

**Synthese von rigiden Angiotensin II-Analoga  
durch die Inkorporation von 4'-substituierten  
*cis,cis*-5-Benzyl-3-aminomethylcyclohexancarbonsäuren  
und durch die Cyclisierung von N-(2-Mercaptoethyl)glycinen**

Vom Fachbereich Chemie  
der Universität Hannover

zur Erlangung des Grades  
**Doktor der Naturwissenschaften**

-Dr. rer. nat.-

genehmigte Dissertation  
von  
**Diplom-Chemiker Christian Kühn**  
geboren am 17.03.1969  
in Berlin

Hannover 1998

Referent: Prof. H. M. R. Hoffmann, PhD, DSc

Koreferent: Prof. Dr. H. Butenschön

Tag der Promotion: 27.10.1998

## Abstract

Diese Arbeit befaßt sich mit der Synthese von *p*-substituierten *cis,cis*-3-Aminomethyl-5-benzylcyclohexancarbonsäuren, die als potentielle inverse  $\gamma$ -Turnmimetika von Interesse sind. Die Darstellung des potentiellen Turnmimetikums erfolgte durch die Desymmetrisierung von *p*-substituierten *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylestern, die durch eine selektive Alkylierung und einer Reduktion aus *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylester zugänglich sind. Außerdem ist die Synthese des *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbaldehyds beschrieben, der aus Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on durch Alkylierung, Dehydratisierung, Hydrierung und oxidativer Spaltung der Vinylidenbrücke dargestellt wurde. Das Turnmimetikum wurde als Fmoc-geschützte Aminosäure bzw. als Azidocarbonsäure in das Peptidhormon Angiotensin II als Ersatz für die dritte bis fünfte Aminosäure eingebaut. Das diastereomere Peptid Asp-Arg-(*cis,cis*-3-Aminomethyl-5-(4-methoxybenzyl)-1-cyclohexanocarbonyl)-His-Pro-Phe zeigt keine Bindungsaffinität zu dem AT<sub>1</sub>-Rezeptor von Angiotensin II.

Der zweite Teil dieser Arbeit behandelt die Synthese des *cyclo*[N-(2-Mercaptoethyl)-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II als ein neues konformativ eingeschränktes Angiotensin II-Analogon sowie die versuchte Ringschlußmetathese des harzgebundenen [N-Allyl-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II. Die Synthese der N-alkylierten Peptide erfolgte durch die Aminierung von N-( $\alpha$ -Halogenacetyl)peptiden, die an einem festen Träger gebunden waren. Das *cyclo*[N-(2-Mercaptoethyl)-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II weist ebenfalls keine Bindungsaffinität zu dem AT<sub>1</sub>-Rezeptor von Angiotensin II auf.

Schlagwörter: Angiotensin, Peptidmimetika, *cis,cis*-1,3,5-substituierte Cyclohexane

This dissertation describes the synthesis of *p*-substituted *cis,cis*-3-aminomethyl-5-benzylcyclohexane carboxylicacids. These compounds are of interest as potential inverse  $\gamma$ -turn mimetics. The synthesis of the compounds was achieved by a desymmetrisation of *p*-substituted *cis,cis*-5-benzyl-1,3-cyclohexane dicarboxylicacid dimethylesters, produced by a selective alkylation and reduction of *cis,cis*-1,3,5-cyclohexane tricarboxylicacid dimethylester. Furthermore, the synthesis of *cis,cis*-5-benzyl-1,3-cyclohexane dicarbaldehyd is discribed. The synthesis involved the alkylation of bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one, dehydration of the alcohol, hydrogenation and oxidative cleavage of the vinylidene bridge.

The turn mimetic was protected as a Fmoc-amino acid, or as a azido carboxylicacid. It was incorporated in the positions 3 - 5 of the peptide hormone Angiotensin II. The diastereomeric peptides Asp-Arg-(*cis,cis*-3-aminomethyl-5-(4-methoxybenzyl)-1-cyclohexanecarbonyl)-His-Pro-Phe display no affinity for the AT<sub>1</sub>-receptor.

The second part of this work contains the synthesis of the *cyclo*[N-(2-mercaptoethyl)-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II as a novel, rigid Angiotensin II analogon and the unsuccessful ring closing metathesis of resin bound [N-allyl-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II. The N-alkylated peptides were synthesized by a amination of resin bound N-( $\alpha$ -halogenacetyl)peptides. The *cyclo*[N-(2-mercaptoethyl)-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II shows no affinity for the AT<sub>1</sub>-receptor.

Keywords: Angiotensin, peptide mimetics, *cis,cis*-1,3,5-substituted cyclohexanes

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1995 bis Juni 1998 im Institut für Organische Chemie der Universität Hannover unter der Leitung von Herrn Dr. rer. nat. B. Schmidt angefertigt.

Danken möchte ich Herrn Dr. Boris Schmidt für die Überlassung der interessanten Themenstellung, seine stete Diskussionsbereitschaft und Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit. Besonders sei hier sein Engagement erwähnt, welches niemals Kurzweil aufkommen ließ.

Herrn Prof. H. M. R. Hoffmann, PhD, DSc danke ich für die freundliche Unterstützung während meiner Promotionszeit.

Bei Frau E. Mettig und Frau G. Haß bedanke ich mich für ihre hilfreiche Unterstützung in organisatorischen Belangen.

Besonders möchte ich mich bei meinen jetzigen und ehemaligen Laborkollegen Dennis Ehlert, Dr. Holger Hugo, Vera Neitemeier und Mahmoud Zohri bedanken, die durch ihre stete Hilfsbereitschaft und durch ihre anregenden Diskussionen den Laboralltag erleichterten. Besonders bedanke ich mich bei Dennis Ehlert und Vera Neitemeier für ihre wertvollen Anregungen zu meiner Dissertation. Dem Arbeitskreis Hoffmann möchte ich meinen Dank für das angenehme Arbeitsklima aussprechen.

Für die Einführung in die Festphasenpeptidsynthese und für die freundliche Aufnahme während meines Schwedenaufenthaltes möchte ich mich bei Gunnar Lindeberg bedanken.

Den Mitarbeitern der Spektroskopieabteilung danke ich für die Anfertigung der Spektren und für ihre stete freundliche Hilfsbereitschaft.

Meiner Verlobten Manuela danke ich von Herzen für ihre Geduld und ihre tatkräftige Unterstützung während der gesamten Promotionszeit.

## I. Theoretischer Teil:

<b>1. Einleitung</b>	1
1.1 Die Entwicklung von Peptidmimetika mittels des rationalen Designs	3
1.2 Angiotensin II (Ang II)	5
1.2.1 Das Renin-Angiotensin-System (RAS)	5
1.2.2 Struktur-Aktivitäts-Beziehung von Ang II und dessen Analoga	7
1.2.3 Nicht-peptidische AT <sub>1</sub> - und AT <sub>2</sub> -Rezeptorantagonisten	11
<b>2. Peptidmimetika durch Inkorporation von unnatürlichen Aminocarbonsäuren</b>	12
2.1 Substitution mit D-konfigurierten Aminosäuren	12
2.2 Einbau von $\alpha$ -dialkylierten oder N-alkylierten Aminosäuren	13
2.3 Einbau von cyclischen Peptidmimetika	13
2.4 Theoretische Betrachtungen zur <i>cis,cis</i> -5-Benzyl-3-aminomethylcyclohexancarbonsäure als ein potentielles $\gamma$ -Turn-Mimetikum	14
2.5 Literaturbeispiele für Sechsringpeptidmimetika	16
<b>3. Aufgabenstellung</b>	20
<b>4. Retrosynthetische Betrachtung</b>	21
<b>5. Die Synthese der <i>cis,cis</i>-3-Aminomethyl-5-(4-hydroxybenzyl)cyclohexancarbonsäure mit verschiedenen Phenol- und Aminschutzgruppen</b>	27
5.1 Darstellung des <i>cis,cis</i> -1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylesters	27
5.2 Versuche zur Etablierung des Benzylrestes	31
5.3 Desymmetrisierung der <i>meso</i> -Diester	43
5.4 Synthese der diastereomeren Asp-Arg-( <i>cis,cis</i> -3-aminomethyl-5-(4-methoxybenzyl)-1-cyclohexancarbonyl)-His-Pro-Phe	49
5.5 Synthese der diastereomeren Asp-Arg-( <i>cis,cis</i> -3-aminomethyl-5-(4-hydroxybenzyl)-1-cyclohexancarbonyl)-His-Pro-Phe	52
5.6 NMR-spektroskopische Untersuchungen der Ang II-Analoga	54
5.7 Diskussion der Struktur-Aktivitäts-Beziehung	55
5.8 Modellstudien zur Synthese weiterer 1,3,5-substituierter 6-Ringmimetika	58
<b>6. Die Synthese von substituierten Cyclohexanen und Bicyclo[3.2.1]oct-6-enen</b>	61
6.1 NMR-spektroskopische Charakterisierung der bicyclischen Thioether	66
6.2 Synthese des <i>cis,cis</i> -5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbaldehyd	70
<b>7. Studien zur Synthese von neuen cyclischen Ang II-Analoga</b>	76
7.1 Einleitung	76
7.1.1 Cyclisierungsmethoden	76
7.1.2 Die Metathesereaktion als Cyclisierungsmethode	78
7.2 Versuche zur RCM von (N-(Allyl)Gly <sup>3,5</sup> )Ang II	83
7.3 Synthese des <i>cyclo</i> [Nmg <sup>3,5</sup> ]Ang II	87
7.4 Diskussion der Struktur-Aktivitäts-Beziehung	90

<b>8. Pharmakologische Testergebnisse</b>	92
<b>9. Fazit und Ausblick</b>	94

## **II. Experimenteller Teil:**

<b>1. Allgemeine Bemerkungen</b>	98
<b>2. Beschreibung der Experimente</b>	99

<b>III. Abkürzungsverzeichnis</b>	153
-----------------------------------	-----

<b>IV. Lebenslauf</b>	155
-----------------------	-----

# I. Theoretischer Teil

## 1. Einleitung

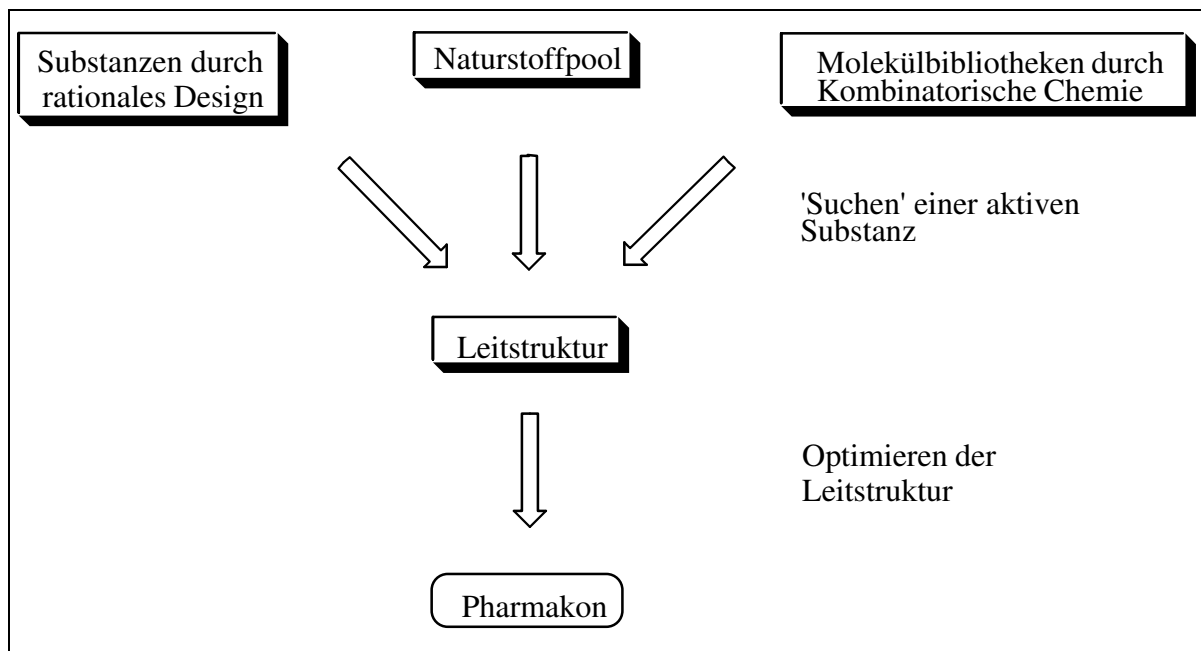
Krankheiten sind ein ständiger Begleiter der Menschen. Sie bedingen häufig den Tod des Individuums oder sind als Epidemien eine Gefahr für ganze Bevölkerungsgruppen. So wurde in den Jahren 1349 bis 1351 ca. 25 % der europäischen Bevölkerung durch die sogenannte Beulenpest, eine Bakterieninfektion, die durch Ratten und Flöhe bei mangelnder Hygiene übertragen wird, getötet. In den letzten Jahrhunderten wurde durch die Erforschung des menschlichen Körpers und dessen Funktionsweise ein besseres Verständnis der Krankheiten erworben. Dies ermöglichte eine gezielte Behandlung der menschlichen Leiden. Wesentliche Unterstützung bietet dabei die pharmazeutische Chemie, die durch Bereitstellung von biologisch wirksamen Substanzen die Bekämpfung von Krankheiten erleichtert. Beispiele sind das durch Fleming entdeckte Penicillin bzw. synthetische Sulfonamide, die erfolgreich als Antibiotika bei Bakterieninfektionen eingesetzt werden, sowie das Chinin als Antimalariamittel. Jedoch besteht auch in Zukunft der stetige Bedarf an neuen Pharmaka, da sich das Erscheinungsbild von Krankheiten zum Beispiel durch Resistenzbildung oder Mutation der Erreger ändert, oder es treten 'neue' Krankheitserreger auf wie zum Beispiel der HIV-Virus. Außerdem bewirkt die erhöhte Lebenserwartung und Lebensweise in modernen Industriegesellschaften, daß vermehrt Krankheiten eine Rolle spielen, die durch altersbedingt oder diese Lebensart hervorgerufen werden. Dazu gehören Kreislaufkrankungen, die durch Übergewicht, Streß, Bewegungsmangel oder Drogenkonsum hervorgerufen werden, bzw. Tumorerkrankungen, die durch anthropogene Umweltgifte und durch natürliche Cancerogene (Anteil > 80 %) verursacht werden.

Zum Auffinden von Leitsubstanzen, die eine biologische Wirkung zeigen, gibt es unterschiedliche Methoden (Schema 1). Leitsubstanzen sind Stoffe mit einer pharmakologischen Aktivität, die mehr oder weniger ausgeprägt ist und die dazu benutzt werden, durch Derivatisierung und Strukturmodifikation die biologische Wirkung zu optimieren.

Eine Methode ist das 'Screenen' von Naturstoffen und/oder von Substanzen, die künstlich in einem Labor erzeugt wurden. Das heißt, daß eine Vielzahl von beliebigen Stoffen in einem biologischen Essay auf ihre biologische Aktivität überprüft werden. Besonders die Naturstoffe bieten eine unermeßliche Quelle an aktiven Substanzen, weil diese Stoffwechselprodukte oftmals als chemische Waffen gegen Freßfeinde, Nahrungskonkurrenten, Krankheitserreger etc. dienen. Calicheamycin  $\gamma_1$  ist eine hoch zytotoxische Substanz, die auf diesen Wege gefunden wurde und die ein Beispiel für die interessanten cyclischen Endiine ist.

Während bei der Suche nach biologisch aktiven Naturstoffen mehr oder weniger nach dem Zufallsprinzip vorgegangen wird, versucht das rationale Design, Moleküle durch gezielte Synthese an den biologischen Wirkungsort anzupassen. Hierfür sind genaue Kenntnisse der biologisch relevanten Vorgänge auf molekularer Ebene notwendig. So wird zum Beispiel bei einem bekannten Enzym, dessen Röntgenstrukturanalyse oder dessen Substratspezifität bekannt ist, diese Information dazu benutzt, Molekülstrukturen zu entwickeln und zu syntheti-

sieren, die auf gewünschte Weise mit dem Enzym reagieren bzw. es inhibieren. Bei anderen biologischen Systemen ist oftmals nur die Konstitution eines Botenstoffes, Hormons, Neurotransmitters etc. bekannt, der mit einem unbekanntem Rezeptor koppelt. Durch systematische Modifikationen werden die Bindungseigenschaften des Rezeptors und dessen Liganden untersucht, damit man anschließend gezielt, Antagonisten bzw. Agonisten mit bestimmten pharmakologischen Eigenschaften herstellen kann.<sup>1</sup>



Schema 1: Schematische Darstellung für die Entwicklung von Pharmaka

Eine in den letzten Jahren entwickelte Methode ist die kombinatorische Chemie. Mit dieser Methode wird eine sehr große Zahl an Substanzen durch systematische Variation der Reaktionspartner hergestellt, um eine möglichst große Diversität der Reaktionsprodukte zu erhalten. Die Darstellung erfolgt entweder als einzelner Stoff durch eine automatisierte Parallelsynthese oder als Substanzmischung durch die Reaktion mehrerer Edukte mit einem Substrat. So erhält man Substanzbibliotheken, die ein Satz von Verbindungen darstellen, die durch ein bestimmtes Verfahren synthetisiert wurden. Die Entwicklung neuer Testsysteme, die aufgrund von Automatisierung und großer Empfindlichkeit sehr schnell arbeiten, ermöglicht es, diese große Menge an Stoffen auf ihre biologische Aktivität zu evaluieren. Da nun eine Vielzahl von Substanzen untersucht wird, ist die Wahrscheinlichkeit für das Auffinden einiger Leitstrukturen mit biologischer Aktivität sehr groß. Diese Substanzbibliotheken können ebenfalls in anderen Essays untersucht werden.<sup>2</sup>

Um die Vorteile der kombinatorischen Chemie und des rationalen Designs miteinander zu verbinden, wurde von Fesik et al. eine Methode entwickelt, die die Bindung von Ligandfrag-

<sup>1</sup> P. W. Schiller, Rational Design of Peptidomimetics: Structural and Pharmacological Aspects, *Medicinal Chemistry for the 21<sup>st</sup> Century*, Eds.: C. G. Wermuth, N. Koga, H. König, B. W. Metcalf, Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1994**, 215

<sup>2</sup> F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeldt, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436



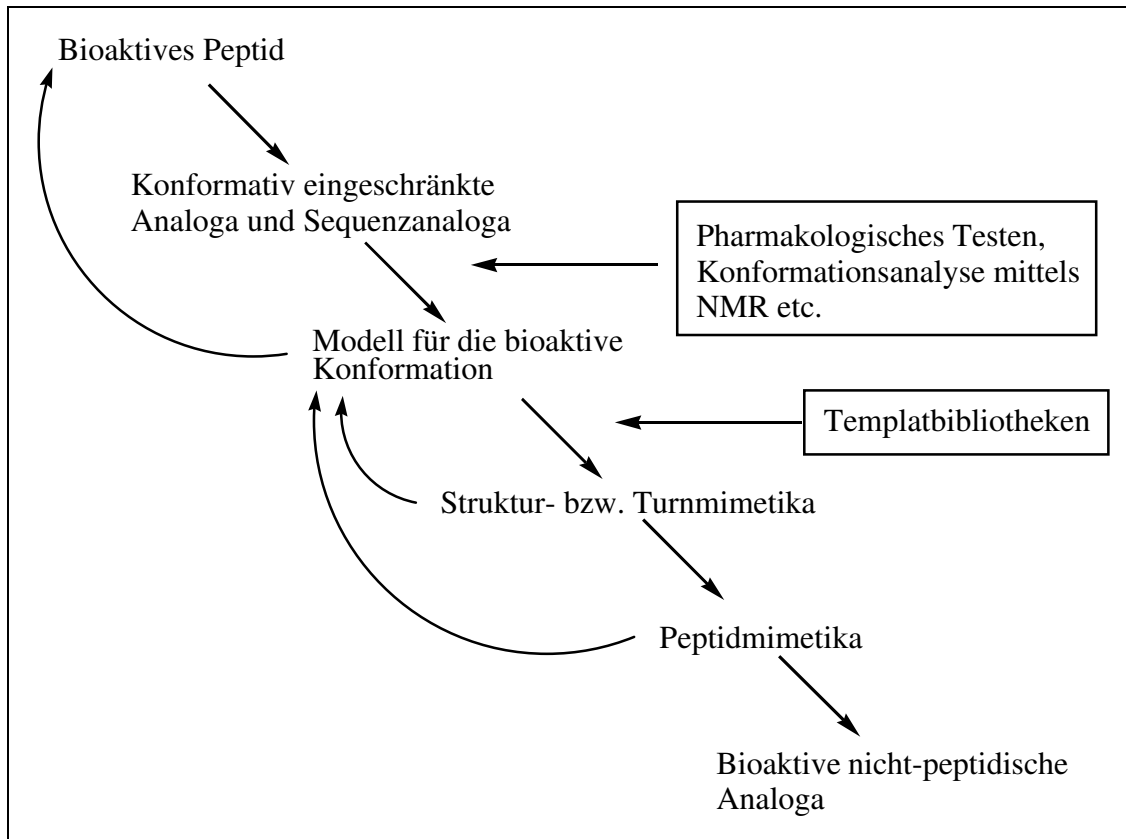
menten an unterschiedlichen Stellen eines Proteins durch heteronukleare  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$ -2D-NMR-Spektroskopie evaluiert. Anschließend werden an das Protein bindende Fragmente mit Linkern, deren Größe sich aufgrund des Abstandes der Bindungsstellen ergeben, zu einem Molekül verbunden. Dieses Molekül zeigt eine sehr hohe Affinität zum Protein aufgrund der mehrfachen Anzahl von Bindungsstellen und einen zusätzlichen Bindungsbeitrag durch den Linker. Diese Methode ermöglicht es, durch das Testen von einer geringen Anzahl von Substanzen im Vergleich zur kombinatorischen Chemie sehr schnell aktive Stoffe zu finden.<sup>3</sup>

### 1.1 Die Entwicklung von Peptidmimetika mittels des rationalen Designs

Für das rationale Design von Peptidmimetika ist es notwendig, genaue Kenntnisse über die bioaktive Konformation des Peptids zu besitzen. Da meist nur sehr wenig über die Struktur des Rezeptors aufgrund der Größe dieser Proteine und ihrer Exposition auf Zelloberflächen bekannt ist, müssen die notwendigen strukturellen und konformativen Eigenschaften des Rezeptorliganden durch systematisches Variieren der Peptidstruktur bestimmt werden. Man kann diese Vorgehensweise mit dem Einsetzen eines Puzzleteils in einem Puzzle vergleichen. Normalerweise kann man anhand der Form der Lücke im Puzzle eine Vorselektion der Puzzleteile treffen, die möglicherweise in die Lücke passen. Wäre diese Lücke im Puzzle aus irgendeinem Grund verdeckt, müßte man durch Ausprobieren der Puzzlestücke das richtige Teil finden. Entscheidend ist dabei, daß teilweise passende Puzzlestücke Aufschluß über die Form der Lücke geben können. Diese Vorstellung entspricht dem Schlüssel-Schloß-Prinzip, welches von Emil Fischer und Paul Ehrlich postuliert wurde. Dieses Modell geht von einer Komplexbildung zwischen dem bioaktiven Peptid, welches in seiner bioaktiven Konformation vorliegt, mit dem spezifischen Rezeptor aus, dessen aktive Bindungstasche an das Peptid angepaßt ist. Die Komplexbildung induziert ein Signal, welches durch die Konformationsänderung im Rezeptor bewirkt wird. Während sich beim Schlüssel-Schloß-Prinzip der Ligand und der Rezeptor wie starre Schablonen verhalten, gehen Burgen et al. beim 'Zipper-Modell' davon aus, daß der Ligand erst bei der Bildung des Rezeptor-Ligand-Komplexes in seine bioaktive Konformation durch Bildung von Wasserstoffbrücken etc. gezwungen wird.<sup>4</sup> In dem weitergehenden 'doppelt induzierter *fit*'-Modell passen sich Rezeptor und Ligand in einem gegenseitig induzierten Konformationswechsel aneinander an. Die Folge der Konformationsänderung ist eine Signaltransduktion im Rezeptor.<sup>3b</sup> Aus diesem Grund muß die Konformation des Peptids, welche im Kristall (Röntgenstrukturanalyse) oder in Lösung (NMR-Spektroskopie) gemessen wird, nicht unbedingt die bioaktive Konformation darstellen. Außerdem sind viele Peptide hoch flexible Moleküle, die eine Vielzahl von Konformationen einnehmen können. Durch die Synthese von konformativ eingeschränkten Peptidanaloga und deren biologische und spektroskopische Evaluierung sind Rückschlüsse auf die bioaktive Konformation möglich. Außerdem gestattet diese Methode die Identifizierung von Rezeptor-Subtypen.

<sup>3</sup> a) S. B. Shuker, P. J. Hayduk, R. P. Meadows, S. W. Fesik, *Science*. **1996**, 274, 1531

b) H. Kessler, Ein neuartiges Verfahren zur Wirkstoffsuche mit einem kombinatorisch-rationalen Design, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 857



Schema 2: Schematische Darstellung der Strategie zur Entwicklung von Peptidmimetika bzw. nicht-peptidischen Analoga

Anhand dieser Modelle für die bioaktive Konformation können Struktur motive des Peptids durch nicht-peptidische Template ersetzt werden. Die Analyse dieser Struktur- bzw. Peptidmimetika liefert weitere Rückschlüsse auf die bioaktive Konformation. Schließlich führt die Verwendung der aktiven Peptidmimetika als Leitstruktur zum Design von nicht-peptidischen biologisch aktiven Substanzen (Schema 4).

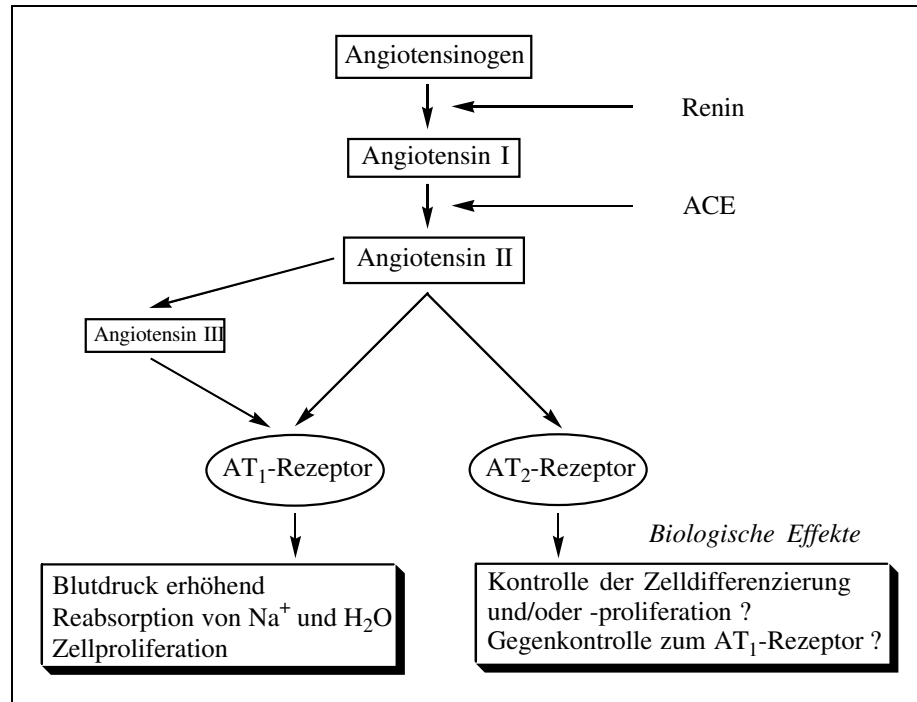
Aus diesem Grund ist die Erweiterung des Methodenarsenals notwendig, die eine generelle Vorgehensweise bei der Synthese von rigiden Peptidanaloga durch neue Synthesemethoden und von Turnmimetika mittels neuer Template beschreiben. In dieser Arbeit wird die Synthese von neuen rigiden Peptidanaloga und Turnmimetika beschrieben. Für diesen Zweck wurde das Peptidhormon Angiotensin II als Testsystem ausgewählt. Angiotensin II ist ein geeignetes Modell, weil es aufgrund der vielen Studien zur bioaktiven Konformation und zur Struktur-Aktivitäts-Beziehung der Aminosäurereste ein gut untersuchtes System ist. Außerdem ist Angiotensin II ein interessantes pharmakologisches 'Target' für die Behandlung von Hypertonie (Bluthochdruck), da Angiotensin II ein wichtiges Hormon bei der Blutdruckregulation ist. Die Wichtigkeit für die Entwicklung neuer effektiver Antihypertonika zeigt sich in der Tatsache, daß Hypertonie eine der häufigsten Erkrankungen des Menschen ist. Eine Hypertonie wird bei 5 - 10 % aller Menschen und bei ca. 20 % der über 40-jährigen gefunden. Die Folgeerscheinungen sind lebensbedrohliche Bluthochdruckkrisen, Herzinfarkt, akutes Linksherzversagen

<sup>4</sup> A. S. V. Burgen, G. C. K. Roberts, J. Feeney, *Nature (London)*, **1975**, 253, 753

mit Lungenödem, hypertensive Schädigung des zentralen Nervensystems und Gefäßerweiterungen durch die hypertensive Überbelastung.<sup>5</sup>

## 1.2 Angiotensin II (Ang II)

### 1.2.1 Das Renin-Angiotensin-System (RAS)<sup>6</sup>



Schema 3: Vereinfachte schematische Darstellung des RAS

Die Ang II-Biosynthese (Schema 3) beginnt mit der enzymatischen Abspaltung des Dekapeptids Ang I (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu) von dem Protein Angiotensinogen durch das Enzym Renin. Angiotensinogen ist ein  $\alpha$ 2-Plasmaglobulin, das hauptsächlich in der Leber synthetisiert wird. Anschließend wird das Ang I, dessen Halbwertszeit 1.7 - 2.6 min beträgt, durch das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) in das Ang II überführt, indem die C-terminalen Reste His<sup>9</sup> und Leu<sup>10</sup> abgespalten werden. In einem weiteren enzymatischen Abbau entsteht das Ang III durch Abspaltung von Asp<sup>1</sup>. Die Halbwertszeit von Ang II im Blutplasma beträgt 2.8 bis 3.2 min. Es ist das eigentliche Peptidhormon, welches an den spezifischen Rezeptoren die biologische Aktivität hervorruft.

