welches insbesondere bei schwierigen

⁹¹ R. E. Smith, W. R. Davis, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 2345-2349.

Et₂O, PE, CH₂Cl₂, DMF, DMSO und MeOH löslich war. Eine Massenprobe des Lösungsmittelüberstandes ergab eindeutig das Produkt, jedoch war keine NMR-spektroskopische Analyse möglich. Ein Abgleich von Elementaranalysen zwischen dem Polymer-Ausgangsmaterial und dem isolierten Feststoff ergab einen klaren Anstieg an Stickstoff (5.43% zu 10.55%, Tabelle 11), was für die erfolgreiche Abtrennung vom Polymer spricht. Auf Grundlage der Elementaranalyse konnte jedoch keine Aussage bezüglich der Reinheit des Materials getroffen werden, da das Material als ein Gemisch von mindestens zwei Verbindungen vorliegt (vgl. Schema 53).

Tabelle 11: Vergleich der Elementaranalysen vor und nach Abspaltung des Peptides vom Polymerträger.

Vorhersage der Elementaranalyse für Verbindung DLL-Fragment A (180) (ChemDraw®)	Ergebnisse der Elementaranalyse
C ₈₈ H ₁₄₆ N ₁₆ O ₁₉ S	Peptid enthaltendes Polymer: (DLL-Isomer 180) C: 70.15; H: 7.04; N: 5.43
C: 59.91; H:8.34; N: 12.70	Isolierter Feststoff nach Abspaltung des Polymers C: 55.21; H: 7.84; N: 10.55

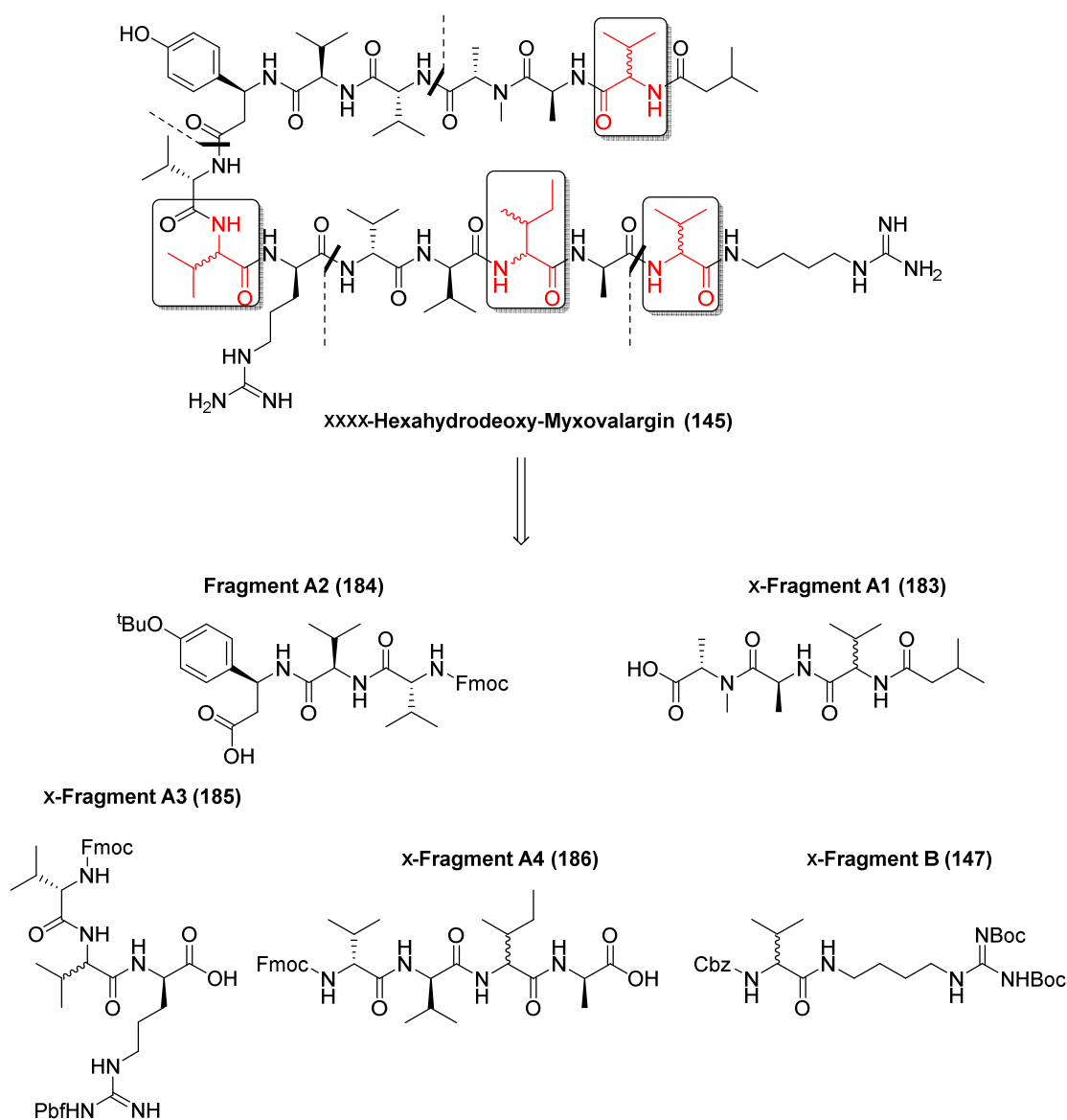


Schema 54: Bedingungen für die Kupplung des aus der Polymerabspaltung isolierten Materials mit dem Amin **181**. a) 10% Pd/C, H₂ (1 bar), MeOH, RT, 16 h, 96%; b) HATU, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C bis RT, 16 h; c) EDC•HCl, HOAt, DIPEA,

DMF, 0 °C bis RT, 16 h; d) PyAOP, HOAt, DIPEA, DMF, 0 °C bis RT, 16 h; e) IBCF, NMM, THF, DMF, -15 °C bis RT, 16 h; f) TFFH, DIPEA, DMF, 0 °C bis RT.

Als nächstes sollte versucht werden, den schwerlöslichen Feststoff direkt in der Peptid-Kupplung einzusetzen. Hierzu wurden einige Bedingungen getestet (Schema 54). Jedoch konnten unter keiner der genannten Bedingungen das Produkt nachgewiesen werden. Weitere Versuche mit dem aus der Polymerentschützung isolierten Material wurden nicht mehr durchgeführt und die Synthese-Route wurde umgestellt.

4.3.3 Neue Retrosynthese der Hexahydrodeoxy-Myxovalargine (145)



Schema 55: Neue Retrosynthese von Hexahydrodeoxy-Myxovalargin (145). Hervorgehoben sind die Aminosäuren, welche zwischen L- und D-Konfiguration variieren.

Da die Darstellung einer längeren Kette unter anderem mit Löslichkeitsproblemen einherging, sollte als nächstes die Synthese der Makrokette über einen Fragment-Ansatz realisiert werden. Hierzu wurde das Molekül in fünf ähnlich große Teile geschnitten. Ziel war es vorrangig, die zu derivatisierenden Aminosäuren unterschiedlichen Fragmenten zuzuordnen, damit eine möglichst geringe Anzahl von Verbindungen erhalten werden kann, welche dann durch einfache Kombinatorik zu allen möglichen Strukturderivaten zusammengefügt werden könnten. Auf dieselbe Art und Weise würde somit auch die Möglichkeit einer späteren partiellen Inkorporation von doppelbindungshaltigen Fragmenten ermöglicht werden. Da in einem Festphasenansatz die zu kuppelnden Aminosäuren standardmäßig im fünffachen Überschuss beigefügt werden^[83], wurden hier die Syntheschnitte so gewählt, dass der geplante Festphasenansatz mit den selbstsynthetisierten bzw. den finanziell aufwendigeren Aminosäuren begann, um somit deren Einsatz auf ein Äquivalent bezogen auf die Ansatzgröße zu beschränken.

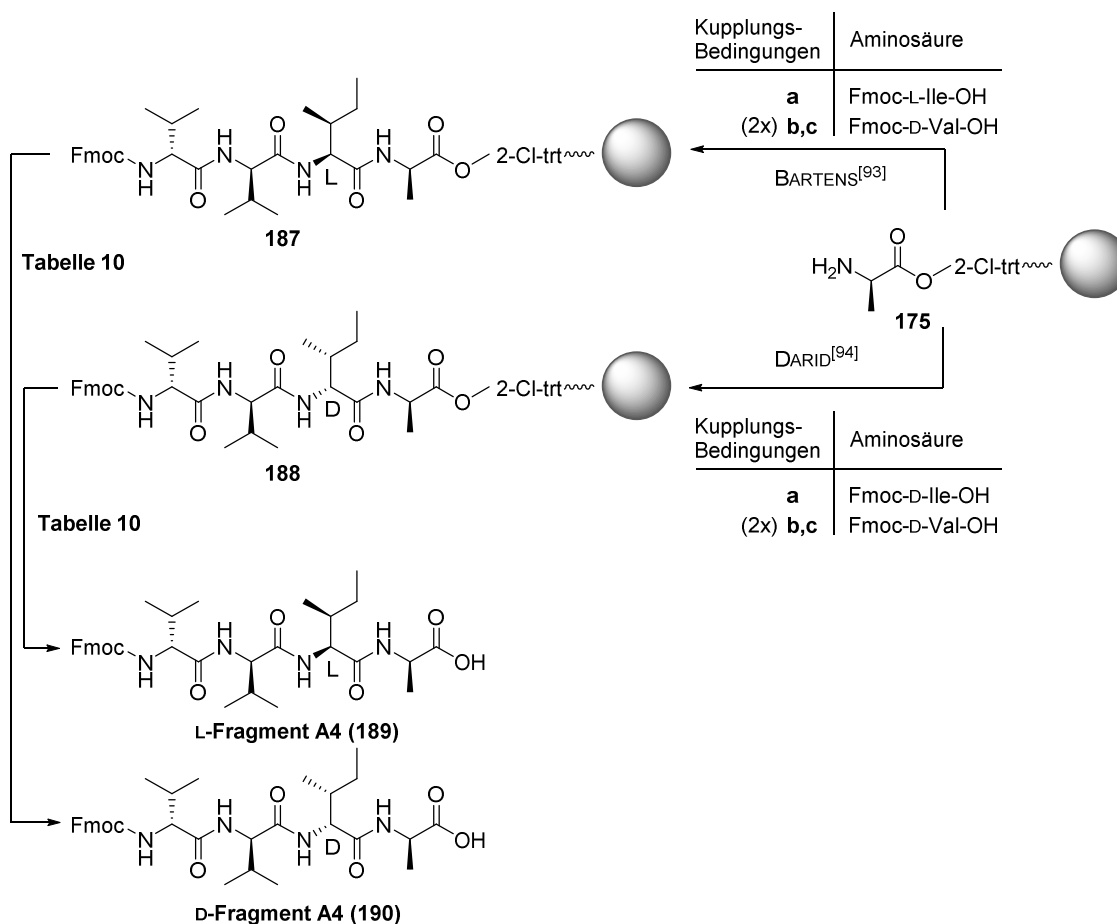
Auf diese Weise wurde ein Syntheschnitt vor dem D-Arginin, (*S*)- β -Tyrosin, sowie vor *N*-Methy-L-alanin gewählt. Letzterer Syntheschnitt trägt außerdem dem Umstand Rechnung, dass *N*-Methy-L-alanin unter Festphasenbedingungen schwierig zu kuppeln ist, weshalb eine frühzeitige Kupplung dieser Aminosäure ratsam war. Falls erneut ein *Capping* mittels Ac₂O nötig werden würde, (vgl. Kap. 4.3.2, Schema 53) wurde davon ausgegangen, dass eine Abtrennung der so gebildeten Acetat-Verbindung leicht möglich wäre. Das aus vorheriger Retrosynthese vorgeschlagene und zu diesem Zeitpunkt bereits synthetisierte Fragment B (**147**) wurde beibehalten.

Das L-Konfigurationsisomer **187** von Fragment A4 wurden im Zuge eines studentischen Praktikums^[93], das D-Konfigurationsisomer **188** im Zuge einer Bachelorarbeit von DARID^[94] bereitgestellt. Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Bachelorarbeit zusammengefasst und mit den über die Bachelorarbeit hinaus vorliegenden Ergebnissen in Kontext gestellt werden (Schema 56).

Zur Synthese von Fragment A4 (**186**) wurde wie bereits zuvor von einem mit D-Alanin beladenen BARLOS-Polymer **175** ausgegangen, welches dann iterativ unter den in Schema 56 genannten Bedingungen um eine L- bzw. D-Isoleucin-Einheit und zwei D-Valin-Einheiten verlängert wurde. Anschließende Abspaltung vom Polymer erfolgte über HFIP und ergab nach Behandlung von 203 mg von Polymer **187** rund 81 mg Rohpeptid (Tabelle 12, Eintrag 1). Die gleiche Behandlung von 117 mg Polymer **188** führte zu 32 mg Rohpeptid (Eintrag 2). Wie der Tabelle jedoch ebenfalls zu entnehmen ist, konnten für beide Verbindungen vergleichbare Löslichkeitsprobleme beobachtet werden, wie für das ursprünglich synthetisierte Makrofragment A (**146**). Da deshalb auch hier kein NMR-Spektrum gemessen werden konnte, wurde auch hier exemplarisch ein Abgleich der Elementaranalysen zwischen Polymer **188** (D-Isomer) und dem entsprechenden isolierten Rohpeptid durchgeführt (Tabelle 13).

⁹³ C. Bartens, Labor-Praktikum – unveröffentlichte Ergebnisse, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2015.

⁹⁴ A. Darid, Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2015.



Schema 56: Darstellung von L-(**189**)- und D-(**190**)-Fragment D.^[93,94] a) TBTU, HOBt, DIPEA, DMF, RT, 1-4 h; b) 20% Piperidin in DMF, RT, (3x 10 min); c) DIC, HOBt, DMF, RT, 1-4 h.

Tabelle 12: Polymerentschützung von L-(**187**) und D-(**188**)-Fragment D.

Nr.	Startmaterial	Bedingungen	Rohmasse des Polymeres	Ausbeute/ Kommentar
1	187	30% HFIP, CH ₂ Cl ₂ , 15 min (3x)	203 mg (L-Isomer)	81 mg/ unlöslich ^a
2	188	30% HFIP, CH ₂ Cl ₂ , 15 min (3x)	117 mg (D-Isomer)	32 mg/ unlöslich ^a

^aunlöslich in Wasser, Et₂O, PE, CH₂Cl₂, DMF, DMSO, MeOH

Tabelle 13: Vergleich der Elementaranalysen vor und nach Abspaltung von D-Fragment A4 (**190**) vom Polymerträger.

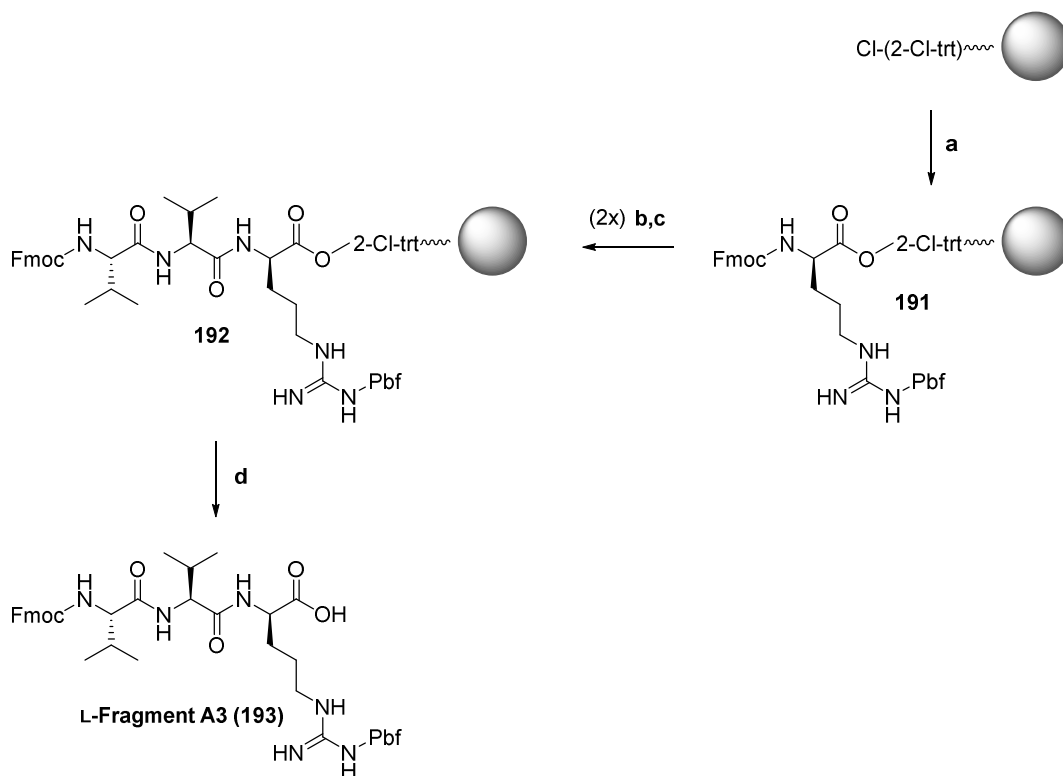
Vorhersage der Elementaranalyse für Verbindung D-Fragment A4 (190) (ChemDraw®)	Ergebnisse der Elementaranalyse
C ₃₄ H ₄₆ N ₄ O ₇	Peptid enthaltendes Polymer 188 : (D-Isomer) C: 75.82; H: 6.43; N: 2.40
C: 66.71; H: 7.73; N: 8.11	Isolierter Feststoff nach Abspaltung des Polymers C: 64.22; H: 7.71; N: 8.53

Der Abgleich ergab große Ähnlichkeiten mit dem von ChemDraw[®] vorgeschlagenen Verhältnis zwischen Kohlenstoff, Stickstoff und Wasserstoff. Somit konnte davon ausgegangen werden, dass ein

Peptid erhalten werden konnte, jedoch wurde aufgrund der Löslichkeitsprobleme keine weiteren Untersuchungen bezüglich der Reinheit des Materials vorgenommen.

Auch das L-Fragment A3 (**193**) wurde im Zuge der Bachelorarbeit von DARID^[94] synthetisiert. Hierzu wurde das BARLOS-Polymer mit kommerziellem Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH beladen und anschließend auf die in Schema 57 beschriebene Art und Weise sequenziell um zwei L-Valin Einheiten verlängert. Hier ergab die Polymerabtrennung mittels HFIP erneut ein Rohpeptid, welches in diesem Falle jedoch in DMSO löslich war und entsprechend charakterisiert werden konnte. Anhand dieses Beispiels konnte DARID zeigen, dass durch die Synthesebedingungen und die Art der Polymerabtrennung über HFIP reines Peptid erhalten werden kann.

Weitere Versuche zur Darstellung der Fragmente A1 (**183**) und A2 (**184**) wurden nicht mehr durchgeführt. Für weitere Strategien zur Synthese der Fragmente A1 (**183**) bis A4 (**186**) verweist der Autor auf das Kapitel 6.2 (Ausblick).

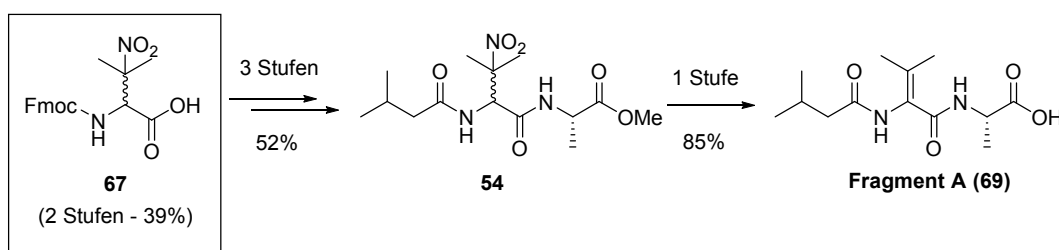


Schema 57: Darstellung von L-Fragment A3 (**193**).^[94] a) Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH, DIPEA, CH₂Cl₂, 30 min; b) 20% Piperidin in DMF, RT, (3x 10 min); c) TBTU, HOBT, DIPEA, DMF, RT, 1-4 h; d) 30% HFIP in CH₂Cl₂, RT, (3x 15 min).

5 Zusammenfassung und Ausblick – Teil 1

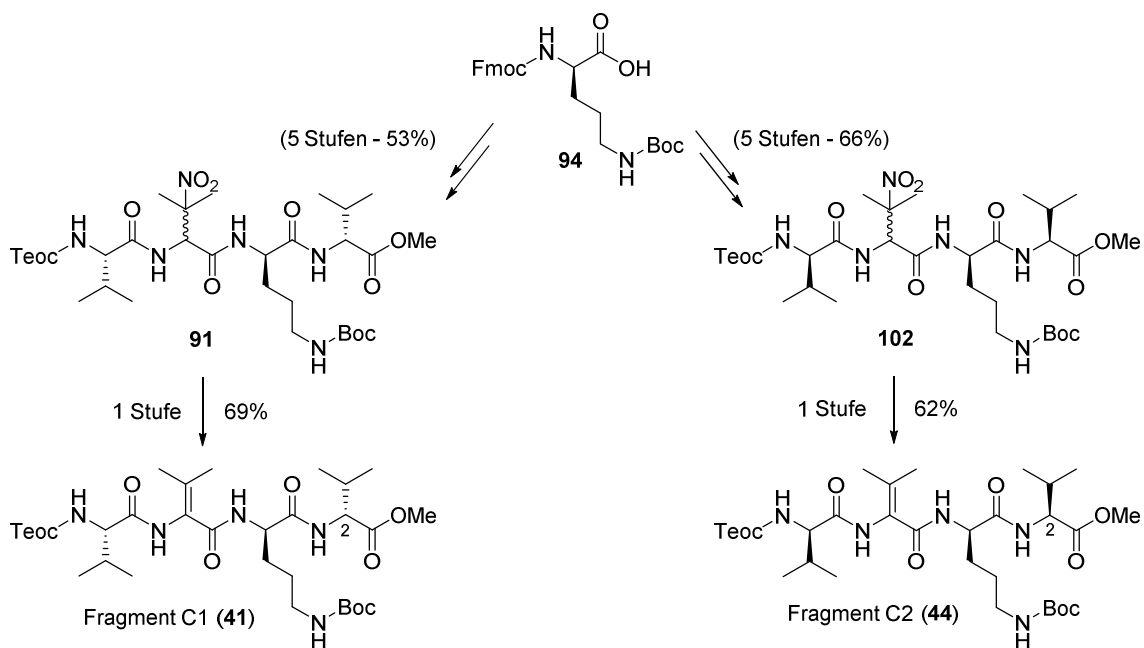
5.1 Zusammenfassung – Studien zur Totalsynthese von Myxoalargin

Ziel des ersten Teils dieser Arbeit war es, die Totalsynthese abzuschließen, welche von GILLE begonnen wurde. Hierzu wurde weiteres Material der Fragmente A (**39**), B (**40**), C1 (**41**), D (**42**) und E (**43**) benötigt. Außerdem sollte das Fragment C1 (**41**) in einer weiteren Konfiguration C2 (**44**) dargestellt werden. Um die erforderlichen Stoffmengen für das Endspiel bereitzustellen, wurde ebenfalls ein *Upscale* der Synthesen angestrebt. Im Zuge dieser Bestrebungen wurden die Synthesen der Fragmente A (**39**) und C1 (**41**) bzw. C2 (**44**) umgestellt, da die zuvor verwendete GOLDBERG-Reaktion zum Aufbau von Dehydroaminosäuren sich als effektiv aber aufgrund geringer Ansatzgrößen nicht als effizient herausstellte. So konnte im weiteren Verlauf gezeigt werden, dass eine Synthese dieser Fragmente auch über eine Eliminierungsstrategie von 3-NO₂-Aminosäuren bewerkstelligt werden kann, welche im Fall von Fragment A (**69**) durch eine Verseifung ermöglicht wurde (Schema 58).



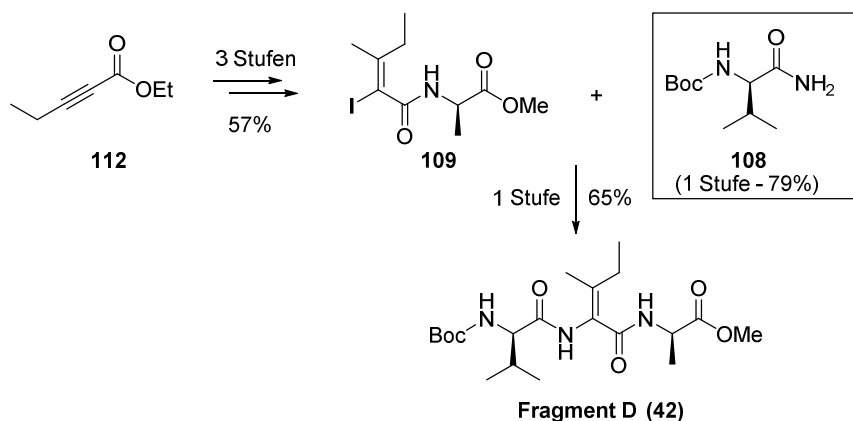
Schema 58: Darstellung von Fragment A (**69**). Insgesamt 6 Stufen, 36%.

Im Falle der Fragmente C1 (**41**) und C2 (**44**) stellte sich heraus, dass eine Verseifung zum Verlust der Teoc-Schutzgruppe sowie zur Epimerisierung des Stereozentrums an Position 2 führte (Schema 59). Die Eliminierung gelang schließlich durch die Verwendung der Aminbase TBD (**142**).



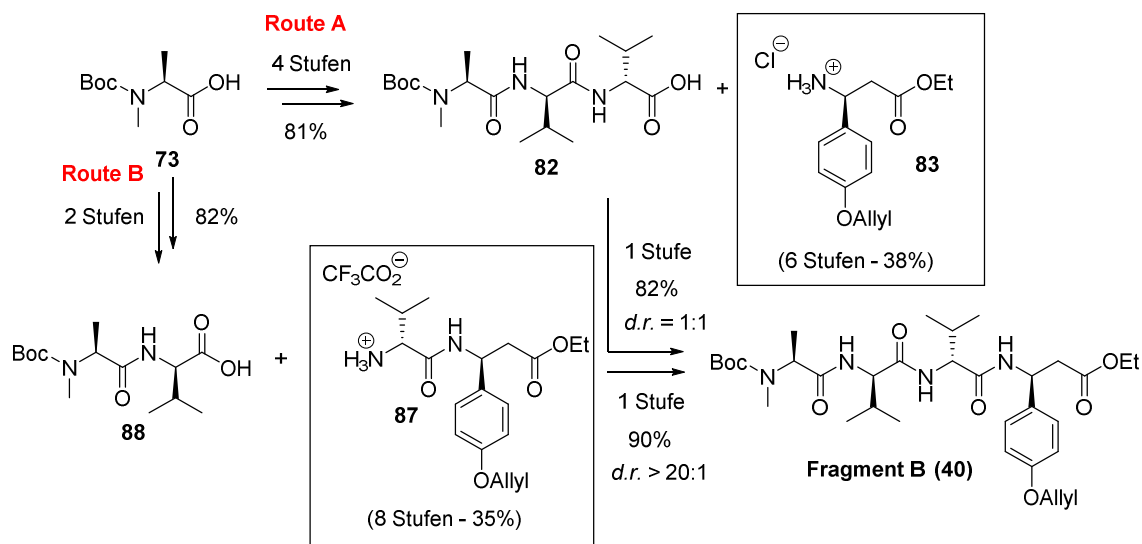
Schema 59: Darstellung der Fragment C1 (41) und C2 (44).

Dieselbe Strategie ließ sich nicht auf das Fragment D (42) übertragen, welches weiter durch die von GILLE optimierte Route dargestellt wurde (Schema 60).



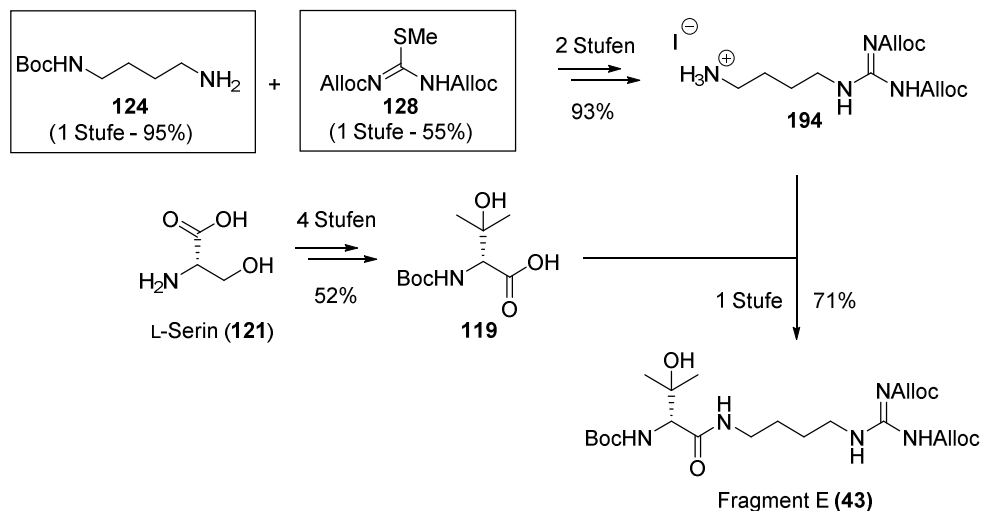
Schema 60: Darstellung von Fragment D (42).

Die Synthese von Fragment B (40) wurde leicht umgestellt (Route B, Schema 61), da eine späte Kupplung der GILLE Route (Route A) nicht reproduzierbar war.



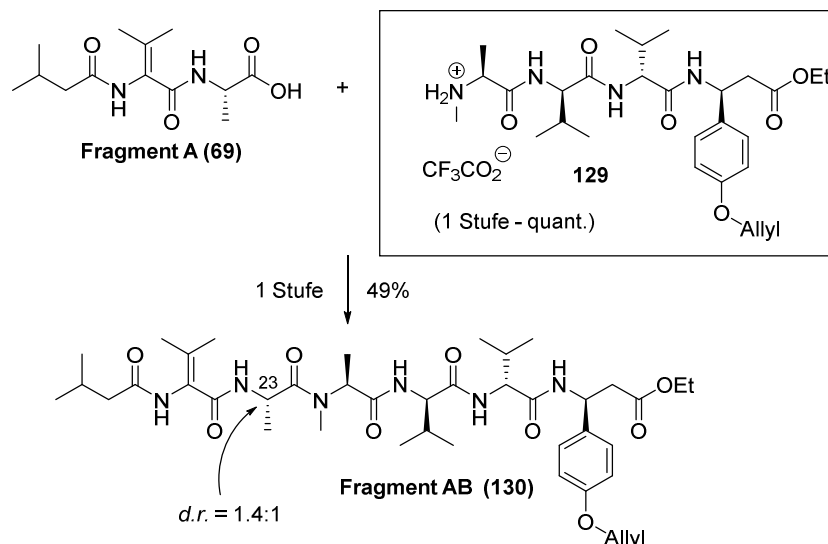
Schema 61: Darstellung von Fragment B (40).

Schließlich wurde die Synthese von Fragment E (**43**) im größeren Maßstab erfolgreich nach der Route von GILLE bewerkstelligt (Schema 62). Allerdings konnte die Darstellung des bei der Synthese von Fragment E (**43**) verwendeten Guanidinierungsreagenzes (**37**) nicht reproduziert werden, weshalb das Reagenz durch den Methylisothioharnstoff (**128**) ersetzt wurde.



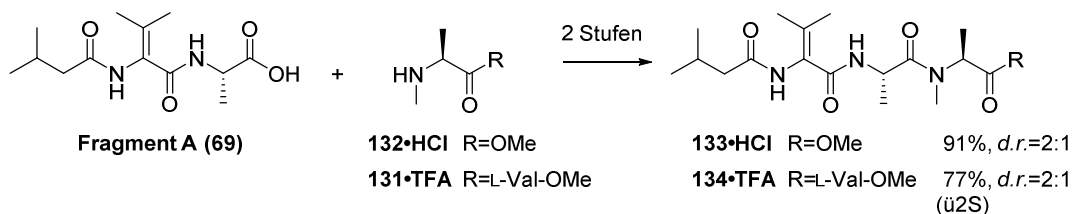
Schema 62: Darstellung von Fragment E (43).

Das Endspiel befasste sich nun mit der Kupplung der Fragmente, insbesondere der Kupplung der Fragmente A (**69**) und B (**129**) (Schema 63). Die innerhalb dieser Arbeit für die Kupplung der beiden Fragmente getesteten Kupplungsbedingungen führten zur Epimerisierung des Alanin-Stereozentrums an Position 23. Durch den kompletten Verlust der Integrität des Stereozentrums wäre am Ende der Totalsynthese kein hinreichender Beweis der Myxovalargin-Struktur mehr möglich gewesen, sodass an dieser Stelle die Synthese umgestellt wurde.

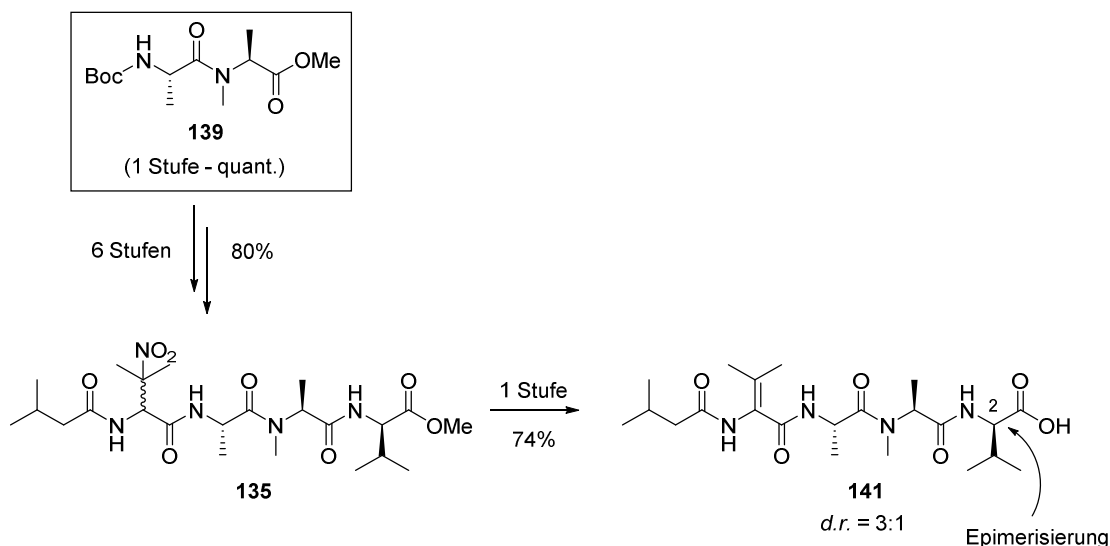


Schema 63: Endspiel – Kupplung der Fragment A (**69**) und B (**129**).

Da auch eine sequentielle Kupplung der im Fragment B (**40**) enthaltenen Aminosäuren mit Fragment A (**69**) keine ausreichende Diastereoselektivität erbrachte (Schema 64), wurde daraufhin für das gesamte Fragment AB (**130**) eine alternative Route angestrebt, als deren Startpunkt die schwierige Alanin-*N*-Methylalanin-Kupplung gewählt wurde (Schema 65). Ein auf diese Weise synthetisiertes Misch-Fragment **135** besaß ähnliche Limitierungen, wie sie auch bei den Fragmenten C1 (**41**) und C2 (**44**) beobachtet werden konnten. Eine Verseifung führte hier ebenfalls zur Epimerisierung an Position 2. Hiermit wurde deutlich, dass Valin-Methylester im Endspiel ein generelles Risiko zur Epimerisierung aufweisen.

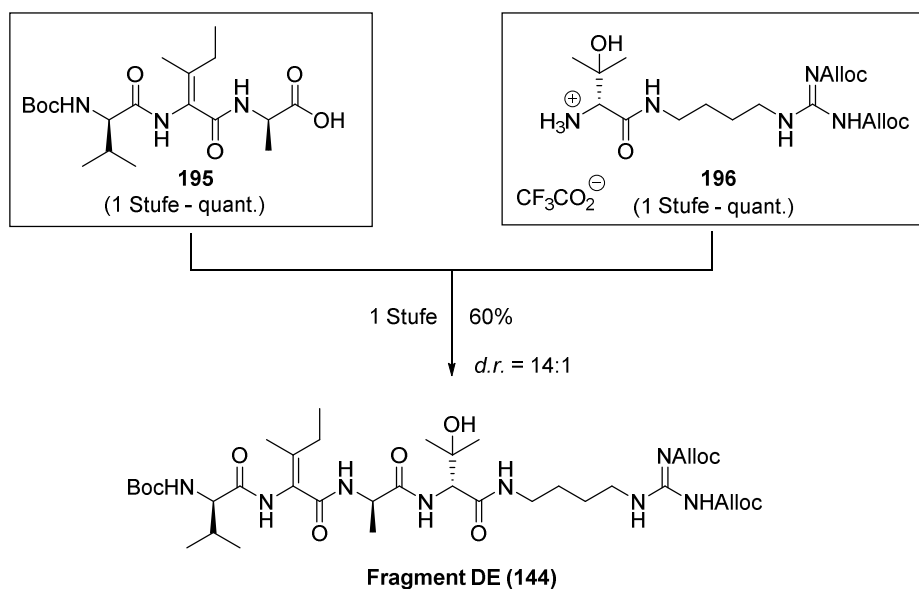


Schema 64: Kupplung von Fragment A (**69**) mit H-L-MeAla-OMe (**132**) oder mit H-L-MeAla-L-Val-OMe (**131**).



Schema 65: Endspiel – Synthese des neuen Misch-Fragmentes **141**.

Eine Kupplung der Säure **193** und des Amins **194** nach den Bedingungen von GILLE konnte nicht ohne Epimerisierung reproduziert werden und wurde daher erneut optimiert und gelang schließlich unter alternativen Kupplungsbedingungen und einem Diastereoisomerenverhältnis von *d.r.* = 14:1. Somit konnten zwar die initial geplanten Fragmente synthetisiert werden, jedoch wurde deutlich, dass die Wahl einiger Schutzgruppen das Endspiel erschwerten, da sich insbesondere Valin-Methylester als problematisch erwiesen, weil sie leicht epimerisierten. So konnten bisher nur die Fragmente D (**42**) und E (**43**) erfolgreich miteinander gekuppelt werden.



Schema 66: Endspiel – Darstellung von Fragment DE (**144**).

5.2 Ausblick – Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin

Während der Synthesestudien konnte gezeigt werden, dass Valin-Methylester problematisch sind, da sie im Endspiel zur Epimerisierung neigen (vgl. Kap. 3.4.2 und 3.7.3). Sollte die Verwendung milder Verseifungsbedingungen wie z.B. Me_3SnOH ^[95] sowie die Kombination aus Lithium-Salzen/ tertiäres Amin und H_2O ^[96], oder die Dealkylierung mittels starker Nukleophile wie LiS-n-Pr ^[97] oder LiI ^[98] nicht genügen, um die Epimerisierung zu unterdrücken, könnte es von Vorteil sein, bei der Synthese von Fragment AB anstelle des Methylesters **134** hier den *tert*-Butylester **195** zu verwenden (Schema 67). Dies hätte zur Folge, dass während der Synthesesequenz zum Dipeptid **98** sowie zum Tripeptid **197** anstelle der Boc-Gruppe (vgl. Kap. 3.7.3) eine Fmoc oder Cbz-Schutzgruppe verwendet werden müsste.

Für die Fragmente C1 (**41**) und C2 (**44**) ergibt sich zusätzlich zu der Epimerisierung des Valin-Methylesters ebenfalls das Problem, dass die Teoc-Schutzgruppe labil ist (vgl. Kap. 3.4.2). Sollte die Teoc-Schutzgruppe den oben genannten, milden Verseifungsbedingungen nicht standhalten, so müsste sie gegen eine andere Schutzgruppe ausgetauscht werden. Für den Fall, dass auch der Methylester ausgetauscht werden muss, könnte es nötig werden, die Synthesesequenz mit anderen Schutzgruppen zu wiederholen. Da die Alloc-Schutzgruppe bereits an anderer Stelle als Endspiel-Schutzgruppe für das Fragment E (**43**) Anwendung findet und basenlabile Schutzgruppen wie Fmoc aufgrund der NO_2 -Eliminierungsstrategie (Einsatz von starken Aminbasen) nur begrenzt anwendbar sind, würde in einer neuen Synthesesequenz die Boc-Gruppe in der Ornithin-Seitenkette beibehalten werden. Die Teoc-Gruppe könnte gegen eine (*para*-Nitrobenzyl)oxycarbonyl-(pNZ)-Gruppe^[99] ausgetauscht werden, welche orthogonal zur Boc-Gruppe^[100] in der Seitenkette und zu Allyl/Alloc-Gruppen^[101] der anderen Fragmente unter milden reduktiven Bedingungen geschützt werden kann. Anstelle des Methylesters würde sich ein 2-(Trimethylsilyl)ethyl-(TMSE)-Ester anbieten, welcher orthogonal zur pNZ-Gruppe durch Fluorid-Nukleophile gespalten werden kann^[102] und von welchem vermutet wird, dass er analog zur Teoc-Gruppe den starken Amin-Basen der Nitro-Eliminierung standhält. Mit diesen Schutzgruppen wäre eine freie Wahl der Kupplungsreihenfolge zwischen den Fragmenten C1 (**199**) bzw. C2 (**200**), dem Fragment AB (**130**) und dem Fragment DE (**144**) möglich.

⁹⁵ K. C. Nicolaou, A. A. Estrada, M. Zak, S. H. Lee, B. S. Safina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378-1382.

⁹⁶ S. Mattsson, M. Dahlström, S. Karlsson, *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 2497-2499.

⁹⁷ P. A. Bartlett, W. S. Johnson, *Tetrahedron Letters* **1970**, *46*, 4459-4462.

⁹⁸ J. W. Fisher, K. L. Trinkle, *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*(16), 2505-2508.

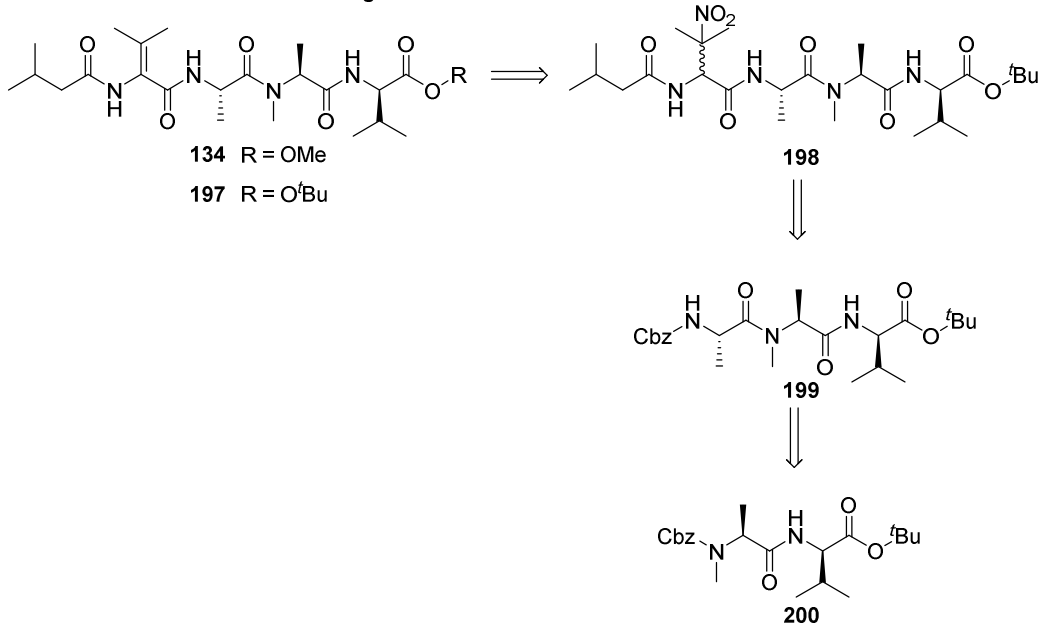
⁹⁹ A. Isidro-Llobet, J. Guasch-Camell, M. Álvarez, F. Albericio, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *14*, 3031-3039; A. Isidro-Llobet, M. Álvarez, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2455-2504.

¹⁰⁰ D. Shirlin, S. Baltzer, J. M. Altenburger, C. Tarnus, J. M. Remy, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 305-318;

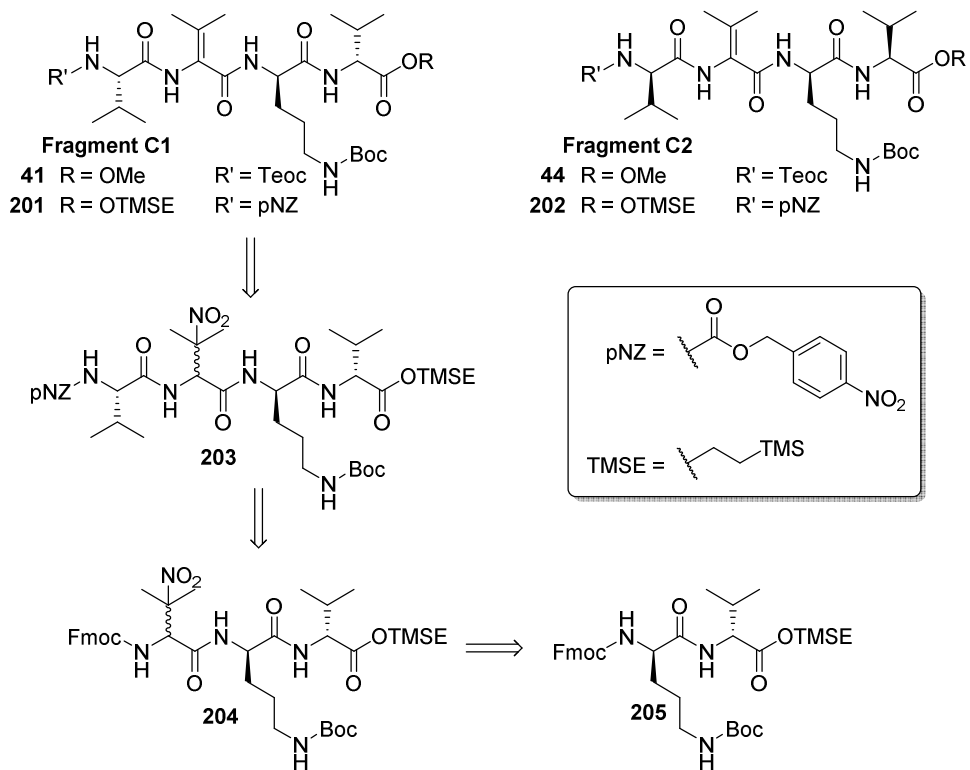
¹⁰¹ A. S. Soni, C. S.-H. Lin, M. E. P. Murphy, M. E. Tanner, *ChemBioChem* **2019**, *20*, 1591-1598.

¹⁰² Y. Li, Q. Shi, J. Shao, Y. Yuan, Z. Yang, S. Chen, X. Zhou, S. Wen, Z.-X. Jiang, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *148*, 279-298.

Neue Route zum AB-Mischfragment



Neue Route zu Fragment C1/C2



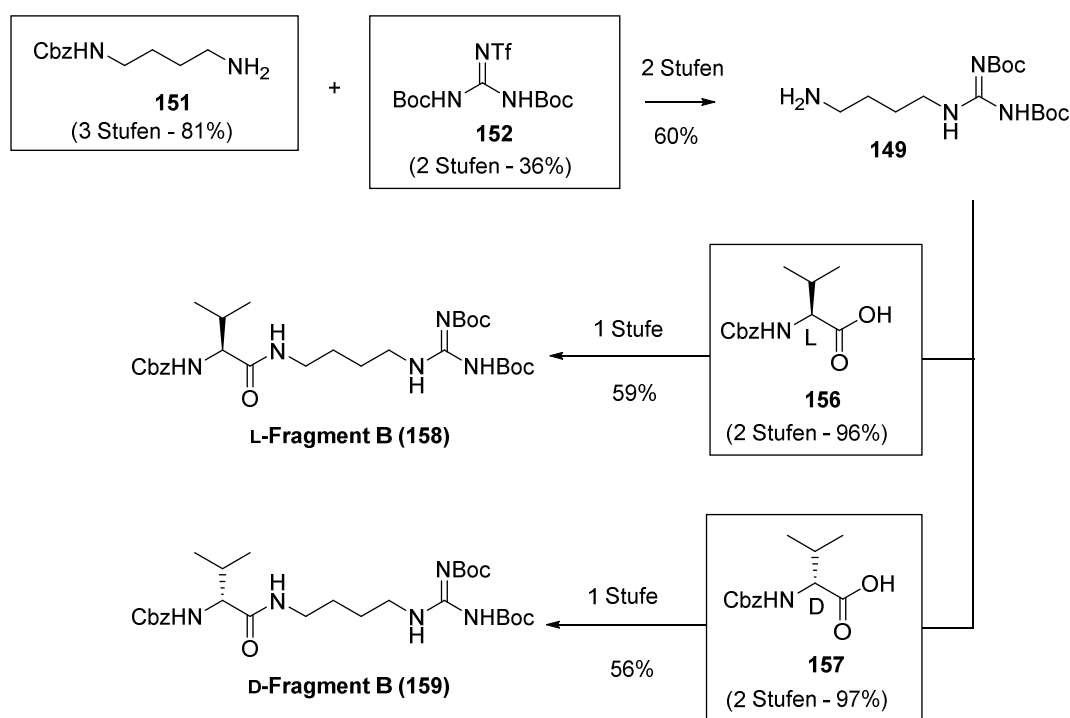
Schema 67: Alternative Schutzgruppen-Strategien für das AB-Mischfragment **134** sowie die Fragmente C1 (**41**) und C2 (**44**).

6 Zusammenfassung und Ausblick – Teil 2

6.1 Zusammenfassung – Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek

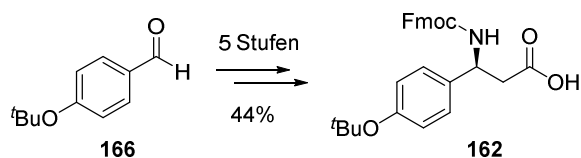
Das zentrale Element dieses Themenblocks war es, die Synthese von vereinfachten Strukturderivaten des Myxovalargins (**29**) möglich zu machen. Dabei sollte vor allem erprobt werden, ob die in der Struktur vorkommenden Dehydroaminosäuren teilweise oder komplett gegen kanonische Aminosäuren ausgetauscht werden können, ohne die biologische Aktivität einzuschränken. Somit wurde für diejenigen Teilfragmente des Moleküls ohne Doppelbindung ein Festphasen-Ansatz gewählt, während Fragment B (**147**) analog zu den Studien zur Totalsynthese in Lösung dargestellt werden sollte. Für eine saure Totalentschützung im Endspiel sollten die Schutzgruppen *tert*-Butyl (β -Tyrosin), Pbf (Arginin) sowie Diboc (Agmatin) dienen.

Die Hexahydrodeoxymyxovalargine (**146**) sollten die ersten Derivate innerhalb der Bibliothek darstellen und somit den Grundstein für die weitere Methodik zum Aufbau anderer Derivate legen. In diesem Bestreben gelang die Synthese der L-(**158**)- bzw. D-(**159**)-Konfigurationsisomere von Fragment B in 6 Stufen (längste lineare Sequenz, 10 Stufen total) und einer Gesamtausbeute von 29% (L-Isomer) bzw. 27% (D-Isomer, Schema 68).



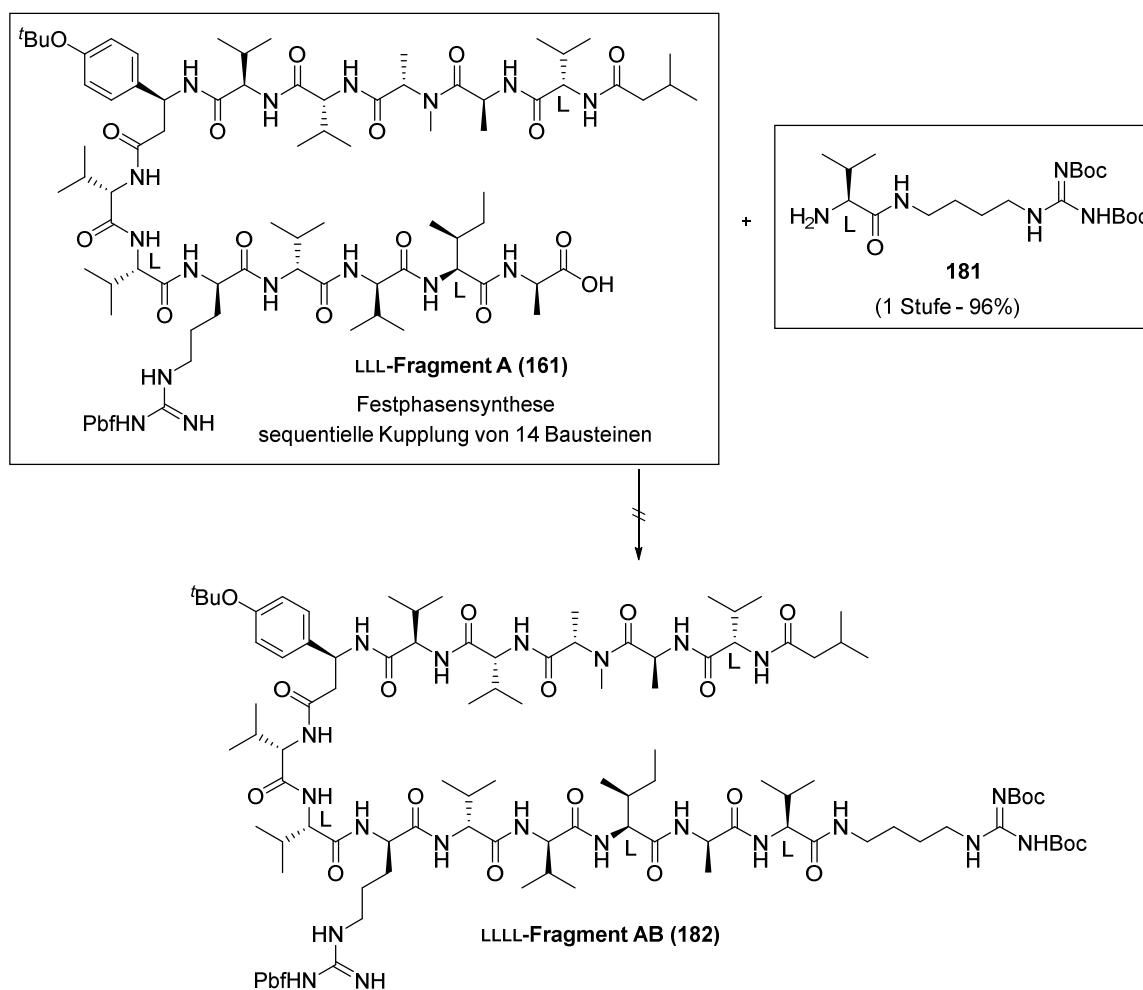
Schema 68: Darstellung der L-(**158**) bzw. D-(**159**)-Konfigurationsisomere von Fragment B.

Bevor aber nun mit der Festphasensynthese von Fragment A (**146**) begonnen werden konnte, musste zunächst der Synthesebaustein *N*-Fmoc-*O*^{*t*}-Bu-(*S*)- β -tyrosin (**162**) bereitgestellt werden. Seine Synthese gelang in 5 Stufen und einer Gesamtausbeute von 44% (Schema 69).



Schema 69: Synthese von Fmoc-(*S*)- β -tyrosin (**162**).

Mit allen benötigten Synthesevorläufern in der Hand konnte nun die Festphasensynthese begonnen werden, wobei die LLL-(**160**)- bzw. DLL-(**161**)-Konfigurationsisomere die ersten angestrebten Derivate von Fragment A waren.



Schema 70: Endspiel – Kupplung der Fragmente LLL-A (**161**) und L-B (**181**).

Eine Synthese dieser beiden Derivate glückte schließlich potentiell auf einem BARLOS-Polymer mit 2-Cl-Trt-Linker, jedoch konnten die Löslichkeitsprobleme dieser beiden sehr unpolaren Peptidketten nicht überwunden werden, sodass keine hinreichende Reinigung dieser Fragmente und ebenso keine weitere Folgechemie mehr möglich war (Schema 70).

In dem Bestreben die Löslichkeitsprobleme durch Verkleinerung der Kettenlänge zu umgehen, wurde das Fragment A in 4 kleinere Fragmente unterteilt, namentlich A1 (**183**), A2 (**184**), A3 (**185**) und A4 (**186**). Auch hier wurde ein Festphasen-Ansatz für Fragmente ohne olefinische Doppelbindung gewählt, während Derivate mit Dehydroamino-säuren zunächst in Lösung dargestellt werden sollten.

Als erstes Fragment wurde hier das Fragment A4 synthetisiert, welches denselben Startbaustein wie das vorherige Makrofragment A aufwies. Es konnte gezeigt werden, dass die Festphasensynthese für das L-(**189**)- bzw. D-(**190**)-Isomer von Fragment A4 auf einem BARLOS-Polymer mit 2-Cl-Trt-Linker möglich ist. Jedoch konnten hier ähnliche Löslichkeitsprobleme wie beim Makrofragment A beobachtet werden. Schließlich glückte die Festphasensynthese von L-Fragment A3 (**193**). Somit wurde geschlussfolgert, dass insbesondere unpolare Peptidketten zur Schwerlöslichkeit neigen. Außerdem wurde geschlussfolgert, dass die Fmoc-Schutzgruppe sich ebenfalls negativ auf die Löslichkeit von Peptidketten auswirkt.

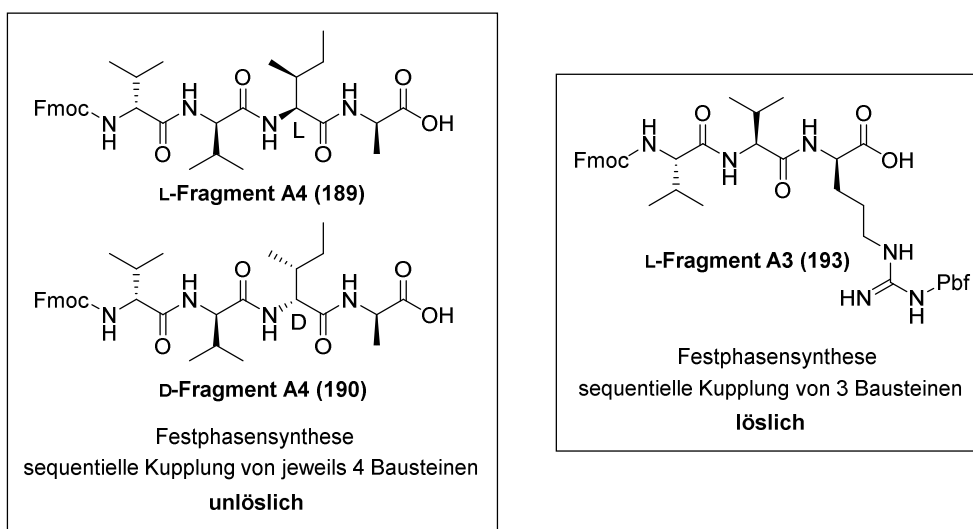
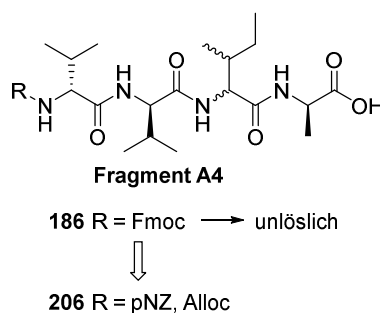


Abbildung 19: Festphasensynthese der Fragment A3 und A4.

Insgesamt kann gesagt werden, dass erste Erkenntnisse gewonnen wurden, um Myxovalargin und seine Derivate unter Festphasen-Bedingungen zu synthetisieren, jedoch wurde auch deutlich, dass der unpolare Charakter der Sequenz zu Löslichkeitsproblemen führt, was in der zukünftigen Synthesepanung mit berücksichtigt werden muss.

6.2 Ausblick – Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek

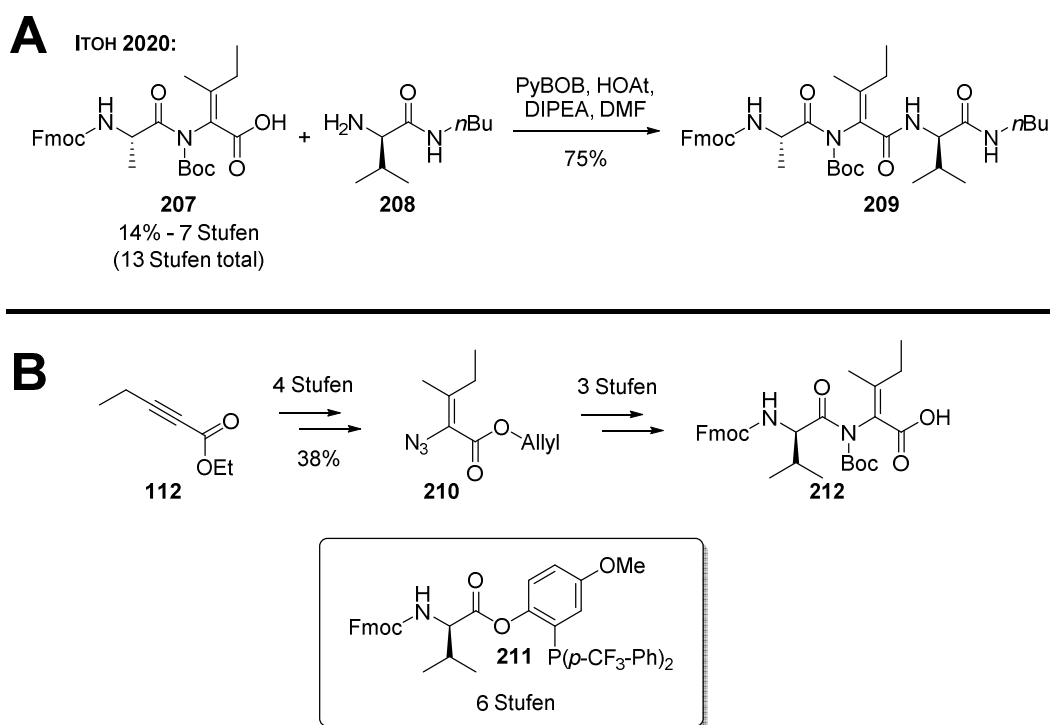
Wie gezeigt werden konnte, erwies sich das für die Synthese der Hexahydrodeoxy-Myxovalargine (**145**) benötigte Hexahydrofragment A (**146**) als zu unlöslich, sodass weitere Arbeiten mit diesem Fragment nicht mehr möglich waren (Schema 70). Auch die Unterteilung des Makrofragmentes A (**147**) in die kleineren Fragmente A1 (**183**), A2 (**184**), A3 (**185**), A4 (**186**) verlief nicht problemlos. Hier besaßen beide Konfigurationen des Fragment A4 (**186**) ebenfalls eine geringe Löslichkeit nach der Abtrennung des Polymers. Ein Lösungsansatz hierfür wäre die Wahl einer anderen Schutzgruppe für die Aminosäure am *N*-Terminus des Fragmentes A4 (**206**, Schema 71).



Schema 71: Alternative der Wahl der Schutzgruppen, um die Löslichkeit des Fragmentes A4 (**186**) zu erhöhen.

Die Boc-Gruppe besitzt wahrscheinlich die besten Lösungseigenschaften, ist aber nicht orthogonal zu den Schutzgruppen der Fragmente A2 (**184**, *t*Bu), A3 (**185**, Pbf) und Fragment B (**147**, Diboc). Andere Schutzgruppen, welche stabil unter den sauren Entschützungsbedingungen (HFIP, CH₂Cl₂) für das Polymer sind, wären pNZ und Alloc. Beide Schutzgruppen können auch unter Festphasenbedingungen entschützt werden,^[99] sodass eine Fragmentkupplung wahlweise auf dem Polymer oder in Lösung stattfinden könnte. Alloc besitzt im Gegensatz zu pNZ kein aromatisches System, was für die Löslichkeit der Fragmente von Vorteil sein könnte. Jedoch birgt trotz alledem die Verwendung kleinerer Fragmente die Gefahr der Epimerisierung bei der Fragment-Kupplung (vgl. Kap. 3.7.1 und 3.7.4). Neben Löslichkeitsproblemen war ein weiterer Grund für die Synthese der kleineren Fragmente, dass bisher alle Fragmente mit Dehydroaminosäuren in Lösung hergestellt werden mussten, weshalb ein solcher Fragmentansatz hierzu komplementär war. Mit einer neuen Veröffentlichung zur Totalsynthese des Yaku'amid B durch ITOH^[103] konnte jedoch aufgezeigt werden, wie die Kupplung von Dehydroisoleucin in Lösung und auf der Festphase möglich ist (Schema 72, A). Außerdem konnte innerhalb dieser Promotionsschrift gezeigt werden, dass der einfache Baustein Fmoc-3-NO₂-Valin als Vorläufer für Dehydrovalin verwendet werden kann. Mit dem Wegfall dieser beiden Limitierungen könnte somit die Notwendigkeit für die Verwendung kleinerer Fragmente überwunden werden und die Synthese des Myxovalargins und all seiner vorgesehenen Derivate könnte ohne Fragmentkupplung über einen einzelnen, linearen Festphasensynthese-Ansatz erfolgen (Schema 73).

¹⁰³ H. Itoh, K. Miura, K. Kamiya, T. Yamashita, M. Inoue, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 4564-4571.

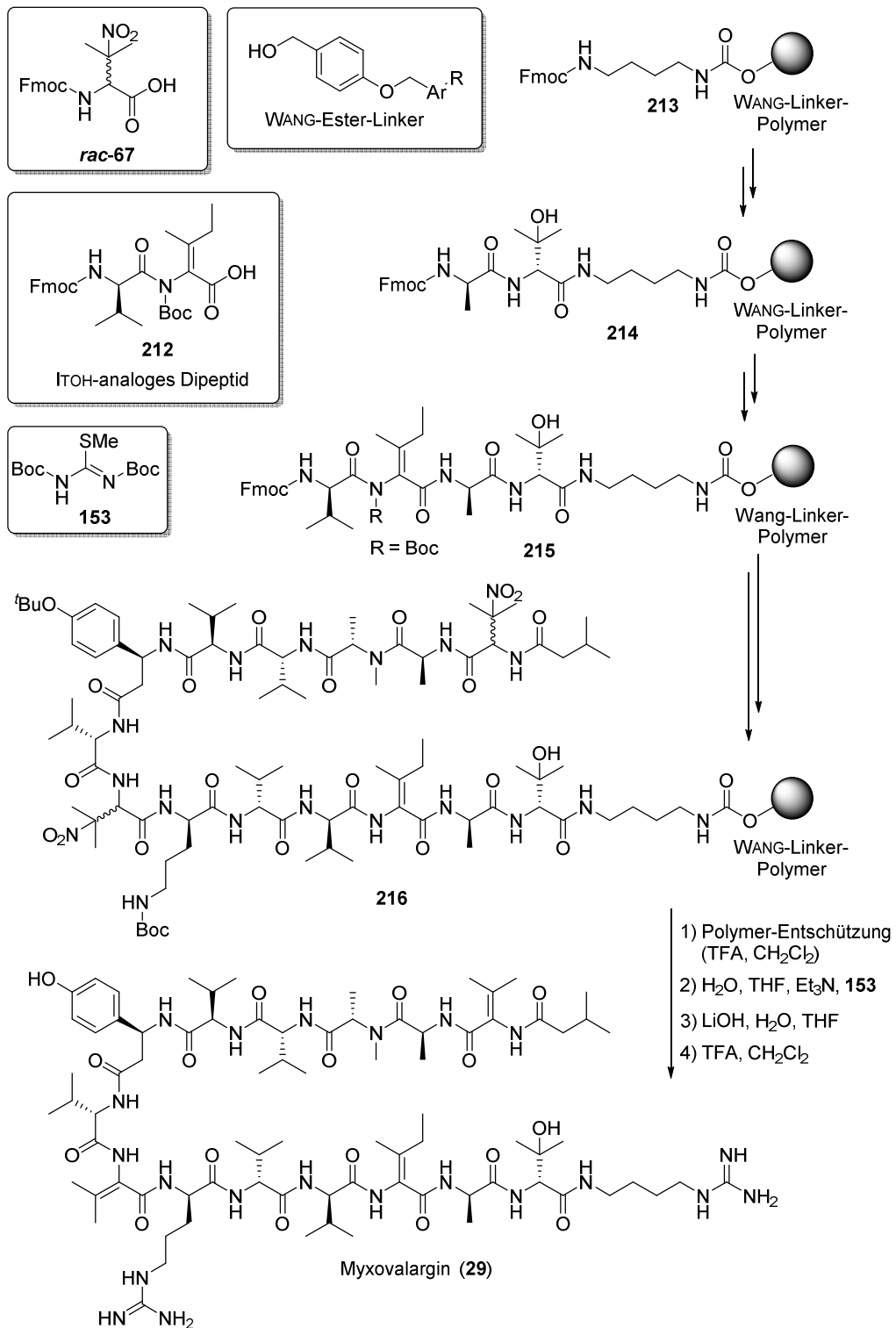


Schema 72: A: Peptidkupplung mit einem Boc-geschütztem (*E*)-Dehydroisoleucin Derivat aus der Totalsynthese von Yaku' Amide B^[103]; **B:** Synthesevorschlag für ein Myxovalargin-analoges Dipeptid **212** nach Methodik von ИТОИ^[103].

Für eine solche Synthese könnte mit der Fixierung von 1,4-Diaminobutan auf einem WANG-Polymer begonnen werden. Durch den Einsatz von Phosgen oder seinen Derivaten kann ein Amin in Form eines Urethans auf Polymeren fixiert werden.^[104] Die Kette könnte dann unter den standardisierten Peptidbildungsbedingungen erweitert werden, wobei im Falle des Dehydroisoleucins das Dipeptid **212** verwendet werden würde, welches wiederum aus dem Azid **210** und dem Ester **211** synthetisiert werden könnte (Schema 72, **B**).^[103] Anstelle des Arginins würde hier das Ornithin verwendet werden, dessen Seitenkette Boc-geschützt ist, und anstelle von Dehydrovalin würde das NO₂-Valin-Derivat **67** verwendet werden, sodass schließlich die Peptid-Kette **216** erhalten werden würde.

Nach saurer Totalentschützung mit TFA in CH₂Cl₂ würden dann die freie Ornithinseitenkette und eine freie Amino-Funktion des 1,4-Diaminobutans erhalten werden, wodurch die Verbindung ähnlich wie das Myxovalargin wasserlöslich werden könnte. Danach könnte durch das Guanidinierungsreagenz **153** die Amino-Funktionen in eine Arginin-Seitenkette bzw. einen Agamatin-Rest überführt werden. Anschließende Behandlung mit LiOH würde dann die 3-NO₂-Valin-Bausteine in Dehydrovalin-Bausteine überführen. Schließlich würde durch erneute saure Totalentschützung das Myxovalargin erhalten werden.

¹⁰⁴ M. Soral, J. Hlaváč, V. Krchňák: *Linkers for Solid-Phase Peptide Synthesis. Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*, abgedruckt in: A. B. Hughes, *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry: Building Blocks, Catalysis and Coupling Chemistry, Volume 3*, Kap. 8, S.273-312, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011. <https://doi.org/10.1002/9783527631803.ch8>



Schema 73: Beispiel der Darstellung von Myxovalargin-Derivaten am Beispiel des Myxovalargins (**29**) über einen einzigen Festphasenansatz.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemeine Hinweise

Die für Reaktionen mit trockenen Lösungsmitteln verwendeten Glasgeräte wurden ausgeheizt verwendet und mit einer Argon-Atmosphäre versehen. Die kommerziell erhältlichen Reagenzien und Lösungsmittel wurden von den FIRMEN SIGMA ALDRICH (MERCK), ALFA AESAR, TCI EUROPE, FLUOROCHEM, ABCR, BACHEM, IRIS BIOTECH, ACROS ORGANICS und FISHER SCIENTIFIC erworben und, falls nicht anderes erwähnt, ohne weitere Reinigung direkt verwendet. Die Lösungsmittel Ethylacetat und Petrolether (60 °C) wurden generell vor Benutzung destilliert. Die trockenen Lösungsmittel THF, Et₂O, CH₂Cl₂ und DMF wurden von FISHER SCIENTIFIC erworben und in einer MB SPS-Aparatur der Firma BRAUN abgefüllt, welche mit Trocknungskartuschen versehen war. Et₃N wurde über Kaliumhydroxid getrocknet und frisch destilliert eingesetzt. DIPEA wurde trocken von ACROS oder Sigma Aldrich (Merck) erworben und direkt eingesetzt. HOBT wurde von Sigma Aldrich erworben und enthielt 14%wt Wasseranteil. HOAt wurde von ENCH INDUSTRY CO., LTD (China) erworben. Die Reaktionsführung bei niedrigen Temperaturen erfolgte über einen Cryostaten (JULABO, FT902) oder über gängige Kühlbäder (Eis/Wasser, Eis/Salzwasser, Trockeneis/Aceton).

Eine Vollcharakterisierung, welche die Messung von Drehwerten, Schmelzpunkten und IR-Banden mit einschloss, erfolgte nur von Reinverbindungen. Bei Gemischen von Diastereoisomeren wurde die Analytik um oben genannte Messmethoden verkürzt. Stattdessen wurde hier das Verhältnis aus Diastereoisomeren angegeben, welches im Regelfall über NMR-Messungen ermittelt wurde. Im Fall von *N*-methylierten Verbindungen wurde aufgrund des Auftretens von Rotameren entweder eine UPLC-MS Methode verwendet (Entsprechende Gradienten und Retentionszeiten sind den jeweiligen Versuchsvorschriften zu entnehmen) oder aber NMR-Messungen bei erhöhten Temperaturen durchgeführt.

***Freeze, pump, thaw (fpt)*–Methode zur Entgasung von trockenen Lösungsmitteln**

Das zu entgasende Lösungsmittel wird in einen ausgeheizten, mit einer Argon-Atmosphäre versehenen SCHLENK-Kolben überführt und der Kolben fest verschlossen. Anschließend wird das Lösungsmittel mittels flüssigen Stickstoffs oder eines Trockeneis-Bades (je nach Schmelzpunkt des Lösungsmittels) gefroren. Das gefrorene Lösungsmittel wird ca. fünf Minuten evakuiert (0.5 mbar) und der Kolben anschließend wieder fest verschlossen. Nun wird das Lösungsmittel aufgetaut, wobei sich an der Oberfläche des gefrorenen Lösungsmittels Gasblasen bilden. Nach dem Auftauen des Lösungsmittels wird der Prozess beginnend mit dem Einfrieren des Lösungsmittels wiederholt, solange bis beim Auftauen des Lösungsmittels keine Gasblasen mehr aufsteigen. Anschließend wird das evakuierte

Gefäß mit einer Argon-Atmosphäre versehen und das sauerstofffreie Lösungsmittel direkt für die jeweiligen Reaktionen verwendet.

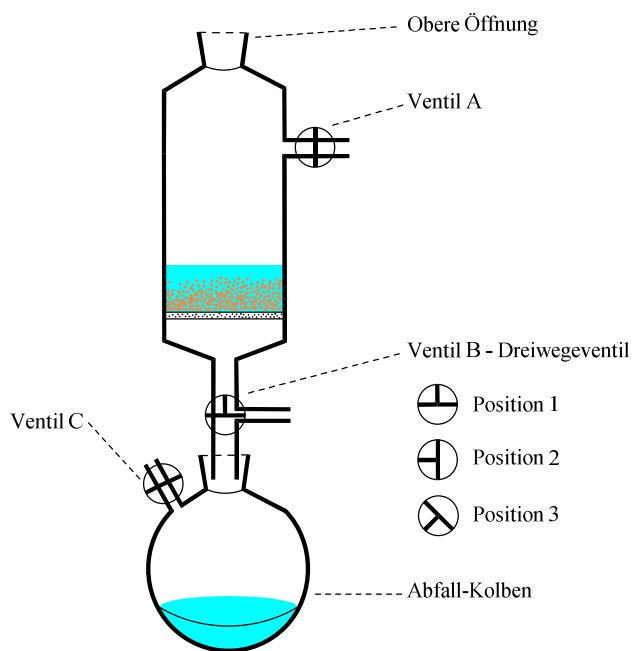
Säulenchromatographie

Wenn nicht anders erwähnt, erfolgte die säulenchromatographische Reinigung der Substanzen manuell (Handsäule). Alternativ wurde auch eine Computer gesteuerte Niederdruck (10 bar) BÜCHI SEPACORE[®] Anlage bestehend aus zwei C605 Pumpensystemen, einer C660 Fraktionssammler Einheit und einer C620 CONTROLER UNIT, verwendet. Die Detektion erfolgte über eine C630 UV Einheit bei 220 (bei Peptidbindungen) oder 254 nm oder per Dünnschichtchromatographie und/oder LCMS. Für die SEPACORE[®] verwendete Säulengrößen werden im Einzelnen genannt. Verwendete Kartuschen in der Normal-Phasen-Chromatographie (NP) und Umkehrphasen-Chromatographie (RP) sind 12mm x 150mm und 40mm x 150mm. Im Falle der NP wurden besagte Kartuschen mithilfe einer C670 BÜCHI CARTRIGDER Einheit selbst befüllt. Im Falle der RP wurden vorgepackte Kartuschen mit C18 Kieselgel (*encapped*) von BÜCHI erworben. Für die NP Chromatographie wurde Kieselgel 60M von MACHEREY-NAGEL mit Korngrößen von 0.04-0.063 mm verwendet. Angaben zu verwendeten Lösungsmitteln, Flussrate, Gradient und Retentionszeit bei Verwendung der SEPACORE[®] Anlage bzw. Gradienten der Handsäulen sind den jeweiligen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

Festphasen Peptidsynthese

Für alle Vorschriften wurden, falls nicht anderes erwähnt, wasserfreie Lösungsmittel verwendet. Das verwendete 2-Cl-Trt-Harz auf Polyesterol-Basis wurde von BACHEM oder IRIS BIOTECH erworben und verfügte über Porengrößen von 100-200 Mesh, sowie einer maximalen Beladung von 1.0-2.5 mmol/g. Aktivierung des Polymers sowie erste Beladung und anschließende Kettenerweiterung erfolgte nach den genannten Protokollen. Das Polymer wurde, wenn nicht anders erwähnt, entweder mit DMF (16 h) oder mit CH₂Cl₂ (30 min) vorgequollen eingesetzt. Durchmischung erfolgte im Festphasenreaktor (Abbildung siehe unten) durch das Durchleiten von Inertgas (N₂). Das Waschen erfolgte mit in den Protokollen erwähnten Lösungsmitteln, indem das entsprechende Lösungsmittel auf das Polymer gegeben wurde und das Gemisch, wenn nicht anders erwähnt, fünf Minuten lang durchmischt wurde. Wenn nicht anders erwähnt, erfolgte die Festphasen-Peptidsynthese ohne Trocknung des Polymers, welches unter wasserfreiem DMF bei 4 °C gelagert wurde.

Aufbau 1 - Festphasen-Reaktor mit Fritten-Einsatz



Aufbau 2 - Spritze als vereinfachte Form eines Reaktors

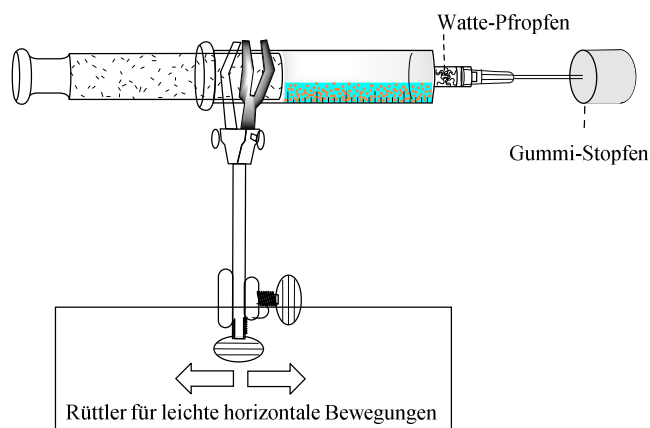


Abbildung 20: Darstellung von zwei unterschiedlichen experimentellen Aufbauten. Aufbau 1: *Festphasenreaktor* aus Glas mit Fritteneinsatz. Obere Öffnung dient dem Befüllen des Gefäßes und zur Probenentnahme. Dient als Druckausgleich während der Durchmischung des Polymers und ist durch eine Fritte gegen Überlauf gesichert. Bleibt zur Drainage des Polymers verschlossen (Stopfen). *Ventil A* dient zum Einleiten von Inertgas während der Befüllung und bei Probenentnahme. Wird auch zur Drainage des Polymers verwendet. Bleibt während der Durchmischung verschlossen. *Ventil B, Position 1* dient der N_2 -Zufuhr und wird zur Durchmischung des Polymers mit Gasblasen verwendet. *Ventil B, Position 2* dient der Drainage des Polymers und verbindet den Reaktor mit dem Abfallgefäß. *Ventil B, Position 3* verschließt das Dreibeige-Ventil in alle Richtungen. *Ventil C* dient dem Druckausgleich während der Drainage. Wurde an einen Abluftschlauch angeschlossen, um giftige Dämpfe vom Anwender der Apparatur fernzuhalten. Aufbau 2: Bei kleineren Ansätzen bis 2 g Polymerharz kann anstelle eines vollständigen Reaktors auch eine 20 mL Spritze Anwendung finden. Die Spritze wird mit trockenem Polymer befüllt, indem der Kolben vollständig herausgezogen wird. Damit das Polymer die Kanüle nicht verstopft, wird in den Knülenansatz ein Watte-Pfropfen gesteckt, der aufgrund seiner Größe zwischen Kanüle und Spritze eingeklemmt wird. Zur Durchmischung wurde ein Rüttelgerät verwendet, welches leichte horizontale Bewegungen vollzog. Alle Drainage und Waschvorgänge lassen sich mit der Spritze analog zum Aufbau 1 durchführen. Während der Durchmischung wird die Spritze durch einen *Gummi-Stopfen* verschlossen.

7.2 Analytische Methoden

Dünnschichtchromatographie

Qualitative Reaktionskontrollen wurden teilweise über den Abgleich mit Startmaterialien durchgeführt. Als Laufmittel dienten im Regelfall Gemische aus Dichlormethan und Methanol mit einem Methanolanteil von 1-10%. Als stationäre Phase dienten mit Kieselgel beschichtete Aluminiumplatten ALUGRAM XTRA SIL G/UV₂₅₄ (Schichtdicke 0.2 mm) der Firma MACHERY-NAGEL. Die UV-Detektion erfolgte bei 254 nm. Zusätzlich wurden die entwickelten DC-Platten mit einer Reihe von Reagenzien angefärbt:

- Nihydrin-Dip (3 g Ninhydrin, 200 mL Ethanol, 6 mL Essigsäure)
- Kaliumpermanganat-Dip (300 mL Wasser, 5 mL 5% NaOH-Lösung, 20 g K₂CO₃, 3 g KMnO₄)

Nuklearmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie)

Die dieser Promotion zugrunde liegenden NMR-Spektren wurden an folgenden Spektrometern der Firma BRUKER gemessen:

- AVANCE 200 MHz (DPX-200) mit einer BACS 60 Probenwechsler
- ASCEND 400 MHz mit einer AVANCE-III HD Konsole und einem BACS 60 Probenwechsler
- ULTRASHIELD 400 MHz mit einer AVANCE-I Konsole und einem BACS 60 Probenwechsler
- ASCEND 400 MHz mit einer AVANCE-III Konsole und einem SAMPLEXPRESS Probenwechsler
- ULTRASHIELD 500 MHz mit einer AVANCE-III HD Konsole und einem SAMPLEXPRESS Probenwechsler
- ASCEND 600 MHz mit einer AVANCE NEO Konsole und einem SAMPLE CASE Probenwechsler

Die Messung der NMR-Spektren erfolgte, falls nicht anders erwähnt, bei Raumtemperatur. Die jeweils verwendeten deuterierten Lösungsmittel sind den Vorschriften zu entnehmen. Zur Kalibration der ¹H-Spektren diente das Restprotonensignal der deuterierten Lösungsmittel.^[105] Für ¹³C-Spektren diente das mit Deuterium gekuppelte ¹³C-Signal des deuterierten Lösungsmittels zur Kalibration.^[105] Die chemische Verschiebung (δ) wurde in *parts per million* (ppm) angegeben. Zur Beschreibung eines ¹H-Spektrums wurden die Kopplungs-konstanten (J) in Hz angegeben. Die jeweilige Signalform eines *Peaks* wurde anhand von Kürzeln klassifiziert: s (Singulett), bs (breites Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin oder pent (Pentett), hex (Hextett), hept (Heptett), okt (Oktett), m (Multiplet), sowie beliebige Kombination wie beispielsweise dd (Dublett von Dubletts). Zur Beschreibung eines ¹³C-Spektrums wurden die Kohlenstoffatome je nach Anzahl der am Kohlenstoff befindlichen ¹H-Atome in primär (p, 3 ¹H-Atome), sekundär (s, 2 ¹H-Atome), tertiär (t, 1 ¹H-Atom) und quartär (q, keine ¹H-Atome) unterteilt. Eine entsprechende Einteilung erfolgte nach Messung

¹⁰⁵ G. R. Fulmer, A. J.M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* **2010**, 29, 2176-2179.

eines phasensensitiven HSQC Spektrums. Die Auswertung der NMR-Spektren erfolgte anhand von BRUKER TOPSPIN (Vers. 3.2). Die Darstellung der Signale wurde im Fließtext vorgenommen. Bei sehr komplexen NMR-Spektren (Rotamere und Diastereoisomere) wurde teilweise eine tabellarische Darstellung gewählt. Hierin fett hervorgehobene Zuordnungen der Protonen-Signale sollen der allgemeinen Übersichtlichkeit dienen.

