

Synthese von Siderophor-Antibiotika- Konjugaten als neuartige antibakterielle Wirkstoffe

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

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

genehmigte Dissertation

von

Lukas Pinkert, M. Sc.

2021

Schlagwörter: Siderophore, Konjugate, Antibiotika, MECAM.

Keywords: siderophores, conjugates, antibiotics, MECAM.

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Mark Brönstrup

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

Tag der Promotion: 17.12.2020

Zusammenfassung

Das anhaltende Auftreten multiresistenter Krankheitserreger stellt die Wissenschaft vor große Herausforderungen. Vor allem gramnegative Bakterien sind hierbei ein bedeutendes Problem, da deren äußere Zellmembran das Eindringen von Antibiotika erschwert.

Eine erfolgversprechende Methode zur Überwindung dieser im Vergleich mit grampositiven Bakterien zusätzlichen Barriere stellt die Verwendung von Siderophoren dar. Diese von Bakterien produzierten Moleküle können das essentielle Spurenelement Eisen extrazellulär in ionischer Form komplexieren und werden anschließend aktiv durch die bakteriellen Membranen transportiert. Durch die Kopplung von Antibiotika an Siderophore kann die äußere Membran als Hindernis überwunden und der Transport potenter Antibiotika zum intrazellulären Target gewährleistet werden.

Im Zuge dieser Arbeit wurden verschiedene neuartige Siderophore durch computerchemische Methoden charakterisiert und daraufhin synthetisiert. Die dargestellten Siderophore wurden bezüglich Energetik und Struktur erforscht und durch chemische und biologische Assays auf ihre Eignung als Eisentransporter in *E. coli* hin überprüft.

Mit dem hierdurch als geeignetsten künstlichen Siderophor ausgewählten MECAM wurden fünf Wirkstoffkonjugate mit Aminopenicillinen synthetisiert. Diese zeigten sich sowohl gegen verschiedene Stämme von *E. coli* als auch gegen klinisch relevante, multiresistente Bakterienarten den jeweiligen freien Antibiotika überlegen. So inhibierte das MECAM-Ampicillin-Konjugat **185** *E. coli*, *S. aureus*, *A. baumannii* und *E. faecium* bereits bei nanomolaren Konzentrationen. Durch die Konjugation mit MECAM konnte zudem die antibiotische Aktivität des nur gegen grampositive Keime wirksamen Antibiotikums Daptomycin auf den gramnegativen Keim *A. baumannii* erweitert werden.

Zuletzt wurden je zwei Konjugate von MECAM und Aminopenicillinen mit Benzimidazol-salzen erzeugt, die Vorläufermoleküle TrxR-hemmender NHC-Gold(I)-Komplexe darstellen. Durch die Konjugation an Siderophore bzw. Antibiotika mit abweichendem Wirkmechanismus sollte die cytotoxische Wirkung dieser Goldkomplexe gemindert werden. Die in dieser Arbeit gewonnen Erkenntnisse unterstreichen die gewichtige Rolle von Siderophor-Wirkstoff-Konjugaten im Kampf gegen Antibiotikaresistenzen und ermutigen zur Nutzung der hier etablierten Siderophorplattform MECAM in zukünftigen Studien.

Abstract

The continuing occurrence of multiresistant pathogens presents a big challenge to science. Especially gram-negative bacteria pose a significant problem since their outer cell membrane, which gram-positive bacteria lack, hampers the translocation of antibiotics. A promising strategy to overcome this additional barrier can be the usage of siderophores. These small molecules are produced by bacteria and are able to extracellularly complex the essential trace element iron in its ferric form. Subsequently, they are actively transported through bacterial membranes. By coupling siderophores to antibiotics, the outer membrane obstacle can be surmounted and the transport of potent antibiotics towards their intracellular target can be ensured.

This thesis covers the characterization of various novel siderophores by using methods of computational chemistry as well as their ensuing syntheses. The created siderophores were studied in terms of their energetics and structures. Chemical and biological assays were used in order to validate their aptitude for delivering iron into *E. coli*.

The most suitable siderophore MECAM was used to create five antibiotic conjugates with amonipenicillines, which proved to be superior to the respective free antibiotics when used against different strains of *E. coli* or against clinically relevant, multiresistant pathogens. MECAM-ampicillin conjugate **185** inhibited growth of *E. coli*, *S. aureus*, *A. baumannii* und *E. faecium* at nanomolar concentrations. Additionally, the antibiotic activity of Daptomycin, which is only active against gram-positive bacteria, could be expanded to gram-negative *A. baumannii* via conjugation with MECAM.

Ionic benzimidazole compounds represent precursors of NHC-gold(I)-complexes, which inhibit TrxR. Two conjugates of each MECAM and aminopenicillins with those compounds were synthesized. Conjugation with siderophores and antibiotics with a differing mode of action, respectively, was expected to decrease the cytotoxicity of the gold(I)-complexes.

The insights gained from this thesis underline the significant role of siderophore-drug conjugates for the fight against antibiotic resistances and encourage the usage of the siderophore platform MECAM, which was established herein, in future studies.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Abstract	II
1 Einleitung.....	1
1.1 Gegenwärtiger Mangel an wirksamen Antibiotika	1
1.2 Antibiotikaresistente Bakterien.....	3
1.3 Mechanismen bakterieller Resistenzbildung gegenüber Antibiotika	7
1.4 Nutzung des aktiven Eisentransports gramnegativer Bakterien.....	13
1.4.1 Eisentransport in gramnegativen Bakterien.....	13
1.4.2 Siderophore.....	15
1.4.3 Siderophor-Antibiotika-Konjugate.....	20
1.4.4 Enterobactin	26
1.4.5 MECAM.....	31
1.5 NHC-Goldkomplexe als potentielle Antibiotika in Siderophorkonjugaten	32
1.6 Spektroskopische Methoden zur detaillierten Analyse von Siderophoren.....	34
1.6.1 Allgemeine Vorbermerkungen zur Untersuchung von Siderophoren.....	34
1.6.2 Theoretische Grundlagen zur Spinkonfiguration von Eisen(III)-Komplexen	34
1.6.3 Theoretische Grundlagen der Mößbauer-Spektroskopie.....	35
1.6.4 Theoretische Grundlagen der Elektronenspinresonanz (ESR).....	38
2 Zielsetzung	39
3 Ergebnisse und Diskussion	43
3.1 Synthese künstlicher Siderophore	43
3.1.1 MECAM und dessen Derivate	43

3.1.2	Abstandsvergrößerung zwischen aromatischem Kern	47
	und Catecholamiden	47
3.1.3	Synthese von 1,2,3-Trisubstituierten Siderophoren,	54
	abgeleitet von MECAM	54
3.1.4	Erhöhung der Rigidität eines künstlichen Siderophors	56
3.1.5	Synthese von Siderophoren mit Adamantan als Zentralmotiv	58
3.1.6	Synthesebemühungen um einen Cyclopropan-Siderophor	60
3.1.6.1	Vorausgehende Überlegungen und Syntheseplanung	60
3.1.6.2	Aufbau des Cyclopropan-Motivs	61
3.1.6.3	Modifikationen des synthetisierten Cyclopropans	65
3.1.7	Übersicht der synthetisierten Siderophore	74
3.2	Evaluierung der synthetisierten Catechole	77
3.2.1	Berechnungen mittels Dichtefunktionaltheorie	77
3.2.2	Auf computerchemischen Rechnungen basierende Untersuchungen	80
3.2.2.1	Computerchemische Untersuchungen des Spinzustands	80
3.2.2.2	Synthesen der Verbindungen 158, 162 und derer Eisen(III)-Komplexe	84
3.2.2.3	Vermessungen durch Mößbauer-Spektroskopie	85
3.2.2.4	Vermessungen durch Elektronenspinresonanz	89
3.2.3	Das Eisen(III)-CAS-Assay	92
3.2.4	Assay zur Wiederherstellung des Wachstums	94
3.2.5	Quantifizierung der Siderophoraufnahme mittels Zellfraktionierung	101
3.3	Synthese und Evaluierung von Siderophor-Antibiotika-Konjugaten	104
3.3.1	Darstellung von Aminopenicillinkonjugaten	104
3.3.2	Darstellung eines Daptomycinkonjugats	107
3.3.3	Studien zum Aufbau von Konjugaten mit NHC-Gold(I)-Komplexen	108

3.3.4	Untersuchung der antibiotischen Wirkung synthetisierter Konjugate.....	112
3.3.4.1	Wirksamkeit gegenüber <i>Escherichia coli</i>	112
3.3.4.2	Einsatz gegen multiresistente Keime des ESKAPE-Panels.....	115
4	Zusammenfassung und Ausblick.....	119
5	Experimenteller Teil.....	124
5.1	Biologie	124
5.1.1	Allgemeine Methoden.....	124
5.1.2	Durchführung des Assays zur Wiederherstellung des Wachstums	124
5.1.3	Durchführung des Zellfraktionierungsassays.....	125
5.1.4	Durchführung des Assays zur Bestimmung der minimalen	126
	Hemmkonzentration gegen <i>Escherichia coli</i>	126
5.1.5	Durchführung des Assays zur Bestimmung der minimalen	127
	Hemmkonzentration gegen das ESKAPE-Panel.....	127
5.2	Chemie	128
5.2.1	Allgemeine Methoden.....	128
5.2.2.	Chromatografische Methoden	129
5.2.2.1	Dünnschichtchromatographie	129
5.2.2.2	Säulenchromatographie.....	129
5.2.2.3	Automatische Säulenchromatographie	129
5.2.2.4	HPLC	130
5.2.3	Instrumentelle Analytik	130
5.2.3.1	Charakterisierung der synthetisierten Verbindungen	130
5.2.3.2	NMR-Spektroskopie.....	130
5.2.3.3	Massenspektrometrie.....	131
5.2.3.4	Mößbauerspektroskopie	131

5.2.3.5 ESR-Spektroskopie	132
5.2.4 DFT-Kalkulationen.....	132
5.2.5 Durchführung des Eisen(III)-Chromazurol S-Assays.....	133
5.2.6 Mikrowellenbestrahlung.....	133
5.2.7 Chemische Synthesen	134
6 Abkürzungsverzeichnis.....	261
7 Literaturverzeichnis	264
8 Danksagung	272
9 Lebenslauf.....	274
10 Publikationsliste.....	276

1 Einleitung

1.1 Gegenwärtiger Mangel an wirksamen Antibiotika

Durch Bakterien verursachte Krankheiten haben die Menschheit im Verlauf ihrer Entwicklung bis hin zu modernen Hochkulturen und in die Gegenwart begleitet.^[1] So wurden in jüngerer Vergangenheit Bakterien der Art *Yersinia pestis* mit einem Alter von ca. 3800 Jahren gefunden, die den Ursprung der Beulenpest auf die Bronzezeit datieren.^[2] Erst die neuzeitliche Entdeckung von Bakterien und ihrer Rolle als Krankheitserreger ermöglichte die Entwicklung von Wirkstoffen, die speziell gegen jene eingesetzt werden können.^[3] Die erste Beschreibung einer dieser als Antibiotika bekannten Verbindungen stammt von Bartolomeo Gosio. In 1893 isolierte er Mycophenolsäure (**1**, Abb. 1a) aus dem Pinselschimmel *Penicillium brevicompactum*, den er für *Penicillium glaucum* gehalten hatte, und zeigte deren Wirksamkeit gegen den Milzbranderreger *Bacillus anthracis*.^[4] Das erste gezielt von Menschen entwickelte Antibiotikum war das im Jahr 1910 für die Behandlung von Syphilis zugelassene Arsphenamin (**2**, Abb. 1b), das unter dem Markennamen *Salvarsan* vertrieben wurde und von Alfred Berthel, Paul Ehrlich und Sahachiro Hata entwickelt worden war.^[5] Nach Alexander Flemings (Wieder-)Entdeckung der Penicilline (**3**, Abb. 1c) und der Entwicklung des ersten Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamidochrysoidin (**4**, Abb. 1d) folgte in den 1940er, 1950er und 1960er Jahren das „goldene Zeitalter der Antibiotika“.^[6] Aus diesem ging eine Vielzahl an antibakteriellen Medikamenten hervor, deren Verwendung bis heute andauert.^[3, 7-9]

In den folgenden Jahrzehnten wurden jedoch kaum noch neuartigen Antibiotika entdeckt, und die Erforschung neuer Wirkstoffe beschränkte sich auf die Modifikation bereits etablierter antibiotischer Verbindungen. Die erforderlichen Anstrengungen, um strukturelle Innovationen zu erreichen und damit neue Klassen von Wirkstoffmolekülen zu generieren, wurden nicht unternommen, da die erfolgreiche Bekämpfung bakterieller Infektionen mit bereits bekannten Antibiotika und deren Modifikation für die Zukunft garantiert schien.^[10] Die meisten Pharmaunternehmen stiegen außerdem nach und nach aufgrund zu geringer Ertragsaussichten aus der Antibiotikaforschung aus. Im Gegensatz

zu Wirkstoffen, die nach kurzzeitiger Anwendung die Krankheit beenden können, sind Medikamente gegen chronische Krankheiten (z.B. Diabetes, Bluthochdruck, Rheuma, Depression etc.) für die Hersteller finanziell deutlich attraktiver, da diese lebenslang eingenommen werden müssen.^[11-12]

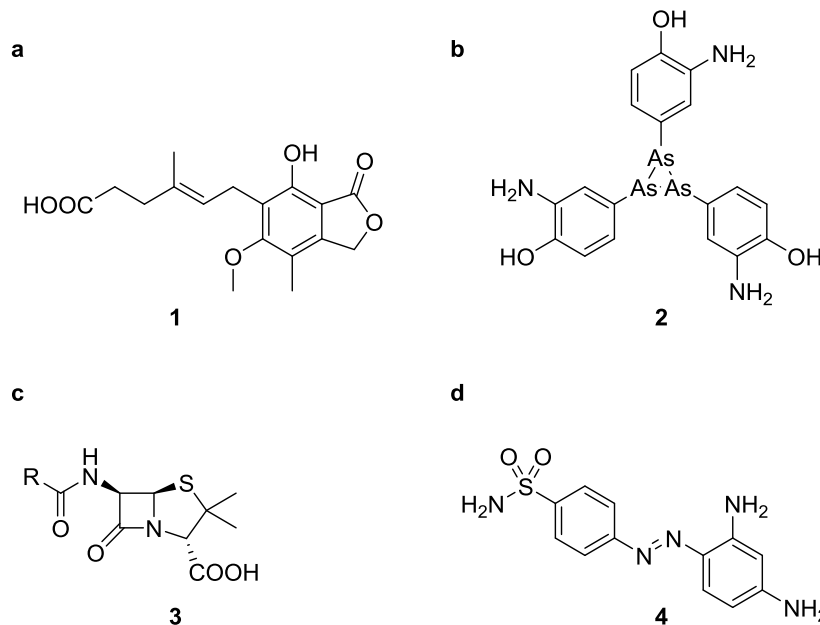


Abbildung 1: Meilensteine der frühen Antibiotikaforschung. a) Mycophenolsäure. b) Arsphenamin, trimere Struktur. c) Grundstruktur der Penicilline. d) Sulfamidochrysoidin.

Erschwert wird die Neuentwicklung von Antibiotika zusätzlich, da die Translation einer erfolgversprechenden Verbindung aus präklinischen Studien hin zum medizinischen Einsatz nur selten gelingt. Zu häufig scheiden potentielle Wirkstoffe, die *in vitro* oder sogar in Tierversuchen gute Resultate liefern, spätestens in Versuchsreihen mit menschlichen Probanden aus, da z.B. ihre Bioverfügbarkeiten zu niedrig sind oder sie ihre Targets nicht erreichen.^[13-14] Die mangelnde Vernetzung der in der Entwicklungspipeline beteiligten Forschungsgruppen und -institutionen wurde ebenfalls als Hemmnis der erfolgreichen Antibiotikaentwicklung ausgemacht.^[15] Um diesen Problemen entgegen zu wirken, wird die Zusammenarbeit von akademischer und industrieller Forschung zusehends verstärkt. Zusätzlich werden grundlegende Forschungsdaten transparenter geteilt und neue Finanzierungsmodelle entwickelt.^[15-17] Auch infolgedessen wurden im neuen Jahrtausend wieder einige neue Klassen von

Antibiotika als Medikamente zugelassen. Hierzu zählen die Oxazolidinone und die Lipopeptide mit ihren ersten Vertretern Linezolid (**5**, Abb. 2a) und Daptomycin (**6**, Abb. 2b).^[18-19] Trotz solcher Erfolge bleibt die Antibiotikakrise jedoch ein anhaltendes Problem der Gegenwart und erfordert weiterhin intensive Forschung, um der Medizin auch in Zukunft die erfolgreiche Behandlung bakterieller Infektionen zu ermöglichen.

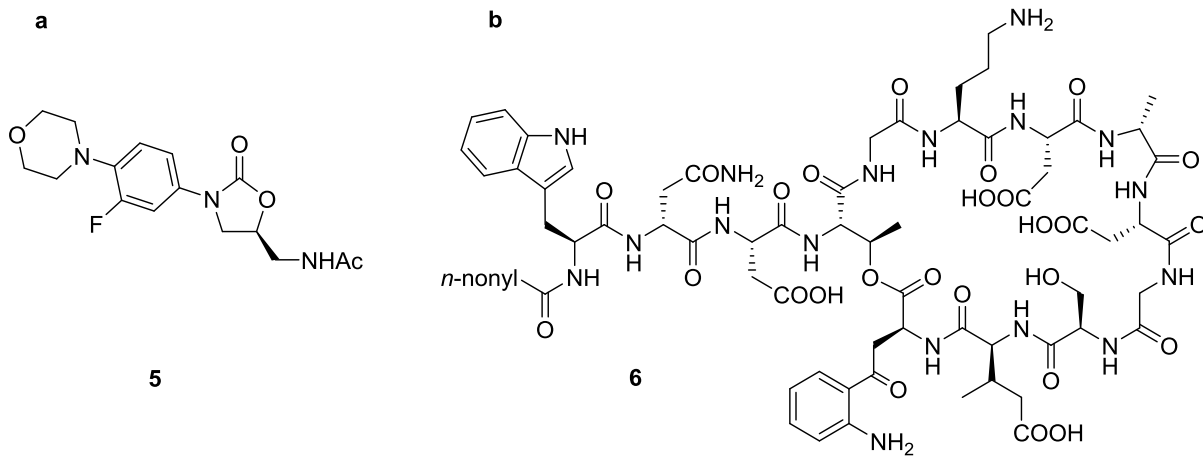


Abbildung 2: Prototypische Vertreter der Oxazolidinon- sowie Lipopeptid-Antibiotika.
a) Linezolid. b) Daptomycin.

Behielten Antibiotika ihre Wirksamkeit auf Dauer gegenüber pathogenen Krankheitserregern bei, so wäre eine niedrige Anzahl neu und weiterentwickelter Wirkstoffe vollkommen ausreichend, um sämtliche bakterielle Infektionen nachhaltig zu behandeln. Diese Voraussetzung ist jedoch nicht gegeben.

1.2 Antibiotikaresistente Bakterien

Eine der größten gegenwärtigen Herausforderungen für die Medizin liegt in der Konfrontation mit zunehmender Antibiotikaresistenz. Werden Bakterien mit Antibiotika in Kontakt gebracht, so können sich unter dem Selektionsdruck Resistenzen gegen den Wirkstoff entwickeln. Die Entwicklung bakterieller Resistenzen tritt in der Natur seit jeher auf, mehrere Faktoren haben das Auftreten solcher Resistenzen in den letzten Jahrzehnten jedoch zu einer weltweiten Krise anwachsen lassen.^[20-21] Abb. 3 stellt den

zeitlichen Verlauf auftretender Antibiotikaresistenzen dar. Für alle gängigen Klassen antibiotischer Wirkstoffe konnten resistente Stämme isoliert werden, häufig schon wenige Jahre nach ihrer Zulassung.^[12]

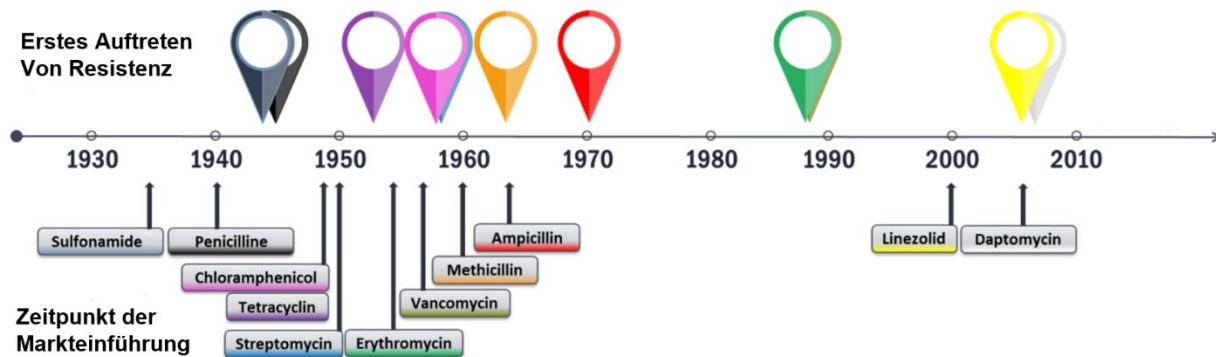


Abbildung 3: Zeitliche Übersicht bakterieller Resistenzbildung gegenüber verschiedenen Antibiotikaklassen nach deren Markteinführung. Übernommen von^[22]

Die Ursachen für diese Problematik sind vielfältig. Einerseits wurden Antibiotika in der Vergangenheit zu sorglos und übermäßig verschrieben, zum Teil sogar im Falle viraler Erkrankungen.^[23] Breitbandantibiotika wurden gegenüber Wirkstoffen mit engeren Wirkspektren bevorzugt, da sie eine erfolgreiche Behandlung vereinfachen und finanziell profitabler sind. Ignoriert wurde hierbei, dass durch Breitbandantibiotika Resistenzen in solchen Wirtsbakterien entstehen können, die nicht ursächlich für die behandelte Infektion sind. Hierdurch wird Resistenzbildung durch horizontalen Gentransfer zwischen verschiedenen Bakterienarten ermöglicht.^[24] Auch das Mikrobiom des Patienten kann durch Breitbandantibiotika angegriffen werden, was die Suszeptibilität gegenüber Folgekrankheiten erhöht.^[25] Werden Antibiotika in zu niedrigen Dosen eingenommen, sodass die bakterielle Infektion nicht erfolgreich beendet wird, ist ebenfalls eine Resistenzbildung möglich.^[26] Andererseits werden Antibiotika verstärkt in der Viehzucht eingesetzt. Das Aufkommen neuartiger bakterieller Krankheitserreger wurde schon mit dem Beginn des Ackerbaus und der Viehzucht begünstigt.^[27] Die häufig beengte Intensivtierhaltung der heutigen Zeit fördert darüber hinaus das Auftreten von Infektionskrankheiten. Um dadurch verbundenen Profitausfällen vorzubeugen, wurde die Gabe von Antibiotika zum Mittel der Wahl. Durch die Freisetzung in die Umwelt und den Ernährungskreislauf erreichen diese Antibiotika schließlich den Menschen.^[28] Als

Resultat erfolgt die Verbreitung antibiotischer Resistenzen nun schneller als die Entwicklung neuartiger Wirkstoffe, was die Illusion einer dauerhaften Bezwingung bakterieller Infektionen widerlegt.^[29] Prognosen für die zukünftige Entwicklung der Krise zeigen eine starke Zunahme an Todesfällen sowie hohe Beeinträchtigungen für die Weltwirtschaft auf. So wird für das Jahr 2050 eine weltweite jährliche Todeszahl von 10 Millionen Fällen angenommen (Abb. 4), während der Gesamtverlust für das weltweite Bruttoinlandsprodukt auf 100 Billionen US-Dollar geschätzt wird.^[30]

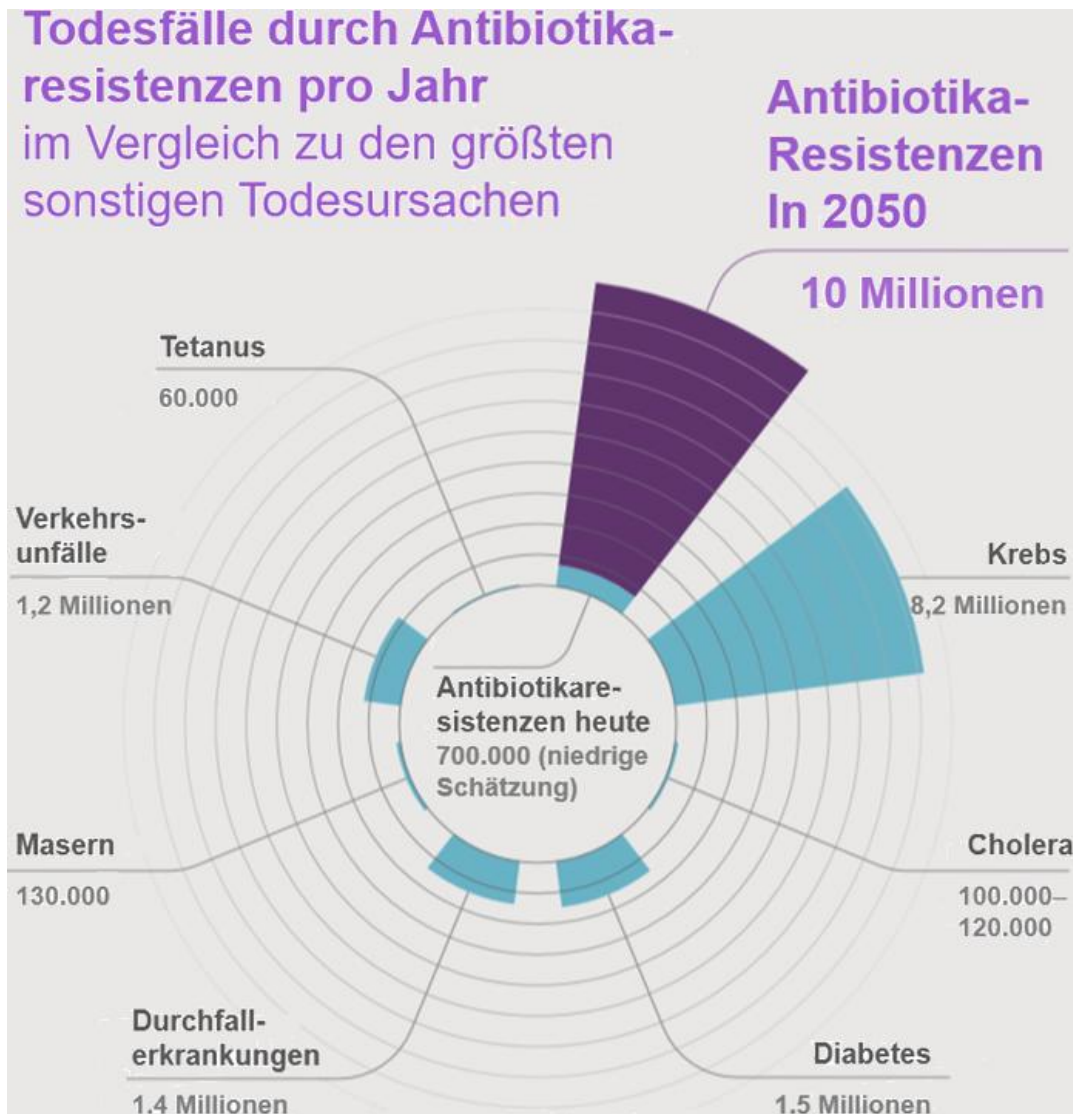


Abbildung 4: Geschätzte Todeszahl durch Antibiotikaresistenzen im Jahr 2050 im Vergleich mit aktuellen Todeszahlen verschiedener Todesursachen. Übernommen von^[30]

Eine intensive, globale Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen ist vonnöten, um diese Entwicklung zu vermeiden. Infolgedessen zeigt seit 2017 eine Prioritätsliste der Weltgesundheitsorganisation, für welche antibiotikaresistenten, pathogenen Keime der dringlichste Bedarf an neuen Wirkstoffen besteht.^[31]

Antibiotikaresistente Keime sind gegenüber Persisterzellen abzugrenzen. Diese treten stochastisch in jeder isogenen Bakterienkolonie auf und haben durch die Ausbildung eines abweichenden Phänotyps eine vorübergehende Toleranz gegenüber Antibiotika inne. Sie befinden sich in einem ruhenden Zustand, in dem ihre Stoffwechselprozesse auf ein Minimum begrenzt sind. Nach dem Erwachen aus ihrem Ruhezustand erzeugen sie durch Zellteilung wieder nicht-persistente Nachkommen, Persistenz ist damit kein genetisches Phänomen. Der Anteil an Persistern ist in Biofilmen besonders hoch.^[32-33]

Nach der Erkennung der Antibiotikakrise hat die wissenschaftliche Gemeinschaft zunehmende Anstrengungen unternommen, neue Wege zur Bekämpfung der Antibiotikaresistenz zu erforschen. So rückt beispielsweise die Benutzung moderner Wirkstoffkapseln und intelligenter Nanopartikel in den Vordergrund.^[17, 34] Untersucht wird ebenfalls, inwiefern die Verabreichung mehrerer unterschiedlicher Antibiotika gleichzeitig eine robustere Wirkung erzielen kann.^[35] Auch die Wirkstoffforschung bringt wieder potente Verbindungen hervor.^[19, 36-37] Eine der vielversprechendsten Substanzen ist das Depsipeptid Teixobactin (7, Abb. 5).^[38]

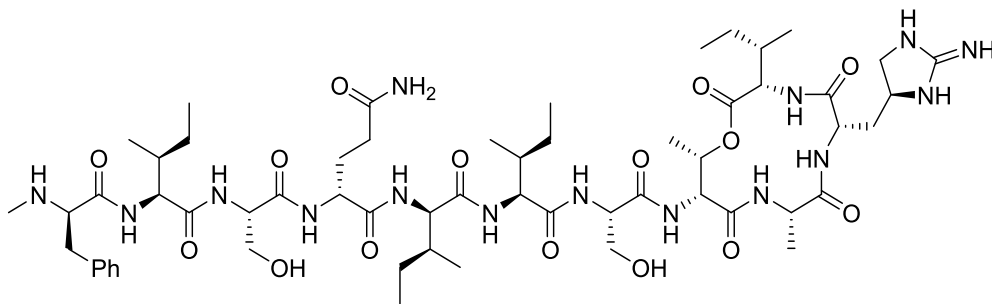


Abbildung 5: Chemische Struktur von Teixobactin (7).

Teixobactin hemmt mehrere Vorläufermoleküle bakterieller Zellwandbausteine, darunter die Peptidoglycane Lipid II und Lipid III. Diese Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Targets hat dazu geführt, dass für Teixobactin und seine chemisch synthetisierten Derivate bislang keine Antibiotikaresistenzen bekannt sind.^[39-41]

1.3 Mechanismen bakterieller Resistenzbildung gegenüber Antibiotika

Um wirksame Antibiotika gegen resistente Bakterien zu entwickeln, ist ein mechanistisches Verständnis notwendig, auf welche Weise Antibiotikaresistenzen ausgebildet werden. Abb. 6 zeigt die molekularen Angriffsziele von Antibiotika sowie einen Überblick über die Arten potentieller Resistenzbildungen.

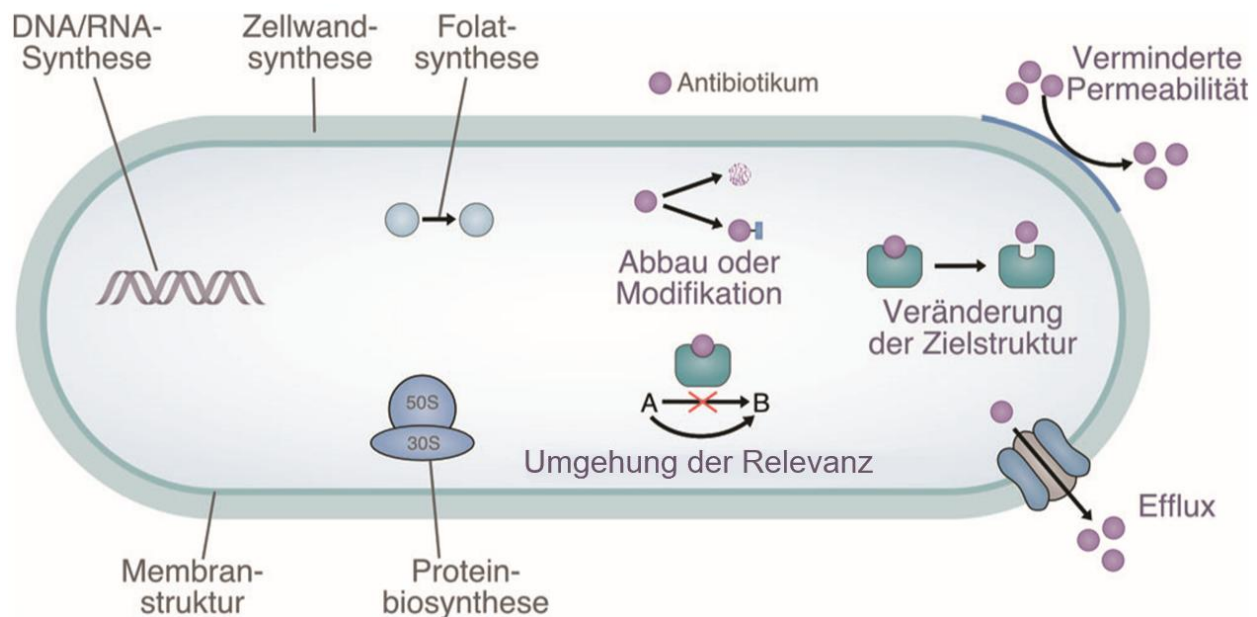


Abbildung 6: Darstellung fünf verschiedener Angriffspunkte von Antibiotika (links) und der Ausbildung von Resistenzen gegenüber antibiotischen Wirkstoffen (rechts) in der Bakterienzelle. Übernommen von^[19]

Für die dargestellten Angriffspunkte der Folatsynthese (Sulfonamide), der Zellwandsynthese (Penicilline, Vancomycin), der Proteinbiosynthese (Tetracyclin, Streptomycin) sowie der Membranstruktur (Daptomycin) lassen sich beispielhaft Wirkstoffe finden, die in Abb. 3 erwähnt sind. Für Inhibition der Replikation von RNA und DNA können jeweils Rifamycine und Chinolone genannt werden.^[12, 42-43]

Die verschiedenen Mechanismen der Resistenzbildung sollen im Folgenden näher erläutert werden.

Eine Umgehung der Relevanz eines Targets erfolgt dann, wenn die anvisierten Stoffwechselprozesse im Bakterium über andere Pfade verlaufen können. Durch die Bildung einer solchen Redundanz zeigt die Ausschaltung des Targets keine Wirkung

mehr auf die betroffenen Bakterien. Ebenfalls kann durch Überexpression des Targets Resistenz erlangt werden. Das verabreichte Antibiotikum wird hierbei nach wie vor die gezielte Wirksamkeit auf molekularer Ebene entfalten, jedoch nur bei einem für das Überleben der Bakterienzelle vernachlässigbaren Anteil. Zur erfolgreichen Behandlung wird dann die Gabe höherer Wirkstoffdosen erforderlich, um auch die durch Überexpression erhöhte Anzahl der Zielmoleküle auszuschalten.^[44]

Die Veränderung der Zielstruktur ist auf zwei Arten möglich. Ein mutiertes Allel wird ein mutiertes Target (z.B. ein Protein) hervorbringen, das funktionsfähig ist, aber weniger oder nicht empfänglich für den Angriff durch das Wirkstoffmolekül (Abb. 7a). Anstelle einer Mutation kann auch durch ein weiteres Allel eine chemische Modifikation im Targetmolekül eingebracht werden (Abb. 7b). Die Primärstruktur eines Targetproteins wird hierbei nicht verändert, lediglich werden eine oder mehrere Aminosäuren modifiziert (z.B. durch Methylierung).^[45-46]

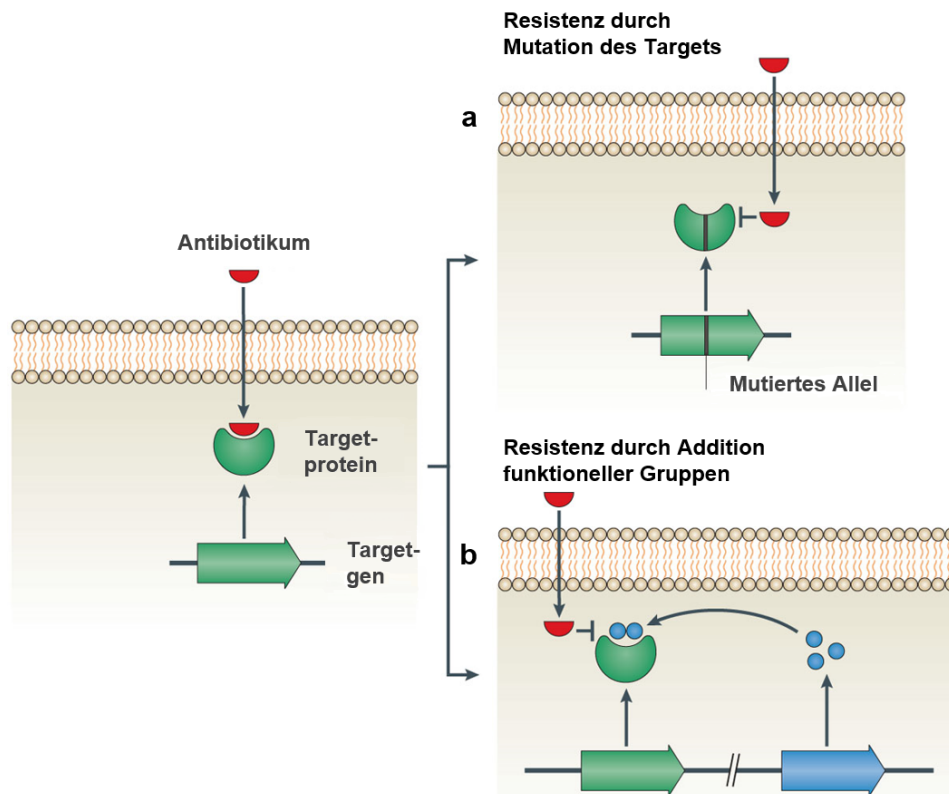
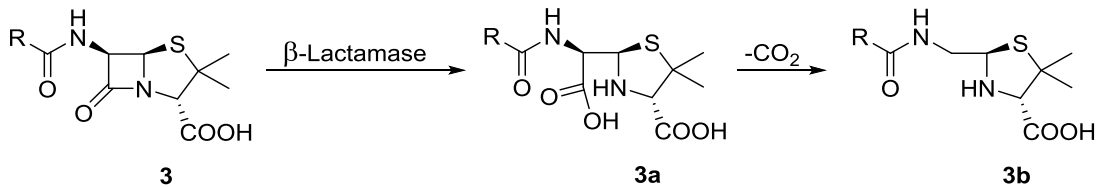


Abbildung 7: Ausbildung von Antibiotikaresistenz durch a) Mutation sowie b) chemische Derivatisierung des Targetmoleküls. Übernommen von^[45]

Abbau sowie Modifikation des eingesetzten Antibiotikums führen ebenfalls zu Resistenzen. Durch die Produktion von Verbindungen, die ein Antibiotikum aktiv angreifen, bleibt das Target unangetastet (Abb. 8a). Das prominenteste Beispiel hierfür sind β -Lactamasen, die die Hydrolyse von β -Lactam-Antibiotika katalysieren (Schema 1).



Schema 1: Hydrolyse von β -Lactam-Antibiotika durch β -Lactamasen mit folgender Decarboxylierung.

Häufig werden daher β -Lactamase-Inhibitoren mitverabreicht, um die Deaktivierung der β -Lactam-Antibiotika zu verhindern.^[47]

Statt des Abbaus von Antibiotika kann auch deren Modifikation stattfinden (Abb. 8b).

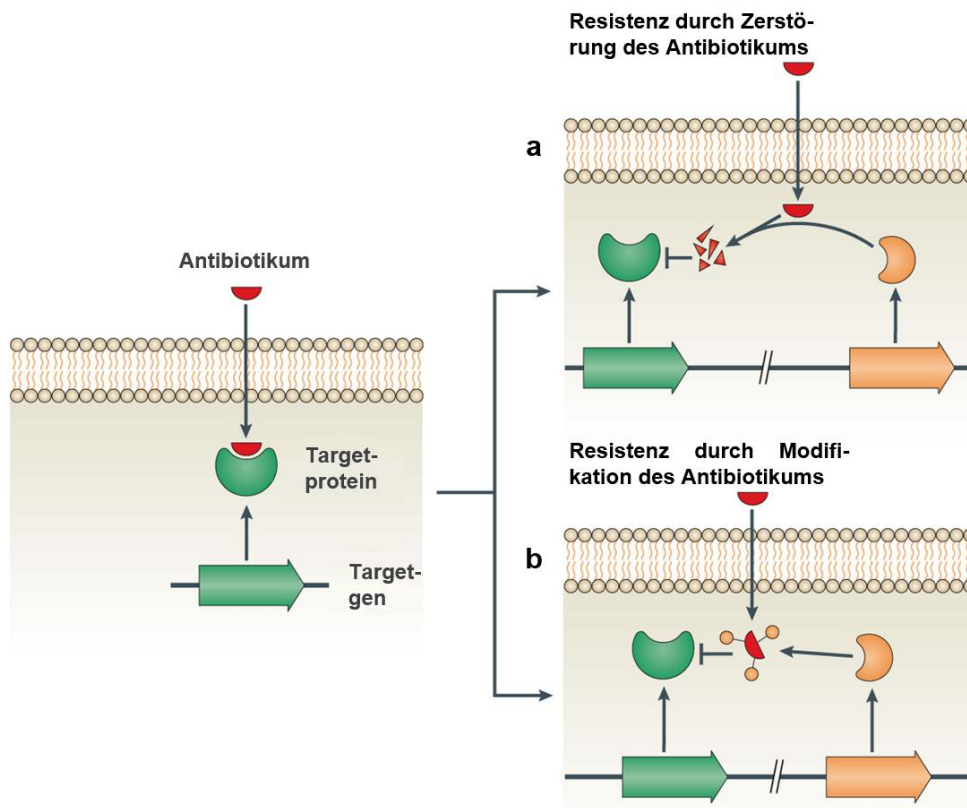


Abbildung 8: Resistenzbildung über a) Abbau und b) Modifikation von Antibiotika. Übernommen von^[45]

Werden durch Bakterien Transferproteine ausgeschüttet, die funktionelle Gruppen auf Antibiotika übertragen, so kann dies zu einer sterischen Abschirmung des Wirkstoffs gegenüber seinem Target führen.

Bakterien verfügen des Weiteren über Membranproteine, die durch aktiven Transport einzelne Moleküle aus dem Zellinneren herausbefördern. Werden diese Transporter verstärkt gebildet, wird ein Großteil der in die Bakterienzelle eindringenden Antibiotika noch vor dem Erreichen des Targets durch Efflux wieder in den extrazellulären Raum freigesetzt.^[45-46]

Eine weitere Klasse von Membranproteinen, die Porine, sind für Resistenzbildung durch verminderte Permeabilität verantwortlich. In Porinen dominiert die Sekundärstruktur des β -Faltblatts. Die durch antiparallel verlaufende β -Faltblattstränge ausgebildete zylindrische Tertiärstruktur wird als β -Fass bezeichnet und erzeugt einen wassergefüllten Kanal durch die Membran, durch den der Transport von hydrophilen Nährstoffen in die Zelle mittels passiver Diffusion ermöglicht wird. Durch Porine gelangen Antibiotika durch die bakterielle Zellmembran. In ihrem Innern verengt eine Schleife der Sekundärstruktur den Kanal und ermöglicht so die Feinabstimmung der Transporteigenschaften. Porine treten als Trimere auf.^[48] Die Kristallstruktur von Porinen ist in Abb. 9 am Beispiel von OmpF dargestellt, das in *Escherichia coli* vorkommt.^[49]

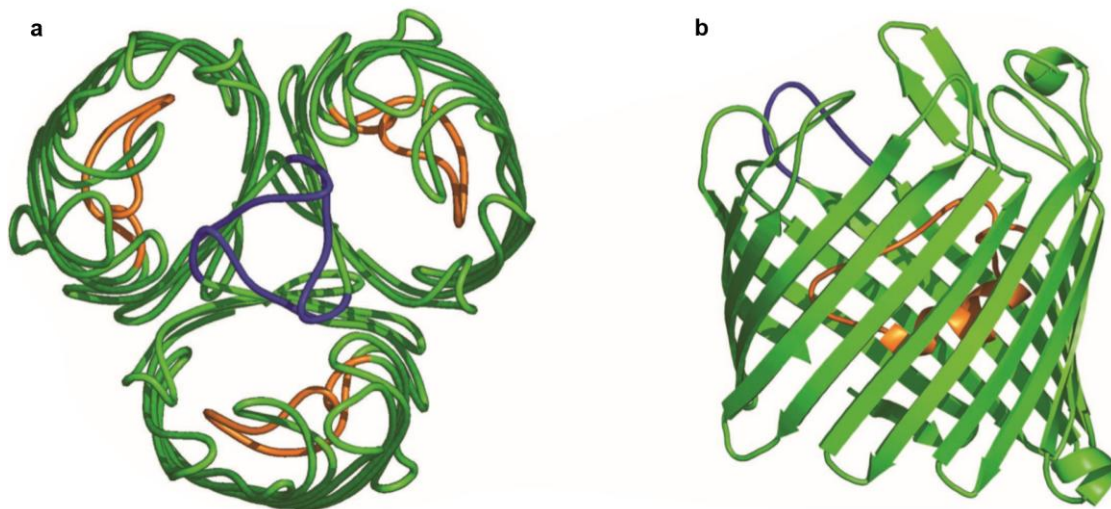


Abbildung 9: a) Homotrimerer Struktur des Porins OmpF von oben. b) Struktur eines OmpF-Monomers in Seitensicht. Die Antiparallele β -Faltblattstruktur (grün) stellt die Außenwand des Porins dar. Schleifen, die die Pore verengen (orange) bzw. die Interaktion der Monomere untereinander ermöglichen (violett) sind farblich hervorgehoben. Übernommen von^[49]

Wird die Anzahl an Porinen durch eine verringerte Expression begrenzt, so gelangen ausreichende Mengen antibiotischen Wirkstoffes nicht in die Bakterien hinein. Eine Mutation der Schleife, die das Innere der Pore verengt, kann darüber hinaus neben einer Vergrößerung des Transportkanals auch zu dessen spezifischer Verengung führen, sodass essentielle Nährstoffe noch ins Zellinnere gelangen, das zur Behandlung eingesetzte Antibiotikum jedoch nicht mehr.^[50]

Im Zuge der zunehmenden Konfrontation mit antibiotikaresistenten Keimen, insbesondere im Krankenhausbereich, wurden in den vergangenen Jahren einige Arten von Bakterien, die durch ihre erhöhte Tendenz zur Resistenzbildung eine besondere Bedrohung darstellen, zu einer Gruppe zusammengefasst. Diese wird durch das Akronym ESKAPE beschrieben und beinhaltet die Bakterienarten *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* sowie die Gattung der *Enterobacter*.^[51-52] Sämtliche Vertreter dieser Gruppe finden sich im obersten Bereich der in Abschn. 1.2 genannten Prioritätsliste der Weltgesundheitsorganisation.^[31]

Während die im Zellinnern stattfindenden Resistenzmechanismen alle Arten pathogener Bakterien betreffen, sind die zuletzt geschilderten Mechanismen der verminderten Permeabilität und des Efflux vor allem für gramnegative Bakterien relevant.

Grampositive Bakterien besitzen eine breite Mureinschicht als Zellwand, die aus einem Peptidoglycanpolymer aufgebaut ist. Die Peptidoglycanschichten sind durch Oligopeptide quervernetzt. Zwischen der Zellwand und dem Cytosol befindet sich die von Transmembranproteinen durchsetzte Zellmembran, in der in die Mureinschicht ragende Lipoteichonsäuren verankert sind. Kovalent an das Peptidoglycanpolymer gebunden sind nach außen gerichtete Wandteichonsäuren, die eine große Rolle bei der Virulenz und der Anfälligkeit gegenüber Antibiotika spielen. Beide Teichonsäurevertreter haben ionische Eigenschaften und verleihen der Zellwand zusätzliche Stabilität. Gramnegative Bakterien besitzen im Vergleich dazu eine dünnere Mureinschicht und eine zweite, äußere Zellmembran, die durch Lipoproteine mit der Mureinschicht verbunden ist und sich in ihrem Aufbau von der inneren Zellmembran unterscheidet. Aus der äußeren Membran ragen Lipopolysaccharide, welche die Polarisierung der Membran aufrechterhalten und ihre strukturelle Integrität gewährleisten. Die äußere Zellmembran gramnegativer

Bakterien bietet eine wirkungsvolle Barriere gegenüber Antibiotika und anderen nicht-essentiellen Molekülen und schützt die Bakterienzelle damit vor dem Eindringen schädlicher Substanzen. Da die aus Phospholipiddoppelschichten aufgebauten Membranen in ihrem Innern hydrophob sind, außerhalb der Membranen jedoch ein hydrophiles Umfeld herrscht, liegt in gramnegativen Bakterien ein höher frequentierter Wechsel gegenteiliger Solvatationstendenzen vor als in ihren grampositiven Gegenstücken, was den Durchtritt von Verbindungen in das Innere der Zelle weiter erschwert.

Diese Eigenschaften verleihen gramnegativen Bakterien bereits eine intrinsische Resistenz gegen einige Antibiotika, die durch weitere Verminderung der Permeabilität noch verstärkt werden kann (s.o.). Abb. 10 stellt die strukturellen Unterschiede zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien dar.^[53-54]

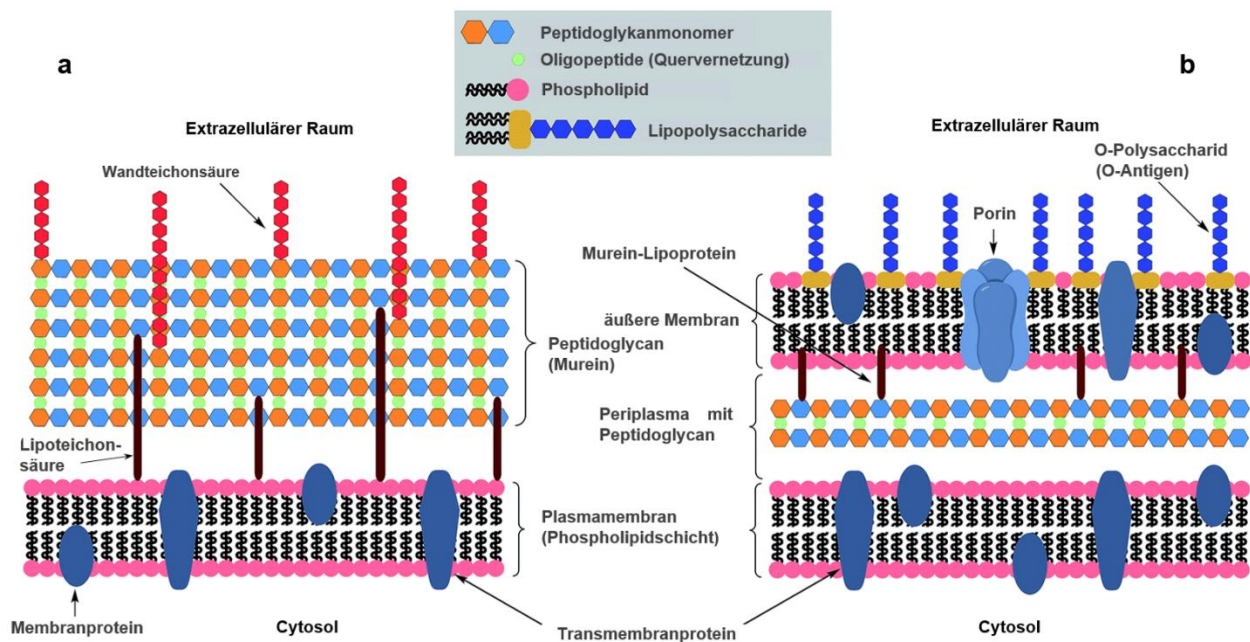


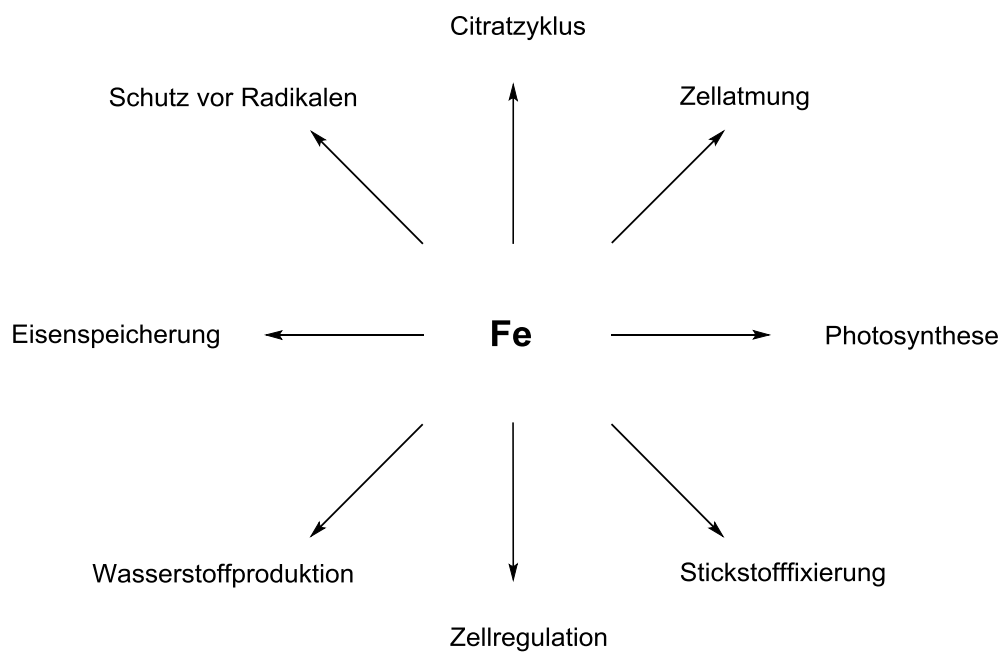
Abbildung 10: Vergleich der äußeren Zellbereiche a) grampositiver und b) gramnegativer Bakterien. Übernommen von^[54]

In der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien befinden sich Porine und darüber hinaus Proteine, die einen aktiven Transport von Nährstoffen ins Zellinnere ermöglichen. Um die Barriere der äußeren Membran zu umgehen und antibiotische Wirkstoffe zuverlässig in das Zellinnere zu überführen, kann dieser aktive Transport ausgenutzt werden.

1.4 Nutzung des aktiven Eisentransports gramnegativer Bakterien

1.4.1 Eisentransport in gramnegativen Bakterien

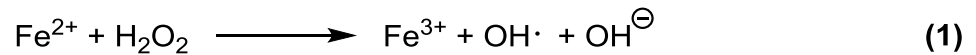
Eisen ist ein für fast alle Lebewesen essentielles Element. Da es in den bevorzugten Oxidationsstufen (+II) und (+III) auftritt und in biologischen Redoxprozessen Elektronen meist einzeln übertragen werden, kommt ihm eine bevorzugte Rolle im Stoffwechsel zu. So ist Eisen das Zentrum vieler Cofaktoren und wird in eukaryotischen wie prokaryotischen Zellen fortlaufend benötigt. Schema 2 schafft einen Überblick über bakterielle Stoffwechselprozesse, in die Eisen involviert ist.^[55-56]



Schema 2: Zusammenfassung der Rolle von Eisen in Bakterienzellen.

Eisen kommt in der Natur zwar im Überfluss vor, die prädominant verfügbaren Salze und Oxide des dreiwertigen Eisenkations Fe^{3+} sind in Wasser jedoch schwer löslich und damit für Organismen nicht leicht verfügbar. Besser lösliche zweiwertige Eisenverbindungen sind in der Erdkruste seltener. Darüber hinaus sind Fe^{2+} -Ionen verantwortlich für die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, die als radikalische Verbindungen Organismen schädigen können. Wasserstoffperoxid, das für gewöhnlich durch Katalasen abgebaut

wird, reagiert in der sogenannten Fenton-Reaktion unter Erzeugung von Hydroxylradikalen mit Fe^{2+} -Ionen.^[56-57]



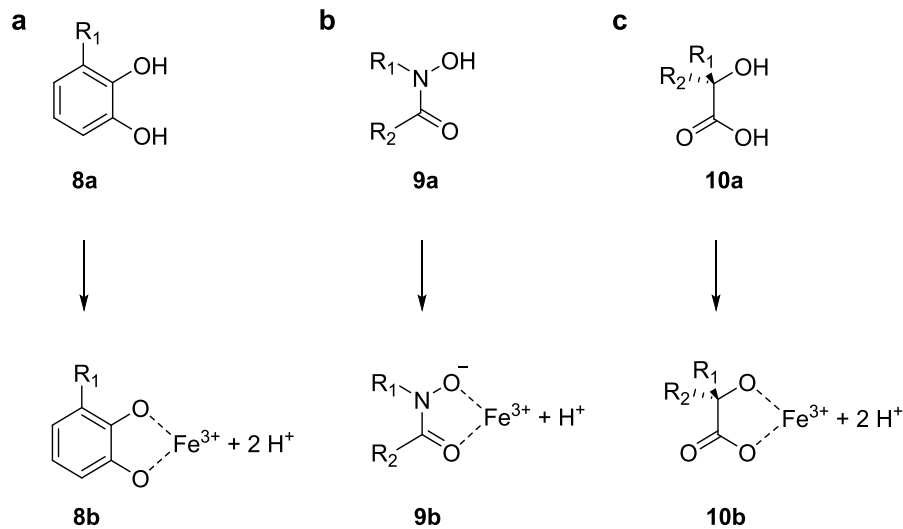
Zusätzlich ist die Verfügbarkeit freier Eisenionen für Bakterien durch Schutzmechanismen des Wirtes reduziert. So ist im menschlichen Körper Eisen in hämhaltigen Proteinen (Globuline, Cytochrome), sowie in Ferritin und in Glycoproteinen (Transferrin, Lactorferrin) gespeichert und dessen Serumkonzentration liegt bei nur 10^{-24} mol/L.^[55-58] Um dennoch eine stabile Versorgung mit Eisen zu gewährleisten, verfügen Bakterien über mehrere Mechanismen, über die Eisenionen effektiv und in ausreichenden Mengen ins Zellinnere transportiert werden. In Bakterien existieren zwei prinzipiell verschiedene Mechanismen für die aktive Internalisierung von Eisen.^[57]

Einerseits werden eisenhaltige Proteine des Wirts genutzt. So kann das in Glycoproteinen gebundene Eisen an der äußeren Membran gramnegativer Bakterien extrahiert und durch die Membran transportiert werden. Auch Häm aus Globulinen dient der bakteriellen Eisenversorgung. Da freies Häm aufgrund seiner toxischen Wirkung im Wirt an Transportproteine gebunden ist, können Bakterien Toxine ausschütten, die Wirtszellen zerstören und enthaltene Hämoproteine freisetzen. Diese werden entweder durch Rezeptoren an der Membran gebunden, um die enthaltenen Häme zu internalisieren, oder ebenfalls durch bakterielle Toxine denaturiert, wodurch Häm freigesetzt wird. Ausschließlich von gramnegativen Bakterien ausgeschüttet werden zusätzlich Hämophore, die sowohl freies Häm binden als auch Häm aus Hämoproteinen extrahieren können um es anschließend zum Bakterium zurück zu transportieren.^[57, 59-60]

Zum anderen produzieren Bakterien selbst Verbindungen, die dreiwertige Eisenionen direkt komplexieren und in das Zellinnere transportieren. Diese werden als Siderophore bezeichnet.

1.4.2 Siderophore

Siderophore gehören zu einer Klasse von Verbindungen, die für den Transport von Metallkationen optimiert sind. Die für den Transport von Kupfer zuständigen Vertreter werden Chalkophore genannt.^[61] Anders als die vom Wirt für Eisentransport und -speicherung genutzten Proteine sind Siderophore strukturell einfachere, niedermolekulare Verbindungen.^[57] Ihre Biosynthese verläuft nicht ribosomal, sondern entweder über nicht-ribosomale Peptidsynthetasen (NRPS) oder mittels NRPS-unabhängiger Siderophorsynthetasen.^[62] Siderophore kommen sowohl im terrestrischen als auch im marinen Lebensraum vor.^[63] Neben Bakterien produzieren auch Pflanzen und Pilze Siderophore, Säugetiere jedoch nicht.^[64-65] Ihnen gemein ist das Vorhandensein chemischer Strukturelemente, die Komplexbindungen zu Fe^{3+} -Ionen eingehen können. Die drei prominentesten dieser funktionellen Gruppen sind Catechole (**8**), Hydroxamate (**9**) und α -Hydroxycarbonsäuren (**10**, Schema 3).^[66-67] Diese können jeweils sowohl ausschließlich als auch gemischt in Siderophoren auftreten.



Schema 3: Grundstrukturen und Eisenkomplexierung der drei häufigsten eisenbindenden Motiven in Siderophoren. a) Catechole, b) Hydroxamate, c) α -Hydroxycarbonsäuren.

Von den drei genannten chemischen Motiven bilden Catechole die stärksten Eisen(III)-Komplexe. Siderophore, in denen andere chemische Motive eine Komplexbildung

eingehen, existieren ebenfalls. So sind beispielsweise Siderophore mit α -Aminocarboxylaten, α -Hydroxyimidazolen und *N*-Nitrosohydroxamsäuren bekannt.^[68-70]

Angesichts der hohen Diversität dieser Verbindungen überrascht es nicht, dass auch in der Gegenwart fortlaufend neuartige Siderophore entdeckt werden.^[71-74] Darüber hinaus wird Siderophoren zunehmend die Beteiligung an biologischen Prozessen zugeschrieben, die nicht direkt mit dem Eisentransport verknüpft sind.^[75]

Die in Schema 3 genannten zweizähligen Liganden treten in Siderophoren nie einzeln auf, sodass für gewöhnlich unter Ausbildung einer vier- oder sechsfachen Koordination sehr stabile Eisen(III)-Komplexe entstehen. Da die Komplexbildungskonstante dieser Komplexe deutlich höher ist als die von Eisenkomplexen in Wirtsproteinen, können Siderophore dreiwertige Eisenionen aus dem Stoffwechselkreislauf des Wirtes entziehen. Um diesem Entzug des auch für den Wirt essentiellen Eisens entgegenzuwirken, verfügen Säugetiere über Siderocaline. Diese Transportproteine binden verschiedene eisenbeladene Siderophore und entziehen so dem Pathogen eine wichtige Nährstoffquelle.^[76] Die ausgezeichneten Komplexbildungseigenschaften von Siderophoren erstrecken sich auch auf andere Metallionen. So sind Siderophore unter anderem als Chelatoren radioaktiver Gallium- und Indiumisotope in der Emissionscomputertomographie interessant.^[77]

Zwar sind Siderophore als niedermolekulare Verbindungen deutlich kleiner als Proteine, dennoch ist ihre molekulare Masse für gewöhnlich höher, als dass sie durch passive Diffusion durch bakterielle Zellmembranen gelangen könnten. Durch die in Abschn. 1.3 genannten Porine können nur Verbindungen diffundieren, deren molaren Massen einen Wert von etwa 600 Gramm pro Mol nicht übersteigen.^[49] Diesen Wert überschreitet die Mehrzahl der Siderophore jedoch.^[67] Daher ist ein aktiver Transportmechanismus von Nöten, um durch Siderophore den Eisenbedarf von Bakterien sicherzustellen.

Gelangt ein eisenbeladener Siderophor an die äußere Zellmembran eines gramnegativen Bakteriums, so wird er durch einen Rezeptor in der äußeren Membran (*outer membrane receptor*, OMR) gebunden. Ein solcher OMR verfügt über einen den Porinen sehr ähnlichen Aufbau (s. Abb. 9). Die äußere Wand des Transporters hat den Aufbau eines β -Fasses und wird vom C-Terminus her aufgebaut. Sie wird durch 22 β -Stränge gebildet. Elf mit α -Helices durchsetzte Schleifen der Sekundärstruktur verlaufen vom β -Fass

ausgehend in den extrazellulären Raum. Innerhalb des Transporters befindet sich eine N-terminale Domäne, die den Durchgang verschließt. Abb. 11 zeigt die Struktur von PfeA, einem Catecholtransporter von *Pseudomonas aeruginosa*. Gelangt ein eisenbeladener Siderophor in den für ihn spezifischen Transporter, so bindet er an diese Domäne, wodurch strukturelle Veränderungen ausgelöst werden. Die extrazellulären Schleifen verschließen den Transporter und verhindern sowohl das Austreten des internalisierten Siderophores als auch den Eintritt eines weiteren eisenbeladenen Siderophores. Gleichzeitig öffnet die N-terminale Domäne den Durchgang durch die äußere Membran.^[49, 67, 78]

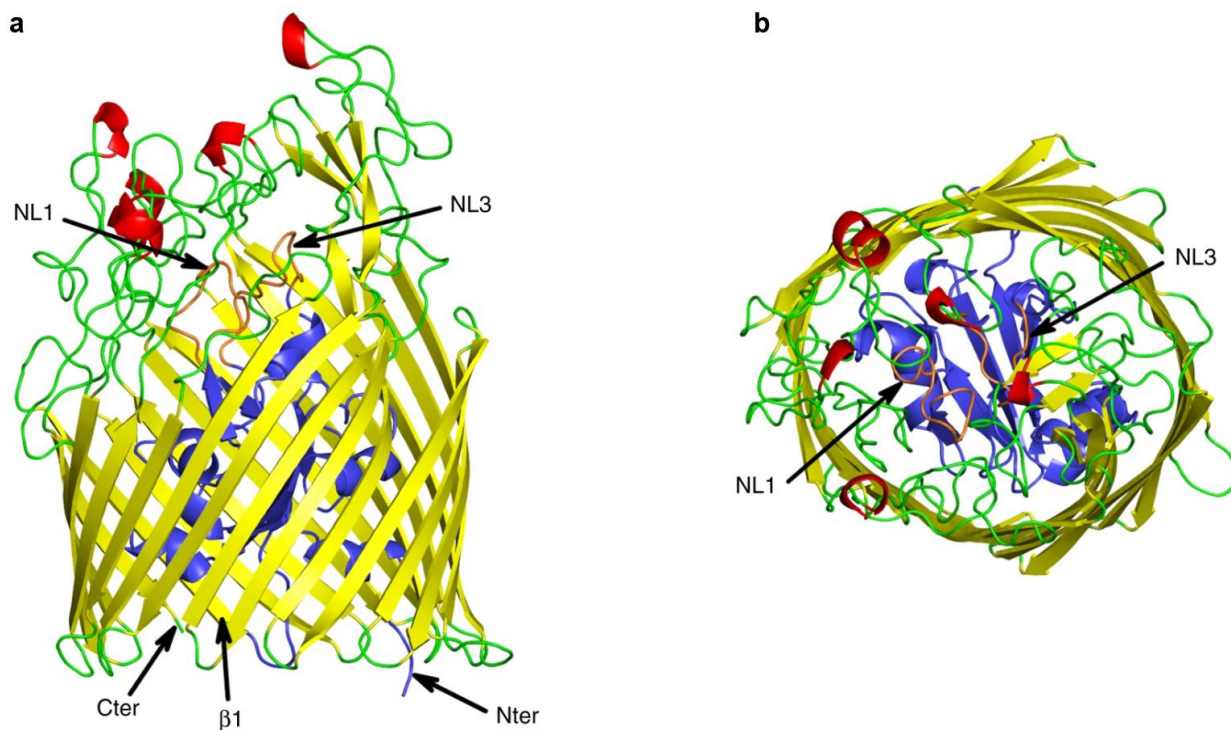


Abbildung 11: Kristallstruktur von PfeA, einem OMR in *Pseudomonas aeruginosa*. a) Seitansicht. b) Draufsicht. Das β-Fass ist gelb und die Verschlussdomäne blau dargestellt. Extrazelluläre Schleifen (grün), α-Helices (rot) sowie die nach außen ragenden Schleifen NL1 und NL3 der Verschlussdomäne (orange) sind ebenso hervorgehoben wie das C-terminale und das N-terminale Ende. Übernommen von^[78]

Die für den Durchtritt des Siderophors benötigte Energie wird durch den sogenannten TonB-Komplex geliefert. Dieser besteht aus den drei gekoppelten Proteinen TonB, ExbB und ExbD, die in der inneren Membran verankert sind. TonB durchspannt den periplasmatischen Raum und interagiert mit einer Region des OMR nahe dem N-

Terminus, die auch als TonB-Box bezeichnet wird. Durch die Konformationsänderung der TonB-Box wird eine Energieübertragung vom TonB-Komplex auf den OMR ausgelöst. Diese Energie wird durch die protonenmotorische Kraft an der inneren Membran bereitgestellt.^[57, 76]

In *Escherichia coli* kann der Siderophortransport durch die äußere Membran einem Shuttle-Prozess (Abb. 12) unterliegen. Hier findet die Übertragung von Fe^{3+} -Ionen auf einen unbeladenen Siderophor statt, der sich bereits im OMR befindet. Erst durch diesen Vorgang wird die für den Transport notwendige Konformationsänderung eingeleitet und der nun beladene Siderophor durchquert die Membran. Der jetzt eisenfreie Siderophor kann anschließend als Empfänger für einen eisenbeladenen Siderophor dienen. Dieser Transportmechanismus tritt immer dann auf, wenn der OMR Cir in den aktiven Transport involviert ist (s. Abschn. 1.4.4). Für andere OMR von *Escherichia coli* ist ein solcher Shuttle-Prozess nicht relevant.^[79-80]

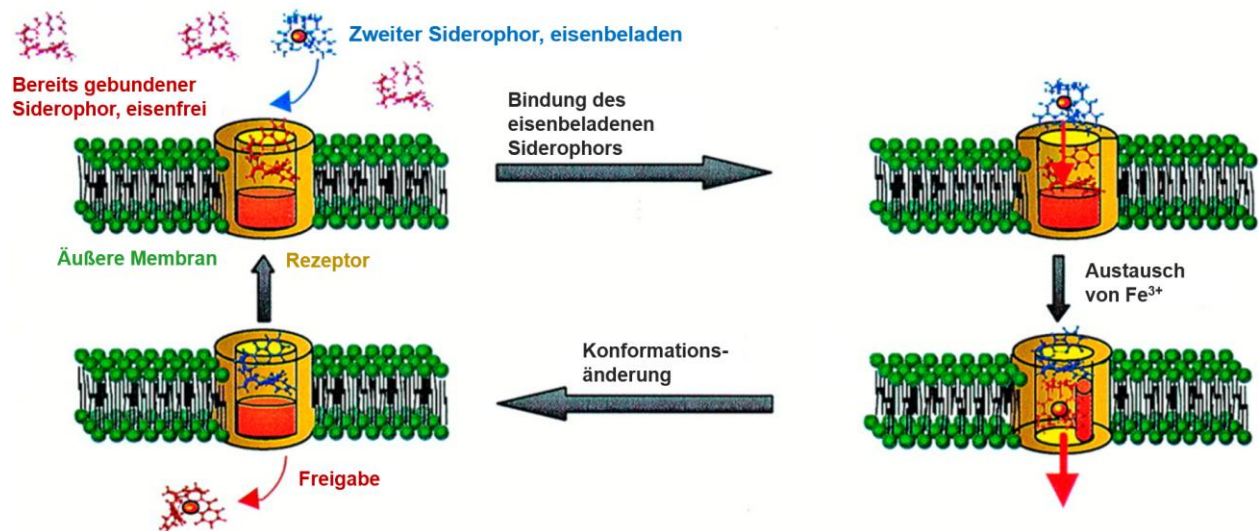


Abbildung 12: Shuttle-Prozess des Eisentransport durch die äußere Membran in *Escherichia coli*, dargestellt als Kreislauf. Ein im OMR lokalisierter Siderophor (rot) nimmt ein dreiwertiges Eisenkation eines beladenen Siderophors (blau) auf, wodurch der Durchtritt durch die Membran ermöglicht wird. Der zweite Siderophor nimmt zum Beginn des folgenden Zyklus ein weiteres Fe^{3+} -Ion auf. Übernommen von^[79]

Nach dem Eintritt in das Periplasma wird der Siderophor durch ein periplasmatisches Bindungsprotein (*periplasmatic binding protein*, PBP) zur Zellmembran transportiert. Die Translokalisierung in das Cytoplasma erfolgt durch einen ATP-abhängigen, aktiven Transporter, der auch als ABC-Transporter (*ATP-binding-cassette*) bekannt ist. Die

Energie für diesen Transport wird durch die Hydrolyse von ATP bereitgestellt. Im Cytoplasma wird das Fe^{3+} -Kation durch Reduktasen zu zweiwertigem Eisen reduziert. Da Fe^{2+} nach dem HSAB-Konzept eine deutlich weichere Lewis-Säure als Fe^{3+} ist, verliert der Komplex mit den harten Sauerstoffbasen signifikant an Stabilität, sodass zweiwertiges Eisen freigesetzt wird und der Bakterienzelle für Stoffwechselprozesse zur Verfügung steht. Im Fall einiger Siderophore ist diese Abgabe weiterhin durch den Abbau des Siderophors im Zellinnern begünstigt. Hierdurch wird der Komplex entropisch geschwächt, da die Dentizität sinkt. Bleibt der Siderophor intakt, kann er durch Membrantransporter effluxiert werden, um erneut für die Internalisierung von Eisen zur Verfügung zu stehen.^[57, 66, 81]

Da grampositive Bakterien keine äußere Zellmembran besitzen, benötigen sie keinen OMR für den Siderophortransport. Sie verfügen über ein in der Membran verankertes Protein, das PBP's in gramnegativen Zellen ähnelt. Dieses Protein bindet eisenbeladene Siderophore und stellt sie für den aktiven Transport durch einen benachbarten ABC-Transporter bereit.^[57, 82] Ein Überblick über den Prozess des aktiven Eisentransports mittels Siderophoren wird in Abb. 13 gegeben.

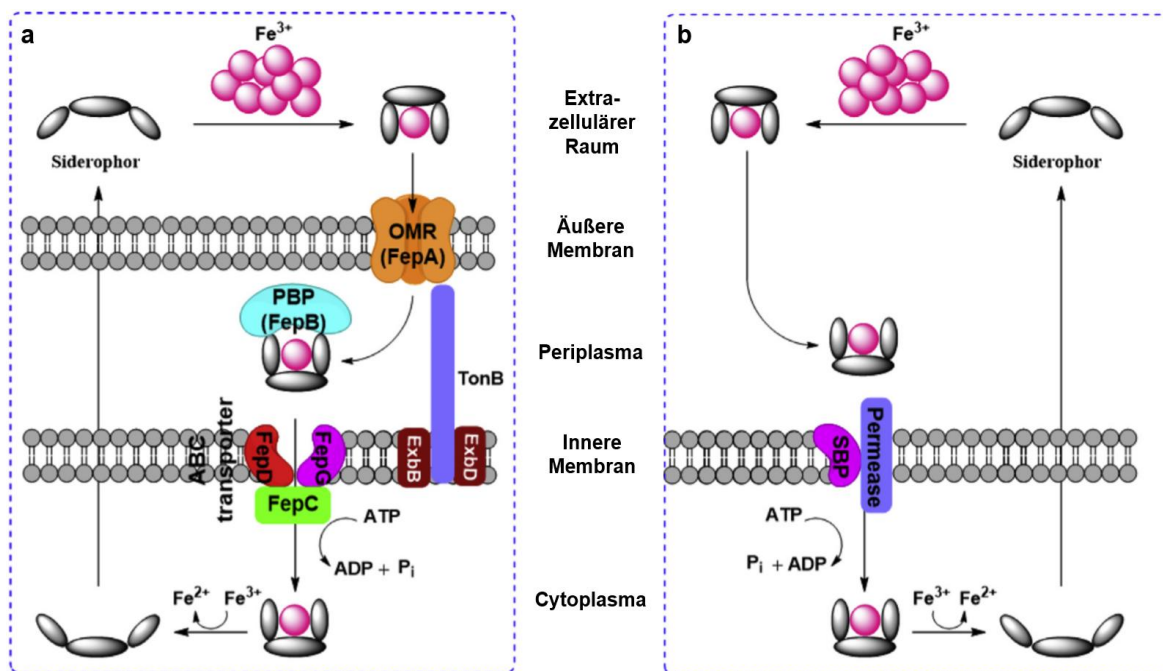


Abbildung 13: Vergleich zwischen dem siderophorvermittelten Eisentransport in a) gramnegative und b) grampositive Bakterienzellen, dargestellt als Kreislauf. Übernommen von^[81]

Um auf sich verändernde Umweltbedingungen reagieren zu können, produzieren viele Bakterien mehr als nur einen Siderophor und sind darüber hinaus dazu in der Lage, auch von anderen Bakterienarten produzierte Siderophore, so genannte Xenosiderophore, zur Deckung ihres Eisenbedarfs zu nutzen.^[83-85]

Hieraus folgt, dass durch die Modifikation sowohl von natürlich vorkommenden als auch von künstlich synthetisierten Siderophoren der Transport von Wirkstoffen in gramnegative Bakterien möglich sein sollte.

1.4.3 Siderophor-Antibiotika-Konjugate

Siderophor-Antibiotika-Konjugate bestehen aus dem antibiotischen Wirkstoff, einem Siderophor und einem Linker, der die beiden Motive verbindet (Abb. 14). Die Bindung an einen Siderophor ermöglicht die Ausnutzung des aktiven Eisentransports durch die normalerweise für Antibiotika nur schwer überwindbare äußere Zellmembran gramnegativer Bakterien. Im Innern der Zelle kann dann das mit dem Siderophor verbundene Medikament seine antibiotische Wirkung entfalten.^[86]



Abbildung 14: Schematische Darstellung von Siderophor-Antibiotika-Konjugaten. Adaptiert von^[66]

Die Strategie, Siderophore für die Einbringung antibiotischer Wirkstoffe in Bakterien zu verwenden, basiert auf den Beobachtungen von Naturstoffen. Bereits in den 1950er Jahren wurden mit den Albomycinen (Verbindungen **11a – c**) Substanzen entdeckt, die natürliche Siderophor-Antibiotika-Konjugate darstellen.^[87] Solche Konjugate werden als Sideromycine bezeichnet.^[88-89] In Albomycinen, die aus *Actinomyces subtropicus* isoliert wurden, ist ein verzweigtes Trihydroxamat an einen Seryl-tRNA-Synthetase-Inhibitor geknüpft (Abb. 15a). Die Siderophoreinheit von Albomycin ist vom natürlich vor-

kommenden Siderophor Ferrichrom abgeleitet und wird über dessen spezifische Transporter in das Zellinnere eingebracht.^[88] Weitere Vertreter solcher natürlich vorkommenden Konjugate sind die Salmycine (Verbindungen **12a – d**), welche aus *Streptomyces violaceus* gewonnen wurden. Sie bestehen aus einem linearen Trihydroxamat, welches dem Siderophor Danoxamin ähnelt, sowie einem Amino-disaccharid (Abb. 15b). Ihr Wirkmechanismus ist nicht abschließend geklärt, beinhaltet aber wahrscheinlich einen Eingriff in die Proteinbiosynthese.^[90] Untersuchungen der antibiotischen Wirkungen *in vivo* ergaben, dass Albomycine sich den Salmycinen in der Bekämpfung verschiedener bakterieller Infektionen überlegen zeigen, weswegen sie auch in der heutigen Forschung vertreten sind.^[91] Beide Sideromycinklassen setzen ihren antibiotischen Wirkstoff durch die Spaltung spezifischer Bindungen frei. Ohne die Abspaltung des Wirkstoffs entfaltet sich keine antibiotische Aktivität.^[92-93]

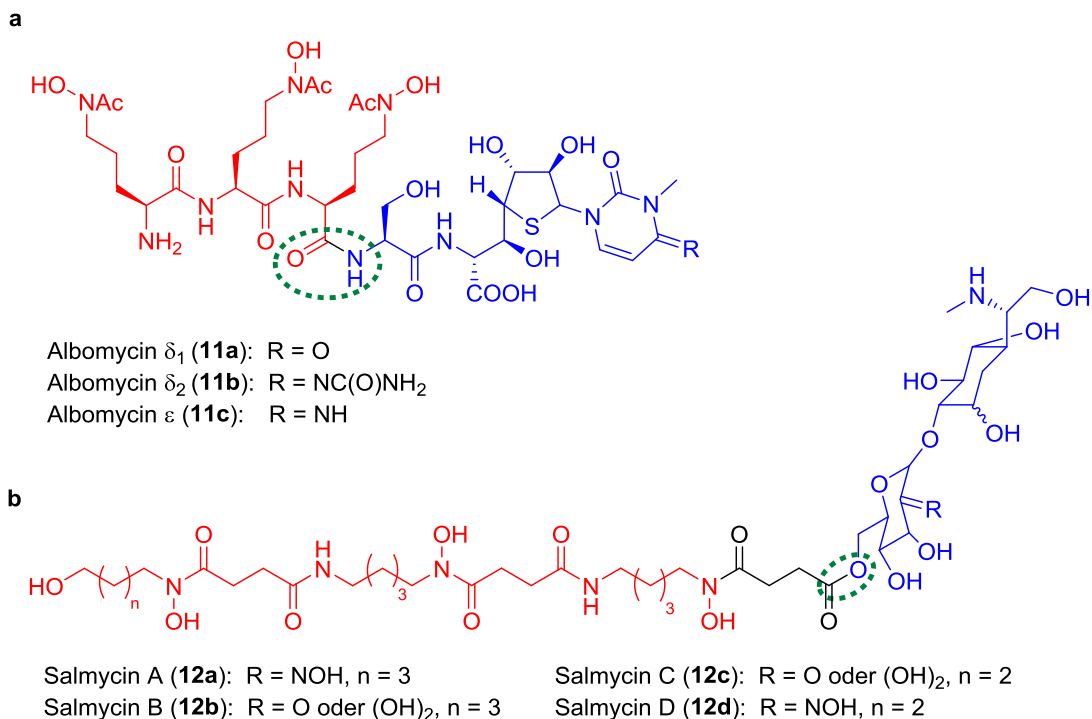


Abbildung 15: Natürlich vorkommende Sideromycine: a) Albomycine. b) Salmycine. Eisenkomplexierende Molekülteile sind rot hervorgehoben, antibiotisch wirkende Fragmente blau. Letztere werden durch Spaltung der grün markierten Amid- (Albomycine) bzw. Esterbindungen (Salmycine) freigesetzt.

Auf der Suche nach neuartigen Wirkstoffen gegen gramnegative Bakterien begann die Synthese und Erforschung künstlicher Siderophor-Antibiotika-Konjugate in den 1970er Jahren und wurde in den folgenden Jahrzehnten weiterverfolgt.^[54, 94-95] Solche Konjugate entwickelten sich zeitlich parallel zu den in der Krebstherapie eingesetzten Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten.^[96] Die hergestellten Konjugate waren jedoch häufig nicht wirksamer als das jeweilige freie Antibiotikum oder von Resistenzbildung betroffen, die durch das Ausschalten der für die Aufnahme nötigen OMR oder des TonB-Komplexes hervorgerufen wurde. Chemische Modifikationen der verwendeten Siderophore und deren damit einhergehende Deaktivierung wurde ebenfalls häufig beobachtet.^[86, 93, 95]

Während der Durchtritt von Siderophor-Antibiotika-Konjugaten durch die äußere Membran gewöhnlich gelingt, stellt ihr Transport ins Cytoplasma ein größeres Hindernis dar, da die Abläufe des Transports über ABC-Transporter (s. Abschn. 1.4.2) nicht immer detailliert bekannt sind.^[97] Für gewöhnlich ist die Verwendung spaltbarer Linker nach dem Vorbild der genannten natürlichen Sideromycine notwendig, weil Wirkstoffe mit cytoplasmatischen Targets meist nur nach der Abspaltung der Siderophor-Einheit die innere Membran durchdringen können. Da β -Lactam-Antibiotika ihre Wirkung an periplasmatischen Targets entfalten und somit nur die äußere der beiden Zellmembranen durchdringen müssen, können in ihnen nicht-spaltbare Linker eingesetzt werden, die synthetisch weniger anspruchsvoll sind. Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Resistenzbildungen wurden Konjugate mit β -Lactam-Antibiotika allerdings leicht durch β -Lactamasen angegriffen und deaktiviert.^[93-94]

Nachdem die wissenschaftliche Gemeinschaft aus diesen Rückschlägen gelernt hatte, konnten in den vergangenen Jahren vermehrt gute Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Siderophor-Antibiotika-Konjugate erbracht werden.^[81] Als Beispiel sei hier ein explokünstlicher Siderophor genannt, der sich von den natürlichen Siderophoren Agrobactin (**13**) und Fimsbactin A (**14**) ableitet (Abb. 16a,b) und über zwei Catechole und ein Hydroxamat verfügt. Solche gemischten Siderophore sind weniger stark von Resistenzbildung betroffen, da sie über mehrere verschiedene OMR transportiert werden können.^[54] Sowohl durch die Konjugation an das Carbacephalosporin Loracarbef (**15**, Abb. 16c) als auch an Daptomycin (**6**, s. Abb. 2) über deren primäre Aminogruppen konnten Stämme des gramnegativen Bakteriums *Acinetobacter baumannii* gezielt

inhibiert werden. Da Fimsbactin A durch dieses Bakterium produziert wird, sind die Ergebnisse mit den Prinzipien des aktiven Eisentransports kohärent. Die besten Resultate wurden bei einer sehr niedrigen Konzentration an freien Fe^{3+} -Ionen erzielt, die den physiologischen Bedingungen näherkommt als es in den gängigen Nährlösungen der Fall ist. Da der aktive Eisentransport durch Siderophore unter Eisenmangelbedingungen am höchsten reguliert ist, werden dort die besten Ergebnisse beobachtet.^[98-101]

Die Targets von Loracarbef (Mureinschicht) und Daptomycin (Zellmembran) sind vom Periplasma aus zugänglich, weswegen es nicht überrascht, dass für die synthetisierten Konjugate **16a** und **16b** (Abb. 16d) die Verwendung eines nicht-spaltbaren Linkers möglich ist.

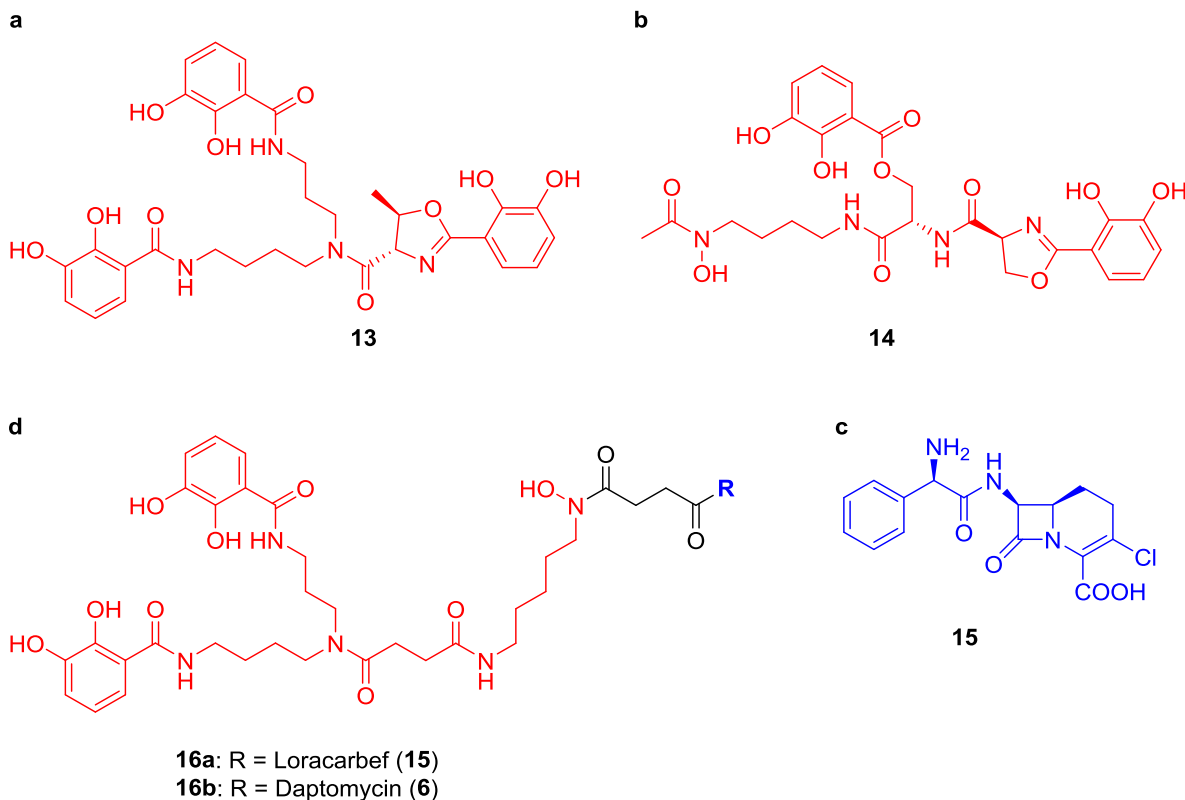


Abbildung 16: Natürlich vorkommende Siderophore a) Agrobactin (**13**) und b) Fimsbactin A (**14**), Carbacephalosporin-Antibiotikum Loracarbef (**15**) sowie Siderophor-Antibiotika-Konjugate **16a** und **16b**. In diesen erfolgte die Kopplung über die primären Aminofunktionen von Loracarbef (**15**) und Daptomycin (**6**).