Renin ist eine Aspartyl-Protease, die im neutralen Bereich ihre größte Aktivität besitzt und eine extrem hohe Substratspezifität gegenüber Angiotensinogen, dem einzigen körpereigenen Substrat, aufweist. Renin wird als Prorenin, einer inaktiven Vorstufe, in den Zellen der Nierenkapillaren produziert und gespeichert. Kontrollmechanismen, die die Reninfreisetzung steuern, sind die Blutdrucküberwachung in den Nierenarteriolen, die NaCl-Konzentration des Blutes, ein negativer Feedback durch das Ang II und eine Stimulation durch Prostaglandine,

<sup>5</sup> L. Geisler, *Innere Medizin I*, 13. Auflage, 1989, W. Kohlhammer GmbH, Stuttgart, 102

<sup>6</sup> P. Dominiak, T. Unger, *Angiotensin II, AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten*, 1997, Steinkopff Verlag, Darmstadt

Histamin, Dopamin,  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten etc.. ACE ist eine Dipeptidylcarboxypeptidase mit einer relativ unspezifischen Wirkung. So werden auch Bradykinin, Enkephaline, Substanz P, LHRH und Insulin durch ACE abgebaut. ACE tritt hauptsächlich im Gefäßendothel (einschichtige Zellauskleidung der Gefäße) auf, jedoch wurde es auch schon in anderen Körperteilen gefunden. Ein weiteres Enzym, das die Konvertierung von Ang I zu Ang II durchführt, ist die im Herzen vorkommende Chymase. Außerdem gibt es eine Reihe von körpereigenen Enzymen, die direkt aus Angiotensinogen das Ang II erzeugen.

Die Rezeptoren des Ang II werden in den AT<sub>1</sub>-Rezeptor, der eine hohe Affinität zu Losartan **9** und eine geringe Affinität zu CGP 42112A (**6**) und PD 123177 (**11**) besitzt, und in den AT<sub>2</sub>-Rezeptor unterteilt, bei dem die Bindungsverhältnisse der eben genannten Rezeptorliganden genau umgekehrt vorliegen. Der AT<sub>1</sub>-Rezeptor wird nochmals in den AT<sub>1a</sub>- und AT<sub>1b</sub>-Rezeptor unterschieden. Ein weiterer verwandter Rezeptor ist der AT<sub>4</sub>-Rezeptor, der das Ang IV ([des-Asp<sup>1</sup>,des-Arg<sup>2</sup>]Ang II als Liganden hat. Eine atypische Bindungsstelle von Ang II sind Zellkulturen, die mehr als 95 % Herzfibroblasten enthalten und durch Ang II zur Zellteilung angeregt werden. Die Zellteilung wird nicht durch einen typischen AT<sub>1</sub>-Antagonisten wie Losartan **9** unterdrückt. Der AT<sub>1</sub>-Rezeptor gehört zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und wird in einer Vielzahl von Geweben angetroffen wie z. B. Milz, Leber, Nieren, Gefäßmuskelzellen von Aorten, Herz, Hypothalamus etc.. Die Struktur und die Signalübermittlung des AT<sub>2</sub>-Rezeptors sind bis heute weitgehend unbekannt. In der Nebenniere, im Herzen, in den Nierenarterien und in der Gebärmutter erwachsener Organismen kommen AT<sub>1</sub>- und AT<sub>2</sub>-Rezeptoren gleichermaßen vor, während der AT<sub>2</sub>-Rezeptor in der Bauchspeicheldrüse, im Nebennierenmark, im Uterus und in bestimmten Zellen der Ovarien dominiert. Der AT<sub>2</sub>-Rezeptor ist außerdem weit verbreitet in fetalen Geweben, weshalb ihm eine Beteiligung an Entwicklungs- und Differenzierungsprozessen zugeschrieben wird. Schon wenige Wochen nach der Geburt finden in den meisten Gewebearten jedoch bedeutende Veränderungen im Verhältnis von AT<sub>1</sub>- und AT<sub>2</sub>-Rezeptor statt. Im adulten Organismus dominiert der AT<sub>1</sub>-Rezeptor. Die biologische Funktion des AT<sub>2</sub>-Rezeptors ist zur Zeit noch unbekannt. Man nimmt an, daß dieser Rezeptorsubtyp die Zelldifferenzierung und das Zellwachstum steuert, da zum Beispiel mittels einer Hemmung des AT<sub>2</sub>-Rezeptors die durch Ang II hervorgerufene Proliferation (Wucherung) von Nervenzellen unterdrückt wurde. Ein anderer Versuch deutet auf eine mögliche Einflußnahme des AT<sub>2</sub>-Rezeptors auf die motorischen und geistigen Fähigkeiten eines Organismus hin, weil Mäuse mit einem gentechnisch entfernten AT<sub>2</sub>-Gen eine geringere Vitalität und Wasseraufnahme aufwiesen als die Kontrollmäuse.<sup>7</sup> In einem weiteren Mausmodell führte die Entfernung des AT<sub>2</sub>-Gens zu einem erhöhten Blutdruck, so daß man dem AT<sub>2</sub>-Rezeptor eine Blutdruck senkende Rolle als Gegenspieler des AT<sub>1</sub>-Rezeptor zuwies.<sup>8</sup>

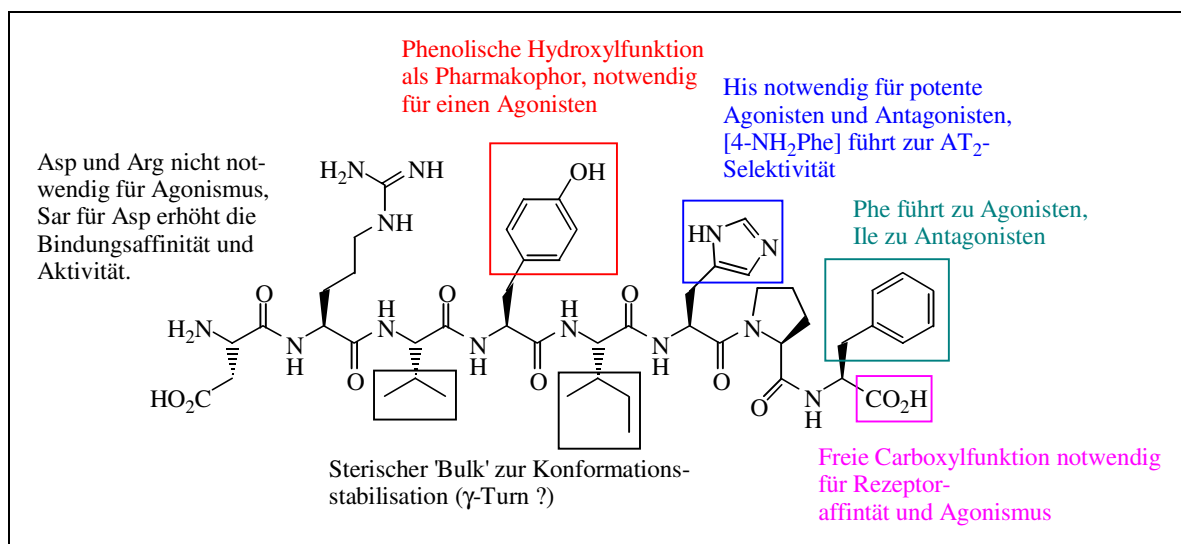
Die Hauptfunktion des AT<sub>1</sub>-Rezeptors im Zusammenspiel mit dem RAS-System ist die Regulation des Blutdruckes durch die Faktoren Natrium-, Volumen- und Herz-Kreislauf-

<sup>7</sup> L. Hein, G. S. Barsh, R. E. Pratt, V. J. Dzau, B. K. Kobilka, *Nature* **1995**, 377, 744

<sup>8</sup> T. Ichiki, P. A. Labosky, C. Shiota, S. Okuyama, Y. Imagawa, A. Fogo, F. Niimura, I. Ichikawa, B. L. m. Hogan, T. Inagami, *Nature* **1995**, 377, 748

Homöostase (Aufrechterhaltung). Dies wird durch unterschiedliche Wirkungen auf die inneren Organe erreicht. Ang II bewirkt eine direkte Vasokonstriktion der Gefäße, was den Gefäßwiderstand und somit den Blutdruck steigert. Das Ang II wirkt positiv inotrop und positiv chronotrop auf das Herz. Das heißt, daß die Kontraktilität und somit das Schlagvolumen des Herzen erhöht wird und daß die Herzschlagfrequenz vergrößert wird. Jedoch bewirkt die Vasokonstriktion der Gefäße eine Gegensteuerung aufgrund der Stimulation der Druckrezeptoren, so daß diese Effekte am gesunden Organismus nicht beobachtet werden. Eine indirekte Wirkung auf das Herz entsteht durch die Beeinflussung des zentralen Nervensystems durch Ang II. In der Niere beeinflußt Ang II mehrere Bereiche, die für die Blutfiltration und für die Natrium- und Wasserreabsorption zuständig sind. Durch Änderung der glomerulären Filtrationsrate und einer verstärkten Reabsorption von Natrium und Wasser wird eine blutdrucksteigernde Wirkung erzielt, da bei gleichzeitiger Gefäßverengung das Blutplasmavolumen zunimmt. Außerdem wird die Produktion von Aldosteron stimuliert, welches ebenfalls eine Reabsorption von Natrium und Wasser sowie eine vermehrte Kaliumausscheidung bewirkt. Ein weiterer Wirkungsort von Ang II ist das Gehirn. Dort ruft es verschiedene physiologische Reaktionen hervor wie z. B. Durst, Blutdruckerhöhung, Freisetzung verschiedener Hormone und Natriurese. Die Vermittlung der zentralen Ang II-Stimulation geschieht durch Freisetzung von Vasopressin, Modulation der aus dem zentralen Sympathikus übermittelten Nervenimpulse und Hemmung der Barorezeptoren.

### 1.2.2 Struktur-Aktivitäts-Beziehung von Ang II und dessen Analoga<sup>9</sup>



Schema 4: Das Octapeptid Angiotensin II (Ang II) mit einer Beschreibung der relevanten Aminosäuren. Für die Konformation vermutet man Schleifen im Peptidrückgrat in den Positionen 3 - 5, 5 - 6 und 7.

Angiotensin II ist ein lineares Octapeptid mit der Sequenz Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe (Mensch, Pferd, Schwein), dessen N- und C-Terminus als freies Amin bzw. als freie Carbon-

<sup>9</sup> J. C. Hodges, J. M. Hamby, C. J. Blankley, Angiotensin II receptor binding inhibitors, *Drugs of the Future* **1992**, 17(7), 575

säure vorliegt. Das Rinderangiotensin II besitzt in der fünften Position ein Valinrest. Es besitzt jedoch die gleiche biologische Aktivität.

Der Asp-Rest in der Position 1 ist nicht relevant für eine Bindungsaffinität zum AT<sub>1</sub>-Rezeptor. So zeigt das [des-Asp<sup>1</sup>]Ang II (Ang III) noch ähnliche intrinsische, agonistische Wirkung und ist ein natürlicher AT<sub>1</sub>-Ligand im RAS-System jedoch bei reduzierter Affinität. Das weiter verkürzte Ang II-Segment [des-Asp<sup>1</sup>, des-Phe<sup>8</sup>]Ang II besitzt immer noch eine schwache antagonistische Wirkung. Der Ersatz von Asp<sup>1</sup> durch Sarcosin (N-Methylglycin) führt zu Agonisten und Antagonisten, die eine erhöhte Bindungsaffinität aufweisen. Außerdem wird durch die N-methylierte Aminosäure die Resistenz gegenüber enzymatischen Abbau erhöht. Eine positiv geladene Aminosäure (protonierte Guanidinfunktion des Arg<sup>2</sup>) in der zweiten Position verbessert die Bindungsaffinität. Die Aminosäuren Val<sup>3</sup> und Ile<sup>5</sup> bzw. Val<sup>5</sup> scheinen eine stabilisierende Funktion auf das Peptidrückgrat aufgrund ihrer hydrophoben sterisch anspruchsvollen Substituenten zu haben. Durch eine 3-5-Cyclisierung von Thiohydroxyaminosäuren resultieren mäßige bis potente Agonisten. Besonders das *cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>]Ang II **1** von Spear et al. zeigt eine equipotente Bindungsaffinität und biologische Wirkung wie das Ang II.<sup>10</sup> Ein weiteres konformativ eingeschränktes Analogon ist das *cyclo*[Pen<sup>3,5</sup>]Ang II **2** von Spear et al., welches eine höhere Affinität zum AT<sub>1</sub>-Rezeptor aufweist, aber *in vivo* eine ca. 80-mal schwächere biologische Aktivität bietet.<sup>11</sup> Auch führt dieses Strukturmotiv zu potenten Antagonisten (*cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>,Ile<sup>8</sup>]Ang II). Eine wichtige Rolle spielt das Tyr<sup>4</sup> in Ang II. Die phenolische Hydroxyfunktion des Tyrosins ist wichtig für eine hohe Bindungsaffinität und biologische Aktivität. Die Methylierung des Tyrosins erzeugt den schwachen Antagonisten Sarmesin ([Sar<sup>1</sup>,Tyr(OMe)<sup>4</sup>]Ang II) **3**. Weitere antagonistische Analoga sind [Phe<sup>4</sup>]Ang II, [Sar<sup>1</sup>,4-F-Phe<sup>4</sup>]Ang II und [4-Cl-Phe<sup>4</sup>]Ang II. Die Analoga [Sar<sup>1</sup>,4-F<sub>3</sub>C-Phe<sup>4</sup>]Ang II und [Sar<sup>1</sup>,4-HO<sub>2</sub>C-Phe<sup>4</sup>]Ang II von Matsouka et al. sind inaktiv.<sup>12</sup> Die Substitution des His<sup>6</sup> durch aromatische Aminosäuren führt zu Antagonisten und die Substitution mit 4-Aminophenylalanin (**4**) zu einer Erhöhung der AT<sub>2</sub>-Selektivität, wobei die biologische Aktivität noch nicht geklärt ist. Pro<sup>7</sup> als cyclische Aminosäure spielt in der Faltung des Peptidrückgrates eine wichtige Rolle.

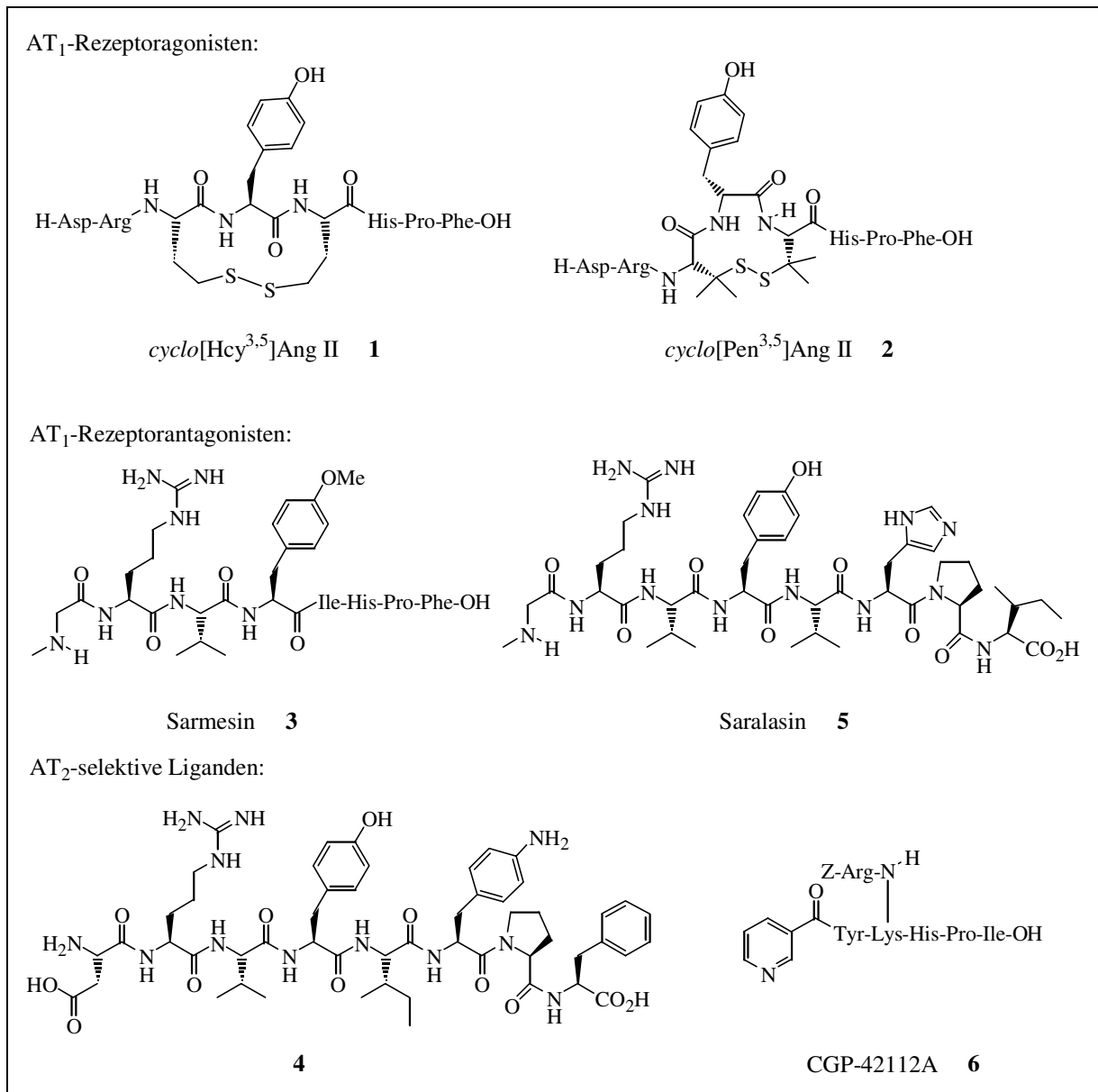
Der C-Terminus des Phe<sup>8</sup> muß als freie Carbonsäurefunktion vorliegen, damit das Ang II eine hohe Rezeptorbindung und Aktivität aufweist. Das verkürzte Analogon [des-Phe<sup>8</sup>]Ang II besitzt nur noch partielle agonistische Aktivität, es behält aber eine gute Bindungsaffinität. Der Rest und die Stereochemie der C-terminalen Aminosäure steuern zwischen Agonismus und Antagonismus. Die Substitution mit aliphatischen Aminosäuren führt zu Antagonisten. Saralasin ([Sar<sup>1</sup>,Val<sup>5</sup>,Ile<sup>8</sup>]Ang II **5**) ist ein Beispiel für solch ein potenten Antagonisten. Eben-

<sup>10</sup> K. L. Spear, M. S. Brown, E. J. Reinhard, E. J. McMahon, M. O. Gillian, M.A. Palomo, D. R. Patton, *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1935

<sup>11</sup> B. Schmidt, S. Lindman, W. Tong, G. Lindeberg, A. Gogoll, Z. Lai, M. Thörnwall, B. Synnergren, A. Nilsson, C. J. Welch, C. Westerlund, F. Nyberg, A. Karlen, A. Hallberg, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 903

<sup>12</sup> J. M. Matsoukas, G. Angelis, A. Wahhab, J. Hondrelis, D. Panagiotopoulos, R. Yamdagni, Q. Wu, T. Mavromoustakos, H. L. S. Maia, R. Ganter, G. J. Moore, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 4660

falls beeinflusst die Stereochemie die biologische Aktivität des Ang II. Dies spiegelt sich in den vier konformativ eingeschränkten Phe<sup>8</sup>-Analoga wieder. Während die Phe<sup>8</sup>-Analoga [Tic<sup>8</sup>]Ang II (Tic: 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure) und [ $\alpha$ -Me-Phe]Ang II potente Agonisten sind, entfalten die Phe<sup>8</sup>-Analoga [Ind<sup>8</sup>]Ang II (Ind: 3-Aminoindan-3-carbonsäure) und [N-Me-Phe<sup>8</sup>]Ang II antagonistische Wirkung. D-konfigurierte Aminosäuren führen ebenfalls zu Antagonisten.

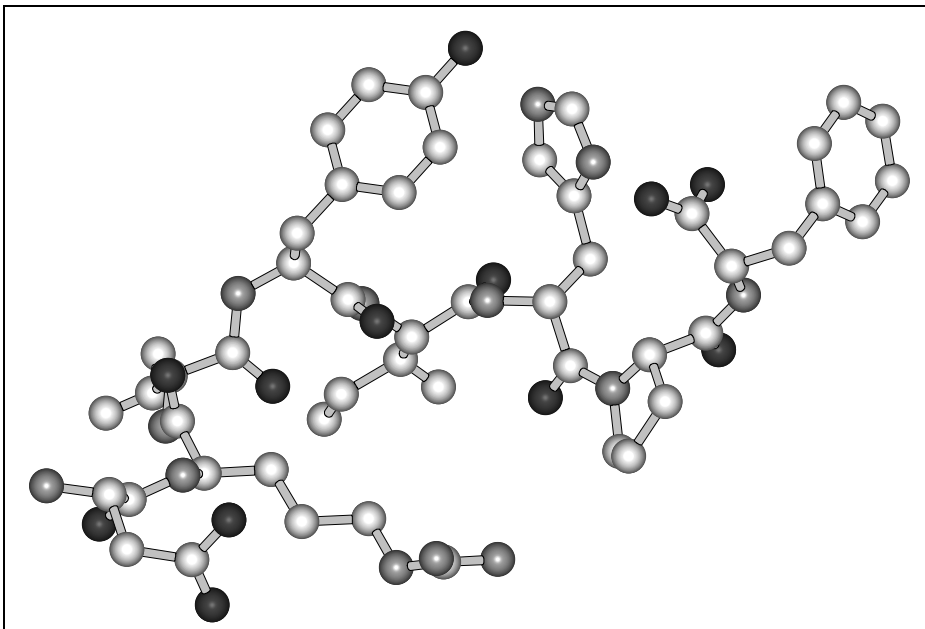


Schema 5: Ang II-Analoga

Allgemein werden die Antagonisten in zwei Typen unterschieden. Die Typ-I-Antagonisten sind die [Ile<sup>8</sup>]Ang II-Analoga, deren antagonistische Wirkung eine Folge der quasi irreversiblen Blockierung des AT<sub>1</sub>-Rezeptors ist. Die Typ-II-Antagonisten sind die kompetitiven [Tyr(OMe)<sup>4</sup>]Ang II-Analoga, deren Rezeptorbindung schnell und reversibel aufgehoben werden kann. Außerdem zeigen diese Typ-II-Antagonisten eine geringere Toleranz gegenüber Substitution von Aminosäureresten. Ein weiterer AT<sub>2</sub>-selektiver Ligand ist das CGP-42112A

(6), in dem die Aminosäuren 1 - 3 durch Pyridin-3-carbonsäure und die Aminosäuren Phe<sup>8</sup> und Ile<sup>5</sup> durch Ile bzw. durch N<sup>ε</sup>-Z-Arg-Lys ersetzt wurden.

Für die bioaktive Konformation wurden bereits eine Vielzahl von Modellen vorgeschlagen. Aufgrund der Wichtigkeit der Aminosäurereste Tyr<sup>4</sup>, His<sup>6</sup>, und Phe-OH<sup>8</sup> wurde ein *charge-relay*-System analog von Serinproteasen postuliert. Eine hydrophobe Wechselwirkung der aromatischen Reste bringt die Aminosäurereste in eine räumliche Nähe. Die Folge ist eine Deprotonierungskaskade zwischen dem Carboxylatanion des Phe<sup>8</sup>, dem Imidazolrest des His<sup>4</sup> und der Hydroxyfunktion des Tyr<sup>8</sup>, so daß ein Phenolatanion am Tyrosin erzeugt wird, welches die Rezeptorbindung und Signalinduktion bewirkt (Schema 6). Entscheidend für diese bioaktive Konformation ist eine durch NMR-Spektroskopie nachgewiesene Tyr<sup>4</sup>-Ile<sup>5</sup>-His<sup>6</sup>-Schleife und eine Ile-Pro-*trans*-Amidbindung.<sup>13</sup> Diese Strukturelemente konnten nicht in Typ-I-Antagonisten nachgewiesen werden.<sup>12</sup> Ein weiterer Hinweis ist die durch pH-abhängige Circular-Dichroismus-Messungen nachgewiesene Wechselwirkung zwischen dem Tyr<sup>4</sup> und His<sup>6</sup>, die sensitiv gegenüber der Aminosäuresubstitution in Position 5 und 8 ist.<sup>14</sup>



Schema 6: Theoretische Darstellung der möglichen bioaktiven Konformation des Ang II mit einer Deprotonierungskaskade, die die räumliche Nähe der C-terminalen Carboxylfunktion und der Tyrosinphenolfunktion zum Imidazolrest des His<sup>6</sup> voraussetzt. Interessanterweise zeigt diese Konformation sowohl eine Schleifenstruktur für das Ile<sup>5</sup> als auch für das Tyr<sup>4</sup>.

Mittels NMR-spektroskopischen Untersuchungen mit paramagnetischen Lanthanidionen wurden unterschiedliche Konformationen ermittelt, die unter anderem auf eine räumliche Nähe von C- und N-Terminus hinweisen. Von Printz et al. wurden zwei unterschiedliche Modelle vorgeschlagen: ein  $\gamma$ -Turn für die Sequenz Val-Tyr-Ile bzw. ein  $\beta$ -Turn in der Sequenz Val-

<sup>13</sup> J. M. Matsoukas, J. Hondrelis, M. Keramida, T. Mavromoustakos, A. Makriyannis, R. Yamdagni, Q. Wu, G. J. Moore, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 5303

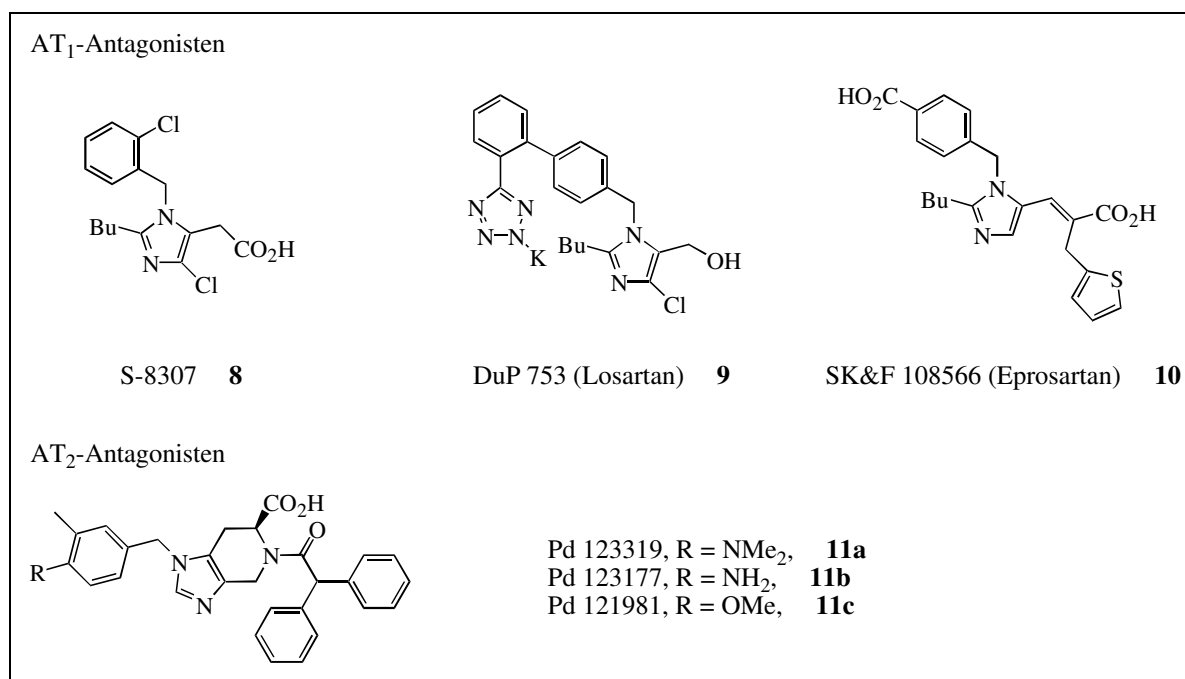
<sup>14</sup> R. W. Woody, *The Peptides*, Eds.: S. Udenfriend, J. Meienhofer, **1985**, Academic Press, Orlando, 7, 91



Tyr-Ile-His mit einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Val<sup>3</sup> und dem His<sup>6</sup>.<sup>15</sup> Eine  $\gamma$ -Turn ähnliche Struktur wird durch das aktive Ang II-Analogen von Spear et al. unterstützt. Jedoch zeigen reine  $\gamma$ -Turnmimetika wie das *cyclo*[Cys<sup>3,5</sup>]Ang II **7** nur eine schwache Bindungsaffinität. Das  $\beta$ -Turnmodell entspricht einer schleifenartigen Struktur, wie sie von Matsoukas et al. vorgeschlagen wurde.