Infrarot-Spektroskopie (IR-Spektroskopie)

Infrarot-Spektren wurden mit dem FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROPHOTOMETER IRAFFINITY-1S der Firma SHIMADZU gemessen. Die Probenaufgabe erfolgte in Reinform.

Massenspektrometrie

Die Massen der Proben wurden entweder über ein LCT-PREMIER® oder QTOF-PREMIER® der Firma MICROMASS gemessen. Die Ionisation erfolgte jeweils über *ElectronSpray Ionisation* (ESI). Das QTOF-PREMIER® war darüber hinaus mit einer UPLC Anlage der Marke AQUITY UPLC® der Firma WATERS bestehend aus einem AQUITY® TUV DETEKTOR, einem AQUITY® COLUMN MANAGER, einem AQUITY® SAMPLE MANAGER und einem AQUITY® BINARY SOLVENT MANAGER ausgestattet. Die Auftrennung der Proben erfolgte über eine AQUITY UPLC® HSS T3 Säule (H₂O (0.1% FA)/ MeOH; Gradient: 5% MeOH {2.5 min}, 5-95% {4 min}, 95-5% {13.5 min}). Hiervon abweichende Gradienten werden im Zuge der Diskussion erwähnt oder sind den jeweiligen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden einfach gemessen und sind nicht korrigiert. Die in den jeweiligen Vorschriften erwähnten Daten wurden mittels eines digitalen OPTIMELT Schmelzpunkt-Messgerätes der Firma SRS – STANFORD RESEARCH SYSTEMS ermittelt, das über ein automatisiertes Schmelzpunkt System und über digitale Bildbearbeitungs-Technologie verfügt.

Drehwinkel

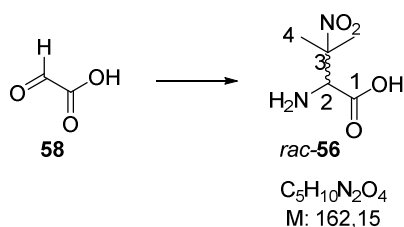
Die Messung des spezifischen Drehwinkels $[\alpha]$ erfolgte über ein 241-POLARIMETER der Firma PERKIN ELMER. Als Lichtquelle diente eine Natriumlampe. Der spezifische Drehwinkel $[\alpha]$ wird als $[\alpha] = [\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}] = [^\circ]$ angegeben. Die Massenkonzentration c wird als $[c] = [100 \cdot \text{g} \cdot \text{mL}^{-1}] = [10^{-1} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}]$ angegeben. Verwendete Lösungsmittel werden jeweils genannt.

Elementaranalyse

CNH- Elementaranalyse

CNH-Analysen wurden mit einem VARIO EL Gerät der Firma ELEMENTAR ANALYSENSYSTEME durchgeführt.

7.3 Zum Thema „Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin“ durchgeführte Synthesen

7.3.1 Fragment A**D,L-3-Nitrovalin (56)**

Kaliumhydroxid (14.1 g, 251 mmol, 2.20 Äquiv.) wurde in Wasser (280 mL) gelöst. Anschließend wurden 2-Nitropropan (19.9g, 223 mmol, 20,0 mL, 1.95 Äquiv.), Ammoniak (25% in H₂O, 0.93 mol, 150 mL, 8.54 Äquiv.) und eine Glyoxalsäure Monohydrat Lösung (10.5 g, 114 mmol, 1.00 Äq) in Wasser (40 mL) hinzugegeben. Es wurde für 2 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wurde mit konzentrierter Salzsäure auf pH = 0 angesäuert, wodurch eine Blaufärbung der Lösung auftrat. Es wurde mit CH₂Cl₂ gewaschen (3x), und die wässrige Lösung bis zur Trockene unter vermindertem Druck aufkonzentriert. Der Rückstand wurde in Ethanol aufgenommen, filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck auf circa die Hälfte aufkonzentriert, zu gleichen Teilen mit Diethylether gemischt, erneut filtriert und das Filtrat solange mit Anilin (10-30 mL) versetzt bis eine Trübung der Lösung auftrat. Die trübe Lösung wurde für 16 Stunden bei 2-8 °C gelagert. Anschließend wurde filtriert, der Feststoff mit wenig Ethanol gewaschen und für 16 Stunden unter Hochvakuum getrocknet. Das Produkt **56** (10 g, 61.8 mmol, 54%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

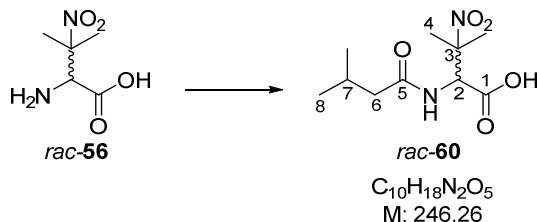
Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[106]

T_M: 142 °C; Dekomp. (Lit.^[106]: 143-144°C); **IR**: $\tilde{\nu}$ = 2975 (w), 2071 (w), 2021 (w), 1650 (m), 1592 (m), 1536 (s), 1490 (s), 1390 (s), 1376 (m), 1357 (m), 1343 (s), 1204 (w), 1140 (w), 1090 (m), 906 (w), 853 (m), 779 (w), 734 (w), 678 (w) cm⁻¹; **¹H-NMR** (400 MHz, D₂O, HDO = 4.79 ppm): δ = 4.35

¹⁰⁶ P. A. Coghlan, C. J. Easton, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 2659-2660.

(s, 1H, H-2), 1.81 (s, 3H, H-4a), 1.77 (s, 3H, H-4b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): $\delta = 170.2$ (q, C-1), 88.3 (q, C-3), 60.8 (t, C-2), 24.6 (p, C-4a), 23.5 (p, C-4b) ppm.

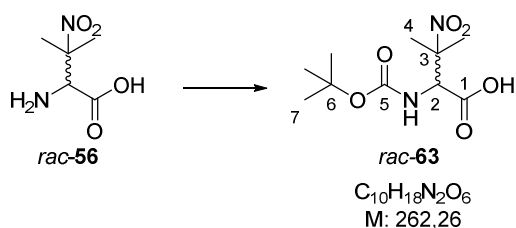
N-(3-Methylbutanoyl)-*D,L*-3-nitrovalin (**60**)



3-Nitrovalin (2.00 g, 12.2 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (12 mL) suspendiert und Et_3N (4.93 g, 6.80 mL, 48.7 mmol, 4.00 Äquiv.) hinzugegeben. Die gelbliche Lösung wurde auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt, Isovaleriansäureanhydrid (2.72 g, 14.6 mmol, 2.90 mL, 1.20 Äquiv.) 10 min lang hinzugegeben, die Reaktion über 2 h hinweg auf RT erwärmt und anschließend für 46 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Na_2CO_3 -Lösung (10%) beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 gewaschen (4x). Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit konzentrierter HCl-Lösung (37 %) auf pH = 0-1 gesenkt und mit EtOAc extrahiert (3x), die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **60** (2.92 g, 11.9 mmol, 97%) wurde als gelblicher Feststoff erhalten.

T_M: $166.7\text{ }^\circ\text{C}$; **IR**: $\tilde{\nu} = 3325$ (m), 2961 (w), 2874 (w), 1713 (m), 1616 (s), 1541 (s), 1462 (m), 1445 (m), 1429 (m), 1398 (m), 1371 (m), 1346 (m), 1319 (m), 1296 (m), 1256 (m), 1217 (s), 1161 (m), 1125 (m), 1115 (m), 1080 (w), 1020 (w), 993 (m), 868 (m), 839 (w), 766 (w), 733 (w), 702 (m), 687 (m), 611 (m), 557 (w), 486 (m), 417 (m) cm^{-1} ; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.36$ (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, NH), 5.26 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, H-2), 2.12-2.06 (m, 2H, H-6), 2.05-1.91 (m, 1H, H-7), 1.56 (s, 3H, H-4a), 1.50 (s, 3H, H-4b), 0.88 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-8a), 0.86 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-8b) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.0$ (q, C-1 od. C-5), 170.0 (q, C-1 od. C-5), 88.4 (q, C-3), 56.5 (t, C-2), 44.2 (s, C-6), 25.7 (t, C-7), 24.6 (p, C-4a), 22.2 (p, C-4b od. C-8a), 22.2 (p, C-4b od. C-8a), 21.5 (p, C-8b) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_5$ [$\text{M} - \text{H}^+$]: 245.1137, gefunden 245.1129.

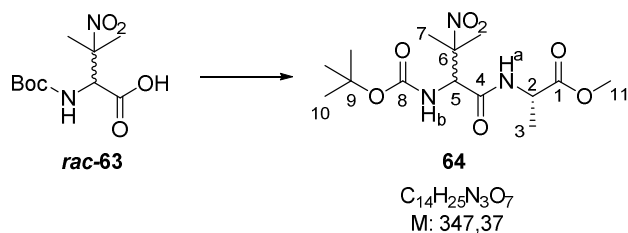
N-Boc-*D,L*-3-nitrovalin (**63**)



3-Nitrovalin (3.96 g, 24.4 mmol, 1.00 Äquiv.) und Et₃N (3,71 g, 5.10 mL, 36,7 mmol, 1.50 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (240 mL) bei RT gelöst. Anschließend wurde (Boc)₂O (5.87 g, 6.2 mL, 26.9 mmol, 1.1 Äq) hinzugegeben und für 16 h bei RT gerührt. (Dieselbe Prozedur wurde in einem analogen Ansatz mit 4.95 g (30.5 mmol) 3-Nitrovalin, 4.63 g Et₃N, 7.33 g (Boc)₂O wiederholt. Die Aufarbeitung erfolgte gemeinsam.) Die Reaktion wurde durch Zugabe von Na₂CO₃-Lösung (10%) beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O gewaschen (3x). Anschließend wurde der pH-Wert mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **63** (13.8 g, 52.7 mmol, 96%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

IR: $\tilde{\nu}$ = 3310 (w), 3248 (w), 3100 (w), 2978 (w), 1719 (s), 1649 (s), 1541 (s), 1477 (w), 1456 (m), 1398 (s), 1368 (m), 1346 (m), 1294 (w), 1263 (m), 1233 (m), 1157 (s), 1053 (m), 1030 (m), 1011 (w), 959 (w), 926 (w), 891 (w), 851 (m), 773 (m), 756 (w), 733 (w), 654 (m), 596 (w), 569 (w), 446 (m) cm⁻¹; **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 7.51 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, NH), 4.93 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, H-2), 1.54 (s, 3H, H-4a), 1.49 (s, 3H, H-4b), 1.40 (s, 9H, H-7) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 170.1 (q, C-1), 155.9 (q, C-5), 88.5 (q, C-3), 79.0 (q, C-6), 58.8 (t, C-2), 28.1 (3C, p, C-7), 24.7 (p, C-4a), 21.0 (p, C-4b) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₇N₂O₆ [M - H⁺]: 261.1087, gefunden 261.1084.

***N*-Boc-D,L-3-nitrovalyl-L-alaninmethylester (**64**)**

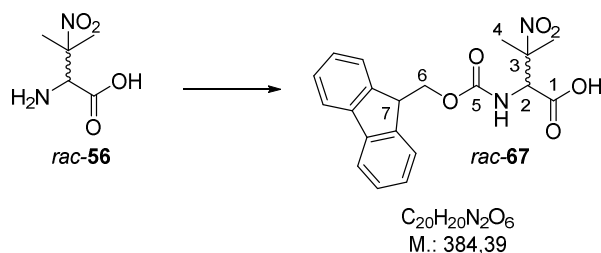


N-Boc-3-nitrovalin (0.50 mg, 1.91 mmol, 1.10 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (15 mL) gelöst und auf -15 °C gekühlt. Isobutylchloroformiat (240 mg, 0.22 mL, 1.73 mmol, 1.00 Äquiv.) und NMM (0.18 g, 0.19 mL, 1.91 mmol, 1.10 Äquiv.) wurden jeweils separat in wasserfreiem THF (7.5 mL) gelöst und über 10 min hinzuge tropft. Es wurde für 3 min gerührt und dann L-Alanin Methylester Hydrochlorid (0.27 g, 1.91 mmol, 1.10 Äquiv.) zusammen mit NMM (0.18 g, 1.91 mmol, 1.10 Äquiv.) in wasserfreiem DMF (15 mL) gelöst und über 10 min hinzuge tropft. Die Reaktion wurde über 2 h hinweg auf RT erwärmt und für 14 h weiter bei RT gerührt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Anschließend wurde filtriert und der Rückstand mit EtOAc gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc und Wasser aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer Zitronensäure-Lösung (10%), einer gesättigten

NaHCO₃-Lösung, einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt (0.58 g, 1.67 mmol, 87% {96% bez. auf IBCF}, *d.r.* = 1:1) wurde in Form eines farblosen Schaumes erhalten.

Verbindung wurde als Gemisch aus zwei Diastereoisomeren mit einem Verhältnis von ca. 1:1 erhalten. Das Gemisch wurde nicht aufgetrennt. Im Folgenden wird daher die Gesamtsumme aller Signale angegeben: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.76 (bs, 0.5H, NH_b), 6.71 (bs, 0.5H, NH_b), 5.68 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, NH_a), 4.82 (d, *J* = 9.6 Hz, 0.5H, H-5), 4.79 (d, *J* = 9.6 Hz, 0.5H, H-5), 4.54-4.45 (m, 1H, H-2), 3.73 (s, 1.5H, H-11), 3.72 (s, 1.5H, H-11), 1.73 (s, 1.5H, H-7a), 1.72 (s, 1.5H, H-7a), 1.61 (s, 1.5H, H-7b), 1.58 (s, 1.5H, H-7b), 1.46 (s, 4.5H, H-10), 1.45 (s, 4.5H, H-10), 1.39 (d, *J* = 6.8 Hz, 1.5H, H-3), 1.37 (d, *J* = 7.2 Hz, 1.5H, H-3) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = {172.7, 172.7} (q, C-1), {167.6, 167.4} (q, C-4), {155.9, 155.8} (q, C-8), {89.2, 89.1} (q, C-6), {81.3, 81.2} (q, C-9), {59.2, 59.1} (t, C-5), {52.7, 52.6} (p, C-11), {48.4, 48.4} (t, C-2), 28.3 (3C, p, C-10), {24.6, 24.2, 23.8, 23.5} (2C, p, C-7a u. C-7b), {18.2, 17.9} (p, C-3) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₂₅N₃O₇Na [M + Na⁺]: 370.1590, gefunden 370.1587.

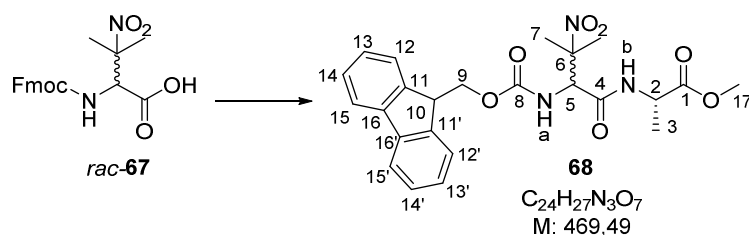
N-Fmoc-D,L-3-nitrovalin (**67**)



D,L-3-Nitrovalin **56** (6.28 g, 38.7 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in 1,4-Dioxan (175 mL) suspendiert und mit einem Eisbad gekühlt. Zu dem sich abkühlenden Gemisch wurde zügig eine Na₂CO₃ Lösung (10%, 350 mL) hinzugegeben. Fmoc-Cl (11.0 g, 42.6 mmol, 1.10 Äquiv.) gelöst in 1,4-Dioxan (175 mL) wurde über einen Tropftrichter bei 0 °C über 1 h hinweg hinzutropft. Die Reaktion wurde dann für 6 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden Wasser und Diethylether hinzugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether gewaschen (3x). Danach wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit halbkonzentrierter Salzsäure auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen werden mit einer ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **67** wurde zunächst als gelbliches Harz erhalten, das noch Lösungsmittelreste enthält. Durch Coevaporieren mit Toluol (4x), MeOH (3x) und CH₂Cl₂ (2-4x) wurde ein farbloser Feststoff (10.7 g, 27.8 mmol, 72%) erhalten.

T_M: 58-60 °C **IR**: $\tilde{\nu}$ = 3426 (w), 3038 (w), 3003 (w), 2967 (w), 2882 (w), 1736 (s), 1690 (s), 1547 (s), 1518 (s), 1477 (w), 1449 (m), 1402 (w), 1377 (w), 1346 (m), 1310 (m), 1298 (m), 1223 (s), 1099 (w), 1055 (s), 1016 (w), 989 (w), 939 (w), 864 (w), 797 (w), 760 (s), 741 (s), 729 (s), 679 (w), 650 (w), 621 (w), 584 (w), 540 (m), 511 (m), 426 (m) cm⁻¹; **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.11 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, NH), 7.89 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, ArH), 7.76-7.70 (m, 2H, ArH), 7.44-7.38 (m, 2H, ArH), 7.35-7.29 (m, 2H, ArH), 4.98 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, H-2), 4.40 (dd, *J* = 10.6, 7.2 Hz, 1H, H-6a), 4.33 (dd, *J* = 10.6, 7.2 Hz, 1H, H-6b), 4.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-7), 1.58 (s, 3H, H-4a), 1.50 (s, 3H, H-4b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 170.0 (q, C-1), 156.7 (q, C-5), 143.8 (q, Fmoc, ArC), 143.7 (q, Fmoc, ArC), 140.8 (q, Fmoc, ArC), 140.8 (q, Fmoc, ArC), 127.8 (t, Fmoc, ArC), 127.8 (t, Fmoc, ArC), 127.2 (t, Fmoc, ArC), 127.2 (t, Fmoc, ArC), 125.4 (t, Fmoc, ArC), 125.3 (t, Fmoc, ArC), 120.2 (t, Fmoc, ArC), 120.2 (t, Fmoc, ArC), 88.5 (q, C-3), 66.2 (s, C-6), 59.3 (t, C-2), 46.7 (t, C-7), 24.7 (p, C-4b), 21.2 (p, C-4a) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₀H₁₉N₂O₆ [M - H⁺]: 383.1243, gefunden 383.1240.

N-Fmoc-D,L-3-nitrovalyl-L-alaninmethylester (**68**)



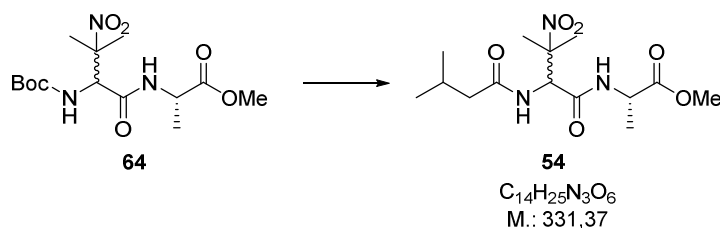
N-Fmoc-D,L-3-nitrovalin (10.2 g, 26.5 mmol, 1.50 Äquiv.), L-Alaninmethylester Hydrochlorid (2.47 g, 17.7 mmol, 1.00 Äquiv.), EDC•HCl (5.18 g, 27.0 mmol, 1.53 Äquiv.) und HOAt (3.67 g, 27.0 mmol, 1.53 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (270 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde NaHCO₃ (7.56 g, 90.0 mmol, 5.08 Äquiv.) hinzugegeben und für 18 h gerührt, wobei das Gemisch in einem Eisbad langsam auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂:MeOH, 100:0 -> 99:1) gereinigt. Das Produkt **68** (8.10 g, 17.3 mmol, 97%, *d.r.* = 1.25:1) wurde als farbloser Schaum erhalten.

Die Verbindung wurde als Gemisch aus zwei Diastereoisomeren mit einem Verhältnis von ca. 1.25:1 erhalten. Das Gemisch wurde nicht weiter getrennt. Im Folgenden die Signale der jeweiligen Diastereoisomere angegeben, wobei Major für das Hauptdiastereoisomer und Minor für das Nebendiastereoisomer steht. Major: **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.79-7.72 (m, 2H, H-12), 7.60-7.54 (m, 2H, H-15), 7.43-7.36 (m, 2H, H-14), 7.34-7.27 (m, 2H, H-13), 6.87 (bs, 1H, NH_a), 5.98 (s, 1H, NH_b), 4.98 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-5), 4.57-4.47 (m, 2H, H-2 u. H-9a), 4.47-4.34 (m, 1H, H-9b), 4.25-4.17 (m, 1H, H-10), 3.71 (s, 3H, H-17), 1.72 (s, 3H, H-7a), 1.59 (s, 3H, H-7b),

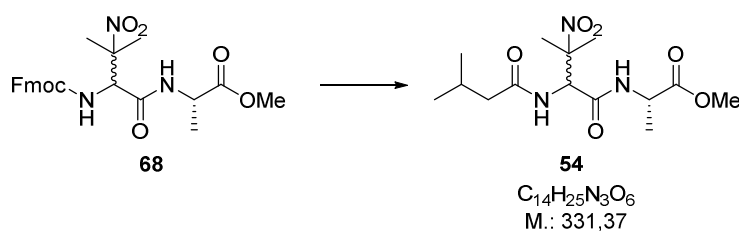
1.37 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H, H-3) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.6$ (q, C-1), 167.2 (q, C-4), 156.5 (q, C-8), 143.6 (q, C-11), 143.5 (q, C-11'), 141.5-141.4 (2x q, C-16 u. C-16'), 128.0 (t, C-14), 127.9 (t, C-14'), 127.3 (t, C-13 u. C-13'), 125.1 (t, C-15), 125.0 (t, C-15'), 120.2 (t, C-12), 120.1 (t, C-12'), 89.2 (q, C-6), 67.6 (s, C-9), 59.4 (t, C-5), 52.6 (p, C-17), 48.4 (t, C-2), 47.2 (t, C-10), 24.3-23.4 (2x p, C-7a u. C-7b), 17.8 (p, C-3) ppm; Minor: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.79$ -7.73 (m, 2H, H-12), 7.60-7.54 (m, 2H, H-15), 7.43-7.36 (m, 2H, H-14), 7.34-7.27 (m, 2H, H-13), 6.87 (s, 1H, NH_a), 6.01 (s, 1H, NH_b), 4.93 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H-5), 4.57-4.47 (m, 2H, H-2 u. H-9a), 4.47-4.34 (m, 1H, H-9b), 4.25-4.17 (m, 1H, H-10), 3.71 (s, 3H, H-17), 1.72 (s, 3H, H-7a), 1.55 (s, 3H, H-7b), 1.37 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H, H-3) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.7$ (q, C-1), 167.0 (q, C-4), 156.5 (q, C-8), 143.7 (q, C-11), 143.5 (q, C-11'), 141.5-141.4 (2x q, C-16 u. C-16'), 128.0 (t, C-14), 127.9 (t, C-14'), 127.2 (t, C-13 u. C-13'), 125.1 (t, C-15), 125.1 (t, C-15'), 120.2 (t, C-12), 120.1 (t, C-12'), 89.1 (q, C-6), 67.6 (t, C-9), 59.6 (t, C-5), 52.7 (p, C-17), 48.4 (t, C-2), 47.2 (t, H-10), 24.3 (p, C-7a), 23.4 (p, C-7b), 18.1 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 492.1747, gefunden 492.1750.

(3-Methylbutanoyl)-D,L-3-nitrovalyl-L-alaninmethylester (**54**)

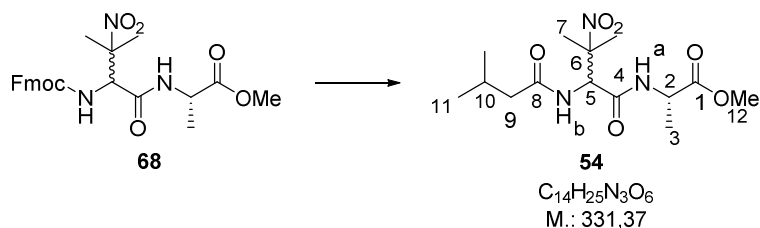
Variante A:



N-Boc-D,L-3-nitrovalyl-L-alaninmethylester (**64**) (200 mg, 0.58 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (5 mL) gelöst, mit TMSI (138 mg, 0.10 mL, 0.69 mmol, 1.20 Äquiv.) versetzt und für 10 min bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von MeOH (1 mL) beendet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (5 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit Et_3N (176 mg, 1.74 mmol, 0.24 mL, 3.00 Äquiv.) versetzt. Es wurde Isovaleriansäureanhydrid (162 mg, 0.87 mmol, 0.17 mL, 1.50 Äquiv.) über 10 min hinzuge tropft und die Reaktion für 18 h gerührt, während sie zusammen mit einem Trockeneisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurden eine Na_2CO_3 -Lösung (10%) und EtOAc hinzugefügt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (5x). Die vereinigten, organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstandes mittels Säulenchromatographie (CH_2Cl_2 :MeOH, 100:0 \rightarrow 99.5:0.5 \rightarrow 99:1) ergab das Produkt **54** (192 g, 0.58 mmol, quant. (ü2S), *d.r.* = 1:1) als farblosen Feststoff.

Variante B:


N-Fmoc-D,L-3-nitrovalyl-L-alaninmethylester (**68**) (3.54 g, 7.54 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (70 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Tris-(2-aminoethyl)amin (7 mL) versetzt. Die Reaktion wurde im Eisbad auf RT erwärmt und insgesamt für 5 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstandes mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N = 100:1:1) lieferte das Produkt als farbloses Öl. Dieses wurde erneut in wasserfreiem CH₂Cl₂ gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit Et₃N (3.81 g, 37,0 mmol, 5.20 mL, 5.00 Äquiv.) versetzt. Isovaleriansäureanhydrid (2.11 g, 11.3 mmol, 2.30 mL, 1.50 Äquiv.) wurde über 10 min hinzugegeben und das Gemisch anschließend für 18 h gerührt, wobei es in einem Trockeneisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von einer Na₂CO₃-Lösung (10%) beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstandes mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂:MeOH, 100:0 -> 99.5:0.5 -> 99:1) lieferte das Produkt als gelblichen Feststoff, der noch Reste von Isovaleriansäureanhydrid enthielt. Nach Evakuierung (0.5 mbar) für 72 h konnte das Produkt **54** (1.16 g, 3.50 mmol, 46 % (ü2S), *d.r.*=1:1) in ausreichender Reinheit erhalten werden.

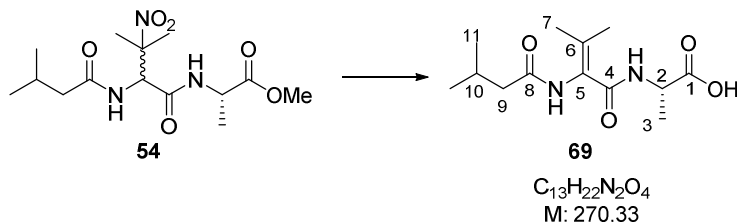
Variante C:


N-Fmoc-D,L-3-nitrovalyl-L-alaninmethylester (**68**) (1.78 g, 3.79 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in DMF (40 mL) gelöst. Me₂NH (40 % in H₂O, 3.16 mL, 6.60 Äquiv.) wurde hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 4 h bei RT gerührt. (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 96:4). Anschließend wurde zunächst das überschüssige Me₂NH (0.5 mbar, RT, Kühlfalle), dann das Lösungsmittel (5 mbar, 40 °C) unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (25 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit Et₃N (1.27 g, 12.5 mmol, 1.73 mL, 3.30 Äquiv.) versetzt. Es wurde Isovaleriansäureanhydrid (698 mg, 3.75 mmol, 0.75 mL, 0.99 Äquiv.) über 10 min hinzugegeben und die Reaktion für 18 h gerührt, während diese zusammen mit einem Eisbad auf RT erwärmt wurde.

Anschließend wurden eine Na₂CO₃-Lösung (10%) und EtOAc hinzugefügt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (5x). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstandes mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂:MeOH, 100:0 -> 99.5:0.5 -> 99:1) lieferte das Produkt **54** (680 mg, 2.06 mmol, 54% (ü2S), *d.r.* = 1:1) als gelblichen Feststoff.

Verbindung wurde als Gemisch aus zwei Diastereoisomeren mit einem Verhältnis von ca. 1:1 erhalten. Das Gemisch wurde nicht weiter getrennt. Im Folgenden wird daher die Gesamtsumme aller Signale angegeben: **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.35 (s, 0.5H, NH_a), 7.18 (s, 0.5H, NH_a), 6.84-6.81 (m, 1H, NH_b), 5.34-5.27 (m, 0.5H, H-5), 5.25-5.18 (m, 0.5H, H-5), 4.48 (p, *J* = 7.3 Hz, 0.5H, H-5), 4.47 (p, *J* = 7.2 Hz, 0.5H, H-5), 3.72 (s, 1.5H, H-12), 3.71 (s, 1.5H, H-12), 2.24-2.05 (m, 3H, H-9 u. H-10), 1.72 (s, 1.5H, H7a od. H7b), 1.70 (s, 1.5H, H7a od. H7b), 1.65 (s, 1.5H, H7a od. H7b), 1.59 (s, 1.5H, H7a od. H7b), 1.38 (d, *J* = 7.2 Hz, 1.5H, H-3), 1.38 (d, *J* = 7.2 Hz, 1.5H, H-3), 0.99-0.93 (m, 6H, H-12) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = {173.3, 173.1} (q, C-8), {172.6, 172.6} (q, C-1), {167.4, 167.3} (q, C-4), {88.5, 88.3} (q, C-6), {57.3, 57.2} (t, C-5), {52.7, 52.6} (p, C-12), {48.5, 48.4} (t, C-2), {45.9, 45.8} (s, C-9), {26.4, 26.3} (t, C-10), {24.4, 24.2, 23.8, 23.0} (p, C-7a/b), {22.5, 22.5, 22.5, 22.5} (p, C-11a/b), {18.0, 18.0} (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₂₅N₃O₆Na [M + Na⁺]: 354.1641, gefunden 354.1646.

(*N*-(3-Methylbutanoyl)-2,3-dehydrovalyl)-L-alanin (69**)**

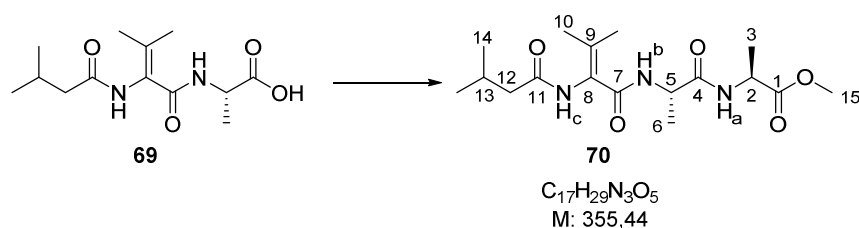


Nitroalkan **54** (300 mg, 0.91 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (6 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine Lithiumhydroxid-Lösung (1M, 6 mL, 6.60 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Gemisch anschließend für 14 h gerührt, wobei es zusammen mit einem Eisbad langsam auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde THF unter vermindertem Druck entfernt und der pH-Wert des Rückstandes mit 1M HCl auf pH = 0-1 gesenkt. EtOAc wurde hinzugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (6x). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt (210 mg, 0.78 mmol, 85%) wurde als gelblicher Schaum erhalten.

[α]_D^{23,0}: + 9.4° (c = 1.41, MeOH); **¹H-NMR** (400 MHz, CD₃OD; D₂CHOD = 3.31 ppm): δ = 4.44 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-2), 2.19-2.16 (m, 2H, H-9), 2.15-2.03 (m, 1H, H-10), 2.00 (s, 3H, H-7a), 1.77 (s, 3H, H-7b), 1.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-3), 1.01-0.96 (m, 6H, H-11a/b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD; CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 175.9 (q, C-1), 174.9 (q, C-8), 168.2 (q, C-4), 137.3 (q, C-5),

126.2 (q, C-6), 49.5 (t, C-2), 45.8 (s, C-9), 27.4 (t, C-10), 22.8 (p, C-11a), 22.8 (p, C-11b), 20.7 (p, C-7a), 20.6 (p, C-7b), 17.9 (p, C-3) ppm. **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{13}H_{22}N_2O_4Na$ [$M + Na^+$]: 293.1477, gefunden 293.1475.

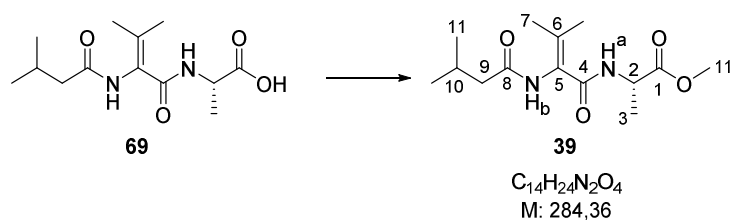
(*N*-(3-Methylbutanoyl)-2,3-dehydrovalyl)-L-alanyl-L-alaninmethylester (70)



Fragment A (**69**) (50,0 mg, 185 μ mol, 1.00 Äquiv.), L-Alaninmethylester Hydrochlorid (31,0 mg, 222 μ mol, 1.20 Äquiv.), HOAt (31,0 mg, 231 μ mol, 1.25 Äquiv.) und EDC•HCl, (44,0 mg, 231 μ mol, 1.25 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (2 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. DIPEA (119 mg, 0.93 mmol, 0.16 mL, 5.00 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion 20 h gerührt, wobei diese zusammen mit einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {15x150mm}; H_2O (0.1% FA)/ MeOH (0.1% FA); 10 mL/min; 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {5min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R : 23-31 min) gereinigt. Das Produkt **70** (64.0 mg, 180 μ mol, 97%, *d.r.* = 14:1) wurde als farbloses Harz erhalten.

$[\alpha]_D^{25.5}$: -59.1° ($c = 3.10$; CH_2Cl_2); **1H -NMR** (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 9.17$ (s, 1H, NH_c), 8.18 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, NH_a), 8.07 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, NH_b), 4.31 (quin, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-5), 4.20 (quin, $J = 7.1$ Hz, 1H, C-2), 3.59 (s, 3H, H-15), 2.08 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-12), 2.00 (okt, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-13), 1.83 (s, 3H, H-10a), 1.68 (s, 3H, H-11b), 1.27 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-3), 1.23 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-6), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H, H-14) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.8$ (q, C-1), 172.1 (q, C-4), 171.4 (q, C-4), 165.0 (q, C-11), 130.0 (q, C-8), 126.4 (q, C-9), 51.7 (p, C-15), 47.8 (t, C-2 od. C-5), 47.6 (t, C-2 od. C-5), 44.0 (s, C-12), 25.6 (t, C-13), 22.3 (p, C-14a), 22.2 (p, C-14b), 20.0 (p, C-14a), 20.0 (p, C-14b), 17.2 (p, C-3 od. C-6), 16.6 (p, C-3 od. C-6) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{13}H_{29}N_3O_5Na$ [$M + Na^+$]: 378.2005, gefunden 378.2004.

(*N*-(3-Methylbutanoyl)-2,3-dehydrovalyl)-L-alanyl-L-alaninmethylester (39)



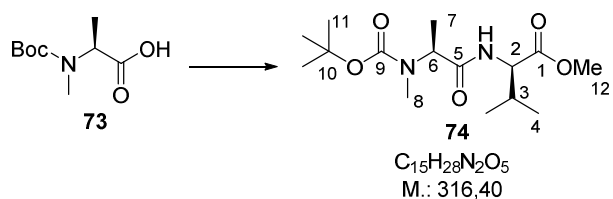
Fragment A (**69**) (14,0 mg, 52,0 μ mol, 1,00 Äquiv.), wurde in wasserfreiem Toluol/MeOH (2:1, 0,75 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Trimethylsilyldiazomethan (2M in Et₂O, 0,206 mmol, 0,10 mL, 4,00 Äquiv.) wurde hinzugegeben, die Reaktion auf RT erwärmt und für 4 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 99,8:0,2 -> 99,6:0,4 -> 99,2:0,8 -> 98,8:1,2 -> 98,2:1,8 -> 97,8:2,2) gereinigt. Das Produkt **39** (10,0 mg, 35,0 μ mol, 68%) wurde als farbloses Harz erhalten.

[α]_D²⁰: -2,9° (c = 1,0, CH₂Cl₂); {Lit.^[107]: -2,1° (c = 0,81, CH₂Cl₂)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7,26 ppm): δ = 7,17 (bs, 1H, NH_b), 6,97 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, NH_a), 4,58 (quin, *J* = 7,2 Hz, 1H, H-2), 3,73 (s, 3H, H-12), 2,18-2,12 (m, 3H, H-9 u. H-10), 1,98 (s, 3H, H-7a), 1,73 (s, 3H, H-7b), 1,42 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H, H-3), 1,02-0,95 (m, 6H, H-11) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[107]

7.3.2 Fragment B

(*N*-Boc-*N*-methyl-L-alanyl)-D-valinmethylester (74)



N-Boc-*N*-methyl-L-alanin **73** (3,50 g, 17,2 mmol, 1,00 Äquiv.), D-Valinmethylester Hydrochlorid (3,13 g, 18,7 mmol, 1,10 Äquiv.), HOBT (3,45 g, 25,5 mmol, 1,50 Äquiv.) und EDC•HCl (4,07 g, 21,2 mmol, 1,25 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (170 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. DIPEA (3,30 g, 25,5 mmol, 4,40 mL, 1,50 Äquiv.) wurde über 10 min hinweg hinzutropft und die Reaktion anschließend für 16 h gerührt, wobei diese zusammen mit einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 99:1 -> 98:2) gereinigt. Das Produkt **74**

¹⁰⁷ F. Gille, Dissertation, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2015.

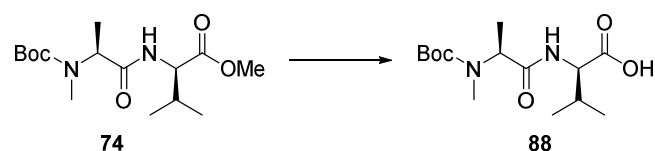
(4.46 g, 14.1 mmol, 82%) wurde als farbloses Öl erhalten, das während der Lagerung bei -16 °C zu einem Feststoff erstarrte.^[108]

$[\alpha]_D^{23}$: -89.3° (c = 1.34, CH₂Cl₂) {Lit.^[107]: -88.3° (c = 1.06, CH₂Cl₂)}; T_M : 30-32°C (Lit.^[107]: Öl);
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.71-6.41 (bs, 1H, NH), 4.81-4.68 (bs, 1H, H-6), 4.48 (s, 1H, H-2), 3.71 (s, 3H, H-12), 2.78 (s, 3H, H-8), 2.18 (dhept, J = 6.8, 5.4 Hz, 1H, H-3), 1.49 (s, 9H, H-11), 1.34 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-7), 0.93 (d, J = 7.2 Hz, 3H, H-4a), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-4b) ppm;

Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[107]

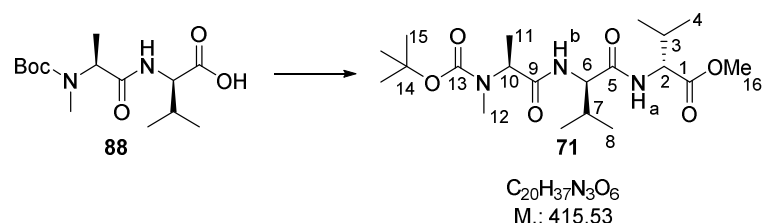
(N-Boc-N-methyl-L-alanyl)-D-valyl-D-valinmethylester (71)

Verseifung:



Ester **74** (2.79 g, 8.82 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde bei RT in THF (88.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde eine LiOH-Lösung (1M in H₂O, 88.0 mmol, 88.0 mL, 10.0 Äquiv.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch anschließend für 16 h gerührt, wobei diese in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O und Et₂O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O gewaschen (2x). Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene farblose Öl (2.65 g, 8.76 mmol, 99%) wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Peptidkupplung:



Säure **88** (2.65 g, 8.76 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde zusammen mit D-Valinmethylester Hydrochlorid (1.61 g, 9.64 mmol, 1.10 Äquiv.), HOBt (1.78 g, 13.2 mmol, 1.50 Äquiv.) und EDC·HCl (2.10 g,

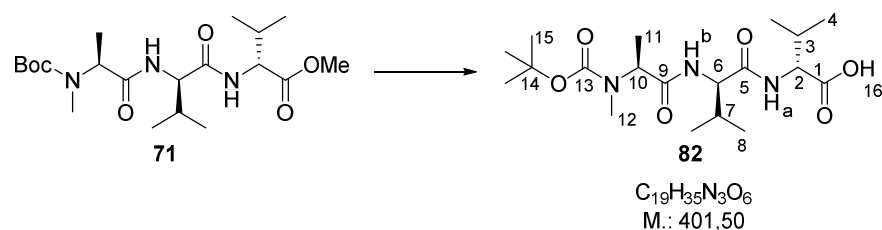
¹⁰⁸ Verbindung wurde freundlicher Weise von S. Fayad, und T. Seeberg im Zuge von Laborpraktika bereitgestellt.

11.0 mmol, 1.25 Äquiv.) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (163 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. DIPEA (1.70 g, 13.2 mmol, 2.30 mL, 1.50 Äquiv.) wurde über 10 min hinzutropft und die Reaktion anschließend für 16 h gerührt, wobei diese in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Das Lösungsmittel wurde daraufhin unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 98:2 -> 96:4) gereinigt. Das Produkt **71** (3.64 g, 8.76 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten.^[109]

[α]_D^{27.0}: -36.6° (c = 3.13; CH₂Cl₂) {Lit.^[107]: -31.1° (c = 1.01, CH₂Cl₂)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.70 (bs, 1H, NH_b), 6.33 (bs, 1H, NH_a), 4.77 (bs, 1H, H-10), 4.52 (dd, *J* = 8.6, 4.6 Hz, 1H, H-6), 4.22 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-2), 3.73 (s, 3H, H-16), 2.78 (s, 3H, H-12), 2.21-2.10 (m, 2H, H-3 u. H-7), 1.47 (s, 9H, H-15), 0.97 (m, 12H, H-7 u. H-8) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[107]

(*N*-Boc-*N*-methyl-*L*-alanyl)-*D*-valyl-*D*-valin (82**)**



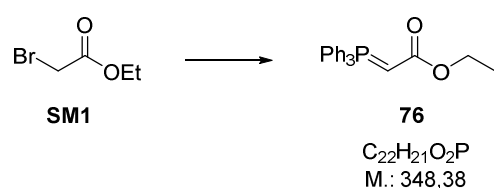
Methylester **71** (5.30 g, 12.8 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (128 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiOH (1M in H₂O, 128 mL, 128 mmol, 10.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Nach DC-Kontrolle (CH₂Cl₂/MeOH, 96:4) wurden H₂O und Et₂O hinzugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O (2x) gewaschen. Der pH-Wert der wässrigen Phase wurde anschließend mit 1M KHSO₄-Lösung auf pH = 1-2 gesenkt, mit EtOAc extrahiert (3x), die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt (4.51 g, 11.2 mmol, 88%) wurde als farbloser Schaum erhalten und ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

[α]_D^{22.3}: +1.7° (c = 13.3; MeOH); NMR-Messung bei 365 K: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 12.15 (bs, 1H, COOH), 7.68 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH_a od. NH_b), 7.16 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, NH_a od. NH_b), 4.56 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-10), 4.31 (dd, *J* = 8.6, 6.7 Hz, 1H, H-2 od. H-6), 4.16 (dd, *J* = 8.2, 5.9 Hz, 1H, H-2 od. H-6), 2.75 (s, 3H, H-12), 2.07 (okt, *J* = 6.6 Hz, 1H, H-3 od. H-7), 2.04 (okt, *J* = 6.6 Hz, 1H, H-3 od. H-7), 1.41 (s, 9H, H-15), 1.28 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-11), 0.92 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-4 od. H-8), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, H-4 od. H-8), 0.90 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, H-4 od. H-8),

¹⁰⁹ Verbindung wurde freundlicher Weise von S. Fayad, T. Seeberg, S. Peil im Zuge von Laborpraktika bereitgestellt.

0.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-4 od. H-8) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.8$ (q, C-1 od. C-5 od. C-9), 170.7 (q, C-1 od. C-5 od. C-9), 170.5 (q, C-1 od. C-5 od. C-9), 154.7 (q, C-13), 78.7 (q, C-14), 56.9 (2x t, C-2 od. C-5 od. C-9), 53.6 (t, C-2 od. C-5 od. C-9), 30.2 (p od. t, C-12 od. C-3 od. C-6), 29.5 (p od. t, C-12 od. C-3 od. C-6), 29.3 (p od. t, C-12 od. C-3 od. C-6), 27.6 (p, C-15), 18.6 (p, C-4 od. C-8), 18.5 (p, C-4 od. C-8), 17.6 (p, C-4 od. C-8), 17.3 (p, C-4 od. C-8), 14.3 (p, C-11) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 424.2424, gefunden 424.2425.

(Carbathoxymethylen)triphenylphosphoran (**76**)



(Carbathoxymethylen)triphenylphosphoran wurde nach einer veränderten Vorschrift von MATHEY dargestellt^[110]: Triphenylphosphin (75.3 g, 287 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem Toluol (300 mL) gelöst und Ethylbromacetat **SM1** (47.9 g, 287 mmol, 31.8 mL, 1.00 Äquiv.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 3.5 h unter Rückfluss erhitzt, dann auf 60 °C abgekühlt und für weitere 16 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde auf RT abgekühlt, filtriert und das Phosphonium-Salz mit PE und EtOAc gewaschen. Der Feststoff wurde daraufhin in CH_2Cl_2 gelöst in einen Scheidetrichter überführt und eine wässrige Phenolphthalein-Lösung (Spatelspitze Phenolphthalein in wenigen mL 2M NaOH) hinzugegeben. Anschließend wurde eine 2M NaOH-Lösung zugegeben, bis eine dauerhafte Färbung des pH-Indikators eintrat. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 extrahiert (2x), die vereinigten organischen Phasen mit H_2O gewaschen (1x), über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **76** (99.3 g, 285 mmol, 99 %) wurde als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

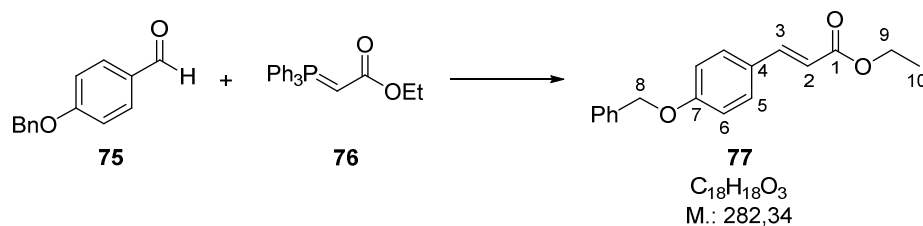
T_M: 126-127 °C (Lit. T_M: 128-130 °C^[111]); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.69$ -7.57 (m, 6H, Ph), 7.54-7.46 (m, 3H, Ph), 7.45-7.36 (m, 6H, Ph), {4.00 Major, 3.87 Minor} (bs, 2H, CH_2), {2.92 Major, 2.75 Minor} (bs, 1H, CH), {1.20 Major, 0.68 Minor} (bs, 3H, CH_3) ppm.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[110,111]

¹¹⁰ Y. Mao, F. Mathey, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1162-1163.

¹¹¹ J. Wu, D. Zhang, S. Wie, *Synthetic Commun.* **2005**, *35*, 1213-1222.

(E)-3-(4-(Benzyloxy)phenyl)acrylsäureethylester (77)

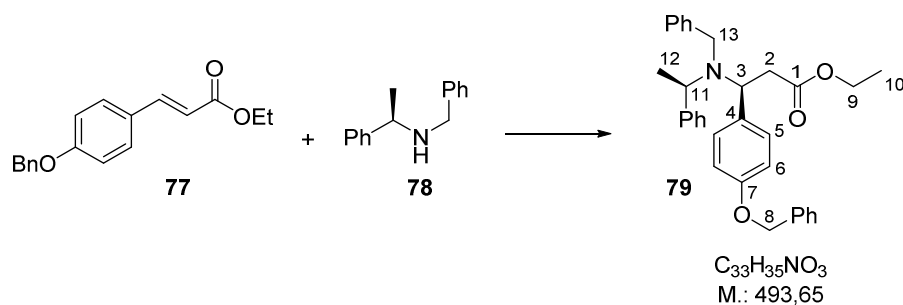


4-Benzyloxybenzaldehyd (**75**, 34.3 g, 162 mmol, 1.00 Äquiv.) und WITTIG-Reagenz **76** (100 g, 287 mmol, 1.77 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 gelöst und für 24 h bei RT gerührt. Anschließend wurde Kieselgel hinzugefügt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 10:1) gereinigt, um Ester **77** (45.7g, 162 mmol, quant., *E/Z* > 20:1) als farblosen Feststoff zu erhalten.

T_M : 62-67 °C (Lit.^[112]: 65-67 °C); 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.65$ (d, *J* = 15.9 Hz, 1H, H-3), 7.50-7.32 (m, 7H, H-5 u. Ph-H), 7.01-6.95 (m, 2H, H-6), 6.32 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H, H-2), 5.10 (s, 2H, H-8), 4.26 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, H-9), 1.34 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-10) ppm.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[112]

N-Benzyl-N-(1R-1-phenylethyl)-O-benzyl-(3S)- β -tyrosinethylester (79)



(*R*)-(+)-*N*-(1-Phenylethyl)benzylamin (**78**) (25.0 g, 24.8 mL, 118 mmol, 1.60 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (120 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und *n*-BuLi (2.5M, 47.2 mL, 118 mmol, 1.60 Äquiv.) über 20 min hinzugetropft. Das Gemisch wurde für weitere 30 min bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde Ester **77** (20.8 g, 73.8 mmol, 1.00 Äquiv.) in wasserfreiem THF (120 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt über eine Transferkanüle hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 4 h bei -78 °C gerührt und anschließend durch Zugabe einer ges. NH_4Cl -Lösung bei -78 °C beendet. Das Gemisch wurde langsam auf RT erwärmt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer Zitronensäure-Lösung (10%, 3x) und mit

¹¹² S. H. Krishna Reddy, S. Lee, A. Datta, G. I. Georg, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 8211-8214.

gesättigten NaHCO₃-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 10:1 -> 7:1 -> 6:1) gereinigt. Das Produkt **79** (18.0 g, 36.4 mmol, 49%, *d.r.* > 10:1) wurde als gelbes Öl erhalten, das noch einige Verunreinigungen enthielt. Eine analysenreine Probe wurde mittels RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x150mm}; H₂O (0.1% FA)/ MeOH (0.1% FA); 10mL/min, 1min/Fr; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {40 min}, 100% MeOH {15 min}; t_R: 45-49 min) erhalten.^[113]

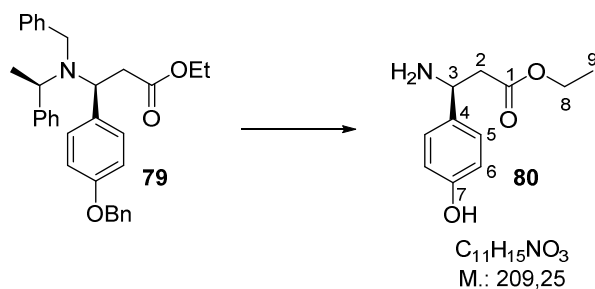
[α]_D^{22.0}: -5.7° (c = 1.80; CH₂Cl₂) {Lit.^[107]: -5.3° (c = 1.39; CH₂Cl₂)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.48-7.18 (m, 17H, 3xPh u. H-5), 7.01-6.95 (m, 2H, H-6), 5.08 (s, 2H, H-8), 4.43 (dd, *J* = 9.5, 5.4 Hz, 1H, H-3), 4.04 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-11), 3.97 (dq, *J* = 11.1, 7.1 Hz, 1H, H-9a), 3.93 (dq, *J* = 10.9, 7.0 Hz, 1H, H-9b), 3.75 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H, H-13a), 3.70 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H, H-13b), 2.68 (dd, *J* = 14.7, 5.4 Hz, 1H, H-2a), 2.56 (dd, *J* = 14.6, 9.6 Hz, 1H, H-2b), 1.27 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-12), 1.07 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, H-10) ppm.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[107]

Die Verbindung wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

(3*S*)-*N*-Boc-β-tyrosinethylester (**81**)

Hydrierung:



Tertiäres Amin **79** (12.3 g, 24.9 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in Methanol (110 mL) und Toluol (30 mL) gelöst, mit H₂O (11 mL) und Essigsäure (2.8 mL) versetzt und mit einer Argon-Atmosphäre versehen. Pd(OH)₂ (20% auf Aktivkohle, 50% H₂O, 2.81 g, 2.00 mmol, 0.08 Äquiv.) wurde vorsichtig hinzugegeben, das Reaktionsgefäß mehrfach mit Wasserstoff gespült und die Reaktion mit einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar) ausgestattet. Die Reaktion wurde für 3 Tage bei RT gerührt. Anschließend wurde über Kieselgur filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Toluol coevaporiert (1x), in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert (3x) und die

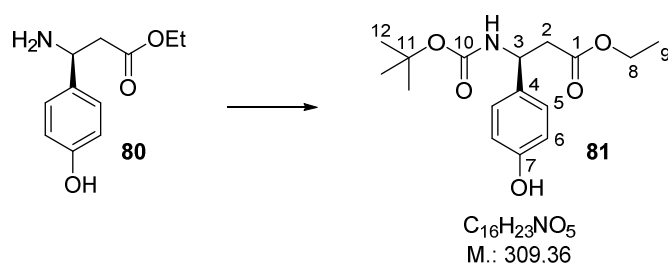
¹¹³ Die Verbindung wurde freundlicher Weise von S. Fayad im Zuge eines Laborpraktikums bereitgestellt

vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie ($\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$, 9:1 + 1% Et_3N) gereinigt, um das primäre Amin **80** (5.03 g, 24.1 mmol, 97 %) als farbloses Öl zu erhalten, das noch Reste von Et_3N enthielt.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.18\text{-}7.11$ (m, 2H, H-5), 6.72-6.66 (m, 2H, H-6), 4.34 (dd, $J = 8.9, 5.1$ Hz, 1H, H-3), 4.12 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-8), 3.64 (bs, 2H, NH_2), 2.71 (dd, $J = 16.2, 8.7$ Hz, 1H, H-2a), 2.65 (dd, $J = 16.0, 4.8$ Hz, 1H, H-2b), 1.22 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-9) ppm.

Das Gemisch wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Boc-Schützung:



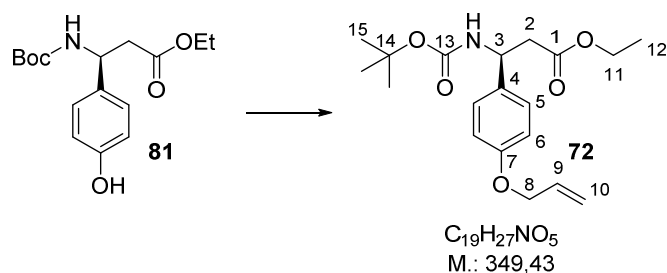
Eine HCl -Lösung (37%, H_2O , 1.45 mL, 17.5 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem MeOH (18 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wurde zunächst Et_3N (5.32 g, 7.29 mL, 17.5 mmol, 3.00 Äquiv.), dann primäres Amin **80** (3.67 g, 17.5 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in MeOH (5 mL) und zuletzt Boc_2O (4.21 g, 19.3 mmol, 1.10 Äquiv.) gelöst in MeOH (5 mL) hinzugegeben und die Reaktion 16 h gerührt, wobei das Gemisch in einem Eisbad langsam auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 \rightarrow 97:3) gereinigt. Das Produkt **81** (4.52 g, 14.6 mmol, 83%) wurde als gelbliches Harz erhalten und lag als Gemisch^[114] aus Methyl- und Ethylester (2:1) vor.

$[\alpha]_{\text{D}}^{24.2}$: -42.7° ($c = 0.85$; CH_2Cl_2) {Lit.^[107]: -36° ($c = 1.23$; CH_2Cl_2)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.10\text{-}7.03$ (m, 2H, H-5), 6.69-6.63 (m, 2H, H-6), 5.51 (bs, 1H, NH), 5.00 (bs, 1H, H-3), 4.06 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-8), 2.88-2.68 (m, 2H, H-2), 1.43 (s, 9H, H-12), 1.17 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-9) ppm. {OH-Gruppe im Spektrum nicht sichtbar.}

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[107]

Verbindung wurde ohne weitere Reinigung direkt weiterverwendet.

¹¹⁴ Umesterung ist im Regelfall zu beobachten. In einigen Fällen tritt diese nicht auf und es wird dementsprechend der reine Ethylester erhalten.

(3S)-N-Boc-O-allyl-β-tyrosinethylester (72)


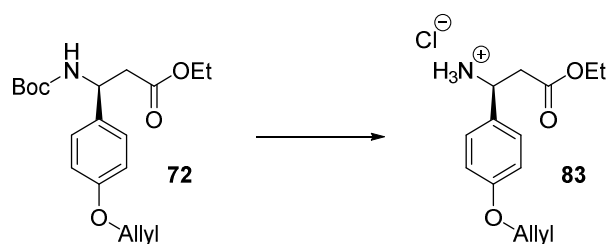
Phenol **81** (4.52 g, 14.6 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde bei RT in wasserfreiem Aceton (160 mL) gelöst und K_2CO_3 (4.58 g, 33.2 mmol, 2.27 Äquiv.), frisch destilliertes Allylbromid (2.41 g, 1.72 mL, 19.9 mmol, 1.36 Äquiv.) und TBAI (614 mg, 1.66 mmol, 0.11 Äquiv.) hinzugefügt. Das Gemisch wurde anschließend für 24 h bei 50 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde mit 1M $KHSO_4$ -Lsg, H_2O und EtOAc verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (2x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer ges. $NaHCO_3$ -Lösung und einer ges. $NaCl$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($CH_2Cl_2/MeOH$, 100:0 -> 97:3) lieferte das Produkt **72** (4.57 g, 13.6 mmol, 93%) als farblosen Feststoff.

T_M : 44-46 °C; $[\alpha]_D^{29}$: -38.0° (c = 1.23, CH_2Cl_2) {Lit.^[107]: -30.6° (c = 0.97; CH_2Cl_2)}; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 7.23-7.18 (m, 2H, H-5), 6.89-6.84 (m, 2H, H-6), 6.04 (ddt, J = 17.3, 10.6, 5.3 Hz, 1H, H-9), 5.39 (ddd, J = 17.2, 3.2, 1.7 Hz, 1H, H-10a), 5.36 (bs, 1H, NH), 5.27 (ddd, J = 10.5, 2.8, 1.4 Hz, 1H, H-10b), 5.04 (bs, 1H, H-3), 4.51 (dt, J = 5.3, 1.5 Hz, 2H, H-8), 4.06 (q, J = 7.1 Hz, 2H, H-11), 2.84 (dd, J = 14.9, 6.3 Hz, 1H, H-2a), 2.76 (dd, J = 15.2, 6.3 Hz, 1H, H-2b), 1.42 (s, 9H, H-15), 1.17 (t, J = 7.1 Hz, 3H, H-12) ppm.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[107]

(N-Boc-D-valyl)-O-allyl-β-(S)-tyrosinethylester (84)

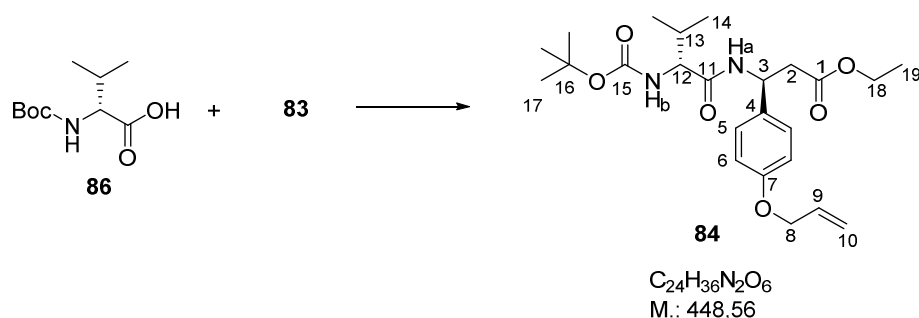
Boc-Entschützung:



β -Tyrosin Derivat **72** (367 mg, 1.05 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem 1,4-Dioxan (5 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. HCl -Lösung (4N in 1,4-Dioxan, 21.0 mmol, 5.25 mL, 20.0 Äquiv.) wurde

hinzugetropft, das Gemisch wurde auf RT erwärmt und für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt (RT, 0.5 mbar) und der Rückstand mit Toluol coevaporiert (2x). Das Produkt **83** wurde als farbloses Harz erhalten und direkt weiterverwendet.

Peptid-Kupplung:



Boc-D-val-OH (**86**, 300 mg, 1.37 mmol, 1.30 Äquiv.), Oxyma (300 mg, 2.10 mmol, 2.00 Äquiv.) und EDC•HCl (380 mg, 1.71 mmol, 1.63 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde DIPEA (480 mg, 3.68 mmol, 0.64 mL, 3.50 Äquiv.) hinzugetropft und das Gemisch für weitere 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde Hydrochlorid **83** (300 mg, 1.05 mmol, 1.00 Äquiv) gelöst in CH_2Cl_2 (4 mL) über 10 min hinzugetropft. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurden eine halbgesättigte NaCl-Lösung und EtOAc hinzugegeben, die Phasen getrennt und die organische Phase mit halb-ges. NaCl-Lösung gewaschen (3x). Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 -> 99.75:0.25 -> 99.5:0.5 -> 99:1) lieferte das Produkt **84** (439 mg, 0.98 mmol, 93%, ü2S) als gelblichen Schaum.

$[\alpha]_D^{24.7}$: -16.9° (c = 1.36; CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; CHCl_3 = 7.26 ppm): δ = 7.21-7.16 (m, 2H, H-5), 6.96 (d, J = 8.2 Hz, 1H, NH_a), 6.87-6.81 (m, 2H, H-6), 6.02 (ddt, J = 17.3, 10.6, 5.3 Hz, 1H, H-9), 5.38 (ddd, J = 17.3, 2.8, 1.3 Hz, 1H, H-10a), 5.35 (dt, J = 7.9, 6.3 Hz, 1H, H-3), 5.26 (ddd, J = 10.5 Hz, 2.4, 1.0 Hz, 1H, H-10b), 5.05 (d, J = 6.4 Hz, 1H, NH_b), 4.49 (dt, J = 5.1, 1.3 Hz, 2H, H-8), 4.07 (dq, J = 11.7, 6.9 Hz, 1H, H-18a), 4.04 (dq, J = 11.8, 6.8 Hz, 1H, H-18b), 3.89 (dd, J = 8.2, 6.3 Hz, 1H, H-12), 2.87 (dd, J = 15.6, 6.1 Hz, 1H, H-2a), 2.76 (dd, J = 15.5, 6.1 Hz, 1H, H-2b), 2.13 (okt, J = 6.6 Hz, 1H, H-13), 1.42 (s, 9H, H-17), 1.17 (t, J = 7.0 Hz, 3H, H-19), 0.95 (d, J = 7.0 Hz, 3H, H-14a), 0.90 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-14b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 77.16 ppm): δ = 171.1 (q, C-1), 170.9 (q, C-11), 158.1 (q, C-7), 156.0 (q, C-15), 133.3 (t, C-9), 132.7 (q, C-4), 127.6 (2 x t, C-5), 117.8 (s, C-10), 115.0 (2 x t, C-6), 80.0 (q, C-16), 68.9 (s, C-8), 60.9 (s, C-18), 60.3 (t, C-12), 49.3 (t, C-3), 40.4 (s, C-2), 30.8 (t, C-13), 28.4 (3 x p, C-17), 19.4 (p, C-14a), 17.9 (p, C-14b), 14.2 (p, C-19) ppm; {Das Produkt erfährt bei der Chromatographie eine teilweise

Umesterung zum jeweiligen Methylester. Entsprechende ^1H -Signale können daher zu geringem Anteil bei 3.61 ppm (OMe) bzw. entsprechende ^{13}C -Signale bei 171.5(COOMe) und 51.9 ppm (COOMe) beobachtet werden.) HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 471.2468, gefunden 471.2469.

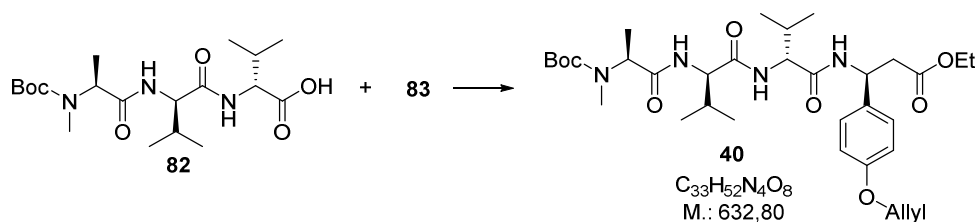
(N-Boc-N-methyl-L-alanyl)-D-valyl-D-valyl-(S)- β -tyrosinethylester (40)

Variante A: Boc-Entschützung:



β -Tyrosin Derivat **72** (1.00 g, 2.98 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (30 mL) gelöst und auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. TFA (17.0 g, 11.5 mL, 149 mmol, 50.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Gemisch für 4 h bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H_2O beendet und der pH-Wert durch Zugabe von Na_2CO_3 auf pH = 10 erhöht. EtOAc wurde hinzugefügt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (5x). Anschließend wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde direkt weiterverwendet.

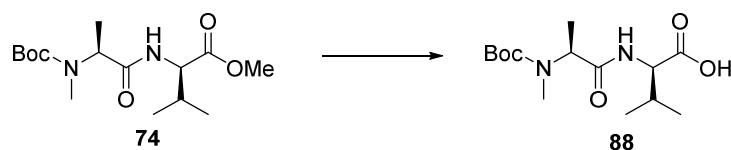
Peptidkupplung:



Säure **82** (1.44 g, 3.58 mmol, 1.20 Äquiv.), PyAOP (1.87 g, 3.58 mmol, 1.20 Äquiv.) und HOAt (490 mg, 3.58 mmol, 1.20 Äquiv.) wurden in wasserfreiem DMF (40 mL) gelöst und auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurden zunächst DIPEA (1.93 g, 2.60 mL, 14.9 mmol, 5.00 Äquiv.) und darauffolgend Hydrochlorid **83** gelöst in wasserfreiem DMF (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktion wurde für insgesamt 20 h gerührt, während das Gemisch langsam in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in einer gesättigten NH_4Cl -Lösung und EtOAc aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (4x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 1M HCl-Lösung (3x), einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das

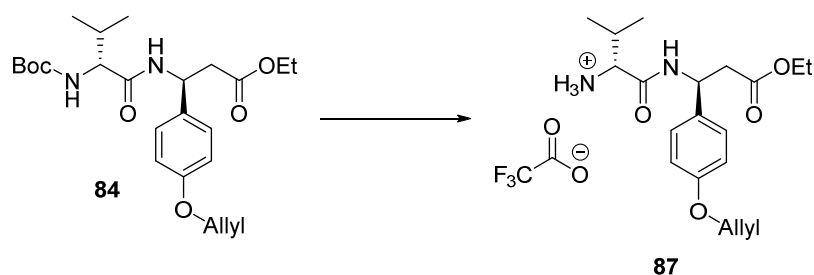
Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in MeOH aufgenommen und auf das zehnfache Volumen mit H₂O verdünnt. Anschließend wurde filtriert und der Feststoff mit H₂O gewaschen. Das Produkt **40** (1.55 g, 2.45 mmol, 82%, *d.r.*=1:1) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Das Diastereomerenverhältnis wurde über eine UPLC-TOF-Messung ermittelt (UPLC-C18: H₂O (0.1% FA)/MeCN (0.1% FA); Gradient: 10-90% MeCN {10 min}, 90% MeCN {2 min}, *t*_{R,1}: 7.24, *t*_{R,2}: 7.48 min).

Variante B: Verseifung:



Ester **74** (452 mg, 1.43 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde bei RT in THF (14.3 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde eine LiOH-Lösung (1 M in H₂O, 14.3 mmol, 14.3 mL, 10.0 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion anschließend für 20 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O und Et₂O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O gewaschen (2x). Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das so erhaltene farblose Öl (430 mg, 1.43 mmol, quant.) wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

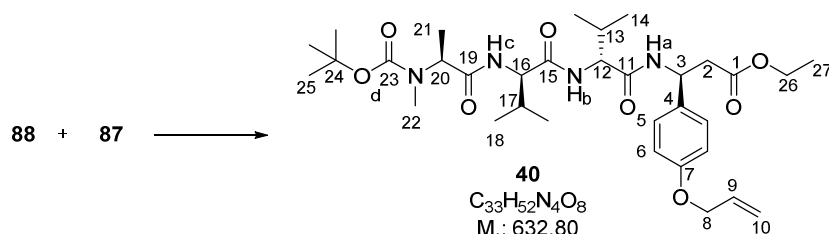
Boc-Entschützung:



Carbamat **84** (581 mg, 1.30 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in CH₂Cl₂ (13 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. TFA (7.38 g, 4.99 mL, 64.8 mmol, 50.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 2 h bei 0 °C gerührt. Nach Abschluss der Reaktion (DC-Kontrolle CH₂Cl₂/MeOH, 94:6) wurde das Lösungsmittel

unter vermindertem Druck (RT, 0.5 mbar) entfernt und der Rückstand mit MeOH (2x, RT, 0.5 mbar) und CH₂Cl₂ (1x, 40°C) coevaporiert. Das so erhaltene Harz **87** wurde direkt weiterverwendet.

Peptidkupplung:



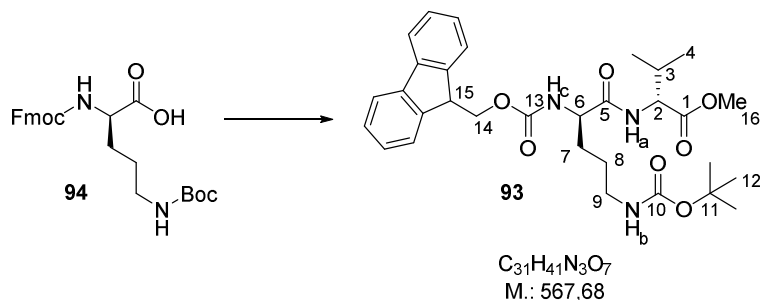
Säure **88** (1.43 mmol, 1.10 Äquiv.) und Amin-Salz **87** (1.30 mmol, 1.00 Äquiv.) wurden in CH₂Cl₂ (15 mL) gelöst und HOBt (336 mg, 2.14 mmol, 1.65 Äquiv.) hinzugegeben. Das Gemisch wurde auf 0 °C gekühlt und EDC•HCl (343 mg, 1.79 mmol, 1.38 Äquiv.) und DIPEA (277 mg, 0.36 mL, 2.14 mmol, 1.65 Äquiv.) hinzugegeben. Es wurde für 20 h gerührt, wobei das Gemisch im Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (BÜCHI: NP-Säule {40x150mm}; CH₂Cl₂/MeOH; 80 mL/min; 0.5 min/Fr.; Gradient: 1.5-2.0% MeOH {10 min}, 2.0-3.0% MeOH {5 min}; t_R = 4-10.5 min) lieferte das Produkt **40** (743 mg, 1.17 mmol, 90%, *d.r.* > 10:1) als farblosen Schaum.

[α]_D^{25.7}: -28.1° (c = 1.03; CH₂Cl₂); NMR-Messung bei RT (Verhältnis der Rotamere (major:minor)=1.5:1, Rotamere weisen bis auf wenige Ausnahmen, welche gekennzeichnet sind, denselben Signalsatz auf und wurden daher zusammengefasst): ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 2.50 ppm): δ = 8.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH_d), 7.95 (bs, 1H, NH_b, major), 7.84 (bs, 1H, NH_b, minor), 7.58 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, NH_c), 7.23-7.18 (m, 2H, H-5), 6.87-6.82 (m, 2H, H-6), 6.01 (ddt, *J* = 17.2, 10.5, 5.2 Hz, 1H, H-9), 5.36 (dt, *J* = 17.2, 1.7 Hz, 1H, H-10a), 5.23 (dt, *J* = 10.5, 1.5 Hz, 1H, H-10b), 5.18 (q, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-3), 4.64 (bs, 1H, H-20, minor), 4.52 (dt, *J* = 5.1, 1.6 Hz, 2H, H-8), 4.41 (bs, 1H, H-20, major), 4.28-4.15 (m, 1H, H-16), 4.09 (dd, *J* = 8.7, 7.7 Hz, 1H, H-12), 3.99 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, H-26, minor od. major), 3.99 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, H-26, minor od. major), 2.76-2.69 (m, 5H, H-2 u. H-22), 1.97-1.82 (m, 2H, H-13 u. H-17), 1.43-1.29 (m, 9H, H-25), 1.26-1.20 (m, 3H, H-21), 1.12 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-27), 0.81 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, H-14a), 0.81 (d, *J* = 6.8 Hz, 14b), 0.75 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 171.5 (q, C-19), 170.7 (q, C-15), 170.1 (q, C-1), 169.8 (q, C-11), 157.2 (q, C-7), 155.0 (q, C-23), 133.9 (q, C-4), 133.8 (t, C-9), 127.5 (2C, t, C-5), 117.3 (s, C-10), 114.3 (2C, t, C-6), 78.9 (q, C-24), 68.1 (s, C-8), 59.9 (s, C-26), 58.0 (t, C-12), 57.2 (t, C-16), 54.2 (*breites Signal*, t, C-20, major), 52.9 (*breites Signal*, t, C-20, minor), 48.6 (t, C-3), 40.6 (s, C-2), 30.7 (*breites Signal*, p, C-22), 30.3 (t, C-13), 29.9 (t, C-17), 28.0 (3C, p, C-25), 19.1 (p, C-18a), 19.0 (p, C-14a), 18.4 (p, C-14b),

18.0 (p, C-18b), 15.7 (p, C-21), 14.0 (p, C-27) ppm. *{Das Produkt erfährt bei der Chromatographie eine teilweise Umesterung zum Methylester. Entsprechende ^1H -Signale können daher zu geringem Anteil bei 3.53 ppm (OMe) bzw. entsprechende ^{13}C -Signale bei 170.6 (COOMe) und 51.3 ppm (COOMe) beobachtet werden.}*

NMR-Messung bei 370K: **^1H -NMR** (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.00$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, NH_a), 7.52 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, NH_b), 7.25-7.19 (m, 2H, H-5), 7.15 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, NH_c), 6.88-6.84 (m, 2H, H-6), 6.03 (ddt, $J = 17.3, 10.5, 5.3$ Hz, 1H, H-9), 5.37 (dq, $J = 17.2$ Hz, 1.7 Hz, 1H, H-10a), 5.23 (dq, $J = 10.7, 1.5$ Hz, 1H, H-10b), 5.20 (q, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-3), 4.55 (q, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-20), 4.54 (dt, $J = 5.2, 1.5$ Hz, 2H, H-8), 4.21 (dd, $J = 8.6, 6.7$ Hz, 1H, H-16), 4.15 (dd, $J = 8.7, 7.1$ Hz, 1H, H-12), 4.02 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-26), 2.78 (dd, $J = 15.4, 7.9$ Hz, 1H, H-2a), 2.73 (s, 3H, H-22), 2.72 (dd, $J = 15.6, 6.5$ Hz, 1H, H-2b), 1.99 (okt, $J = 6.9$ Hz, 1H, H-13 od. H-17), 1.98 (okt, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-13 od. H-17), 1.41 (s, 9H, H-25), 1.26 (d, $J = 7.2$ Hz, H21), 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, H-27), 0.86 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-14a/b od. H-18a/b), 0.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-14a/b od. H-18a/b), 0.82 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-14a/b od. H-18a/b), 0.79 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-14a/b od. H-18a/b) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 170.7$ (q, C-19), 170.1 (q, C-15), 169.4 (q, C-1), 169.3 (q, C-11), 157.0 (q, C-7), 154.6 (q, C-23), 133.5 (q, C-4), 133.4 (t, C-9), 127.1 (2C, t, C-5), 116.5 (s, C-10), 114.2 (2C, t, C-6), 78.7 (q, C-24), 68.0 (s, C-8), 59.3 (s, C-26), 57.7 (t, C-12), 57.2 (t, C-16), 53.6 (t, C-20), 48.5 (t, C-3), 40.1 (s, C-2, *unter dem DMSO Signal*), 30.0 (t, C-13 od. C-17), 29.8 (t, C-13 od. C-17), 29.4 (p, C-22), 27.6 (3C, p, C-25), 18.5 (p, C-14a/b od. C-18a/b), 18.5 (p, C-14a/b od. C-18a/b), 17.6 (p, C-14a/b od. C-18a/b), 17.3 (p, C-14a/b od. C-18a/b), 14.2 (p, C-21), 13.3 (p, C-27) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₃₃H₅₄N₅O₇ [M + H⁺]: 633.3863, gefunden 633.3864.

7.3.3 Fragment C1

 (N α -Fmoc-N δ -boc-D-ornityl)-D-valinmethylester (**93**)


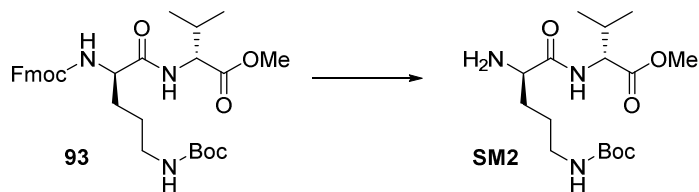
Fmoc-D-orn(boc)-OH (**94**, 1.71 g, 3.76 mmol, 1.00 Äquiv.), D-Val-OMe•HCl (760 mg, 4.51 mmol, 1.20 Äquiv.), HOAt (560 mg, 4.14 mmol, 1.10 Äquiv.) und EDC•HCl (790 mg, 4.14 mmol, 1.10 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (25 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde NaHCO₃ (1.58 g, 18.8 mmol, 5.00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 99:1 -> 98:2 -> 97.5:2.5) gereinigt. Das Produkt **93** (1.98 g, 3.49 mmol, 93%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{26.6}$: +0.5° (c = 0.99; CH₂Cl₂) {Lit.^[115]: -1.8° (c = 1.44, CH₂Cl₂)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.77-7.73 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.61-7.57 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.42-7.36 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.32-7.27 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 6.79 (bs, 1H, NH_a), 5.71 (m, 1H, NH_c), 4.76 (bs, 1H, NH_b), 4.51 (dd, *J* = 8.9, 5.1 Hz, 1H, H-2), 4.42-4.32 (m, 2H, H-6 u. H-14), 4.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-14), 3.71 (s, 3H, H-16), 3.33-3.20 (m, 1H, H-9a), 3.16-3.05 (m, 1H, H-9b), 2.18 (okt, *J* = 6.6 Hz, 1H, H-3), 2.01-1.83 (m, 1H, H-7a), 1.71-1.47 (m, 3H, H-7b u. H-8), 1.43 (s, 9H, H-12), 0.92 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-4a), 0.90 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-4b) ppm.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[115]

 (N-Fmoc-(R,S)-3-nitrovalyl)-(N δ -boc-D-ornityl)-D-valinmethylester (**95**)

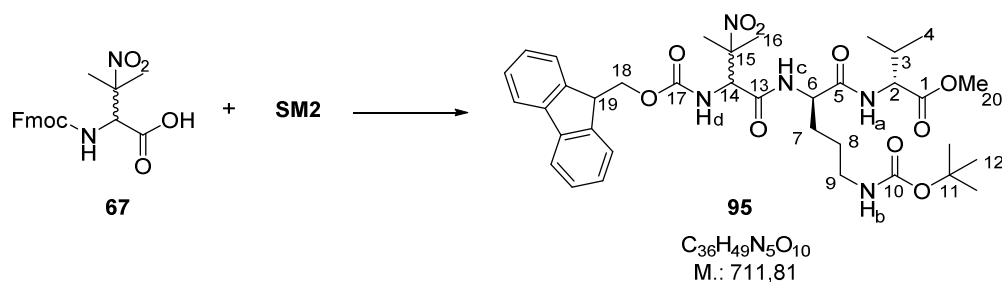
Fmoc-Entschützung:



¹¹⁵ F. Gille, A. Kirschning, *Beilstein J. Chem.* **2016**, *12*, 564-570.

Carbamat **93** (1.50 g, 2.65 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde bei RT in wasserfreiem CH₂Cl₂ (26.5 ml) gelöst und auf 0 °C gekühlt, Tris(2-aminoethyl)-amin (2.65 mL) über 10 min hinzugegeben, das Gemisch auf RT erwärmt und für 3h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von Kieselgel beendet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂, 1% MeOH, 1% Et₃N) lieferte das Produkt **SM2** als farbloses Öl, welches Reste von Et₃N enthält. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Peptidkupplung:

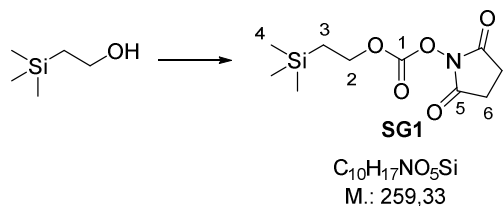


N-Fmoc-(*R,S*)-3-nitrovalin (**67**) (1.33 g, 3.45 mmol, 1.30 Äquiv.), EDC•HCl (763 mg, 3.98 mmol, 1.50 Äquiv.) und HOAt (542 mg, 3.98 mmol, 1.50 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂/DMF (36 mL, 5:1) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde NaHCO₃ (1.11 g, 13.3 mmol, 5.00 Äquiv.) hinzugegeben und das Amin **SM2** gelöst in CH₂Cl₂ (5 mL) über 10 min hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 16 h gerührt, während diese in einem Eisbad langsam auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 → 99:1) gereinigt. Das Rohprodukt enthielt noch Reste von DMF und wurde daher mit Toluol coevaporiert (3x). Das Produkt **95** (1.41 g, 1.98 mmol, 75%) wurde als gelblicher Schaum erhalten.

Verbindung wurde als Gemisch aus zwei Diastereoisomeren mit einem Verhältnis von ca. 1:1 erhalten. Das Gemisch wurde nicht aufgetrennt. Im Folgenden wird daher die Gesamtsumme aller Signale angegeben: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.79-7.72 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.61-7.55 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.43-7.36 (m, 2.5 H, Ar-H, Fmoc u. NH_c), 7.34-7.27 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.22 (bs, 0.5H, NH_c), 6.89-6.70 (m, 1H, NH_a), 6.20 (bs, 0.5H, NH_d), 6.08 (bs, 0.5H, NH_d), 4.99-4.84 (m, 1H, H-14), 4.77 (bs, 1H, NH_b), 4.63-4.42 (m, 3H, H-2 u. H-6 u. H-18a), 4.42-4.30 (m, 1H, H-18b), 4.25-4.15 (m, 1H, H-19), 3.70 (s, 1.5H, H-20), 3.69 (s, 1.5H, H-20), 3.29-3.16 (m, 1H, H-9a), 3.12-3.01 (m, 1H, H-9b), 2.21-2.10 (m, 1H, H-3), 1.93-1.77 (m, 1H, H-7a), 1.73 (s, 1.5H, H-16a), 1.71 (s, 1.5H, H-16a), 1.69-1.53 (m, 4H, H-7b u. H-16b), 1.53-1.45 (m, 2H, H-8), 1.42 (s, 4.5H, H-12), 1.41 (s, 4.5H, H-12), 0.94-0.86 (m, 6H, H-4) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = {172.1, 172.1} (q, C-1), 171.2 (q, C-5 od. C-13), {167.9, 167.8} (q, C-5 od. C-13), 156.8 (q, C-10 od. C-17), 156.4 (q, C-10 od. C-17), {143.7, 143.6, 143.5, 143.5} (q, C-Ar, Fmoc), 141.3 (q, C-Ar, Fmoc), {127.8, 127.8} (t, C-Ar, Fmoc), {127.2, 127.1} (t, C-Ar, Fmoc),

{125.1, 125.0} (t, C-Ar, Fmoc), {120.1, 120.0} (t, C-Ar, Fmoc), {89.0, 88.8} (q, C-15), 79.6 (q, C-11), 67.5 (s, C-18), {59.9, 59.9} (t, C-14), {57.5, 57.5} (t, C-2), 52.7 (t, C-6), 52.1 (p, C-20), {47.1, 47.1} (t, C-19), 39.2 (s, C-9), 30.8 (t, C-3), 29.3 (s, C-7), 28.4 (p, C-12), 26.5 (s, C-8), {24.5, 24.3, 23.7, 23.4} (p, C-16), {19.0, 17.9} (p, C-4) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{36}H_{49}N_5O_{10}Na$ [$M + Na^+$]: 734.3377, gefunden 734.3372.

Teoc-OSu (SG1)



Achtung: Während der Reaktion tritt eine starke Gasentwicklung (HCl, Phosgen) auf. Eine Verwendung von basischen Waschflaschen ist zwingend erforderlich!!