Auch bei der Inkorporierung antibiotischer Wirkstoffe mit cytoplasmatischen Targets wurden Erfolge erzielt. So rückt beispielsweise die Konjugation von Gyrasehemmern mit

Siderophoren vermehrt in den Fokus der Forschung.^[102] Ein besonders interessantes Konzept für die Bekämpfung resistenter Bakterien stellt die Verwendung eines zweiten Antibiotikums als spaltbarer Linker dar. In Konjugat **17** wurde ein Dicatechol-Siderophor über ein Cephalosporin mit einem Oxazolidinon verbunden (Abb. 17). Nach dem aktiven Transport durch die äußere Zellmembran wird das Konjugat durch β -Lactamasen hydrolisiert. Infolgedessen wird unter Freisetzung von Kohlenstoffdioxid das für gewöhnlich nur gegen grampositive Erreger wirksame Oxazolidinon abgespalten. Bleibt der Angriff durch β -Lactamasen aus, kann das intakt bleibende Cephalosporin selbst seine antibiotische Wirkung entfalten.^[103]

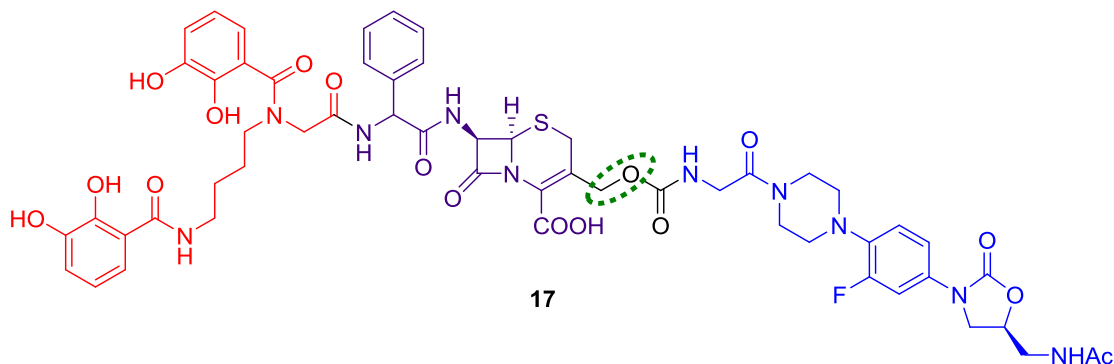


Abbildung 17: Duales Siderophor-Wirkstoff-Konjugat bestehend aus Siderophor (rot), Cephalosporin (violett) und Oxazolidinon (blau). Durch den Angriff von β -Lactamasen wird die grün markierte Bindung am Carbamat gespalten und das Oxazolidinon unter Freisetzung von CO_2 im Zellinnern freigesetzt.

Siderophorkonjugate können anstatt eines Wirkstoffs auch einen Farbstoff beinhalten, um Infektionen sichtbar zu machen. Ein künstlicher Siderophor, der auf der Verbindung DOTAM (1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraacetamid, **18**, Abb. 18a) basiert, wurde mit einem Infrarotfarbstoff gekoppelt und in mit *Pseudomonas aeruginosa* infizierte Mäuse gespritzt. Nach der Internalisierung des Konjugats **19** (Abb. 18b) durch die Bakterien konnte dessen Anreicherung am Infektionsherd beobachtet werden. Dieser Siderophor ist besonders interessant, da er auch in das Cytoplasma von Bakterien eintritt, was einen Vorteil gegenüber vielen anderen Siderophoren darstellt. Da durch die vier Stickstoffatome der zentralen Cycleneinheit Metallionen komplexiert werden, die in der Nuklearmedizin für Behandlungen und bildgebende Verfahren relevant sind, bietet DOTAM eine Plattform für die gleichzeitige Erkennung und Behandlung von Infektionen und stellt ein vielversprechendes Forschungsobjekt dar.^[104-106]

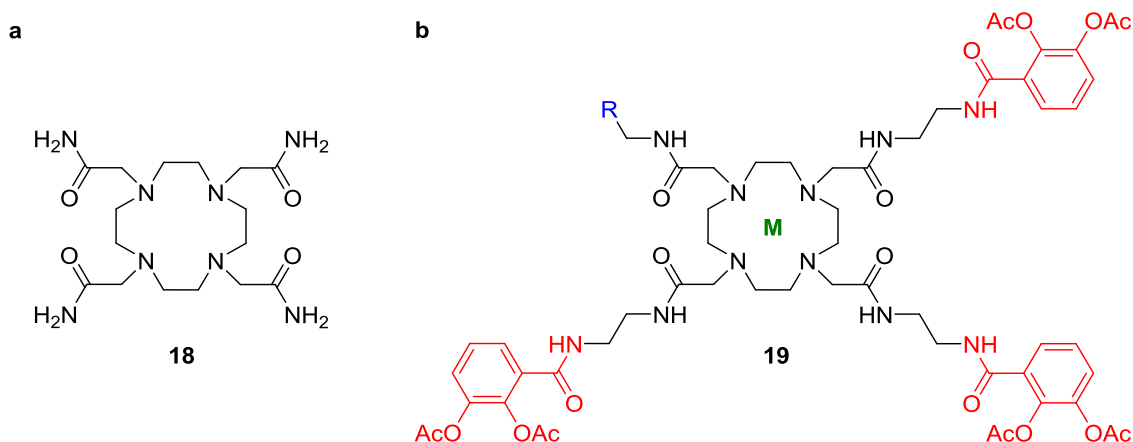


Abbildung 18: Darstellung von a) DOTAM (**18**) und b) darauf basierenden Siderophorkonjugaten (**19**). Die drei eisenkomplexierenden Catecholamide sind rot eingefärbt. Ein potentiell komplexiertes Metallkation ist grün hervorgehoben, bei dem blau dargestellten Rest kann es sich um ein Antibiotikum oder einen Farbstoff handeln.

Den größten Erfolg auf dem Gebiet der Erforschung neuartiger Siderophor-Antibiotika-Konjugate stellt Cefiderocol (**20**, Abb. 19a) dar. In Cefiderocol ist ein Cephalosporin an ein Catechol gebunden. Da es hervorragende Ergebnisse gegenüber antibiotikaresistenten, gramnegativen Bakterien erzielte und alle klinischen Testphasen erfolgreich durchlief, ist es seit November 2019 in den USA für die Behandlung von Harnwegsinfektionen zugelassen und damit das erste Siderophorkonjugat, das flächendeckend als Antibiotikum eingesetzt wird.^[107-110] Cefiderocol wurde von SHIONOGI & CO. LIMITED entwickelt und wird von diesem Unternehmen unter dem Markennamen *Fetroja* vertrieben.^[111]

Cefiderocol setzte sich gegen mehrere Siderophorkonjugate mit β -Lactam-Einheiten durch, da es bessere Aktivität gegen eine größere Bandbreite gramnegativer Bakterien zeigte und weniger anfällig gegenüber Resistenz war. Herauszuheben ist unter diesen die Verbindung BAL30072 (**21**, Abb. 19b), das sich bereits in klinischen Studien befand, diese jedoch nicht erfolgreich durchlaufen konnte.^[95, 112-114]

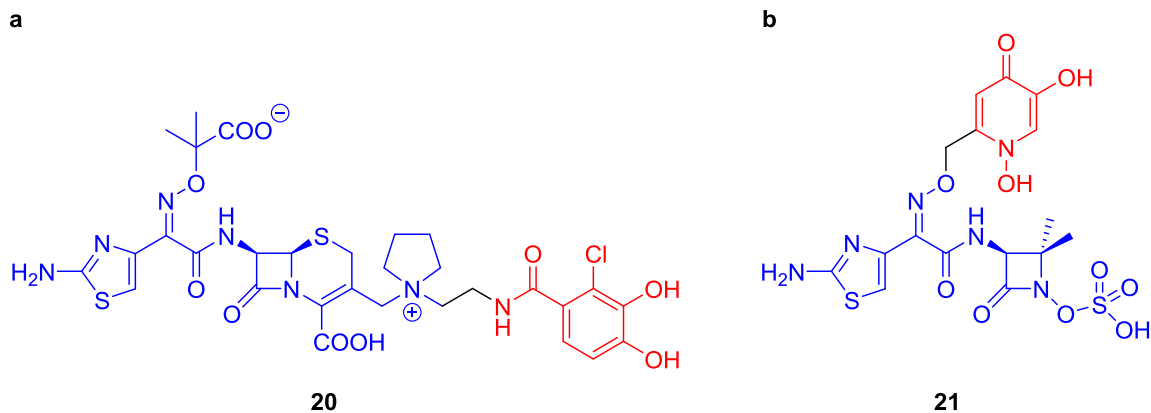
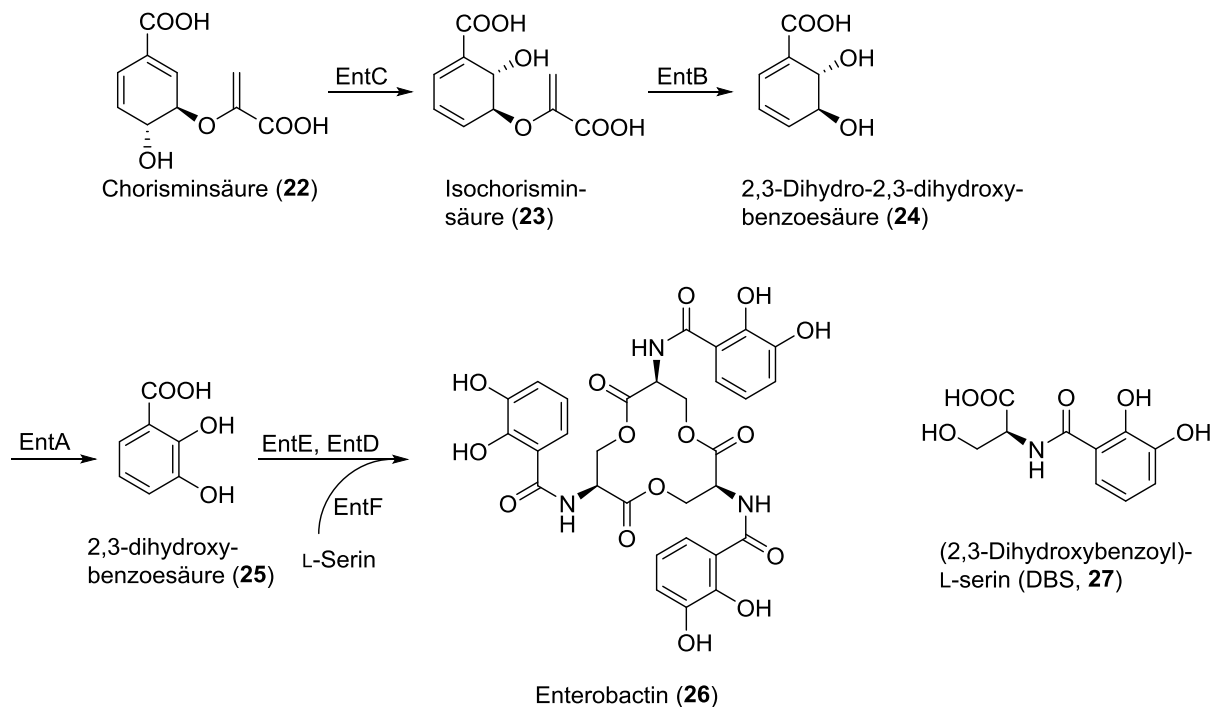


Abbildung 19: Chemische Strukturen der Siderophor-Antibiotika-Konjugate a) Cefiderocol (**20**) und b) BAL30072 (**21**). Antibiotische Molekülteile sind blau, Siderophorstrukturen rot eingefärbt.

Um ein neuartiges und wirksames Siderophorkonjugat herzustellen, wird ein Siderophor benötigt, dessen Aufnahme in möglichst viele verschiedene gramnegative Bakterien sichergestellt ist. Außerdem muss er möglichst leicht zu synthetisieren bzw. zu modifizieren sein und darüber hinaus sehr stabile Komplexe mit Fe^{3+} -Ionen eingehen, um erfolgreich mit den natürlichen Siderophoren des zu bekämpfenden Bakteriums konkurrieren zu können.

1.4.4 Enterobactin

Enterobactin wurde erstmals aus *Salmonella typhimurium* gewonnen, wird aber auch von anderen Bakterienarten wie z.B. *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* produziert.^[115-116] Darüber hinaus wird Enterobactin von mehreren weiteren Bakterienarten als Xenosiderophor genutzt.^[116-117] Die Biosynthese verläuft über NRPS ausgehend von Chorisminsäure (**22**) über Isochorisminsäure (**23**), 2,3-Dihydro-2,3-dihydroxybenzoesäure (**24**) und 2,3-Dihydroxybenzoesäure (**25**) unter Beteiligung von L-Serin. Enterobactin kann als cyclischer Triester beschrieben werden, welcher aus drei kondensierten Molekülen von 2,3-Dihydroxybenzoyl-L-serin (DBS, **27**) besteht. Die Bezeichnungen der beteiligten Synthesepoteine lauten EntA – EntF (Schema 4).^[67, 117]



Schema 4: Darstellung der Biosynthese des Trimers Enterobactin **26** sowie dessen monomeren Bausteins 2,3-Dihydroxybenzoyl-L-serin (DBS, **27**).

Die Komplexbildungskonstante für Fe^{3+} -Ionen liegt bei 10^{-52} , was Enterobactin zu einem der Siderophore mit dem stabilsten Eisenkomplex überhaupt macht.^[118] Dies wird zum einen durch die oktaedrische Komplexierung der drei Catecholgruppen hervorgerufen, die stabilere Komplexbindungen zu dreiwertigem Eisen aufbauen als beispielsweise Hydroxamsäuren. Zum anderen sind die Catecholeinheiten im eisenbeladenen Zustand orthogonal zur zentralen Triserineinheit orientiert. Durch diese intrinsische Ausrichtung der eisenkomplexierenden Motive liegen im Komplex kaum Spannungen der molekularen Gesamtstruktur vor. Nachdem über Jahrzehnte keine Kristallstruktur von eisenbeladenem Enterobactin ermittelt werden konnte, gelang dies schließlich mittels Co-Kristallisation. Die Kristallstruktur ist in Abb. 20 dargestellt und veranschaulicht die beschriebene Vororientierung der Catecholgruppen, die zur Ausbildung eines extrem stabilen oktaedrischen Komplexes führt.^[119-120]

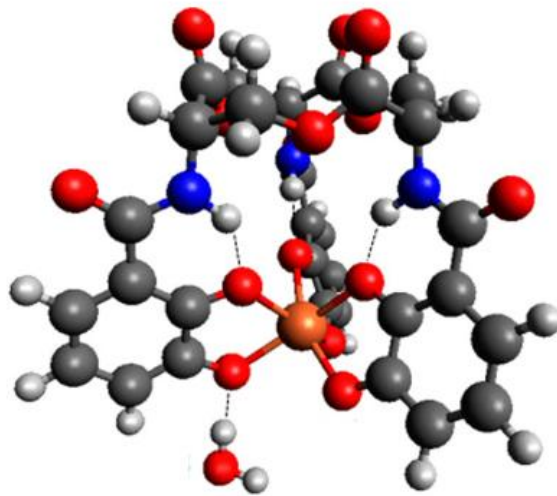


Abbildung 20: Kristallstruktur des Eisen(III)-Komplexes von Enterobactin mit farbiger Hervorhebung von Eisen (orange), Sauerstoff (rot), Stickstoff (blau), Kohlenstoff (grau) und Wasserstoff (weiß). Die Catecholmotive sind von der Trilactonebene (oben) weggerichtet, sodass ein stabiler, spannungsfreier Komplex entsteht. Übernommen von^[120]

Wie in Abschn. 1.4.2 beschrieben verwenden verschiedene Bakterienarten unterschiedliche Siderophore zur Eiseninternalisierung. Dementsprechend sind auch die am Eisentransport beteiligten Erkennungs- und Transportproteine für jedes Bakterium individuell.

In *Escherichia coli* ist der OMR FepA für die Internalisierung von eisenbeladenem Enterobactin verantwortlich. Das PBP FepB transportiert den Komplex anschließend zur inneren Membran, durch die er über einen ABC-Transporter ins Cytoplasma gelangt. Dort werden durch Reduktasen Fe^{2+} -Ionen gebildet und der Komplex wird zusätzlich durch die Hydrolase Fes in DBS-Bausteine zerlegt. Beide Vorgänge bewirken eine Schwächung der Komplexbindungen und führen zur Freisetzung des transportierten Eisens. DBS wird in den extrazellulären Raum effluxiert und kann dort neue Eisenkomplexe bilden. Mit Fiu und Cir stehen *Escherichia coli* zwei OMR zur Verfügung, die Eisenkomplexe aus solchen Abbauprodukten von Enterobactin aufnehmen können. *Escherichia coli* verfügt außerdem mit OMR für die Aufnahme eisenbeladener Hydroxamsiderophoren (FhuA, FhuE, Iut) und von Citrat (FecA) über einen vielfältigen Fe-Aufnahmemechanismus. Sämtliche aufgezählte OMR sind TonB-abhängig (Abb. 21).^[76, 80]

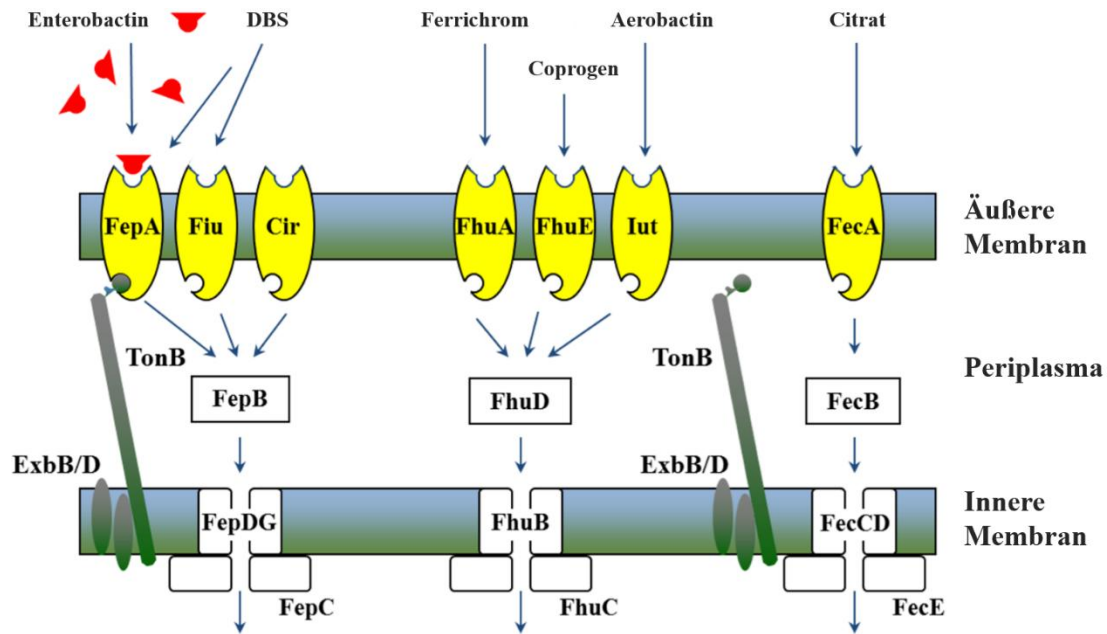
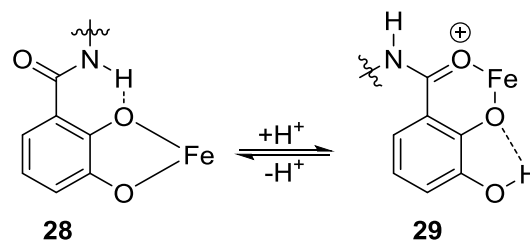


Abbildung 21: Systeme des aktiven Eisentransports in *Escherichia coli*. TonB-abhängiger Transport durch die äußere Membran, periplasmatischer Transport durch PBP und Durchtritt ins Cytoplasma über ATP-Transporter werden dargestellt. Übernommen von^[80]

Die DBS-Einheiten in Enterobactin können Fe^{3+} -Ionen auf zwei Weisen komplexieren. Die bei physiologischen pH-Werten auftretende Catecholatform wird in saurem Milieu durch die protonierte Salicylatform ersetzt (Schema 5).



Schema 5: pH-abhängiger Übergang von Catecholatform (28) zur Salicylatform (29).

Unter physiologischen Bedingungen wird die Catecholatform bevorzugt, da hier bei der Eisenchelatisierung ein Fünfring ausgebildet wird. Der im Salicylatmodus vorliegende Sechsring ist für eine höhere Molekülspannung verantwortlich, was diese Form thermodynamisch instabiler macht.^[121]

Oktaedrische Komplexe aus drei zweizähligen Liganden sind chiral. Die Struktur der beiden möglichen Enantiomere erinnert an einen aus drei Flügeln bestehenden Propeller.

Sie werden durch die Stereodeskriptoren Λ (Lambda) für einen linksdrehenden und Δ (Delta) für einen rechtsdrehenden Propeller unterschieden. In Abb. 22 sind Schrägsicht (a) und Draufsicht (b) solcher Enantiomere dargestellt.^[67, 80]

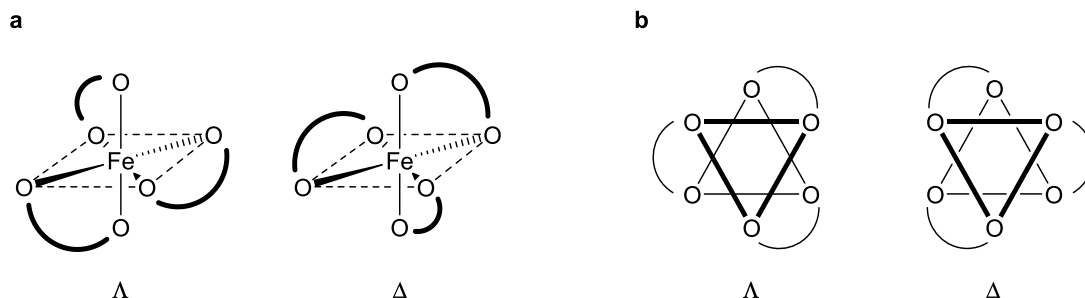


Abbildung 22: Lambda- und Deltaform von oktaedrischen Catecholatkomplexen, dargestellt aus a) schräger und b) Vogelperspektive. Adaptiert von^[67, 80]

Ohne äußere Stereoinformation sind beide Formen thermodynamisch äquivalent. Das chirale Enterobactin bildet jedoch Eisen(III)-Komplexe mit Delta-Konfiguration. Enantio-Enterobactin, welches Komplexe in Lambda-Form bildet, fördert nicht das Wachstum von *Escherichia coli*, da es durch Fes nicht hydrolysiert wird. Die Stereokonfiguration ist also für den mikrobiellen Eisentransport relevant.^[122]

Die weite Verbreitung von Enterobactin und dessen Fähigkeit, sehr starke Komplexe mit dreiwertigen Eisenionen auszubilden, haben Enterobactin zu dem am besten untersuchten Siderophor überhaupt gemacht, sodass wiederholt bis dato unbekannte Funktionen dieses Siderophors entdeckt wurden.^[117, 123-125]

Enterobactin wurde bereits als Basis für Siderophor-Wirkstoff-Antibiotika verwendet. Da solche Konjugate nicht mehr C₃-symmetrisch sind, ist deren Synthese deutlich umständlicher als die leicht durchführbare Synthese von Enterobactin.^[117, 126-127] Die Instabilität des zentralen Trilactons erschwert zudem den Umgang von Enterobactin-derivaten. Stattdessen können künstliche Analoga verwendet werden, die Eisen(III)-komplexe vergleichbarer Stabilität bilden und leichter handhabbar sind.

1.4.5 MECAM

1,3,5-Tris(*N,N,N'*-2,3-dihydroxybenzoyl)aminomethylbenzol, kurz MECAM (**30**, Abb. 23) ist ein künstlich synthetisierter Siderophor und wurde bereits 1978 beschrieben.^[128]

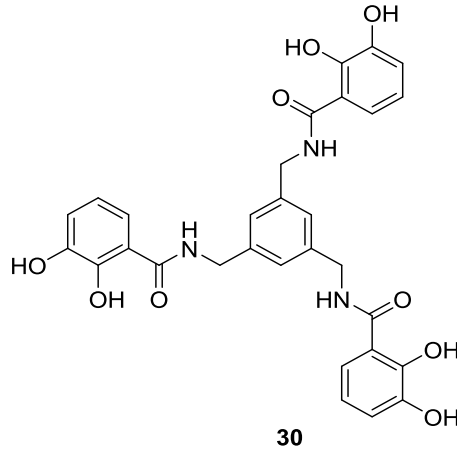


Abbildung 23: Chemische Struktur des Enterobactin-Analogons MECAM (**30**).

MECAM entstammt einer Gruppe von Enterobactin-Analoga, in denen ebenfalls Catechole vorliegen, das zentrale Trilactongerüst jedoch durch einen aromatischen Kern ersetzt ist.^[129] Von diesen bildet es die stärksten Komplexe mit Fe^{3+} -Ionen ($K = 10^{-46}$).^[130] Der im Vergleich zu Enterobactin etwas schwächere Wert kommt durch die fehlende Vororientierung der Catechole zustande, die in MECAM in die Ebene des zentralen aromatischen Ringes ausgerichtet sind.^[131] Dennoch ist der gebildete Komplex sehr stabil und MECAM eines der potentesten Analoga von Enterobactin.^[132-133] Ein gleichartiges Enterobactin-Analogon mit zentraler Cyclohexyl-Einheit konnte trotz vorhandener Präorientierung der Catechole kein besseres Ergebnis liefern.^[134] MECAM ist dazu in der Lage, Fe^{3+} -Ionen durch die äußere Membran von *Escherichia coli* zu transportieren und das Bakterium so mit dem essentiellen Nährstoff Eisen zu versorgen. Es nutzt hierbei die OMR, die den aktiven Eisentransport durch natürliche Siderophore ermöglichen.^[129] Anders als Enterobactin gelangt es jedoch kaum ins Cytoplasma, sondern wird im Periplasma angereichert.^[135] Da bislang keine Antibiotikakongugate mit MECAM bekannt sind, stellt es somit einen vielversprechenden Ausgangspunkt für die Synthese neuartiger Siderophor-Wirkstoff-Kongugate mit periplasmatischen Targets dar.

1.5 NHC-Goldkomplexe als potentielle Antibiotika in Siderophorkonjugaten

Metalle können nicht nur genutzt werden, um Antibiotika in ein Bakterium einzuschleusen, sondern auch direkt für die antibiotische Wirkung von Medikamenten verantwortlich sein. In einem neu erforschten Therapieansatz wird Gallium anstelle von Eisen durch Bakterien aufgrund der ähnlichen Ionenradien aufgenommen. Da Gallium im Gegensatz zu Eisen keinen Nährstoff für Bakterien darstellt, sondern diese schädigt, kann die Gabe von Galliumnitrat zur Bekämpfung antibiotikaresistenter Keime verwendet werden.^[136] Darüber hinaus kann Silber genutzt werden, um die äußere Zellmembran gramnegativer Bakterien zu perforieren und damit das Wirkspektrum von Antibiotika zu erhöhen, die gewöhnlich nur gegen grampositive Keime eingesetzt werden können. Diese Vorgehensweise ermöglicht die Bekämpfung von Persistenz und damit auch den Abbau von Biofilmen.^[137]

Ein weiteres Metall, das in der Medizin zur Behandlung genutzt wird, ist Gold. Zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis werden mit Auranofin (**31**, Abb. 24a) und (Di-)Natriumaurothiomalat (**32a,b**, Abb. 24b) zwei Wirkstoffe eingesetzt, die dieses Edelmetall in der Oxidationsstufe +I beinhalten.^[138] In beiden tritt eine Bindung von Gold zu Schwefel auf, das für seinen aurophilen Charakter bekannt ist.^[139] Aufgrund der hohen Nebenwirkungen werden diese Goldverbindungen nur noch dann zur Behandlung eingesetzt, wenn besser verträgliche Wirkstoffe versagen.

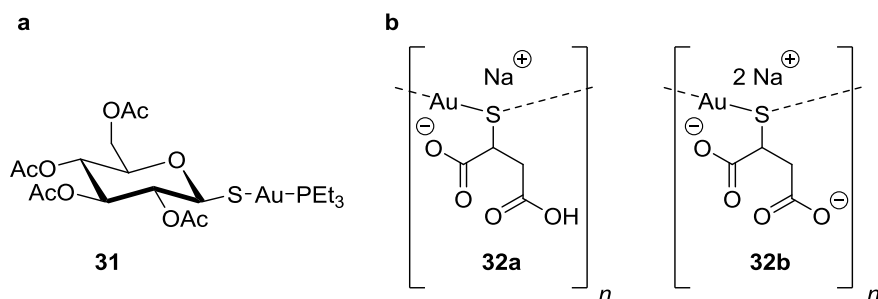


Abbildung 24: Zugelassene Antibiotika, die Gold beinhalten. a) Auranofin (**31**). b) Mono- (**32a**) und Dinatriumaurothiomalat (**32b**).

Auranofin wird außerdem als potentieller Wirkstoff in der Krebsforschung und in der Behandlung neurodegenerativer Krankheiten diskutiert.^[140-141] Eine antivirale Aktivität gegenüber SARS-CoV-2 konnte ebenfalls gezeigt werden.^[142]

Als Liganden für Gold(I)-Komplexe kommen in der Chemie häufig *N*-heterocyclische Carbene (NHC) zum Einsatz.^[143] Solche Komplexe werden bezüglich ihrer Eignung als Therapeutika in der Krebs- und Infektionsforschung untersucht.^[144] Die in Abb. 25 dargestellten Verbindungen **33** – **35** sowie einige ihrer Derivate zeigten neben einer Wirksamkeit gegen Krebszellen auch Aktivitäten gegenüber antibiotikaresistenten, grampositiven Bakterienstämmen. Die Monocarbene Komplexe zeigten dabei im Vergleich mit Biscarbene Komplexen bessere Aktivitäten.^[145-146]

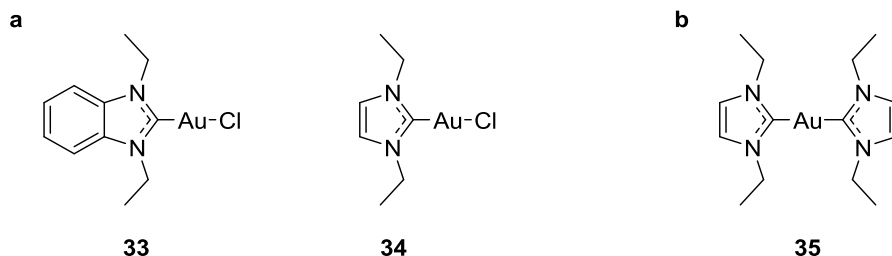


Abbildung 25: Chemische Strukturen von NHC-Gold(I)-Komplexen mit cytotoxischer und antibakterieller Wirkung gegenüber grampositiven Keimen. a) Monocarbene Komplexe **33** und **34**. b) Biscarbene Komplex **35**.

Mechanistisch beruht ihre Wirkung auf der Hemmung von Thiothioninreduktase (TrxR), die sowohl in prokaryotischen als auch in eukaryotischen Zellen vorkommt.^[147] Da die Komplexe stark cytotoxisch wirken und im Menschen vorkommende TrxR ebenfalls angreifen, sind Modifikationen für einen gefahrlosen Einsatz als Arzneistoff notwendig. Hierfür stellt deren Inkorporation in Siderophorkonjugate eine vielversprechende Möglichkeit dar. Der aktive Transport in das Cytoplasma gramnegativer Bakterien sollte die Selektivität der Komplexe in Richtung des bakteriellen Targets verschieben und das Wirkspektrum gleichzeitig auf gramnegative Bakterien erweitern.

1.6 Spektroskopische Methoden zur detaillierten Analyse von Siderophoren

1.6.1 Allgemeine Vorbemerkungen zur Untersuchung von Siderophoren

Die im Zuge dieser Arbeit synthetisierten neuartigen Siderophore sind mithilfe chemischer, physikalischer und biologischer Methoden zu untersuchen. Die Mehrzahl dieser Analysemethoden sind innerhalb der chemischen Biologie allgemein bekannt oder bedürfen nur einer kurzen einleitenden Erklärung. Die Mößbauer-Spektroskopie und die Elektronenspinresonanz, mit deren Hilfe Übergangsmetallkomplexe detailliert untersucht werden können, werden dagegen hauptsächlich in der anorganischen und physikalischen Chemie eingesetzt. Da die beiden genannten spektroskopischen Methoden für diese Arbeit im Zuge der Ermittlung der Spinkonfiguration von Eisen(III)-Siderophor-Komplexen relevant sind, findet an dieser Stelle eine Darlegung der theoretischen Hintergründe statt.

1.6.2 Theoretische Grundlagen zur Spinkonfiguration von Eisen(III)-Komplexen

Bei der Spinkonfiguration von Übergangsmetallkomplexen mit idealer oktaedrischer Geometrie kann es sich entweder um eine *high spin*- oder eine *low spin*-Konfiguration der Valenzelektronen handeln. Die 3d-Orbitale sind hier nicht entartet, sondern liegen in zwei verschiedenen Energieniveaus. Sie werden in drei t_{2g} -Orbitale niedrigerer Energie und zwei e_g -Orbitale höherer Energie aufgespalten. Diese Orbitale werden mit den fünf Valenzelektronen aufgefüllt, über die dreiwertige Eisenionen verfügen. Liegen die Energieniveaus der t_{2g} - und e_g -Orbitale nahe beieinander, so wird jedes der fünf 3d-Orbitale gemäß der Hundschen Regel durch ein Elektron besetzt und ein *high spin*-System ausgebildet. Übersteigt die Aufspaltungsenergie ΔE hingegen die Spinpaarungsenergie, so werden nur die t_{2g} -Orbitale gefüllt, sodass ein *low spin*-System entsteht. Die im Fall von Eisen(III)-Komplexen exakt halb gefüllte 3d-Schale begünstigt eine *high spin*-Konfiguration energetisch besonders, da sich hier in jedem der fünf Orbitale genau ein Elektron befindet. (Abb. 26).

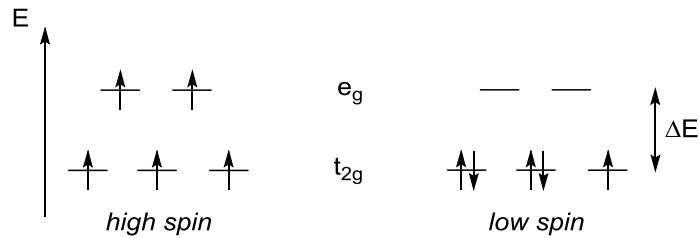


Abbildung 26: In oktaedrischen Übergangsmetallkomplexen werden die 3d-Orbitale in zwei Energieniveaus (t_{2g} und e_g) aufgespalten. Für Fe^{3+} -Komplexe führt die Füllung dieser Orbitale mit den fünf Valenzelektronen zu den beiden möglichen Spinkonfigurationen *high spin* (links) und *low spin* (rechts). Welcher der beiden Zustände gebildet wird, hängt von der Größe der Aufspaltungsenergie ΔE ab.

In der Tat ist ein oktaedrisch koordinierender Siderophor, in dem der *low spin*-Zustand thermodynamisch stabiler ist als der *high spin*-Zustand, nicht literaturbekannt.

1.6.3 Theoretische Grundlagen der Mößbauer-Spektroskopie

Werden Elektronen durch von außen eingebrachte Energie in erhöhte Quantenzustände angehoben, so tritt bei der Relaxation eine Strahlungsemission auf. Diese Emission kann sich in Fluoreszenz oder Phosphoreszenz äußern. Für Atomkerne ist ein vergleichbarer Mechanismus möglich. Die hierbei auftretenden Energien sind dabei deutlich höher, sodass für die Anregung eines Atomkerns die Bestrahlung mit γ -Quanten erforderlich ist. Wird der Atomkern dabei genau in den nächsthöheren Quantenzustand befördert, entspricht die Energie der bei der Relaxation freiwerdenden γ -Strahlung exakt der Anregungsenergie. Daher wird dieser Fall auch als Resonanzabsorption bezeichnet. Die von angeregten Atomkernen abgegebene Strahlung kann von einem Detektor gemessen werden. Da γ -Quanten eine vergleichsweise hohe Energie besitzen, üben sie beim Verlassen des relaxierenden Atomkerns auf diesen einen Rückstoß aus, bei dem ein Teil der Strahlungsenergie abgegeben wird. Durch die Einbettung der Strahlungsquelle in eine starre Matrix (z.B. ein Kristallgitter) kann dieser Energieverlust vermieden werden. Diese rückstoßfreie Resonanzabsorption von γ -Strahlung an Atomkernen wird als Mößbauer-Effekt bezeichnet. Da der Bindungszustand eines Atoms die Quantenniveaus des Atomkerns beeinflusst, stellt die auf jenem Effekt basierende Mößbauer-

spektroskopie eine empfindliche Methode dar, Bindungsgeometrien und Oxidationsstufen zu bestimmen.^[148]

Eine Spezies, die sich gut zur Analyse mittels Mößbauerspektroskopie eignet, ist das Eisenisotop ^{57}Fe . Durch die spontane Umwandlung von ^{57}Co wird ein energetisch angeregtes ^{57}Fe -Isotop erzeugt, das bei der Relaxation eine Energie von 14.400 eV freisetzt. Handelt es sich bei der zu untersuchenden Verbindung nicht um elementares Eisen in identischer chemischer Umgebung, sondern um eine andere Eisenspezies, so stimmt die eingestrahlte Energie nicht exakt mit der Anregungsenergie überein. Resonanz wird erst erreicht, wenn Sender und Empfänger relativ zueinander bewegt werden. Dies wird erreicht, indem die radioaktive Strahlungsquelle in Bezug auf die zu vermessende Probe sinusoidal vor- und zurückbewegt wird. Die auftretende Dopplerverschiebung ermöglicht dann die Angleichung von Emissions- und Anregungsenergie. In einem Mößbauerspektrum wird dementsprechend die Transmission gegen die Relativgeschwindigkeit von Strahlungsquelle und Absorber aufgetragen.^[149] Insgesamt existieren drei wichtige Parameter, die direkt aus einem Mößbauerspektrum ausgelesen werden können und deren Analyse Rückschlüsse auf den Bindungszustand einer Eisenverbindung zulässt.^[150-151]

Die *Isomerieverschiebung* bezeichnet die Abweichung des gemessenen Signals vom Nullpunkt der Abszisse. Die s-Elektronendichte am Kernort nimmt Einfluss auf dessen Energie. Da Atomkerne im Grund- und im angeregten Zustand verschiedene Ladungsverteilungen aufweisen, ist dieser Einfluss für die jeweiligen Zustände verschieden groß. Diese Differenz macht sich durch die Isomerieverschiebung bemerkbar. Für ^{57}Fe bedeutet eine höhere s-Elektronendichte am Kernort eine Verschiebung in negativer Richtung der Abszisse. Durch die Isomerieverschiebung können *high spin* von *low spin*-Komplexen unterschieden werden. In oktaedrischen Komplexen werden freie Orbitale des Zentralatoms mit sechs von den Liganden stammenden Elektronenpaaren aufgefüllt, was für die *low spin*-Konfiguration eine höhere 3d-Elektronendichte nach sich zieht als für den betreffenden *high spin*-Komplex (Abb. 27). Die daraus resultierende erhöhte Abschirmung der 4s-Elektronen führt zu einer geringeren Elektronendichte am Kernort, sodass ein *low spin*-Komplex eine im Vergleich zum verwandten *high spin*-Komplex positivere Isomerieverschiebung hervorrufen sollte.

	3d					4s	4p				4d			
hs	↑	↑	↑	↑	↑			
ls	↑↓	↑↓	↑					

Abbildung 27: In oktaedrischen *high spin*- und *low spin*-Komplexen von dreiwertigem Eisen ist die Anordnung der Valenzelektronen unterschiedlich. Die höhere Anzahl an 3d-Elektronen in der *low spin*-Konfiguration (neun gegenüber fünf) schirmt die Elektronendichte des 4s-Orbitals stärker vom Kernort ab.

Unter dem Begriff *Quadrupolaufspaltung* ist ein Phänomen bekannt, durch welches die Resonanzlinie in zwei getrennte Linien aufgespalten wird. Dies wird durch die Wechselwirkung inhomogener elektrischer Felder mit dem nuklearen Quadrupolmoment Q hervorgerufen. Ein inhomogenes elektrisches Feld tritt im Molekül auf, wenn die Valenzelektronen oder die Liganden nicht kugelsymmetrisch verteilt sind. Da für drei zweizählige Liganden die ideale Oktaedergeometrie nie exakt erreicht wird, ist für beide Spinkonfigurationen eine Quadrupolaufspaltung zu erwarten. Sie sollte für *low spin*-Komplexe jedoch größer sein, da hier, anders als im *high spin*-Fall, die 3d-Elektronen nicht gleichmäßig auf die 3d-Orbitale verteilt sind (s. Abb. 26, 27)

Eine *magnetische Aufspaltung* wird beobachtet, wenn am Kern ein magnetisches Feld anliegt. Einem Zeeman-Effekt entsprechend wird der Grundzustand in zwei und der angeregte Zustand in vier Energieniveaus aufgespalten. Die quantenmechanischen Auswahlregeln lassen zwischen diesen Niveaus sechs verschiedene Übergänge bei der Relaxation zu, sodass ein charakteristisches Spektrum entsteht, das sechs Linien beinhaltet. Wird kein externes Magnetfeld angelegt, ist dieser Effekt am prägnantesten für ferromagnetisches elementares Eisen und ferrimagnetische Verbindungen wie z.B. Eisenoxide und Eisenoxidhydroxide ausgebildet.

1.6.4 Theoretische Grundlagen der Elektronenspinresonanz (ESR)

Die ESR-Spektroskopie stellt ein potentes Werkzeug zur Untersuchung paramagnetischer Verbindungen dar.^[152-153] Wirkt auf eine solche Verbindung ein äußeres Magnetfeld, so wird das magnetische Moment der Elektronen entweder parallel oder antiparallel zum anliegenden Magnetfeld ausgerichtet, sodass Zustände unterschiedlicher energetischer Lage entstehen (Zeeman-Effekt). Wird an die Probe nun eine elektromagnetische Strahlung im Mikrowellenbereich angelegt, kann ein ungepaartes Elektron vom niedrigeren in den höheren Energiezustand angeregt und die dabei auftretende Resonanzabsorption gemessen werden. Das zugrunde liegende Prinzip gleicht dem der NMR-Spektroskopie. Die nuklearen Energieniveaus liegen jedoch energetisch näher beieinander, sodass für die NMR-Spektroskopie Radiowellen zu verwenden sind, die ESR-Spektroskopie dagegen mit Mikrowellenstrahlung durchgeführt wird.

Die Aufspaltung der Energieniveaus wächst mit der Anzahl an ungepaarten Elektronen in der untersuchten Verbindung. Daher kann durch ESR-Spektroskopie ein *high spin*- von einem *low spin*-System unterschieden werden. Zur Aufnahme eines ESR-Spektrums wird an die Probe der zu untersuchenden Substanz eine gleichbleibende elektromagnetische Strahlung angelegt, während die Stärke des Magnetfelds verändert wird. Im daraus resultierenden Spektrum kann die Absorption gegen den Landé-Faktor g aufgetragen werden. Dieser Wert sollte für einen Gesamtspin von $1/2$ (*low spin*) einen Wert von 2 annehmen, während er für einen Gesamtspin von $5/2$ (*high spin*) deutlich höher liegen sollte.

2 Zielsetzung

Siderophor-Wirkstoff-Konjugate stellen eine vielversprechende Möglichkeit dar, Antibiotikaresistenzen zu bekämpfen und das Wirkspektrum von Antibiotika, die nur gegen grampositive Erreger wirksam sind, auf gramnegative Bakterien zu erweitern. Durch die Nutzung des mikrobiellen aktiven Eisentransports kann mit der äußeren Zellmembran ein Hindernis überwunden werden, das den Einsatz vieler Medikamente gegenüber gramnegativen Bakterien bislang unmöglich macht.

Das Ziel dieser Arbeit bestand zunächst darin, künstliche Siderophore zu synthetisieren und diese auf ihre Fähigkeit hin zu überprüfen, Komplexe mit dreiwertigen Eisenionen zu bilden. Solche Eisenkomplexe waren bezüglich ihrer Struktur und Energetik zu untersuchen. Synthetisierte Siderophore, die von *Escherichia coli* als Xenosiderophore akzeptiert wurden, sollten zu Siderophor-Antibiotika-Konjugaten umgesetzt werden. Die dargestellten Konjugate waren anschließend chemisch zu charakterisieren. Des Weiteren sollten die biologischen Eigenschaften der Konjugate durch den Einsatz gegen klinisch relevante Bakterienstämme untersucht werden.

Auf der Suche nach neuartigen Konjugaten lag das Augenmerk auf der Verwendung des künstlichen Siderophors MECAM, der sich in seiner Struktur und seinen Eigenschaften am natürlichen Siderophor Enterobactin orientiert (Abb. 28). Da Enterobactin in *Escherichia coli* hauptverantwortlich für den Eisentransport ist, sollten Konjugate mit einem Enterobactin-Analogen wie MECAM gegenüber dieser Bakterienart gute Wirksamkeiten zeigen.

Die Entwicklung einer robusten und effizienten Synthese sollte aufgrund der höheren Stabilität von MECAM im Vergleich zu Enterobactin möglich sein.

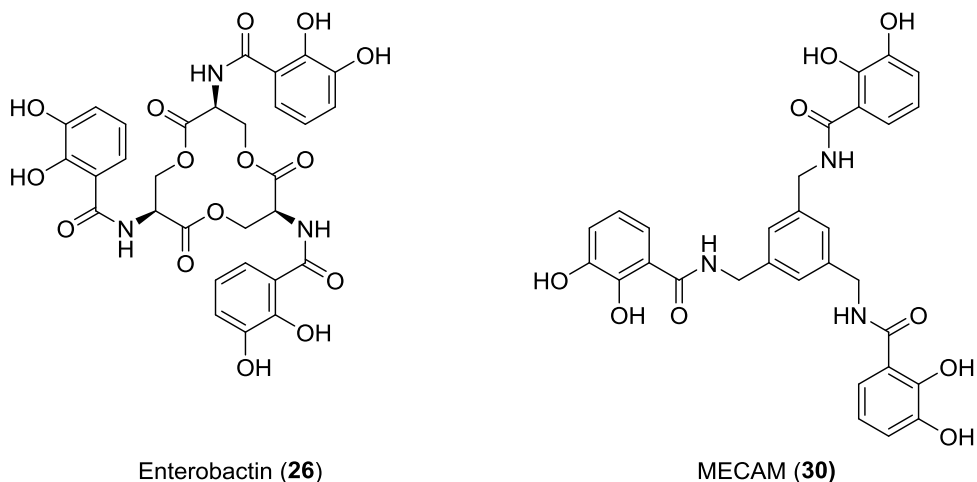


Abbildung 28: Gegenüberstellung von Enterobactin (26) und MECAM (30).

Um die Auswirkungen struktureller Veränderungen des verwendeten Siderophors auf die Eisentransporteigenschaften zu untersuchen, wurde außerdem die Modifikation von MECAM angestrebt (Abb. 29a). Die Vergrößerung des Abstands zwischen dessen zentraler aromatischer Einheit und den peripheren Catecholamiden sollte interessante Rückschlüsse auf die Struktur-Wirkungsbeziehung von MECAM-Derivaten zulassen. Eine Veränderung der aromatischen 1,3,5- hin zu einer 1,2,3-Trisubstitution war ebenfalls zu untersuchen (Abb. 29b).

Siderophore, deren Konjugate von bakteriellen Catechol-Rezeptoren erkannt werden sollen, müssen über ein [3+1]-Substitutionsmuster verfügen. Von einer zentralen Struktureinheit gehen dabei drei Verzweigungen aus, an deren Enden die zur Eisenkomplexierung nötigen Catecholamide liegen. An einem vierten Ankerpunkt wird der Linker angebracht, der den Siderophor mit einem Antibiotikum verbindet. Neben MECAM mit seinem aromatischem Zentrum sind auch andere Verbindungen denkbar, die über geeignete Grundstrukturen verfügen. So wurde ebenfalls die Synthese neuartiger Siderophore ins Auge gefasst, die auf Adamantan bzw. Cyclopropan basieren. Für beide Motive ist die erforderliche [3+1]-Derivatisierung denkbar (Abb. 29c,d).

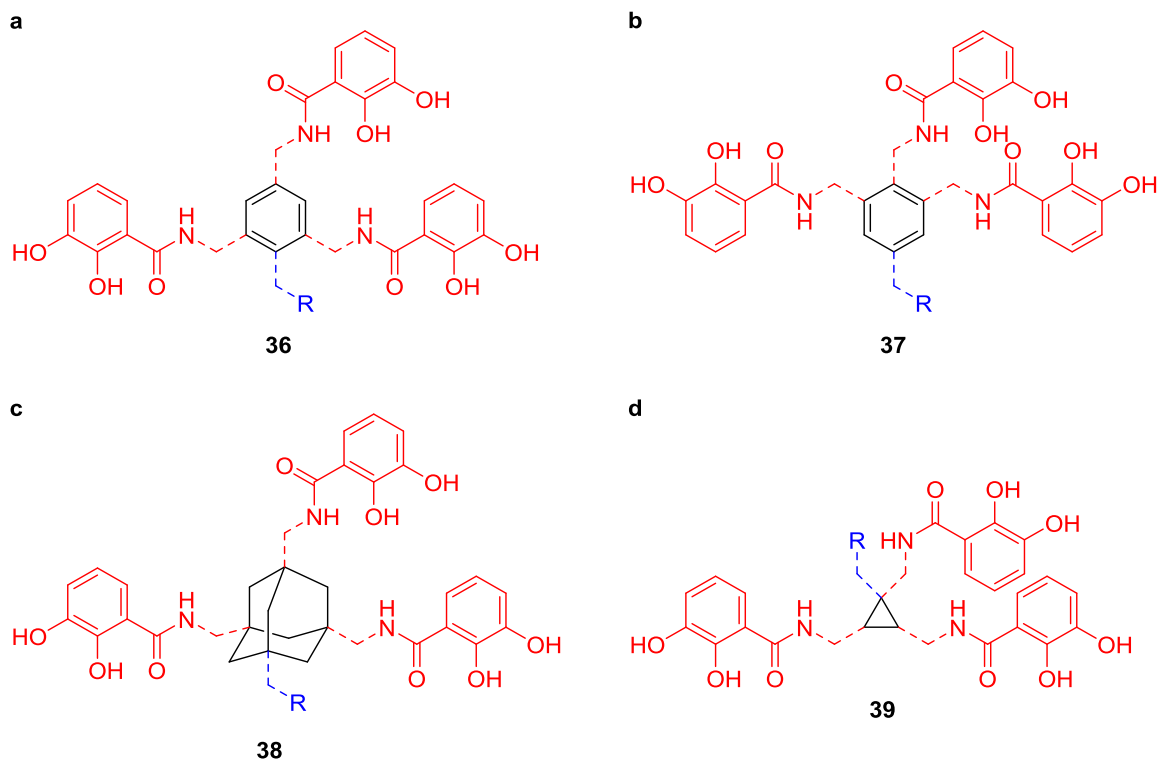


Abbildung 29: Vergleich angestrebter Zielstrukturen ausgehend von a) MECAM (**36**), b) einem MECAM-Analogon mit 1,2,3-Trisubstitutionsmuster (**37**), c) Adamantan (**38**), d) Cyclopropan (**39**). Die Kernstrukturen sind schwarz, die Siderophore rot und die Linker mit angehängten Wirkstoffen (R) blau dargestellt. Gestrichelte Linien kennzeichnen variable Verknüpfungslängen und -arten.

Auch in solchen Adamantyl- und Cyclopropyl-Siderophoren sollten die Auswirkungen verschiedener Abstände zwischen Kerneinheit und Catecholamiden auf die Eisentransporteigenschaften der Siderophore untersucht werden. Diese Untersuchungen waren darüber hinaus durch computerchemische Rechnungen zu unterstützen. Solche Rechnungen sollten in der Arbeitsgruppe von Professor Jörg Grunenberg an der TU Braunschweig durchgeführt werden und die Vorhersage stabiler Fe^{3+} -Komplexe mit den synthetisierten Siderophoren ermöglichen.

Nach der Synthese der Siderophore waren diese in biologischen Untersuchungen mit Enterobactin zu vergleichen. Ihre Eignung als Xenosiderophor in *Escherichia coli* musste gewährleistet sein, um im nächsten Schritt wirksame Siderophor-Wirkstoff-Konjugate zu erforschen. Nur künstliche Siderophore mit überzeugenden Eisentransporteigenschaften kamen hierfür infrage. Die Konjugation mit β -Lactam-Antibiotika wurde in den Fokus genommen, da für MECAM ein Transport ins Periplasma gramnegativer Bakterien, nicht jedoch in deren Cytoplasma erwartet wurde. Gleichzeitig sollte die Verwendung von

β -Lactam-Antibiotika die Nutzung nicht-spaltbarer Linker ermöglichen. Veränderungen der Linkerstruktur bezüglich Polarität und Sterik wurden zusätzlich angestrebt, um die damit verbundenen Auswirkungen auf die Leistungsfähigkeiten hergestellter Siderophor-Wirkstoff-Konjugate zu erforschen. Konjugate, die gegen *Escherichia coli* Wirksamkeit zeigten, waren anschließend gegen das gesamte ESKAPE-Panel zu testen, um ihre Wirkspektren insbesondere gegen antibiotikaresistente Keime zu bestimmen.

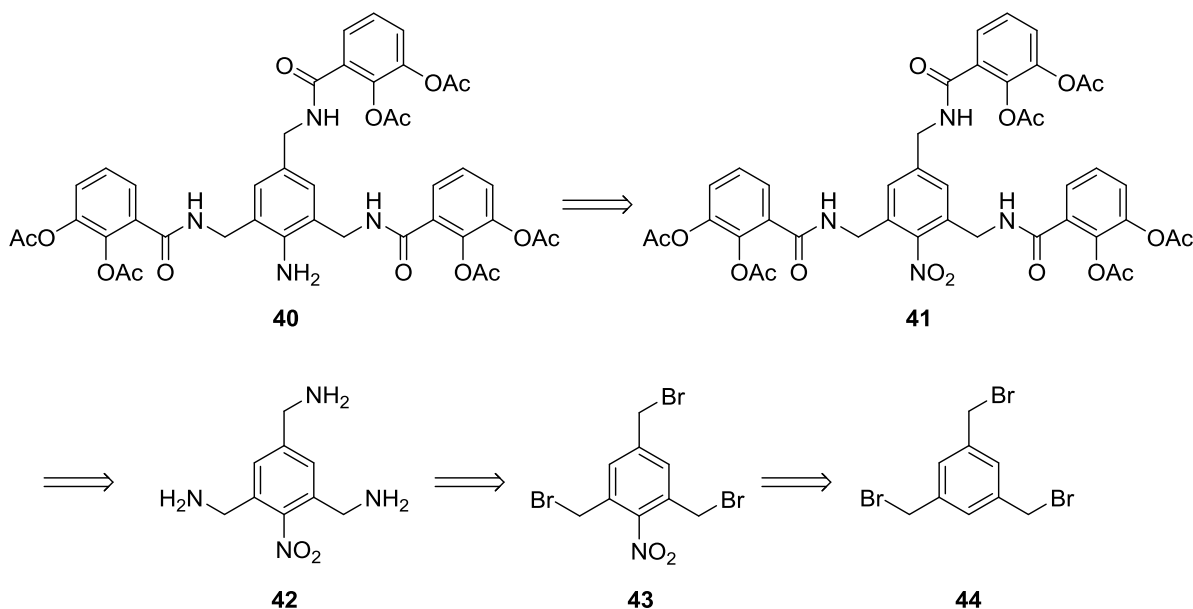
Darüber hinaus sollten die in Abschn. 1.5 beschriebenen NHC-Gold(I)-Komplexe sowohl mit Siderophoren als auch mit geeigneten Antibiotika konjugiert werden, um die dabei entstehenden Veränderungen bezüglich Wirkspektrum und Toxizität untersuchen zu können. Die so gewonnenen Erkenntnisse würden einen wichtigen Schritt in Richtung eines selektiv wirksamen und verträglichen Goldantibiotikums darstellen.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese künstlicher Siderophore

3.1.1 MECAM und dessen Derivate

Für die Synthese eines [3+1]-substituierten MECAM-Motivs wurde ein retrosynthetischer Plan ausgearbeitet (Schema 6). Dieser sah die Nitrierung von 1,3,5-Tris(brommethyl)-benzol (**44**) vor. Ausgehend von Verbindung **43** sollte über die Bildung eines Triamins **42** der Aufbau der MECAM-Einheit erfolgen. Die Reduktion der Nitroverbindung **41** zum Anilinderivat **40** sollte die Installation eines Linkers an der aromatischen Aminogruppe ermöglichen.

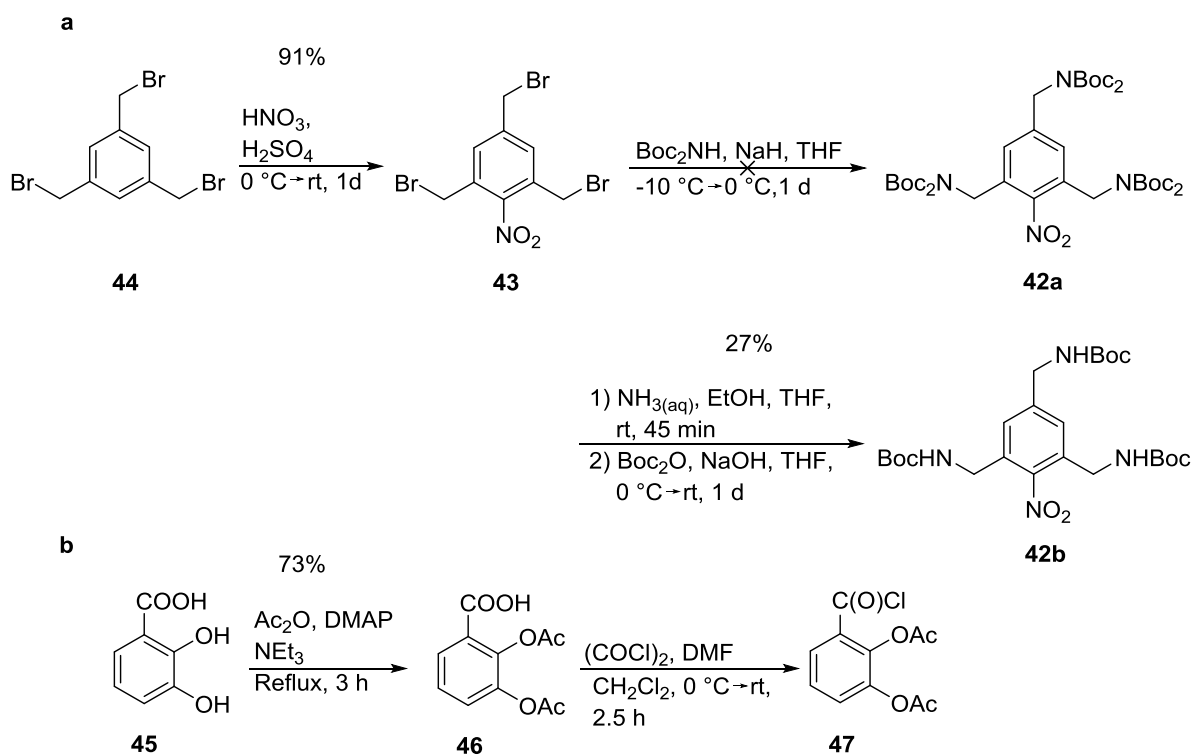


Schema 6: Retrosynthetische Planung der Synthese eines [3+1]-derivatisierten MECAM-Siderophors.

Da in physiologischer Umgebung freie Catechole durch Catechol-O-methyltransferase methyliert und dadurch für Komplexbildungen deaktiviert werden, kamen acetylierte Catechole zum Einsatz. Gleichzeitig fungierten die Acetylreste als Schutzgruppen in der chemischen Synthese.^[154]

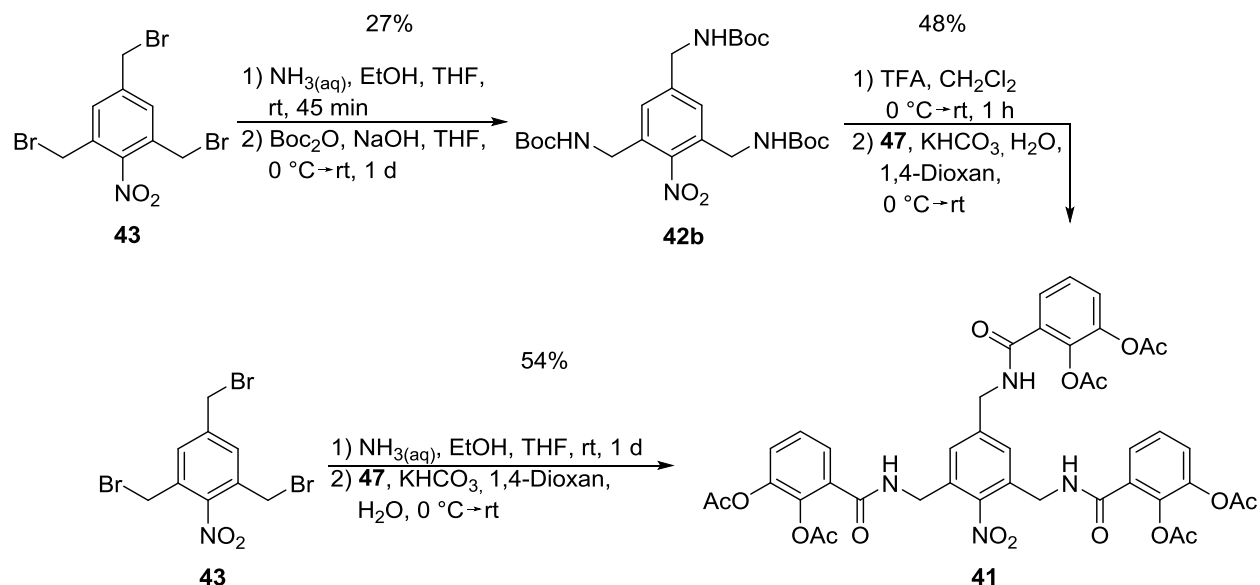
In der Mehrheit der literaturbekannten MECAM-Synthesen wird die benzyliche CH₂-Gruppe reaktiv erhalten.^[155-157] Da ein solches Vorgehen die Intaktheit der Nitrogruppe gefährdet hätte, wurde als Startmaterial die kommerziell erhältliche Tribromverbindung **44** gewählt, die bereits über benzyliche Methylengruppen verfügt.

Der Einsatz von Nitriersäure lieferte Verbindung **43**.^[158] Die anschließende Substitution durch eine Aminfunktion mit Di-*tert*-butyliminodicarboxylat (Boc₂N) gelang nicht. Stattdessen wurden erfolgreich Ammoniakwasser und Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc₂O) eingesetzt, um nitriertes MECAM zu gewinnen **42b** (Schema 7a). Durch Acetylierung von 2,3-Dihydroxybenzoesäure (**45**) und anschließende Aktivierung von Zwischenprodukt **46** mit Oxalylchlorid wurde Säurechlorid **47** hergestellt, über welches die Einbringung der Catecholeinheiten ermöglicht wurde (Schema 7b).



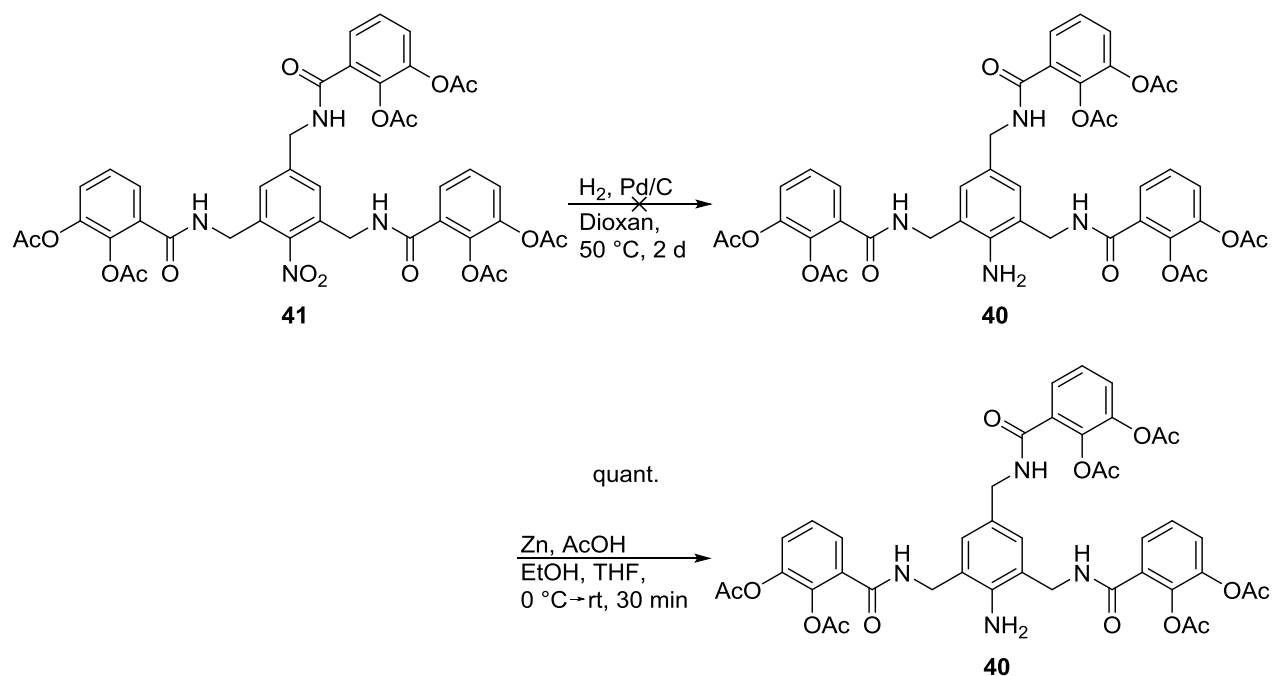
Schema 7: a) Synthese der Verbindung **42b** durch Nitrierung von Edukt **44** und anschließender Aminierung sowie Boc-Schützung von Verbindung **43** und b) Synthese von Säurechlorid **47** durch Acetylierung von Edukt **45** und folgende Aktivierung von Verbindung **46** mit Oxalylchlorid.

Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppen wurde durch Einsatz des Säurechlorids **47** Verbindung **41** erhalten. Da die Gesamtausbeute mit 13% unbefriedigend war, wurde die Synthese ohne den Umweg der Boc-Schätzung durchgeführt. Dies führte zu einer Erhöhung der Gesamtausbeute auf 54% (Schema 8).



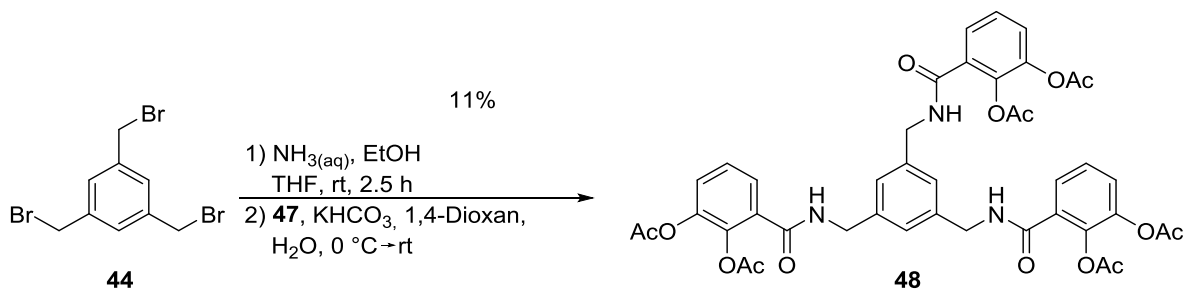
Schema 8: Synthese von Verbindung **41** mit und ohne zwischenzeitliche Boc-Schätzung.

Die anschließende palladiumkatalysierte Reduktion der Nitrogruppe mit Wasserstoff misslang, da unter atmosphärischem Wasserstoffdruck nur eine geringfügige Umsetzung beobachtet werden konnte. Um den aufwändigen Einsatz höherer Wasserstoffdrücke in einem Autoklav zu vermeiden, wurde nach effizienteren Reduktionsmitteln gesucht. Ein für diese Reaktion wirksames Reduktionssystem stellte die Kombination aus Zinkstaub und Essigsäure dar, für das eine quantitative Umsetzung zum Anilinderivat **40** beobachtet wurde (Schema 9).



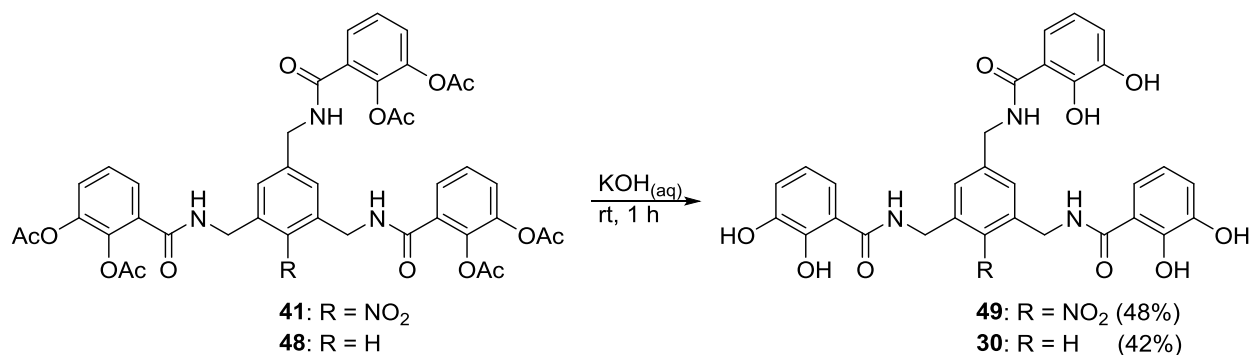
Schema 9: Umsetzung von Nitroverbindung **41** zu Amin **40**.

Dieses erwies sich jedoch als instabil und nicht lagerungsfähig, da Umlagerungen der Acetylgruppen von den Catecholmotiven zum freien Amin stattfanden. Daher wurden im Folgenden für den Vergleich der verschiedenen synthetisierten Siderophore mit aromatischem Kern zunächst nur die jeweiligen Nitro-Verbindungen synthetisiert. Die Reduktion zum Amin wurde erst für die Installation eines Linkers notwendig, die jedoch nur für biologisch geeignete Verbindungen geplant wurde. Zusätzlich wurde auch die Synthese von acetyliertem MECAM (**48**) durchgeführt, um den Einfluss einer aromatischen Substitution auf die Eigenschaften des Siderophors untersuchen zu können (Schema 10).



Schema 10: Zweistufige Synthese von Verbindung **48** aus Edukt **44**.

Die Siderophore **41** und **48** wurden darüber hinaus basisch deacetyliert, um einen Vergleich der acetylierten Verbindungen mit den freien Siderophoren **49** und MECAM (**30**) zu ermöglichen (Schema 11).

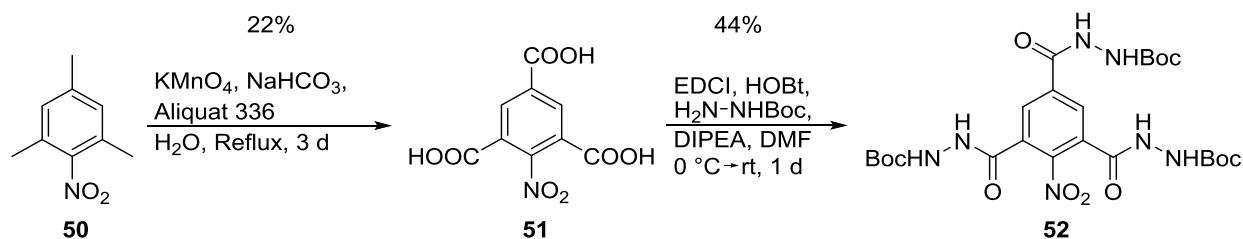


Schema 11: Darstellung der Verbindungen **49** und **30** durch Deacetylierung der MECAM-Derivate **41** und **48**.

3.1.2 Abstandsvergrößerung zwischen aromatischem Kern und Catecholamiden

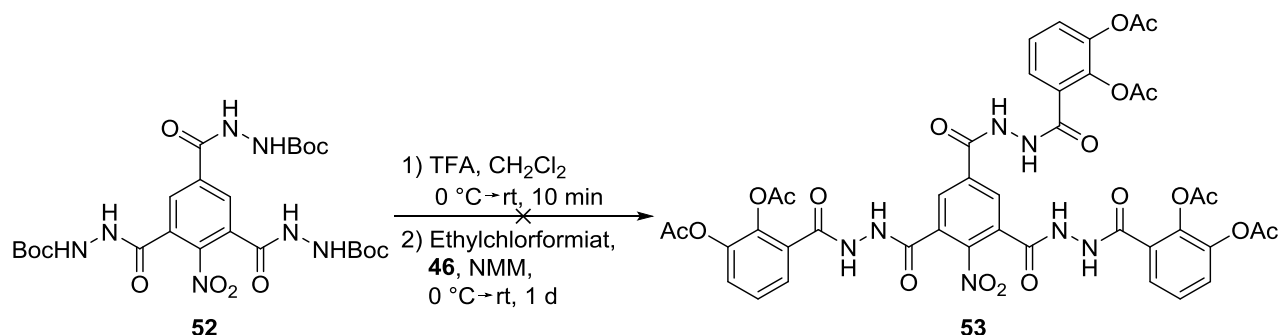
Um die Auswirkungen einer Abstandsvergrößerung zwischen aromatischem Zentralmotiv und den eisenkomplexierenden Gruppen zu untersuchen, wurde die Synthese von insgesamt vier verschiedenen Siderophoren geplant, bei denen diese Distanz um jeweils eine Bindungslänge größer werden sollte. Die Synthesen dieser Verbindungen sind im Folgenden mit aufsteigenden Abständen zusammengefasst.

Zunächst wurde die Verwendung eines Hydrazids als Verbindungsbaustein anvisiert. Ausgehend von Nitromesitylen **50** wurden durch Oxidation mit Kaliumpermanganat und Anbindung von Boc-geschütztem Hydrazin die Verbindungen **51** und **52** erhalten (Schema 12).^[159]



Schema 12: Umsetzung von Nitromesitylen (**50**) mit Kaliumpermanganat zu Verbindung **51** und anschließende Bildung von Trihydrazid **52**.

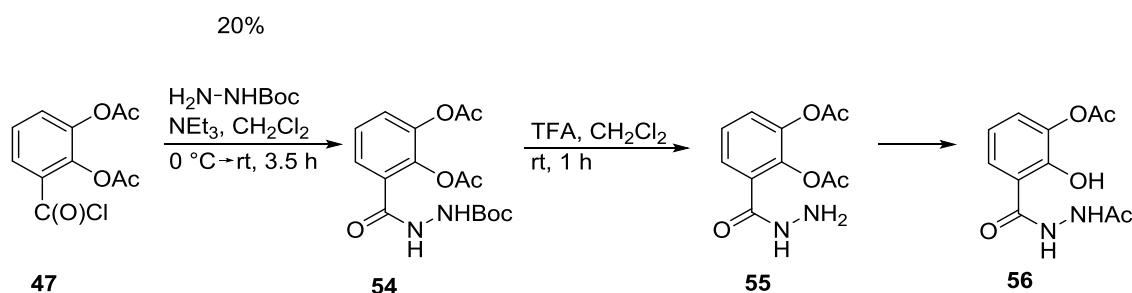
Die weitere Umsetzung zu Zielverbindung **53** gelang nicht, da nach der Entschützung des Hydrazids Säurechlorid **47** nicht eingebracht werden konnte (Schema 13).



Schema 13: Der acetylierte Siderophor **53** konnte nicht aus Verbindung **52** generiert werden.

Auch die Verwendung anderer Aktivierungsreagenzien anstelle von Oxalylchlorid wie EDCI, HATU und Ethylchlorformiat führte nicht zum Erfolg.

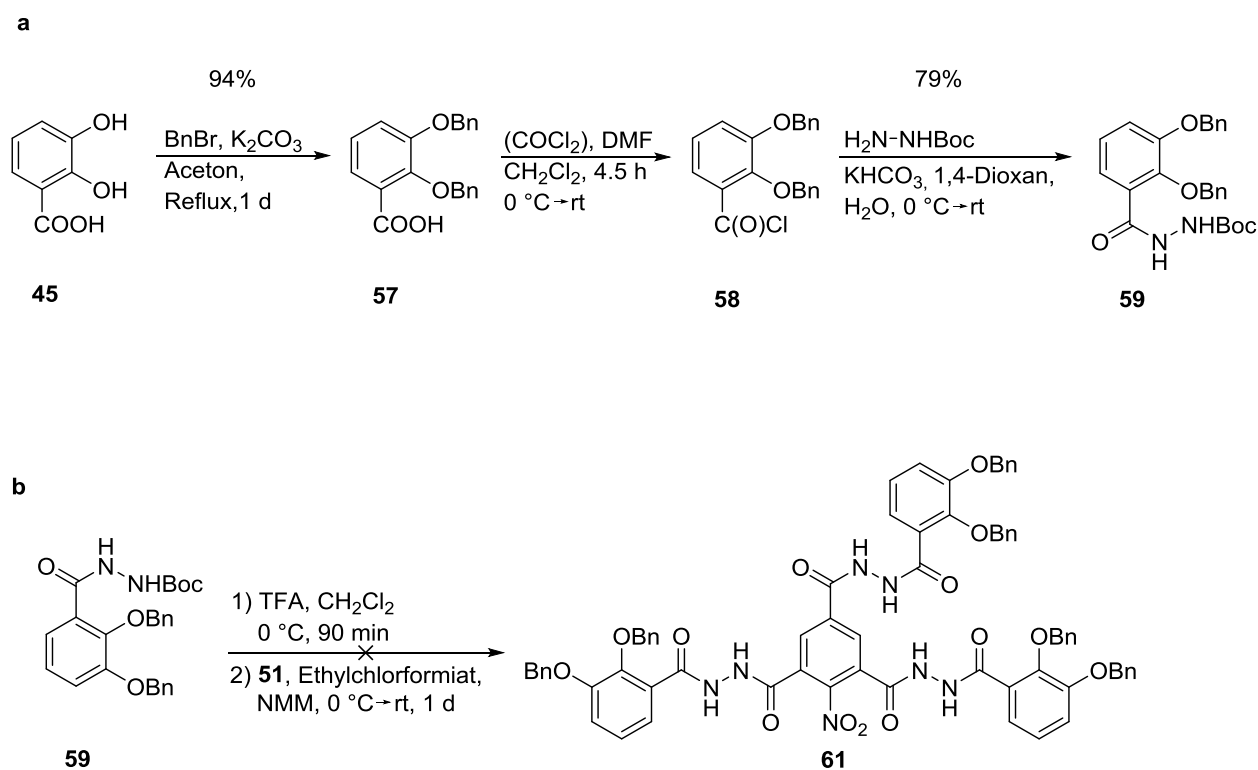
Im Zuge einer weiteren Synthesestrategie wurde Boc-geschütztes Hydrazin mit Säurechlorid **47** zur Reaktion gebracht, anstatt mit Verbindung **51**. Die Entschützung des Hydrazids **54** hatte jedoch eine sofortige Acetylwanderung zur Folge, sodass anstelle von Hydrazid **55** Verbindung **56** entstand (Schema 14).



Schema 14: Synthese von Verbindung **54** aus Säurechlorid **47**. Die anschließende Entschützung führte zur Wanderung einer Acetylgruppe.

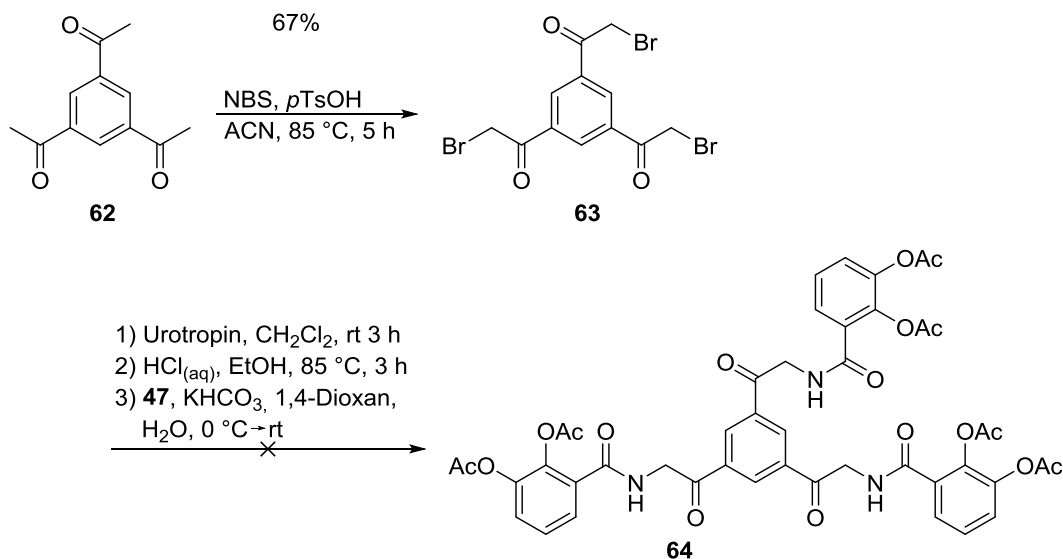
Daher wurde mit Verbindung **57** ein benzyliertes Catechol durch Benzylierung von 2,3-Dihydroxybenzoesäure (**45**) synthetisiert, dessen Säurechlorid **58** zum Hydrazid **59** umgesetzt wurde. Bei der Entschützung des Hydrazids sollte keine Acetylwanderung stattfinden und Verbindung **60** entstehen, da Benzyl- im Vergleich zu Acetylgruppen stabilere Schutzgruppen darstellen (Schema 15a). Die Reaktion mit Trisäure **51** zum

benzylgeschützten Siderophor **61** konnte jedoch auch für diesen Syntheseansatz weder unter Nutzung von EDCI noch durch Verwendung von Ethylchlorformiat beobachtet werden (Schema 15b). Eine mögliche Erklärung liefert die herabgesetzte Reaktivität des Hydrazids, das deutlich elektronenärmer ist als ein gewöhnliches Amin. Dies ist auf den –I-Effekt des zweiten Stickstoffatoms sowie auf den –M-Effekt der diesem benachbarten Carbonylgruppe zurückzuführen.



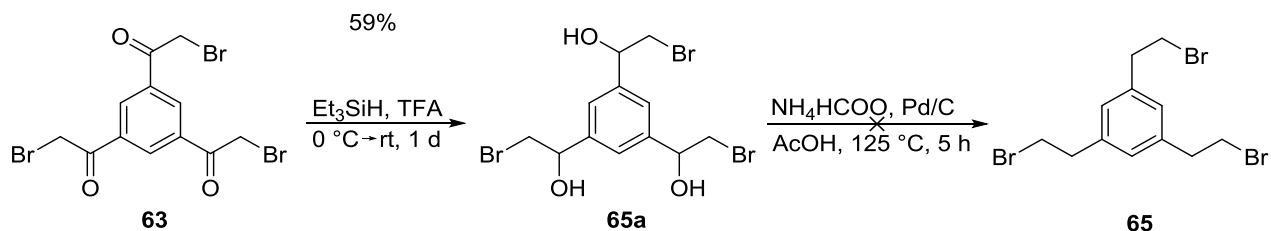
Schema 15: a) Synthese der von Verbindung **45** ausgehenden Synthese des Catecholhydrazids **59** über die Zwischenprodukte **57** und **58**. b) Versuchte Darstellung des benzylgeschützten Siderophors **61**.

Stattdessen wurde mit der Bromierung von 1,3,5-Triacetylbenzol (**62**) ein anderer Syntheseweg beschrieben.^[160] Eine anschließende Substitution von Verbindung **63** zum Triamin sollte die Bildung von Catecholamiden im gewünschten Abstand zum zentralen Aromaten ermöglichen. Durch eine Delépine-Reaktion, die die selektive Substitution ermöglicht hätte, ohne die Carbonylgruppen anzutasten, und anschließende Reaktion mit Säurechlorid **47** konnte der acetylierte Siderophor **64** jedoch nicht synthetisiert werden (Schema 16).^[161]



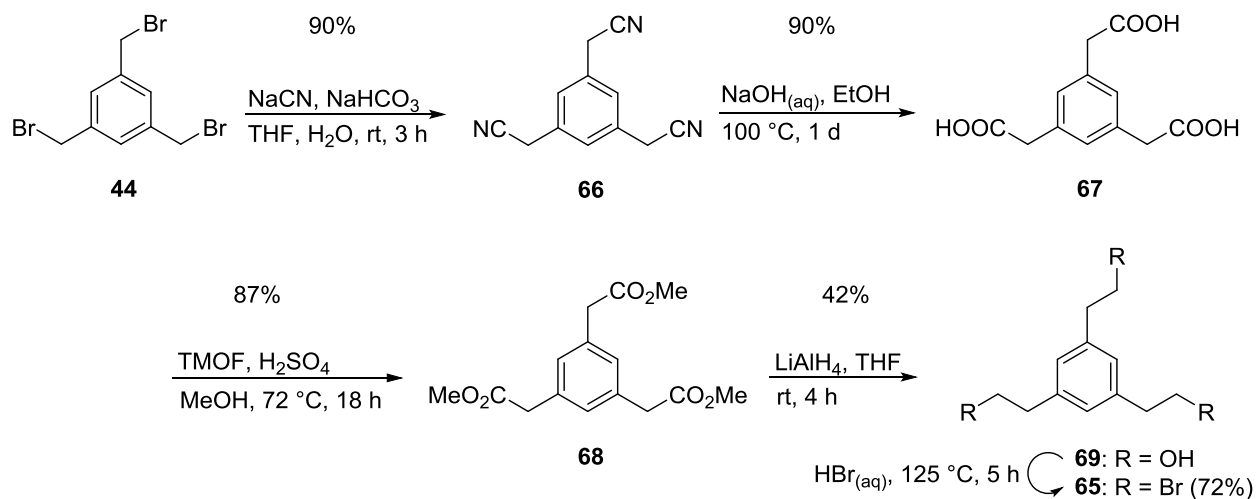
Schema 16: Nach der Bromierung von 1,3,5-Triacetylbenzol (**62**) konnte Verbindung **63** nicht zum gewünschten Produkt **64** umgesetzt werden.