Ein Hauptproblem bei der Bestimmung der bioaktiven Konformation des Ang II ist die hohe Flexibilität des Peptids, die das Einnehmen einer Vielzahl von Konformeren ermöglicht.

### 1.2.3 Nicht-peptidische AT<sub>1</sub>- und AT<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten



Schema 7: Nicht-peptidische AT<sub>1</sub>- und AT<sub>2</sub>-Rezeptorliganden

Die heutigen Nicht-peptidischen AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten, die als Pharmaka vermarktet werden, haben alle ihren Ursprung in dem von Takeda Chemical Industries, Ltd entdeckten polysubstituierten Imidazolderivat **8** (Schema 7).<sup>16</sup> Aus dieser Leitstruktur entwickelten unabhängig voneinander zwei Forschungsgruppen bei DuPont und SmithKline Beecham zwei AT<sub>1</sub>-selektive Rezeptorantagonisten auf Basis eines substituierten Imidazolringes. Dabei benutzten beide Gruppen unterschiedliche molekulare Modelle für die Bindung des Ang II an den Rezeptor, um die Leitstruktur **8** mit dem C-Terminus des Ang II anzugleichen. Diese rationalen Modelle führten in einer Reihe von systematischen Modifikationen zu Losartan **9** und Eprosartan **10**. Die einzigen zur Zeit zugänglichen AT<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten sind die Imidazolpiperidinderivate **11a-c**, die sich durch eine elektronenreiche Benzylgruppe und durch ei-

<sup>15</sup> R. E. Lenkinski, J. D. Glickson, *The Peptides*, Eds.: S. Udenfriend, J. Meienhofer, **1985**, Academic Press, Orlando, 7, 333

<sup>16</sup> R. R. Wexler, W. J. Greenlee, J. D. Irvin, M. R. Goldberg, K. Prendergast, R. D. Smith, P. B. M. W. M. Timmermans, Nonpeptide Angiotensin II Receptor Antagonists: The Next Generation in Antihypertensive Therapy, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 625

nen sterisch anspruchsvollen Diphenylacetatrest von den AT<sub>1</sub>-Antagonisten unterscheiden (Schema 7).

## 2. Peptidmimetika durch Inkorporation von unnatürlichen Aminocarbonsäuren

Der Einbau von unnatürlichen Aminosäuren ist eine einfache Methode, um durch strukturelle Veränderungen in Peptidhormonen die Aktivität zu ändern. Aufgrund ihrer verminderten oder gesteigerten Aktivität sind Rückschlüsse auf die Struktur-Aktivitäts-Beziehung möglich. Diese neuen Peptidmimetika zeichnen sich oftmals durch eine erhöhte Aktivität, eine größere Selektivität für einen Rezeptor und eine verstärkte Resistenz gegen einen metabolischen Abbau aus. Durch den Ersatz von Aminosäuresequenzen in Peptidhormonen durch einfachere Substrukturen ist ein sukzessiver Aufbau von nicht-peptidischen Wirkstoffen möglich, die aufgrund der oben genannten Eigenschaften ein besseres pharmazeutisches Verhalten aufweisen als Peptide.<sup>17</sup> Die Substitution kann durch eine Vielzahl von Strukturen erfolgen, von denen einige in den folgenden Abschnitten exemplarisch vorgestellt werden.

### 2.1 Substitution mit D-konfigurierten Aminosäuren

Die natürlich vorkommenden Aminosäuren besitzen hauptsächlich L-Konfiguration, abgesehen von den D-konfigurierten Aminosäuren, die im Stoffwechsel einiger Mikroorganismen auftreten. Das heißt, daß auch die natürlichen Peptidhormone aus L-konfigurierten Aminosäuren bestehen und die Enzyme, die Peptidbindungen hydrolisieren, aufgrund ihrer Substratspezifität an L-konfigurierte Aminosäuren angepaßt sind. Der Ersatz einer L-konfigurierten Aminosäure durch eine D-konfigurierte bewirkt nun eine erhöhte Stabilität der Peptidbindung gegenüber einer enzymatischen Spaltung. Die Folge ist eine erhöhte Aktivität durch eine längere Verweilzeit am biologischen Wirkungsort. Außerdem können durch den Einbau von D-konfigurierten Aminosäuren Sekundärstrukturen des Peptids stabilisiert werden. In vielen Fällen ist nicht die Orientierung des Peptidrückgrates sondern die Orientierung der Seitenketten für die Rezeptorerkennung relevant. So besitzt ein  $\beta$ -Turn des Typs I (L-Xaa-L-Xaa) die gleiche Ausrichtung der Seitenketten wie ein  $\beta$ -Turn des Typs II' (D-Xaa-L-Xaa). Diese beiden Turns können sich jedoch in der Stabilität unterscheiden und dadurch das Gleichgewicht der Konformere zugunsten der bioaktiven Konformation verschieben.

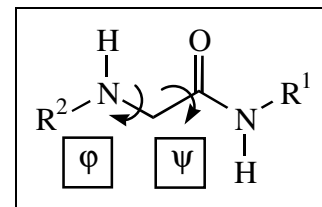
Das cyclische Tetradekapeptid Somatostatin H-Ala-Gly-cyclo(Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys)-OH ist ein Hormon aus dem Hypothalamus und anderer endokriner Drüsen, welches die Ausschüttung von Glucagon, Insulin, Gastrin, Secretin und Wachstumshormonen unterdrückt. Für die bioaktive Struktur des Somatostatins wurde ein  $\beta$ -Turn in dem Segment -Phe-Trp-Lys-Thr- vorgeschlagen. Durch den Ersatz des L-Tryptophans durch ein D-

<sup>17</sup> A. Giannis, T. Kolter, Peptidmimetika für Rezeptorliganden - Entdeckung, Entwicklung und medizinische Perspektiven, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1303

konfiguriertes konnte von Arison et al. die Aktivität im Vergleich zu dem nativen Somatostatin gesteigert werden.<sup>18</sup>

## 2.2 Einbau von $\alpha$ -dialkylierten oder N-alkylierten Aminosäuren

Neben der erhöhten Stabilität gegen den enzymatischen Abbau wegen der sterischen Abschirmung der Amidbindung schränken diese mehrfach substituierten Aminosäure die konformativen Freiraum der  $\phi$ - und der  $\psi$ -Bindung ein (Schema 8), so daß nicht mehr alle möglichen Konformationen des Ramachandran-Diagrammes eingenommen werden. So führt die Substitution des Asparaginrestes am N-Terminus gegen Sarcosin (N-Methylglycin) in Ang II neben der Erhöhung der biologischen Aktivität zu einer erhöhten Resistenz gegen einen metabolischen Abbau.<sup>19</sup>



Schema 8: Definition der Torsionswinkel  $\phi$  und  $\psi$

## 2.3 Einbau von cyclischen Peptidmimetika

Die Funktion von cyclischen nicht-peptidischen Substrukturen in Hormonen ist das Nachahmen von Sekundärstrukturen des Peptidhormons. Die Substituenten des Mimetikums sollten idealerweise die gleiche Orientierung im Raum haben wie die relevanten Seitenkettenfunktionen der Aminosäurereste, die für die Rezeptorerkennung notwendig sind. Infolge des cyclischen Charakters des Strukturmetikums ist die Orientierung der Pharmakophore 'eingefroren', so daß das Peptid von sich aus die bioaktive, das heißt die rezeptorgebundene Konformation einnimmt. Dadurch sollte man eine erhöhte Rezeptoraffinität erwarten, da die Entropieabnahme bei der Rezeptorbindung kleiner ist als bei der Bindung eines flexiblen Moleküls.

Solche Peptidanaloga haben aufgrund ihrer nicht-peptidischen Struktur neben einer erhöhten metabolischen Stabilität eine erhöhte Lipophilie aufgrund fehlender polarer Amidbindungen. Dies bewirkt eine bessere Bioverfügbarkeit, weil die Moleküle aufgrund ihrer Lipophilie besser durch Membrane resorbiert werden, so daß die Stoffe schneller ihren zellulären Wirkungsort erreichen. Zum Beispiel wird dadurch die Durchlässigkeit der Mimetika für die Blut-Hirnschranke erhöht, die das Gehirn vor polaren Giftstoffen schützt.

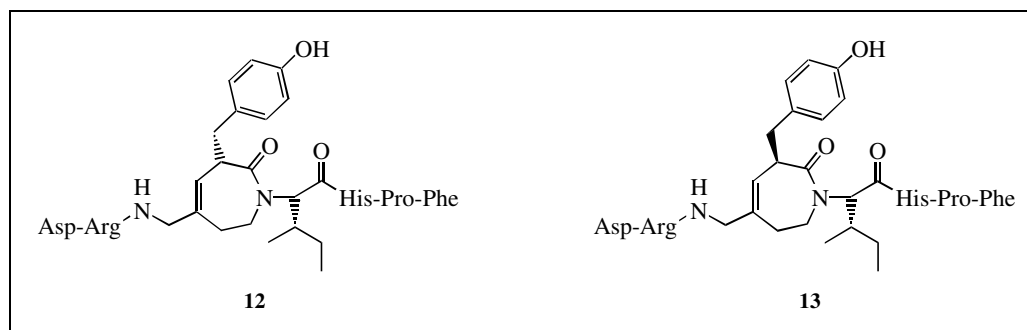
Außerdem ist eine solche semipeptidische Verbindung eine Leitstruktur für nicht-peptidische Wirkstoffe.

Ein Beispiel für ein semipeptidisches Mimetikum sind die Ang II-Analoga **12** und **13** von Hallberg et al.<sup>11</sup> Bei diesen beiden Diastereomeren ist die Sequenz -Val<sup>3</sup>-Tyr<sup>4</sup>-Ile<sup>5</sup>-, die einen inversen  $\gamma$ -Turn oder eine  $\gamma$ -Turn ähnliche Struktur einnimmt, durch ein 7-Ring-Lactam ersetzt worden, der an der  $\alpha$ -Position mit einem *p*-Hydroxybenzylrest substituiert ist. Der He-

<sup>18</sup> B. H. Arison, R. Hirschmann, D. F. Veber, *Bioorg. Khim.* **1978**, 7, 447

<sup>19</sup> D. T. Pals, F. D. Masucci, F. Sipos, G. S. Denning Jr., *Circ. Res.* **1971**, 29, 664

terocyclus wurde von Huffman et al. als  $\gamma$ -Turn-Mimetikum in der Synthese von linearen und cyclischen Enkephalin-Analoga verwendet.<sup>20</sup>



Schema 9:  $\gamma$ -Turn-Mimetika des Angiotensin II von Hallberg et. al.

Die Amidbindung zwischen der *i*-ten und der (*i*+1)-ten Aminosäure wird durch die C-C-Doppelbindung ersetzt, und die Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Sauerstoffatom der *i*-ten Aminosäure und dem Proton des Amidstickstoffs der (*i*+2)-ten Aminosäure wird durch eine Ethylenbrücke nachgeahmt. Röntgenstrukturanalysen des Templates zeigen, daß die Torsionswinkel sehr ähnlich mit denen eines idealisierten inversen  $\gamma$ -Turns sind und daß der  $\alpha$ -Substituent eine pseudoäquatoriale Stellung einnimmt.

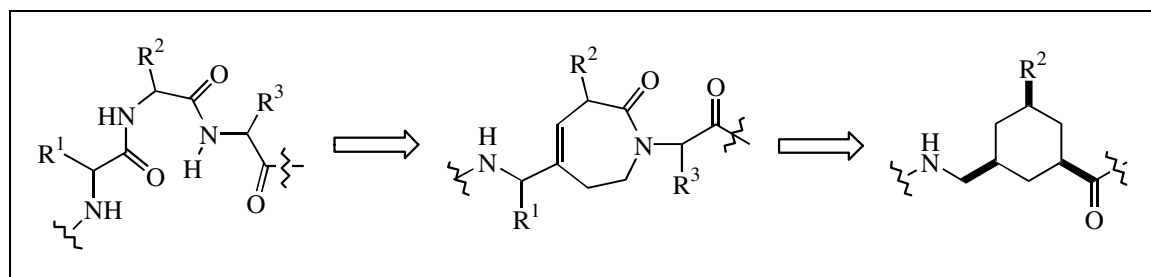
Beide Diastereomere **12** und **13** haben mit  $IC_{50} = 2.0$  nM und  $IC_{50} = 2.8$  nM eine Rezeptoraffinität, die die gleiche Größenordnung hat wie die Affinität des Ang II ( $IC_{50} = 2.0$  nM). Jedoch zeigt nur eines der beiden Diastereomere keine *in vivo* Aktivität, die durch die Kontraktion eines Kaninchen-Aorta-Streifens bestimmt wurde. Das andere Analogon besitzt eine 300-mal schwächere kontraktile Aktivität als das native Ang II. Dies Ergebnis deutet darauf hin, daß zwar für die Rezeptorerkennung ein inverser  $\gamma$ -Turn notwendig ist, daß jedoch für die Signaltransduktion im Rezeptor weitere Strukturmerkmale notwendig sind, die nicht durch das Turn-Mimetikum eingenommen werden, oder daß die Hallberg-Analoga **12** und **13** an einer Nebenstelle des Rezeptors binden.

#### 2.4 Theoretische Betrachtungen zur *cis,cis*-5-Benzyl-3-aminomethylcyclohexancarbonsäure als ein potentiell $\gamma$ -Turn-Mimetikum

Aufgrund der Labilität des  $\beta,\gamma$ -ungesättigten  $\epsilon$ -Lactams, das unter sauren oder basischen Bedingungen zum  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Lactam isomerisieren kann, und der langen Synthese wurde der Ersatz des Lactames durch ein all-*cis*-1,3,5-substituiertes Cyclohexangerüst geplant.

<sup>20</sup> W. F. Huffman, J. F. Callahan, D. S. Eggleston, K. A. Newlander, D. T. Takata, E. E. Codd, R. F. Walker, P. W. Schiller, C. Limieux, W. S. Wire, T. F. Burks, *Peptides: Chemistry and Biology: Proceedings of the Tenth Am. Peptide Symposium*, Eds.: G. R. Marshall, ESCOM, Leiden, **1988**, 105

W. F. Huffman, J. F. Callahan, E. E. Codd, D. S. Eggleston, C. Limieux, K. A. Newlander, P. W. Schiller, D. T. Takata, R. F. Walker, *Synthetic Peptides: Approaches to Biological Problems*, Eds.: J. P. Tam und E. T. Kaiser, A. R. Liss, New York, **1989**, 86, 257



Schema 10: Das  $\gamma$ -Turn-Mimetikum von Huffman et al. als Leitstruktur für ein 1,3,5-all-*cis*-substituiertes Cyclohexan als  $\gamma$ -Turn-Analogon

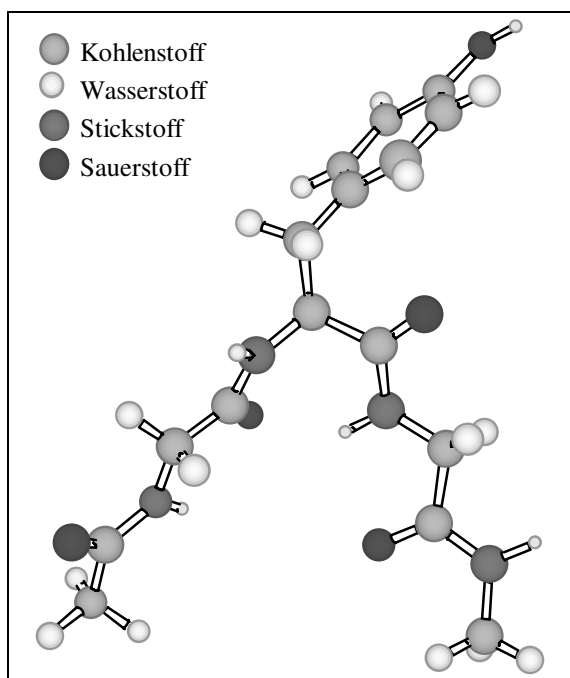
Bei dem 1,3,5-all-*cis*-substituierten Cyclohexan entspricht der Aminomethylsubstituent dem  $\alpha$ -Kohlenstoffatom der ersten Aminosäure, der Substituent  $R^2$  der Seitenkette der zweiten Aminosäure und der Oxomethylsubstituent der Carboxylfunktion der dritten Aminosäure. Der durch einer Wasserstoffbrücke geschlossene 7-Ring mit seinen Amidfunktionen wird durch den Cyclohexanring ersetzt (Schema 10).

Um die Strukturanalogie quantitativ zu vergleichen, wurden mittels *molecular modelling* zwei Modellstrukturen berechnet, welche anschließend in einem *least square fit* überlagert wurden. Für den inversen  $\gamma$ -Turn wurde das Modellpeptid Ac-Gly-Tyr-Gly-NHMe **15** gewählt. Als Startwerte für die Torsionswinkel wurden folgende Werte benutzt:  $\varphi_1 = 180^\circ$ ,  $\psi_1 = 180^\circ$  ( $\beta$ -Faltblattwerte),  $\varphi_2 = -77^\circ$ ,  $\psi_2 = 65^\circ$  und  $\varphi_3 = 180^\circ$ ,  $\psi_3 = 180^\circ$ . Für einen inversen  $\gamma$ -Turn mit Wasserstoffbrückenbindung ist  $\varphi \leq -70^\circ$  und  $\varphi \geq -85^\circ$ ,  $\psi \geq 60^\circ$  und  $\psi \leq 70^\circ$ , ohne Wasserstoffbrückenbindung variieren die Torsionswinkel um  $\pm 30^\circ$ .<sup>21</sup> Anschließend wurde die Struktur mit dem MM+-Kraftfeldprogramm aus dem *molecular modelling*-Programm *Hyper Chem 3.0* optimiert. Die Berechnungen wurden mit den Standardeinstellungen von *Hyper Chem 3.0* (Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, im Vakuum, Polak-Ribiere-Algorithmus und als Terminierungsbedingung ein RMS-Gradient von  $0.1 \text{ Kcal}(\text{\AA}\text{mol})^{-1}$ ) durchgeführt. Für das Cyclohexanmimetikum wurde eine Konformation des *cis-cis*-3-(N-Acetylamino)methyl-5-(4-hydroxybenzyl)cyclohexancarbonsäuremethylamid **14** optimiert, die die größtmögliche Ähnlichkeit zum Modellturn aufwies. Beide berechneten Konformationen der Modellverbindungen repräsentieren nur eine mögliche unter einer Vielzahl von Konformationen. Für den inversen  $\gamma$ -Turn ergaben sich folgende Werte:  $\varphi_2 = -87.0^\circ$  und  $\psi_2 = 50.1^\circ$ . Für die Überlagerung ermittelte man einen RMS-Fehler von  $0.80 \text{ \AA}$ . Um die Strukturen quantitativ zu vergleichen, wurde anhand der oben beschriebenen Analogieannahme die Abstände und die Winkel für die Modellstrukturen bestimmt:

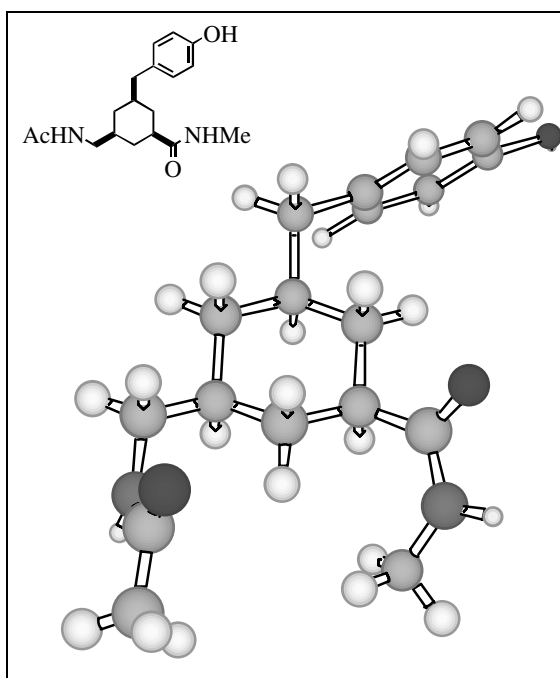
Verbindung	$C_{\alpha,1} - C_{\alpha,2} [\text{\AA}]$	$C_{\alpha,1} - C_{C=O,3} [\text{\AA}]$	$C_{\alpha,2} - C_{C=O,3} [\text{\AA}]$	$\Delta(C_{\alpha,1}, C_{\alpha,2}, C_{C=O,3})$
Peptid <b>15</b>	3.8	5.4	4.9	$75.4^\circ$
<b>14</b>	3.9	5.1	3.9	$81.1^\circ$

<sup>21</sup> G. D. Rose, L. M. Gierasch, J. A. Smith, Turns in Peptides and Proteins, *Advances in Protein Chemistry*, Eds.: C. B. Anfinsen, J. T. Edsall, F. M. Richards, Academic Press, New York, **1985**, 37, 6

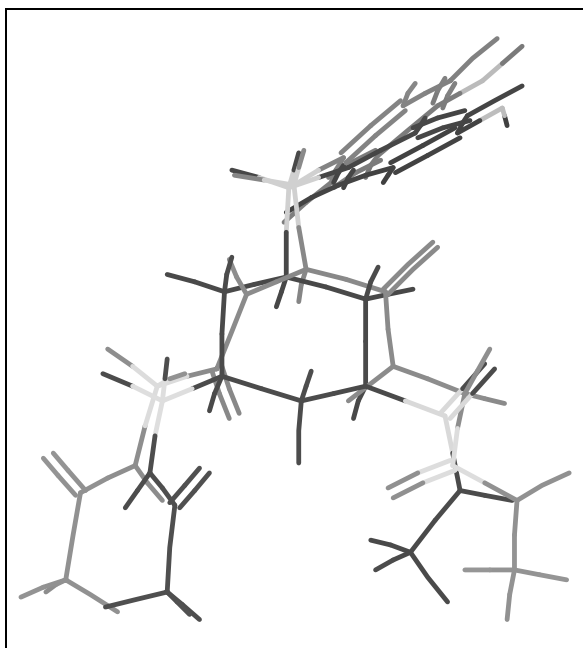
Die ermittelten Werte für den potentiellen  $\gamma$ -Turn zeigen eine gute Übereinstimmung. Das  $5R,3S,1R$ -Enantiomer weist mit einem RMS-Fehler von  $0.82 \text{ \AA}$  nur eine geringfügig schlechtere Übereinstimmung im Vergleich zum anderen Enantiomer auf. Der Hauptunterschied besteht darin, daß bei dem *mismatched* Enantiomer der Benzylrest  $\alpha$ -ständig zum Ring steht, während bei dem *matched* Enantiomer und bei dem Modellturn **15** der Benzylrest  $\beta$ -ständig zum Ring bzw. zum  $\gamma$ -Turn steht (Schema 12 - Schema 14).



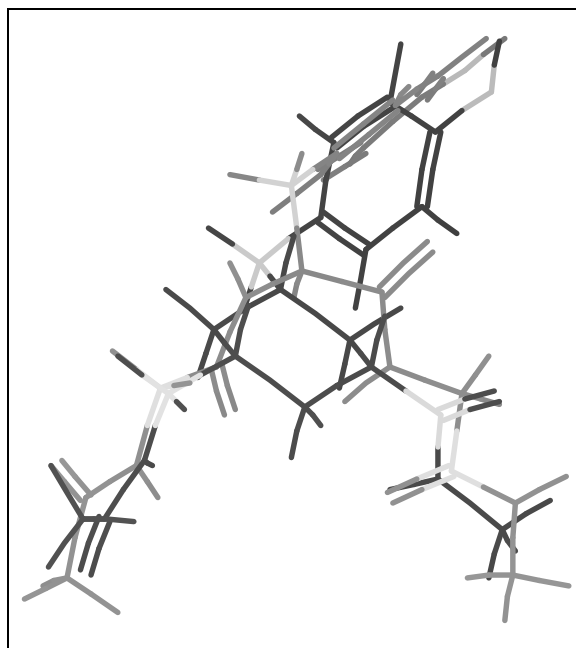
Schema 12: Ac-Gly-Tyr-Gly-NHMe **15** mit einer inversen  $\gamma$ -Turn-Konformation



Schema 11: Kugelstabmodell des Cyclohexans **14** ( $5R,3S,1R$ )



Schema 13: *least square fit*-Überlagerung, dunkelgrau: **14** ( $5R,3S,1R$ ), mittelgrau: **15**, hellgrau: Atome, die überlagert wurden

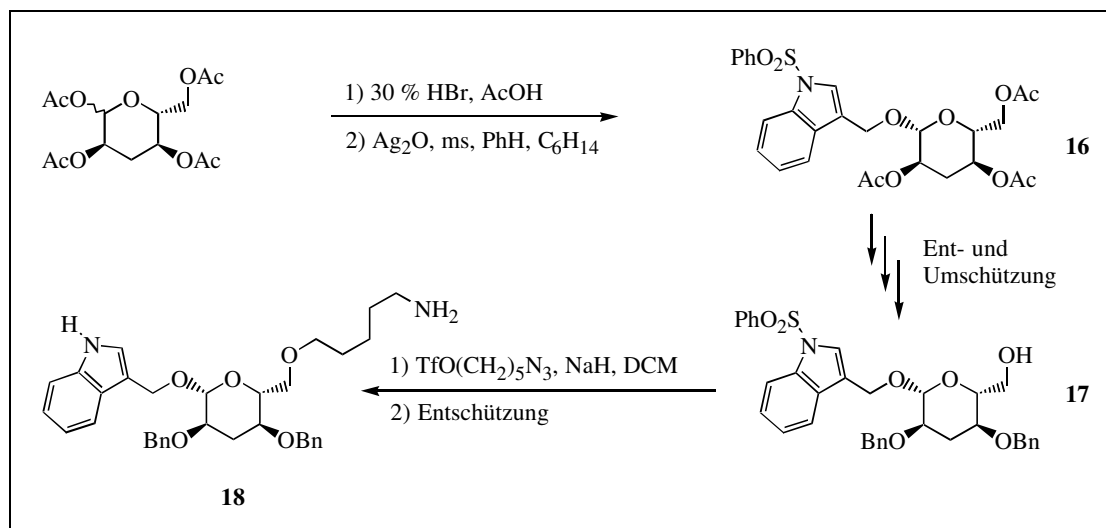


Schema 14: *least square fit*-Überlagerung des *mismatched* Enantiomers ( $5S,3R,1S$ ), Legende siehe Schema 13

## 2.5 Literaturbeispiele für Sechsringpeptidmimetika

In der Literatur sind bisher theoretische Betrachtungen von Farmer veröffentlicht worden, die ein substituiertes Cyclohexangerüst als Peptidmimetikum vorschlagen.<sup>22</sup>

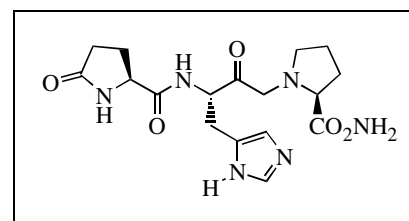
Von Nicolaou et al. wurden *O*-substituierte Pyranosen als  $\beta$ -Turn-Mimetika des Somatostatins (Struktur siehe S. 12) beschrieben.<sup>23</sup>



Schema 15: Synthese des  $\beta$ -D-Glucose-Mimetikums nach Nicolaou et al.