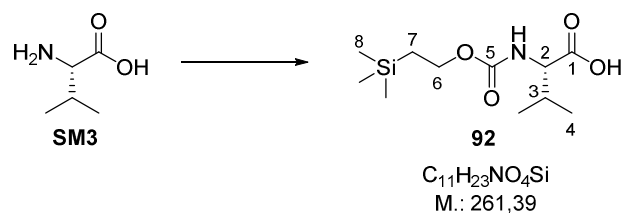
Triphosgen (10.4 g, 35.1 mmol, 0.50 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (80 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. 2-Trimethylsilylethanol (8.30 g, 10.0 mL, 70.2 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde zusammen mit Et_3N (7.81 g, 10.7 mL, 77.2 mmol, 1.10 Äquiv.) in wasserfreiem THF (70 mL) gelöst und über 20 min hinzuge tropft. Die Reaktion wurde auf RT erwärmt und für 2 h bei RT gerührt. HOSu (8.10 g, 70.2 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2/DMF (1:1, 100 mL) gelöst und mit Et_3N (7.10 g, 9.70 mL, 70.2 mmol, 1.00 Äquiv.) versetzt. Die resultierende Lösung wurde zur Reaktion hinzuge tropft und das Reaktionsgemisch für 16 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von Na_2CO_3 -Lösung (10%), H_2O und EtOAc beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H_2O und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Toluol coevaporiert (3x) und anschließend mittels Säulenchromatographie (CH_2Cl_2) gereinigt. Das Produkt **SG1** (9.00 g, 34.7 mmol, 49%) wurde als farbloses Harz erhalten.^[116]

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.46$ (m, 2H, H-2), 2.82 (s, 4H, H-6), 1.20-1.11 (m, 2H, H-3), 0.06 (s, 9H, H-4) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[117]

¹¹⁶ Die Substanz wurde freundlicher Weise von Dr. F. Gille bereitgestellt.

¹¹⁷ Patent, LEAD Therapeutics, Inc., US2010/105607A1, Example 43.

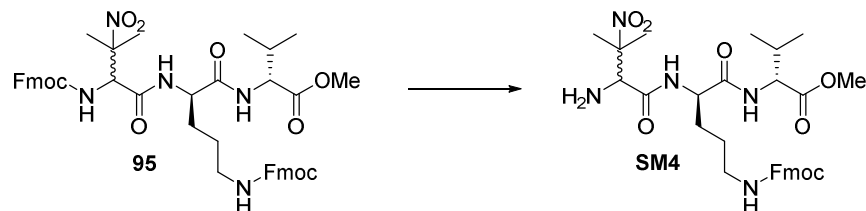
***N*-Teoc-L-valin (**92**)**


L-Valin (**SM3**, 1.49 g, 12.7 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in H₂O (12.7 mL) gelöst und mit Et₃N (1.92 g, 2.60 mL, 19.0 mmol, 1.50 Äquiv.) versetzt. TeocOSu (**SG1**, 3.61 g, 13.9 mmol, 1.10 Äquiv.) wurde in 1,4-Dioxan (12.7 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch hinzugegot. Die Reaktion wurde für 24 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 1M KHSO₄-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H₂O (3x) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **92** (3.32 g, 12.7 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt weiterverwendet.

$[\alpha]_D^{26.1}$: -7.5° (c = 1.98; MeOH); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 4.32 (dd, *J* = 9.1, 4.3 Hz, 1H, H-2), 4.19-4.15 (m, 2H, H-6), 2.27-2.15 (m, 1H, H-3), 1.02-0.93 (m, 8H, H-4 u. H-7), 0.03 (s, 9H, H-8) ppm.

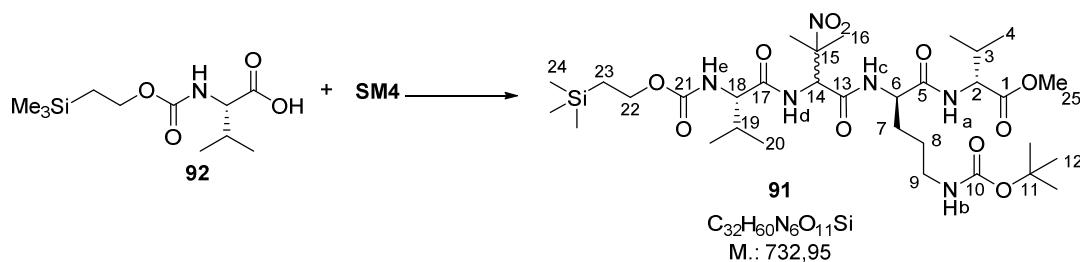
***(N*-Teoc-L-valyl)-(*R,S*)-3-nitrovalyl-(*Nδ*-boc-D-ornityl)-D-valinmethylester (**91**)**

Fmoc-Entschützung:



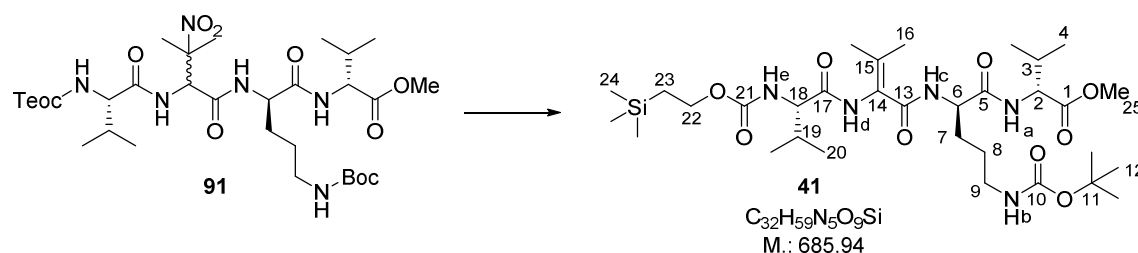
Carbamat **95** (5.50 g, 7.73 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in DMF (80 mL) gelöst und bei RT mit Dimethylamin (40% in H₂O, 9.78 mL, 77.3 mmol, 10 Äquiv.) versetzt. Nach 4 h (LC-MS-Kontrolle) wurde zunächst das überschüssige Dimethylamin (0.5 mbar, RT, Kühlfalle) und anschließend das Lösungsmittel (40°C, 9 mbar) unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde ohne zusätzliche Reinigung weiterverwendet.

Peptidkupplung:



EDC•HCl (1.85 g, 9.66 mmol, 1.25 Äquiv.) und HOAt (1.31 g, 9.66 mmol, 1.25 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (75 mL) gelöst und Teoc-L-valin (**92**, 2.22 g, 8.50 mmol, 1.10 Äquiv.), gelöst in wasserfreiem CH_2Cl_2 (5 mL), und DMF (10 mL) wurden hinzugegeben. Das Gemisch wurde auf 0 °C gekühlt und NaHCO_3 (3.25 g, 38.7 mmol, 5.00 Äquiv.) sowie Amin **SM4** (gelöst in 5 mL DMF) wurden hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 -> 99:1 -> 98.5:1.5 -> 98:2 -> 97.5:2.5) gereinigt. Das Produkt **91** (4.33 g, 5.91 mmol, 76%, *d.r.* = 1:1) wurde als gelber Schaum erhalten.

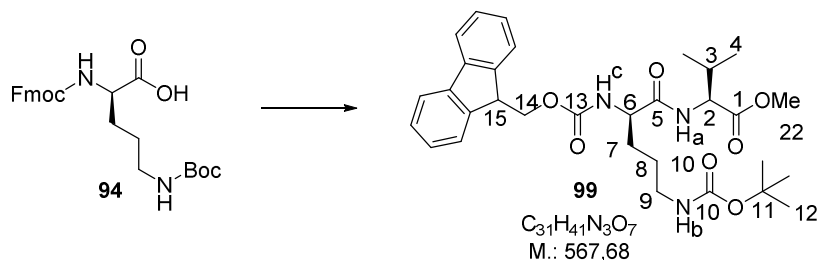
Verbindung wurde als Gemisch aus zwei Diastereoisomeren mit einem Verhältnis von ca. 1:1 erhalten. Das Gemisch wurde nicht aufgetrennt. Im Folgenden wird daher die Gesamtsumme aller Signale angegeben: **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.41$ (d, $J = 10.2$ Hz, 0.5H, NH_d), 8.33 (d, $J = 8.3$ Hz, 0.5H, NH_c), 8.32 (d, $J = 6.7$ Hz, 0.5H, NH_c), 8.17 (d, $J = 8.2$ Hz, 0.5 Hz, NH_a), 8.10 (d, $J = 9.7$ Hz, 0.5H, NH_d), 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 0.5H, NH_a), 7.14 (d, $J = 8.5$ Hz, 0.5H, NH_c), 7.08 (d, $J = 9.2$ Hz, 0.5H, NH_c), 6.79-6.74 (m, 1H, NH_b), 5.28 (d, $J = 9.8$ Hz, 0.5H, H-14), 5.24 (d, $J = 9.9$ Hz, 0.5H, H-14), 4.36-4.27 (m, 0.5H, H-6), 4.27-4.21 (m, 0.5H, H-6), 4.18 (dd, $J = 8.4, 6.4$ Hz, 0.5H, H-2), 4.15 (dd, $J = 8.1, 6.5$ Hz, 0.5H, H-2), 4.12-3.98 (m, 2H, H-22), 3.95 (t, $J = 7.5$ Hz, 0.5H, H-18), 3.88 (t, $J = 8.1$ Hz, 0.5H, H-18), 3.61 (s, 1.5H, H-25), 3.61 (s, 1.5H, H-25), 2.96-2.84 (m, 2H, H-9), 2.09-1.96 (m, 1H, H-3), 1.96-1.80 (m, 1H, H-19), 1.68-1.27 (m, 19H, H-7 u. H-8 u. H-12 u. H-16), 0.91 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-23), 0.88-0.76 (m, 12H, H-4 u. H-20), 0.01 (s, 4.5H, H-24), 0.00 (s, 4.5H, H-24) ppm; **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = \{172.0, 171.8, 171.8, 171.7, 171.6, 171.5\}$ (q, C-1 u. C-5 u. C-17), $\{167.2, 166.8\}$ (q, C-13), $\{156.7, 156.3\}$ (q, C-21), 155.6 (q, C-10), 88.8 (q, C-15), 77.4 (q, C-11), $\{62.0, 61.9\}$ (s, C-22), $\{60.2, 60.0\}$ (t, C-18), $\{57.3, 57.2, 57.1, 57.0\}$ (t, C-2 u. C-14), $\{52.8, 52.3\}$ (t, C-6), $\{51.7, 51.7\}$ (p, C-25), $\{30.1, 30.1, 30.0, 29.9\}$ (t, C-3 u. C-19), $\{29.4, 28.8\}$ (s, C-7), 28.3 (3C, p, C-12), $\{26.1, 26.0\}$ (s, C-8), $\{23.6, 23.1, 22.3, 21.9\}$ (p, C-16), $\{19.2, 19.1, 18.9, 18.2, 18.1, 18.0\}$ (p, C-4 u. C-20), $\{17.4, 17.4\}$ (s, C-23), $\{-1.4, -1.5\}$ (p, C-24) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{SiNa}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 755.3987, gefunden 755.3986.

(*N*-Teoc-L-valyl)-(α,β -dehydrovalyl)-(*N* δ -boc-D-ornityl)-D-valinmethylester (41**)**


Es wurde eine Stammlösung von TBD (in einer Glovebox abgefüllt) erstellt (181 mg in 3 mL CH_2Cl_2 , 0.43M). Tertiäres Nitroalkan **91** (200 mg, 273 μ mol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (3 mL) gelöst, in einem Aceton/Trockeneis-Bad auf $-78^\circ C$ gekühlt und anschließend TBD (0.43M in CH_2Cl_2 , 0.60 mL, 0.260 mmol, 0.95 Äquiv.) über 5 min hinzuge tropft. Die Reaktion wurde zusammen mit dem Trockeneis-Bad langsam auf RT erwärmt und für insgesamt 20 h gerührt. Anschließend wurde mit CH_2Cl_2 verdünnt und das Reaktionsgemisch direkt mittels Säulenchromatographie (BÜCHI: NP-Kartusche {12x150mm}; $CH_2Cl_2/MeOH$; 15 mL/min, 1 min/Fr; Gradient: 1.2-2.5% MeOH {60 min}; t_R = 18-33 min) gereinigt. Das Produkt **41** (130 mg, 190 μ mol, 69%) wurde als farbloses Harz erhalten.

$[\alpha]_D^{24.2}$: $+5.3^\circ$ ($c = 13.3$; CH_2Cl_2) {Lit.^[107]: $+3.5^\circ$ ($c = 1.00$; CH_2Cl_2)}; **1H -NMR** (400 MHz, $DMSO-d_6$; $DMSO-d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 9.23$ (s, 1H, NH_d), 7.92 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH_a), 7.62 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, NH_c), 7.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, NH_e), 6.72 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH_e), 4.25 (dt, $J = 8.7, 4.3$ Hz, 1H, NH_b), 4.10-3.93 (m, 3H, H-2 u. H-22), 3.83 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-18), 3.59 (s, 3H, H-25), 2.87 (q, $J = 6.4$ Hz, 2H, H-9), 2.06 (okt, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-3), 1.96 (okt, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-19), 1.94 (s, 3H, H-16a), 1.79-1.65 (m, 1H, H-7a), 1.69 (s, 3H, H-16b), 1.60-1.30 (m, 3H, H-7b u. H-8), 1.36 (s, 9H, H-12), 0.92-0.88 (m, 11H, H-20a/b u. H-23), 0.85 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-4b) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $DMSO-d_6$; $DMSO-d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.9$ (q, C-1), 171.6 (q, C-5), 171.2 (q, C-17), 164.8 (q, C-13), 156.7 (q, C-21), 155.5 (q, C-10), 135.2 (q, C-14 od. C-15), 124.8 (q, C-14 od. C-15), 77.3 (q, C-11), 62.0 (s, C-22), 60.4 (t, C-18), 57.7 (t, C-2), 52.4 (t, C-6), 51.5 (p, C-25), 29.7 (t, C-19), 29.6 (t, C-3), 28.9 (s, C-7), 28.3 (3C, p, C-12), 26.2 (s, C-8), 20.9 (p, C-16a), 20.3 (p, C-16b), 19.2 (p, C-20a), 18.9 (p, C-4a), 18.6 (2C, C-4b u. C-20b), 17.3 (s, C-23), -1.5 (3C, p, C-24) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{32}H_{59}N_5O_9SiNa$ [$M + Na^+$]: 708.3980, gefunden 708.3979.

7.3.4 Fragment C2

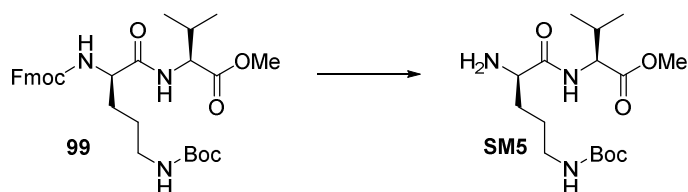
 (N α -Fmoc-N δ -boc-D-ornityl)-L-valinmethylester (**99**)


Fmoc-D-Orn(Boc)-OH (**94**, 5.10 g, 11.2 mmol, 1.00 Äquiv.), L-Val-OMe•HCl (2.20 g, 13.5 mmol, 1.20 Äquiv.), EDC•HCl (2.36 g, 12.3 mmol, 1.10 Äquiv.) und HOAt (1.67 g, 12.3 mmol, 1.10 Äquiv.) wurden bei RT in wasserfreiem CH₂Cl₂ (100 mL) und wasserfreiem DMF (20 mL) gelöst. Es wurde auf 0 °C gekühlt, NaHCO₃ (4.71 g, 56.1 mmol, 5.00 Äquiv.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 99.5:0.5 -> 99:1 -> 98:2 -> 97:3) gereinigt. Das Produkt **99** (6.26 g, 11.0 mmol, 98%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

[α]_D^{21.9}: +6.2°(c = 1.75, CH₂Cl₂); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.75 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.59 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.38 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, Ar-H, Fmoc), 6.88 (bs, 1H, NH_a), 5.77 (bs, 1H, NH_c), 4.78 (bs, 1H, NH_b), 4.51 (dd, *J* = 8.7, 5.2 Hz, 1H, H-2), 4.43-4.33 (m, 3H, H-6 u. H-14), 4.21 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-15), 3.68 (s, 3H, H-22), 3.26-3.04 (m, 2H, H-9), 2.13 (okt, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-3), 1.97-1.82 (m, 1H, H-7a), 1.73-1.61 (m, 1H, H-7b), 1.61-1.48 (m, 2H, H-8), 1.43 (s, 9H, H-12), 0.92 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-4a), 0.88 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-4b) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.2 (q, C-1), 171.9 (q, C-5), 156.5 (q, C-10 u. C-13), 144.0 (q, C-Ar, Fmoc), 143.8 (q, C-Ar, Fmoc), 141.4 (q, C-Ar, Fmoc), 141.4 (q, C-Ar, Fmoc), 127.8 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 127.2 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 125.2 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 120.1 (t, C-Ar, Fmoc), 120.1 (t, C-Ar, Fmoc), 79.4 (q, C-11), 67.2 (s, C-14), 57.4 (t, C-2), 54.4 (t, C-6), 52.3 (p, C-22), 47.2 (t, C-15), 40.0 (s, C-9), 31.3 (t, C-3), 30.3 (s, C-7), 28.5 (3C, p, C-12), 26.4 (s, C-8), 19.1 (p, C-4a), 18.0 (p, C-4b) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₃₁H₄₁N₃O₇Na [M + Na⁺]: 590.2842, gefunden 590.2842.

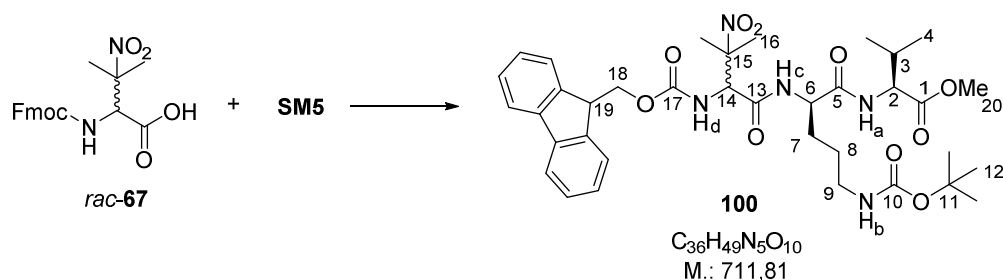
 (N-Fmoc-(R,S)-3-nitrovalyl)-(N δ -boc-D-ornityl)-L-valinmethylester (**100**)

Fmoc-Entschützung:



Carbamat **99** (2.19 g, 3.86 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (40 mL) gelöst und auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Tris(2-aminoethyl)-amin (4 mL) wurde hinzuge tropft und die Reaktion langsam auf RT erwärmt. Nach 4 h (DC-Kontrolle: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) wurde Kieselgel hinzugeben und das Lösungsmittel aus der Suspension unter vermindertem Druck entfernt. Der pulverartige Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$, 98:1:1) gereinigt. Das Produkt **SM5** (1.32 g, 3.82 mmol, 99%) wurde als gelbliches Öl erhalten, das noch Reste von Et_3N enthielt. Es wurde mit CH_2Cl_2 coevaporiert (3x) und anschließend direkt weiterverwendet.

Peptidkupplung:

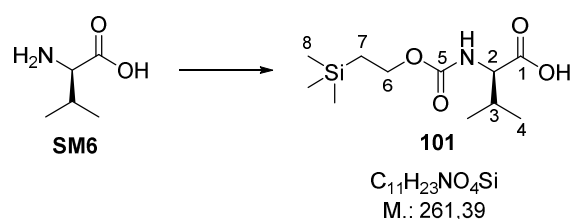


(*R,S*)-Fmoc-3-nitrovalin (**67**, 1.91 g, 4.97 mmol, 1.30 Äquiv.), EDC•HCl (0.95 g, 4.97 mmol, 1.30 Äquiv.) und HOAt (0.68 g, 4.97 mmol, 1.30 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (40 mL) und wasserfreiem DMF (8 mL) gelöst, auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und NaHCO_3 (1.60 g, 19.1 mmol, 5.00 Äquiv.) hinzugegeben. Das Amin **SM5** wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (5 mL) gelöst und zum Gemisch hinzuge tropft. Die Reaktion wurde für 18 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Toluol coevaporiert (3x) und anschließend per Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 \rightarrow 99.5:0.5 \rightarrow 99:1 \rightarrow 98:2 \rightarrow 97:3 \rightarrow 96:4) gereinigt. Das Produkt **100** (2.34 g, 3.29 mmol, 86%, *d.r.* = 1.5:1) wurde als gelber Schaum erhalten.

Die Verbindung wurde als Diastereoisomerengemisch (1.5:1) erhalten. Die einzelnen Diastereoisomere wurden nicht aufgetrennt und die exakte Konfiguration an C-14 bleibt unbekannt. Im Folgenden werden die Signale des Hauptdiastereoisomers (Major) und des Nebendiastereoisomers (Minor) getrennt angegeben. Im Spektrenanhang wird nur das Gemisch abgebildet. Major: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.78\text{--}7.62$ (m, 3H, NH_c , Ar-H, Fmoc), $7.59\text{--}7.53$ (m, 2H, Ar-H, Fmoc), $7.41\text{--}7.33$ (m, 2H, Ar-H, Fmoc), $7.32\text{--}7.24$ (m, 2H, Ar-H, Fmoc), $7.02\text{--}6.90$ (m, 1H, NH_a), $6.43\text{--}6.33$ (m, 1H, NH_d), 5.01 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-14), $4.91\text{--}4.76$ (m, 1H, NH_b), $4.70\text{--}4.56$ (m, 1H, H-6), $4.56\text{--}4.43$ (m, 2H, H-2, H-18a), $4.37\text{--}4.25$ (m, 1H, H-18b), $4.23\text{--}4.13$ (m, 1H, H-19), 3.66 (s, 3H, H-20), $3.22\text{--}3.01$ (m, 2H, H-9), $2.19\text{--}2.04$ (m, 1H, H-3), $1.92\text{--}1.80$ (m, 1H, H-7a), $1.75\text{--}1.62$ (m, 4H, H-16a, H-7b), 1.59 (s, 3H, H-16b), $1.54\text{--}1.45$ (m, 2H, H-8), 1.40 (s, 9H, H-12), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, H-4a), 0.87 (d, $J = 7.5$ Hz, H-4b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.0$ (q, C-1), 171.2 (q, C-5), 168.0 (q, C-13), 156.7 (q, C-10 od. C-17), 156.5 (q, C-10 od. C-17),

143.7 (q, C-Ar, Fmoc), 143.7 (q, C-Ar, Fmoc), 141.4 (2C, q, C-Ar, Fmoc), 127.9 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 127.2 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 125.3 (t, C-Ar, Fmoc), 125.1 (t, C-Ar, Fmoc), 120.1 (t, C-Ar, Fmoc), 120.1 (t, C-Ar, Fmoc), 89.0 (q, C-15), 79.5 (q, C-11), 67.6 (s, C-18), 60.0 (t, C-14), 57.5 (t, C-2), 53.0 (C-6), 52.2 (p, C-20), 47.1 (t, C-19), 39.8 (s, C-9), 31.2 (t, C-3), 29.2 (s, C-7), 28.5 (3C, p, C-12), 26.5 (s, C-8), 24.4 (p, C-16a), 23.3 (p, C-16b), 19.1 (p, C-4a), 18.1 (p, C-4b) ppm; **Minor:** $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.78\text{--}7.69$ (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.59–7.53 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.41–7.33 (m, 3H, NH_c , Ar-H, Fmoc), 7.32–7.24 (m, 2H, Ar-H, Fmoc), 7.02–6.90 (m, 1H, NH_a), 6.33–6.22 (m, 1H, NH_d), 4.96 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H-14), 4.91–4.76 (m, 1H, NH_b), 4.70–4.56 (m, 1H, H-6), 4.56–4.43 (m, 2H, H-2, H-18a), 4.37–4.25 (m, 1H, H-18b), 4.23–4.13 (m, 1H, H-19), 3.62 (s, 3H, H-20), 3.22–3.01 (m, 2H, H-9), 2.19–2.04 (m, 1H, H-3), 1.92–1.80 (m, 1H, H-7a), 1.75–1.62 (m, 4H, H-16a, H-7b), 1.57 (s, 3H, H-16b), 1.54–1.45 (m, 2H, H-8), 1.42 (s, 9H, H-12), 0.89 (d, $J = 7.2$ Hz, H-4a), 0.86 (d, $J = 7.2$ Hz, H-4b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.2$ (q, C-1), 171.2 (q, C-5), 168.0 (q, C-13), 156.6 (q, C-10 od. C-17), 156.5 (q, C-10 od. C-17), 143.8 (q, C-Ar, Fmoc), 143.5 (q, C-Ar, Fmoc), 141.4 (2C, q, C-Ar, Fmoc), 127.9 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 127.3 (2C, t, C-Ar, Fmoc), 125.2 (t, C-Ar, Fmoc), 125.1 (t, C-Ar, Fmoc), 120.1 (t, C-Ar, Fmoc), 120.1 (t, C-Ar, Fmoc), 89.2 (q, C-15), 79.5 (q, C-11), 67.5 (s, C-18), 59.9 (t, C-14), 57.5 (t, C-2), 52.9 (t, C-6), 52.3 (p, C-20), 47.2 (t, C-19), 39.8 (s, C-9), 31.2 (t, C-3), 29.4 (s, C-7), 28.5 (3C, p, C-12), 26.4 (s, C-8), 24.4 (p, C-16a), 23.2 (p, C-16b), 19.1 (p, C-4a), 18.0 (p, C-4b) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 734.3377, gefunden 734.3380.

***N*-Teoc-D-valin (101)**

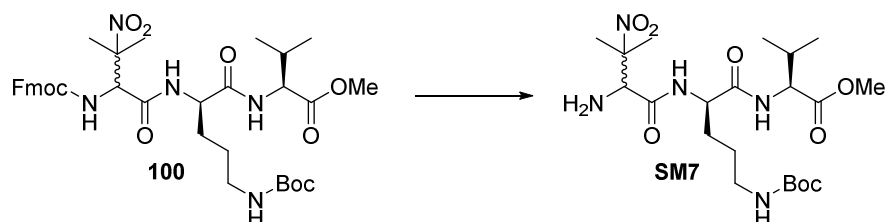


D-Valin (**SM6**, 1.22 g, 10.4 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in H_2O (10 mL) gelöst. Es wurde zunächst TeocOSu (**SG1**, 3.00 g, 11.5 mmol, 1.10 Äquiv.) gelöst in 1,4-Dioxan (10 mL) und anschließend Et_3N (1.58 g, 2.16 mL, 15.6 mmol, 1.50 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion für 24 h bei RT gerührt. Danach wurde die Reaktion durch Zugabe von 1M KHSO_4 -Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H_2O (4x) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **101** (2.72 g, 10.4 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

$[\alpha]_D^{26.6}$: +6.9° (c = 2.52; MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; CHCl_3 = 7.26 ppm): δ = 10.86 (bs, 1H, COOH), 5.15 (d, J = 8.8 Hz, 1H, NH), 4.32 (dd, J = 9.0, 4.2 Hz, 1H, H-2), 4.21-4.11 (m, 2H, H-6), 2.26-2.15 (m, 1H, H-3), 1.01-0.92 (m, 8H, H-4 u. H-7), 0.03 (s, 9H, H-8) ppm.

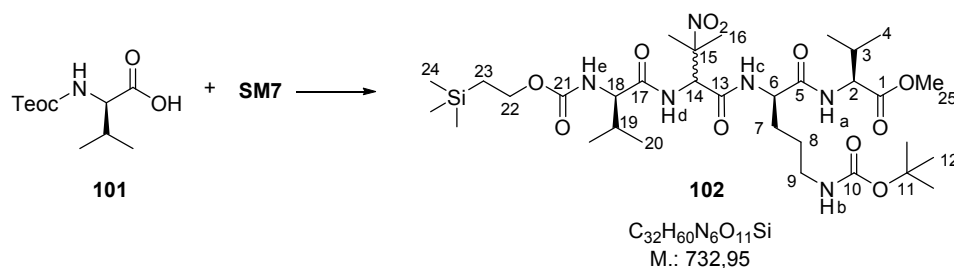
(*N*-Teoc-D-valyl)-(α,β -dehydrovalyl)-(*N* δ -boc-D-ornityl)-D-valinmethylester (102**)**

Fmoc Entschützung:



Carbamat **100** (3.31 g, 4.65 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in DMF (50 mL) gelöst und anschließend Dimethylamin (40% in H_2O , 5.24 g, 46.5 mmol, 5.9 mL, 10.0 Äquiv.) bei RT hinzugegeben. Nach 6 h wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck konzentriert (bei 40°C) und der Rückstand ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Peptid-Kupplung:



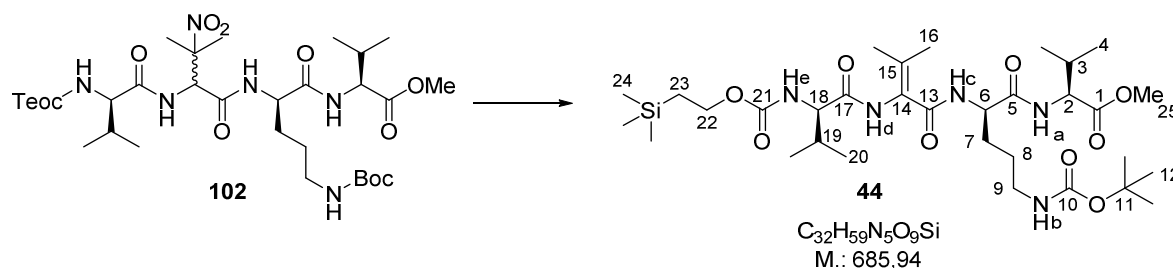
HOAt (700 mg, 5.81 mmol, 1.25 Äquiv.) und EDC•HCl (1.11 g, 5.81 mmol, 1.25 Äquiv.) wurden in einen Kolben eingewogen, in wasserfreiem CH_2Cl_2 (10 mL) gelöstes *N*-Teoc-D-valin (**101**, 1.34 g, 5.12 mmol, 1.10 Äquiv.) wurde hinzugegeben, das Reaktionsgemisch mit weiteren 40 mL wasserfreiem CH_2Cl_2 verdünnt, auf 0 °C gekühlt und anschließend DIPEA (3.01 g, 23.3 mmol, 4.10 mL, 5.00 Äquiv.) über 10 min hinzugetropt. In DMF (10 mL) gelöstes Amin **SM7** wurde über 10 min hinzugetropt und die Reaktion für insgesamt 18 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in EtOAc und halb-ges. NaCl-Lösung aufgenommen, die Phasen getrennt und die organische Phase mit halb-ges. NaCl-Lösung gewaschen (4x). Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 -> 99.5:0.5 -> 99:1 -> 98.5:1.5 -> 98:2) lieferte das Produkt **102** (2.70 g, 3.68 mmol, 79%, *d.r.* = 3:1) als gelben Schaum.

Die Verbindung wurde als Gemisch aus zwei Diastereoisomeren mit einem Verhältnis von ca. 3:1 erhalten. Das Gemisch wurde nicht weiter getrennt. Im Folgenden wird daher die Gesamtsumme aller Signale angegeben, wobei die Signale des Hauptdiastereoisomers mit „major“ und des Nebendiastereoisomers als „minor“ gekennzeichnet werden. **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.40 (d, *J* = 9.8 Hz, 0.25H, NH_d, minor), 8.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 0.25H, NH_c, minor), 8.23-8.11 (m, 2.5H, NH_a u. NH_c, major u. NH_d, major), 7.15 (d, *J* = 8.8 Hz, 0.75H, NH_e, major), 6.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 0.25H, NH_e, minor), 6.77-6.75 (m, 1H, NH_b), 5.28 (d, *J* = 9.7 Hz, 0.25 H, H-14, minor), 5.24 (d, *J* = 9.6 Hz, 0.75H, H-14, major), 4.40-4.32 (m, 1H, H-6), 4.21-4.15 (m, 1H, H-2), 4.10-3.95 (m, 2.25H, H-22 u. H-18, minor), 3.89 (t, *J* = 8.1 Hz, 0.75H, H-18, major), 3.62 (s, 3H, H-25), 2.92-2.81 (m, 2H, H-9), 2.08-1.96 (m, 1H, H-3), 1.96-1.84 (m, 1H, H-19), 1.68-1.43 (m, 8H, H-7 u. H-16a/b), 1.43-1.26 (m, 11H, H-8 u. H-12), 0.92 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H, H-23), 0.87-0.77 (m, 12H, H-4a/b u. H-20a/b), 0.01 (s, 6.75H, H-25, major), 0.01 (s, 2.25H, H-25, minor) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 171.9 (q, C-17, minor), 171.8 (q, C-17, major), 171.8 (q, C-1, major), 171.8 (q, C-1, minor), 171.3 (q, C-5, major), 171.2 (q, C-5, minor), 167.0 (q, C-13, minor), 166.8 (q, C-13, major), 156.4 (q, C-21, minor), 156.2 (q, C-21, major), 155.5 (q, C-10), 88.8 (q, C-15, major), 88.7 (q, C-15, minor), 77.4 (q, C-11), 61.9 (s, C-22, minor), 61.8 (s, C-22, major), 60.2 (t, C-18, major), 59.8 (t, C-18, minor), 57.3 (t, C-14, minor), 57.2 (t, C-2, major), 57.1 (t, C-2, minor), 57.0 (t, C-14, major), 52.3 (t, C-6), 51.7 (p, C-25, major), 51.7 (p, C-25, minor), 30.3 (t, C-19, minor), 30.2 (t, C-3, minor), 30.1 (t, C-19, major), 30.1 (t, C-3, major), 29.7 (s, C-7, major), 29.6 (s, C-7, minor), 28.3 (3C, p, C-12), 25.9 (s, C-8), 23.4 (p, C-16a, minor), 23.4 (p, C-16a, major), 22.1 (p, C-16b, minor), 22.0 (p, C-16b, major), 19.2 (p, C-4a, major od. C-20a, major), 19.1 (p, C-4a, minor od. C-20a, minor), 19.0 (p, C-4a, major od. C-20a, major), 19.0 (p, C-4a, minor od. C-20a, minor), 18.2 (p, C-4b, major od. C-20b, major), 18.1 (p, C-4b, major od. C-20b, major), 18.1 (p, C-4b, minor), 17.8 (p, C-20b, minor), 17.3 (s, C-23, minor), 17.3 (s, C-23, major), -1.5 (3C, p, C-24, major), -1.5 (3C, p, C-24, minor) ppm;

Lagerung der Endverbindung zusammen mit DMF-Resten bei 4 °C führte zur quantitativen Epimerisierung des NO₂-Valin-Stereozentrums und infolgedessen zur Umwandlung des Hauptdiastereoisomers zum Nebendiastereoisomer. Im Folgenden werden die Signale des Hauptdiastereoisomers (ehemalig Nebendiastereoisomer) nach der Isomerisierung in DMF angegeben: **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.41 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, NH_d), 8.36 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH_c), 8.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, NH_a), 6.96 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH_e), 6.75 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H, NH_b), 5.28 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-14), 4.38 (dt, *J* = 8.4, 5.3 Hz, 1H, H-6), 4.20 (dd, *J* = 8.5, 6.6 Hz, 1H, H-2), 4.10-3.95 (m, 3H, H-18 u. H-22), 3.62 (s, 3H, H-25), 2.95-2.80 (m, 2H, H-9), 2.01 (okt, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-3), 1.90 (okt, *J* = 6.3 Hz, 1H, H-19), 1.69-1.46 (m, 8H, H-7 u. H-16), 1.46-1.26 (m, 11H, H-8 u. H-12), 0.92 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-23), 0.83 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, H-4a/b), 0.81 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-20a), 0.78 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H, H-20b), 0.00 (s, 9H, H-24) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 171.9 (q, C-17), 171.8 (q, C-1), 171.3 (q, C-5), 167.0 (q,

C-13), 156.5 (q, C-21), 155.5 (q, C-10), 88.7 (q, C-15), 77.3 (q, C-11), 61.9 (s, C-22), 59.8 (t, C-18), 57.3 (t, C-14), 57.2 (t, C-2), 52.3 (t, C-6), 51.7 (p, C-25), 30.3 (t, C-19), 30.2 (t, C-3), 29.6 (s, C-7), 28.3 (3C, p, C-12), 25.9 (s, C-8), 23.4 (p, C-16a), 22.2 (p, C-16b), 19.1 (p, C-20a), 19.0 (p, C-4a), 18.1 (p, C-4b), 17.8 (p, C-20b), 17.4 (s, C-23), -1.5 (3C, p, C-24) ppm {C-9 befindet sich unter dem DMSO-Signal und ist daher im ^{13}C -Spektrum nicht sichtbar}; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{61}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{Si}$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 733.4168, gefunden 733.4176.

(*N*-Teoc-D-valyl)-(*R,S*)-3-nitrovalyl-(*N* δ -boc-D-ornityl)-*L*-valinmethylester (44**)**



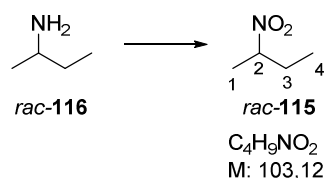
Nitroalkan **102** (226 mg, 308 μmol , 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (3mL) gelöst und auf -78°C (Trockeneisbad) gekühlt. TBD (in Glovebox abgefüllt, Stammlösung: 0.43M in CH_2Cl_2 , 0.68 mL, 295 μmol , 0.96 Äquiv.) wurde über eine Spritze über 10 min hinweg der Reaktion hinzugefügt. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch mit dem Trockeneisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde anschließend durch Zugabe von ges. NH_4Cl -Lösung beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 99:1 \rightarrow 98.5:1.5 \rightarrow 98:2 \rightarrow 97.5:2.5) lieferte das Produkt **44** (132 mg, 192 μmol , 62%) als farbloses Harz.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22.7}$: +22.0 ($c = 1.31$; CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 9.21$ (1H, s, NH_d), 8.04 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, NH_a), 7.62 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH_c), 6.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, NH_e), 6.71 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H, NH_b), 4.30 (dt, $J = 8.3, 4.5$ Hz, 1H, H-6), 4.13 (dd, $J = 8.0, 7.2$ Hz, 1H, H-2), 4.08 (dt, $J = 8.3, 4.5$ Hz, 1H, H-22a), 4.00 (dt, $J = 9.7, 8.9$ Hz, 1H, H-22b), 3.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-18), 3.62 (s, 3H, H-25), 2.92-2.82 (m, 2H, H-9), 2.05 (okt, $J = 6.9$ Hz, 1H, H-3), 1.98 (okt, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-19), 1.90 (s, 3H, H-16a), 1.75-1.62 (m, 1H, H-7a), 1.68 (s, 3H, H-16b), 1.56-1.28 (m, 3H, H-7b u. H-8), 1.36 (s, 9H, H-12), 0.92 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H, H-23), 0.90 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-20a), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-20b), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-4a), 0.84 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-4b), 0.01 (s, 9H, H-24) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.9$ (q, C-1 od. C-5), 171.7 (q, C-1 od. C-5), 170.9 (q, C-17), 165.0 (q, C-13), 156.4 (q, C-21), 155.5 (q, C-10), 133.6 (q, C-14), 125.2 (q, C-15), 77.3 (q, C-11), 61.9 (s, C-22), 59.9 (t, C-18), 57.5 (t, C-2), 52.3 (t, C-6), 51.6 (p, C-25), 30.1 (t, C-19), 29.8 (t, C-3), 29.4 (s, C-7), 28.3 (3C, p, C-12), 25.8 (s, C-8), 20.5 (p, C-16a), 20.3 (p, C-16a), 19.3 (p, C-20a), 19.0 (p, C-4a), 18.4 (p, C-4b), 18.2 (p, C-20b), 17.3 (s,

C-23), -1.5 (3C, p, C-24) ppm, {C-9 liegt unter dem DMSO-Signal}; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{32}H_{59}N_5O_9SiNa$ [$M + Na^+$]: 708.3980, gefunden 708.3982.

7.3.5 Fragment D

(*R,S*)-2-Nitrobutan (**115**)

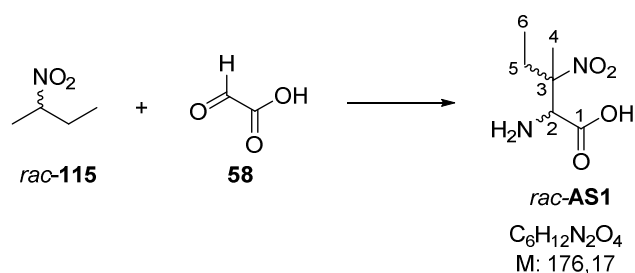


mCPBA (100 g, 579 mmol, 4.35 Äquiv.) wurde in 1,2-Dichlorethan (600 mL) gelöst und unter Rückfluss erhitzt. In CH_2Cl_2 (50 mL) gelöstes (*R,S*)-2-Aminobutan (**116**, 9.72 g, 13.5 mL, 133 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde langsam über 30 min zur siedenden Lösung getropft und danach für weitere 3 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde auf RT abgekühlt, filtriert und das Filtrat mit 1M NaOH-Lösung (3x 300 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittelgemisch unter vermindertem Druck auf die Hälfte des Volumens reduziert. Der Rückstand wurde fraktioniert destilliert und die Fraktionen von 60-67.5 °C aufgefangen. Das Produkt (5.22 g, 50.62 mmol, 38 %) wurde als farblose Flüssigkeit erhalten, welches Spuren von 1,2-Dichlorethan enthielt. Das Produkt **115** wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Daten stimmen mit den aus der Literatur genannten überein.^[118]

T_S: 67-68 °C/ 90 mbar (Lit.^[119]: 65-66 °C/ 93 mbar); **¹H-NMR** (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.57-4.47$ (m, 1H, H-2), 2.09-1.98 (m, 1H, H-3a), 1.87-1.75 (m, 1H, H-3b), 1.55 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-1), 0.99 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, H-4) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, $CDCl_3$; $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 85.0$ (t, C-2), 28.6 (s, C-3), 18.9 (p, C-1), 10.2 (p, C-4) ppm;

(*2RS,3RS*)-3-Nitroisoleucin (**AS1**)



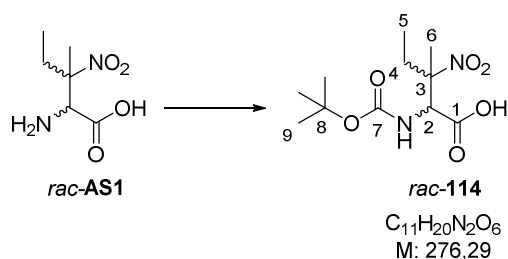
¹¹⁸ T. Nagano, H. Kinoshita, *Bull. Chem. Soc. Jpn* **2000**, 73, 1605-1613.

¹¹⁹ K. E. Gilbert, W. T. Borden, *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 659-661.

(*RS*)-2-Nitrobutan (**115**, 5.22 g, 50.6 mmol, 2.00 Äquiv.) wurde in 1M KOH-Lösung. (60 mL, 58.7 mmol, 2.30 Äquiv.) emulgiert, Ammoniak (25 % in Wasser, 39 mL, 253 mmol, 10.0 Äquiv.) und in Wasser (7.5 mL) gelöstes Gyloxalsäuremonohydrat (**58**, 2.33 g, 25.3 mmol, 1.00 Äquiv) hinzugegeben. Es wurde für eine Stunde bei RT gerührt. Anschließend wurde der pH-Wert des Gemisches mit Salzsäure (37 %) auf pH = 0 gesenkt und das Gemisch anschließend mit CH₂Cl₂ gewaschen (3x). Das Lösungsmittel der wässrigen Phase wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Ethanol aufgenommen, filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck auf 1/3 des Volumens aufkonzentriert. Der Rückstand wurde mit Anilin (10 mL) versetzt und die rote Lösung für 16 Stunden bei 4 °C gelagert. Anschließend wurde filtriert und der Feststoff mit wenig Ethanol gewaschen. Das Produkt **AS1** (1.59 g, 9.02 mmol, 36%, *d.r.* = 1.2:1) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

d.r. (A:B) = 1.2:1.0; (Da das Produkt in Reinform nicht in D₂O löslich war, wurden wenige Tropfen einer 1M HCl-Lösung der NMR-Probe hinzugefügt); Diastereomer A: ¹H-NMR (200 MHz, D₂O; DOH = 4.79 ppm): δ = 4.61 (s, 1H, H-2), 2.29-1.89 (m, 2H, H-5), 1.71 (s, 3H, H-4), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, H-6) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, D₂O; MeOH = 49.5 ppm): δ = 168.9 (q, C-1), 91.9 (q, C-3), 58.7 (t, C-2), 31.7 (s, C-5), 19.5 (p, C-4), 7.9 (p, C-6) ppm; Diastereomer B: ¹H-NMR (200 MHz, D₂O; DOH = 4.79 ppm): δ = 4.52 (s, 1H, H-2), 2.29-1.89 (m, 2H, H-5), 1.61 (s, 3H, H-4), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, H-6) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, D₂O; MeOH = 49.5 ppm): δ = 169.0 (q, C-1), 91.7 (q, C-3), 58.8 (t, C-2), 30.8 (s, C-5), 18.3 (p, C-4), 7.9 (p, C-6) ppm;

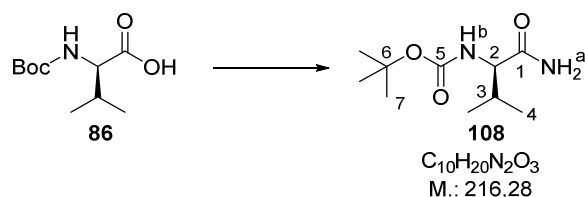
(2*RS*,3*RS*)-*N*-Boc-3-nitroisoleucin (**114**)



(2*RS*,3*RS*)-3-Nitroisoleucin (**AS1**, 100 mg, 570 μmol, 1.00 Äquiv.) und (Boc)₂O (150 mg, 690 μmol, 0.16 mL, 1.20 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (6 mL) gelöst und anschließend Et₃N (86,0 mg, 850 μmol, 0.12 mL, 1.50 Äquiv.) hinzugegeben. Es wurde für 16 Stunden bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Na₂CO₃-Lösung (10%) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O gewaschen (3x). Der pH-Wert der wässrigen Phase wurde mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt. Anschließend wurde die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x), die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **114** (110 mg, 400 μmol, 70%, *d.r.* = 1.7:1) wurde als farbloser Schaum erhalten.

d.r. (A:B) = 1.7:1; Diastereomer A: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD ; $\text{D}_2\text{CHOD} = 3.31$ ppm): $\delta = 7.15$ (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, NH), 4.82 (s, 1H, H-2), 2.19 (dq, $J = 14.8, 7.3$ Hz, 1H, H-4a), 1.95 (dq, $J = 14.8, 7.3$ Hz, 1H, H-4b), 1.63 (s, 3H, H-6), 1.45 (s, 9H, H-9), 0.91 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H, H-5) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.0$ ppm): $\delta = 171.7$ (q, C-1), 157.7 (q, C-7), 93.7 (q, C-3), 81.2 (q, C-8), 60.8 (t, C-2), 31.6 (s, C-4), 28.6 (3C, p, C-9), 19.0 (p, C-6), 8.4 (p, C-5) ppm; Diastereomer B: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD ; $\text{CD}_2\text{HOD} = 3.31$ ppm): $\delta = 7.00$ (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, NH), 5.11 (s, 1H, H-2), 2.09 (dq, $J = 14.8, 7.3$ Hz, 1H, H-4a), 1.82 (dq, $J = 14.8, 7.3$ Hz, 1H, H-4b), 1.52 (s, 3H, H-6), 1.47 (s, 9H, H-9), 0.85 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-5) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.0$ ppm): $\delta = 171.7$ (q, C-1), 158.1 (q, C-7), 93.4 (q, C-3), 81.2 (q, C-8), 59.9 (t, C-2), 32.1 (s, C-4), 28.6 (3C, p, C-9), 17.5 (p, C-6), 8.0 (p, C-5) ppm. {Das Messen einer hoch konzentrierten Lösung führte zu einem unvollständigen Austausch der NH-Protonen, welcher für Messungen in deuteriertem MeOH typisch ist. Die NH-Protonen besitzen daher eine geringe Intensität. Das Proton der freien Säure ist im Spektrum nicht sichtbar.}

N-Boc-D-valinamid (108)

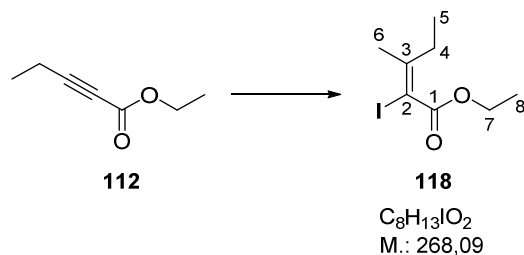


N-Boc-D-valin (**86**, 5.00 g, 23.0 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (230 mL) gelöst und auf -15 °C gekühlt (Kälteisbad). IBCF (3.39 g, 24.9 mmol, 3.22 mL, 1.08 Äquiv.) und NMM (2.79 g, 3.03 mL, 27.6 mmol, 1.20 Äquiv.) wurden nacheinander hinzugegeben. Anschließend wurde für 30 min bei -15 °C gerührt, um danach Ammoniak-Lösung (25% in H_2O , 10.3 g, 11.3 mL, 6.57 Äquiv.) hinzuzutropfen. Die Reaktion wurde für insgesamt 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Kälteisbad auf RT erwärmt wurde. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand aus MTBE umkristallisiert. Das Produkt **108** (3.91 g, 18.1 mmol, 79%) wurde in Form farbloser Flocken erhalten.

T_M : 156-158 °C (Lit.^[55]: 155-157 °C); $[\alpha]_D^{24.1}$: $+0.6^\circ$ ($c = 2.16$, MeOH) {Lit.^[55]: $+2.5^\circ$ ($c = 1.14$, MeOH)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_6 = 2.50$ ppm): $\delta = 7.25$ (s, 1H, NH_a), 6.98 (s, 1H, NH_a), 6.50 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, NH_b), 3.72 (dd, $J = 8.9, 6.7$ Hz, 1H, H-2), 1.90 (okt, $J = 6.6$ Hz, 1H, H-3), 0.85 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-4a), 0.81 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-4b) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[120]

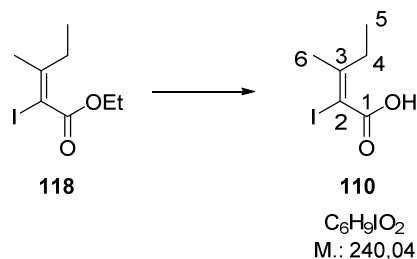
¹²⁰ Z. Xia, C. D. Smith, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 3459-3466.

(E)-2-Iodo-3-methylpent-2-ensäureethylester


Kupfer(I)-iodid (15.2 g, 80.0 mmol, 1.50 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (500 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. MeLi (1.6M in Et₂O, 100 mL, 160 mmol, 3.00 Äquiv.) wurde hinzuge tropft und danach für 30 min bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde daraufhin auf -78 °C gekühlt und Ethyl-2-pentinoat (**112**, 6.73 g, 7.00 mL, 53.3 mmol, 1.00 Äquiv.) über 10 min hinzuge tropft. Die Reaktion wurde danach für weitere 3 h bei -78 °C gerührt und anschließend in wasserfreiem THF (150 mL) gelöstes Iod (41.0 g, 162 mmol, 3.03 Äquiv.) mittels einer Transferkanüle dem Reaktionsgemisch hinzugegeben. Es wurde für weitere 15 min bei -78 °C gerührt. Durch Zugabe einer gesättigten Na₂S₂O₃-Lösung und Et₂O wurde die Reaktion beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O extrahiert (4x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NH₄Cl-Lösung und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert, und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand (14.3 g, 53.3 mmol, quant.) wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.24 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-7), 2.45 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-4), 2.05 (s, 3H, H-6), 1.32 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-8), 1.08 (t, *J* = 7.5 Hz, H-5) 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), 30.0 (p, C-6), 28.8 (s, C-4), 14.2 (p, C-8), 13.0 (p, C-5) ppm;

Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[107]

(E)-2-Iodo-3-methylpent-2-ensäure (110)


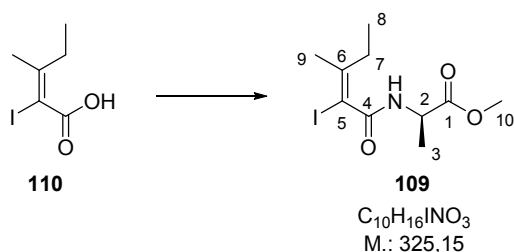
Ethylester **118** (4.67 g, 17.4 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in Ethanol (4 mL, entgast^[121]) gelöst und anschließend LiOH (2.3M in H₂O, entgast^[121], 30.3 mL, 69.7 mmol, 4.00 Äquiv.) hinzugegeben. Die

¹²¹ Entgasung wurde an dieser Stelle durch das Durchleiten von Argon-Gas für ca. 30 min vorgenommen.

Reaktion wurde für 22 h bei 60 °C gerührt und anschließend durch Zugabe von Et₂O beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O gewaschen (2x). Daraufhin wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (4x). Die vereinigten organischen Phasen wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **110** (3.45 g, 14.4 mmol, 83 %) wurde direkt weiterverwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 2.61 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-4), 2.13 (s, 3H, H-6), 1.10 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, H-5) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 170.9 (q, C-1), 161.5 (q, C-3), 84.7 (q, C-2), 30.6 (p, C-6), 30.5 (s, C-4), 13.0 (p, C-5) ppm.

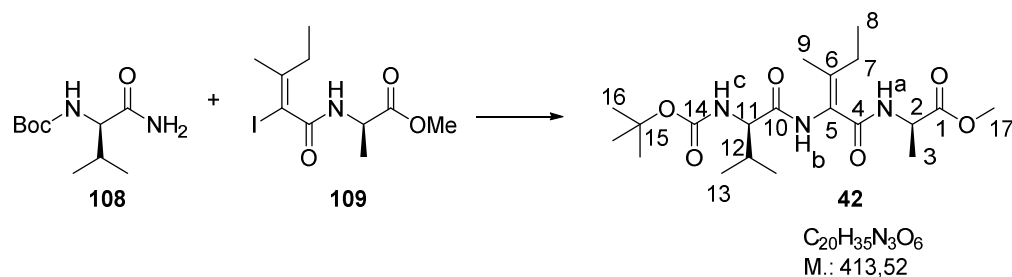
N-((*E*)-2-Iodo-3-methylpent-2-enyl)-D-alaninmethylester (**109**)



D-Alaninmethylester Hydrochlorid (1.05 g, 7.52 mmol, 1.20 Äquiv.), HOAt (0.91 g, 6.69 mmol, 1.07 Äquiv.) und PyAOP (3.50 g, 6.71 mmol, 1.07 Äquiv.) wurden in wasserfreiem DMF (60 mL) gelöst. Säure **110** (1.50 g, 6.25 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem DMF (5 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch hinzugegeben, das Gemisch auf 0 °C gekühlt und DIPEA (4.04 g, 5.40 ml, 31.2 mmol, 5.00 Äquiv.) über 10 min hinzugegeben. Die Reaktion wurde für insgesamt 20 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von einer gesättigten NH₄Cl-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (6x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 4:1) lieferte das Produkt **109** (1.40 g, 4.31 mmol, 69%) als farblosen Feststoff.

T_M: 58-60 °C (Lit.^[107]: 58-60 °C); [α]_D³⁰: +12.7° (*c* = 1.60; CH₂Cl₂) {Lit.^[107]: +12.5° (*c* = 1.00, CH₂Cl₂)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.23 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H, NH), 4.61 (pent, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-2), 3.77 (s, 3H, H-10), 2.40 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-7), 1.98 (s, 3H, H-9), 1.44 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H, H-3), 1.07 (t, *J* = 7.5 Hz, H-8) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 173.3 (q, C-1), 166.7 (q, C-4), 151.1 (q, C-6), 87.0 (q, C-5), 52.7 (p, C-10), 48.6 (t, C-2), 29.3 (p, C-9), 27.3 (s, C-7), 18.2 (p, C-3), 13.2 (p, C-8) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[107]

(*N*-Boc-D-valyl)-((*E*)- α,β -dehydrovalyl)-D-alaninmethylester (42**)**


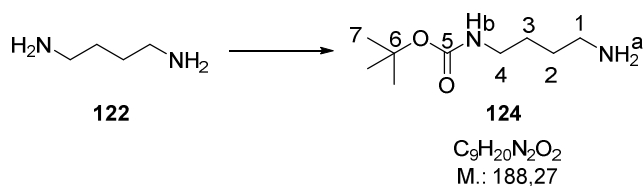
Es wurde jeweils in vier separaten Ansätzen K_2CO_3 (106 mg, 769 μmol , 2.00 Äquiv.) bei 500 °C ausgeheizt. Anschließend wurden jeweils Carbonsäureamid **108** (83.3 mg, 385 μmol , 1.00 Äquiv.), Vinyljodid **109** (250 mg, 769 μmol , 2.00 Äquiv.), Kupfer(I)-jodid (44.0 mg, 231 μmol , 0.60 Äquiv.), 1,4-Dioxan (0.5 mL, entgast, *fpt*) und (*rac*)-*trans*-*N,N'*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (**51**, 226 mg, 1.59 mmol, 0.25 mL, 4.12 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktionen für 20 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurden eine gesättigte NH_4Cl -Lösung und EtOAc hinzugefügt und alle Ansätze vereinigt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 \rightarrow 99.5:0.5 \rightarrow 99:1) lieferte das Produkt **42** (415 mg, 1.00 mmol, 65% {durschnittliche Ausbeute über alle 4 Ansätze}, *d.r.* > 10:1) als farblosen Feststoff.

T_M : 186 °C (Lit.^[107]: 177 °C (Zersetzung)); $[\alpha]_D^{24}$: +23.5° ($c = 1.01$; CH_2Cl_2) {Lit.^[107]: +21.2° ($c = 1.82$; CH_2Cl_2)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.98$ (s, 1H, NH_b), 7.74 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, NH_a), 6.85 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, NH_c), 4.29 (pent, $J = 7.1$ Hz, 1H, H-2), 3.77 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-11), 3.61 (s, 3H, H-17), 2.35 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-7), 1.95 (okt, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-12), 1.66 (s, 3H, H-9), 1.38 (s, 9H, H-16), 1.26 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-3), 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-8), 0.89 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-13a), 0.87 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-13b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.9$ (q, C-1), 170.7 (q, C-10), 164.9 (q, C-4), 155.8 (q, C-14), 140.2 (q, C-5 od. C-6), 124.6 (q, C-5 od. C-6), 78.1 (q, C-15), 60.1 (t, C-11), 51.7 (p, C-17), 47.7 (t, C-2), 29.7 (t, C-12), 28.2 (3C, p, C-16), 26.2 (s, C-7), 19.2 (p, C-13a od. C-13b), 18.6 (p, C-13a od. C-13b), 17.9 (p, C-9), 16.9 (p, C-3), 12.7 (p, C-8) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[107]

7.3.6 Fragment E

N-Boc-1,4-diaminobutan (**124**)

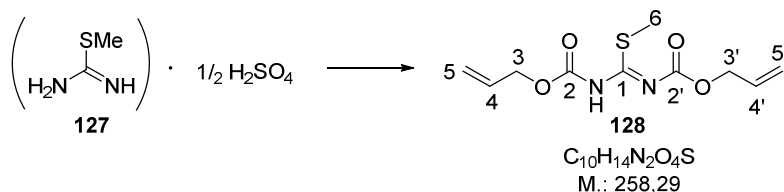


1,4-Diaminobutan (**122**, 36.0 g, 41.1 ml, 409 mmol, 7.70 Äquiv.) wurde in 1,4-Dioxan (100 mL) gelöst und Boc₂O (11.6 g, 53.1 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in 1,4-Dioxan (100 mL) wurde über 2 h bei RT hinzugegeben. Es wurde für 20 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert (4x), die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **124** (9.52 g, 50.6 mmol, 95%) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung direkt weiter verwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.69 (bs, 1H, H_b), 3.18-3.05 (m, 2H, H-4), 2.76-2.68 (m, 2H, H-1), 1.56-1.46 (m, 4H, H-2 u. H-3), 1.43 (s, 9H, H-7) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[107]

N,N'-Di-alloc-*S*-methylisothioharnstoff (**128**)



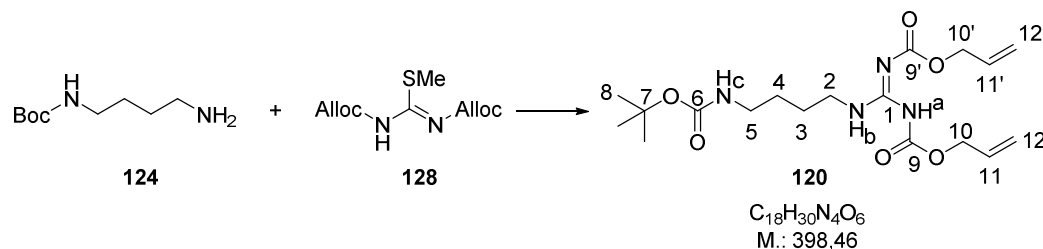
S-Methylisothioharnstoff Hemisulfat (**127**, 5.00 g, 35.9 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in NaHCO₃-Lösung (10%, 50 mL) gelöst sowie CH₂Cl₂ (50 mL) und NaOH-Lösung (5M in H₂O, 7.2 mL, 1.00 Äquiv.) hinzugegeben. Anschließend wurde Allylchloroformiat (13.0 g, 11.5 ml, 107.8 mmol, 3.00 Äquiv.) über 5 min hinzugegeben und das Gemisch für 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser und CH₂Cl₂ beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (1x) und NaCl-Lösung (1x) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/CH₂Cl₂, 6:1 -> 5:1 -> 2:1 -> 0:1) lieferte das Produkt **128** (5.09 g, 19.7 mmol, 55%) als farbloses Öl, das während der Lagerung bei -15 °C zu einem farblosen Feststoff erstarrte.

T_M : 30-32 °C; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 11.8 (bs, 1H, NH), 6.01-5.88 (m, 2H, H-4 u. H-4'), 5.37 (dq, *J* = 17.1, 1.4 Hz, 2H, H-5a u. H-5'a), 5.31-5.25 (m, 2H, H-5b u. H-5'b),

4.68-4.64 (m, 4H, H-3 u. H-3'), 2.43 (s, 3H, H-6) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.9$ (q, C-1), 161.0 (q, C-2 od. C-2'), 151.6 (q, C-2 od. C-2'), 131.6 (2C, t, C-4 u. C-4'), 119.3 (2C, s, C-5 u. C-5'), 67.2 (2C, s, C-3 u. C-3'), 14.7 (p, C-6) ppm.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[122]

N-Boc-*N* θ ,*N* θ' -di-alloc-agmatin (**120**)



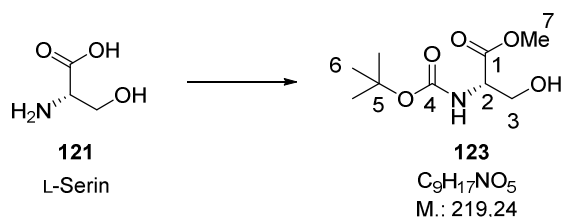
N-Boc-1,4-diaminobutan (**124**, 9.52 g, 50.6 mmol, 1.29 Äquiv.) und *N,N'*-Di-alloc-*S*-methylisothioharnstoff (**128**, 10.1 g, 39.1 mmol, 1.00 Äquiv.) wurden in THF (400 mL) gelöst und mit Et_3N (19.8 g, 27.1 mL, 196 mmol, 5.00 Äquiv.) versetzt. Es wurde für 72 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Na_2CO_3 (10%) beendet und THF unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde der wässrige Rückstand mit EtOAc extrahiert (3x), die vereinigten organischen Phasen mit 1M HCl-Lösung und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:0 \rightarrow 99:1 \rightarrow 98:2 \rightarrow 97.5:2.5) lieferte das Produkt **120** (14.5 g, 36.4 mmol, 93%) als farblosen, leicht schmierigen Feststoff. (7% des verwendeten Isothioharnstoffes **128** konnten reisoliert werden.)

T_M : 74-76 °C (Lit.^[123]: 73-77 °C); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 11.71$ (s, 1H, NH), 8.33 (s, 1H, NH), 5.97 (ddt, $J = 17.2, 10.4, 5.8$ Hz, 1H, H-11 od. H-11'), 5.90 (ddt, $J = 17.2, 10.4, 5.8$ Hz, 1H, H-11 od. H-11'), 5.39-5.26 (m, 3H, H-12a/b, H-12'a), 5.23-5.18 (m, 1H, H-12'b), 4.64 (dt, $J = 5.8, 1.2$ Hz, 2H, H-10 od. H-10'), 4.59 (dt, $J = 5.8, 1.3$ Hz, 2H, H-10 od. H-10'), 3.44 (dt, $J = 6.9, 5.6$ Hz, 2H, H-5), 3.13 (q, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-2), 1.66-1.48 (m, 4H, H-3 u. H-4), 1.43 (s, 9H, H-8) ppm.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[123]

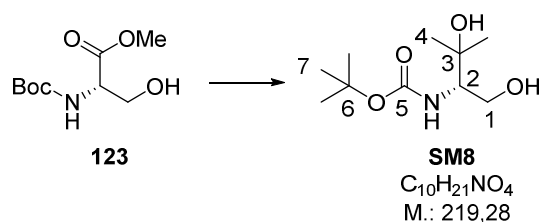
¹²² Patent, Merck and Co., Inc., US6140318A1, 2000.

¹²³ F. Gille, Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover 2012.

(2S)-N-Boc-2-amino-3-methyl-3-hydroxybutan-1-ol (SM8)
Bildung des Methylesters und Boc-Schützung:


L-Serin (**121**, 10.0 g, 95.3 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem Methanol (200 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Frisch destilliertes Thionylchlorid (67.3 g, 41.1 mL, 567 mmol, 5.95 Äquiv.) wurde vorsichtig über 15 min hinzuge tropft. Anschließend wurde auf RT erwärmt und die Reaktion für weitere 20 h bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit Et₂O coevaporiert (3x). Anschließend wurde erneut in wasserfreiem CH₂Cl₂ (400 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und dann Et₃N (26.1 g, 36.0 mL, 258 mmol, 2.71 Äquiv.) hinzuge tropft. Boc₂O (23.0 g, 105 mmol, 1.10 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für insgesamt 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 95:5) gereinigt. Das Produkt **123** (14.2 g, 64.6 mmol, 68%) wurde als farbloses, viskoses Öl erhalten und direkt weiterwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.43 (bs, 1H, NH), 4.39 (m, 1H, H-2), 3.97 (dd, *J* = 11.1, 3.9 Hz, 1H, H-3a), 3.91 (dd, *J* = 11.1, 3.4 Hz, 1H, H-3b), 3.79 (s, 3H, H-7), 1.46 (s, 9H, H-6) ppm.

GRIGNARD-Addition:


Ester **123** (14.2 g, 64.6 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem Et₂O (350 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. MeMgBr (3M in Et₂O, 129.2 mL, 129.2 mmol, 6.00 Äquiv.) wurde hinzuge tropft und die Reaktion auf RT erwärmt.^[124] Es wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Die Reaktion wurde durch Zugabe einer gesättigten NH₄Cl-Lösung beendet. Die Phasen wurden

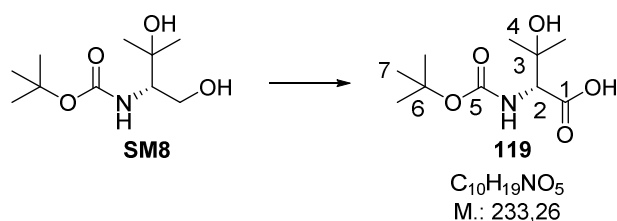
¹²⁴ Anmerkung: Bei Zugabe von MeMgBr fiel sehr viel Feststoff aus, der sich aber beim Erwärmen auf RT wieder löste.

getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (3x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 3:2) lieferte das Produkt **SM8** (13.4 g, 61.1 mmol, 95%) als farblosen Feststoff.

T_M: 62 °C (Lit.^[55]: 87-89 °C); [α]_D^{22.2} = -4.6 ° (c = 1.18; MeOH) {Lit.^[107]: -4.9 ° (c = 1.00; MeOH)}; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.39 (bs, 1H, NH), 4.02 (dd, *J* = 11.4, 2.9 Hz, 1H, H-1a), 3.80 (dd, *J* = 11.4, 2.9 Hz, 1H, H-1b), 3.46 (s, 1H, H-2), 2.56 (bs, 2H, OH_a u. OH_b), 1.45 (s, 9H, H-7), 1.35 (s, 3H, H-4a), 1.24 (s, 3H, H-4b) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[107]

N-Boc-3-hydroxy-D-valin (**119**)



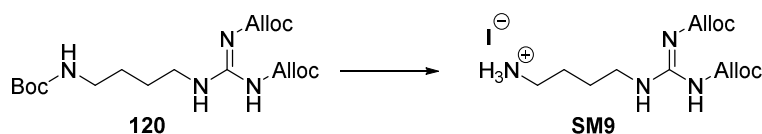
Primärer Alkohol **SM8** (6.68 g, 30.5 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in MeCN (50 mL) gelöst. Es wurden Phosphatpuffer (pH = 7, 45 mL) und TEMPO (503 mg, 3.04 mmol, 0.10 Äquiv.) hinzugegeben und das Gemisch auf 35 °C erwärmt. Über 2 h hinweg wurden portionsweise NaClO₂ (2M in H₂O, 30.5 mL, 61.0 mmol, 2.00 Äquiv.) und NaOCl (0.04M in H₂O, 15.3 mL, 0.61 mmol, 0.02 Äquiv.) so hinzugegeben, dass sich die Lösungen erst in der Reaktion vermischten. Anschließend wurde die Reaktion für weitere 24 h bei 35°C gerührt. Eine DC-Kontrolle wies darauf hin, dass nach 24h noch Startmaterial vorhanden war, sodass weiteres NaClO₂ (2M in H₂O, 30.5 mL, 61.0 mmol, 2.00 Äquiv.) und NaOCl (0.04M in H₂O, 15.3 mL, 0.61 mmol, 0.02 Äquiv.) auf dieselbe Weise wie oben beschrieben hinzugetropft und die Reaktion erneut für 24 h bei 35°C gerührt wurde. Anschließend wurde der pH-Wert mit Zitronensäure-Lösung (10%) auf pH = 2 gesenkt und das Gemisch mit EtOAc extrahiert (3x). Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit ges. NaHCO₃-Lösung aufgenommen. Die wässrige Lösung wurde mit EtOAc gewaschen und der pH-Wert mit 1M Phosphorsäure auf pH = 2 gesenkt. Anschließend wurde die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (4x). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit CH₂Cl₂ coevaporiert (3x). Das Produkt **119** (5.73 g, 24.6 mmol, 81%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

T_M : 116 °C (Lit.^[107]: 116 °C); $[\alpha]_D^{22.2}$: +2.1 ° (c = 2.13; MeOH) {Lit.^[107]: +2.2 ° (c = 2.97; MeOH)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD, D₂CHOD = 3.31 ppm): δ = 4.08 (s, 1H, H-2), 1.45 (s, 9H, H-7), 1.29 (s, 3H, H-4a), 1.26 (s, 3H, H-4b) ppm.

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[107,125]

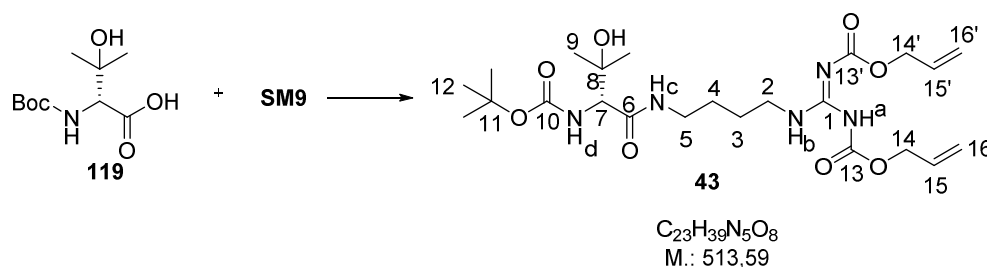
(*N*-Boc-D-3-hydroxyvalyl)-*N* θ ,*N* θ' -bisalloc-*N* α -agmatid (**43**)

Boc-Entschützung:



tert-Butylcarbamate **120** (1.00 g, 2.51 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (25 mL) gelöst und anschließend TMSI (552 mg, 0.39 mL, 2.76 mmol, 1.10 Äquiv.) hinzuge tropft. Die Reaktion wurde für 5 min bei RT gerührt und anschließend durch Zugabe von MeOH (5 mL) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit CH₂Cl₂ coevaporiert (3x). Das so isolierte Hydroiodid **SM9** wurde anschließend direkt weiterverwendet.

Peptidkupplung:



Hydroiodid **SM9** (2.51 mmol, 1.10 Äquiv.) und *N*-Boc-3-hydroxy-D-valin (**119**) (532 mg, 2.28 mmol, 1.00 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (30 mL) und wasserfreiem DMF (5 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Oxyma (486 mg, 3.42 mmol, 1.50 Äquiv.), EDC•HCl (546 mg, 2.85 mmol, 1.25 Äquiv.) und NaHCO₃ (957 mg, 11.4 mmol, 5.00 Äquiv.) wurden hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde anschließend durch Zugabe von 1M HCl-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt, die organische Phase mit 1M HCl-Lösung (2x), einer gesättigten NaHCO₃-Lösung (2x) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde

¹²⁵ Die Säure **119** wurde freundlicher Weise von Dr. F. Gille und Dr. M. Moreno und dem Studenten R. Gieseler bereitgestellt.

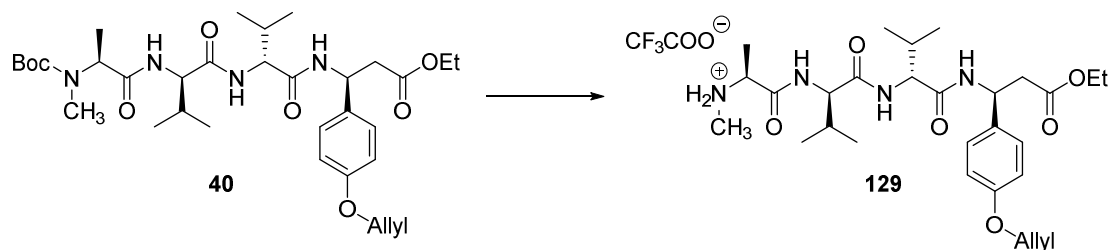
mittels Säulenchromatographie (BÜCHI: NP-Kartusche {40x150mm}; CH₂Cl₂/MeOH; 80 mL/min; 15 s/Fr.; 1.0-3.0% MeOH {15 min}; t_R: 7.5-11.25 min) gereinigt. Das Produkt **43** (829 mg, 1.61 mmol, 71%) wurde als farbloses Öl erhalten.

[α]_D²⁴: +17.8° (c = 1.60; CH₂Cl₂); [α]_D^{27.8}: +13.2° (c = 1.46; MeOH) {Lit.^[107]: +12.4° (c = 1.03; MeOH)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 11.71 (s, 1H, NH_a), 8.33 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H, NH_b), 6.70 (s, 1H, NH_c), 5.97 (ddt, *J* = 17.2, 10.7, 5.7 Hz, 1H, H-15'), 5.89 (ddt, *J* = 17.2, 10.6, 5.7 Hz, 1H, H-15), 5.54 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, NH_d), 5.40-5.26 (m, 3H, H-16a/b, H-16'a), 5.23-5.18 (m, 1H, H-16'b), 4.67-4.61 (m, 2H, H-14), 4.61-4.56 (m, 2H, H-14'), 4.21 (bs, 1H, OH), 3.84 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-7), 3.43 (q, *J* = 6.3 Hz, 2H, H-2), 3.29 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, H-5), 1.67-1.51 (m, 4H, H-3 u. H-4), 1.41 (s, 9H, H-12), 1.28 (s, 3H, H-9a), 1.17 (s, 3H, H-9b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.4 (q, C-6), 163.3 (q, C-13'), 156.4 (q, C-1 od. C-10), 156.1 (q, C-1 od. C-10), 153.9 (q, C-13), 133.0 (t, C-15'), 131.1 (t, C-15), 119.6 (s, C-16), 118.1 (s, C-16'), 80.2 (q, C-11), 71.7 (q, C-8), 67.2 (s, C-14), 66.5 (s, C-14'), 60.0 (t, C-7), 40.7 (s, C-2), 38.9 (s, C-5), 28.4 (3C, p, C-12), 27.7 (p, C-9a), 26.5 (s, C-3 od. C-4), 26.4 (s, C-3 od. C-4), 25.5 (p, C-9b) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₃H₄₀N₅O₈ [M + H⁺]: 514.2877, gefunden 514.2880.

7.3.7 Endspiel - Fragment-Kupplungen

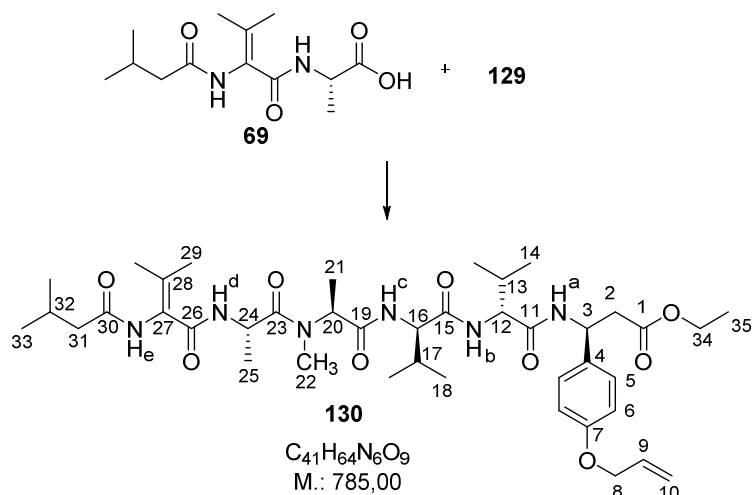
Fragment AB (130)

Boc-Entschützung:



tert-Butylcarbammat **40** (56.0 mg, 88.5 μ mol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ gelöst und auf 0 °C gekühlt. TFA (503 mg, 4.41 mmol, 50.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 2 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden alle flüchtigen Komponenten der Reaktion unter vermindertem Druck (0.5 mbar, RT) entfernt und der Rückstand mit MeOH (2x, 0.5 mbar, RT) und CH₂Cl₂ (1x, 20 mbar, 40 °C) coevaporiert. Das so erhaltene Harz wurde direkt weiterverwendet.

Peptid-Kupplung:



TFA-Salz **129** (4.41 mmol, 1.00 Äquiv.), Säure **69** (28.7 mg, 106 μ mol, 1.20 Äquiv.) und HOAt (18.1 mg, 133 μ mol, 1.50 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (1 mL) und wasserfreiem DMF (1 mL) gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. EDC \cdot HCl (25.5 mg, 133 μ mol, 1.50 Äquiv.) und $NaHCO_3$ (37.2 mg, 443 μ mol, 5.00 Äquiv.) wurden als Feststoff hinzugegeben und die Reaktion für insgesamt 20 h gerührt, während das Gemisch im Kälteeisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt (0.5 mbar, RT) und der Rückstand in 5 mL $H_2O/MeOH$ (1:2) aufgenommen und mittels RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x150 mm}; H_2O (0.1 % FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R : 41-46 min) gereinigt. Das Produkt **130** (34 mg, 43.3 μ mol, 49%, *d.r.* = 1.4:1) wurde als farbloser Film erhalten.

NMR-Messung bei RT. Es wurde ein Gemisch aus zwei Diastereoisomeren (*x*:*y* = 1.4:1) gemessen, welche jeweils zwei Rotamere (*major*:*minor* = 2:1) ausbildeten. Im Spektrum waren folglich vier Signalsätze erkennbar. Eine exakte Zuordnung einzelner Signalsätze zum jeweiligen Diastereoisomer (*x*,*y*) bzw. zu dessen Rotameren (*x*-*major*; *x*-*minor*; *y*-*major*; *y*-*minor*) wurde über 2D spektroskopische Messungen COSY, HSQC, HMBC sowie den Abgleich der Integralverhältnisse in einer 1H - und ^{13}C -NMR Messung bestimmt. Im Folgenden wurde die Summe aller Signale angegeben:

Tabelle 14: 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$; $DMSO-d_5$ = 2.50 ppm); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$; $DMSO-d_6$ = 39.52 ppm)

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
172.3	C-23 (q, <i>y</i> -major)				
172.1	C-23 (q, <i>x</i> -major)				
172.0	C-23 (q, <i>x</i> / <i>y</i> -minor)				
171.0	C-19 (q, <i>x</i> -minor)				
170.9	C-30 (q, <i>x</i> -minor)				
170.9	C-19 (q, <i>x</i> -major) u.				

Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
	C-30 (q, x-major)				
170.9	C-19 (q, y-major)				
170.8	C-15 (q, x-minor)				
170.7	C-15 (q, y-major)				
170.7	C-15 (q, x-major) od. C-30 (q, y-major/ minor)				
170.7	C-15 (q, x-major) od. C-30 (q, y-major/ minor)				
170.6	C-15 (y-minor)				
170.1	C-1 (q)				
169.9	C-19 (q, y-minor)				
169.8	C-11 (q, y-minor)				
169.8	C-11 (q, y-major)				
169.8	C-11 (q, x-major)				
169.8	C-11 (q, x-minor)				
165.0	C-26 (q, y-minor)				
164.7	C-26 (q, y-major)				
164.5	C-26 (q, x-major)				
164.4	C-26 (q, x-minor)				
157.2	C-7 (q)				
135.4	C-27 (q, y-major)				
135.0	C-27 (q, y-minor)				
134.9	C-27 (q, x-minor)				
134.3	C-27 (q, x-major)				
133.9	C-4 (q, y-minor/ major)				
133.9	C-4 (q, x-minor/ major)				
133.8	C-9 (q)	6.01	ddt ($J = 17.3,$ $10.5, 5.3$ Hz)	1H	H-9
127.6	C-5 (2C, t, x-major)	7.22-7.18	m	2H	H-5
127.5	C-5 (2C, t, y-major)				
127.5	C-5 (2C, t, x-minor)				
127.5	C-5 (2C, t, y-minor)				
125.5	C-28 (q, x-major)				
125.4	C-28 (q, x-minor)				
125.2	C-28 (q, y-minor)				
125.2	C-28 (q, y-major)				
117.3	C-10 (s)	5.36	dq ($J = 17.2,$ 1.6 Hz)	1H	H-10a
		5.25-5.21	m	1H	H-10b

Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
114.3	C-6 (2C, t, y-minor)	6.87-6.83	m	2H	H-6
114.3	C-6 (2C, t, x-minor)				
114.3	C-6 (2C, t, y-major)				
114.3	C-6 (2C, t, x-major)				
68.1	C-8 (s)	4.53	dt ($J = 5.2$, 1.4 Hz)	2H	H-8
59.9	C-34 (s)	4.03-3.94	m	2H	H-34
58.1	C-16 (t, y-major)	4.12-4.06	m	1.25H	H-12 H-16 (y-major)
58.1	C-16 (t, y-minor)	4.17-4.13	m	0.55H	H-16 (x-major u. y-minor)
58.0	C-12 (t, x-minor/ y-major)	4.12-4.06	m	1.25H	H-12 H-16 (y-major)
58.0	C-12 (t, x-major)				
57.9	C-12 (t, y-minor)				
57.5	C-16 (t, x-major)	4.17-4.13	m	0.55H	H-16 (x-major u. y-minor)
57.5	C-16 (t, x-minor)	4.20	dd ($J = 8.8$, 7.8 Hz)	0.2H	H-16 (x-minor)
53.9	C-20 (t, y-minor)	4.87	q ($J = 6.6$ Hz)	0.15H	H-20 (y-minor)
53.6	C-20 (t, x-minor)	4.83-4.76	m	0.4H	H-20 (x-minor) H-24 (x-minor)
52.2	C-20 (t, y-major)	4.94	q ($J = 7.1$ Hz)	0.25H	H-20 (y-major)
51.7	C-20 (t, x-major)	5.00	q ($J = 7.2$ Hz)	0.4H	H-20 (x-major)
48.6	C-3 (t, y-major)	5.17	q ($J = 7.8$ Hz)	1H	H-3
48.6	C-3 (t, x-major)	5.17	q ($J = 7.8$ Hz)	1H	H-3
48.6	C-3 (t, x/y-minor)	5.17	q ($J = 7.8$ Hz)	1H	H-3
45.4	C-24 (t, x-minor)	4.83-4.76	m	0.4H	H-20 (x-minor) H-24 (x-minor)
45.1	C-24 (t, x/y-major)	4.73-4.64	m	0.8H	H-24 (x/y-major u. y-minor)
44.7	C-24 (t, y-minor)	4.73-4.64	m	0.8H	H-24 (x/y-major u. y-minor)
44.3	C-31 (s, x-minor)	2.08-1.84	m	8H	H-13; H-17; H-29a; H-31 ; H-32
44.3	C-31 (s, x-major)				
44.2	C-31 (s, y-major)				
44.2	C-31 (s, y-minor)				
40.6	C-2 (s)	2.76-2.66	m	2H	H-2
30.8	C-22 (p, y-major)	2.87	s	0.75H	H-22 (y-major)
30.5	C-17 (t, x-minor)	2.08-1.84	m	8H	H-13; H-17 ; H-29a; H-31; H-32

Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
30.4	C-13 (t);	2.08-1.84	m	8H	H-13 ; H-17; H-29a; H-31; H-32
	C-22 (p, x-major)	2.86	s	1.2H	H-22 (x-major)
30.3	C-17 (t, x-major)	2.08-1.84	m	8H	H-13; H-17 ; H-29a; H-31; H-32
30.0	C-17 (t, y-major)				
30.0	C-17 (t, y-minor)				
29.2	C-22 (p, x-minor)	2.77	s	0.6H	H-22 (x-minor)
28.6	C-22 (p, y-minor)	2.63	s	0.45H	H-22 (y-minor)
25.5	C-32 (t, x/y-major u. x-minor)	2.08-1.84	m	8H	H-13; H-17; H-29a; H-31; H-32
25.5	C-32 (t, y-minor)				
22.3	C-33 (2C, p)	0.90-0.87	m	6H	H-33a/b
20.9	29a (p, y-major)	2.08-1.84	m	8H	H-13; H-17; H-29a ; H-31; H-32
20.8	29a (p, y-minor)	2.08-1.84	m	8H	H-13; H-17; H-29a ; H-31; H-32
20.8	29a (p, x-minor)				
20.7	29a (p, x-major)				
20.2	29b (p, y-minor)	1.66-1.64	m	3H	H-29b
20.2	29b (p, y-major)				
20.1	29b (p, x-minor)				
20.1	29b (p, x-major)				
19.2	14a (p, x/y-major u. x-minor)	0.81-0.72	m	12H	H-14a/b ; H-18a/b
19.1	14a (p, y-minor)				
19.0	18a (p, x/y-major)	0.81-0.72	m	12H	H-14a/b; H-18a/b
19.0	18a (p, x/y-minor)				
18.4	18b (p, y-minor)	0.81-0.72	m	12H	H-14a/b; H-18a/b
18.3	18b (p, x-minor)				
18.3	14b (p, x/y-major)	0.81-0.72	m	12H	H-14a/b ; H-18a/b
18.2	14b (p, x/y-minor)				
18.2	18b (p, y-major)	0.81-0.72	m	12H	H-14a/b; H-18a/b
18.2	25 (p, x-minor)	1.04	d ($J = 6.7$ Hz)	0.6H	H-25 (x-minor)
18.0	18b (p, x-major)	0.81-0.72	m	12H	H-14a/b; H-18a/b
17.8	25 (p, y-minor)	1.18-1.16	m	2.4H	H-25 (x/y-major u. y-minor)
17.4	25 (p, x-major)				
17.3	25 (p, y-major)				
16.8	21 (p, x-minor)	1.33	d ($J = 6.9$ Hz)	0.6H	H-21 (x-minor)
15.6	21 (p, y-minor)	1.25	d ($J = 6.9$ Hz)	0.45H	H-21 (y-minor)
14.6	21 (p, y-major)	1.20	d ($J = 6.7$ Hz)	1.95H	H-21 (x/y-major)
14.4	21 (p, x-major)				

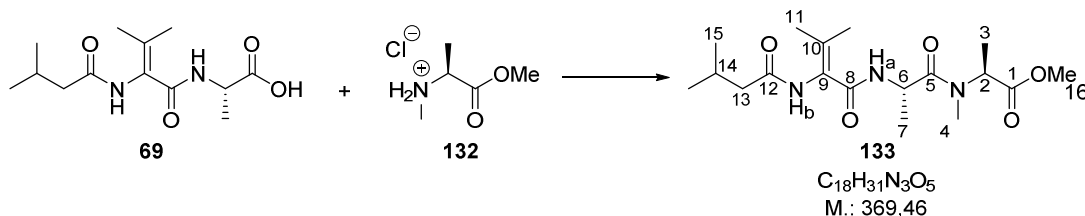
Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
14.0	35 (p)	1.12	t ($J = 7.1$ Hz)	3H	H-35
	NH _e	8.93-8.89	m	1H	NH _e
	NH _a	8.43-8.37	m	1H	NH _a
	NH _c	8.04	d ($J = 9.0$ Hz)	0.2H	NH _c (x-minor)
	NH _b	7.94	d ($J = 9.0$ Hz)	0.2H	NH _b (x-minor)
	NH _c	7.88	d ($J = 8.5$ Hz)	0.15H	NH _c (y-minor)
	NH _b /NH _d	7.82-7.77	m	0.7H	NH _b (x-major/ y-minor); NH _d (y-minor)
	NH _b	7.74	d ($J = 8.9$ Hz)	0.25H	NH _b (y-major)
	NH _d	7.63	d ($J = 7.6$ Hz)	0.4H	NH _d (x-major)
	NH _c	7.59	d ($J = 8.5$ Hz)	0.25H	NH _c (y-major)
	NH _d	7.58	d ($J = 6.7$ Hz)	0.25H	NH _d (y-major)
	NH _c /NH _d	7.55-7.53	m	0.6H	NH _c (x-major); NH _d (x-minor)

Hochtemperatur NMR (410K). Es wurde ein Gemisch aus zwei Diastereoisomeren (major:minor = 1,5:1) gemessen: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.38$ (bs, 1H, NH_e), 7.81-7.79 (m, 1H, NH_a), 7.32-7.30 (m, 1H, NH_b), 7.26-7.20 (m, 2H, H-5), 7.18-7.17 (m, 1H, NH_d), 7.13-7.11 (m, 1H, NH_c), 6.89-6.84 (m, 2H, H-6), 6.03 (ddt, $J = 17.2, 10.5, 5.3$ Hz, 1H, H-9), 5.37 (dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 1H, H-10a), 5.25-5.18 (m, 2H, H-3 u. H-10b), 4.97 (q, $J = 7.0$ Hz, 0.6H, H-20, major), 4.89 (q, $J = 6.9$ Hz, 0.4H, H-20, minor), 4.78 (p, $J = 6.9$ Hz, 1H, H-24), 4.55 (dt, $J = 5.1, 1.5$ Hz, 2H, H-8), 4.18 (dd, $J = 8.2, 6.2$ Hz, 1H, H-16), 4.16 (dd, $J = 8.5, 6.7$ Hz, 1H, H-12), 4.03 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-34), 2.89 (s, 1.2H, H-22, minor), 2.87 (s, 1.8H, H-22, major), 2.81 (dd, $J = 15.2, 7.6$ Hz, 1H, H-2a), 2.73 (dd, $J = 15.4, 6.9$ Hz, 1H, H-2b), 2.14-1.98 (m, 5H, H-13 u. H-17 u. H-31 u. H-32), 1.97 (s, 3H, H-29a), 1.70 (s, 3H, H-29b), 1.31 (d, $J = 7.0$ Hz, 1.2H, H-21, minor), 1.28 (d, $J = 7.1$ Hz, 1.8H, H-21, major), 1.25 (d, $J = 6.7$ Hz, 1.8H, H-25, major), 1.23 (d, $J = 6.7$ Hz, 1.2H, H-25, minor), 1.15 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-35), 0.96 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H, H-33), 0.88-0.83 (m, 12H, H-14a/b u. H-18a/b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.9$ (q, C-23), 170.4 (q, C-30), 170.0 (q, C-19, minor), 169.9 (q, C-15), 169.9 (q, C-19, major), 169.2 (q, C-1), 169.1 (q, C-11, minor), 169.1 (q, C-11, major), 164.4 (q, C-26, minor), 164.4 (q, C-26, major), 157.0 (q, C-7), 135.5 (q, C-27), 133.4 (q, C-4), 133.3 (t, C-9), 126.9 (2C, t, C-5), 124.9 (q, C-28, major), 124.8 (q, C-28, minor), 116.1 (s, C-10), 114.2 (2C, t, C-6), 68.0 (s, C-8), 59.0 (s, C-34), 58.0 (t, C-16, minor), 57.7 (t, C-16, major), 57.7 (t, C-12), 53.0 (t, C-20, minor), 52.4 (t, C-20, major), 48.5 (t, C-3), 44.6 (t, C-24, minor), 44.5 (t, C-24, major), 43.7 (s, C-31), 29.6 (t, C-13), 29.5 (p, C-22, minor), 29.4 (t, C-17, major), 29.3 (t, C-17, minor), 29.2 (p, C-22, major), 24.6 (t, C-32), 21.5 (2C, p, C-33), 19.8 (p, C-29a, minor), 19.8 (p, C-29a, major), 19.2 (p, C-29b, minor), 19.2 (p, C-29b, major), 18.3 (p, C-18a, minor), 18.3 (p, C-18a, major), 18.2 (p, C-14a), 17.3 (p, C-18b, minor), 17.3 (p, C-14b), 17.2 (p, C-18b,

major), 17.0 (p, C-25, minor), 16.9 (p, C-25, major), 13.7 (p, C-21, minor), 13.2 (p, C-21, major), 13.0 (p, C-35) ppm; {C-2 befindet sich hinter dem DMSO-Signal}; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{41}H_{64}N_6O_9Na$ [$M + Na^+$]: 807.4632, gefunden 807.4632.

***N*-(3-Methylbutanoyl)- α,β -dehydrovalyl-L-alanyl-(*N*-methyl-L-alaninmethylester) (**133**)**



Fragment A (**69**, 50.0 mg, 185 μ mol, 1.00 Äquiv.) und *N*-Methyl-L-alaninmethylester Hydrochlorid (**132**, 31.0 mg, 203 μ mol, 1.10 Äquiv.) wurden in wasserfreiem MeCN/DMF (5:1, 2.4 mL) gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. HOAt (38.0 mg, 277 μ mol, 1.50 Äquiv.), EDC•HCl (44.0 mg, 231 μ mol, 1.25 Äquiv.) und NaHCO_3 (78.0 mg, 925 μ mol, 5.00 Äquiv.) wurden hinzugegeben und die Reaktion für 20 h gerührt, während das Gemisch in einem Kälteeisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde mit H_2O und MeOH verdünnt und das Gemisch durch RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x150 mm}, H_2O (0.1% FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R : 25-33 min) gereinigt. Das Produkt **133** (62.0 mg, 162 μ mol, 91%, *d.r.* = 2:1) wurde als gelbliches Öl erhalten, das noch kleine Mengen von Startmaterial enthält.

NMR-Messung bei RT. Es wird ein Gemisch aus zwei Diastereoisomeren ($x:y = 2:1$) gemessen, welche jeweils zwei Rotamere (major/minor) ausbilden. Im Spektrum sind folglich vier Signalsätze erkennbar. Eine exakte Zuordnung einzelner Signalsätze zum jeweiligen Diastereoisomer (x,y) bzw. zu dessen Rotameren (x -major: x -minor {5:1}; y -major: y -minor {2:1}) wurde über 2D spektroskopische Messungen COSY, HSQC, HMBC sowie den Abgleich der Integralverhältnisse in einer ^1H - und ^{13}C -NMR Messung bestimmt. Im Folgenden wird die Summe aller Signale angegeben:

Tabelle 15: ^1H -NMR (400 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm)

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
172.0	5 (q, x-major)				
171.9	5 (q, x- od. y-minor)				
171.9	5 (q, x- od. y-minor)				
171.8	5 (q, y-major)				
171.7	1 (q, x-major)				
171.6	1 (q, x- od. y-minor)				

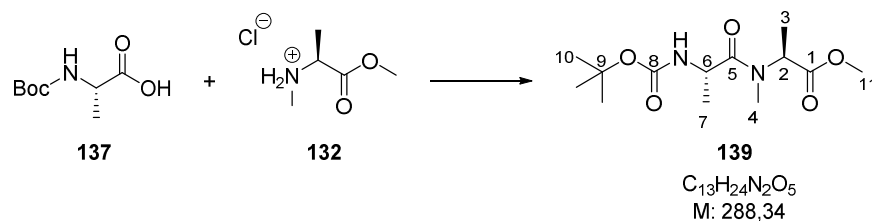
Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
171.5	1 (q, y-major)				
171.3	1 (q, x- od. y-minor)				
171.0	12 (q, x- od. y-minor)				
170.9	12 (q, y-major)				
170.9	12 (q, x-major)				
170.8	12 (q, x- od- y-minor)				
164.6	8 (q, x- od. y-minor)				
164.5	8 (q, x-major)				
164.4	8 (q, y-major)				
164.2	8 (q, x- od. y-minor)				
134.8	9 (q, y-major)				
134.5	9 (q, x-major)				
134.2	9 (q, x- od. y-minor)				
132.8	9 (q, x- od. y-minor)				
125.8	10 (q, x-od. y-minor)				
125.5	10 (q, x- major)				
125.4	10 (q, y-major u. x- od. y-minor)				
54.2	2 (t, x- od. y-minor)	5.03-4.62	m	2H	H-2 u. H-6
54.1	2 (t, x- od. y-minor)				
53.9	2 (t, y-major)				
52.5	2 (t, x-major)				
52.4	16 (p, x- od. y-minor)	3.68-3.59	m	3H	H-16
52.2	16 (p, x- od. y-minor)				
51.9	16 (p, x-major)				
51.8	16 (p, y-major)				
44.8	6 (t, x- u. y-major)	5.03-4.62	m	2H	H-2 u. H-6
44.6	6 (t, x- od. y-minor)				
44.4	6 (t, x- od. y-minor)				
44.3	13 (s)	2.10-1.94	m	3H	H-13 u. H-14
32.6	4 (p, y-major)	2.99	s	0.66H	H-4 (y-major)
31.4	4 (p, x-major)	2.94	s	1.65H	H-4 (x-major)
29.0	4 (p, x- od. y-minor)	2.69	s	0.33H	H-4 (x- od. y-minor)
28.9	4 (p, x- od. y-minor)	2.66	s	0.33H	H-4 (x- od. y-minor)
25.5	14 (t)	2.10-1.94	m	3H	H-13 u. H-14
22.3	15 (p, 2C)	0.89	d ($J = 6.3$ Hz)	6H	H-15
20.8	11a (p, x- od. y-minor)	1.65	s	3H	11a

Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
20.7	11a (p, y-major)				
20.7	11a (p, x-major)				
20.5	11a (p, x- od. y-minor)				
20.1	11b (p, x- u. y-major u. x- od. y-minor)	1.94-1.87	m	3H	11b
20.0	11b (p, x- od. y-minor)				
18.6	7 (p, x- od. y-minor)	1.18-1.14	m	3H	H-7
17.8	7 (p, x- od- y-minor)				
17.5	7 (p, y-major)				
17.3	7 (p, x-major)				
15.3	3 (p, x- od. y-minor)	1.40	d ($J = 6.9$ Hz)	0.33H	H-3 (x- od. y-minor)
15.2	3 (p, x- od. y-minor)	1.35	d ($J = 6.9$ Hz)	0.33H	H-3 (x- od. y-minor)
14.0	3 (p, y-major)	1.30-1.26	m	2.31H	H-3 (x- u. y-major)
13.8	3 (p, x-major)				
	NH _b	8.95-8.86	m	1H	NH _b
	NH _a	7.76	d ($J = 7.9$ Hz)	0.11H	NH _a (x- od. y-minor)
	NH _a	7.57	d ($J = 7.4$ Hz)	0.55H	NH _a (x-major)
	NH _a	7.51-7.48	m	0.33H	NH _a (y-major u. x- od. y-minor)

Hochtemperatur NMR (380 K). Es wurde ein Gemisch aus zwei Diastereoisomeren (major:minor = 2:1) gemessen: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.54$ (bs, 1H, NH_b), 7.22-7.13 (m, 1H, NH_a), 4.91 (q, $J = 7.0$ Hz, 0.7H, H-2, major), 4.79 (p, $J = 7.0$ Hz, 1.3H, H-2, minor u. H-6), 3.65 (s, 3H, H-16), 2.93 (bs, 3H, H-4), 2.13-1.99 (m, 3H, H-13 u. H-14), 1.96 (s, 3H, H-11a), 1.69 (s, 3H, H-11b), 1.38-1.33 (m, 3H, H-3), 1.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-7, major), 1.22 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, H-7, minor), 0.94 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H, H-15a/b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.6$ (q, C-5, major), 171.5 (q, C-5, minor), 170.8 (q, C-1, major), 170.8 (q, C-1, minor), 170.5 (q, C-12), 164.2 (q, C-8, minor), 164.2 (q, C-8, major), 135.5 (q, C-9), 124.9 (q, C-10), 53.4 (t, C-2, minor), 52.4 (t, C-2, major), 51.1 (p, C-16), 44.3 (t, C-6), 43.8 (s, C-13), 31.5 (p, C-4, minor), 30.5 (p, C-4, major), 24.8 (t, C-14), 21.7 (2C, p, C-15), 20.0 (p, C-11a), 19.4 (C-11b), 17.2 (p, C-7, major), 17.1 (p, C-7, minor), 13.4 (p, C-3) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₃₁N₃O₅Na [M + Na⁺]: 392.2161, gefunden 392.2166.

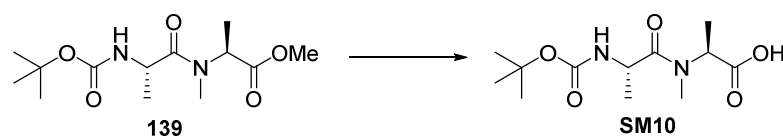
(*N*-Boc-L-alanyl)-L-*N*-methylalaninmethylester (139**)**


N-Boc-L-alanin (**137**, 9.23 g, 48.8 mmol, 1.50 Äq) und *N*-Methyl-L-alaninmethylester Hydrochlorid (**132**, 5.00 g, 32.5 mmol, 1.00 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (400 mL) und wasserfreiem DMF (80 mL) gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. EDC•HCl (9.66 g, 50.4 mmol, 1.55 Äquiv.), HOAt (6.86 g, 50.4 mmol, 1.55 Äquiv.) und $NaHCO_3$ (13.7 g, 162.7 mmol, 5.00 Äquiv.) wurden hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch im Kälteisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1M HCl-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt und die organische Phase mit 1M HCl-Lösung (2x), $NaHCO_3$ -Lösung (3x) und NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($CH_2Cl_2/MeOH$, 100:0 -> 99.7:0.3 -> 99:1 -> 98.5:1.5) lieferte das Produkt **139** (9.37 g, 32.3 mmol, quant.) als farbloses Öl.

$[\alpha]_D^{27.5}$: -27.3° ($c = 1.33$, CH_2Cl_2); *Rotamere*: A:B = 7:1; Hauptrotamer A: 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.43$ (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, NH), 5.23 (q, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-2), 4.63 (pent, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-6), 3.70 (s, 3H, H-11), 2.98 (s, 3H, H-4), 1.43 (s, 9H, H-10), 1.41 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-3), 1.33 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-7) ppm; ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$; $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 173.4$ (q, C-5), 172.2 (q, C-1), 155.3 (q, C-8), 79.7 (q, C-9), 52.4 (p, C-11), 52.3 (t, C-2), 46.7 (t, C-6), 31.2 (p, C-4), 28.5 (3C, p, C-10), 18.8 (p, C-7), 14.3 (p, C-3) ppm; Nebenrotamer B: 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.51$ (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, NH), 4.67-4.58 (m, 2H, H-2 u. H-6), 3.73 (s, 3H, H-11), 2.84 (s, 3H, H-4), 1.49 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-3), 1.30 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-7) ppm; ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$; $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 171.2$ (q, C-1), 155.3 (q, C-8), 79.7 (q, C-9), 54.7 (t, C-2), 52.8 (p, C-11), 46.4 (t, C-6), 29.3 (p, C-4), 28.5 (3C, p, C-10), 19.9 (p, C-7), 15.7 (p, C-3) ppm {C-5 ist im Spektrum nicht sichtbar}; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{13}H_{24}N_2O_5Na$ [$M + Na^+$]: 311.1583, gefunden 311.1582.

(*N*-Boc-L-alanyl)-(*N*-methyl-L-alanyl)-D-valinmethylester (136**)**

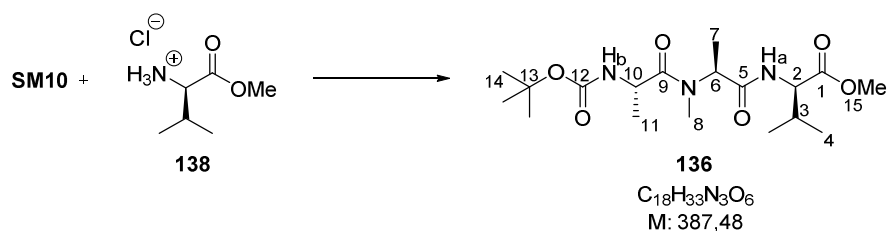
Verseifung:



Ester **139** (4.61 g, 16.0 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (160 mL) gelöst, auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurde eine LiOH-Lösung (1M in H_2O , 160 mL, 160 mmol, 10.0 Äquiv.) hinzugegeben.

Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch zusammen mit dem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von Et₂O und H₂O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et₂O (2x) gewaschen. Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde direkt weiterverwendet.

Peptidkupplung:



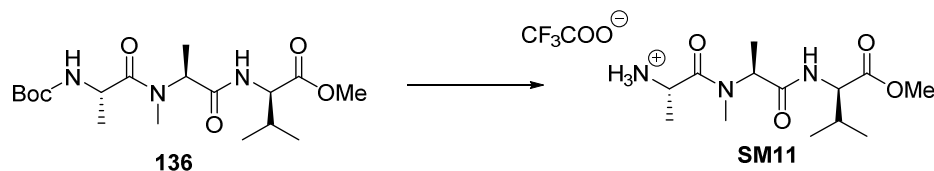
Säure **SM10** und D-Valinmethylester Hydrochlorid (**138**, 2.95 g, 17.6 mmol, 1.10 Äquiv.) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (160 mL) gelöst und anschließend auf 0 °C gekühlt. HOBt (86%wt, 3.77 g, 24.0 mmol, 1.50 Äquiv.) und EDC•HCl (3.83 g, 20.0 mmol, 1.25 Äquiv.) wurden hinzugegeben und anschließend DIPEA (6.20 g, 8.20 mL, 48.0 mmol, 3.00 Äquiv.) über 10 min hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch im Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 1M HCl-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt, die organische Phase mit 1M HCl-Lösung (2x), mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung (3x) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 99.7:0.3 -> 99:1 -> 98.5:1.5 -> 98:2) gereinigt. Das Produkt **136** (5.51 g, 14.2 mmol, 89 %, ü2S) wurde als farbloser Schaum erhalten.

[α]_D^{26.3}: -113.9° (c = 1.68; CH₂Cl₂); *Rotamere*: A:B = 1.2:1. NMR-Messung bei RT (Hauptrotamer A): ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 7.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H, NH_a), 6.94 (d, J = 7.7 Hz, 1H, NH_b), 5.07 (q, J = 7.2 Hz, 1H, H-6), 4.41 (p, J = 7.1 Hz, 1H, H-10), 4.16 (dd, J = 8.3, 6.4 Hz, 1H, H-2), 3.63 (s, 3H, H-15), 2.91 (s, 3H, H-8), 2.04 (okt, J = 6.6 Hz, 1H, H-3), 1.36 (s, 9H, H-14), 1.24 (d, J = 7.3 Hz, 3H, H-7), 1.14 (d, J = 7.6 Hz, 3H, H-11), 0.84 (d, J = 6.8 Hz, 6H, H-4a/b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 172.9 (q, C-9), 171.9 (q, C-1), 171.7 (q, C-5), 155.0 (q, C-12), 78.4 (q, C-13), 57.2 (t, C-2), 51.7 (p, C-15), 51.3 (t, C-6), 46.4 (t, C-10), 30.2 (p, C-8), 29.9 (t, C-3), 28.2 (3C, p, C-14), 19.0 (p, C-4a), 18.2 (p, C-4b), 17.1 (p, C-11), 14.8 (p, C-7) ppm; NMR-Messung bei RT (Nebenrotamer B): ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 7.78 (d, J = 7.8 Hz, 1H, NH_a), 7.33 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NH_b), 4.91 (q, J = 6.6 Hz, 1H, H-6), 4.55 (p, J = 6.6 Hz, 1H, H-10), 4.19 (t, J = 7.1 Hz, 1H, H-2), 3.61 (s, 3H, H-15),

2.63 (s, 3H, H-8), 2.10 (okt, $J = 6.5$ Hz, 1H, H-3), 1.37 (s, 9H, H-14), 1.24 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-7), 1.12 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, H-11), 0.93 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-4a), 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-4b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.8$ (q, C-9), 171.6 (q, C-1), 170.4 (q, C-5), 155.8 (q, C-12), 77.9 (q, C-13), 57.9 (t, C-2), 54.0 (t, C-6), 51.6 (p, C-15), 45.6 (t, C-10), 29.6 (t, C-3), 28.3 (p, C-8), 28.0 (3C, p, C-14), 18.9 (p, C-4a), 18.4 (p, C-4b), 17.2 (p, C-11), 15.0 (p, C-7) ppm; Hochtemperatur NMR (380K): $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 7.39$ (bs, 1H, NH_a), 6.44 (bs, 1H, NH_b), 4.99 (bs, 1H, H-6), 4.48 (p, $J = 6.9$ Hz, 1H, H-10), 4.23 (dd, $J = 8.2, 6.2$ Hz, 1H, H-2), 3.65 (s, 3H, H-15), 2.85 (bs, 3H, H-8), 2.10 (okt, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-3), 1.40 (s, 9H, H-14), 1.29 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-7), 1.21 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-11), 0.91 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H, H-4a/b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 172.4$ (q, C-9), 170.9 (q, C-1), 170.2 (q, C-5), 154.5 (q, C-12), 77.8 (q, C-13), 57.1 (t, C-2), 52.1 (t, C-6), 50.8 (p, C-15), 46.0 (t, C-10), 29.3 (t, C-3), 29.0 (p, C-8), 27.6 (3C, p, C-14), 18.2 (p, C-4a), 17.6 (p, C-4b), 16.9 (p, C-11), 13.7 (p, C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für C₁₈H₃₃N₃O₆Na [M + Na⁺]: 410.2267, gefunden 410.2267.

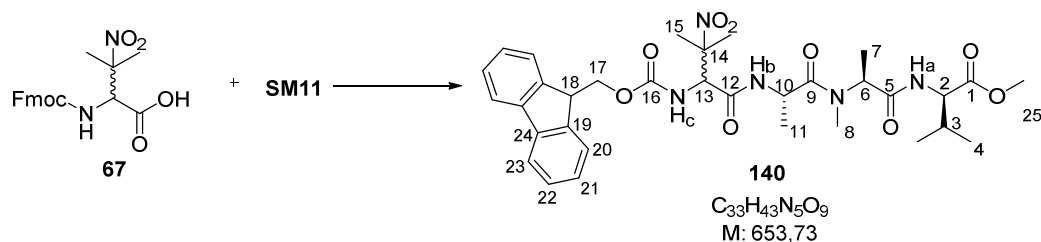
((*R,S*)-*N*-Fmoc-3-NO₂-valyl)-*L*-alanyl-(*N*-methyl-*L*-alanyl)-*D*-valinmethylester (140**)**

Boc Entschützung:



tert-Butylcarbamate **136** (1.00 g, 2.53 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (26 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und TFA (14.7 g, 9.93 mL, 129.0 mmol, 50.0 Äquiv.) hinzugegeben. Es wurde für 2 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck (0 °C bis RT, 0.5 mbar) entfernt und der Rückstand mit Toluol (2x), MeOH (1x) und CH₂Cl₂ (2x) coevaporiert. Der Rückstand wurde anschließend direkt weiterverwendet.

Peptidkupplung:



(*R,S*)-*N*-Fmoc-3-NO₂-valin (**67**, 1.49 g, 3.87 mmol, 1.50 Äquiv.) und TFA-Salz **SM11** wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (40 mL) und wasserfreiem DMF (8 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. HOAt (0.58 g, 4.26 mmol, 1.65 Äquiv.), EDC•HCl (0.82 g, 4.26 mmol, 1.65 Äquiv.) und NaHCO₃ (1.08 g, 12.9 mmol, 5.00 Äquiv.) wurden hinzugefügt. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch zusammen mit dem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von einer 1M KHSO₄-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung (2x) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ aufgenommen, erneut filtriert und das Lösungsmittel erneut entfernt. Der Rückstand wurde anschließend zunächst durch Säulenchromatographie (BÜCHI: NP-Kartusche {40x150 mm}, CH₂Cl₂/MeOH, 80 mL/min, 15 s/Fr., Gradient: 0.3%-2.0% MeOH {15 min}, 2.0% MeOH {3 min, 45 s}, t_R: 10 min 45 s bis 17 min 30 s) vorgereinigt und danach mittels einer basischen Säulenchromatographie^[126] (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1 -> 98.8:1.2) feingereinigt. Das Produkt **140** (1.51 g, 2.31 mmol, 90%, *d.r.* = 2:1) wurde als farbloser Schaum erhalten.

NMR-Messung bei RT. Es wurde ein Gemisch aus zwei Diastereoisomeren (2:1) gemessen, welche jeweils zwei Rotamere ausbildeten. Im Spektrum waren folglich vier Signalsätze erkennbar. Eine exakte Zuordnung einzelner Signalsätze zum jeweiligen Diastereoisomer bzw. zu unterschiedlichen Rotameren war mit den hier durchgeführten NMR Experimenten nicht möglich. Im Folgenden wurde daher die Summe der Signale angegeben. Ein nachstehendes „major“ bezieht sich auf das Haupt bzw ein nachstehendes „minor“ auf das Nebensignal. Sie werden hier nur beschreibend verwendet, sollen aber keine exakte Zuordnung der Signale darstellen:

Tabelle 16: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm)

δ (¹³ C, ppm):	Zuordnung	δ (¹ H, ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
172.1	1 od. 9 (q)				
171.9	1 od. 9 (q)				
171.9	1 od. 9 (q)				
171.9	1 od. 9 (q)				
171.7	1 od. 9 (q)				
171.7	1 od. 9 (q)				
171.7	1 od. 9 (q)				

¹²⁶ Aufbau einer Säule mit basischem Kieselgel: Kieselgel (250 g) wurden in CH₂Cl₂ (500 mL) aufgeschlämmt und mit Et₃N (5 mL) versetzt. Die Chromatographiesäule wurde zunächst zu 1/6 des benötigten Volumens mit herkömmlichen Kieselgel befüllt und anschließend zu 5/6 des benötigten Volumens mit basischem Kieselgel befüllt. Der Autor weist an dieser Stelle darauf hin, dass das Abtrennen der Säure **67** die Hauptursache für die Durchführung dieser Säule darstellt. Der Aufbau der Säule wurde auf diese Weise gewählt, um zu verhindern, dass Et₃N-Reste in das Produkt gelangen, was eine weitere Nachreinigung bedeutet hätte.

Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
171.5	5 (q)				
171.4	5 (q)				
170.5	5 (q)				
170.4	5 (q)				
167.4	12 (q)				
166.7	12 (q)				
166.5	12 (q)				
156.0	16 (q)				
143.7	19a (q)				
143.7	19b (q)				
140.7	24a (q)				
140.7	24b (q)				
127.7	20 od. 23 (t)	7.45-7.39	m	2H	Ar-H
127.1	20 od. 23 (t)	7.35-7.29	m	2H	Ar-H
127.1	20 od. 23 (t)				
125.5	21 od. 22 (t)	7.76-7.69	m	2.3H	Ar-H , NH_a (minor)
125.3	21 od. 22 (t)				
125.2	21 od. 22 (t)				
120.1	21 od. 22 (t)	7.91-7.86	m	2H	Ar-H
89.2	14 (q)				
89.1	14 (q)				
66.2	17 (s)	4.47-4.07	m	4H	H-2; H-17 ; H-18
59.7	13 (t)	5.11-4.99	m	1.7H	H-6 (major), H-13
59.5	13 (t)				
59.3	13 (t)				
58.1	2 (t)	4.47-4.07	m	4H	H-2 ; H-17; H-18
57.9	2 (t)				
57.2	2 (t)				
53.9	6 (t)	4.91-4.83	m	0.3H	H-6 (minor)
53.8	6 (t)	4.91-4.83	m	0.3H	H-6 (minor)
51.7	25 (p)	3.63	s	2H	H-25 (major)
51.6	25 (p)	3.60	s	1H	H-25 (minor)
51.3	6 (t)	5.11-4.99	m	1.7H	H-6 (major), H-13
46.6	18 (t)	4.47-4.07	m	4H	H-2; H-17; H-18
45.7	10 (t)	4.69-4.61	m	0.4H	H-10 (minor)
45.5	10 (t)	4.78-4.69	m	0.6H	H-10 (major)
45.4	10 (t)				
45.3	10 (t)				
30.4	8 (p)	2.94	s	1.3H	H-8 (major A)
30.3	8 (p)	2.89	s	0.7H	H-8 (minor A)

Experimenteller Teil

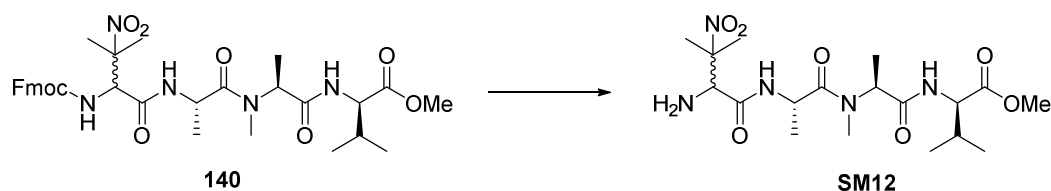
δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
29.9	3 (t)	2.15-1.98	m	1H	H-3
29.8	3 (t)				
29.6	3 (t)				
29.5	3 (t)				
28.5	8 (p)	2.71	s	0.3H	H-8 (minor B)
28.5	8 (p)	2.67	s	0.6H	H-8 (major B)
23.5	15a/b (p)	1.70-1.65	m	2H	H-15a/b
23.4	15a/b (p)	1.59-1.53	m	2H	H-15a/b
23.2	15a/b (p)	1.53-1.46	m	2H	H-15a/b
22.9	15a/b (p)				
21.9	15a/b (p)				
21.6	15a/b (p)				
19.0	4a/b (p)	0.92-0.81	m	6H	H-4a/b
18.9	4a/b (p)				
18.9	4a/b (p)				
18.6	4a/b (p)				
18.2	4a/b (p)				
17.4	7 od. 11 (p)	1.30-1.19	m	6H	H-7; H-11
17.4	7 od. 11 (p)				
17.1	7 od. 11 (p)				
16.5	7 od. 11 (p)				
15.5	7 od. 11 (p)				
15.2	7 od. 11 (p)				
14.8	7 od. 11 (p)				
14.8	7 od. 11 (p)				
	NH _b	8.77	d (J = 4.7 Hz)	0.3H	NH _b (minor)
	NH _b	8.57	d (J = 5.5 Hz)	0.7H	NH _b (major)
	NH _a	7.98	d (J = 8.2 Hz)	0.7H	NH _a (major)
	NH _c	7.97	d (J = 8.4 Hz)	0.7H	NH _c (major)
	NH _c	7.84	d (J = 10.6 Hz)	0.3H	NH _c (minor)
	NH _a	7.76-7.69	m	2.3H	NH_a (minor), Ar-H

Messung bei 380K (Zuweisung der Signale erfolgte über Vergleichsspektren und Kopplungskonstanten, da die Probe unter den hier verwendeten Messbedingungen nicht ausreichend stabil war, um weitere Untersuchungen durchführen zu können); d.r.(major:minor) \approx 1.5:1: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.19-8.06 (m, 1H, NH_b), 7.89-7.84 (m, 2H, Ar-H), 7.72-7.67 (m, 2H, Ar-H), 7.49-7.26 (m, 6H, 4x Ar-H, NH_a u. NH_c), 5.01 (bs, 1H, H-6), 4.96 (d, J = 10.3 Hz, 1H, H-13), 4.77 (p, J = 6.8 Hz, 1H, H-10, minor), 4.76 (p, J = 6.7 Hz, 1H, H-10, major), 4.44 (dd, J = 10.4, 7.0 Hz, 1H, H-17a, major), 4.42 (dd, J = 10.4, 7.3 Hz, 1H, H-17a, minor), 4.36 (dd, J = 6.6, 5.9 Hz,

1H, H-17b, major), 4.34 (dd, $J = 6.6, 5.6$ Hz, 1H, H-17b, minor), 4.26 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-18), 4.23 (dd, $J = 8.0, 6.0$ Hz, 1H, H-2, minor), 4.23 (dd, $J = 8.0, 6.3$ Hz, 1H, H-2, major), 3.65 (s, 3H, H-25), 2.88 (bs, 3H, H-8), 2.16-2.04 (m, 1H, H-3), 1.66 (s, 3H, H-15a, major), 1.61 (s, 3H, H-15a, minor), 1.60 (s, 3H, H-15b, minor), 1.57 (s, 3H, H-15b, major), 1.29 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-7), 1.28 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-11, major), 1.27 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-11, minor), 0.91 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H, H-4a/b) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{33}H_{43}N_5O_9Na$ $[M + Na^+]$: 676.2958, gefunden 676.2957.

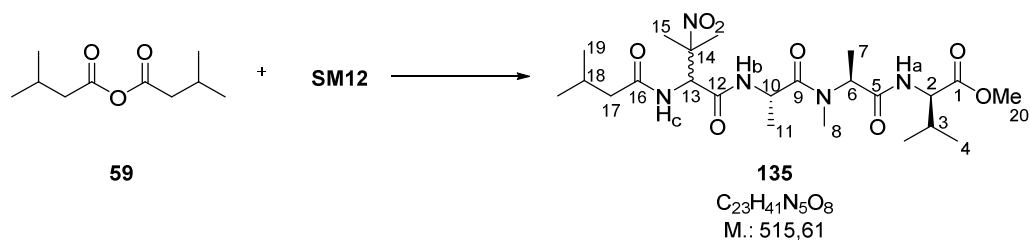
((*R,S*)-*N*-(3-Methylbutanoyl)-3-NO₂-valyl)-*L*-alanyl-(*N*-methyl-*L*-alanyl)-*D*-valin-methylester (135**)**

Fmoc-Entschützung:



Carbamat **140** (500 mg, 765 μ mol, 1.00 Äquiv.) wurde in DMF (8 mL) gelöst. Anschließend wurde Me_2NH (40%wt in H_2O , 860 mg, 0.97 mL, 7.65 mmol, 10.0 Äquiv.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt (0.5 mbar, RT). Der Rückstand wurde direkt weiterverwendet.

Peptidkupplung:



Amin **SM12** wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (8 mL) aufgenommen, auf -78 °C gekühlt und anschließend 2,6-Lutidin (246 mg, 0.27 mL, 2.30 mmol, 3.00 Äquiv.) und Isovaleriansäureanhydrid (**59**, 214 mg, 0.23 mL, 1.15 mmol, 1.50 Äquiv.) hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch im Aceton/Trockeneisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde anschließend durch Zugabe von 1M HCl-Lösung und EtOAc beendet, die Phasen getrennt, die organische Phase mit 1M HCl-Lösung (2x), einer gesättigten $NaHCO_3$ -Lösung (2x) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter

vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (BÜCHI: NP-Kartusche {15x150 mm}; CH₂Cl₂/MeOH; 15 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 1.0-2.2% MeOH {60 min}; t_R: 12-30 min) gereinigt. Das Produkt **135** (394 mg, 765 μmol, quant., *d.r.* = 2:1) wurde in Form eines farblosen Öls erhalten.

NMR-Messung bei RT. Es wurde ein Gemisch aus zwei Diastereoisomeren (2:1) gemessen, welche jeweils zwei Rotamere ausbildeten. Im Spektrum waren folglich vier Signalsätze erkennbar. Eine exakte Zuordnung einzelner Signalsätze zum jeweiligen Diastereoisomer bzw. zu unterschiedlichen Rotameren war mit den hier durchgeführten NMR Experimenten nicht möglich. Im Folgenden wurde daher die Summe der Signale angegeben. Ein nachstehendes „major“ bezieht sich auf das Haupt- bzw ein nachstehendes „minor“ auf das Nebensignal. Sie werden hier nur beschreibend verwendet, sollen aber keine exakte Zuordnung der Signale darstellen:

Tabelle 17: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm)

δ (¹³ C, ppm):	Zuordnung	δ (¹ H, ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
173.8	1, 9, 16 (q)				
172.0	1, 9, 16 (q)				
172.0	1, 9, 16 (q)				
171.9	1, 9, 16 (q)				
171.9	1, 9, 16 (q)				
171.9	1, 9, 16 (q)				
171.9	1, 9, 16 (q)				
171.7	1, 9, 16 (q)				
171.7	1, 9, 16 (q)				
171.6	1, 9, 16 (q)				
171.5	5 (q)				
171.4	5 (q)				
170.5	5 (q)				
170.4	5 (q)				
167.6	12 (q)				
167.3	12 (q)				
166.8	12 (q)				
166.6	12 (q)				
89.0	14 (q)				
88.9	14 (q)				
58.0	2 (t)	4.18-4.10	m	1H	H-2
57.8	2 (t)				
57.2	2 (t)				
57.2	2 (t)				
57.0	13 (t)	5.30-5.25	m	1H	H-13

Experimenteller Teil

δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
56.8	13 (t)				
56.7	13 (t)				
53.9	6 (t)	4.89-4.81	m	0.3H	H-6 (minor)
53.7	6 (t)				
51.7	20 (p)	3.63-3.60	m	3H	H-20
51.6	20 (p)				
51.6	20 (p)				
51.3	6 (t)	5.10-5.04	m	0.7H	H-6 (major)
45.6	10 (t)	4.76-4.69	m	0.55H	H-10a (minor) H-10b (major + minor)
45.4	10 (t)				
45.1	10 (t)				
44.3	10 (t)	4.62	p ($J = 6.8$ Hz)	0.45H	H-10a (major)
44.1	17 (s)	2.13-1.87	m	4H	H-3, H-17 , H-18
44.1	17 (s)				
42.9	17 (s)				
30.3	8 (p)	2.92	s	1.4H	H-8a (major)
30.3	8 (p)	2.88	s	0.7H	H-8b (major)
29.9	3 (t)	2.13-1.87	m	4H	H-3 , H-17, H-18
29.9	3 (t)				
29.6	3 (t)				
29.5	3 (t)				
28.6	8 (p)	2.70	s	0.3H	H-8b (minor)
28.4	8 (p)	2.66	s	0.6H	H-8a (minor)
25.7	18 (t)	2.13-1.87	m	4H	H-3, H-17, H-18
25.6	18 (t)				
25.6	18 (t)				
25.0	18 (t)				
23.8	15a/b (p)	1.69-1.64	m	2H	H-15a/b
23.7	15a/b (p)				
23.4	15a/b (p)	1.57-1.48	m	4H	H-15a/b
22.9	15a/b (p)				
22.4	19a/b (p)	0.90-0.81	m	12H	H-4a/b, H-19a/b
22.3	19a/b (p)				
22.3	19a/b (p)				
22.3	19a/b (p)	0.90-0.81	m	12H	H-4a/b, H-19a/b
22.2	19a/b (p)				
22.2	19a/b (p)				
22.1	19a/b (p)				
22.1	19a/b (p)				

Experimenteller Teil

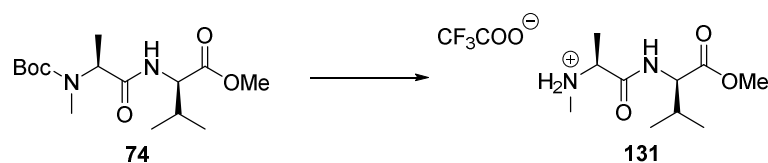
δ (^{13}C , ppm):	Zuordnung	δ (^1H , ppm):	Signalform	Int.	Zuordnung
21.9	15a/b (p)	1.57-1.49	m	4H	H-15a/b
21.6	15a/b (p)	1.57-1.49	m	4H	H-15a/b
21.5	15a/b (p)	1.57-1.49	m	4H	H-15a/b
19.0	4a/b (p)	0.90-0.81	m	12H	H-4a/b , H-19a/b
19.0	4a/b (p)				
18.9	4a/b (p)				
18.9	4a/b (p)				
18.6	4a/b (p)	0.90-0.81	m	12H	H-4a/b , H-19a/b
18.5	4a/b (p)				
18.2	4a/b (p)				
18.2	4a/b (p)				
17.4	11 (p)	1.30-1.17	m	6H	H-7, H-11
17.1	11 (p)				
17.0	11 (p)				
16.5	11 (p)				
15.5	7 (p)	1.30-1.17	m	6H	H-7 , H-11
15.2	7 (p)				
14.8	7 (p)				
13.9	7 (p)				
	NH _b	8.72	d ($J = 5.0$ Hz)	0.2H	NH _{b1} (minor)
	NH _b	8.58	d ($J = 7.6$ Hz)	0.25H	NH _{b2} (major)
	NH _b	8.52	d ($J = 6.5$ Hz)	0.45H	NH _{b1} (major)
	NH _b	8.44	d ($J = 5.7$ Hz)	0.1H	NH _{b2} (minor)
	NH _c	8.20-8.16	m	0.7H	NH _{c1} (minor + major)
	NH _c	8.10	d ($J = 9.8$ Hz)	0.1H	NH _{c2} (minor)
	NH _c	8.03-7.94	m	1.2H	NH _a (major + minor) NH _{c2} (major)

NMR-Messung bei 380K (Hauptdiastereoisomer): $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.09-7.94$ (m, 1H, NH_b), 7.80-7.68 (m, 1H, NH_c), 7.52-7.35 (m, 1H, NH_a), 5.22 ($J = 9.6$ Hz, 1H, H-13), 5.06-4.94 (m, 1H, H-6), 4.72 (p, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-10), 4.21 (dd, $J = 8.0, 6.3$ Hz, 1H, H-2), 3.65 (s, 3H, H-20), 2.86 (bs, 3H, H-8), 2.21-1.95 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.66 (s, 3H, H-15a), 1.59 (s, 3H, H-15b), 1.28 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-7), 1.26 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-11), 0.91 (d, $J = 6.8$ Hz, 12H, H-4a/b u. H-19a/b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.5$ (q, C-9), 171.3 (q, C-16), 170.9 (q, C-1), 170.2 (q, C-5), 166.5 (q, C-12), 88.5 (q, C-14), 57.1 (t, C-2), 56.7 (t, C-13), 52.1 (t, C-6), 50.8 (p, C-20), 44.9 (t, C-10), 43.9 (s, C-17), 29.3 (t, C-3), 29.2 (p, C-8), 24.9 (t, C-18), 23.1 (p, C-15a), 22.0 (p, C-15b), 21.6 (p, C-19a), 21.5 (p, C-19b), 18.2 (p, C-4a), 17.6 (p, C-4b), 16.5 (p, C-11), 13.7 (p, C-7) ppm; *NMR-Messung bei 380K (Nebendiastereoisomer):* $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ; DMSO- $d_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 8.09-7.94$ (m, 1H, NH_b), 7.80-7.68 (m,

$^1\text{H-NMR}$ (NH_2), 7.52-7.35 (m, 1H, NH_a), 5.23 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H-13), 5.06-4.94 (m, 1H, H-6), 4.74 (p, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-10), 4.22 (dd, $J = 8.0, 6.3$ Hz, 1H, H-2), 3.65 (s, 3H, H-20), 2.86 (bs, 3H, H-8), 2.21-1.95 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.61 (s, 6H, H-15a/b), 1.28 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-7), 1.24 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-11), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H, 19a/b), 0.91 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H, H-4a/b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.4$ (q, C9), 171.3 (q, C-16), 170.9 (q, C-1), 170.2 (q, C-5), 166.5 (q, C-12), 88.5 (q, C-14), 57.1 (t, C-2), 56.9 (t, C-13), 52.1 (t, C-6), 50.8 (p, C-20), 44.8 (t, C-10), 43.9 (s, C-17), 29.3 (t, C-3), 29.2 (p, C-8), 24.9 (t, C-18), 22.7 (p, C-15a), 22.3 (p, C-15b), 21.6 (p, C-19a), 21.5 (p, C-19b), 18.2 (p, C-4a), 17.6 (p, C-4b), 16.7 (p, C-11), 13.7 (p, C-7) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_8\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 538.2853, gefunden 538.2852.

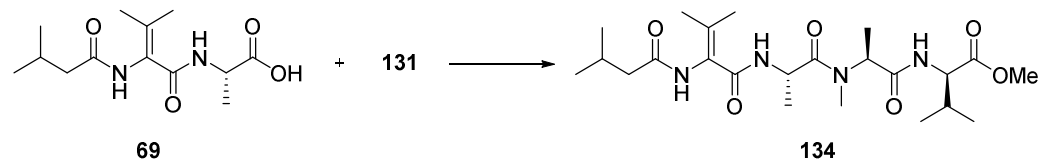
((*R,S*)-*N*-(3-Methylbutanoyl)- α,β -dehydrovalyl)-*L*-alanyl-(*N*-methyl-*L*-alanyl)-*D*-valin-methylester (134**)**

Variante A: Boc-Entschützung



Carbat **74** (20.0 mg, 63.6 μmol , 1.20 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (0.6 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt, TFA (362 mg, 0.25 mL, 3.18 mmol, 60.0 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion für 2 h bei 0 °C gerührt. Nach Abschluss der Reaktion (DC-Kontrolle) wurden alle flüchtigen Komponenten unter vermindertem Druck entfernt (0.5 mbar, RT) und der Rückstand zweimal mit MeOH (0.5 mbar, RT) und einmal mit CH_2Cl_2 (20 mbar, 40°C) coevaporiert. Das so erhaltene Harz wurde direkt weiterverwendet.

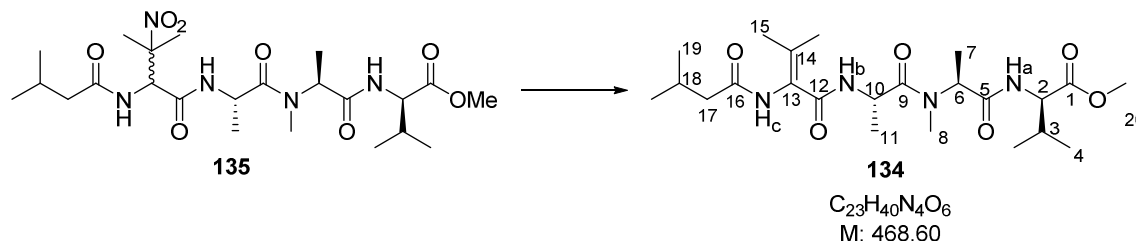
Peptidkupplung:



Säure **69** (14.3 mg, 52.9 μmol , 1.00 Äquiv.) und TFA-Salz **131** wurden in wasserfreiem MeCN (0.5 mL) und wasserfreiem DMF (0.1 mL) gelöst und auf -15 °C gekühlt. Anschließend wurden HOAt (8.66 mg, 63.6 μmol , 1.20 Äquiv.), EDC•HCl (10.7 mg, 55.7 μmol , 1.05 Äquiv.) und NaHCO_3 (13.3 mg, 159 μmol , 3.00 Äquiv.) hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch zusammen mit dem Kälteeisbad auf RT erwärmt wurde. Danach wurde mit wenig H_2O und MeOH verdünnt und das Reaktionsgemisch direkt mittels RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-

Kartusche {12x150 mm}; H₂O (0.1% FA)/ MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {10 min}, 10-100% MeOH {40 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R: 35-40 min) gereinigt. Das Produkt **134** (19.0 mg, 40.5 μmol, 77 %, *d.r.* = 2:1) wurde als farbloser Film erhalten.

Variante B: Nitroeliminierung



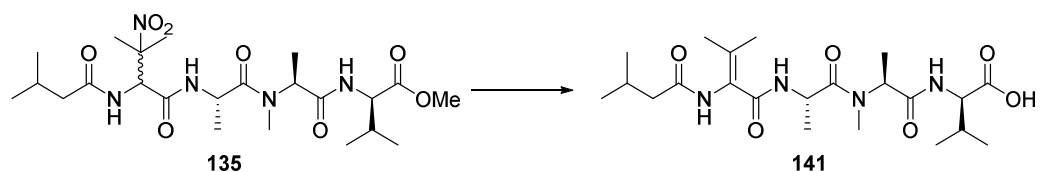
Diastereoisomerengemisch **135** (71.0 mg, 138 μmol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (1.4 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. TBD (0.25M in CH₂Cl₂ {141 mg TBD in 4 mL CH₂Cl₂}; 0.52 mL, 0.95 Äquiv.) wurde über 5 min hinzugegeben und die Reaktion für 20 h gerührt, wobei das Gemisch im Trockeneisbad langsam auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde mit wenig CH₂Cl₂ verdünnt und das Gemisch direkt mittels Säulenchromatographie (BÜCHI: NP-Kartusche {12x150 mm}; CH₂Cl₂/MeOH; 15 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 1-3% MeOH {60 min}; t_R: 28-46 min) gereinigt. Das Produkt **134** (42.0 mg, 89.6 μmol, 65 %) wurde als farbloses Öl erhalten. Zusätzlich konnte Startmaterial **135** (19 mg, 36.8 μmol, 27 %) reisoliert werden.

[α]_D^{23.1}: -103.0° (c = 1.68; CH₂Cl₂); Die Verbindung bildete zwei stabile Rotamere (1.6:1) aus und verfügte bei RT über einen doppelten Siganlsatz. NMR-Messung bei RT (Hauptrotamer): ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.90 (s, 1H, NH_c), 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 1H, NH_a), 7.62 (d, J = 7.6 Hz, 1H, NH_b), 5.06 (q, J = 7.2 Hz, 1H, H-6), 4.73 (p, J = 6.9 Hz, 1H, H-10), 4.16 (dd, J = 8.2, 6.5 Hz, 1H, H-2), 3.63 (s, 3H, H-20), 2.91 (s, 3H, H-8), 2.10-1.96 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.91 (s, 3H, H-15a), 1.65 (s, 3H, H-15b), 1.24 (d, J = 7.2 Hz, 3H, H-7), 1.18 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-11), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 6H, H-19a/b), 0.85 (d, J = 6.7 Hz, 3H, H-4a), 0.85 (d, J = 7.0 Hz, 3H, H-4b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 172.1 (q, C-9), 171.9 (q, C-1), 171.5 (q, C-5), 170.9 (q, C-16), 164.5 (q, C-12), 134.4 (q, C-13), 125.5 (q, C-14), 57.2 (t, C-2), 51.7 (p, C-20), 51.3 (t, C-6), 45.0 (t, C-10), 44.3 (s, C-17), 30.3 (p, C-8), 29.9 (t, C-3), 25.5 (t, C-18), 22.3 (2C, p, C-19a/b), 20.7 (p, C-15a), 20.1 (p, C-15b), 19.0 (p, C-4a), 18.2 (p, C-4b), 17.4 (p, C-11), 14.7 (p, C-7) ppm; NMR-Messung bei RT (Nebenrotamer): ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.89 (s, 1H, NH_c), 8.16 (d, J = 7.7 Hz, 1H, NH_a), 7.94 (d, J = 5.7 Hz, 1H, NH_b), 4.94 (q, J = 6.8 Hz, 1H, H-6), 4.72 (p, J = 6.4 Hz, 1H, H-10), 4.14 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-2), 3.60 (s, 3H, H-20), 2.66 (s, 3H, H-8), 2.10-1.96 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.92 (s, 3H, H-15a), 1.66 (s, 3H, H-15b), 1.26 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-7), 1.19 (d, J = 6.7 Hz, 3H, H-11), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 6H, H-19a/b), 0.89 (d, J = 6.7 Hz, 3H, H-4a), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H-4b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 172.2 (q, C-9), 171.7 (q, C-1), 170.7 (q, C-16), 170.5 (q, C-5),

165.3 (q, C-12), 134.5 (q, C-13), 125.3 (q, C-14), 58.0 (t, C-2), 53.9 (t, C-6), 51.6 (p, C-20), 45.0 (t, C-10), 44.2 (s, C-17), 29.5 (t, C-3), 28.4 (p, C-8), 25.5 (t, C-18), 22.3 (2C, p, C-19a/b), 20.8 (p, C-15a), 20.2 (p, C-15b), 18.9 (p, C-4a), 18.5 (p, C-4b), 17.5 (p, C-11), 15.3 (p, C-7) ppm; Hochtemperatur NMR (380 K): ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.53 (bs, 1H, NH_c), 7.47 (bs, 1H, NH_a), 7.29 (bs, 1H, NH_b), 5.07-4.96 (m, 1H, H-6), 4.79 (p, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-10), 4.22 (dd, *J* = 8.2, 6.2 Hz, 1H, H-2), 3.65 (s, 3H, H-20), 2.87 (bs, 3H, H-8), 2.15-1.99 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.96 (s, 3H, H-15a), 1.69 (s, 3H, H-15b), 1.29 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, H-7), 1.25 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, H-11), 0.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, H-19a/b), 0.91 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, H-4a/b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 171.9 (q, C-9), 170.9 (q, C-1), 170.5 (q, C-16), 170.2 (q, C-5), 164.5 (q, C-12), 135.4 (q, C-13), 124.9 (q, C-14), 57.1 (t, C-2), 52.0 (t, C-6), 50.8 (p, C-20), 44.5 (t, C-10), 43.9 (s, C-17), 29.3 (t, C-3), 29.1 (p, C-8), 24.8 (t, C-18), 21.7 (2C, p, C-19a/b), 20.1 (p, C-15a), 19.4 (p, C-15b), 18.2 (p, C-4a), 17.6 (p, C-4b), 17.1 (p, C-11), 13.7 (p, C-7) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₃H₄₀N₄O₆Na [M + Na⁺]: 491.2846, gefunden 491.2846.

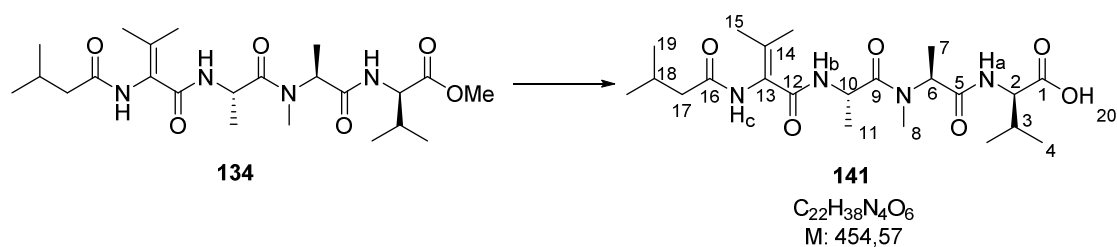
((*R,S*)-*N*-(3-Methylbutanoyl)- α,β -dehydrovalyl)-*L*-alanyl-(*N*-methyl-*L*-alanyl)-*D*-valin (141**)**

Variante A:



Diastereomerenmischung **135** (65.5 mg, 127 μ mol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (1.3 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiOH (1M in H₂O, 1.27 mL, 1.27 mmol, 10.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 20 h gerührt, während das Gemisch zusammen mit einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde dann durch Zugabe von AcOH (152 mg, 0.15 mL, 2.54 mmol, 20.0 Äquiv.) beendet und das Gemisch direkt mittels RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x 150 mm}; H₂O (0.1% FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R: 15-34 min) gereinigt. Das Produkt **141** (43.0 mg, 94.6 μ mol, 74%, *d.r.* = 3:1) wurde als farbloser Schaum erhalten.

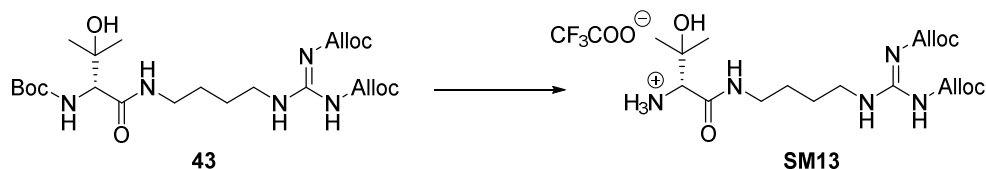
Variante B:



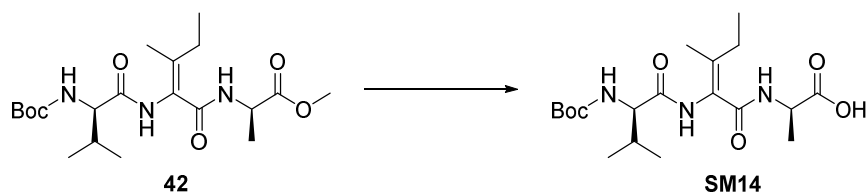
Ester **134** (29.0 mg, 61.9 μmol , 1.00 Äquiv.) wurde in THF (0.6 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiOH (1M in H₂O, 0.62 mL, 0.62 mmol, 10.0 Äquiv.) wurde hinzuge tropft und die Reaktion für 20 h gerührt, während das Gemisch im Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde dann durch Zugabe von AcOH (74.0 mg, 0.071 mL, 1.24 mmol, 20.0 Äquiv.) beendet und das Gemisch direkt mittels RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x 150 mm}; H₂O (0.1% FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R: 16-34 min) gereinigt. Das Produkt **141** (28.0 mg, 61.6 μmol , 99 %, *d.r.* = 2:1) wurde als farbloser Schaum erhalten.

*Es wurde ein Gemisch aus Diastereoisomeren (d.r.(x:y)=3:1) gemessen, welches jeweils Rotamere (x,major:xminor u. y,major:y,minor jeweils 2:1) ausbilden. Die Diastereoisomere wurden nicht aufgetrennt. Im Folgenden wurde daher die Gesamtsumme aller Signale angegeben. Zuweisung der Signale erfolgte über den Abgleich von Integralen und durch Vergleichsspektren. NMR-Messung bei RT: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.93-8.89 (m, 1H, NH_c), 8.02-7.90 (m, 0.6H, NH_a, minor u. NH_b, minor), 7.70-7.56 (m, 1.4H, NH_a, major u. NH_b, major), 5.09-5.04 (m, 0.5H, H-6x, major), 4.99-4.81 (m, 0.5H, H-6x, minor u. H-6y), 4.81-4.64 (m, 1H, H-10), 4.16-4.01 (m, 1H, H-2), 2.95-2.88 (m, 2H, H-8x, major u. H-8y, major), 2.82 (bs, 0.25H, H-8y, minor), 2.68 (bs, 0.75H, H-8x, minor), 2.13-1.95 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.95-1.87 (m, 3H, H-15a), 1.69-1.61 (m, 3H, H-15b), 1.35-1.11 (m, 6H, H-7 u. H-11), 0.94-0.79 (m, 12H, H-4a/b, H-19a/b) ppm; Hochtemperatur NMR (380 K): ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 8.55 (bs, 1H, NH_c), 7.40-7.13 (m, 2H, NH_a u. NH_b), 5.08-4.97 (m, 0.75H, H-6x), 4.93 (bq, *J* = 6.24 Hz, 0.25H, H-6y), 4.79 (p, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-10), 4.19-4.11 (m, 1H, H-2), 2.94 (bs, 0.75H, H-8y), 2.88 (bs, 2.25H, H-8x), 2.15-2.01 (m, 4H, H-3 u. H-17 u. H-18), 1.96 (s, 3H, H-15a), 1.69 (s, 3H, H-15b), 1.31-1.28 (m, 3H, H-7), 1.24 (d, *J* = 6.7 Hz, 2.25H, H-11x), 1.22 (d, *J* = 7.3 Hz, 0.75H, H-11y), 0.94 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H, H-19a/b), 0.92 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, H-4a), 0.90 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, H-4b) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₂₂H₃₈N₄O₆Na [M + Na⁺]: 477.2689, gefunden 477.2688.*

7.3.8 Fragment DE

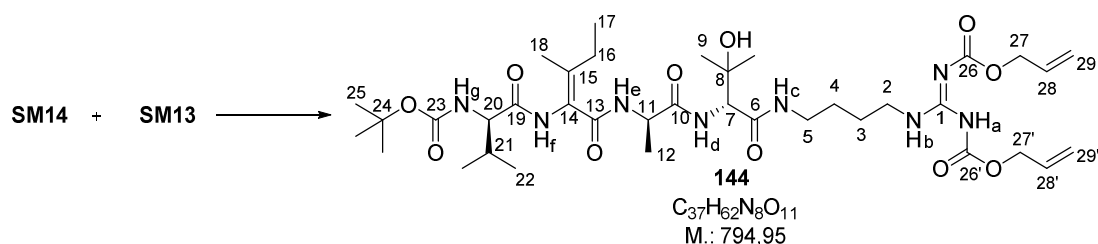
(*N*-Boc-D-valyl)-((*E*)- α,β -dehydroisoleucyl)-D-alanyl-(3-hydroxy-D-valyl)-(*N* θ ,*N* θ' -di-alloc-*N* α -agmatid) (144**)***Boc-Entschützung:*

Carbamat **43** (62.0 mg, 121 μ mol, 1.00 Äquiv.) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (1.2 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. TFA (688 mg, 0.47 mL, 6.03 mmol, 50.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 0 °C gerührt. Nach Abschluss der Reaktion (DC-Kontrolle) wurden alle flüchtigen Komponenten unter vermindertem Druck (0.5 mbar, RT) entfernt und der Rückstand anschließend mit MeOH (2x, 0.5 mbar, RT) und CH_2Cl_2 (1x, 20 mbar, 40 °C) coevaporiert. Der Rückstand wurde anschließend direkt weiter verwendet.

Verseifung:

Ester **42** (100 mg, 242 μ mol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (2.5 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiOH (1M in H_2O , 2.50 mL, 2.50 mmol, 10.3 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 20 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde dann durch Zugabe von H_2O und Et_2O beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et_2O (2x) gewaschen. Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **SM14** (96.6 mg, 242 μ mol, quant.) wurde als farbloser Schaum erhalten.

Peptidkupplung:



Säure **SM14** (79.0 mg, 198 μmol , 1.53 Äquiv.) und TFA-Salz **SM13** (68 mg, 129 μmol , 1.00 Äquiv.) wurden in wasserfreiem MeCN (1 mL) und wasserfreiem DMF (0.5 mL) gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. EDC \cdot HCl (47.0 mg, 246 μmol , 1.91 Äquiv.) und HOAt (40.4 mg, 297 μmol , 2.30 Äquiv.) gelöst in DMF (1 mL) wurden über 10 min hinzugegeben und anschließend NaHCO_3 (76.0 mg, 903 μmol , 7.00 Äquiv.) hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 20 h gerührt, während das Gemisch zusammen mit dem Kälteeisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde mit H_2O und MeOH verdünnt und die Lösung anschließend über RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x 150 mm}; H_2O (0.1% FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr.; Gradient: 10% MeOH {5 min}, 10-100% MeOH {45 min}, 100% MeOH {10 min}); t_{R} : 43-47 min) gereinigt. Das Produkt **144** (62.0 mg, 78.0 μmol , 60 %, $d.r.$ = 14:1) wurde als farbloser Film erhalten. Das Diastereomerenverhältnis wurde über eine UPLC-TOF-Messung erhalten (UPLC-C18: H_2O (0.1% FA)/MeCN (0.1% FA); Gradient: 30-75% MeCN {10 min}, 75% MeCN {2 min}, $t_{\text{R,Neben}}$: 7.20, $t_{\text{R,Haupt}}$: 7.69 min).

$[\alpha]_{\text{D}}^{26.0}$: -3.0° (c = 3.27; CH_2Cl_2); $[\alpha]_{\text{D}}^{28.0}$: $+9.5^\circ$ (c = 2.53; MeOH) {Lit.^[107]: $+13.1^\circ$ (c = 0.74; MeOH)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 ; DMSO-d_5 = 2.50 ppm): δ = 11.57 (bs, 1H, NH_a), 9.27 (s, 1H, NH_f), 8.37 (t, J = 5.0 Hz, 1H, NH_b), 7.89 (d, J = 7.0 Hz, 1H, NH_e), 7.76 (d, J = 9.4 Hz, 1H, NH_d), 7.72 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH_c), 6.78 (d, J = 7.1 Hz, 1H, NH_g), 5.95 (ddt, J = 17.2, 10.8, 5.4 Hz, 1H, H-28), 5.93 (ddt, J = 17.1, 10.6, 5.3 Hz, 1H, H-28'), 5.39-5.32 (m, 1H, H-29a), 5.31-5.23 (m, 2H, H-29b u. H-29'a), 5.20-5.15 (m, 1H, H-29'b), 4.76 (bs, 1H, OH), 4.68-4.64 (m, 2H, H-27), 4.51-4.47 (m, 2H, H-27'), 4.28 (p, J = 7.2 Hz, 1H, H-11), 4.22 (d, J = 9.8 Hz, 1H, H-7), 3.86 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H-20), 3.34-3.27 (m, 2H, H-2), 3.16 (dq, J = 13.0, 6.2 Hz, 1H, H-5a), 3.00 (dq, J = 12.4, 6.4 Hz, 1H, H-5b), 2.35-2.18 (m, 2H, H-16), 1.96 (okt, J = 6.6 Hz, 1H, H-21), 1.68 (s, 3H, H-18), 1.55-1.45 (m, 2H, H-3), 1.45-1.34 (m, 12H, H-4 u. H-25), 1.24 (d, J = 7.2 Hz, H-12), 1.11 (s, 3H, H-9a), 1.09 (s, 3H, H-9b), 0.99 (t, J = 7.5 Hz, 3H, H-17), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-22a), 0.86 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-22b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 ; DMSO-d_6 = 39.52 ppm): δ = 172.0 (q, C-10), 171.1 (q, C-19), 169.9 (q, C-6), 165.4 (q, C-13), 162.9 (q, C-26'), 155.7 (q, C-23), 155.1 (q, C-1), 152.5 (q, C-26), 138.1 (q, C-14), 133.5 (t, C-28'), 131.9 (t, C-28), 125.1 (q, C15), 118.8 (t, C-29), 117.4 (t, C-29'), 78.3 (q, C-24), 71.0 (q, C-8), 66.5 (s, C-27), 65.4 (s, C-27'), 59.9 (t, C-7 od. C-20), 59.8 (t, C-7 od. C-20), 48.9 (t, C-11), 40.1 (s, C-2, unter dem DMSO Signal), 38.1 (s, C-5), 30.2 (t, C-21), 28.1 (3C, p, C-25), 27.3 (p, C-9a), 26.3 (s, C-16), 26.1 (2C, p, C-9b u. s, C-4), 25.9 (s, C-3), 19.1 (p,

C-22a), 18.4 (p, C-22b), 17.5 (2C, p, C-12 u. C-18), 12.6 (p, C-17) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{37}H_{63}N_8O_{11}$ [$M + H^+$]: 795.4616, gefunden 795.4614.

7.4 Zum Thema „Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek“ durchgeführte Synthesen

7.4.1 Allgemeine Vorschriften

Vorschriften für Fmoc-basierte Festphasenpeptidsynthese (SPPS) nach CHAN.^[127]

Protokoll 1: Aktivierung des Polymers

2-Cl-Tritylchlorid- Polystyrol Harz (IRIS BIOTECH 100-200 Mesh, 1.0-1.6 mmol/g) wurde in einem Festphasenreaktor (siehe allgemeine Hinweise) in CH_2Cl_2 gequollen (30 min) und mit CH_2Cl_2 (4x) und Toluol (5x) gewaschen. Das Polymer wurde danach in einen Dreihalskolben überführt, der mit einem KPG-Rührer ausgestattet war, und genug Toluol hinzugegeben, sodass das Polymer mit Lösungsmittel bedeckt war. Anschließend wurde $AcCl$ (1 mL/g Polymer) hinzugegeben und für drei Stunden bei 60 °C gerührt. (Der Rührer durfte nicht den Boden des Gefäßes berühren, da das Polymer empfindlich gegenüber physischer Belastung ist.) Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, das Polymer mit Toluol erneut in den Festphasenreaktor überführt und mit CH_2Cl_2 gewaschen (4x). Anschließend wurde sofort mit der Beladung der ersten Aminosäure begonnen (vgl. Protokoll 2).

Protokoll 2: Aufbringen der ersten Aminosäure

Nach Protokoll 1 voraktiviertes Polymer befand sich in einem Festphasenreaktor. In einem separaten Kolben wurde eine Aminosäure (0.6 mmol/g Polymer) mit DIPEA (2.5 Äquiv.) in CH_2Cl_2 gelöst und zu dem nach Protokoll 1 voraktivierten Polymer hinzugegeben. Das Gemisch wurde für 25 min bei RT durchmischt.^[128] Anschließend wurde das Lösungsmittel abgelassen und das Polymer mit DMF gewaschen (2x). Das Polymer wurde mit einem Gemisch aus $CH_2Cl_2/MeOH/DIPEA$ (80:15:5) versetzt (2x) und je 10 min durchmischt. Anschließend wurde das Polymer mit DMF (3x) gewaschen. Das Polymer wurde daraufhin mit Piperidin (25 % in DMF, 4x) versetzt und je 10 min durchmischt. Anschließend wurde mit DMF (6x), 2-Propanol (4x) und Petrolether (4x) gewaschen, das Polymer mithilfe von CH_2Cl_2 in einen Kolben überführt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde für 16 h am Vakuum (0.1 mbar) getrocknet. Das Polymer war anschließend lagerstabil bei -4 °C. (In allen folgenden Reaktionsschritten wurde davon ausgegangen,

¹²⁷ W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, Oxford University Press, Oxford 2000.

¹²⁸ Bei längeren Reaktionszeiten trat eine partielle Fmoc-Entschützung und eine Alkylierung des resultierenden Amins mit dem gebildeten 9-Methylenfluoren auf.

dass die Veresterung der ersten Aminosäure quantitativ verlaufen war. Alle in späteren Vorschriften erwähnten Äquivalente beziehen sich auf den maximalen Umsatz, entsprechend 0.6 mmol/g Polymer.)

Protokoll 3: TBTU, HOBt, DIPEA (*für die Darstellung eines Dipeptides*)

Nach Protokoll 1 und 2 dargestelltes Polymer wurde in einen Festphasenreaktor überführt und 16 h in DMF gequollen und mit DMF (2x) gewaschen. In einem separaten Kolben wurde die zu kuppelnde Fmoc-geschützte Aminosäure (5.00 Äquiv.) zusammen mit TBTU (4.90 Äquiv.) und HOBt (5.00 Äquiv.) in möglichst wenig wasserfreiem DMF gelöst und anschließend DIPEA (10.0 Äquiv.) unter starkem Rühren hinzugegeben. Die resultierende Lösung wurde direkt auf das Polymer gegeben und für bis zu 4 h durchmischt. Nach jeder Stunde wurde ein KAISER-Test (vgl. Protokoll 7) durchgeführt. Fiel dieser vorzeitig negativ aus, wurde die Reaktionszeit gegebenenfalls verkürzt. Fiel nach 4 h der Kaiser-Test immer noch positiv aus, wurden die Kupplungsreagenzien abgelassen, das Polymer mit DMF (2x) gewaschen und die Kupplung mit frischen Reagenzien wiederholt. Anschließend wurde mit DMF (5x) gewaschen und eine Massenprobe genommen (vgl. Protokoll 9).

Protokoll 4: DIC, HOBt (*Standard Bedingungen*)

Nach Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe (vgl. Protokoll 10) wurde in einem separaten Kolben die zu kuppelnde Aminosäure (5.00 Äquiv.) mit HOBt (5.00 Äquiv.) in möglichst wenig wasserfreiem DMF gelöst. Die Lösung wurde mit DIC (5.00 Äquiv.) bei RT versetzt und für 30 min gerührt, wobei eine Trübung der Lösung auftrat, aus welcher bei längerer Wartezeit ein Feststoff ausfiel. Dieser wurde gegebenenfalls mit möglichst wenig weiterem DMF angelöst. Die trübe Lösung wurde in den Festphasenreaktor überführt und zusammen mit dem Polymer für bis zu 4 h durchmischt, wobei einmal pro Stunde ein KAISER-Test (vgl. Protokoll 7) durchgeführt wurde. Fiel dieser vorzeitig negativ aus, wurde die Reaktionszeit gegebenenfalls verkürzt. Nach spätestens 4 h wurden die Kupplungsreagenzien abgelassen und das Polymer mit DMF (5x) gewaschen. Für den Fall, dass nach 4 h der Kaiser-Test immer noch positiv ausfiel, wurde die Kupplung mit frischen Reagenzien wiederholt. Bei einem nicht eindeutigen KAISER-Test oder aber spätestens nach jeder zweiten Kupplung wurde eine Massenprobe durchgeführt (vgl. Protokoll 9).

Protokoll 5: Peptidkupplung sekundäres Amin - Variante A

Nach der Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe (vgl. Protokoll 10) wurde in einem separaten Kolben die zu kuppelnde Fmoc-geschützte Aminosäure (5.00 Äquiv.) zusammen mit TFFH (4.90 Äquiv.) in möglichst wenig wasserfreiem DMF gelöst und anschließend DIPEA (10.0 Äquiv.) unter starkem Rühren hinzugegeben. Die resultierende Lösung wurde direkt auf das Polymer gegeben und für bis zu

4 h durchmischt. Nach jeder Stunde wurde ein Chloranil-Test (vgl. Protokoll 8) durchgeführt. Fiel dieser vorzeitig negativ aus, wurde die Reaktionszeit gegebenenfalls verkürzt. Anschließend wurde mit DMF (5x) gewaschen und eine Massenprobe angefertigt (vgl. Protokoll 9). Für den Fall, dass nach 4 h der Chloranil-Test immer noch positiv ausfiel und die Massenprobe keinen quantitativen Umsatz zeigte, wurde die Kupplung mit den Bedingungen von Protokoll 6 wiederholt.

Protokoll 6: Peptidkupplung sekundäres Amin - Variante B

In einem separaten Kolben wurde die zu kuppelnde Fmoc-geschützte Aminosäure (5.00 Äquiv.) zusammen mit PyBrOP (4.90 Äquiv.) in einer minimalen Menge an wasserfreiem DMF gelöst, das Gemisch auf 0 °C gekühlt und DIPEA (10.0 Äquiv.) unter starkem Rühren hinzugefügt. Das Gemisch wurde danach möglichst schnell zu dem aus Protokoll 5 erhaltenen Polymer hinzugegeben und für bis zu 3.5 h bei RT durchmischt, wobei nach jeder Stunde ein Chloranil-Test (vgl. Protokoll 8) durchgeführt wurde. Anschließend wurde mit DMF gewaschen (5x) und eine Massenprobe (vgl. Protokoll 9) durchgeführt. Zeigte sich immer noch keine quantitativer Umsatz, so wurde das Polymer mit einer Lösung von Essigsäureanhydrid (30.0 Äquiv.) und DIPEA (30.0 Äquiv.) in CH₂Cl₂ versetzt und für maximal 4 h bei RT durchmischt. Es wurde nach jeder Stunde ein Chloranil-Test durchgeführt. Fiel dieser negativ aus, so wurde die Reaktionszeit gegebenenfalls verkürzt. Fiel dieser nach 4 h immer noch positiv aus, so wurde mit DMF gewaschen (5x) und die Reaktion unter Verwendung von frischen Reagenzien wiederholt. Nach negativem Chloranil-Test wurde eine Massenprobe durchgeführt (vgl. Protokoll 9).

Protokoll 7: KAISER Test

Es wurde mit einer Glaspipette eine kleine Probe des Polymers entnommen und mit DMF (3x), 2-Propanol (3x), Petrolether (3x) und Ethanol (3x) gewaschen. Das Polymer wurde anschließend in ein kleines Gefäß überführt und mit je 2-3 Tropfen einer Ninhydrin-Lösung (5 % in Ethanol), einer KCN-Lösung (2 mL einer 0.001 M KCN-Lösung in Wasser und 98 mL Pyridin) und einer Phenol-Lösung (80 % in Ethanol) versetzt und für 4-6 min auf 120 °C erhitzt. Freie Amine wurden durch eine charakteristische Blaufärbung der Polymerkügelchen nachgewiesen. Bei DIC/HOBt als Reagenzkombination konnte eine leichte Grünfärbung oder Blaufärbung der über dem Polymer stehenden Lösung auftreten, was als falsch positiv fehlinterpretiert werden konnte. In einem solchen Fall wurde zusätzlich eine Massenprobe angefertigt (vgl. Protokoll 9).

Protokoll 8: Chloranil/Acetaldehyd Test (*Sekundäre Amine*)

Es wurde eine Polymerprobe entnommen und mit DMF (3x) gewaschen. Das Polymer wurde anschließend auf ein Urglas gegeben und mit je einem Tropfen einer *p*-Chloranil-Lösung (2 % in DMF) und einer Acetaldehyd-Lösung (2 % in DMF) versetzt und für 10 min bei RT stehen gelassen. Freie Amino-Gruppen wurden durch eine charakteristische Blaufärbung der Polymerkügelchen nachgewiesen. (Reagenzien für den Test sollten nicht älter als zwei Wochen sein und im Kühlschrank aufbewahrt werden.)

Protokoll 9: Massenprobe

Aus dem Reaktionsgemisch wurde mit einer Glaspipette eine kleine Menge Polymer entnommen, in eine Glasfritte überführt und mit DMF (4x), 2-Propanol (4x) und Petrolether (4x) gewaschen und getrocknet. 3-5 mg des Polymers wurden in ein EPPENDORF-Probengefäß eingewogen, mit 5 Tropfen 2,2,2-Trifluorethanol (20% in CH₂Cl₂) versetzt und für 5 min geschüttelt. Anschließend wurden 10-15 Tropfen DMSO hinzugefügt, geschüttelt und das Probengefäß zentrifugiert. Aus der überstehenden Lösung wurden 25 µL entnommen, in ein Massengläschen überführt und mit MeOH (1 mL) verdünnt. Eine so dargestellte Lösung war für eine HPLC-MS-Messung ohne weitere Verdünnung geeignet. Für den Fall, dass die synthetisierte Peptidkette über säurelabile Schutzgruppen verfügte, war die Lagerfähigkeit der Probe sehr begrenzt. Die HPLC-MS-Messung wurde daher möglichst zeitnah durchgeführt.

Protokoll 10: Fmoc-Entschützung

Das zu entschützende Polymer wurde in einen Festphasenreaktor überführt und für 16 h in wasserfreiem DMF gequollen. Anschließend wurde das Polymer mit Piperidin (25 % in DMF, 4x) versetzt und für jeweils 10 min durchmischt. Anschließend wurde mit DMF (5x) gewaschen.

Protokoll 11: Trocknen des Polymers

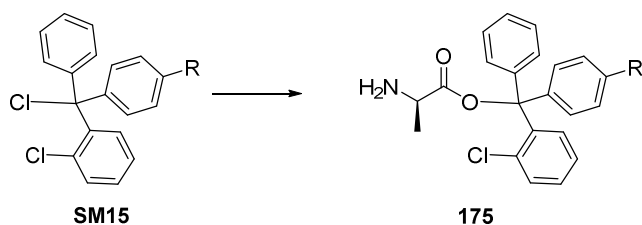
Polymere sind in ihrem trockenen Zustand besser lagerfähig. Zum Trocknen des Polymers wurde mit DMF (6x), 2-Propanol (4x) und Petrolether (4x) gewaschen. Das Polymer wurde danach mit CH₂Cl₂ in einen Kolben überführt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde das Polymer für 16 h unter Hochvakuum getrocknet und unter Argonatmosphäre bei -17 °C aufbewahrt.

Protokoll 12: Abspaltung des Polymers

Das Polymer wurde für 30 min in CH_2Cl_2 gequollen und anschließend für 15 min mit einer HFIP (20% in CH_2Cl_2 , 3x) versetzt. Die resultierenden Aliquote des Cocktails wurden anschließend vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

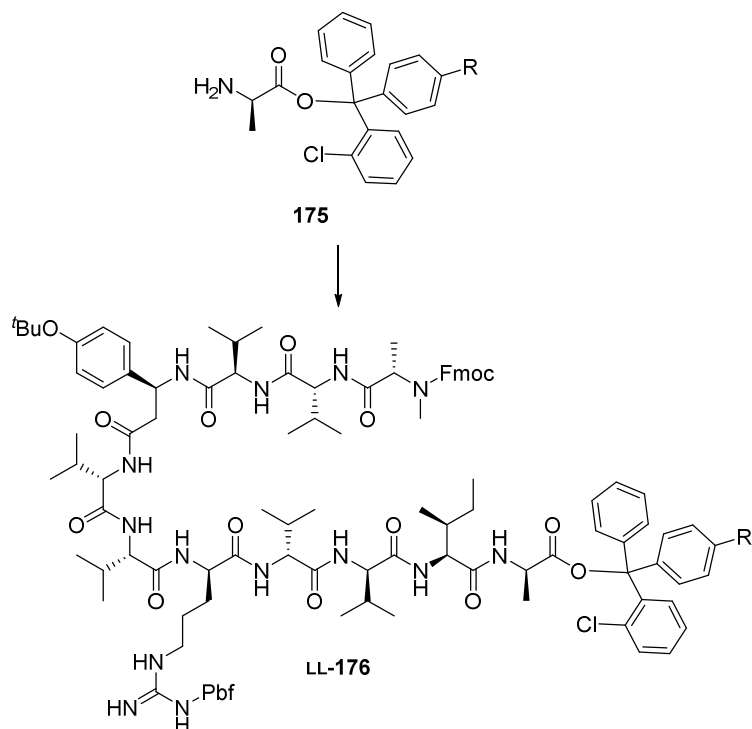
7.4.2 Festphasensynthese**7.4.2.1 Fragment A****Fmoc-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (LL-176)**

Darstellung von Fmoc-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (175):



Das 2-Cl-trt-Cl-Harz (**SM15**, 100-200 Mesh, 1.0-2.5 mmol/g, 4.00 g) wurde mithilfe von Acetylchlorid (4 mL) nach Protokoll 1 voraktiviert. Anschließend wurde mit das Polymer nach Protokoll 2 mit Fmoc-D-Ala-OH (747 mg, 2.40 mmol) beladen. Für die Anwendung des Polymers wurde kein Bedeckungsgrad gemessen. Die effektive Beladung des Polymers wurde nicht bestimmt. Es wird nominell von quantitativem Umsatz ausgegangen. Das Polymer **175** wurde direkt weiterverwendet.