Eine Reduktion der Carbonyle zu einer homologisierten Variante **65** von Verbindung **44** misslang ebenfalls, da die Reaktion mit Triethylsilan auf der Stufe des Trialkohols **65a** als Zwischenprodukt endete.^[162] Eine anschließende palladiumkatalysierte Hydrierung blieb ohne Erfolg (Schema 17).^[163]



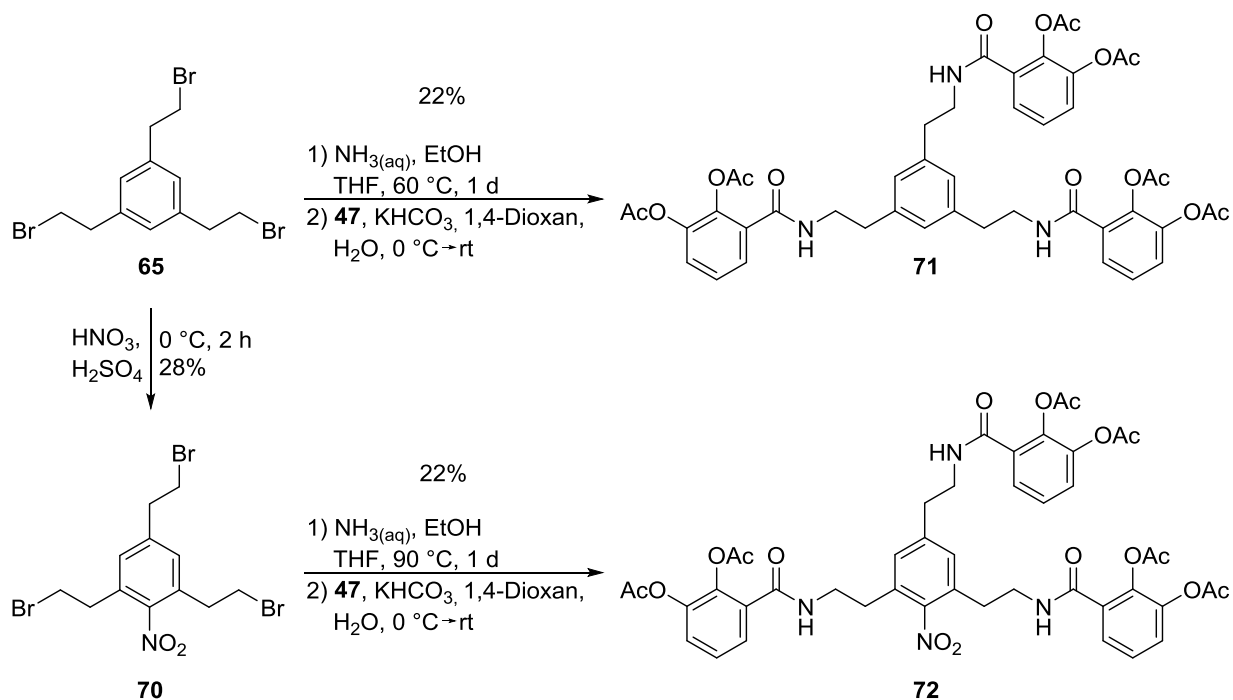
Schema 17: Die Reduktion von Verbindung **63** mit Triethylsilan lieferte Trialkohol **65a** anstatt der vollständig reduzierten Verbindung **65**, welche auch durch eine Hydrierung nicht erhalten werden konnte.

Die Homologisierung wurde letztendlich in einer Synthese ausgehend von Verbindung **44** erreicht.^[164-166] Eine fünfstufige Synthesesequenz bestehend aus Substitution mit Natriumcyanid, Nitrilverseifung, Veresterung, Reduktion und Bromierung lieferte die Tribromverbindung **65** über die Zwischenprodukte **66** – **69** in einer Gesamtausbeute von 22% (Schema 18).



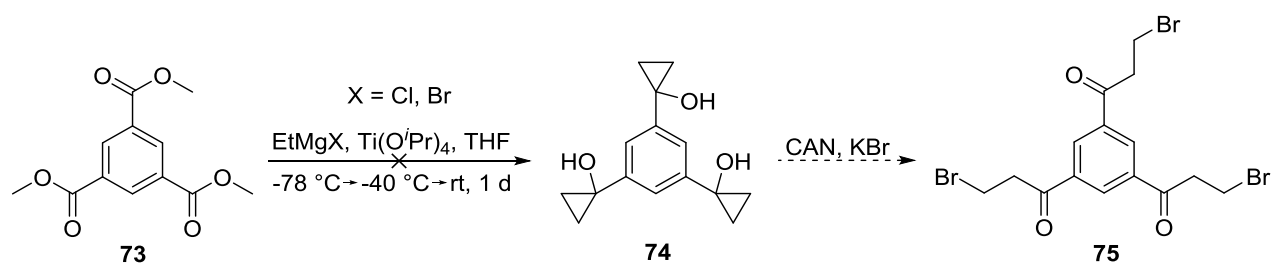
Schema 18: Homologisierungssequenz für die Gewinnung von Verbindung **65** aus Edukt **44** über die Zwischenprodukte **66 – 69**. Im Vergleich zum Edukt **44** wurde je eine weitere CH_2 -Gruppe eingeführt.

Das Produkt **65** sowie die aus dessen Nitrierung erhaltene Verbindung **70** wurden erfolgreich zu den acetylierten Siderophoren **71** und **72** umgesetzt, womit die erste von vier Derivatsynthesen ausgehend von MECAM abgeschlossen wurde (Schema 19).



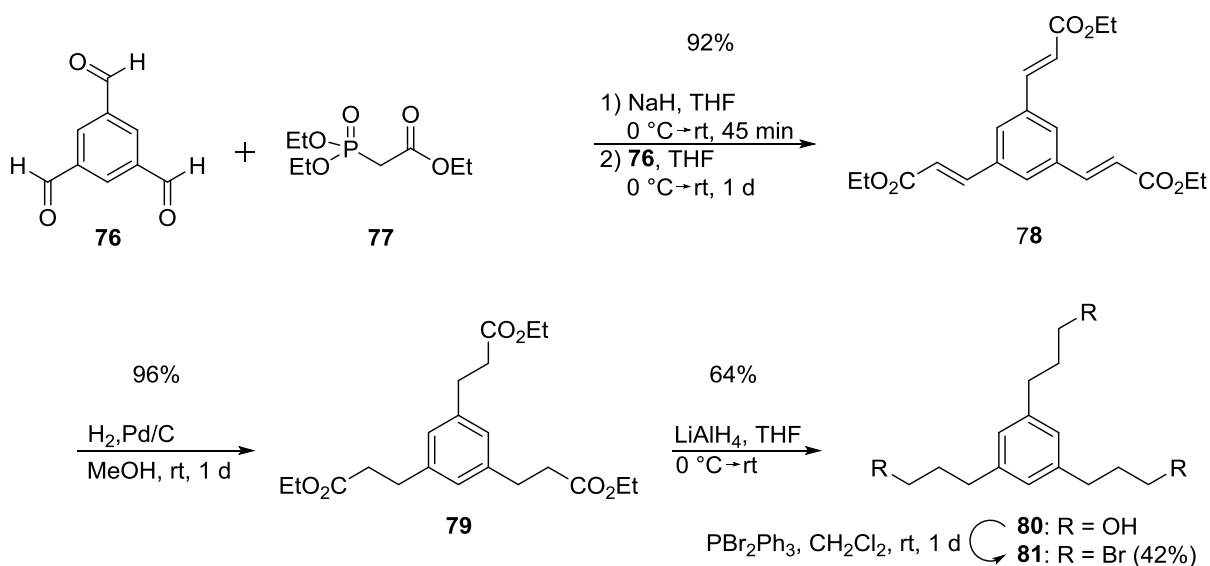
Schema 19: Nitrierung von Edukt **65** zu Verbindung **70** und Synthese der Zielverbindungen **71** und **72**.

Für die Synthese des nächsten von MECAM abgeleiteten Siderophors wurde erneut die Synthese einer Tribromverbindung angestrebt. Ausgehend von Trimethylbenzol-1,3,5-tricarboxylat (**73**) war eine Kulinkovich-Reaktion geplant, um Verbindung (**74**) zu generieren.^[167] Anschließende Oxidation mit Cer(IV)-ammoniumnitrat (CAN) unter Beigabe von Kaliumbromid sollte zum Tribromid **75** führen.^[168] Die Kulinkovich-Reaktion war jedoch weder unter Verwendung von Ethylmagnesiumchlorid noch -bromid zielführend. (Schema 20).^[169] Eine Simmons-Smith-artige Reaktion unter Verwendung von Samariumdiodid und Diiodmethan lieferte ebenfalls nicht Verbindung **74**.



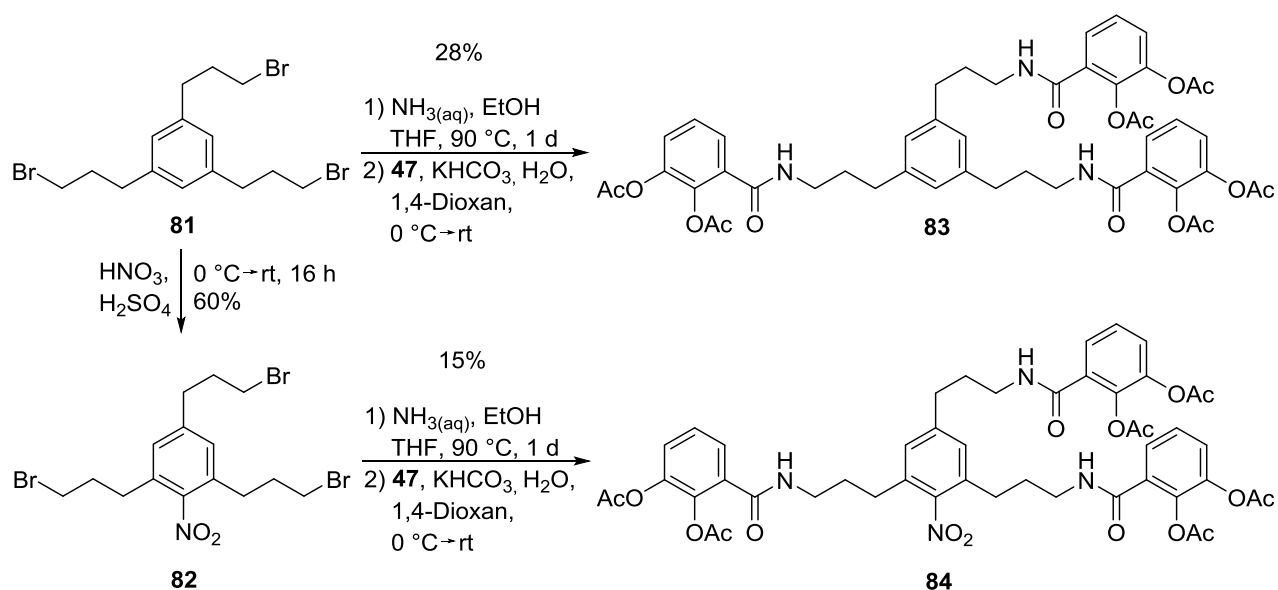
Schema 20: Geplante Synthese von Tribromid **75** über Edukt **73** und Zwischenprodukt **74**.

Daher wurde von 1,3,5-Triformylbenzol (**76**) ausgehend eine vierstufige Synthese mit einer Gesamtausbeute von 23% ausgeführt, die eine HWE-Reaktion, Hydrierung, Esterreduktion und Bromierung beinhaltet (Verbindungen **76** – **81**, Schema 21).^[170-171]



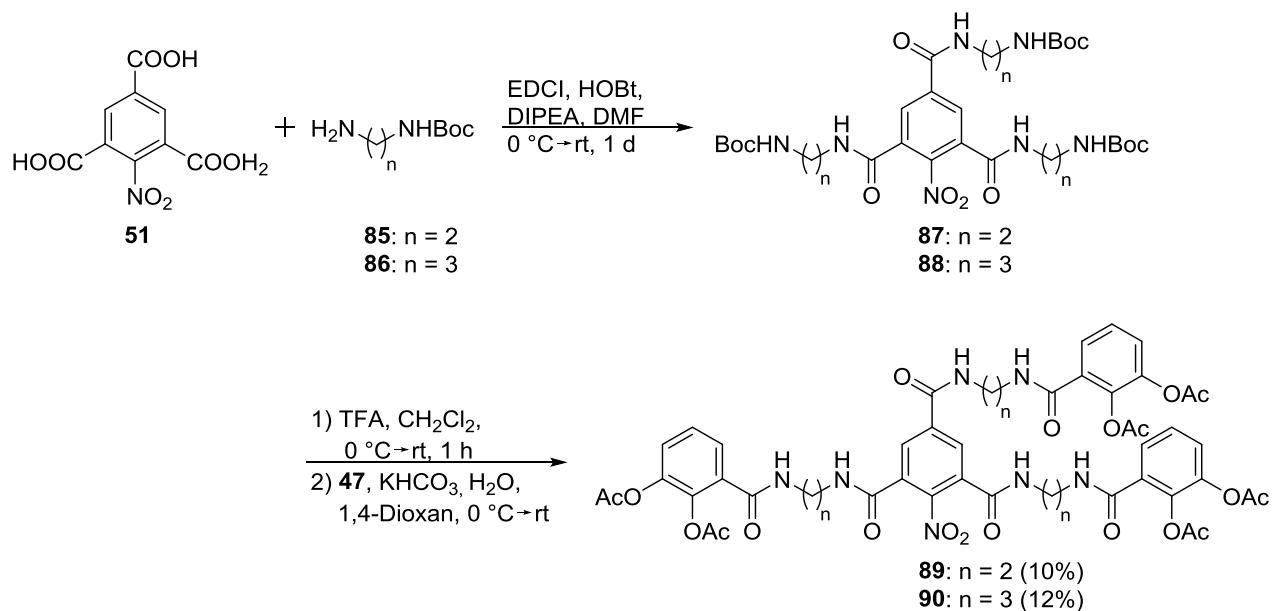
Schema 21: Synthese von Tribromverbindung **81** aus 1,3,5-Triformylbenzol (**76**) und Reagens **77** über die Zwischenprodukte **78** – **80**.

Wie bei der Herstellung der Zielprodukte **71** und **72** wurde Verbindung **81** nitriert und die Tribromverbindungen **81** und **82** wurden zu den acetylierten Siderophoren **83** und **84** umgesetzt (Schema 22). Ausgehend von den Syntheseprodukten **41** und **48** über die Verbindungen **71** und **72** hin zu den so erhaltenen Zielverbindungen **83** und **84** wurden damit drei Varianten auf MECAM basierender Siderophore synthetisiert, deren Abstand zwischen aromatischem Kern und Catecholamiden sich um jeweils eine Methylengruppe unterscheidet.



Schema 22: Nitrierung von Edukt **81** zu Verbindung **82** und Synthese der Zielverbindungen **83** und **84**.

Die Synthese der letzten beiden anvisierten Siderophore startete mit Verbindung **51**. Durch Installation der Boc-geschützten Diamine **85** und **86** wurden die Zwischenprodukte **87** sowie **88** generiert, anschließende Entschützung und Reaktion mit Säurechlorid **47** führte zur Bildung der Zielprodukte **89** und **90** (Schema 23).

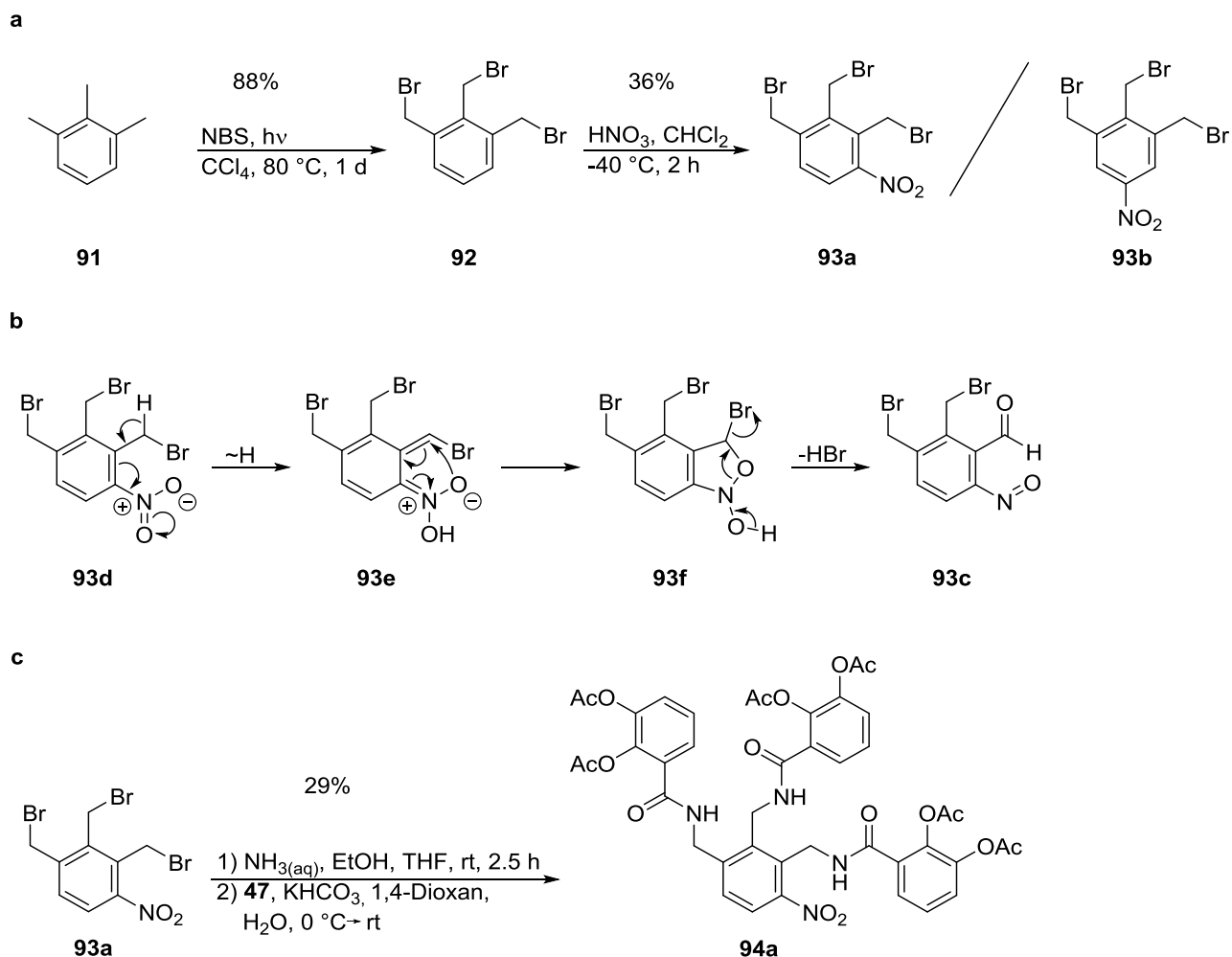


Schema 23: Darstellung der acetylierten Siderophore **89** und **90** in einer dreistufigen Synthese ausgehend von Verbindung **51** über die Zwischenprodukte **87** und **88** .

3.1.3 Synthese von 1,2,3-Trisubstituierten Siderophoren, abgeleitet von MECAM

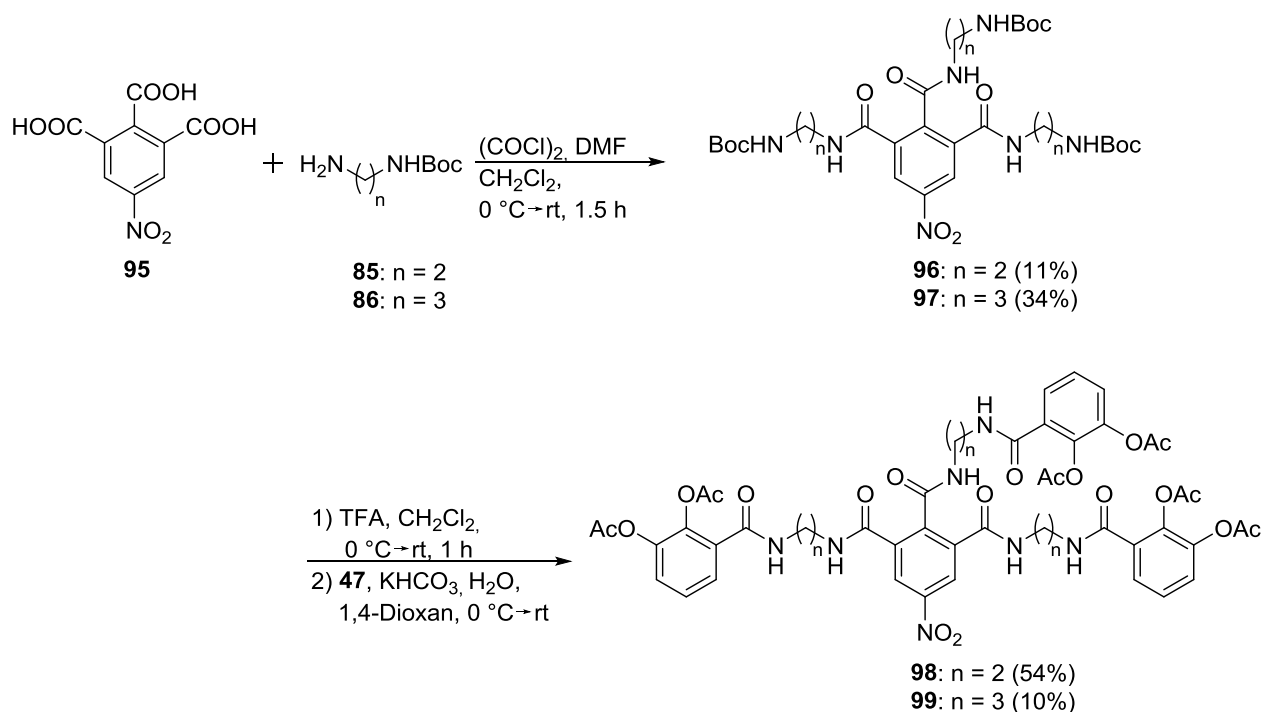
Die Synthese eines 1,2,3-substituierten MECAM-Analogons startete mit der radikalischen Bromierung von Hemimellitol (**91**).^[172] Bei der anschließenden Nitrierung von Verbindung **92** entstand als Hauptprodukt ein Gemisch der Regioisomere **93a** und **93b**, mit deutlich höherem Anteil an Isomer **93a** (Schema 24a). Darüber hinaus wurde die Bildung eines unerwarteten, schwer vom Produkt abtrennbaren Nebenproduktes beobachtet. Dieses konnte als Nitrosoverbindung **93c** identifiziert werden, in der zudem eine Aldehydfunktion vorlag. Deren Entstehung erfolgte vermutlich über einen intramolekularen Sauerstofftransfer in Isomer **93a**, der durch vorübergehende Dearomatisierung und Cyclisierung ermöglicht wurde (Schema 24b). Diese Reaktionssequenz wird laut mehreren Quellen durch die Einstrahlung von Licht ausgelöst.^[173-174] Im vorliegenden Fall fand sie jedoch bereits unter der Einwirkung einfacher Raum- und Arbeitsbeleuchtung statt. Die anschließende Reaktion zum acetylierten Siderophor erfolgte durch Aminierung und Reaktion mit Säurechlorid **47** (Schema 24c). Zielprodukt **93a** enthielt dabei noch

Reste von Regioisomer **93b** (ca. 10%). Die Bevorzugung einer vicinal zur Seitenkette des Aromaten stehenden Nitrogruppe kann durch die *ortho* und *para*-dirigierenden Effekte der drei Alkylreste begründet werden. In den Verbindungen **93a** und **94a** steht die Nitrofunktion je einmal *ortho*, *meta* und *para* zu den drei Brommethylgruppen. In den Isomeren **93b** und **94b** hingegen zweimal *meta* und einmal *para*, weswegen diese Isomere nicht bevorzugt entstehen.



Schema 24: a) Synthese der Isomere **93a** und **93b** ausgehend von Hemimellitoll (**91**) über Verbindung **92**, b) Mechanismus der Ausbildung von Nebenprodukt **93c** über die Zwischenstufen **93d** – **93f**, c) Darstellung des Zielprodukts **94a** über Zwischenprodukt **93a** (jeweils mit Resten der Regioisomere **93b** und **94b**).

Die 1,2,3-substituierten Derivate **98** und **99** der Verbindungen **89** und **90** wurden ebenfalls synthetisiert. Deren Darstellung erfolgte analog der in Schema 23 dargestellten Vorgehensweise und ist in Schema 25 illustriert. Die im Vergleich schlechteren Ausbeuten können durch die starke sterische Hinderung der drei Seitenketten zueinander erklärt werden, die bei 1,2,3-Substitution deutlich stärker auftritt als bei 1,3,5-Substitution.



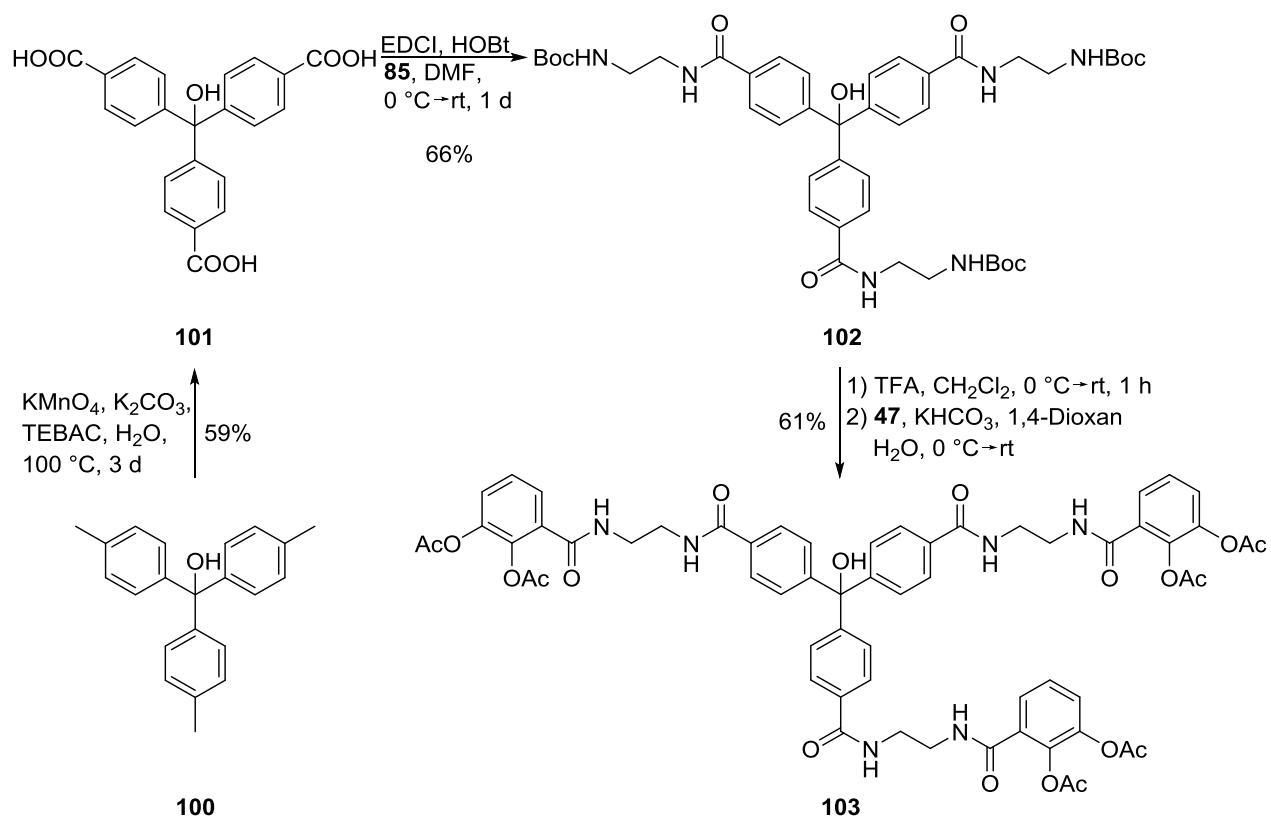
Schema 25: Darstellung der Zielprodukte **98** und **99**. Die Synthese, ausgehend von Trisäure **95**, verlief unter Einbeziehung der Synthesebausteine **85**, **86** und **47** über die Verbindungen **96** und **97**.

3.1.4 Erhöhung der Rigidität eines künstlichen Siderophors

In den bisher dargestellten von MECAM abgeleiteten Verbindungen wurde die Distanz zwischen zentraler aromatischer Einheit und den peripheren Catecholamiden durch lineare Ketten, bestehend aus Amid- und Methylengruppen, überbrückt. Die so erzielte Generierung einer hohen Anzahl an Freiheitsgraden ermöglicht eine hindernisfreie Faltung in einen Fe(III)-Komplex. Um zu untersuchen, welche Auswirkungen die Verringerung der Anzahl an Freiheitsgraden haben würde, wurde eine vierstufige

Synthese unternommen, in deren Zielprodukt die Überbrückung vom Zentrum zur Peripherie auch durch aromatische Bausteine übernommen wird (Schema 26).

4,4',4''-Trimethyltritylalkohol (**100**) wurde durch Oxidation mit Kaliumpermanganat zu Trisäure **101** umgesetzt. Über die Einführungen der Synthesebausteine **85** und **47** wurden auf die in Schema 23 dargestellte Weise Verbindung **102** und Zielprodukt **103** erhalten.



Schema 26: Synthese von Verbindung **103** über die Vorläufermoleküle **100** – **102** unter Einbringung der Synthesebausteine **85** und **47**.

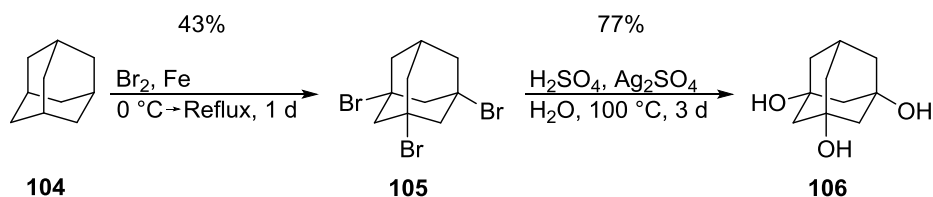
Da 1,4-disubstituierte Aromaten nicht faltbare, lineare Kettenverlängerungen darstellen, ist die Bildung eines stabilen Komplexes mit Fe^{3+} -Ionen durch die so eingeführte Rigidität der Struktur deutlich erschwert.

Anders als in den bisher vorgestellten MECAM-Derivaten mit ihrer planaren Zentraleinheit bietet der zentrale sp^3 -Kohlenstoff jedoch eine räumliche Vororientierung der Catechol-amide an, was den Vergleich mit den MECAM-Derivaten besonders interessant macht.

3.1.5 Synthese von Siderophoren mit Adamantan als Zentralmotiv

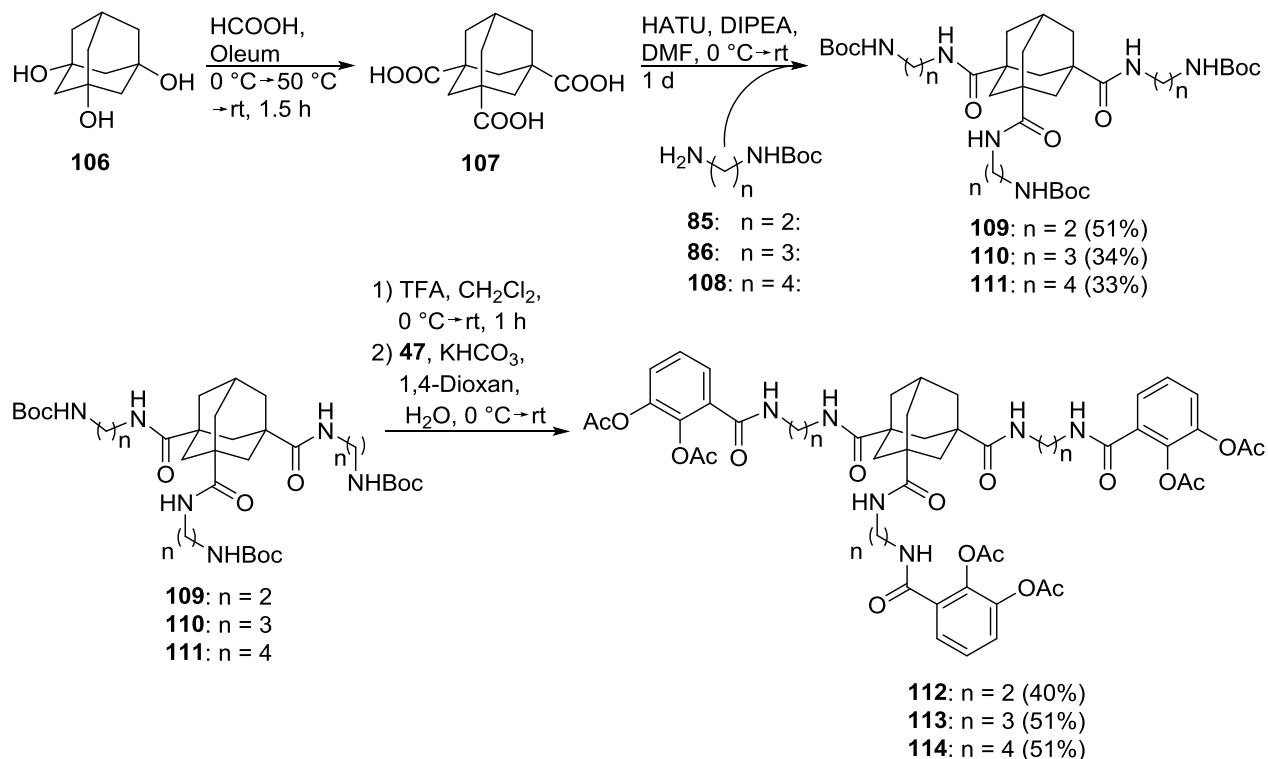
Zu Adamantan wurde in der Vergangenheit bereits Forschung bezüglich einer [3+1]-Substitution betrieben.^[175-176] Auch siderophorartige Verbindungen wurden synthetisiert, allerdings nicht auf ihre Eignung als Xenosiderophore, sondern für das Anwendungsgebiet der Oberflächenchemie untersucht.^[177] Adamantan ist als reiner Kohlenwasserstoff wenig reaktiv, unter harschen Bedingungen ist jedoch die Einbringung von Brom in selektiver Anzahl je nach der Art der gewählten Reaktionsbedingungen möglich.^[175, 178]

Die Tribromierung von Adamantan (**104**) gelang durch Refluxieren in Brom in der Gegenwart von Eisen.^[179] Die anschließende Reaktion von Tribromid **105** mit Schwefelsäure und Silbersulfat lieferte Trialkohol **106** (Schema 27).^[178]



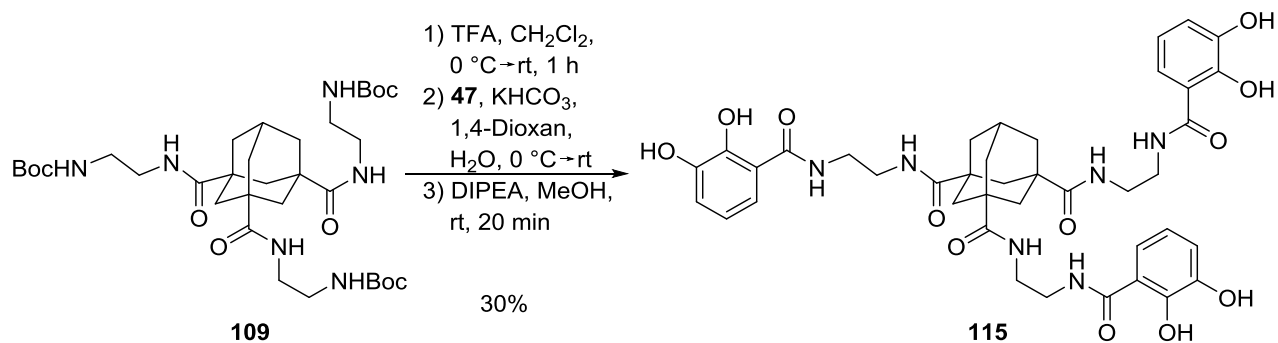
Schema 27: Tribromierung von Adamantan (**104**) und anschließende Umsetzung von Substanz **105** zu Trialkohol **106**.

Durch die weitere Umsetzung mit Oleum und *in situ* aus Ameisensäure hergestelltem Kohlenstoffmonoxid wurde Trisäure **107** erhalten.^[180] Diese diente, analog zu den in den Schemata Schema **23** und Schema **25** dargestellten Synthesen, als Basis für die Installation Boc-geschützter Diamine zu den Verbindungen **109** – **111**, um schließlich die acetylierten Siderophore **112** – **114** zu erhalten (Schema 28).



Schema 28: Ausgehend von Verbindung **106** wurde Trisäure **107** generiert. Von dieser Verbindung ausgehend erfolgte die Synthese der Adamantan-Derivate **109** – **111** sowie deren anschließende Umsetzung zu den Zielverbindungen **112** – **114**

Ein deacetylierter Siderophor auf Adamantanbasis wurde, ausgehend von Verbindung **109**, ebenfalls dargestellt (Schema 29).



Schema 29: Dreistufige Synthese von Verbindung **115** aus Zwischenprodukt **109**.

3.1.6 Synthesebemühungen um einen Cyclopropan-Siderophor

3.1.6.1 Vorausgehende Überlegungen und Syntheseplanung

Anders als für die beschriebenen Synthesen, in denen die chemischen Zentralmotive aus einem Aromaten oder Adamantan bestanden, musste für Siderophore mit einem zentralen dreigliedrigen Ring dieser erst synthetisch aufgebaut werden. Cyclopropane werden üblicherweise durch [2+1]-Additionen dargestellt. Eine Möglichkeit hierfür stellt die Reaktion eines maskierten Carbens mit einem Olefin dar.^[181] Beim Aufbau eines [3+1]-Substitutionsmusters muss dabei das nur ein Kohlenstoffatom besteuernde Molekül zwei verschiedene Reste tragen. Die drei identischen Reste müssen orthogonale Reaktivität zur vierten Seitenkette aufweisen, um eisenkomplexierende Gruppen und den Linker selektiv einbringen zu können. Die größte Herausforderung stellt die Aufgabe dar, bei der [2+1]-Addition die korrekte Ausrichtung aller vier Seitenketten am fertigen Dreiring zu erreichen. Da das zwei Reste tragende Synthon sich während der Addition in zwei verschiedene Richtungen orientieren kann, ist die Ausbildung der Diastereomere **116a** und **116b** möglich. Die Bildung des Letzteren ist möglichst zu unterdrücken, da nur in Verbindung **116a** eine räumliche Vororientierung der eisenkomplexierenden Motive in gleicher Richtung erreicht wird (Abb. 30).

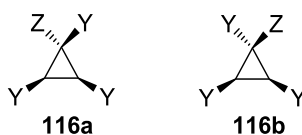
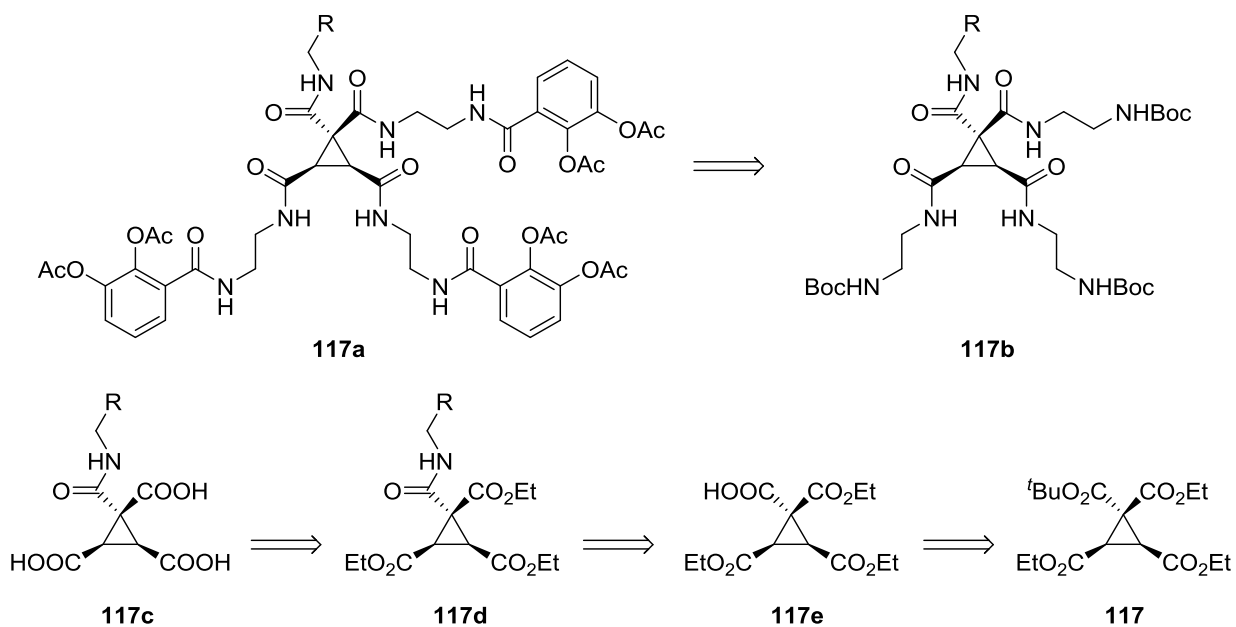


Abbildung 30: Strukturen möglicher Stereoisomere **116a** und **116b**, die beim Aufbau eines Cyclopropan mit [3+1]-Substitutionsmuster in einer [2+1]-Addition entstehen können.

Um diese Voraussetzungen zu erfüllen und gleichzeitig eine möglichst unaufwändige und robuste Synthese zu ermöglichen, wurden Ethyl- und ein *tert*-Butylester als Reste ausgewählt. Ester stellen günstige und leicht verfügbare Edukte dar. Der im Vergleich zum Ethylrest hohe sterische Anspruch der *tert*-Butylgruppe sollte zur Bildung des gewünschten Diastereomers führen. Befinden sich die drei Ethylester auf der gleichen Seite der Molekülebene, ist die sterische Abstoßung deutlich geringer als für den Fall, in

dem zwei Ethylester und der *tert*-Butylester in die gleiche Richtung ragen, sodass die Verbindung mit der erforderlichen Vororientierung bevorzugt entstehen sollte. Ein *tert*-Butylester kann unter milden Bedingungen im Säuren gespalten werden, während Ethylester unter diesen Bedingungen intakt bleiben. Die orthogonale Reaktivität der beiden verwendeten Ester sollte dadurch eine selektive Spaltbarkeit ermöglichen und daraus folgend den Aufbau eines Siderophors und die Installation eines Linkers ermöglichen (Schema 30).

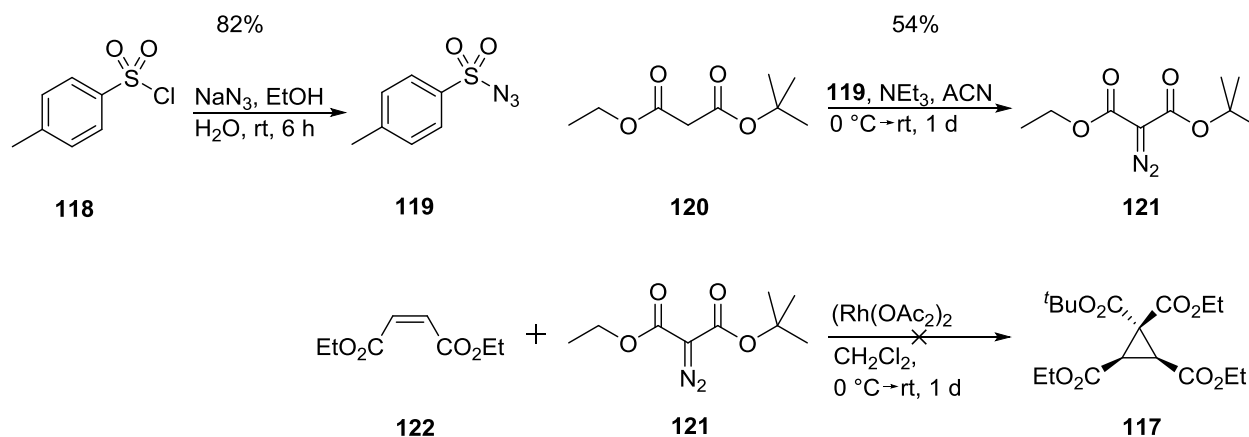


Schema 30: Retrosynthese des Siderophors **117a** über die Zwischenprodukte **117b – 117e**. Ausgehend von Cyclopropan **117** sollte die selektive Spaltung dreier Ethylester und eines *tert*-Butylesters die zielgerichtete Anbringung dreier Catecholamide sowie eines Linkers ermöglichen.

3.1.6.2 Aufbau des Cyclopropan-Motivs

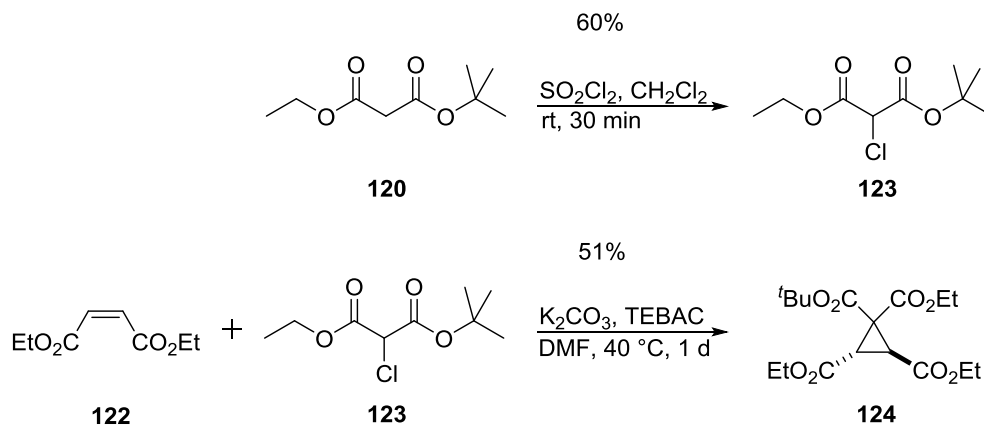
Für die Cyclopropanierung wurde zunächst Tosylchlorid (**118**) in Tosylazid (**119**) umgewandelt. Dieses wurde in einem Regitz-Diazotransfer verwendet, um eine Diazogruppe auf *tert*-Butylethylmalonat (**120**) zu übertragen. Die so entstandene Diazoverbindung **121** und Diethylmaleat (**122**) wurden mit Rhodium(II)-acetat zur Reaktion gebracht, um Verbindung **117** zu erhalten. Die Bildung des Produktes konnte jedoch nicht beobachtet werden (Schema 31). Durch die beiden Carbonylbindungen in

Diethylmaleat ist die Doppelbindung zu elektronenarm, um eine Reaktion mit einer Elektronenmangelverbindung wie einem Carben einzugehen.



Schema 31: Gescheiterte Synthese von Cyclopropan **117**. Während die Umsetzungen von Tosylchlorid (**118**) zu Tosylazid (**119**) sowie von *tert*-Butylethylmalonat (**120**) zur Diazoverbindung **121** gelangen, konnte mit dem elektronenarmen Olefin **122** Verbindung **117** nicht gebildet werden.

Um auch elektronenarme Olefine für die Cyclopropanierung verwenden zu können, wurde die Diazoverbindung durch die α -Chlorverbindung **123** ersetzt, welche durch Chlorierung von *tert*-Butylethylmalonat (**120**) hergestellt wurde.^[182] Die anschließende basisch vermittelte Cyclopropanierung kann als eine Kombination aus S_N2 -Reaktion und Michael-Addition aufgefasst werden.^[183] Das Reaktionsprodukt erwies sich allerdings als ein weiteres unerwünschtes Stereoisomer **124**, in dem die aus dem Diethylmaleat (**122**) stammenden Ethylester in verschiedene Richtungen der Molekülebene zeigen (Schema 32). Da während der Reaktion die vorliegende Doppelbindung zu einer Einfachbindung umgewandelt wird, kann diese noch vor dem Einbau in den Dreiring frei rotieren, sodass die sterisch weniger anspruchsvolle Verbindung **124** entsteht.



Schema 32: Synthese von Verbindung **123** durch Reaktion von *tert*-Butylethylmalonat (**120**) und Sulfurylchlorid sowie anschließende Cyclopropanierung mit Diethylmaleat (**122**) zu Diastereomer **124**.

Ein ^{13}C -NMR-Spektrum des Produkts zeigte, dass sowohl beide sekundäre Kohlenstoffe im Dreiring als auch die drei Methylgruppen der Ethylester je ein eigenständiges Signal hervorriefen (Abb. 31). In Zielverbindung **117** wäre nur die Erzeugung eines Signals (Kohlenstoffe im Dreiring) bzw. zweier Signale (Methylgruppen) erwartet gewesen.

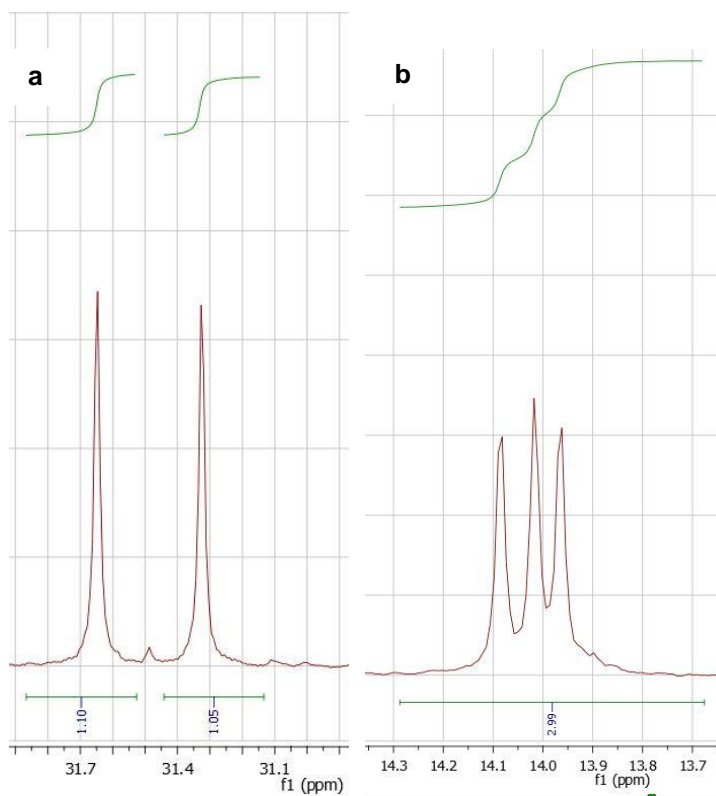
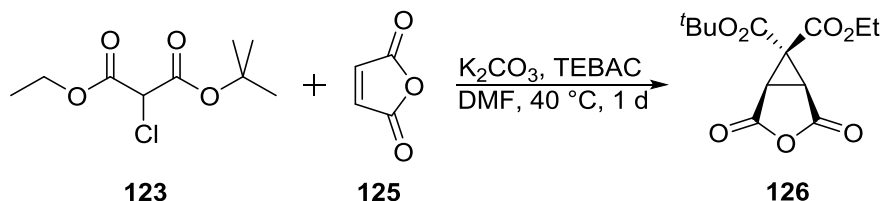


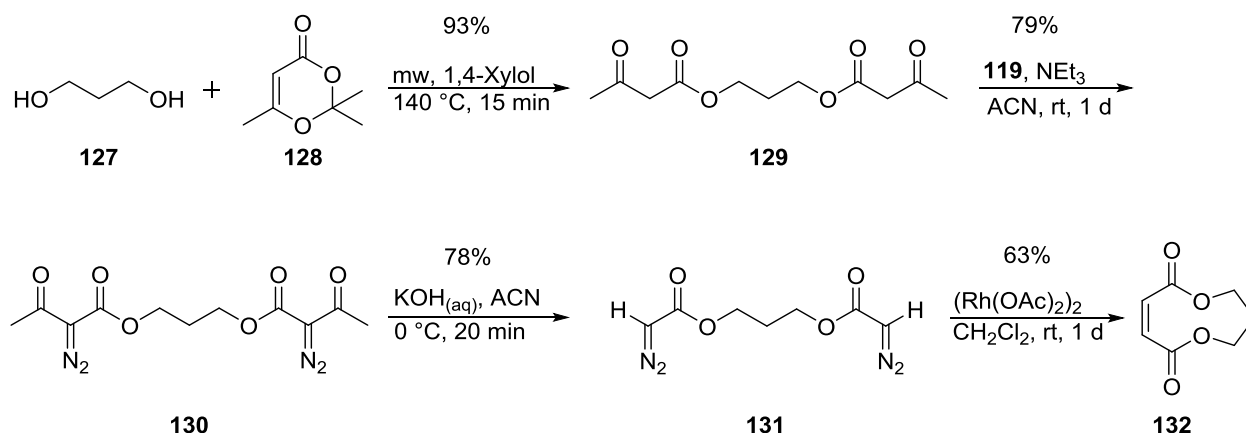
Abbildung 31: ^{13}C -NMR-Signale der a) sekundären Kohlenstoffatome im Dreiring und b) Methylgruppen der Ethylester der Verbindung **124**.

Um die Rotation der Ethylester um diese Bindung zu vermeiden, wurde die Synthese eines cyclischen Olefins angestrebt. Je kleiner der gebildete Ring sein würde, desto erschwerter sollte die Rotation um die intermediäre Einfachbindung sein. Die Verwendung von Maleinsäureanhydrid (**125**), dem kleinstmöglichen cyclischen Olefin mit zwei maskierten Säurefunktionen, scheiterte jedoch, da das Anhydrid unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil war und Verbindung **126** nicht gebildet werden konnte (Schema 33).



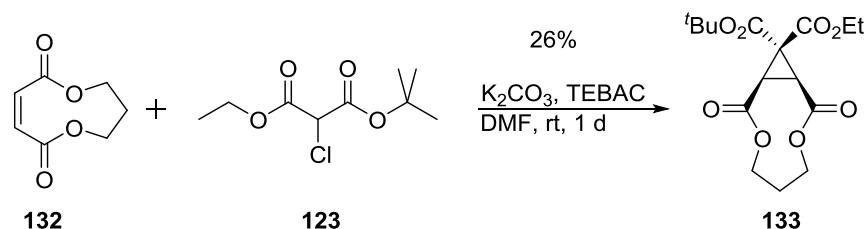
Schema 33: Gescheiterte Synthese von Verbindung **126** aus Edukt **123** und Maleinsäureanhydrid (**125**).

Die Darstellung eines neungliedrigen Rings, des kleinstmöglichen literaturbekanntesten cyclischen sowie olefinischen Diesters, gelang dafür in einer vierstufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 36% (Schema 34).^[184-186] Propan-1,3-diol (**127**) und Edukt **128** wurden unter Mikrowelleneinstrahlung zu Verbindung **129** umgesetzt. Durch die Reaktion mit Tosylazid (**119**) wurde Diazoverbindung **130** erhalten. Die mittels basischer Acetylabbau erhaltene Verbindung **131** reagierte mit Rhodium(II)-acetat zum cyclischen Diester (**132**).



Schema 34: Darstellung des neungliedrigen Diesters **132**. Die Synthese verlief über die Edukte **127** und **128** über die Zwischenprodukte **129** – **131**

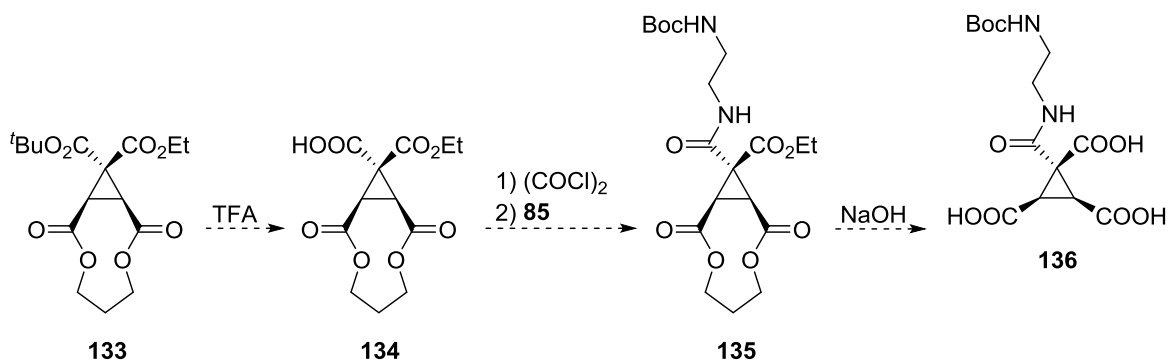
Das cyclische Olefin **132** wurde erfolgreich mit Verbindung **123** zur Reaktion gebracht (Schema 35). Wie erwartet wurde dieses Mal keine Bindungsrotation beobachtet und Verbindung **133** entstand als bevorzugtes Diastereomer. Die Produktbildung wurde jedoch von Nebenprodukten begleitet, weswegen die Ausbeute im Vergleich mit den vorherigen Syntheseschritten geringer ausfiel.



Schema 35: Synthese des angestrebten Diastereomers **133** aus den Verbindungen **132** und **123**.

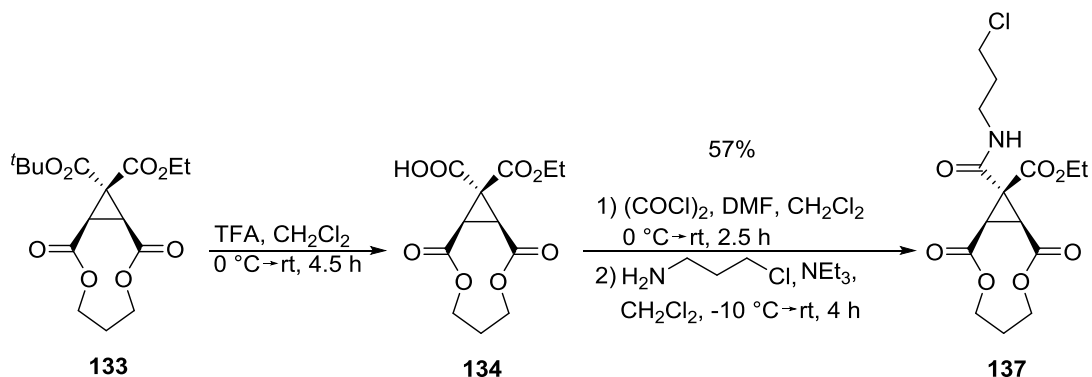
3.1.6.3 Modifikationen des synthetisierten Cyclopropans

Die nächsten Schritte der geplanten Syntheseroute stellten die Spaltung des *tert*-Butylesters zu Verbindung **134** und die Installation des Boc-geschützten Diamins **85** dar, um anschließend selektiv die drei übrigen Ester in Verbindung **135** basisch zu spalten und Trisäure **136** zu erhalten (Schema 36). Stabilitätstests zeigten allerdings, dass der Dreiring **133** aufgrund seiner Elektronenarmut leicht durch Nucleophile wie Hydroxidionen angegriffen und geöffnet wurde. Diese durch die insgesamt vier benachbarten Carbonylgruppen entstandene Elektronenarmut verhinderte im Folgenden eine basische Verseifung des Ethylesters und des cyclischen Diesters.



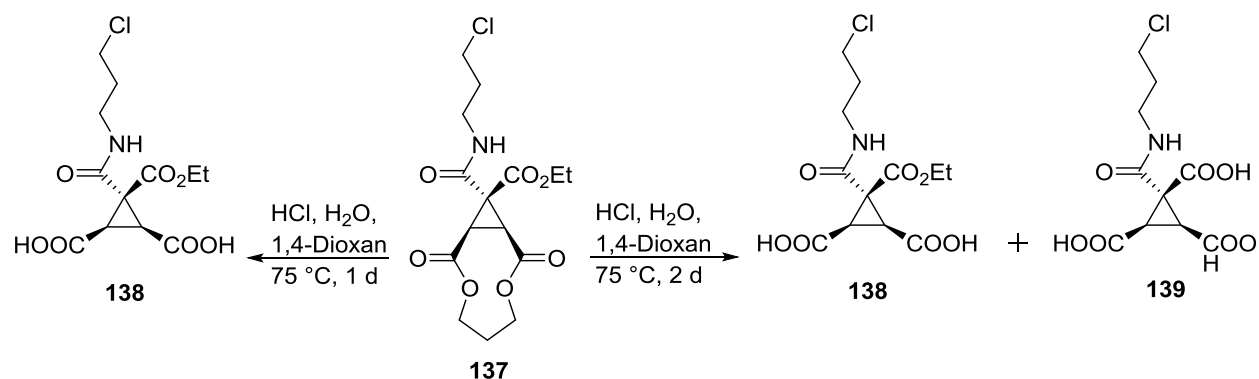
Schema 36: Geplante Umwandlung von Verbindung **133** zu Trisäure **136** über die Zwischenprodukte **134** und **135**. Aufgrund der Instabilität des Dreirings bei hohem pH-Wert wurde diese Syntheseroute verworfen.

Diese Ester mussten unter harschen Bedingungen im Sauren gespalten werden, bei denen das vorliegende Cyclopropylmotiv stabil war.^[187] Da eine Boc-Schützung der allein stehenden Seitenkette damit nicht mehr infrage kam, wurde stattdessen nach der milden *tert*-Butylesterspaltung mit TFA zu Verbindung **134** 3-Chlorpropylamin eingeführt. Der Chloralkanrest der so entstandenen Verbindung **137** sollte bei Reaktionen mit Salzsäure unverändert bleiben und anschließend als Ausgangspunkt für Substitutionsreaktionen dienen können (Schema 37).



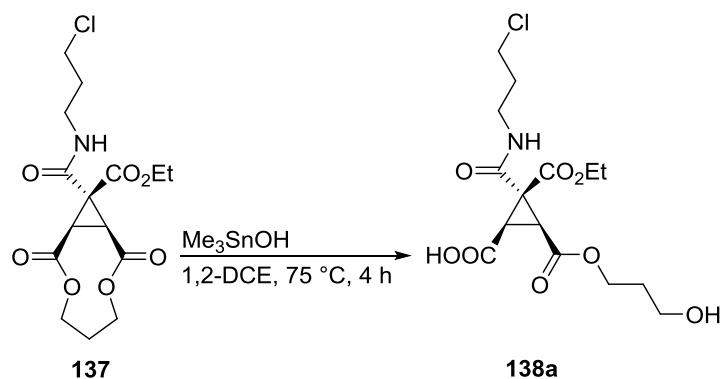
Schema 37: Darstellung von Verbindung **137** ausgehend von Edukt **133** über die entschützte Säure **134**.

Die Reaktionsbedingungen für die dreifache Esterspaltung in Verbindung **133** wurden ausführlich variiert und optimiert. Es stellte sich heraus, dass die Spaltung des cyclischen Diesters unter Freisetzung von 1,3-Propandiol leicht vonstatten ging, während der Ethylester sich deutlich schwerer spalten ließ. Für einen optimalen Reaktionsablauf wurde schließlich bei 75°C Chlorwasserstoff (2 M) in 1,4-Dioxan und Wasser (80:20 v/v) im Reaktionsgemisch verwendet. Unter diesen Bedingungen wurde nach einem Tag Reaktionszeit der Diester selektiv gespalten, während der Ethylester weitgehend intakt blieb. Nach einem weiteren Tag Reaktionszeit unter den genannten Bedingungen wurde ein Gemisch der Verbindungen **138** und **139** erhalten (Schema 38). Allerdings konnten die Verbindungen nicht über chromatische Methoden aufgereinigt werden.



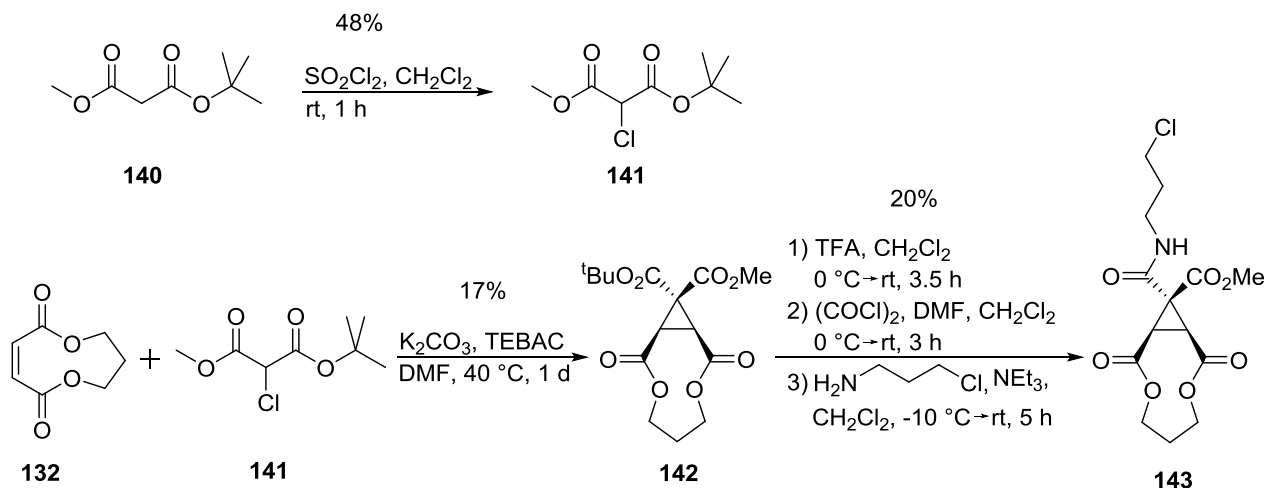
Schema 38: Esterspaltung von Verbindung **137** zu den Verbindungen **138** und **139** in Abhängigkeit von der Reaktionszeit.

Um auch den Ethylester zuverlässig abzuspalten wurde Trimethylzinnhydroxid eingesetzt, das sich für die Esterspaltung bewährt hat.^[188] Hierbei trat jedoch nur eine einzelne Esterspaltung ein, die Verbindung **138a** erzeugte (Schema 39).



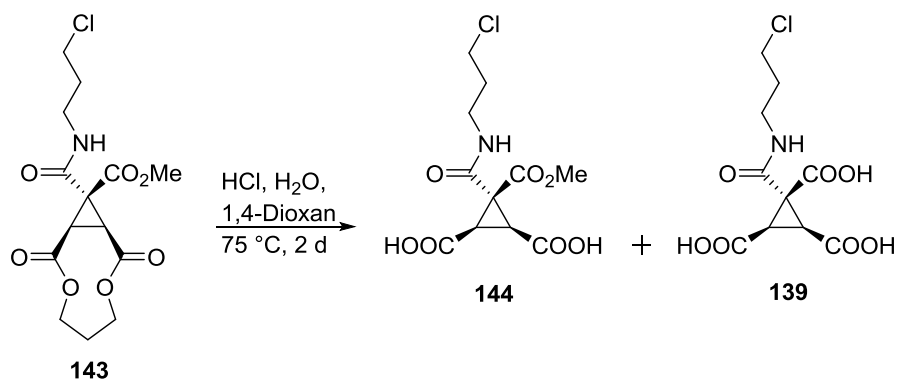
Schema 39: Die Reaktion von Trimethylzinnhydroxid mit Verbindung **137** spaltete nur eine der drei Esterfunktionen, sodass Verbindung **138a** entstand.

Da Methylester leichter und mit mehr Methoden spaltbar sind als Ethylester, wurde eine Synthese analog zu der von Verbindung **137** vollzogen, in der der Ethyl- durch einen Methylester ersetzt wurde (Schema 40). Nach der Chlorierung von *tert*-Butylmethylmalonat (**140**) wurde Verbindung **141** mit dem cyclischen Olefin **132** zum Cyclopropanderivat **142** umgesetzt, aus welchem anschließend Verbindung **143** resultierte.



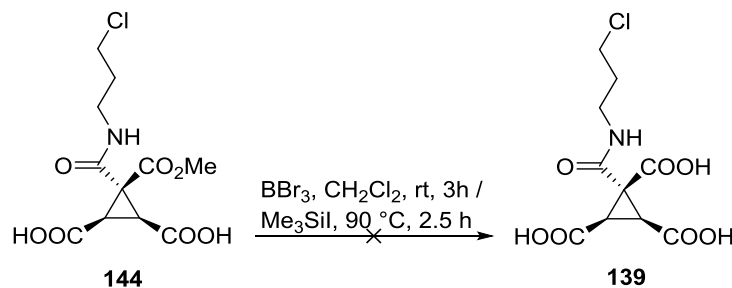
Schema 40: Synthese von Verbindung **143** aus den Edukten **140** und **132** über die Zwischenprodukte **141** und **142**.

Im Vergleich zur Synthese der verwandten Verbindung **137** waren die Ausbeuten deutlich geringer. Die Esterspaltung von Verbindung **143** wurde durchgeführt wie in Schema 38 beschrieben, die Ergebnisse waren jedoch identisch. Neben Trisäure **139** wurde auch Verbindung **144** gebildet, in der der Methylester noch intakt war (Schema 41).



Schema 41: Saure Esterspaltung von Verbindung **143** zu einem Gemisch der Verbindungen **144** und **139**.

Durch die Verwendung von Bortribromid und Iodtrimethylsilan, mit welchen spezifisch Methylester gespalten werden können, konnte Verbindung **144** ebenfalls nicht in Trisäure **139** überführt werden (Schema 42).^[189-190]

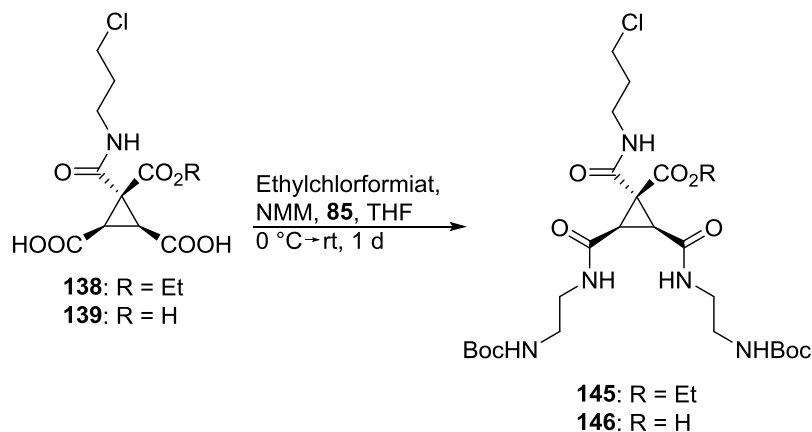


Schema 42: Weder durch Bortribromid noch durch Iodtrimethylsilan konnte der Methylester in Verbindung **144** gespalten und Trisäure **139** gebildet werden.

Da sich der Methylester in Verbindung **143** nicht leichter spalten ließ als der zuvor verwendete Ethylester, wurde der Fokus für folgende Reaktionen aufgrund der besseren Syntheseausbeuten wieder auf Verbindung **137** gelegt.

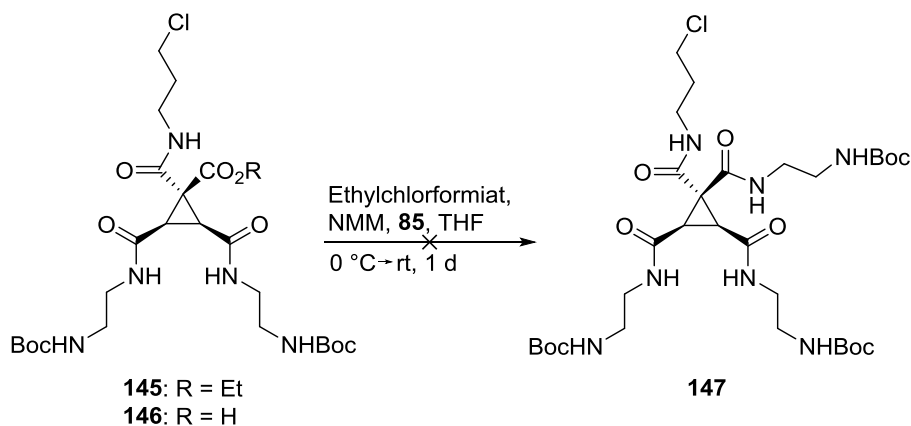
Der weitere Aufbau hin zu Cyclopropyl-Siderophoren sollte ausgehend vom Produktgemisch erfolgen, das aus den Verbindungen **138** und **139** bestand. Während das bei der teilweise ablaufenden Ethylesterspaltung entstehende Ethanol leicht im Vakuum entfernt werden konnte, war dies für das bei der Spaltung des cyclischen Diesters freigesetzte Propan-1,3-diol nicht möglich. Coevaporation mit anderen Lösemitteln sowie Gefriertrocknung des Produktgemischs waren ebenfalls nicht erfolgreich. Auch durch die Zugabe der Anhydride von Bernstein-, Malein-, oder Phthalsäure nach der Esterspaltung konnte es nicht entfernt werden und behinderte daher Folgereaktionen.

Für die Umsetzung des Produktgemischs mit Boc-geschütztem 1,2-Diaminoethan (**85**) wurden mehrere Aktivierungsreagenzien untersucht, von denen sich Ethylchloroformiat als das geeignetste erwies (Schema 43). Im Produktgemisch konnten die Verbindungen **145** und **146** nachgewiesen werden, deren Bildung wurde jedoch durch die Entstehung mehrerer Nebenprodukte begleitet. Zum Teil ist die Bildung solcher Nebenprodukte auf den Verbleib von Propan-1,3-diol zurückzuführen, das hier ungewollte Nebenreaktionen mit den Edukten **138** und **139** einging. Eine Aufreinigung mittels HPLC konnte zwar mehrere der Nebenprodukte abtrennen, eine vollständige Isolation der Produkte voneinander oder zumindest von sämtlichen Nebenprodukten war dennoch nicht möglich, weswegen im Folgenden stets verunreinigte Produktgemische aus Ethylester und freier Säure verwendet werden mussten.



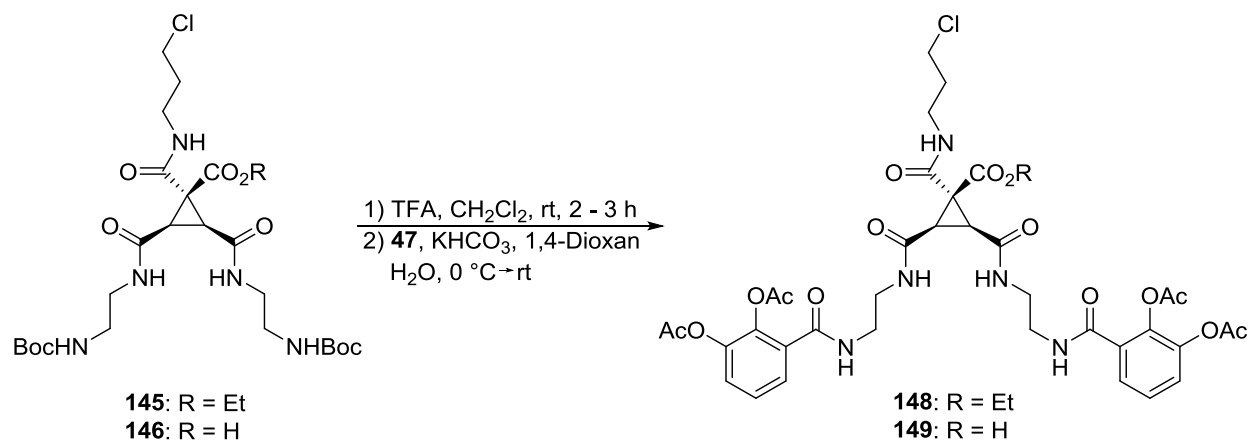
Schema 43: Reaktion der Säuren **138** und **139** mit Boc-geschütztem 1,2-Diaminoethan (**85**). Die Produkte **145** und **146** wurden zusammen mit Nebenprodukten erzeugt.

Auffällig war bei dieser Reaktion, dass kein Zielprodukt **147** entstand, in dem alle drei Säuren mit Verbindung **85** reagiert hatten. Auch in einer nochmaligen Reaktion des teilaufgereinigten Produktgemischs konnte dessen Bildung nur in Spuren beobachtet werden (Schema 44). Dies kommt wahrscheinlich durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen unter den freien Säuregruppen zustande, die deren vollständige Umwandlung erschweren.^[191-192]



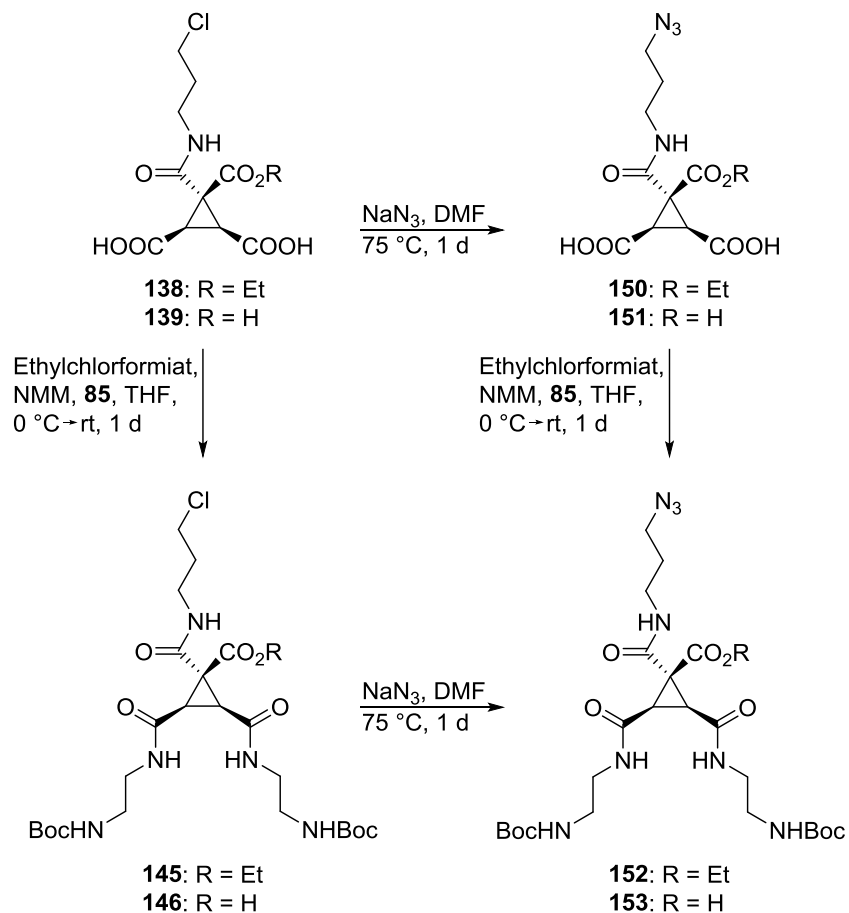
Schema 44: Durch eine erneute Reaktion des Produktgemischs mit Ethylchlorformiat, das die Verbindungen **145** und **146** beinhaltetete, konnte Zielprodukt **147** nicht hergestellt werden.

Das aus den Verbindungen **145** und **146** bestehende Substanzgemisch wurde nach der Boc-Entschützung mit Säurechlorid **47** umgesetzt, um zumindest die Dicatechole **148** oder **149** zu erhalten. Keines der Produkte wurde jedoch gebildet (Schema 45).

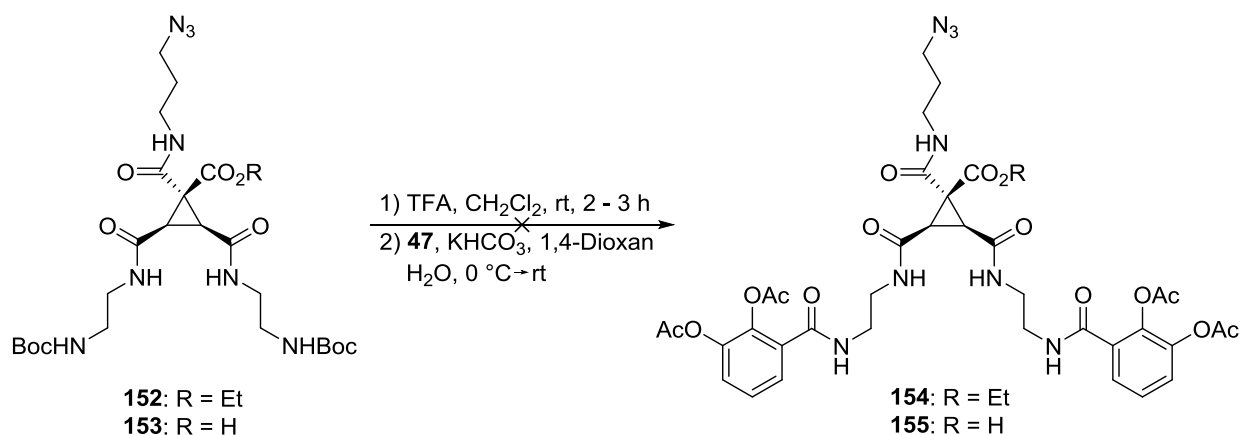


Schema 45: Die Umsetzung der Verbindungen **145** und **146** zu den Dicatcholen **148** und **149** durch Reaktion mit TFA und Säurechlorid **49** gelang nicht.

Nach der Entschützung der beiden Amine ist deren intramolekulare Reaktion mit dem Chloralkanrest möglich. Um dies als Fehlerursache für die in Schema 45 misslungene Reaktion auszuschließen, sollte der Chloridrest mittels Natriumazid substituiert werden.^[193] Organische Azide sind weniger gute Abgangsgruppen als organische Chloride und können darüber hinaus im weiteren Syntheseverlauf über Cu(I)-katalysierte Reaktionen mit Alkinen zur Installation eines Wirkstoffs dienen. Die Reaktion mit Natriumazid wurde an zwei verschiedenen Punkten der Synthese durchgeführt. Zum einen erfolgte sie direkt nach der Esterspaltung, um die Verbindungen **138** und **139** in die Azide **150** und **151** zu überführen. Diese sollten danach mit dem Boc-geschützten Diamin **85** reagieren, um die Produkte **152** und **153** zu erzeugen. Zum anderen fand sie nach der Einbringung der Boc-geschützten Diamine statt, um aus den Verbindungen **145** und **146** ebenfalls die organischen Azide **152** und **153** zu erhalten (Schema 46). Beide Syntheserouten waren jedoch nicht robust, sodass die Zielverbindungen stets nur in kleinen Mengen und mit Verunreinigungen entstanden. Keine der in Schema 46 gezeigten Verbindungen konnte in Reinform isoliert werden. Einen Großteil der Verantwortung hierfür trug wieder das nach der Esterspaltung nicht abtrennbare Propan-1,3-diol, das sämtliche Folgereaktionen behinderte. Analog zu der in Schema 45 dargestellten versuchten Umwandlung der Verbindungen **145** und **146** in die Produkte **148** und **149** konnten aus den Substanzen **152** und **153** die Zielverbindungen **154** und **155** nicht synthetisiert werden (Schema 47).

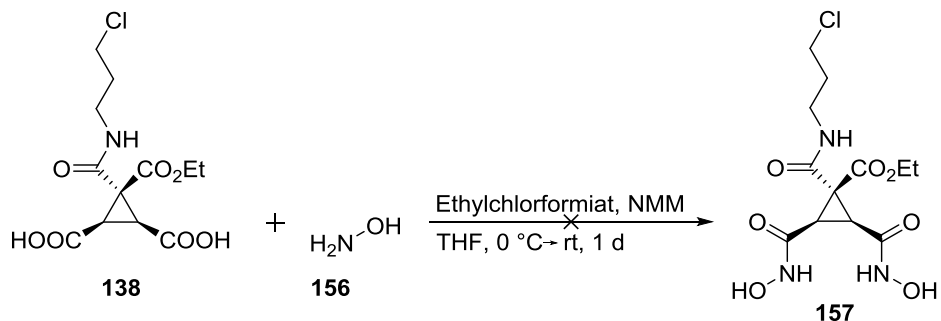


Schema 46: Die Azidierung mit Natriumazid fand an zwei verschiedenen Punkten der Synthese statt. Auf keine der beiden Weisen war es dabei möglich, die Verbindungen **152** oder **153** rein oder in größeren Mengen zu isolieren.



Schema 47: Das Gemisch aus den Verbindungen **152** und **153** konnte nicht durch Reaktion mit TFA und Säurechlorid **47** zu den Verbindungen **154** und **155** umgesetzt werden.

In einem weiteren Versuch, einen künstlichen Siderophor auf Cyclopropanbasis zu synthetisieren, wurde Verbindung **138** mit Hydroxylamin (**156**) umgesetzt, um eine Verbindung mit zwei Hydroxamsäuren zu erzeugen. Sowohl Ethylchlorformiat (Schema 48) als auch Oxalylchlorid wurden zur Aktivierung der beiden freien Carboxylgruppen verwendet.^[194-195] In beiden Fällen wurde Verbindung **157** nicht gebildet.

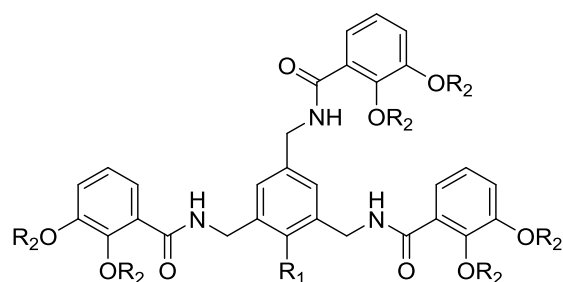


Schema 48: Verbindung **138** konnte durch Reaktion mit Hydroxamsäure (**156**) nicht in den Siderophor **157** überführt werden.

Die Generierung eines Siderophors, der auf einem Cyclopropangerüst basiert, gelang damit nicht.

3.1.7 Übersicht der synthetisierten Siderophore

Die Synthese von MECAM (**30**) sowie den hiervon abgeleiteten Verbindungen **41**, **48** und **49** wurde erfolgreich durchgeführt (Abb. 32).

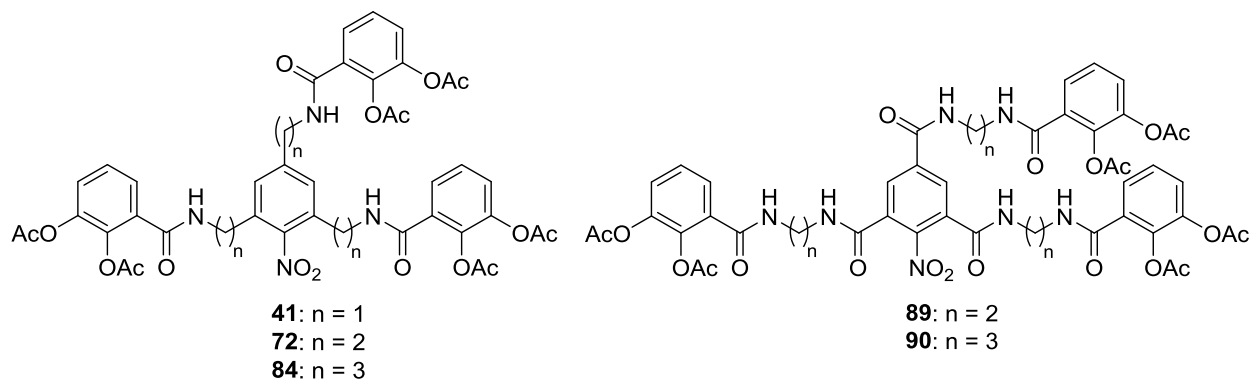


- 30:** $R_1 = H, R_2 = H$
41: $R_1 = NO_2, R_2 = Ac$
48: $R_1 = H, R_2 = Ac$
49: $R_1 = NO_2, R_2 = H$

Abbildung 32: Darstellung der synthetisierten Verbindungen **30**, **41**, **48** und **49**.