Ausgehend von dem 1,2,4,6-Tetra-*O*-acetyl-3-desoxy- $\beta$ -D-glycopyranosid, dargestellt aus D-Glucosediacetonid, wurde über das anomere Bromid mittels einer Königs-Knorr-Reaktion das Tryptophylanomer **16** erhalten, das nach selektiven Schützen und Entschützen in den Alkohol **17** überführt wurde. Anschließend wurde mittels einer Alkylierung der Hydroxyfunktion mit 6-Azidopentyl-1-triflats die Lysinseitenkette eingeführt und alle Schutzgruppen entfernt. Das so erhaltene Somatostatinmimetikum **18** zeigt *in vitro* eine  $10^4$  schwächere Bindungsaffinität als das native Somatostatin und *in vitro* eine schwache agonistische Aktivität.

Ein Beispiel für 1,3,5-*cis,cis*-substituiertes Cyclohexanpeptidmimetikum ist das Analogon **19** des Thyrotropin-Releasing-Hormon (TRH) **20** von Olson et al.<sup>24</sup> In mehreren Schritten wurde L-Glutaminsäure in das *N*-Benzyl-pyrrolglutaminol **21** überführt, das man in mehreren Schritten mittels Substitution eines Iodides mit einem Vinylgrignard unter Cu(II)-Katalyse, Ozonolyse und folgender Wittig-Ole-



Schema 16: TRH (**20**)

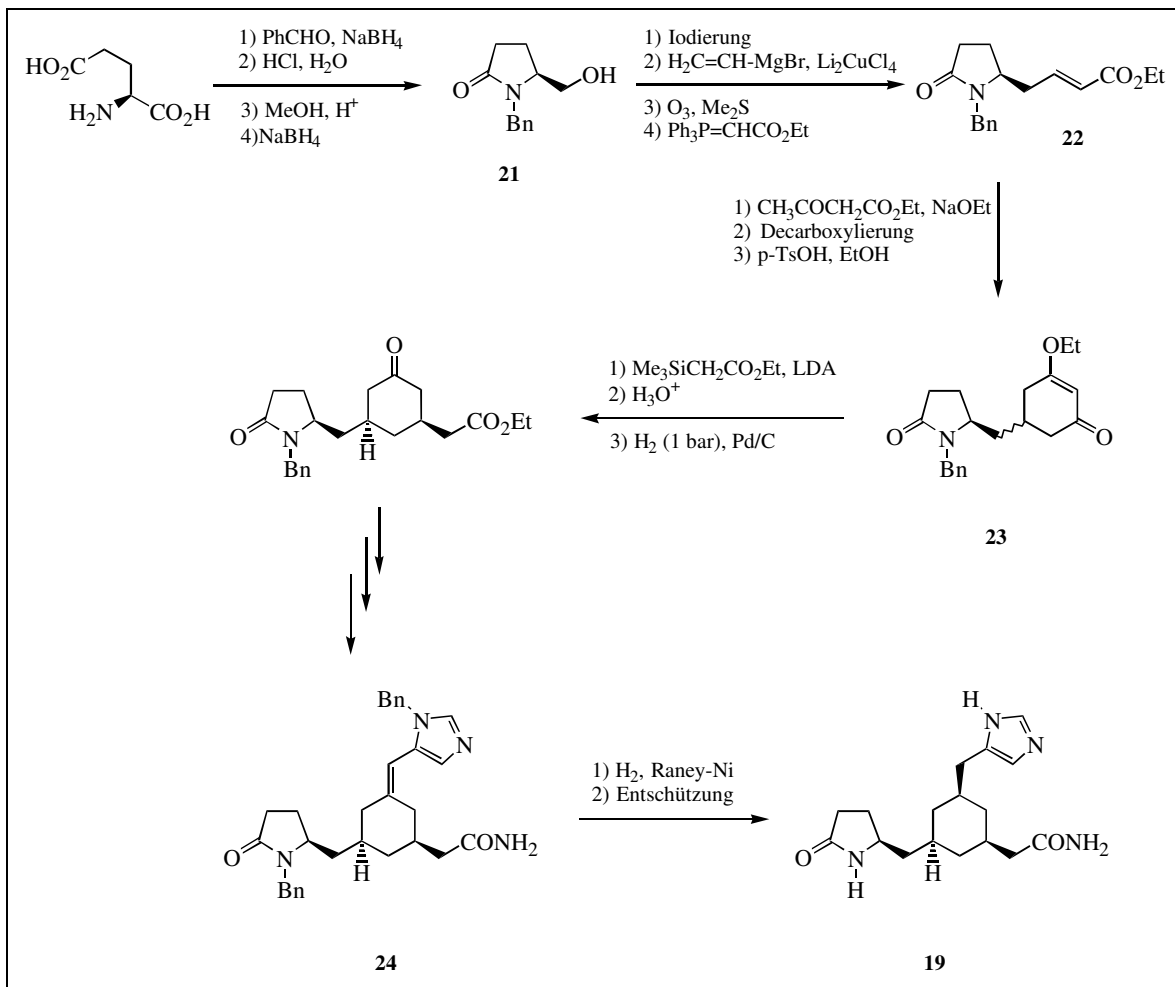
<sup>22</sup> P. S. Farmer, *Drug Design*, Ed. E. J. Ariens, Academic Press, New York, **1980**, *10*, 119

<sup>23</sup> R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoor, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12550

<sup>24</sup> G. L. Olson, H. Cheung, E. Chiang, V. S. Madison, J. Sepinwall, G. P. Vincent, A. Winokur, K. A. Gary, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2866

finierung in den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ester **22** umgewandelte. Dieser wurde mit Acetessigsäureethylester in einer Robinson-Anellierung mit anschließender Decarboxylierung und Enoltherbildung in die diastereomeren Cyclohexane **23** transformiert, die durch Kieselgelchromatographie und Kristallisation getrennt wurden. Der Ethoxycarbonylmethylrest wurde mittels einer Peterson-Olefinierung eingeführt, und die entstandene C-C-Doppelbindung wurde in einem *cis/trans*-Verhältnis von 19 zu 1 hydriert. Nach einer weiteren Olefinierung mittels einer Horner-Emmons-Edworth-Reaktion und einer anschließenden Imidazolsynthese mit Tosmic wurde der Ester in das Amid **24** überführt. Die Hydrierung der Doppelbindung mit einem *cis/trans*-Verhältnis von 8 zu 2 etablierte das *cis,cis*-konfigurierte Cyclohexangerüst. Nach dem Entfernen sämtlicher Schutzgruppen erhielt man in insgesamt 22 Stufen das TRH-Mimetikum **19**.

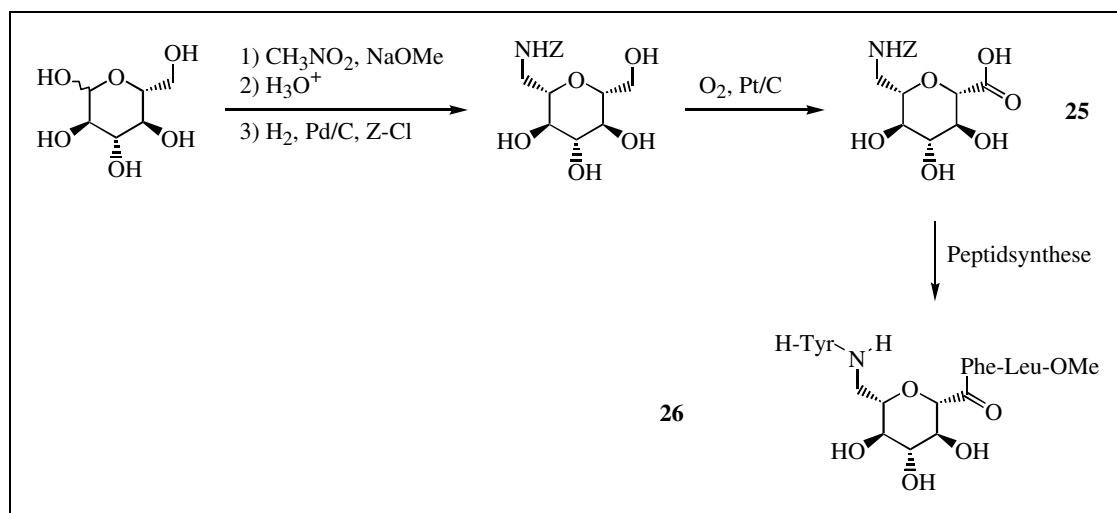
Beide Diastereomere, das *trans*-Imidazolylmethylderivat und das *cis*-Imidazolylmethylderivat **19** zeigten *in vivo* eine ähnliche Aktivität wie das TRH, obwohl die beiden TRH-Analoga nur sehr schwache Affinität für den TRH-Rezeptor *in vitro* zeigten. Dies wurde mit der Existenz eines weiteren Rezeptors erklärt, der ähnliche biologische Prozesse auslöst wie der klassische TRH-Rezeptor.



Schema 17: Synthese eines TRH-Peptidmimetikum mit einem Cyclohexangerüst nach Olson et al.



In einem weiteren Modellansatz wurden von Kessler et al. modifizierte Glycopyranosen als Turn induzierende Strukturen in cyclische und lineare Peptide eingebaut und spektroskopisch und biologisch evaluiert.<sup>25</sup> Unter anderem wurde *all-cis*-3-Aminomethyl-4,5,6-trihydroxy-2-oxycyclohexan-1-carbonsäure als Ersatz für die Sequenz -Gly-Gly- in dem Peptid Leu-Enkephalin (H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH) eingebaut. Bei diesem körpereigenen Peptidhormon, das an den Opiatrezeptor bindet, dient die Gly-Gly-Sequenz als ‘Spacer’ zwischen der ‘Messenger-Aminosäure’ Tyr, welche für die Aktivität entscheidend ist, und der Adressen-Sequenz Phe-Leu, welche für die Selektivität zwischen den verschiedenen Rezeptor-Subtypen verantwortlich ist.<sup>26</sup> Als Ausgangsverbindung diente D-Glucose, die in zwei Schritten am anomeren C-Atom mit Nitromethan alkyliert wurde. Anschließend wurde die Nitrofunktion reduziert und das entstandene Amin als Benzyloxycarbamat geschützt. Nach der Oxidation des primären Alkohols und der Veresterung der Carbonsäure **25** wurde der *all-cis*-3-(Z-Aminomethyl)-4,5,6-trihydroxy-2-oxycyclohexan-1-carbonsäuremethyl ester in 12 % Ausbeute erhalten. Dieser wurde nach der Verseifung mittels HOBt und EDCI\*HCl mit H-Phe-Leu-OMe und Z-Tyr-OH verknüpft wurde.<sup>27</sup>



Schema 18: Synthese eines Turn-Mimetikums nach Kessler et al.

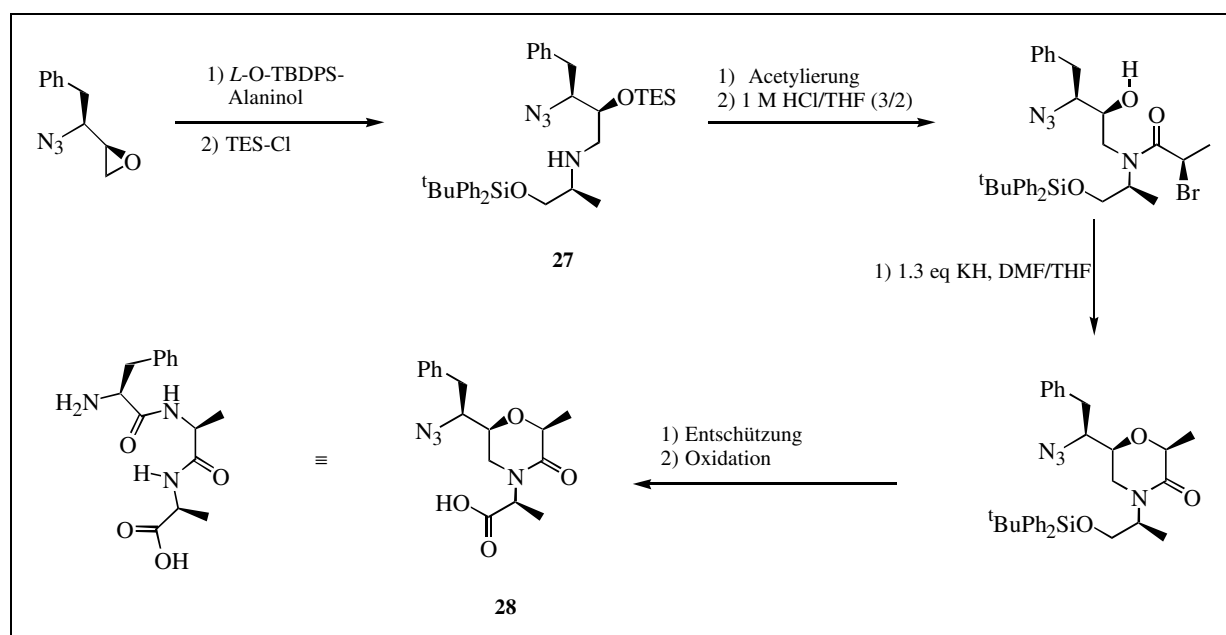
Das Enkephalinanalogon **26** mit dem inkorporierten Glycopyranosid **25** zeigte keine Affinität zu dem Opiatrezeptor. Die NMR-Analyse ergab, daß das Glycopyranosid **25** eine schleifenartige Struktur des Peptids **26** induziert, ohne daß diskrete Turn-Konformationen eingenommen werden. Im Gegensatz dazu nimmt das Glycopyranosid **25** in cyclischen Peptiden  $\beta$ -Turn analoge Konformationen ein.

<sup>25</sup> E. Graf von Roedern, E. Lohof, G. Hessler, M. Hoffmann, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 42, 10156

<sup>26</sup> P. S. Portghese, M. S. Sultana, A. E. Takemori, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1714, P. S. Portghese, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1927

<sup>27</sup> E. Graf von Roedern, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 6, 684

Als ein letztes Beispiel für ein potentiell 6-Ring-Mimetikum, das einen inversen  $\gamma$ -Turn nachahmen soll, sei hier die 1997 publizierte Synthese von Kihlberg et al. beschrieben.<sup>28</sup> Ausgehend von enantiomerenreinen (1-Azido-2-phenylethyl)oxiran, welches in sieben Stufen aus Phenylacetaldehyd dargestellt wird, wurde nach einer nucleophilen Öffnung des Epoxids mit einem *O*-geschützten Aminoalkohol das Amin **27** erhalten. Nach der Maskierung des sekundären Alkohols, Acetylierung desamins mit einer  $\alpha$ -Bromcarbonsäure und Entschützung des Alkohols baut man den 6-Ring über eine intramolekulare Substitution des Bromids durch die Hydroxyfunktion auf. Anschließend wurde der C-Terminus durch Entschützung des primären Alkohols und Oxidation in die freie Carbonsäure **28** überführt. Über die Inkorporation des 4-Aminomethyl-2-hydroxycarbonylmethyl-2-aza-4-oxycyclohexanons in Peptide und deren Aktivität liegen noch keine Ergebnisse vor.



Schema 19: Synthese eines inversen  $\gamma$ -Turn-Mimetikums nach Kihlberg et al. für einen Phe-Ala-Ala-Turn

### 3. Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung einer Synthesestrategie für *cis,cis*-konfigurierte 5-Benzyl-substituierte 3-Aminomethylcyclohexancarbonsäuren, da diese als inverse  $\gamma$ -Turn-Mimetika von pharmakologischen Interesse sind. Folgende Anforderungen sollte die Synthese erfüllen: Sie sollte möglichst stereoselektiv nur ein Produkt liefern und so variabel sein, daß man verschiedene Substituenten in der 5-Position einführen kann. Außerdem sollte die Synthese die stereoselektive Darstellung des *trans*-Benzylisomers gestatten.

Eine weitere Aufgabe ist die Inkorporation der *cis,cis*-3-Aminomethyl-5-benzylcyclohexancarbonsäure **29** als Fmoc-Derivat an der Position 3 bis 5 in Ang II, um die Wirkung des potentiellen Turn-Mimetikums auf die Aktivität von Ang II zu evaluieren.

<sup>28</sup> K. Brickmann, P. Somfai, J. Kihlberg, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3651

## 4. Retrosynthetische Betrachtung

Bei der retrosynthetischen Betrachtung ist als erstes die Frage zu lösen, wie die drei unterschiedlichen Substituenten des Cyclohexans eingeführt werden. Als gemeinsames Strukturmerkmal sind alle Substituenten äquatorial in einem 1,3,5-Abstand angeordnet, so daß für  $R^1 = R^2 = R^3$  es jeweils drei Spiegelebenen gibt, die senkrecht zum Cyclohexan stehen und in deren Fläche jeweils eine Bindung eines Substituenten liegt. Aufgrund der  $C_s$  symmetrischen Anordnung der Substituenten in der *cis,cis*-3-Aminomethyl-5-benzyl-1-cyclohexancarbonsäure **29** ist es vorstellbar, daß der Vorläufer für diese Verbindung eine *meso*-Verbindung ist, die aufgrund ihrer Symmetrie einen einfacheren Zugang ermöglicht. Solche *meso*-Verbindungen liefern nach einer geeigneten Desymmetrisierung chemisch unterschiedlichen Funktionalitäten, die mit entsprechenden Methoden weiter differenziert werden. Solche Vorgehensweise bezeichnet man bei der Synthese von acyclischen Verbindungen als *Two-Directional Chain Synthesis and Terminus Differentiation*.<sup>29</sup> Oftmals werden bei dieser Methode Dicarbonsäuren verwendet, deren eine Carboxylfunktion selektiv zu einer anderen Funktionalität transformiert wird.

Ein klassisches Beispiel ist die chemische Differenzierung eines Esters und einer freien Säure welche von Huang et al. in der Synthese der enantiomeren Mevalonolactone demonstriert wurde.<sup>30</sup> Ausgehend von enantiomerenreinen 3-Hydroxy-2,4-dimethylpentandisäuremonomethylester, der durch Monoverseifung des Diesters mit Schweineleberesterase (PLE) dargestellt wurde, konnte durch Reduktion des Esters mit  $LiBH_4$  und anschließender Lactonisierung bzw. durch Reduktion der Carbonsäure mit  $BH_3$  und anschließender Lactonisierung das jeweilige Enantiomer des Mevalonolactons erhalten werden.

Die Synthese von Huang et al. ist auch ein Beispiel dafür, daß *meso*-Verbindungen die Möglichkeit der enantioselektiven Desymmetrisierung mittels enzymatischer oder enantioselektiver Reaktionen bieten. Tamm et al. beschrieben weitere Desymmetrisierungen mit PLE an verschiedenen Diestern mit unterschiedlicher Selektivität.<sup>31</sup>

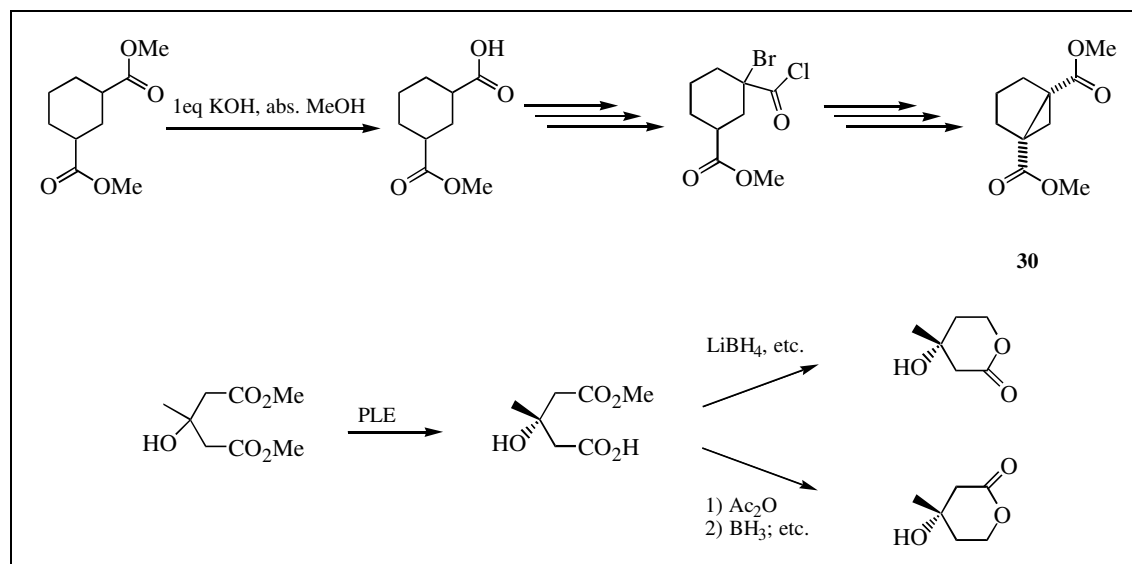
Reitz et al. nutzten diese Methodik, um die beiden  $\alpha$ -Protonen der 1,3-Cyclohexandicarbonsäure zu differenzieren. 1,3-Cyclohexandicarbonsäuredimethylester, der durch Hydrierung von Isophthalsäuredimethylester zugänglich ist, wurde mit einem Äquivalent KOH zum Monoester verseift, der mit  $SOCl_2$  in das Säurechlorid überführt wurde. Anschließend konnte die  $\alpha$ -Position des Säurechlorids selektiv bromiert werden. Nach einer Methanolyse des Säurechlorids cyclisierte das Bromid durch Base katalysiert intramolekular zum Bicyclo[3.1.0]cyclohexan-1,5-dicarbonsäuredimethylester **30**.<sup>32</sup>

<sup>29</sup> C. S. Poss, S. L. Schreiber, *Acc. Chem. Res.* **1994**, 27, 9

<sup>30</sup> F. C. Huang, L. F. H. Lee, R. S. D. Mittal, P. R. Ravikumar, J. A. Chan, C. J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4144

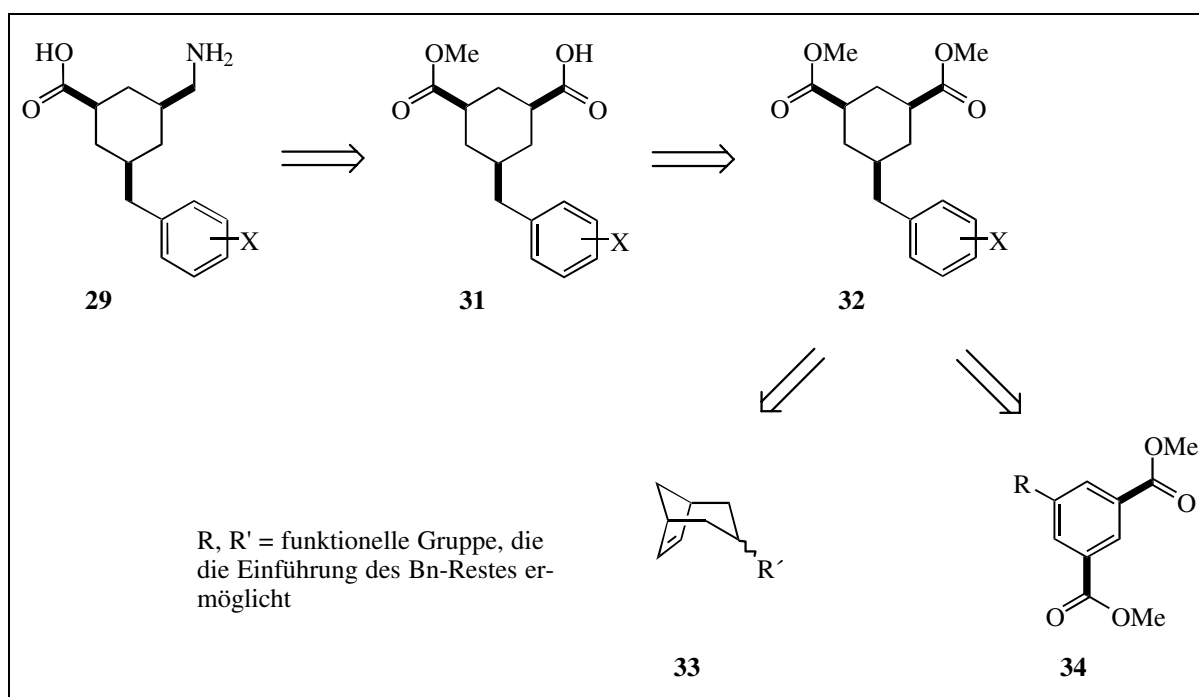
<sup>31</sup> P. Mohr, N. Waespe-Šarcevic, C. Tamm, K. Gawronska, J. K. Gawronski, *Helvetica Chimica Acta*, **1983**, 66, 2501

<sup>32</sup> R. N. McDonald, R. R. Reitz, *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 2667



Schema 20: Beispiele für Synthesen ausgehend von *meso*-Verbindungen (unten die Synthese des Mevalonolactons, oben die Cyclohexandesymmetrisierung nach Reitz et al.)

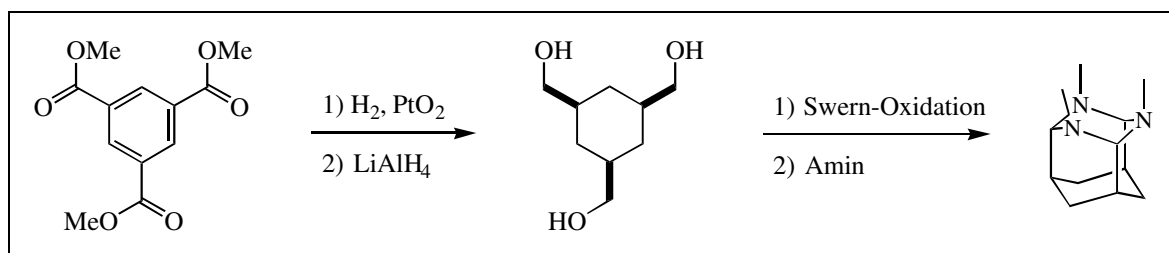
Als synthetische Vorstufe für die Aminosäure **29** eignet sich der *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbonsäurediester **32**. Die Esterfunktion ist ein geeigneter Vorläufer für die Carbonsäure und für einen Alkohol, der durch ein Amin substituiert werden kann. Eine Möglichkeit für die Desymmetrisierung der Esterfunktionen ist die Verseifung mit einem Äquivalent einer Hydroxidbase zu dem unsymmetrischen Dicarbonsäuremonoester **31**, dessen freie Carbonsäure chemoselektiv mit BH<sub>3</sub>\*SMe<sub>2</sub> zu dem Hydroxyester reduziert werden kann. Die Alkoholfunktion kann anschließend nach entsprechender Aktivierung zur Abgangsgruppe durch ein Stickstoffnucleophil wie z. B. Phthalimid oder Azid substituiert werden. Abschließend muß der Ester verseift werden, und die Aminofunktion muß mit einer geeigneten Schutzgruppe maskiert werden, die kompatibel mit der Festphasenpeptidsynthese (SPPS) ist.



Schema 21: Retrosynthese des *cis,cis*-1,3,5-trisubstituierten Cyclohexangerüsts

Für die Darstellung des Diesters **32** muß ein geeigneter Weg gefunden werden, den verbleibenden Substituenten einzuführen und das Grundgerüst des Cyclohexans zu synthetisieren. Für die Synthese des Cyclohexangerüsts bieten sich prinzipiell Aufbaureaktionen oder die Reduktion von Aromaten als Dehydroanaloga an. Bei den Cycloadditionen werden durch die Vereinigung zweier olefinischer Komponenten Cyclohexane aufgebaut. Durch geeignete Wahl der Substituenten der Ausgangsverbindungen können gezielt definiert konfigurierte Carbacyclen hergestellt werden. Aromaten für die Cyclohexansynthese sind wohlfeile Ausgangsverbindungen, deren Substitutionsmuster durch einfache elektrophile aromatische Additionen weiter modifizierbar sind. Ein Nachteil ist jedoch, daß die gezielte Reduktion solcher Aromaten zu definiert konfigurierten Cyclohexanen oftmals nur mit geringer Stereoselektivität verläuft. In diesem Fall wären das [4+3]-Cycloadditionsprodukt **33** oder die aromatische 1,3-Dicarbonsäure **34** mögliche Vorläufer des Diesters **32**.