Darstellung von *Fmoc-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)-β-Tyr(tBu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (LL-176)*:



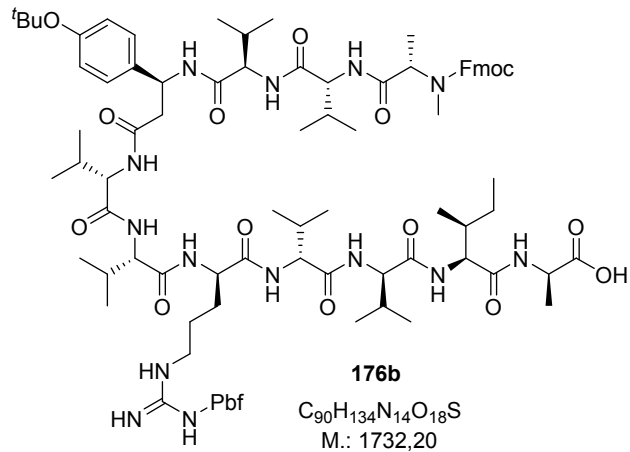
D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (**175**) wurde nach nach Protokoll 3 um Fmoc-L-Ile-OH (4.24 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.) verlängert. Hieran schloss sich iterativ die Fmoc-Entschützung nach Protokoll 10 und die sequentielle Verlängerung um die nachfolgend genannten Aminosäuren in chronologischer Reihenfolge nach Protokoll 4 an:

- Fmoc-D-Val-OH (4.07 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.); (2x)
- Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH (7.79 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.)
- Fmoc-L-Val-OH (4.07 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.); (2x)
- Fmoc-(S)-β-Tyr(*t*Bu)-OH (5.51 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.)
- Fmoc-D-Val-OH (4.07 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.); (2x)
- Fmoc-L-MeAla-OH (3.90 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.)

Das Harz wurde direkt weiterverwendet.

Massenprobe für LL-176b:

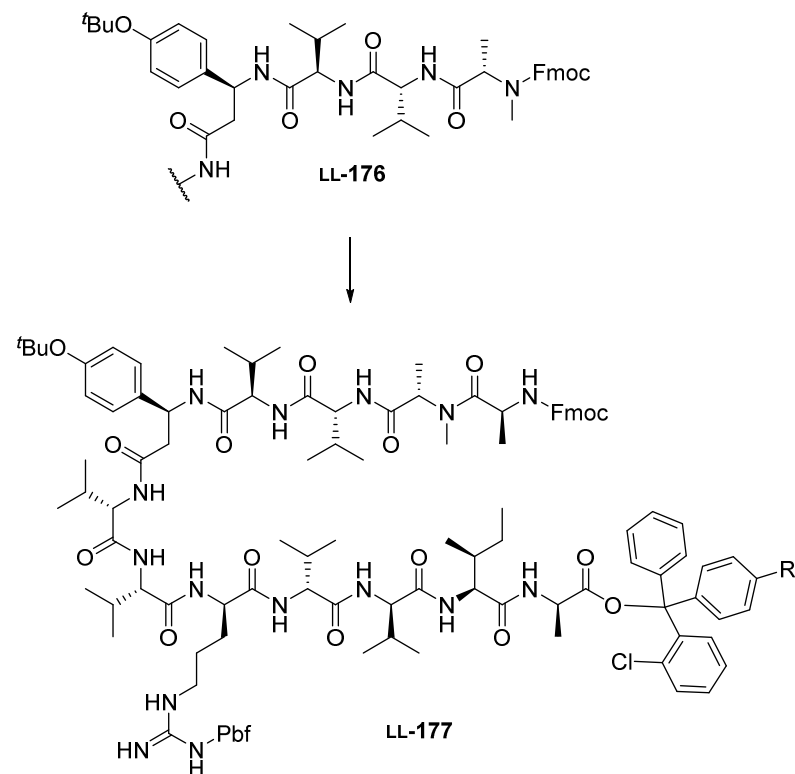
Fmoc-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)-β-Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (**LL-176b**)



HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{90}H_{135}N_{14}O_{18}S$ [$M-tBu + H^+$]: 1675.9132, gefunden 1675.9174.

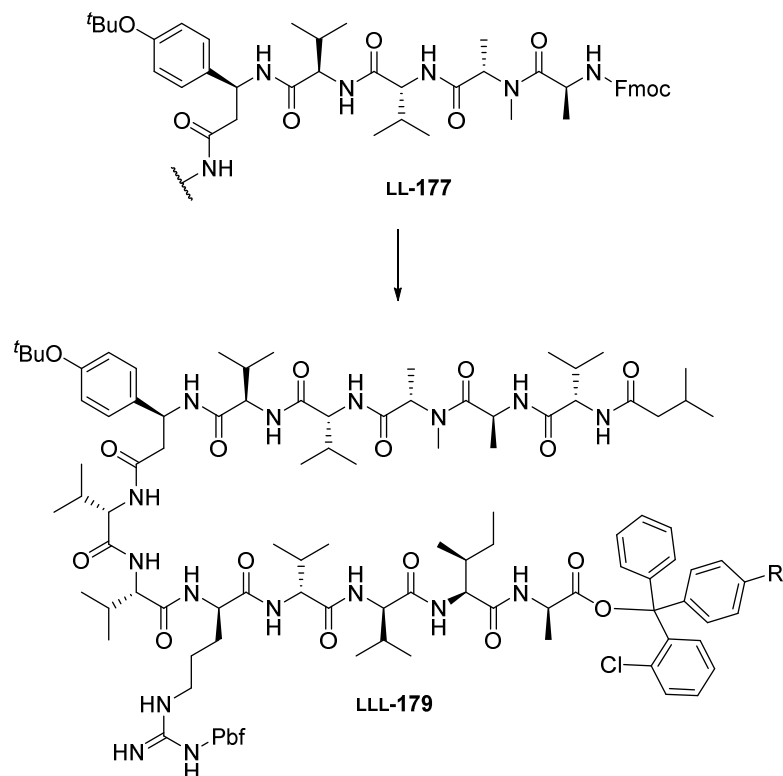
HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{73}H_{110}N_{14}O_{15}$ [$M-tBu-Pbf + H^+$]: 1423.8353, gefunden 1423.8295.

Fmoc-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (LL-177)



Harz **LL-176** wurde nach Protokoll 10 Fmoc-entschützt und dann anschließend nach Protokoll 5 (1x, 4,5 h) und 6 (1x, 4 h) um die Aminosäure Fmoc-L-alanin (3.95 g, 12.0 mmol, 5.00 Äquiv.) erweitert. Weil nach Anwendung beider Bedingungen kein quantitativer Umsatz erreicht werden konnte, wurden die übrigen Amino-Gruppen wie in Protokoll 6 beschrieben acetyliert (1x, 3.5 h). Das Polymer wurde danach nach Protokoll 11 getrocknet. Die Rohmasse des Polymers betrug nach Trocknung (0.1 bar, RT, 16 h) 6.00 g. Das Polymer wurde direkt weiterverwendet.

Isoval-L-Val-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (LLL-179)

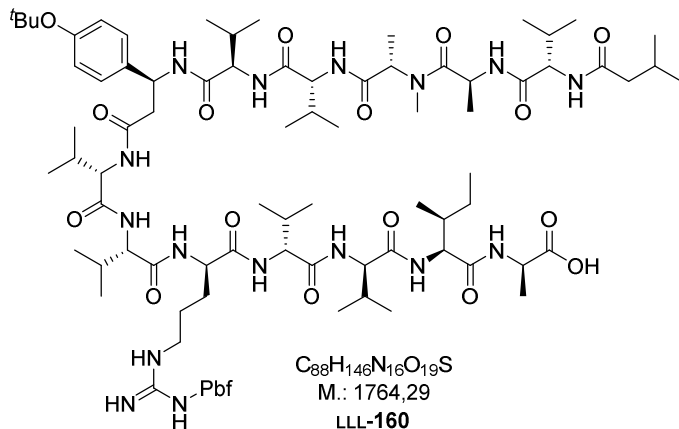


Harz LL-177 (3g, 1.2 mmol) wurde 16 h lang in DMF gequollen. Anschließend wurde iterativ nach Protokoll 10 die Fmoc-Schutzgruppe entfernt und die Peptidkette sequentiell nach Protokoll 4 um folgende Bausteine erweitert:

- Fmoc-L-Val-OH (2.04 g, 6.00 mmol, 5.00 Äquiv.)
- Isovaleriansäure (613 mg, 0.66 mL, 6.00 mmol, 5.00 Äquiv.)

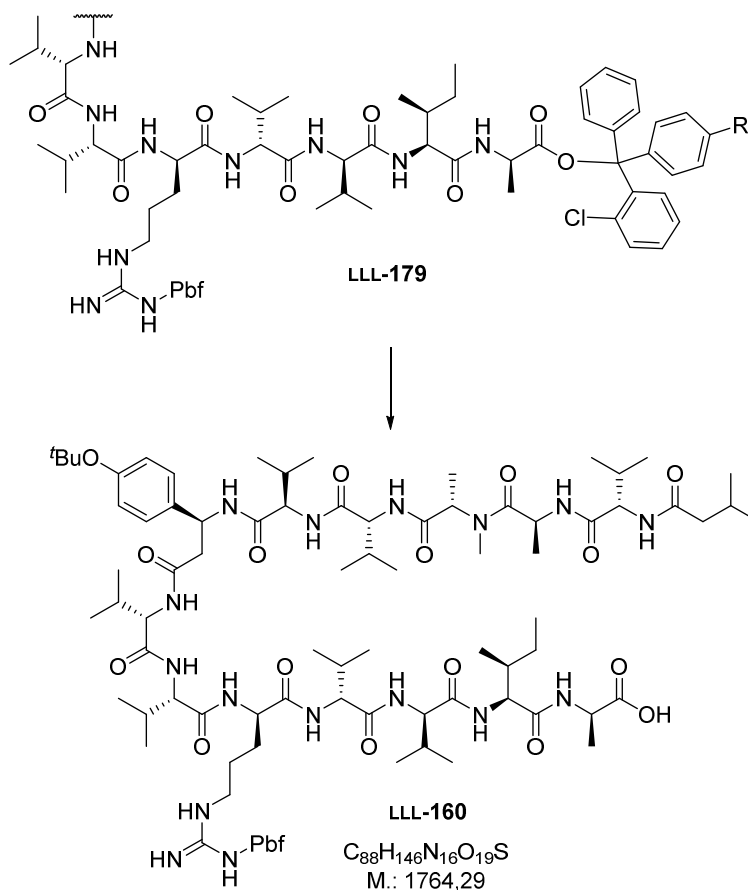
Massenprobe:

Isoval-L-Val-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (LLL-160)



HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{88}H_{148}N_{16}O_{19}S$ [$M + 2H^+$]: 882.5414, gefunden 882.5405.

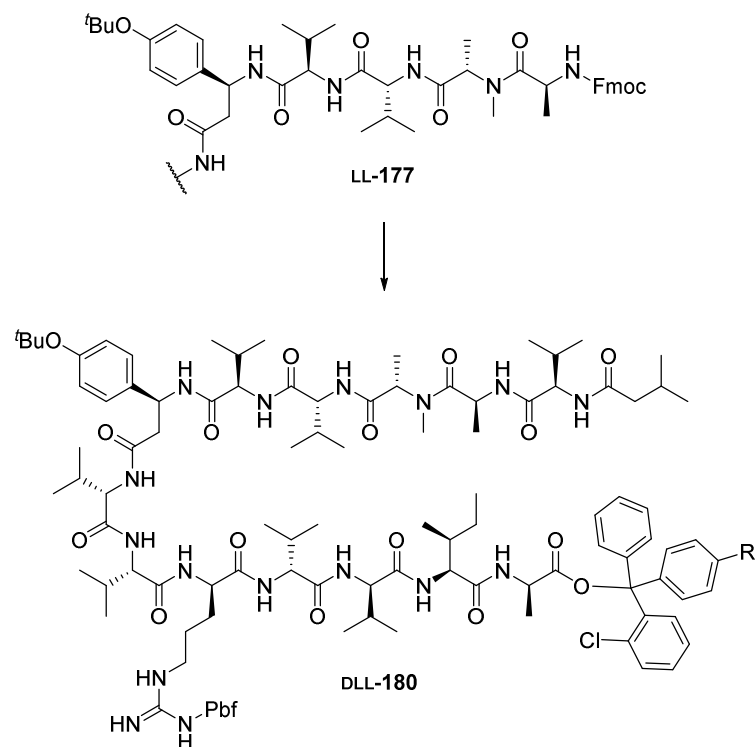
Isoval-L-Val-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (LLL-160)



Behandlung des Harzes **LLL-179** (100 mg) nach Protokoll 12 ergab ein glasartiges Harz (60 mg). Aufgrund der geringen Löslichkeit des Materials konnte keine weitere Reinigung erfolgen.

Elementaranalyse (C/H/N): C: 55.21%, H: 7.84%, N:10.55%.

Isoval-D-Val-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (DLL-180)

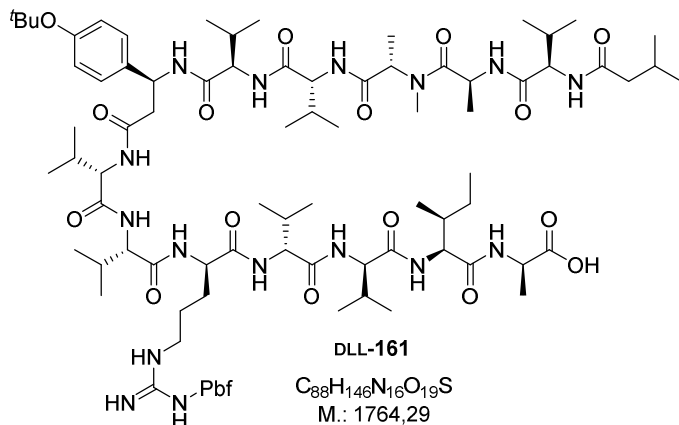


Harz **LL-177** (3 g, 6.00 mmol/g) wurde 16 h in DMF gequollen. Anschließend wurde iterativ nach Protokoll 10 die Fmoc-Schutzgruppe entfernt und die Peptidkette sequentiell nach Protokoll 4 um folgende Bausteine erweitert:

- Fmoc-D-Val-OH (2.04 g, 6.00 mmol, 5.00 Äquiv.)
- Isovaleriansäure (613 mg, 0.66 mL, 6.00 mmol, 5.00 Äquiv.)

Massenprobe:

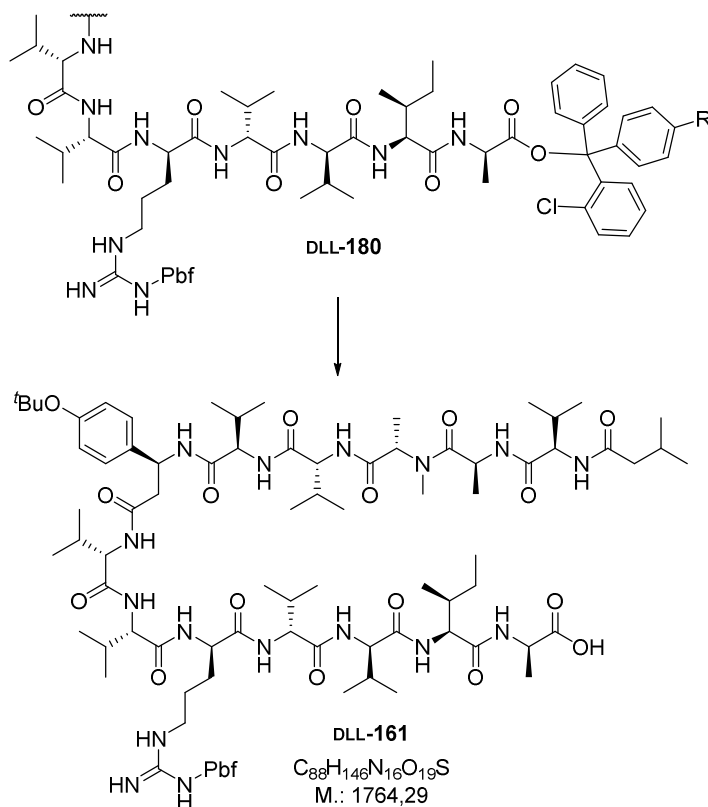
Isoval-D-Val-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (DLL-161)



MS (ESI): m/z berechnet für $C_{88}H_{148}N_{16}O_{19}S$ [$M + 2H^+$]: 882.54, gefunden 882.46.

Elementaranalyse (C/H/N): C: 70.15%, H: 7.04%, N:5.43%.

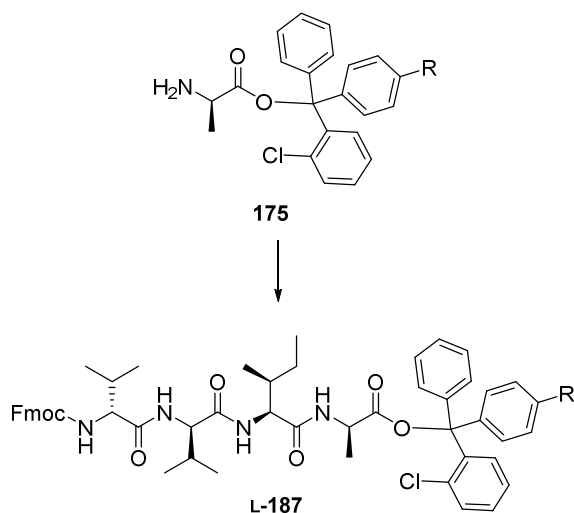
Isoval-D-Val-L-Ala-L-MeAla-D-Val-D-Val-(S)- β -Tyr(*t*Bu)-L-Val-L-Val-D-Arg(Pbf)-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (DLL-161)



Behandlung des Harzes **DLL-180** (120 mg) nach Protokoll 12 ergab ein glasartiges Harz (58 mg). Aufgrund der geringen Löslichkeit des Materials konnte keine weitere Aufreinigung erfolgen.

7.4.2.2 Fragment A4

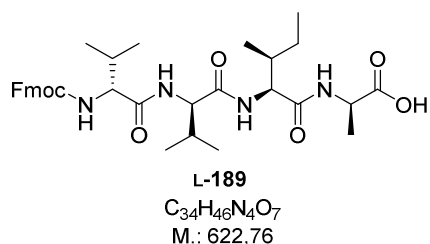
Fmoc-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (L-187)^[93]



Harz **175** (1.50 g, 0.60 mmol/g) wurde in eine 20 mL Spritze eingewogen und mit CH_2Cl_2 für 30 min gequollen. Anschließend wurde das Peptid zunächst nach Protokoll 3 mit Fmoc-L-Ile-OH verlängert. Danach wurde nach Protokoll 10 iterativ die Fmoc-Schutzgruppe entfernt und sequentiell zweimal nach Protokoll 4 mit Fmoc-D-Val-OH verlängert.

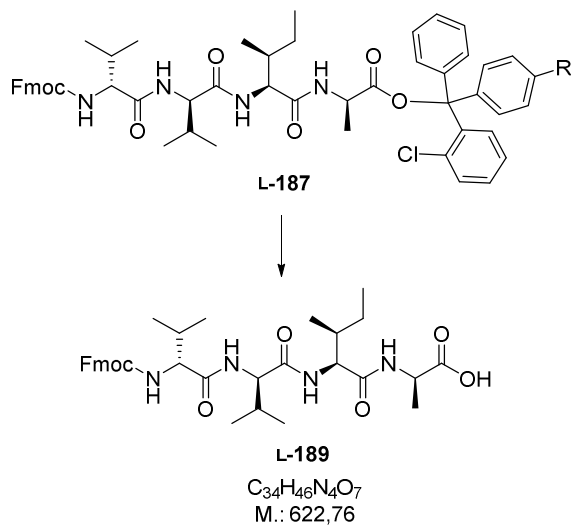
Massenprobe:

Fmoc-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (L-189)



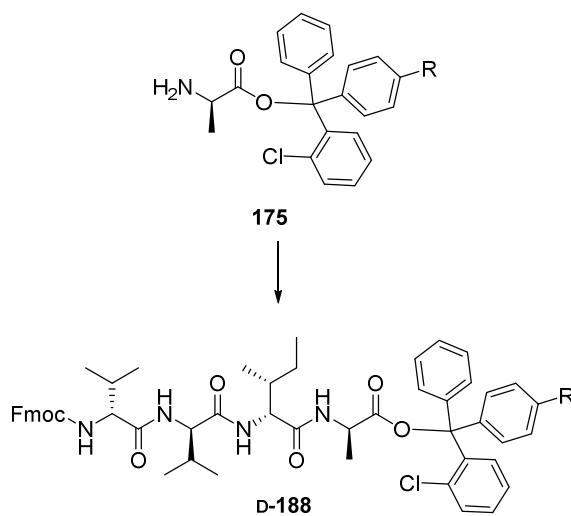
HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_7$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 623.3445, gefunden 623.3445.

Fmoc-D-Val-D-Val-L-Ile-D-Ala-OH (L-189)



Behandlung des Harzes **L-189** (203 mg) nach Protokoll 12 ergab ein glasartiges Harz (81 mg). Aufgrund der geringen Löslichkeit des Materials konnte keine weitere Reinigung erfolgen.

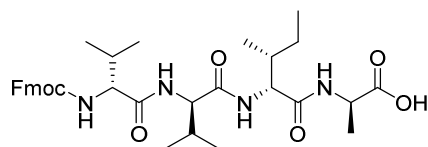
Fmoc-D-Val-D-Val-D-Ile-D-Ala-(2-Cl-trt)-Polystyrolharz (D-188)



Das Harz **D-188** wurde im Zuge einer Bachelorarbeit angefertigt.^[94]

Massenprobe:

Fmoc-D-Val-D-Val-D-Ile-D-Ala-OH (**D-190**)

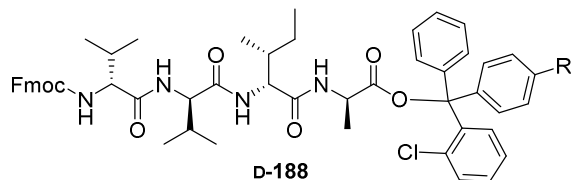


D-190
 $C_{34}H_{46}N_4O_7$
 M.: 622,76

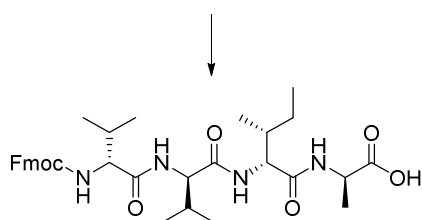
HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{34}H_{46}N_4O_7Na$ $[M + Na^+]$: 645.3264, gefunden 645.3267;

Elementaranalyse (C/H/N): C: 75.82%, H: 6.43%, N: 2.40%.

Fmoc-D-Val-D-Val-D-Ile-D-Ala-OH (D-190)



D-188



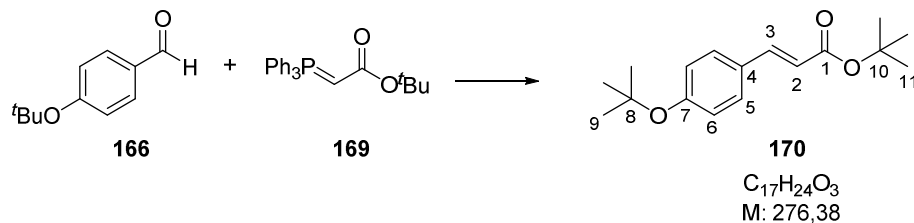
D-190

$C_{34}H_{46}N_4O_7$
 M.: 622,76

Behandlung des Harzes **D-188** (117 mg) nach Protokoll 12 ergab ein glasartiges Harz (32 mg). Aufgrund der geringen Löslichkeit des Materials konnte keine weitere Reinigung erfolgen.

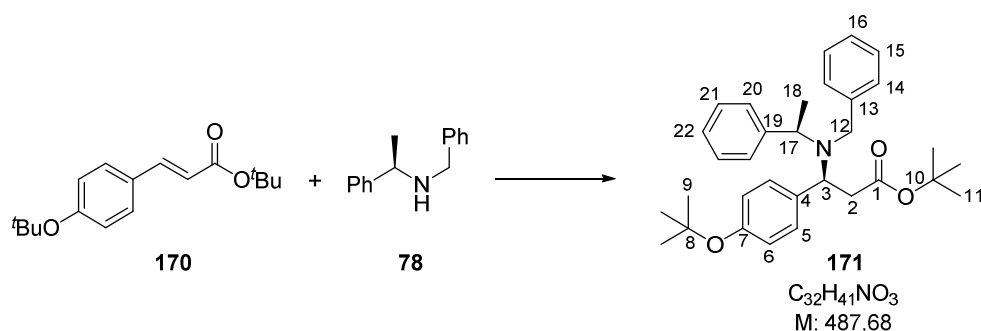
Elementaranalyse (C/H/N): C: 64.22%, H: 7.71%, N: 8.53%.

7.4.3 Synthesevorläufer für die Festphasensynthese

***tert*-Butyl-(*E*)-3-(4-(*tert*-butoxy)phenyl)acrylat (**170**)**


4-*tert*-Butoxybenzaldehyd (**166**, 175 mg, 0.17 mL, 0.98 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde bei RT in wasserfreiem CH_2Cl_2 (2 mL) gelöst und anschließend kommerzielles (*tert*-Butoxycarbonylmethylen)-triphenylphosphoran (**169**, 0.5 g, 1.33 mmol, 1.35 Äquiv.) bei RT hinzugegeben und für 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde Kieselgel hinzugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 20:1) lieferte das Produkt **170** (0.27 g, 0.98 mmol, quant., *E/Z* = 20:1) als farblosen Feststoff.

T_M : 37 °C; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 7.55 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H, H-3), 7.44-7.39 (m, 2H, H-5), 7.00-6.95 (m, 2H, H-6), 6.26 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H, H-2), 1.53 (s, 9H, H-9 od. H-11), 1.37 (s, 9H, H-9 od. H-11) ppm; ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77.16 ppm): δ = 166.7 (q, C-1), 157.6 (q, C-7), 143.3 (t, C-3), 129.6 (q, C-4), 129.0 (2C, t, C-5), 123.9 (2C, t, C-6), 118.8 (t, C-2), 80.4 (q, C-8 od. C-10), 79.3 (q, C-8 od. C-10), 29.0 (3C, p, C-9 od. C-11), 28.4 (3C, p, C-9 od. C-11) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für $C_{13}H_{17}O_3$ [*M-tBu*⁺ + 2H⁺]: 221.1178, gefunden 221.1176.

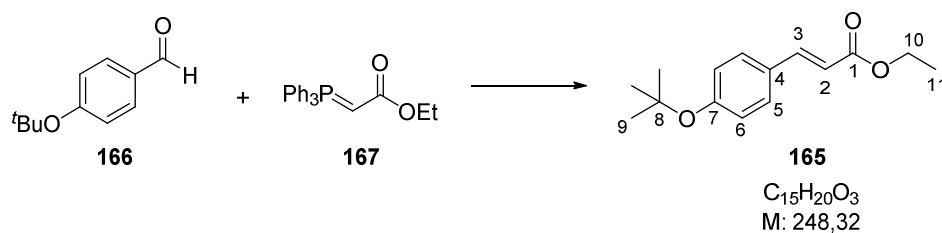
***tert*-Butyl-(*S*)-3-(benzyl-(*R*)-1-phenylethylamino)-3-(4-(*tert*-butoxy)phenyl)-propanoat (**171**)**


(*R*)-*N*-Benzyl-1-phenylethan-1-amin (**78**, 52.0 mg, 250 μ mol, 1.60 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (1 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Anschließend wurde *n*BuLi (2.5 M in Hexan, 0.25 mmol, 0.10 mL, 1.60 Äquiv.) hinzugegeben und für 30 min weiter bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde Ester **170** (43.0 mg, 160 μ mol, 1.00 Äquiv.) gelöst in wasserfreiem THF (1 mL) bei -78 °C über eine Transferkanüle hinzugegeben und für 16 h bei -78 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. NH_4Cl -Lösung bei -78 °C beendet. Nach dem Erwärmen auf RT wurde THF unter vermindertem Druck entfernt, CH_2Cl_2 hinzugegeben, die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x)

extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 10:1) lieferte das Produkt **171** (39.4 mg, 80.0 μmol , 50%, *d.r.* = 20:1) als gelbes Öl mit leichten Verunreinigungen. Eine analysenreine Probe (31.0 mg, 64.0 μmol , 40%, gelbes Öl) konnte mittels RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x150 mm}; H_2O (0.1% FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr; Gradient: 10% MeOH {10 min}, 10-100% MeOH {40 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R : 47-53 min) gewonnen werden.

$[\alpha]_D^{24.8}$: -2.44° ($c = 2.07$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.43\text{-}7.36$ (m, 2H, H-20 od. H-21), 7.36-7.26 (m, 4H, H-5 u. H-20 od. H-21), 7.25-7.19 (m, 5H, H-14 u. H-15 u. H-22), 7.19-7.13 (m, 1H, H-16), 6.98-6.93 (m, 2H, H-6), 4.35 (dd, $J = 10.2, 5.3$ Hz, 1H, H-3), 3.99 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-17), 3.67 (s, 2H, H-12), 2.55 (dd, $J = 14.3, 5.3$ Hz, 1H, H-2a), 2.49 (dd, $J = 14.3, 10.2$ Hz, 1H, H-2b), 1.33 (s, 9H, H-9), 1.23 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-18), 1.20 (s, 9H, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): 171.3 (q, C-1), 154.4 (q, C-7), 144.5 (q, C-19), 142.0 (q, C-13), 136.8 (q, C-4), 128.9 (t, 2C, C-5), 128.2 (q, 2C, C-20 od. C-21), 128.2 (t, 2C, C-14 od. C-15), 128.1 (t, 2C, C-14 od. C-15), 128.0 (t, C-20 od. C-21), 126.9 (t, C-22), 126.6 (t, C-16), 124.0 (t, 2C, C-6), 80.2 (q, C-10), 78.4 (q, C-8), 59.6 (t, C-3), 57.3 (t, C-17), 50.9 (s, C-12), 38.7 (s, C-2), 29.0 (p, 3C, C-9), 27.9 (p, 3C, C-11), 16.4 (p, C-18) **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{NO}_3$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 488.3165, gefunden 488.3163.

Ethyl-(*E*)-3-(4-(*tert*-butoxy)phenyl)acrylat (**165**)

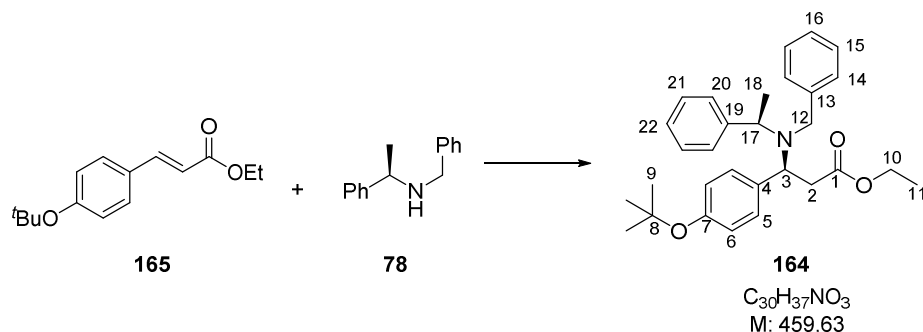


4-*tert*-Butoxybenzaldehyd (**166**, 15.0 g, 84.1 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in CH_2Cl_2 (180 mL) gelöst und anschließend WITTIG-Reagenz **167** (73.3 g, 210 mmol, 2.5 Äquiv.) bei RT hinzugegeben und für 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde Kieselgel hinzugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 20:1) lieferte das Produkt **165** (20.9 g, 84.1 mmol, quant., *E/Z* = 20:1) als farblosen Feststoff.

T_M : 39-40 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.65$ (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, H-3), 7.51-7.38 (m, 2H, H-5), 7.05-6.92 (m, 2H, H-6), 6.33 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, H-2), 4.25 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-10), 1.38 (9H, s, H-9), 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-11) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 167.4$ (q, C-1), 157.9 (q, C-7), 144.4 (t, C-3), 129.4 (q, C-4), 129.1 (t, C-5),

123.9 (t, C-6), 116.8 (t, C-2), 79.4 (q, C-8), 60.5 (s, C-10), 29.0 (p, C-9), 14.5 (p, C-11) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{15}H_{20}O_3Na$ [$M + Na^+$]: 271.1310, gefunden 271.1310.

Ethyl-(S)-3-(benzyl((R)-1-phenylethyl)amino)-3-(4-(tert-butoxy)phenyl)propanoat (164)



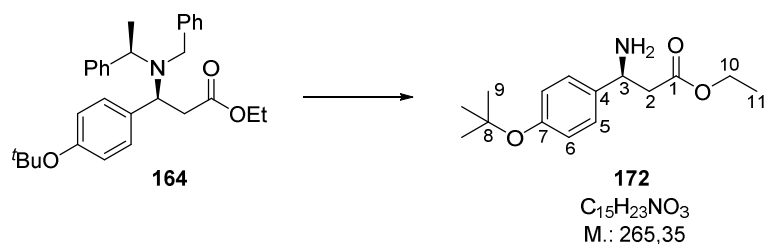
(*R*)-*N*-Benzyl-1-phenylethan-1-amin (**165**, 9.71 g, 45.9 mmol, 1.60 Äquiv.) wurde in wasserfreiem THF (30 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Anschließend wurde *n*BuLi (2.5 M in Hexan, 45.9 mmol, 18.4 mL, 1.60 Äquiv.) über 15 min hinzugetropft und für 30 min weiter bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde Ester **165** (10.0 g, 28.7 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in wasserfreiem THF (30 mL) bei -78 °C über eine Transferkanüle hinzugegeben und für 16 h bei -78 °C gerührt.^[129] Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. NH_4Cl -Lösung bei -78 °C beendet. Nach dem Erwärmen auf RT wurde THF unter vermindertem Druck entfernt, CH_2Cl_2 hinzugegeben, die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 10:1) lieferte das Amin **164** (7.41 g, 16.1 mmol, 56%, *d.r.* > 10:1) als gelbes Öl, welches leichte Verunreinigungen enthält. Eine analysenreine Probe (44 mg) wurde durch RP-Chromatographie (BÜCHI: RP-Kartusche {12x150 mm}; H_2O (0.1% FA)/MeOH (0.1% FA); 10 mL/min, 1 min/Fr; Gradient: 10% MeOH {10 min}, 10-100% MeOH {40 min}, 100% MeOH {10 min}; t_R : 47-53 min) erhalten.

$[\alpha]_D^{21.9}$: -8.8° ($c = 2.64$, CH_2Cl_2); **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.45$ -7.40 (m, 2H, H-20), 7.39-7.14 (m, 10H, H-5 u. H-14 u. H-15 u. H-16 u. H-21 u. H-22), 6.99-6.94 (m, 2H, H-6), 4.40 (dd, $J = 9.5, 5.7$ Hz, 1H, H-3), 4.01 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-17), 3.95 (dq, $J = 10.5, 7.1$ Hz, 1H, H-10a), 3.90 (dq, $J = 10.5, 7.1$ Hz, 1H, H-10b), 3.71 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H, H-12a), 3.66 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H, H-12b), 2.67 (dd, $J = 14.5, 5.5$ Hz, 1H, H-2a), 2.55 (dd, $J = 14.5, 9.5$ Hz, 1H, H-2b), 1.34 (s, 9H, H-9), 1.21 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-18), 1.03 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-11) ppm; **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.0$ (q, C-1), 154.5 (q, C-7), 144.4 (q, C-19), 141.7 (q, C-13),

¹²⁹ Der Autor weist an dieser Stelle darauf hin, dass der Verlauf der Reaktion über eine 1H -NMR-Probe erfolgte, da Produkt und Startmaterial auf der DC (PE/EtOAc) denselben R_f -Wert aufweisen. Massenspektrometrische Messungen stellten sich aufgrund geringer Signalintensitäten ebenfalls als ungeeignete Messmethode heraus.

136.7 (q, C-4), 128.7 (t, 2C, C-5), {128.2, 128.2, 128.2} (t, 2C, C-14 u. t, 2C, C-15 u. t, 2C, C-21), 128.0 (t, 2C, C-20), 126.9 (t, C-22), 126.7 (t, C-16), 124.0 (t, 2C, C-6), 78.5 (q, C-8), 60.3 (s, C-10), 59.2 (t, C-3), 57.0 (t, C-17), 50.8 (s, C-12), 37.8 (s, C-2), 29.0 (p, 3C, C-9), 16.2 (p, C-18), 14.1 (p, C-11) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{30}H_{37}NO_3Na$ [$M + Na^+$]: 482.2671, gefunden 482.2670.

O-^tBu-(*S*)- β -tyrosinethylester (**172**)

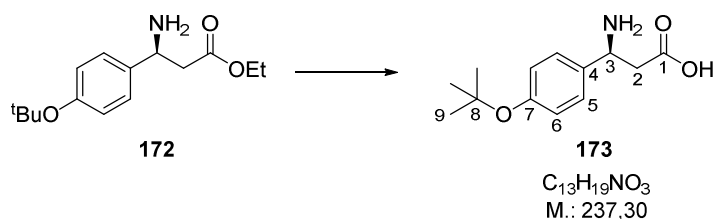


Tertiäres Amin **164** (9,60 g, 19.4 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in MeOH (300 mL) gelöst, Palladium (10 % auf Aktivkohle, 1.03 g, 0.97 mmol, 0.05 Äquiv.) bei RT hinzugegeben und anschließend das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff (3x) gespült. Danach wurde für 5 Tage unter Wasserstoffatmosphäre gerührt (DC-Kontrolle, $CH_2Cl_2/MeOH$, 96:4). Nach Abschluss der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch über Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie ($CH_2Cl_2/MeOH$, 100:0 -> 95:5) lieferte das Amin **172** (4.48 g, 18.8 mmol, 97%, Et-Ester:Me-Ester = 2:1) als farbloses Öl.

Ethylester: 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.29$ -7.20 (m, 2H, Ar-H), 6.98-6.91 (m, 2H, Ar-H), 4.44-4.34 (m, 1H, H-3), 4.13 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-10), 2.68-2.64 (m, 2H, H-2), 2.16 (bs, 2H, NH_2), 1.33 (s, 9H, H-9), 1.22 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-11) ppm; ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.2$ (q, C-1), 154.8 (q, C-7), 139.3 (q, C-4), 126.8 (2C, t, C-5), 124.3 (2C, t, C-6), 78.6 (q, C-8), 60.7 (s, C-10), 52.3 (t, C-3), 44.3 (s, C-2), 29.0 (3C, p, C-9), 14.3 (p, C-11) ppm; Methylester: 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.29$ -7.20 (m, 2H, Ar-H), 6.98-6.91 (m, 2H, Ar-H), 4.44-4.34 (m, 1H, H-3), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 2.68-2.64 (m, 2H, H-2), 2.16 (bs, 2H, NH_2), 1.33 (s, 9H, H-9) ppm; ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.7$ (q, C-1), 154.8 (q, C-7), 139.3 (q, C-4), 126.8 (2C, t, C-5), 124.4 (2C, t, C-6), 78.6 (q, C-8), 52.3 (t, C-3), 51.8 (p, OCH_3), 44.1 (s, C-2), 29.0 (3C, p, C-9) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $C_{15}H_{23}NO_3Na$ [$M + Na^+$]: 288.1576, gefunden 288.1580.

Das Produkt wurde nicht weiter analysiert und direkt weiterverwendet.

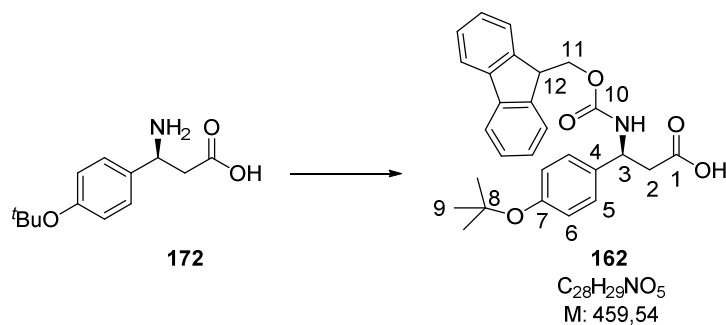
***O*'-^tBu-(*S*)- β -tyrosin (**173**)**



Ester **172** (4.48 g, 18.8 mmol, 1.00 Äquiv., Et-Ester:Me-Ester = 2:1) wurde in THF (170 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine LiOH-Lösung (1M in H₂O, 169 mmol, 169 mL, 10.0 Äquiv.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 16 h bei RT gerührt. Nach Ende der Reaktion (DC-Kontrolle) wurde THF unter vermindertem Druck entfernt, der pH-Wert der wässrigen Lösung wurde mit halb-konz. HCl-Lösung auf pH = 5.5 eingestellt und das Reaktionsgemisch eisgekühlt, woraufhin ein weißer Feststoff ausfiel. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit wenig H₂O und EtOAc gewaschen und über Hochvakuum getrocknet. Das Produkt **173** (3.81 g, 16.1 mmol, 86%) wurde als weißer Feststoff erhalten.

T_M: 233 °C (dekomp.); **¹H-NMR** (400 MHz, D₂O + NaOH, HDO = 4.79 ppm): δ = 7.35-7.29 (m, 2H, H-5), 7.08-7.02 (m, 2H, H-6), 4.22 (t, J = 7.32 Hz, 1H, H-3), 2.55 (dd, J = 14.5, 7.9 Hz, 1H, H-2a), 2.51 (dd, J = 14.5, 6.8 Hz, 1H, H-2b), 1.32 (s, 9H, H-9) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, D₂O + NaOH, MeOH = 49.5 ppm): δ = 180.8 (q, C-1), 153.2 (q, C-7), 141.4 (q, C-4), 127.7 (2C, t, C-5), 125.3 (2C, t, C-6), 81.5 (q, C-8), 53.1 (s, C-2 od. t, C-3), 47.7 (s, C-2 od. t, C-3), 28.4 (3C, p, C-9) ppm. *{Zielverbindung ist unlöslich in den gängigen Lösungsmitteln. Auf die Messung des Drehwinkels wurde daher an dieser Stelle verzichtet.}*

***N*-Fmoc-*O*'-^tBu-(*S*)- β -tyrosin (**162**)**

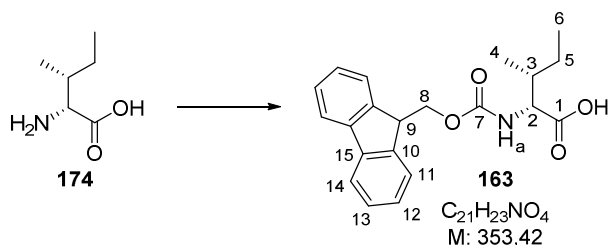


Aminosäure **172** (500 mg, 2.11 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in 1,4-Dioxan (60 mL) suspendiert, mit einem Eisbad gekühlt. Anschließend wurde Na₂CO₃ Lösung (10%, 120 mL) hinzugegeben, bevor das Gemisch erstarrte. Es bildete sich eine trübe Lösung. Anschließend wurde FmocCl (600 mg, 2.32 mmol, 1.10 Äquiv.) gelöst in 1,4-Dioxan (60 mL) über 10 min hinzutropft. Das Reaktionsgemisch wurde über 3 h hinweg langsam auf RT erwärmt, wobei sich eine starke Trübung

des Reaktionsgemisches einstellte. Nach Ende der Reaktion (DC-Kontrolle $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 9:1$) wurde mit H_2O und Et_2O verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Et_2O gewaschen (2x), der pH-Wert der wässrigen Phase mit halb-konz. HCl -Lösung auf $\text{pH} = 0-1$ gesenkt und die wässrige Phase anschließend mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **162** (910 mg, 1.98 mmol, 94 %) wurde als farbloser Schaum erhalten.

$[\alpha]_{\text{D}}^{23.6}$: -39.5° ($c = 1.68$, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 12.26$ (bs, 1H, COOH), 7.92 (d, $J = 8.53$ Hz, 1H, NH), 7.90-7.82 (m, 2H, Ar-H), 7.73-7.63 (m, 2H, Ar-H), 7.45-7.35 (m, 2H, Ar-H), 7.35-7.17 (m, 4H, Ar-H u. H-5), 6.97-6.87 (m, 2H, H-6), 4.97 (dt, $J = 8.3$, 7.0 Hz, 1H, H-3), 4.35-4.15 (m, 3H, H-11 u. H-12), 2.74 (dd, $J = 15.5$, 8.7 Hz, 1H, H-2a), 2.66 (dd, $J = 15.5$, 6.3 Hz, 1H, H-2b), 1.27 (s, 9H, H-9) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO-d}_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 171.8$ (q, C-1), 155.4 (q, C-10), 154.1 (q, C-7), 144.0 (q, C-Ar), 143.8 (q, C-Ar), 140.8 (2C, q, C-Ar), 137.4 (q, C-4), {127.6, 127.6} (2C, t, C-Ar), {127.1, 127.1} (2C, t., C-Ar), 127.0 (2C, t, C-5), {125.2, 125.2} (2C, t, C-Ar), 123.3 (2C, t, C-6), 120.1 (2C, t, C-Ar), 77.8 (q, C-8), 65.4 (t, C-12), 51.1 (t, C-3), 46.8 (s, C-11), 41.2 (s, C-2), 28.6 (p, C-9) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{NO}_5\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 482.1943, gefunden 482.1941.

N-Fmoc-D-isoleucin (**163**)



D-Isoleucine (**174**, 2.50 g, 19.1 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in einer Na_2CO_3 -Lösung (10%, 40 mL) und in 1,4-Dioxan (20 mL) gelöst, auf 0°C gekühlt und anschließend FmocCl (5.92 g, 23.0 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 1,4-Dioxan (20 mL) über 10 min hinzugegeben. Es wurde für 30 min bei 0°C und 4 h bei RT gerührt. Anschließend wurde mit H_2O verdünnt und mit Et_2O (3x) gewaschen. Der pH-Wert der wässrigen Phase wurde mit konz. HCl -Lösung auf $\text{pH} = 0-1$ gesenkt, die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **163** (6.40 g, 18.5 mmol, 97%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21.9}$: $+11.1^\circ$ ($c = 0.92$, DMF) {Lit.^[130]: $+11.5^\circ$ ($c = 0.92$, DMF)}; T_{M} : $145-146^\circ\text{C}$ (Lit.^[130]: $144-146^\circ\text{C}$); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 ; $\text{DMSO-d}_5 = 2.50$ ppm): $\delta = 12.57$ (bs, 1H, COOH), 7.92-

¹³⁰ H. Echner, W. Voelter, *Liebigs Annalen der Chemie* **1988**, 1095-1097.

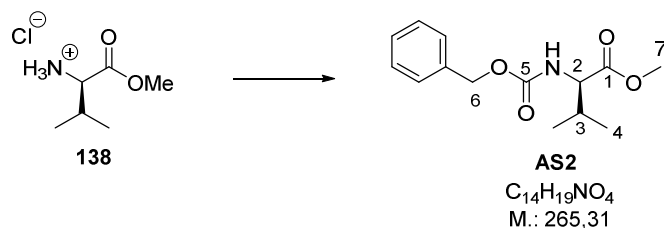
7.85 (m, 2H, Ar-H), 7.78-7.72 (m, 2H, Ar-H), 7.61 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, NH), 7.45-7.38 (m, 2H, Ar-H), 7.36-7.28 (m, 2H, Ar-H), 4.30-4.18 (m, 3H, H-8 u. H-9), 3.93 (dd, $J = 8.4, 6.5$ Hz, 1H, H-2), 1.87-1.76 (m, 1H, H-3), 1.49-1.37 (m, 1H, H-5a), 1.30-1.17 (m, 1H, H-5b), 0.89 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-4), 0.85 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-6) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO- $d_6 = 39.52$ ppm): $\delta = 173.3$ (q, C-1), 156.3 (q, C-7), 143.9 (q, C-Ar), 143.8 (q, C-Ar), 140.7 (q, C-Ar), 140.7 (q, C-Ar), 127.7 (t, C-Ar), 127.6 (t, C-Ar), 127.1 (t, C-Ar), 127.1 (t, C-Ar), 125.4 (t, C-Ar), 125.4 (t, C-Ar), 120.1 (t, C-Ar), 120.1 (C-Ar), 65.7 (s, C-8), 58.6 (t, C-2), 46.7 (t, C-9), 30.0 (t, C-3), 24.7 (s, C-5), 15.6 (p, C-4), 11.2 (p, C-6) ppm;

Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[130]

Die Verbindung wurde von DARID im Zuge einer Bachelorarbeit bereitgestellt.^[94]

7.4.4 Fragment B

Cbz-D-valinmethylester (AS2)



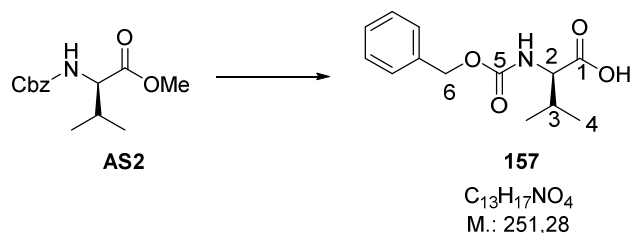
D-Valinmethylester Hydrochlorid (**138**, 1.00 g, 5.97 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in EtOAc (15 mL) und ges. NaHCO₃-Lösung (15 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Chlorameisensäurebenzylester (1.12 g, 0.94 mL, 6.56 mmol, 1.10 Äquiv.) wurde über 20 min hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurden die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 1M HCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 15:1 -> 7.5:1) lieferte das Produkt **AS2** (1.54 g, 5.80 mmol, 97%) als farbloses Öl.

$[\alpha]_D^{24.1}$: -7.3° (c = 2.70, CHCl₃) {Lit.^[131]: -5.5° (c = 4.34, CHCl₃)}; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.40-7.29$ (m, 5H, C-Ar), 5.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, NH), 5.11 (s, 2H, H-6), 4.31 (dd, $J = 9.2, 4.8$ Hz, 1H, H-2), 3.74 (s, 3H, H-7), 2.22-2.09 (m, 1H, H-3), 0.97 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-4a), 0.89 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-4b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.7$ (q, C-1), 156.4 (q, C-5), 136.4 (q, C-Ar), 128.7 (2C, t, C-Ar), 128.3 (t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 67.2 (t, C-6), 59.3 (t, C-2), 52.2 (p, C-7), 31.5 (t, C-3), 19.1 (p, C-4a), 17.7 (p, C-4b) ppm.

¹³¹ H. Adkins, R. M. Ross, D. C. Schroeder, C. L. Mahoney, W. W. Gilbert, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 147–152.

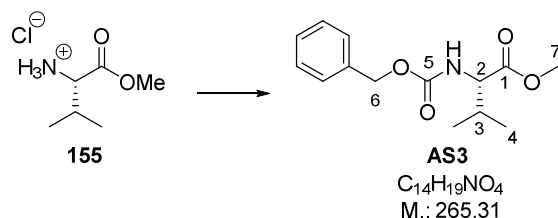
Die Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[132]

Cbz-D-valin (157)



Cbz-D-valinmethylester (**AS2**, 1.00 g, 3.77 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (37.7 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiOH (1M in H₂O, 37.7 mmol, 37.7 mL, 10.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 24 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O und CH₂Cl₂ beendet, die Phasen getrennt und die wässrige mit CH₂Cl₂ (2x) gewaschen. Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **157** (950 mg, 3.77 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten. Es wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Cbz-L-valinmethylester (AS3)



L-Valinmethylester Hydrochlorid (**155**, 1.00 g, 5.97 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in EtOAc (15 mL) und ges. NaHCO₃-Lösung (15 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Chlorameisensäurebenzylester (1.12 g, 0.94 mL, 6.56 mmol, 1.10 Äquiv.) wurde über 20 min hinzuge tropft. Die Reaktion wurde für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurden die Phasen getrennt, die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 1M HCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc, 15:1 -> 7.5:1) lieferte das Produkt **AS3** (1.52 g, 5.73 mmol, 96%) als farbloses Öl.

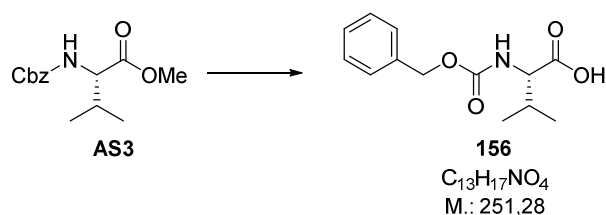
$[\alpha]_D^{23.1}$: +7.3° (c = 1.91, CHCl₃) {Lit.^[133]: +4.5° (c = 1.00, CHCl₃)}; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.39-7.28 (m, 5H, Ar-H), 5.34 (d, J = 9.2 Hz, 1H, NH), 5.11 (s, 2H, H-6),

¹³² K.S. Babu, V.R.S. Rao, R.R. Rao, S.S. Babu, J.M. Rao, Can. J. Chem. **2009**, 87, 393-396.

4.31 (dd, $J = 9.0, 5.0$ Hz, 1H, H-2), 3.73 (s, 3H, H-7), 2.22-2.08 (m, 1H, H-3), 0.96 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-4a), 0.89 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-4b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 172.6$ (q, C-1), 156.3 (q, C-5), 136.4 (q, C-Ar), 128.6 (t, C-Ar), 128.2 (t, C-Ar), 128.2 (t, C-Ar), 67.1 (s, C-6), 59.1 (t, C-2), 52.2 (p, C-7), 31.3 (t, C-3), 19.0 (p, C-4a), 17.6 (p, C-4b) ppm.

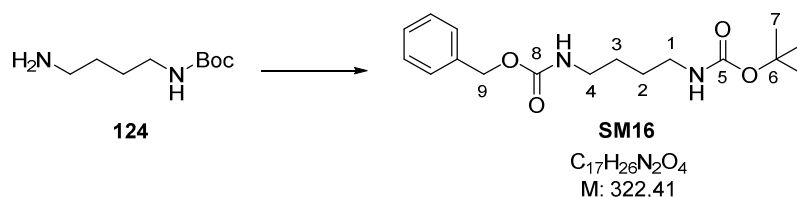
Die Daten stimmen mit den in der Literatur genannten überein.^[133]

Cbz-L-valin (156)



Cbz-D-valinmethyl ester (**AS3**, 1.00 g, 3.77 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in THF (37.7 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. LiOH (1M in H_2O , 37.7 mL, 37.7 mmol, 10.0 Äquiv.) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 24 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Die Reaktion wurde durch Zugabe von H_2O und CH_2Cl_2 beendet, die Phasen getrennt und die wässrige mit CH_2Cl_2 (2x) gewaschen. Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl-Lösung auf pH = 0-1 gesenkt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **156** (950 mg, 3.77 mmol, quant.) wurde als farbloses Öl erhalten. Es wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

N-Boc-N'-Cbz-1,4-diaminobutan (SM16)



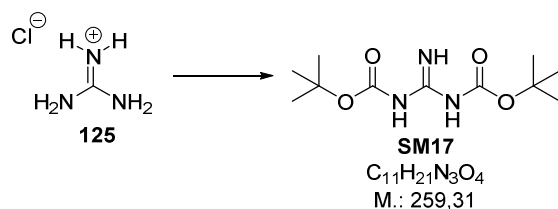
Amin **124** (1.37 g, 7.29 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in ges. NaHCO_3 -Lösung (17 mL) und EtOAc (17 mL) gelöst. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt und Cbz-Cl (1.37 g, 1.14 mL, 8.02 mmol, 1.10 Äquiv.) über 10 min hinzugegropft. Die Reaktion wurde für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 1M HCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der

¹³³ J. N. Hernández, V. S. Martin, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 3590-3592.

Rückstand wurde aus PE (5 mL) und EtOAc (4 mL) umkristallisiert. Das Produkt **SM16** (1.99 g, 6.17 mmol, 85%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

T_M: 100-101 °C (Lit^[134]: 124-126 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.38-7.27 (m, 5H, Ar), 5.09 (s, 2H, H-9), 4.82 (bs, 1H, NH-a), 4.56 (bs, 1H, NH-b), 3.27-3.04 (m, 4H, H-1 u. H-4), 1.56-1.47 (m, 4H, H-2 u. H-3), 1.43 (s, 9H, H-7) ppm; **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 156.6 (q, C-5 od. C-8), 156.1 (q, C-5 od. C-8), 136.7 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.2 (3C, t, Ph), 79.3 (q, C-6), 66.7 (s, C-9), 40.8 (s, C-1 od. C-4), 40.3 (s, C-1 od. C-4), 28.5 (p, C-7), 27.5 (s, C-2 od. C-3), 27.4 (s, C-2 od. C-3) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₇H₂₆N₂O₄Na [M + Na⁺]: 345.1790, gefunden 345.1792.

***N,N'*-Di-*tert*-butyloxycarbonylguanidin (SM17)**^[135]



Guanidin Hydrochlorid (**125**, 6.78 g, 71.0 mmol, 1.00 Äquiv.) und NaOH (11.4 g, 284.0 mmol, 4.00 Äquiv.) wurden in H₂O (71 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde 1,4-Dioxan (142 mL) und (Boc)₂O (34.1 g, 33.4 mL, 156.2 mmol, 2.20 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde 1,4-Dioxan unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in H₂O und EtOAc aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Zitronensäure-Lösung (10%), H₂O und ges.-NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ aufgenommen und Kieselgel hinzugefügt. Anschließend wurde das Lösungsmittel erneut unter vermindertem Druck entfernt und das zurückbleibende Pulver zur Festaufgabe einer Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 97:3) verwendet. Das Produkt **SM17** (9.10 g, 35.1 mmol, 49%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

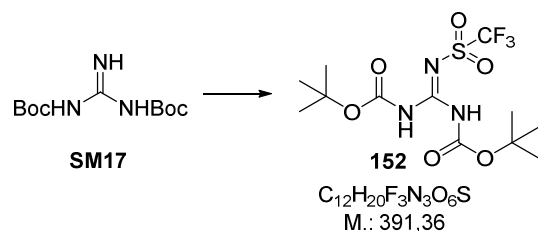
¹³⁴ S. Fuchs, W. Voelter, *Zeitschrift für Naturforschung, Teil B: Anorganische Chemie, Organische Chemie*, **1976**, 31, 1410-1415.

¹³⁵ K. Feichtinger, C. Zapf, H. L. Sings, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3804-3805.

T_M: 130-132 °C (Lit.^[135]: 144 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.30 (bs, 2H, NH), 1.46 (s, 18H, ^tBu) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₁H₂₂N₃O₄ [M + H⁺]: 260.1610, gefunden 260.1610.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[136]

***N,N'*-Di-*tert*-butyloxycarbonyl-*N''*-trifluormethylsulfonylguanidin (152)**^[135]



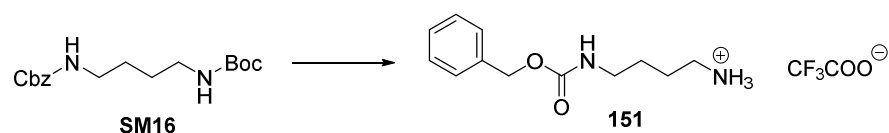
N,N'-Di-*tert*-butyloxycarbonylguanidin (**SM17**, 8.75 g, 33.8 mmol, 1.00 Äquiv.) und Et₃N (3.59 g, 35.4 mmol, 5.00 mL, 1.05 Äquiv.) wurden in CH₂Cl₂ (160 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Trifluormethansulfonsäureanhydrid (10.0 g, 35.4 mmol, 6.00 mL, 1.05 Äquiv.) wurde hinzuge tropft, sodass die Temperatur des Reaktionsgemisches nicht über -65 °C anstieg. Nach der Zugabe wurde innerhalb von 4 h auf RT erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1M KHSO₄-Lösung beendet, die Phasen getrennt, die organische Phase mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (CH₂Cl₂) lieferte das Produkt **152** (9.60 g, 24.5 mmol, 73%) als farblosen Feststoff.

T_M: 115-118 °C (Lit.^[136]: 115 °C); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.09 (bs, 2H, NH), 1.52 (s, 18H, ^tBu) ppm; **HRMS** (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₂₁F₃N₃O₆S [M + H⁺]: 392.1103, gefunden 392.1103.

Die Daten stimmen mit den aus der Literatur angegebenen überein.^[136]

***Nθ,Nθ'*-Di-boc-*Nα*-Cbz-agmatin (154)**

Boc-Entschützung:

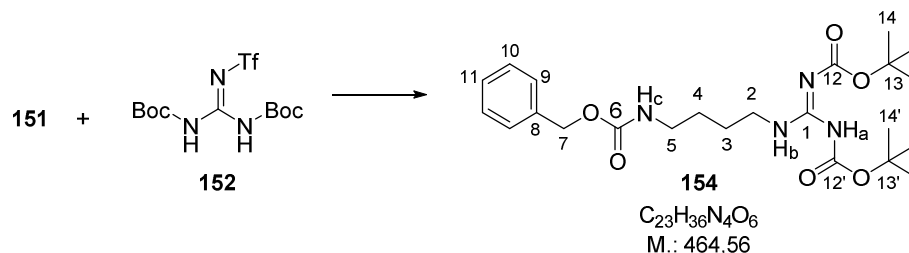


¹³⁶ K. Kisseljova, A. Kuznetsov, M. Baud-Floc'h, J. Järv, *Bioorg. Chem* **2010**, 38, 229-233.

Boc-geschütztes Amin **SM16** (11.0 g, 34.3 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in CH₂Cl₂ (260 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und anschließend mit TFA (130 mL) versetzt. Es wurde für 4 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde H₂O hinzugegeben und das Gemisch mit NaHCO₃ neutralisiert. Anschließend wurde mit NaOH der pH-Wert der wässrigen Phase auf pH = 14 angehoben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc/MeOH (98:2, 6x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD; D₂CHOD = 3.31 ppm): δ = 7.40-7.21 (m, 5H, Ph), 5.06 (s, 2H, PhCH₂), 3.19-3.11 (m, 2H, CbzNHCH₂CH₂), 2.94-2.86 (m, 2H, CH₂CH₂NH₂), 1.74-1.43 (m, 4H, CbzNHCH₂CH₂CH₂CH₂NH₂) ppm.

Guanidinierung:

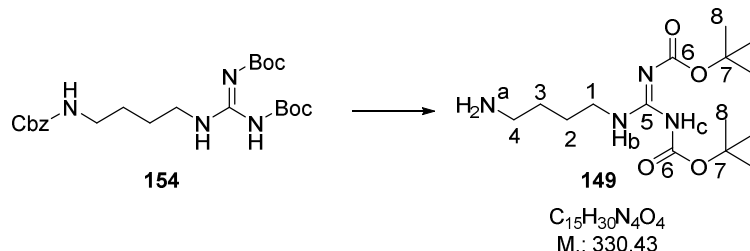


TFA-Salz **151** (34.3 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in CH₂Cl₂ (500 mL) gelöst und mit Et₃N (7.00 g, 9.70 mL, 69.2 mmol, 2.02 Äquiv.) bei RT versetzt, wodurch eine trübe Lösung entstand und ein Feststoff ausfiel. Guanidinierungsreagenz **152** (12.35 g, 37.3 mmol, 1.08 Äquiv.) gelöst in CH₂Cl₂ (30 mL) wurde hinzugegeben und die Reaktion für 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde filtriert, mit EtOAc gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrates unter vermindertem Druck entfernt. Reinigung des Rückstands mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 100:0 -> 99:2) lieferte das Produkt **154** (10.1 g, 21.7 mmol, 63%) als gelbliches Öl. Es konnten ebenfalls 5.66 g (17.1 mmol, 46%) des Guanidin Derivates **152** reisoliert werden.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₅ = 2.50 ppm): δ = 11.50 (s, 1H, NH_a), 8.28 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH_b), 7.38-7.27 (m, 5H, Ar-H), 7.25 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH_c), 5.00 (s, 2H, H-7), 3.27 (q, *J* = 6.5 Hz, 2H, H-2), 3.01 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H, H-5), 1.52-1.34 (m, 4H, H-3 u. H-4), 1.47 (s, 9H, H-12), 1.39 (s, 9H, H-12') ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆; DMSO-d₆ = 39.52 ppm): δ = 163.1 (q, C-12), 156.1 (q, C-6), 155.2 (q, C-1), 152.1 (q, C-12'), 137.3 (q, C-Ar), 128.3 (t, 2C, C-Ar), 127.7 (t, 3C, C-Ar), 82.9 (q, C-13), 78.1 (q, C-13'), 65.1 (s, C-7), 28.0 (3C, p, C-14'), 27.6 (3C, p, C-14), 26.7 (s, C-3), 25.9 (s, C-4) ppm {Die Signale von C-2 und C-5 liegen unter dem DMSO Signal}; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₃H₃₇N₄O₆ [M + H⁺]: 465.2713, gefunden 465.2713.

Die Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.^[137]

Nθ,Nθ'-Di-boc-agmatin (**149**)

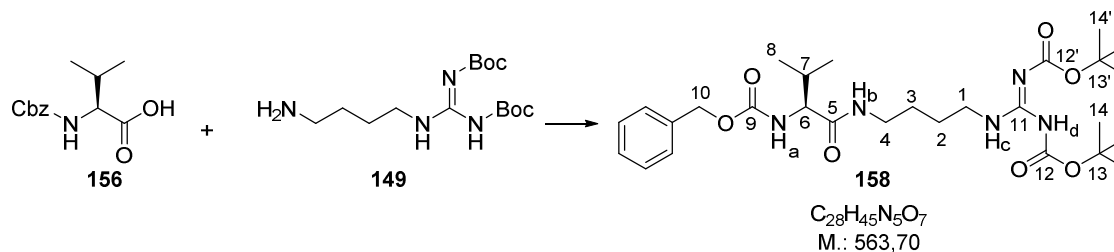


Cbz-geschütztes Agmatin-Derivat **154** (10.1 g, 21.8 mmol, 1.00 Äquiv.) wurde in MeOH (300 mL) bei RT gelöst und mit einer Argon-Atmosphäre (1 bar) versehen. Palladium (10% auf Aktivkohle, 1.16 g, 1.09 mmol, 0.05 Äquiv.) wurde hinzugegeben, das Reaktionsgefäß mit einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) versehen und das Gemisch für 20 h bei RT gerührt. Nach Abschluss der Reaktion wurde über Kieselgur filtriert, mit MeOH gespült und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **149** (6.94 g, 21.0 mmol, 96%) wurde als gelbliches Öl erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 11.48 (bs, 1H, NH-c), 8.34 (s, 1H, NH-b), 3.47-3.36 (m, 2H, H-1), 2.78-2.67 (m, 2H, H-3), 2.05 (bs, 2H, NH-a), 1.68-1.39 (m, 22H, H-2, H-3, H-8) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 163.7 (q, C-5), 156.3 (q, C-6a), 153.4 (q, C-6b), 83.2 (q, C-7a), 79.4 (C-7b), 41.7 (s, C-1 od. C-4), 40.7 (s, C-1 od. C-4), 30.6 (s, C-2 od. C-3), 28.4 (p, C-8a), 28.2 (p, C-8b), 26.5 (s, C-2 od. C-3) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₅H₃₁N₄O₄ [M + H⁺]: 331.2345, gefunden 331.2343.

Die Daten stimmen den in der Literatur angegebenen überein.^[138]

(*N*-Cbz-L-valin)-(*Nθ,Nθ'*-di-boc-*Nα*-agmatid) (**158**)



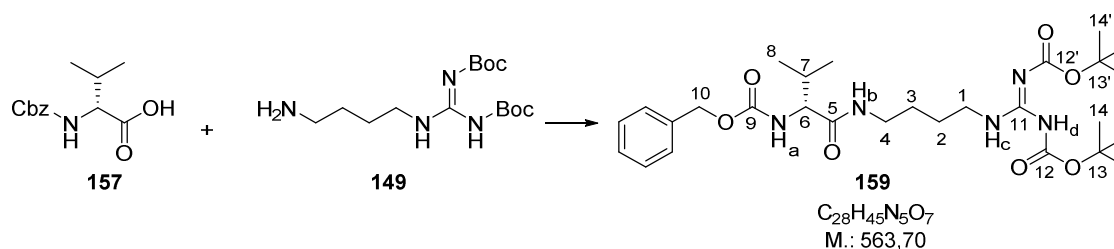
¹³⁷ Y. Takeoka, T. Tanino, M. Sekiguchi, S. Yonezawa, M. Sakagami, F. Takahashi, H. Togame, Y. Tanaka, H. Takemoto, S. Ichikawa, A. Matsuda, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 556-560.

¹³⁸ A. Exposito, M. Fernandez-Suarez, T. Iglesias, L. Munoz, R. Riguera, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4206-4213.

Cbz-L-valin (**156**, 310 mg, 1.24 mmol, 1.00 Äquiv.) und Agmatin-Derivat **149** (450 mg, 1.37 mmol, 1.10 Äquiv.) wurden in CH₂Cl₂ (15 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden HOBt (290 mg, 1.86 mmol, 1.50 Äquiv.), EDC•HCl (300 mg, 1.55 mmol, 1.25 Äquiv.) und DIPEA (240 mg, 0.32 mL, 1.86 mmol, 1.50 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion für 16 h gerührt, während das Gemisch in einem Eisbad auf RT erwärmt wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 99.7:0.3 -> 99.5:0.5 -> 99:1 -> 99:2) gereinigt. Das Produkt **158** (340 mg, 730 µmol, 59%) wurde als farbloses Öl erhalten.

$[\alpha]_D^{27.5}$: + 6.5° (c = 0.85, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 11.48 (s, 1H, NH-d), 8.38-8.26 (m, 1H, NH-c), 7.39-7.27 (m, 5H, Ar-H), 6.18 (s, 1H, NH-b), 5.39 (d, J = 8.2 Hz, 1H, NH-a), 5.14-5.05 (m, 2H, H-10), 3.94 (dd, J = 8.5, 6.1 Hz, 1H, H-6), 3.44-3.18 (m, 4H, H-1 u. H-4), 2.20-2.07 (m, 1H, H-7), 1.65-1.52 (m, 4H, H-2 u. H-3), 1.49 (s, 9H, H-14), 1.48 (s, 9H, H-14'), 0.95 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-8a), 0.90 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-8b) ppm; ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃; CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.3 (q, C-5), 163.7 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 156.6 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 156.4 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 153.4 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 136.4 (q, C-Ar), 128.7 (2C, t, C-Ar), 128.3 (t, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 83.3 (q, C-13), 79.5 (q, C-13'), 67.2 (s, C-10), 60.6 (t, C-6), 40.4 (s, C-1 od. C-4), 39.2 (s, C-1 od. C-4), 31.1 (t, C-7), 28.4 (3C, p, C-14), 28.2 (3C, p, C-14'), {26.7, 26.7} (2C, s, C-2 u. C-3), 19.5 (p, C-8a), 17.9 (p, C-8b) ppm; HRMS (ESI): m/z berechnet für C₂₈H₄₅N₅O₇Na [M + Na⁺]: 586.3222, gefunden 586.3217.

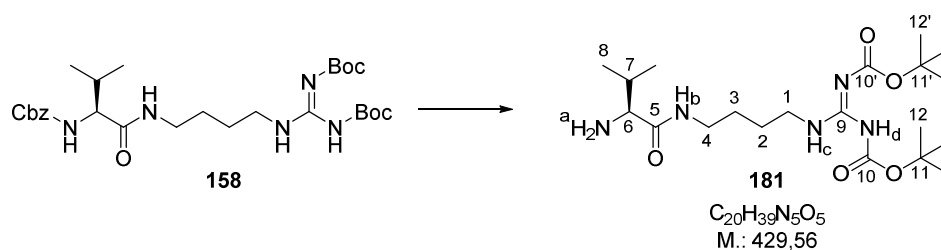
(N-Cbz-D-valin)-(Nθ,Nθ'-bisboc-Nα-agmatid) (159)



Cbz-D-valin (**157**, 310 mg, 1.24 mmol, 1.00 Äquiv.) und Nθ,Nθ'-Bisboc-agmatin (**149**, 450 mg, 1.37 mmol, 1.10 Äquiv.) werden in CH₂Cl₂ (15 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend werden HOBt (290 mg, 1.86 mmol, 1.50 Äquiv.), EDC•HCl (300 mg, 1.55 mmol, 1.25 Äquiv.) und DIPEA (240 mg, 0.32 mL, 1.86 mmol, 1.50 Äquiv.) hinzugegeben, die Reaktion langsam auf RT erwärmt und für weitere 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstands (CH₂Cl₂/MeOH, 99.7:0.3 -> 99.5:0.5 -> 99:1 -> 99:2) lieferte das Produkt **159** (320 mg, 690 µmol, 56%) als farbloses Öl.

$[\alpha]_D^{27.5}$: -6.3° ($c = 0.8$, CH_2Cl_2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 11.48$ (s, 1H, NH_d), 8.37-8.29 (m, 1H, NH_c), 7.39-7.27 (m, 5H, Ph), 6.19 (s, 1H, NH_b), 5.45-5.34 (m, 1H, NH_a), 5.15-5.04 (m, 2H, H-10), 3.94 (dd, $J = 8.9, 6.1$ Hz, 1H, H-6), 3.48-3.17 (m, 4H, H-1 u. H-4), 2.20-2.06 (m, 1H, H-7), 1.67-1.52 (m, 4H, H-2 u. H-3), 1.49 (s, 9H, H-14), 1.48 (s, 9H, H-14'), 0.95 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-8a), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-8b) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 ; $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 171.2$ (q, C-5), 163.7 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 156.6 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 156.3 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 153.4 (q, C-9 od. C-11 od. C-12/C-12'), 136.4 (q, C-Ar), 128.7 (2C, t, C-Ar), 128.3 (t, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 83.3 (q, C-13), 79.5 (q, C-13'), 67.2 (s, C-10), 60.6 (t, C-6), 40.4 (s, C-1 od. C-4), 39.2 (s, C-1 od. C-4), 31.1 (t, C-7), 28.4 (3C, p, C-14), 28.2 (3C, p, C-14'), {26.7, 26.7} (2C, s, C-2 u. C-3), 19.5 (p, C-8a), 17.9 (p, C-8b) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_7$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 564.3397, gefunden 564.3400.

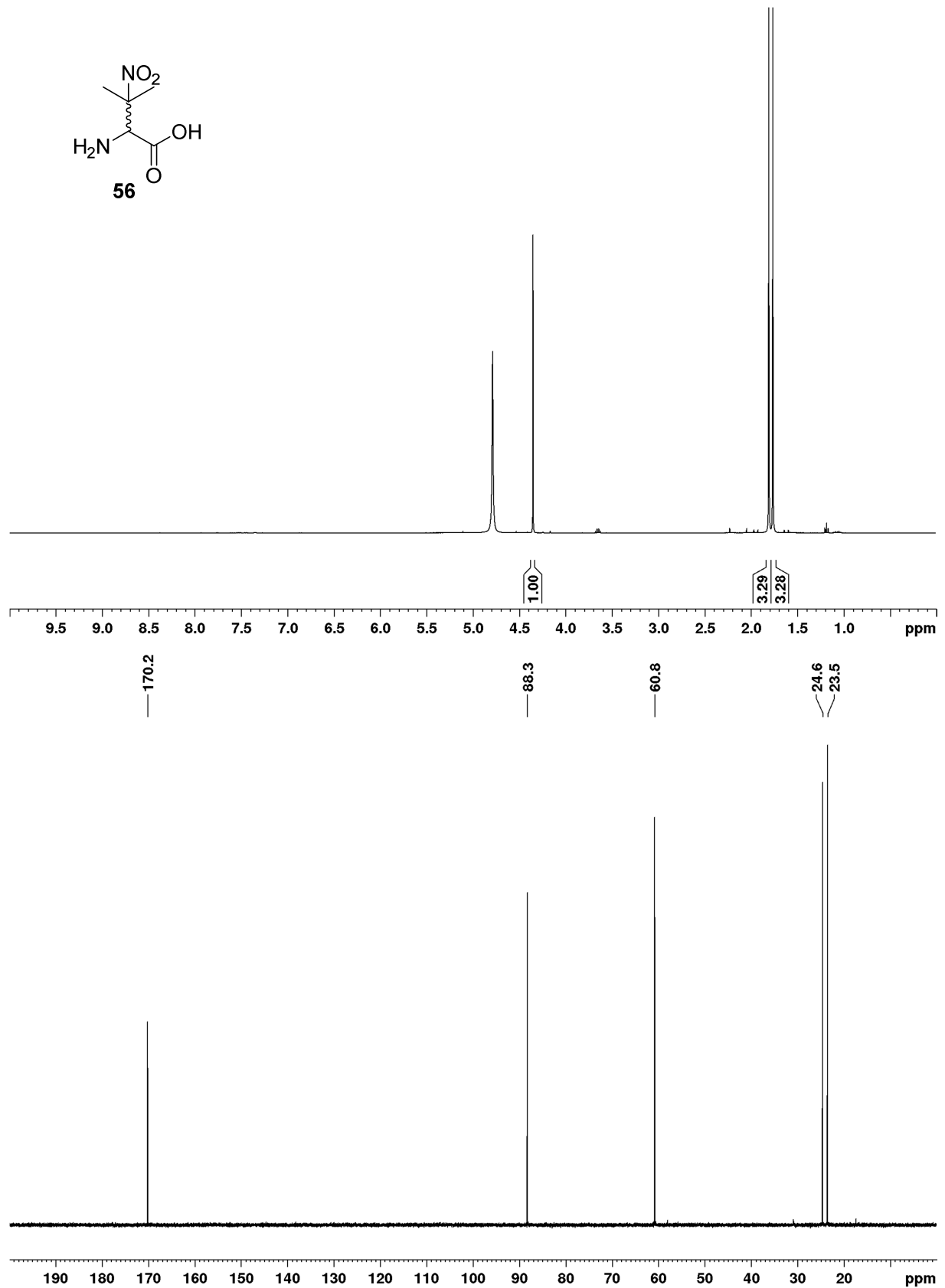
L-Valin-(*N*θ,*N*θ'-di-boc-*N*α-agmatid) (**181**)

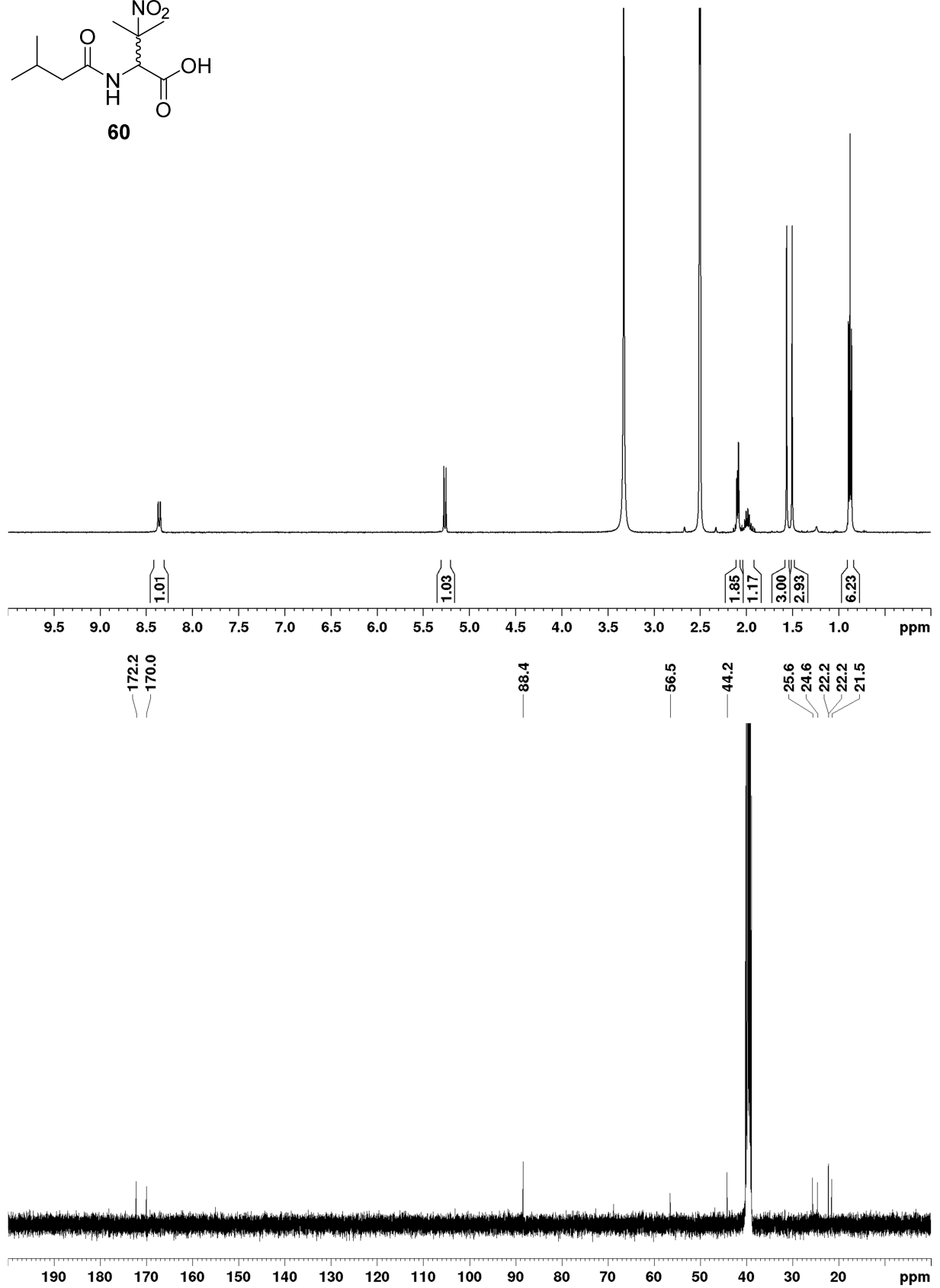
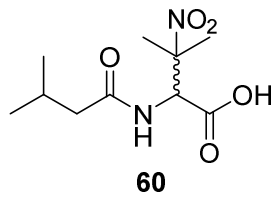


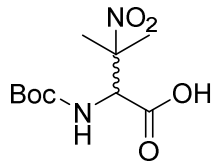
Mono-peptid **158** (150 mg, 270 μmol , 1.00 Äquiv.) wurde in MeOH (5 mL) gelöst und unter einer Argon-Atmosphäre gesetzt. Palladium (10% auf Aktivkohle, 17.0 mg, 160 μmol , 0.06 Äquiv.) wurde hinzugegeben, die Reaktion mit einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) versehen und das Gemisch für 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde über Kieselgur filtriert, mit MeOH gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrates unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **181** (112 mg, 260 μmol , 96%) wurde als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 11.49$ (bs, 1H, NH_d), 8.39-8.27 (m, 1H, NH_c), 7.44-7.33 (m, 1H, NH_b), 3.55-3.15 (m, 4H, H-1 u. H-4), 2.44-2.19 (m, 1H, H-7), 1.73-1.55 (m, 4H, H-2 u. H-3), 1.50 (s, 9H, H-12), 1.49 (s, 9H, H-12'), 0.98 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-8a), 0.82 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-8b) ppm; **HRMS** (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_5$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 430.3029, gefunden 430.3027.