Ausgehend vom nitrierten und acetylierten Siderophor **41** wurden die Verbindungen **72**, **84**, **89** und **90** dargestellt, in denen der Abstand zwischen dem zentralen aromatischen Ring und den Catecholamiden in der Molekülperipherie um jeweils eine Bindung vergrößert ist (Abb. 33a). Analog zu diesen 1,3,5-substituierten MECAM-Derivaten wurden ebenfalls die 1,2,3-substituierten Siderophore **94a**, **98** und **99** hergestellt, in denen die Abstände zwischen den Catecholamiden und dem Molekülzentrum ebenfalls variiert wurden (Abb. 33b).

a



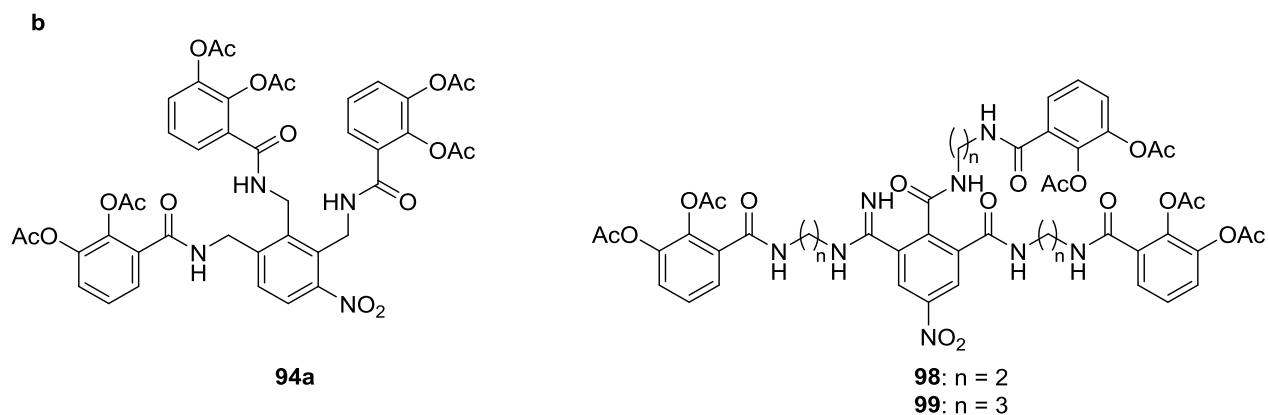


Abbildung 33: a) Überblick über die synthetisierten Siderophore, die von MECAM abgeleitet wurden. a) Verbindungen mit 1,3,5- Substitutionsmuster. b) Verbindungen mit 1,2,3- Substitutionsmuster.

Mit Verbindung **103** wurde darüber hinaus ein Siderophor synthetisiert, der als Zentralmotiv keinen Aromaten, sondern ein sp^3 -Kohlenstoffatom trägt. Des Weiteren wird die Distanz von diesem Zentralatom zu den Catecholamiden nicht nur durch eine lineare Kette chemischer Bindungen, sondern auch durch je einen aromatischen Ring überbrückt (Abb. 34).

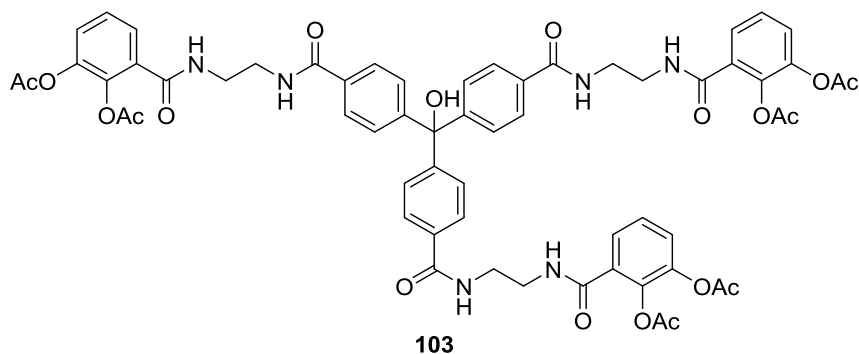


Abbildung 34: Chemische Struktur des künstlichen Siderophors **103**.

Die Synthese dreier künstlicher Siderophore, welche auf Adamantan basieren, gelang ebenfalls. Wie schon bei den von MECAM abgeleiteten Verbindungen wurde auch hier die Distanz zwischen dem Zentralmotiv und den Catecholamiden um je eine Bindungslänge variiert (Abb. 35).

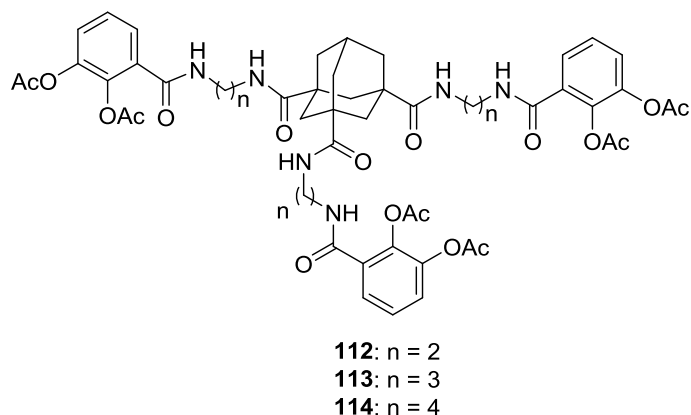


Abbildung 35: Chemische Strukturen der auf Adamantan basierenden Siderophore **112**, **113** und **114**.

Der Syntheseweg zu einem Siderophor mit zentralem Cyclopropylmotiv führte auf Verbindung **133**. Diese verfügt über das notwendige [3+1]-Substitutionsmuster und konnte in Verbindung **137** überführt werden, welche einen organischen, primären Chloridrest besitzt (Abb. 36). Eine solche Abgangsgruppe sollte im späteren Syntheseverlauf die einfache Installation eines Wirkstoffs ermöglichen. Die Spaltung der drei Ester gelang jedoch nicht in zufriedenstellender Reinheit. Dadurch war die Installation dreier Catecholamide zur Vervollständigung eines Siderophors trotz zahlreicher Versuche nicht möglich.

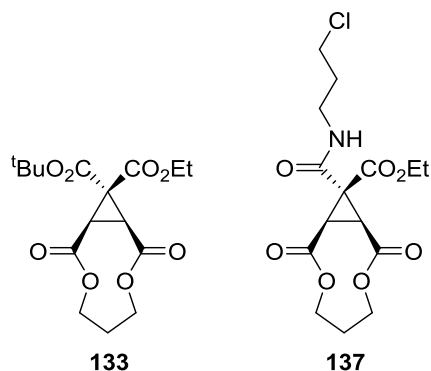


Abbildung 36: Darstellung von Cyclopropanderivat **133** und der daraus gebildeten Verbindung **137**.

Die gezeigten künstlichen Siderophore waren im Folgenden auf ihre Fähigkeit zu testen, den aktiven Eisentransport in gramnegative Bakterien zu ermöglichen. Von besonderem Interesse war hierbei die Untersuchung, welche der verschiedenen Strukturmerkmale eine Eignung als Xenosiderophore begünstigten oder dieser Wege standen.

3.2 Evaluierung der synthetisierten Catechole

3.2.1 Berechnungen mittels Dichtefunktionaltheorie

Die Dichtefunktionaltheorie (DFT) stellt eine weit verbreitete Methode der theoretischen Chemie dar, um elektronische Strukturen zu beschreiben. Durch die Anwendung der DFT können wichtige molekulare Parameter wie z.B. Bindungsenergien und -längen für Substanzen rechnerisch bestimmt werden.^[196] Die Eisen(III)-Komplexe mehrerer der in Abschn. 3.1 gezeigten künstlichen Siderophore wurden an der TU Braunschweig in der Arbeitsgruppe von Professor Jörg Grunenberg mittels DFT-Kalkulationen untersucht. Diese Berechnungen fanden begleitend zu den Synthesen der Verbindungen statt und sollten aufzeigen, für welche der anvisierten neuartigen Siderophore stabile Eisen(III)-Komplexe zu erwarten waren. Durch diese Herangehensweise sollten Synthesen von ungeeigneten künstlichen Siderophoren vermieden werden können. Die Rechnungen wurden unter Verwendung des Hybridfunktionals TPSSh ausgeführt, durch dessen Benutzung eine zufriedenstellende Genauigkeit der errechneten Werte und eine praktikable Dauer der Berechnungsprozesse ermöglicht wurde.^[197-198] Wurde für einen Eisen(III)-Komplex ein lokales Energieminimum gefunden, so deutete dies auf eine thermodynamisch stabile Verbindung hin. Sämtliche DFT-Kalkulationen, die Teil dieser Arbeit sind, wurden in der Arbeitsgruppe von Professor Grunenberg durchgeführt.

Die Ergebnisse für Siderophore mit aromatischem Kern zeigten für den in Abschn. 3.1.1 beschriebenen nitrierten MECAM-Siderophor **49** (Abb. 37a) erwartungsgemäß die Entstehung eines stabilen Komplexes mit Fe³⁺-Ionen an. Von den vier in Abschn. 3.1.2 dargestellten Siderophorklassen wurden anhand der deacetylierten Verbindungen **158** und **159** die beiden untersucht, in denen die Abstände zwischen Catecholamiden und zentralem Aromat am größten waren (Abb. 37b). Auch für diese wurden stabile Eisen(III)-Komplexe rechnerisch belegt.

Damit waren sowohl für die kleinsten als auch die größten realisierten Distanzen zwischen Zentralmotiv und eisenbindenden Gruppen die Ausbildung oktaedrischer Eisen(III)-Komplexe mit thermodynamisch günstigen Eigenschaften vorhergesagt worden.

Für die deacetylierten Vertreter **115**, **160** und **161** (Abb. 37c) der in Abschn. 3.1.5. beschriebenen Adamantanderivate fielen die Ergebnisse der DFT-Kalkulationen auf die gleiche Weise positiv aus.

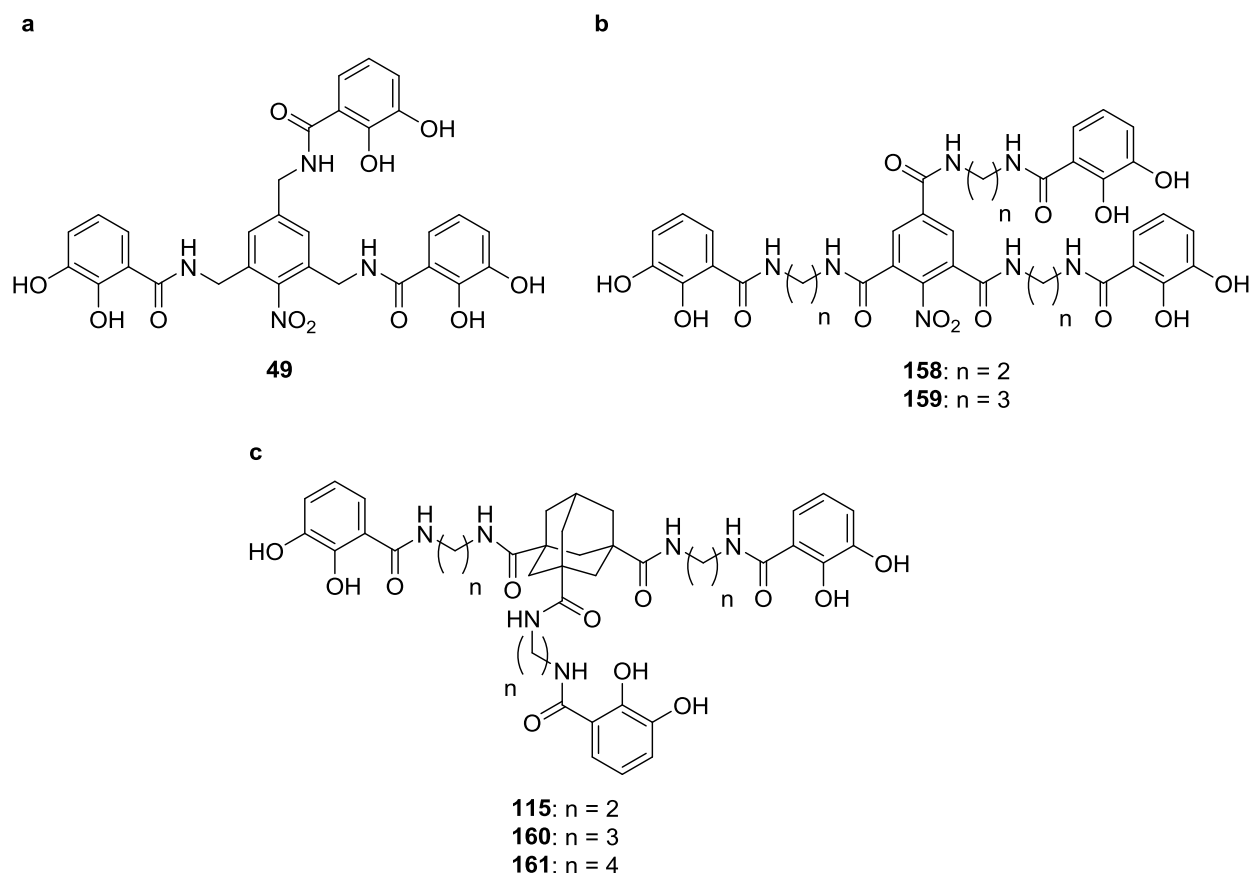


Abbildung 37: Darstellung der drei mittels DFT-Rechnungen untersuchten Siderophorklassen: a) MECAM-Derivat **49**. b) Verbindungen **158** und **159** mit im Vergleich zu Verbindung **49** größeren Abständen zwischen Kernmotiv und Catecholamiden. C) Adamantanderivate **115**, **160** und **161**.

Die strukturellen Eigenschaften der Siderophor-Eisen-Komplexe können anschaulich über den Vergleich der jeweils sechs Eisen-Sauerstoff-Kontakte der oktaedrischen Komplexe betrachtet werden. In Tab. 1 sind diese Werte exemplarisch für die beiden künstlichen Siderophore **49** und **115** aufgeführt.

Tabelle 1: Kalkulierte Abstände und Kraftkonstanten der Fe-O-Kontakte in den Verbindungen **49** und **115**.

Abstände (Fe–O) [Å]		Kraftkonstanten (Fe–O) [N/cm]	
49	115	49	115
2.10	2.15	0.75	0.74
2.00	2.03	1.19	1.20
2.08	2.15	0.86	0.74
1.99	2.03	1.24	1.20
2.08	2.15	0.85	0.74
2.01	2.02	1.26	1.20

Auffällig ist, dass je drei der sechs betrachteten Abstände und auch Kraftkonstanten ähnliche Werte aufweisen. So liegen in MECAM-Derivat **49** drei Abstandswerte um 2.0 Å, während die drei restlichen Fe–O-Abstände etwa 2.1 Å betragen. In Adamantyllderivat **115** ist die gleiche Tendenz erkennbar, jeweils drei Abstände betragen gut 2.0 Å sowie genau 2.15 Å. Die gleiche Art der Korrelation kann für die Kraftkonstanten der jeweiligen Eisen(III)-Komplexe beobachtet werden. Den drei kürzeren Fe–O-Abständen sind größere Kraftkonstanten um 1.20 N/cm zugeordnet, während die Kraftkonstanten der längeren Eisen-Sauerstoff-Distanzen bei niedrigeren Werten zwischen 0.7 N/cm und 0.9 N/cm liegen. Da stärkere Bindungen sowohl kürzer sind als auch größere Kraftkonstanten besitzen, entspricht diese Beobachtung den Erwartungen. Die Unterscheidung der sechs Komplexbindungen in zwei Gruppen zeigt, dass die beiden verschiedenen Sauerstoffe der jeweils drei zweizähligen Liganden unterschiedliche elektronische Eigenschaften aufweisen. Durch die Ausbildung einer intramolekularen Wasserstoffbrücke vom Catecholamid (Schema 5) wird Elektronendichte vom Sauerstoffatom in 2-Position abgezogen, weswegen dieses eine weniger starke Komplexbindung zum dreiwertigen Eisenion aufbaut als das benachbarte Sauerstoffatom in 3-Position. Die Eisen(III)-Komplexe beider Verbindungen folgen diesem Prinzip. Die große Ähnlichkeit der Werte für die beiden untersuchten Verbindungen **49** und **115** legt dabei nahe, dass diese zwei unterschiedlichen künstlichen Siderophore in der Praxis Eisen(III)-Komplexe vergleichbarer Stabilität ausbilden sollten.

Nach dem Erhalt dieser vielversprechenden Ergebnisse wurden die synthetisierten Verbindungen anschließend in chemischen und biologischen Assays getestet.

3.2.2 Auf computerchemischen Rechnungen basierende Untersuchungen

3.2.2.1 Computerchemische Untersuchungen des Spinzustands

Über die in Abschn. 3.2.1.1 beschriebenen computerchemischen Berechnungen sollte ebenfalls der Spinzustand von Eisen(III)-Komplexen der untersuchten Siderophore bestimmt werden. Wie in Abschn. 1.6.2 erläutert ist die *low spin*-Konfiguration für oktaedrische Eisen(III)-Komplexe mit Siderophoren als bevorzugter Spinzustand bisher nicht bekannt. Dementsprechend zeigten auch DFT-Untersuchungen mehrerer ausgewählter natürlicher Siderophore stets die *high spin*-Konfiguration als stabileren der beiden Spinzustände an (Tab. 2). Neben der thermodynamischen Stabilität ist jedoch auch zu berücksichtigen, wie kinetisch inert Übergangsmetallkomplexe sind. So wurden rechnerisch für die stabileren *high spin*-Komplexe der in Tab. 2 aufgeführten Siderophore Fe–O-Kraftkonstanten zwischen 0.7 und 1.3 N/cm ermittelt, in den energetisch weniger günstigen *low spin*-Zuständen lagen die Werte zwischen 1.5 und 1.9 N/cm. Während *high spin*-Komplexe der untersuchten Siderophore also thermodynamisch stabiler als ihre betreffenden *low spin*-Varianten sind, sind sie gleichzeitig kinetisch labiler. Dieser Zusammenhang wurde auch für den natürlichen Siderophor Rhizoferrin bereits belegt.^[199]

Tabelle 2: DFT-Berechnungen ausgewählter natürlicher Siderophore zeigten in allen Fällen eine höhere thermodynamische Stabilität der *high spin*-Komplexe gegenüber den *low spin*-Zuständen in einer oktaedrischen Koordinationssphäre mit Fe³⁺-Ionen an.

Natürlicher Siderophor	ΔE (<i>hs-ls</i>) [kJ/mol]
Enterobactin	-61.7
Bacillibactin	-36.5
Petrobactin	-38.2
Aerobactin	-56.3
Coelichelin	-25.1
Coprogen	-16.5
Desferrioxamin B	-19.2
Ferrichrom A	-22.9
Mugineinsäure	-43.5

Die DFT-Kalkulationen für Verbindung **158** ergaben eine energetische Begünstigung des *low spin*-Zustands ($\Delta E (hs - ls) = 46.2 \text{ kJ/mol}$). Dieser künstliche Siderophor stellt damit das erste Beispiel für eine Verbindung dar, deren oktaedrischer Eisen(III)-Komplex sowohl thermodynamisch als auch kinetisch die *low spin*-Konfiguration bevorzugt. Eine rechnerische Untersuchung der korrespondierenden Desnitro-Verbindung **162** ergab eine Bevorzugung des *high spin*-Zustands ($\Delta E (hs - ls) = -38.5 \text{ kJ/mol}$). Die Strukturen der beiden künstlichen Siderophore **158** und **162** sind in Abb. 38 dargestellt.

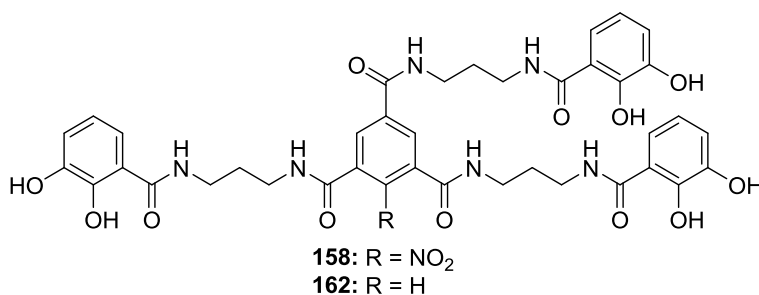


Abbildung 38: Chemische Strukturen der Substanzen **158** und **162**. Laut DFT-Kalkulationen sollte der Fe³⁺-Komplex des künstlichen Siderophors **158** die *low spin*-Konfiguration thermodynamisch bevorzugen.

In Tab. 3 sind die errechneten Abstände und Kraftkonstanten der Eisen-Sauerstoff-Komplexbindungen für die Verbindungen **158** und **162** aufgeführt. Die Werte für *high spin*- und *low spin*-Konfiguration werden vergleichend gegenübergestellt.

Tabelle 3: Vergleich der errechneten Eisen-Sauerstoff-Abstände und -Kraftkonstanten für Eisen(III)-Komplexe der Verbindungen **158** und **162**, jeweils für den *high spin* und *low spin*-Fall.

Abstände (Fe–O) [Å]				Kraftkonstanten (Fe–O) [N/cm]			
158		162		158		162	
<i>high spin</i>	<i>low spin</i>	<i>high spin</i>	<i>low spin</i>	<i>high spin</i>	<i>low spin</i>	<i>high spin</i>	<i>low spin</i>
1.90	1.88	2.10	1.92	1.35	2.00	0.71	1.58
1.86	1.86	1.97	1.88	1.57	2.16	1.33	2.01
1.93	1.91	2.10	1.94	0.90	1.77	0.67	1.47
1.87	1.88	2.02	1.91	1.46	2.01	1.02	1.73
2.01	1.85	1.97	1.91	1.07	2.29	1.29	1.73
2.12	1.90	2.07	1.92	0.62	1.82	0.82	1.70

Die Eisen-Sauerstoff-Abstände sind für beide Moleküle in der *low spin*-Konfiguration kleiner und einheitlicher als für den *high spin*-Fall. Werte dicht bei 1.9 Å stehen Abständen

von 1.86 Å bis 2.12 Å gegenüber. Die zugehörigen Kraftkonstanten sind für beide Moleküle in der *low spin*-Konfiguration (1.58 – 2.29 N/cm) deutlich größer als in der *high spin*-Konfiguration (0.62 – 1.57 N/cm). Anhand dieser Daten kann darauf geschlossen werden, dass auch die *low spin*-Komplexe der Verbindungen **158** und **162** kinetisch inerte sind als ihre *high spin*-Vertreter. Bei der Betrachtung der Kraftkonstanten fällt auf, dass für beide Moleküle und Spinkonfigurationen die je sechs Kraftkonstanten um mehr als 0.5 N/cm untereinander abweichen. Des Weiteren ist eine klare Aufspaltung der jeweils sechs Werte in zwei Gruppen, wie in Abschn. 3.2.1 für die künstlichen Siderophore **49** und **115** beschrieben, nicht erkennbar. Auch ein anderes Muster ist nicht ersichtlich. Die Geometrie der drei vom aromatischen Zentralmotiv ausgehenden linearen Verbindungseinheiten scheint damit weitaus weniger einer idealen C₃-Symmetrie zu entsprechen als bei den zuvor betrachteten Verbindungen **49** und **115**. Die Tatsache, dass die Fe–O-Abstände der *low spin*-Komplexe jeweils weniger stark schwanken als in den korrespondierenden *high spin*-Komplexen, lässt aber die Vermutung zu, dass die *low spin*-Komplexe einer idealen Geometrie zumindest näherkommen, als es für die *high spin*-Komplexe der Fall ist.

Während für beide Substanzen das Verhalten von Eisen-Sauerstoff-Abständen und -Kraftkonstanten zwischen den beiden möglichen Spin-konfigurationen korreliert, wird für Verbindung **162** der *high spin*-Zustand bevorzugt, wohingegen für Verbindung **158** der *low spin*-Zustand energetisch günstiger ist. Dies zeigt, dass stärkere Komplexbindungen nicht zwangsläufig mit einer erhöhten thermodynamischen Stabilität des gesamten Moleküls einhergehen müssen.

Der nach den DFT-Kalkulationen geometrieoptimierte *low spin*-Komplex von Verbindung **158** ist in Abb. 39 dargestellt.

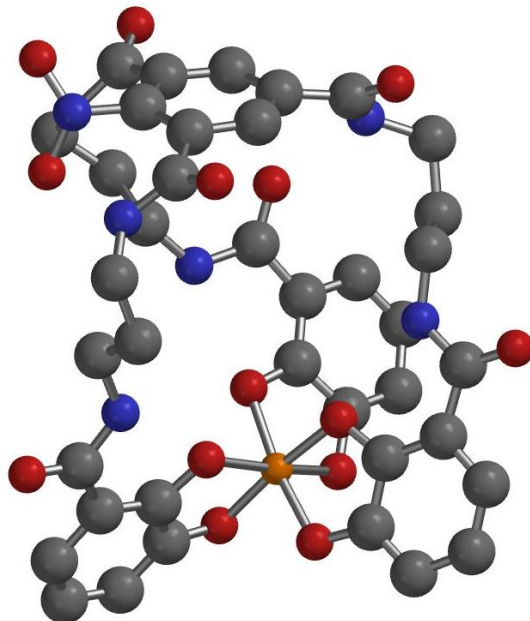


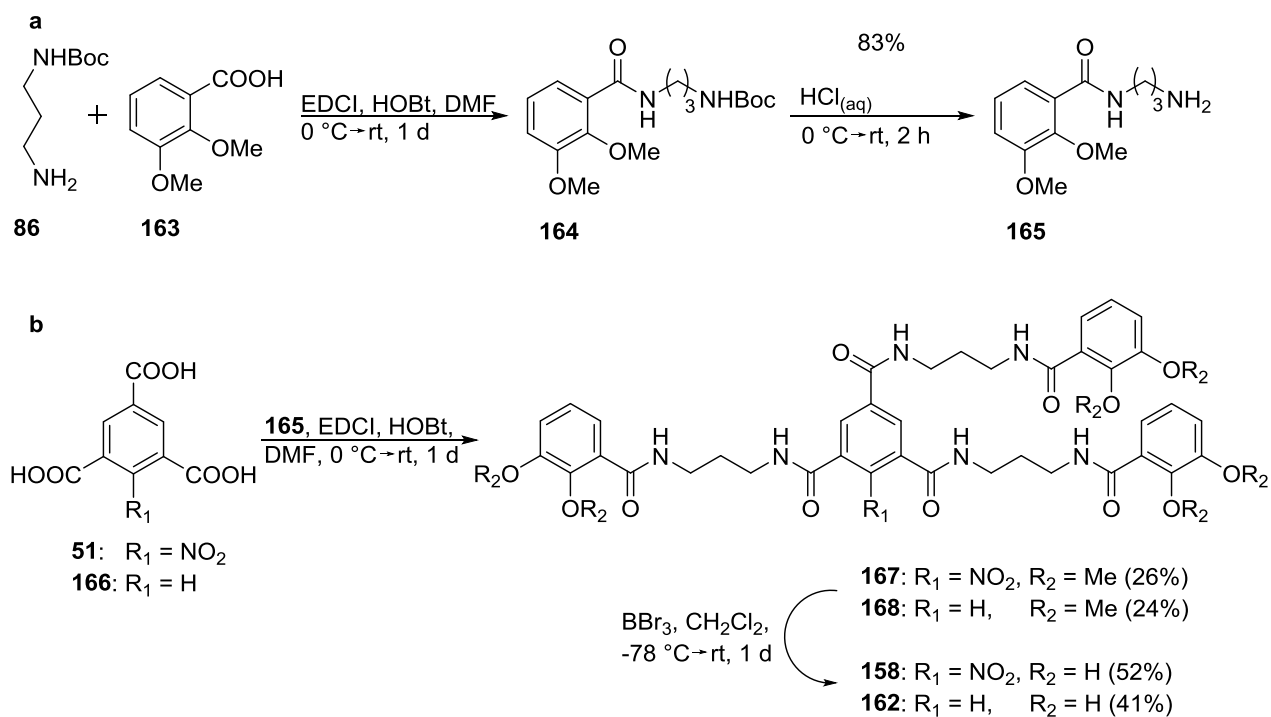
Abbildung 39: Errechnete Struktur des Eisen(III)-Komplexes von Verbindung **158** (*low spin*) mit farbiger Hervorhebung von Eisen (orange), Sauerstoff (rot), Stickstoff (blau) und Kohlenstoff (grau). Oben ist der zentrale Nitroaromat erkennbar, weiter unten der oktaedrische Eisen(III)-Komplex.

Ähnlich der in Abb. 20 dargestellten Kristallstruktur des Enterobactins ist zu erkennen, dass die drei Catecholeinheiten etwa um 90° aus der Ebene des Zentralmotivs (hier ein Aromat) herausragen und einen sechszähligen Eisen(III)-Komplex bilden. Anders als für das auf einem Trilacton aufbauende Enterobactin wird über den zentralen Aromaten jedoch keine Vororientierung der komplexbildenden Gruppen ermöglicht.

Um die rechnerischen Ergebnisse experimentell zu bestätigen, waren im Folgenden die Eisen(III)-Komplexe der Substanzen **158** und **162** herzustellen und zu untersuchen.

3.2.2.2 Synthesen der Verbindungen 158, 162 und derer Eisen(III)-Komplexe

Die Synthese der Substanz **90**, des acetylierten Derivats von Verbindung **158**, wurde in Abschn. 3.1.2 beschrieben. Um die niedrigen Ausbeuten dieser Synthese zu verbessern, wurden beim Aufbau der Verbindungen **158** und **162** einige Änderungen vollzogen. So wurde das Boc-geschützte Diamin zunächst mit der Catecholeinheit anstatt mit der zentralen Trisäure verknüpft. Außerdem wurden anstelle von Acetylresten Methylschutzgruppen verwendet. Zunächst wurde aus Amin **86** und 2,3-Dimethoxybenzoesäure (**163**) Verbindung **164** erhalten, deren saure Entschützung das freie Amin **165** generierte (Schema 49a). Dieses wurde mit Verbindung **51** sowie mit Trimesinsäure (**166**) zu den methylgeschützten Siderophoren **167** und **168** umgesetzt. Durch anschließende Behandlung mit Bortribromid wurden die Zielverbindungen **158** und **162** erhalten (Schema 49b).^[200]



Schema 49: a) Synthese des Catecholbausteins **164** durch Verknüpfung der Edukte **86** und **163** sowie anschließende Entschützung zu Verbindung **165**. b) Reaktion von Verbindung **165** mit den Trisäuren **51** und **166** zu den Zwischenprodukte **167** und **168**. Durch deren Entschützung mit Bortribromid wurden die Siderophore **158** und **162** synthetisiert.

Für die Bildung der Eisen(III)-Komplexe wurden jeweils wässrige Lösungen der Siderophore **158** und **162** zu einer sauren Lösung von Eisen(III)-chlorid in Wasser gegeben. Durch Behandlung der resultierenden Reaktionsmischungen mit Natronlauge wurde ein basischer pH-Wert von ca. 12 eingestellt, bei dem sich stabile Komplexe bilden sollten. Dies wurde durch eine eintretende tiefrote Färbung der Reaktionsmischungen unterstrichen, die bei der Erhöhung des pH-Werts auftrat. Die Ausbildung von Eisen(III)-Komplexen der Verbindungen **158** und **162** bestätigte die entsprechenden DFT-Kalkulationen (Abschn. 3.2.2.1).

Nach der erfolgreichen Synthese der Verbindungen **158** und **162** sowie deren Komplexierungen mit Eisen(III)-chlorid war nun der Spinzustand der Komplexe experimentell zu ermitteln. Hierfür boten sich Mößbauer- und ESR-Spektroskopie an.

3.2.2.3 Vermessungen durch Mößbauer-Spektroskopie

Wie in Abschn. 1.6.3 dargestellt stellt die Mößbauer-Spektroskopie eine Möglichkeit dar, den Spinzustand von Eisen(III)-Komplexen aufzuklären. Sollte sich durch Komplexierung von Verbindung **162** der erwartete *high spin*-Komplex und für Verbindung **158** tatsächlich ein *low spin*-Komplex gebildet haben, so sollte dies durch den Vergleich der beiden betreffenden Mößbauerspektren zu belegen sein. Vermessungen mittels Mößbauer- sowie ESR-Spektroskopie (s. Abschn. 3.2.2.4) wurden durch Dr. Dirk Baabe an der TU Braunschweig durchgeführt.

Abb. 40 zeigt das Mößbauerspektrum von Verbindung **162** nach der Komplexierung mit Eisen(III)-chlorid in Natronlauge. Entgegen der Erwartung eines einzelnen entstandenen Komplexes mussten für vier verschiedene Eisenspezies Ausgleichskurven gefittet werden, um die Messkurve zufriedenstellend anzunähern. Zwei der Kurven sind durch eine Quadrupolaufspaltung zu einem Doppelpeak aufgetrennt. Eine weitere Kurve zeigt insgesamt sechs Peaks, die durch magnetische Aufspaltung zustande kommen. Die vierte Ausgleichskurve erscheint als breiter, einzelner Peak. Hier liegt eine magnetische Aufspaltung vor, bei der die charakteristischen sechs Linien nicht detailliert aufgelöst sind. Aus den Fitparametern geht jedoch die Existenz eines Magnetfelds hervor.

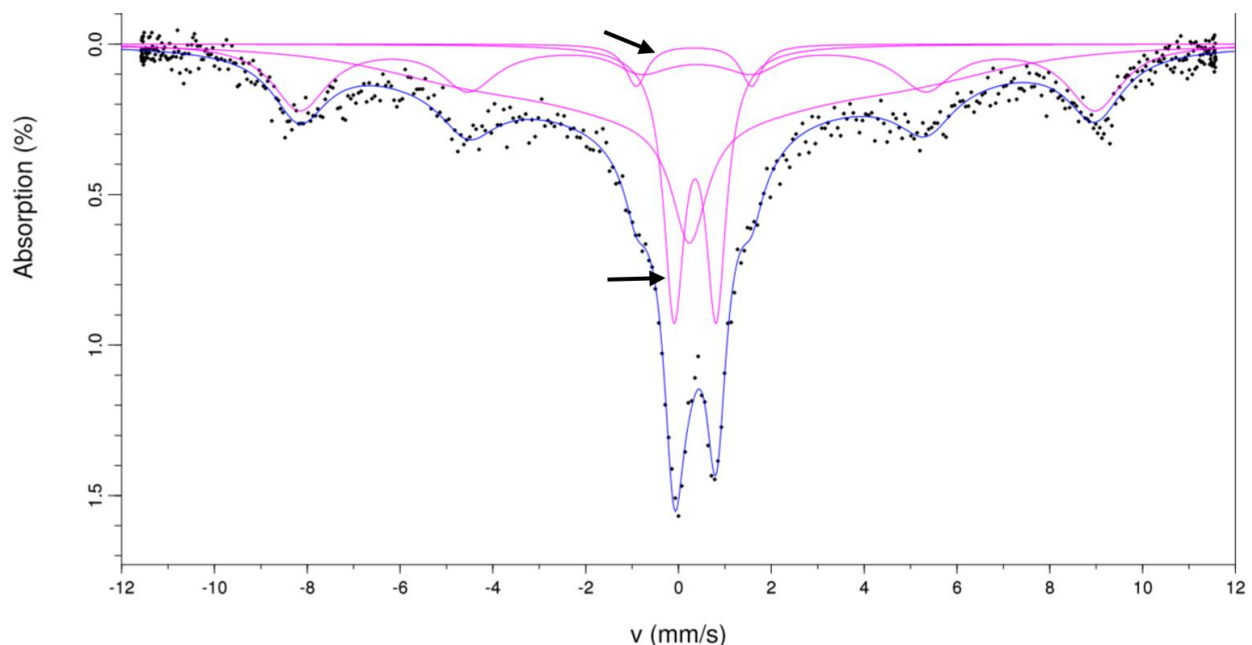


Abbildung 40: Mößbauerspektrum der Eisen(III)-komplexierten Verbindung **162**. Die an die Messpunkte (schwarz) angepasste Messkurve (blau) wird durch insgesamt vier Ausgleichskurven angenähert (pink). Für den Zielkomplex kommen nur die beiden Kurven mit Quadrupolaufspaltung (durch Pfeile markiert) infrage.

Die beiden quadrupolaufgespaltenen Signale machen $(20.40 \pm 0.26) \%$ bzw. $(3.44 \pm 0.78) \%$ der Gesamtintensität aus. Das Signal größerer Intensität zeigt eine Isomerieverschiebung von $(0.358 \pm 0.010) \text{ mm/s}$ und eine Quadrupolaufspaltung von $(0.453 \pm 0,012) \text{ mm/s}$, das andere Signal eine Isomerieverschiebung von $(0.332 \pm 0.063) \text{ mm/s}$ und eine Quadrupolaufspaltung von $(1.241 \pm 0.068) \text{ mm/s}$. Da der erwartete Eisen(III)-Komplex zwar paramagnetisch, nicht jedoch ferro- oder ferrimagnetisch ist, kann es sich nur bei einem dieser beiden Signale um diesen Komplex handeln. Die Bildung einer weiteren, ähnlichen Eisenspezies kann über die Ausbildung eines Komplexes mit anderer Ligandengeometrie erklärt werden. So ist für MECAM die Bildung von dimeren Komplexen beobachtet worden.^[201] Auch die Entstehung eines Komplexes mit nur vier anstatt sechs Liganden ist denkbar, wenn nicht drei sondern nur zwei Catecholamide an der Komplexbildung beteiligt sind.

Die beiden weiteren Ausgleichskurven, für die magnetische Aufspaltungen detektiert wurden, zeigen die Entstehung ferrimagnetischer Eisen(III)-oxidhydroxidspezies an. Deren Bildung findet anscheinend in Konkurrenz zur Bildung der Siderophorkomplexe in wässriger Lösung statt.

Das für einen Vergleich der beiden Komplexe notwendige Mößbauerspektrum, welches nach der Behandlung von Verbindung **158** mit Eisen(III)-chlorid in Natronlauge aufgenommen wurde, ist in Abb. 41 dargestellt. Im Gegensatz zu den vier Ausgleichskurven aus Abb. 40 mussten für einen hinreichenden Fit fünf Ausgleichskurven erstellt werden.

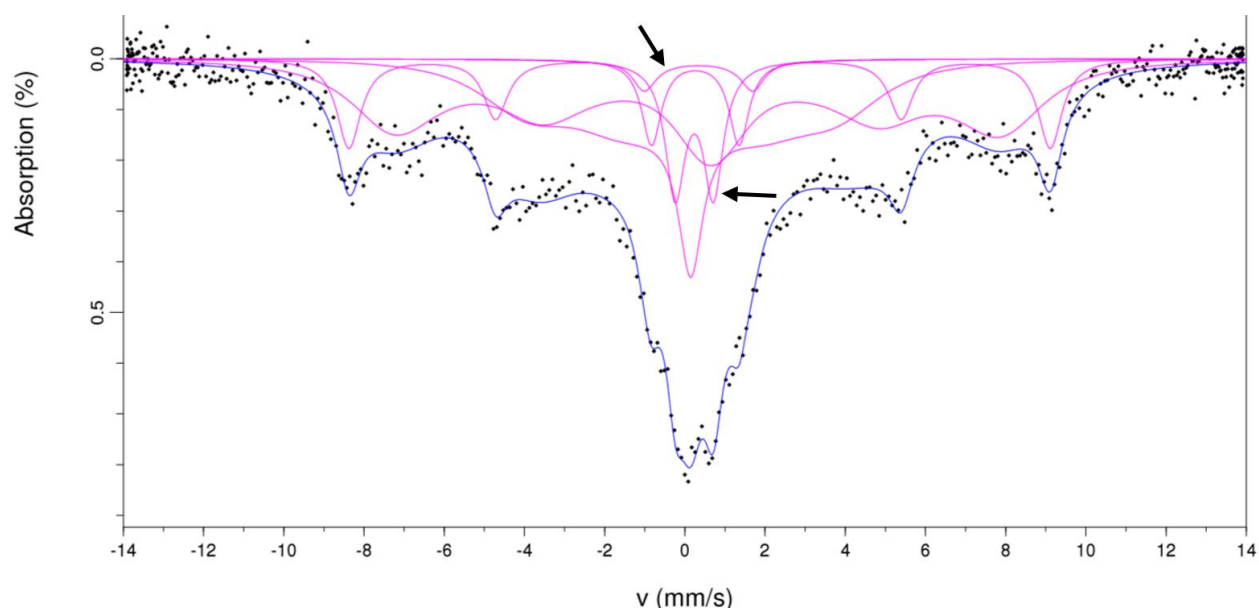


Abbildung 41: Mößbauerspektrum der Eisen(III)-komplexierten Verbindung **158**. Um die aus den Messpunkten (schwarz) erstellte Messkurve (blau) zufriedenstellend anzunähern, sind fünf Ausgleichskurven (pink) notwendig. Zwei dieser Kurven sind quadrupolaufgespalten (durch Pfeile markiert) und können auf die Existenz eines Siderophorkomplexes hindeuten.

Wie für die Komplexierung von Substanz **162** sind zwei quadrupolaufgespaltene Signale erkennbar, die Anteile von $(8.30 \pm 0.12) \%$ und $(5.36 \pm 0.90) \%$ an der Gesamtintensität ausmachen. Ihre Isomerieverschiebungen betragen $(0.235 \pm 0.037) \text{ mm/s}$ bzw. $(0.262 \pm 0.047) \text{ mm/s}$ und ihre Quadrupolaufspaltungen $(0.475 \pm 0.036) \text{ mm/s}$ sowie $(1.092 \pm 0.048) \text{ mm/s}$. Um einen übersichtlichen Vergleich der jeweils zwei quadrupolaufgespaltenen Signale zu ermöglichen, sind deren Parameter in Tab. 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Gegenüberstellung der Fitparameter für die jeweils zwei quadrupolaufgespaltenen Ausgleichskurven. Diese werden jeweils mit a und b gekennzeichnet. Zugrunde liegen die Messungen mittels Mößbauer-Spektroskopie der Verbindungen **158a** und **158b** nach der Komplexierung mit Eisen(III)-chlorid.

Komplexierte Substanz	162		158	
	a	b	a	b
Ausgleichskurve				
Intensitätsanteil [%]	20.40 ± 0.26	3.44 ± 0.78	8.30 ± 0.12	5.36 ± 0.90
Isomerieverschiebung [mm/s]	0.358 ± 0.010	0.332 ± 0.063	0.235 ± 0.037	0.262 ± 0.047
Quadrupolaufspaltung [mm/s]	0.453 ± 0.012	1.241 ± 0.068	0.475 ± 0.036	1.092 ± 0.048

Sämtliche Isomerieverschiebungen nehmen für Verbindung **162** zu Verbindung **158** leicht ab, was einem Wechsel von *high spin*- zu *low spin*-Komplex widerspricht. Bezüglich der Quadrupolaufspaltungen sind für die mit **a** und **b** bezeichneten Ausgleichskurven untereinander Gemeinsamkeiten zu erkennen. Die Werte liegen für beide Signale knapp unter 0.5 (**a**) bzw. leicht über eins (**b**). Eine deutliche Zunahme der Quadrupolaufspaltung, wie sie für einen *low spin*-Komplex zu erwarten wäre, ist nicht auszumachen.

Die drei weiteren Signale sind magnetisch aufgespalten, wobei nur für eines dieser drei Signale das typische, aus sechs Linien bestehende, Signal zu erkennen ist. Insgesamt ist die Verunreinigung durch Eisen(III)-oxidhydroxidspezies demnach deutlich größer als für die Komplexierung von Verbindung **162**.

Die Mößbauerspektren legen die Bildung großer Mengen an ferrimagnetischen Verunreinigungen nahe. Der Beweis für einen Wechsel vom *high spin*-Zustand für die Komplexierung von Verbindung **162** zu einem entsprechenden *low spin*-Komplex für Verbindung **158** kann aus ihnen nicht entnommen werden.

3.2.2.4 Vermessungen durch Elektronenspinresonanz

Die theoretischen Grundlagen der ESR-Spektroskopie wurden in Abschn. 1.6.4 erläutert. Das ESR-Spektrum der komplexierten Verbindung **162** zeigt bei 20 K ein Signal bei einem g-Wert von 4.4 (Abb. 42a). Dieses Signal ist gut mit einem *high spin*-Zustand vereinbar, verschwindet jedoch bei Raumtemperatur. Durch die Erhöhung der Temperatur verändert sich die Relaxationszeit für den Übergang der Elektronen vom energetisch angeregten Zustand in den Grundzustand. Liegt die Relaxationszeit dann nicht mehr im Messfenster des Spektrums, verschwindet das bei tiefen Temperaturen sichtbare Signal. Daher ist bei Raumtemperatur kein Signal bei einem g-Wert von 4.4 zu erkennen (Abb. 42b). Ein solches Verhalten wäre auch für den aus Verbindung **158** gebildeten Eisenkomplex zu erwarten gewesen. Hier tritt aber bei Raumtemperatur ein klares Signal bei einem g-Wert von 2 auf, das bei 15 K stark verbreitert ist (Abb. 43a,b). Zusätzlich ist bei dieser Temperatur eine Verunreinigung erkennbar, deren Signal stark dem aus Abb. 42a ähnelt. Die auf Eisen(III)-oxidhydroxid beruhenden Verunreinigungen (Abschn. 3.2.2.3) erscheinen als quasikontinuierliches Signal bei hohen g-Werten. Das Auftreten einer solchen *high spin*-Verunreinigung ist angesichts der zuvor aufgenommenen Mößbauerspektren nicht verwunderlich. Aus diesen war die Bildung von je zwei verschiedenen Komplexen ersichtlich. Eine *low spin*-Konfiguration wurde jedoch nur für genau einen monomeren, oktaedrischen Komplex von Verbindung **158** erwartet. Dass die Verunreinigung bei tiefen Temperaturen gut sichtbar ist, bei Raumtemperatur jedoch verschwindet, stimmt gut mit den Beobachtungen für den Eisenkomplex von Verbindung **162** überein. Das gegensätzliche Verhalten des ESR-Signals für den Eisenkomplex von Verbindung **158** überrascht jedoch, obwohl der g-Wert von 2 den erwarteten Gesamtspin von $S = 1/2$ anzeigt. Solche Signale, die bei Raumtemperatur klar hervortreten, bei tieferen Temperaturen aber einer starken Verbreiterung unterliegen, sind eher für radikalische und oligomere Spezies bekannt, für die stark abweichende Relaxationszeiten vorliegen. Die genaue Natur des beobachteten Komplexes ist damit nicht abschließend definierbar. Weitere Untersuchungen wären erforderlich, um die Bildung eines ersten *low spin*-Komplexes mit einem Siderophor bestätigen oder ablehnen zu können.

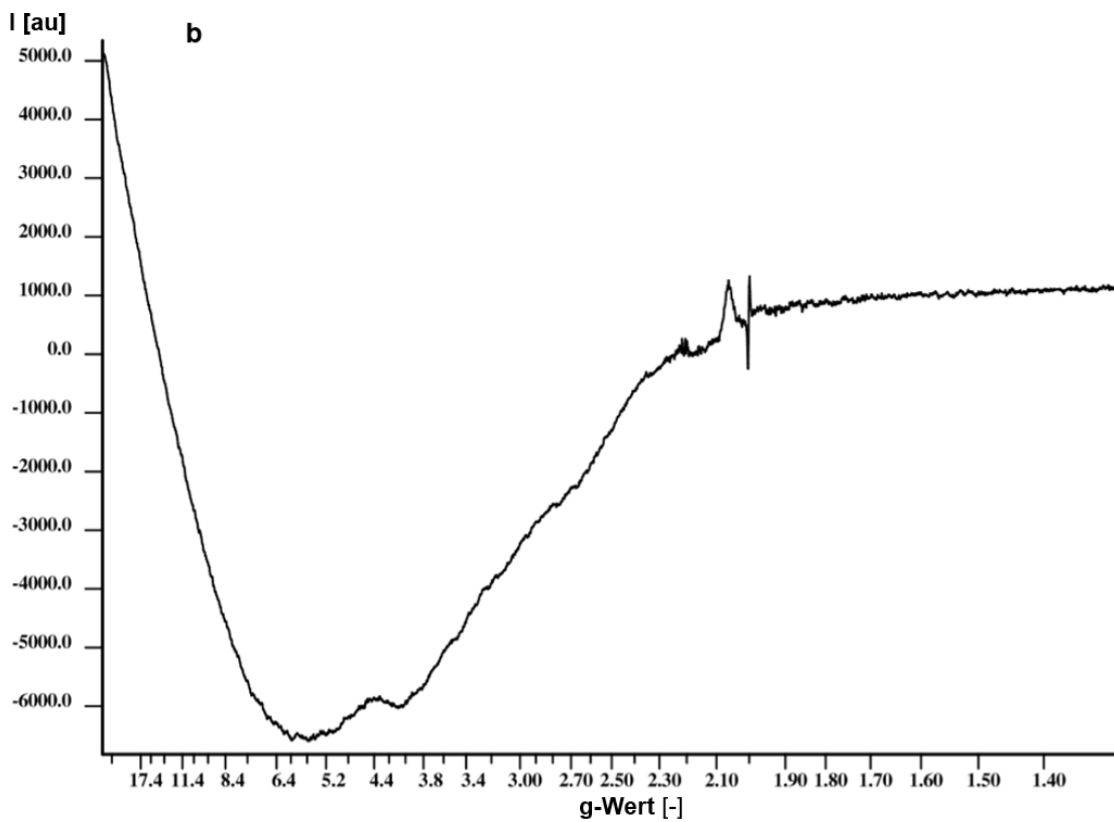
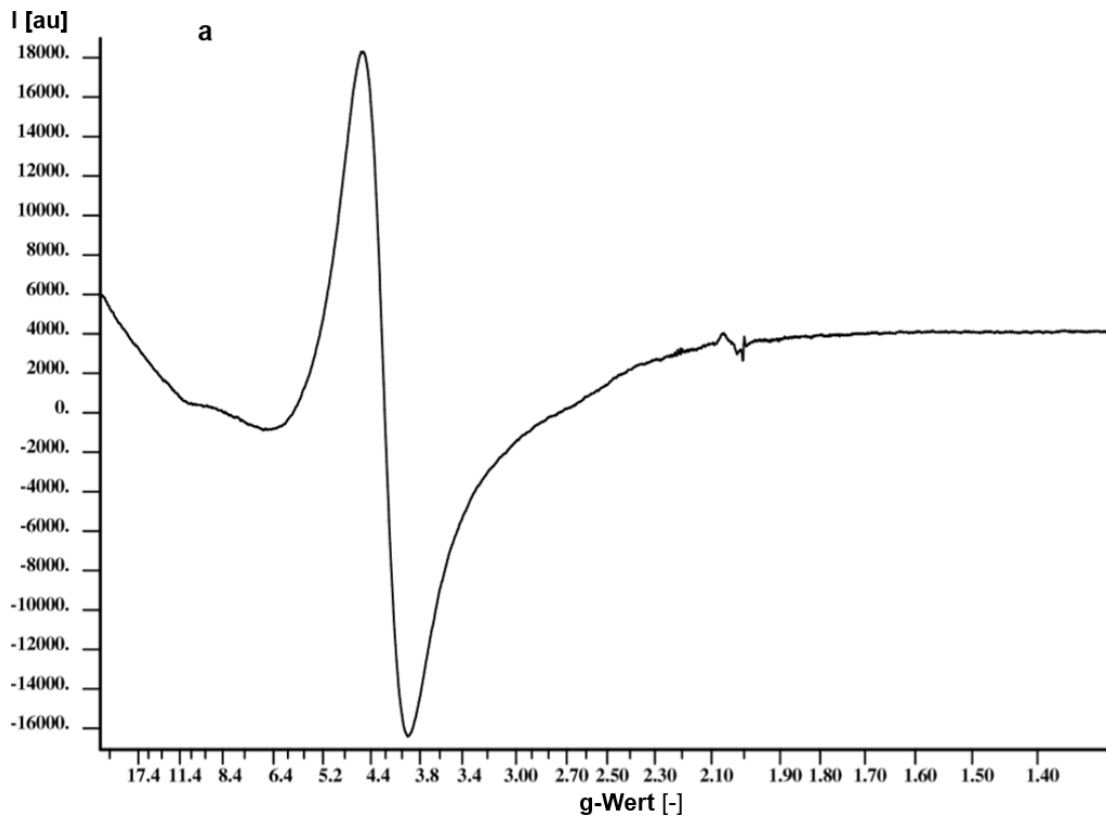


Abbildung 42: ESR-Spektren von Verbindung **162** (Fe^{3+} -Komplex) bei a) 20 K und b) Raumtemperatur

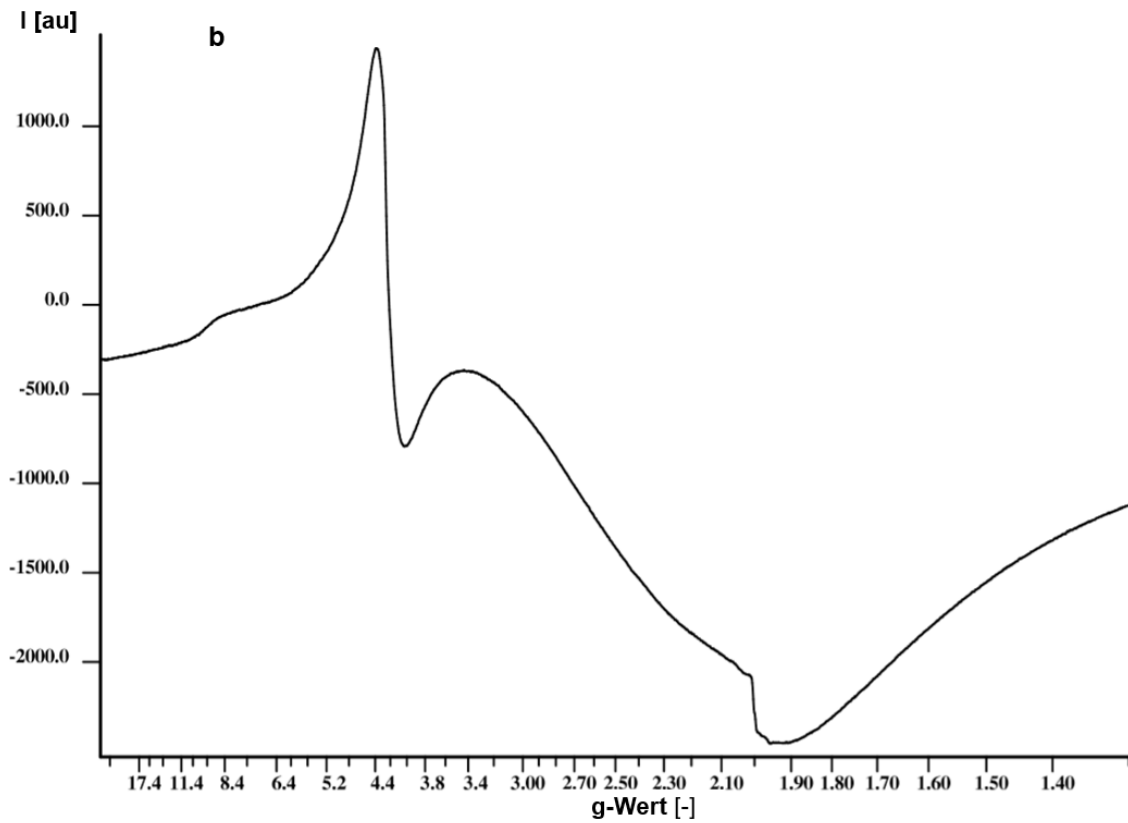
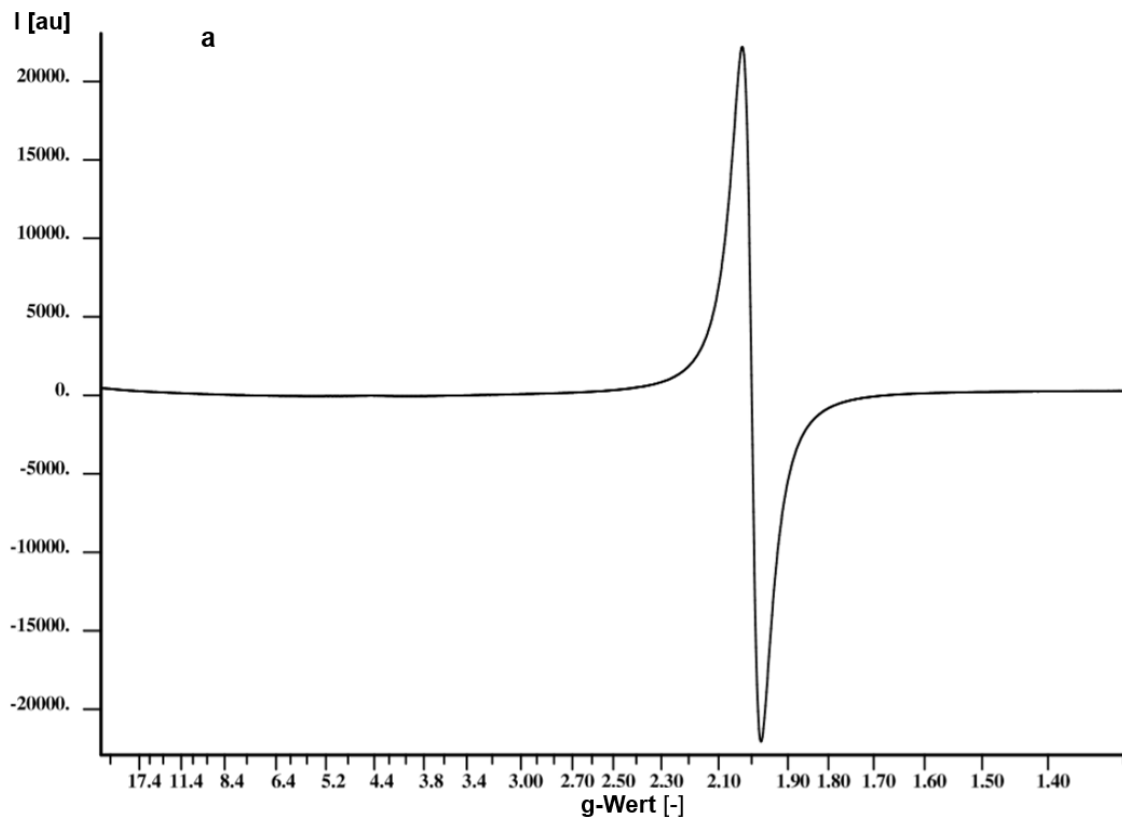


Abbildung 43: ESR-Spektren von Verbindung **158** (Fe^{3+} -Komplex) bei a) Raumtemperatur und b) 20 K.

3.2.3 Das Eisen(III)-CAS-Assay

Um potentielle Siderophore auf ihre Fähigkeit zu testen, Komplexe mit Fe^{3+} -Ionen zu bilden, kann Chromazurol S (CAS, Abb. 44) verwendet werden. Dieser rote Farbstoff bildet mit dreiwertigen Eisenionen tiefblaue Komplexe, die jedoch nicht sehr stabil sind. Der CAS-Fe(III)-Komplex erzeugt ein Absorptionsmaximum bei ca. 650 nm. Dieses Maximum verschwindet bei Entzug des Eisenions unter Farbumschlag der Lösung: Wird eine Substanz in eine Lösung von Fe(III)-CAS-Komplex gegeben, die in der Lage ist, dem Komplex das Fe^{3+} -Ion zu entziehen, so ändert sich die Färbung der Lösung von blau zu orangerot.^[202] Durch die Aufnahme eines UV-VIS-Spektrums kann daher eine Substanz auf ihre Fähigkeit hin untersucht werden, stabile Komplexe mit Fe^{3+} -Ionen zu bilden.

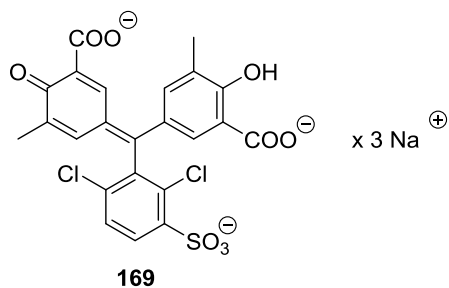


Abbildung 44: Chemische Struktur des Farbstoffs Chromazurol S

Als Positivkontrolle des Assays wurde Enterobactin verwendet, für die Negativkontrolle wurde auf die Zugabe von Siderophoren verzichtet. Mit den Verbindungen **49** und **115** (Abb. 45 a und b) wurden je ein MECAM-Vertreter und ein Adamantanderivat getestet.

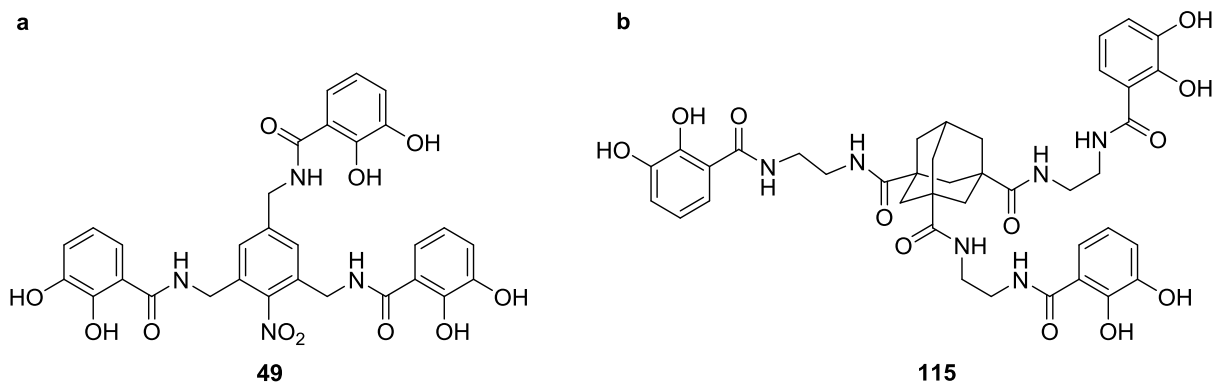


Abbildung 45: Die für das Fe(III)-CAS-Assay verwendeten Verbindungen **49** (a) und **115** (b).

Die Ergebnisse des Assays sind in Abb. 46 qualitativ dargestellt. Für beide künstlichen Siderophore ist das Verschwinden des Absorptionsmaximums um 650 nm erkennbar. Das MECAM-Derivat **49** zeigt dabei fast identische Absorptionseigenschaften zu Enterobactin, während das Adamantanderivat **115** ein leicht abweichendes Absorptionsspektrum erzeugt: Ein Absorptionsmaximum um 600 nm ist zu erkennen, das durch Enterobactin und Verbindung **49** nicht verursacht wird. Daraus kann gefolgert werden, dass der Adamantan-Siderophor zwar in der Lage ist, Komplexe mit dreiwertigen Eisenionen zu bilden, diese jedoch von leicht anderer Natur sind als Fe^{3+} -Komplexe von Enterobactin und MECAM-Derivaten.

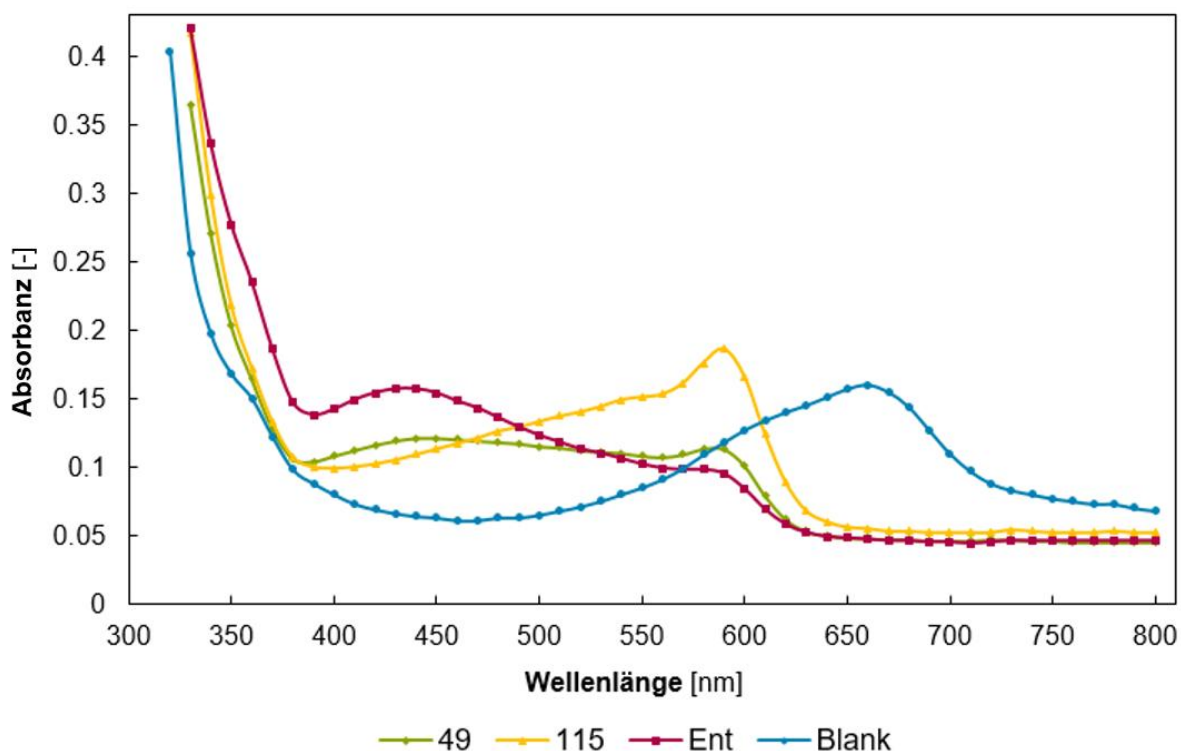


Abbildung 46: Absorptionsspektren der Substanzen **49** (grün) und **115** (gelb) nach deren Zugabe zu einer Lösung mit Fe(III) -CAS-Komplex. Auftragung der Absorbanz gegen die Wellenlänge. Enterobactin wurde als Positivkontrolle (rot) verwendet, für die Negativkontrolle (blau) wurde kein Siderophor zugegeben.

Da die Fähigkeit beider Verbindungen, stabile Komplexe mit Fe^{3+} -Ionen zu bilden, bewiesen werden konnte, wurden MECAM- und Adamantan-Derivate auf ihre Eignung als Xenosiderophore in *Escherichia coli* getestet.

3.2.4 Assay zur Wiederherstellung des Wachstums

Das Bakterium *Escherichia coli* bildet Enterobactin als dessen wichtigsten Siderophor. Bakterienstämme, die nicht über das Syntheseprotein EntA verfügen, können kein Enterobactin ausbilden. Da sie so die benötigte Menge an Eisen nicht internalisieren können, wachsen Kolonien dieses $\Delta entA$ -Stammes nicht (Abb. 47a). Das Wachstum kann erst dann wiederhergestellt werden, wenn ein externer Siderophor zugegeben wird, der dem Bakterium den aktiven Eisentransport ermöglicht. Werden hierfür die synthetisierten Verbindungen verwendet, so stellt eine eintretende Wiederherstellung des Wachstums den Beweis dafür dar, dass die Verbindungen als Xenosiderophore in *Escherichia coli* fungieren und zur Internalisierung von Eisen genutzt werden können (Abb. 47b).

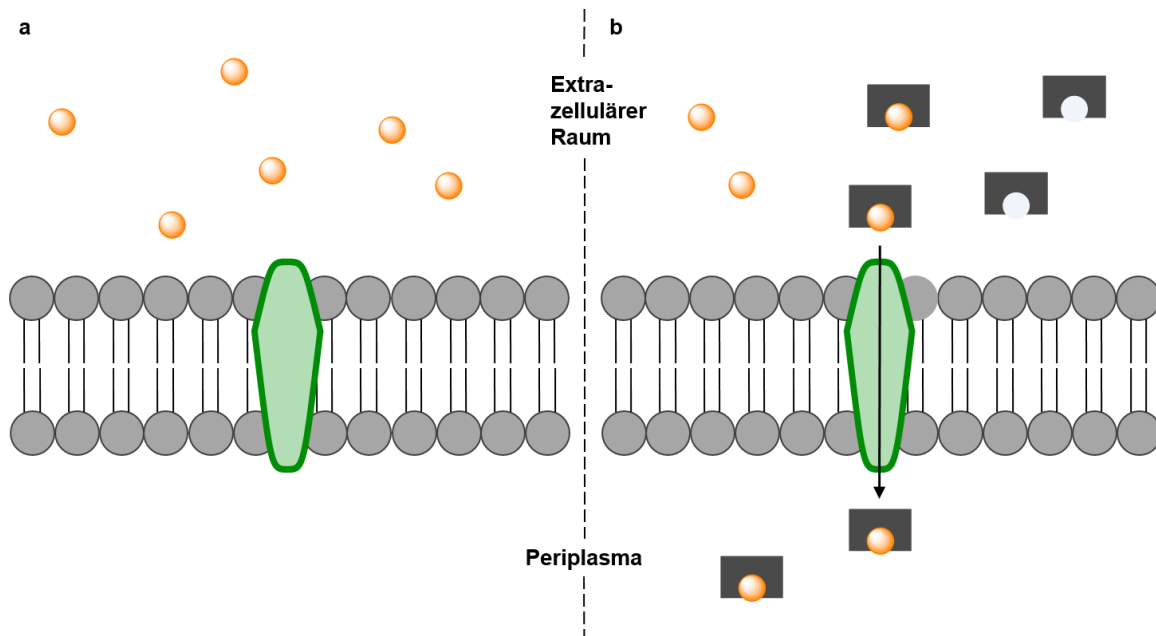


Abbildung 47: a) $\Delta entA$ -Stämme von *Escherichia coli* können aufgrund des Mangels an Enterobactin keine Fe³⁺-Ionen (orange) über einen OMR (grün) internalisieren. b) Die Zugabe eines geeigneten künstlichen Siderophors (grau) ermöglicht den aktiven Eisentransport durch die äußere Membran von *Escherichia coli*.

Solche Assays wurden durch Yi-Hui Lai der Arbeitsgruppe für chemische Biologie am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung durchgeführt. Zunächst wurden sämtliche

acetylierten Verbindungen mit nitrierten aromatischen Kernen getestet, deren Synthesen in den Abschnitten 3.1.1, 3.1.2 und 3.1.3 geschildert wurden.

Die Ergebnisse dieses Assays sind exemplarisch durch Abb. 48 in Form eines Balkendiagramms dargestellt. Ein Anstieg der optischen Dichte zeigt erfolgreiche Wiederherstellung des Wachstums an. Als Referenz diente der Wildtyp-Stamm *K-12-BW25113* von *Escherichia coli*. Dessen Verwendung ermöglicht den Vergleich mit uneingeschränkt wachsenden Bakterienstämmen. Außerdem wird damit sichergestellt, dass die im Assay verwendeten Substanzen keine toxische Wirkung auf *Escherichia coli* ausüben. Als Positivkontrolle kam Enterobactin zum Einsatz, während ein DMSO-Blank als Negativkontrolle diente. Um die niedrige Konzentration freier dreiwertiger Eisenionen unter physiologischen Bedingungen zu simulieren, wurde für das Assay ein eisenreduziertes Medium verwendet.

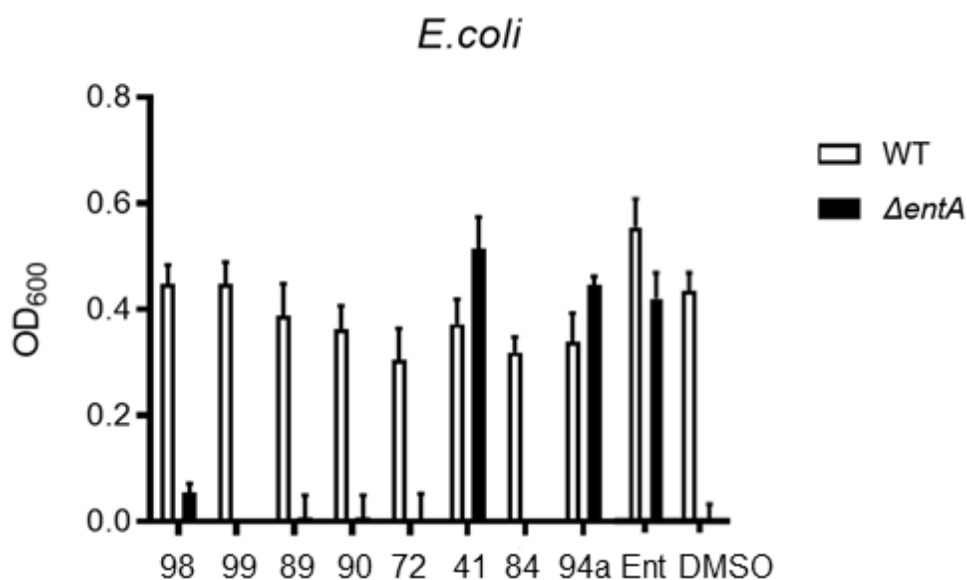


Abbildung 48: Ergebnisse des Assays zur Wachstumswiederherstellung künstlich hergestellter Siderophore mit aromatischem Kern. Auftragung der optischen Dichte bei 600 nm gegen die verwendeten Substanzen als Balkendiagramm. Die beobachteten optischen Dichten für den Wildtyp (WT) von *Escherichia coli* sind mit umrahmten Balken dargestellt, während für $\Delta entA$ gefüllte Balken verwendet werden.

Nur für die beiden Verbindungen **41** und **94a**, die über den kürzesten Abstand zwischen aromatischer Zentraleinheit und Catecholamiden verfügen, konnte eine Wiederherstellung des Wachstums beobachtet werden, die vergleichbar mit der für Enterobactin ist.

Alle anderen Verbindungen zeigten sich als Xenosiderophore für *Escherichia coli* ungeeignet.

Die Ergebnisse für die Adamantan-Derivate **112** – **114** (Abb. 49a) fielen trotz der positiv verlaufenen DFT-Kalkulationen und des erfolgreichen Fe(III)-CAS-Assays von Substanz **115** negativ aus (Abb. 49b).

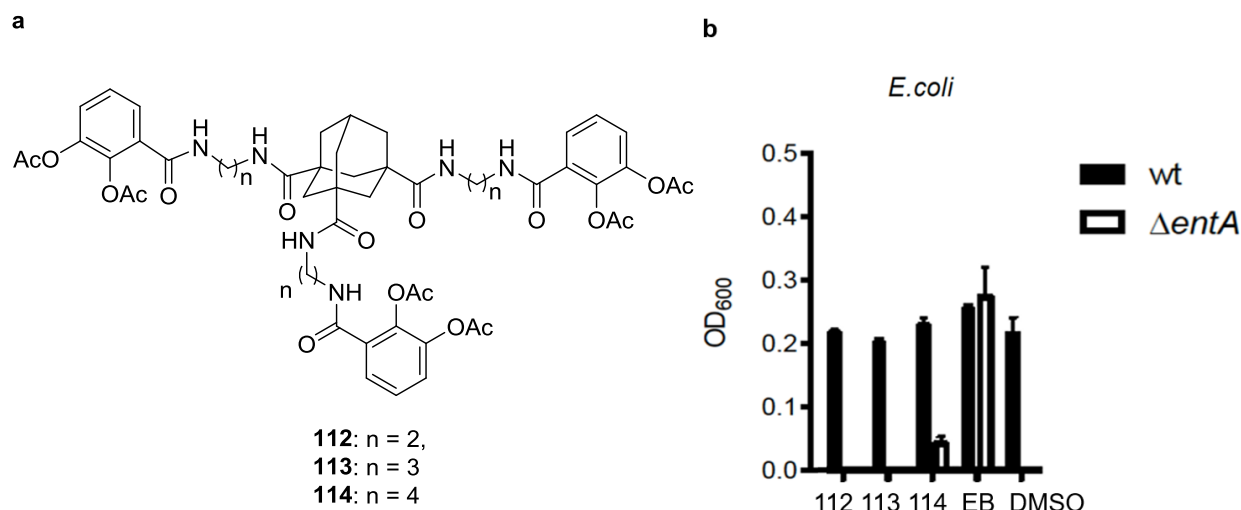


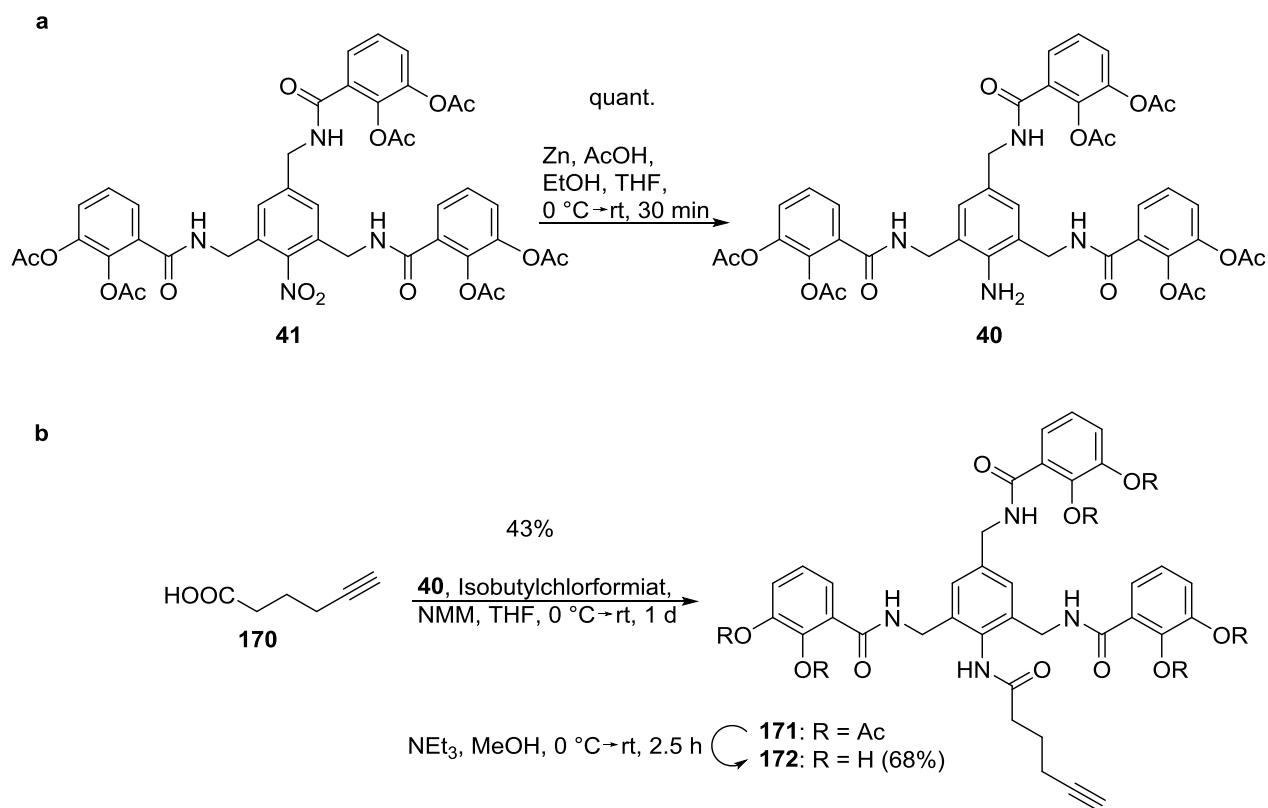
Abbildung 49: a) Chemische Strukturen der Adamantan-Derivate **112** – **114** und b) Negativ ausfallendes Assay zur Wiederherstellung des Wachstums dieser Verbindungen.

Die DFT-Kalkulationen und das Eisen(III)-CAS-Assay hatten für sämtliche in ihnen untersuchten Substanzen deren Potential als Xenosiderophore unterstrichen. Die intensive Rotfärbung der Verbindungen **158** und **162** (Abschn. 3.2.2.2) bei der Zugabe von Eisen(III)-chlorid deutete zudem auf die Verwendbarkeit des künstlichen Siderophors **90** hin, da dieser ein acetyliertes Analogon von Verbindung **158** darstellt. Die tatsächliche Eignung von nur zwei der im Assay untersuchten Verbindungen zeigt den Unterschied zwischen rein chemischen Betrachtungen und der biologischen Realität auf. Nur ein künstlicher Siderophor, dessen Eisen(III)-Komplex durch einen oder mehrere OMR gramnegativer Bakterien erkannt und internalisiert wird, kann als Ausgangsverbindung erfolgsversprechender Siderophor-Wirkstoff-Konjugate verwendet werden.

Auf Grundlage der positiven Ergebnisse für die Verbindungen **41** und **94a** musste eine der beiden Verbindungen zur weiteren Untersuchung und Bearbeitung ausgewählt werden. Die Entscheidung fiel zugunsten der durch Verbindung **41** repräsentierten 1,3,5-substituierten MECAM-Derivate. Neben den besseren Syntheseausbeuten waren hierfür

noch zwei weitere Gründe verantwortlich. Anders als für die Synthese der 1,2,3-substituierten Verbindungen ist das tribromierte Edukt kommerziell erhältlich. Zudem resultiert dessen Nitrierung nicht in der Bildung zweier Regioisomere, wie sie für die 1,2,3-Trisubstitution beobachtet wurden (s. Abschn. 3.1.3).

Um die zuverlässige Anbindung eines Wirkstoffs zu ermöglichen, wurde die Installation eines terminalen Alkins als Linker am MECAM-Motiv geplant. Dies sollte die Installation eines Azid-modifizierten Antibiotikums mittels Cu(I)-katalysierter Alkin-Azid-Cycloaddition (CuAAC) ermöglichen. Hierfür wurde Nitroverbindung **41** reduziert und mit 5-Hexinsäure (**170**) zur Reaktion gebracht. Durch die Entschützung des entstandenen acetylierten Siderophors **171** wurde zusätzlich Verbindung **172** erhalten (Schema 50).



Schema 50: a) Die Reduktion von Verbindung **41** zu Anilinderivat **40**. b) Anschließende Reaktion mit 5-Hexinsäure (**170**) führte zur Bildung der Verbindung **171**; durch deren folgende Umsetzung mit Triethylamin wurde Substanz **172** erhalten.

Die beiden so erhaltenen Siderophore wurden zusammen mit den Verbindungen **30**, **41**, **48** und **49** (s. Schema 11, Abschn. 3.1.1) in einem weiteren Assay zur Wachstumswiederherstellung getestet. Für alle sechs Substanzen wurde eine Wiederherstellung des Wachstums beobachtet (Abb. 50). Dies zeigt einerseits, dass die Installation elektronen-schiebender oder -ziehender Gruppen sowie die Einführung linearer Seitenketten am zentralen Aromaten keine Auswirkung auf den aktiven Transport der jeweiligen Eisen(III)-Komplexe in *Escherichia coli* haben.

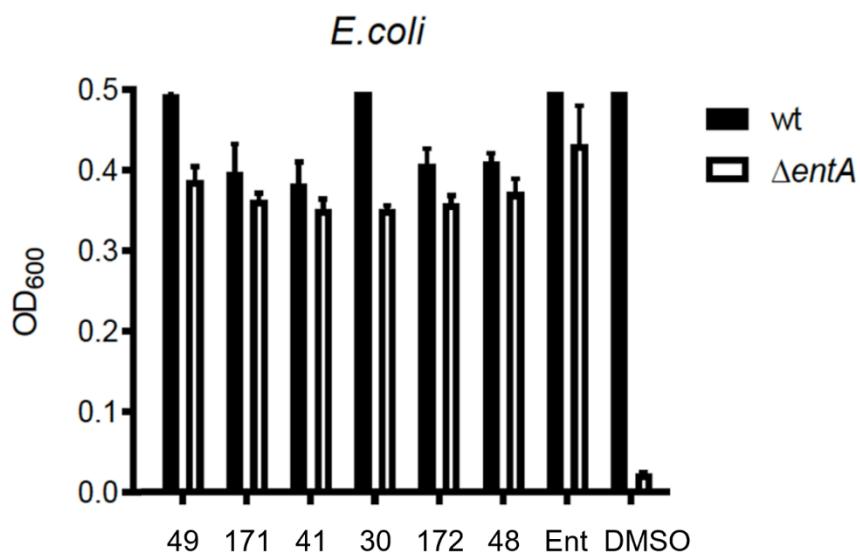
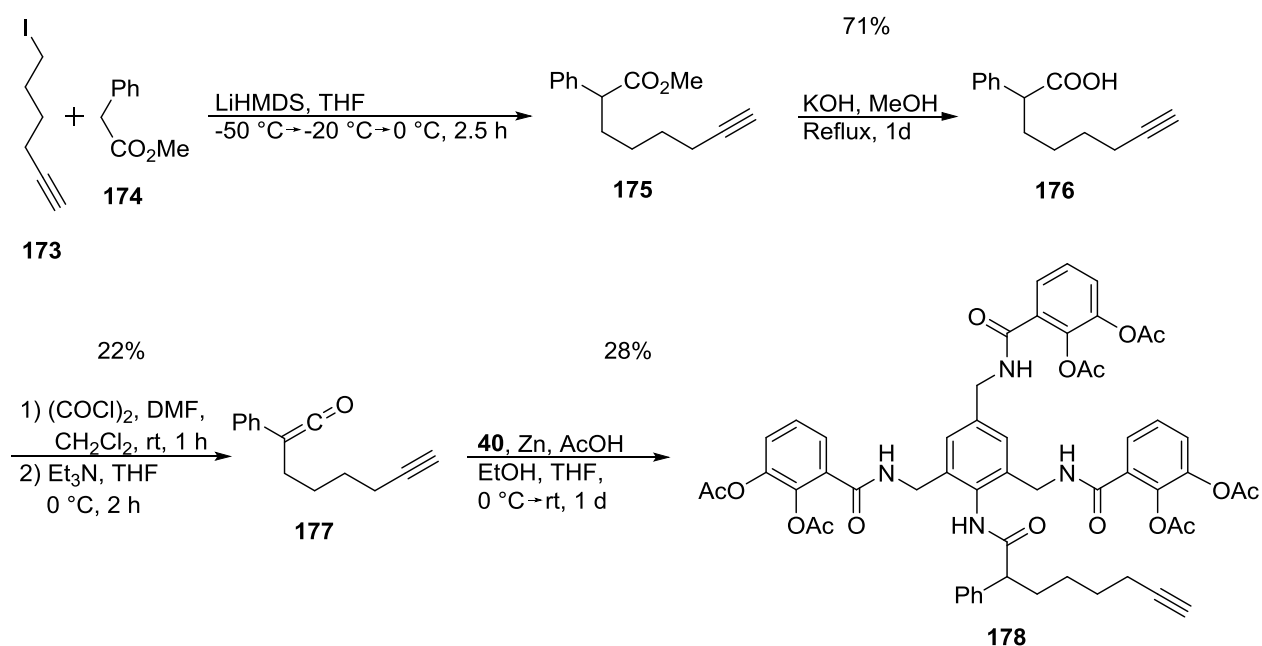


Abbildung 50: Ergebnisse des Assays zur Wachstumswiederherstellung für alle isolierten künstlichen Siderophore, die über ein MECAM-Strukturmotiv verfügen. Für sämtliche Substanzen ist eine Wiederherstellung des Wachstums ersichtlich.

Andererseits dienen acetylierte Siderophore ebenso wirkungsvoll der bakteriellen Eisenversorgung wie entschützte Siderophore mit freien Hydroxygruppen. In vergangenen Studien konnte bereits demonstriert werden, dass die labilen Ester acetylgeschützter Catechole im wässrigen Medium innerhalb von 24 h vollständig hydrolysiert werden. Dieser Prozess ist dabei von bakteriellen Hydrolasen unabhängig.^[105] Da im Assay zur Wiederherstellung des Wachstums die Inkubationszeit 48 h betrug, ist die Eignung acetylierter Siderophore im Assay erklärbar. Die Hydrolyse der Acetylschutzgruppen wird vermutlich durch einen kooperativen Effekt beschleunigt. Sobald an einem der drei im Molekül vorhandenen Catechole beide Ester abgespalten sind, entsteht durch die beiden freien Hydroxygruppen ein zweizähniger Ligand. Dieser kann bereits einen stabilen

Komplex mit dreiwertigem Eisen aufbauen und fixiert damit ein Eisenion aus dem Medium in der molekularen Peripherie. Da die Bildung eines oktaedrischen Komplexes thermodynamisch noch wesentlich günstiger ist, wird im Folgenden die Abspaltung der bis zu vier verbleibenden Acetylschutzgruppen durch das zweizählig komplexierte Eisenion erzwungen und der bevorzugte oktaedrische Komplex gebildet.