Ein Beispiel für diese Synthesestrategie, durch Hydrierung *cis,cis*-1,3,5-substituierte Cyclohexane aufzubauen, ist die von Nielsen et al. durchgeführte Reduktion der 1,3,5-Benzoltricarbonsäure zu dem *cis,cis*-Tris(hydroxymethyl)cyclohexan, das nach der Überführung in den Trialdehyd zum tetracyclischen 3,5,12-Triazatetracyclo[5.3.1.1<sup>2,6</sup>.0<sup>4,9</sup>]dodecan cyclisiert wurde (Schema 22).<sup>33</sup>



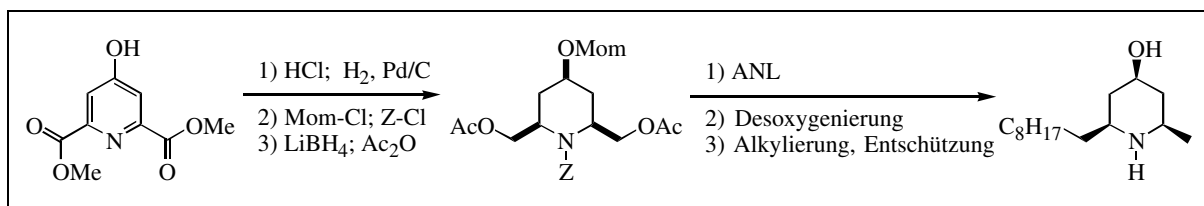
Schema 22: Synthese eines Tetracyclus ausgehend von einem *cis,cis*-Tris(hydroxymethyl)cyclohexan

Eine Synthese von Armitage et al. beschreibt die Synthese der isomeren 5-*tert*-Butyl-1,3-cyclohexandicarbonsäuren. 1-*tert*-Butyl-3,5-dimethylbenzol wurde mit  $\text{KMnO}_4$  zur aromatischen Dicarbonsäure oxidiert und anschließend über Raney-Nickel zur *cis,cis*-5-*tert*-Butyl-1,3-cyclohexandicarbonsäure hydriert. Nach Umkristallisation isolierte man die *cis,cis*-Dicarbonsäure in 50 - 60 % Ausbeute. Das Isomerengemisch der Mutterlauge wurde mit Acetanhydrid und NaOAc epimerisiert, und nach anschließender Hydrolyse des cyclischen Anhydrids wurde die isomere *trans*-5-*tert*-Butyl-*cis*-1,3-cyclohexandicarbonsäure erhalten.<sup>34</sup>

In einem besonders schönen Beispiel nutzt man für die Synthese des aus einem Pfeilgiftfrosch isolierten Dendrobate-Alkaloids (+)-241D die Hydrierung eines 1,3,5-trisubstituierten Aromaten, um die *cis,cis*-Konfiguration eines 6-Ringes zu etablieren, und eine enzymatische Verseifung, um ein *meso*-Diacetat zu desymmetrisieren (Schema 23).

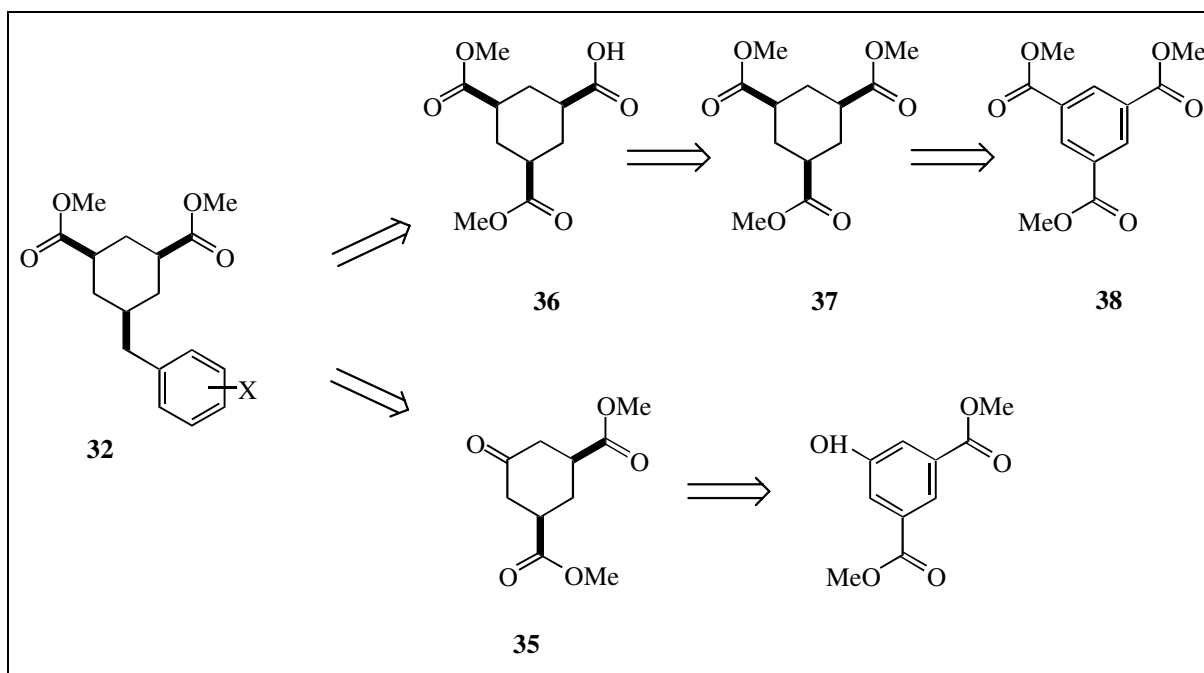
<sup>33</sup> A. T. Nielsen, S. L. Christian, D. W. Moore, R. D. Gilardi, C. F. George, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 53, 1656

<sup>34</sup> B. J. Armitage, G. W. Kenner, M. J. T. Robinson, *Tetrahedron* **1964**, 20, 723



Schema 23: Beispiel einer Synthese eines sechsgliedrigen cyclischen Alkaloids mit asymmetrischen *cis,cis*-1,3,5-Substitutionsmuster

N-Benzyloxycarbonyl-*cis,cis*-2,6-bis(acetoxymethyl)-6-methoxymethylhydroxypiperidin, welches durch Hydrierung von 4-Hydroxy-2,6-pyridindicarbonsäuredimethylester und anschließender Schützung, Reduktion und Acetylierung erhalten wurde, konnte durch das Enzym *Aspergillus niger* Lipase (ANL) in das Monoacetat überführt werden. Die Hydroxyfunktion des Monoacetats entfernte man reaktiv via des Mesylates, und das Acetat substituierte man in mehreren Schritten durch einen Alkylrest, um die unsymmetrisch angeordneten Ringsubstituenten zu etablieren. Nach der Entschützung erhielten Chènevert et al. das Alkaloid *cis,cis*-4-Hydroxy-6-methyl-2-nonylpiperidin.<sup>35</sup>



Schema 24: Mögliche Retrosynthesewege für die Darstellung des Diesters **32**

Für die Darstellung des Diesters **32**, ausgehend von einem Cyclohexanderivat, gibt es prinzipiell die Kupplung eines nucleophilen Benzylreagenzes mit einem C<sub>8</sub>-Baustein oder die Kupplung eines nucleophilen Arylreagenzes mit einem C<sub>9</sub>-Baustein (Schema 24). Die Addition eines Benzylgrignards an die Carbonylfunktion des *cis*-5-Oxo-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylesters **35** ist bei tiefen Temperaturen chemoselektiv möglich. Nach der Eliminierung des entstandenen Alkohols muß die C-C-Doppelbindung hydriert werden, um den *cis,cis*-substituierten Cyclohexanring aufzubauen. Diese stereoselektiven Hydrierungen führen oftmals zu Gemischen der *cis,trans*-Isomeren mit unterschiedlichen Verhältnissen, wie das Beispiel des Cyclohexamimetikums **19** von Olson et al. zeigt.<sup>24</sup> Vorteilhafter ist jedoch die

<sup>35</sup> R. Chènevert, M Dickman, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3332

Verwendung eines C<sub>9</sub>-Cyclohexanderivats, das bereits die *cis-cis*-Konfiguration besitzt. Ein möglicher elektrophiler C<sub>9</sub>-Baustein ist ein Säurechlorid, das durch Chlorierung des 1,3,5-*cis,cis*-Cyclohexantricarbonsäuredimethylesters **36** mit SOCl<sub>2</sub> erhalten werden kann. In der Literatur wurden bereits einige Methoden zur chemoselektiven Addition von Nucleophilen an Säurechloride in Gegenwart von Estern bereits beschrieben. Anschließend muß das entstandene Arylketon desoxygeniert werden. Das Tricarbonsäurediesterderivat sollte aus einer Mono-verseifung des entsprechenden Triesters **37** zugänglich sein. Der 1,3,5-*cis,cis*-Cyclohexantricarbonsäuretrimethylester **37** ist durch Hydrierung von 1,3,5-Benzoltricarbonsäuretrimethylester **38** zugänglich, der kommerziell erhältlich ist.

Eine weitere Möglichkeit zum stereoselektiven Aufbau von substituierten Cyclohexanen sind Cycloadditionen. Die Diels-Alder-Reaktion, die eine Standardmethode für 6-Ringe ist, eignet sich nicht, da das Substitutionsmuster der Elektronenakzeptoren und Donoren des Zielmoleküls eher einen 1,2,4-Abstand favorisiert. Als Zwischenprodukt erhält man außerdem Cyclohexene, die nur mit begrenzter Selektivität zum gewünschten Endprodukt hydriert werden.<sup>24</sup> Besser geeignet ist die [4+3]-Cycloaddition von fünfgliedrigen cyclischen Dienen und *in situ* generierten 2-Oxyallylkationen. Die so dargestellten substituierten Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one wurden für die stereoselektive Synthese von 1,3,5-substituierten Cyclohexanen und Tetrahydropyranen benutzt. Die C-C-Doppelbindungsbrücke ist eine verkappte *cis*-1,3-Dicarbonsäurefunktionalität, die durch oxidative Spaltung der C-C-Doppelbindung generiert wird. Durch die oxidative Spaltung der Ethenobrücke nach Schreiber et al. können die Bicyclen direkt in die asymmetrischen *cis*-1,3-Hydroxymethylcyclohexancarbonsäuren transformiert werden.<sup>36</sup> Die Carbonylfunktion kann aufgrund der schirmartigen Struktur des Bicyclus mittels der Konkav-Konvex-Lenkung<sup>37</sup> in den *endo*- bzw. *exo*-Alkohol transformiert werden. Unter kinetisch kontrollierten Bedingungen erfolgt der nucleophile Angriff eines Reduktionsmittels von konkaven β-Seite und generiert α-Alkohole. Unter thermodynamisch equilibrierenden Bedingungen wird der energieärmere äquatoriale β-Alkohol gebildet.<sup>38</sup>

Diese Methodik wird von Hoffmann et al. dazu benutzt, um definiert substituierte Tetrahydropyranstrukturen für die Synthese von maritimen Naturstoffen aufzubauen (Schema 25). Für die Synthese eines chiralen Bausteins für die Darstellung von Bryostatin wurde 8-Oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on durch Ketalisierung der Carbonylfunktion, Ozonolyse der Ethenobrücke mit anschließender Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> und Acetylierung in das Diacetat überführt, welches mittels der Lipase PS enantioselektiv in das Monoacetat transferiert wurde. Nach weiteren Schutzgruppenmanipulationen überführte man die Carbonylfunktion mittels einer Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung mit einer E/Z-Selektivität von 9/1 in den α,β-

<sup>36</sup> L. Schreiber, R. E. Claus, J. Reagan, *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 3857

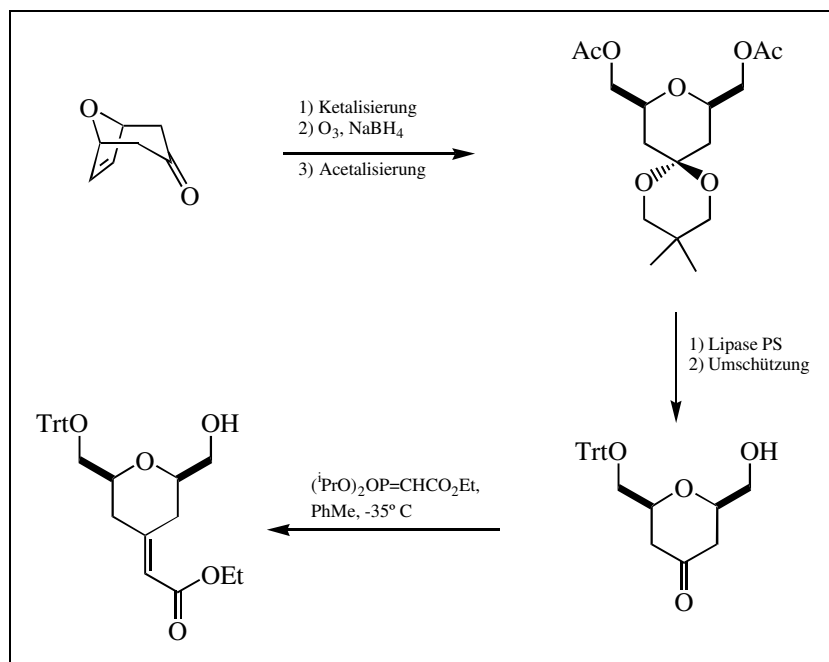
R. E. Claus, S. L. Schreiber, *Organic Synthesis*, **1986**, 64, 150

Thomas Lampe, *Dissertation*, Universität Hannover, **1997**

<sup>37</sup> E. Winterfeldt, *Prinzipien und Methoden der stereoselektiven Synthese*, **1988** F. Vieweg & Sohn, Braunschweig, 1

<sup>38</sup> N. A. LeBel, R. J. Maxwell, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 2307

ungesättigten Ester, um somit das trisubstituierte Tetrahydropyran mit der *cis*-Konfiguration zu erhalten.<sup>39</sup>



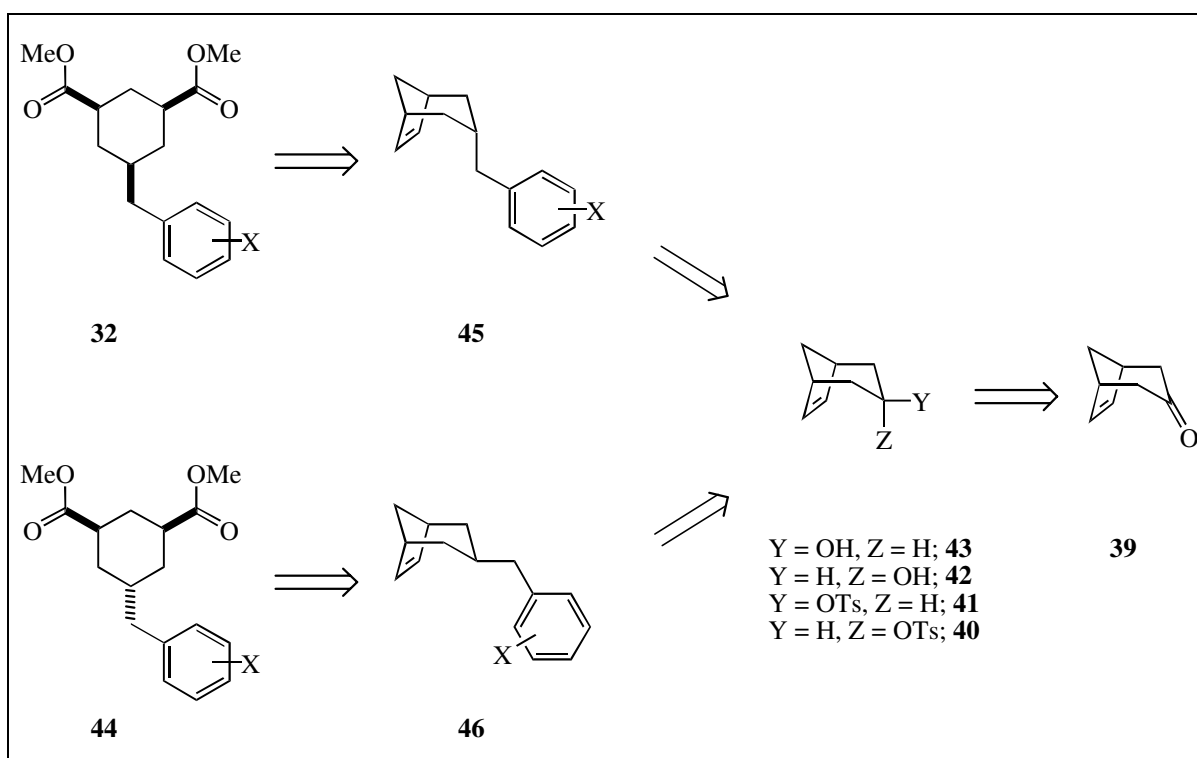
Schema 25: Synthese eines 1,3-*cis*-substituierten Tetrahydropyranbausteins für die Totalsynthese des Bryostatins nach Hoffmann et al.

Nun ist es denkbar, daß der Bicyclus **39** ein synthetischer Vorläufer des Diesters **32** ist. Die Benzylfunktion könnte durch eine Substitution einer Fluchtgruppe, die die äquatoriale Position hat, mit einem metallorganischem Benzylreagenz eingeführt werden (Schema 26). Eine mögliche Fluchtgruppe wäre ein *endo*- bzw. *exo*-Tosylat (**40** bzw. **41**), die durch eine stereoselektive Reduktion des bicyclischen Ketons **39** und anschließender Tosylierung der epimeren *endo*- und *exo*-Alkohole (**42** und **43**) zugänglich sind. Außerdem bietet diese Vorgehensweise die Darstellung des *cis/cis*- bzw. des *trans/cis*-Benzylisomers (**32** bzw. **44**), da durch die stereoselektive Synthese der *endo*- als auch der *exo*-Benzylbicyclus **45** und **46** zugänglich sind.

<sup>39</sup> T. F. J. Lampe, H. M. R. Hoffmann, *Chem. Commun.* **1996**, 2637

T. F. J. Lampe, H. M. R. Hoffmann, U. T. Bornscheuer *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 2889





Schema 26: Retrosynthese des *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester ausgehend von dem Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on

## 5. Die Synthese der *cis,cis*-3-Aminomethyl-5-(4-hydroxybenzyl)cyclohexan-carbonsäure mit verschiedenen Phenol- und Aminschutzgruppen

### 5.1 Darstellung des *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylesters 36

Analog der Synthese des *cis,cis*-1,3,5-Tris(hydroxymethyl)cyclohexan von Nielsen et al. diente die 1,3,5-Benzoltricarbonsäure (Trimesinsäure) **47** als wohlfeiler Vorläufer für den Cyclohexanring. Die Säure ist kommerziell erhältlich (84,00 DM für 100 g bei Merck (1994)). Die Veresterung der Säure erfolgte durch Rühren in abs. Methanol mit katalytischen Mengen an conc. Schwefelsäure bei der Siedetemperatur des Methanols.<sup>33</sup> Die Säure ging während der Reaktion langsam in Lösung. Nach der Aufarbeitung mittels einer einfachen Säure-Base-Trennung erhielt man den Triester **38** in 90 % Ausbeute. Das Produkt konnte sofort in die Folgereaktion aufgrund der ausreichenden Reinheit eingesetzt werden. Eine andere Variante war die Überführung der Tricarbonsäure **47** in das Säurechlorid, das nur unter Verwendung von  $\text{PCl}_5$  in Phosphorylchlorid unter Rückfluß in 2.5 Stunden hergestellt werden konnte. Die Reaktion mit Thionylchlorid versagte vollkommen. Die Methanolyse des Säurechlorids mit Pyridin als Cosolvent lieferte zwar mit 94 % den Triester **47**. Die Methode ist jedoch präparativ aufwendiger, da unter trockenen Reaktionsbedingungen gearbeitet wird und die Entfernung der  $\text{PCl}_5/\text{POCl}_3$ -Lösung nur durch längeres Evakuieren im Hochvakuum möglich ist.

Für die Einführung der Benzylseitenkette war es notwendig, eine der drei Carboxylfunktionen zu aktivieren, damit man diese von den anderen beiden Esterfunktionen differenzieren konnte.

Um eine Carboxylfunktion selektiv aktivieren zu können, wurde der Tricarbonsäuretriester **47** in den Tricarbonsäurediester **36** überführt. Für die Monoverseifung gab es die Möglichkeit, die Reaktion an dem 1,3,5-Benzoltricarbonsäuretrimethylester **47** durchzuführen und anschließend den 1,3,5-Benzoltricarbonsäuredimethylester **48** zu hydrieren oder den 1,3,5-Cyclohexantricarbonsäure-trimethylester **37** zu verwenden. Als dritte attraktive Alternative bot sich an, den hydrierten Triester **37** direkt in eine Monoalkylierung einzusetzen (Schema 27).

Um die Bedingungen für die Hydrierung zu prüfen, wurde erst die Route der Hydrierung des aromatischen Triesters **38** mit der anschließenden Monoverseifung eingeschlagen. Für die Hydrierungsgeschwindigkeit von aromatischen Systemen wurden folgende Aktivitätsunterschiede festgestellt: Rh > Ru >> Pt >> Pd > Ni > Co.<sup>40</sup> Demnach eignen sich für die Hydrierung von Aromaten besonders Rhodium, Ruthenium und Platin, während Palladium für selektive Hydrierungen von Olefinen geeignet ist. Die Hydrierung des aromatischen Triesters **38** analog den Nielsen-Vorschrift<sup>33</sup>, mit PtO<sub>2</sub> in Eisessig bei einem Wasserstoffüberdruck von 4 bar bei RT, war erfolglos. Die Erhöhung der Temperatur auf 50° C und auch die Verwendung von mehr Katalysator bzw. die Verwendung von PtO<sub>2</sub> von verschiedenen Herstellern führte nicht zu dem gewünschten Erfolg. Ein Vergleich mit der Literaturvorschrift<sup>41</sup> für die Hydrierung des 1,3-Benzoldicarbonsäuredimethylesters, die bei der Verwendung von PtO<sub>2</sub> als Katalysator einen Druck von 50 bar in Eisessig bei RT vorschreibt, weist in den Reaktionsbedingungen einen drastischen Unterschied auf. Außerdem ist zu beachten, daß die Schwierigkeit der Hydrierung mit der Anzahl der mit dem aromatischen System konjugierten Akzeptoren zunimmt. Ein Grund für die Differenz in der Katalysatoraktivität könnte eine nicht erwähnte Vorbehandlung des PtO<sub>2</sub> sein. Da der maximale Fülldruck bei der verwendeten Parr-Apparatur nicht mehr als 4 bar Überdruck betrug, wurde für die Hydrierung das für aromatische Hydrierungen geeignete Rhodium auf Kohle (5 %) verwendet. Dies führte bei der Verwendung von 40 % Katalysator bezogen auf die Masse des Aromaten **38**, 4 bar Überdruck und RT in abs. MeOH in drei Tagen zu dem gewünschten Produkt **37**. Die Reaktionszeit konnte durch Erwärmen auf 50° C auf zwölf Stunden verkürzt werden. Ein Vergleich mit den <sup>1</sup>H-NMR-Literaturdaten<sup>42</sup> zeigte, daß der *cis,cis*-Triester **36** als einziges Produkt gebildet wurde. In einer ähnlichen Hydrierung der Trimesinsäure **47** über Pd/C erhielten Rebek et al. die Cyclohexantricarbonsäure als ein Gemisch der *cis,cis*- und *cis,trans*-Epimeren (85 zu 15). Anschließend wurde das Gemisch der Epimeren mittels Ac<sub>2</sub>O und NaOAc in das thermodynamisch stabile *trans*-5-Hydroxycarbonyl-1,3-cyclohexandicarbonsäureanhydrid überführt, weil die verbleibende Carbonsäurefunktion durch die baseninduzierte Epimerisierung die *exo*-Position im Bicyclus einnimmt. Die Hydrolyse des bicyclischen Anhydrids ergab die *cis,trans*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäure, welche als zentraler Baustein für die kombinatorische Synthese von Molekülbibliotheken gedacht ist. Rebek et al. zeigten mittels einer *molecular modelling*-Berechnung, daß das *äq,äq,ax*-Konformer das stabilere ist und daß im

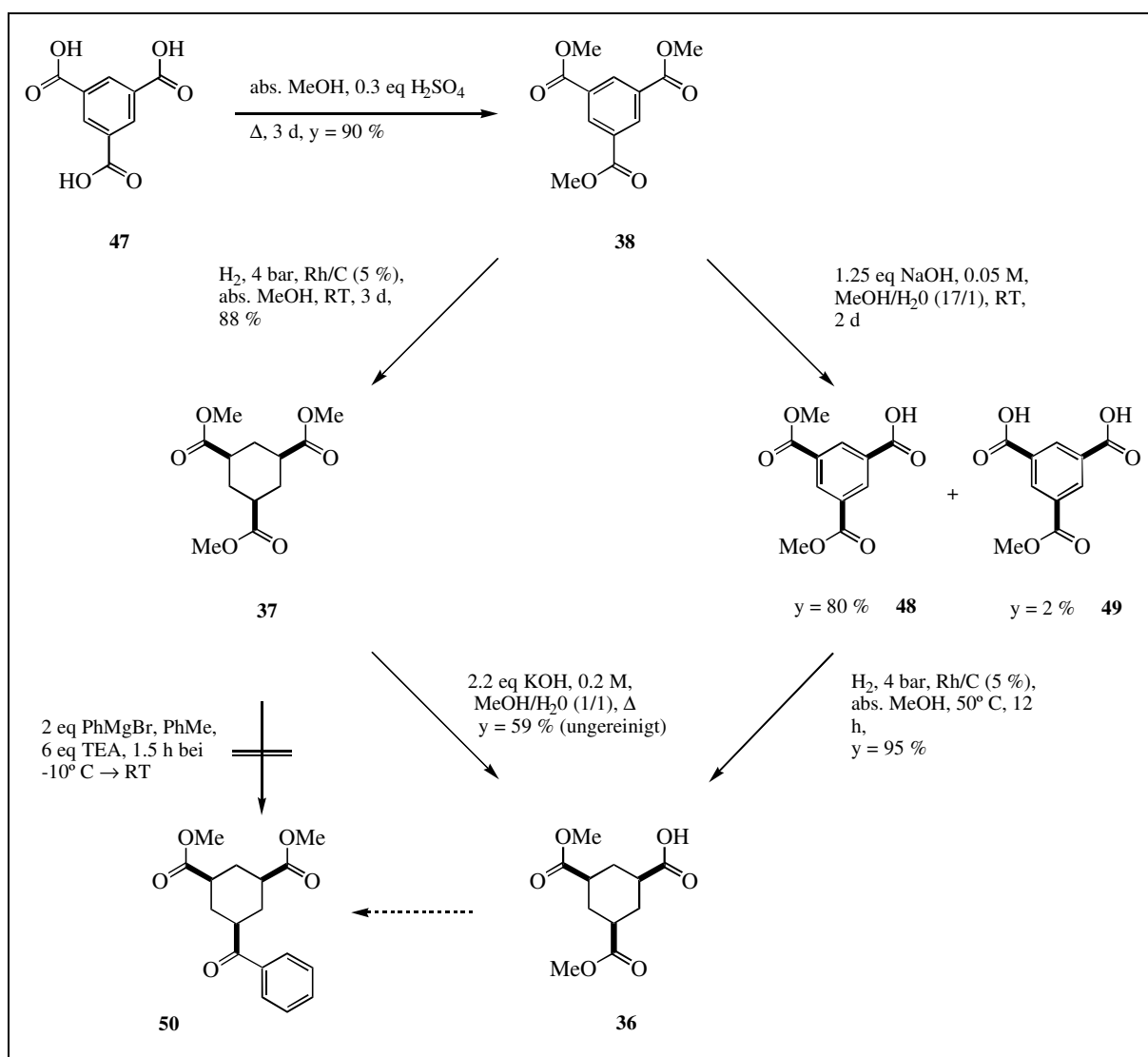
<sup>40</sup> P. N. Rylander, *Hydrogenation Methods*, **1985**, Academic Press, London, 117

<sup>41</sup> F. Zymalkowski, *Katalytische Hydrierungen*, **1965**, Ferdinand-Enke-Verlag, Stuttgart, 187

<sup>42</sup> T.-L. Chan, Y.-X. Cui, T. C. W. Mak, R. J. Wang, H. N. C. Wong, *Journal. of. Crystallographic. And Spectroscopic Research* **1991**, *21*, 297

*äq,ax,ax*-Konformer keine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Carbonylsauerstoff und dem Amidproton der beiden axialen Amidfunktionen vorliegt. Eine solche Wasserstoffbrücke könnte das *äq,ax,ax*-Konformer stabilisieren.<sup>43</sup>

Die Verseifung des gesättigten Triesters **37** erfolgte in einer 0.2 M MeOH/H<sub>2</sub>O-Lösung mit 2.2 Äquivalenten KOH unter Rückfluß. Die geringe Konzentration des Diesters und das Kalium als Gegenkation sollten eine bessere Solvatation des entstehenden Kaliumcarboxylates bewirken, so daß das Salz als Solvat getrenntes Ionenpaar in der Lösung vorliegen sollte. Dadurch sollte eine Verseifung der zweiten Esterfunktion aufgrund elektrostatischer Abstoßung zwischen dem Hydroxid- und dem Carboxylatanion verhindert werden. Aufgrund der geringen Reaktionsgeschwindigkeit wurde jedoch die optimale Stöchiometrie des KOH auf 2.2 Äquivalente erhöht und ein Äquivalent LiCl zugefügt. Nach ca. 2.5 h Stunden erhielt man nach der wäßrigen Aufarbeitung den Diester **36** in 59 % Ausbeute, der laut Dünnschichtchromatographie mit dem *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuremonomethylester verunreinigt war.