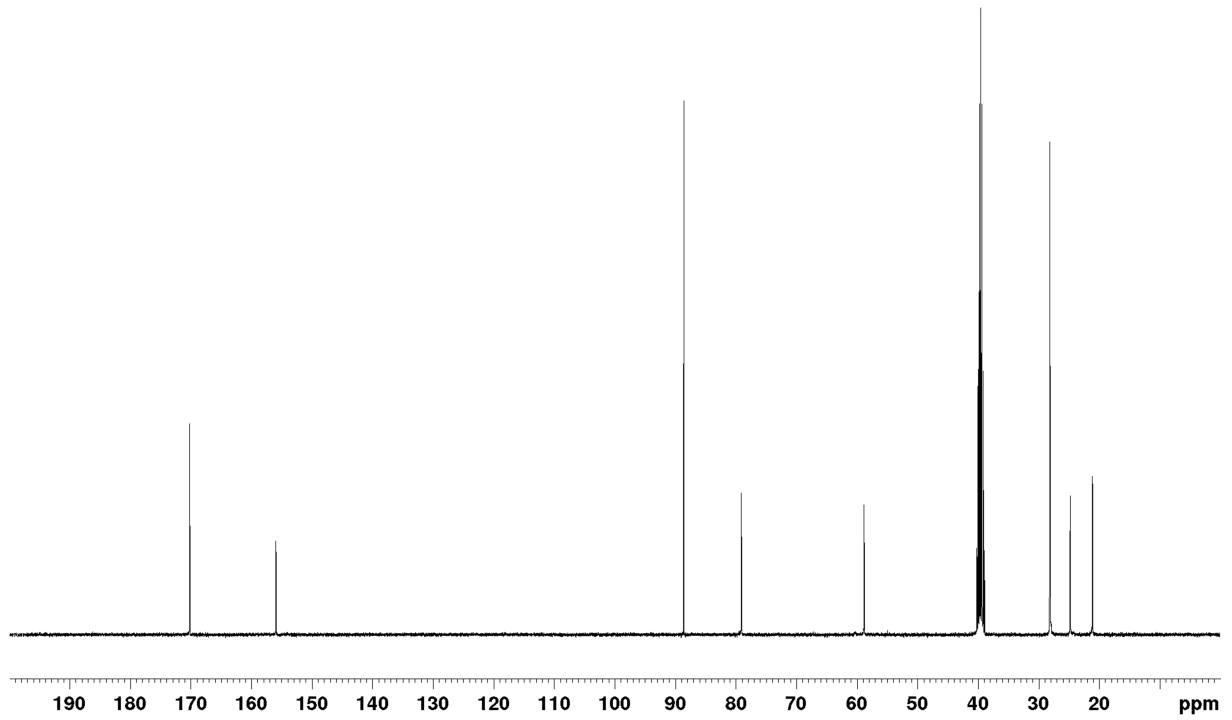
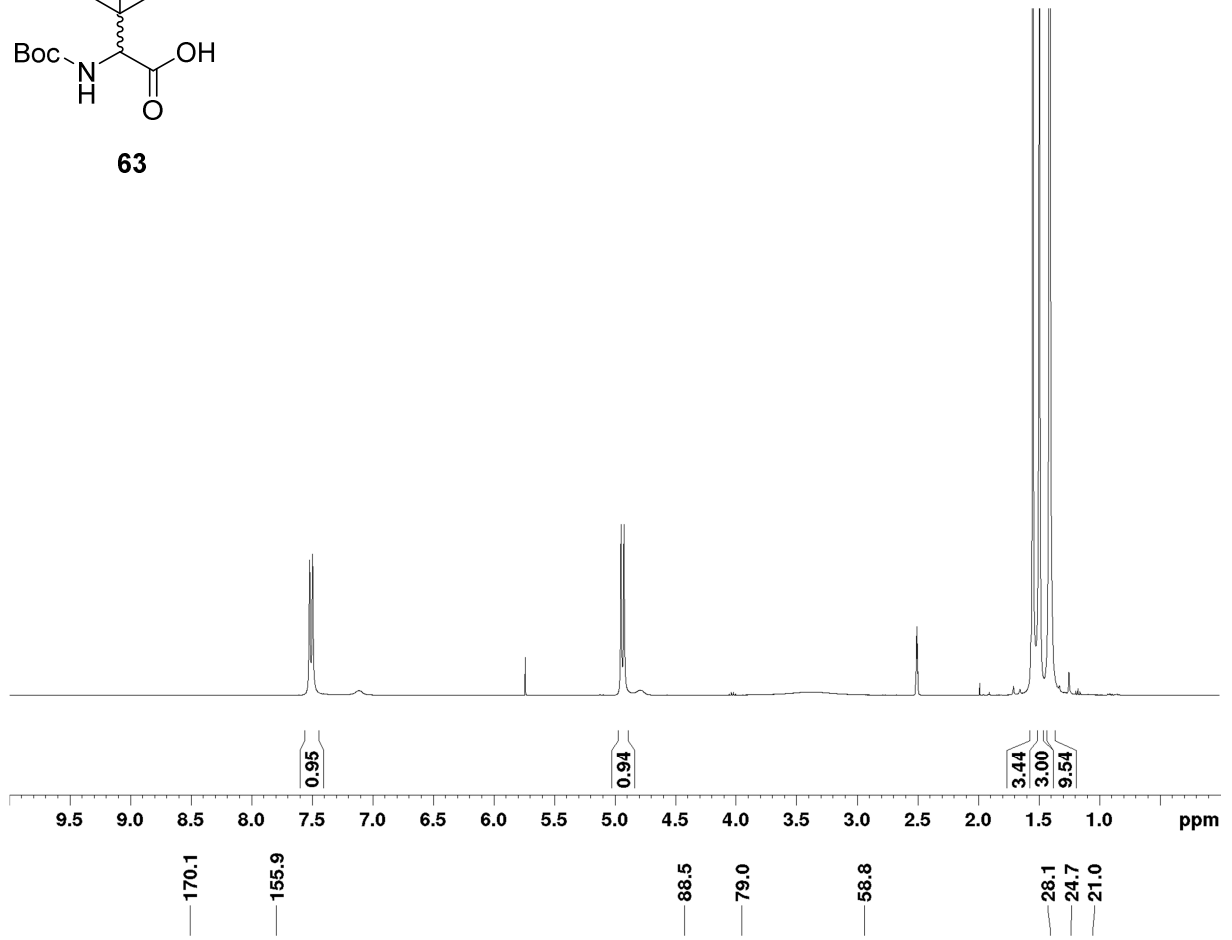
8 Spektrenanhang

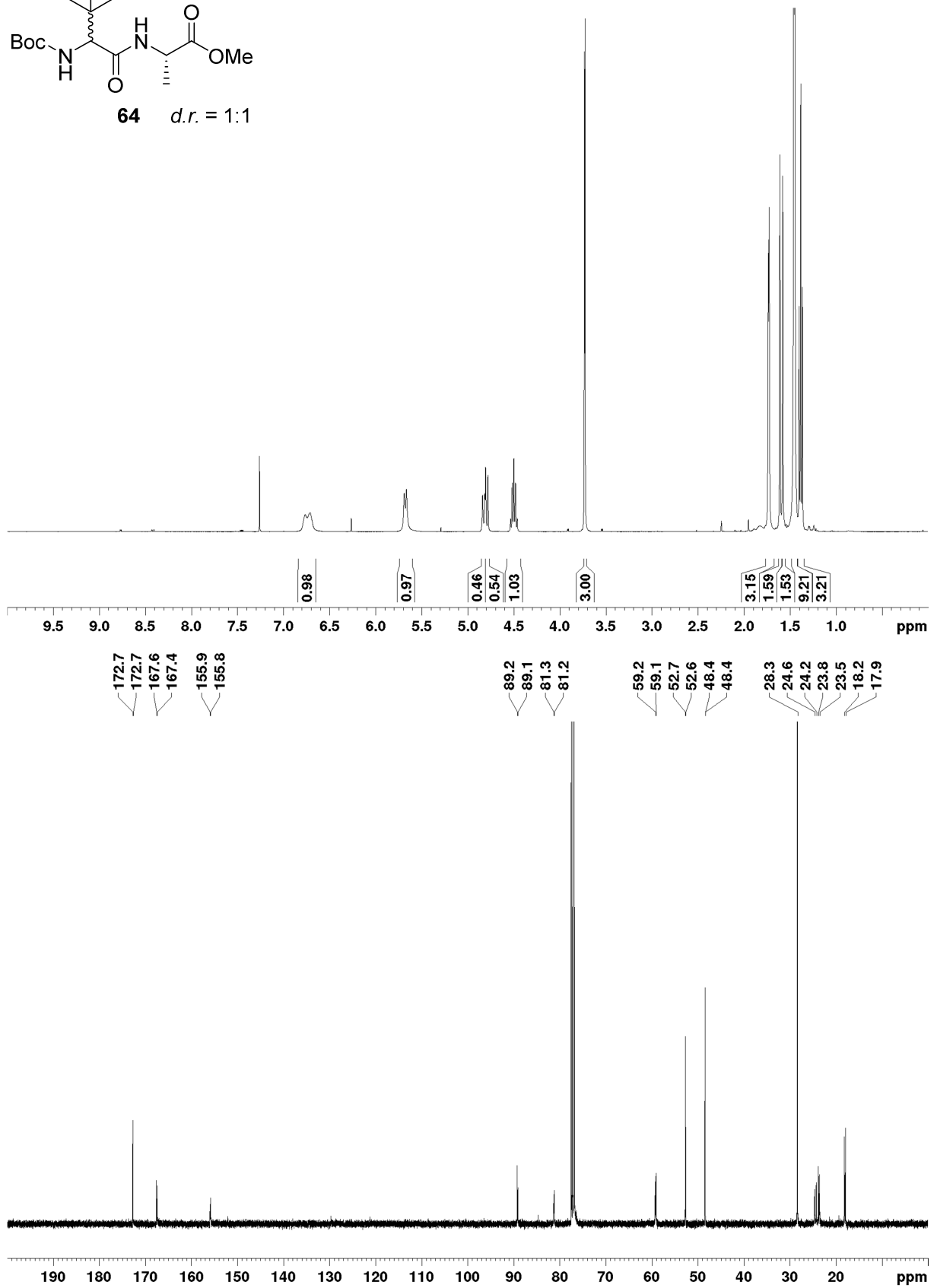
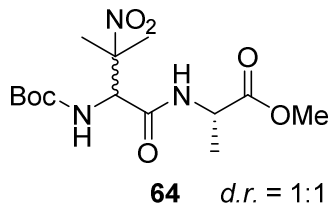


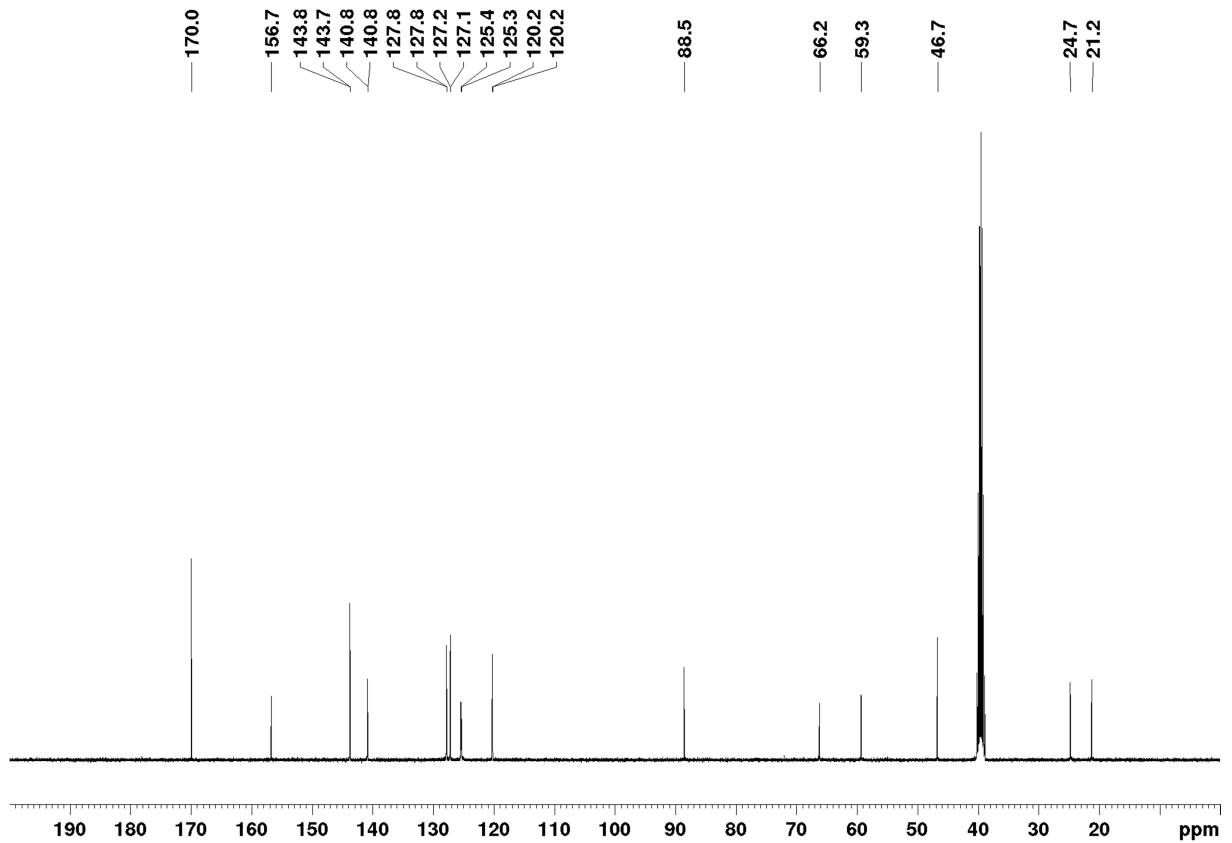
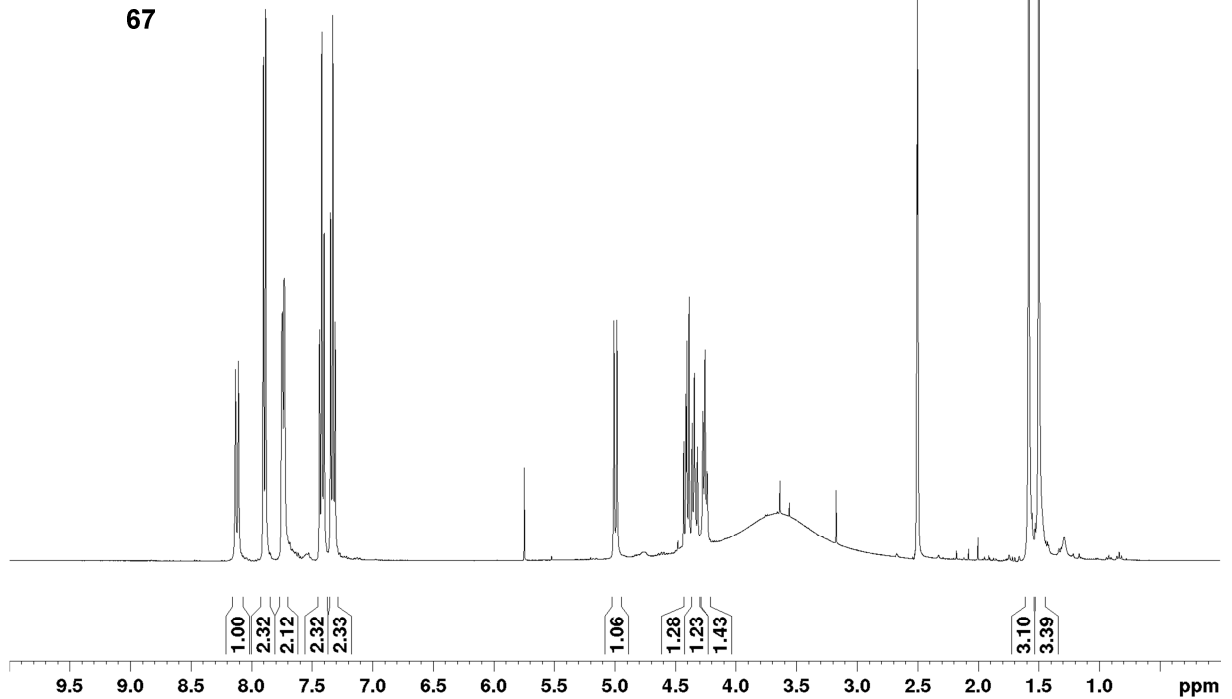
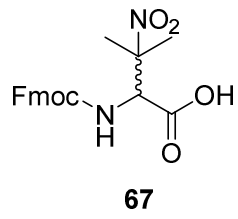


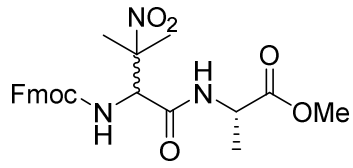


63

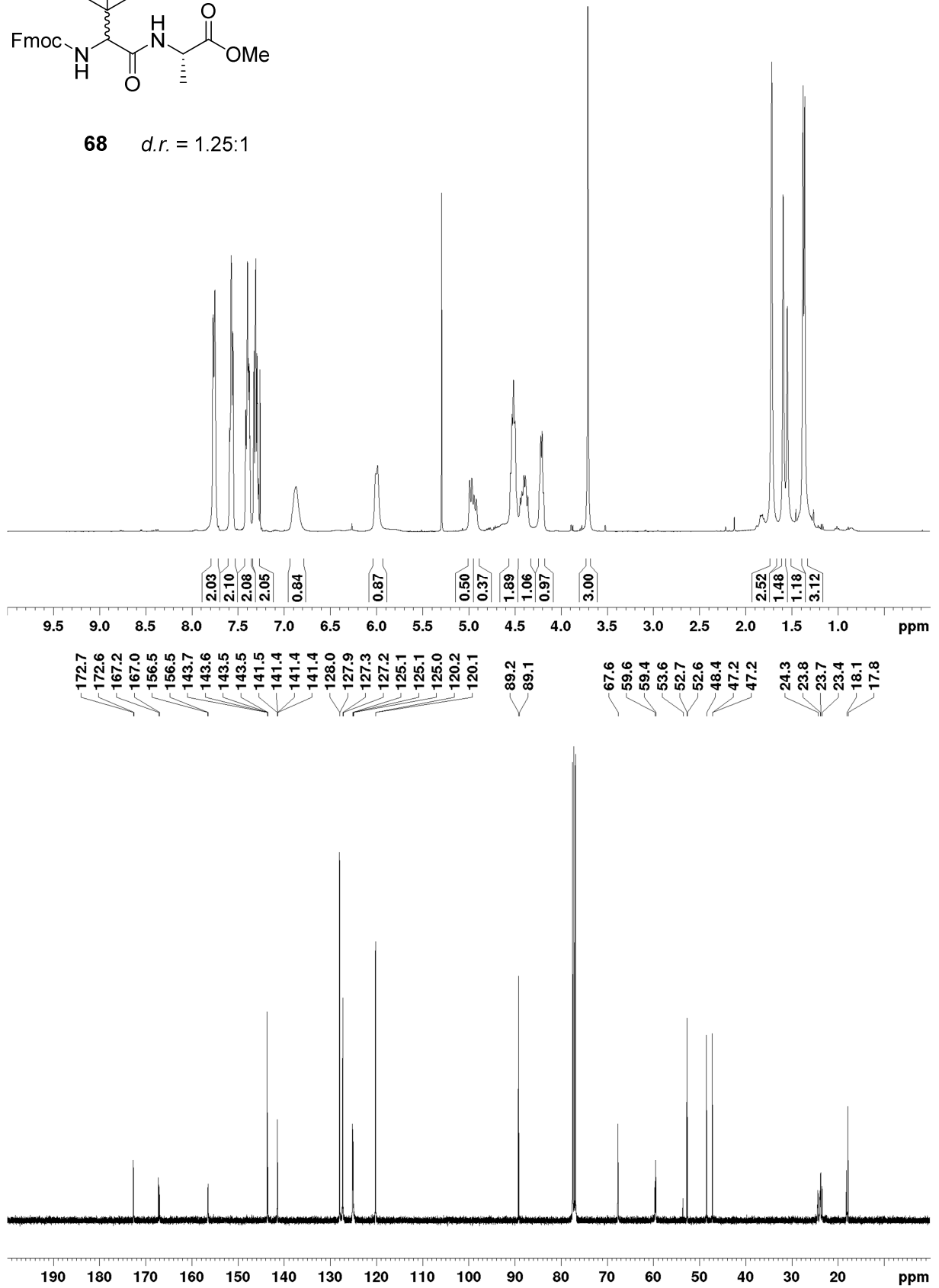


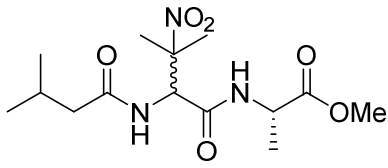




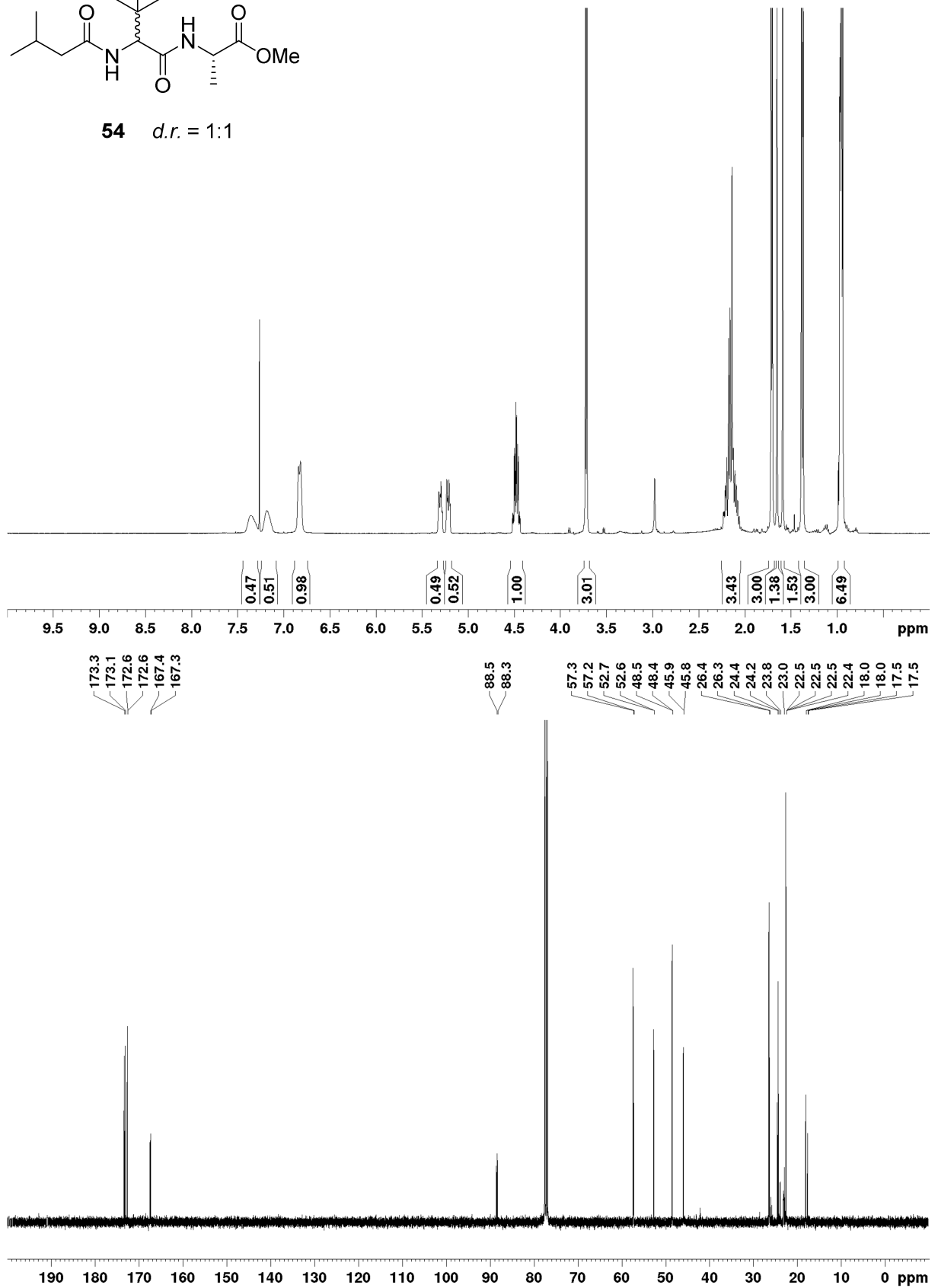


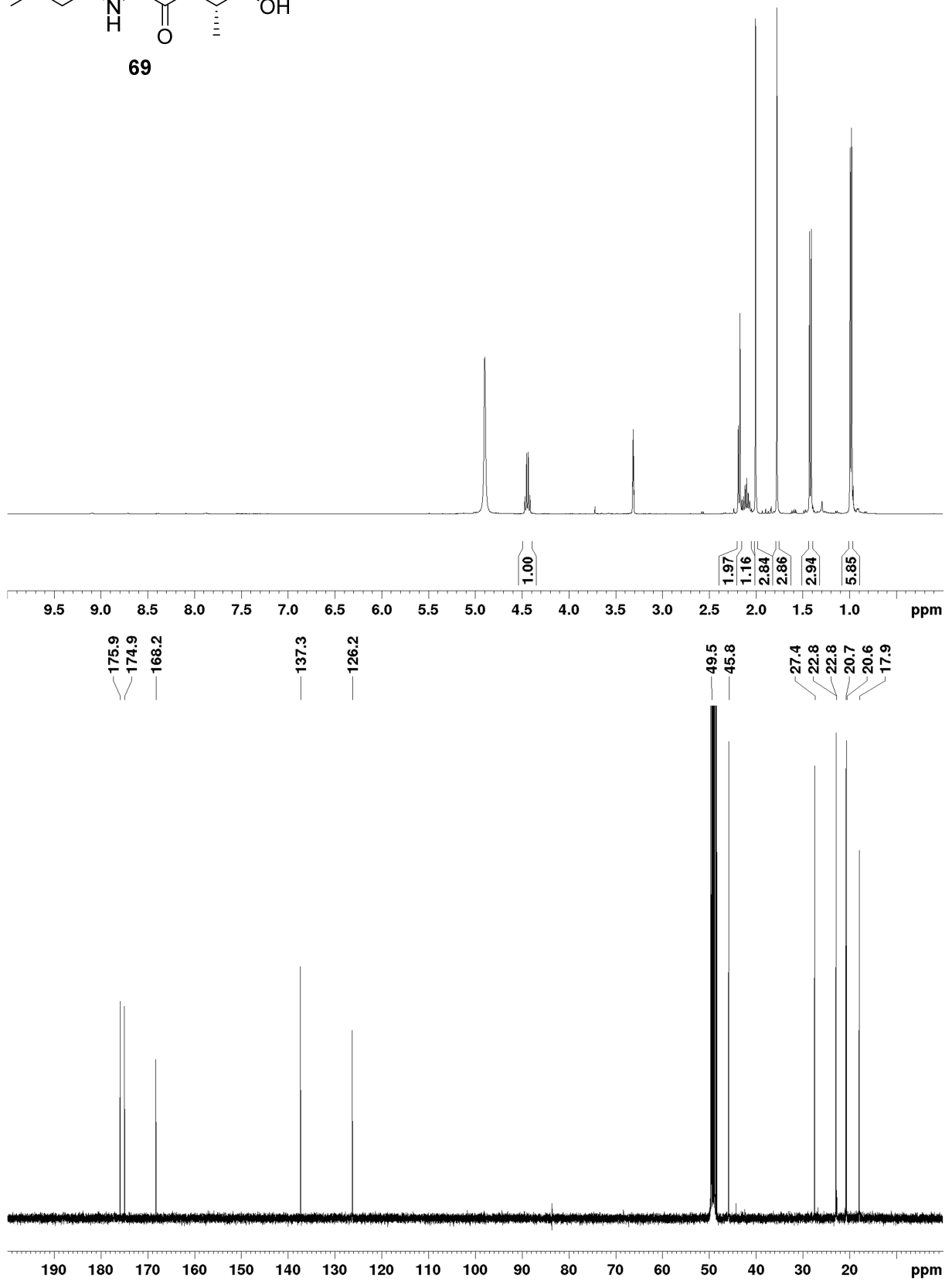
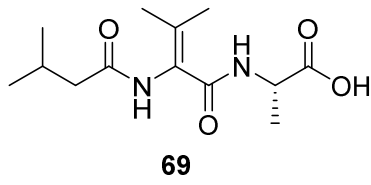
68 *d.r.* = 1.25:1

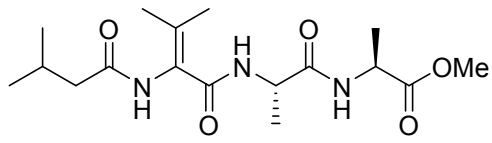




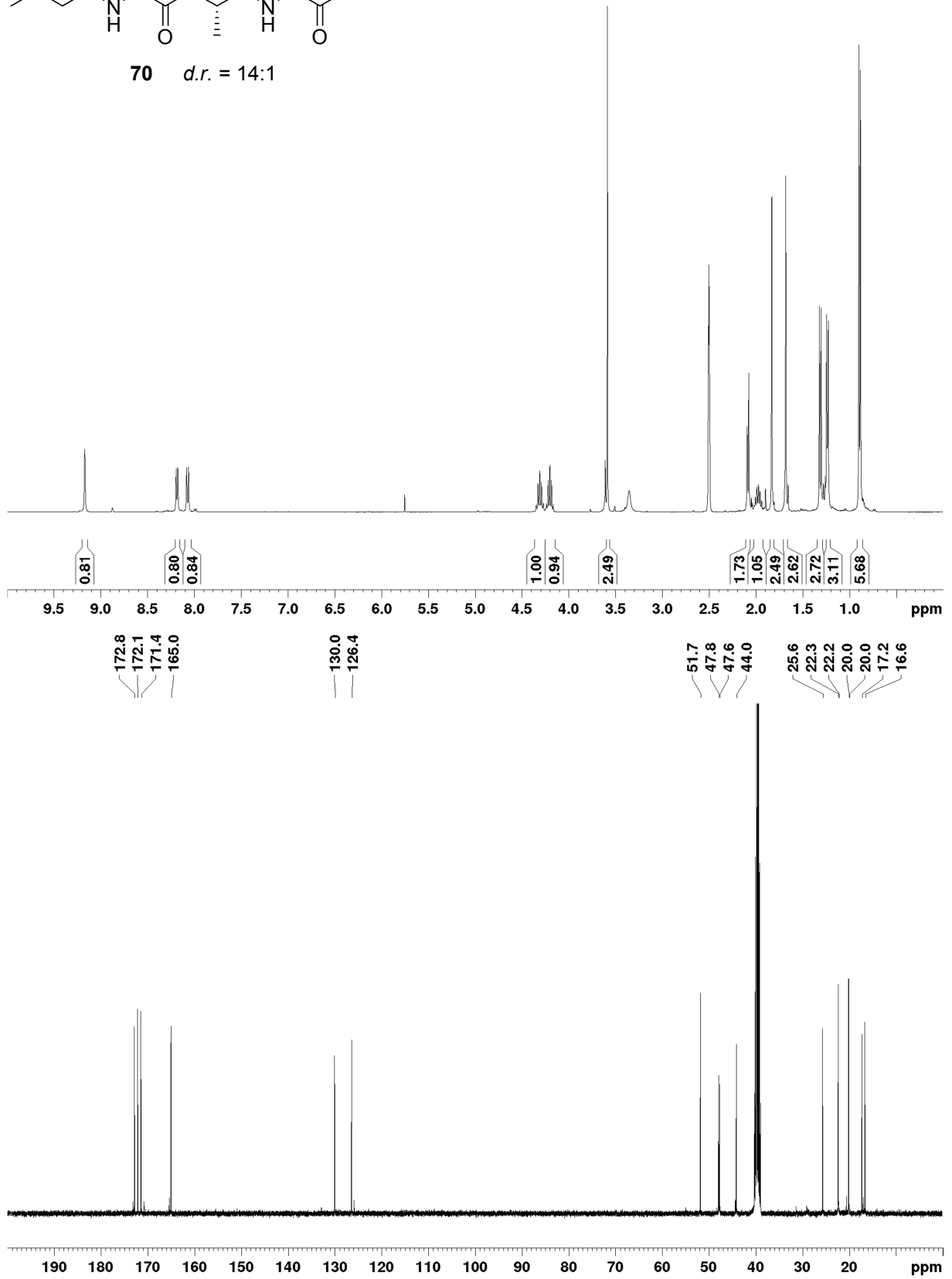
54 *d.r.* = 1:1

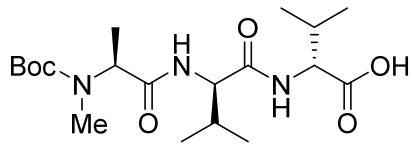




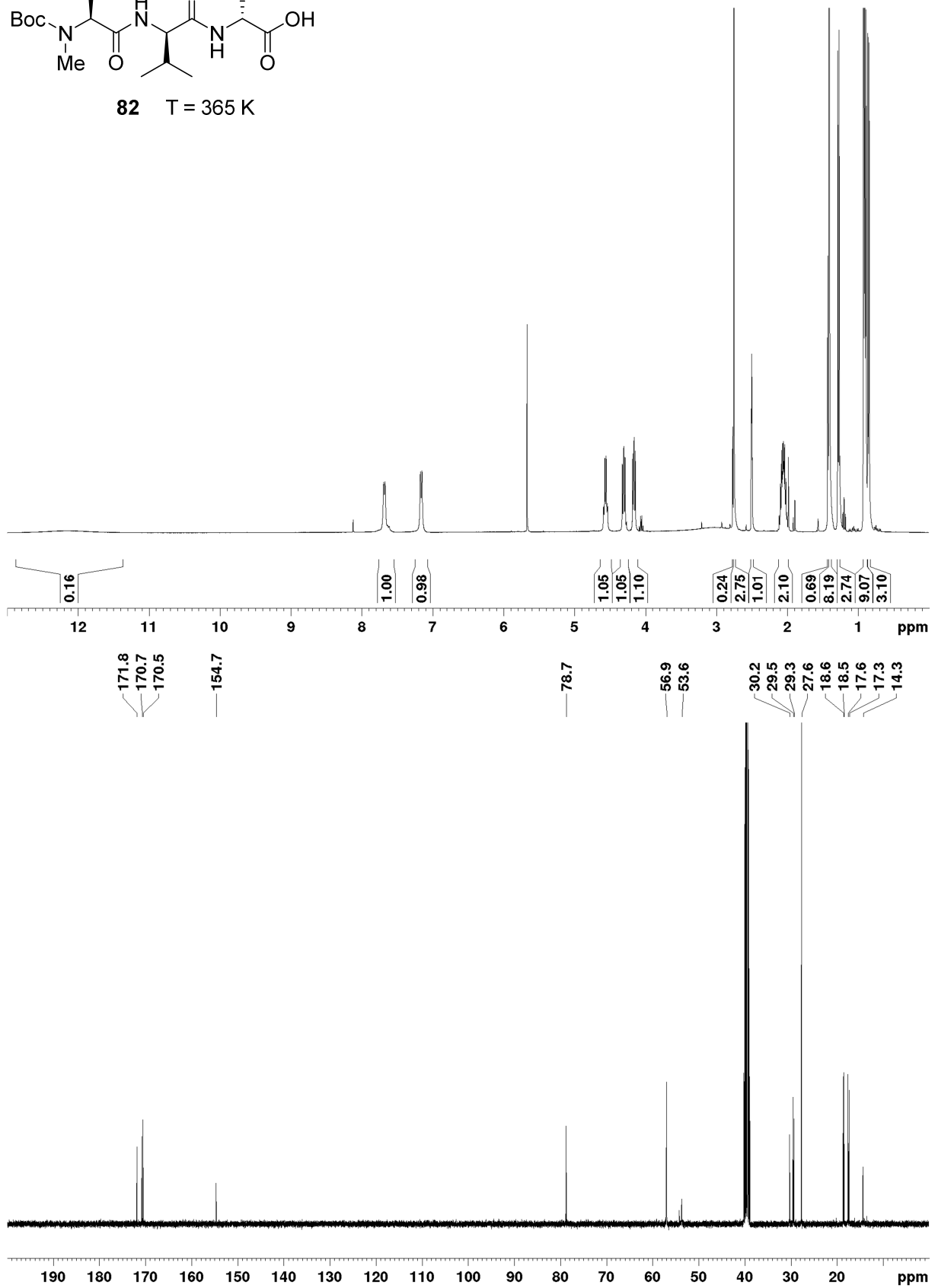


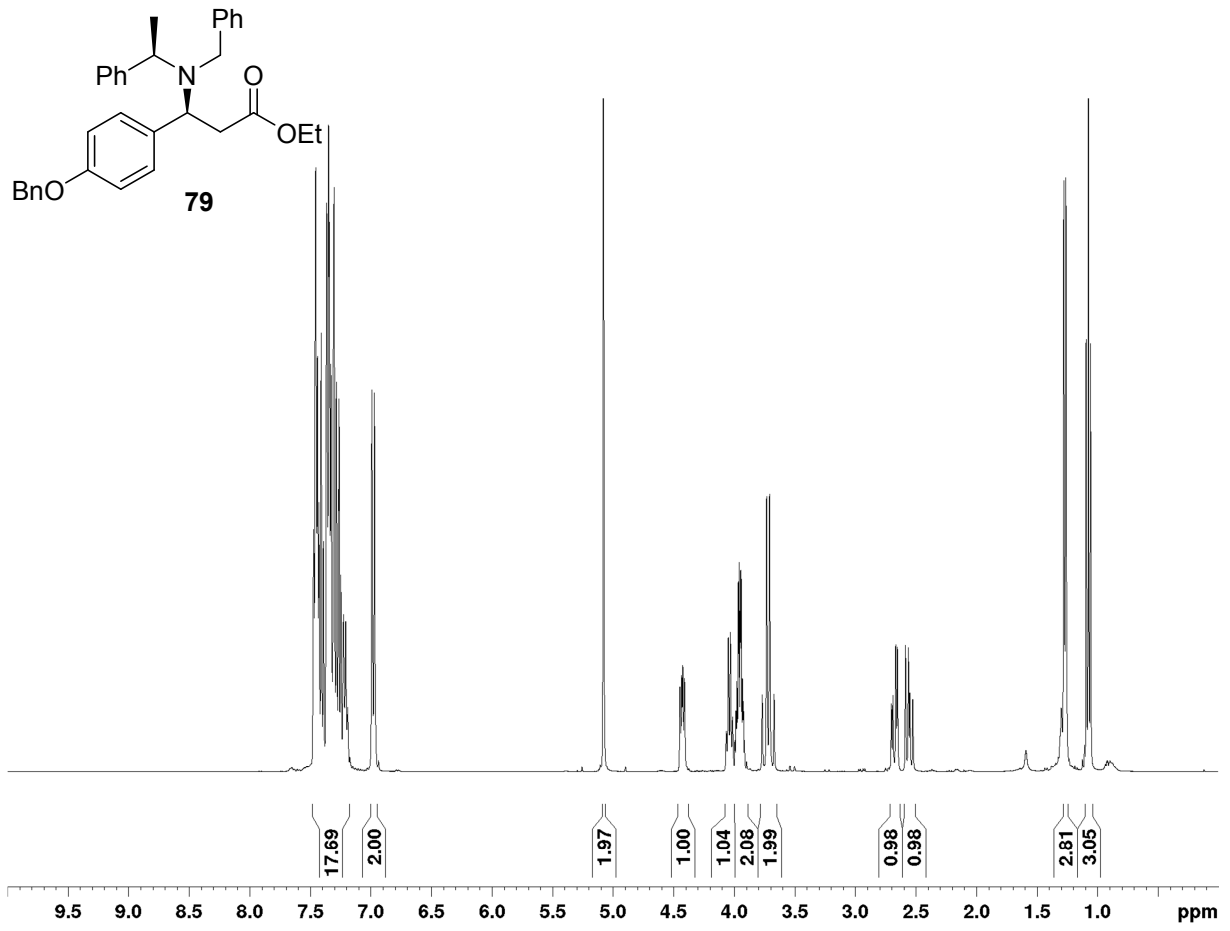
70 *d.r.* = 14:1

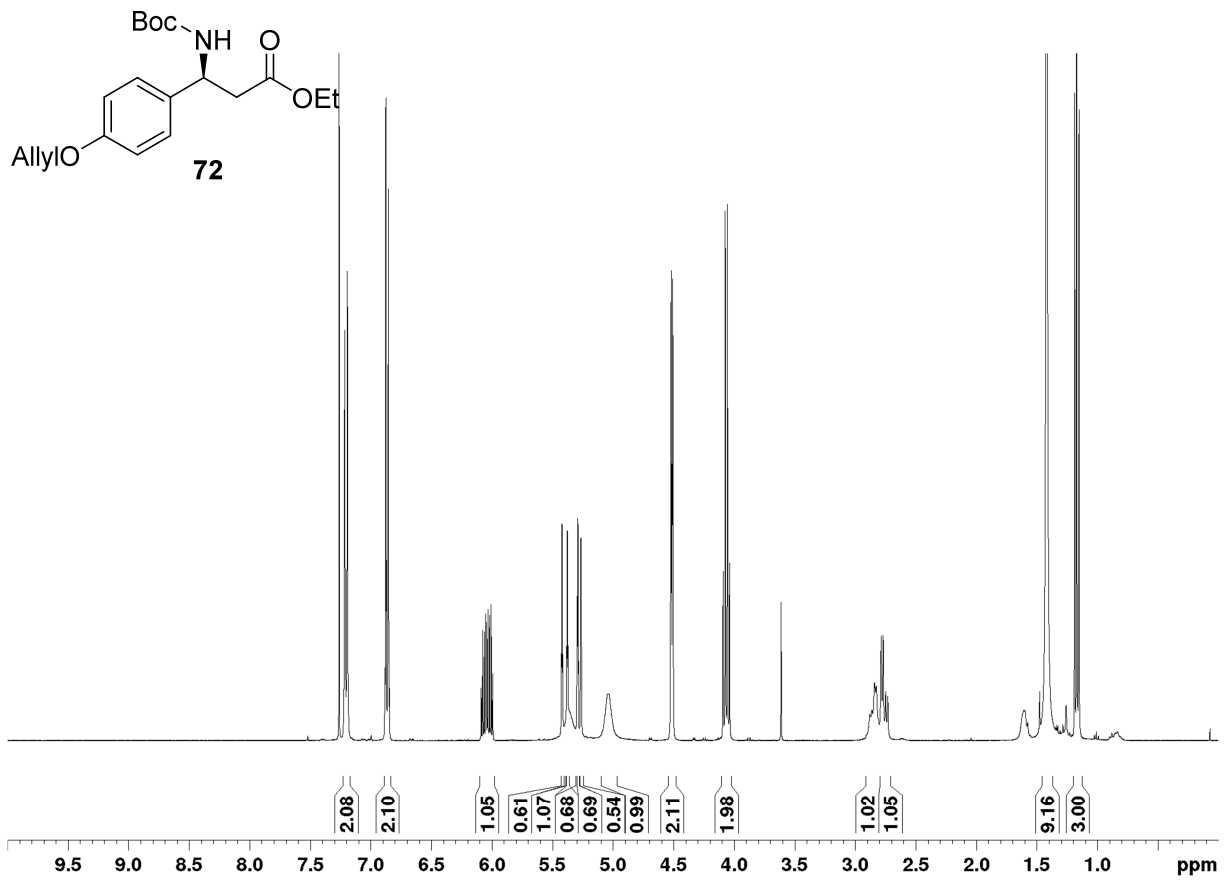


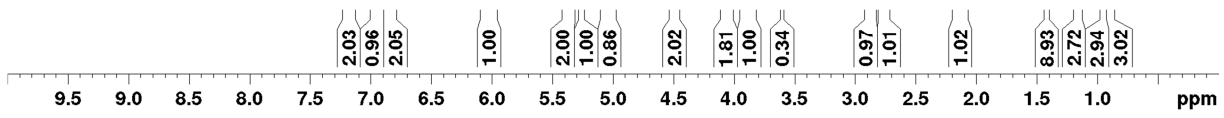
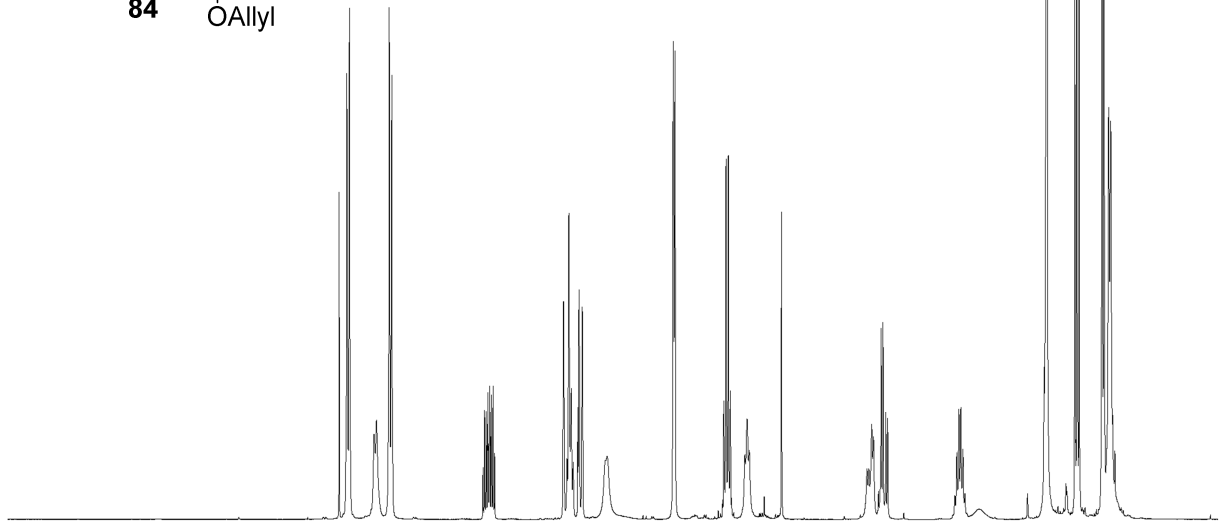
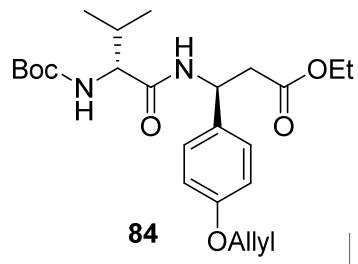


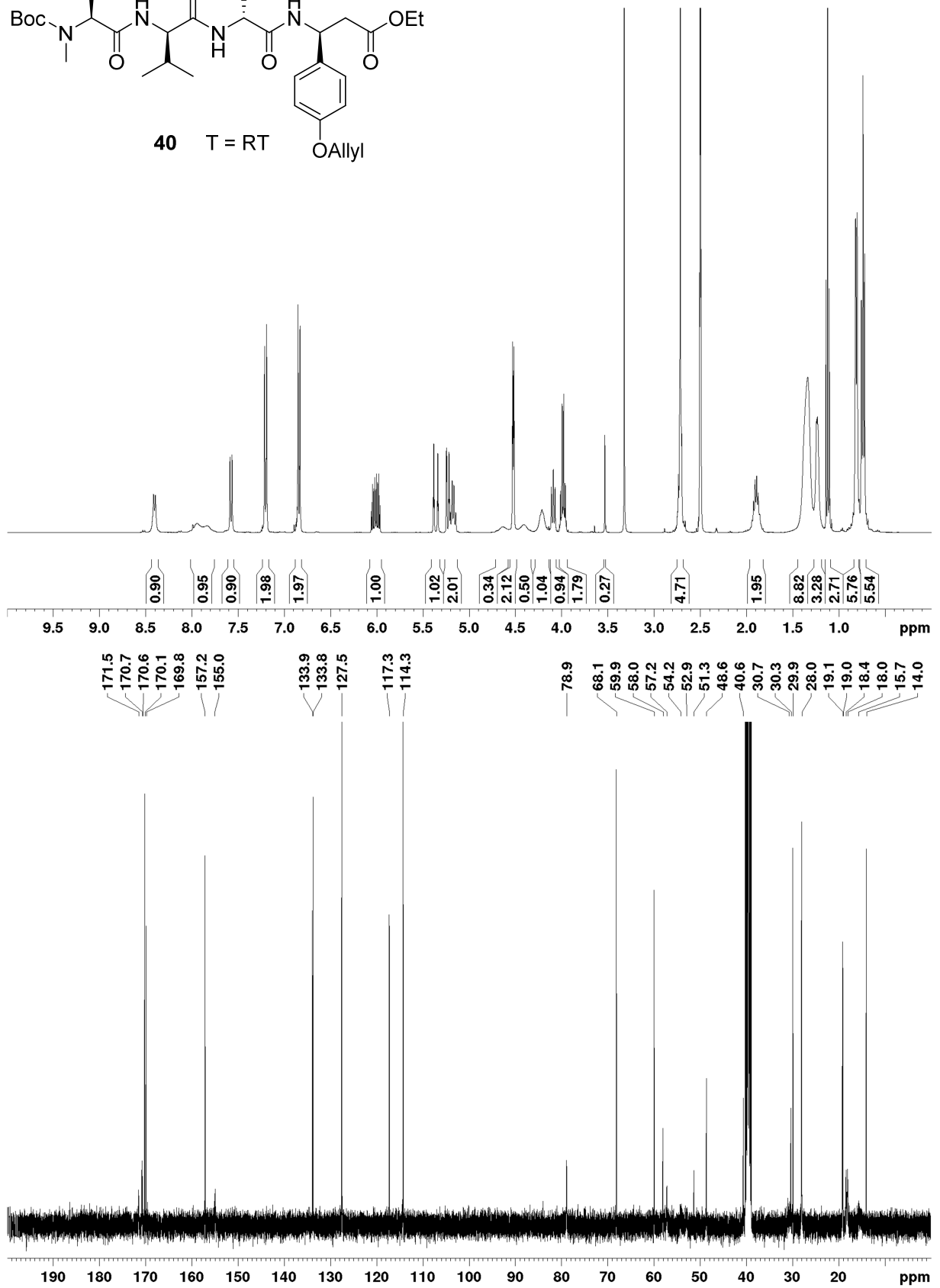
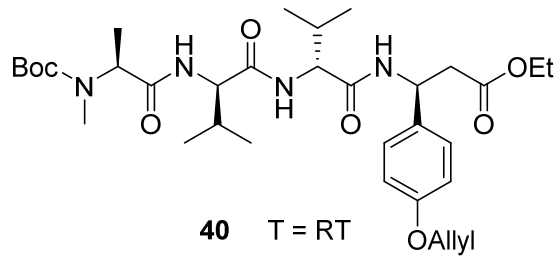
82 T = 365 K

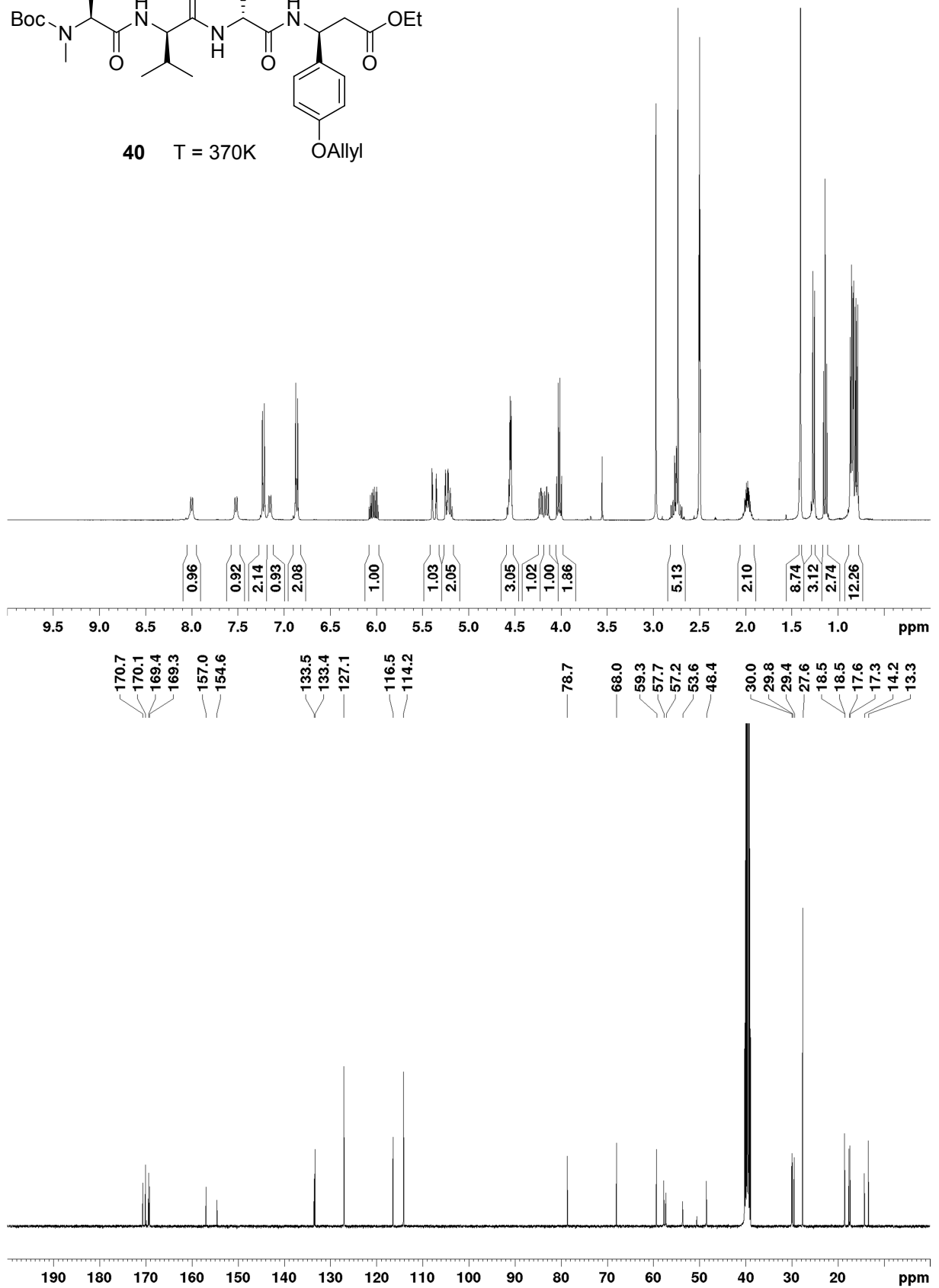
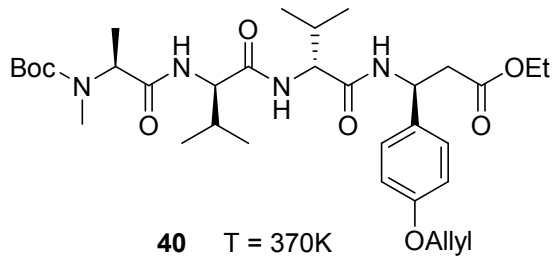


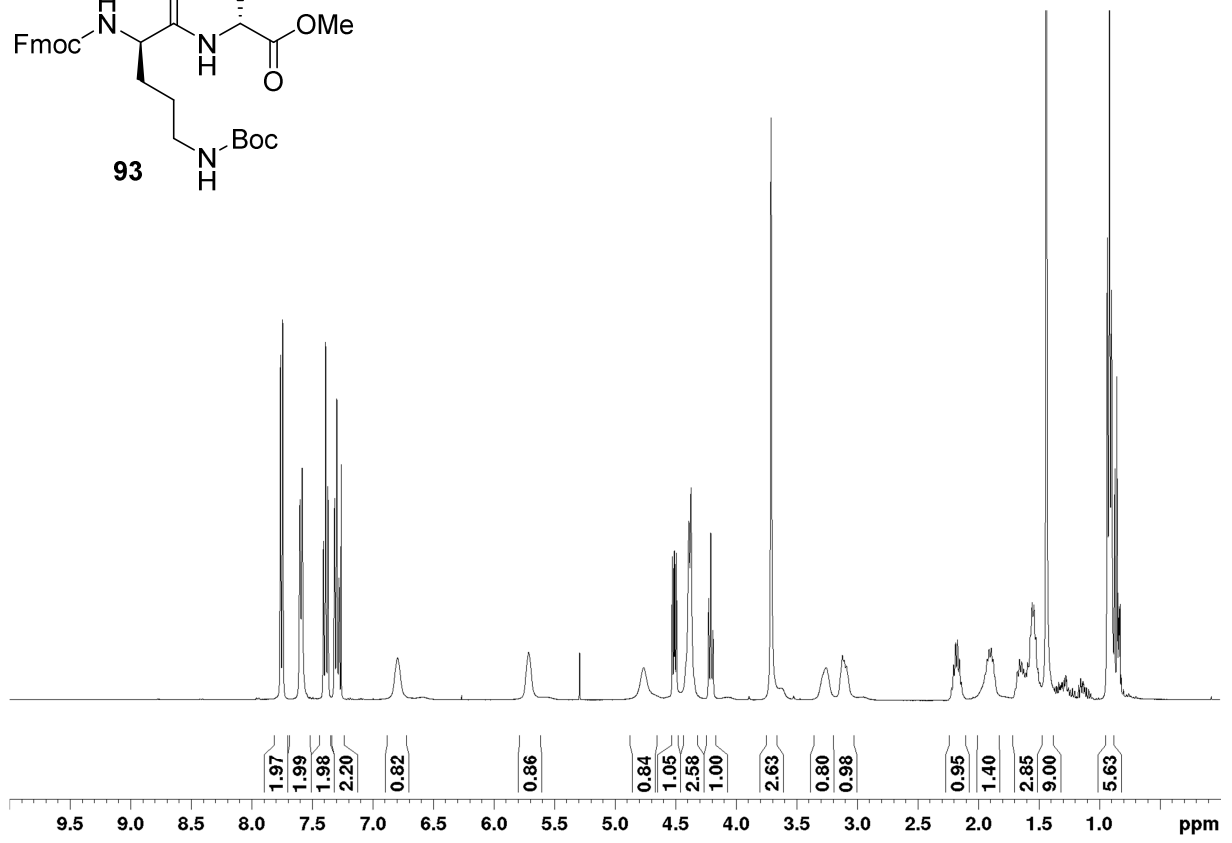
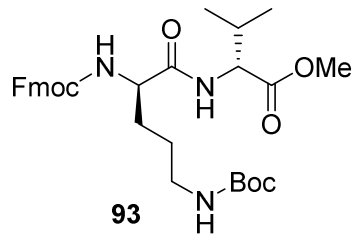


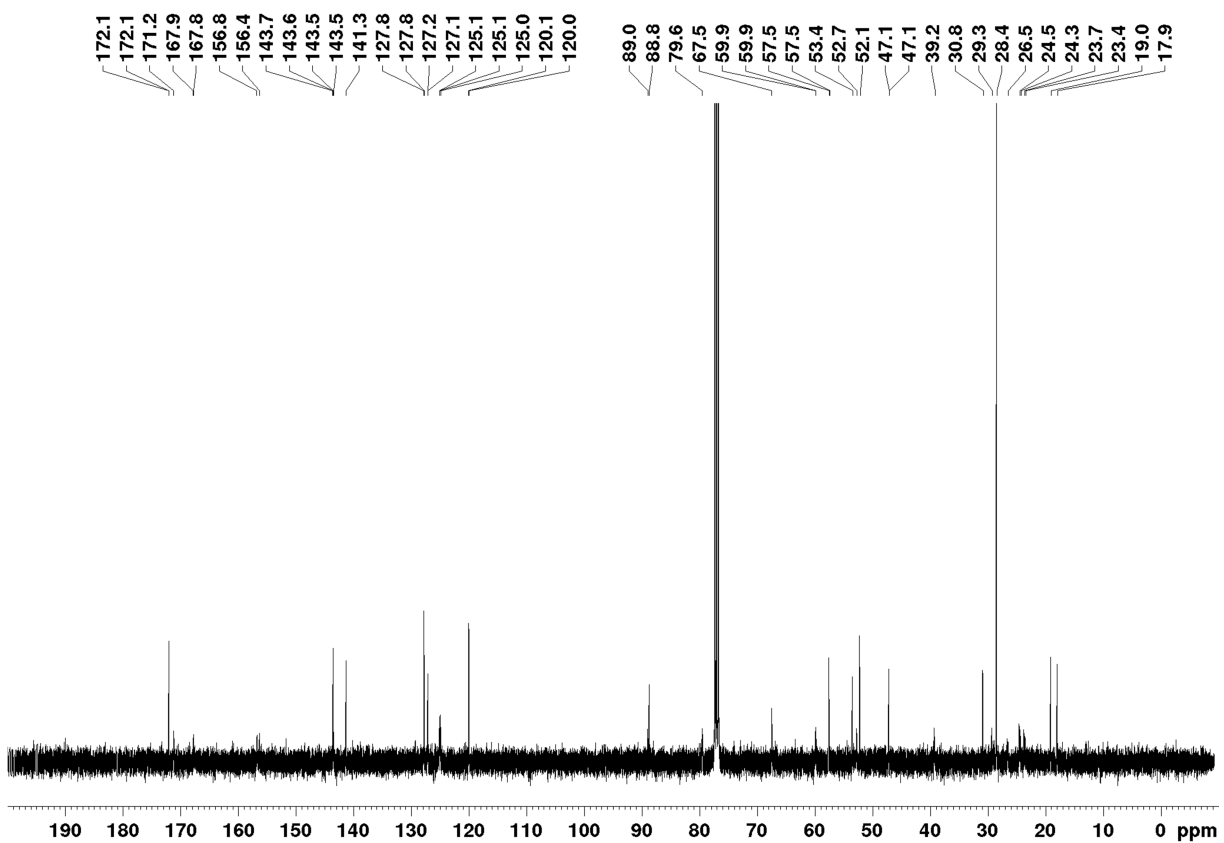
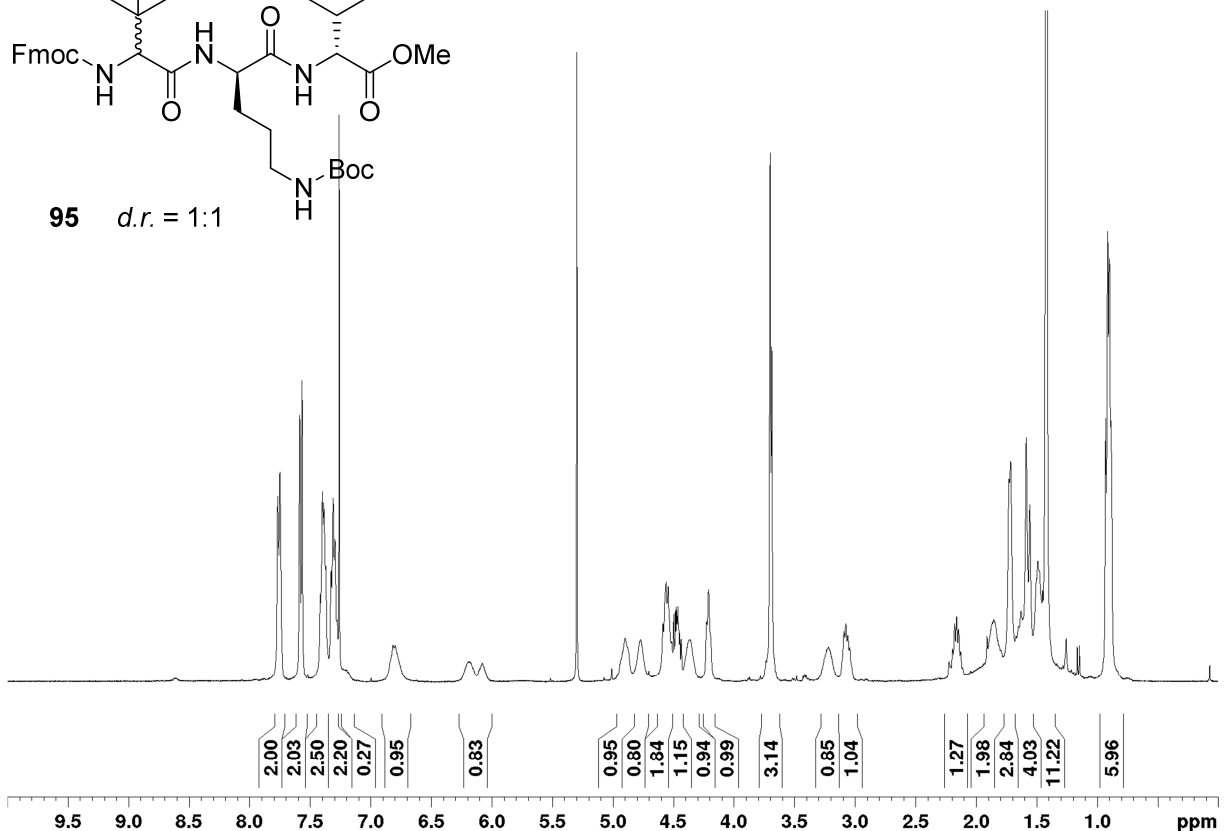
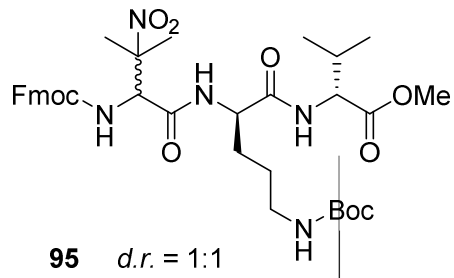


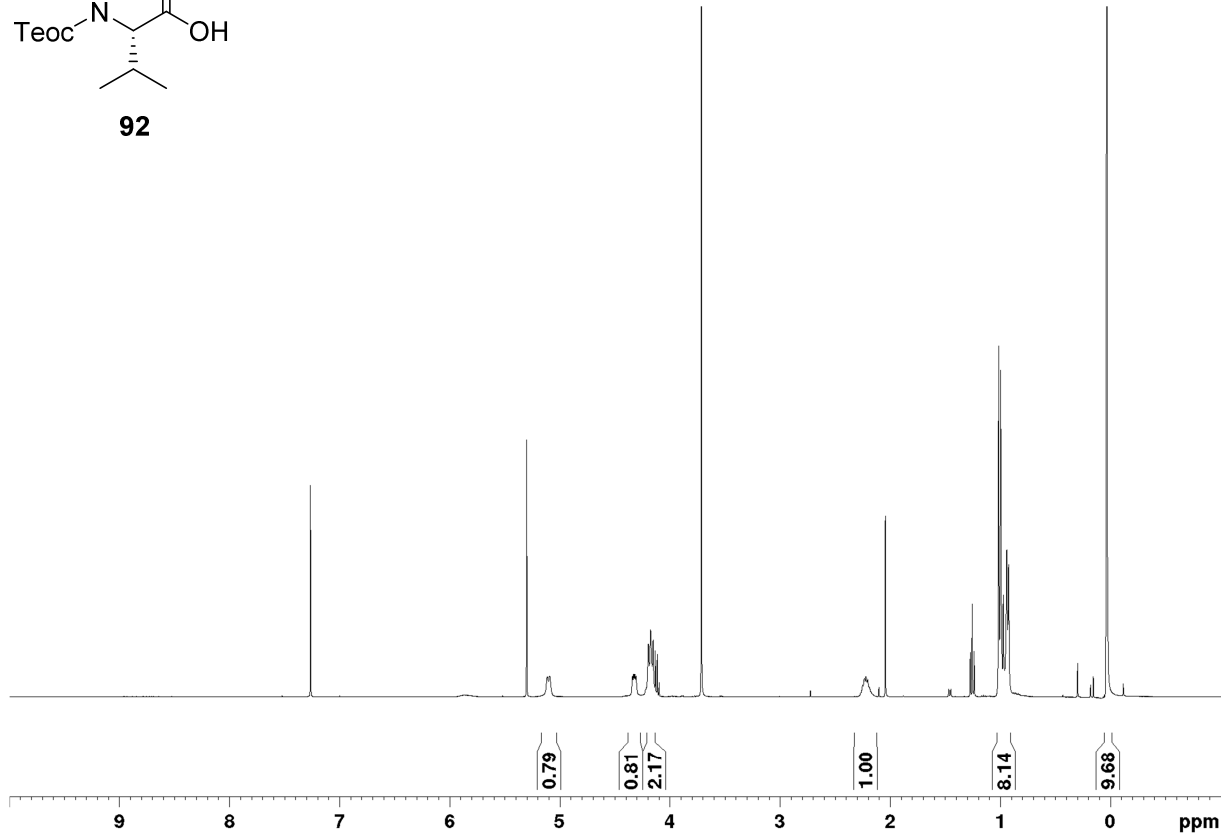
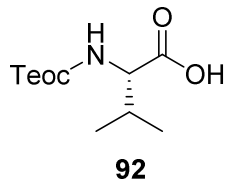


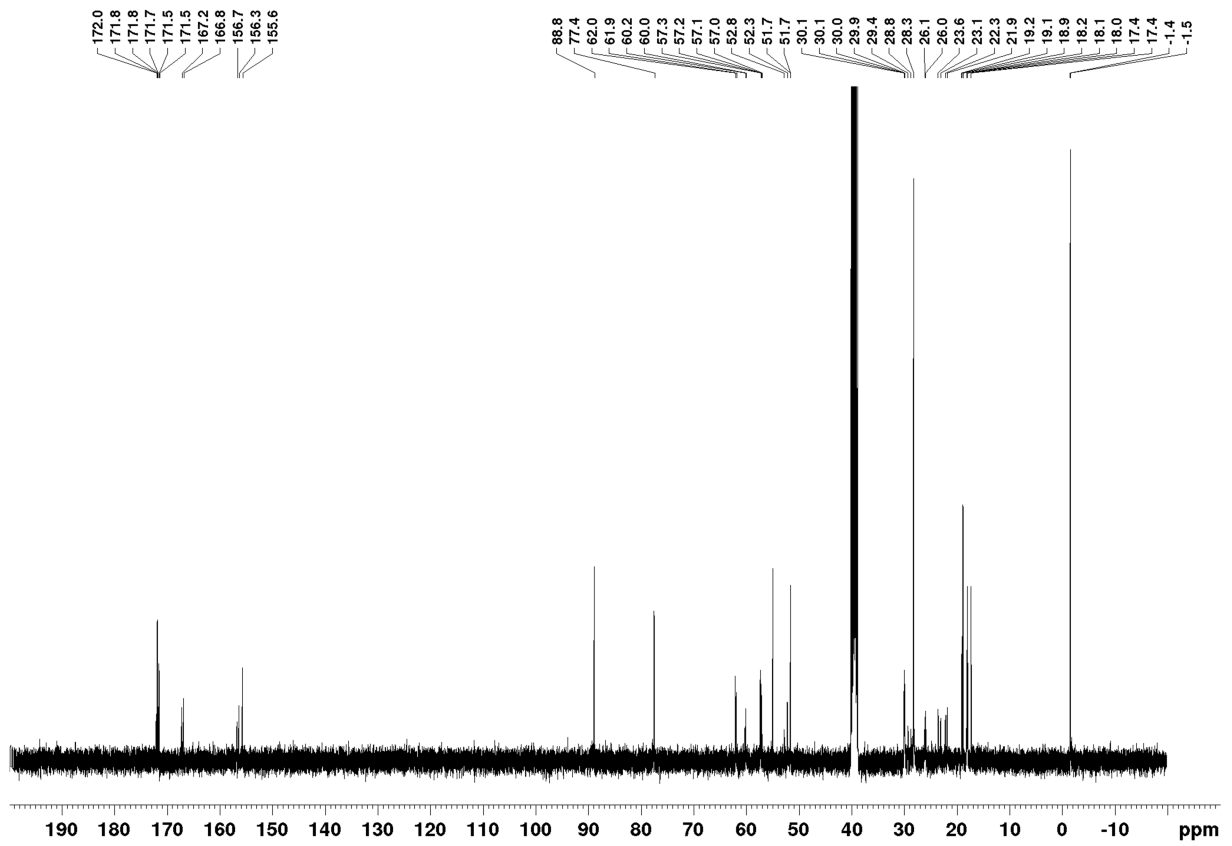
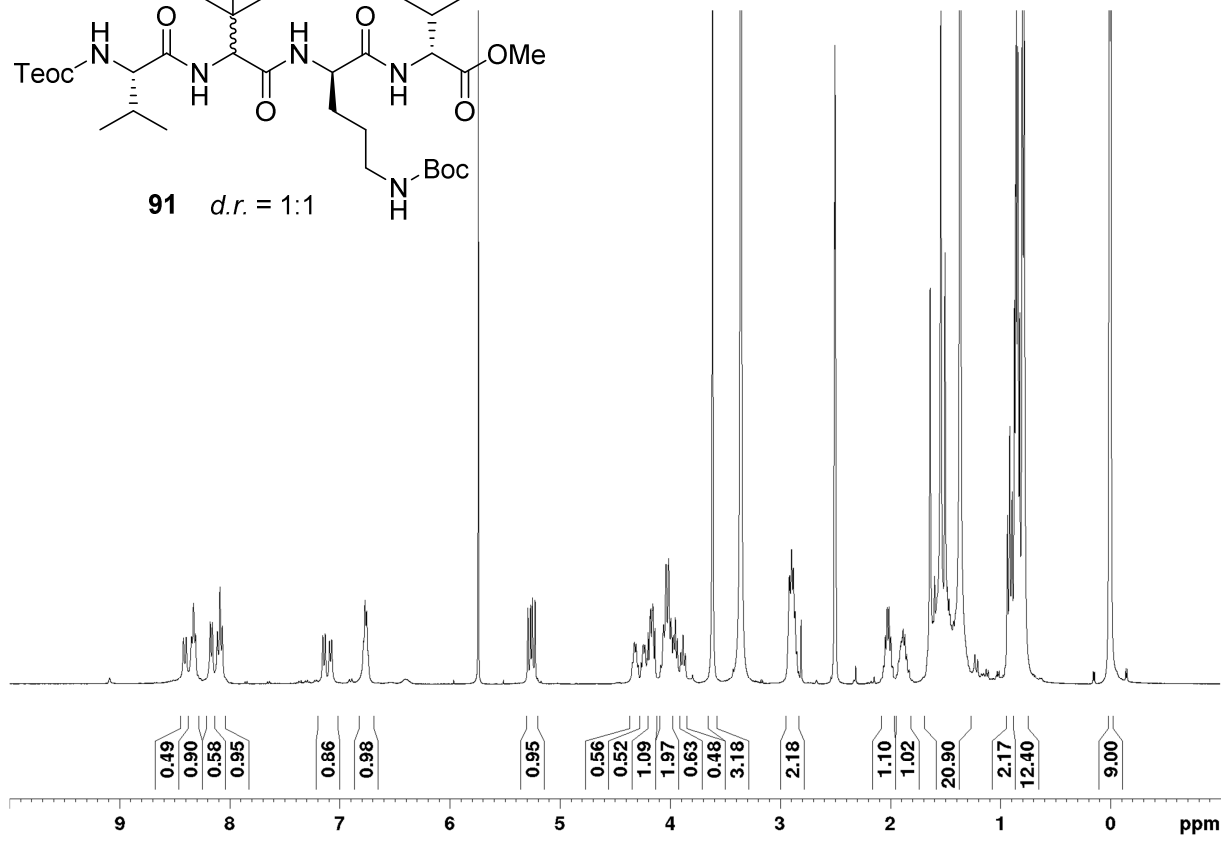
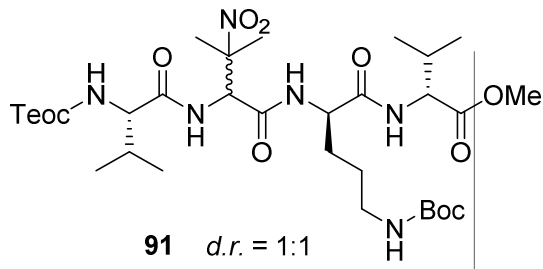


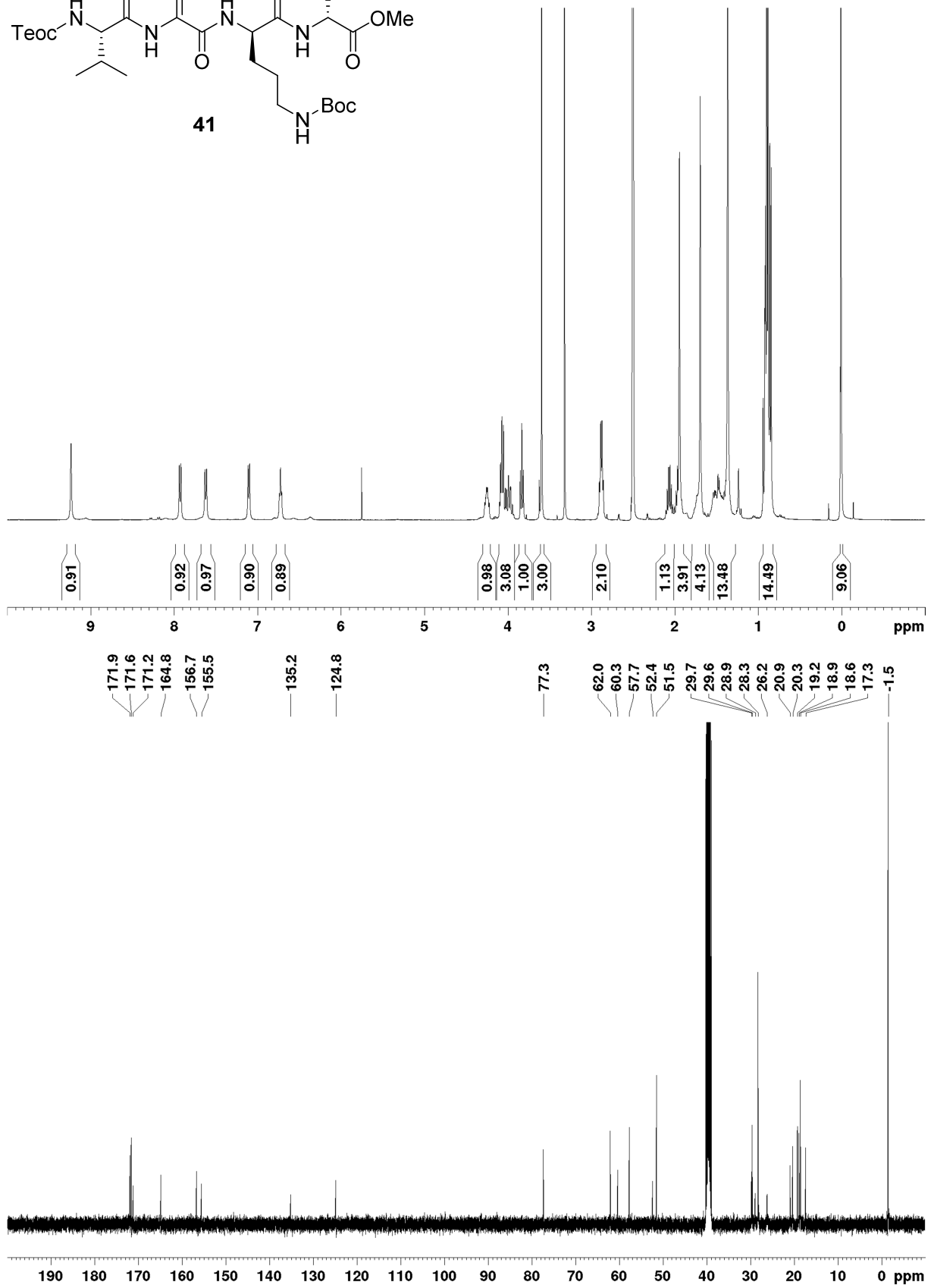
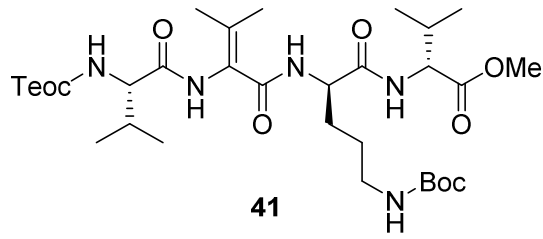


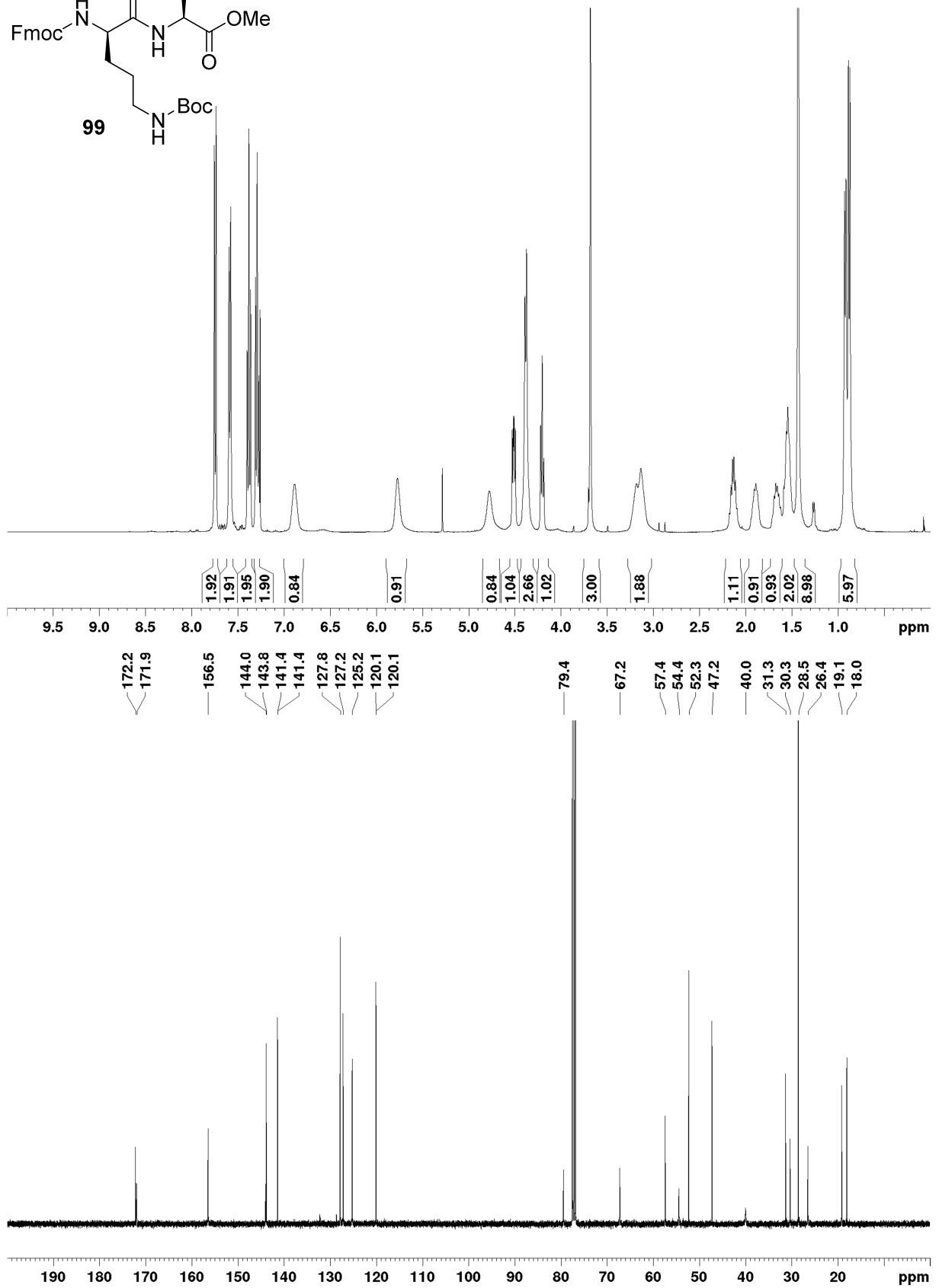
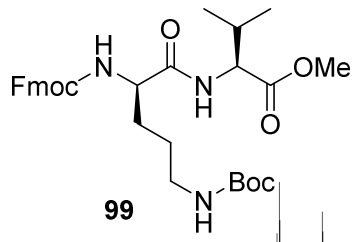


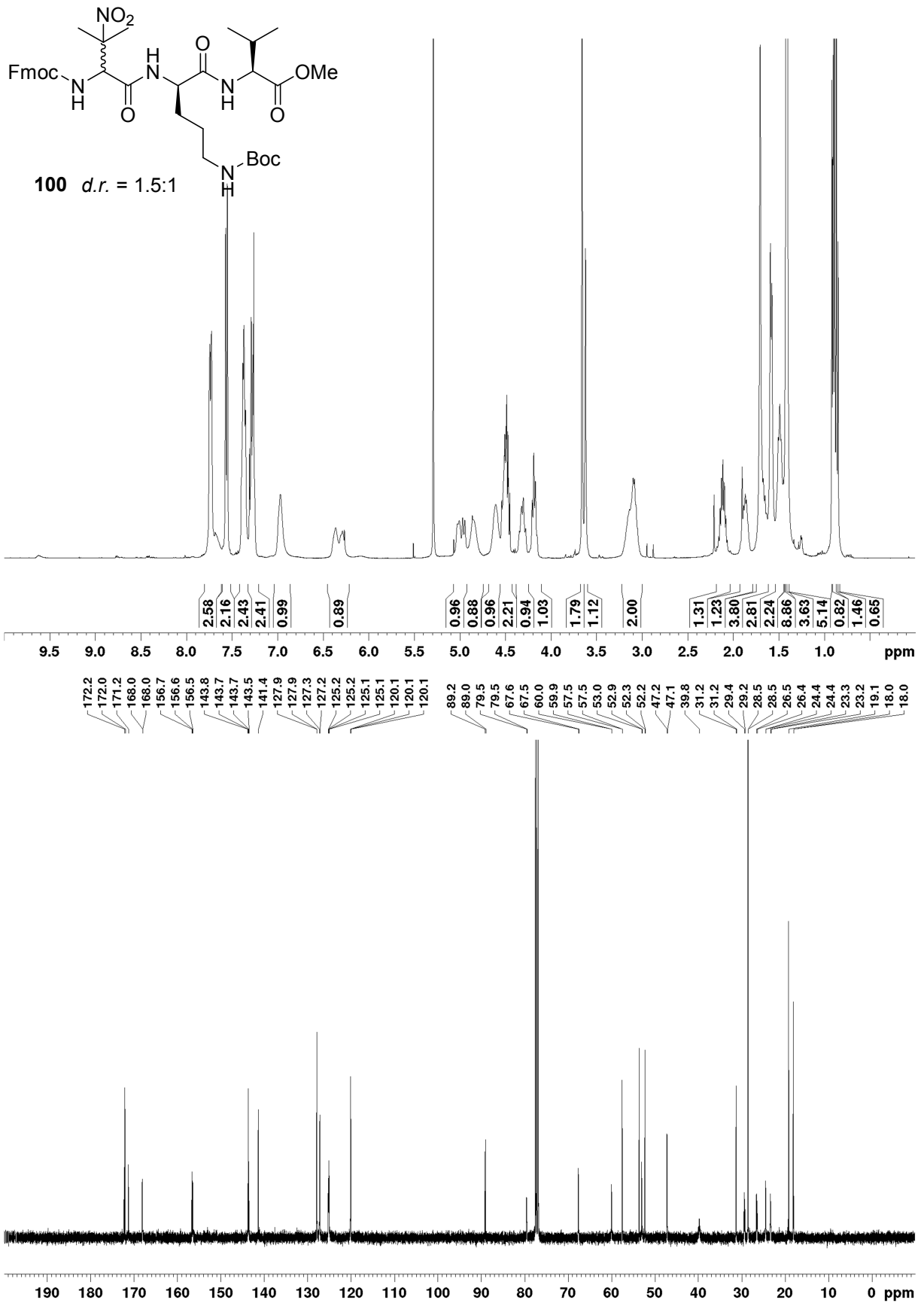


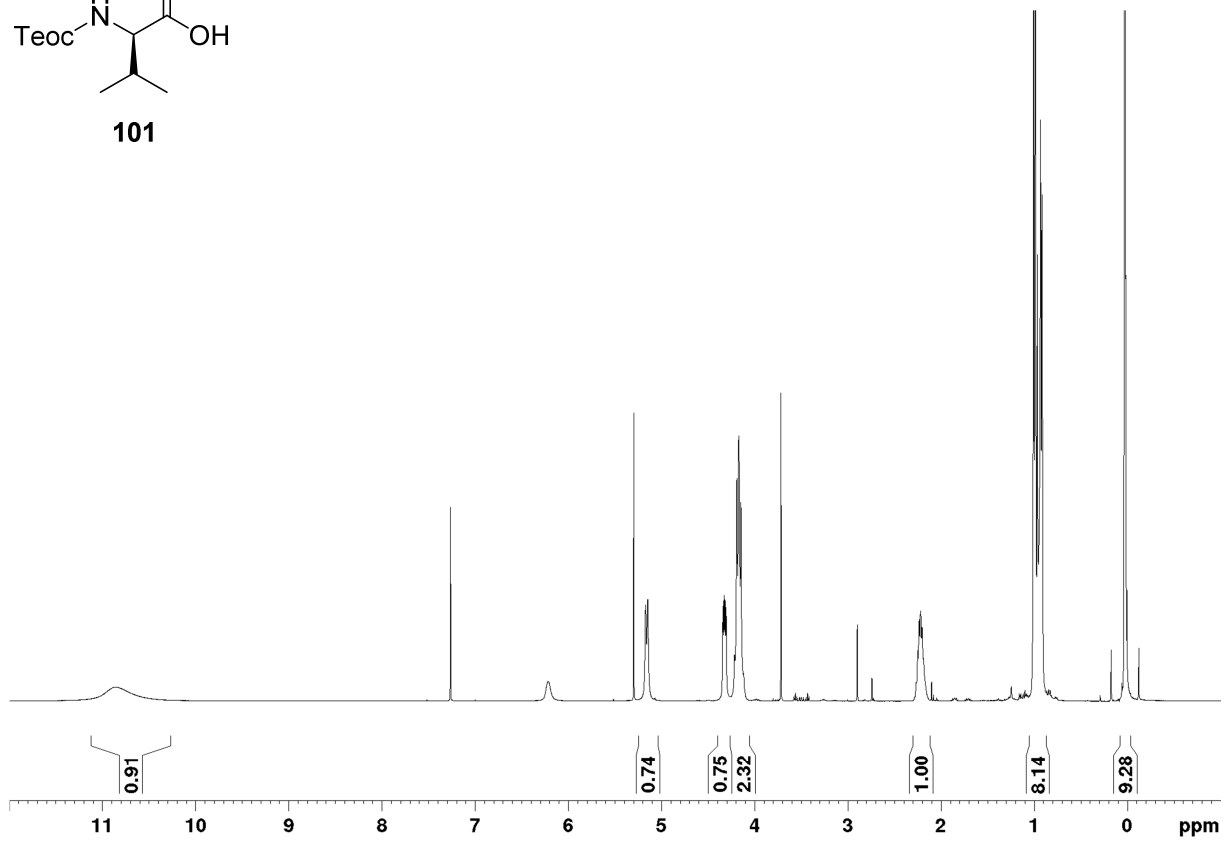
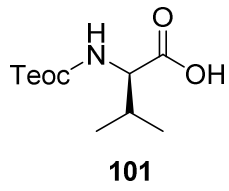