Mit diesen Ergebnissen stellte sich die Frage, bis zu welchen Grenzen eine Modifikation der aromatischen MECAM-Zentraleinheit noch mit einer Verwendung als Xenosiderophor in *Escherichia coli* vereinbar ist. Daher wurde die Synthese eines Derivats ausgearbeitet, in dem ein Alkinlinker mit einem zusätzlichen, sterisch anspruchsvollen Motiv vorhanden sein sollte. Aus 6-Iod-1-hexin (**173**) und Phenylessigsäuremethylester (**174**) wurde mit LiHMDS Verbindung **175** synthetisiert. Eine Esterspaltung mit Kalilauge lieferte die freie Säure **176**, die durch Oxalylchlorid und Triethylamin zum Keten **177** umgesetzt wurde. Durch dessen Umsetzung mit Verbindung **40** wurde der künstliche Siderophor **178** erhalten (Schema 51). Dessen Alkinlinker übt durch seinen zusätzlichen Phenylrest eine deutlich größere Abstoßung auf ihn umgebende Gruppen aus als der lineare Linker in den Verbindungen **171** und **172**.



Schema 51: Synthese des Ketens **177** ausgehend von den Edukten **173** und **174** über die Zwischenprodukte **175** und **176**. Durch Reaktion mit Verbindung **40** wurde Produkt **178** erzeugt, dessen Alkinlinker mit einem Phenylrest über einen erhöhten sterischen Anspruch verfügt.

Tatsächlich konnte keine Wiederherstellung des Wachstums in einem betreffenden Assay mit *Escherichia coli* beobachtet werden (Abb. 51a). Die sterische Abstoßung des zusätzlichen Phenylrests mit den Catecholen verhindert die Ausbildung eines stabilen Eisen(III)-Komplexes. Nur ein linearer, sterisch wenig anspruchsvoller Linker wird toleriert.

Für Verbindung **103**, die über rigide und ebenfalls sterisch anspruchsvolle Motive verfügt (Schema 26, Abschn. 3.1.4), konnte ebenfalls keine Wiederherstellung des Wachstums beobachtet werden (Abb. 51b).

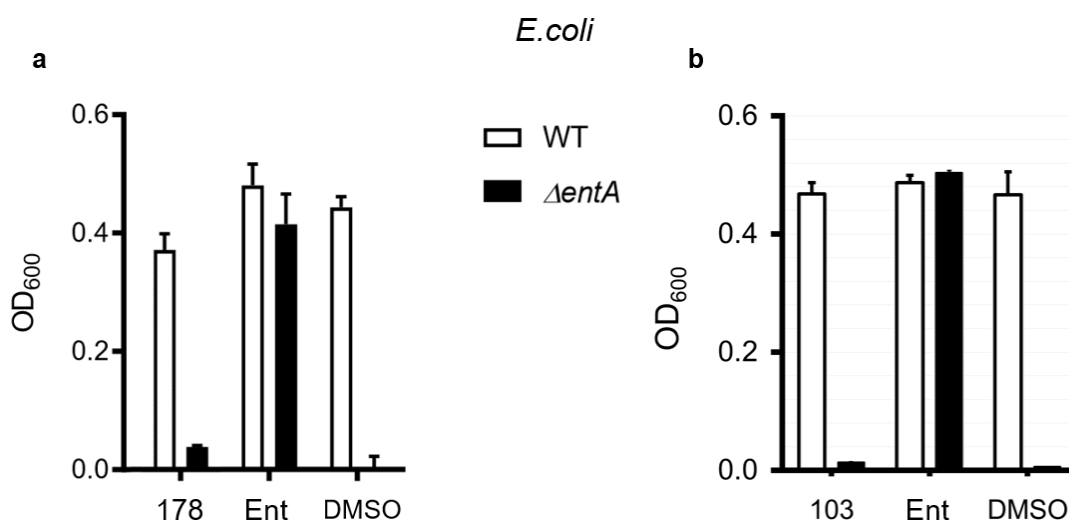


Abbildung 51: Für die synthetisierten Verbindungen **178** und **103** fiel das Assay zur Wiederherstellung des Wachstums negativ aus.

3.2.5 Quantifizierung der Siderophoraufnahme mittels Zellfraktionierung

Die Kenntnis über die genaue Verteilung des Siderophors in der gramnegativen Bakterienzelle nach dessen Internalisierung ist entscheidend für die weitere Planung. Wird der Siderophor im Periplasma, nicht jedoch im Cytoplasma angereichert, so können Antibiotika mit cytoplasmatischen Targets nicht für Wirkstoffkonjugate mit dem betreffenden Siderophor verwendet werden. Zur Aufklärung können Methoden genutzt werden, die auf der Detektion von Farbstoffen basieren.^[203] Sie bedeuten jedoch zusätzlichen synthetischen Aufwand, da der zu untersuchende Siderophor zunächst mit einem solchen Farbstoff chemisch verknüpft werden muss. Eine andere Möglichkeit, für die Siderophore ohne vorherige Derivatisierung verwendet werden können, stellt die Detektion mittels Massenspektrometrie dar.^[204] Nach der Durchführung eines positiv verlaufenden Assays zur Wachstumswiederherstellung können die gewachsenen Bakterienzellen für Fraktionierungsexperimente verwendet werden. Durch die Zugabe von EDTA und Magnesium(II)-sulfat wird die äußere Zellmembran perforiert, sodass durch Zentrifugation eine Fraktion erhalten wird, in der sich sämtliche Bestandteile des Periplasmas befinden. Werden die Überreste der Zelle anschließend starken Ultraschallimpulsen ausgesetzt, führt dies zum vollständigen Aufschluss der Zelle. Durch eine erneute Zentrifugation können schließlich die beiden Fraktionen voneinander getrennt werden, die die Bestandteile des Cytoplasmas und die Überreste der Membranen enthalten (Abb. 52). Anschließend werden die drei auf diese Weise isolierten Fraktionen mittels Massenspektrometrie vermessen. Hierfür wird zunächst mit unterschiedlichen Konzentrationen des untersuchten Siderophors eine Kalibriergerade generiert. Die massenspektrometrische Analyse der Fraktionen gegenüber der Kalibriergeraden erlaubt dann sowohl quantitative als auch qualitative Aussagen darüber, in welchen Zellkompartimenten von *Escherichia coli* sich der Siderophor angereichert hat.

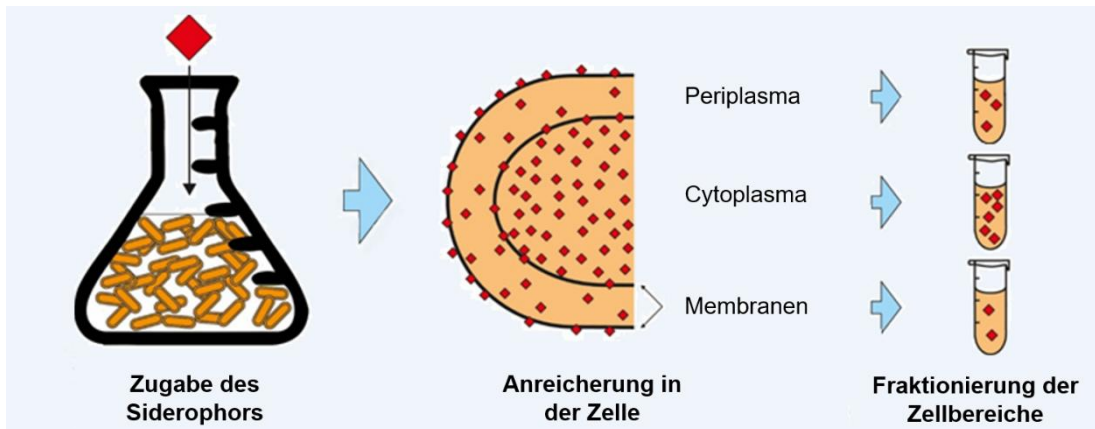


Abbildung 52: Überblick über den Ablauf des Assays zur Zellfraktionierung. Nach Zugabe des Siderophors zu EntA-defizitären Zellen von *Escherichia coli* reichert sich der Siderophor während der Wachstumsphase im Zellinnern an. Die anschließende Trennung der Zellkompartimente voneinander ermöglicht eine quantitative Konzentrationsmessung des Siderophors in den einzelnen Fraktionen. Übernommen von^[204]

Aus Studien, die mittels Mößbauerspektroskopie durchgeführt worden waren, war bereits bekannt, dass MECAM hauptsächlich im Periplasma von *Escherichia coli* angereichert wird und kaum ins Cytoplasma vordringen kann (s. Abschn. 1.4.5). Um dies zu verifizieren wurde das beschriebene Assay von Dr. Sven-Kevin Hotop in der Arbeitsgruppe für chemische Biologie am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung mit Verbindung **49** durchgeführt, von der bekannt war, dass sie für die Wachstumswiederherstellung des EntA-defizitären Stammes von *Escherichia coli* geeignet war. Um zusätzlich den Einfluss einer Vorkomplexierung mit Fe^{3+} -Ionen untersuchen zu können, wurden im Assay je eine Fraktion mit unmodifiziertem und mit Eisen(III)-chlorid inkubiertem Siderophor **49** verwendet. Abb. 53a zeigt die Ergebnisse für Detektion von Verbindung **49** in den einzelnen Fraktionen. In allen drei Kompartimenten konnten ähnliche absolute Mengen des Siderophors nachgewiesen werden. Um jedoch die verschiedenen Volumina der Zellkompartimente zu berücksichtigen, ist die Ermittlung von Stoffkonzentrationen anstatt absoluter Mengen sinnvoller. So ist das Volumen des Cytoplasmas in gramnegativen Bakterien wesentlich höher als das des Periplasmas oder das der Zellmembranen. Damit übereinstimmend wird aus Abb. 53b ersichtlich, dass die Konzentration des Siderophors im Cytoplasma deutlich geringer ist als in Membranen und im Cytoplasma. Eine Vorinkubation mit Fe^{3+} -Ionen begünstigt zudem die Anreicherung im Periplasma gegenüber den Zellmembranen.

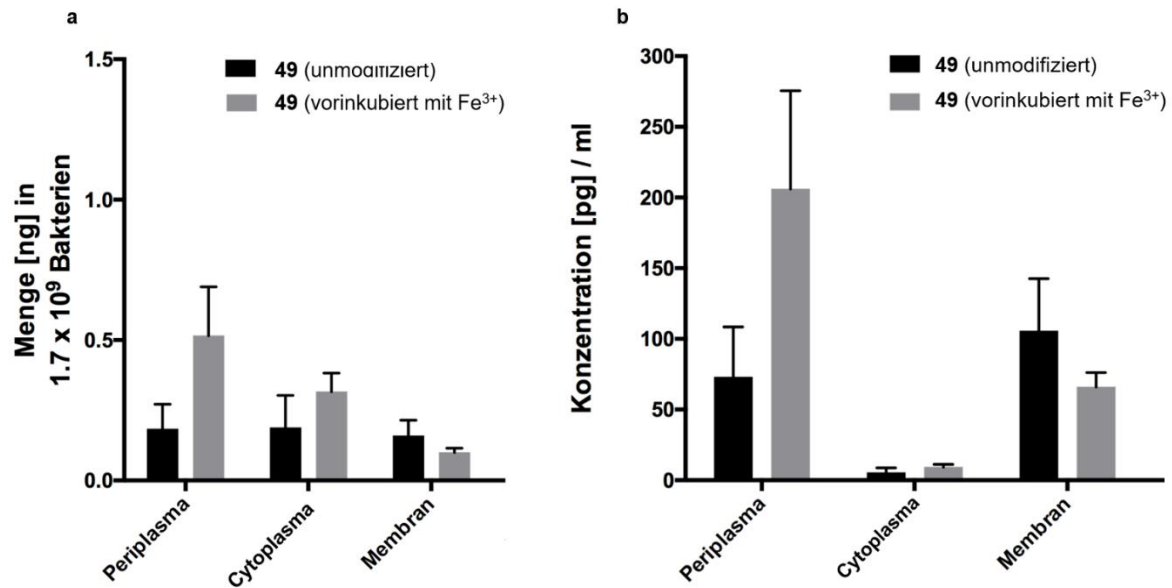


Abbildung 53: a) Absolute Masse und b) Konzentration von Verbindung **49** in den einzelnen Zellkompartimenten. Aufgrund deren verschiedener Volumina ist der Vergleich der Konzentrationen für die Aussagekraft des Assays besser geeignet. Wie erwartet findet die Akkumulation von Siderophor **49** hauptsächlich in den Membranen und im Periplasma, nicht jedoch im Cytoplasma statt.

Das Assay bestätigte die dominierende Akkumulation im Periplasma gegenüber dem Cytoplasma von *Escherichia coli*. Für die Wahl von Antibiotika, die in einem Konjugat mit MECAM zum Einsatz kommen konnten, kamen damit nur Wirkstoffe mit periplasmatischen Targets infrage.

3.3 Synthese und Evaluierung von Siderophor-Antibiotika-Konjugaten

3.3.1 Darstellung von Aminopenicillinkonjugaten

Die in Abschn. 3.2 geschilderten Untersuchungen zeigten zum einen, dass von allen synthetisierten Siderophoren MECAM-Derivate die vielversprechendsten Kandidaten für den Aufbau von Siderophor-Antibiotika-Konjugaten darstellten. Zum anderen wurde eine Anreicherung der MECAM-Siderophore im Periplasma bestätigt. Dementsprechend waren zur Konjugation Antibiotika mit periplasmatischen Targets zu wählen. Die Aminopenicilline Ampicillin (**179**) und Amoxicillin (**180**) boten sich an, da deren primäre Aminogruppe chemisch leicht modifizierbar ist (Abb. 54). Die erfolgreiche Nutzung dieser beiden Wirkstoffe in Siderophorkonjugaten ist sowohl für Enterobactin als auch für künstliche Siderophore bekannt, bislang jedoch nicht für MECAM.^[126, 205]

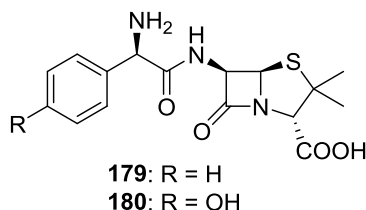
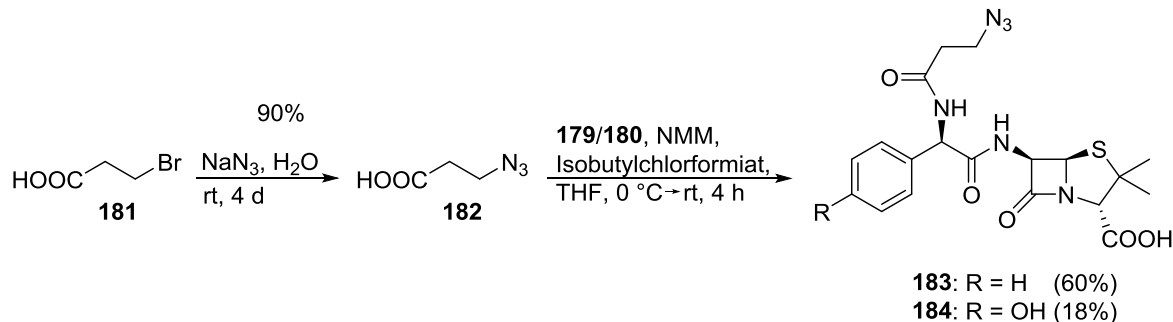


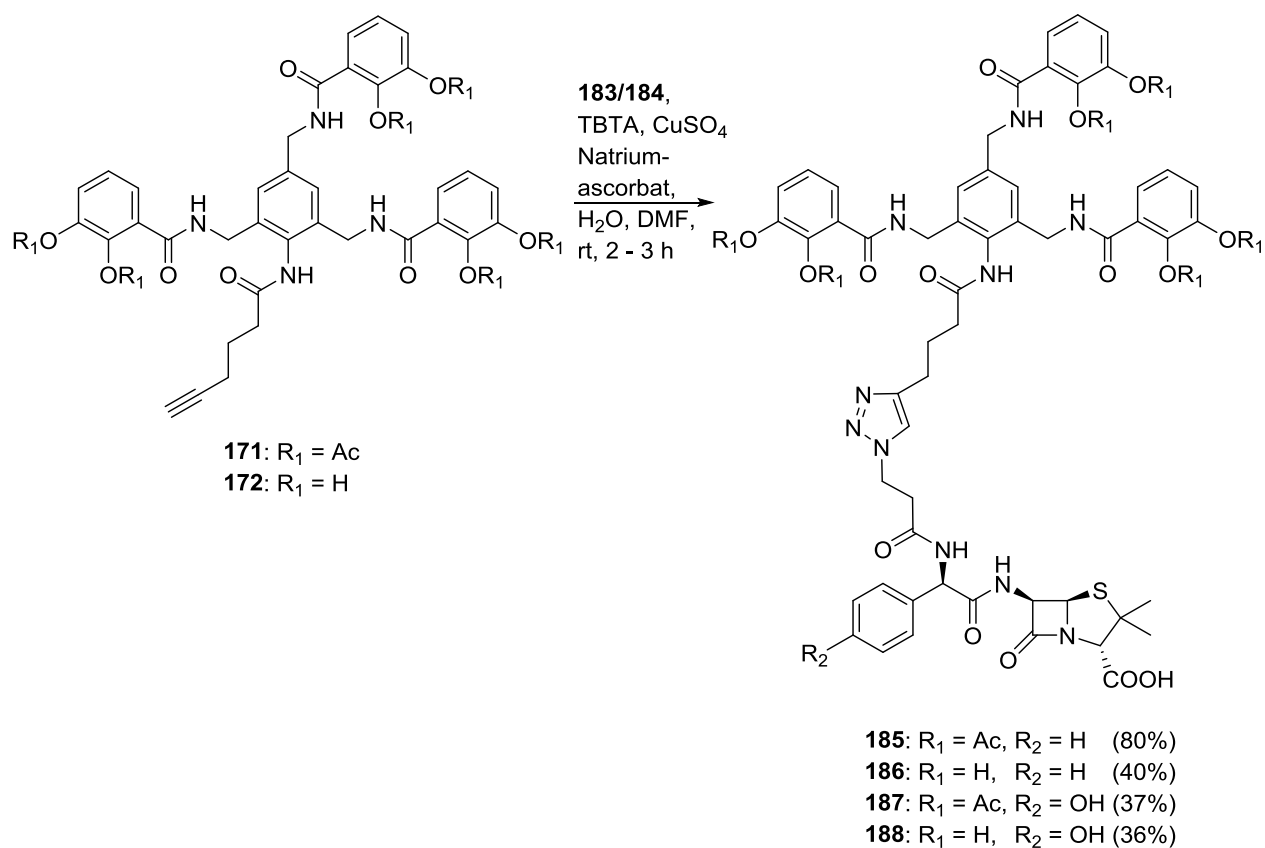
Abbildung 54: Chemische Strukturen der Aminopenicilline Ampicillin und Amoxicillin

Um die Kopplung von MECAM-Siderophoren zu ermöglichen, wurde zunächst 3-Brompropansäure (**181**) zu 3-Azidopropansäure (**182**) umgesetzt.^[206] Die anschließenden Reaktionen mit Ampicillin und Amoxicillin ergaben die azidierten Antibiotikaderivate **183** und **184** (Schema 52).^[205]



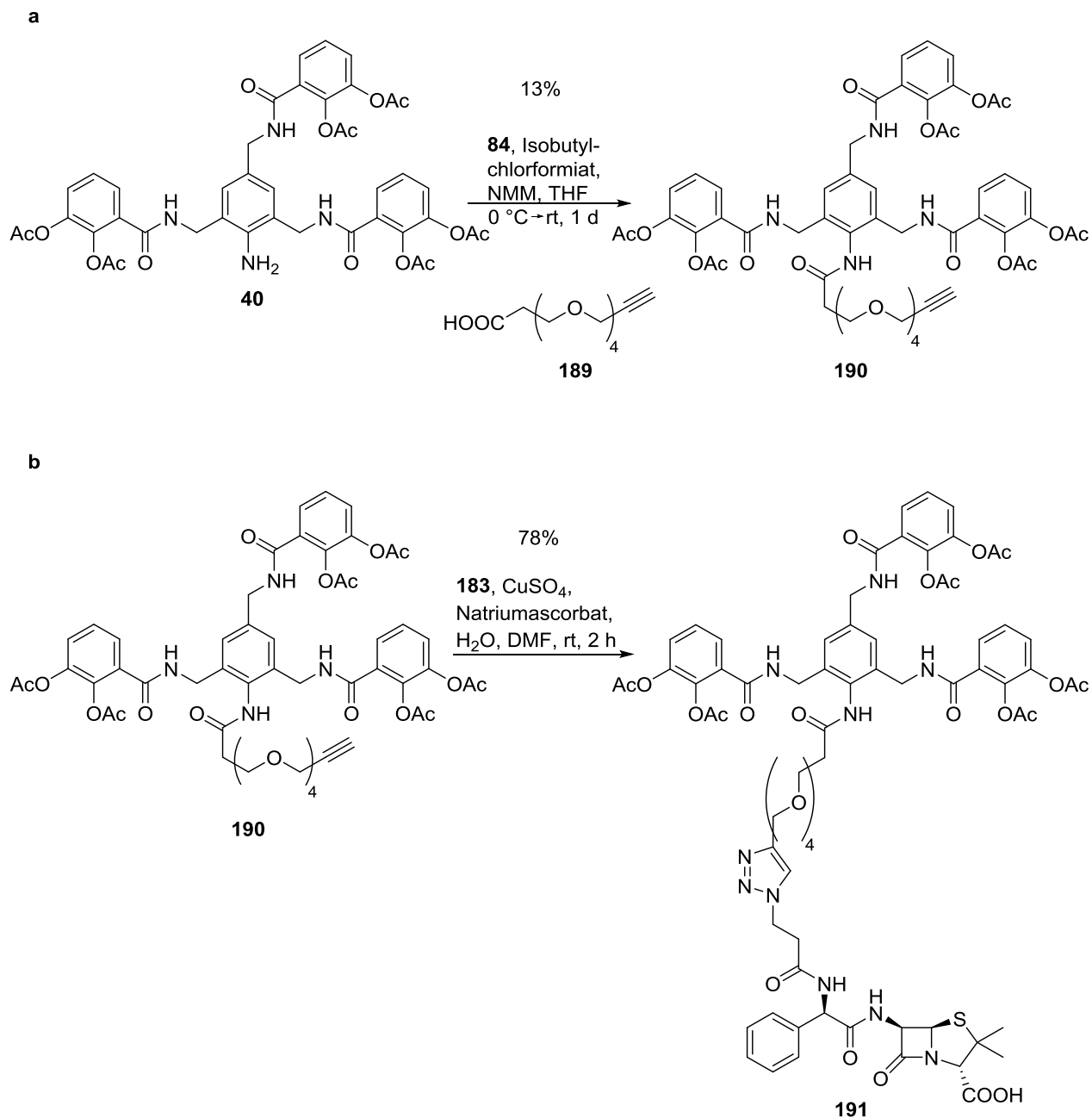
Schema 52: Aus 3-Brompropansäure (**181**) synthetisierte 3-Azidopropansäure (**182**) wurde mit Ampicillin (**179**) und Amoxicillin (**180**) zu den azidierten Antibiotikaderivaten **183** und **184** umgesetzt.

Die MECAM-Derivate **171** und **172** konnten in einer Cu(I)-katalysierten Alkin-Azid-Cycloaddition (CuAAC) mit den Verbindungen **183** und **184** zur Reaktion gebracht werden, sodass die vier Siderophor-Antibiotika-Konjugate **185** – **188** entstanden. In diesen sind alle Kombinationen aus acetyliertem und deacetyliertem Siderophor sowie Ampicillin- und Amoxicillinbaustein vertreten (Schema 53).



Schema 53: Die Umsetzung der Siderophore **171** und **172** mit den Antibiotikaderivaten **183** und **184** lieferte die Konjugate **185** – **188**.

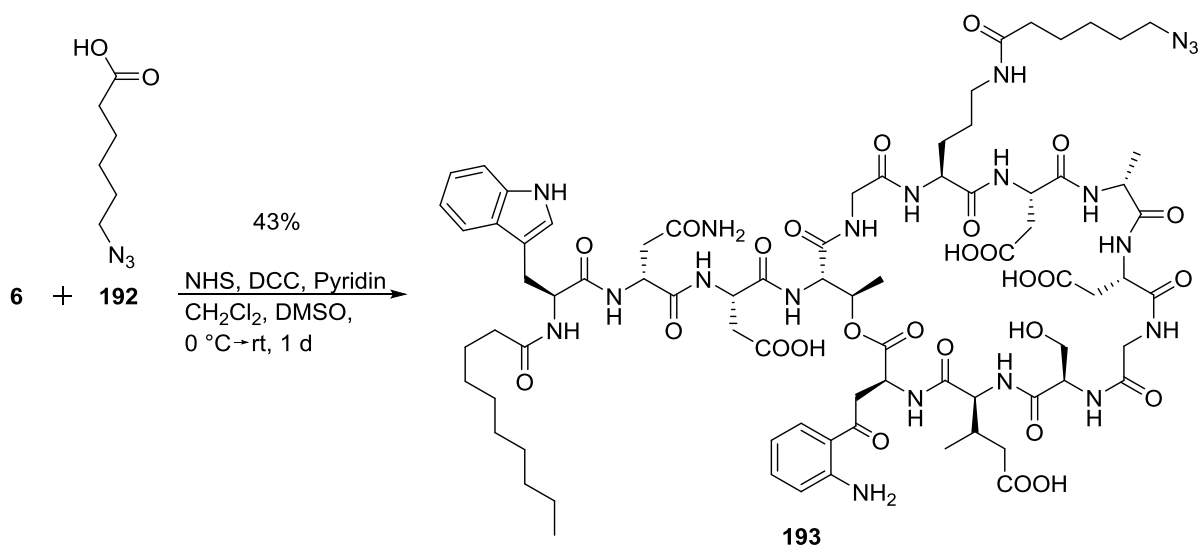
Um darüber hinaus den Einfluss des Linkers zu untersuchen, wurde anstatt des sehr unpolaren, aliphatischen Linkers ein polarer Linker verwendet, der auf Polyethylenglykol (PEG) basiert. Verbindung **40** wurde mit dem polaren Alkinlinker **189** umgesetzt (Schema 54a). Das hierbei entstandene MECAM-Derivat **190** reagierte durch CuAAC mit Verbindung **183** zu Konjugat **191** (Schema 54b).



Schema 54: a) Durch Reaktion von Verbindung **40** mit Alkensäure **189** wurde Verbindung **190** erhalten.
b) Die Umsetzung von Verbindung **190** mit Ampicillinderivat **183** führte zur Bildung des Konjugats **191**, welches über einen polaren PEG-Linker verfügt.

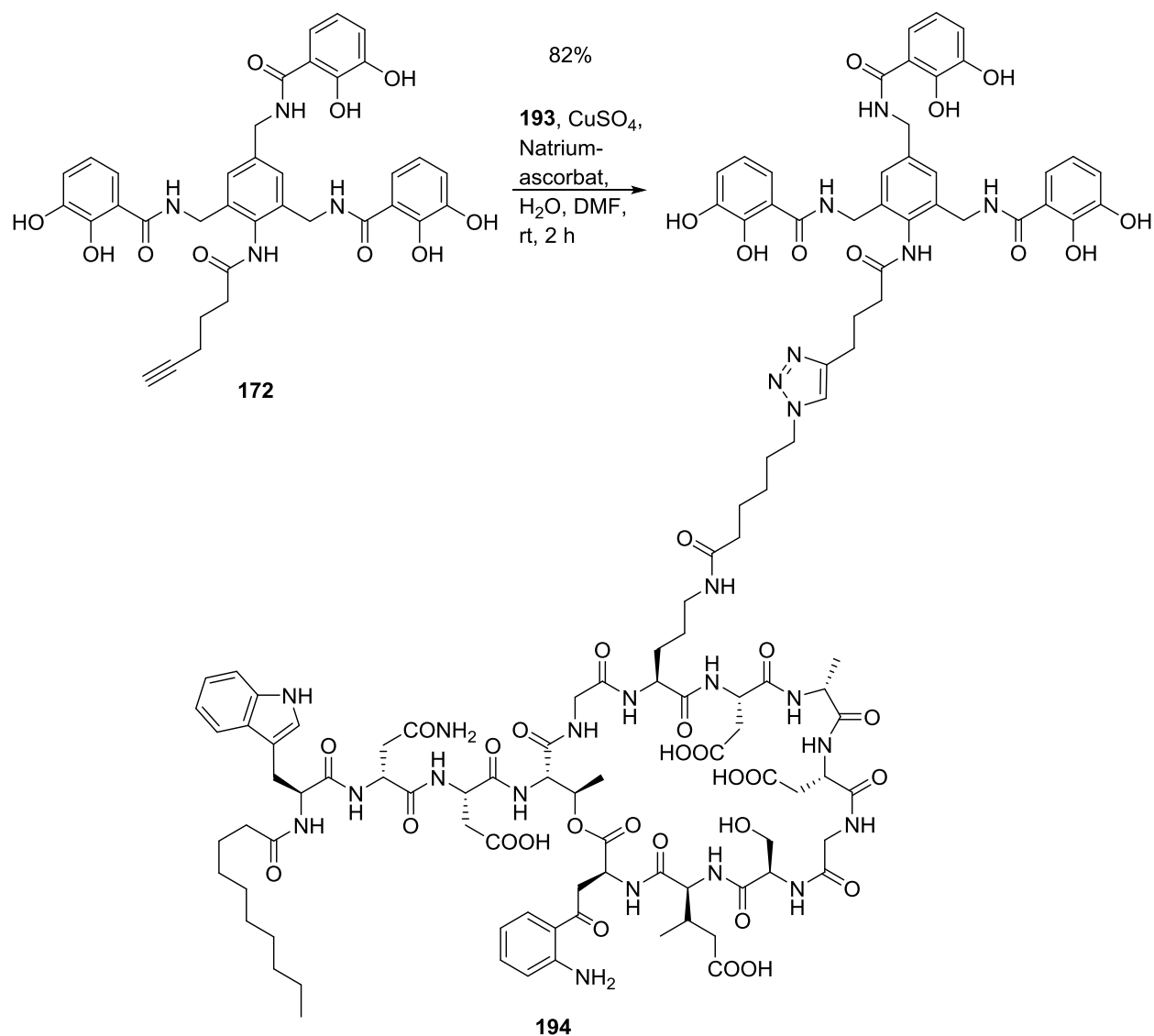
3.3.2 Darstellung eines Daptomycinkonjugats

Mit der bakteriellen Zellmembran greift auch Daptomycin (**6**, Abschn. 1.1) ein Target an, das sich im Periplasma gramnegativer Bakterien befindet. In der Vergangenheit konnte das Wirkspektrum von Daptomycin durch die Knüpfung an Siderophore bereits verbessert werden.^[99-100] Daher wurde für dieses Antibiotikum ebenfalls die Inkorporierung in ein Siderophorkonjugat angestrebt. Daptomycin wurde zunächst mit 6-Azidohexansäure (**192**) zu Verbindung **193** umgesetzt (Schema 55). Da Daptomycin über genau ein leicht adressierbares primäres Amin verfügt, gelang diese Reaktion regioselektiv.



Schema 55: Umsetzung von Daptomycin (**6**) mit 6-Azidohexansäure (**192**) zur azidierten Verbindung **193**.

Durch die anschließende Reaktion von Verbindung **193** mit MECAM-Derivat **172** wurde Daptomycinkonjugat **194** synthetisiert (Schema 56). Die Verknüpfung gelang, wie schon in Abschn. 3.3.1, mittels CuAAC.



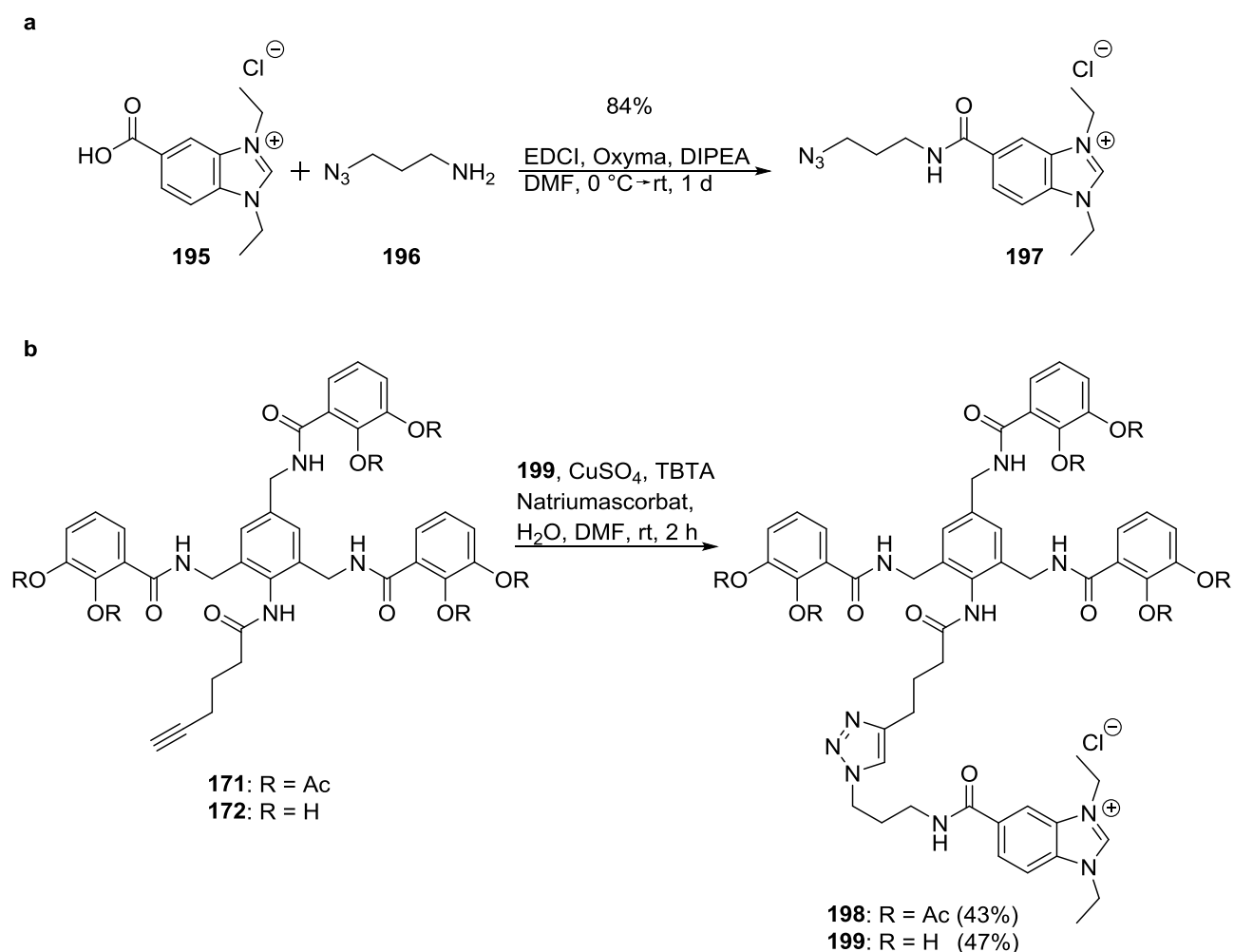
Schema 56: Aus Verbindung **172** und dem Siderophor **193** wurde Daptomycinconjugat **194** erhalten.

3.3.3 Studien zum Aufbau von Konjugaten mit NHC-Gold(I)-Komplexen

Nachdem mit auf MECAM basierenden Siderophoren und Aminopenicillinen gute Erfahrungen bei der Synthese von Siderophor-Wirkstoff-Konjugaten gemacht worden waren, war deren Nutzung für die Konjugation mit NHC-Gold(I)-Komplexen naheliegend. Da solche Goldkomplexe nicht stabil genug sind, um mehrere Folgereaktionen inklusive Aufreinigung mittels HPLC unbeschadet zu überstehen, sollte die Komplexbildung in einem abschließenden Reaktionsschritt durchgeführt werden. Die Konjugation an

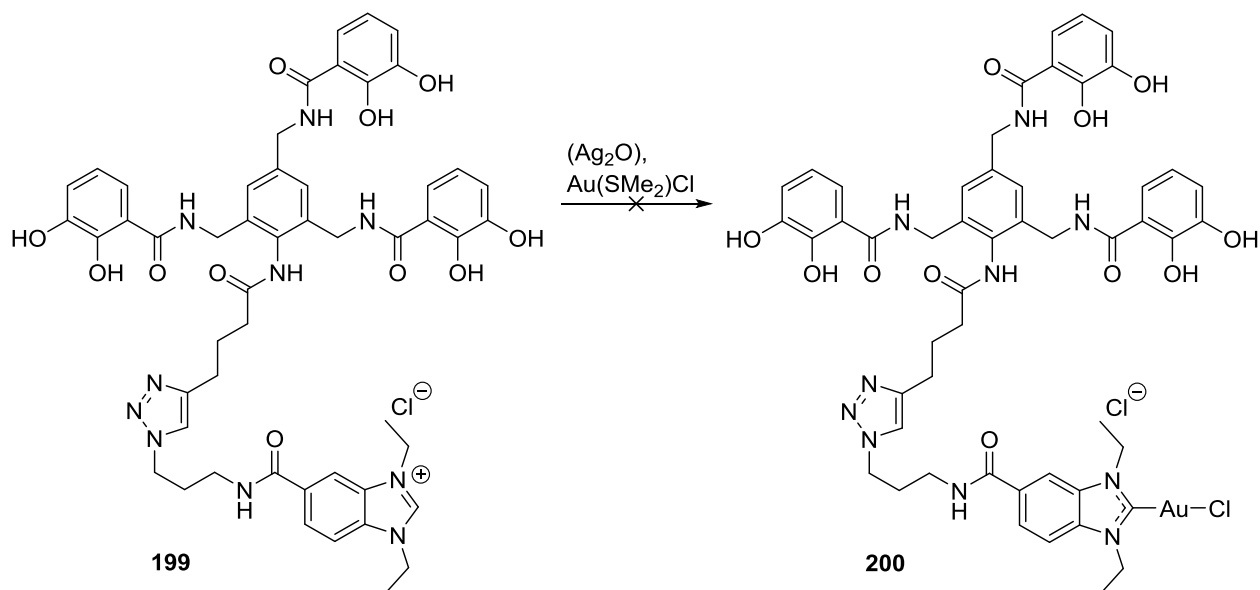
Siderophore bzw. an Antibiotikaderivate sollte daher mit Vorläufermolekülen stattfinden, die anschließend durch Komplexierung mit Goldsalzen in die Zielverbindungen zu überführen waren. Von der Arbeitsgruppe um Professor Ingo Ott an der TU Braunschweig, die sich intensiv mit der therapeutischen Wirkung von NHC-Gold(I)-Komplexen befasst, wurden die für die Synthesen benötigten Edukte und Metallsalze zur Verfügung gestellt.

Für die Konjugation mit Siderophoren wurde zunächst Edukt **195** mit 3-Azido-1-Propanamin (**196**) zur Reaktion gebracht, sodass Verbindung **197** erhalten wurde (Schema 57a). Diese konnte mittels CuAAC an die MECAM-Derivate **171** und **172** geknüpft werden, sodass die Konjugate **198** und **199** gebildet wurden (Schema 57b).



Schema 57: a) Reaktion von Verbindung **195** mit 3-Azido-1-Propanamin (**196**) zu Azid **197**. b) Durch Umsetzung von Verbindung **197** mit den Siderophoren **171** und **172** wurden die Konjugate **198** und **199** erhalten.

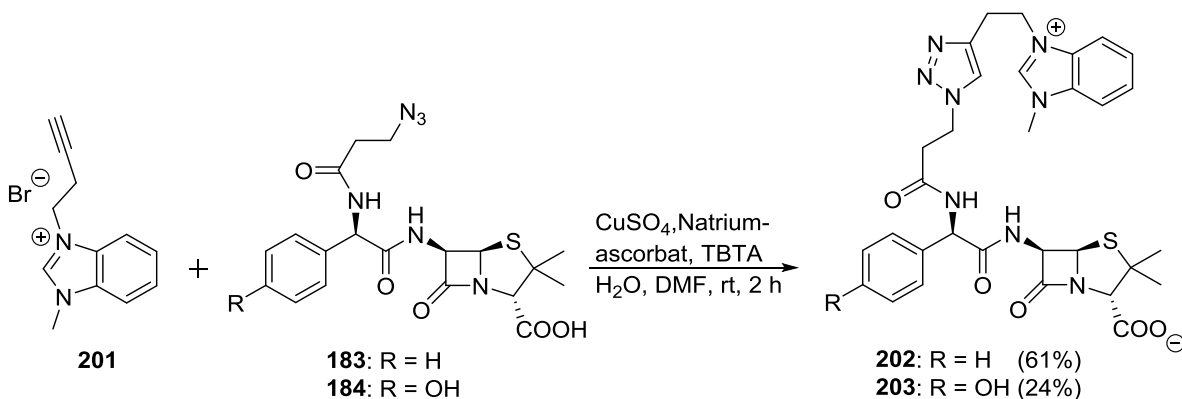
Da Verbindung **198** leicht deacetylierte, wurde für weitere Reaktionen die stabilere Verbindung **199** verwendet. Die Überführung in den Gold(I)-Komplex erfolgt für gewöhnlich über die Reaktion mit Silber(I)-oxid und anschließende Umsetzung mit Chlor(dimethylsulfid)gold(I).^[145] Bei der Zugabe von Silber(I)-oxid war jedoch dessen Reduktion durch die Bildung eines schwarzen Niederschlags zu erkennen. Reduktionsmittel in dieser Redoxreaktion stellten die Catecholgruppen dar, die zu Chinonen oxidiert wurden.^[207] Eine Prozedur, in der Chlor(dimethylsulfid)gold(I) bei erhöhter Temperatur ohne vorherige Verwendung von Silber(I)-oxid zum Einsatz kam, scheiterte ebenfalls, sodass Komplexverbindung **200** nicht erhalten werden konnte (Schema 58).^[208]



Schema 58: Die Synthese des NHC-Gold(I)-Komplexes **200** aus Verbindung **199** gelang nicht.

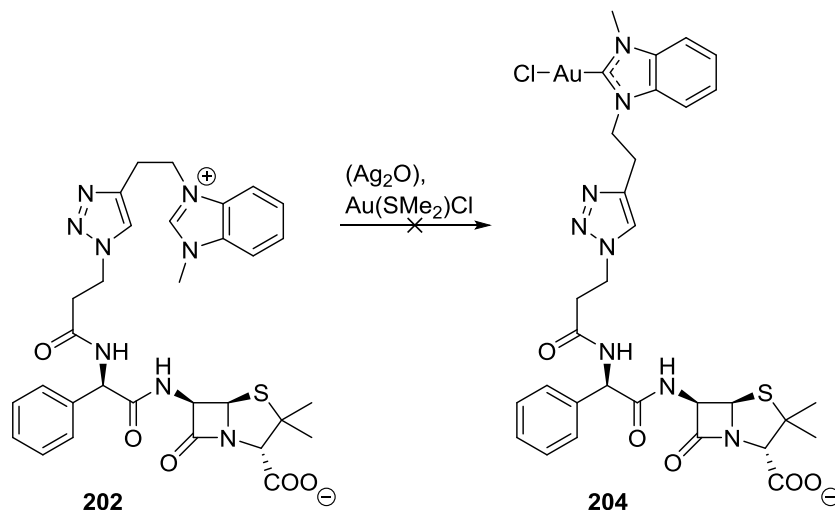
Um die Bildung von NHC-Gold(I)-Komplexen aus Siderophorkonjugaten zu ermöglichen, muss folglich entweder die Komplexbildung mit Chlor(dimethylsulfid)gold(I) vor der Konjugation stattfinden, oder die Installation geschützter Catecholeinheiten angewendet werden. In beiden Fällen dürfen die abschließenden Reaktionen der Synthesewege (CuAAC bzw. Entschützung) den NHC-Gold(I)-Komplex nicht destabilisieren.

Um Aminopenicillinkonjugate mit NHC-Gold(I)-Komplexen zu ermöglichen, wurde Edukt **201** mit den Antibiotikaderivaten **183** und **184** mittels CuAAC zu den Verbindungen **202** und **203** umgesetzt (Schema 59).



Schema 59: Durch die Reaktion von Verbindung **201** mit den Aminopenicillinderivaten **183** und **184** wurden die Konjugate **202** und **203** gebildet.

Verbindung **202** konnte jedoch anschließend nicht in den Gold(I)-Komplex **204** überführt werden (Schema 60).



Schema 60: Die Umwandlung von Verbindung **202** in Zielprodukt **204** war nicht erfolgreich.

Anders als für die Reaktion von Verbindung **199** (Schema 58) behinderten dieses Mal keine Catecholgruppen als Redoxpartner die Reaktion. Jedoch wurde nach Zugabe von Chlor(dimethylsulfid)gold(I) keine Produktbildung beobachtet. Dies war unabhängig davon, ob zuvor eine Zugabe von Silber(I)-oxid erfolgt war. Die Bildung eines NHC-Gold(I)-Komplexes wird höchstwahrscheinlich durch das Vorhandensein des aurophilen

Schwefelatoms in Verbindung **202** behindert. Die Umgehung dieses Problems wäre durch die Konjugation von Wirkstoffen ohne aurophile Zentren möglich. Sollen schwefelhaltige β -Lactam-Antibiotika beibehalten werden, so muss die Bildung des NHC-Gold(I)-Komplexes vor der Konjugation erfolgen. Letztere Maßnahme setzt wiederum voraus, dass der entstehende Komplex unter den Bedingungen der CuAAC stabil ist.

3.3.4 Untersuchung der antibiotischen Wirkung synthetisierter Konjugate

3.3.4.1 Wirksamkeit gegenüber *Escherichia coli*

Da *Escherichia coli* kostengünstig und unaufwändig kultivierbar ist, dient es als gramnegativer Modellorganismus. So fanden erste Untersuchungen der synthetisierten Siderophor-Wirkstoff-Konjugate **185 – 188** sowie von Konjugat **191** an *Escherichia coli* statt. Diese wurden durch Yi-Hui Lai in der Arbeitsgruppe für chemische Biologie am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung durchgeführt. In Assays zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (*minimal inhibitory concentration*, MIC) wurde untersucht, ab welcher Konzentration der Konjugate das Wachstum von Bakterienkolonien unterbunden wurde. Um die Wirksamkeit der Konjugate einordnen zu können, wurde das freie Antibiotikum Ampicillin ebenfalls untersucht. Sämtliche Verbindungen zeigten eine hohe Aktivität gegenüber dem Wildtyp *K-12-BW25113* von *Escherichia coli*. Die ermittelten MIC-Werte liegen um Faktoren von 10 – 100 unter dem für Ampicillin gefundenen (Tab. 5). Aus diesen Ergebnissen ist ersichtlich, dass die Wirksamkeit von Aminopenicillinen gegenüber *Escherichia coli* durch Konjugation mit MECAM beträchtlich gesteigert werden konnte.

Tabelle 5: MIC-Werte der Konjugate **185 – 188** und **191** gegen *Escherichia coli* (WT) im Vergleich mit Ampicillin. Die Konjugation von Aminopenicillinen an den Siderophor MECAM erhöht die antibiotische Wirkung deutlich.

MIC [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	185	186	187	188	191	Amp
WT	2.00 \pm 0.83	1.38 \pm 0.65	1.56 \pm 0.76	0.25	2	25.6 \pm 7.8

Um den Wirkmechanismus der Konjugate zu untersuchen, wurde Verbindung **185** gegen EntA- FepA- und TolC-defizitiäre Stämme von *Escherichia coli* eingesetzt. Dem $\Delta entA$ -Stamm fehlt ein Syntheseprotein zur Biosynthese von Enterobactin, sodass dieser für das Bakterium wichtigste Siderophor nicht produziert werden kann. Während dem $\Delta fepA$ -Stamm der OMR fehlt, der hauptverantwortlich für die Aufnahme von Enterobactin ist, verfügt der $\Delta tolC$ -Stamm nicht über das Membranprotein, das in *Escherichia coli* für den größten Teil des Efflux von Molekülen in den extrazellulären Raum verantwortlich ist. Zuletzt wurde die Wirksamkeit von Verbindung **185** gegen den Stamm *UPEC 536* getestet. Dieser ist, anders als der eingesetzte Wildtyp, pathogen und besitzt damit klinische Relevanz. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 6 dargestellt. Als Vergleichssubstanz kam wieder Ampicillin zum Einsatz.

Tabelle 6: MIC-Werte für den Einsatz von Konjugat **185** und Ampicillin gegen verschiedene Stämme von *Escherichia coli*.

MIC [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	WT	$\Delta entA$	$\Delta fepA$	$\Delta tolC$	<i>UPEC 536</i>
185	2.00 \pm 0.83	0.81 \pm 0.32	5.0 \pm 1.7	0.88 \pm 0.22	1.0 \pm 0.0
Amp	25.6 \pm 7.8	24.0 \pm 8.0	20.0 \pm 6.9	5.3 \pm 1.9	n.b.

Während Ampicillin gegenüber dem Wildtyp sowie den Stämmen $\Delta entA$ und $\Delta fepA$ jeweils gleiche Wirksamkeiten zeigt, unterscheiden sich die Werte für Konjugat **185**. Gegenüber $\Delta entA$, für das bezüglich des aktiven Eisentransports keine Konkurrenz mit dem natürlichen Siderophor Enterobactin vorliegt, konnte eine höhere Wirksamkeit beobachtet werden. Dies bestätigt die aktive Aufnahme des Siderophorkonjugats über den bakteriellen Eisentransportmechanismus. Durch das Ausschalten des für Enterobactin wichtigsten OMR in $\Delta fepA$ wurde dagegen ein höherer MIC-Wert beobachtet. Daraus kann gefolgert werden, dass MECAM diesen Transporter zu einem großen Teil, aber nicht ausschließlich, verwendet.

Sowohl Konjugat **185** als auch Ampicillin erfahren eine Steigerung ihrer Wirksamkeit dem Stamm $\Delta tolC$ gegenüber, da hier der Efflux dieser antibiotischen Wirkstoffe vor dem Erreichen des Targets begrenzt ist. Erwähnenswert ist zudem, dass Verbindung **185** gegen den pathogenen Stamm *UPEC 536* eine ähnliche Wirksamkeit besitzt wie gegen

den Wildtyp. Das ebenfalls untersuchte Daptomycin-Konjugat **194** zeigte hingegen keine wachstumshemmende Wirkung gegenüber *Escherichia coli*.

Während diese Beobachtungen vielversprechend waren und zu weiteren Untersuchungen der Konjugate ermutigten, wurde für Wirkstoffkonzentrationen deutlich oberhalb der ermittelten MIC-Werte ein unerwartetes Wachstum der Bakterienkolonien beobachtet. Dieses Phänomen ist als Eagle-Effekt bekannt. Wachstumskurven aus MIC-Assays, die dem Eagle-Effekt unterliegen, sind durch einen Wiederanstieg der optischen Dichte für hohe Antibiotikakonzentrationen gekennzeichnet. Aus Abb. 55 wird der Eagle-Effekt beim Einsatz von Verbindung **185** gegen *Escherichia coli* ersichtlich.

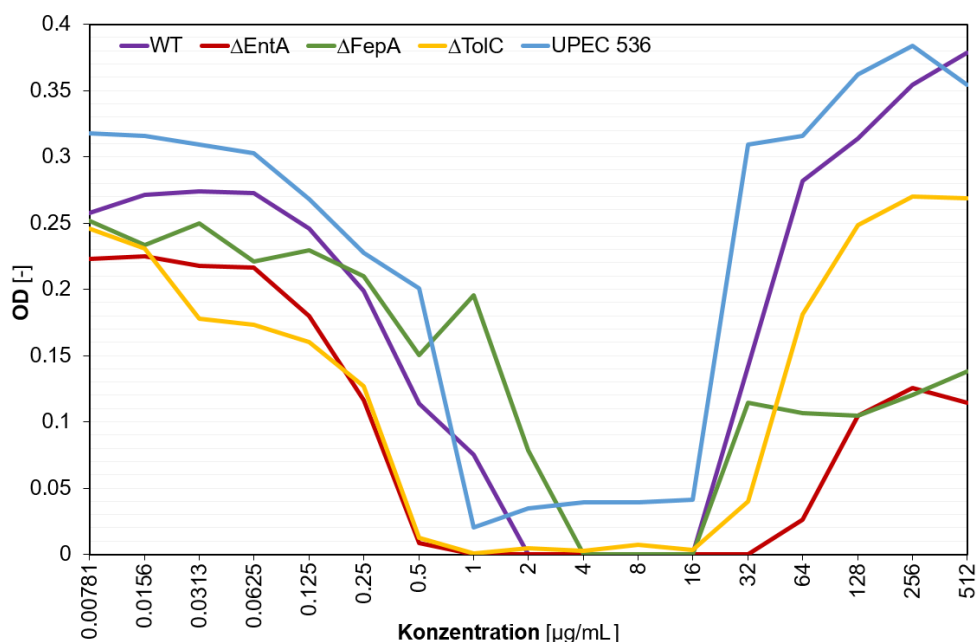


Abbildung 55: Darstellung der Wachstumskurven eines MIC-Assays von Verbindung **185** gegen *Escherichia coli* (vgl. Tabelle 6). Der Eagle-Effekt ist für alle Bakterienstämme gut erkennbar.

In allen MIC-Assays, in denen die künstlichen Aminopenicillin-Konjugate eingesetzt wurden, trat dieser Effekt auf. Die Gründe für dieses paradoxe Wachstumsverhalten sind bislang nicht vollständig verstanden.^[209-210]

Für Verbindung **185** wurde der Eagle-Effekt auch beim Einsatz gegen den Stamm $\Delta toIC$ beobachtet. Dies schließt die verstärkte Aktivierung des Effluxsystems von *Escherichia coli* ab einer bestimmten antibiotischen Schwellenkonzentration als Ursache aus. Der

Eagle-Effekt senkt theoretisch den Nutzen betroffener antibiotischer Verbindungen, da deren Wirksamkeit auf ein schmales therapeutisches Fenster begrenzt wird. In der Praxis werden jedoch zahlreiche Antibiotika erfolgreich eingesetzt, die in präklinischen Studien einen Eagle-Effekt zeigten. Unter diesen sind auch Penicillin und Amoxicillin.^[209] Ein *in vitro* auftretender Eagle-Effekt ist also für die klinische Anwendung häufig irrelevant.

3.3.4.2 Einsatz gegen multiresistente Keime des ESKAPE-Panels

Um zu untersuchen, ob die Aktivität der Konjugate **185 – 188** und **191** auch gegen weitere relevante Bakterienarten vorlag, wurden diese Verbindungen gegen das gesamte ESKAPE-Panel getestet. Von Bedeutung war hierbei ebenfalls, ob der für *Escherichia coli* beobachtete Eagle-Effekt wieder auftreten würde. Neben dem Vergleich mit den freien Antibiotika Ampicillin (Amp) und Amoxicillin (Amox) kam auch Cefiderocol (Cef) zum Einsatz, welches das bislang erste als Medikament zugelassene Siderophor-Wirkstoff-Konjugat darstellt (s. Abschn. 1.4.3) und ausschließlich gegen gramnegative Keime wirksam ist. Die Ergebnisse der MIC-Assays sind in Tab. 7 dargestellt.

Tabelle 7: Ergebnisse der MIC-Assays für die Konjugate **185 – 188** und **191** gegen das ESKAPE-Panel. Werte, die die erfolgreiche Hemmung bakteriellen Wachstums anzeigen, sind grün dargestellt. Verbindung **185** erwies sich als die potenteste Verbindung der untersuchten MECAM-Aminopenicillin-Konjugate.

MIC [$\mu\text{g/mL}$]	185	186	187	188	191	Amp	Amox	Cef
<i>E. coli</i>	≤ 0.125	1.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.24 ± 0.73	6.7 ± 1.9	6.7 ± 1.9	0.031 ± 0.020
<i>S. aureus</i>	0.17 ± 0.09	6.0 ± 1.8	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>K. pneumoniae</i>	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	0.17 ± 0.11
<i>A. baumannii</i>	≤ 0.125	>64	>64	>64	>64	>64	>64	0.040 ± 0.022
<i>P. aeruginosa</i>	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	0.057 ± 0.039
<i>E. faecium</i>	0.85 ± 0.70	>64	>64	>64	>64	0.94 ± 0.43	0.49 ± 0.28	>64

Sämtliche MIC-Assays gegen das ESKAPE-Panel wurden von Bianka Karge in der Arbeitsgruppe für chemische Biologie am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung durchgeführt. Wie anhand der Ergebnisse aus Abschn. 3.3.4.1 zu erwarten war, zeigten alle untersuchten Konjugate erhöhte Aktivitäten gegenüber *Escherichia coli* im Vergleich zu den jeweiligen freien Antibiotika Ampicillin und Amoxicillin. Verbindung **185** zeigte hierbei die beste Aktivität. Mit *Staphylococcus aureus* waren die Ampicillin-Konjugate **185** und **186** überraschenderweise auch gegen einen grampositiven Erreger aktiv, wobei Konjugat **185** im Vergleich mit der deacetylierten Variante **186** die deutlich stärkere Wirksamkeit zeigte. Verbindung **185** war darüber hinaus stark wirksam gegenüber *Acinetobacter baumannii* und hemmte ebenfalls das Wachstum des grampositiven Bakteriums *Enterococcus faecium*. Für die Konjugate **186** – **188** und **191** konnten keine weiteren Hemmungen bakteriellen Wachstums beobachtet werden. Der MIC-Wert für Verbindung **185** gegenüber *Enterococcus faecium* lag im gleichen Bereich wie der von freiem Ampicillin. In allen anderen Fällen, in denen eines der synthetisierten Konjugate das bakterielle Wachstum inhibierte, konnte eine im Vergleich zum freien Antibiotikum gesteigerte Wirksamkeit beobachtet werden. Hervorzuheben sind die MIC-Werte für den Einsatz von Konjugat **185** gegenüber *Escherichia coli* und *Acinetobacter baumannii*, die in der gleichen Größenordnung liegen wie die betreffenden Werte für Cefiderocol.

Der in Abschn. 3.3.4.1 beim Einsatz gegen *Escherichia coli* beobachtete Eagle-Effekt trat beim Test gegen das ESKAPE-Panel nicht mehr auf.

Konjugat **194** erwies sich dem betreffenden freien Antibiotikum Daptomycin (Dapto) ebenfalls überlegen. Während Daptomycin gegen das ESKAPE-Panel weitgehend wirkungslos war, konnte durch Verbindung **194** das Wachstum von *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* und *Enterococcus faecium* gehemmt werden (Tab. 8). Die MIC-Werte waren dabei allerdings deutlich höher als für Verbindung **185**. Ebenfalls ungewöhnlich ist die Inaktivität von Daptomycin gegenüber *Staphylococcus aureus* und *Enterococcus faecium*. Gegen solche grampositiven Keime zeigt Daptomycin für gewöhnlich gute Aktivitäten. Zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit fand daher eine Überprüfung der Aktivität des verwendeten Daptomycins statt. Diese Untersuchung wurde wieder von Bianka Karge im Arbeitskreis für chemische Biologie durchgeführt. Die Wirksamkeit von Konjugat **194** gegenüber dem gramnegativen

Acinetobacter baumannii stellt jedoch in jedem Fall eine Verbesserung des Wirkspektrums des Antibiotikums Daptomycin dar und bestätigt vorangegangene Arbeiten, in denen die Konjugation von Daptomycin mit Siderophoren ebenfalls zu einer erhöhten Aktivität gegenüber *Acinetobacter Baumannii* führte.^[99-100]

Tabelle 8: Anders als Daptomycin zeigte Konjugat **194** Aktivität gegenüber *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* und *Enterococcus faecium* (Werte in grün dargestellt).

MIC [$\mu\text{g/mL}$]	194	Dapto	Cef
<i>E. coli</i>	>64	>64	0.031 \pm 0.020
<i>S. aureus</i>	21.3 \pm 7.5	64 \pm 0	>64
<i>K. pneumoniae</i>	>64	>64	0.17 \pm 0.11
<i>A. baumannii</i>	10.7 \pm 3.8	>64	0.040 \pm 0.022
<i>P. aeruginosa</i>	>64	>64	0.057 \pm 0.039
<i>E. faecium</i>	32 \pm 0	>64	>64

Von allen getesteten Konjugaten erwies sich Verbindung **185** als das mit Abstand potenteste Antibiotikum. Während aus den MIC-Werten aus Abschn. 3.3.4.1 kein deutlicher Aktivitätsunterschied zwischen den einzelnen MECAM-Aminopenicillin-Konjugaten gegen *Escherichia coli* hervorging, zeigte Verbindung **185** hier deutlich niedrigere MIC-Werte im Zuge der Tests gegen das ESKAPE-Panel. Abgesehen von einer etwas schwächeren Wirksamkeit von Verbindung **186** gegenüber dem grampositiven Bakterium *Staphylococcus aureus* ist Verbindung **185** das einzige MECAM-Aminopenicillin-Konjugat, dessen Wirkspektrum über *Escherichia coli* hinausgeht. Darüber hinaus rief der Einsatz acetylierter Catechole deutlich positivere Resultate hervor als der freier Catecholgruppen. Die Verwendung eines polaren PEG-Linkers in Verbindung **191** führte im Vergleich zu Verbindung **185**, die als einzigen Unterschied einen unpolaren Linker aufweist, zu deutlich niedrigeren Aktivitäten und einem verminderten Wirkspektrum. Diese Beobachtung deckt sich mit Erkenntnissen, die für Enterobactin-Ciprofloxacin-Konjugate gewonnen worden waren.^[127] Die Tatsache, dass mit *Staphylococcus aureus* und *Enterococcus faecium* auch die beiden grampositiven Vertreter des ESKAPE-Panels inhibiert wurden, erscheint überraschend. Eine Erhöhung der antibiotischen Aktivität durch Konjugation an einen Siderophor sollte

erwartungsgemäß nur für Antibiotika erfolgen, deren Target sich hinter der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien verbirgt. Die Targets von Aminopenicillinen (Mureinschicht) und Daptomycin (innere Zellmembran) liegen in grampositiven Bakterien jedoch frei (s. Abschn. 1.4.1). Vermutlich ist die erhöhte Aktivität in diesen Fällen auf die Interaktion mit einem in der Membran verankerten Protein zurückzuführen (Abb. 13b), das an das Konjugat bindet und somit aktiv in der Nähe des Targets fixiert.

Die Überlegenheit von Verbindung **185** gegenüber den Konjugaten **186 – 188** ist überraschend. Strukturell betrachtet liegen nur bezüglich der Acetylierung der Catechole und in der Verwendung von Ampicillin gegenüber Amoxicillin Unterschiede vor. Die beiden verwendeten Antibiotika unterscheiden sich anhand einer einzelnen Hydroxygruppe und erzielten in vorangegangenen Studien bei der Verwendung in Siderophorkonjugaten ähnliche Aktivitäten.^[126, 205] Nachfolgend ist daher in unabhängigen Studien zu überprüfen, ob die hier erbrachten MIC-Werte einwandfrei reproduzierbar sind. Das Ausbleiben des Eagle-Effekts beim Einsatz der Konjugate gegen das ESKAPE-Panel kann womöglich über die verwendeten Bakterienstämme erklärt werden. Anders als für die in Abschn. 3.3.4.1 beschriebenen MIC-Assays wurde im ESKAPE-Panel ein multiresistenter Stamm (DSM1116) verwendet. Außerdem wurden für die MIC-Assays, die ausschließlich gegenüber *Escherichia coli* durchgeführt wurden, 96-Well-Titerplatten benutzt. Für die Tests gegen das ESKAPE-Panel kamen dagegen 384-Well-Titerplatten zum Einsatz. Weitere Untersuchungen werden vonnöten sein, um das Auftreten bzw. Ausbleiben des Eagle-Effekts zufriedenstellend begründen zu können.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Um neuartige Siderophor-Wirkstoff-Konjugate zu synthetisieren und zu erforschen, wurden der Zielsetzung folgend künstliche Siderophore hergestellt, die sich am natürlichen Vorbild Enterobactin orientieren. Neben Verbindungen, die auf einem aromatischen Zentralmotiv aufbauen, wurden ebenfalls auf Adamantan basierende Siderophore dargestellt. Für beide grundlegenden Struktur motive wurde der Bindungsabstand zwischen den Zentraleinheiten und den peripheren eisenkomplexierenden Gruppen variiert. Die Synthese von Siderophoren mit einer Cyclopropaneinheit als Zentralmotiv wurde ebenfalls in Angriff genommen. Obwohl die Implementierung des für Konjugate erforderlichen, stereochemischen [3+1]-Substitutionsmusters gelang, konnte die Synthese eines ersten Cyclopropylsiderophors nicht erfolgreich abgeschlossen werden. Die beschrittene Syntheseroute wird in zukünftigen Arbeiten optimiert oder überarbeitet werden müssen. Ein besonderes Augenmerk sollte dabei auf Ausbeute und Isolierbarkeit der letzten Zwischenprodukte liegen.

Von den erfolgreich synthetisierten Siderophoren zeigte die in Abschn. 1.4.5 eingeführte Verbindung MECAM Eigenschaften, die sie zur Verwendung in Siderophor-Wirkstoff-Konjugaten qualifiziert. Nur für MECAM kamen eine robuste chemische Synthese, die Fähigkeit, Eisen(III)-Komplexe zu bilden und die biologische Eignung als Xenosiderophor in *Escherichia coli* zusammen. Eine der für den weiteren Einsatz ausgeschlossenen Verbindungen war der nitrierte Siderophor **158** (Abb. 56).

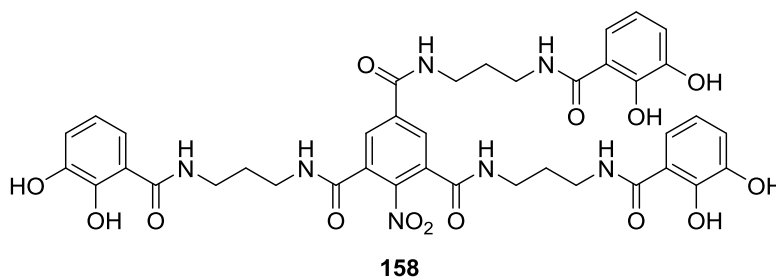


Abbildung 56: Chemische Struktur von Verbindung **158**.

Computerchemische Rechnungen, die begleitend an der TU Braunschweig in der Arbeitsgruppe von Professor Grunenberg durchgeführt wurden, zeigten jedoch, dass der Eisen(III)-Komplex dieser Verbindung anstatt des *high spin*-Zustands die *low spin*-Konfiguration thermodynamisch bevorzugen sollte. Die Existenz dieses ersten bekannten *low spin*-Siderophors konnte durch Untersuchungen mittels Mößbauer- und ESR-Spektroskopie jedoch weder bewiesen noch abgelehnt werden. Weitere Vermessungen des betreffenden Eisen(III)-Komplexes werden vonnöten sein, um diese Fragestellung abschließend zu klären. Wichtige Anhaltspunkte kann beispielsweise die weitere Untersuchung mittels Raman-Spektroskopie liefern.

Die Verknüpfung mit den Aminopenicillinen Ampicillin und Amoxicillin erbrachte für MECAM fünf Konjugate, die sowohl gegen *Escherichia coli* als auch gegen weite Teile des ESKAPE-Panels gute Aktivitäten zeigten. Aus diesen Produkten sticht insbesondere Ampicillin-Konjugat **185** (Abb. 57a) hervor, das für *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* und *Enterococcus faecium* minimale Hemmkonzentrationen von unter 1 µg/mL zeigt und freiem Ampicillin deutlich überlegen ist. In zukünftigen Studien sollte dieses Konjugat gegen mehrere verschiedene Stämme dieser vier Bakterienarten eingesetzt werden, um die entsprechenden MIC50- und MIC90-Werte zu bestimmen. Auch der Einsatz gegen weitere klinisch relevante Keime ist ins Auge zu fassen. Durch den Vergleich mit Verbindung **191** (Abb. 57b) konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass eine geringere Polarität des Linkers, mit dem MECAM und Ampicillin verbunden wurden, mit einer höheren antibiotischen Aktivität des resultierenden Konjugats einhergeht.

Durch die Konjugation von MECAM an das Lipopeptid-Antibiotikum Daptomycin wurde ein weiteres Zielprodukt synthetisiert, das die antibiotische Aktivität des unkonjugierten Wirkstoffs überstieg. Während die minimalen Hemmkonzentrationen für *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* und *Enterococcus faecium* unter denen von Daptomycin liegen, werden die bemerkenswerten Aktivitäten von Konjugat **185** aber nicht erreicht.

Die hier beschriebenen Konjugate von Aminopenicillinen und Daptomycin stellen die ersten bekannten Antibiotikakonjugate mit dem künstlichen Siderophor MECAM dar.

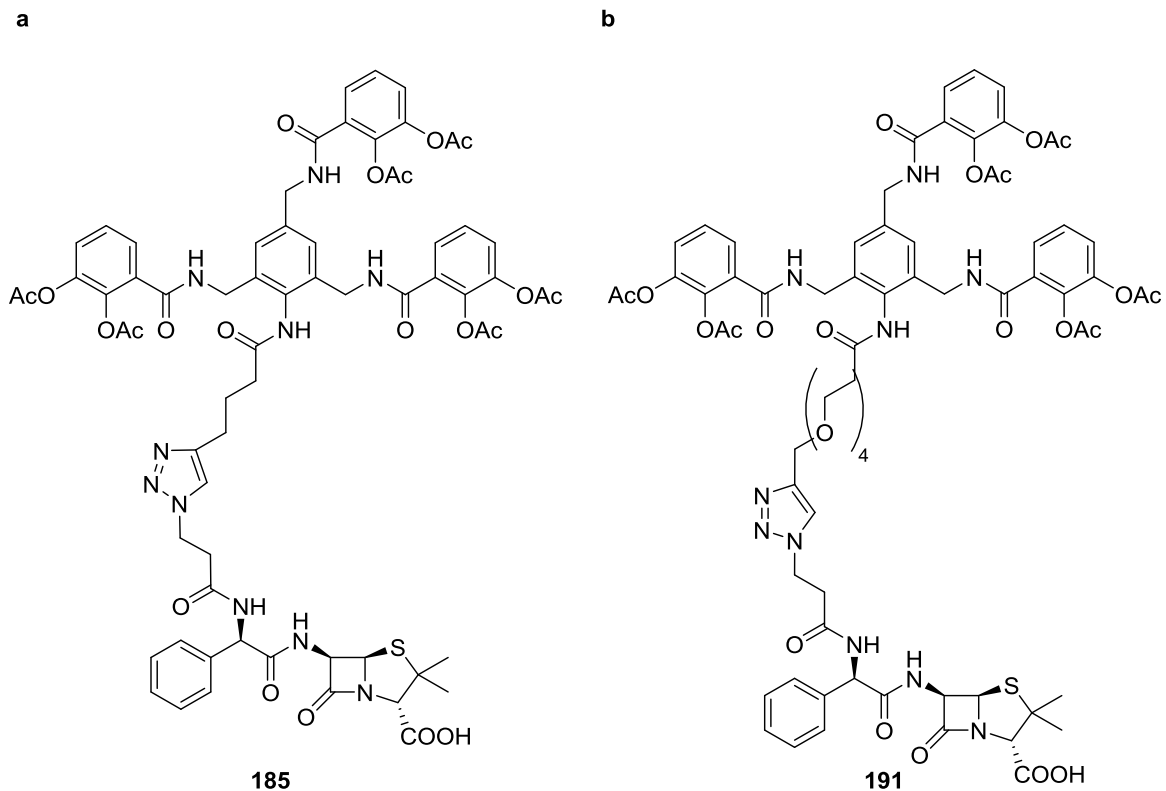


Abbildung 57: Gegenüberstellung der MECAM-Ampicillin-Konjugate a) **185** und b) **191**.

Die Tatsache, dass Verbindung **185** sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Keime aktiv ist, macht sie für weitere Untersuchungen besonders interessant. Der Aufnahmemechanismus in grampositive wie auch gramnegative Bakterien sollte ebenso untersucht werden wie die Bildungsgeschwindigkeit von Resistenzen, wie sie bei der Behandlung mit Antibiotika für gewöhnlich auftreten.

Da die im Rahmen dieser Arbeit erzielten Ergebnisse durch *in vitro*-Untersuchungen erbracht wurden, besteht der nächste Schritt im Übergang zu Versuchen *in vivo*, zum Beispiel in einem Mausmodell. Darüber hinaus ist die Verwendung spaltbarer Linker sinnvoll, um MECAM-Konjugate mit Antibiotika zu erproben, die über cytoplasmatische Targets verfügen. Da MECAM im Periplasma gramnegativer Bakterien angereichert wird, kann der cytoplasmatische Raum nur von Wirkstoffen erreicht werden, die nach dem Transport in das Periplasma vom verwendeten Siderophor gespalten werden. Weil die innere Membran ein deutlich leichter zu überwindendes Hindernis darstellt als die äußere Membran gramnegativer Bakterien, ist dieser Ansatz erfolgversprechend. Zuletzt können

durch die Konjugation mit Fluoreszenzfarbstoffen Konjugate hergestellt werden, durch die eine bakterielle Infektion *in vivo* sichtbar gemacht werden kann. Denkbar ist auch die Konjugation von MECAM sowohl an einen Farbstoff als auch an ein Antibiotikum, um solche Infektionen gleichzeitig abbilden und behandeln zu können.

Vom Molekül MECAM ausgehend bietet sich darüber hinaus die Möglichkeit, die Synthese gemischter künstlicher Siderophore zu forcieren. Während im Zuge dieser Arbeit ausschließlich jeweils drei Catecholgruppen in den synthetisierten Siderophoren installiert wurden, ist die Einbringung von zwei oder sogar drei verschiedenen eisenkomplexierenden Strukturmotiven möglich. So ist beispielsweise ein künstlicher Siderophor **205** denkbar, in dem je eine Catecholeinheit, ein Hydroxamat und eine α -Hydroxycarbonsäure für die Komplexbildung dreiwertigen Eisens zur Verfügung stehen. (Abb. 58)

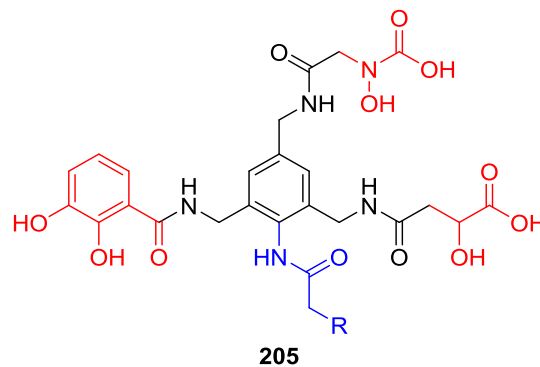


Abbildung 58: Chemische Struktur eines gemischten Siderophors **205**. Eisenkomplexierende Funktionen sind rot markiert, der Linker mit angebundenem Wirk- oder Farbstoff ist blau eingefärbt.

Da OMR gramnegativer Bakterien sehr spezifisch auf bestimmte eisenkomplexierende Struktur motive abgestimmt sind, sollte auf diese Weise die Aufnahme eines Siderophor-Wirkstoff-Konjugats durch mehrere verschiedene OMR erfolgen. Damit verbunden wäre eine verminderte Gefahr der Resistenzbildung, da eine gleichzeitige, durch Mutation hervorgerufene, Ausschaltung aller beteiligter OMR als unwahrscheinlich eingestuft werden kann.

5 Experimenteller Teil

5.1 Biologie

5.1.1 Allgemeine Methoden

Die verschiedenen Stämme von *Escherichia coli* wurden vom Coli Genetic Stock Center (CGSC) bezogen. Eine Ausnahme stellt der uropathogene Stamm UPEC 536 dar. Dieser wurde dem Bestand der Arbeitsgruppe entnommen, in der diese Arbeit angefertigt wurde. Die für das ESKAPE Panel verwendeten Bakterienstämme wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH bezogen. Sämtliche Nährmedien wurden kommerziell erworben.

5.1.2 Durchführung des Assays zur Wiederherstellung des Wachstums

Alle Medien wurden nach einer literaturbekannten Prozedur angesetzt.^[211] Das für das Assay benötigte LMR-Medium beinhaltete Kaliumdihydrogenphosphat (176 mM), Natronlauge (100 mM), Ammoniumsulfat (12.6 mM), Magnesiumsulfat (2 mM) und Glycerol (0.2 % v/v). Zu einem Liter dieser Lösung wurden 2 mL einer Spurenelemente enthaltenden Lösung gegeben. Die Konzentrationen derer Bestandteile sind in Tab. 9 aufgeführt.

Tabelle 9: Bestandteile der Spurenelementlösung mit Ansatz- und Finalkonzentrationen im LMR-Medium.

Substanz	Konzentration	Finale Konzentration im LMR-Medium
CaCl ₂	20 mM	40 µM
MnCl ₂ × 4 H ₂ O, ZnSO ₄ × 7 H ₂ O	10 mM	20 µM
CoCl ₂ × 6 H ₂ O, CuCl ₂ , NiCl ₂ × 6 H ₂ O, Na ₂ MoO ₄ × 2 H ₂ O, Na ₂ SeO ₃ , H ₃ BO ₄	2 mM	4 µM

Mit Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat wurde eine Konzentration von 0.1 μM an Fe^{3+} -Ionen eingestellt. Alle Lösungen wurden vor ihrer Verwendung autoklaviert.

Die Stämme *BW25113* und ΔentA von *Escherichia coli* wurden über Nacht in MHB-Medium kultiviert. Die Bakterien wurden mit MHB-Medium verdünnt ($\text{OD}_{600} = 0.1$) und erneut kultiviert, bis ein OD_{600} -Wert von etwa 0.5 erreicht wurde. Durch Zentrifugation (8000 min^{-1} , 5 min) wurden die Bakterien abgetrennt und mittels dreimaliger Zentrifugation (8000 min^{-1} , 5 min) in PBS-Puffer gewaschen. Durch Verdünnung mit LMR-Medium wurde ein OD_{600} -Wert von 0.01 eingestellt.

Das Assay wurde in 96-Well-Titerplatten in Triplikaten durchgeführt. Je 1.5 μL einer Lösung der zu vermessenden Substanz (1 mM in DMSO, für die Negativkontrolle reines DMSO) wurde mit 148.5 μL der Bakterien beinhaltenden Suspension ($\text{OD}_{600} = 0.01$) aufgefüllt, sodass die finale Siderophorkonzentration 10 μM betrug. Als Blank wurde das modifizierte LMR-Medium rein verwendet. Die mit Parafilm versiegelten Titerplatten wurden 48 h bei 37 °C inkubiert. Die OD_{600} -Werte wurden mittels eines Titerplattenspektrometers bestimmt. Von diesen wurde der aus allen Blanks gemittelte Wert abgezogen.

5.1.3 Durchführung des Zellfraktionierungsassays

Zunächst wurde mit Bakterien des ΔentA -Stammes von *Escherichia coli* ein Assay zur Wiederherstellung des Wachstums gemäß Abschn. 5.1.2 durchgeführt. Hierbei wurde für die Kultivierung der Bakterien über Nacht LB-Medium mit Kanamycin (50 μM) verwendet. Die Inkubation im LMR-Medium wurde durchgeführt, bis ein OD_{600} -Wert von eins erreicht wurde. Da hierfür der Maßstab des Assays vergrößert werden musste (5 mL LMR-Medium, finale Siderophorkonzentration 50 μM), wurden für die Inkubation Falcons anstatt Titerplatten verwendet. Für die Vorkomplexierung mit Verbindung **49** wurde dem LMR-Medium kein Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat zugesetzt. Stattdessen wurde die verwendete Lösung von Verbindung **49** mit äquimolaren Mengen an Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat versetzt und über Nacht inkubiert. Mit den so erhaltenen Bakterienkolonien wurde eine massenspektrometrische Quantifizierung der Siderophoraufnahme mittels Zellfraktionierung exakt gemäß einer literaturbekannten Prozedur durchgeführt^[204]

5.1.4 Durchführung des Assays zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration gegen *Escherichia coli*

Der Wildtypstamm *BW25113* sowie die Stämme $\Delta entA$ (JW0588), $\Delta fepA$ (JW5086), $\Delta toIC$ (JW5503) und *UPEC 536* von *Escherichia coli* wurden über Nacht in MHB-Medium kultiviert. Die Kulturen wurden mit MHB-Medium verdünnt ($OD_{600} = 0.1$) und erneut kultiviert, bis ein OD_{600} -Wert von etwa 0.5 erreicht wurde. Durch Zentrifugation (8000 min^{-1} , 5 min) wurden die Bakterien abgetrennt und durch dreimalige Zentrifugation (8000 min^{-1} , 5 min) in PBS-Puffer gewaschen. Im weiteren Verlauf wurde eisenreduziertes MHB-Medium verwendet. Hierfür wurden 100 g des Resins Chelex[®] (Hercules) zu einem Liter MHB-Medium gegeben. Anschließend wurde 2 h gerührt und das Resin mittels Filtration ($0.2 \mu\text{m}$) entfernt. Calciumchlorid, Magnesiumsulfat und Zinksulfat-Heptahydrat wurden zugegeben, sodass die jeweiligen Konzentrationen dieser zuvor entfernten Metallkationen $200 \mu\text{M}$, $93 \mu\text{M}$ und $10 \mu\text{M}$ im Medium betragen. Der pH-Wert wurde mit Salzsäure auf einen Wert von 7.4 eingestellt. Das so erhaltene eisenreduzierte MHB-Medium wurde durch Filtration ($0.2 \mu\text{m}$) sterilisiert. Die isolierten und gewaschenen Bakterien wurden in diesem Medium verdünnt ($OD_{600} = 0.01$). Das Assay wurde in 96-Well-Titerplatten in Triplikaten durchgeführt. Ausgehend von einer Substanzkonzentration von 5.12 mg/mL in DMSO wurde durch wiederholte Verdünnung um den Faktor zwei mit eisenreduziertem MHB-Medium eine Verdünnungsreihe für das zu untersuchende Konjugat erstellt (inklusive einer Fraktion von 10% reinem DMSO in eisenreduziertem MHB-Medium als Negativkontrolle). Je $90 \mu\text{L}$ der Bakterien beinhaltenen Suspension ($OD_{600} = 0.01$) und $10 \mu\text{L}$ der einzelnen Fraktionen der Verdünnungsreihe wurden zusammengegeben, sodass die Höchstkonzentration im Assay $512 \mu\text{M}$ betrug. Als Blank wurde die für die Negativkontrolle verwendete Fraktion ($10 \mu\text{L}$), aufgefüllt mit eisenreduziertem MHB-Medium ($40 \mu\text{L}$), verwendet. Die mit Parafilm versiegelten Titerplatten wurden 20 h bei 37°C inkubiert. Die OD_{600} -Werte wurden mittels eines Titerplatten-Spektrometers bestimmt. Von diesen wurde der aus allen Blanks gemittelte Wert abgezogen.

5.1.5 Durchführung des Assays zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration gegen das ESKAPE-Panel

Für die verwendeten Stämme der gramnegativen Bakterien *Escherichia coli* (DSM1116), *Klebsiella Pneumoniae* (DSM11678), *Acinetobacter baumannii* (DSM30007) und *Pseudomonas aeruginosa* (DSM24068) wurde MHB-Medium verwendet. Im Fall der grampositiven Bakterien *Staphylococcus aureus* (DSM11822) und *Enterococcus faecium* (DSM20477) kam TSY-Medium zum Einsatz.

Sämtliche Stämme des ESKAPE-Panels wurden über Nacht in Nährmedium kultiviert. Die Kulturen wurden mit Nährmedium verdünnt (Faktor 100) und erneut 5 h kultiviert. Durch Zentrifugation (4500 min^{-1} , $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 min) wurden die Bakterien abgetrennt und drei Mal mit eisenreduziertem Medium (je 2 mL) gewaschen. Die Herstellung eisenreduzierten MHB- bzw. TSY-Mediums erfolgte analog der in Abschn. 5.1.4 beschriebenen Prozedur.

Das Assay wurde in 384-Well-Titerplatten unter der Verwendung eines epMotion[®]-Pipettierroboters (Eppendorf) in Triplikaten durchgeführt. Die isolierten und gewaschenen Bakterien wurden in eisenreduziertem Medium so verdünnt, dass der OD₆₀₀-Wert zu Beginn des Assays in den einzelnen Wells 0.005 betrug. Ausgehend von Stammlösungen der Konjugate (6.4 mg in DMSO) wurden Höchstkonzentrationen von 64 µg/mL bzw. 6.4 µg/mL mit eisenreduziertem Medium eingestellt. Durch wiederholte Verdünnung um den Faktor zwei mit eisenreduziertem Medium wurde eine Verdünnungsreihe für das zu untersuchende Konjugat erstellt. Die freien Antibiotika Ampicillin, Amoxicillin und Daptomycin sowie Cefiderocol wurden zum Vergleich ebenfalls untersucht.

Als Negativkontrolle kam reines DMSO in eisenreduziertem Medium zum Einsatz, als Blank wurde reines eisenreduziertes Medium verwendet. Gegen die einzelnen Stämme wirksame Antibiotika (Linezolid für *Staphylococcus aureus*, Amikacin für *Pseudomonas aeruginosa*, Ciprofloxacin für alle restlichen) wurden als Positivkontrolle benutzt.

Die mit Parafilm versiegelten Titerplatten wurden 24 h bei 37°C inkubiert. Die OD₆₀₀-Werte wurden mittels eines Titerplatten-Spektrometers bestimmt. Von diesen wurde der aus allen Blanks gemittelte Wert sowie der Hintergrundwert abgezogen.

5.2 Chemie

5.2.1 Allgemeine Methoden

Kommerziell erhältliche Chemikalien wurden ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Alle verwendeten organischen Lösemittel wiesen den Reinheitsgrad *HPLC-grade* auf. Sämtliche Lösemittel außer Dichlormethan, welches nachträglich über aktiviertem Molekularsieb (4 Å) getrocknet wurde, wurden in wasserfreier Form bezogen. Getrocknete Lösemittel wurden für alle Reaktionen verwendet, bei denen nicht auch Wasser als Lösemittel verwendet wurde und in denen die Gesamtmenge an organischem Lösemittel 30 mL nicht überstieg. Reaktionen mit getrockneten Lösemitteln wurden in zweifach ausgeheizten Glasgeräten unter Schutzgas durchgeführt.

Die Entfernung von organischen Lösemitteln fand unter Verwendung von Rotationsverdampfern bei 30 °C, die Entfernung von Wasser bei 40 °C, statt.

Zur Lyophilisation von Substanzen wurden die betreffenden Lösungen mit flüssigem Stickstoff eingefroren und an einem Gerät des Typs Alpha 2–4 LSCbasic (CHRIST) gefriergetrocknet.

Zentrifugationen wurden mit einer Zentrifuge des Typs Universal 32 R (HETTICH) durchgeführt.

Angegebene Ausbeuten sind nur dann als absolut zu betrachten, wenn die betreffende Reinsubstanz NMR-spektroskopisch analysiert wurde. Werden für nicht aufgereinigte Zwischenstufen Ausbeuten angegeben, so geschieht dies nur zwecks Ansatzberechnung der nächsten Synthesestufe. Eine absolute Gesamtausbeute über die Gesamtzahl der Schritte wird dann für die letzte Synthesestufe gegeben.

5.2.2. Chromatografische Methoden

5.2.2.1 Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatografie wurden DC-Platten (Kieselgel 60 F₂₅₄, auf Aluminium bzw. auf Glas) des Produzenten MERCK verwendet. Durch den jeweiligen Retentionsfaktor R_f wird die Laufhöhe des jeweiligen Produktes relativ zur Laufmittelhöhe angegeben. Die Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzlöschung unter UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Des Weiteren dienten eine Vanillin-Lösung (5 g Vanillin, 50 mL konzentrierte Schwefelsäure, 100 mL Eisessig, 850 mL Methanol) bzw. eine Kaliumpermanganat-Lösung (2 g KMnO_4 , 6.5 g K_2CO_3 , 200 mL Wasser) als Anfärbereagenzien.

5.2.2.2 Säulenchromatographie

Säulenchromatographische Aufreinigungen wurden an Kieselgel (Si 60, 40 – 63 μm Korngröße) des Produzenten MERCK unter erhöhtem Druck (Flash-Chromatographie) durchgeführt. Die verwendeten Eluenten werden hinter den angegebenen Retentionsfaktoren aufgeführt.