Schema 27: Syntheserouten zum *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuretrimethylester

<sup>43</sup> K. E. Pryor, G. W. Shipps Jr., D. A. Skyler, J. Rebek Jr., *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4107

Für die Verseifung des aromatischen Triesters **38** wurden bereits zwei unterschiedliche Methoden publiziert. Bei der Methode von Kasina et al. verwendet man 1,1-Dimethylhydrazin im Überschuß bei Raumtemperatur oder Siedetemperatur zum Verseifen von Polymethylestern. Hierbei greift das dimethylierte Stickstoffatom des Dimethylhydrazins nucleophil das Methylkohlenstoffatom der sterisch zugänglichsten Esterfunktion an, um ein 1,1,1-Trimethylhydraziniumcarboxylatsalz zu bilden. Dieses Salz schützt die weiteren Esterfunktionen vor einer Spaltung.<sup>44</sup> Bei der Variante von Engel et al. verwendet man ein Äquivalent 0.05 M NaOH in MeOH/H<sub>2</sub>O (17/1), um durch die starke Verdünnung die Solvataion des Produktes zu verbessern.<sup>45</sup>

Die Umsetzung mit 1,1-Dimethylhydrazin, welches gleichzeitig auch als Lösungsmittel diente, erfolgte erst bei der Siedetemperatur mit ausreichender Reaktionsrate. Innerhalb von ca. sechs Stunden war die Reaktion beendet. Nach dem Einengen erhielt man nach einer Säure-Base-Trennung den Dimethylester **48**, der laut DC-Analyse nur geringe Spuren des Monoesters enthielt, in 77 % Ausbeute. Die Verwendung 0.05 M NaOH in MeOH/H<sub>2</sub>O (17/1) erbrachte in 80 % Ausbeute den 1,3,5-Benzoltricarbonsäuredimethylester und in 2 % Ausbeute den 1,3,5-Benzoltricarbonsäuremonomethylester **49**. Als Änderung zur Originalvorschrift wurde die Hydrolyse bis zur vollständigen Umsetzung des Triesters durch zusätzliches NaOH durchgeführt, und die Aufarbeitung erfolgte durch eine Säure-Base-Trennung und einer anschließenden Umkristallisation aus einem PE/MTB/MeOH-Lösung oder vorteilhafter aus einer MeOH/H<sub>2</sub>O-Lösung. Um die Verseifung weiter zu optimieren, wurden verschiedene Reagenzien getestet. Das Verhältnis von Diester und Monoester wurde mittels DC grob bestimmt und gegebenenfalls der Diester isoliert. Die Verseifung in 0.5 M NaOH in MeOH/H<sub>2</sub>O (1/1) erbrachte hauptsächlich ein Gemisch aus dem Monoester **49** und dem Triester **38**, die Verwendung von 0.5 M LiOH in DMF/H<sub>2</sub>O-Lösung bewirkte die Hydrolyse zur freien 1,3,5-Benzoltricarbonsäure **47**. In nur 39 % Ausbeute lieferte die Verseifung des Triesters **38** mit 1.1 eq H<sub>2</sub>O und 8 eq Kalium-*tert*-butoxid in abs. Et<sub>2</sub>O den gewünschten Diester **48**.<sup>46</sup> Darüber hinaus entstand ein nicht weiter charakterisiertes unpolareres Nebenprodukt.

Die Hydrierung des Dimethylesters **48** verlief glatt und lieferte in nahezu quantitativer Ausbeute den *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylester **36**.

Für die direkte Konvertierung von Carbonsäureestern zu Ketonen wurde von Kikkawa et al. eine Methode entwickelt, die sich eine intermediäre Maskierung des Ketons als Enolat zu Nutze macht. Bei dieser Prozedur wird langsam bei 5 - 10° C der Carbonsäureester, gelöst in Toluol, zu einer Lösung aus 2 eq RMgBr\*(Et<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> und 3 eq TEA in Toluol getropft. Mit dieser Methode überführte man selektiv in 59 % Ausbeute einen Methylester, der noch als weitere Funktionen ein β-Lactam, eine Z-Schutzgruppe und einen α,β-ungesättigten Benzylester aufwies, in das Methylketon. Diese Methode versagt bei Ketonen, die keine enolisierbaren α-Protonen haben, und bei Estern, die leicht enolisierbare α-Protonen haben.<sup>47</sup> Diese Reaktion

<sup>44</sup> S. Kasina, J. Nematollahi, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 16, 1403

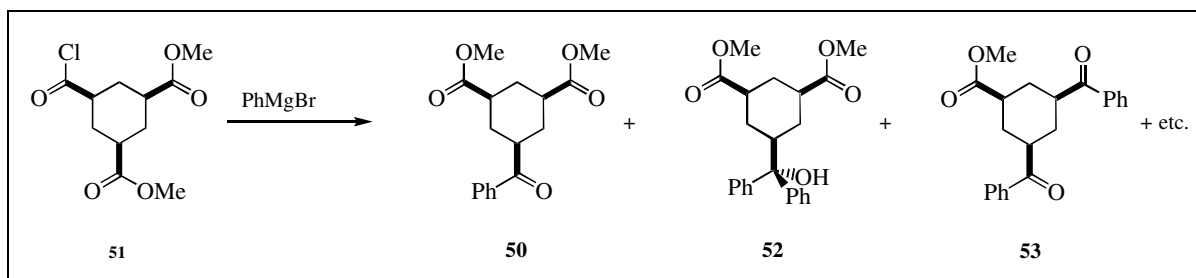
<sup>45</sup> M. Engel, C. W. Burris, C. A. Slate, B. W. Erickson, *Tetrahedron* **1993**, 49, 8761

<sup>46</sup> P. G. Gassman, W. N. Schenk, *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 918

<sup>47</sup> I. Kikkawa, T. Yorifuji, *Synthesis* **1980**, I, 877

verlief jedoch nicht wie gewünscht bei dem Triester **37**. Man erhielt hauptsächlich das Edukt, geringe Mengen des tertiären Alkohols und das Arylketon **50**. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit der von Kikkawa et al. durchgeführten Methylierung an Cyclohexancarbonsäuremethylester, die in 27 % Ausbeute das Acetylcyclohexan und 19 % des Startmaterials lieferte.

## 5.2 Versuche zur Etablierung des Benzylrestes



Schema 28: Mögliche Produkte einer Grignardaddition an das Säurechlorid **51**

Im nächsten Schritt mußte die freie Carbonsäurefunktion aktiviert werden und mit einem entsprechenden nucleophilen Phenylreagenz gekuppelt werden. Die einfachste Form der Aktivierung ist die Überführung der Carbonsäure **36** in das Säurechlorid **51**, welches man mit einem einfach herzustellenden Phenylgrignard kuppelt. Die Problematik bei dieser Reaktion zeigt sich daran, daß das entstehende Keton **50** aufgrund einer annähernd gleichen Reaktivität zum tertiären Carbinol **52** überalkyliert wird, so daß die Ausbeuten an dem Keton nur mäßig sind. Die Alkylierung von Carbonsäurechloriden mit Grignardreagenzien in Et<sub>2</sub>O ist nur dann nutzbar, wenn das gebildete Keton aufgrund sterischer Hinderung nicht weiter reagiert.<sup>48</sup> Außerdem besteht die Gefahr, daß bei Überschüssen an Grignardreagenz auch andere nucleophile Zentren wie zum Beispiel Esterfunktionen nucleophil alkyliert werden (**53**). Aus diesen Gründen wurde eine Reihe von Methoden entwickelt, die eine selektive Umwandlung des Carbonsäurechlorids oder anderer aktivierter Carboxylderivate in die entsprechenden Ketone erlauben. Dabei kann man die Methoden in drei Gruppen unterteilen:

1. Modifizierte Grignardreagenzien
2. Übergangsmetallorganyle
3. Aktivierte Carbonsäureester

Eine einfache Verbesserung für Grignardadditionen ist die Verwendung von THF als Lösungsmittel und Zugabe des Alkylmagnesiumhalogenids bei -78° C. Bei einem stöchiometrischen Verhältnis des Acylchlorids zum Grignard von 1 zu 1 erhielt Sato et al. einfache aliphatische und aromatische Ketone in Ausbeuten zwischen 71 und 95 %.<sup>49</sup> Eine andere Methode, um die Selektivität der Grignardaddition zu erhöhen, ist die Zugabe katalytischer Mengen an Übergangsmetallsalzen wie zum Beispiel CuCl oder CuI, die als Zusatz für die Synthese von

<sup>48</sup> K. Nützel, *Houbel-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Auflage, 1973*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, XIII/2a, 413 (Grignardverbindungen), 780 (Organozinkverbindungen), 926 (Organocadmiumverbindungen)

<sup>49</sup> F. Sato, M. Inoue, K. Oguro, M. Sato, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 4303

sterisch gehinderten Ketonen in guten Ausbeuten benutzt wurden.<sup>50</sup> Marchese et al. konnten zeigen, daß man durch die Verwendung von nur 0.03 eq Fe(acac)<sub>3</sub> als Katalysator einfache Ketone bei RT in hoher Ausbeute darstellen kann.<sup>51</sup> Bei der Verwendung von katalytischen Mengen eines Übergangsmetallsalzes liegt es natürlich nahe, daß man das beim katalytischen Prozeß *in situ* gebildete Übergangsmetallorganyl in einem stöchiometrischen Verhältnis von 1 zu 1 einsetzt, da diese aufgrund einer geringeren Reaktivität eine höhere Selektivität für das Acylchlorid in bezug auf andere Akzeptorfunktionen aufweisen. Für die Monoalkylierung von Säurechloriden wurden erfolgreich Cuprate,<sup>52</sup> Dialkylzink-<sup>48</sup> und Dialkylcadmiumverbindungen<sup>48</sup> eingesetzt. Die Addition von Diorganylzinkreagenzien wird aufgrund ihrer geringer Reaktivität durch Zugabe von Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub><sup>53</sup> und CuCN\*2 LiCl<sup>54</sup> katalysiert. Die Cu(I) katalysierten Zinkorganyle erlauben die selektive Kupplung mit Acylchloriden in Anwesenheit von Chlor-, Nitril- und Methoxycarbonylfunktionen in Ausbeuten, die mehr als 80 % betragen.<sup>54</sup> Pd(0) wurde auch für die *cross-coupling*-Reaktion von Stannanen mit Acylchloriden eingesetzt.<sup>55</sup>

Während die eben beschriebenen Methoden versuchen, die Reaktivität des Nucleophils zu steuern, wurden auch verschiedene Carboxylderivate synthetisiert, die eine höhere Reaktivität bzw. Selektivität aufweisen. Die Umsetzung von Säurechloriden mit Tributylphosphin ergibt reaktive Acylphosphoniumsalze, die sich infolge einer elektrostatischen Anziehung der Reaktionszentren bei -20° C in THF in hoher Ausbeute (70 - 100 %) selektiv zu den Ketonen umsetzen. Unter diesen Reaktionsbedingungen werden Methylester- und Nitrilfunktionen nicht angegriffen. Die Reaktion versagt bei der Umsetzung von primären Säurechloriden mit PhMgBr und gibt moderate Ausbeuten bei der Umsetzung von Säurechloriden mit <sup>i</sup>PrMgBr.<sup>56</sup> N-Acylimidazole, die für die Estersynthese benutzt werden, sind auch für die Synthese von Ketonen geeignet.<sup>57</sup>

Eine weitere Verbesserung der Selektivität ist die Einführung von Estern, die eine Vorkomplexierung des Metallatoms des metallorganischen Reagenzes bewirken, so daß das Nucleophil in der Nähe des elektrophilen Zentrums positioniert und die Esterfunktion durch den Lewis-sauren Charakter des Metalls aktiviert wird. Nach der Alkylierung wird das primäre tetraedrale Additionsprodukt durch die Chelatisierung des Metallatoms stabilisiert. Das so maskierte Keton wird anschließend bei der schwach sauren Hydrolyse unter Eliminierung der

<sup>50</sup> N. C. Cook, W. C. Parcival, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 4141

J. E. Dubois, M. Boussu, C. Lion, *Tetrahedron Lett.* **1971**, *12*, 829

<sup>51</sup> V. Fiandanese, G. Marchese, V. Martina, L. Ronzini, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4805

<sup>52</sup> a) G. H. Posner, C. E. Whitten, P. E. McFarland, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 5106; b) D. E. Bergreiter, J. M. Killough, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 2750

<sup>53</sup> a) E. Negishi, V. Bagheri, S. Chatterjee, F. T. Luo, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5181; b) R. A. Grey, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 2288

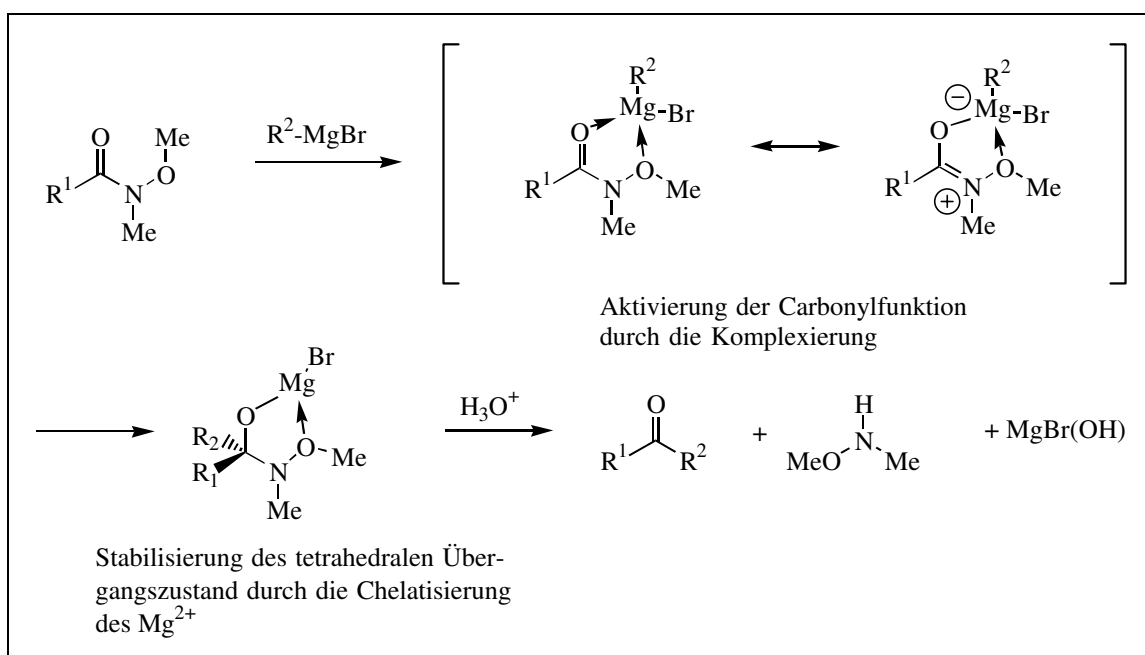
<sup>54</sup> P. Knochel, M. C. P. Yeh, S. C. Berk, J. Talbert, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2391

<sup>55</sup> D. Milstein, J. K. Stille, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1613

<sup>56</sup> H. Maeda, J. Okamoto, H. Ohmori, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5381

<sup>57</sup> J. S. Nimitz, H. S. Mosher, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 211

Fluchtgruppe freigesetzt. Zu dieser Form der aktivierten Ester zählt man 2-Pyridylthioester,<sup>58</sup> N-Methoxy-N-methylamide (Weinreb-Amide),<sup>59</sup> N-Acylisooxazolidine<sup>77</sup> und N-Methyl-N-(2-pyridyl)amide<sup>60</sup>.



Schema 29: Beispiel für eine Ketonsynthese mittels eines komplexierenden Esters; Ein analoger Mechanismus wird auch für die anderen komplexierenden Ester angenommen.<sup>59</sup>

Für die Synthese des Ketons wurde aufgrund der einfachen Darstellung das Säurechlorid **51** gewählt. Dieses sollte anschließend mit einem Arylcuprat bzw. mit einem Arylgrignard und katalytischen Mengen an Cu(I) bzw. Fe(acac)<sub>3</sub> umgesetzt werden. Für die Darstellung des Cuprats wurden verschiedene Cu(I)-Salze und metallorganische Reagenzien benutzt.

Der *cis,cis*-5-Benzoyl-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester wurde nur in geringer Ausbeute isoliert oder nachgewiesen. Die chromatographische Analyse ergab neben dem gewünschten Produkt eine Reihe von Nebenprodukten, die nicht weiter charakterisiert worden sind.

Methode	R-M:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	PhMgBr	Et <sub>2</sub> O, 0.1 eq Cu(I), -10° C, Zugabe 55 min, 1 h bei -10° C	ca. 17 % <sup>a</sup>
H	PhMgBr	THF, 0.05 eq Fe(III)acac <sub>3</sub> , 0° C, Zugabe 40 min, 10 min bei 0° C	30 % <sup>b</sup>
Methode	R-M:	Bedingungen:	Ausbeute:
C	Ph <sub>2</sub> CuLi <sup>b</sup>	Et <sub>2</sub> O, -78° C, Zugabe 5 min, 30	0 %

<sup>58</sup> T. Mukaiyama, M. Araki, H. Takei, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 4763

<sup>59</sup> S. Nahm, S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3815

Übersichtsartikel zu den Weinreb-Amiden: M. Mentzel, H. M. R. Hoffmann, N-Methoxy-N-methylamides (Weinreb Amides) in *Modern Organic Synthesis*, *J. prakt. Chem.* **1997**, 339, 517

<sup>60</sup> A. I. Mayers, D. L. Comins, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 3815

		min bei -78° C	
E	Ph <sub>2</sub> CuLi <sup>c</sup>	Et <sub>2</sub> O, -78° C, Zugabe 5 min, 20 min bei -78° C	37 %
G	PhMgBr	Et <sub>2</sub> O, THF, 1 eq Cu(I)I, -78° C, Zugabe 5 min, 10 min bei -78° C	15 % <sup>b</sup>
K	Ph <sub>2</sub> CuLi*SMe <sub>2</sub> <sup>f</sup>	THF, -78° C, Zugabe 5 min, 1 h bei -78° C	6 % <sup>b</sup>

a: Das Säurechlorid wurde aus einem Gemisch aus dem Diester **36** und dem Monoester hergestellt.

b: Ausbeute wurde mittels GC mit Benzophenon als internen Standard bestimmt.

b: Das Cuprat wird durch die Reaktion von 2 eq PhLi mit 1 eq Cu(I)I in Et<sub>2</sub>O dargestellt.

c: Das Cuprat wird durch die Reaktion von 2 eq PhLi mit 1 eq Cu(I)Br in Et<sub>2</sub>O dargestellt.

f: Das Cuprat wird durch die Reaktion von 2 eq PhLi mit 1 eq Cu(I)Br\*SMe<sub>2</sub> in THF dargestellt.

Eine mögliche Fehlerquelle bei der Synthese von Cupraten ist die Bildung von unterschiedlich reaktiven Kupferorganylspezies aufgrund von verunreinigten Cu(I)-Salzen und ungenau bestimmten Grignardkonzentrationen. Um mögliche Nebenreaktionen auszuschließen, wurde mit Benzoylchlorid und Ph<sub>2</sub>CuLi ein Kontrollversuch durchgeführt, der in 62 % Ausbeute Benzophenon lieferte. In der Literatur findet man für die Umsetzung von Phenylcupraten die Reaktion mit dem β-Chloropivaloylchlorid, die in 40 % Ausbeute nur den tertiären Alkohol lieferte. Im Gegensatz dazu erbrachte die Reaktion des β-Chloropivaloylchlorids mit Methylcuprat das gewünschte Keton in 68 % Ausbeute.<sup>61</sup> Ein weiteres Beispiel, bei dem die Cuprataddition versagt, ist die Umsetzung von Me<sub>2</sub>CuLi mit 3-Methoxycarbonylpropansäurechlorid, die in nur 20 % Ausbeute stattfindet.<sup>51</sup>

Als alternatives metallorganisches Reagenz wurden verschiedene Zinkorganyle getestet. Der direkteste Weg für die Darstellung von Diorganozink- bzw. Organozinkjodidverbindungen ist analog zur Grignardreaktion die Umsetzung von Zink mit Jodiden oder mit aktivierten Bromiden in THF. Da das Zink weniger elektropositiv ist als Magnesium, sind besondere Verfahren der Aktivierung notwendig. Neben der Standardaktivierung des Zinks mit 1,2-Dibromethan und TMSCl<sup>54</sup> wird auch das aktive Rieke-Zink benutzt, das in sehr feinverteilter Form durch Reduktion von ZnCl<sub>2</sub> mit flüssigem Kalium,<sup>62</sup> Li-Naphthalid<sup>63</sup> oder Na-Naphthalid<sup>64</sup> in THF erhalten wird. Das mit Na-Naphthalid erzeugte Zink wurde erfolgreich dazu benutzt, verschiedene *cross-coupling*-Reaktionen auszuführen. Mehrere Versuche, Phenylzinkjodid aus Zink und Phenyljodid herzustellen und diese mit Benzoylchlorid zu kuppeln, scheiterten aufgrund der nicht erfolgten Bildung des Zinkorganyls. Außerdem erwies sich die Abtrennung des überschüssigen, fein suspendierten Rieke-Zinks als schwierig, da sie nur durch Zentrifugieren erfolgen konnte. Wegen der geringen Reaktivität von Aryljodiden wurde von Knochel et al. DMF oder Dimethylacetamid als Lösungsmittel der Wahl für die Bildung

<sup>61</sup> N. de Kimpe, P. Sulmon, M. Boeykens, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 3389

<sup>62</sup> R. D. Rieke, S. J. Uhm, P. M. Hundall, *J. C. S. Chem. Comm.* **1973**, 269

<sup>63</sup> L. Zhu, R. M. Wehmeyer, R. D. Rieke, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1445

<sup>64</sup> R. T. Arnold, S. T. Kulenovic, *Synth. Comm.* **1977**, *7*, 223



von Phenyl- bzw. Arylzinkjodiden, die vorwiegend akzeptorsubstituiert sind, vorgeschlagen.<sup>65</sup> Unter diesen Bedingungen setzte sich das Phenyljodid vollständig um, die folgende Addition an Benzoylchlorid mißlang jedoch. Infolge der schlechten Zugänglichkeit und Empfindlichkeit von Aryljodiden sowie der schwierigen Darstellung des Arylzinkhalogenids wurde dieser Weg nicht weiter verfolgt, und die entsprechenden Zinkreagenzien synthetisierte man durch die Umsetzung der Phenylgrignardverbindungen mit  $\text{ZnCl}_2$ .

Methode	R-M:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	$p\text{-MeO-C}_6\text{H}_4\text{ZnCl}^a$	THF, 1 eq Ph-C $\equiv$ C-Cu(I), -78° C, Zugabe 1 min, 4 h bei 0° C	21 %
B	$p\text{-MeO-C}_6\text{H}_4\text{ZnCl}^a$	THF, 1 eq CuCN, 2 eq LiCl, -78° C, Zugabe 1 min, 4 h bei 0° C	12 %
C	$(p\text{-MeO-C}_6\text{H}_4)_2\text{Zn}^b$	THF, 1 eq CuCN, 2 eq LiCl, -40° C, Zugabe 5 min, 1 h bei -30° C, 2 h bei 0° C	36 %

a: Das Anisylzinkchlorid wird *in situ* durch Reaktion von 1 eq Anisyllithium mit 1 eq  $\text{ZnCl}_2$  in THF (0° C  $\rightarrow$  RT) synthetisiert.

b: Das Bisanisylzink wird *in situ* hergestellt, indem man bei -40° C 2 eq Anisylmagnesiumbromid mit 1 eq  $\text{ZnCl}_2$  umsetzt und anschließend 1 h bei 0° C rührt.

Da auch mittels der Zinkorganyle das gewünschte Arylketon nur in unbefriedigender Ausbeute erhalten werden konnte, wurde die direkte Umsetzung des Grignards mit dem Säurechlorid untersucht.

Methode	R-M:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	PhMgBr	THF, -78° C, Zugabe 30 min, -78° C $\rightarrow$ RT	50 % <sup>a</sup> - 67 % <sup>b</sup>
B	PhMgBr	THF, 2 eq DMPU, -40° C, Zugabe 50 min, 1 h bei -40° C	16 % <sup>b</sup>
C	$p\text{-MeO-C}_6\text{H}_4\text{MgBr}$	1) 1 eq $\text{Bu}_3\text{P}$ , THF, -20° C, 20 min, 2) Zugabe 1 min, 15 min bei -15° C	52 %

a: Das Produkt wurde nach einer Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  spektroskopisch charakterisiert.

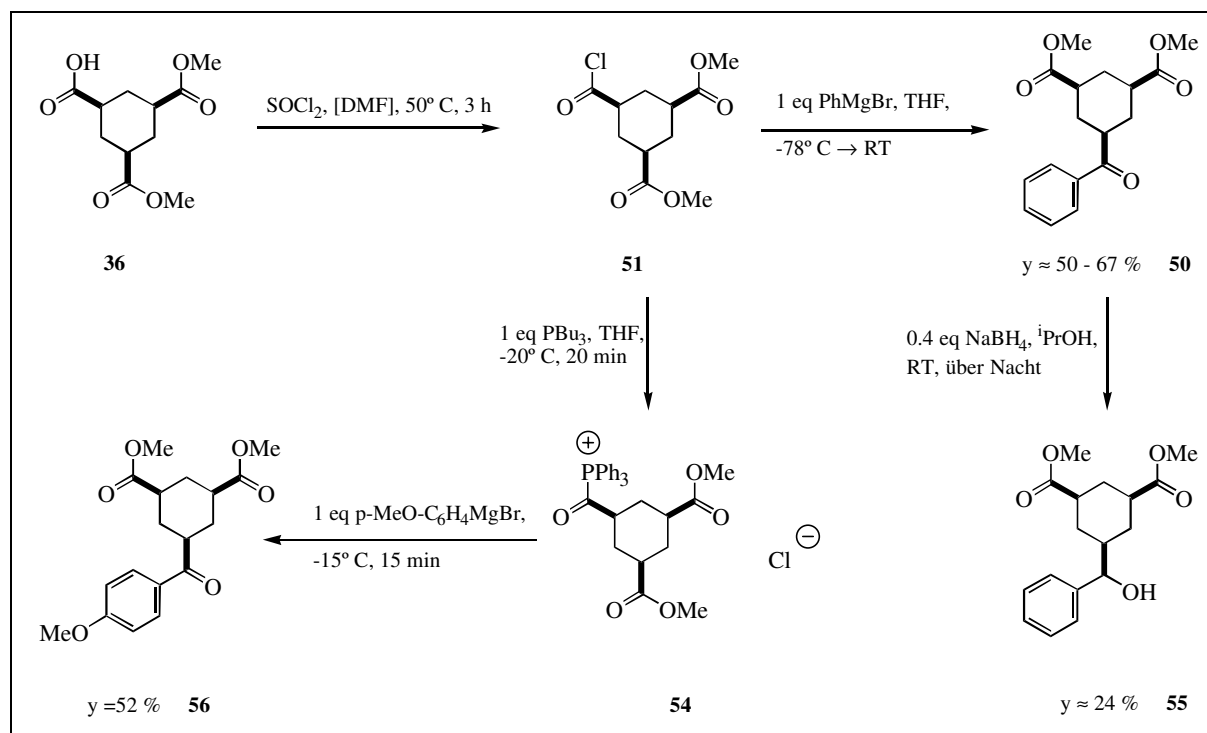
b: Ausbeute wurde mittels GC mit Benzophenon als internem Standard bestimmt.

Dabei zeigte sich, daß die einfache inverse Zugabe des Grignardreagenzes zum Säurechlorid in THF das beste Ergebnis erzielte. Die Überführung des Säurechlorids in das Acylphosphoniumsalz **54** erbrachte keine Verbesserung. Jedoch ließ sich die der Ausbeute nicht reproduzieren, und das Produkt enthielt schwer abzutrennende Verunreinigungen, so daß das Keton **50** zum Alkohol **55** reduziert wurde (Schema 30).