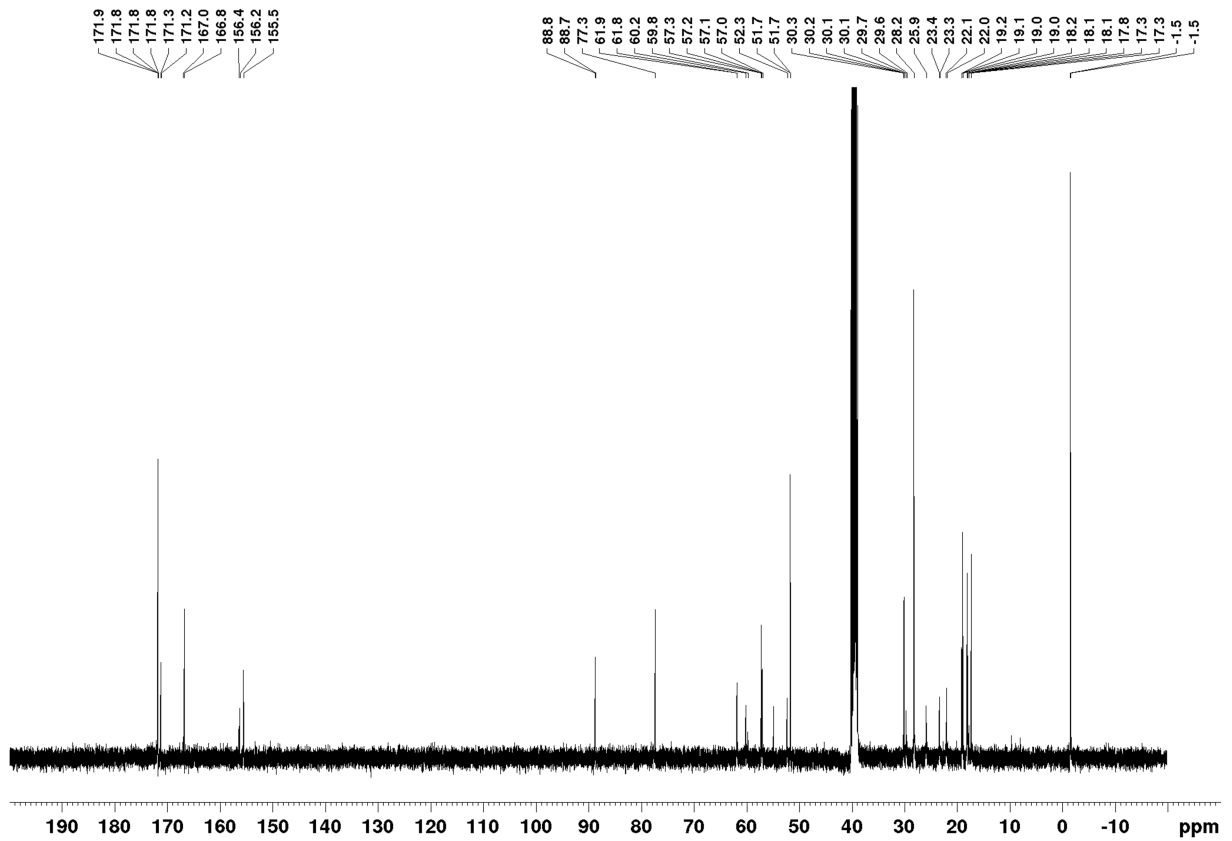
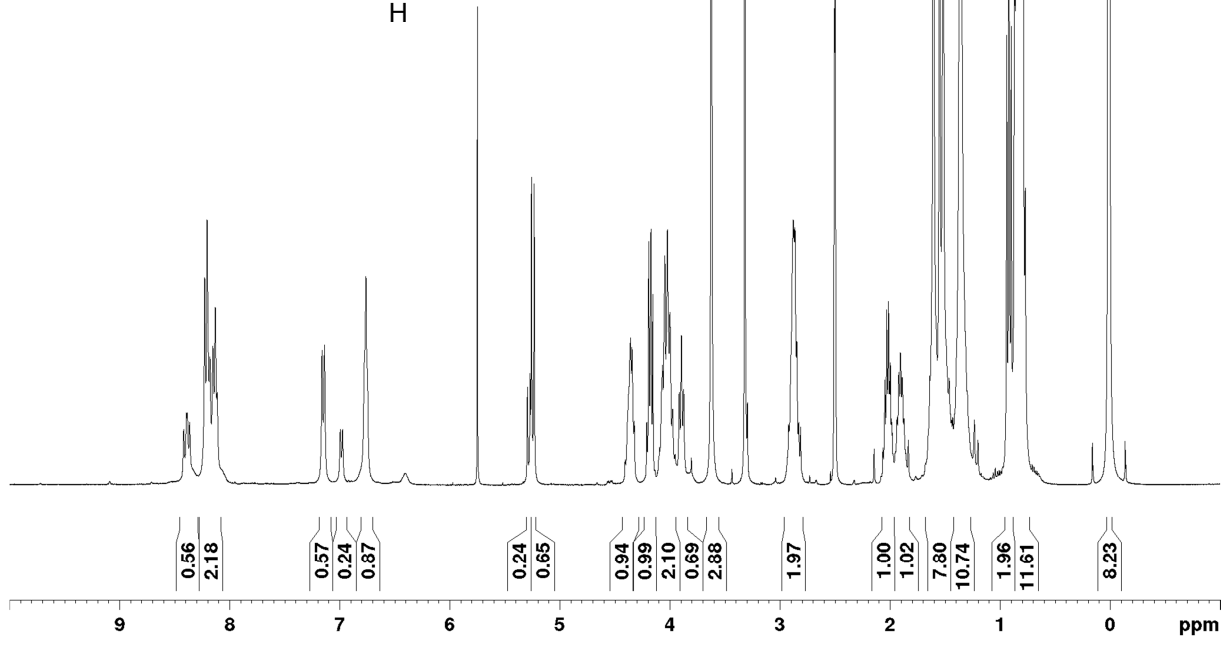
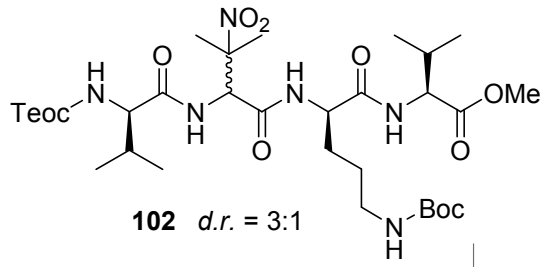


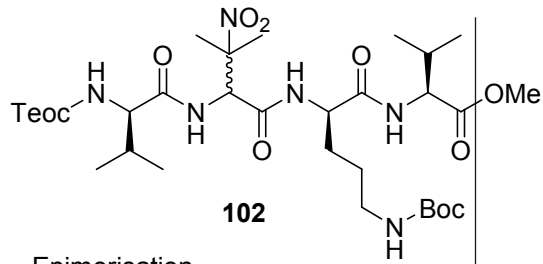




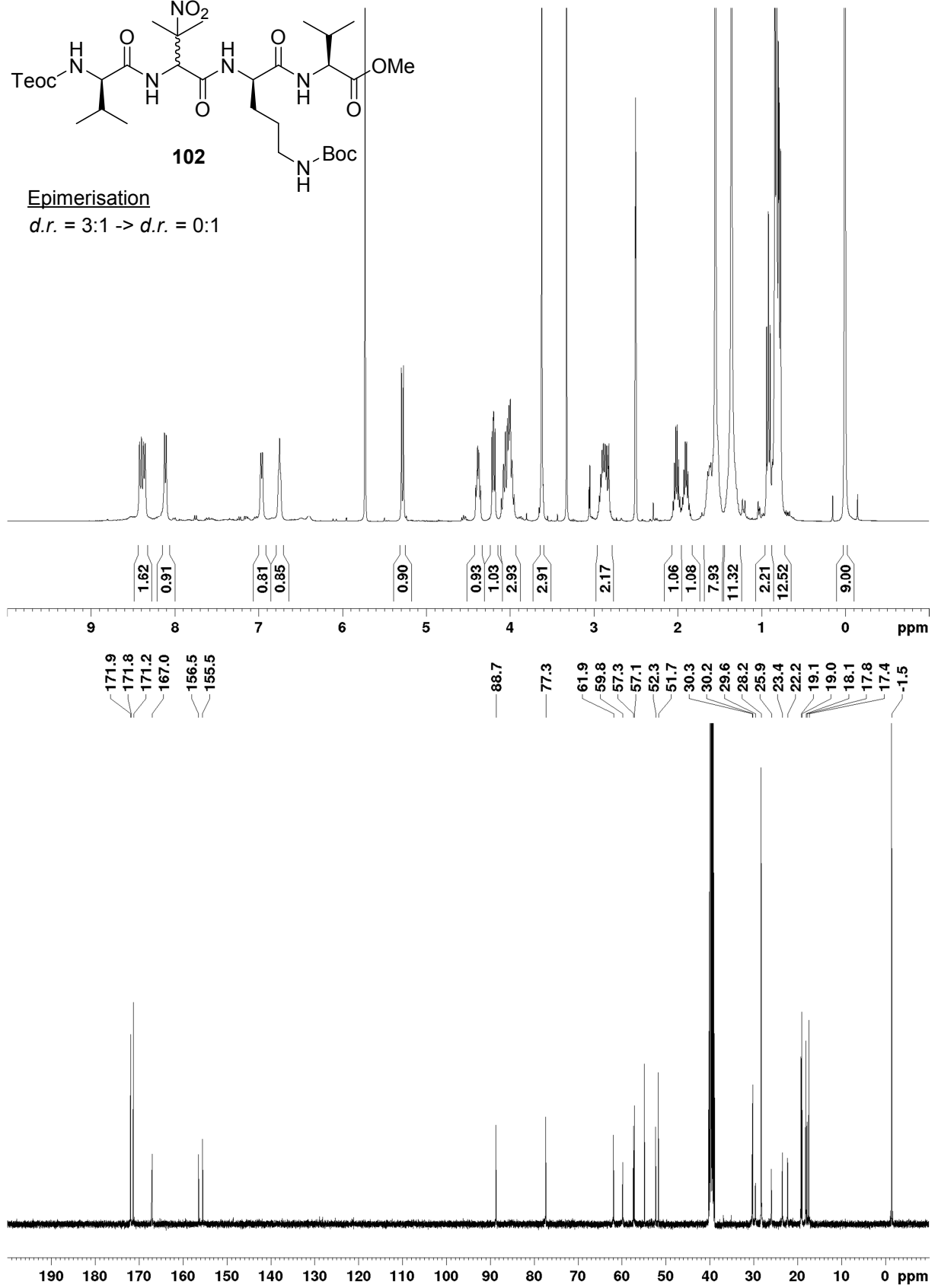


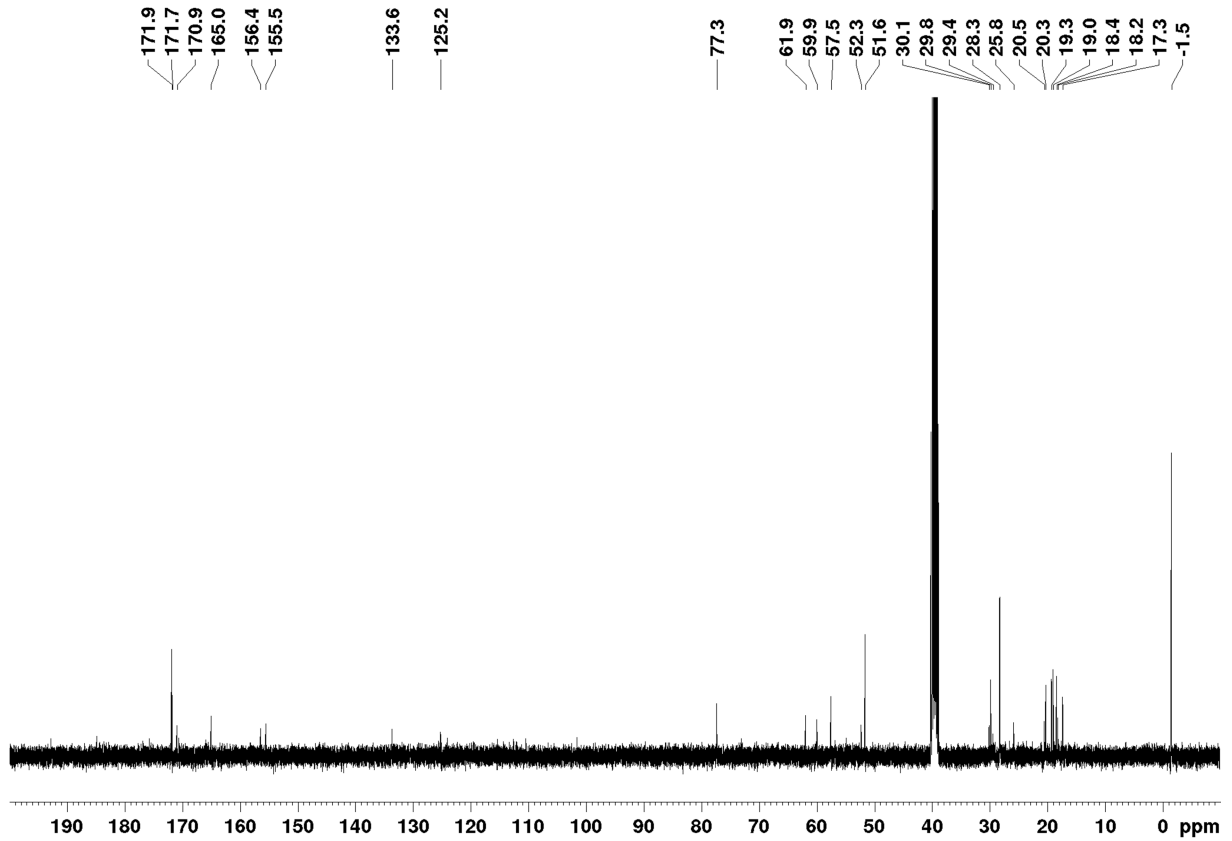
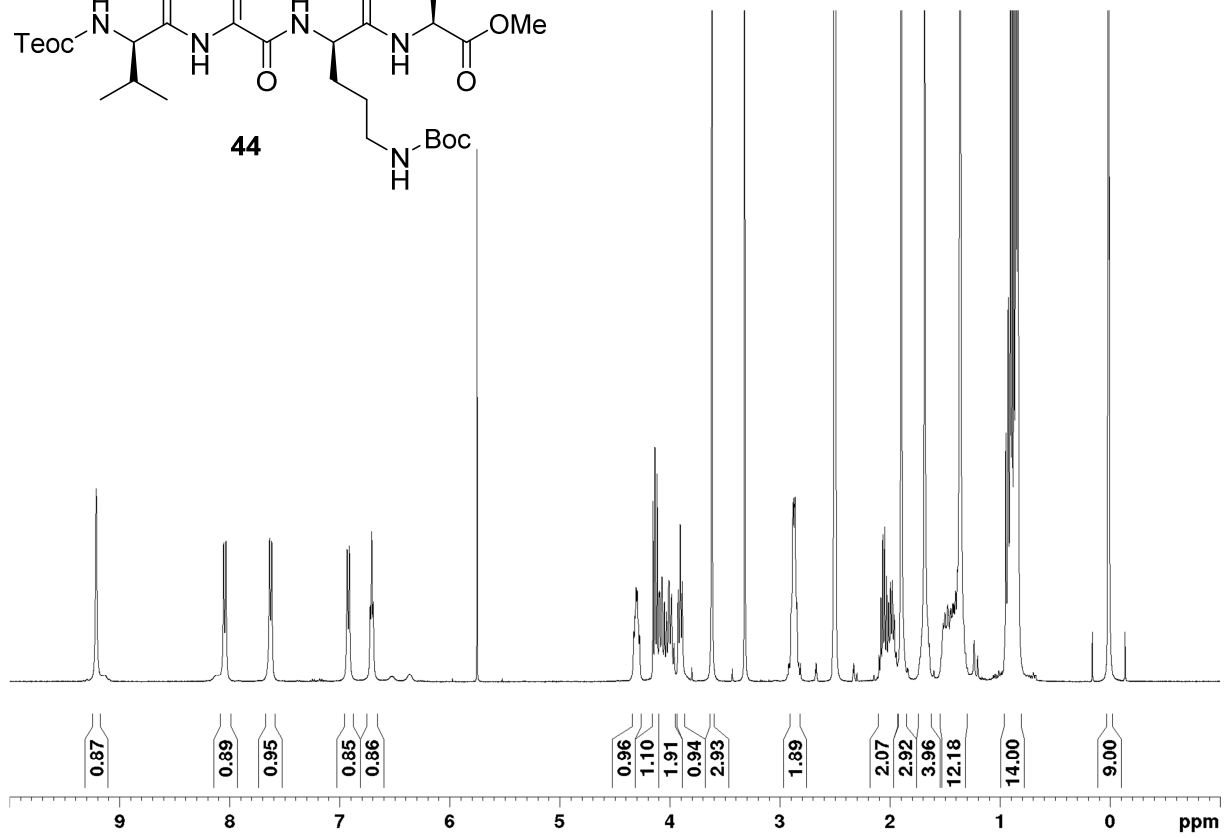
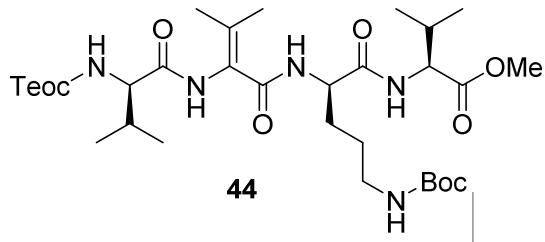


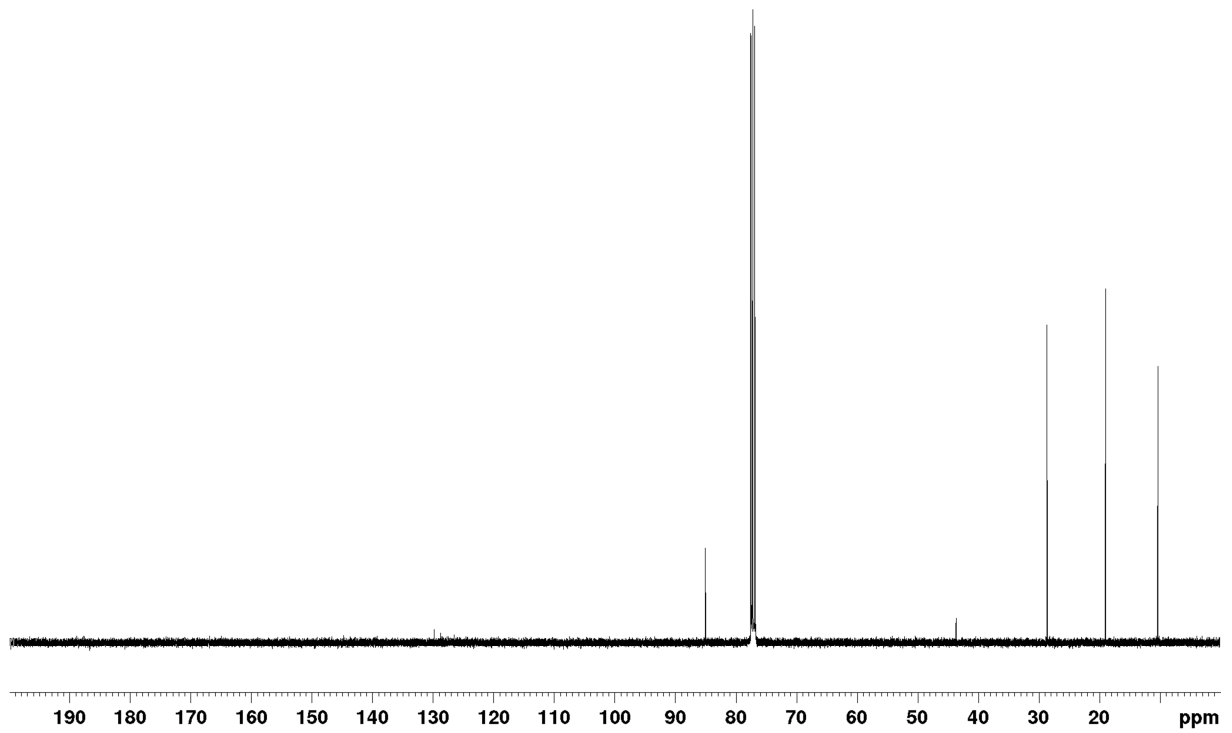
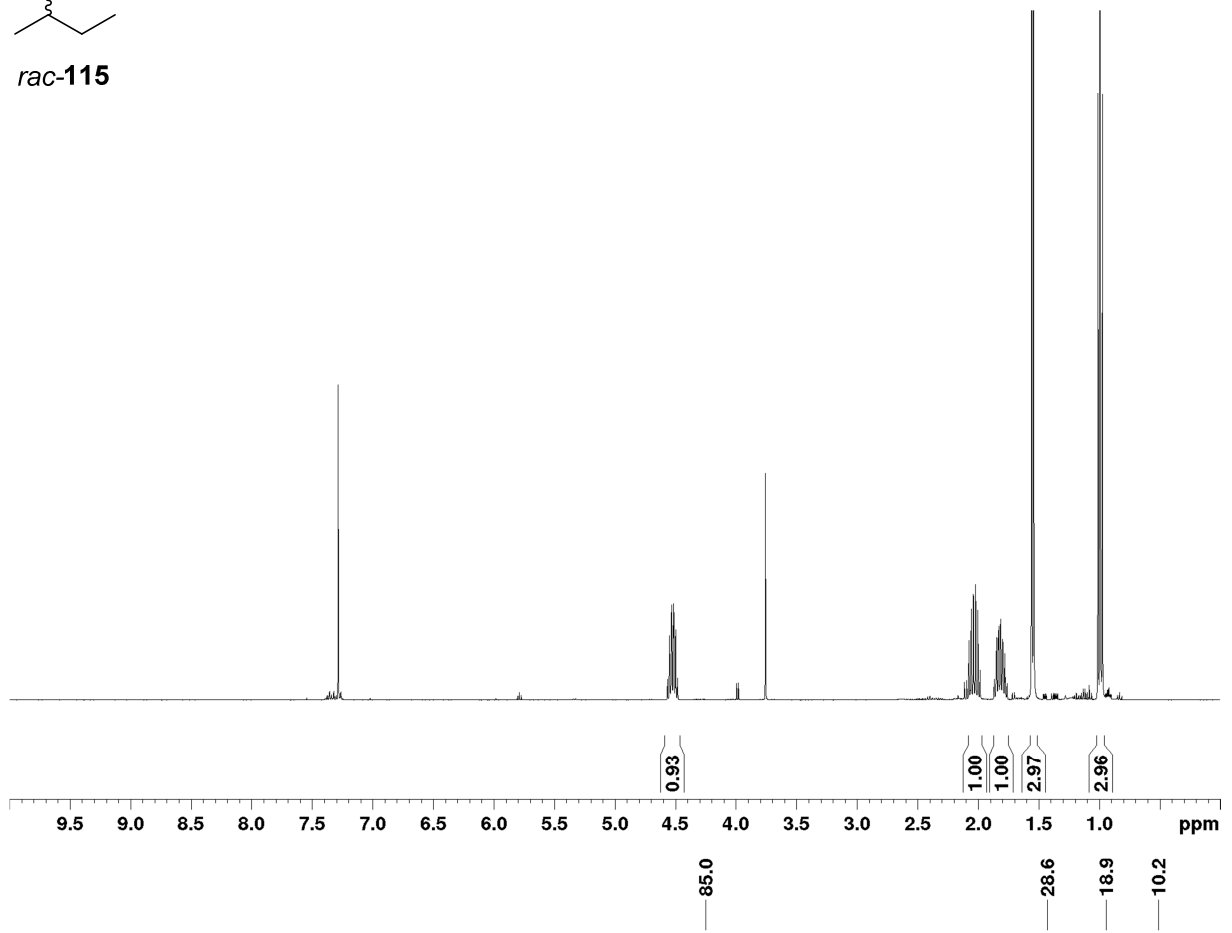
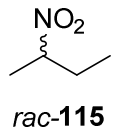


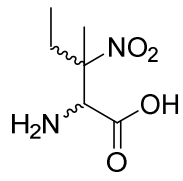


Epimerisation
d.r. = 3:1 → *d.r.* = 0:1

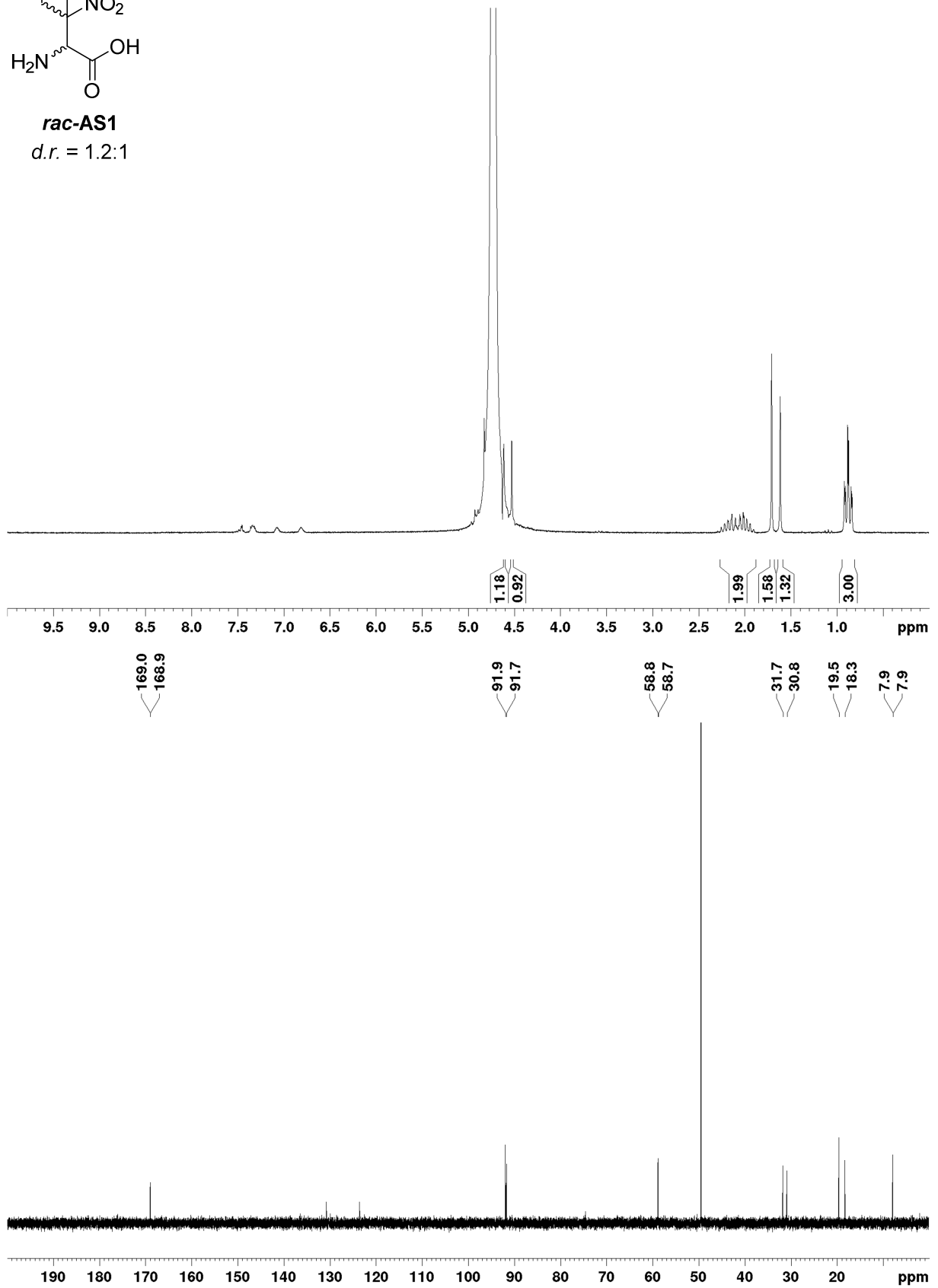


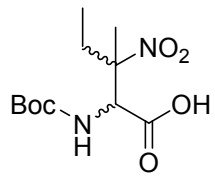




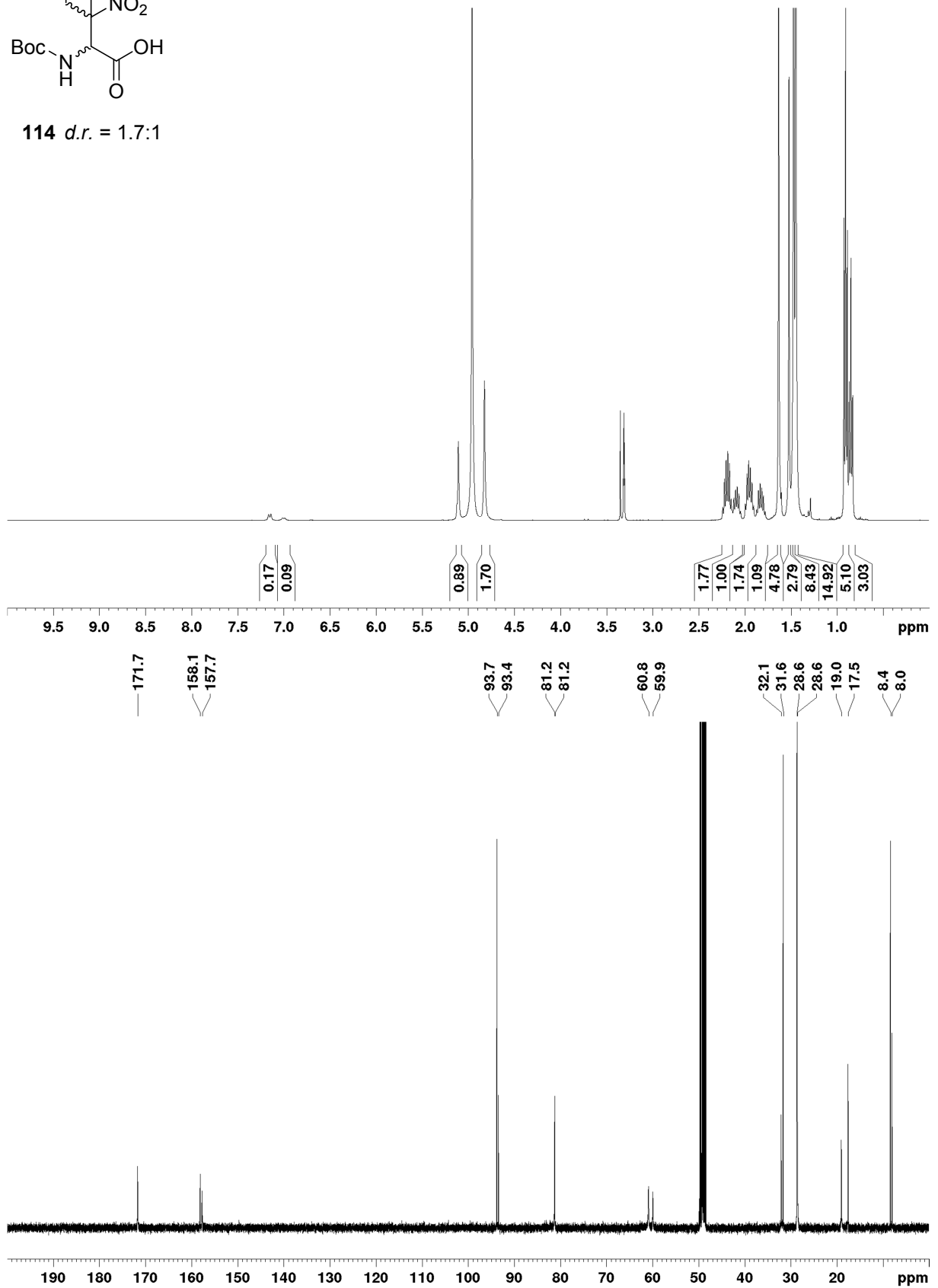


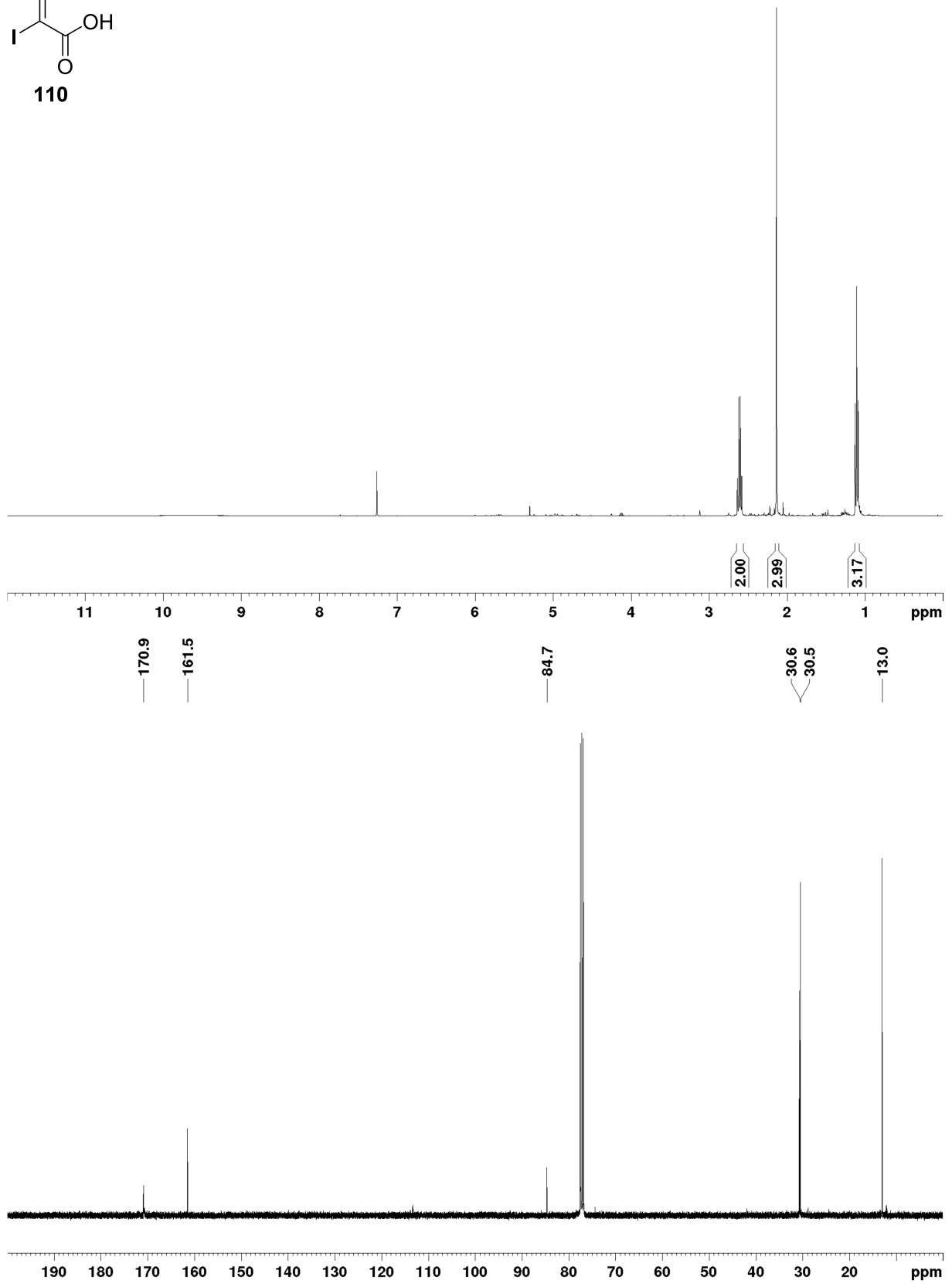
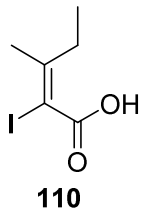
rac-AS1
d.r. = 1.2:1

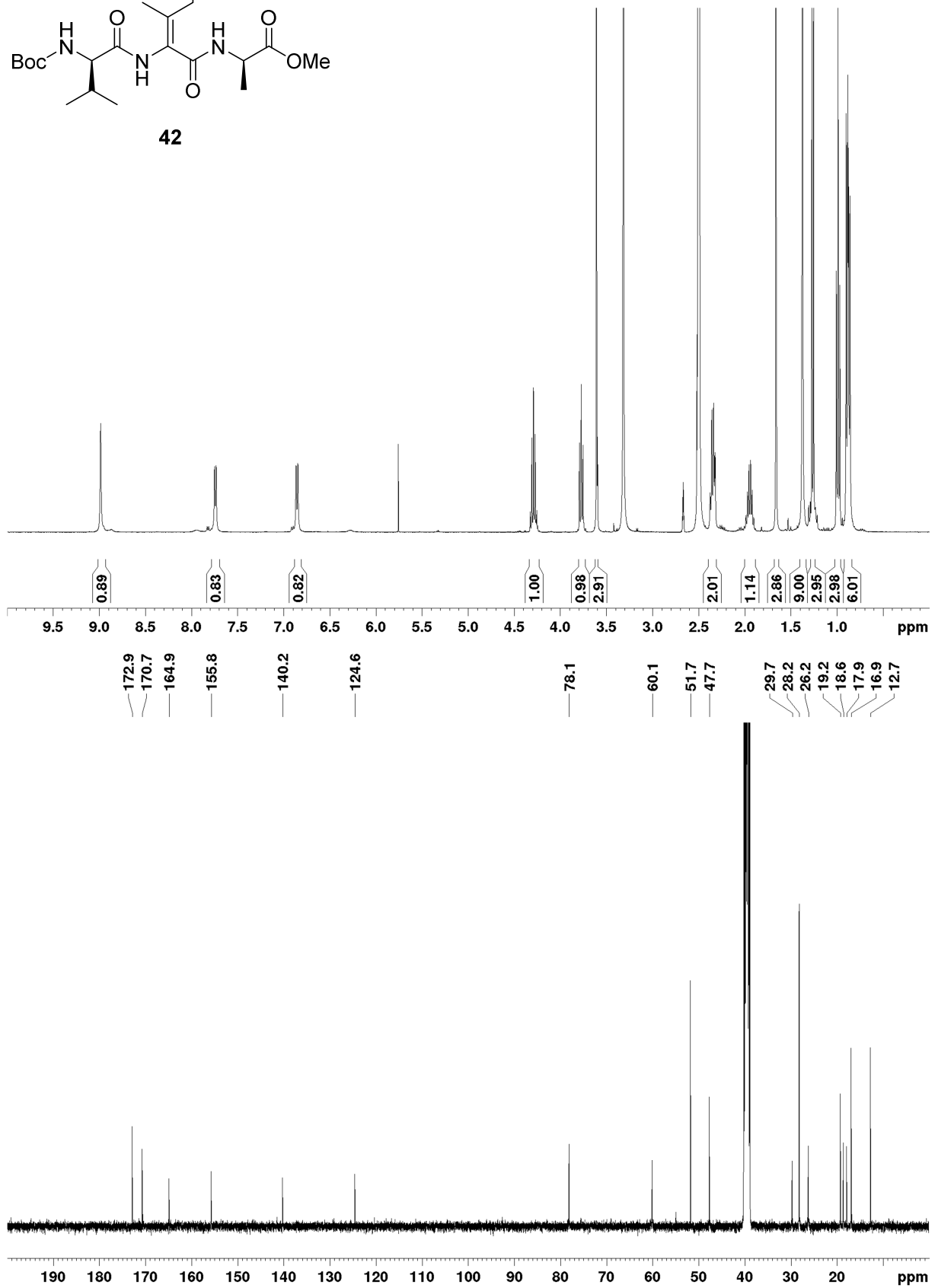
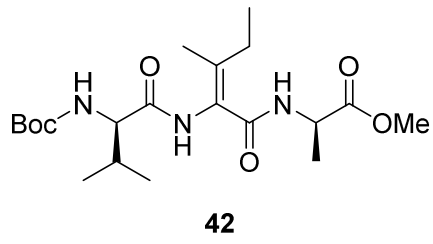


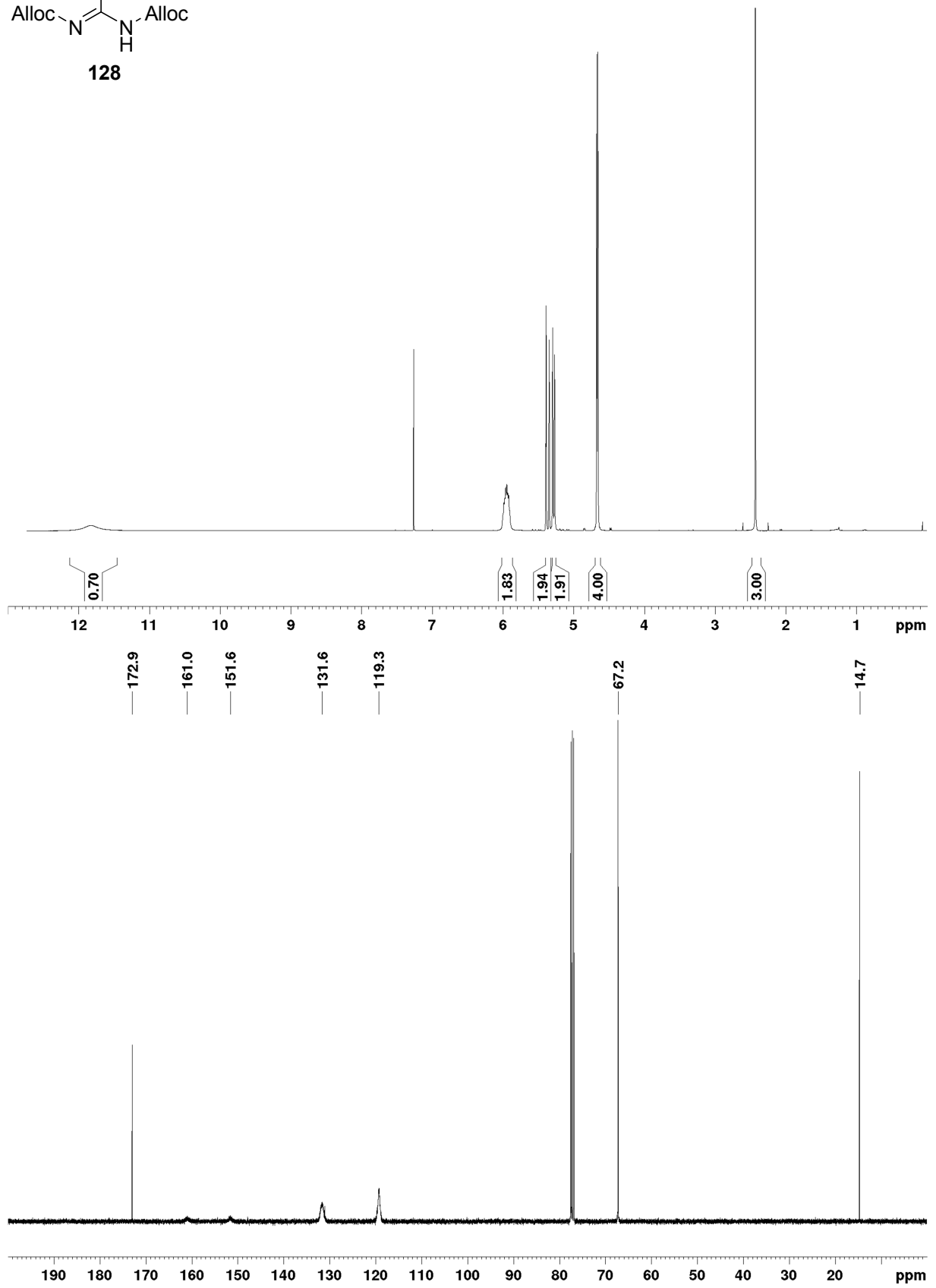
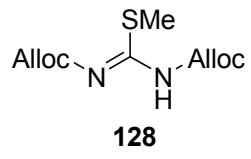


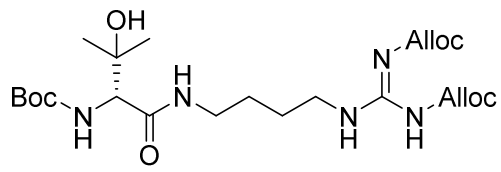
114 *d.r.* = 1.7:1



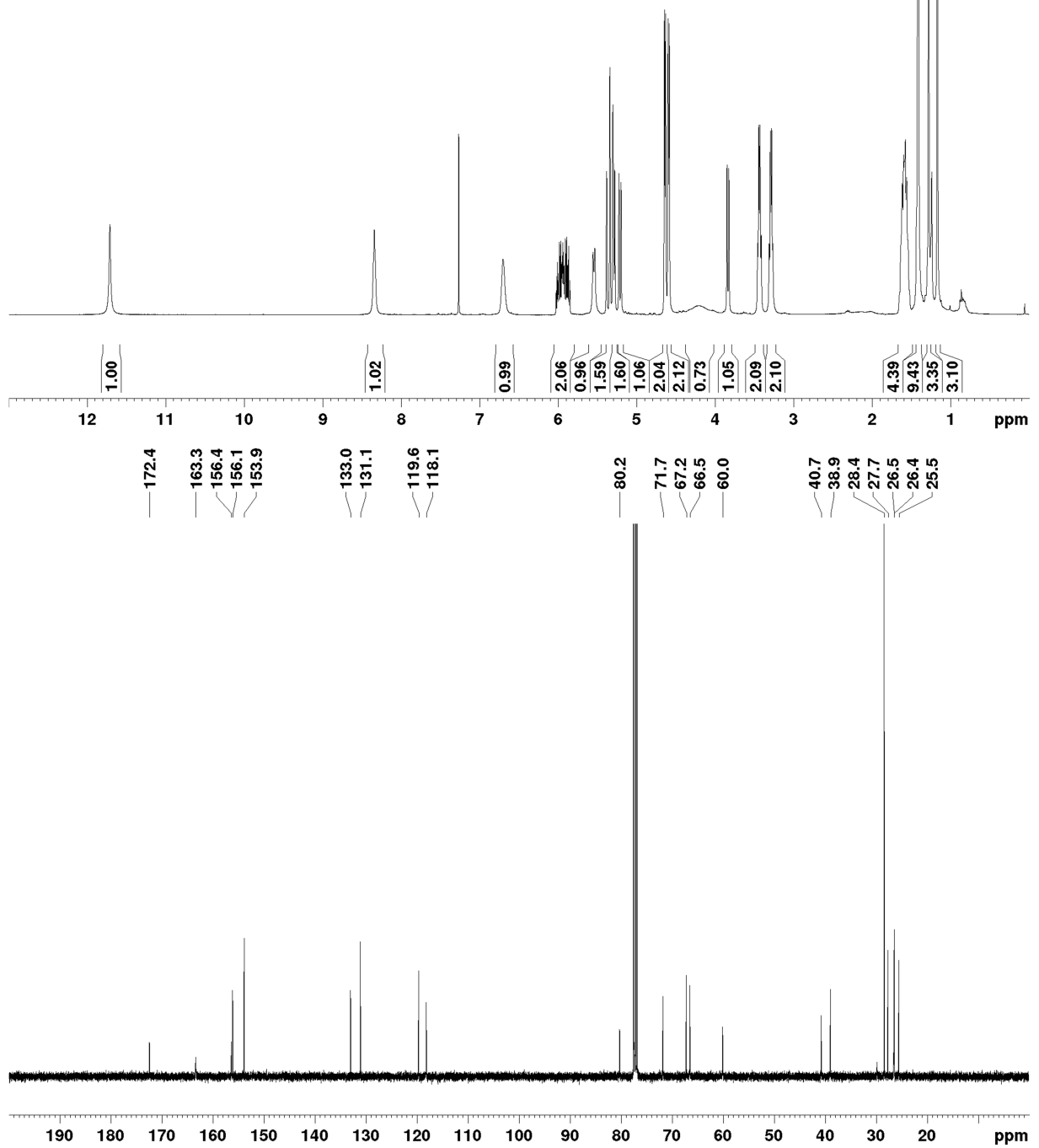


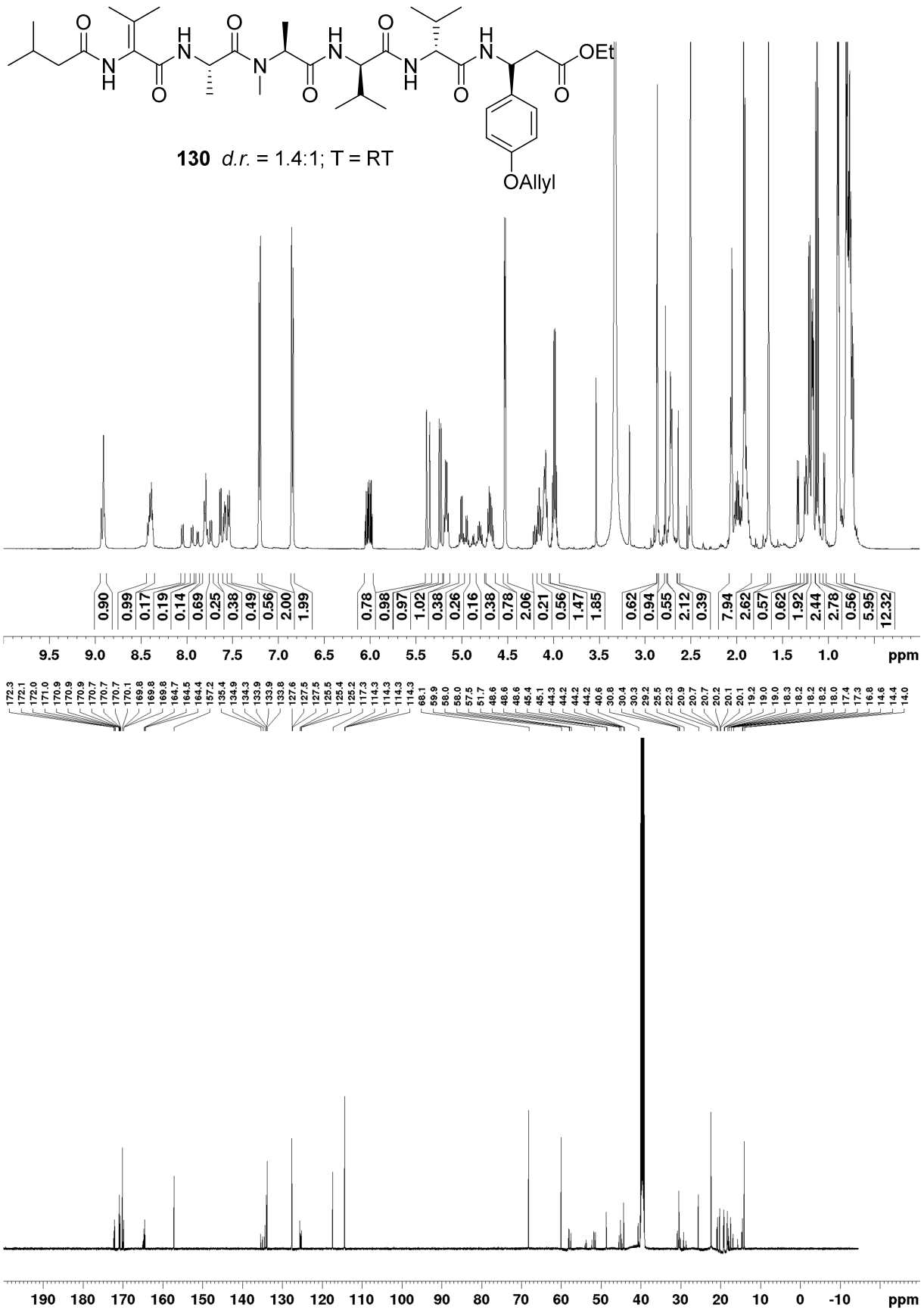


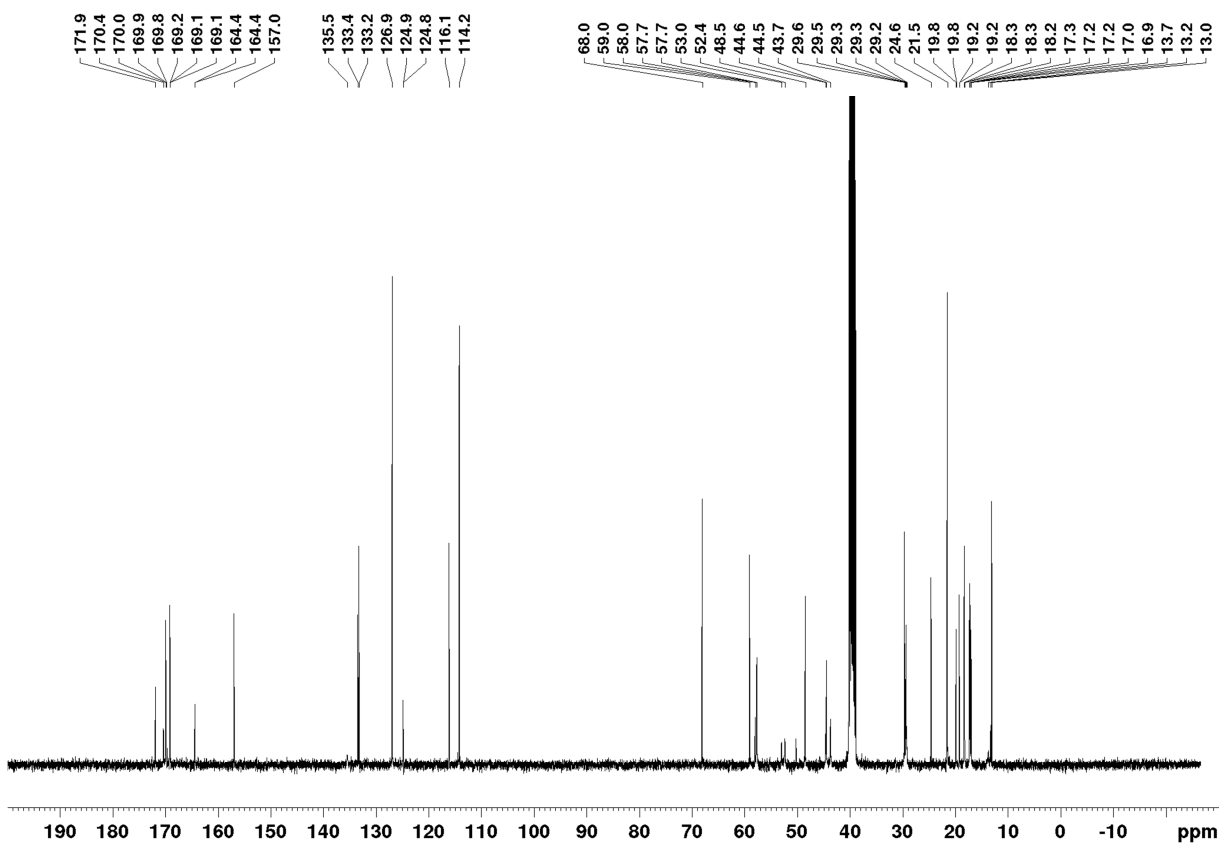
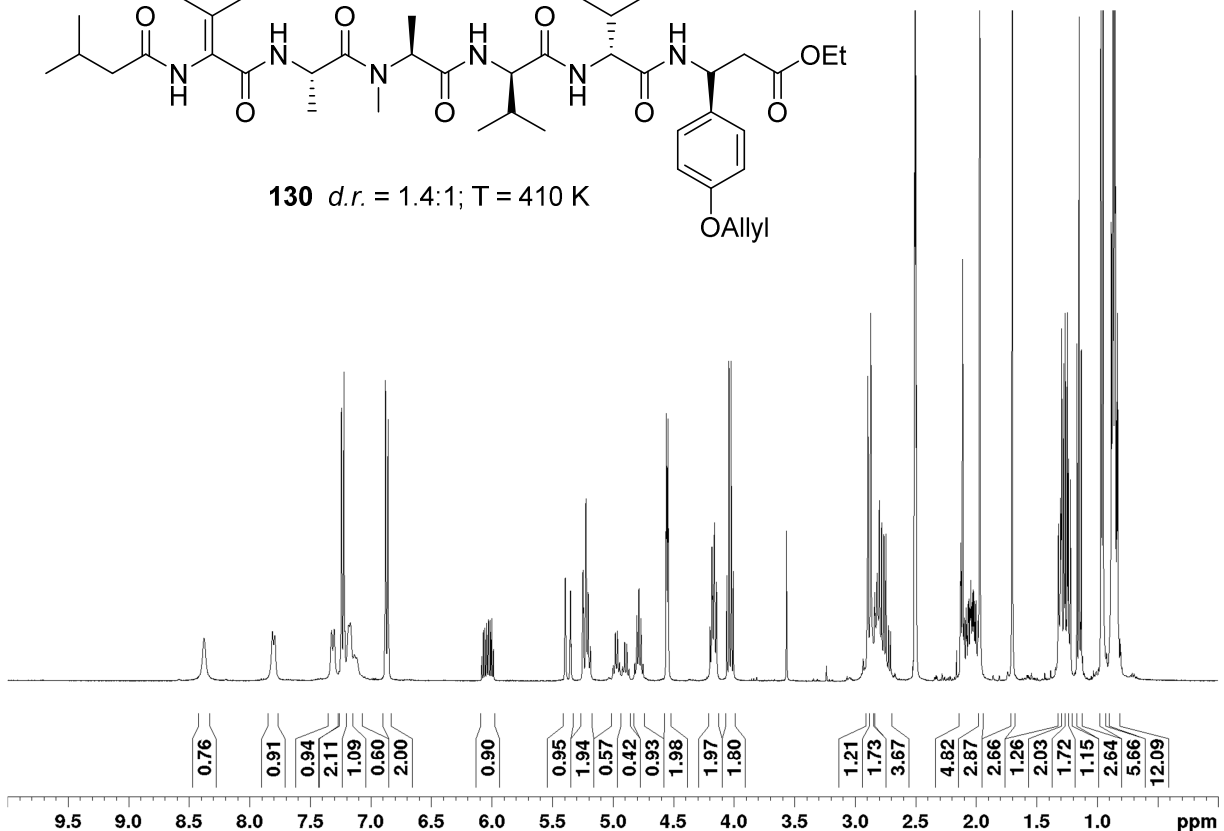
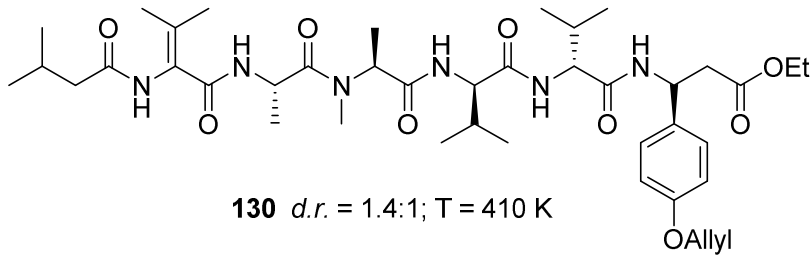


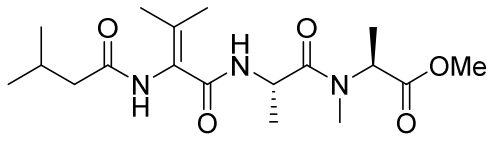


43

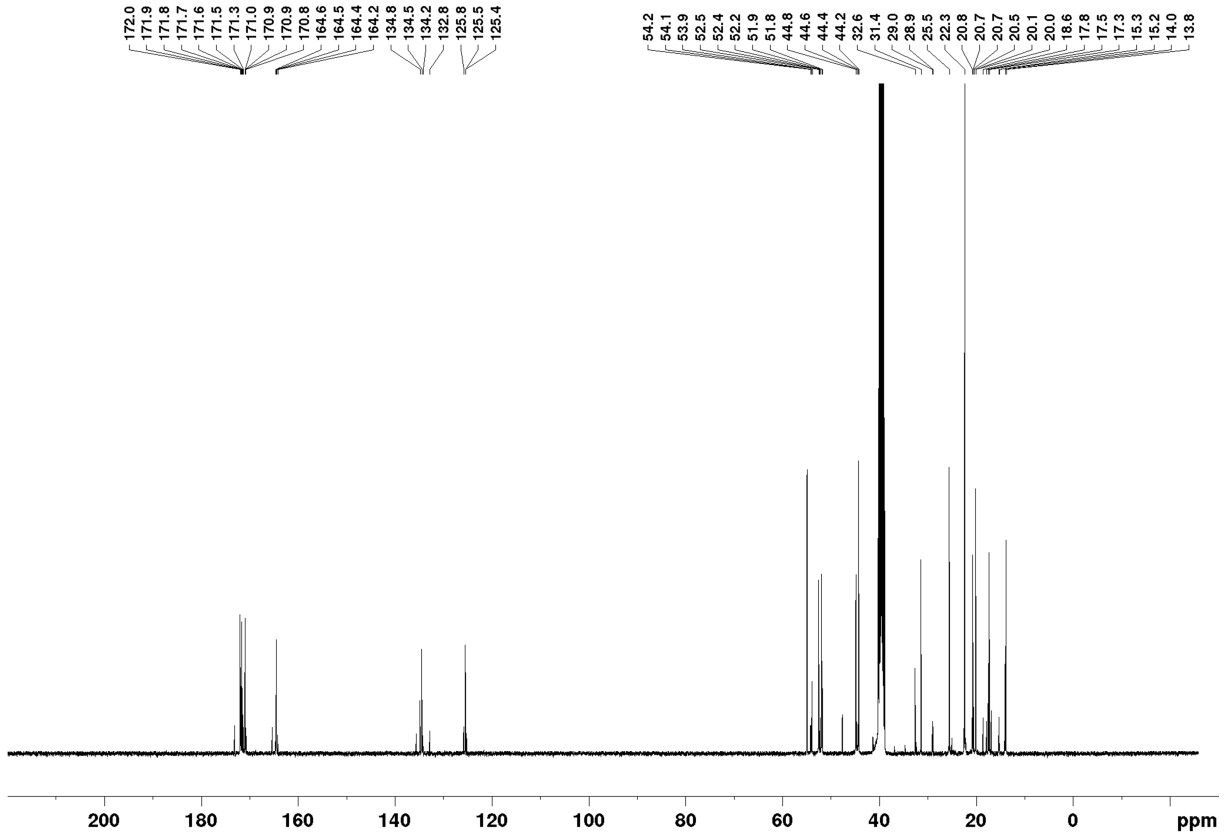
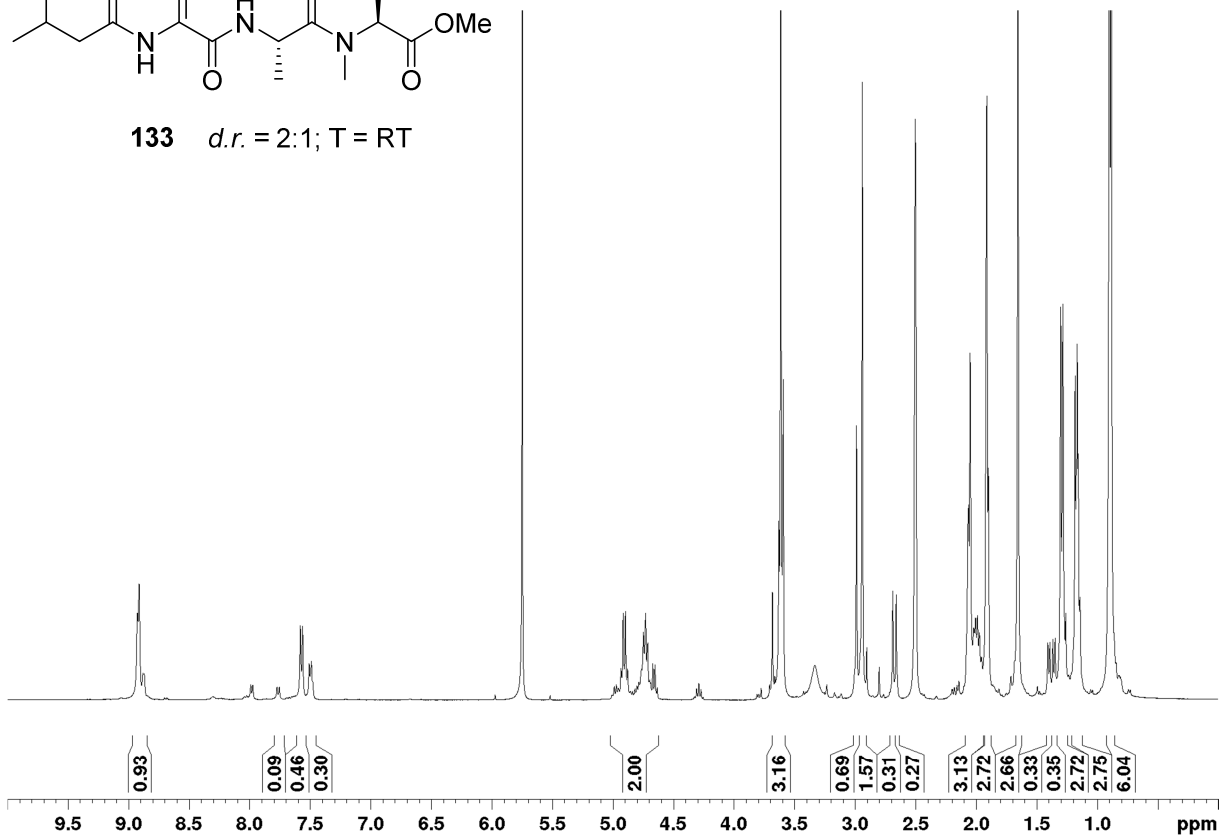


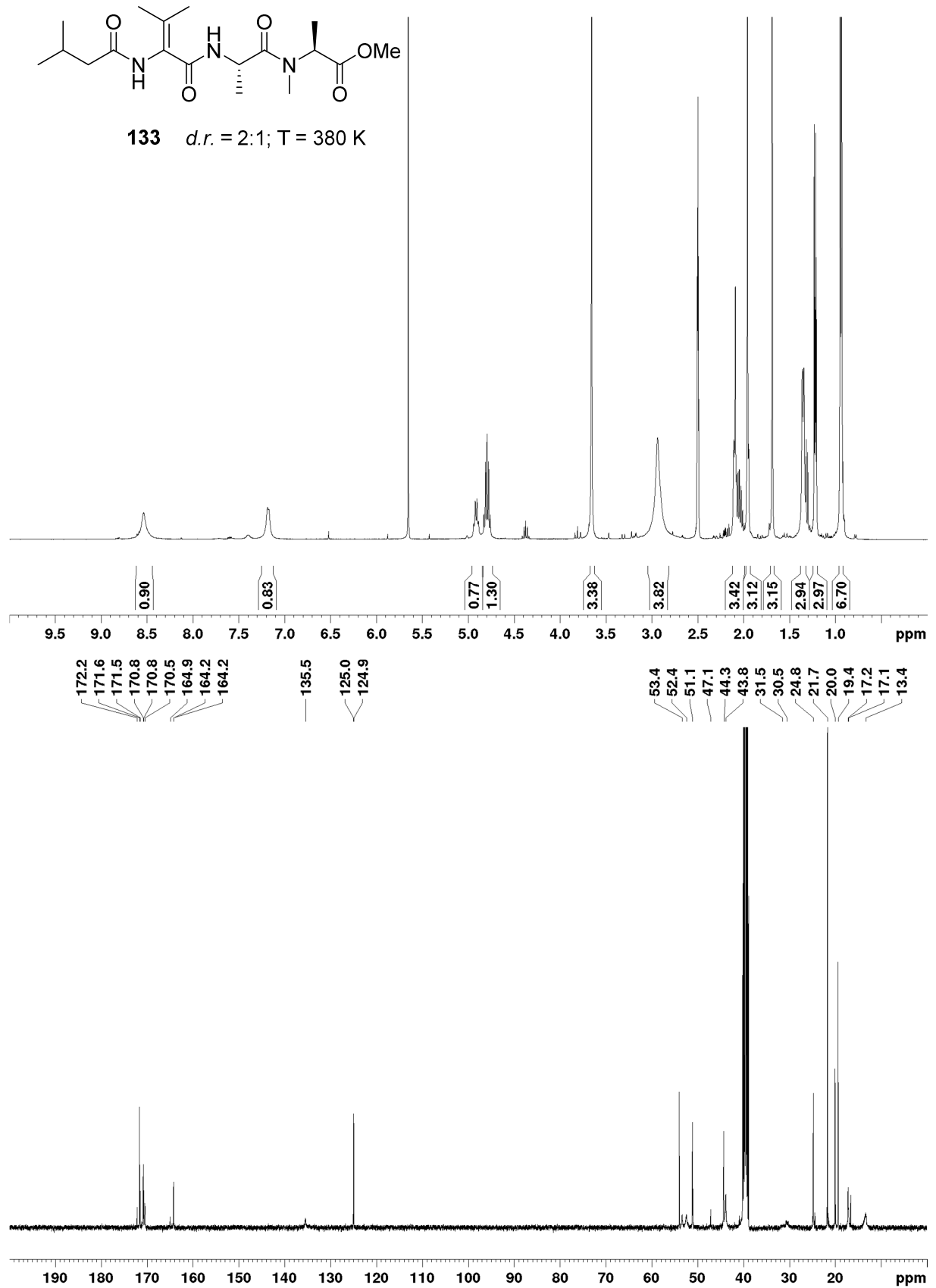


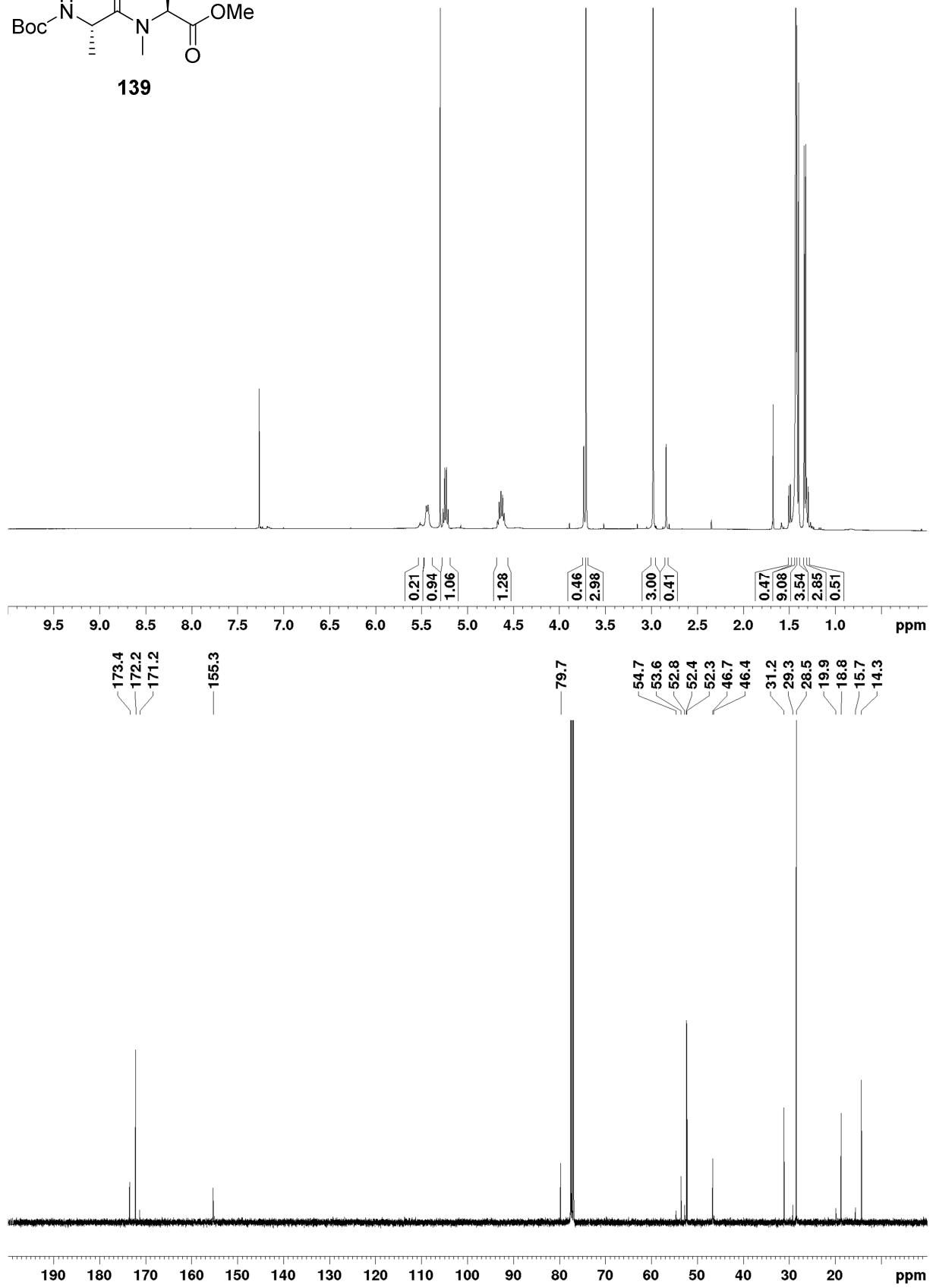
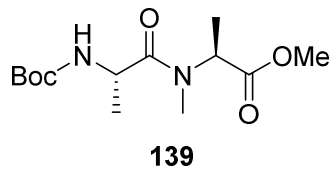