5.2.2.3 Automatische Säulenchromatographie

Automatische präparative Säulenchromatografie fand an einem Gerät des Typs Grace Reveleris® X2 (BÜCHI) statt.

Automatische präparative Säulenchromatografie über eine Trennsäule mit C18-Füllmaterial fand an einem Gerät des Typs Pure C-850 (BÜCHI) statt.

5.2.2.4 HPLC

Aufreinigungen mittels HPLC fanden an einem Gerät des Typs Dionex Ultimate (THERMO FISHER SCIENTIFIC) statt. Sofern nicht anders beschrieben, wurden folgende C18-Trennsäulen (PHENOMENEX) verwendet:

- Luna 5 μm , 100 Å, 00G-4252-PO-AX.
- Gemini 10 μm , 110 Å, 00G-4436-PO.
- Gemini 10 μm , 110 Å, 00G-4436-NO.

5.2.3 Instrumentelle Analytik

5.2.3.1 Charakterisierung der synthetisierten Verbindungen

Alle isolierten Endverbindungen wurden analytisch vollständig charakterisiert (^1H -, ^{13}C -NMR-Spektren, ESI-HRMS, R_f -Werte im Falle säulenchromatografischer Aufreinigung). Davon abweichend wurden die Eisen(III)-Komplexe der Verbindungen **158** und **162** mittels Mößbauer- und ESR-Spektroskopie vermessen.

5.2.3.2 NMR-Spektroskopie

Für die Aufnahme von NMR-Spektren wurden Geräte des Typs Avance III 500 mit dem Probenkopf PABBO BB/ ^{19}F - ^1H /D Z-GRD (500 MHz für ^1H , 125 MHz für ^{13}C), und Avance III HD 700 mit Cryo-Plattform und dem Probenkopf CPTCI ^1H - ^{13}C / ^{15}N /D Z-GRD (700 MHz für ^1H , 176 MHz für ^{13}C) des Herstellers BRUKER bei Raumtemperatur verwendet. Die vermessenen Substanzen wurden hierfür in deuteriertem Lösemittel gelöst. Die chemischen Verschiebungen δ werden in ppm angegeben. Zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der einzelnen Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), p (Quintett) sowie Kombinationen der Abkürzungen. Weitere verwendete Abkürzungen sind: s_{br} (breites Singulett) und m

(Multipllett). Alle Spektren wurden als Spektren erster Ordnung interpretiert. Die Kopplungskonstanten J werden in Hertz (Hz) angegeben. Sie beziehen sich auf ^1H - ^1H -Kopplungen.

5.2.3.3 Massenspektrometrie

Die ESI-HRMS-Spektren wurden mit einem UHR-TOF-Massenspektrometer des Typs maXis HD™ (BRUKER) aufgenommen. Die Proben wurden über einen Autosampler des Typs Ultimate 3000RS (THERMO FISHER SCIENTIFIC) direkt injiziert. Angegeben wird das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis m/z .

5.2.3.4 Mößbauerspektroskopie

Die Vermessung der Verbindungen **158** und **162** mittels Mößbauerspektroskopie wurde an einem Transmissionsspektrometer (HALDER und WISSEL) mit sinusoidaler Geschwindigkeitsvariation durchgeführt. Für Tieftemperaturmessungen bei 20 K wurde ein Kryostat (CRYOVAC) mit einem kontinuierlichen Fluss flüssigen Heliums verwendet. Als Austauschgas fungierte ebenfalls Helium (ca. 100 mbar). Die Temperatur wurde mit einer kalibrierten Siliziumdiode gemessen, die nahe dem Probenbehälter platziert wurde (Temperaturgenauigkeit <0.1 K). Die nominale Aktivität der Mößbauerquelle (^{57}Co), eingebettet in einer Rhodiummatrix, betrug 1.85 GBq. Die Geschwindigkeitskalibrierung erfolgte mit einer α -Eisenfolie bei Raumtemperatur. Die resultierende minimale Linienbreite lag bei maximal 0.24 mm/s. Für die aufgenommenen Spektren wurden mithilfe des Programms „Recoil“ Ausgleichskurven erstellt (Methode der kleinsten Quadrate).^[212-213]

Isomervierschiebungen wurden als Relativwerte im Vergleich mit metallischem Eisen bei Raumtemperatur bestimmt.

5.2.3.5 ESR-Spektroskopie

Die ESR-Spektren von polykristallinen Proben der Verbindungen **158** und **162** wurden mit einem Spektrometer des Typs EMX CW-EPR (BRUKER) aufgenommen. Die Proben wurden als Mischungen mit Natriumsulfat in Messröhrchen aus Quarzglas präpariert. Für Tieftemperaturmessungen wurde ein Kryostat des Typs ESR900 (OXFORD) mit einem kontinuierlichen Fluss flüssigen Heliums verwendet.

5.2.4 DFT-Kalkulationen

Die Berechnungen sämtlicher quantenmechanischer Rohdaten sowie die sekundären Ableitungen der Energiewerte im kartesischen Koordinatensystem wurden mit dem Programm „Gaussian 09“ durchgeführt. Als Dichtefunktional wurde das Hybridfunktional TPSSh mit 10% Hartree-Fock-Austausch verwendet.^[214] Sämtliche Konformationsberechnungen, Geometrieoptimierungen und Berechnungen der kartesischen Kraftkonstanten fanden unter Verwendung des Basissatzes def2-SV(P) statt.^[215] Die Geometrieoptimierungen wurden für *high spin*- sowie *low spin*-Zustände der jeweiligen Eisen(III)-Komplexe durchgeführt.

Zur Berechnung der kinetischen Stabilität der Eisen-Sauerstoff-Komplexbindungen kam ein modifizierter Moore-Penrose-Algorithmus zum Einsatz, der von Kai Brandhorst an der TU Braunschweig entwickelt worden war.^[216-217]

5.2.5 Durchführung des Eisen(III)-Chromazurol S-Assays

Das Eisen(III)-CAS-Assay wurde einer literaturbekannten Prozedur folgend durchgeführt.^[218] Verwendete Glasgeräte wurden mit konzentrierter Salzsäure und Reinstwasser vorgereinigt.

Zu einer wässrigen Lösung von Hexadecyltrimethylammoniumbromid (HDTMA, 10 mM, 600 μ L), wurden Wasser (wenige mL) sowie eine wässrige Lösung von Eisen(III)-chlorid (1 mM in 10 mM HCl, 150 μ L) und Chromazurol S (2 mM, 750 μ L) gegeben. Dieser Lösung wurde eine Pufferlösung von Piperazin (431 mg, 5 mmol) und konzentrierter Salzsäure (625 μ L) in Wasser (5 mL) hinzugefügt. Die so entstandene Lösung wurde auf 10 mL verdünnt. Durch Zugabe von 5-Sulfosalicylsäure-Dihydrat (10.2 mg, 40 μ mol) wurde die für das Assay verwendete Grundlösung generiert.

Zu je 40 μ L dieser Lösung wurden Lösungen der Substanzen **49** und **115** sowie von Enterobactin (je 15 μ M, 120 μ L) und anschließend Wasser (40 μ L) gegeben. Für alle zu analysierenden Substanzen wurden Lösungstriplikate angesetzt.

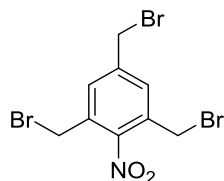
Die einzelnen Lösungen wurden in CellBIND®-96-Well-Titerplatten (CORNING) vermessen. Die jeweiligen Absorbanzen wurden nach 17 h mit einem Spektrometer des Typs Infinite® 200 PRO (TECAN) gemessen. Der Messbereich lag zwischen 300 und 800 nm Wellenlänge.

5.2.6 Mikrowellenbestrahlung

Für die Durchführung von Reaktionen unter Mikrowellenstrahlung wurde ein Synthesegerät des Typs Initiator+ (BIOTAGE) verwendet.

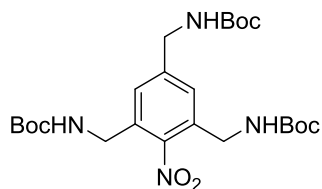
5.2.7 Chemische Synthesen

Verbindung 43



Zu einer Mischung von Salpetersäure (65%) und konzentrierter Schwefelsäure (je 10 mL) wurde 1,3,5-Tris(bromomethyl)benzol (1.67 g, 4.68 mmol) in kleinen Portionen bei 0 °C gegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, 24 h gerührt und mit Eiswasser (25 mL) gequencht. Anschließend wurde mit Ethylacetat (2 × 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **43** als gelblicher Feststoff (1.72 g, 4.28 mmol, 91%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung für Folgereaktionen eingesetzt.

Verbindung 42b



Zu einer Lösung von Verbindung **43** (1.00 g, 2.49 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran und Ethanol (je 15 mL) wurde Ammoniakwasser (30%, 15 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min gerührt und eingengt. Zu dem so erhaltenen Rückstand wurden Tetrahydrofuran (10 mL) und Natriumhydroxid (498 mg, 12.4 mmol, 5 Äq.) in Wasser (15 mL) gegeben. Anschließend wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (2.72 g, 12.4 mmol, 5 Äq.) in Tetrahydrofuran (5 mL) über einen Zeitraum von 2.5 h mit einer Spritzenpumpe bei 0 °C zugetropft. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt, mit Wasser (20 mL) versetzt und mit Ethylacetat (2 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 x 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA) des Rückstands Verbindung **42b** als weißer Feststoff (349 mg, 683 µmol, 25% über drei Stufen) erhalten.

DC $R_f = 0.27$ (PE/EA = 2:1)

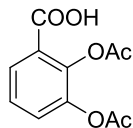
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.39 (s, 18 H), 1.40 (s, 9 H), 4.10 (d, $J = 5.8$ Hz, 4 H), 4.15 (d, $J = 6.1$ Hz, 2 H), 7.21, (s, 2 H), 7.41 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 7.45 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H),

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 28.1, 28.2, 39.5, 43.1, 78.0, 78.2, 125.1, 132.0, 143.3, 146.6, 155.7, 155.8.

C₂₄H₃₈N₄O₈ (510.59), isotopenreine Masse: 510.2690.

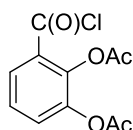
ESI-HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ ber. für C₂₄H₃₈N₄NaO₈: 533.2587; gef.: 533.2584.

Verbindung 46



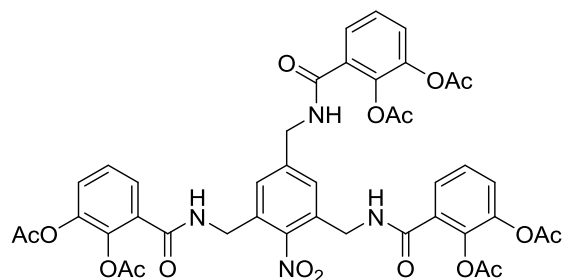
Zu einer Lösung von 2,3-Dihydroxybenzoesäure (4.00 g, 26.0 mmol, 1 Äq.) und 4-(Dimethylamino)pyridin (318 mg, 2.60 mmol, 0.1 Äq.) wurden Essigsäureanhydrid (7.37 mL, 7.96 g, 77.9 mmol, 3 Äq.) und Triethylamin (21.6 mL, 15.8 g, 156 mmol, 6 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 3 h refluxiert, auf Raumtemperatur abgekühlt und eingengt. Der Rückstand wurde mit kalter Salzsäure (0.5 M) und kalter gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 75 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **46** als bräunlicher Feststoff (5.27 g, 22.1 mmol, 85%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung für Folgereaktionen eingesetzt.

Verbindung 47



Zu einer Lösung von Verbindung **46** (786 mg, 3.30 mmol, 3.3 Äq.) in Dichlormethan (20 mL) und Dimethylformamid (200 µL) wurde bei 0°C über einen Zeitraum von 5 min Oxalylchlorid (566 µL, 838 mg, 6.6 mmol, 6.6 Äq.) getropft. Die Reaktionslösung wurde 10 min bei 0 °C und 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde das Rohprodukt **47** über Nacht im Vakuum getrocknet und ohne weitere Aufreinigung oder Lagerung für Folgereaktionen eingesetzt.

Verbindung 41



Zu einer Lösung von Verbindung **43** (402 mg, 1.00 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran und Ethanol (je 5 mL) wurde Ammoniakwasser (30%, 10 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde über Nacht gerührt, eingeeengt und im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 20 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (3.3 mmol, 3.3 Äq.) in 1,4-Dioxan (20 mL) über einen Zeitraum von 15 min gegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 × 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 75 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH) des Rückstands Verbindung **41** als gelblicher Feststoff (510 mg, 586 µmol, 54% über drei Stufen) erhalten.

Alternativer Syntheseweg über Verbindung **42b**:

Zu einer Lösung von Verbindung **42b** (130 mg, 255 µmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (3 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (1 mL) getropft. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (5 mL) wurde das Lösemittel entfernt. Diese Coevaporation wurde einmal wiederholt. Nach der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 20 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (1.02 mmol, 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (20 mL) getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (2 × 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen

Phasen wurden mit wässriger Lithiumchloridlösung (5%) und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH) des Rückstands Verbindung **42b** als gelblicher Feststoff (106 mg, 122 µmol, 48% über zwei Stufen) erhalten.

DC $R_f = 0.21$ (DCM/MeOH = 20:1)

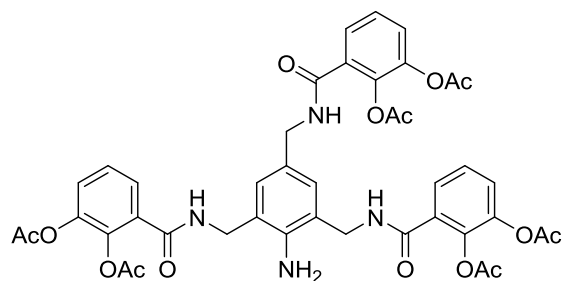
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 2.17 (s, 3 H), 2.19 (s, 6 H), 2.28 (s, 3 H), 2.29 (s, 6 H), 4.42 (d, $J = 5.7$ Hz, 4 H), 4.46 (d, $J = 5.7$ Hz, 2 H), 7.25 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.32 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 7.37 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1 H), 7.39 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 2 H), 7.41 (s, 2 H), 7.46 (dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1 H), 7.48 (dd, $J = 7.7, 1.5$ Hz, 2 H), 9.02 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 9.06 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 38.8, 42.0, 125.6, 125.8, 126.0, 126.1, 126.2, 126.3, 130.1, 130.3, 131.4, 140.2, 140.2, 142.7, 142.8, 147.0, 164.8, 164.8, 167.9, 167.9, 168.3.

$\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_{17}$ (870.78), isotopenreine Masse: 870.2232.

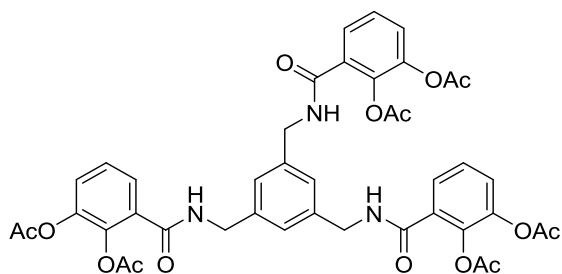
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{NaO}_{17}$: 893.2130; gef.: 893.2119.

Verbindung 40



Zu einer Lösung von Verbindung **41** (510 mg, 586 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (4 mL), Ethanol (3.2 mL) und Essigsäure (800 μL) wurde bei 0 °C Zinkstaub (574 mg, 7.79 mmol, 15 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 10 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads weitere 20 min gerührt. Anschließend wurde über Celite filtriert und mit Ethylacetat gewaschen. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der erhaltene Rückstand **41** ohne weitere Aufreinigung für Folgereaktionen eingesetzt.

Verbindung 48



Zu einer Lösung von 1,3,5-Tris(brommethyl)benzol (89.0 mg, 250 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran und Ethanol (je 1.2 mL) wurde Ammoniakwasser (30%, 2.4 mL) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 2.5 h gerührt und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 5 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (875 μmol , 3.5 Äq.) in 1,4-Dioxan (4 mL) gegeben. Die Reaktionsmischung 5 min bei 0 °C gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 20 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **48** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (23.4 mg, 28.3 μmol , 11% über zwei Stufen) erhalten.

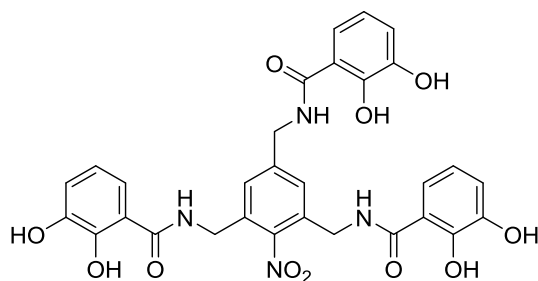
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 2.17 (s, 9 H), 2.28 (s, 9 H), 4.39 (d, J = 5.9 Hz, 6 H), 7.15 (s, 3 H), 7.32 (t, J = 7.9 Hz, 3 H), 7.37 (dd, J = 8.1, 1.7 Hz, 3 H), 7.49 (dd, J = 7.6, 1.7 Hz, 3 H), 8.94 (t, J = 6.0 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 42.4, 124.5, 125.4, 126.0, 126.3, 130.8, 139.5, 140.1, 142.8, 164.5, 167.9, 168.3.

$\text{C}_{42}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{15}$ (825.78), isotopenreine Masse: 825.2381.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{42}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_{15}$: 826.2459; gef.: 826.2453.

Verbindung 49



Verbindung **41** (26.1 mg, 30.0 μmol) wurde 1 h in wässriger Kaliumhydroxidlösung (1 M, 15 mL) gerührt. Die Lösung wurde mit Salzsäure (1 M) neutralisiert und mit Ethylacetat (25 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde dekantiert und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **49** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (9.0 mg, 14.5 μmol , 48%) erhalten.

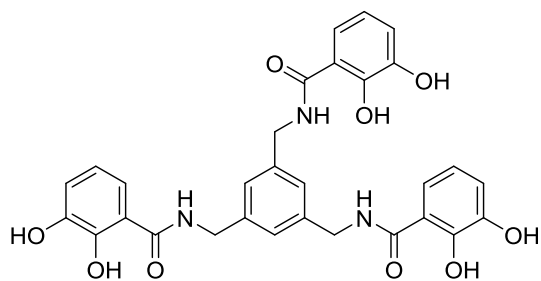
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 4.50 (d, $J = 5.5$ Hz, 6 H), 6.63 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 6.68 (t, $J = 8.0$ Hz, 2 H), 6.89 – 6.95 (m, 3 H), 7.21 (dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, 1 H), 7.25 (dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, 2 H), 7.44 (s, 2 H), 9.14 (s_{br} , 1 H), 9.21 (s_{br} , 2 H), 9.33 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H), 9.39 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H) 12.15 (s_{br} , 2 H), 12.37 (s_{br} , 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 38.6, 41.9, 114.9, 115.0, 117.2, 117.5, 118.0, 118.2, 118.9, 119.0, 126.5, 131.5, 142.6, 146.1, 147.2, 149.2, 149.5, 169.8, 169.9.

$\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{11}$ (618.56), isotopenreine Masse: 618.1598.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_{11}$: 641.1496; gef.: 641.1509.

Verbindung 30



Verbindung **48** (4.12 mg, 5.00 μmol) wurde 1 h in wässriger Kaliumhydroxidlösung (1 M, 2 mL) gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Salzsäure (2 M) angesäuert. Anschließend wurde mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **30** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (1.20 mg, 2.08 μmol , 42%) erhalten.

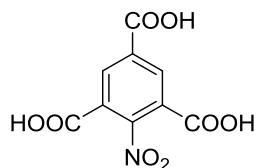
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 4.46 (d, J = 8.2 Hz, 6 H), 6.67 (t, J = 8.0 Hz, 3 H), 6.91 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 3 H), 7.19, (s, 3 H), 7.29 (dd, J = 8.2, 1.3 Hz, 3 H), 9.14 (s_{br}, 3 H), 9.34 (t, J = 6.0 Hz, 3 H), 12.63 (s, 3 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 42.3, 114.9, 117.2, 118.0, 118.9, 124.9, 139.4, 146.2, 149.7, 169.7.

C₃₀**H**₂₇**N**₃**O**₉ (573.56), isotopenreine Masse: 573.1747.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₃₀H₂₈N₃O₉: 574.1826; gef.: 574.1819.

Verbindung 51

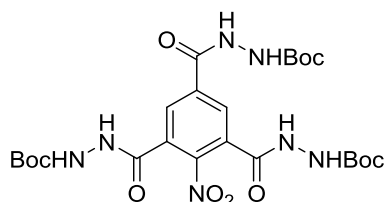


Zu einer Lösung von Nitromesitylen (2.48 g, 15 mmol, 1 Äq.), Natriumhydrogencarbonat (5.04 g, 60 mmol, 4 Äq.) und Aliquat 336 (0.5 mL) in Wasser (80 mL) wurde Kaliumpermanganat (23.7 g, 150 mmol, 10 Äq.) über einen Zeitraum von 15 min in kleinen Portionen gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 3 d refluxiert und über Celite filtriert. Die erhaltene Lösung wurde mit konzentrierter Salzsäure (20 mL) angesäuert und mit Diethylether (5 × 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und Verbindung **51** wurde nach der Entfernung des Lösemittels und Trocknung im Vakuum als weißer Feststoff (834 mg, 3.27 mmol, 22%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 8.61 (s, 2 H), 14.01 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 125.2, 132.9, 135.2, 150.6, 163.3, 164.5.

Verbindung 52



Zu einer Lösung von Verbindung **51** (255 mg, 1.00 mmol, 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (870 μ L, 646 mg, 5.00 mmol, 5 Äq.) in Dimethylformamid (15 mL) wurden bei 0 °C EDCI (613 mg, 3.20 mmol, 3.2 Äq.) und HOBt (432 mg, 32.0 mmol, 3.2 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 45 min bei 0 °C gerührt und *tert*-Butoxycarbonylhydrazid (436 mg, 3.30 mmol, 3.3 Äq.) in Dimethylformamid (1 mL) wurde zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Wasser versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je 100 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (3 \times 75 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH) des Rückstands Verbindung **52** als gelblicher Feststoff (260 mg, 435 μ mol, 44%) erhalten.

DC R_f = 0.19 (DCM/MeOH = 20:1)

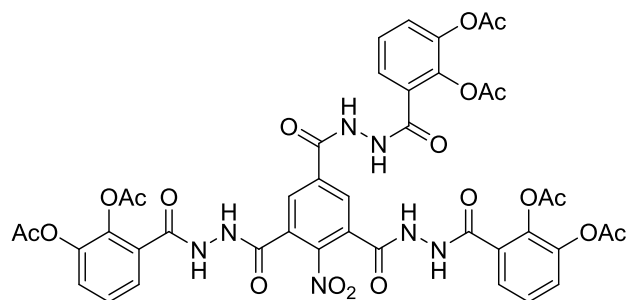
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.43 (s, 18 H), 1.44 (s, 9 H), 8.26 (s, 2 H), 9.15 (s, 1 H), 9.21 (s, 2 H), 10.64 (s, 2 H), 10.73 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 27.8, 28.0, 79.5, 129.1, 130.2, 134.8, 148.6, 154.9, 155.2, 163.2, 163.5.

$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{O}_{11}$ (597.58), isotopenreine Masse: 597.2395.

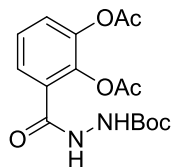
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{NaO}_{11}$: 620.2292; gef.: 620.2286.

Verbindung 53



Zu einer Lösung von Verbindung **52** (29.9 mg, 50 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (1.5 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (0.5 mL) getropft. Die Lösung wurde 10 min bei 0 °C gerührt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach der Zugabe von Toluol (4 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Zu einer Lösung von Verbindung **46** (59.6 mg, 250 μ mol, 5 Äq.) und *N*-Methylmorpholin (55.0 μ L, 50.6 mg, 500 μ mol, 10 Äq.) in Tetrahydrofuran (5 mL) wurde bei 0 °C Ethylchlorformiat (28.6 μ L, 32.6 mg, 300 μ mol, 6 Äq.) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 5 min bei 0 °C gerührt und der getrocknete Rückstand in Tetrahydrofuran (3 mL) bei 0 °C über einen Zeitraum von 25 min mit einer Spritzenpumpe zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Zielverbindung **53** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 54



Zu einer Lösung von *tert*-Butoxycarbonylhydrazid (66.1 mg, 500 μ mol, 1 Äq.) und Triethylamin (76.3 μ L, 55.7 mg, 550 μ mol, 1.1 Äq.) in Dichlormethan (5 mL) wurde bei 0 °C Verbindung **47** (500 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (5 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit Eis gequenchet, die organische Phase mit Salzsäure (0.1 M) und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **54** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (35.6 mg, 101 μ mol, 20%) erhalten.

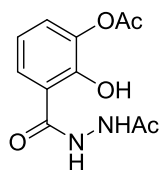
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.42 (s, 9 H), 2.23 (s, 3 H), 2.28 (s, 3 H), 7.37 – 7.48 (m, 2 H), 7.46 (d, *J* = 6.9 Hz, 1 H), 8.95 (s, 1 H), 10.02 (s, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 28.1, 79.2, 126.0, 126.1, 129.1, 140.3, 143.0, 155.1, 164.3, 167.8, 168.2.

C₁₆H₂₀N₂O₇ (352.34), isotopenreine Masse: 352.1271.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ ber. für C₁₆H₂₀N₂NaO₇: 375.1168; gef.: 375.1163.

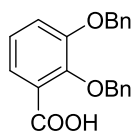
Verbindung 56



Zu einer Lösung von Verbindung **54** (3.52 mg, 10.0 μmol) in Dichlormethan (300 μL) wurde Trifluoressigsäure (100 μL) getropft. Die Lösung wurde 1 h gerührt und mit Toluol (ca. 300 μL) versetzt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand **56** über ein $^1\text{H-NMR}$ -Experiment untersucht. Hierbei konnte gezeigt werden, dass eine Acetylwanderung stattgefunden hatte. Eine Ausbeute wurde daher nicht bestimmt.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.94 (s, 3 H), 2.28 (s, 3 H), 6.94 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 7.31 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1 H), 7.78 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1 H), 10.15 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H), 10.73 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H), 12.28 (s, 1 H).

Verbindung 57



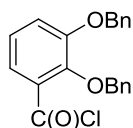
Eine Lösung von 2,3-Dihydroxybenzoesäure (3.00 g, 19.5 mmol, 1 Äq.), Benzylbromid (13.3 g, 77.9 mmol, 4 Äq.) und Kaliumcarbonat (13.5 g, 97.3 mmol, 5 Äq.) in Aceton (70 mL) wurde 1 d refluxiert. Die Lösung wurde filtriert und eingeeengt. Nach der Zugabe von Methanol (100 mL) und Natronlauge (5 M, 30 mL) wurde die Lösung 3 h refluxiert. Nach der Entfernung des Methanols wurde Wasser (30 mL) hinzugegeben und die Lösung wurde mit Petrolether (2 × 50 mL) gewaschen sowie mit Salzsäure (2 M) angesäuert. Durch Filtration und Trocknung des Niederschlags im Vakuum wurde Verbindung **57** als blassbrauner Feststoff (6.15 g, 18.4 mmol, 94%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ [ppm] = 5.21 (s, 2 H), 5.28 (s, 2 H), 7.21 (t, *J* = 8.1 Hz, 1 H), 7.30 (dd, *J* = 8.2, 1.6 Hz, 1 H), 7.33 – 7.46 (m, 8 H), 7.50 (m, 2 H), 7.67 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1 H), 11.20 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₂Cl₂): δ [ppm] = 72.0, 77.6, 119.5, 123.6, 124.6, 125.6, 128.5, 129.0, 129.3, 129.3, 129.8, 129.9, 135.5, 136.7, 147.6, 152.0, 165.3.

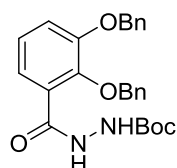
C₂₁H₁₈O₄ (334.37)

Verbindung 58



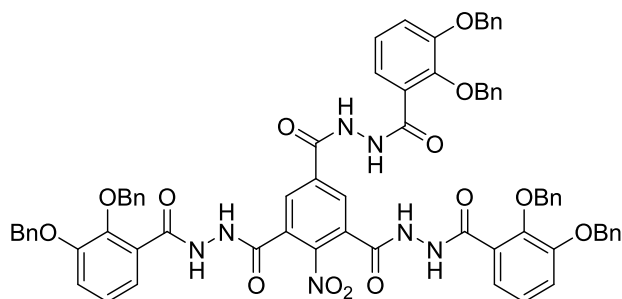
Zu einer Lösung von Verbindung **57** (66.9 mg, 200 μ mol, 1 Äq) in Dichlormethan (1 mL) und wenigen Tropfen Dimethylformamid wurde bei 0 °C Oxalylchlorid (34.3 μ L, 50.8 mg, 400 μ mol, 2 Äq.) getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand **58** getrocknet und ohne weitere Aufreinigung für die Synthese von Verbindung **59** eingesetzt.

Verbindung 59



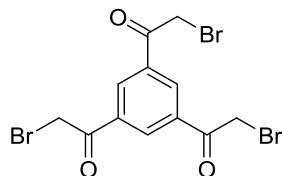
Zu einer Lösung von *tert*-Butoxycarbonylhydrazid (29.1 mg, 220 μ mol, 1.1 Äq.) in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 2 mL) wurde bei 0 °C eine Lösung von Verbindung **58** (200 μ mol, 1 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 3 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **59** (78.0 mg, 173 μ mol, 79%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung für die Synthese von Verbindung **61** eingesetzt.

Verbindung 61



Zu einer Lösung von Verbindung **59** (9.0 mg, 20 μ mol, 4 Äq.) in Dichlormethan (450 μ L) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (150 μ L) getropft. Die Lösung wurde 90 min bei 0 °C gerührt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 1 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Zu einer Lösung von Verbindung **51** (1.28 mg, 5.00 μ mol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (200 μ L) wurden bei 0 °C *N*-Methylmorpholin (3.30 μ L, 3.03 mg, 30 μ mol, 6 Äq.) und Ethylchlorformiat (1.90 μ L, 2.17 mg, 20 μ mol, 4 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 10 min bei 0 °C gerührt und der getrocknete Rückstand in Tetrahydrofuran (400 μ L) bei 0 °C zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Wasser sowie gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je 1 mL) versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 2 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (0.1 M, 10 mL) sowie gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 10 mL) gewaschen. Zielverbindung **61** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 63



Zu einer Lösung von 1,3,5-Triacetylbenzol (511 mg, 2.5 mmol, 1 Äq.) in Acetonitril (15 mL) wurden *para*-Toluolsulfonsäure (2.14 g, 11.3 mmol, 4.5 Äq.) und *N*-Bromsuccinimid (1.47 g, 8.25 mmol, 3.3 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 85 °C erhitzt und 5 h gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Dichlormethan (30 mL) gelöst und die organische Phase mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 25 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 6:1 → 4:1 → 2:1) des Rückstands Verbindung **63** als gelblicher Feststoff (739 mg, 1.75 mmol, 67%) erhalten, der noch leichte Verunreinigungen von 2-fach und 4-fach bromierten Nebenprodukten enthielt.

DC $R_f = 0.24$ (PE/EA = 4:1)

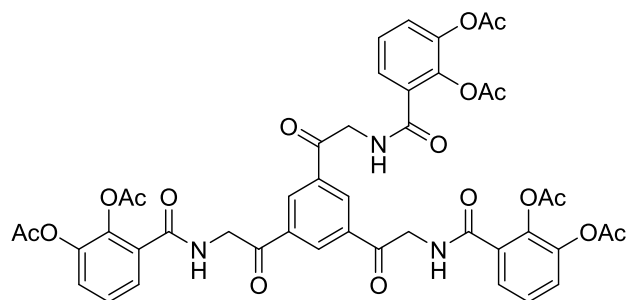
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.52 (s, 6 H), 8.79 (s, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 29.9, 133.5, 135.2, 189.6.

$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{Br}_3\text{O}_3$ (440.91), isotopenreine Masse: 437.8102.

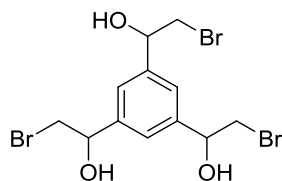
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Br}_3\text{O}_3$: 440.8160; gef.: 440.8154.

Verbindung 64



Zu einer Lösung von Verbindung **63** (49.1 mg, 100 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (2 mL) wurde Urotropin (46.3 mg, 330 μmol , 3.3 Äq.) gegeben, woraufhin sich sofort ein weißer Niederschlag bildete. Die Reaktionsmischung wurde 3 h gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Ethanol (4.5 mL) und Salzsäure (2 M, 1.5 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 80 °C erhitzt und 3 h gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 4 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C eine Lösung von Verbindung **47** (400 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) über einen Zeitraum von 5 min gegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und mit Ethylacetat (2 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand im Vakuum getrocknet. Die Zielverbindung **64** konnte durch Aufreinigung mittels HPLC nicht in zufriedenstellender Reinheit erhalten werden.

Verbindung 65a



Triethylsilan (174 mg, 1.50 mmol, 15 Äq.) wurde 20 min in Trifluoressigsäure (750 µL) gerührt, bis sich eine homogene Mischung bildete. Diese Lösung wurde bei 0 °C zu Verbindung **63** (49.1 mg, 100 µmol, 1 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **65a** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (29.7 mg, 58.9 µmol, 40% über zwei Stufen) erhalten.

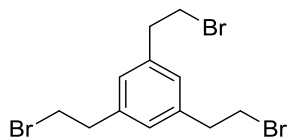
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 3.50 – 3.57(m, 3 H), 3.65 (dd, *J* = 10.2, 4.2 Hz, 3 H), 4.75 – 4.81 (m, 3 H), 7.33 (s, 3 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 40.2, 72.2, 123.5, 142.3.

C₁₂H₁₅Br₃O₃ (446.96), isotopenreine Masse: 443.8571.

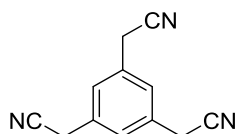
ESI-HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ ber. für C₁₂H₁₅Br₃NaO₃: 470.8428; gef.: 470.8434.

Verbindung 65



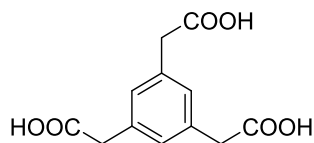
Eine Mischung von Verbindung **65a** (3.35 mg, 7.50 μ mol, 1 Äq.), Palladium auf Kohle (10%, 1 mg) und Ammoniumformiat (2.84 mg, 45.0 μ mol, 6 Äq.) in Essigsäure (300 μ L) wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 125 °C erhitzt und 5 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde über Celite filtriert und der abgetrennte Feststoff mit Ethylacetat (wenige mL) gespült. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 2 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Zielverbindung **65** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 66



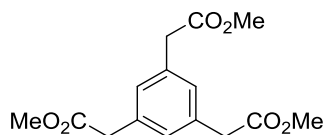
Zu einer Lösung von 1,3,5-Tris(bromomethyl)benzol (1.28 g, 3.60 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (10 mL) wurden gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung (10 mL), Natriumcyanid (2.18 g, 43.2 mmol, 12 Äq.) und Wasser (10 mL) gegeben. Die Lösung wurde 3 h gerührt. Über einen Tropftrichter wurde vorsichtig Salzsäure (1 M, ca. 38 mL) zugegeben, bis ein pH-Wert von 6 eingestellt war. Die Lösung wurde weitere 2 h gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde durch Zentrifugation isoliert, in Acetonitril aufgenommen und die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **66** als gelblicher Feststoff (630 mg, 3.23 mmol, 90%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **67** eingesetzt.

Verbindung 67



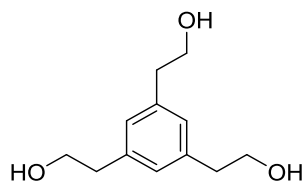
Verbindung **66** (605 mg, 3.10 mmol) wurde in einer Lösung von Natriumhydroxid (25%) in Wasser (8 mL) und Ethanol (4 mL) in einem druckversiegelten Glasvial auf 100 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Die Lösung wurde auf Eiswasser (ca. 100 mL) gegossen und mit Salzsäure (6 M) auf pH \approx 1 angesäuert. Anschließend wurde gesättigte Koch-salzlösung (50 mL) zugegeben und mit Ethylacetat (5 \times 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **67** als gelblicher Feststoff (700 mg, 2.78 mmol, 90%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **68** eingesetzt.

Verbindung 68



Eine Lösung von Verbindung **67** (698 mg, 2.77 mmol, 1 Äq.), Trimethylorthoformiat (909 μ mol, 882 mg, 8.31 mmol, 3.3 Äq.) und einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure in Methanol (16 mL) wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 72 °C erhitzt und 18 h gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Ethylacetat (25 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 25 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **68** als gelbliches Öl (708 mg, 2.41 mmol, 87%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **69** eingesetzt.

Verbindung 69



Zu einer Lösung von Verbindung **68** (635 mg, 2.16 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (10 mL) wurde Lithiumaluminiumhydrid (369 mg, 9.72 mmol, 4.5 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 h gerührt, vorsichtig bei 0 °C mit gesättigter Natriumkaliumtartratlösung gequench und über Celite filtriert. Der Filterkuchen wurde wiederholt mit Diethylether und Methanol gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 20:1 → 15:1 → 10:1) des Rückstands Verbindung **69** als weißer Feststoff (190 mg, 904 µmol, 30% über vier Stufen) erhalten.

DC $R_f = 0.15$ (DCM/MeOH = 20:1)

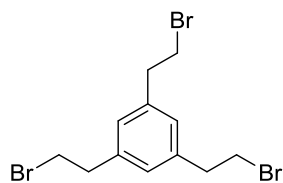
¹H-NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 2.77 (t, $J = 7.0$ Hz, 6 H), 3.74 (t, $J = 7.0$ Hz, 6 H), 6.94 (s, 3 H).

¹³C-NMR (125 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 40.4, 64.4, 128.8, 140.5.

C₁₂H₁₈O₃ (210.27), isotopenreine Masse: 210.1256.

ESI-HRMS (m/z): [M + Na]⁺ ber. für C₁₂H₁₈NaO₃: 233.1154; gef.: 233.1148.

Verbindung 65



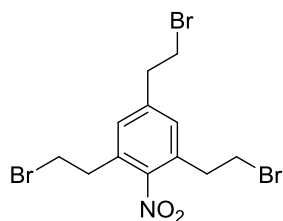
Verbindung **69** (174 mg, 828 μmol) in Bromwasserstoffsäure (45%, 10 mL) wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 125 °C erhitzt, 5 h gerührt und über Nacht langsam unter Rühren auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Lösung wurde auf Eis gegossen und mit Ethylacetat (3 \times 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 100:1 \rightarrow 50:1) des Rückstands Verbindung **65** als weißer Feststoff (237 mg, 594 μmol , 72%) erhalten.

DC $R_f = 0.46$ (PE/EA = 20:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.15 (t, $J = 7.6$ Hz, 6 H), 3.57 (t, $J = 7.6$ Hz, 6 H), 6.97 (s, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 32.7, 39.1, 127.6, 139.6.

Verbindung 70



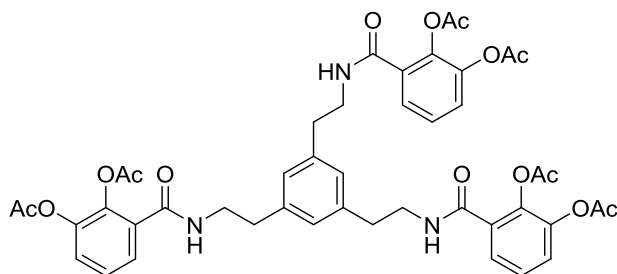
Zu einer kräftig gerührten Mischung von Salpetersäure (65%, 500 μ L) und konzentrierter Schwefelsäure (1 mL) wurde Verbindung **65** (39.9 mg, 100 μ mol) in kleinen Portionen bei 0 °C gegeben. Die Reaktion wurde 2 h bei 0 °C gerührt und mit Eiswasser gequencht. Anschließend wurde mit Ethylacetat (2 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 20 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 20:1 \rightarrow 15:1) des Rückstands Verbindung **70** als weißer Feststoff (12.2 mg, 27.5 μ mol, 28%) erhalten.

DC $R_f = 0.21$ (PE/EA = 20:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.14 (t, $J = 7.3$ Hz, 4 H), 3.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 2 H), 3.58 (t, $J = 7.3$ Hz, 4 H), 3.60 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 7.29 (s, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 31.0, 31.8, 34.9, 38.4, 130.5, 131.1, 141.6, 150.0.

Verbindung 71



Zu einer Lösung von Verbindung **65** (7.98 mg, 20.0 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran und Ethanol (je 100 μL) wurde Ammoniakwasser (30%, 200 μL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 60 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 500 μL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (80 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (500 μL) getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, 15 min gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 3 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **71** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (3.80 mg, 4.37 μmol , 22% über zwei Stufen) erhalten.

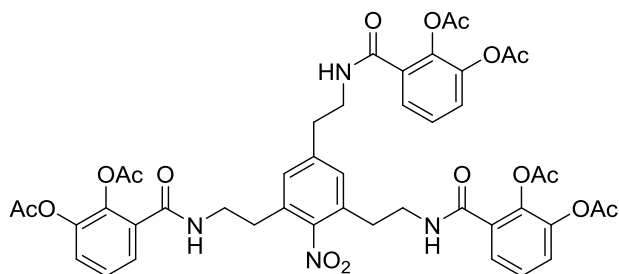
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 2.20 (s, 9 H), 2.27 (s, 9 H), 2.77 (t, J = 7.5 Hz, 6 H), 3.41 (dd, J = 14.5, 6.3 Hz, 6 H), 6.98 (s, 3 H), 7.34 – 7.37 (m, 6 H), 7.38 – 7.41 (m, 3 H), 8.43 (t, 5.6 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 20.7, 20.8, 35.3, 41.11, 25.8, 126.4, 126.7, 127.5, 131.6, 139.8, 140.5, 143.3, 165.0, 168.2, 168.7.

$\text{C}_{45}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_{15}$ (867.86), isotopenreine Masse: 867.2851.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{45}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{NaO}_{15}$: 890.2748; gef.: 890.2743.

Verbindung 72



Zu einer Lösung von Verbindung **70** (12.0 mg, 27.0 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran und Ethanol (je 150 μL) wurde Ammoniakwasser (30%, 300 μL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 90 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 750 μL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (108 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (750 μL) getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, 15 min gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **72** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (5.50 mg, 6.03 μmol , 22% über zwei Stufen) erhalten.

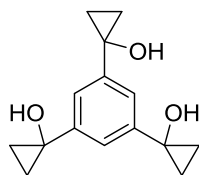
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 2.19 (s, 3 H), 2.19 (s, 6 H), 2.27 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 2.74 (t, $J = 7.4$ Hz, 4 H), 2.85 (t, $J = 7.1$ Hz, 2 H), 3.42 (dd, $J = 13.8, 6.7$ Hz, 4 H), 4.46 (dd, $J = 13.3, 6.9$ Hz, 2 H), 7.27 (s, 2 H), 7.34 – 7.40(m, 7 H), 7.40 – 7.44 (m, 2 H), 8.45 (t, $J = 5.6$ Hz, 1 H), 8.52 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 20.1, 20.2, 20.3, 30.3, 34.4, 39.6, 40.1, 125.3, 125.4, 125.9, 125.9, 126.2, 129.3, 130.3, 130.8, 131.0, 140.0, 140.0, 142.2, 142.8, 149.8, 164.6, 164.6, 167.7, 168.3.

$\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{17}$ (912.86), isotopenreine Masse: 912.2701.

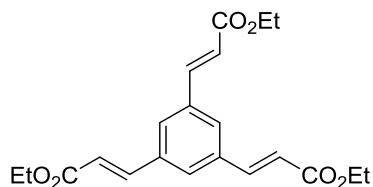
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{45}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{17}$: 913.2780; gef.: 913.2774.

Verbindung 74



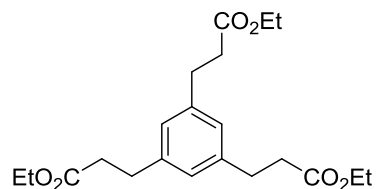
Zu einer Lösung von Trimethylbenzol-1,3,5-tricarboxylat (252 mg, 1.00 mmol, 1 Äq.) und Titan(IV)-isopropoxid (59.2 μ L, 56.8 mg, 200 μ mol, 0.2 Äq.) in Tetrahydrofuran (15 mL) wurde bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ Ethylmagnesiumchlorid (2.7 M, 2.44 mL, 6.60 mmol) über einen Zeitraum von 30 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde über Nacht bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis gequencht und über Celite filtriert. Das Filtrat wurde mit Diethylether ($3 \times 25\text{ mL}$) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser sowie gesättigter Kochsalzlösung (je 75 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand säulenchromatografisch aufgereinigt (PE/EA 5:1 \rightarrow 3:1 \rightarrow 1:1), die Zielverbindung **74** konnte jedoch nicht erhalten werden.

Verbindung 78



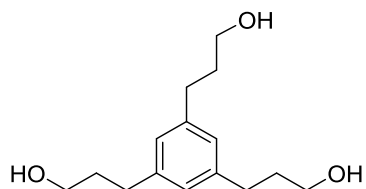
Zu einer Mischung von Natriumhydrid (60% in Mineralöl, 432 mg, 10.8 mmol, 3.5 Äq.) in Tetrahydrofuran (24 mL) wurde *Triethylphosphonoacetat* (2.28 g, 10.2 mmol, 3.3 Äq.) bei 0 °C über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, 30 min gerührt und 1,3,5-Triformylbenzol (500 mg, 3.08 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (6 mL) wurde bei 0 °C zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 10 min im Ultraschallbad dispergiert, über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und mit 2-Propanol sowie Eis gequenchet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand mit Dichlormethan (25 mL) und Salzsäure (1 M, 25 mL) aufgenommen. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Dichlormethan (25 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (je 40 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde das Rohprodukt **78** (1.05 g, 2.82 mmol, 92%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **79** eingesetzt.

Verbindung 79



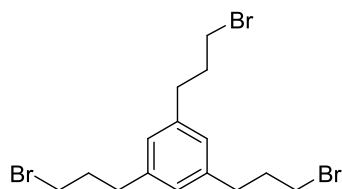
Eine Lösung von Verbindung **78** (1.05 g, 2.82 mmol) in Methanol (30 mL) wurde 10 min mit Stickstoff gespült. Palladium auf Kohle (10%, 105 mg) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung wurde 10 min mit Wasserstoff gespült, 16 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt und über Celite filtriert. Der Filterkuchen wurde mit Methanol gewaschen und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde das Rohprodukt **79** (1.02 g, 2.70 mmol, 96%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **80** eingesetzt.

Verbindung 80



Zu einer Mischung von Lithiumaluminiumhydrid (307 mg, 8.10 mmol, 3 Äq.) in Tetrahydrofuran (10 mL) wurde bei 0 °C Verbindung **79** in Tetrahydrofuran (10 mL) über einen Zeitraum von 30 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, bei 0 °C mit Salzsäure (1 M, 20 mL) gequench und über Celite filtriert. Die Lösung wurde mit Dichlormethan (4 × 20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde das Rohprodukt **80** (438 mg, 1.74 mmol, 64%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **81** eingesetzt.

Verbindung 81



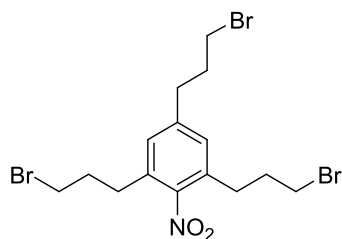
Zu einer kräftig gerührten Mischung von Verbindung **80** (438 mg, 1.74 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (10 mL) wurde Triphenylphosphindibromid (4.40 g, 10.4 mmol, 6 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und das Lösemittel entfernt. Der Rückstand wurde in Petrolether (75 mL) aufgenommen und 30 min kräftig gerührt. Der Niederschlag wurde durch Zentrifugation abgetrennt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 50:1) des Rückstands Verbindung **81** als farbloses Öl (319 mg, 723 μ mol, 23% über vier Stufen) erhalten.

DC $R_f = 0.32$ (PE/EA = 50:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.14 – 2.21 (m, 6 H), 2.72 – 2.78 (m, 6 H), 3.42 (t, 6.6 Hz, 6 H), 6.91 (s, 3 H).

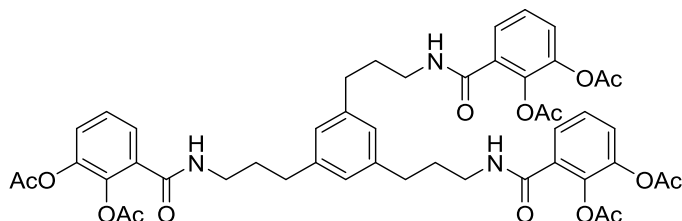
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 33.1, 33.8, 34.1, 126.6, 140.9.

Verbindung 82



Zu einer kräftig gerührten Mischung von Salpetersäure (50%, 500 μ L) und konzentrierter Schwefelsäure (500 μ L) wurde bei 0 °C Verbindung **81** (44.1 mg, 100 μ mol) gegeben. Die Reaktion wurde 11 h bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 4.5 h bei Raumtemperatur gerührt und auf Eis gegossen. Anschließend wurde mit Ethylacetat (2 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde das Rohprodukt **82** (29.0 mg, 59.7 μ mol, 60%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung zur Synthese von Verbindung **84** eingesetzt.

Verbindung 83



Zu einer Lösung von Verbindung **81** (22.1 mg, 50.0 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (500 μL) und Ethanol (100 μL) wurde Ammoniakwasser (30%, 750 μL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 90 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (175 μmol , 3.5 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 5 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 10 min bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 6 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **83** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (12.9 mg, 14.2 μmol , 28% über zwei Stufen) erhalten.

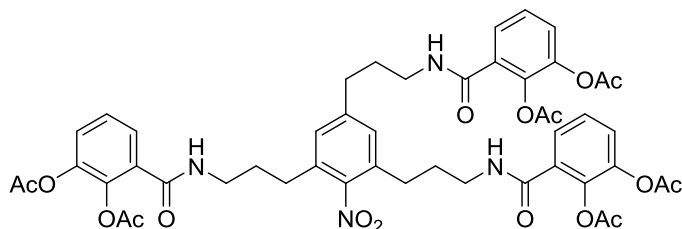
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.72 – 1.80 (m, 6 H), 2.20 (s, 9 H), 2.28 (s, 9 H), 2.53 – 2.59 (m, 6 H), 3.17 – 3.23 (m, 6 H), 6.90 (s, 3 H), 7.33 – 7.37 (m, 6 H), 7.40 – 7.44 (m, 3 H), 8.39 (t, 5.6 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 30.8, 32.5, 38.7, 125.2, 125.9, 126.1, 131.3, 139.9, 141.7, 142.7, 164.5, 167.7, 168.2.

$\text{C}_{48}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{15}$ (909.94), isotopenreine Masse: 909.3320

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{48}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{NaO}_{15}$: 932.3218; gef.: 932.3211.

Verbindung 84



Zu einer Lösung von Verbindung **82** (29.0 mg, 59.7 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (500 μL) und Ethanol (100 μL) wurde Ammoniakwasser (30%, 1 mL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 90 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (209 μmol , 3.5 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 5 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 10 min bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 8 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **84** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (14.0 mg, 14.7 μmol , 15% über drei Stufen) erhalten.

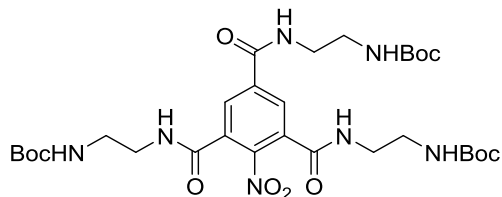
¹H-NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.72 – 1.78 (m, 4 H), 1.78 – 1.83 (m, 2 H), 2.21 (s, 9 H), 2.29 (s, 9 H), 2.52 – 2.56 (m, 4 H), 2.64 – 2.68 (m, 2 H), 3.19 – 3.24 (m, 6 H), 7.24 (s, 2 H), 7.34 – 7.39 (m, 6 H), 7.41 – 7.45 (m, 3 H), 8.41 – 8.47 (m, 3 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 20.2, 20.2, 20.3, 28.1, 30.2, 30.4, 32.1, 38.5, 38.6, 125.3, 125.9, 125.9, 126.2, 128.2, 131.2, 131.2, 132.7, 139.9, 140.0, 142.8, 144.7, 149.1, 164.6, 167.7, 167.8, 168.3.

C₄₈H₅₀N₄O₁₇ (954.94), isotopenreine Masse: 954.3171.

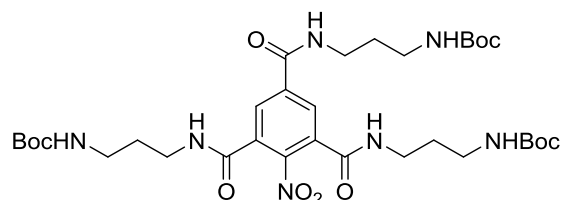
ESI-HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ ber. für C₄₈H₅₀N₄NaO₁₇: 977.3069; gef.: 977.3063.

Verbindung 87



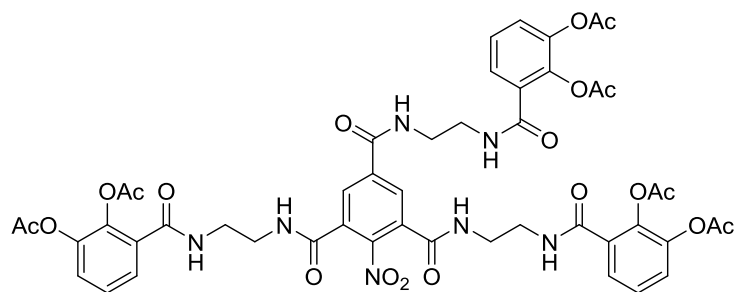
Zu einer Lösung von Verbindung **51** (25.5 mg, 100 μ mol, 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (87.0 μ L, 64.6 mg, 500 μ mol, 5 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) wurden bei 0 °C EDCI (61.3 mg, 320 μ mol, 3.2 Äq.) und HOBt (43.2 mg, 32.0 mmol, 3.2 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt und *tert*-Butyl-*N*-(2-aminoethyl)-carbammat (52.9 mg, 330 μ mol, 3.3 Äq.) wurde zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Wasser versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je 10 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (3 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand **87** ohne weitere Aufreinigung für die Herstellung von Verbindung **89** verwendet.

Verbindung 88



Zu einer Lösung von Verbindung **51** (25.5 mg, 100 μmol , 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (87.0 μL , 64.6 mg, 500 μmol , 5 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) wurden bei 0 °C EDCI (61.3 mg, 320 μmol , 3.2 Äq.) und HOBt (43.2 mg, 32.0 μmol , 3.2 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt und *tert*-Butyl-*N*-(3-aminopropyl)-carbammat (57.5 mg, 330 μmol , 3.3 Äq.) in Dimethylformamid (500 μL) wurde zugetropft. Anschließend wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Wasser versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je 10 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (3 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand **88** ohne weitere Aufreinigung für die Herstellung von Verbindung **90** verwendet.

Verbindung 89



Zu einer Lösung von Rohprodukt **87** (100 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (3 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (1 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (4 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 4 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (400 μ mol, 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (4 mL) über einen Zeitraum von 15 min gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 5 min bei 0 °C gerührt, auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **89** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (9.90 mg, 9.50 μ mol, 10% über drei Stufen) erhalten.

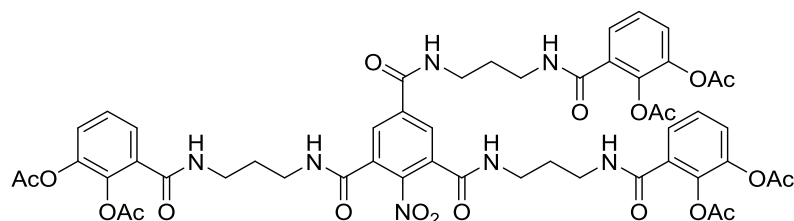
¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 2.20 (s, 3 H), 2.23, (s, 6 H), 2.28 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 3.36 (s_{br}, 8 H), 3.39 (dd, J = 12.8, 6.4 Hz, 2 H), 3.45 (dd, J = 12.6, 6.2 Hz, 2 H), 7.35 – 7.39 (m, 6 H), 7.49 – 7.53 (m, 3 H), 8.22 (s, 2 H), 8.48 (t, J = 5.4 Hz, 2 H), 8.50 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 8.86 (t, J = 5.6 Hz, 1 H), 9.00 (t, J = 5.2 Hz, 2 H),

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.2, 20.2, 20.3, 38.5, 38.6, 38.8, 39.1, 125.5, 125.5, 126.1, 126.1, 126.2, 126.2, 128.9, 130.7, 130.8, 131.1, 136.5, 140.1, 140.1, 142.8, 142.9, 147.9, 164.0, 164.0, 164.8, 167.8, 168.3, 168.3.

C₄₈H₄₇N₇O₂₀ (1041.93), isotopenreine Masse: 1041.2876.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₄₈H₄₈N₇O₂₀: 1042.2954; gef.: 1042.2958.

Verbindung 90



Zu einer Lösung von Rohprodukt **88** (100 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (3 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (1 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (4 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 4 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (400 μ mol, 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (4 mL) über einen Zeitraum von 15 min gegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **90** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (12.5 mg, 11.5 μ mol, 12% über drei Stufen) erhalten.

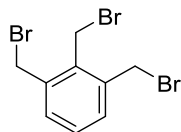
¹H-NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.70 – 1.79 (m, 6 H), 2.23 (s, 3 H), 2.23 (s, 6 H), 2.28 (s, 3 H) 2.28 (s, 6 H), 3.2 – 3.29 (m, 10 H), 3.36 (dd, *J* = 13.0, 6.7 Hz, 2 H) 7.34 – 7.39 (m, 6 H), 7.43 – 7.47 (m, 3 H), 8.16 (s, 2 H), 8.37 – 8.41 (m, 3 H), 8.87 (t, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 8.96 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 20.2, 20.2, 20.3, 28.8, 28.9, 36.8, 37.0, 37.2, 37.5, 125.3, 125.3, 125.9, 126.2, 126.3, 128.6, 131.1, 131.2, 131.4, 136.3, 139.9, 140.0, 132.8, 142.8, 147.9, 163.6, 163.9, 164.6, 167.8, 168.3.

C₅₁H₅₃N₇O₂₀ (1084.01), isotopenreine Masse: 1083.3345.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + H]⁺ ber. für C₅₁H₅₄N₇O₂₀: 1084.3424; gef.: 1084.3418.

Verbindung 92



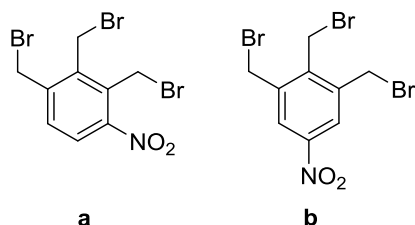
Zu einer Lösung von *N*-Bromsuccinimid (3.54 g, 20.0 mmol, 4 Äq.) in Tetrachlormethan (15 mL) wurde 1,2,3-Trimethylbenzol (90%, 741 μ L, 601 mg, 5.00 mmol, 1 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial mit einer Halogenlampe bestrahlt, auf 80 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels konnte mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA) des Rückstands Verbindung **92** erhalten werden, welche noch eine Verunreinigung enthielt. Das verunreinigte Produkt wurde mit Petrolether versetzt und im Ultraschallbad dispergiert. Nach dem Dekantieren der überstehenden Lösung und der Trocknung des Rückstands im Vakuum wurde Verbindung **92** als weißer Feststoff (1.56 g, 4.38 mmol, 88%) erhalten.

DC $R_f = 0.24$ (PE)

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ [ppm] = 4.65 (s, 4 H), 4.84 (s, 2 H), 7.46 (dd, $J = 8.6, 6.6$ Hz, 1 H), 7.37 – 7.40 (m, 2 H).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₂Cl₂): δ [ppm] = 25.3, 30.5, 130.2, 132.3, 136.2, 138.7.

Verbindung 93



Zu Dichlormethan (2 mL) wurde bei -40 C° Salpetersäure (100%, 3.5 mL) und anschließend Verbindung **92** (2.18 g, 6.09 μmol) in Dichlormethan (6 mL) über eine Zeit von 2 h mit einer Spritzenpumpe gegeben. Die Temperatur wurde hierbei unterhalb von -40 C° gehalten. Die Lösung wurde 15 min bei -40 C° gerührt und auf Eis (ca. 30 mL) gegossen. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Dichlormethan ($4 \times 10\text{ mL}$) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA) des Rückstands Verbindung **93** als Gemisch der Regioisomere **93a** und **93b** (875 mg, 2.18 mmol, 36%) erhalten.

DC $R_f = 0.07$ (PE)

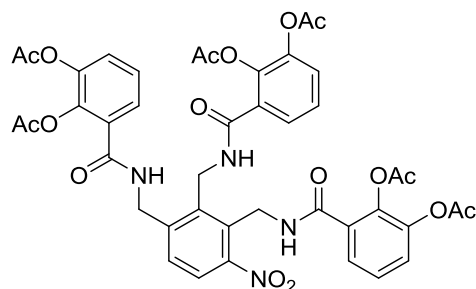
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (**93a**) [ppm] = 4.61 (s, 2 H), 4.81 (s, 2 H), 4.83 (s, 2 H), 7.53 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 1 H), 7.85 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 1 H).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (**93b**) [ppm] = 4.65 (s, 4 H), 4.80 (s, 2 H), 8.22 (s, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ (**93a**) [ppm] = 22.4, 23.2, 28.0, 125.4, 131.9, 131.9, 138.2, 142.8, 149.7.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ (**93b**) [ppm] = 22.5, 28.0, 125.9, 139.7, 142.2, 147.5.

Verbindung 94a



Zu einer Lösung der Verbindungen **93a** und **93b** (20.1 mg, 50 μ mol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran und Ethanol (je 500 μ L) wurde Ammoniakwasser (30%, 1 mL) getropft. Die Lösung wurde 2.5 h gerührt, eingengt und im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (200 μ mol, 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **94a** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (12.8 mg, 14.7 μ mol, 29% über zwei Stufen) erhalten (mit ca. 10% Anteil des Nitro-Regioisomers).

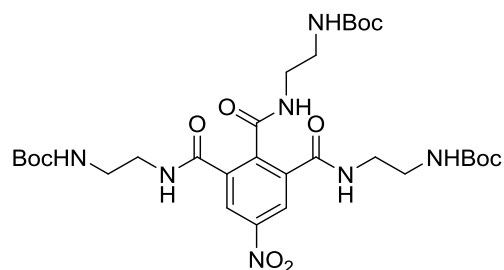
¹H-NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 2.14 (s, 3 H), 2.17 (s, 6 H), 2.26 (s, 3 H), 2.27 (s, 3 H), 2.29 (s, 3 H), 4.59 (d, *J* = 5.8 Hz, 2 H), 4.70 (t *J* = 4.6 Hz, 4 H), 7.28 – 7.43 (m, 8 H), 7.50 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H), 7.55 (dd, *J* = 7.2, 2.1 Hz, 1 H), 7.86 (d, *J* = 8.5, Hz, 1 H), 8.76 (t, *J* = 5.0 Hz, 1 H), 8.78 (t, *J* = 4.9 Hz, 1 H), 9.08 (t, *J* = 5.9 Hz, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 20.0, 20.0, 20.2, 20.3, 36.4, 36.5, 40.1, 123.2, 125.5, 125.6, 125.7, 125.9, 126.0, 126.1, 126.1, 126.1, 126.3, 127.2, 130.3, 130.6, 130.6, 131.0, 137.0, 140.0, 140.1, 142.8, 142.8, 143.8, 150.0, 164.4, 164.9, 167.7, 167.8, 167.9, 168.2, 168.2, 168.3.

C₄₂H₃₈N₄O₁₇ (870.78), isotopenreine Masse: 870.2232.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + H]⁺ ber. für C₄₂H₃₉N₄O₁₇: 871.2310; gef.: 871.2303

Verbindung 96



Zu einer Lösung von 5-Nitro-1,2,3-benzoltricarbonsäure (510 mg, 2.00 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (20 mL) und Dimethylformamid (1 mL) wurde bei 0 °C Oxalylchlorid (690 µL 1.02 g, 8.00 mmol, 4 Äq.) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 5 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in Dichlormethan (20 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurden bei 0 °C *tert*-Butyl-*N*-(2-aminoethyl)-carbamate (1.04 mL, 1.06 g, 6.60 mmol, 3.3 Äq.) und Triethylamin (2.22 mL, 1.62 g, 16 mmol, 8 Äq.) getropft. Die Lösung wurde 10 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Ethylacetat (25 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 25 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Ethylacetat (2 × 25 mL) reextrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 30:1 → 20:1 → 10:1) des Rückstands Verbindung **96** als gelblicher Feststoff (150 mg, 220 µmol, 11%) erhalten.

DC $R_f = 0.22$ (DCM/MeOH = 20:1)

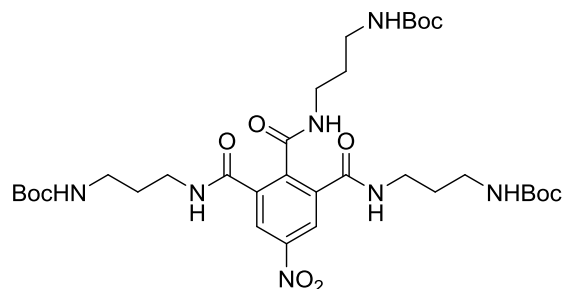
¹H-NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.38 (s, 9 H), 1.38 (s, 18 H), 3.06 – 3.16 (m, 8 H), 3.24 (dd, $J = 11.5, 5.7$ Hz, 4 H), 6.53 (t, $J = 5.7$ Hz, 1 H), 6.87 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H), 8.31 (t, $J = 5.4$ Hz, 1 H), 8.41 (s, 2 H), 8.65 (t, $J = 5.4$ Hz, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 28.2, 28.2, 38.9, 39.3, 39.8, 77.7, 77.7, 123.4, 137.4, 141.4, 146.1, 155.4, 155.7, 165.5, 165.7.

$\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_7\text{O}_{11}$ (681.74), isotopenreine Masse: 681.7440.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{N}_7\text{O}_{11}$: 682.3412; gef.: 682.3406.

Verbindung 97

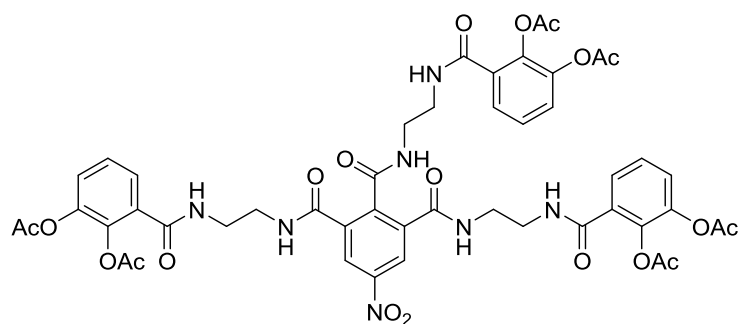


Zu einer Lösung von 5-Nitro-1,2,3-benzotricarbonylsäure (102 mg, 400 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (7 mL) und Dimethylformamid (150 μL) wurde bei 0 °C Oxalylchlorid (172 μL 254 mg, 2.00 mmol, 5 Äq.) getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in Dichlormethan (5 mL) gelöst. Diese Lösung wurde bei 0 °C über einen Zeitraum von 30 min zu einer Lösung von *tert*-Butyl-*N*-(3-aminopropyl)-carbamate (230 mg, 1.32 mmol, 3.3 Äq.) und Triethyl-amin (333 μL , 243 g, 2.4 mmol, 6 Äq.) in Dichlormethan (5 mL) getropft. Die Lösung wurde 1.5 h bei 0 °C gerührt, mit Eis gequench und mit Salzsäure (1 M) sowie gesättigter Kochsalzlösung (je 15 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Dichlormethan (40 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 30:1 \rightarrow 20:1 \rightarrow 10:1) des Rückstands Verbindung **97** als gelblicher Feststoff (97.0 mg, 134 μmol , 34%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.38 (s, 27 H), 1.53 (dt, $J = 14.2, 7.2$ Hz, 2 H), 1.57 – 1.63 (m, 4 H), 2.95 – 3.02 (m, 6 H), 3.10 (dd, $J = 13.0, 6.6$ Hz, 2 H), 3.20 (dd, $J = 12.9, 6.7$ Hz, 4 H), 6.70 (t, $J = 5.7$ Hz, 1 H), 6.77 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H), 8.13 (t, $J = 5.5$ Hz, 1 H), 8.31 (s, 2 H), 8.41 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 28.2, 28.8, 29.2, 36.7, 37.0, 37.4, 37.4, 77.4, 77.5, 123.1, 137.5, 141.2, 146.1, 155.6, 165.3, 165.4.

Verbindung 98



Zu einer Lösung von Verbindung **96** (150 mg, 220 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (10.5 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (3.5 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (11 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 20 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (770 μ mol, 3.5 Äq.) in 1,4-Dioxan (20 mL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei 0 °C gerührt, auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung des Rückstands Verbindung **98** als weißer Feststoff (124 mg, 119 μ mol, 54% über zwei Stufen) erhalten.

DC R_f = 0.39 (DCM/MeOH = 19:1, 1% AcOH)

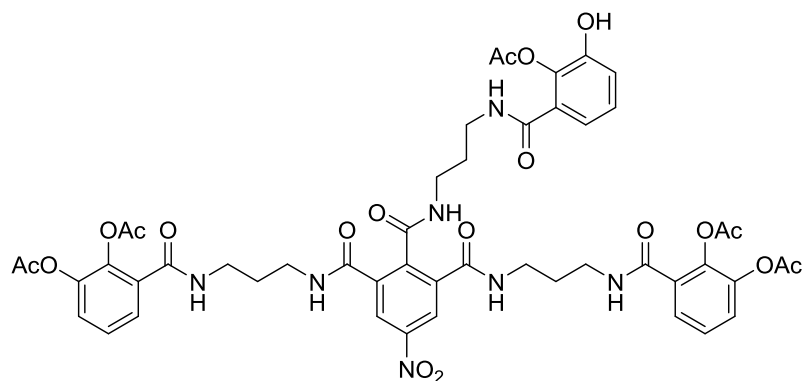
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 2.21 (s, 6 H), 2.23 (s, 3 H), 2.28 (s, 9 H), 3.23 – 3.29 (m, 2 H), 3.29 – 3.39 (m, 10 H), 7.30 – 7.39 (m, 6 H), 7.53 (dd, J = 6.6, 2.8 Hz, 2 H), 7.56 (dd, J = 7.4, 1.9 Hz, 1 H), 8.18 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 8.41 – 8.47 (m, 3 H), 8.45 (s, 2 H), 8.76 (t, J = 5.4 Hz, 2 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 20.2, 20.2, 20.3, 38.6, 38.6, 38.7, 39.1, 123.6, 125.4, 126.0, 126.1, 130.7, 130.8, 137.2, 140.1, 140.2, 141.4, 142.8, 142.8, 146.2, 164.4, 164.8, 165.6, 165.9, 167.8, 168.3.

C₄₈H₄₇N₇O₂₀ (1041.93), isotopenreine Masse: 1041.2876.

ESI-HRMS (m/z): $[M + H]^+$ ber. für C₄₈H₄₈N₇O₂₀: 1042.2954; gef.: 1042.2941.

Verbindung 99



Zu einer Lösung von Verbindung **97** (72.4 mg, 100 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (6 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (2 mL) über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (8 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 10 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (350 μmol , 3.5 Äq.) in 1,4-Dioxan (6 mL) über einen Zeitraum von 20 min mit einer Spritzenpumpe gegeben. Nach der Entfernung des Eisbads wurde die Reaktionsmischung 80 min bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 40 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand säulenchromatografisch (DCM/MeOH 40:1 \rightarrow 20:1 \rightarrow 10:1) aufgereinigt. Da die Reinheit der Verbindung noch nicht zufriedenstellend war, wurde Verbindung **99** durch weitere Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (11.1 mg, 10.2 μmol , 10% über zwei Stufen) erhalten.

DC R_f = 0.48 (DCM/MeOH 10:1)

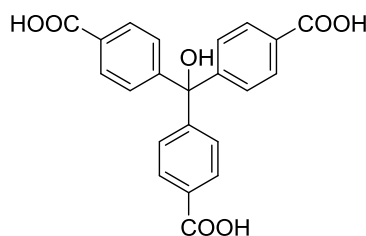
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.63 – 1.68 (m, 2 H), 1.69 – 1.74 (m, 4 H), 2.23 (s, 9 H), 2.27 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 3.16 – 3.21 (m, 2 H), 3.24 – 3.30 (m, 10 H), 7.32 – 7.38 (m, 6 H), 7.44 – 7.47 (m, 3 H), 8.23 (t, J = 5.8 Hz, 1 H), 8.28 (t, J = 5.8 Hz, 1 H), 8.35 (s, 2 H), 8.33 – 8.37 (m, 2 H), 8.50 (t, J = 5.6 Hz, 2 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 28.3, 28.7, 36.7, 36.7, 37.0, 123.2, 125.3, 125.9, 126.2, 126.2, 131.1, 131.2, 137.5, 139.4, 141.3, 142.8, 146.2, 164.5, 164.6, 165.3, 165.5, 167.8, 167.9, 168.3, 168.3.

C₅₁H₅₃N₇O₂₀ (1084.01), isotopenreine Masse: 1083.3345.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + H]⁺ berechnet für C₅₁H₅₄N₇O₂₀: 1084.3424; gefunden: 1084.3408.

Verbindung 101

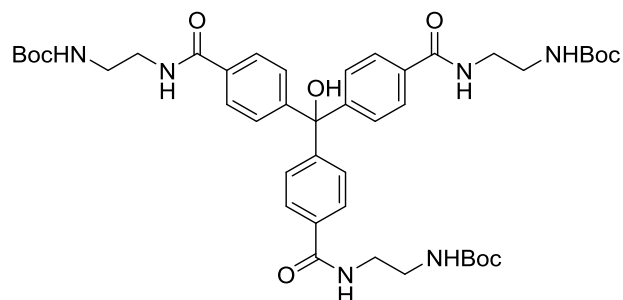


Zu einer Mischung von 4,4',4''-Trimethyltritylalkohol (75.6 mg, 250 μmol, 1 Äq.), Kaliumcarbonat (138 mg, 1.00 mmol, 4 Äq.) und Benzyltriethylammoniumchlorid (45.6 mg, 200 μmol, 0.8 Äq.) in Wasser (10 mL) wurde in kleinen Portionen Kaliumpermanganat (277 mg, 2.00 mmol, 8 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 100 °C erhitzt und 3 d gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert, das Filtrat mit konzentrierter Salzsäure (10 mL) versetzt und mit Diethylether (5 × 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **101** als weißes Pulver (58.0 mg, 148 μmol, 59%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 6.95 (s, 1 H), 7.33 – 7.37 6.88 (m, 6 H), 7.88 – 7.92 (m, 6 H), 13.00 (s_{br}, 3 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 80.4, 127.9, 129.0, 129.6, 151.3, 167.1.

Verbindung 102



Zu einer Lösung von Verbindung **101** (184 mg, 469 μmol , 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (819 μL , 606 mg, 4.69 mmol, 10 Äq.) in Dimethylformamid (10 mL) wurden bei 0 °C EDCI (287 mg, 1.50 mmol, 3.2 Äq.) und HOBt (203 mg, 1.50 mmol, 3.2 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt und *tert*-Butyl-*N*-(2-aminoethyl)carbammat (243 μL 248 mg, 1.55 mmol, 3.3 Äq.) wurde über einen Zeitraum von 15 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Ethylacetat (10 mL) versetzt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung sowie gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Ethylacetat (2 \times 10 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 20:1 \rightarrow 10:1) des Rückstands Verbindung **102** als weißer Feststoff (255 mg, 311 μmol , 66%) erhalten.

DC $R_f = 0.05$ (DCM/MeOH = 20:1)

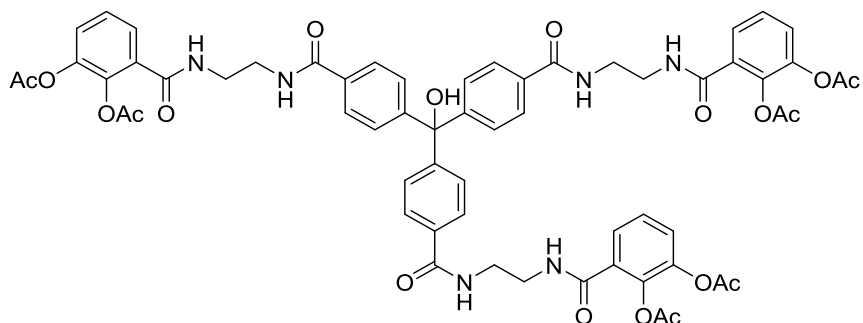
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.36 (s, 27 H), 3.09 (dd, $J = 12.3, 6.2$ Hz, 6 H), 3.24 – 3.30 (m, 6 H), 6.77 (s, 1 H), 6.88 (t, $J = 5.7$ Hz, 3 H), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 6 H), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 6 H), 8.41 (t, $J = 5.6$ Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 28.2, 39.5, 39.6, 77.6, 80.2, 126.7, 127.5, 133.2, 149.8, 155.7, 166.0.

$\text{C}_{43}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{10}$ (818.97), isotopenreine Masse: 818.4214.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{43}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_{10}$: 819.4292; gef.: 819.4293.

Verbindung 103



Zu einer Lösung von Verbindung **102** (82.0 mg, 100 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (8 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (2 mL) über einen Zeitraum von 30 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 15 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (10 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (1M, 15 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde Verbindung **47** (350 μmol , 3.5 Äq.) in 1,4-Dioxan (5 mL) bei 0 °C über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und 1 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **103** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (72.0 mg, 61.1 μmol , 61%) erhalten.

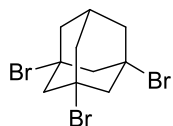
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 2.18 (s, 9 H), 2.27 (s, 9 H), 3.35 – 3.38 (m, 6 H), 3.38 – 3.41 (m, 6 H), 6.78 (s_{br} , 1 H), 7.30 (d, J = 8.5 Hz, 6 H), 7.34 – 7.38 (m, 6 H), 7.48 (dd, J = 6.6, 2.7 Hz, 3 H), 7.79 (d, J = 8.5 Hz, 6 H), 8.47 (t, J = 5.5 Hz, 3 H), 8.51 (t, J = 5.5 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 38.9, 38.9, 80.2, 125.4, 126.0, 126.2, 126.7, 127.5, 130.9, 133.2, 140.1, 142.8, 149.8, 164.8, 166.2, 167.8, 168.3.

$\text{C}_{61}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{19}$ (1179.16), isotopenreine Masse: 1178.3757.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{61}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_{19}$: 1179.3835; gef: 1179.3824.

Verbindung 105



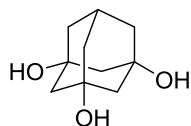
Zu Eisenspänen (4.47 g, 80 mmol, 0.8 Äq.) wurde bei 0 °C Brom (51.2 mL, 160 g, 1.00 mol, 10 Äq) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 10 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bei 0 °C Adamantan (13.6 g, 100 mmol, 1 Äq.) in kleinen Portionen über einen Zeitraum von 20 min zugegeben und die Reaktionsmischung 24 h refluxiert. Die hierbei entstehenden Dämpfe von Brom und Bromwasserstoff wurden in wässrige Natriumsulfitlösung geleitet. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C abgekühlt und auf Eis gegossen. Nach der Zugabe von Dichlormethan (200 mL) wurde das Gemisch bei 0 °C vorsichtig mit Natriumsulfit gequenchet. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Dichlormethan (2 × 200 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (PE) des Rückstands Verbindung **105** als weißer Feststoff (15.9 g, 42.6 mmol, 43%) erhalten.

DC $R_f = 0.33$ (PE)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.25 (d, $J = 3.3$ Hz, 6 H), 2.34 – 2.39 (m, 1 H), 2.79 (s, 6 H)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 36.3, 44.9, 56.8, 58.2.

Verbindung 106



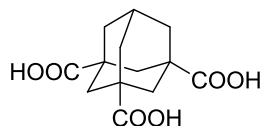
Zu konzentrierter Schwefelsäure (7.5 mL) wurde bei 0 °C Silbersulfat (2.50 g, 8.04 mmol, 2 Äq.) in kleinen Portionen, Wasser (2.5 mL), und Verbindung **105** (1.50 g, 4.02 mmol, 1 Äq.) in kleinen Portionen gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei 100 °C gerührt, auf Raumtemperatur abgekühlt und über eine Glasfritte filtriert. Das Filtrat wurde mit wässriger Kaliumhydroxidlösung (1 M) neutralisiert. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand mit Methanol (100 mL) versetzt und 1 d gerührt. Das Gemisch wurde filtriert und der Rückstand wurde erneut mit Methanol (100 mL) versetzt, 1 d gerührt und das Gemisch filtriert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 4:1 → 3:1) des Rückstands Verbindung **106** als gelblicher Feststoff (569 mg, 3.09 mmol, 77%) erhalten.

DC $R_f = 0.24$ (DCM/MeOH = 5:1)

¹H-NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 1.54 (d, $J = 2.8$ Hz, 6 H), 1.58 – 1.70 (m, 6 H), 2.26 – 2.33 (m, 1 H).

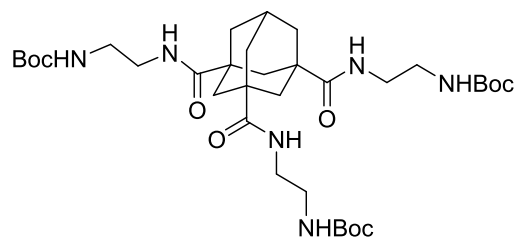
¹³C-NMR (125 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 31.4, 43.7, 52.4, 71.6.

Verbindung 107



Verbindung **106** (277 mg, 1.50 mmol, 1 Äq.) wurde bei 0 °C vorsichtig in Oleum (20–30 % SO₃, 15 mL) gegeben. Die Lösung wurde auf 50 °C erhitzt und Ameisensäure (2.26 mL, 2.76 g, 60.0 mmol, 40 Äq.) wurde über einen Zeitraum von 30 min zugetropft. Die Lösung wurde 1 h bei 50 °C und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur über Nacht gerührt, auf Eis (ca. 90 mL) gegossen und 2 h stehen gelassen. Der Niederschlag wurde mittels Zentrifugation abgetrennt und die überstehende Lösung mit Diethylether (6 × 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung des Rückstands und des Niederschlags im Vakuum wurde Verbindung **107** als weißer Feststoff (282 mg, 1.05 mmol, 70%) erhalten und ohne weitere Aufreinigung für Folgereaktionen eingesetzt.

Verbindung 109



Zu einer Lösung von Verbindung **107** (134 mg, 500 μ mol, 1 Äq.) und *tert*-Butyl-*N*-(2-aminoethyl)-carbamate (95%, 330 μ L 320 mg, 2.00 mmol, 4 Äq.) in Dimethylformamid (10 mL) wurden HATU (760 mg, 2.00 mmol, 4 Äq.) und Diisopropylethylamin (873 μ L, 646 mg, 5.00 mmol, 10 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde über Nacht gerührt, mit Eis gequench und mit Ethylacetat (3 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (0.1 M), Lithiumchloridlösung (5%) und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 20 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH) des Rückstands Verbindung **109** als weißer Feststoff (251 mg, 361 μ mol, 51% über zwei Stufen) erhalten.

DC R_f = 0.11 (DCM/MeOH = 20:1)

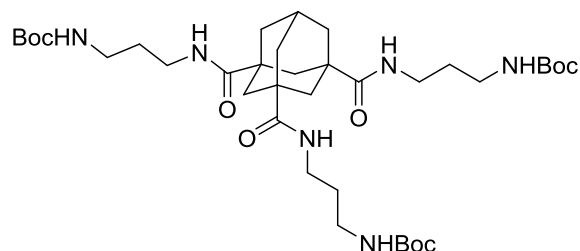
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 1.43 (s, 27 H), 1.81 (d, J = 2.9 Hz, 6 H), 1.90(s, 6 H), 2.29 – 2.33 (m, 1 H), 3.16 (t, J = 5.7 Hz, 6 H), 3.25 (t, J = 5.5 Hz, 6 H), 7.61 (t, J = 5.3 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 29.0, 30.1, 38.6, 40.9, 41.1, 41.4, 43.1, 80.4, 159.0, 179.5, 179.6.

$\text{C}_{34}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_9$ (694.87), isotopenreine Masse: 694.4265.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_9$: 695.4344; gef.: 695.4339

Verbindung 110

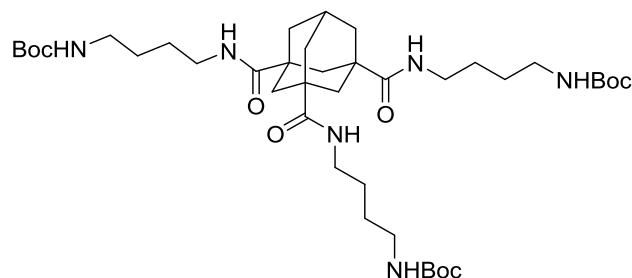


Zu einer Lösung von Verbindung **107** (13.4 mg, 50 μ mol, 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (43.6 μ L, 32.3 mg, 250 μ mol, 5 Äq.) in Dimethylformamid (2.5 mL) wurde bei 0 °C HATU (66.5 mg, 175 μ mol, 3.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 45 min bei 0 °C gerührt und *tert*-Butyl-*N*-(3-aminopropyl)-carbamat (34.8 mg, 200 μ mol, 4 Äq.) in Dimethylformamid (500 μ L) wurde über einen Zeitraum von 5 min mit einer Spritzenpumpe zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis gequench und mit Ethylacetat sowie gesättigter Kochsalzlösung (je 10 mL) versetzt. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Ethylacetat (2 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (0.1 M), Lithiumchloridlösung (5%, je 20 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 20 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **110** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (17.8 mg, 24.2 μ mol, 34% über zwei Stufen) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 1.44 (s, 27 H), 1.62 (p, J = 6.6 Hz, 6 H), 1.82 (d, J = 2.8 Hz, 6 H), 1.91 (s, 6 H), 2.30 – 2.36 (m, 1 H), 3.05 (t, J = 6.7 Hz, 6 H), 3.21 (t, J = 6.7 Hz, 6 H).

¹³C-NMR (125 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 27.4, 28.7, 29.4, 36.4, 37.1, 37.2, 39.6, 41.6, 78.6, 157.2, 177.8.

Verbindung 111



Zu einer Lösung von Verbindung **107** (13.4 mg, 50 μmol , 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (131 μL , 96.9 mg, 750 μmol , 15 Äq.) in Dimethylformamid (3 mL) wurde bei 0 °C HATU (66.5 mg, 175 μmol , 3.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt und *tert*-Butyl-*N*-(4-aminobutyl)-carbammat (95%, 40.3 μL , 37.7 mg, 200 μmol , 4 Äq.) zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und mit Wasser sowie Ethylacetat (je 5 mL) versetzt. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Ethylacetat (2 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (0.1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **111** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (18.4 mg, 23.6 μmol , 33% über zwei Stufen) erhalten.

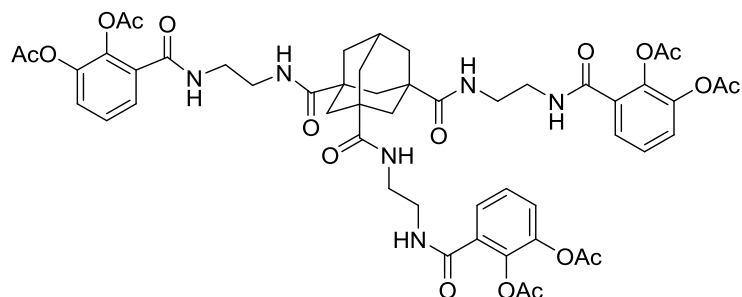
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 1.49 (s, 27 H), 1.44 – 1.53 (m, 12 H), 1.80 (d, J = 2.8 Hz, 6 H), 1.89 (s_{br} , 6 H), 2.29 – 2.33 (m, 1 H) 3.03 (t, J = 6.7 Hz, 6 H), 3.18 (t, J = 6.7 Hz, 6 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 27.9, 28.5, 29.0, 30.2, 38.7, 40.4, 41.2, 43.1, 80.0, 158.7, 179.2.