Ein Grund für die schlechten Ausbeuten ist sicherlich die fehlende Reinigung des öligen Säurechlorids aufgrund seiner hohen Molmasse. Dies hatte zur Folge, daß das Rohprodukt nicht

<sup>65</sup> T. N. Majid, P. Knochel, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4413

definierte Mengen des Säurechlorids **51** und Nebenprodukte des  $\text{SOCl}_2$  enthält. Somit war eine äquimolare Zugabe des Arylgrignards nicht möglich, und jeder Überschuß führt unweigerlich zu Nebenprodukten.<sup>56</sup> Solche schwefelhaltigen Verunreinigungen können auch die Arylcuprat- und Arylzinkadditionen beeinträchtigt haben. Ein wesentlicher Nachteil war außerdem, daß die Reaktion des Säurechlorids nicht mit DC kontrolliert werden konnte.



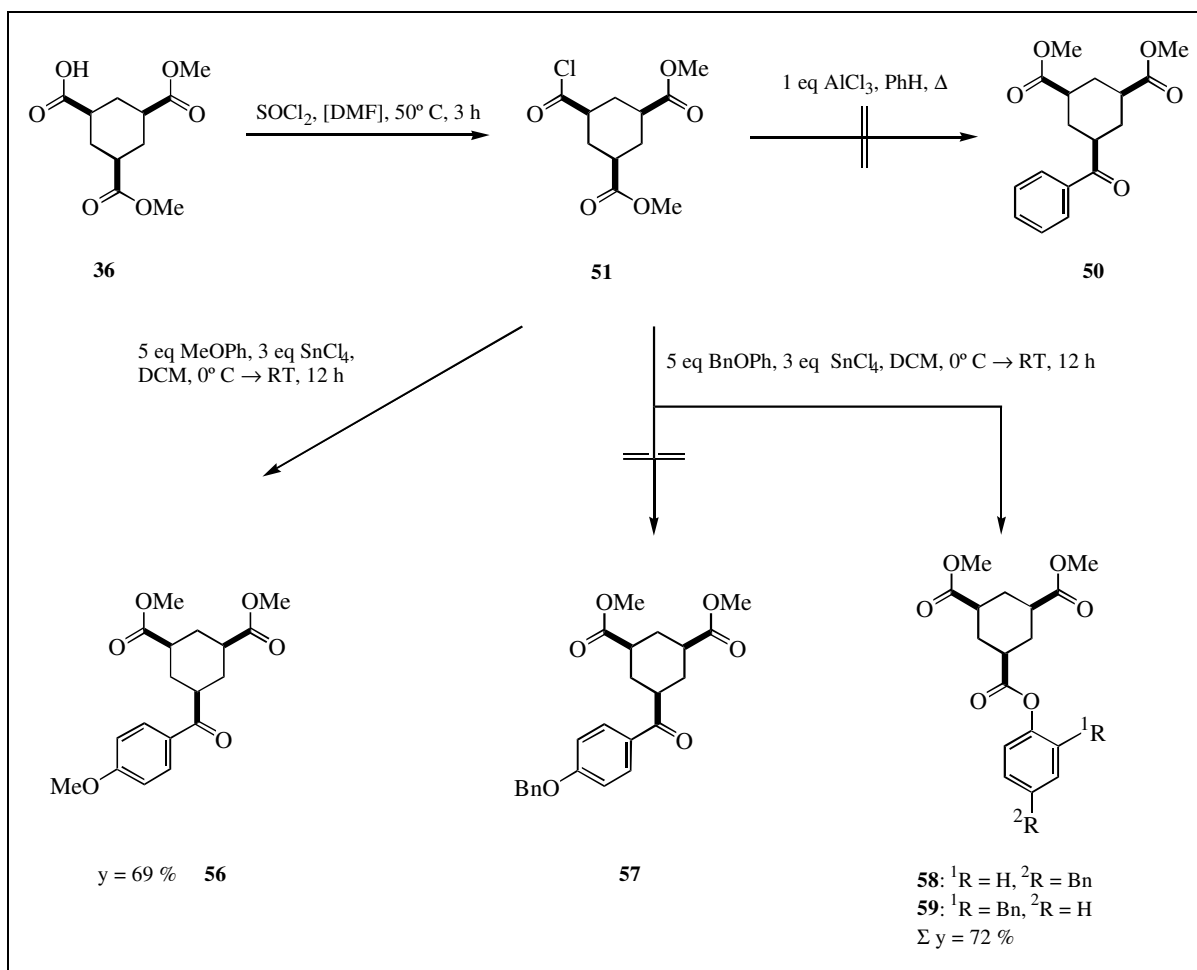
Schema 30: Die Synthese der Arylketone mittels THF als Lösungsmittel und Aktivierung der Carboxylfunktion als Acylphosphoniumsalz

Eine andere Reaktion, die sich bei der Umwandlung von Säurechloride in Acylketone nutzen läßt, ist die Friedel-Crafts-Acylierung, bei der ein Aromat durch ein Acyliumkation elektrophil substituiert wird. Der Vorteil dieser Reaktion besteht in einer einfachen Durchführung unter nicht absoluten Bedingungen und der selektiven Bildung des Arylketons. Nachteilig wirkt sich aus, daß die Reaktion nur für die Synthese von Mimetika mit aromatischen Resten mit bestimmten Substitutionsmustern geeignet ist und daß die Reaktion teilweise drastische Bedingungen benötigt.

Um für die weitere Ausarbeitung der Synthese Ausgangsmaterial zu gewinnen, wurde das *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylesterchlorid **51** in einer Friedel-Crafts-Acylierung in den *cis,cis*-5-(4-Methoxybenzoyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester **56** überführt. Dafür wurde die Carbonsäure **36** mittels eines Überschusses an Thionylchlorid bei  $50^\circ\text{C}$  innerhalb von drei Stunden chloriert. Nach dem Entfernen des Thionylchlorids wurde eine Lösung des rohen Säurechlorids in Anisol und abs. DCM bei  $0^\circ\text{C}$  mit einer  $\text{SnCl}_4$ -DCM-Lösung versetzt und über Nacht bei RT gerührt.<sup>66</sup> Durch die Verwendung von Oxalylchlorid

<sup>66</sup> D. H. Hey, O. C. Musgrave, *J. Chem. Soc.* **1949**, IV, 3156

als Chlorierungsmittel in PhH bei RT erhielt man nach der Friedel-Crafts-Acylierung das Arylketon **56** mit einer vergleichbaren Ausbeute von 64 %.



Schema 31: Synthese des *cis,cis*-5-(4-Methoxybenzoyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester mittels einer Friedel-Crafts-Acylierung mit Anisol und  $\text{SnCl}_4$

Die Friedel-Crafts-Acylierung von Benzol mit dem Säurechlorid **51** führte bei der Siedetemperatur und  $\text{AlCl}_3$ -Katalyse zur Zersetzung des Edukts. Da die Methylgruppe nur unter drastischen Bedingungen ( $\text{BBr}_3$  oder TFMSA/PhSH in TFA) von der Phenolfunktion entfernt werden kann, ist diese Schutzgruppe für die spätere Synthese des Peptids mit der freien Phenolgruppe ungeeignet. Deshalb sollte die Methoxyfunktion gegen eine Benzyloxyfunktion ausgetauscht werden, die bei der Hydrierung des Arylketons **57** zum Kohlenwasserstoff gleichzeitig mit abspalten wird. Anschließend wäre es möglich, die freie Phenolfunktion mit einer Fmoc-Festphasenpeptidsynthese kompatiblen TFA-labilen Schutzgruppe zu versehen. Leider zersetzte sich der Benzylphenylether unter den oben beschriebenen Bedingungen zu den isomeren 2 bzw. 4-Benzylphenolen, die anschließend mit dem Säurechlorid **36** zu den isomeren Triestern **58** und **59** reagierten. Eine solche Umlagerung des Benzylphenylether wurde bereits für die  $\text{AlBr}_3$  katalysierte Reaktion, die selbst bei  $-40^\circ\text{C}$  innerhalb von Sekunden abläuft, beschrieben.<sup>67</sup> Aus diesem Grunde wurde die Kupplung des Säurechlorids **36** mit einem metallorganischen Nucleophil weiterverfolgt.

<sup>67</sup> L. S. Hart, C. R. Waddington, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1985**, 1607

Zum Aktivieren der Säurefunktion wurde das 2-Mercaptopyridin gewählt, da der 2-Pyridylthioester wie oben beschrieben die Ketonsynthese favorisiert und aufgrund des elektronenziehenden Charakters des 2-Mercaptopyridins eine zusätzliche Aktivierung der Carboxylfunktion bewirkt. Der aktivierende Charakter äußert sich in einer erhöhten Acidität der Sulphydrylfunktion analog des Pentafluorphenols oder 2-Nitrophenols. Aus diesem Grund wurden solche 2-Pyridylthioester in der Peptidsynthese<sup>68</sup>, als Pyridylthioglycoside für die Ag<sup>+</sup> katalysierte C-Glycosidierung<sup>69</sup> und zur Makrolactonisierung<sup>70</sup> eingesetzt. Bei der Makrolactonisierung bewirkt die intramolekulare Komplexbildung des Hydroxyprotons durch den 2-Pyridylthioester eine Vororientierung und Aktivierung analog der Ketonsynthese, indem die Hydroxyfunktion in der Nähe des Reaktionszentrum positioniert wird und indem die Nucleophilie der Hydroxyfunktion bzw. die Elektrophilie der Carboxylfunktion durch die Erhöhung der partiellen negativen bzw. positiven Ladung gesteigert wird.<sup>71</sup> Ein weiteres Beispiel für die besondere Aktivierung der Carboxylfunktion ist die Synthese von  $\beta$ -Lactonen<sup>72</sup> bzw.  $\beta$ -Lactamen<sup>73</sup> in einer Tandemreaktion von 2-Pyridylthioesterenolaten mit Aldehyden bzw. Iminen. Nach einer Lewis-Säure katalysierten Aldolreaktion zwischen dem Enolat und der Carbonylfunktion cyclisiert der  $\beta$ -Hydroxy- bzw.  $\beta$ -Amino-2-pyridylthioester bei RT zum  $\beta$ -Lacton bzw.  $\beta$ -Lactam. In der Ketonsynthese zeichnet sich diese Methode dadurch aus, daß die 2-Pyridylthioester selektiv in Anwesenheit von Lactonen, Alkylestern<sup>74</sup> und den Säureanhydriden analogen Phthalimiden<sup>75</sup> alkyliert werden. Dabei bewirkt der 2-Pyridylthioester eine starke Aktivierung der Carbonylfunktion des Thioesters, so daß die Alkylierung des Thioesters im Vergleich zu dem entstehenden Keton kinetisch bevorzugt ist. Eine Stabilisierung des tetrahedralen Übergangszustand analog der Weinreb-Amide findet nicht statt, sondern die 2-Pyridylthioester zerfallen sofort nach der Alkylierung in das Keton und das 2-Mercaptopyridin.<sup>76</sup> Eine vergleichende Untersuchung von aktivierenden Estern durch Rapport et al. deutet ebenfalls daraufhin, daß bei den 2-Pyridylthioestern die Maskierung des Ketons durch die Stabilisierung des Übergangszustand keine Rolle spielt.<sup>77</sup> Der erhöhte nucleophile Charakter des 2-Pyridylthioesters wurde in der Totalsynthese des Monensin von Still et al. demonstriert, in der ein 2-Mercaptopyridylcarbonyl- $\delta$ -lacton in 70 % Ausbeute mit einem weichen Cuprat gekuppelt wurde.<sup>78</sup> E. J. Corey benutzte einen 2-Pyridylester in der Totalsyn-

<sup>68</sup> K. Lloyd, G. T. Young, *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 2890

A. S. Dutta, J. S. Morley, *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 2896

<sup>69</sup> A. O. Stewart, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4289

<sup>70</sup> E. J. Corey, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 5614

<sup>71</sup> K. C. Nicolaou, E. J. Sorensen, *Classics in Total Synthesis*, **1996**, VCH, Weinheim, 168

<sup>72</sup> H. W. Yong, D. Romo, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1344

<sup>73</sup> M. Cinquini, F. Cozzi, E. Consolandi, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *47*, 8767

<sup>74</sup> R. Conrow, P. S. Portoghese, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 938

<sup>75</sup> C. Jennings-White, R. G. Almquist, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 2533

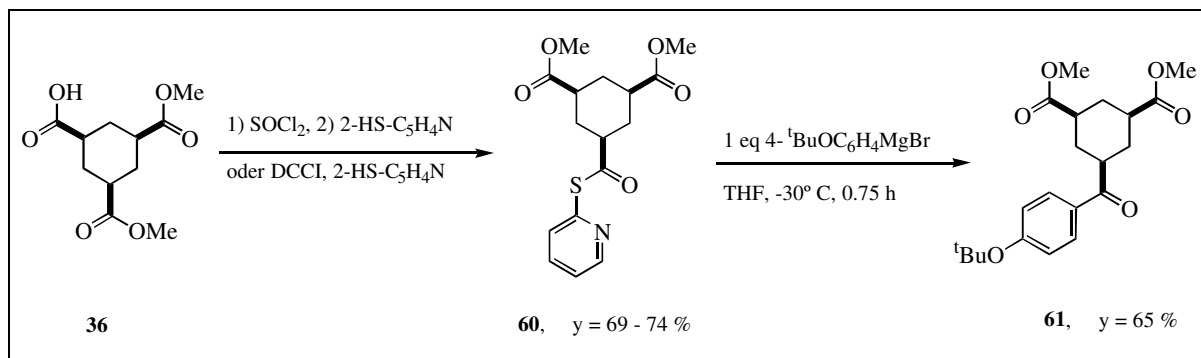
<sup>76</sup> M. Araki, S. Sakata, H. Takei, T. Mukaiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1974**, *47*, 1777

<sup>77</sup> T. L. Cupps, R. H. Boutin, H. Rapport, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3972

<sup>78</sup> D.B. Collum, J. H. McDonald III, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2117, 2118, 2120

these von Erythronolid B, um in 90 % Ausbeute die Carboxylfunktion eines 6-(2-Hydroxycarbonylpropyl)- $\epsilon$ -Lactons in ein  $\alpha,\beta$ -ungesättigtes Keton zu transformieren.<sup>79</sup>

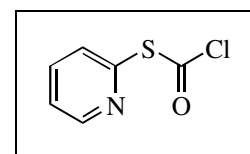
Die Synthese von 2-Pyridylthioestern erfolgt durch die Umsetzung von Säurechloriden mit 2-Mercaptopyridin in TEA/DCM<sup>73</sup> oder durch die Kondensation der freien Carbonsäure mittels dem DCCI und 2-Mercaptopyridin,<sup>74</sup> dem 2-Mercaptopyridylchloroformiat<sup>80</sup> oder dem 2,2'-Dipyridyldisulfid und Triphenylphosphin.<sup>81</sup>



Schema 32: Synthese des *p*-*tert*-Butoxybenzoyldiester **61** mittels Alkylierung des 2-Pyridylthioester **60**

Man erhielt den *cis,cis*-3,5-Dimethoxycarbonylcyclohexancarbonsäure-2-pyridylthioester **60** nach wäßriger und chromatographischer Aufarbeitung mit der Säurechlorid-Methode in 69 % Ausbeute und mit der DCCI-Methode in 75 % Ausbeute. Obwohl in der Literatur die wäßrige und chromatographische Aufarbeitung von 2-Pyridylthioestern beschrieben ist, konnte man nach der Isolierung mittels DC-Analyse die freie Säure als Hydrolyseprodukt detektieren, die während der Veresterung vollständig umgesetzt wurde.

Aus diesem Grunde wurde der Thioester **60** mit der Methode von Corey et al. hergestellt, die wegen der milden Reaktionsbedingungen für empfindliche Carbonsäuren geeignet ist und die eine einfache Aufarbeitung des 2-Pyridylthioesters aufgrund der leicht abzutrennenden Nebenprodukte CO<sub>2</sub> und Triethylammoniumchlorid ermöglicht. Das 2-Mercaptopyridylchloroformiat aktiviert die Carbonsäure als unsymmetrisches Anhydrid und ist gleichzeitig eine Quelle für das 2-Mercaptopyridin. Die Darstellung erfolgte mit dem weniger giftigen Phosgenäquivalent Diphosgen (Trichloromethylchloroformiat), indem das 2-Mercaptopyridin mit einem Äquivalent Diphosgen ( $\equiv$  2 eq COCl<sub>2</sub>) in einer TEA-DCM-Lösung bei 0° C umgesetzt wurde. Die Aufarbeitung erfolgte dann analog der Corey-Prozedur.



Schema 33: Corey-Reagenz

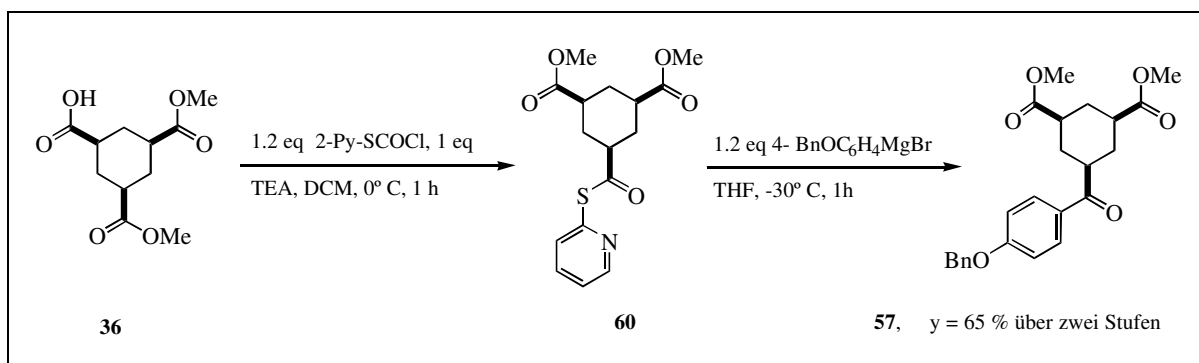
Nach der Aufarbeitung durch eine kurze wäßrige Extraktion der organischen Phase und kurzzeitiges Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde der so gereinigte 2-Pyridylester in den nächsten Schritt

<sup>79</sup> a) E. J. Corey, E. J. Trybulski, L. S. Melvin Jr., K. C. Nicolaou, J. C. Secrist, R. Lett, P. W. Shelldrake, J. R. Falck, D. J. Brunelle, M. F. Haslanger, S. Kim, S. J. Yoo, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4618 b) E. J. Corey, S. Kim, S. J. Yoo, K. C. Nicolaou, L. S. Melvin Jr., D. J. Brunelle, J. R. Falck, E. J. Trybulski, R. Lett, P. W. Shelldrake, *ibid.* **1978**, *100*, 4620

<sup>80</sup> E. J. Corey, D. A. Clark, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *31*, 2875

<sup>81</sup> T. Mukaiyama, R. Matsueda, M. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1970**, *22*, 1901

eingesetzt. Die Methode von Mukaiyama et al. wurde nicht benutzt, da bei der Reaktion ein Äquivalent 2-Mercaptopyridin und ein Äquivalent Triphenylphosphinoxid anfällt, welches nur chromatographisch abgetrennt werden kann.



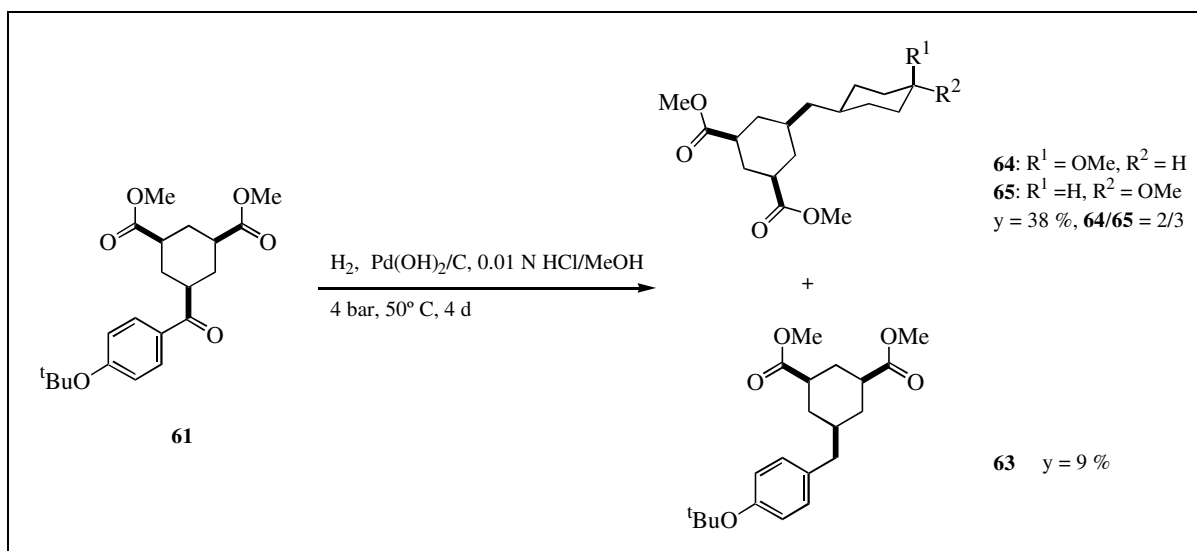
Schema 34: Synthese des *p*-Benzyloxybenzoyldiester **57** mittels der Corey-Methode

Die Kupplung des 2-Pyridylester **60** lieferte mit 4-*tert*-Butoxyphenylmagnesiumbromid und mit 4-Benzyloxyphenylmagnesiumbromid in mäßigen bis guten Ausbeuten die Arylketone **57** und **61**. Entscheidend für die Ausbeute ist der Zeitpunkt der Terminierung der Reaktion. Die Verwendung von 2-Pyridylestern erlaubt im Gegensatz zu den Säurechloriden, den Verlauf der Reaktion mit Dünnschichtchromatographie zu verfolgen. Die Visualisierung der Spots erfolgte mit Bromkresolgrün, welches erst beim Erwärmen die Spots des 2-Pyridylthioesters gelb anfärbt. Wenn diese Farbreaktion ausblieb, wurde die Reaktion mit verdünnter Säure terminiert. Nachdem der hauptsächliche Anteil des 2-Mercaptopyridins durch eine basische Extraktion entfernt wurde, konnte das Produkt durch Kristallisation bzw. Kieselgelchromatographie gereinigt werden. Besonders das *p-tert*-Butoxyarylketon **61** zeigte gute Kristallisationseigenschaften.

Für die Desoxygenierung der Carbonylfunktion bot sich aufgrund der benzylicchen Position eine Hydrierung an. Der Katalysator der Wahl für die selektive Hydrierung von Arylketonen ist Palladium auf Kohle. Palladium hat eine hohe Hydrierungsaktivität für benzylicche C-O-Bindungen und eine geringe Hydrierungsaktivität für aromatische Systeme. Außerdem ist die Geschwindigkeit der Hydrierung stark von den sterischen und elektronischen Verhältnissen des Ketons abhängig, so daß die Wahl des Druckes und des Solvents von entscheidender Bedeutung sind.<sup>82</sup> Die Hydrierung des *p*-Methoxyarylketons **56** zum *p*-Methoxybenzoyldiester **62** erfolgte erst bei einem Überdruck von 4 bar und einer Temperatur von 50° C in Eisessig (Schema 36). Die Verwendung von HOAc und die hohe Temperatur erwiesen sich als essentiell für die selektive Hydrierung, da in MeOH keine Reaktion stattfand bzw. in salzsaurer methanolischer Lösung sich das Edukt zersetzte. Um das *p-tert*-Butoxyarylketon **61** in das *p-tert*-Butoxybenzylcyclohexan **63** zu überführen, wurde die Hydrierung in 0.01 N methanolischer Salzsäure bei 50° C mit dem Pearlman-Katalysator durchgeführt, da unter diesen Bedingungen die *tert*-Butylschutzgruppe stabil ist. Der Pearlman-Katalysator (Pd(OH)<sub>2</sub> auf Kohle) ist ein besonders aktiver Katalysator, der für die Hydrogenolyse von sterisch gehinderten Ben-

<sup>82</sup> W. H. Hartung, R. Simonoff, *Org. Synth. Col. Vol. VII*, 1953, 292

zylethern erfolgreich benutzt wurde.<sup>83</sup> Unter diesen Bedingungen erhielt man nach vier Tagen als Hauptprodukt ein Isomerengemisch aus *cis,cis*-5-((*cis*-4'-Methoxycyclohexyl)methyl)cyclohexandicarbonsäuredimethylester **64** und *cis,cis*-5-((*trans*-4'-Methoxycyclohexyl)methyl)cyclohexandicarbonsäuredimethylester **65** im Verhältnis 2 zu 3. Infolge der langen Reaktionszeit wurde unter diesen Bedingungen die *tert*-Butylschutzgruppe abgespalten, so daß aufgrund der veränderten sterischen Verhältnissen die benzyliche Carbonylfunktion desoxygeniert wurde. Anschließend erfolgte eine langsame Reduktion des elektronenreichen Phenols zum Cyclohexanon. Dieses wird zum Methylether **64** und **65** via des Ketals reduziert.<sup>84</sup> Nur als Nebenprodukt entsteht der *cis,cis*-5-(4-*tert*-Butoxybenzyl)cyclohexandicarbonsäuredimethylester **63**. In HOAc bei RT mit Pd/C fand keine Reaktion statt. Eine Erhöhung des Wasserstoffdruckes, die möglicherweise eine höhere Hydrierungsgeschwindigkeit der Carbonylfunktion erlaubt, konnte wegen der Druckbegrenzung der Parr-Apparatur nicht durchgeführt werden.