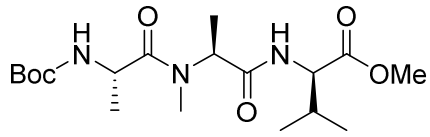


133 *d.r.* = 2:1; T = RT

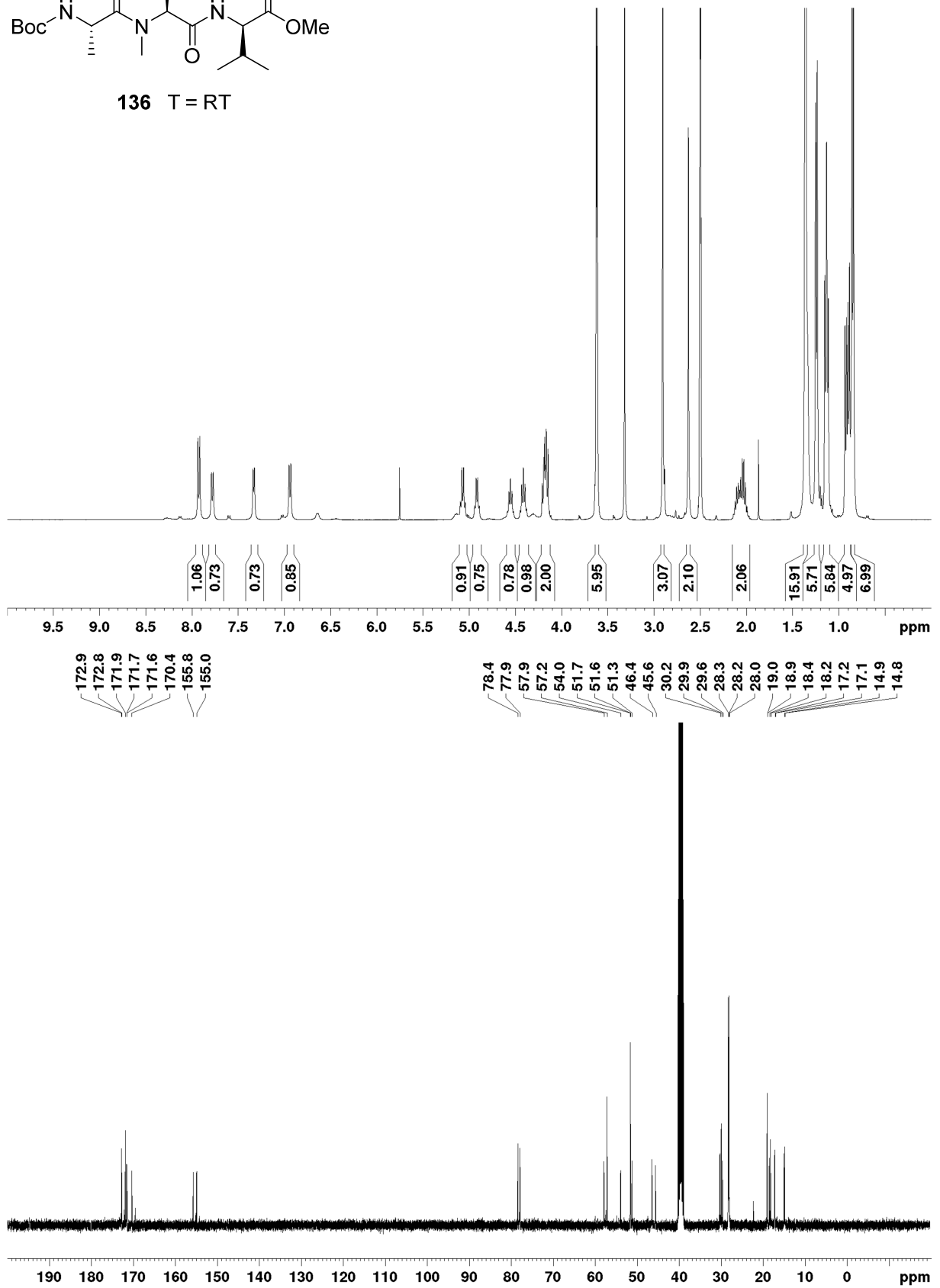


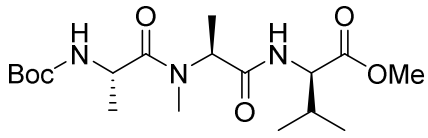




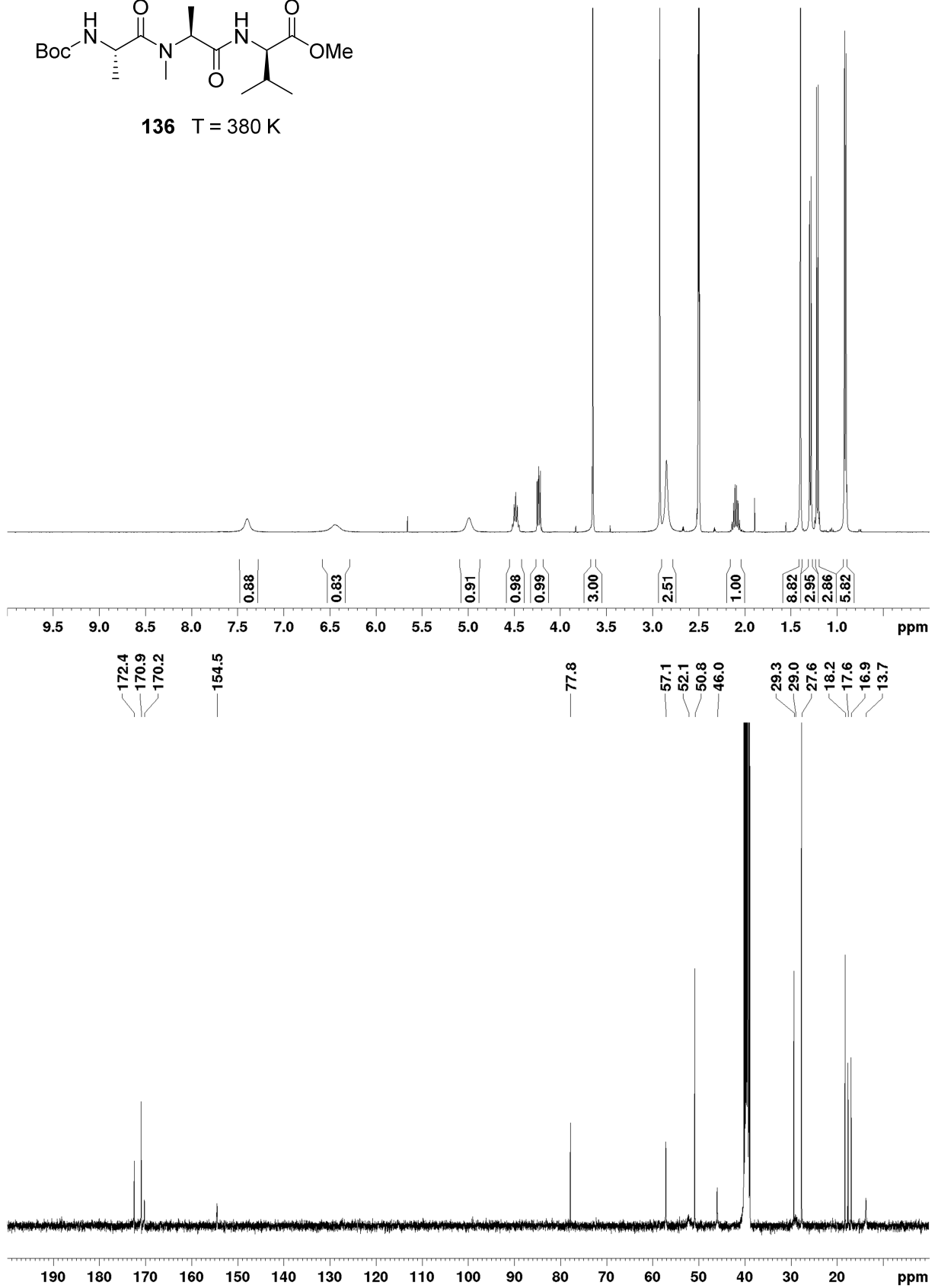


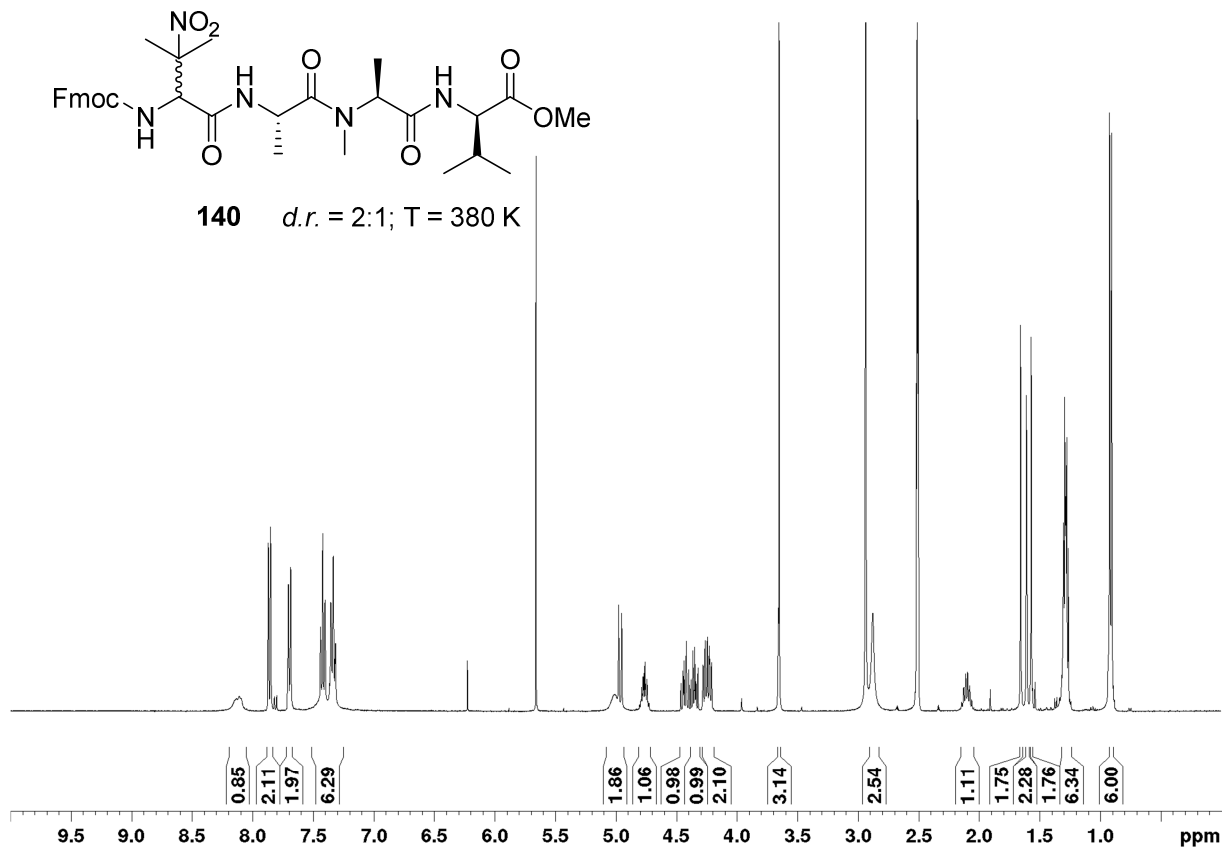
136 T = RT

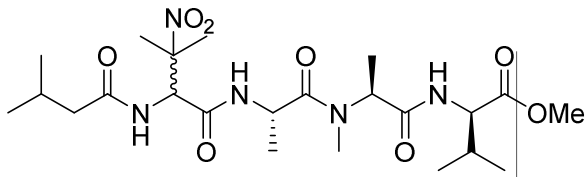




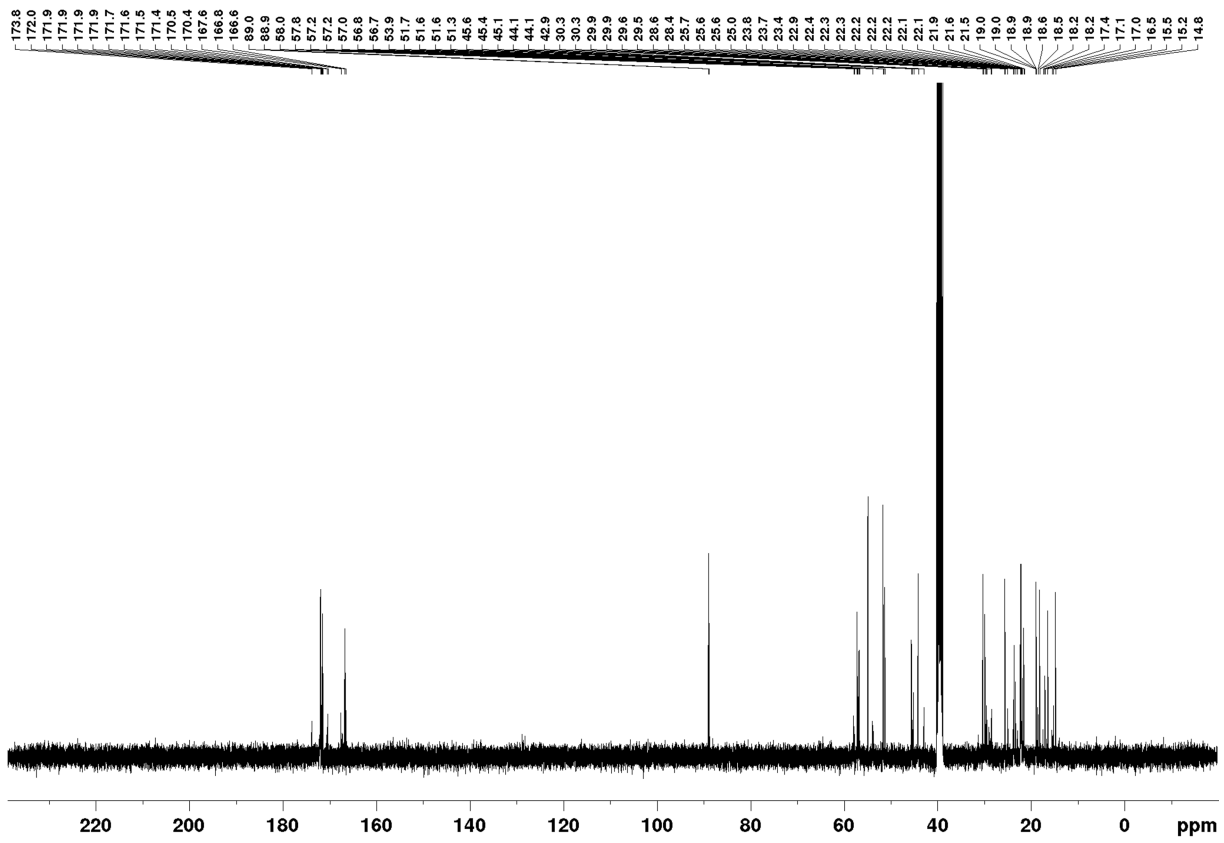
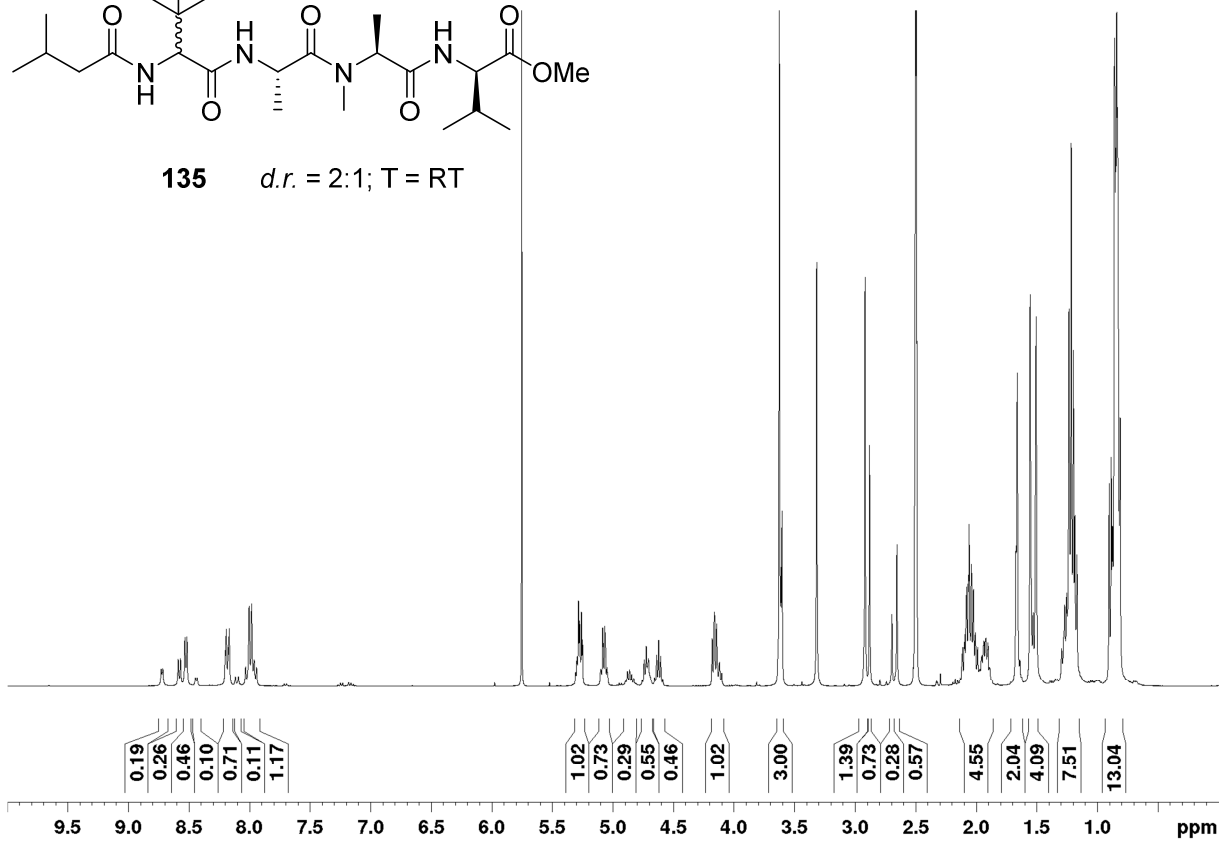
136 T = 380 K

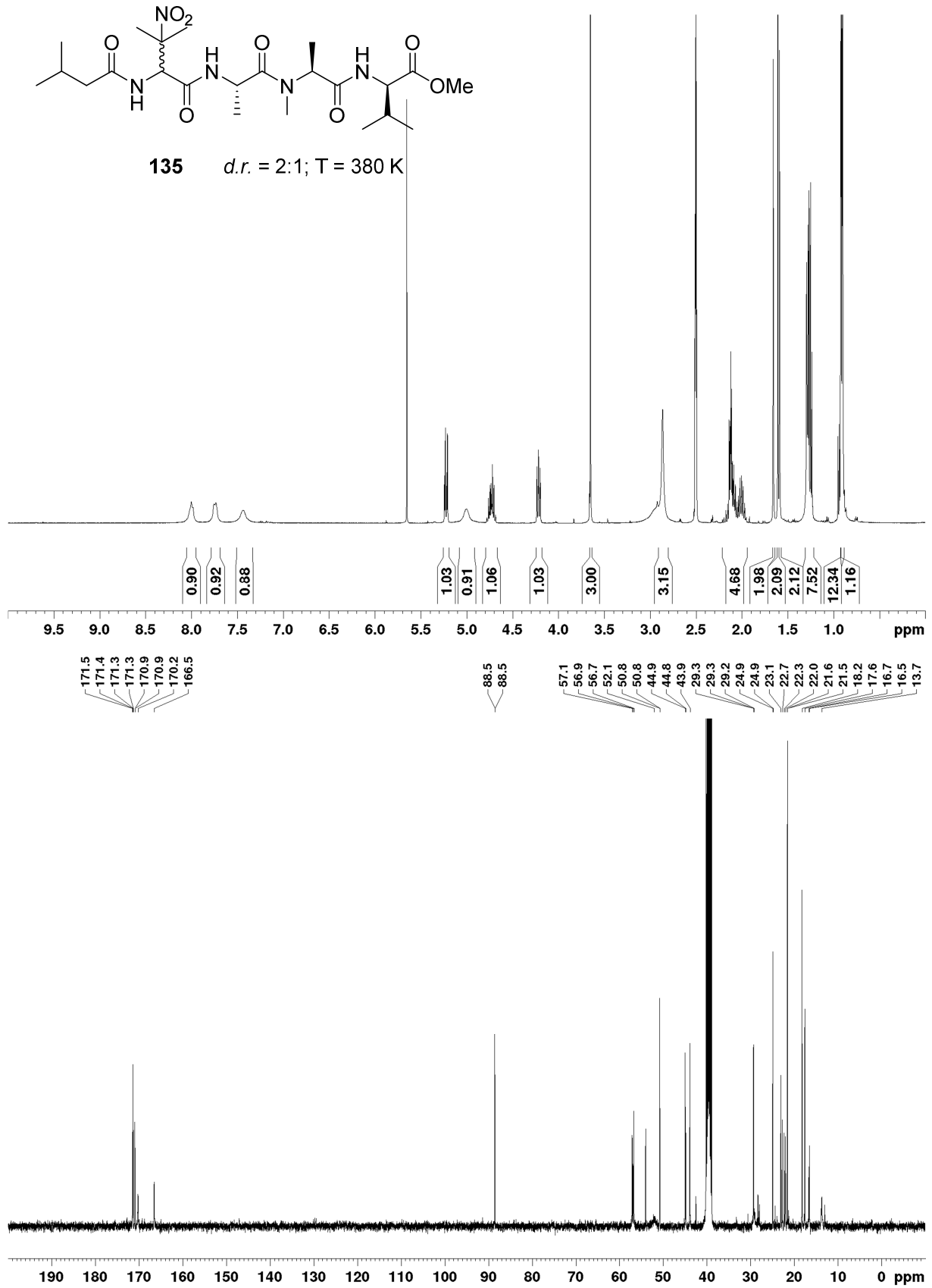


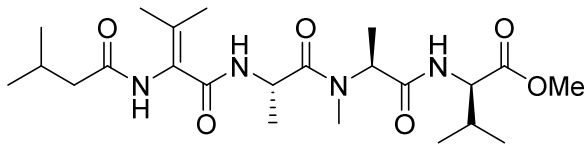




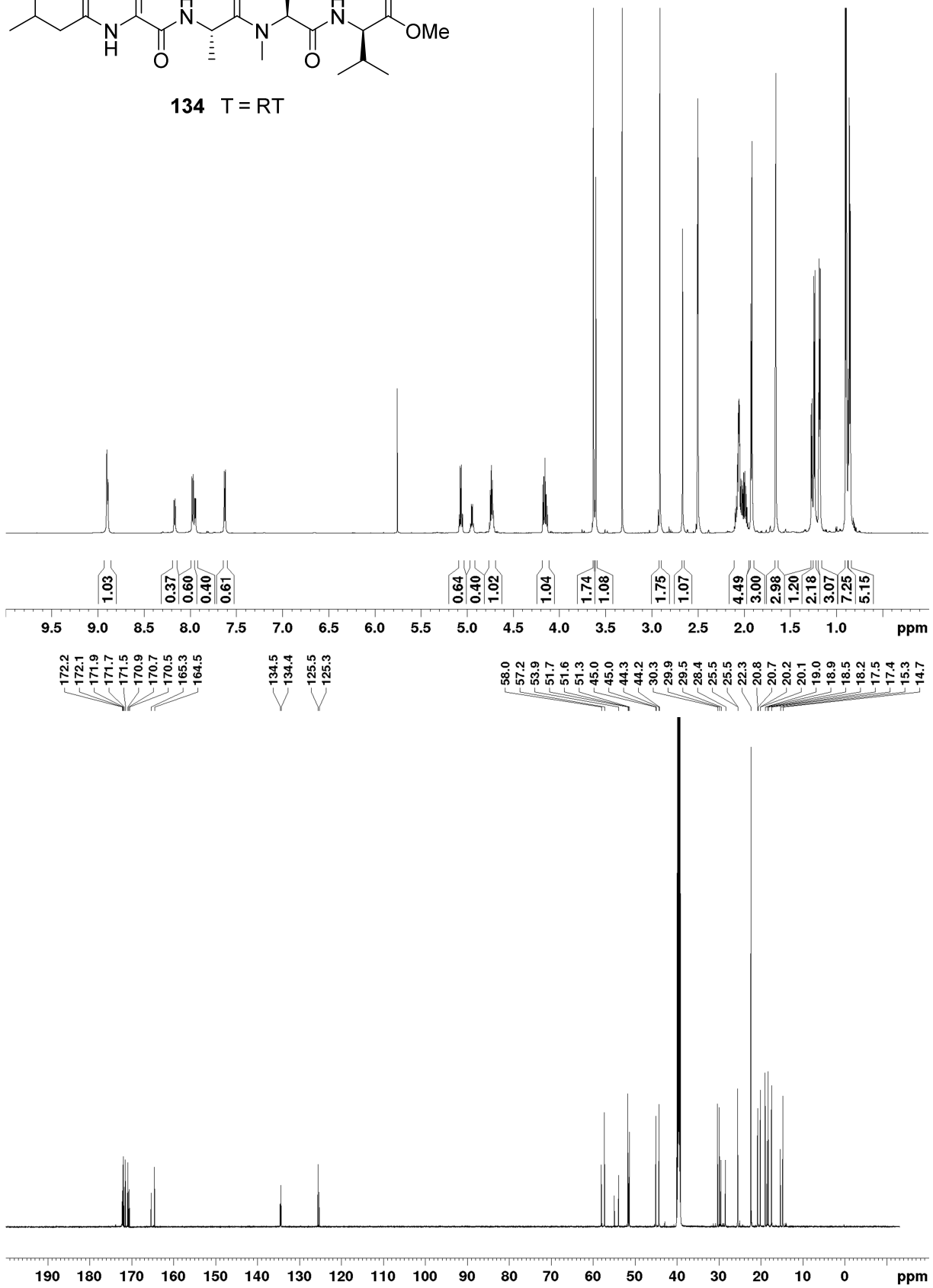
135 *d.r.* = 2:1; T = RT

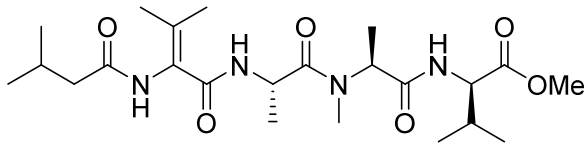




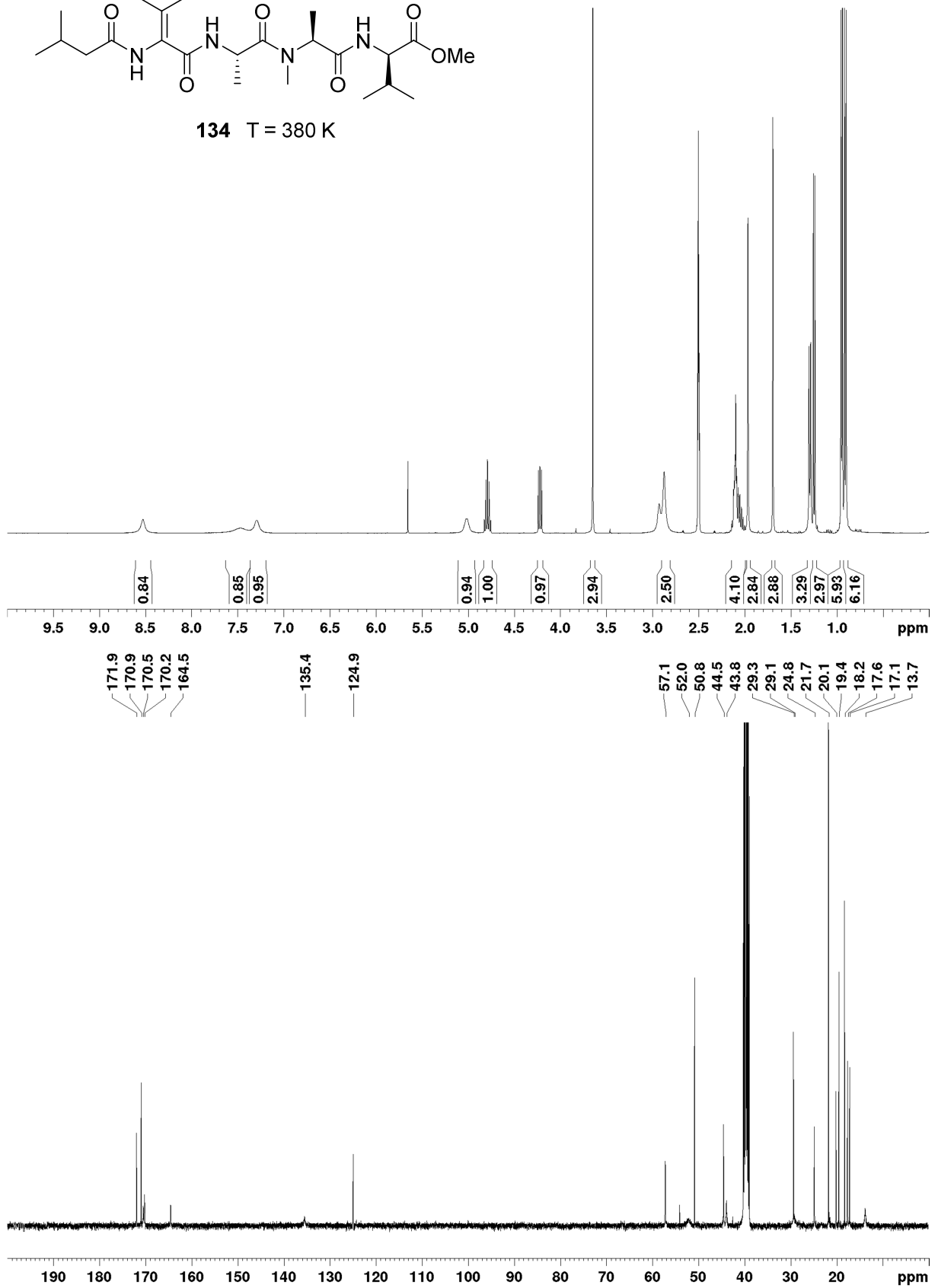


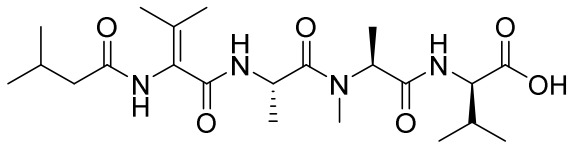
134 T = RT



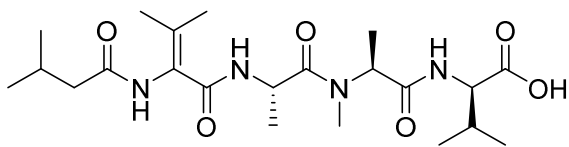
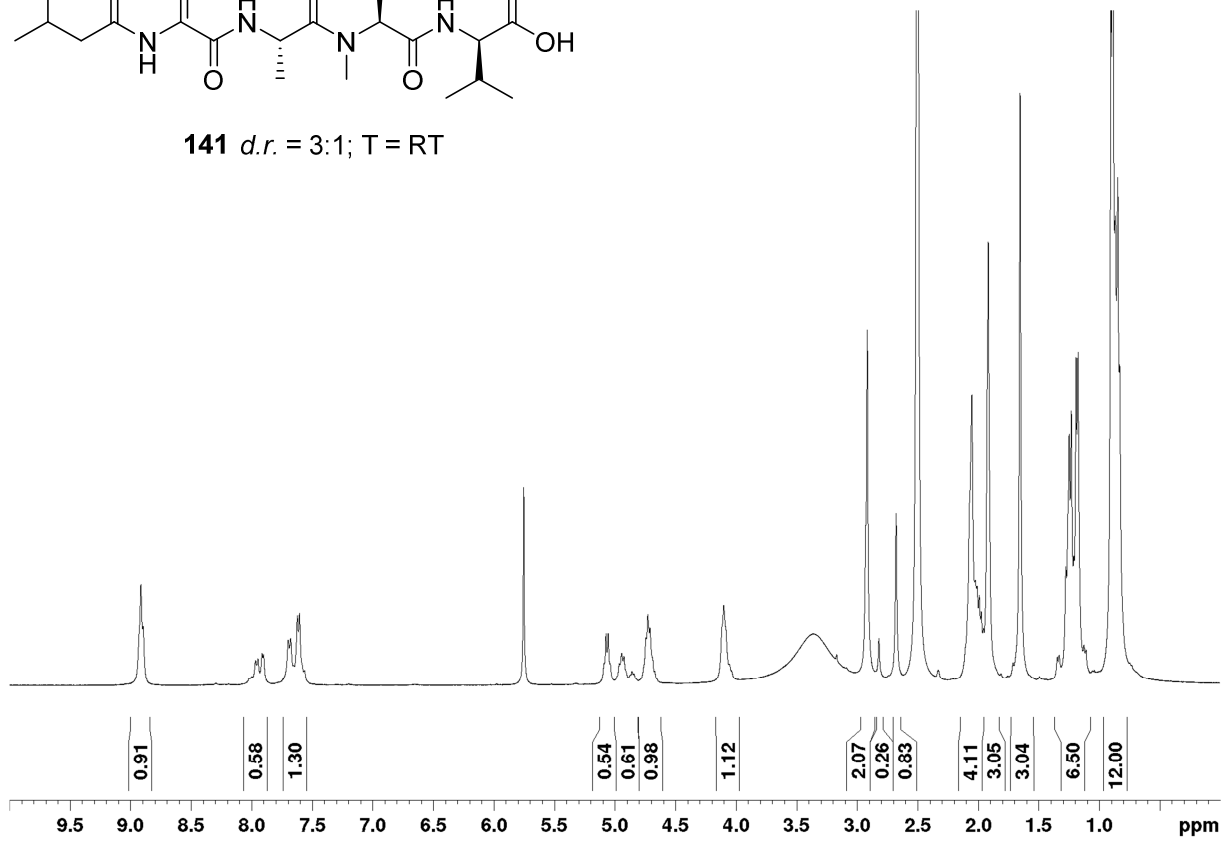


134 T = 380 K

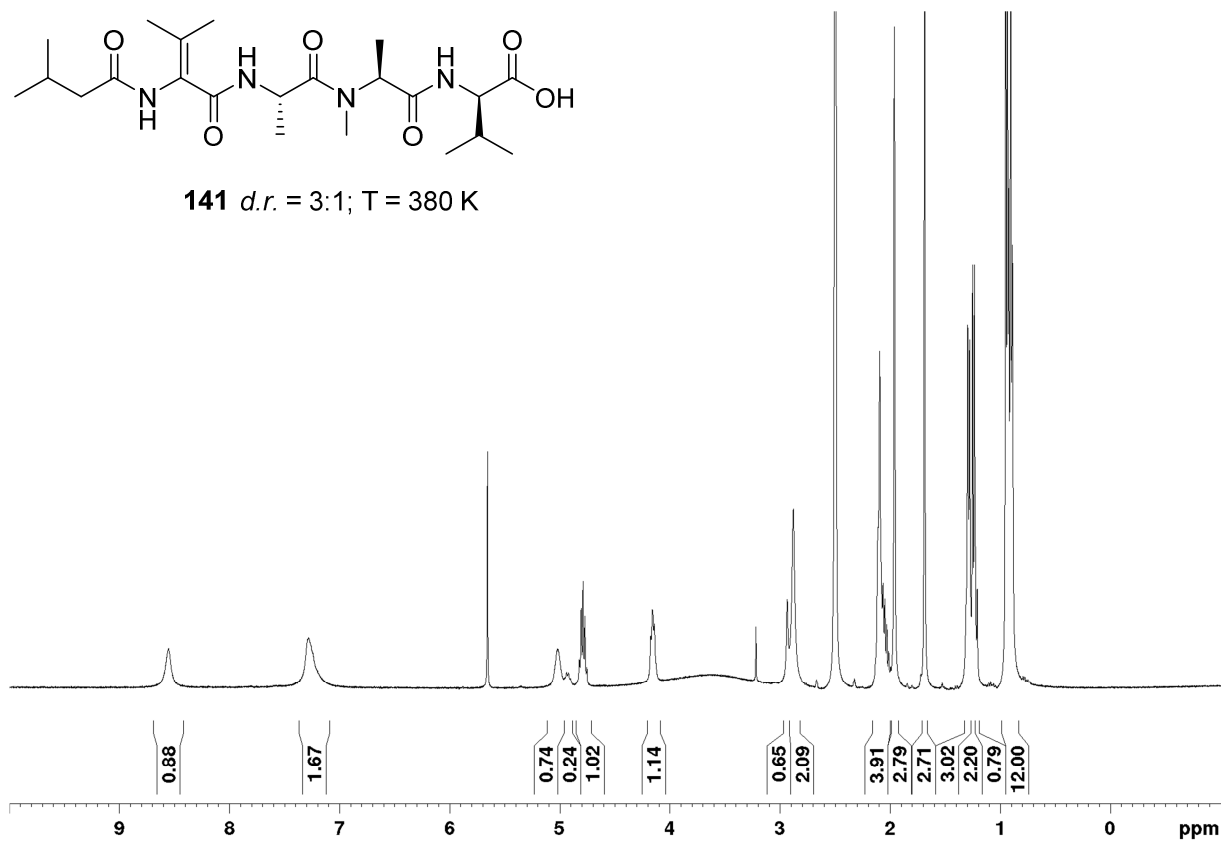


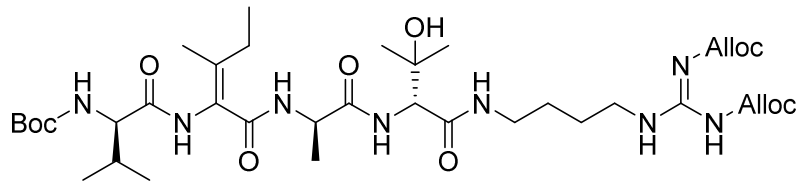


141 *d.r.* = 3:1; T = RT

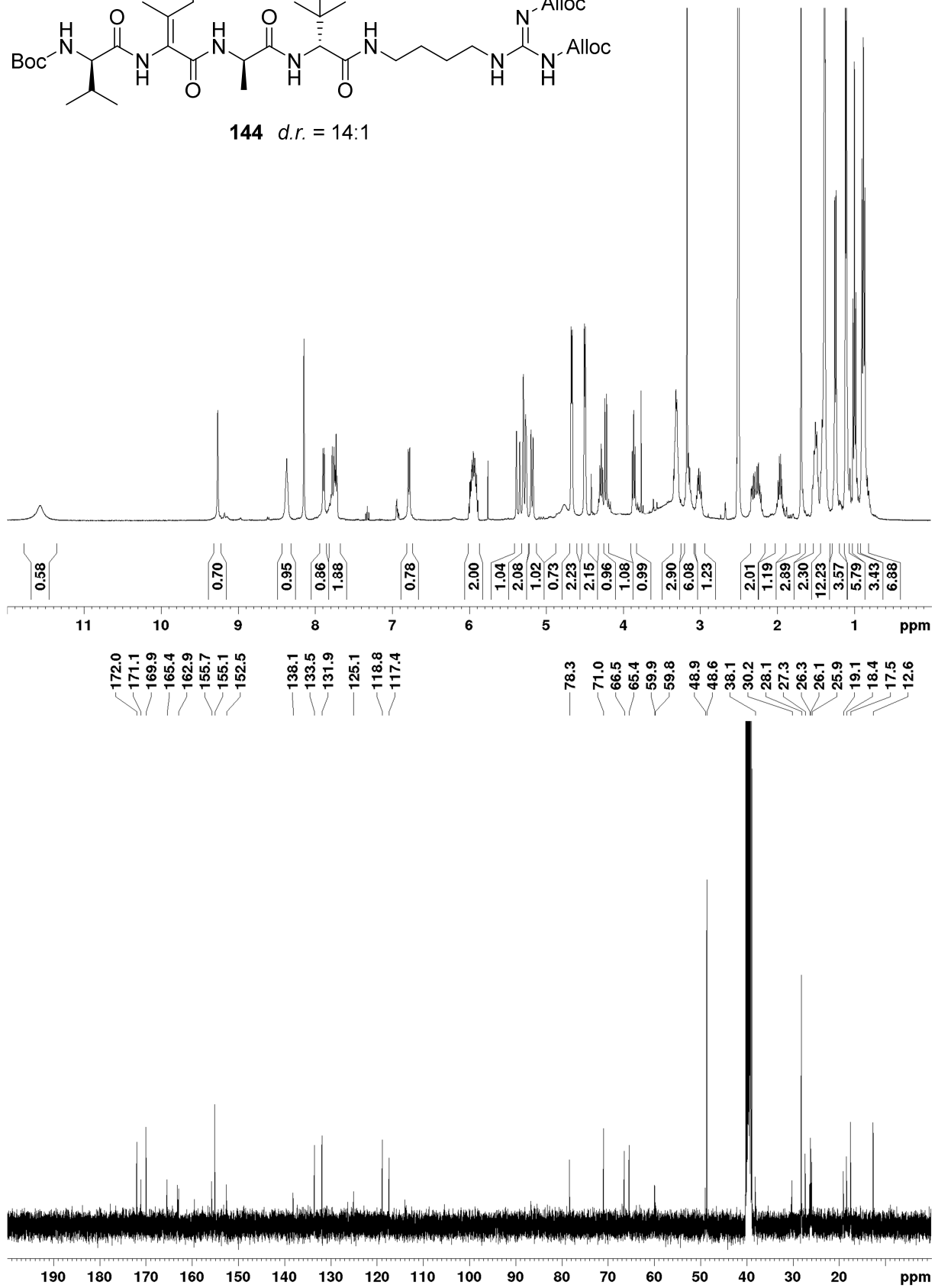


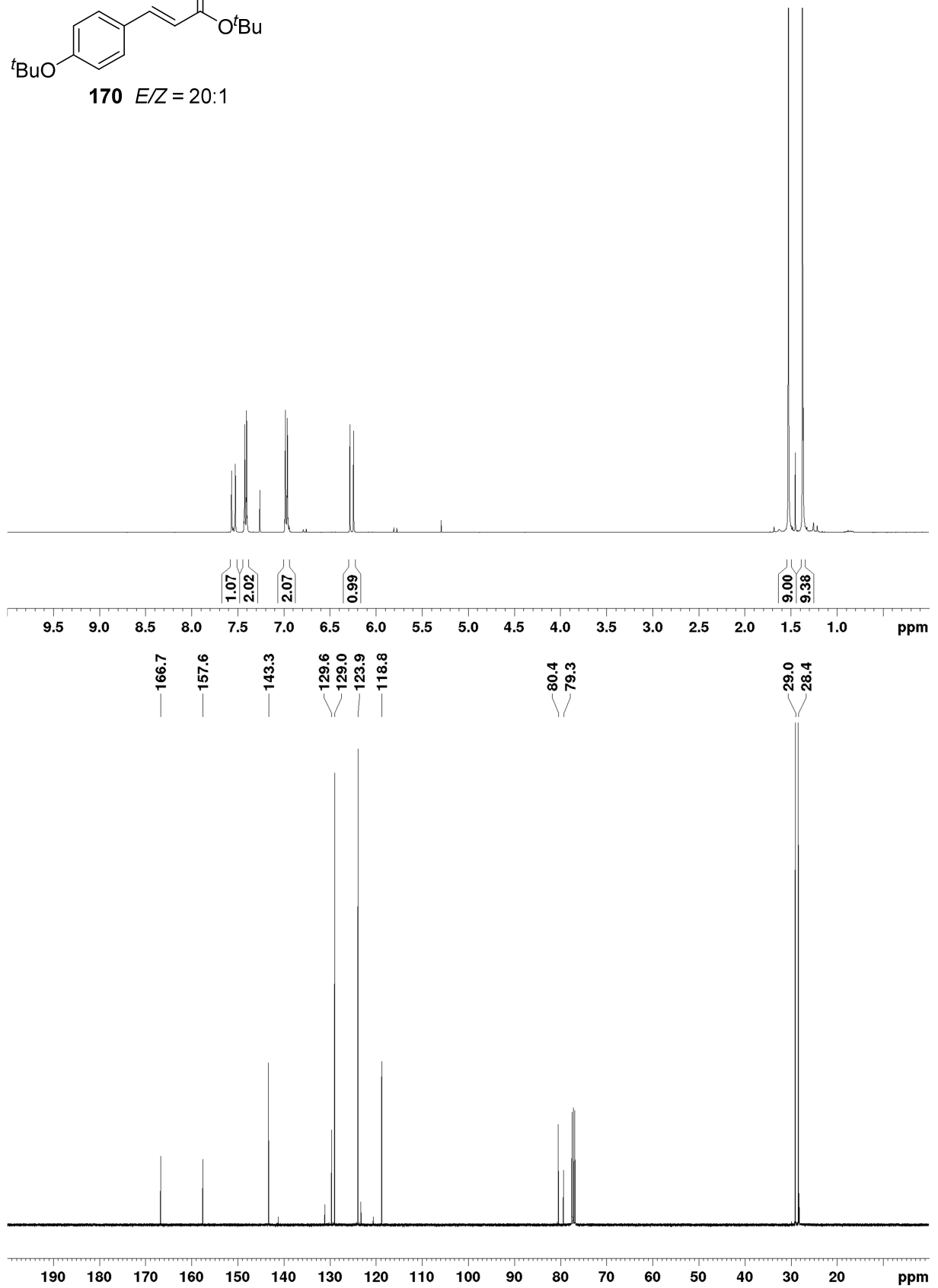
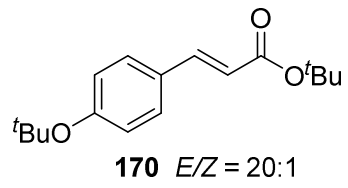
141 *d.r.* = 3:1; T = 380 K

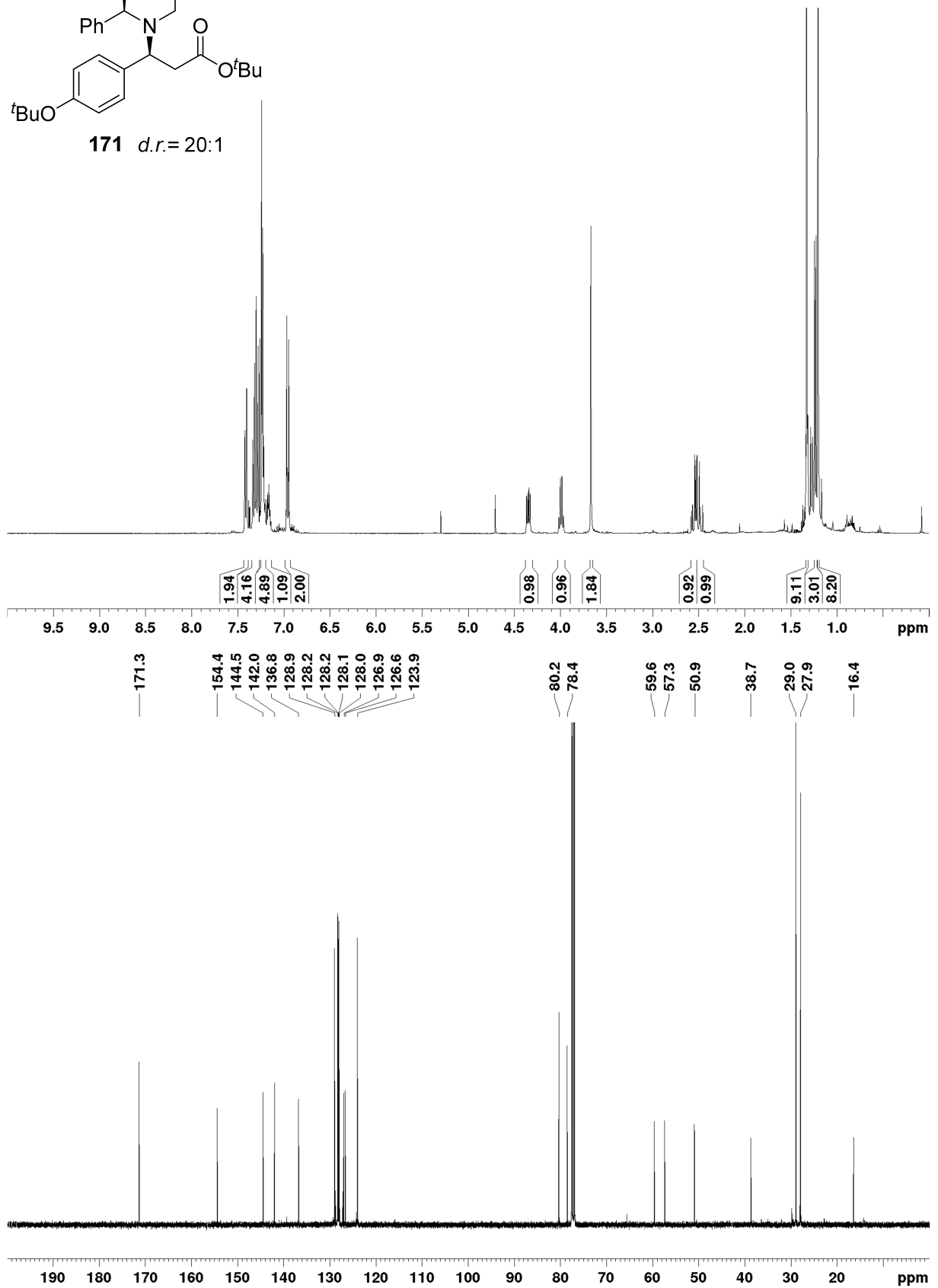
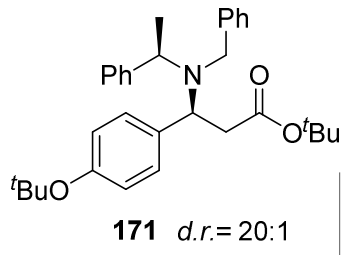


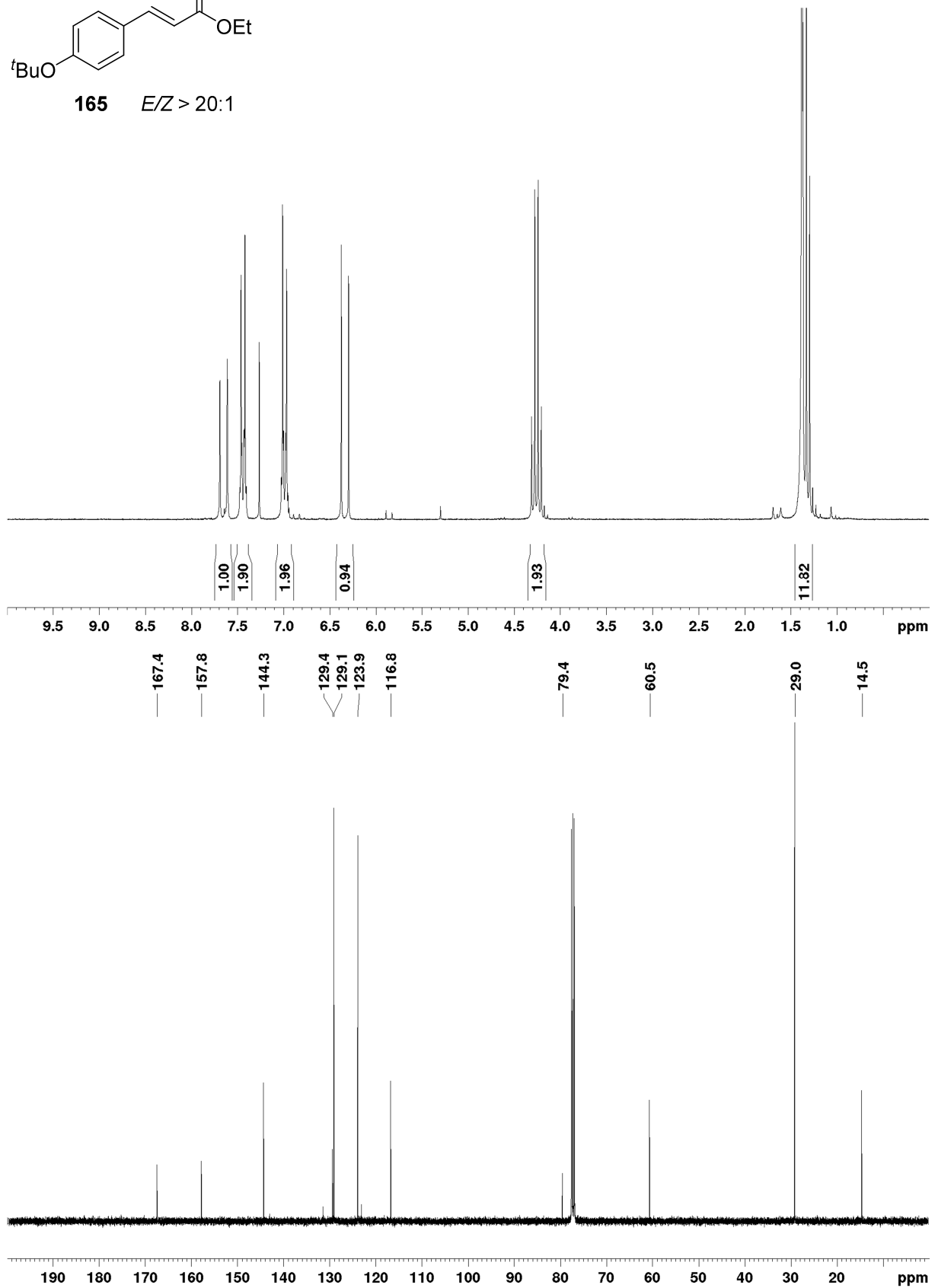
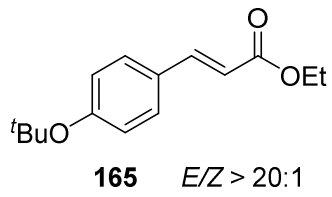


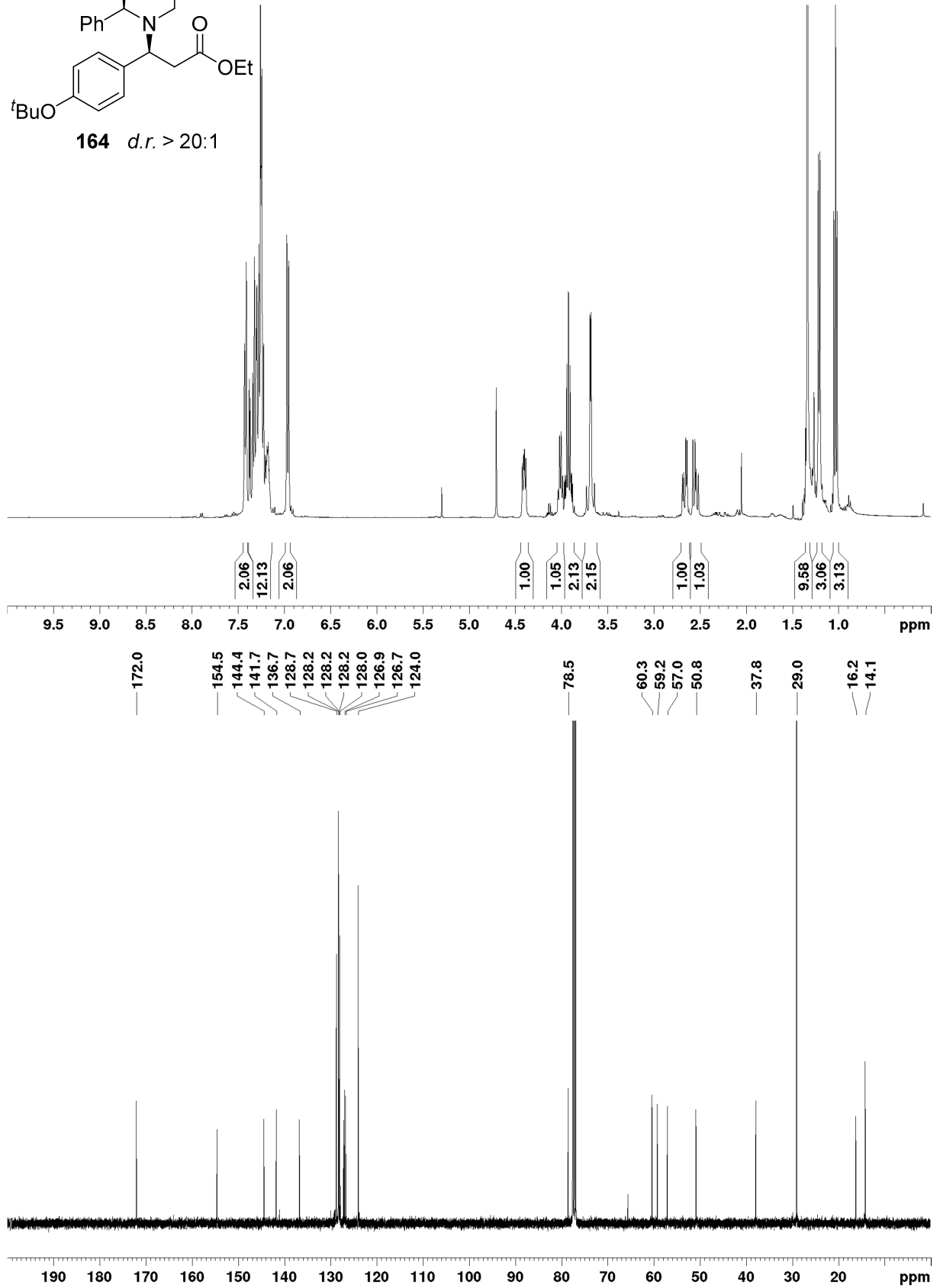
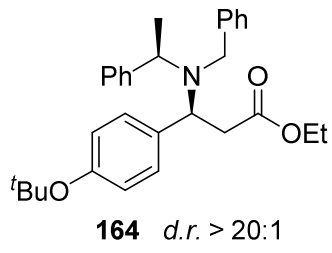
144 *d.r.* = 14:1

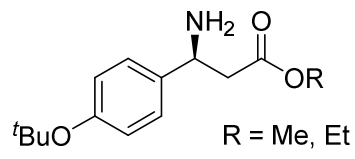




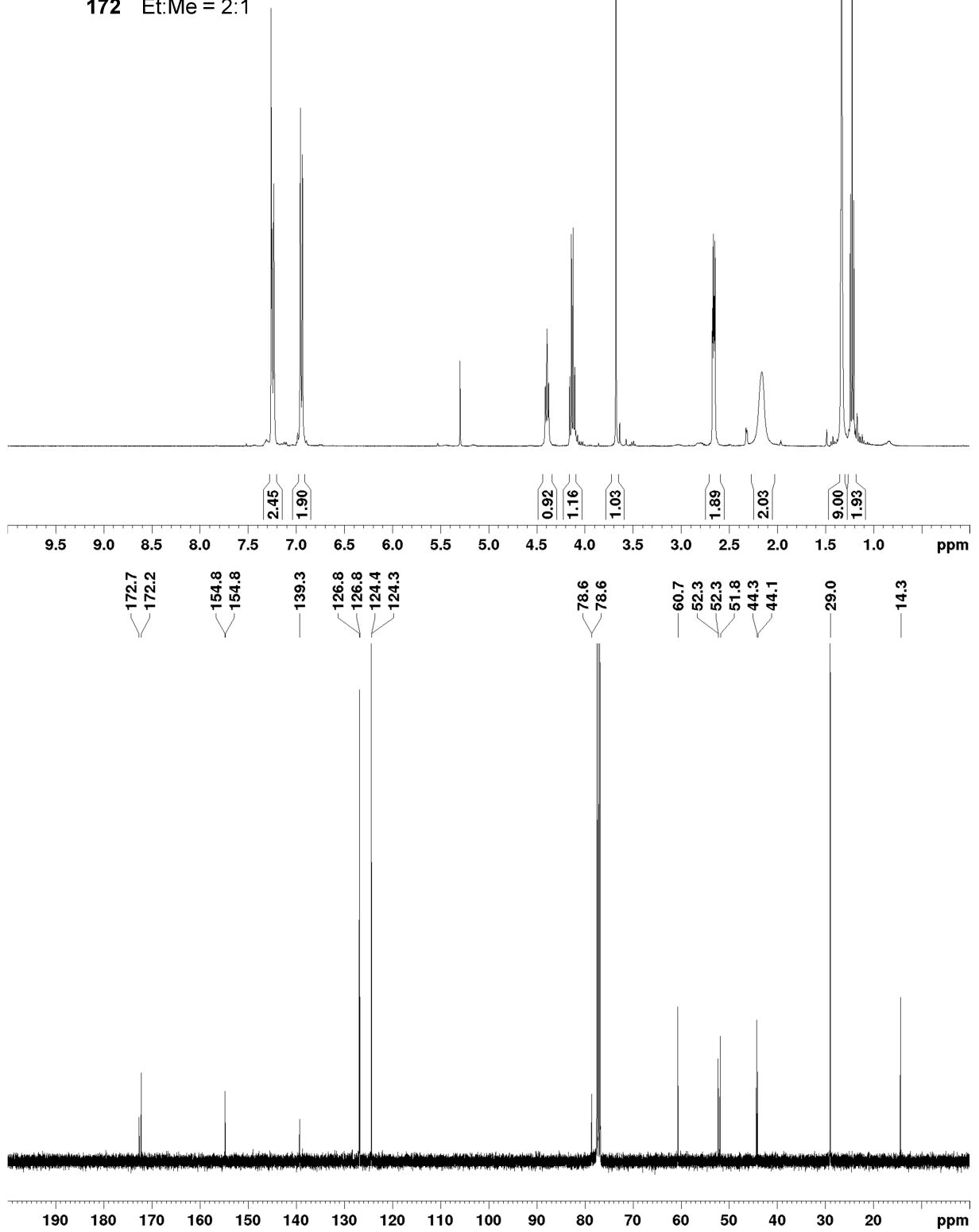


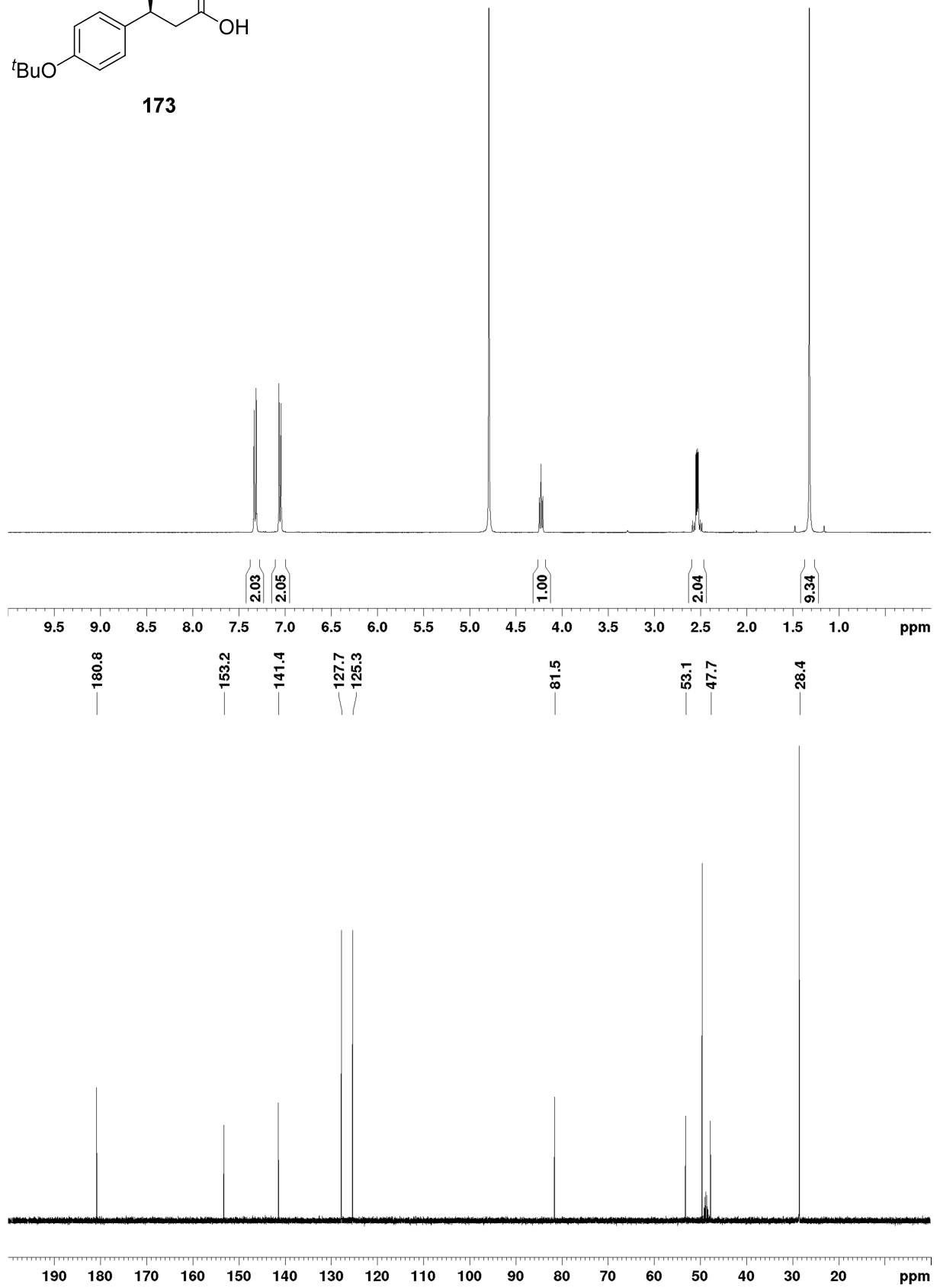
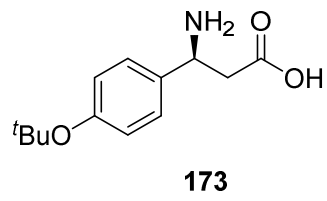


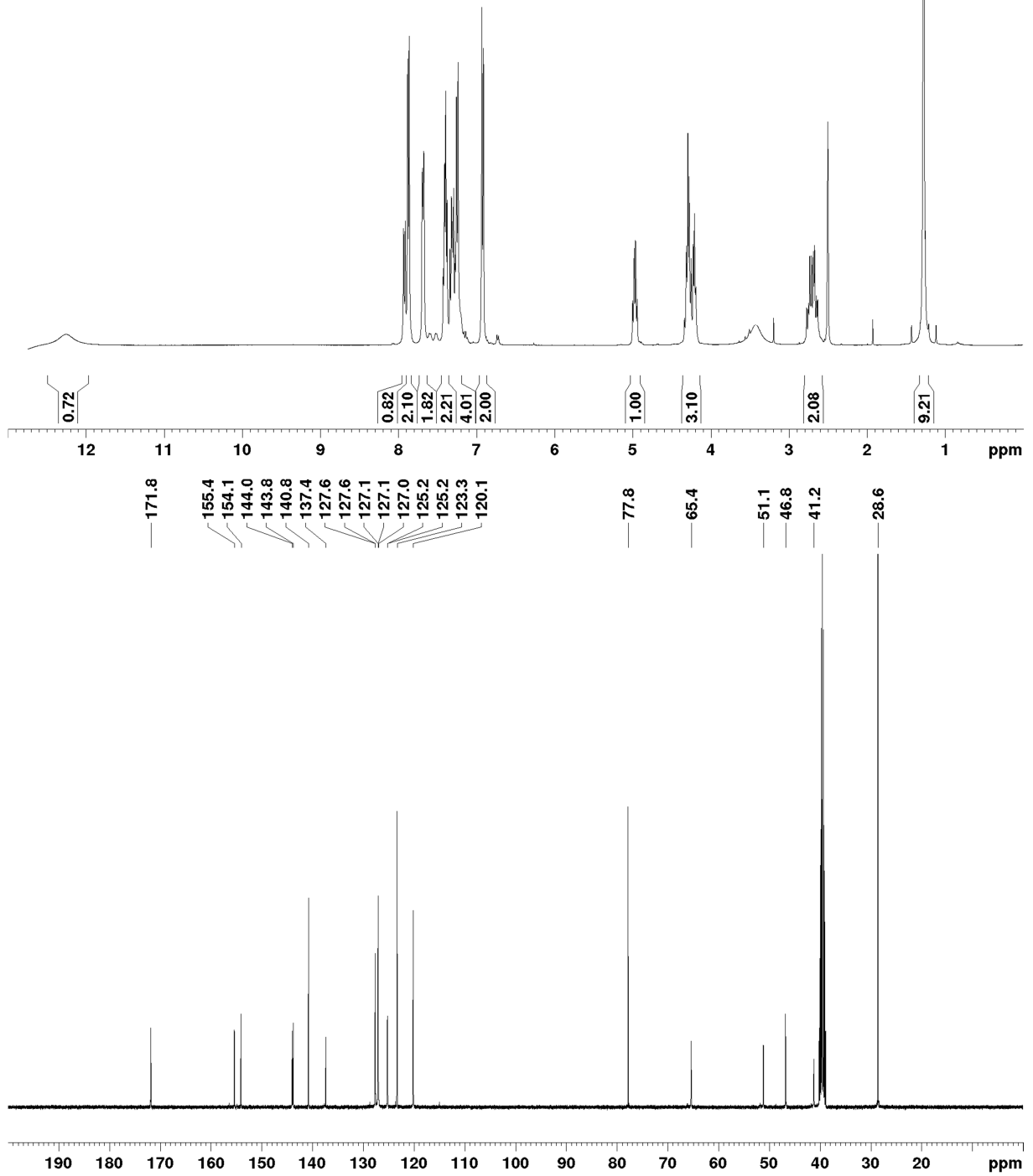
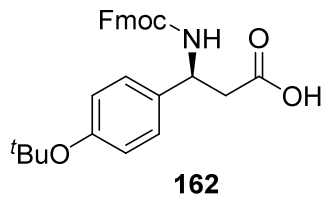


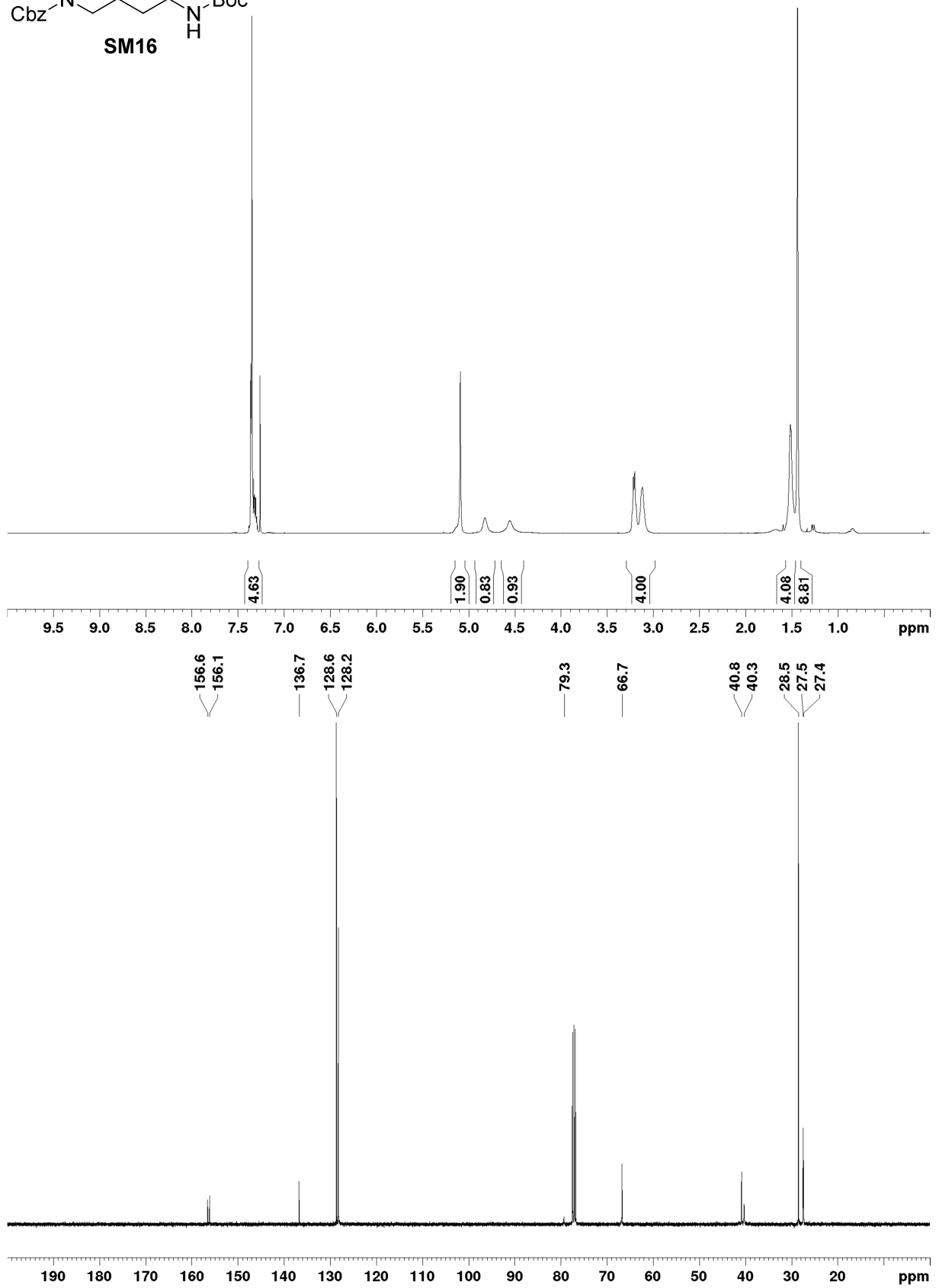
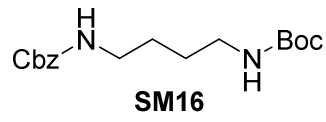


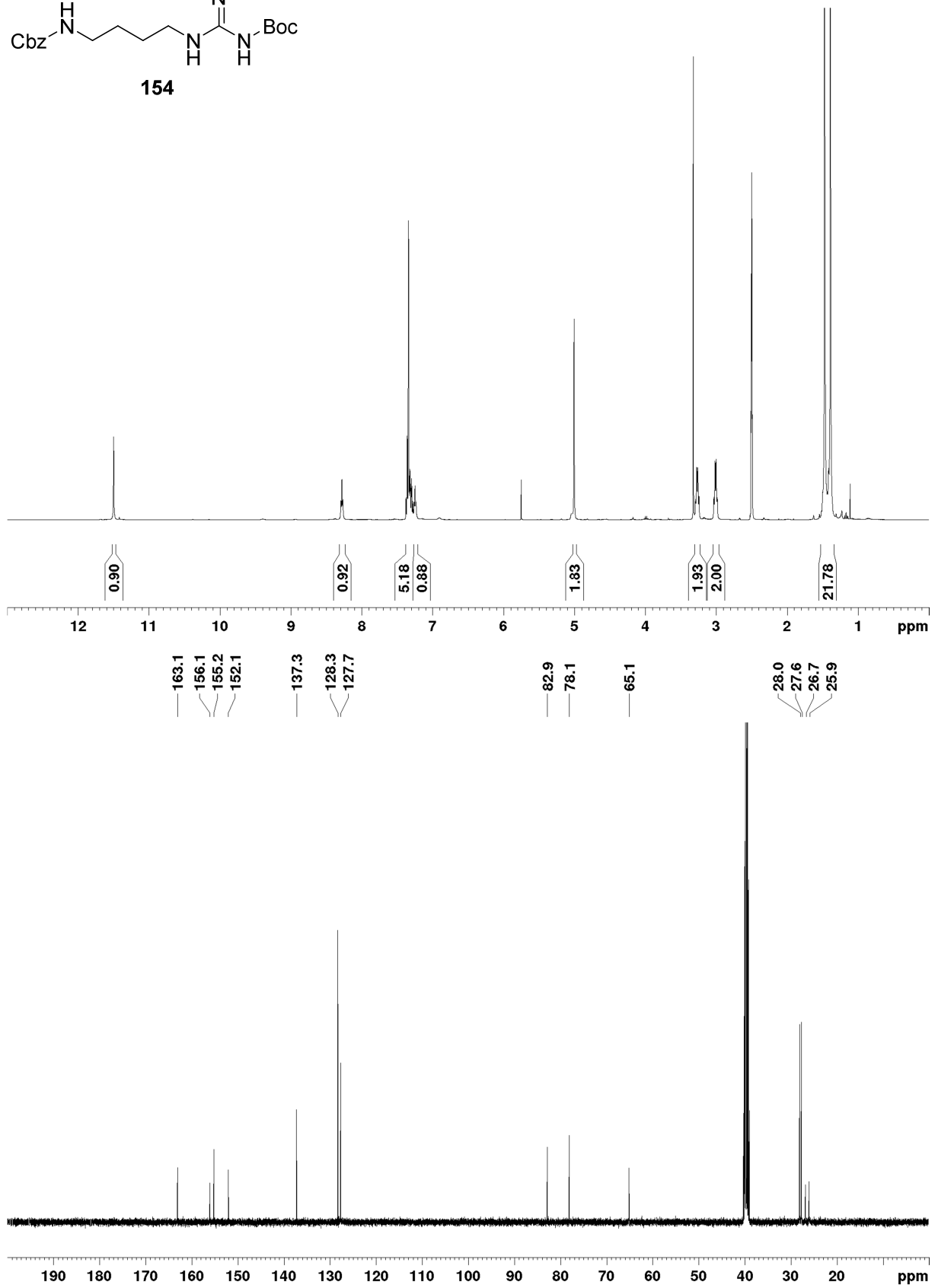
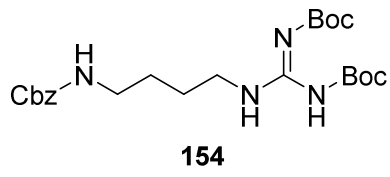
172 Et:Me = 2:1

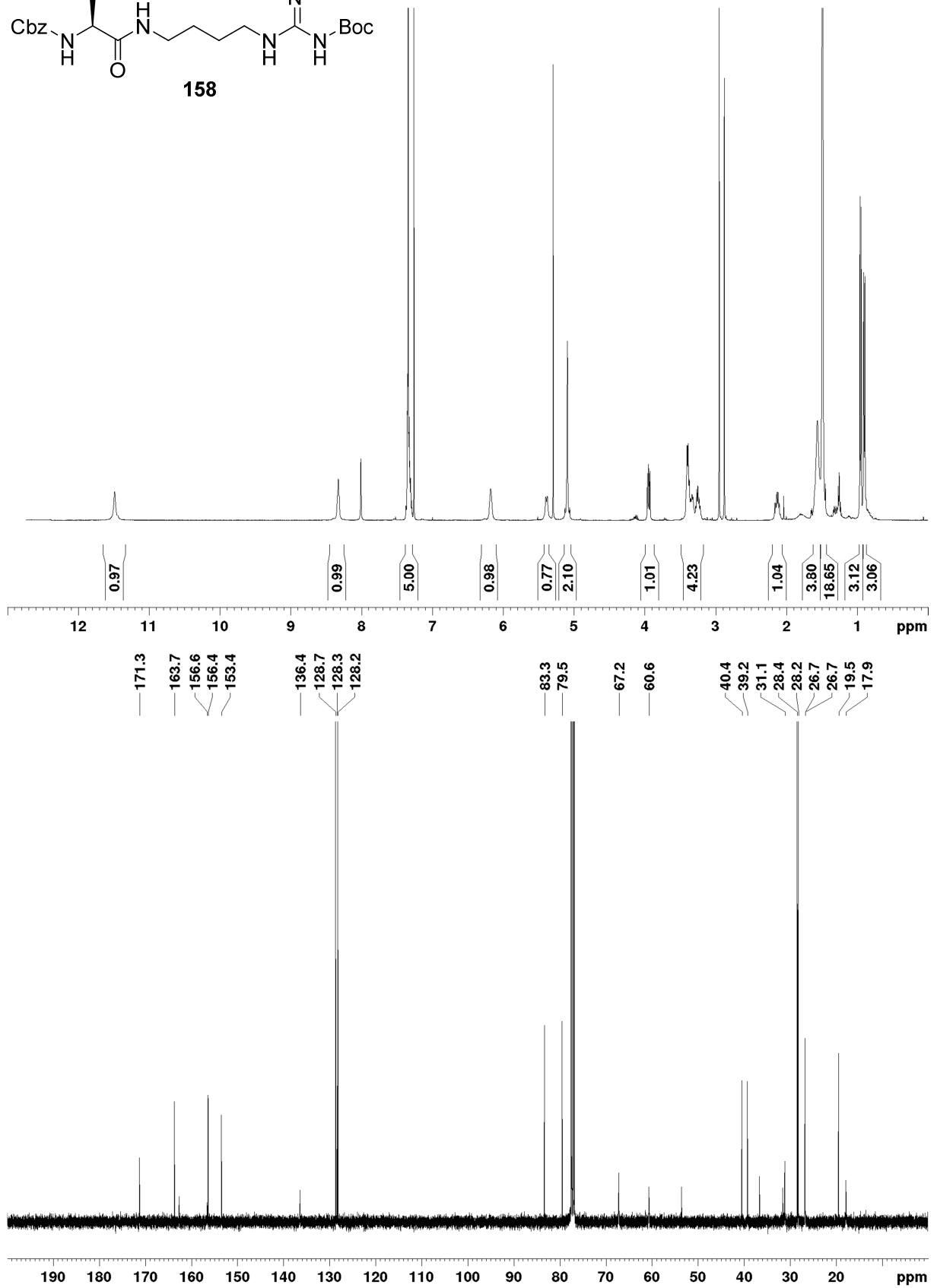
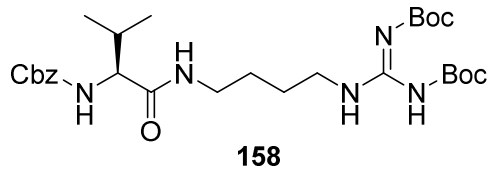


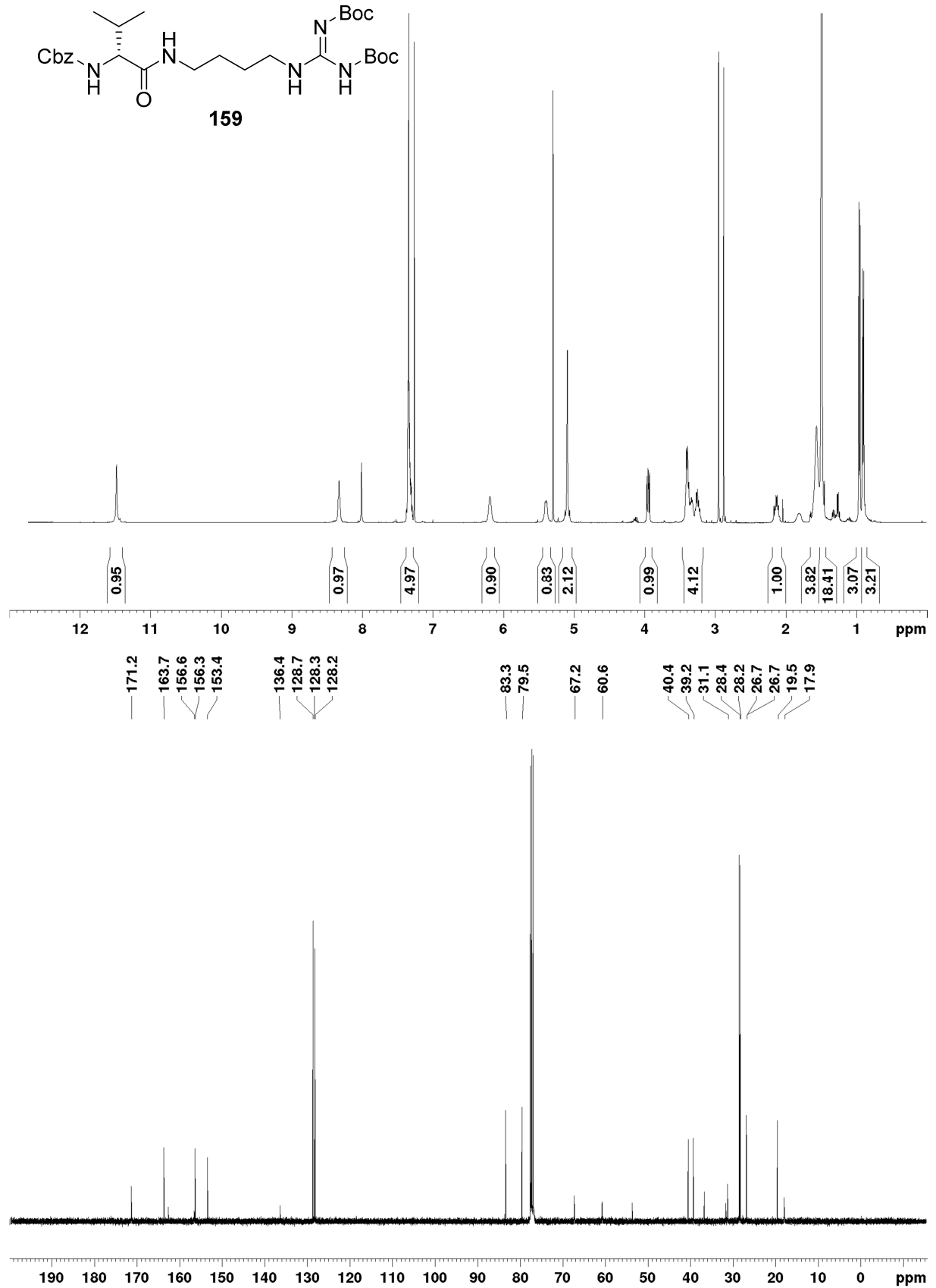


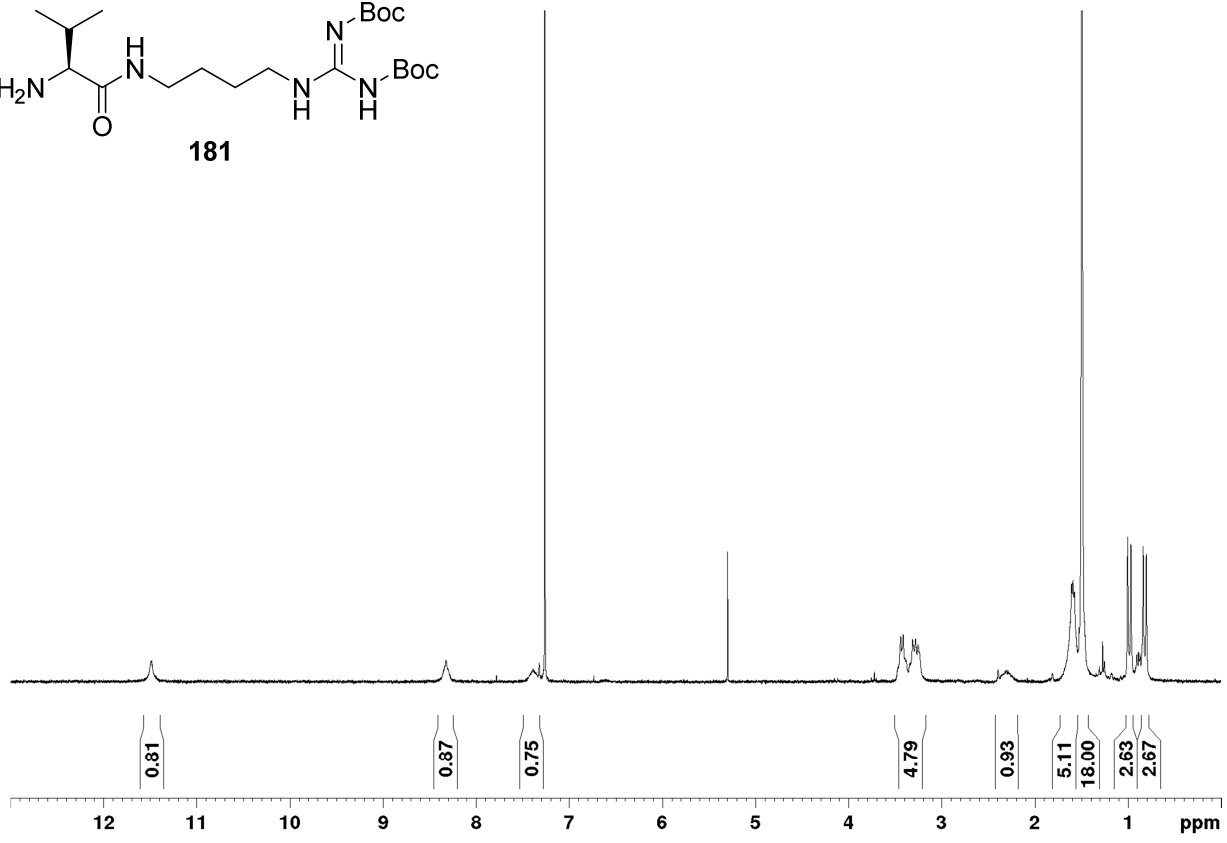
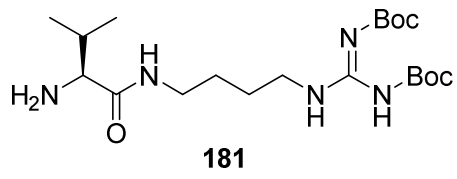












Danksagung

Am Ende eines jeden Lebensabschnitts sollte ein jeder einmal kurz inne halten und die Zeit Revue passieren lassen. Schnell wird so manch einem klar, dass jeder Erfolg durch die Hilfestellung, die Teamarbeit sowie tausender kleiner Gespräche von und mit vielen Menschen erst ermöglicht wird. Sehr wahrscheinlich werde ich dafür nicht allen danken können, auch wenn ich versuchen werde, alle zu erwähnen, die auf die eine oder andere Art Einfluss auf diese Arbeit genommen haben.

Zuallererst erwähne ich hier meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Andreas Kirschning, welcher mir dieses anspruchsvolle und fordernde Thema überreichte, mich während der gesamten Zeit unterstützte und immer wieder motivierte, wenn erneut eine Sackgasse in Sicht war.

Im selben Zuge danke ich auch Herrn Professor Dr. Markus Kalesse für die Übernahme des Korreferats und die vielen interessanten und aufschlussreichen Diskussionen während der zahlreichen Seminare.

Auch danke ich Herrn Prof. Dr. Thomas Scheper für die Übernahme des Drittprüfers sowie des Prüfungskommissionsvorsitzes.

Ich möchte mich auch bei Dr. Geralt Dräger bedanken, welcher durch seine soziale und fachliche Kompetenz so manches Problem umschiffen konnte oder auch kleinen in Not geratenen Doktoranten immer wieder bereitwillig Hilfe anbot. Seine magischen Technik-Hände sind eine Urgewalt, ohne welche das OCI alsbald funktionsunfähig wäre.

Ein besonderer Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Massespektrometrie-Service, sowie allen weiteren Mitarbeitern des NMR-Service. Sie sind der Unterbau eines jeden Synthetikers in diesem Hause und ihre Arbeit ist unschätzbar.

Auch den Mitarbeitern des Sekretariats, den ständigen Begleitern, Verfechtern und Mitstreitern eines jeden Projektes außerhalb des Labors, welche den armen Doktoranten durch aufrichtige, fleißige und wohlwollende Hände den bürokratischen Alltag in der OCI erleichtern, gilt mein Dank.

Als langjähriger Mitarbeiter im Labor 129 hatte ich das Vergnügen viele interessante Menschen kennenzulernen. Zur ersten Besetzung dieses kleinen Chaos-Bungalos gehörten zweifelsohne Franziska, Gerrit und Michael. Mit ihnen war der Arbeitsalltag nie langweilig und viele 10-Stunden-Versionen von einer Vielfalt von musikpreisverdächtigen Songs beleben selbst heute noch meine Hirnfalten. Zur zweiten Besetzung zählen Teresa, Viktoria und Danny, welche dem Chaos ein wenig Einhalt boten und wohlthuende Ruhe in das Labor 129 brachten.

Im diesem Sinne bedanke ich mich auch bei Jonas, Egor, Nazar, Nadine, Jessica, welche zusammen mit Franziska, Gerrit und Michael für sehr erholsame Pausen sorgten. Die mit ihnen gespielten Doppelkopf- und Durak-Runden waren legendär.

Als nächstes bedanke ich mich bei Tim, Teresa und Gerrit für die Geduld bei der Korrektur dieses Werkes.

Schließlich bedanke ich mich beim gesamten Arbeitskreis Kirschning, welcher auch bei wechselnder Größe und wechselnder Zusammensetzung immer fröhlich, ausgelassen und für die eine oder andere Feier zu haben war.

Am Ende bedanke ich mich bei meinen Schwestern Bianca und Melanie, welche mir über die Jahre immer wieder moralische Unterstützung haben zuteil werden lassen. Und selbstverständlich gilt mein Dank meinen Eltern Ute und Johannes, ohne deren Unterstützung und Geduld in all den Jahren diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Curriculum Vitae



Persönliche Daten

Name: Maik Siebke
Geburtsdatum –ort: 29.12.1987 in Rendsburg, Deutschland
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Akademischer Werdegang

- 11/2013-11/2020: **Promotionstudium** am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover unter Anleitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning
- Schwerpunkte: Peptid-Chemie, Festphasensynthesen
 - Dissertation: *Studien zur Totalsynthese von Myxovalargin und Darstellung einer Myxovalargin-Bibliothek*
- 10/2011-11/2013: **Master Wirk- und Naturstoffchemie** an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover
- Schwerpunkt: Organische Chemie, Naturstoffsynthese
 - Masterarbeit: *Synthesestudien zu Cystobactamid* unter Anleitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning
- 10/2008-09/2011: **Bachelor Chemie** an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover
- Schwerpunkte: Organische, Anorganische, Technische, Physikalische und Analytische Chemie
 - Bachelorarbeit: *Synthesestudien zum Ostfragment des Antibiotikums Thuggacin* unter Anleitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning
- 07/2007-03/2008: **Grundwehrdienst (W9)** im FmBtl 610 (Rendsburg/ Prenzlau)
- 06/2007: **Abitur** am Helene-Lange-Gymnasium Rendsburg

Konferenzbeiträge

- 09/2014 **Poster:** ORCHEM 2014, Weimar
06/2015 **Poster:** 16th Tetrahydron Symposium, Berlin
10/2016 **Vortrag:** Polish-German-Conference 2016, Warsaw

Wissenschaftliche Publikationen

1. T. Planke, M. Moreno, S. Hüttel, J. Fohrer, F. Gille, M. D. Norris, M. Siebke, L. Wang, R. Müller, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 1359-1363.