$\text{C}_{40}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_9$ (779.03), isotopenreine Masse: 778.5204.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{40}\text{H}_{71}\text{N}_6\text{O}_9$: 779.5283; gef.: 779.5275.

Verbindung 112



Zu einer Lösung von Verbindung **109** (52.1 mg, 75.0 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (3 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (1 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 3 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 3 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (300 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (3 mL) über einen Zeitraum von 10 min getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **112** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (31.9 mg, 30.2 μmol , 40% über zwei Stufen) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.67 (s_{br} , 6 H), 1.75 – 1.82 (m, 6 H), 2.15 – 2.20 (m, 1 H), 2.22 (s, 9 H), 2.28 (s, 9 H), 3.19 (dt, J = 11.5, 5.6 Hz, 6 H), 3.23 (dt, J = 11.8, 5.8 Hz, 6 H), 7.34 – 7.38 (m, 6 H), 7.47 (dd, J = 6.3, 3.1 Hz, 3 H), 7.57 (t, J = 5.4 Hz, 3 H),

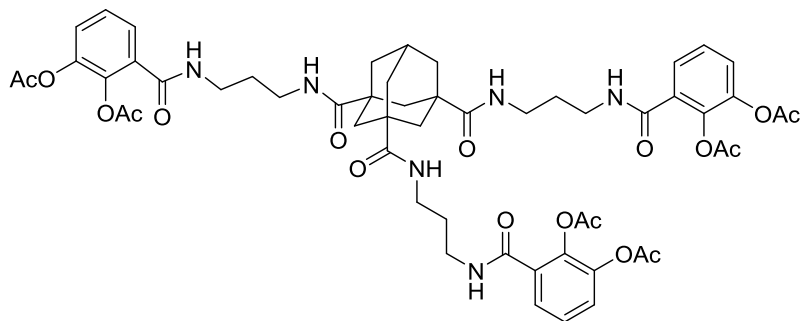
8.36 (t, J = 5.4 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 28.1, 37.1, 38.3, 39.0, 39.6, 41.0, 125.4, 126.0, 126.2, 130.9, 140.0, 142.8, 164.7, 167.8, 168.3, 176.3.

$\text{C}_{52}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{18}$ (1055.06), isotopenreine Masse: 1054.3808.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{52}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_{18}$: 1055.3886; gef.: 1055.3874.

Verbindung 113



Zu einer Lösung von Verbindung **110** (17.8 mg, 24.2 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (1.5 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (0.5 mL) über einen Zeitraum von 5 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C gerührt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 3 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (96.8 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **113** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (13.6 mg, 12.4 μmol , 51% über zwei Stufen) erhalten.

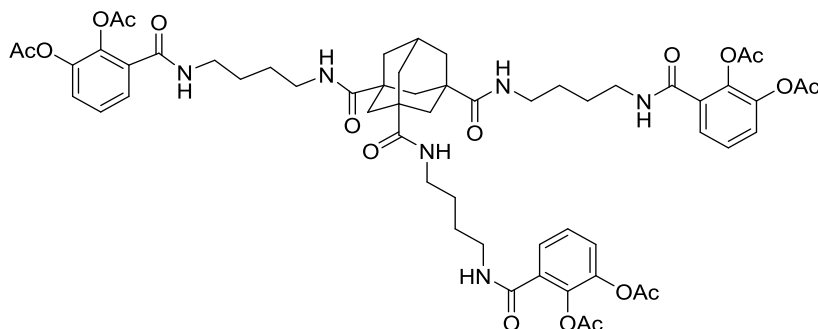
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.58 (p, J = 5.8 Hz, 6 H), 1.68 (s_{br} , 6 H), 1.74 – 1.82 (m, 6 H), 2.16 – 2.21 (m, 1 H), 2.22 (s, 9 H), 2.28 (s, 9 H), 3.10 (dt, J = 12.6, 6.5 Hz, 6 H), 3.16 (dt, J = 12.8, 6.6 Hz, 6 H), 7.33 – 7.38 (m, 6 H), 7.43 – 7.47 (m, 3 H), 7.53 (t, J = 5.7 Hz, 3 H), 8.32 (t, J = 5.8 Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 28.2, 29.1, 36.1, 36.5, 37.3, 39.8, 41.1, 125.3, 125.9, 126.2, 131.1, 139.9, 142.8, 164.5, 167.8, 168.3, 176.1.

$\text{C}_{55}\text{H}_{64}\text{N}_6\text{O}_{18}$ (1097.14), isotopenreine Masse: 1096.4277.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{55}\text{H}_{64}\text{N}_6\text{NaO}_{18}$: 1119.4175; gef.: 1119.4164.

Verbindung 114



Zu einer Lösung von Verbindung **111** (18.4 mg, 23.6 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (1.5 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (0.5 mL) über einen Zeitraum von 5 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 3 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (94.4 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (2 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **114** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (13.7 mg, 12.0 μmol , 51% über zwei Stufen) erhalten.

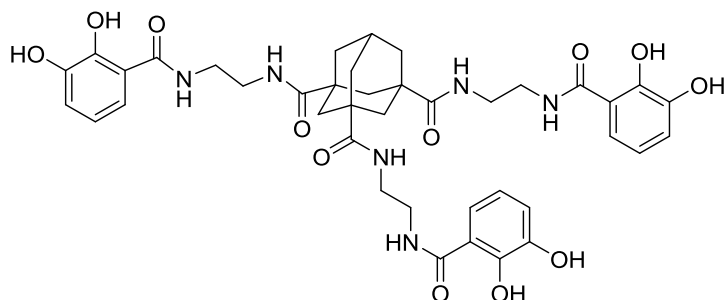
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.39 – 1.45 (m, 12 H), 1.65 (s_{br} , 6 H), 1.70 – 1.80 (m, 6 H), 2.14 – 2.17 (m, 1 H), 2.22 (s, 9 H), 2.28 (s, 9 H), 3.02 – 3.08 (m, 6 H), 3.14 – 3.19 (m, 6 H), 7.33 – 7.37 (m, 6 H), 7.42 (dd, $J = 6.1, 3.3$ Hz, 3 H), 7.45 (t, $J = 5.7$ Hz, 3 H), 8.33 (t, $J = 5.7$ Hz, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 20.2, 20.3, 26.4, 26.6, 28.2, 37.3, 38.3, 38.7, 39.7, 41.0, 125.2, 125.9, 126.2, 131.3, 139.9, 142.8, 164.4, 167.7, 168.3, 175.9.

$\text{C}_{58}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_{18}$ (1139.22), isotopenreine Masse: 1138.4747.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{58}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{NaO}_{18}$: 1161.4644; gef.: 1161.4636.

Verbindung 115



Zu einer Lösung von Verbindung **109** (125 mg, 180 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (4.5 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (1.5 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Lösung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 5 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung (0.5 M, 6 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Verbindung **47** (300 μmol , 4 Äq.) in 1,4-Dioxan (6 mL) über einen Zeitraum von 10 min gegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit Eis versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in Methanol (1.2 mL) gelöst. Die Lösung wurde mit Diisopropylethylamin (300 μL) versetzt, 20 min gerührt, mit Salzsäure (1 M) gequench und mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **115** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (43.0 mg, 53.6 μmol , 30% über drei Stufen) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.66 (s_{br} , 6 H), 1.78 (q, J = 12.4 Hz, 6 H), 2.13 – 2.18 (m, 1 H), 3.24 (dd, J = 12.1, 6.0 Hz, 6 H), 3.33 (dt, J = 12.3, 6.3 Hz, 6 H), 6.67 (t,

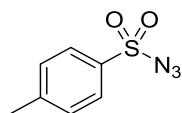
$J = 7.9$, Hz, 3 H), 6.90 (dd, $J = 7.8$, 1.4 Hz, 3 H), 7.23 (dd, $J = 8.2$, 1.4 Hz, 3 H), 7.64 (t, $J = 5.6$, Hz, 3 H), 8.78 (t, $J = 5.5$, Hz, 3 H), 9.10 (s, 3 H), 12.72 (s, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 28.1, 37.1, 38.2, 38.9, 39.6, 41.0, 114.9, 117.1, 117.9, 118.8, 146.2, 149.7, 170.0, 176.4.

$\text{C}_{40}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{12}$ (802.84), isotopenreine Masse: 802.3174.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_{12}$: 803.3252; gef.: 803.3244.

Verbindung 119



Zu einer Lösung von Tosylchlorid (47.6 g, 250 mmol, 1 Äq.) in Wasser (60 mL) und Ethanol (100 mL) wurde Natriumazid (19.5 g, 300 mmol, 1.2 Äq.) in kleinen Portionen gegeben. Die Lösung wurde 6 h gerührt und mit Wasser (50 mL) versetzt. Nach der Trennung der Phasen wurde die organische Phase mit Wasser (2 x 30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und einer kurzen Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **119** als farbloses Öl (40.6 g, 20.6 mmol, 82%) erhalten.

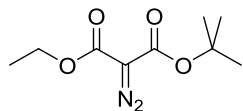
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2): δ [ppm] = 3.20 (s, 3 H), 7.41 – 7.46 (m, 2 H), 7.81 – 7.86 (m, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_2Cl_2): δ [ppm] = 22.0, 128.0, 130.9, 136.0, 147.1.

$\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ (197.21), isotopenreine Masse: 197.0259.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3\text{NaO}_2\text{S}$: 220.0157; gef.: 220.0149.

Verbindung 121



Zu einer Lösung von *tert*-Butylethylmalonat (1.01 mL, 1.00 g, 5.31 mmol, 1 Äq.) in Acetonitril (5 mL) wurde bei 0 °C Triethylamin (810 µL, 591 mg, 5.84 mmol, 1.1 Äq.) getropft. Anschließend wurde Verbindung **119** (1.05 g, 5.84 mmol, 1.1 Äq.) bei 0 °C über einen Zeitraum von 30 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Natronlauge (5%) und Ethanol (je 10 mL) aufgenommen. Nach der Zugabe von Dichlormethan (20 mL) wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natronlauge (5%, 30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 97:3) des Rückstands Verbindung **121** als gelbes Öl (611 mg, 2.85 mmol, 54%) erhalten werden.

DC $R_f = 0.12$ (PE/EA = 50:1)

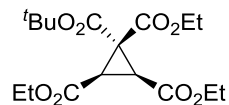
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.52 (s, 9 H), 4.29 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.3, 28.2, 61.5, 83.0, 159.9, 161.5.

C₉H₁₄N₂O₄ (214.22), isotopenreine Masse: 214.0954.

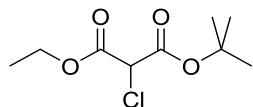
ESI-HRMS (m/z): $[M + Na]^+$ ber. für C₉H₁₄N₂NaO₄: 237.0851; gef.: 237.0845.

Verbindung 117



Zu einer Lösung von Rhodium(II)-acetat (6.19 mg, 14.0 μmol , 0.005 Äq.) in Dichlormethan (12 mL) wurde Diethylmaleat (1.36 mL, 1.45 g, 8.40 mmol, 3 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt und Verbindung **121** (600 mg, 2.80 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (10 mL) wurde über einen Zeitraum von 5 h mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zielverbindung **117** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 123



Zu einer Lösung von *tert*-Butylethylmalonat (2.28 mL, 2.26 g, 12.0 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (20 mL) wurde langsam Sulfurylchlorid (1.45 mL, 2.43 g, 18.0 mmol, 1.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt, auf 0 °C abgekühlt und mit Eis sowie konzentrierter Natriumhydrogencarbonatlösung gequenchet. Nach der Trennung der Phasen wurde die organische Phase mit gesättigter Kochsalzlösung (25 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 60:1 → 50:1 → 40:1) des Rückstands Verbindung **123** als farbloses Öl (1.61 g, 7.23 mmol, 60%) erhalten.

DC $R_f = 0.21$ (PE/EA = 50:1)

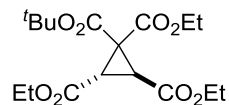
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.50 (s, 9 H), 4.29 (qd, $J = 7.1, 2.2$ Hz, 2 H), 4.75 (s, 1 H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 13.9, 27.7, 56.4, 62.9, 84.3, 163.3, 164.8.

$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{ClO}_4$ (222.67), isotopenreine Masse: 222.0659.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{51}\text{H}_{54}\text{N}_7\text{O}_{20}$: 245.0557; gef.: 245.0552.

Verbindung 124



Zu einer kräftig gerührten Mischung von Benzyltriethylammoniumchlorid (6.01 mg, 26.4 μmol , 0.053 Äq.) und Kaliumcarbonat (152 mg, 1.10 mmol, 2.2 Äq.) in Dimethylformamid (1 mL) wurde bei 40 °C eine Lösung von Diethylmaleat (86.1 mg, 500 μmol , 1 Äq.) und Verbindung **123** (150 mg, 674 μmol , 1.35 Äq.) in Dimethylformamid (500 μL) über einen Zeitraum von 4 h mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 40 °C gerührt. Die Hälfte der Lösung wurde mit Eiswasser gequenchet und mit Diethylether (4 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die andere Hälfte der Reaktionslösung wurde 3 d gerührt und auf die gleiche Weise aufgearbeitet. Die Hälfte der vereinigten Rohprodukte wurde mittels HPLC aufgereinigt, sodass Verbindung **124** als weißer Feststoff (45.5 mg, 127 μmol , 51%) erhalten wurde.

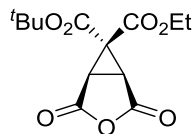
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.27 (m, 9 H), 1.45 (s, 9 H), 3.05 (q, J = 7.0 Hz, 2 H), 4.12 – 4.30 (m, 6 H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.0, 14.0, 14.1, 27.7, 31.3, 31.7, 43.4, 61.7, 62.2, 83.2, 163.4, 164.9, 167.1, 167.4.

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_8$ (358.39), isotopenreine Masse: 358.1628.

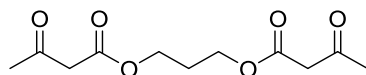
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{NaO}_8$: 381.1525; gef.: 381.1521.

Verbindung 126



Zu einer kräftig gerührten Mischung von Benzyltriethylammoniumchlorid (6.01 mg, 26.4 μmol , 0.053 Äq.) und Kaliumcarbonat (152 mg, 1.1 mmol, 2.2 Äq.) in Dimethylformamid (1 mL) wurde bei 40 °C eine Lösung von Verbindung **123** (150 mg, 2.7 mmol, 1.35 Äq.) und Maleinsäureanhydrid (49.0 mg, 500 μmol , 1 Äq.) in Dimethylformamid (500 μL) über einen Zeitraum von 2.5 h mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 40 °C über Nacht gerührt, mit Eis gequench und mit Diethylether (4 x 5 mL) extrahiert. Die Zielverbindung **126** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 129



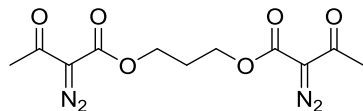
1,3-Propandiol (2.90 mL, 3.04 g, 40.0 mmol, 1 Äq.), 2,2,6-Trimethyl-4H-1,3-dioxin-4-on (90%, 11.6 mL, 11.4 g, 80.0 mmol, 2 Äq.) und 1,4-Xylol (4 mL) wurden in einem druckversiegelten Glasvial unter Mikrowellenstrahlung 15 min bei 140 °C gerührt. Nach der Abkühlung auf Raumtemperatur wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA) des Rückstands Verbindung **129** als gelbliches Öl (9.12 g, 37.3 mmol, 93%) erhalten.

DC $R_f = 0.04$ (PE/EA = 5:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.01 (p, $J = 6.3$ Hz, 2 H), 2.26 (s, 6 H), 3.46 (s, 4 H), 4.22 (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 27.7, 30.1, 49.9, 61.6, 166.9, 200.4.

Verbindung 130

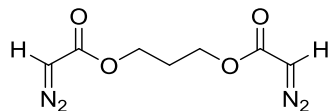


Zu einer Lösung von Verbindung **129** (6.53 g, 26.7 mmol, 1 Äq.) und Triethylamin (8.15 mL, 5.95 g, 58.8 mmol, 2.2 Äq.) in Acetonitril (20 mL) wurde Verbindung **119** (8.20 mL, 10.5 g, 53.5 mmol, 2 Äq.) über einen Zeitraum von 3 h mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und mit Wasser (30 mL) versetzt. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Ethylacetat (25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (75 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (2 x 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromato-grafischer Aufreinigung (PE/EA) des Rückstands Verbindung **130** als gelbes Öl (6.23 mg, 21.1 mmol, 79%) erhalten.

DC $R_f = 0.12$ (PE/EA = 5:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.13 (p, $J = 6.3$ Hz, 2 H), 2.49 (s, 6 H), 4.35 (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H).

Verbindung 131

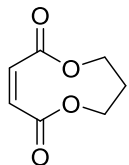


Eine Lösung von Verbindung **130** (2.20 g, 7.43 mmol) in Acetonitril (8.5 mL) wurde bei 0 °C über einen Zeitraum von 5 min mit einer Spritzenpumpe zu wässriger Kaliumhydroxidlösung (1 M, 60 mL) getropft. Die Lösung wurde 20 min bei 0 °C gerührt, mit Salzsäure (6 M) neutralisiert und mit Ethylacetat (3 × 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (2 × 75 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA) des Rückstands Verbindung **131** als gelbes Öl (1.22 mg, 5.77 mmol, 78%) erhalten.

DC $R_f = 0.23$ (PE/EA = 5:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.02 (p, $J = 6.3$ Hz, 2 H), 4.26 (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H), 4.76 (s_{br}, 2 H)

Verbindung 132



Eine Lösung von Verbindung **131** (3.43 g, 16.2 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (20 mL) wurde über einen Zeitraum von 5 h mit einer Spritzenpumpe zu einer Lösung von Rhodium(II)-acetat (215 mg, 486 μ mol, 0.05 Äq.) in Ethylacetat (1200 mL) getropft und über Nacht gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 4:1) des Rückstands Verbindung **132** als weißer Feststoff (1.61 g, 10.3 mmol, 63%) erhalten.

DC $R_f = 0.40$ (PE/EA = 4:1)

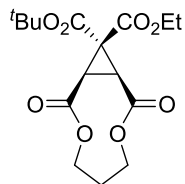
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.97(dt, $J = 11.0, 5.5$ Hz, 2 H), 4.55 (t, $J = 5.2$ Hz, 4 H), 6.51 (s, 2 H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 23.4, 65.8, 132.8, 166.2.

$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_4$ (156.14), isotopenreine Masse: 156.0423.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_4$: 157.0501; gef.: 157.0495.

Verbindung 133



Zu einer kräftig gerührten Mischung von Benzyltriethylammoniumchlorid (7.24 mg, 31.8 μmol , 0.053 Äq.) und Kaliumcarbonat (182 mg, 1.32 mmol, 2.2 Äq.) in Dimethylformamid (1 mL) wurde eine Lösung von Verbindung **123** (180 mg, 810 μmol , 1.35 Äq.) und Verbindung **132** (93.7 mg, 600 μmol , 1 Äq.) in Dimethylformamid (500 μL) über einen Zeitraum von 2 h mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt, mit Eis gequencht und mit Diethylether (4 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **133** mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 6:1 \rightarrow 9:2 \rightarrow 7:2) des Rückstands als weißer Feststoff (53.2 mg, 155 μmol , 26%) erhalten.

DC $R_f = 0.18$ (PE/EA = 4:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.41 (s, 9 H), 1.68 – 1.81 (m, 2 H), 2.84 (s, 2 H), 4.12 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H), 4.27 – 4.33 (m, 4 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 13.7, 24.5, 27.3, 30.9, 61.0, 65.9, 83.8, 162.7, 165.5, 165.6.

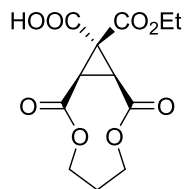
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.46 (s, 9 H), 1.82 – 1.96 (m, 2 H), 2.73 (s, 2 H), 4.22 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H), 4.38 – 4.46 (m, 4 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 13.9, 24.9, 27.7, 31.8, 39.5, 61.5, 65.5, 84.3, 163.3, 166.0, 166.1.

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_8$ (342.34), isotopenreine Masse: 342.1315.

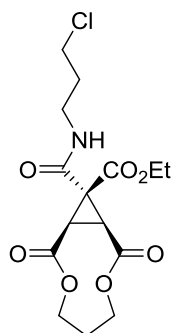
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NaO}_8$: 365.1212; gef.: 365.1207.

Verbindung 134



Zu einer Lösung von Verbindung **133** (244 mg, 713 μmol) in Dichlormethan (6 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (2 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde 15 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 6 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt **134** wurde ohne weitere Aufreinigung für die Synthese von Verbindung **137** eingesetzt.

Verbindung 137



Zu einer Lösung von Verbindung **134** (713 μmol , 1 \AA q.) in Dichlormethan (8 mL) und Dimethylformamid (50 μL) wurde bei 0 °C Oxalylchlorid (123 μL , 181 mg, 1.43 mmol, 2 \AA q.) getropft. Die Lösung wurde 15 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand über Nacht im Vakuum getrocknet. Zu einer Lösung dieses Rückstands in Dichlormethan (5 mL) wurde bei -10 °C das Hydrochlorid von 3-Chlorpropylamin (102 mg, 784 μmol , 1.1 \AA q.) gegeben und langsam Triethylamin (395 μL , 288 mg, 2.85 mmol, 4 \AA q.) zugetropft. Die Lösung wurde 1 h bei -10 °C und nach der Entfernung des Eisbads 3 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis sowie Salzsäure (1 M) gequench und mit Ethylacetat (3 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 25 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **137** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (147 mg, 406 μmol , 57% über 3 Stufen) erhalten.

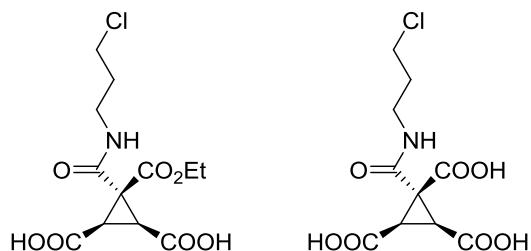
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.31(t, J = 7.1 Hz, 3 H), 1.80 – 1.95 (m, 2 H), 1.99 (p, J = 6.5 Hz, 2 H), 2.86 (s, 2 H), 3.43 (q, J = 6.5 Hz, 2 H), 3.55 (t, J = 6.2 Hz, 2 H), 4.27 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 4.36 – 4.48 (m, 4 H), 6.74 – 6.82 (m, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 13.7, 25.0, 31.1, 31.5, 38.1, 39.9, 42.2, 62.5, 65.5, 164.1, 166.2, 166.4.

$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{ClNO}_7$ (361.78), isotopenreine Masse: 361.0928.

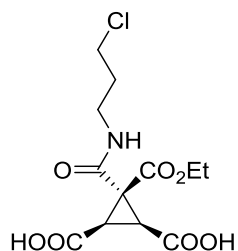
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{ClNO}_7$: 362.1007; gef.: 362.1002.

Verbindung 138 und 139



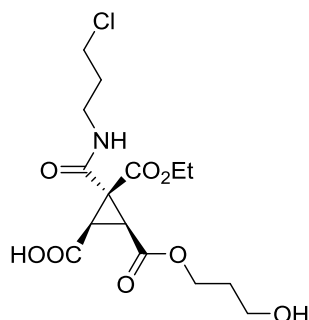
Zu einer Lösung von Verbindung **137** (36.2 mg, 100 μ mol) in 1,4-Dioxan (1.2 mL) und Wasser (0.8 mL) wurden 2 mL einer Chlorwasserstofflösung in Dioxan (4 M) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 2 d bei 75° C in einem druckversiegelten Glasvial gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Die entstandenen Verbindungen **138** und **139** konnten nicht voneinander getrennt werden und wurden als Gemisch in weiteren Reaktionen eingesetzt. Das als Nebenprodukt gebildete 1,3-Propandiol konnte ebenfalls nicht abgetrennt werden.

Verbindung 138



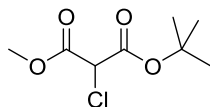
Zu einer Lösung von Verbindung **137** (1.99 mg, 5.50 μmol) in 1,4-Dioxan (275 μL) und Wasser (100 μL) wurden 125 μL einer Chlorwasserstofflösung in Dioxan (4 M) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 1 d bei 75 $^{\circ}\text{C}$ in einem druckversiegelten Glasvial gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Die entstandene Verbindung **138** konnte nicht von dem als Nebenprodukt gebildeten 1,3-Propandiol getrennt werden und wurde ohne weitere Aufreinigung in für die Synthese von Verbindung **157** eingesetzt.

Verbindung 138a



Eine Lösung von Verbindung **137** (1.09 mg, 3.00 μmol , 1 Äq.) und Trimethylzinnhydroxid (5.42 mg, 30.0 μmol , 10 Äq.) in 1,2-Dichlorethan (300 μL) wurde 4 h bei 75 $^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anstelle der gewünschten dreifachen Esterspaltung konnte jedoch nur eine einfache Esterspaltung beobachtet werden.

Verbindung 141



Zu einer Lösung von *tert*-Butylmethylmalonat (95%, 2.14 mL, 2.09 g, 12.0 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (20 mL) wurde langsam Sulfurylchlorid (1.45 mL, 2.43 g, 18.0 mmol, 1.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, auf 0 °C abgekühlt und mit Eis sowie konzentrierter Natriumhydrogencarbonatlösung (20 mL) gequenchet. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Dichlormethan (20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 50:1 → 40:1 → 30:1) des Rückstands Verbindung **141** als farbloses Öl (1.19 g, 5.70 mmol, 48%) erhalten.

DC $R_f = 0.30$ (PE/EA = 20:1)

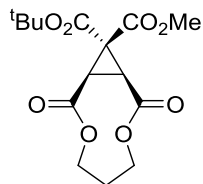
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.50 (s, 9 H), 3.84 (s, 3 H), 4.77 (s, 1 H)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.7, 53.6, 56.1, 84.5, 163.2, 165.4.

C₈H₁₃ClO₄ (208.64), isotopenreine Masse: 208.0502.

ESI-HRMS (m/z): [M + Na]⁺ ber. für C₈H₁₃ClNaO₄: 231.0400; gef.: 231.0395.

Verbindung 142



Zu einer kräftig gerührten Mischung von Benzyltriethylammoniumchlorid (26.1 mg, 106 μmol , 0.053 Äq.) und Kaliumcarbonat (608 mg, 4.40 mmol, 2.2 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) wurde bei 50 °C eine Lösung von Verbindung **141** (563 mg, 2.7 mmol, 1.35 Äq.) und Verbindung **132** (312 mg, 2.00 mmol, 1 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) über einen Zeitraum von 2.5 h mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 50 °C über Nacht gerührt, mit Eis gequench und mit Diethylether (4 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 6:1 \rightarrow 4:1 \rightarrow 2:1) des Rückstands Verbindung **142** als weißer Feststoff (110 mg, 335 μmol , 17%) erhalten.

DC $R_f = 0.13$ (PE/EA = 4:1)

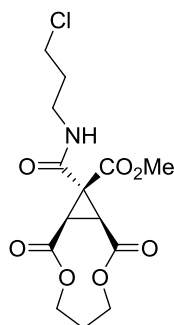
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.46 (s, 9 H), 1.83 – 1.96 (m, 2 H), 2.74 (s, 2 H), 3.76 (s, 3 H), 4.39 – 4.46 (m, 4 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 24.9, 27.7, 31.7, 39.5, 52.6, 65.7, 84.4, 163.9, 165.8, 166.0.

$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (328.32), isotopenreine Masse: 328.1158.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NaO}_8$: 351.1056; gef.: 351.1051.

Verbindung 143

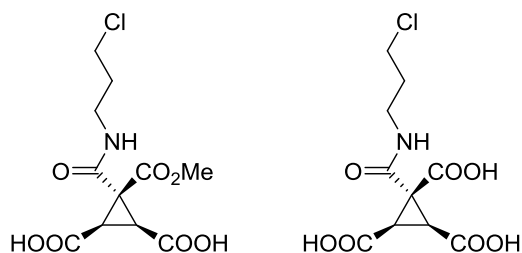


Zu einer Lösung von Verbindung **142** (98.5 mg, 300 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (3 mL) wurde bei 0 °C Trifluoressigsäure (1 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde 10 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol (ca. 3 mL) wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Zu einer Lösung dieses Rückstands in Dichlormethan (3 mL) und Dimethylformamid (50 μ L) wurde bei 0 °C Oxalylchlorid (51.5 μ L, 76.2 mg, 600 μ mol, 2 Äq.) getropft. Die Lösung wurde 15 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand über Nacht im Vakuum getrocknet und in Dichlormethan (2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei -10 °C das Hydrochlorid von 3-Chlorpropylamin (42.9 mg, 330 μ mol, 1.1 Äq.) gegeben und langsam Triethylamin (173 μ L, 121 mg, 1.20 mmol, 4 Äq.) zugetropft. Die Lösung wurde 1 h bei -10 °C und nach der Entfernung des Eisbads 4 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis sowie Salzsäure (1 M) gequench und mit Ethylacetat (4 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogen-carbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 20 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **143** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (21.0 mg, 60.4 μ mol, 20% über 3 Stufen) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ [ppm] = 1.74 – 1.82 (m, 1 H), 1.83 – 1.92 (m, 1 H), 1.98 (p, *J* = 6.6 Hz, 2 H), 2.81 (s, 2 H), 3.40 (dd, *J* = 12.7, 6.7 Hz, 2 H), 3.56 (t, *J* = 6.3 Hz, 2 H), 3.78 (s, 3 H), 4.35 – 4.46 (m, 4 H), 6.78 (s_{br}, 1 H).

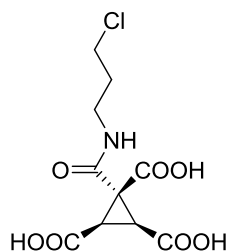
¹³C-NMR (125 MHz, CD₂Cl₂): δ [ppm] = 25.7, 31.7, 32.3, 38.8, 40.6, 43.2, 53.7, 66.3, 165.0, 166.9, 167.4.

Verbindung 144 und 139



Zu einer Lösung von Verbindung **143** (11.0 mg, 31.6 μmol) in 1,4-Dioxan (250 μL) und Wasser (250 μL) wurden 500 μL einer Chlorwasserstofflösung in Dioxan (4 M) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 1 d bei 75 °C in einem druckversiegelten Glasvial gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Acetonitril aufgenommen und gefriergetrocknet. Die entstandenen Verbindungen **144** und **139** konnten nicht voneinander getrennt werden und wurden als Gemisch in weiteren Reaktionen eingesetzt. Das als Nebenprodukt gebildete 1,3-Propandiol konnte ebenfalls nicht abgetrennt werden.

Verbindung 139



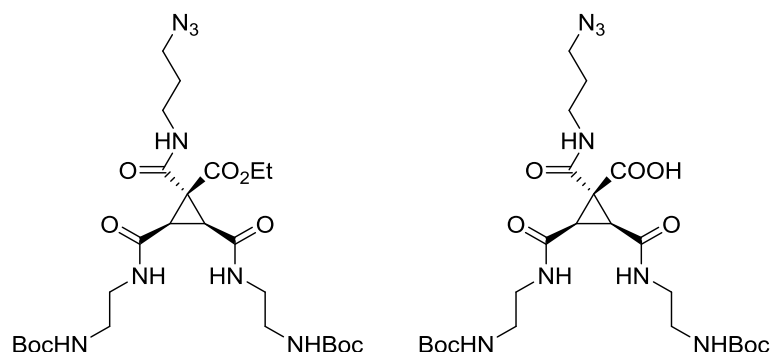
Synthese mit Bortribromid:

Zu einer Mischung der Verbindungen **144** und **139** (2.0 mg, 6.50 μmol bezogen auf Verbindung **144**, 1 Äq.) in Dichlormethan (300 μL) wurde eine Lösung von Bortribromid in Dichlormethan (1 M, 32.5 μL , 32.5 μmol , 5 Äq.) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 3 h gerührt und mit Wasser gequenchet. Verbindung **139** konnte nicht in Reinform erhalten werden.

Synthese mit Trimethylsilyliodid:

Zu einer Mischung der Verbindungen **144** und **139** (2.0 mg, 6.50 μmol bezogen auf Verbindung **144**) wurde Trimethylsilyliodid (50 μL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2.5 h bei 90 °C gerührt und bei Raumtemperatur mit Wasser gequenchet. Die Bildung von Produkt **139** aus Verbindung **144** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 152 und 153



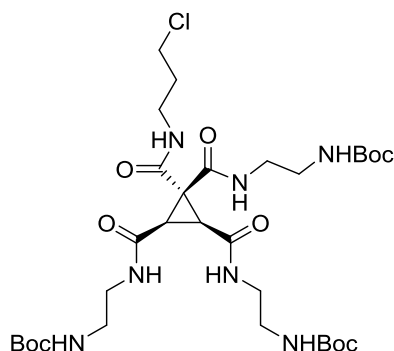
Ausgehend von einem Gemisch der Verbindungen **138** und **139** wurde die Synthese eines Gemischs der Verbindungen **152** und **153** unternommen. Hierfür wurden die Edukte mit *tert*-Butyl-N-(2-aminoethyl)-carbammat umgesetzt. Außerdem fand eine Substitutionsreaktion mit Natriumazid statt. Diese Reaktionen wurden in beiden möglichen Reihenfolgen durchgeführt (erst Reaktion zu den Carbamaten **145** und **146** oder erst Azidierung zu den Aziden **150** und **151**), die Produkte konnten jedoch nur in sehr geringen Mengen und trotz Aufreinigung mittels HPLC als Gemisch erhalten werden.

Für die Reaktion der beiden Carbonsäuren wurde zu einer Lösung des Eduktgemischs in Tetrahydrofuran *N*-Methylmorpholin (6 Äq.) und bei 0 °C Ethylchlorformiat (3 Äq.) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 10 min bei 0 °C und anschließend 1.5 – 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von *tert*-Butyl-N-(2-aminoethyl)-carbammat (3 Äq.) bei 0 °C wurde die Lösung bei Raumtemperatur über Nacht gerührt, mit Eis gequenchet, mit Salzsäure (1 M) angesäuert und drei Mal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand mittels HPLC aufgereinigt.

Für die Azidierung wurde eine Mischung der Edukte mit Natriumazid (2 Äq.) in Dimethylformamid 1 d bei 75 °C gerührt. Wurde die Azidierung als zweite der beiden Reaktionen zur Synthese der Verbindungen **152** und **153** eingesetzt, so wurde die Reaktionslösung mittels HPLC aufgereinigt. Fand die Azidierung mit den Edukten **138** und **139** statt, wurde die Lösung mit 1,4-Dioxan versetzt, gefriergetrocknet und ohne

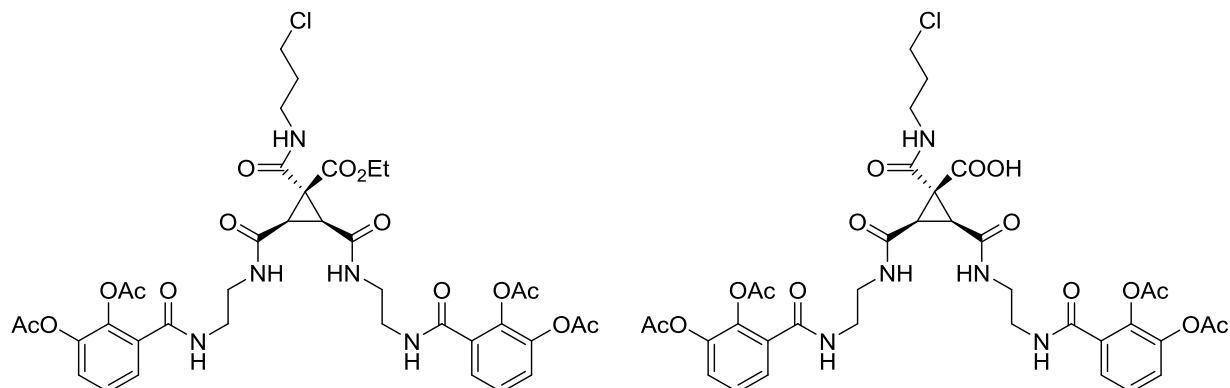
weitere Aufreinigung für die oben beschriebene Reaktion mit *tert*-Butyl-N-(2-aminoethyl)-carbammat eingesetzt.

Verbindung 147



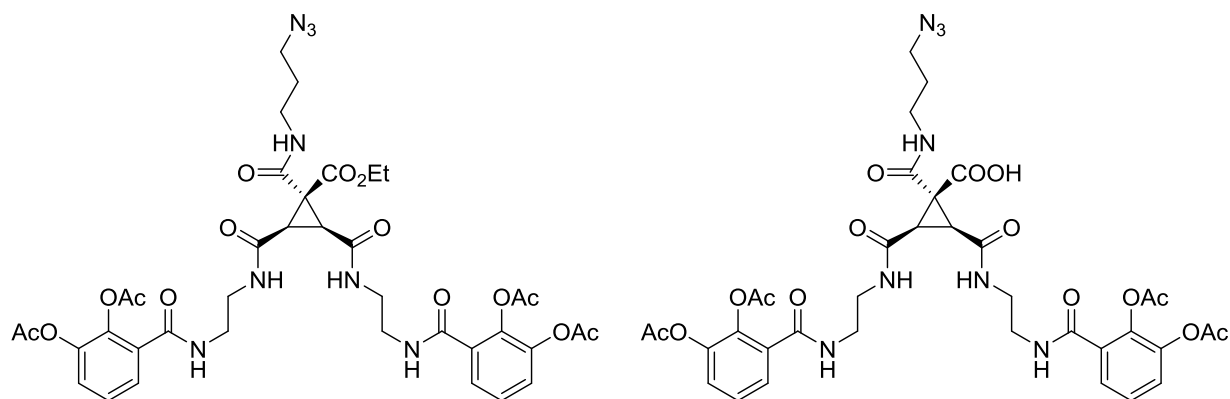
Zu einer Mischung der Verbindungen **145** und **146** (1.00 mg, 1.73 μ mol bezogen auf Verbindung **146**, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (200 μ L) wurden bei 0 °C *N*-Methylmorpholin (0.57 μ L, 525 μ g, 5.19 μ mol, 3 Äq.) und Ethylchlorformiat (0.33 μ L, 375 μ g, 3.46 μ mol, 2 Äq.) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 10 min bei 0 °C und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von *tert*-Butyl-N-(2-aminoethyl)-carbammat (0.55 μ L, 554 μ g, 3.46 μ mol, 2 Äq.) wurde die Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und mit Wasser gequenchet. Das Gemisch wurde mit Ethylacetat (3 \times 1 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Die Bildung von Verbindung 147 konnte nur in Spuren nachgewiesen werden.

Verbindung 148 und 149



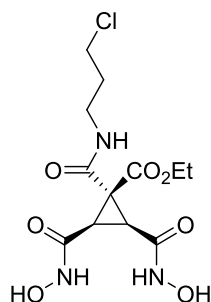
Eine Mischung der Verbindungen **145** und **146** wurde 2 – 3 h in einer Lösung von 25% Trifluoressigsäure gerührt und anschließend mit einem gleichen Volumen an Toluol coevaporiert. Nach der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand in wässriger Kaliumhydrogencarbonatlösung aufgenommen und bei 0 °C mit Verbindung **47** (3 Äq.), gelöst in gleicher Menge an 1,4-Dioxan, versetzt. Die Bildung des Produkts konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 154 und 155



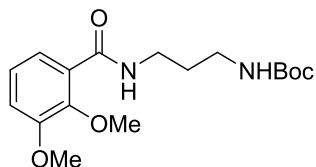
Ausgehend von einem Gemisch der Verbindungen **152** und **153** gleicht die Durchführung der beschriebenen versuchten Synthese der Verbindungen **148** und **149**.

Verbindung 157



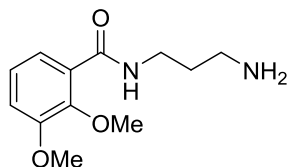
Zu einer Lösung von Verbindung **138** (5.50 μmol , 1 Äq.) und *N*-Methylmorpholin (4.84 μL , 4.45 mg, 44.0 μmol , 8 Äq.) in Tetrahydrofuran (500 μL) wurde bei 0 °C Ethylchlorformiat (1.57 μL , 1.79 mg, 16.5 μmol , 3 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 15 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei 0 °C wurde Hydroxylamin-Hydrochlorid (1.14 mg, 16.5 μmol , 3 Äq.) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und mit Wasser gequencht. Das Zielprodukt **157** konnte nicht nachgewiesen werden.

Verbindung 164



Zu einer Lösung von 2,3-Dimethoxybenzoesäure (1.82 g, 10.0 mmol, 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (3.50 mL, 2.59 g, 20 mmol, 2 Äq.) in Dimethylformamid (20 mL) wurden bei 0 °C EDCI (2.11 g, 11.0 mmol, 1.1 Äq.) und HOBt (1.49 g, 11.0 mmol, 1.1 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 5 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde *tert*-Butyl-*N*-(3-aminopropyl)-carbammat (1.92 g, 11.0 mmol, 1.1 Äq.) in Dimethylformamid (5 mL) bei 0 °C über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Eiswasser versetzt und mit Ethylacetat (3 × 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (1 M) und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 × 75 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde der Rückstand **164** ohne weitere Aufreinigung für die Herstellung von Verbindung **165** verwendet.

Verbindung 165



Zu Rohprodukt **164** wurde bei 0 °C vorsichtig Salzsäure (4 M in 1,4-Dioxan, 24 mL) gegeben. Nach der Entfernung des Eisbads wurde die Lösung 2 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösemittel entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, mit flüssigem Stickstoff gefroren und lyophilisiert. Das Lyophilisat wurde mit Natronlauge (2 M) auf einen pH-Wert zwischen 10 und 11 eingestellt und wiederum in Wasser aufgenommen, mit flüssigem Stickstoff gefroren und lyophilisiert. Das Lyophilisat wurde mit Ethylacetat und Aceton versetzt und im Ultraschallbad dispergiert. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde Verbindung **165** als bernsteinfarbenes Öl (1.98 g, 8.31 mmol, 83% über zwei Stufen) erhalten.

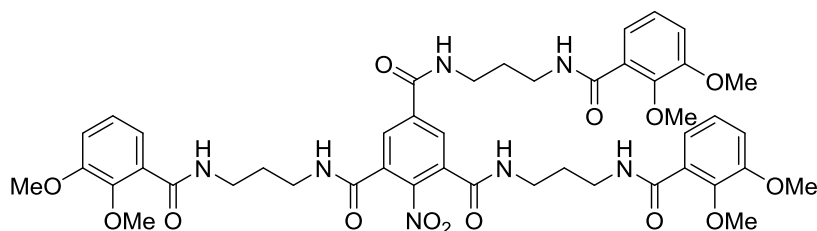
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.76 – 1.84 (m, 2 H), 2.81 – 2.87 (m, 2 H), 3.28 – 3.34 (m, 2 H), 3.77 (s, 3 H), 3.83 (s, 3 H), 7.07 – 7.13 (m, 1 H), 7.12 (t, *J* = 9.0 Hz, 1 H), 7.16 (dd, *J* = 7.7, 2.2 Hz, 1 H), 7.83 (s_{br}, 2 H), 8.36 (t, *J* = 5.9 Hz, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 27.4, 35.9, 36.7, 55.9, 60.9, 114.7, 120.4, 124.0, 130.1, 146.1, 152.5, 166.0.

C₁₂H₁₈N₂O₃ (238.29), isotopenreine Masse: 238.1317.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + H]⁺ ber. für C₁₂H₁₉N₂O₃: 239.1396; gef.: 239.1391.

Verbindung 167



Zu einer Lösung von Verbindung **51** (45.9 mg, 180 μ mol, 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (377 μ L, 279 mg, 2.16 mmol, 12 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) wurde bei 0 °C EDCI (121 mg, 630 μ mol, 3.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 5 min bei 0 °C gerührt und HOBt (85.1 mg, 630 μ mol, 3.5 Äq.) wurde hinzugefügt. Nach der Entfernung des Eisbads wurde die Lösung 90 min bei Raumtemperatur gerührt und bei 0 °C das Hydrochlorid von Verbindung **165** (198 mg, 720 μ mol, 4 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit 1,4-Dioxan versetzt mit flüssigem Stickstoff gefroren und lyophilisiert. Verbindung **167** wurde durch Aufreinigung des resultierenden Feststoffs mittels HPLC als weißer Feststoff (42.5 mg, 46.6 μ mol, 26%) erhalten.

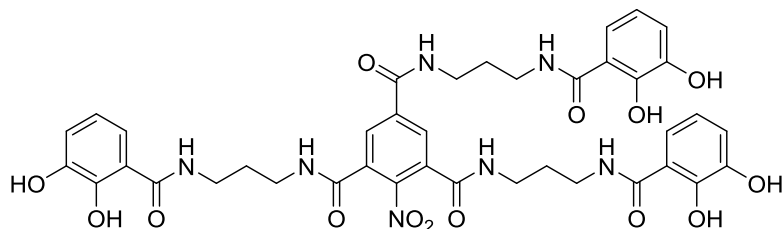
¹H-NMR (500 MHz, Methanol-d₄): δ [ppm] = 1.85 – 2.94 (m, 6 H), 3.43 – 3.49 (m, 6 H), 3.49 – 3.54 (m, 6 H), 3.87 (s, 9 H), 3.88 (s, 3 H), 3.89 (s, 6 H), 7.09 – 7.16 (m, 6 H), 7.31 (dd, J = 7.4, 2.0 Hz, 1 H), 7.34 (dd, J = 7.4, 2.1 Hz, 2 H), 8.20 (s, 2 H), 8.59 (t, J = 5.9 Hz, 1 H), 8.62 (t, J = 6.0 Hz, 2 H).

¹³C-NMR (125 MHz, Methanol-d₄): δ [ppm] = 30.4, 30.5, 38.0, 38.2, 38.5, 38.8, 56.7, 62.1, 116.7, 116.8, 122.5, 122.6, 125.5, 125.5, 129.3, 129.4, 130.2, 133.3, 138.5, 148.8, 148.9, 149.8, 154.4, 166.7, 167.2, 168.8, 168.9.

C₄₅H₅₃N₇O₁₄ (915.95), isotopenreine Masse: 915.3650.

ESI-HRMS (m/z): [M + Na]⁺ ber. für C₄₅H₅₃N₇NaO₁₄: 938.3548; gef.: 938.3540.

Verbindung 158



Zu einer Lösung von Verbindung **167** (22.2 mg, 24.2 μ mol, 1 Äq.) in Dichlormethan (5 mL) wurde bei -78 °C Bortribromid (1 M in Dichlormethan, 436 μ L, 436 μ mol, 18 Äq.) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei -78 °C gerührt und über Nacht langsam unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde mit Eis und Methanol gequenchet, mit Wasser versetzt und mit Ethylacetat (3 \times 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde durch Aufreinigung des Rückstands mittels HPLC Verbindung **158** als bräunlicher Feststoff (10.4 mg, 12.5 μ mol, 52%) erhalten.

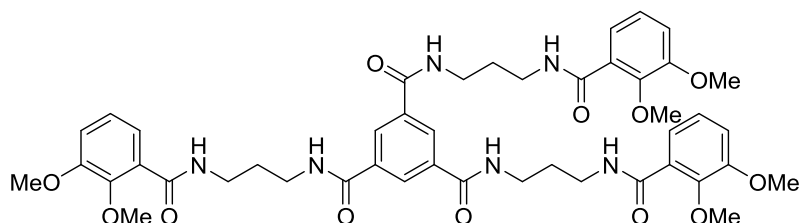
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.73 – 1.87 (m, 6 H), 3.28 (dd, J = 12.5, 6.3 Hz, 4 H), 3.32 – 3.42 (m, 8 H), 6.68 (t, J = 7.9 Hz, 3 H), 6.91 (d, J = 7.6 Hz, 3 H), 7.27 (d, J = 8.0 Hz, 3 H), 8.16 (s, 2 H), 8.76 – 8.83 (m, 3 H), 8.89 (t, J = 5.2 Hz, 1 H), 8.98 (t, J = 5.4 Hz, 2 H), 9.14 (s_{br}, 3 H), 12.72 (s_{br}, 3 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 28.7, 28.9, 36.8, 36.9, 37.3, 37.5, 115.0, 115.0, 117.1, 117.9, 118.8, 128.7, 131.4, 136.3, 146.2, 147.9, 149.6, 149.7, 163.7, 163.9, 169.8, 169.6.

C₃₉H₄₁N₇O₁₄ (831.69), isotopenreine Masse: 831.2711.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₃₉H₄₂N₇O₁₄: 832.2790; gef.: 832.2783.

Verbindung 168



Zu einer Lösung von 1,3,5-Benzoltricarbonsäure (37.8 mg, 180 μmol , 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (377 μL , 279 mg, 2.16 mmol, 12 Äq.) in Dimethylformamid (3 mL) wurde bei 0 °C EDCI (121 mg, 630 μmol , 3.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde 5 min bei 0 °C gerührt und HOBt (85.1 mg, 630 μmol , 3.5 Äq.) wurde hinzugefügt. Die Lösung wurde 5 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bei 0 °C das Hydrochlorid von Verbindung **161** (198 mg, 720 μmol , 4 Äq.) in Dimethylformamid (2 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis und Salzsäure (1 M) gequench und mit Ethylacetat (5 \times 10 mL) extrahiert. Der Niederschlag aus den organischen Phasen wurde abgetrennt und in Aceton gelöst. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 20:1 \rightarrow 15:1 \rightarrow 10:1) des Rückstands Verbindung **168** als weißer Feststoff (38.2 mg, 43.9 μmol , 24%) erhalten.

DC $R_f = 0.20$ (DCM/MeOH = 20:1)

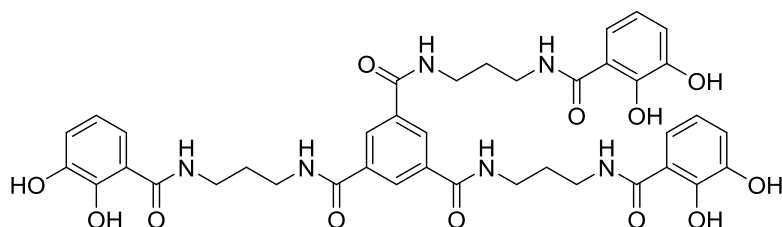
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 1.91 (p, $J = 6.6$ Hz, 6 H), 3.51 (td, $J = 13.3, 6.6$ Hz, 12 H), 3.86 (s, 9 H), 3.88 (s, 9 H), 7.08 – 7.15 (m, 6 H), 7.32 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 3 H), 8.43 (s, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 30.6, 38.3, 38.7, 56.7, 62.1, 116.7, 122.5, 125.5, 129.4, 130.0, 136.8, 148.8, 154.4, 168.8, 168.9.

$\text{C}_{45}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_{12}$ (870.96), isotopenreine Masse: 870.3800.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{45}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{NaO}_{12}$: 893.3697; gef.: 893.3690.

Verbindung 162



Zu einer Lösung von Verbindung **168** (181 mg, 208 μmol , 1 Äq.) in Dichlormethan (10 mL) wurde bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ Bortribromid (1 M in Dichlormethan, 3.75 mL, 3.75 mmol, 18 Äq.) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und über Nacht langsam unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt. Da die Reaktion nicht vollständig war, wurden die vorangegangenen Schritte mit einer geringeren Menge an Bortribromid (1 M in Dichlormethan, 1.25 mL, 1.25 mmol, 6 Äq.) wiederholt. Die Reaktionsmischung wurde mit Eis gequench und mit Ethylacetat (25 mL) extrahiert. Der Niederschlag aus den organischen Phasen wurde abgetrennt und in Methanol gelöst. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde durch Aufreinigung des Rückstands mittels HPLC Verbindung **162** als bräunlicher Feststoff (67.5 mg, 85.8 μmol , 41%) erhalten.

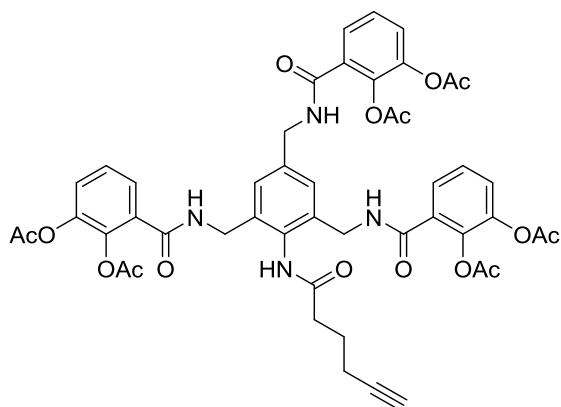
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.83 (p, $J = 7.0$ Hz, 6 H), 3.32 – 3.40 (m, 12 H), 6.68 (t, $J = 8.0$ Hz, 3 H), 6.90 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 3 H), 7.27 (dd, $J = 8.2, 1.4$ Hz, 3 H), 8.42 (s, 3 H), 8.76 (t, $J = 5.7$ Hz, 3 H), 8.81 (t, $J = 5.7$ Hz, 3 H), 9.11 (s_{br} , 3 H), 12.75 (s_{br} , 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 29.0, 36.9, 37.3, 115.0, 117.0, 117.9, 118.8, 128.4, 135.0, 146.2, 149.6, 165.6, 169.7.

$\text{C}_{39}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_{12}$ (786.80), isotopenreine Masse: 786.2861.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_{12}$: 787.2939; gef.: 787.2934.

Verbindung 171



Zu einer Lösung von 5-Hexinsäure (226 μL , 230 mg, 2.05 mmol, 3.5 Äq.) in Tetrahydrofuran (6 mL) wurden bei 0 °C *N*-Methylmorpholin (257 μL , 237 mg, 2.34 mmol, 4 Äq.) und Isobutylchlorformiat (224 μL , 240 mg, 1.76 mmol, 3 Äq.) getropft, woraufhin sich sofort ein weißer Niederschlag bildete. Die Reaktionsmischung wurde 10 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Verbindung **40** (586 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (5 mL) wurde bei 0 °C über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt und mit Eis sowie gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je ca. 5 mL) gequenchet. Anschließend wurde mit Ethylacetat (3 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (0.1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 25 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels automatischer säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH) des Rückstands Verbindung **171** als weißer Feststoff (233 mg, 249 μmol , 43% über zwei Stufen) erhalten.

DC R_f = 0.19 (DCM/MeOH = 20:1)

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.80 (p, J = 7.2 Hz, 2 H), 2.16 (s, 3 H), 2.17 (s, 6 H), 2.25 (td, J = 7.1, 2.6 Hz, 2 H), 2.28 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 2.51 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 2.81 (t, J = 2.6 Hz, 1 H), 4.33 (s_{br} , 4 H) 4.38(d, J = 5.9 Hz, 2 H), 7.21 (s, 2 H), 7.23 (t, J = 7.9 Hz, 1 H), 7.31 (t, J = 7.9 Hz, 2 H), 7.35 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1 H), 7.38 (dd,

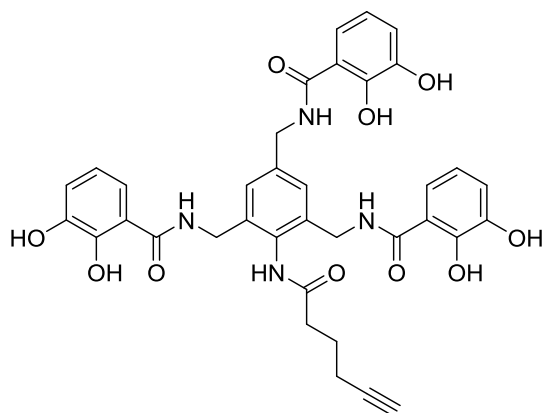
$J = 8.1, 1.5 \text{ Hz, 2 H}$), 7.44 (dd, $J = 7.8, 1.5 \text{ Hz, 1 H}$), 7.53 (dd, $J = 7.7, 1.5 \text{ Hz, 2 H}$), 8.78 (t, $J = 6.0 \text{ Hz, 2 H}$), 8.94 (t, $J = 6.0 \text{ Hz, 1 H}$), 9.54 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 17.5, 20.2, 20.3, 24.1, 34.1, 39.1, 42.2, 71.6, 84.0, 124.6, 125.4, 125.5, 126.0, 126.1, 126.2, 130.6, 130.6, 131.8, 153.8, 137.5, 140.1, 132.8, 164.5, 164.7, 167.8, 167.9, 168.3, 171.1.

$\text{C}_{48}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{16}$ (934.91), isotopenreine Masse: 934.2909.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{48}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_{16}$: 935.2987; gef.: 935.2985.

Verbindung 172



Zu einer Lösung von Verbindung **171** (80 mg, 85.6 μmol) in Methanol (3 mL) wurde bei 0 °C Triethylamin (1 mL) getropft. Die Lösung wurde 5 min bei 0 °C und nach Entfernung des Eisbads weitere 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Eis gequench und mit Salzsäure (2 M) angesäuert. Anschließend wurde mit Ethylacetat (3 x 3 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **172** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (39.5 mg, 57.9 μmol , 68%) erhalten.

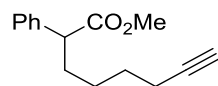
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.79 (p, $J = 7.2$ Hz, 2 H), 2.24 (td, $J = 7.1$, 2.6 Hz, 2 H), 2.49 – 2.53 (m, 2 H), 2.81 (t, $J = 2.6$ Hz, 1 H), 4.40 (d, $J = 5.9$ Hz, 2 H), 4.43 (s_{br}, 4 H) 6.60 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 6.67 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 6.88 (dd, $J = 7.8$, 1.3 Hz, 1 H), 6.92 (dd, $J = 7.8$, 1.3 Hz, 2 H), 7.19 – 7.21 (m, 1 H), 7.20 (s, 2 H), 7.29 (dd, $J = 8.2$, 1.3 Hz, 2 H), 9.15 (s_{br}, 3 H), 9.15 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 9.32 (t, $J = 7.2$ Hz, 1 H), 9.57 (s, 1 H), 12.52 (s_{br}, 2 H), 12.57 (s_{br}, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 17.5, 24.1, 34.1, 39.0, 42.1, 71.6, 84.0, 114.9, 115.1, 117.1, 117.3, 117.9, 118.0, 118.8, 118.9, 124.8, 132.1, 135.9, 137.4, 146.1, 146.2, 149.5, 149.6, 169.7, 169.8, 171.2.

$\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{10}$ (682.69), isotopenreine Masse: 682.2275.

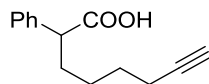
ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{NaO}_{10}$: 705.2173; gef.: 705.2170.

Verbindung 175



Zu einer Lösung von Phenyllessigsäuremethylester (2.82 mL, 3.00 g, 20.0 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (50 mL) wurde Lithium-bis(trimethylsilyl)amid (1 M in Tetrahydrofuran, 22 mL, 22 mmol, 1.1 Äq.) bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ über einen Zeitraum von 20 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt und 6-Iod-1-hexin (2.90 mL, 4.58 g, 22.0 mmol, 1.1 Äq.) in Tetrahydrofuran (5 mL) wurde über einen Zeitraum von 20 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingestellt und 1 h bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, mit Eis gequencht und mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (50 mL) versetzt. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Diethylether ($2 \times 50\text{ mL}$) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand **175** ohne weitere Aufreinigung für die Herstellung von Verbindung **176** verwendet.

Verbindung 176



Zu einer Lösung von Verbindung **175** (20.0 mmol, 1 Äq.) in Methanol (100 mL) und Wasser (2 mL) wurde KOH (1.68 g, 30.0 mmol, 1.5 Äq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht refluxiert und auf Raumtemperatur abgekühlt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Wasser (30 mL) aufgenommen und mit Diethylether gewaschen. Die Lösung wurde mit Salzsäure (6 M) auf $\text{pH} \approx 1$ angesäuert und mit Diethylether ($3 \times 30 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (DCM/MeOH 100:0 \rightarrow 99:1 \rightarrow 97:3, 1% AcOH) des Rückstands Verbindung **176** als weißer Feststoff (3.08 g, 14.2 mmol, 71% über zwei Stufen) erhalten.

DC $R_f = 0.29$ (DCM/MeOH = 80:3, 1 % AcOH)

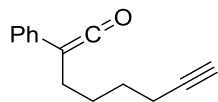
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.19 – 1.27 (m, 1 H), 1.27 – 1.36 (m, 1 H), 1.39 – 1.49 (m, 2 H), 1.60 – 1.69 (m, 1 H), 1.90 – 1.99 (m, 1 H), 2.11 (td, $J = 7.0, 2.6 \text{ Hz}$, 2 H), 2.70 (t, 2.6 Hz, 1 H), 3.48 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1 H), 7.22 – 7.26 (m, 1 H), 7.27 – 7.34 (m, 4 H), 12.3 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 17.6, 26.3, 27.7, 32.5, 50.8, 71.2, 84.3, 126.8, 127.7, 128.4, 139.7, 174.8.

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (216.28), isotopenreine Masse: 216.1150.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_2$: 217.1229 gef.: 217.1222.

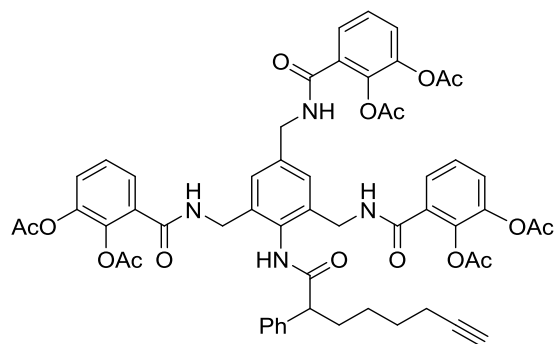
Verbindung 177



Zu einer Lösung von Verbindung **176** (2.16 g, 10.0 mmol, 1 Äq.) in Dichlormethan (10 mL) wurde Oxalylchlorid (1.72 mL, 2.54 g, 20.0 mmol, 2 Äq.) in Dichlormethan (10 mL) über einen Zeitraum von 10 min mit einer Spritzenpumpe getropft. Nach der Zugabe eines Tropfens Dimethylformamid wurde die Reaktionslösung 1 h gerührt. Das Lösemittel wurde im Vakuum unter Rühren in eine Kühlfalle kondensiert. Zu dem so erhaltenen Rückstand wurden Tetrahydrofuran (20 mL) und Triethylamin (5.50 mL, 4.05 g, 40.0 mmol, 4 Äq.) bei 0 °C gegeben und die Reaktionsmischung wurde 2 h bei 0 °C gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde über eine Umkehrfritte abfiltriert und das Lösemittel bei 110 °C abdestilliert. Der Rückstand wurde bei 3 mbar sowie einem Temperaturbereich von 110 – 150 °C destilliert. Aus dem Hauptlauf wurde Verbindung **177** als gelbes Öl (433 mg, 2.18 mmol, 22%) gewonnen. Da Keten **177** sich unter atmosphärischen Bedingungen als instabil erwies, fanden sämtliche Arbeiten unter Schlenkbedingungen statt.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.54 – 1.67 (m, 4 H), 1.88 (t, *J* = 2.7 Hz, 1 H), 2.16 (td, *J* = 6.8, 2.6 Hz, 2 H), 2.34 – 2.38 (m, 2 H), 6.94 – 7.02 (m, 3 H), 7.21 – 7.25 (m, 2 H),
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 18.2, 23.2, 27.1, 28.0, 39.2, 68.7, 84.0, 124.1, 124.3, 129.0, 132.5, 204.6.

Verbindung 178



Zu einer Lösung von Verbindung **40** (231 mg, 275 μmol , 1 \AA q.) in Tetrahydrofuran (2 mL) wurde bei 0 °C Keten **177** (65.4 mg, 330 μmol , 1.2 \AA q.) in Tetrahydrofuran (800 μL) gegeben. Die Lösung wurde 10 min bei 0 °C und nach Entfernung des Eisbads über Nacht gerührt. Anschließend wurde erneut Verbindung **177** (32.7 mg, 165 μmol , 0.6 \AA q.) zugegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand säulenchromatografisch (DCM/MeOH 80:2 \rightarrow 80:3) aufgereinigt. Da die Reinheit des Produkts nicht zufriedenstellend war, wurde Verbindung **178** durch weitere Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (80.0 mg, 77.0 μmol , 28%) erhalten.

DC $R_f = 0.29$ (DCM/MeOH = 80:3)

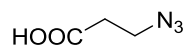
$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.34 – 1.40 (m, 1 H), 1.41 – 1.47 (m, 1 H), 1.47 – 1.57 (m, 2 H), 1.69 – 1.75 (m, 1 H), 2.08 – 2.14 (m, 1 H), 2.14 (s, 3 H), 2.14 – 2.17 (m, 2 H), 2.16 (s, 6 H), 2.27 (s, 3 H), 2.29 (s, 6 H), 2.68 (t, $J = 2.6$ Hz, 1 H), 3.80 (dd, $J = 8.6, 6.6$ Hz, 1 H), 4.18 (s_{br}, 4 H), 4.36 (d, $J = 5.9$ Hz, 2 H), 7.15 (s, 2 H), 7.20 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.22 – 7.26 (m, 1 H), 7.28 – 7.35 (m, 5 H), 7.38 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 2 H), 7.41 (dd, 7.8, 1.5 Hz, 1 H), 7.44 (d, $J = 7.2$ Hz, 2 H), 7.50 (d, $J = 6.1$ Hz, 2 H), 8.70 (s_{br}, 2 H), 8.93 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 9.79 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 17.6, 20.1, 20.3, 26.5, 27.8, 32.1, 38.8, 42.2, 51.4, 71.1, 84.4, 124.0, 125.4, 125.6, 126.0, 126.0, 126.2, 126.8, 127.6, 128.4, 130.5, 130.6, 131.2, 135.8, 137.7, 140.1, 140.1, 140.6, 142.8, 142.8.

$\text{C}_{56}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{16}$ (1039.06), isotopenreine Masse: 1038.3535.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{56}\text{H}_{55}\text{N}_4\text{O}_{16}$: 1039.3613 gef.: 1039.3605.

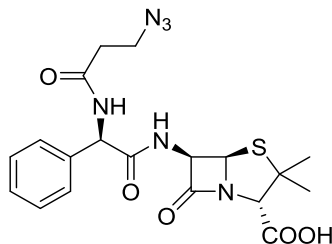
Verbindung 182



Zu einer Verbindung von 3-Brompropansäure (1.53 g, 10 mmol, 1 Äq.) in Wasser (20 mL) wurde Natriumazid (3.25 g, 50 mmol, 5 Äq.) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 4 d gerührt und vorsichtig mit Salzsäure auf $\text{pH} \approx 1$ angesäuert und mit Ethylacetat ($3 \times 330 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **182** als blassgelbes Öl (1.04 g, 9.00 mmol, 90%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.66 (t, $J = 6.3$, 2 H), 3.61 (t, $J = 6.5$, 2 H), 10.73 (s_{br}, 1 H).

Verbindung 183



Zu einer Lösung von Verbindung **182** (7.75 mg, 50 μ mol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (2 mL) wurden bei 0 °C *N*-Methylmorpholin (5.50 μ L, 5.06 mg, 50 μ mol, 1 Äq.) und Isobutylchlorformiat (6.36 μ L, 6.83 mg, 50 μ L, 1 Äq.) gegeben, woraufhin sich sofort ein weißer Niederschlag bildete. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von Ampicillin (11.2 mg, 55 μ mol, 1.1 Äq.) und Triethylamin (20.0 μ L, 14.5 mg, 144 μ mol, 2.87 Äq.) in Tetrahydrofuran (1 mL) und Wasser (0.2 mL) bei 0 °C zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Wasser (ca. 4 mL) aufgenommen und mit Salzsäure (1 M) auf pH \approx 2 angesäuert. Die resultierende Suspension wurde mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (15 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **183** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (13.3 mg, 29.8 μ mol, 60%) erhalten.

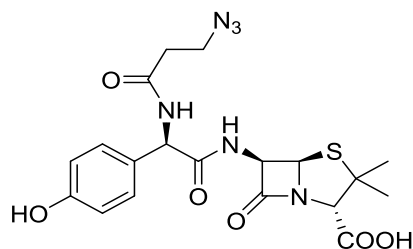
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.41 (s, 3 H), 1.56 (s, 3 H), 2.54 (td, J = 6.3, 2.3, 2 H), 3.46 – 3.55 (m, 2 H), 4.21 (s, 1 H), 5.40 (d, J = 4.0 Hz, 1 H), 5.52 (dd, J = 7.8, 4.0 Hz, 1 H), 5.77 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 7.24 – 7.29 (m, 1 H), 7.30 – 7.35 (m, 2 H), 7.43 (d, J = 7.3 Hz, 2 H), 8.73 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 9.16 (d, J = 7.9 Hz, 1 H), 13.32 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 26.6, 30.4, 34.2, 46.9, 55.4, 58.1, 63.7, 67.2, 70.3, 127.1, 127.5, 128.2, 138.1, 168.9, 169.3, 170.0, 173.4.

C₁₉H₂₂N₆O₅S (446.48), isotopenreine Masse: 446.1372.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₂₃N₆O₅S: 447.1451; gef.: 447.1445.

Verbindung 184



Zu einer Lösung von Verbindung **182** (233 mg, 1.50 mmol, 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (10 mL) wurden bei 0 °C *N*-Methylmorpholin (165 µL, 152 mg, 1.50 mmol, 1 Äq.) und Isobutylchlorformiat (191 µL, 205, mg, 1.50 µL, 1 Äq.) getropft, woraufhin sich sofort ein weißer Niederschlag bildete. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von Amoxicillin (603 mg, 1.65 mmol, 1.1 Äq.) und Triethylamin (627 µL, 455 mg, 4.50 mmol, 3 Äq.) in Tetrahydrofuran (5 mL) und Wasser (1 mL) bei 0 °C zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei 0 °C und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde der Rückstand in Eiswasser aufgenommen und mit Salzsäure (1 M) auf pH ≈ 2 angesäuert. Die resultierende Suspension wurde mit Ethylacetat (3 × 10 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Kochsalzlösung (30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **184** mittels automatischer präparativer Säulenchromatografie über eine Trennsäule mit C-18-Füllmaterial als weißer Feststoff (123 mg, 266 µmol, 18%) erhalten.

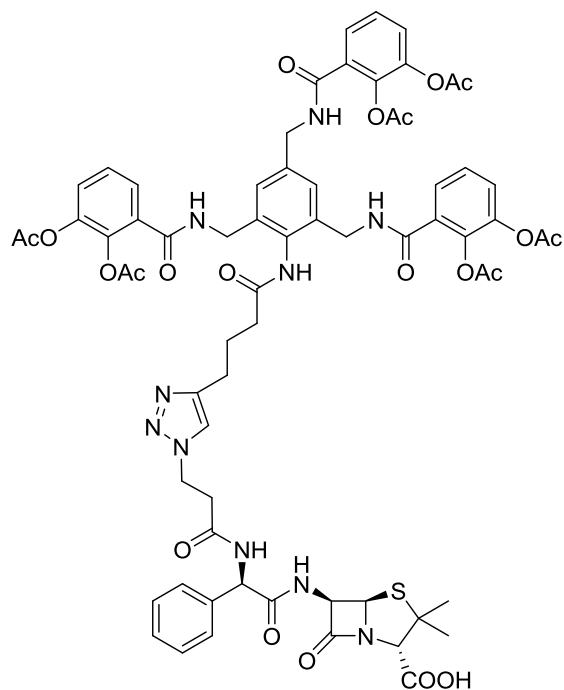
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.42 (s, 3 H), 1.56 (s, 3 H), 2.45 – 2.55 (m, 2 H), 3.45 – 3.54 (m, 2 H), 4.21 (s, 1 H), 5.39 (d, *J* = 4.1 Hz, 1 H), 5.52 (dd, *J* = 8.0, 4.1 Hz, 1 H), 5.60 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H), 6.66 – 6.71 (m, 2 H), 7.17 – 7.23 (m, 2 H), 8.57 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H), 8.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 9.37 (s_{br}, 1 H), 13.33 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 26.6, 30.3, 34.2, 46.9, 54.9, 80.0, 63.7, 67.2, 70.3, 114.9, 128.3, 128.3, 156.8, 168.9, 169.1, 170.5, 173.6.

C₁₉H₂₂N₆O₆S (462.48), isotopenreine Masse: 462.1322.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₂₃N₆O₆S: 463.1400; gef.: 463.1395.

Verbindung 185



Zu einer Lösung der Verbindungen **171** (18.7 mg, 20.0 μmol , 2 Äq.) und **183** (4.46 mg, 10.0 μmol , 1 Äq.) in Dimethylformamid (400 μL) und PBS (100 μL) wurde TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) gegeben. Eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (400 μg , 2.50 μmol , 0.25 Äq.) und Natriumascorbat (990 μg , 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Wasser (100 μL) wurde hinzugegeben. Dieser Schritt wurde nach 45 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt und die Lösung weitere 45 min gerührt. Anschließend wurde wiederum TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) zugegeben. Eine gleiche Menge der beschriebenen Mischung aus Kupfer(II)-sulfat und Natriumascorbat in Wasser (s.o.) wurde zugegeben. Dieser Schritt wurde nach 45 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt. Nach weiteren 45 min Rühren bei Raumtemperatur wurde Verbindung **185** durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (11.0 mg, 7.96 μmol , 80%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.40 (s, 3 H), 1.54 (s, 3 H), 1.89 – 1.95 (m, 2 H), 2.15 (s, 6 H), 2.16 (s, 3 H), 2.28 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 2.46 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 2.67

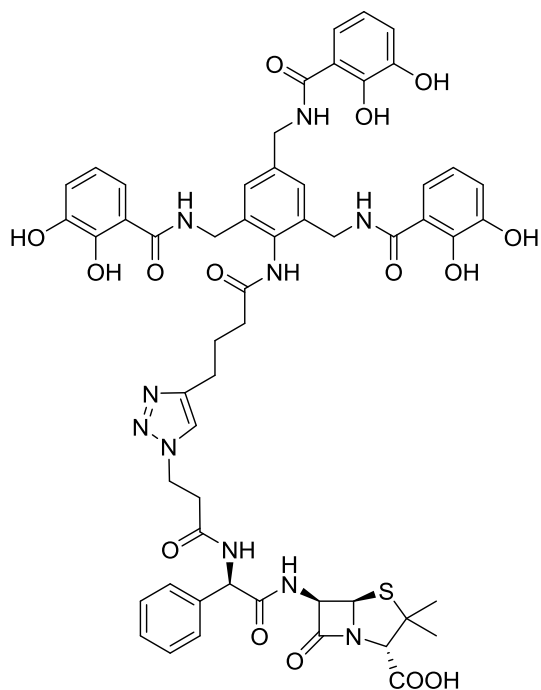
(t, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 2.79 – 2.85 (m, 1 H), 2.86 – 2.92 (m, 1 H), 4.17 (s, 1 H), 4.34 (s_{br}, 4 H), 4.38 (d, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 4.51 (td, $J = 13.7, 7.0$ Hz, 2 H), 5.38 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H), 5.50 (dd, $J = 7.8, 4.0$ Hz, 1 H), 5.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.21 (s, 2 H), 7.23 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.26 (t, $J = 7.2$ Hz, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.9$ Hz, 4 H), 7.33 – 7.39 (m, 5 H), 7.44 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1 H), 7.52 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 2 H), 7.76 (s, 1 H), 8.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 8.78 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 8.94 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 9.16 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 9.51 (s, 1 H), 13.30 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.1, 20.2, 20.3, 24.8, 25.1, 26.7, 30.4, 34.9, 35.2, 39.1, 42.2, 45.6, 55.4, 58.0, 63.8, 67.1, 69.8, 121.9, 124.6, 125.4, 125.5, 126.0, 126.0, 126.1, 126.2, 127.0, 127.5, 128.2, 130.6, 130.7, 131.8, 135.8, 137.5, 138.0, 140.1, 140.1, 142.8, 146.2, 164.5, 164.7, 167.8, 167.9, 168.3, 168.9, 168.9, 169.9, 171.5, 173.3.

C₆₇H₆₈N₁₀O₂₁S (1381.39), isotopenreine Masse: 1380.4281.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₆₇H₆₉N₁₀O₂₁S: 1381.4359; gef.: 1381.4366.

Verbindung 186



Zu einer Lösung der Verbindungen **172** (13.7 mg, 20.0 μmol , 2 Äq.) und **183** (4.46 mg, 10.0 μmol , 1 Äq.) in Dimethylformamid (400 μL) und PBS (100 μL) wurde TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) gegeben. Eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (400 μg , 2.50 μmol , 0.25 Äq.) und Natriumascorbat (990 μg , 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Wasser (100 μL) wurde hinzugegeben. Dieser Schritt wurde nach 45 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt und die Lösung wurde weitere 45 min gerührt. Anschließend wurde wiederum TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) zugegeben. Eine gleiche Menge der beschriebenen Mischung aus Kupfer(II)-sulfat und Natriumascorbat in Wasser (s.o.) wurde zugegeben. Dieser Schritt wurde nach 45 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt. Nach weiteren 45 min Rühren bei Raumtemperatur wurde Verbindung **186** durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (4.50 mg, 3.98 μmol , 40%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.40 (s, 3 H), 1.54 (s, 3 H), 1.88 – 1.94 (m, 2 H), 2.46 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 2.66 (t, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 2.79 – 2.84 (m, 1 H), 2.86 – 2.92

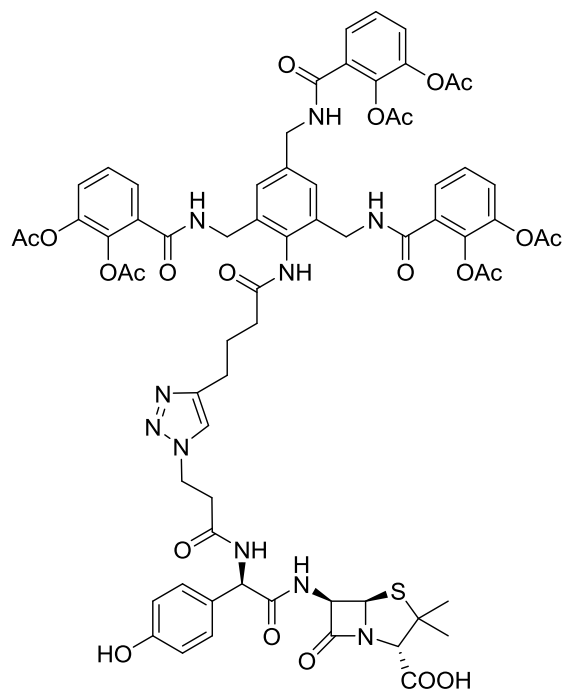
(m, 1 H), 4.19 (s, 1 H), 4.40 (d, $J = 5.8$, Hz, 2 H), 4.44 (s_{br}, 4 H), 4.47 – 4.55 (m, 2 H), 5.39 (d, $J = 4.0$ Hz, 1 H), 5.51 (dd, $J = 7.9$, 4.0 Hz, 1 H), 5.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 6.60 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 6.67 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 6.88 (dd, $J = 7.8$, 1.3 Hz, 1 H), 6.92 (dd, $J = 7.8$, 1.2 Hz, 2 H), 7.18 – 7.21 (m, 1 H), 7.20 (s, 2 H), 7.23 – 7.27 (m, 1 H), 7.27 – 7.31 (m, 4 H), 7.33 – 7.36 (m, 2 H), 7.75 (s, 1 H), 8.72 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 9.08 (s_{br}, 1 H), 9.13 – 9.18 (m, 5 H), 9.32 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 9.54 (s, 1 H), 12.52 (s, 2 H), 12.57 (s, 1 H), 13.32 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 24.8, 25.1, 26.6, 30.3, 34.8, 35.2, 38.9, 42.1, 45.6, 55.4, 58.1, 63.7, 67.2, 70.3, 114.9, 115.1, 117.1, 117.3, 117.9, 118.0, 118.8, 118.9, 121.9, 124.8, 127.0, 127.5, 128.1, 132.1, 135.9, 137.4, 138.0, 146.1, 146.2, 146.2, 149.5, 149.6, 168.9, 168.9, 169.7, 169.8, 169.9, 171.5, 173.3.

C₅₅H₅₆N₁₀O₁₅S (1129.17), isotopenreine Masse: 1128.3647.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₅₅H₅₇N₁₀O₁₅S: 1129.3726; gef.: 1129.3713.

Verbindung 187



Zu einer Lösung der Verbindungen **171** (28.0 mg, 30.0 μmol , 1.5 \AA q.) und **184** (9.25 mg, 20.0 μmol , 1 \AA q.) in Dimethylformamid (500 μL) wurde eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (800 μg , 5.00 μmol , 0.25 \AA q.) und Natriumascorbat (1.98 mg, 5.00 μmol , 0.5 \AA q.) in Wasser (50 μL) gegeben. Die Lösung wurde 30 min gerührt. Insgesamt wurde eine Mischung dieser Menge noch weitere drei Mal zugegeben, nach jeder Zugabe wurde 30 min gerührt. Verbindung **187** wurde anschließend durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (10.5 mg, 7.51 μmol , 38%) erhalten.

H-NMR (700 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.42 (s, 3 H), 1.56 (s, 3 H), 1.91 – 1.97 (m, 2 H), 2.16 (s, 6 H), 2.17 (s, 3 H), 2.29 (s, 3 H), 2.29 (s, 6 H), 2.47 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 2.68 (t, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 2.77 – 2.83 (m, 1 H), 2.83 – 2.88 (m, 1 H), 4.20 (s, 1 H), 4.35 (s_{br}, 4 H), 4.39 (d, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 4.47 – 4.51 (m, 2 H), 5.40 (d, $J = 4.0$ Hz, 1 H), 5.52 (dd, $J = 8.0$, 4.1 Hz, 1 H), 5.58 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 6.68 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.16 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.22 (s, 2 H), 7.24 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.31 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 7.35 (dd, $J = 8.1$, 1.5 Hz, 1 H), 7.38 (dd, $J = 8.1$, 1.5 Hz, 2 H), 7.45 (dd, $J = 7.8$, 1.4 Hz, 1 H), 7.53 (dd, $J = 7.7$,

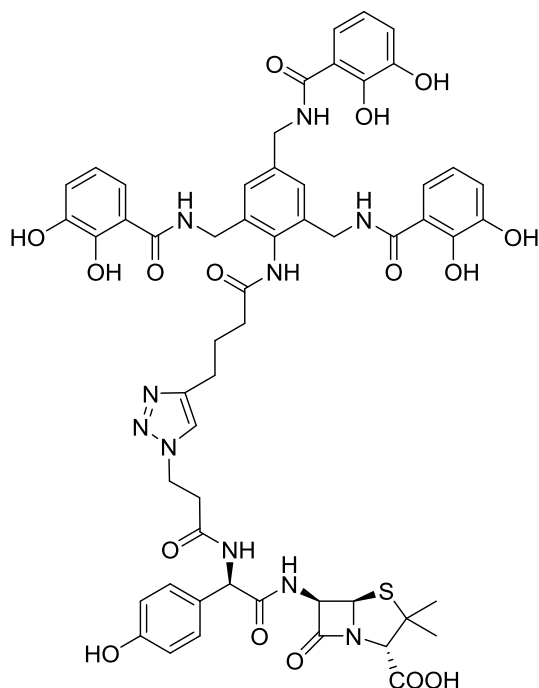
1.5 Hz, 2 H), 7.78 (s, 1 H), 8.59 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 8.79 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 8.95 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 9.02 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 9.38 (s, 1 H), 9.51 (s, 1 H), 13.30 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.1, 20.2, 20.3, 24.7, 25.1, 26.6, 30.2, 34.9, 35.2, 39.1, 42.2, 45.6, 55.0, 58.0, 63.7, 67.2, 70.3, 114.9, 121.9, 124.6, 125.4, 125.5, 126.0, 126.0, 126.1, 126.2, 128.1, 128.3, 130.6, 130.6, 131.8, 135.8, 137.5, 140.1, 140.1, 142.8, 146.2, 156.8, 164.5, 164.7, 167.8, 167.9, 168.3, 168.7, 168.9, 170.4, 171.5, 173.5.

C₆₇H₆₈N₁₀O₂₂S (1397.39), isotopenreine Masse: 1396.4230.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₆₇H₆₉N₁₀O₂₂S: 1397.4309; gef.: 1397.4285.

Verbindung 188



Zu einer Lösung der Verbindungen **172** (20.5 mg, 30.0 μmol , 1.5 \AA q.) und **184** (9.25 mg, 20.0 μmol , 1 \AA q.) in Dimethylformamid (500 μL) wurde eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (800 μg , 5.00 μmol , 0.25 \AA q.) und Natriumascorbat (1.98 mg, 5.00 μmol , 0.5 \AA q.) in Wasser (50 μL) gegeben. Die Lösung wurde 30 min gerührt. Insgesamt wurde eine Mischung dieser Menge noch weitere drei Mal zugegeben, nach jeder Zugabe wurde 30 min gerührt. Verbindung **188** wurde anschließend durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (8.50 mg, 7.42 μmol , 37%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.42 (s, 3 H), 1.56 (s, 3 H), 1.90 – 1.96 (m, 2 H), 2.47 (t, $J = 7.4$ Hz, 2 H), 2.67 (t, $J = 7.6$ Hz, 2 H), 2.77 – 2.83 (m, 1 H), 2.83 – 2.88 (m, 1 H), 4.19 (s, 1 H), 4.41 (d, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 4.44 (s_{br} , 4 H), 4.47 – 4.55 (m, 2 H), 5.40 (d, $J = 4.0$ Hz, 1 H), 5.52 (dd, $J = 8.0, 4.0$ Hz, 1 H), 5.88 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 6.61 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 6.68 (t, $J = 8.0$ Hz, 4 H), 6.89 (d, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 6.93 (d, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 7.15 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.21 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H), 7.21 (s, 2 H), 7.30 (d, $J = 7.7$ Hz, 2 H), 7.77 (s, 1 H), 8.59 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 9.01 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 9.09 (s_{br} , 1 H), 9.13 –

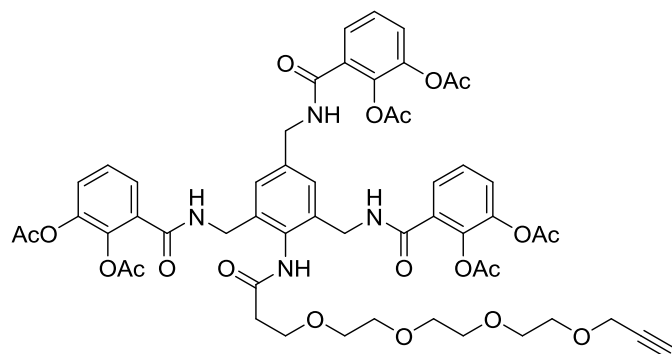
9.18 (m, 4 H), 9.33 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 9.38 (s, 1 H), 9.55 (s, 1 H), 12.53 (s, 2 H), 12.58 (s, 1 H), 13.23 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 24.7, 25.1, 26.6, 30.2, 34.8, 35.2, 39.1, 42.1, 45.6, 55.0, 58.0, 63.7, 67.2, 70.3, 114.9, 115.1, 117.1, 117.3, 117.9, 118.0, 118.8, 118.9, 121.9, 124.8, 128.1, 128.3, 132.1, 135.9, 137.4, 146.1, 146.2, 146.2, 149.5, 149.6, 156.8, 168.7, 168.9, 169.7, 169.8, 170.4, 171.5, 173.5.

C₅₅H₅₆N₁₀O₁₆S (1145.17), isotopenreine Masse: 1144.3596.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₅₅H₅₇N₁₀O₁₆S: 1145.3675; gef.: 1145.3663.

Verbindung 190



Zu einer Lösung von 4,7,10,13-Tetraoxa-15-hexadecinsäure (78.1 mg, 300 μmol , 3 Äq.) in Tetrahydrofuran (3 mL) wurden bei 0 °C *N*-Methylmorpholin (44.0 μL , 40.5 mg, 400 μmol , 4 Äq.) und Isobutylchlorformiat (32.0 μL , 34.1 mg, 250 μmol , 2.5 Äq.) getropft, woraufhin sich sofort ein weißer Niederschlag bildete. Die Reaktionsmischung wurde 10 min bei 0 °C und nach der Entfernung des Eisbads 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Verbindung **40** (100 μmol , 1 Äq.) in Tetrahydrofuran (1 mL) wurde bei 0 °C über einen Zeitraum von 5 min mit einer Spritzenpumpe zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt und mit Eis sowie gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gequenchet. Anschließend wurde mit Ethylacetat (3 \times 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (0.1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung (je 2 \times 10 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde Verbindung **190** durch Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff (14.5 mg, 13.4 μmol , 13% über zwei Stufen) erhalten.

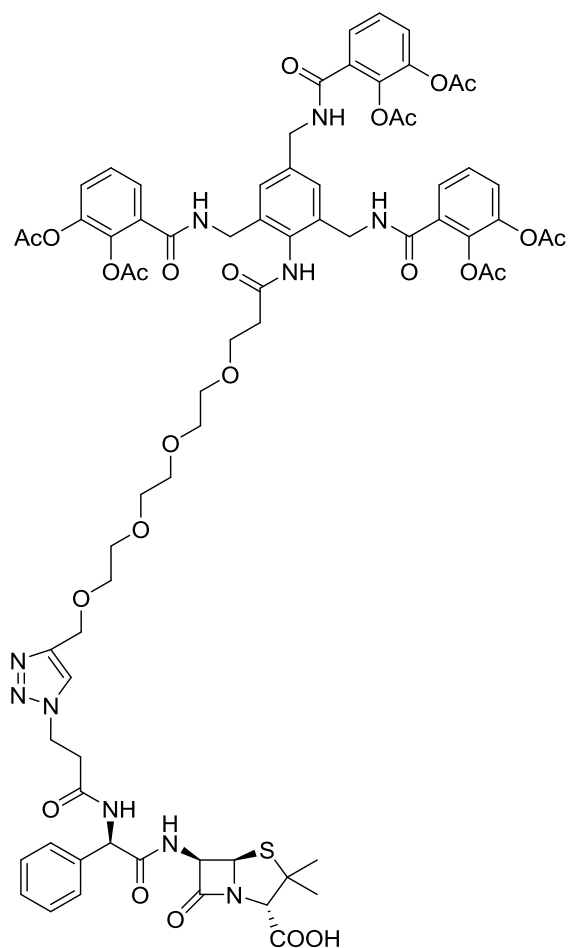
¹H-NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 2.16 (s, 3 H), 2.17 (s, 6 H), 2.28 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 2.62 (t, J = 6.2 Hz, 2 H), 3.41 (t, J = 2.4 Hz, 1 H), 3.46 – 3.54 (m, 12 H), 3.74 (t, J = 6.2 Hz, 2 H), 4.12 (d, J = 2.4 Hz, 2 H), 4.35 (s_{br}, 4 H) 4.38 (d, J = 5.9 Hz, 2 H), 7.20 (s, 2 H), 7.23 (t, J = 7.9 Hz, 1 H), 7.31 (t, J = 7.9 Hz, 2 H), 7.34 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1 H), 7.38 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 2 H), 7.44 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1 H), 7.52 (dd, J = 7.7, 1.5 Hz, 2 H), 8.74 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 8.94 (t, J = 6.0 Hz, 1 H), 9.56 (s, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.1, 20.2, 20.3, 36.4, 39.1, 42.2, 57.5, 67.0, 68.5, 69.4, 69.6, 69.6, 69.7, 69.7, 77.1, 80.3, 124.6, 125.4, 125.5, 126.0, 126.0, 126.1, 126.2, 130.6, 130.7, 131.8, 136.0, 137.6, 140.1, 142.8, 142.8, 164.5, 164.6, 167.8, 167.9, 168.3, 170.0.

C₅₄H₅₈N₄O₂₀ (1083.07), isotopenreine Masse: 1082.3644.

ESI-HRMS (*m/z*): [M + Na]⁺ ber. für C₅₄H₅₈N₄NaO₂₀: 1105.3542 gef.: 1105.3532.

Verbindung 191



Zu einer Lösung der Verbindungen **190** (10.8 mg, 10.0 μmol , 1.33 \AA q.) und **183** (3.30 mg, 7.50 μmol , 1 \AA q.) in Dimethylformamid (200 μL) wurde eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (200 μg , 1.25 μmol , 0.17 \AA q.) und Natriumascorbat (500 μg , 2.50 μmol , 0.33 \AA q.) in Wasser (50 μL) gegeben. Die Lösung wurde 30 min gerührt. Insgesamt wurde eine Mischung dieser Menge noch weitere drei Mal zugegeben, nach jeder Zugabe wurde 30 min gerührt. Verbindung **191** wurde anschließend durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (9.0 mg, 5.88 μmol , 78%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.41 (s, 3 H), 1.54 (s, 3 H), 2.16 (s, 3 H), 2.16 (s, 6 H), 2.28 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 2.61 (t, $J = 6.1$ Hz, 2 H), 2.81 – 2.93 (m, 2 H), 3.45 – 3.54 (m, 12 H), 3.73 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H), 4.18 (s, 1 H), 4.35 (s_{br} , 4 H) 4.38 (d, $J = 5.8$ Hz,

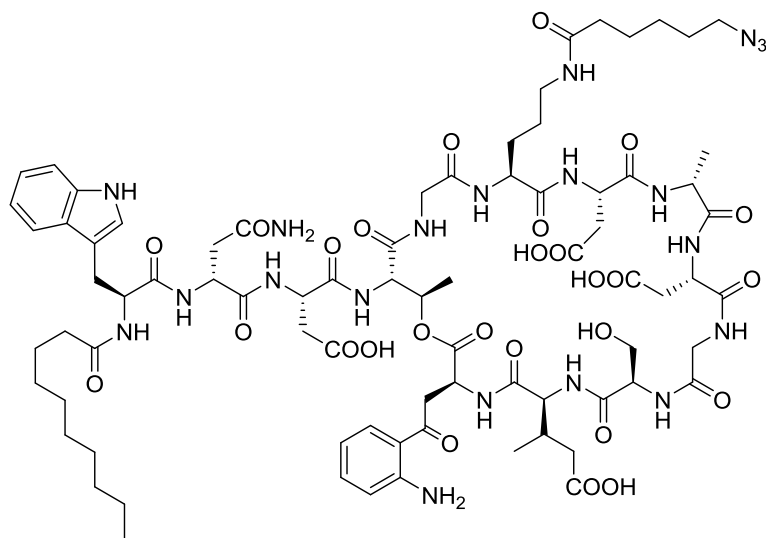
2 H), 4.47 (s, 2 H), 4.50 – 4.58 (m, 2 H), 5.38 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.50, (dd, $J = 7.8$, 4.0 Hz, 1 H), 5.72 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.20 (s, 2 H), 7.22 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.26 (t, $J = 7.2$ Hz, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.31 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 7.33 – 7.36 (m, 3 H), 7.37 (dd, $J = 8.1$, 1.4 Hz, 2 H), 7.44 (dd, $J = 7.7$, 1.3 Hz, 1 H), 7.52 (dd, $J = 7.7$, 1.4 Hz, 2 H), 7.96 (s, 1 H), 8.72 – 8.76 (m, 3 H), 8.94 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 9.16 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 9.58 (s, 1 H), 13.38 (s_{br}, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.1, 20.1, 20.3, 26.6, 30.4, 35.1, 36.4, 39.1, 42.2, 45.7, 55.4, 58.1, 63.4, 63.8, 67.0, 67.2, 68.9, 69.6, 69.6, 69.7, 69.8, 70.5, 123.9, 124.6, 125.4, 125.5, 126.6, 126.6, 126.1, 126.2, 127.0, 127.5, 128.2, 130.6, 130.7, 131.8, 136.0, 137.6, 137.9, 140.1, 142.8, 142.8, 143.7, 164.5, 164.6, 167.8, 167.9, 168.3, 168.8, 168.9, 169.9, 170.0, 173.3.

C₇₃H₈₀N₁₀O₂₅S (1529.55), isotopenreine Masse: 1528.5017.

ESI-HRMS (m/z): ($[M + 2 H]^{2+}/2$) ber. für C₇₃H₈₂N₁₀O₂₅S: 765.2587; gef.: 765.2588.

Verbindung 193



6-Azidohexansäure (24.3 mg, 154 μmol , 5 Äq.) und *N*-Hydroxysuccinimid (18.5 mg, 161 μmol , 5.2 Äq.) wurden für 20 min im Vakuum getrocknet und in Dichlormethan (2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde bei 0 °C Dicyclohexylcarbodiimid (33.1 mg, 161 μmol , 5.2 Äq.) gegeben. Nach der Entfernung des Eisbads wurde die Reaktionsmischung 3 h bei Raumtemperatur gerührt und über Celite filtriert. Zur so entstandenen Lösung wurden Pyridin (15.0 μL , 14.7 mg, 185 μmol , 6 Äq.) sowie Daptomycin (50.0 mg, 30.9 μmol , 1 Äq.) in Dimethylsulfoxid (4 mL) gegeben. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und nach der Zugabe von 1,4-Dioxan (40 mL) mit flüssigem Stickstoff gefroren und lyophilisiert. Verbindung **193** wurde durch Aufreinigung des resultierenden Feststoffs mittels HPLC als weißer Feststoff (23.6 mg, 13.4 μmol , 43%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H), 0.95 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H), 1.18 – 1.27 (m, 10 H), 1.23 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H), 1.27 – 1.32 (m, 3 H), 1.35 (d, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 1.36 – 1.41 (m, 2 H), 1.47 – 1.52 (m, 2 H), 1.55 – 1.64 (m, 6 H), 1.65 – 1.72 (m, 1 H), 1.82 – 1.89 (m, 1 H), 2.09 – 2.15 (m, 1 H), 2.15 – 2.22 (m, 4 H), 2.23 – 2.27 (m, 1 H), 2.29 – 2.36 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 2.43 (dd, $J = 15.6, 4.2$ Hz, 1 H), 2.49 – 2.59 (m, 3 H), 2.75 (dd, $J = 17.1, 8.7$ Hz, 1 H), 2.80 (dd, $J = 17.0, 7.5$ Hz, 1 H), 2.90 – 2.96 (m, 2 H), 3.12 (dd, $J = 14.4, 7.1$ Hz, 1 H), 3.18 – 3.25 (m, 3 H), 3.28 (t, $J = 6.9$ Hz,

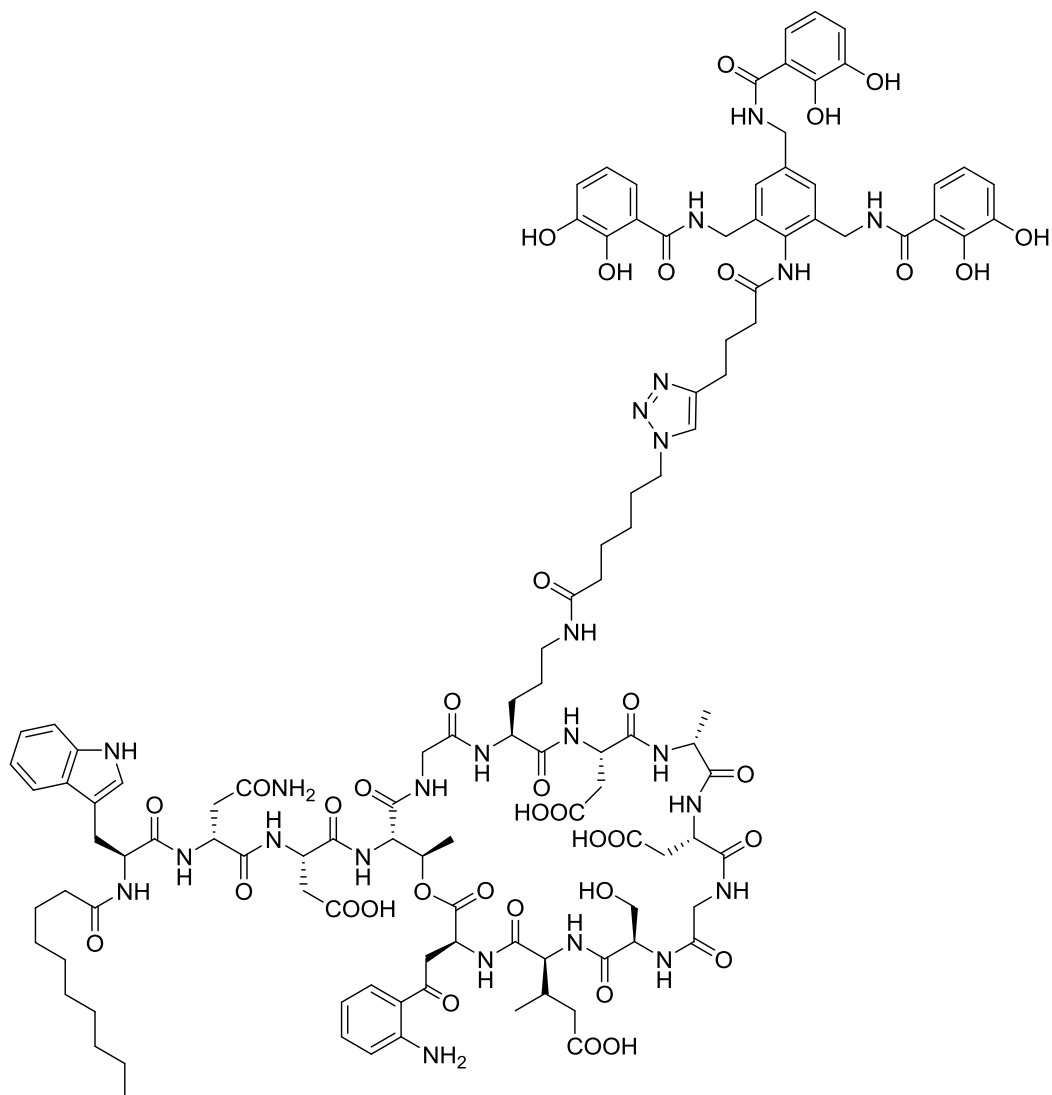
2 H), 3.49 (dd, $J = 17.7, 4.5$ Hz, 1 H), 3.70 (d, $J = 14.1$ Hz, 1 H), 3.74 – 3.80 (m, 2 H), 3.84 (d, $J = 16.9$ Hz, 1 H), 3.90 – 4.00 (m, 2 H), 4.17 (d, $J = 16.8$ Hz, 1 H), 4.23 (q, $J = 7.0$ Hz, 1 H), 4.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 4.48 ($J = 7.7$ Hz, 1 H), 4.59 (dt, $J = 12.2, 5.8$ Hz, 2 H), 4.62 – 4.64 (m, 1 H), 4.65 – 4.69 (m, 2 H), 4.78 – 4.81 (m, 1 H), 5.06 – 5.10 (m, 1 H), 5.33 – 5.37 (m, 1 H), 6.52 – 6.56 (m, 1 H), 6.70 (dd, $J = 8.4, 0.8$ Hz, 1 H), 6.97 – 7.01 (m, 1 H), 7.05 – 7.09 (m, 1 H), 7.14 (s, 1 H), 7.21 (ddd, $J = 8.4, 7.0, 1.4$ Hz, 1 H), 7.32 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.55 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H), 7.65 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 14.6, 15.7, 16.4, 17.3, 23.9, 26.7, 26.8, 26.9, 27.6, 28.3, 29.7, 29.8, 30.5, 30.6, 30.7, 33.2, 34.5, 36.2, 36.2, 36.4, 36.8, 37.0, 37.2, 39.5, 39.9, 42.7, 43.8, 44.3, 48.9, 49.8, 50.7, 51.2, 51.4, 51.9, 52.3, 52.5, 55.5, 56.4, 57.4, 57.7, 63.6, 72.1, 110.8, 112.5, 116.6, 118.0, 118.5, 119.5, 120.0, 122.6, 125.0, 128.9, 132.5, 136.3, 138.1, 152.9, 171.0, 171.6, 171.8, 172.3, 172.4, 172.7, 172.9, 173.4, 173.8, 173.8, 173.9, 174.2, 174.2, 174.4, 174.9, 175.1, 175.8, 176.2, 176.2, 176.6, 200.6.

$\text{C}_{78}\text{H}_{110}\text{N}_{20}\text{O}_{27}$ (1759.85), isotopenreine Masse: 1758.7849.

ESI-HRMS (m/z): ($[M + 2\text{H}]^{2+}/2$) ber. für $\text{C}_{78}\text{H}_{112}\text{N}_{20}\text{O}_{27}$: 880.4003; gef.: 880.4005.

Verbindung 194



Zu einer Lösung der Verbindungen **172** (11.6 mg, 17.0 μmol , 2 Äq.) und **193** (15.0 mg, 8.50 μmol , 1 Äq.) in Dimethylformamid (1 mL) und Wasser (300 μL) wurde eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (680 μg , 4.25 μmol , 0.5 Äq.) und Natriumascorbat (1.69 mg, 8.50 μmol , 1 Äq.) in Wasser (50 μL) gegeben. Die Lösung wurde 30 min gerührt. Insgesamt wurde eine Mischung dieser Menge noch weitere drei Mal zugegeben, nach jeder Zugabe wurde 30 min gerührt. Verbindung **194** wurde anschließend durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (16.9 mg, 6.93 μmol , 82%) erhalten.

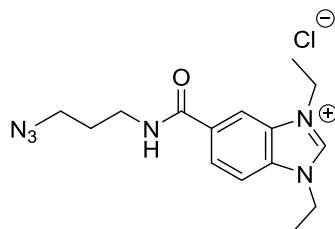
¹H-NMR (700 MHz, Methanol-d₄): δ [ppm] = 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H), 0.94 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H), 1.15 – 1.31 (m, 18 H), 1.33 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H), 1.45 – 1.51 (m, 2 H), 1.51 – 1.55 (m, 1 H), 1.55 – 1.61 (m, 3 H), 1.63 – 1.69 (m, 1 H), 1.79 – 1.87 (m, 3 H), 1.99 – 2.05 (m, 2 H), 2.09 – 2.19 (m, 5 H), 2.22 – 2.26 (m, 1 H), 2.35 (s_{br}, 1 H), 2.43 (dd, *J* = 15.7, 4.3 Hz, 1 H), 2.49 – 2.60 (m, 5 H), 2.71 – 2.82 (m, 4 H), 2.89 (dd, *J* = 17.1, 4.7 Hz, 1 H), 2.94 (dd, *J* = 17.0, 5.9 Hz, 1 H), 3.12 (dd, *J* = 14.3, 7.2 Hz, 1 H), 3.16 (t, *J* = 7.0 Hz, 2 H), 3.22 (dd, *J* = 114.2, 7.9 Hz, 1 H), 3.47 (dd, *J* = 17.6, 4.3 Hz, 1 H), 3.68 (d, *J* = 14.7 Hz, 1 H), 3.74 – 3.79 (m, 2 H), 3.87 (t, *J* = 15.1 Hz, 2 H), 3.94 (d, *J* = 16.9 Hz, 1 H), 4.13 (d, *J* = 18.2 Hz, 1 H), 4.22 (q, *J* = 7.0 Hz, 1 H), 4.28 – 4.34 (m, 3 H), 4.47 (t, *J* = 7.6 Hz, 1 H), 4.51 – 4.58 (m, 7 H), 4.60 (t, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.62 – 4.67 (m, 3 H), 4.77 – 4.80 (m, 1 H), 5.04 – 5.09 (m, 1 H), 5.32 – 5.37 (m, 1 H), 6.53 (t, *J* = 7.6 Hz, 1 H), 6.55 (t, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.68 (t, *J* = 7.9 Hz, 3 H), 6.90 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1 H), 6.92 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 2 H), 6.98 (t, *J* = 7.2 Hz, 1 H), 7.06 (t, *J* = 7.6 Hz, 1 H), 7.13 (s, 1 H), 7.15 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1 H), 7.18 (dd, *J* = 8.1, 1.1 Hz, 2 H), 7.19 – 7.22 (m, 1 H), 7.31 (d, *J* = 7.6 Hz, 1 H), 7.38 (s, 2 H), 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 1 H), 7.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 7.65 (s, 1 H).

¹³C-NMR (176 MHz, Methanol-d₄): δ [ppm] = 14.6, 15.7, 16.5, 17.4, 23.9, 26.0, 26.4, 26.6, 26.8, 26.9, 27.1, 28.3, 29.7, 30.5, 30.6, 30.7, 31.1, 33.2, 34.5, 36.4, 36.5, 36.8, 37.0, 39.5, 39.9, 41.1, 42.6, 43.6, 43.8, 44.3, 48.9, 49.9, 50.8, 51.1, 51.3, 51.4, 51.9, 52.4, 55.5, 56.6, 57.4, 57.8, 63.5, 72.2, 110.8, 112.5, 116.6, 116.7, 116.7, 118.1, 118.5, 118.8, 118.9, 119.5, 119.8, 119.9, 120.0, 122.6, 123.6, 125.0, 128.4, 128.9, 132.5, 133.9, 136.2, 137.6, 138.1, 140.1, 147.4, 147.5, 148.5, 150.5, 152.8, 171.0, 171.6, 171.7, 171.8, 171.9, 172.3, 172.5, 172.7, 173.0, 173.4, 173.8, 174.0, 174.3, 174.4, 174.9, 175.1, 175.7, 175.8, 176.1, 176.3, 176.6, 200.6.

C₁₁₄H₁₄₄N₂₄O₃₇ (2442.54), isotopenreine Masse: 2441.0124.

ESI-HRMS (*m/z*): ([*M* + 2 H]²⁺/2) ber. für C₁₁₄H₁₄₆N₂₄O₃₇: 1222.0157; gef.: 1222.0159.

Verbindung 197



Zu einer Lösung von 5-Carboxy-1,3-diethyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-3-iumchlorid (50%, 255 mg, 500 μ mol, 1 Äq.) und Diisopropylethylamin (255 μ L, 194 mg, 1.50 mmol, 3 Äq.) in Dimethylformamid (4 mL) wurden bei 0 °C EDCI (144 mg, 750 μ mol, 1.5 Äq.) und Oxyma (107 mg, 750 μ mol, 1.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 3 h gerührt. Anschließend wurde 3-Azido-1-Propanamin (73.6 μ L, 75.1 mg, 750 μ mol, 1.5 Äq.) bei 0 °C hinzugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Eis gequencht, mit Salzsäure (2 M) auf pH \approx 5 angesäuert und nach der Zugabe von Wasser (ca. 10 mL) mit flüssigem Stickstoff gefroren und lyophilisiert. Aus dem Lyophilisat wurde Verbindung **197** mittels automatischer präparativer Säulenchromatografie über eine Trennsäule mit C18-Füllmaterial als bernsteinfarbener Feststoff (142 mg, 422 μ mol, 84%) erhalten.

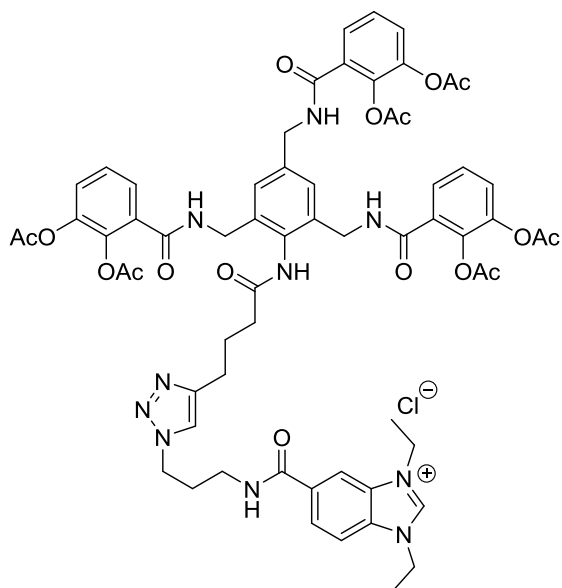
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.55 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 1.58 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 2.02 (p, J = 5.5 Hz, 2 H), 3.40 (q, 12.5, J = 6.7 Hz, 2 H), 3.45 (t, J = 6.7 Hz, 2 H), 4.53 (dq, J = 7.3 Hz), 8.17 (s, 1 H), 8.17 (s, 1 H), 8.61 (s, 1 H), 8.95 (t, J = 5.5 Hz, 1 H), 9.95 (s, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 14.1, 14.2, 28.3, 36.9, 42.2, 42.2, 48.5, 113.0, 113.5, 125.5, 139.8, 132.6, 132.7, 143.3, 165.0.

C₁₅H₂₁ClN₆O (336.82), isotopenreine Masse: 336.465.

ESI-HRMS (m/z): [M]⁺ ber. für C₁₅H₂₁N₆O: 301.1771; gef.: 301.1773.

Verbindung 198



Zu einer Lösung der Verbindungen **171** (18.7 mg, 20.0 μmol , 1 Äq.) und **197** (10.1 mg, 30.0 μmol , 1.5 Äq.) in Dimethylformamid (400 μL) wurde TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) gegeben. Eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (800 μg , 5.00 μmol , 0.25 Äq.) und Natriumascorbat (1.98 mg, 10.0 μmol , 0.5 Äq.) in Wasser (50 μL) wurde hinzugegeben. Dieser Schritt wurde nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt und die Lösung weitere 30 min gerührt. Anschließend wurde wiederum TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) zugegeben. Eine gleiche Menge der beschriebenen Mischung aus Kupfer(II)-sulfat und Natriumascorbat in Wasser (s.o.) wurde zugegeben. Dieser Schritt wurde nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt. Nach weiteren 30 min Rühren bei Raumtemperatur wurde Verbindung **198** durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (10.9 mg, 8.57 μmol , 43%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.50 – 1.58 (m, 6 H), 1.91 – 1.97 (m, 2 H), 2.11 – 2.14 (m, 2 H), 2.15 (s, 6 H), 2.16 (s, 3 H), 2.28 (s, 3 H), 2.28 (s, 6 H), 2.46 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 2.69 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 3.32 – 3.37 (m, 2 H), 4.34 (s_{br}, 4 H), 4.38 (d, $J = 5.7$ Hz, 2 H), 4.41 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H), 4.48 – 4.55 (m, 4 H), 7.21 (s, 2 H), 7.23 (d,

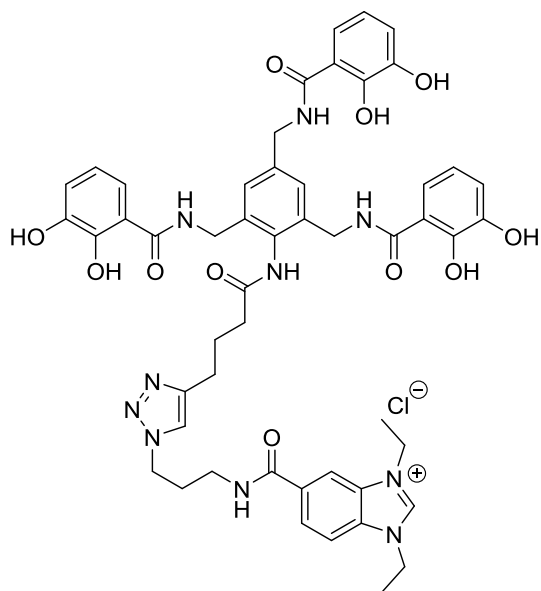
$J = 8.0$ Hz, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 7.35 (dd, $J = 8.2$, 1.4 Hz, 1 H), 7.39 (dd, $J = 8.1$, 1.3 Hz, 2 H), 7.44 (dd, $J = 7.7$, 1.2 Hz, 1 H), 7.52 (dd, $J = 7.7$, 1.2 Hz, 2 H), 7.93 (s, 1 H), 8.10 – 8.16 (m, 2 H), 8.50 (s, 1 H), 8.79 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H), 8.82 – 8.87 (m, 1 H), 8.95 (t, $J = 5.7$ Hz, 1 H), 9.53 (s, 1 H), 9.84 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 14.1, 14.2, 20.1, 20.2, 20.3, 24.8, 25.1, 29.8, 34.8, 37.0, 39.2, 42.2, 42.2, 47.2, 112.9, 113.5, 122.0, 124.6, 125.4, 125.5, 126.0, 126.0, 126.1, 126.2, 130.6, 130.6, 130.8, 131.8, 132.6, 132.7, 135.8, 137.5, 140.1, 140.1, 142.8, 143.3, 146.4, 164.6, 164.7, 165.1, 167.8, 167.9, 168.3, 171.4.

$\text{C}_{63}\text{H}_{67}\text{ClN}_{10}\text{O}_{17}$ (1271.73), isotopenreine Masse: 1270.4374.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M}]^+$ ber. für $\text{C}_{63}\text{H}_{67}\text{N}_{10}\text{O}_{17}$: 1235.4680; gef.: 1235.4673.

Verbindung 199



Zu einer Lösung der Verbindungen **172** (13.7 mg, 20.0 μmol , 1 Äq.) und **197** (10.1 mg, 30.0 μmol , 1.5 Äq.) in Dimethylformamid (400 μL) wurde TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) gegeben. Eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (800 μg , 5.00 μmol , 0.25 Äq.) und Natriumascorbat (1.98 mg, 10.0 μmol , 0.5 Äq.) in Wasser (50 μL) wurde hinzugegeben. Dieser Schritt wurde nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt und die Lösung weitere 30 min gerührt. Anschließend wurde wiederum TBTA (2.65 mg, 5.00 μmol , 0.5 Äq.) in Dimethylformamid (50 μL) zugegeben. Eine gleiche Menge der beschriebenen Mischung aus Kupfer(II)-sulfat und Natriumascorbat in Wasser (s.o.) wurde zugegeben. Dieser Schritt wurde nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wiederholt. Nach weiteren 30 min Rühren bei Raumtemperatur wurde Verbindung **199** durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (9.6 mg, 9.42 μmol , 47%) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 1.56 (t, J = 7.2 Hz, 3 H), 1.59 (t, J = 7.3 Hz, 3 H), 2.03 – 2.07 (m, 2 H), 2.21 – 2.26 (m, 2 H), 2.53 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 2.79 (t, J = 7.1 Hz, 2 H), 3.38 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 4.34 (dd, J = 13.4, 6.4 Hz, 2 H), 4.44 (dd, J = 14.4, 7.1 Hz, 2 H), 4.49 (s_{br}, 4 H), 4.50 – 4.53 (m, 2 H), 4.59 (m, 2 H), 6.60 (t,

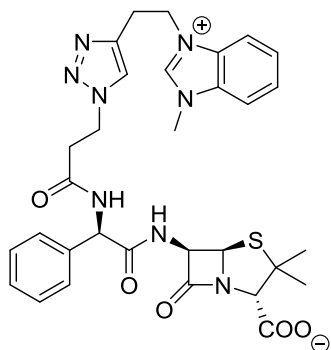
$J = 8.0$ Hz, 2 H), 6.67 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 6.85 (dd, $J = 7.8, 1.1$ Hz, 2 H), 6.92 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1 H), 7.07 (dd, $J = 8.1, 1.1$ Hz, 2 H), 7.18 (dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, 1 H), 7.42 (s, 2 H), 7.76 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H), 7.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (176 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 14.6, 14.6, 25.8, 26.2, 30.8, 35.9, 38.3, 41.1, 43.6, 43.9, 44.1, 49.1, 113.9, 114.5, 116.6, 116.9, 118.8, 118.9, 119.7, 119.8, 119.9, 124.2, 127.2, 128.4, 132.6, 134.0, 134.5, 134.6, 137.9, 140.2, 147.4, 147.5, 148.4, 150.4, 150.5, 168.3, 171.5, 171.8, 175.6.

$\text{C}_{51}\text{H}_{55}\text{ClN}_{10}\text{O}_{11}$ (1019.51), isotopenreine Masse: 1018.3740.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M}]^+$ ber. für $\text{C}_{51}\text{H}_{55}\text{N}_{10}\text{O}_{11}$: 983.4046; gef.: 983.4054.

Verbindung 202



Eine Lösung von 3-(But-3-in-1-yl)-1-methyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-3-iumbromid (13.3 mg, 50.0 μ mol, 1 Äq.) in Dimethylformamid (500 μ L) wurde zu Verbindung **183** (22.3 mg, 50.0 μ mol, 1 Äq.) gegeben. Zu dieser Lösung wurde TBTA (5.31 mg, 10.0 μ mol, 0.2 Äq.) in Dimethylformamid (100 μ L) gegeben. Eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (800 μ g, 5.00 μ mol, 0.1 Äq.) und Natriumascorbat (5.95 mg, 25.0 μ mol, 0.5 Äq.) in Wasser (100 μ L) wurde hinzugegeben. Dieser Schritt wurde nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wiederholt und die Lösung wurde wiederum 1 h gerührt. Verbindung **202** wurde durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (19.1 mg, 30.3 μ mol, 61%) erhalten.

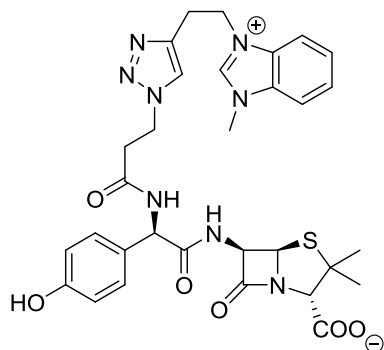
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.39 (s, 3 H), 1.51 (s, 3 H), 2.82 (t, J = 6.6 Hz, 2 H), 3.28 (t, J = 6.9 Hz, 2 H), 3.97 (s, 1 H), 4.06 (s, 3 H), 4.51 (t, J = 6.7 Hz, 2 H), 4.78 (t, J = 6.9 Hz, 2 H), 5.28 (d, J = 3.9 Hz, 1 H), 5.38 (dd, J = 7.9, 3.9 Hz, 1 H), 5.71 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.20 – 7.33 (m, 3 H), 7.35 – 7.44 (m, 2 H), 7.64 – 7.71 (m, 2 H), 7.85 (s, 1 H), 7.97 – 8.04 (m, 2 H), 8.75 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 9.03 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 9.63 (s, 1 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 25.0, 27.1, 31.0, 33.2, 35.1, 45.7, 46.1, 55.6, 57.6, 64.2, 66.8, 72.6, 113.4, 113.6, 123.2, 126.4, 126.5, 127.1, 127.6, 128.2, 130.8, 131.7, 137.9, 142.1, 142.8, 168.9, 169.0, 170.0, 172.8.

C₃₁H₃₄N₈O₅S (630.72), isotopenreine Masse: 630.2373.

ESI-HRMS (m/z): [M + H]⁺ ber. für C₃₁H₃₅N₈O₅S: 631.2451; gef.: 631.2445.

Verbindung 203



Eine Lösung von 3-(But-3-in-1-yl)-1-methyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-3-iumbromid (13.3 mg, 50.0 μmol , 1 Äq.) in Dimethylformamid (500 μL) wurde zu Verbindung **184** (23.1 mg, 50.0 μmol , 1 Äq.) gegeben. Zu dieser Lösung wurde TBTA (5.31 mg, 10.0 μmol , 0.2 Äq.) in Dimethylformamid (100 μL) gegeben. Eine Mischung aus Kupfer(II)-sulfat (800 μg , 5.00 μmol , 0.1 Äq.) und Natriumascorbat (5.95 mg, 25.0 μmol , 0.5 Äq.) in Wasser (100 μL) wurde hinzugegeben. Dieser Schritt wurde nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wiederholt und die Lösung wurde wiederum 1 h gerührt. Verbindung **203** wurde durch Aufreinigung der Reaktionslösung mittels HPLC als weißer Feststoff (7.90 mg, 12.2 μmol , 24%) erhalten.

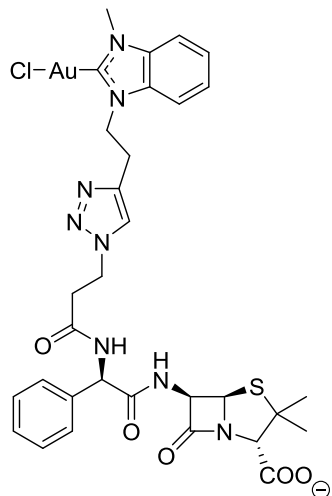
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.39 (s, 3 H), 1.50 (s, 3 H), 2.78 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 3.25 – 3.30 (m, 2 H), 3.86 (s, 1 H), 4.06 (s, 3 H), 4.50 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H), 4.77 (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H), 5.25 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H), 5.34 (dd, $J = 8.1, 3.8$ Hz, 1 H), 5.54 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 6.69 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.14 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.65 – 7.70 (m, 2 H), 7.84 (s, 1 H), 7.98 – 8.03 (m, 2 H), 8.60 (d, $J = 7.7$ Hz, 1 H), 9.03 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 9.61 (s, 1 H), 9.80 (s_{br} , 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 25.1, 27.4, 31.1, 33.2, 35.2, 45.8, 46.1, 55.2, 57.2, 64.3, 66.7, 73.6, 113.5, 113.6, 114.9, 123.3, 126.4, 126.6, 127.8, 128.4, 130.9, 131.7, 142.1, 142.8, 157.1, 168.7, 168.9, 170.5, 172.8.

$\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}$ (646.72), isotopenreine Masse: 646.2322.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}$: 647.2400; gef.: 647.2395.

Verbindung 204

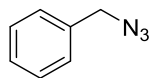


Verbindung **202** (1.89 mg, 3.00 μmol , 1 Äq.) wurde mit Silber(I)-oxid (418 μg , 1.80 μmol , 0.6 Äq.) über Nacht in Dimethylformamid (300 μL) gerührt. *Chlor(dimethylsulfid)gold(I)* (972 μg , 3.30 μmol , 1.1 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktionslösung 2 d gerührt. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde die Zersetzung des Edukts festgestellt.

Variante ohne die Zugabe von Silber(I)-oxid:

Eine Mischung von Verbindung **202** (1.89 mg, 3.00 μmol , 1 Äq.), Kaliumcarbonat (1.24 mg, 9.00 μmol , 3 Äq.), *Chlor(dimethylsulfid)gold(I)* (884 μg , 3.00 μmol , 1 Äq.) und Molekularsieb (3 Å) in Aceton (300 μL) wurde in einem druckversiegelten Glasvial 4 h bei 60 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde über Celite filtriert und im Vakuum getrocknet. Verbindung **204** konnte nicht nachgewiesen werden.

Benzylazid

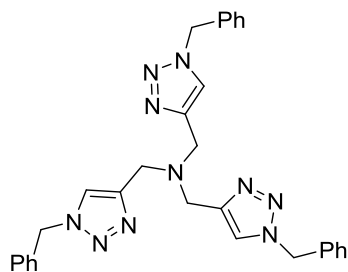


Eine Mischung von Benzylbromid (2.57 g, 15.0 mmol, 1 Äq.) und Natriumazid (1.30 g, 20.0 mmol, 1.33 Äq.) in Dimethylformamid (15 mL) wurde in einem druckversiegelten Glasvial auf 80 °C erhitzt über Nacht gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Wasser sowie Ethylacetat (je 25 mL) versetzt. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Ethylacetat (10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (2 × 25 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (3 × 25 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels und der Trocknung im Vakuum wurde das erhaltene Benzylazid (1.84 g, 13.8 mmol, 92%) ohne weitere Aufreinigung für die Synthese von TBTA eingesetzt.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 4.45 (s, 2 H), 7.33 – 7.44 (m, 5 H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 53.6, 128.1, 128.4, 128.7, 135.6.

Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin (TBTA)



Zu einer kräftig gerührten Mischung von Kupfer(II)-acetat-Monohydrat (16.2 mg, 81.1 μmol , 0.02 Äq.) in Acetonitril (11 mL) wurde eine Lösung von Tripropargylamin (574 μL , 532 mg, 4.06 mmol, 1 Äq.) und Benzylazid (918 mg, 6.89 mmol, 1.7 Äq.) in Acetonitril (2 mL) sowie Natriumascorbat (16.1 mg, 81.1 μmol , 0.02 Äq.) in Wasser (1 mL) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei Raumtemperatur und 5 h bei 45 °C gerührt. Nach einer weiteren Zugabe von Benzylazid (918 mg, 6.89 mmol, 1.7 Äq.) wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei 45 °C gerührt und eingeeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan (25 mL) und Ammoniakwasser (30%, 15 mL) aufgenommen und die Mischung 15 min kräftig gerührt. Nach der Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit Dichlormethan (2 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer Mischung (2 \times 40 mL) aus gleichen Teilen an Ammoniakwasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mittels säulenchromatografischer Aufreinigung (PE/EA 1:2 \rightarrow 0:1, DCM/MeOH 10:1) des Rückstands TBTA als weißer Feststoff (950 mg, 1.79 mmol, 44%) erhalten.

DC $R_f = 0.09$ (EA)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2): δ [ppm] = 3.66 (s, 6 H), 5.50, (s, 6 H), 7.23 – 7.28 (m, 6 H), 7.31 – 7.39 (m, 9 H), 7.63 (s, 3 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_2Cl_2): δ [ppm] = 47.7, 54.5, 124.2, 128.5, 129.0, 129.5, 135.9, 145.0.

$\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_{10}$ (530.64), isopenreine Masse: 530.2655.

ESI-HRMS (m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_{10}$: 531.2733; gef.: 531.2727.

Komplexierung der Verbindungen 158 und 162

Der Siderophor (40 μmol , 1 Äq.) wurde in Natronlauge (25 – 30 mL, pH = 11) gelöst. Diese Lösung wurde langsam zu einer Lösung von Eisen(III)-chlorid (6.49 mg, 40 μmol , 1 Äq.) in Wasser (10 mL) gegeben. Die entstandene violette Mischung wurde vorsichtig mit Natronlauge auf einen pH-Wert von 11 eingestellt. Die tiefrote Lösung wurde anschließend lyophilisiert.

6 Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
Ac	Acetyl
ACN	Acetonitril
Amox	Amoxicillin
Amp	Ampicillin
ATP	Adenosintriphosphat
Bq	Becquerel
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
CAN	Cer(IV)-ammoniumnitrat
CAS	Chromazurol S
Cef	Cefiderocol
CuAAC	Cu(I)-katalysierte Alkin-Azid-Cycloaddition
d	Tag (<i>day</i>)
Dapto	Daptomycin
DBS	2,3-Dihydroxybenzoyl-L-serin
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOTAM	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraacetamid
EA	Ethylacetat
EDCI	3-(Ethyliminomethylidenamino)- <i>N,N</i> -dimethyl-propan-1-amin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESI	Elektronensprayionisation

ESR	Elektronenspinresonanz
Et	Ethyl
h	Stunde
HATU	1-[bis(Dimethylamin)methylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol[4,5- <i>b</i>]pyridinium-3-oxid-hexafluorophosphat
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
Hz	Hertz
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
<i>m/z</i>	Verhältnis "Masse-zu-Ladung"
M	Molekülion
M	Molar
Me	Methyl
MECAM	1,3,5-Tris(<i>N,N',N'</i> -2,3-dihydroxybenzoyl)aminomethylbenzol
MeOH	Methanol
MHB	<i>Mueller-Hinton broth</i>
min	Minute
MS	Massenspektrometrie
mw	Mikrowelle
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NHC	<i>N</i> -heterocyclische Carbene
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NRPS	nicht-ribosomale Peptidsynthetasen
OD	Optische Dichte
OMR	<i>Outer membrane receptor</i>
PBP	<i>periplasmatic binding protein</i>
PE	Petrolether
Ph	Phenyl

PEG	Polyethylenglykol
PBS	<i>phosphate-buffered saline</i>
ppm	<i>parts per million</i>
pTsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
quant	quantitativ
R_f	Retentionsfaktor für DC (<i>ratio of front</i>)
rt	Raumtemperatur
T	Temperatur
TBTA	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin
TEBAC	Triethylbenzylammoniumchlorid
TFA	Trifluoressigsäure (<i>trifluoroacetic acid</i>)
THF	Tetrahydrofuran
TMOF	Trimethylorthoformiat
TrxR	Thioredoxinreduktase
TSY	<i>trypticase soy yeast</i>
WT	Wildtyp (<i>wild type</i>)

7 Literaturverzeichnis

- [1] M. Achtman, *Proc Biol Sci*, **2016**, 283.
- [2] M. A. Spyrou, R. I. Tukhbatova, C. C. Wang, A. A. Valtuena, A. K. Lankapalli, V. V. Kondrashin, V. A. Tsybin, A. Khokhlov, D. Kuhnert, A. Herbig, K. I. Bos, J. Krause, *Nat Commun*, **2018**, 9, 2234.
- [3] K. I. Mohr, *Curr Top Microbiol Immunol*, **2016**, 398, 237 – 272.
- [4] B. Gosio, E. Ferrati, *Gior d r Accad di med di Torino*, **1893**, 61, 484 – 487.
- [5] P. Ehrlich, A. Bertheim, *Ber Dt Chem Ges*, **1912**, 45, 756 – 766.
- [6] B. Ribeiro da Cunha, L. P. Fonseca, C. R. C. Calado, *Antibiotics* **2019**, 8.
- [7] K. C. Nicolaou, S. Rigol, *J Antibiot*, **2018**, 71, 153 – 184.
- [8] A. Fleming, *Br J Exp Pathol*, **1929**, 10, 226 – 236.
- [9] G. Domagk, *DMW*, **1935**, 61, 250 – 253.
- [10] S. Rachakonda, L. Cartee, *Curr Med Chem*, **2004**, 11, 775 – 793.
- [11] S. Chakradhar, *Nat Med*, **2017**, 23, 907 – 910.
- [12] K. M. O'Connell, J. T. Hodgkinson, H. F. Sore, M. Welch, G. P. Salmond, D. R. Spring, *Angew Chem Int Ed*, **2013**, 52, 10706 – 10733.
- [13] M. E. Bunnage, A. M. Gilbert, L. H. Jones, E. C. Hett, *Nat Chem Biol*, **2015**, 11, 368 – 372.
- [14] R. Tommasi, R. Iyer, A. A. Miller, *ACS Infect Dis*, **2018**, 4, 686 – 695.
- [15] D. Liotta, G. Painter, *ACS Med Chem Lett*, **2018**, 9, 403 – 407.
- [16] D. C. Blakemore, L. Castro, I. Churcher, D. C. Rees, A. W. Thomas, D. M. Wilson, A. Wood, *Nat Chem*, **2018**, 10, 383 – 394.
- [17] G. Traverso, A. R. Kirtane, C. M. Schoellhammer, R. Langer, *Angew Chem Int Ed*, **2018**, 57, 4156 – 4163.
- [18] P. Klahn, M. Brönstrup, *Curr Top Microbiol Immunol*, **2016**, 398, 365 – 417.
- [19] M. Lakemeyer, W. Zhao, F. A. Mandl, P. Hammann, S. A. Sieber, *Angew Chem Int Ed*, **2018**, 57, 14440 – 14475.
- [20] G. D. Wright, *Curr Opin Microbiol*, **2019**, 51, 57 – 63.
- [21] S. E. Rossiter, M. H. Fletcher, W. M. Wuest, *Chem Rev*, **2017**, 117, 12415 – 12474.
- [22] K. Ferreira, *Synthesis of siderophore-based conjugates to detect and treat bacterial infections*, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2018**.
- [23] K. T. Shiley, E. Lautenbach, I. Lee, *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2010**, 31, 1177 – 1183.
- [24] A. F. Read, R. J. Woods, *Evol Med Public Health*, **2014**, 2014, 147.
- [25] R. J. Melander, D. V. Zurawski, C. Melander, *MedChemComm*, **2018**, 9, 12 – 21.
- [26] V. K. Viswanathan, *Gut Microbes*, **2014**, 5, 3 – 4.
- [27] F. M. Key, C. Posth, L. R. Esquivel-Gomez, R. Hübner, M. A. Spyrou, G. U. Neumann, A. Furtwängler, S. Sabin, M. Burri, A. Wissgott, *Nat Ecol Evol*, **2020**, 4, 324 – 333.
- [28] C. L. Ventola, *Pharm Ther*, **2015**, 40, 277 – 283.
- [29] K. Lewis, *Nat Rev Drug Discov*, **2013**, 12, 371 – 387.
- [30] J. O'Neill, *Rev Antimicrob Resist*, **2014**, 20, 1 – 16.
- [31] E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, S. Harbarth, M. Mendelson, D. L. Monnet, C. Pulcini, G. Kahlmeter, J. Kluytmans, Y. Carmeli, M. Ouellette, K. Outtersen, J.

- Patel, M. Cavaleri, E. M. Cox, C. R. Houchens, M. L. Grayson, P. Hansen, N. Singh, U. Theuretzbacher, N. Magrini, A. O. Aboderin, S. S. Al-Abri, N. Awang Jalil, N. Benzouana, S. Bhattacharya, A. J. Brink, F. R. Burkert, O. Cars, G. Cornaglia, O. J. Dyar, A. W. Friedrich, A. C. Gales, S. Gandra, C. G. Giske, D. A. Goff, H. Goossens, T. Gottlieb, M. Guzman Blanco, W. Hryniewicz, D. Kattula, T. Jinks, S. S. Kanj, L. Kerr, M.-P. Kieny, Y. S. Kim, R. S. Kozlov, J. Labarca, R. Laxminarayan, K. Leder, L. Leibovici, G. Levy-Hara, J. Littman, S. Malhotra-Kumar, V. Manchanda, L. Moja, B. Ndoye, A. Pan, D. L. Paterson, M. Paul, H. Qiu, P. Ramon-Pardo, J. Rodríguez-Baño, M. Sanguinetti, S. Sengupta, M. Sharland, M. Si-Mehand, L. L. Silver, W. Song, M. Steinbakk, J. Thomsen, G. E. Thwaites, J. W. M. van der Meer, N. Van Kinh, S. Vega, M. V. Villegas, A. Wechsler-Fördös, H. F. L. Wertheim, E. Wesangula, N. Woodford, F. O. Yilmaz, A. Zorzet, *Lancet Infect Dis*, **2018**, *18*, 318 – 327.
- [32] K. Lewis, *Annu Rev Microbiol*, **2010**, *64*, 357 – 372.
- [33] S. Miyaue, E. Suzuki, Y. Komiyama, Y. Kondo, M. Morikawa, S. Maeda, *Front Microbiol*, **2018**, *9*, 1396.
- [34] C. I. C. Crucho, *ACS Med Chem Lett*, **2018**, *9*, 2 – 3.
- [35] A. R. Brochado, A. Telzerow, J. Bobonis, M. Banzhaf, A. Mateus, J. Selkrig, E. Huth, S. Bassler, J. Zamarrano Beas, M. Zietek, N. Ng, S. Foerster, B. Ezraty, B. Py, F. Barras, M. M. Savitski, P. Bork, S. Gottig, A. Typas, *Nature*, **2018**, *559*, 259 – 263.
- [36] Y. Abouelhassan, A. T. Garrison, H. Yang, A. Chavez-Riveros, G. M. Burch, R. W. Huigens, 3rd, *J Med Chem*, **2019**, *62*, 7618 – 7642.
- [37] P. A. Smith, M. F. T. Koehler, H. S. Girgis, D. Yan, Y. Chen, Y. Chen, J. J. Crawford, M. R. Durk, R. I. Higuchi, J. Kang, J. Murray, P. Paraselli, S. Park, W. Phung, J. G. Quinn, T. C. Roberts, L. Rouge, J. B. Schwarz, E. Skippington, J. Wai, M. Xu, Z. Yu, H. Zhang, M. W. Tan, C. E. Heise, *Nature*, **2018**, *561*, 189 – 194.
- [38] L. L. Ling, T. Schneider, A. J. Peoples, A. L. Spoering, I. Engels, B. P. Conlon, A. Mueller, T. F. Schaberle, D. E. Hughes, S. Epstein, M. Jones, L. Lazarides, V. A. Steadman, D. R. Cohen, C. R. Felix, K. A. Fetterman, W. P. Millett, A. G. Nitti, A. M. Zullo, C. Chen, K. Lewis, *Nature*, **2015**, *517*, 455 – 459.
- [39] A. Muller, A. Klockner, T. Schneider, *Nat Prod Rep*, **2017**, *34*, 909 – 932.
- [40] C. Guo, D. Mandalapu, X. Ji, J. Gao, Q. Zhang, *Chem Eur J*, **2018**, *24*, 5406 – 5422.
- [41] V. Ng, S. A. Kuehne, W. C. Chan, *Chem Eur J*, **2018**, *24*, 9136 – 9147.
- [42] H. G. Floss, T. W. Yu, *Chem Rev*, **2005**, *105*, 621 – 632.
- [43] K. J. Aldred, R. J. Kerns, N. Osheroff, *Biochemistry*, **2014**, *53*, 1565 – 1574.
- [44] A. Coates, Y. Hu, R. Bax, C. Page, *Nat Rev Drug Discov*, **2002**, *1*, 895 – 910.
- [45] J. M. Blair, M. A. Webber, A. J. Baylay, D. O. Ogbolu, L. J. Piddock, *Nat Rev Microbiol*, **2015**, *13*, 42 – 51.
- [46] S. Santajit, N. Indrawattana, *Biomed Res Int*, **2016**, *2016*, 2475067.
- [47] H. Wright, R. A. Bonomo, D. L. Paterson, *Clin Microbiol Infect*, **2017**, *23*, 704 – 712.
- [48] O. D. Novikova, T. F. Solovyeva, *Biochem Suppl Ser A Membr Cell Biol*, **2009**, *3*, 3 – 15.
- [49] H. Nikaido, *Microbiol Mol Biol Rev*, **2003**, *67*, 593 – 656.

- [50] K.-L. Lou, N. Saint, A. Prilipov, G. Rummel, S. A. Benson, J. P. Rosenbusch, T. Schirmer, *J Biol Chem*, **1996**, 271, 20669 – 20675.
- [51] Y. X. Ma, C. Y. Wang, Y. Y. Li, J. Li, Q. Q. Wan, J. H. Chen, F. R. Tay, L. N. Niu, *Adv Sci*, **2020**, 7, 1901872.
- [52] J. N. Pendleton, S. P. Gorman, B. F. Gilmore, *Expert Rev Anti Infect Ther*, **2013**, 11, 297 – 308.
- [53] G. K. Auer, D. B. Weibel, *Biochemistry*, **2017**, 56, 3710 – 3724.
- [54] P. Klahn, M. Brönstrup, *Nat Prod Rep*, **2017**, 34, 832 – 885.
- [55] S. C. Andrews, A. K. Robinson, F. Rodríguez-Quiñones, *FEMS Microbiol Rev*, **2003**, 27, 215 – 237.
- [56] P. Cornelis, Q. Wei, S. C. Andrews, T. Vinckx, *Metallomics*, **2011**, 3, 540 – 549.
- [57] K. D. Krewulak, H. J. Vogel, *Biochim Biophys Acta*, **2008**, 1778, 1781 – 1804.
- [58] P. Aisen, A. Leibman, J. Zweier, *J Biol Chem*, **1978**, 253, 1930 – 1937.
- [59] N. L. Parrow, R. E. Fleming, M. F. Minnick, *Infect Immun*, **2013**, 81, 3503 – 3514.
- [60] C. Wandersman, P. Delepelaire, *Annu Rev Microbiol*, **2004**, 58, 611 – 647.
- [61] G. E. Kenney, A. C. Rosenzweig, *Annu Rev Biochem*, **2018**, 87, 645 – 676.
- [62] C. S. Carroll, M. M. Moore, *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **2018**, 53, 356 – 381.
- [63] M. Sandy, A. Butler, *Chem Rev*, **2009**, 109, 4580 – 4595.
- [64] H. Marschner, V. Römheld, *Plant Soil*, **1994**, 165, 261 – 274.
- [65] H. Haas, M. Eisendle, B. G. Turgeon, *Annu Rev Phytopathol*, **2008**, 46, 149 – 187.
- [66] A. Gorska, A. Sloderbach, M. P. Marszall, *Trends Pharmacol Sci*, **2014**, 35, 442 – 449.
- [67] R. C. Hider, X. Kong, *Nat Prod Rep*, **2010**, 27, 637 – 657.
- [68] S. Dhungana, M. J. Miller, L. Dong, C. Ratledge, A. L. Crumbliss, *J Am Chem Soc*, **2003**, 125, 7654 – 7663.
- [69] E. Bakkaus, R. N. Collins, J.-L. Morel, B. Gouget, *J Chrom A*, **2006**, 1129, 208 – 215.
- [70] R. Hermenau, K. Ishida, S. Gama, B. Hoffmann, M. Pfeifer-Leeg, W. Plass, J. F. Mohr, T. Wichard, H. P. Saluz, C. Hertweck, *Nat Chem Biol*, **2018**, 14, 841 – 843.
- [71] O. Baars, X. Zhang, M. I. Gibson, A. T. Stone, F. M. M. Morel, M. R. Seyedsayamdost, *Angew Chem Int Ed*, **2018**, 57, 536 – 541.
- [72] W. Zhao, F. Peng, C. X. Wang, Y. Xie, R. Lin, Z. K. Fang, F. Sun, Y. Y. Lian, H. Jiang, *Nat Prod Res*, **2019**, 1 – 7.
- [73] A. W. Robertson, N. G. McCarville, L. W. MacIntyre, H. Correa, B. Haltli, D. H. Marchbank, R. G. Kerr, *J Nat Prod*, **2018**, 81, 858 – 865.
- [74] S. B. Krasnoff, K. J. Howe, M. L. Heck, B. G. G. Donzelli, *J Nat Prod*, **2020**, 83, 296 – 304.
- [75] T. C. Johnstone, E. M. Nolan, *Dalton Trans*, **2015**, 44, 6320 – 6339.
- [76] M. Miethke, M. A. Marahiel, *Microbiol Mol Biol Rev*, **2007**, 71, 413 – 451.
- [77] J. R. Dilworth, S. I. Pascu, *Chem Soc Rev*, **2018**, 47, 2554 – 2571.
- [78] L. Moynie, S. Milenkovic, G. L. A. Mislin, V. Gasser, G. Mallocci, E. Baco, R. P. McCaughan, M. G. P. Page, I. J. Schalk, M. Ceccarelli, J. H. Naismith, *Nat Commun*, **2019**, 10, 3673.
- [79] A. Stintzi, C. Barnes, J. Xu, K. N. Raymond, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2000**, 97, 10691 – 10696.
- [80] K. N. Raymond, B. E. Allred, A. K. Sia, *Acc Chem Res*, **2015**, 48, 2496 – 2505.

- [81] H. Kong, W. Cheng, H. Wei, Y. Yuan, Z. Yang, X. Zhang, *Eur J Med Chem*, **2019**, *182*, 111615.
- [82] J. R. Sheldon, D. E. Heinrichs, C. Whitfield, *FEMS Microbiol Rev*, **2015**, *39*, 592 – 630.
- [83] D. L. McRose, M. R. Seyedsayamdost, F. M. M. Morel, *J Biol Inorg Chem*, **2018**, *23*, 983 – 993.
- [84] B. Voss, F. Kirschhofer, G. Brenner-Weiss, R. Fischer, *Sci Rep*, **2020**, *10*, 3587.
- [85] G. Schumann, U. Mollmann, *Antimicrob Agents Chemother*, **2001**, *45*, 1317 – 1322.
- [86] M. G. Page, *Ann N Y Acad Sci*, **2013**, *1277*, 115 – 126.
- [87] G. F. Gause, *Br Med J*, **1955**, *2*, 1177 – 1179.
- [88] V. Braun, A. Pramanik, T. Gwinner, M. Koberle, E. Bohn, *BioMetals*, **2009**, *22*, 3 – 13.
- [89] S. Jayasinghe, A. Siriwardhana, V. Karunaratne, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, **2015**, *7*, 8 – 12.
- [90] L. Vertesy, W. Aretz, H.-W. Fehlhaber, H. Kogler, *Helv Chim Acta*, **1995**, *78*, 46 – 60.
- [91] Z. Lin, X. Xu, S. Zhao, X. Yang, J. Guo, Q. Zhang, C. Jing, S. Chen, Y. He, *Nat Commun*, **2018**, *9*, 3445.
- [92] T. A. Wencewicz, U. Mollmann, T. E. Long, M. J. Miller, *BioMetals*, **2009**, *22*, 633 – 648.
- [93] G. Tonziello, E. Caraffa, B. Pinchera, G. Granata, N. Petrosillo, *Infect Dis Rep*, **2019**, *11*, 30 – 36.
- [94] K. H. Negash, J. K. S. Norris, J. T. Hodgkinson, *Molecules*, **2019**, *24*.
- [95] M. G. P. Page, *Clin Infect Dis*, **2019**, *69*, 529 – 537.
- [96] R. V. Chari, M. L. Miller, W. C. Widdison, *Angew Chem Int Ed*, **2014**, *53*, 3796 – 3827.
- [97] I. J. Schalk, *Clin Microbiol Infect*, **2018**, *24*, 801 – 802.
- [98] T. A. Wencewicz, M. J. Miller, *J Med Chem*, **2013**, *56*, 4044 – 4052.
- [99] M. Ghosh, P. A. Miller, U. Mollmann, W. D. Claypool, V. A. Schroeder, W. R. Wolter, M. Suckow, H. Yu, S. Li, W. Huang, J. Zajicek, M. J. Miller, *J Med Chem*, **2017**, *60*, 4577 – 4583.
- [100] M. Ghosh, Y.-M. Lin, P. A. Miller, U. Möllmann, W. C. Boggess, M. J. Miller, *ACS Infect Dis*, **2018**, *4*, 1529 – 1535.
- [101] S. Kim, H. Lee, W. Y. Song, H. J. Kim, *Org Lett*, **2020**, *22*, 2806 – 2810.
- [102] A. Lamut, C. D. Cruz, Z. Skok, M. Barancokova, N. Zidar, A. Zega, L. P. Masic, J. Iilas, P. Tammela, D. Kikelj, T. Tomasic, *Bioorg Chem*, **2020**, *95*, 103550.
- [103] R. Liu, P. A. Miller, S. B. Vakulenko, N. K. Stewart, W. C. Boggess, M. J. Miller, *J Med Chem*, **2018**, *61*, 3845 – 3854.
- [104] H. Maumela, R. D. Hancock, L. Carlton, J. H. Reibenspies, K. P. Wainwright, *J Am Chem Soc*, **1995**, *117*, 6698 – 6707.
- [105] K. Ferreira, H. Y. Hu, V. Fetz, H. Prochnow, B. Rais, P. P. Muller, M. Bronstrup, *Angew Chem Int Ed*, **2017**, *56*, 8272 – 8276.
- [106] H.-Y. Hu, N.-H. Lim, D. Ding-Pfennigdorff, J. Saas, K. U. Wendt, O. Ritzeler, H. Nagase, O. Plettenburg, C. Schultz, M. Nazare, *Bioconjug Chem*, **2015**, *26*, 383 – 388.
- [107] S. Andrei, G. Droc, G. Stefan, *Discoveries*, **2019**, *7*, e102.

- [108] A. Huttner, *Lancet Infect Dis*, **2018**, 18, 1290 – 1291.
- [109] G. G. Zhanel, A. R. Golden, S. Zelenitsky, K. Wiebe, C. K. Lawrence, H. J. Adam, T. Idowu, R. Domalaon, F. Schweizer, M. A. Zhanel, P. R. S. Lagace-Wiens, A. J. Walkty, A. Noreddin, J. P. Lynch III, J. A. Karlowsky, *Drugs*, **2019**, 79, 271 – 289.
- [110] T. Sato, K. Yamawaki, *Clin Infect Dis*, **2019**, 69, 538 – 543.
- [111] Y. Yamano, M. Tsuji, M. Hackel, D. Sahm, R. Echols, in *Abstr 27th ECCMID, Vienna, Austria, Vol. 22*, **2017**.
- [112] A. Luscher, L. Moynie, P. S. Auguste, D. Bumann, L. Mazza, D. Pletzer, J. H. Naismith, T. Kohler, *Antimicrob Agents Chemother*, **2018**, 62.
- [113] I. M. Ghazi, M. L. Monogue, M. Tsuji, D. P. Nicolau, *Pharmacology*, **2018**, 101, 278 – 284.
- [114] G. S. Tillotson, *Infect Dis*, **2016**, 9, 45 – 52.
- [115] J. R. Pollack, J. Neilands, *Biochem Biophys Res Commun*, **1970**, 38, 989 – 992.
- [116] Q. Perraud, L. Moynie, V. Gasser, M. Munier, J. Godet, F. Hoegy, Y. Mely, G. L. A. Mislin, J. H. Naismith, I. J. Schalk, *ACS Chem Biol*, **2018**, 13, 2603 – 2614.
- [117] K. N. Raymond, E. A. Dertz, S. S. Kim, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2003**, 100, 3584 – 3588.
- [118] W. R. Harris, C. J. Carrano, S. R. Cooper, S. R. Sofen, A. E. Avdeef, J. V. McArdle, K. N. Raymond, *J Am Chem Soc*, **1979**, 101, 6097 – 6104.
- [119] B. P. Hay, D. A. Dixon, R. Vargas, J. Garza, K. N. Raymond, *Inorg Chem*, **2001**, 40, 3922 – 3935.
- [120] T. C. Johnstone, E. M. Nolan, *J Am Chem Soc*, **2017**, 139, 15245 – 15250.
- [121] R. J. Abergel, J. A. Warner, D. K. Shuh, K. N. Raymond, *J Am Chem Soc*, **2006**, 128, 8920 – 8931.
- [122] J. Neilands, T. Erickson, W. Rastetter, *J Biol Chem*, **1981**, 256, 3831 – 3832.
- [123] A. E. Donnelly, G. S. Murphy, K. M. Digianantonio, M. H. Hecht, *Nat Chem Biol*, **2018**, 14, 253 – 255.
- [124] P. Saha, B. S. Yeoh, X. Xiao, R. M. Golonka, S. Kumarasamy, M. Vijay-Kumar, *Biochem Pharmacol*, **2019**, 168, 71 – 81.
- [125] B. Qi, M. Han, *Cell*, **2018**, 175, 571 – 582.
- [126] T. Zheng, E. M. Nolan, *J Am Chem Soc*, **2014**, 136, 9677 – 9691.
- [127] W. Neumann, M. Sassone-Corsi, M. Raffatellu, E. M. Nolan, *J Am Chem Soc*, **2018**, 140, 5193 – 5201.
- [128] M. C. Venuti, W. H. Rastetter, J. B. Neilands, *J Med Chem*, **1979**, 22, 123 – 124.
- [129] S. Heidinger, V. Braun, V. L. Pecoraro, K. N. Raymond, *J Bacteriol*, **1983**, 153, 109 – 115.
- [130] W. H. Harris, K. N. Raymond, *J Am Chem Soc*, **1979**, 101, 6534 – 6541.
- [131] R. C. Hider, D. Bickar, I. E. G. Morrison, J. Silver, *J Am Chem Soc*, **1984**, 106, 6983 – 6987.
- [132] Y. Tor, J. Libman, A. Shanzer, C. E. Felder, S. Lifson, *J Am Chem Soc*, **1992**, 114, 6661 – 6671.
- [133] L. D. Loomis, K. N. Raymond, *Inorg Chem*, **1991**, 30, 906 – 911.
- [134] J. C. Ryu, H. N. Shin, D. H. Kim, S. H. Lee, *Bull Korean Chem Soc*, **2001**, 22, 1293 – 1294.
- [135] B. F. Matzanke, D. J. Ecker, T. S. Yang, B. H. Huynh, G. Muller, K. N. Raymond, *J Bacteriol*, **1986**, 167, 674 – 680.

- [136] C. H. Goss, Y. Kaneko, L. Khuu, G. D. Anderson, S. Ravishankar, M. L. Aitken, N. Lechtzin, G. Zhou, D. M. Czyn, K. McLean, O. Olakanmi, H. A. Shuman, M. Teresi, E. Wilhelm, E. Caldwell, S. J. Salipante, D. B. Hornick, R. J. Siehnel, L. Becker, B. E. Britigan, P. K. Singh, *Sci Transl Med*, **2018**, *10*.
- [137] J. R. Morones-Ramirez, J. A. Winkler, C. S. Spina, J. J. Collins, *Sci Transl Med*, **2013**, *5*.
- [138] W. F. Kean, I. R. Kean, *Inflammopharmacology*, **2008**, *16*, 112 – 125.
- [139] F. Canales, M. C. Gimeno, A. Laguna, P. G. Jones, *Angew Chem Int Ed*, **1994**, *33*, 769 – 770.
- [140] T. Onodera, I. Momose, M. Kawada, *Chem Pharm Bull*, **2019**, *67*, 186 – 191.
- [141] J. M. Madeira, S. M. Schindler, A. Klegeris, *Neural Regen Res*, **2015**, *10*, 391 – 393.
- [142] H. A. Rothan, S. Stone, J. Natekar, P. Kumari, K. Arora, M. Kumar, *Virology*, **2020**, *547*, 7 – 11.
- [143] P. de Frémont, N. Marion, S. P. Nolan, *J Organomet Chem*, **2009**, *694*, 551 – 560.
- [144] I. Ott, in *Inorganic and Organometallic Transition Metal Complexes with Biological Molecules and Living Cells*, Elsevier, **2017**, 147 – 179.
- [145] C. Schmidt, B. Karge, R. Misgeld, A. Prokop, R. Franke, M. Bronstrup, I. Ott, *Chem Eur J*, **2017**, *23*, 1869 – 1880.
- [146] C. Schmidt, B. Karge, R. Misgeld, A. Prokop, M. Bronstrup, I. Ott, *MedChemComm*, **2017**, *8*, 1681 – 1689.
- [147] M. G. Karaaslan, A. Aktas, C. Gurses, Y. Gok, B. Ates, *Bioorg Chem*, **2020**, *95*, 103552.
- [148] E. Fluck, W. Kerler, W. Neuwirth, *Angew Chem Int Ed*, **1963**, *2*, 277 – 287.
- [149] R. H. Herber, *J Chem Educ*, **1965**, *42*, 180 – 187.
- [150] P. Gütllich, *ChiuZ*, **1970**, *4*, 133 – 144.
- [151] P. Gütllich, *ChiuZ*, **1971**, *5*, 131 – 141.
- [152] M. Drescher, *ChiuZ*, **2012**, *46*, 150 – 157.
- [153] S. Kempe, H. Metz, K. Mader, *Eur J Pharm Biopharm*, **2010**, *74*, 55 – 66.
- [154] N. Ohi, B. Aoki, T. Kuroki, M. Matsumoto, K. Kojima, T. Nehashi, *J Antibiot*, **1987**, *40*, 22 – 28.
- [155] M. S. Mitchell, D. L. Walker, J. Whelan, B. Bosnich, *Inorg Chem*, **1987**, *26*, 396 – 400.
- [156] W. R. Harris, F. L. Weitzl, K. N. Raymond, *J Chem Soc, Chem Commun*, **1979**, 177 – 178.
- [157] P. F. Schuda, C. M. Botti, M. C. Venuti, *Org Prep Proced Int*, **2009**, *16*, 119 – 125.
- [158] A. P. West, N. Smyth, C. M. Kraml, D. M. Ho, R. A. Pascal, *J Org Chem*, **1993**, *58*, 3502 – 3506.
- [159] Y. Cai, A. R. Kulkarni, Y.-G. Huang, D. S. Sholl, K. S. Walton, *Cryst Growth Des*, **2014**, *14*, 6122 – 6128.
- [160] H. B. Wang, J. A. Wisner, M. C. Jennings, *Beilstein J Org Chem*, **2010**, *6*, 50.
- [161] H. Jamali, H. A. Khan, C. C. Tjin, J. A. Ellman, *ACS Med Chem Lett*, **2016**, *7*, 847 – 851.
- [162] A. Norder, S. A. Warren, E. Herdtweck, S. M. Huber, T. Bach, *J Am Chem Soc*, **2012**, *134*, 13524 – 13531.
- [163] A. J. Guenther, M. C. Davis, M. D. Ford, J. T. Reams, T. J. Groshens, L. C. Baldwin, L. M. Lubin, J. M. Mabry, *Macromolecules*, **2012**, *45*, 9707 – 9718.

- [164] E. Özdemir, D. Thirion, C. T. Yavuz, *RSC Adv*, **2015**, *5*, 69010 – 69015.
- [165] A. J. Lampkins, O. Abdul-Rahim, H. Li, R. K. Castellano, *Org Lett*, **2005**, *7*, 4471 – 4474.
- [166] C. Panagiotidis, S. Kath-Schorr, G. von Kiedrowski, *ChemBioChem*, **2016**, *17*, 254 – 259.
- [167] O. G. Kulinkovich, A. de Meijere, *Chem Rev*, **2000**, *100*, 2789 – 2834.
- [168] J. Jiao, L. X. Nguyen, D. R. Patterson, R. A. Flowers, *Org Lett*, **2007**, *9*, 1323 – 1326.
- [169] T. Imamoto, Y. Kamiya, T. Hatajima, H. Takahashi, *Tetrahedron Lett*, **1989**, *30*, 5149 – 5152.
- [170] M. Mammen, Y.-H. Ji, Y. Chen, C. Husfeld, **2007**, US 7.250,414 B2.
- [171] D. Naveen Kumar, N. Sudhakar, B. V. Rao, K. H. Kishore, U. S. Murty, *Tetrahedron Lett*, **2006**, *47*, 771 – 774.
- [172] B. Graham, L. Spiccia, A. M. Bond, M. T. W. Hearn, C. M. Kepert, *J Chem Soc, Dalton Trans*, **2001**, 2232 – 2238.
- [173] P. Klan, T. Solomek, C. G. Bochet, A. Blanc, R. Givens, M. Rubina, V. Popik, A. Kostikov, J. Wirz, *Chem Rev*, **2013**, *113*, 119 – 191.
- [174] Y. V. Il'ichev, J. Wirz, *J Phys Chem A*, **2000**, *104*, 7856 – 7870.
- [175] W. Maison, C. Fleck, E. Franzmann, D. Claes, A. Rickert, *Synthesis*, **2013**, *45*, 1452 – 1461.
- [176] W. Maison, J. V. Frangioni, N. Pannier, *Org Lett*, **2004**, *6*, 4567 – 4569.
- [177] E. Franzmann, F. Khalil, C. Weidmann, M. Schroder, M. Rohnke, J. Janek, B. M. Smarsly, W. Maison, *Chem Eur J*, **2011**, *17*, 8596 – 8603.
- [178] H. Stetter, C. Wulff, *Chem Ber*, **1960**, *93*, 1366 – 1371.
- [179] R. E. Delimarskii, V. N. Rodionov, A. G. Yurchenko, *Ukr Khim Zh*, **1986**, *54*, 437 – 438.
- [180] G. A. Senchyk, A. B. Lysenko, I. Boldog, E. B. Rusanov, A. N. Chernega, H. Krautscheid, K. V. Domasevitch, *Dalton Trans*, **2012**, *41*, 8675 – 8689.
- [181] H. Lebel, J. F. Marcoux, C. Molinaro, A. B. Charette, *Chem Rev*, **2003**, *103*, 977 – 1050.
- [182] D. P. Wyman, P. R. Kaufman, W. R. Freeman, *J Org Chem*, **1964**, *29*, 2706 – 2710.
- [183] A. de Meijere, S. I. Kozhushkov, A. Leonov, *Synthesis*, **2003**, *2003*, 956 – 958.
- [184] E. Lee, D. S. Lee, K. H. Lee, I. S. Choi, *Bull Korean Chem Soc*, **1992**, *13*, 470 – 471.
- [185] R. Miri, K. Javidnia, B. Hemmateenejad, M. Tabarzad, M. Jafarpour, *Chem Biol Drug Des*, **2009**, *73*, 225 – 235.
- [186] I. Abid, P. Gosselin, M. Mathé-Allainmat, S. Abid, G. Dujardin, C. Gaulon-Nourry, *J Org Chem*, **2015**, *80*, 9980 – 9988.
- [187] K. Tanaka, M. Sakai, S. Takamizawa, M. Oikawa, *Chem Lett*, **2015**, *44*, 253 – 255.
- [188] K. C. Nicolaou, A. A. Estrada, M. Zak, S. H. Lee, B. S. Safina, *Angew Chem Int Ed*, **2005**, *44*, 1378 – 1382.
- [189] Y. Wang, S. Chackalamannil, Y. Root, **2007**, WO 2007/084450 A2
- [190] T. L. Ho, G. A. Olah, *Proc Natl Acad Sci USA*, **1978**, *75*, 4 – 6.
- [191] J. L. Haslam, E. M. Eyring, W. W. Epstein, G. A. Christiansen, M. H. Miles, *J Am Chem Soc*, **1965**, *87*, 1 – 6.

- [192] S. Yamazaki, M. Sakamoto, M. Suzuri, M. Doi, T. Nakazawa, Y. Kobayashi, *J Chem Soc, Perkin Trans*, **2001**, 1870 – 1875.
- [193] J. B. Roque, Y. Kuroda, L. T. Gottemann, R. Sarpong, *Nature*, **2018**, *564*, 244 – 248.
- [194] W.-K. Yuan, S.-Z. Sun, L.-B. Zhang, L.-R. Wen, M. Li, *Org Chem Front*, **2019**, *6*, 2892 – 2896.
- [195] T. Ezawa, Y. Kawashima, T. Noguchi, S. Jung, N. Imai, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, *28*, 1690 – 1699.
- [196] P. Geerlings, F. De Proft, W. Langenaeker, *Chem Rev*, **2003**, *103*, 1793 – 1873.
- [197] Y. Zhao, D. G. Truhlar, *Acc Chem Res*, **2008**, *41*, 157 – 167.
- [198] J. P. Perdew, S. Kurth, A. Zupan, P. Blaha, *Phys Rev Lett*, **1999**, *82*, 2544 – 2547.
- [199] A. Dubey, O. Heinonen, *Biometals*, **2013**, *26*, 1003 – 1012.
- [200] A. Souto, M. A. Montaos, M. Balado, C. R. Osorio, J. Rodriguez, M. L. Lemos, C. Jimenez, *Bioorg Med Chem*, **2013**, *21*, 295 – 302.
- [201] A. Muller, A. J. Wilkinson, K. S. Wilson, A. K. Duhme-Klair, *Angew Chem Int Ed*, **2006**, *45*, 5132 – 5136.
- [202] B. Schwyn, J. B. Neilands, *Anal Biochem*, **1987**, *160*, 47 – 56.
- [203] Q. Yan, S. L. Schwartz, S. Maji, F. Huang, C. Szent-Gyorgyi, D. S. Lidke, K. A. Lidke, M. P. Bruchez, *ChemPhysChem*, **2014**, *15*, 687 – 695.
- [204] H. Prochnow, V. Fetz, S. K. Hotop, M. A. Garcia-Rivera, A. Heumann, M. Bronstrup, *Anal Chem*, **2019**, *91*, 1863 – 1872.
- [205] C. Ji, P. A. Miller, M. J. Miller, *J Am Chem Soc*, **2012**, *134*, 9898 – 9901.
- [206] J. Schmitz, T. Li, U. Bartz, M. Gutschow, *ACS Med Chem Lett*, **2016**, *7*, 211 – 216.
- [207] D. R. Whitcomb, M. Rajeswaran, *Polyhedron*, **2006**, *25*, 2033 – 2038.
- [208] K. Salorinne, R. W. Y. Man, C. H. Li, M. Taki, M. Nambo, C. M. Crudden, *Angew Chem Int Ed*, **2017**, *56*, 6198 – 6202.
- [209] A. Prasetyoputri, A. M. Jarrad, M. A. Cooper, M. A. T. Blaskovich, *Trends Microbiol*, **2019**, *27*, 339 – 354.
- [210] Y. Tanouchi, A. Pai, N. E. Buchler, L. You, *Mol Syst Biol*, **2012**, *8*.
- [211] R. C. Tyler, H. K. Sreenath, S. Singh, D. J. Aceti, C. A. Bingman, J. L. Markley, B. G. Fox, *Protein Expr Purif*, **2005**, *40*, 268 – 278.
- [212] M. Blume, *Phys Rev Lett*, **1967**, *18*, 305 – 308.
- [213] M. Blume, J. A. Tjon, *Phys Rev*, **1968**, *165*, 446 – 456.
- [214] J. Tao, J. P. Perdew, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, *Phys Rev Lett*, **2003**, *91*, 146401.
- [215] A. Schäfer, H. Horn, R. Ahlrichs, *J Chem Phys*, **1992**, *97*, 2571 – 2577.
- [216] K. Brandhorst, J. Grunenberg, *Chem Soc Rev*, **2008**, *37*, 1558 – 1567.
- [217] K. Brandhorst, J. Grunenberg, *J Chem Phys*, **2010**, *132*, 184101.
- [218] B. Schwyn, J. B. Neilands, *Anal Biochem*, **1987**, *160*, 47 – 56.

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich zunächst Prof. Dr. Mark Brönstrup danken, der mir die Gelegenheit gab, diese Arbeit unter seiner Aufsicht anzufertigen. In den vier Jahren, die ich in seiner Arbeitsgruppe tätig war, ließ er mir neben seiner fundierten und motivierenden Betreuung viel kreativen Freiraum bei der Bearbeitung meines Forschungsprojekts. Hierbei vertraute er stets auf mein fachliches Urteil und meine Intuition. Auch möchte ich Prof. Dr. Andreas Kirschning für die Übernahme des Korreferats, Prof. Dr. Thomas Brüser für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission, sowie Prof. Dr. Eva Medina und Prof. Dr. Markus Kalesse als Mitgliedern meines Thesis Committees danken.

Ebenfalls danke ich den Mitgliedern der Graduiertenschule am HZI für ihre Arbeit und Organisation rund um die Promotion aller am HZI tätigen Doktoranden.

Mein Dank gilt weiterhin den externen Kooperationspartnern: Prof. Dr. Ingo Ott und Rolf Büssing für die Synthese sowie Bereitstellung wichtiger Ausgangsverbindungen, Prof. Dr. Jörg Grunenberg für seine begleitende, geduldige und verständnisvolle Zusammenarbeit, sowie Dr. Dirk Baabe für die engagierte Bereitstellung umfangreichen theoretischen Wissens und immenser zeitlicher Ressourcen.

Christel Kakoschke, die mich trotz der Aufnahme zahlloser NMR-Spektren meiner Substanzen immer mit guter Laune und Tatendrang erwartete, möchte ich ebenso danken wie Bianka Karge, Yi-Hui Lai und Dr. Sven-Kevin Hotop, die durch die Durchführung biologischer Assays mit den von mir synthetisierten Substanzen wertvolle Ergebnisse zu dieser Arbeit beisteuerten, und Ulrike Beutling, die HRMS-Messungen meiner Verbindungen durchführte und mir im Fall von Problemen rund um das Thema LC-MS mit Rat und Tat zur Seite stand.

Dr. Werner Tegge möchte ich für seine warme, kollegiale Art danken, durch die er ein idealer Ansprechpartner für all die Fragen wurde, für die ansonsten kein geeigneter Ansprechpartner existiert. Bettina Mehner danke ich für ihre herzliche Art und ihr ehrliches Interesse an all ihren Kollegen. Nie war die Bezeichnung als „gute Seele des Arbeitskreises“ gerechtfertigter.

Ich danke weiterhin allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, die ich während meiner Promotion kennen lernen durfte: Brigitte Kornak, Julia Friederich und Giulia Guerra dafür, dass Ihr meine Zeit im Labor immer etwas fröhlicher und angenehmer gemacht habt, als sie es ohne Nachbarn an den Abzügen gewesen wäre, Kevin Ferreira und Carsten Peukert für die vielen intensiven Diskussionen zum Thema Siderophore, Giambattista Testolin für die fachlichen Ratschläge und seine Gastfreundschaft, Dr. Nanaji Arisetti für seine energiegeladene und einmalige Art, den Arbeitsalltag aufzulockern, Daniel Kohnhäuser für sein Auftreten als ruhiger Gegenpol zu all der Aufregung, die einen organischen Chemiker doch immer wieder überkommen kann, sowie all den anderen, die durch ihre Freundlichkeit, gute Laune und offene Ohren meine Zeit unter euch bereichert haben.

All meinen Freunden in der neuen und alten Heimat sowie über das ganze Land verstreut möchte ich dafür danken, dass trotz steigender Verpflichtungen und Distanzen doch ab und zu noch ein Wiedersehen stattfindet (und sei es nur für ein paar Stunden), das die Kraftreserven in Windeseile wiederauflädt.

Meiner Familie danke ich für ihre anhaltende und vertrauensvolle Unterstützung während meiner gesamten chemischen Ausbildung seit mittlerweile zehn Jahren. Ohne Euch hätten sicherlich mehr Steine auf meinem Weg gelegen.

Mein größter Dank gilt Ann-Cathérine, die nun schon seit fast acht Jahren mein Leben bereichert, immer für mich da ist, mir durch alle Motivationstiefen half und insbesondere während des Schreibens dieser Arbeit dafür verantwortlich war, dass ich nicht im pandemiebedingten Home-Office vereinsamte.

9 Lebenslauf

Akademischer und schulischer Werdegang

- 10/2016 – 09/2020 Anfertigung der Dissertation, Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Mark Brönstrup, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI): „*Synthese von Siderophor-Antibiotika-Konjugaten als neuartige antibakterielle Wirkstoffe*“
- 04/2014 – 03/2016 Masterstudium der Chemie an der TU Braunschweig (MSc): "sehr gut" (Gesamtnote: 1,4)
- 09/2015 – 03/2016 Masterarbeit, Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Daniel B. Werz, TU Braunschweig: "*Studien zu Reaktionen von Donor-Akzeptor-Cyclopropanen mit Diaza-Michael-Verbindungen*"
- 10/2010 – 03/2014 Bachelorstudium der Chemie an der TU Braunschweig (BSc): "gut" (Gesamtnote: 1,6)
- 04/2013 – 07/2013 Bachelorarbeit, Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Mathias Tamm, TU Braunschweig: „*Cycloheptatrienyl-Cyclopentadienyl-Sandwichkomplexe der vierten Gruppe als Reduktionsmittel für Silbersalze*“
- 08/2000 – 06/2009 Friedrichsgymnasium Kassel. Abschluss: Abitur (Gesamtnote: 1,3)

Wissenschaftliche Aktivitäten

02/2020	32. Irseer Naturstofftage - Dechema, Irsee, Posterpräsentation
07/2019	RICT 2019, Nantes, Posterpräsentation, prämiert mit dem Award der <i>Société de Chimie Thérapeutique</i> (SCT)
05/2018	Alexander-von-Humboldt-Symposium, Hannover, Vortrag
04/2018	ENLIGHT-TEN Summer School, Berlin, Posterpräsentation
04/2017	Airborne transmission of infectious agents, Kursteilnahme

Praxisrelevante Erfahrungen

10/2016 – 09/2020	Betreuung der Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung innerhalb der Arbeitsgruppe
04/2017 – 03/2019	Betreuung von Chemielaboranten im Zuge ihrer Ausbildung innerhalb des Instituts

Zusatzkenntnisse

PC-Kenntnisse: ChemDraw, EndNote, Origin, Chromeleon CDS, Mnova
Microsoft Office (jeweils fortgeschrittene Kenntnisse)

Sprachkenntnisse: Englisch (fließend)
Spanisch (Grundkenntnisse)
Latinum

10 Publikationsliste

- 4 Antonia P. Gunesch, Francisco J. Zapatero-Belinchón, Lukas Pinkert, Eike Steinmann, Michael P. Manns, Gisbert Schneider, Thomas Pietschmann, Mark Brönstrup, Thomas von Hahn: „*Filovirus Antiviral Activity of Cationic Amphiphilic Drugs Is Associated with Lipophilicity and Ability To Induce Phospholipidosis*“, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2020**, *64*, e00143 – 20.
- 3 Christina Taouss, Cindy Döring, Peter G. Jones, Lukas Pinkert, Mark Strey: "*Single crystals that spontaneously spawn other single crystals: a ternary and a binary adduct of thiourea and 2, 5-dimethylpyrazine*", *CrystEngComm.* **2016**, *18*, 1842 – 1846.
- 2 Cindy Döring, Christina Taouss, Mark Strey, Lukas Pinkert, Peter G. Jones: "*Adducts of urea with pyrazines*", *Z. Naturforsch. B.* **2016**, *71*, 835 – 841.
- 1 Alain C. Tagne Kuate, Lukas Pinkert, Matthias Freytag, Peter G. Jones, Matthias Tamm: "*The Reducing Ability of Cycloheptatrienyl-Cyclopentadienyl Zirconium Sandwich Complexes towards Silver(I)*", *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2013**, *639*, 2386 – 2389.