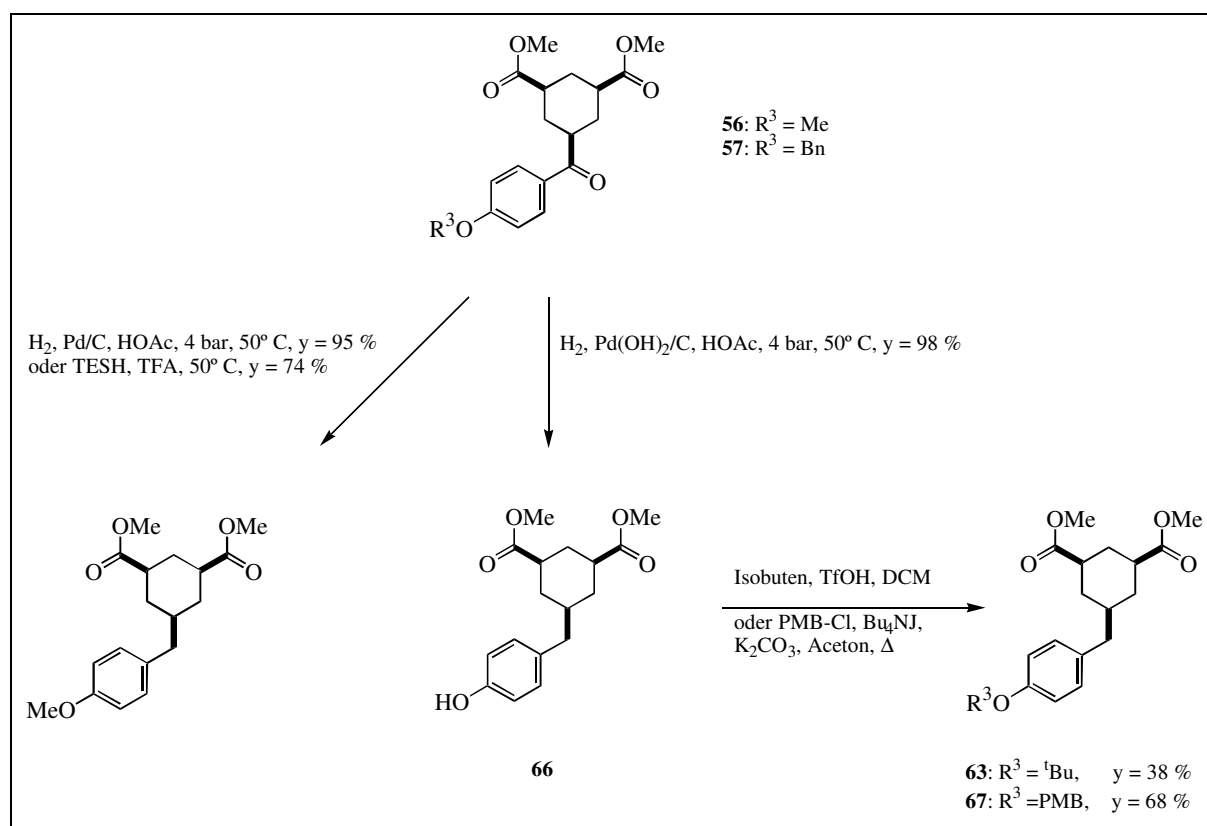
Schema 35: Hydrierung des Arylketons **61** zu den gesättigten Dicyclohexylanaloga

Aus diesem Grund wurde die Synthese des *p*-Benzyloxyarylketons **57** und dessen Hydrierung geplant. Nach der schnellen Hydrogenolyse der Benzylschutzgruppe sollte die reduktive Hydrierung der Carbonylfunktion erfolgen. Mit  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  in Eisessig bei 50° C und 4 bar Überdruck wurde in nahezu quantitativer Ausbeute der *cis,cis*-5-(4-Hydroxybenzyl)cyclohexandicarbonsäuredimethylester **66** gewonnen. Als nachteilig erwiesen sich Schwefelverunreinigungen, die aus der Kupplungsreaktion mit dem 2-Pyridylthioester stammten, so daß größere Mengen an Katalysator benötigt wurden. Deshalb ist es empfehlenswert, das Edukt vor der Hydrierung mit Aktivkohle zu reinigen. Unter den Bedingungen einer Transferhydrogenolyse mit Pd/C, katalytischen Mengen an  $\text{FeCl}_3$  und Cyclohexadien bei 80° C bzw. Limonen bei 170° C erfolgte keine Reaktion.<sup>85</sup>

<sup>83</sup> W. M. Pearlman, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 17, 1663

<sup>84</sup> P. N. Rylander, *Hydrogenation Methods*, **1985**, Academic Press, London, 68

<sup>85</sup> G. Brieger, T.-H. Fu, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1976**, 757



Schema 36: Reduktion der Arylketone zu Benzylcyclohexanen

Als alternative Reduktionsmittel können Hydride eingesetzt werden. Ein sehr mildes Reduktionsmittel ist Triethylsilan in TFA, das selektiv aktivierte Carbonylfunktionen und benzyliche und tertiäre Alkohole via der Carbeniumionen reduziert.<sup>86</sup> Mittels dieser Methode wurde das *p*-Methoxyarylketon **56** in 74 % Ausbeute reduziert. Da bei dieser Methode die Trifluoressigsäure zum Erzeugen der Carbeniumionen essentiell ist, ist sie jedoch ungeeignet für die Reduktion von *p*-Acylphenolen mit säurelabilen Schutzgruppen. Die Wolf-Kishner- und die Clemmensen-Reduktion oder die Reduktionen mit  $\text{NaBH}_4$  oder  $\text{LiAlH}_4$  mit starken Lewis-Säuren<sup>87</sup> sind ungeeignet, da unter diesen Bedingungen die Esterfunktionen reduziert bzw. eventuelle Schutzgruppen gespalten werden. Eine interessante, der Clemmensen-Reaktion analoge Reduktion benutzt W-7-Raney-Nickel in 50 %-igen wäßrigen EtOH als Reduktionsmittel, welches möglicherweise als Alternative dienen könnte.<sup>88</sup>

Nach der Hydrierung mußte die Phenolfunktion des *cis,cis*-5-(4-Hydroxybenzyl)cyclohexandicarbonsäuredimethylester **66** mit einer entsprechenden Schutzgruppe versehen werden, die später unter den Bedingungen der Festphasenpeptidsynthese verwendet werden kann. Die Standardmethode für die Einführung der *tert*-Butylschutzgruppe ist die Addition von Isobuten mittels 0.2 Äquivalenten conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  bei RT.<sup>89</sup> Eine besonders milde Methode arbeitet

<sup>86</sup> C. T. West, S. J. Donnelly, D. A. Kooistra, M. P. Doyle, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2675

<sup>87</sup> G. P. Thakar, B. C. Subba Rao, *J. Sci. Industr. Res.* **1962**, *21b*, 583

<sup>88</sup> R. H. Mitchell, Y.-H. Lai, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2637

<sup>89</sup> M. Bodanzky, A. Bodanzky, *The Practice of Peptide Synthesis*, **1984**, Springer-Verlag, Berlin, 48



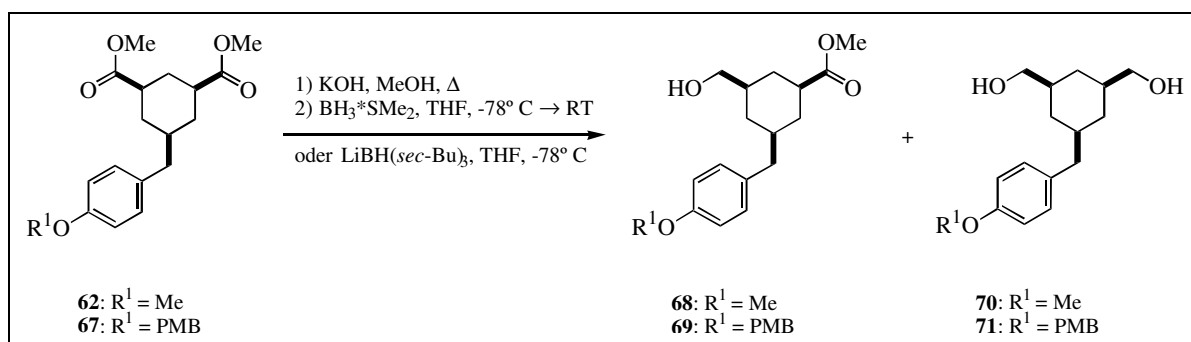
bei tiefen Temperaturen mit TfOH. Unter diesen Bedingungen werden Umlagerungen zu den aromatischen Ring alkylierten Nebenprodukten vermieden.<sup>90</sup>

Methode:	Säure:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.2 eq)	12.8 eq C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> , 0.35 ml DCM, RT, 5 d	29 %
B	TfOH (0.09 eq)	9.1 eq C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> , 0.88 ml DCM, -78° C, 5.5 h	38 %
C	TfOH (0.09 + 0.18 eq)	9.1 eq C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> , 0.3 ml MeCN, 0.3 ml THF, -45° → -20° C, 5 d	kein Umsatz

In beiden Reaktionen war die Ausbeute an *cis,cis*-4-*tert*-Butoxybenzyldiester **63** nur moderat, da nicht weiter charakterisierte Nebenprodukte entstanden, die polarer als das Edukt waren. Besonders die Methode B erwies sich in der Durchführung als problematisch, da das Edukt unter diesen Bedingungen als Öl ausfiel. Deshalb mußte die Reaktionslösung mehrmals auf ca. -15° C erwärmt werden. Dies führte bei der Stärke der verwendeten Säure wahrscheinlich zu Zersetzungsreaktionen. Als alternative TFA-labile Phenolschutzgruppe wurde die 4-Methoxybenzylschutzgruppe in 68 % Ausbeute eingeführt, indem das Phenolderivat **66** mit *p*-Methoxybenzylchlorid, katalytischen Mengen Bu<sub>4</sub>NI und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in Aceton bei der Siedetemperatur über Nacht gerührt wurde (Schema 36).

### 5.3 Desymmetrisierung der *meso*-Diester

Nachdem der Benzylsubstituent eingeführt wurde, mußten die *meso*-Diester **62** und **67** desymmetrisiert werden. Dazu wurde der Diester mit einem geringen Überschuß an Kaliumhydroxid zu dem Monoester verseift. Nach einer Säure-Base-Trennung reduzierte man die Dicarbonsäuremonomethylester zu den Hydroxymethylcarbonsäuremethylestern **68** und **69** und zu den Diolen **70** und **71**.



Schema 37: Desymmetrisierung des Diesters

Um die Reaktionszeit und die Anzahl der Stufen zu verkürzen, wurde der Diester **67** mit L-Selectride<sup>®</sup> (LiBH(*sec*-Bu)<sub>3</sub>) in einem Schritt zum Hydroxymethylcarbonsäuremethylester **69** in PhMe/THF bei -78° C reduziert. Nach der Terminierung der Reaktion und säulenchromatographischer Reinigung wurde **69** in 70 - 80 % Ausbeute isoliert. Die kinetische Hemmung der Reduktion der zweiten Esterfunktion ist möglicherweise ein Effekt der elektrostatischen Abstoßung zwischen dem negativ geladenen [BH(*sec*-Bu)<sub>3</sub>]-Anion und dem negativ geladenen

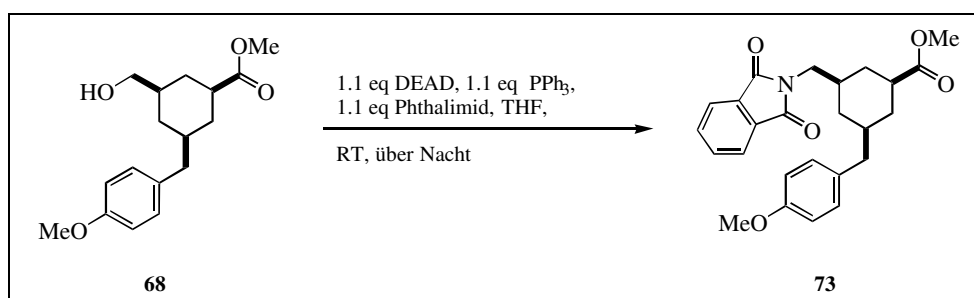
<sup>90</sup> J. L. Holcombe, T. Livinghouse, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 111

(5-Benzyl-3-methoxycarbonyl-1-cyclohexyl)methoxy-tri-2-butylboranatanion, das durch die schnelle Reduktion des reaktiven intermediären Aldehyds entsteht. Jedoch zeigt das Literaturbeispiel einer Monoreduktion eines geschützten perhydroxylierten Octandisäurediethylesters, daß man den Hydroxyester auch mit DIBAL-H in hoher Ausbeute erhalten kann.<sup>91</sup>

Diester:	Bedingungen:	Hydroxyester:	Diol:
<b>62</b>	1) 1.4 eq KOH (0.08 M), MeOH/H <sub>2</sub> O (16/1), Δ, 36 h 2) 1.05 eq BH <sub>3</sub> *SMe <sub>2</sub> , THF, -78° C → RT	60 %	20 %
<b>67</b>	3) 1.4 eq KOH (0.3 M), abs. MeOH, Δ, 43 h 4) 1.4 eq BH <sub>3</sub> *SMe <sub>2</sub> , THF, -78° C → RT	48 %	32 %
<b>67</b>	2.4 eq LiBH(sec-Bu) <sub>3</sub> , -78 ° C, 2.5 h	80 %	8 %

Das bei der Reduktion erhaltene *cis,cis*-3,5 Bis-(hydroxymethyl)-5-(4-methoxybenzyl)cyclohexan **70** wurde mit Ac<sub>2</sub>O zum Diacetat **72** umgesetzt. Dieses Diacetat und ein Diester wurden in einer Kooperation mit U. Bornscheuer als Substrate für eine enzymatische Monoverseifung mit Lipasen eingesetzt. Jedoch zeigten die Substrate in Vorversuchen eine geringe Selektivität zur Monoverseifung.

Die Substitution der Hydroxyfunktion erfolgte mit der eleganten Methode von Mitsunobu et al., bei der ein Alkohol mit einem geeigneten Nucleophil in einem Eintopfverfahren durch eine Redox-Kondensation mittels Triphenylphosphin und Diethylazodicarboxylat (DEAD) substituiert wird.<sup>92</sup> Als Stickstoffnucleophil wurde das wohlfeile Phthalimid der Gabrielsynthese gewählt. Der *cis,cis*-3-Hydroxymethyl-5-(4-methoxybenzyl)cyclohexancarbonsäuremethylester **68** wurde mit jeweils 1.1 eq Phthalimid, PPh<sub>3</sub> und DEAD in THF bei RT in den *cis,cis*-5-(4-Methoxybenzyl)-3-phthalimidomethylcyclohexancarbonsäuremethylester **73** überführt, der nach der chromatographischen Aufarbeitung in 93 % Ausbeute isoliert wurde.



Schema 38: Einführung der Aminofunktion mittels einer kombinierten Gabriel-Mitsunobu-Reaktion

Im nächsten Schritt mußte der Phthalimidomethylester **73** in die freie Aminosäure überführt werden, damit man anschließend die Aminofunktion als Fmoc-Carbamat schützen konnte. Die übliche Demaskierung des Amins in der Gabrielsynthese ist die Hydrazinolyse des Phthali-

<sup>91</sup> a) N. Ikemoto, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9657; b) N. Ikemoto, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2524

<sup>92</sup> O. Mitsunobu, The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products, *Synthesis* **1981**, 1

mids. Die basische Hydrolyse des Methylesters muß jedoch angesichts der Basenempfindlichkeit des Phthalimids nach der Hydrazinolyse erfolgen. N-Alkylphthalimide reagieren mit Hydroxidionen zu den N-Alkylphthalsäuremonoamiden, die nur unter sehr drastischen Bedingungen zu den Alkylaminen und Phthalsäure abgebaut werden. Die Reaktion von Hydrazin mit Estern ist von der Größe des Alkylrestes abhängig: *tert*-Butylester werden nicht gespalten, und Methylester werden dazu benutzt, Hydrazide darzustellen. Sheehan et al. stellten bei der Synthese von H-Gly-Gly-Gly-OEt fest, daß dieses durch die Hydrazinolyse des Phthalimidodiestylesters Pht=Gly-Gly-Gly-OEt mit einem Äquivalent  $N_2H_4$ , zugänglich ist. Nach der Überführung des Peptids in das Hydrochlorid wurde es mittels 5 eq  $N_2H_4$  in drei Tagen bei RT in das H-Gly-Gly-Gly-NH-NH<sub>2</sub> überführt.<sup>93</sup> Die Hydrazinolyse des Phthalimids mit 1 eq  $N_2H_4$  in EtOH bei RT lieferte nach 18 Stunden laut DC nur ein Gemisch aus Edukt und dem Produkt. Durch Zugabe eines weiteren Äquivalentes  $N_2H_4$  wurde das restliche Edukt nach fünf Stunden in das freie Amin überführt. Anschließend setzte man den Aminoester **74** in die Verseifung mit zwei Äquivalenten 0.66 M NaOH in H<sub>2</sub>O/MeOH/DMF ein. Nach der Verseifung, die mit DC verfolgt wurde, mußte das Phthalhydrazid von der Aminosäure **75** abgetrennt werden. Dies geschah durch eine Extraktion des sauren Rückstandes mit heißem EtOH und anschließenden Fällen der Aminosäure mit Ether. Das so erhaltene Rohprodukt wurde analog der Prozedur von Carpino et al. in die N-Fmoc-Aminosäure **76** überführt.<sup>94</sup> Ein alternatives Reagenz zu dem Fmoc-Cl ist das 9-Fluorenylmethoxysuccinimid, welches keine Selbstkondensation der Aminosäure bewirkt und stabiler ist.<sup>95</sup>

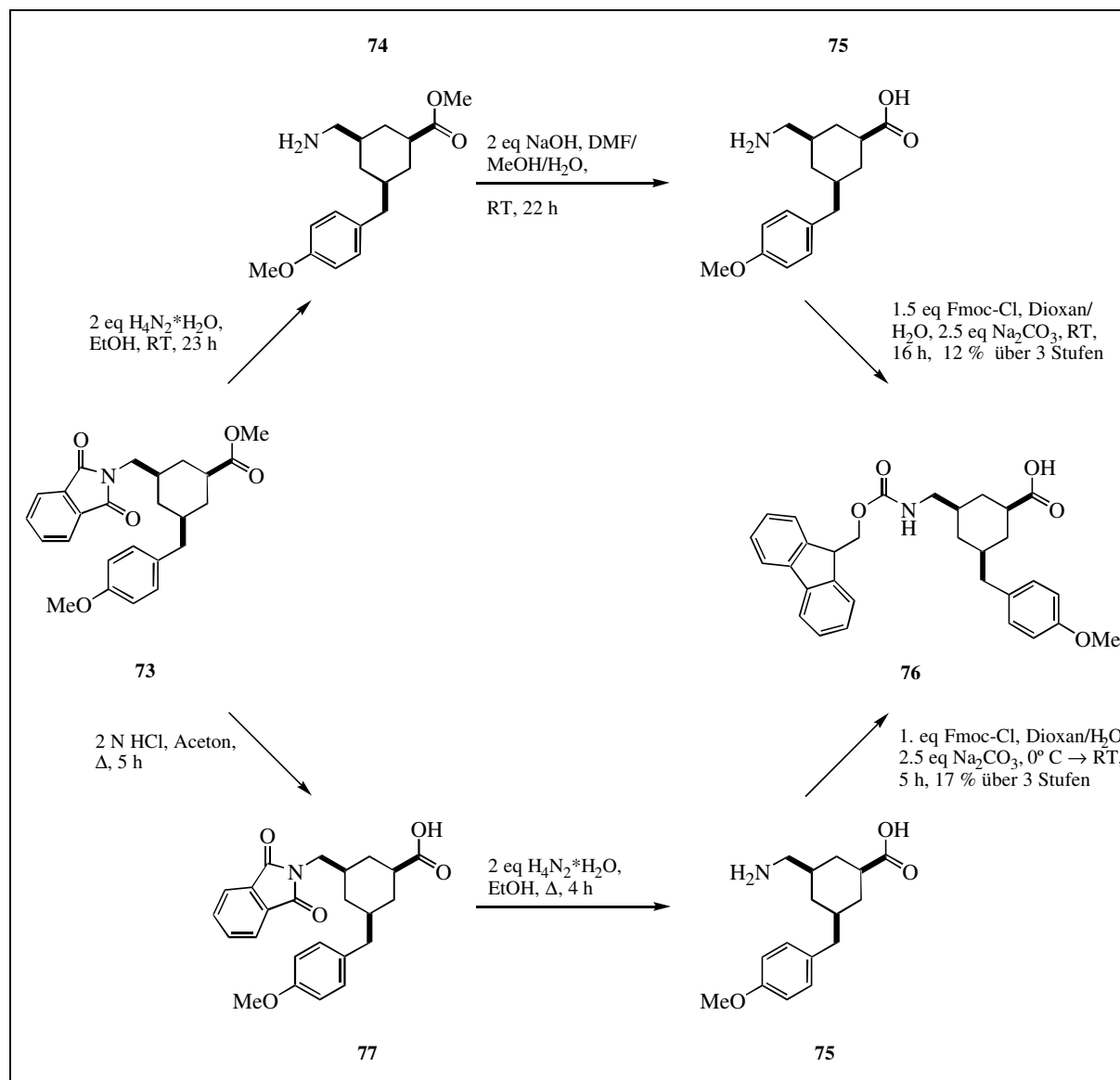
Die geringe Ausbeute von nur 12 % führte zu einer veränderten Reihenfolge von Hydrazinolyse und Hydrolyse, um mögliche Nebenreaktionen des  $N_2H_4$  mit dem Methylester zu vermeiden und um die Isolierung der jeweiligen Intermediate zu vereinfachen. Die Hydrolyse des Phthalimidomethylesters **73** erfolgte mit Salzsäure in Aceton/H<sub>2</sub>O. Anschließend wurde die Phthalimidocarbonsäure **77** mit Hydrazin in siedenden EtOH in zwei Stunden in die freie Aminosäure **75** überführt. Um die Aminosäure von dem Phthalhydrazid abzutrennen, wurde der eingeeengte Rückstand mit 2 N Salzsäure behandelt, damit das Phthalhydrazid ausfällt wurde. Nach der Extraktion der auf pH 3 - 4 eingestellten wäßrigen Lösung wurde das Rohprodukt mittels Fmoc-Cl in die N-Fmoc-Aminosäure **76** überführt. Die Ausbeute über diese drei Stufen betrug 17 %. Als Hauptproblem erwies sich die Abtrennung des Phthalhydrazids, das ähnliche Lösungseigenschaften aufweist wie Aminosäuren. Da genug Testmaterial zur Verfügung stand,<sup>96</sup> wurde die Reaktion nicht optimiert.

<sup>93</sup> J. C. Sheehan, W. L. Richardson, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 6329

<sup>94</sup> L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 3404

<sup>95</sup> A. Paquet, *Can. J. Chem.* **1982**, 60, 976

<sup>96</sup> C. Kühn, G. Lindeberg, A. Gogoll, A. Hallberg, B. Schmidt, *Tetrahedron* **1997**, 53, 12497



Schema 39: Darstellung der geschützten Fmoc-Festphasensynthese kompatiblen Aminosäure **76**

Aus diesem Grund wurden bereits eine Reihe von Verfahren entwickelt, die nicht Hydrazin zum Spalten von Phthalimiden verwenden. Eine Spaltung von Phthalimiden ist außerdem mit Phenylhydrazin und  $\text{Bu}_3\text{N}$  bei  $80^\circ\text{C}$ , mit Natriummethanolat in siedenden MeOH,<sup>23</sup> verschiedene Amine und mit  $\text{NaBH}_4$  mit anschließendem Erhitzen in Essigsäure.<sup>97</sup>

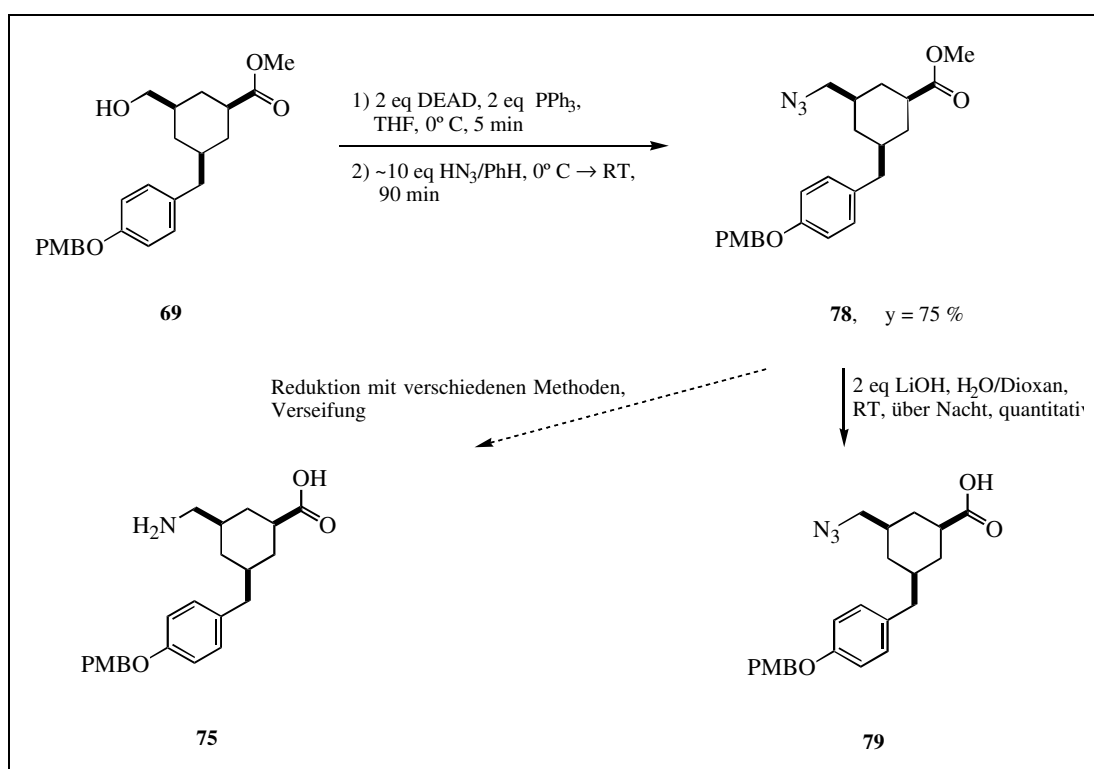
Diese Verfahren benutzen oft saure oder basische Bedingungen, die inkompatibel mit Methyl-estern oder Säure labilen Schutzgruppen sind. Ein alternatives Stickstoffnucleophil ist das Azid, welches durch Reduktion zum Amin abgebaut werden kann. Neben dem Staudinger-Abbau von Aziden mit  $\text{Ph}_3\text{P}$  und anschließender Hydrolyse der Phosphorazaylide mit konzentrierter Salzsäure sind auch milde Verfahren entwickelt worden, die unter neutralen Bedingungen Azide abbauen. Solche Reduktionsmittel sind Wasserstoff oder komplexe Hydride,  $\text{Ph}_3\text{P}$  mit 1 eq  $\text{H}_2\text{O}$  in THF,<sup>98</sup> Mg in MeOH,<sup>99</sup>  $\text{Sn(II)Cl}_2$ <sup>100</sup> und  $\text{H}_2\text{S}$  in  $\text{py}/\text{H}_2\text{O}$ <sup>101</sup> oder 1,3-

<sup>97</sup> R. Hemmer, W. Lürken, *Houbel-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Auflage/Erweiterungsband, 1992*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, E16/D, 698

<sup>98</sup> N. Knouzi, M. Vaultier, R. Carrie, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1985**, 815

Propandithiol.<sup>102</sup> Aus diesem Grund wurde für den PMB-geschützten Hydroxyester **69** eine Mitsunobu-Reaktion mit Stickstoffwasserstoffsäure geplant.<sup>103</sup> Die Reaktion des Hydroxyesters **69** mit  $\text{HN}_3$ ,  $\text{Ph}_3\text{P}$  und DEAD erwies sich als sehr empfindlich gegenüber den Reaktionsbedingungen und insbesondere der Qualität des DEAD.<sup>104</sup> Unter optimalen Reaktionsbedingungen lieferte die Reaktion bei  $0^\circ\text{C}$  innerhalb von 30 Minuten mit einem Überschuss an  $\text{Ph}_3\text{P}$ , DEAD und anschließender Zugabe von  $\text{HN}_3$  den *cis,cis*-3-Azidomethyl-5-(4-(4'-methoxybenzyloxy)benzyl)cyclohexancarbonsäuremethylester **78** in 75 % Ausbeute. In anderen Fällen reagierte der Alkohol **69** erst bei erhöhter Temperatur mit schlechteren Ausbeuten, oder die Reaktion versagte vollkommen unter Umwandlung des Eduktes zu 'Nebenprodukten'.

Der Versuch, den Azidoester mit einem Äquivalent  $\text{Ph}_3\text{P}$  und einen Äquivalent  $\text{H}_2\text{O}$  zu reduzieren und anschließend mit  $\text{NaOH}$  in  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  zu verseifen, mißlang, da man nach der Reduktion und einer wäßrigen Aufarbeitung ein Produkt erhielt, das sich bei der Verseifung nur langsam umsetzte.



Schema 40: Synthese der Azidocarbonsäure **79** mittels einer Mitsunobu-Reaktion und einer anschließenden Verseifung mit  $\text{LiOH}$

<sup>99</sup> S. N. Maiti, P. Spevak, A. V. N. Reddy, *Synth. Comm.* **1988**, 18, 1201

<sup>100</sup> S. N. Maiti, M. P. Singh, R. g. Micetich, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 1423

<sup>101</sup> T. Adachi, Y. Yamada, I. Inoue, M. Saneyoshi, *Synthesis* **1977**, 45

<sup>102</sup> H. Bayley, D. N. Standring, J. R. Kwoles, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 39, 3633

<sup>103</sup> H. Loibner, E. Zabel, *Helvetica Chimica Acta*, **1976**, 59, 2100

<sup>104</sup> Vergleiche auch: Peter Lange, *Dissertation*, Universität Hannover, **1997**, 237

Um die schwierige Isolierung der freien Aminosäure zu umgehen, wurde die direkte Verwendung der Azidocarbonsäure **79** für die Festphasenpeptidsynthese geplant. Das geeignete Reduktionsmittel der Wahl ist das 1,3-Propanedithiol in TEA/MeOH. Das Reagenz und die Nebenprodukte sind unter den verwendeten Bedingungen flüssig, reagieren nicht mit dem Harz oder dem Peptid, und das Azid wird in hohen Ausbeuten in das Amin überführt. Ein anderes Reduktionsmittel ist Dithiothreiol (DTT), welches bereits erfolgreich in der Festphasenpeptidsynthese mit  $\alpha$ -Azidocarbonsäuren eingesetzt wurde.<sup>105</sup> Für diesen Zweck wurde der Azidocarbonsäuremethylester **78** mit LiOH in Dioxan/H<sub>2</sub>O bei RT quantitativ in die Azidocarbonsäure **79** überführt.

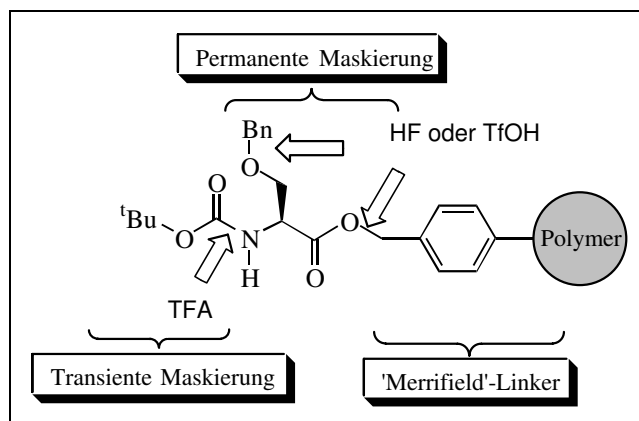
<sup>105</sup> M. Meldal, M. A. Juliano, A. M. Jansson, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2531

#### 5.4 Synthese der diastereomeren Asparagyl-arginyl-(*cis,cis*-3-aminomethyl-5-(4-methoxybenzyl)-1-cyclohexancarboxyl)-histidyl-prolyl-phenylalanine 80 und 81

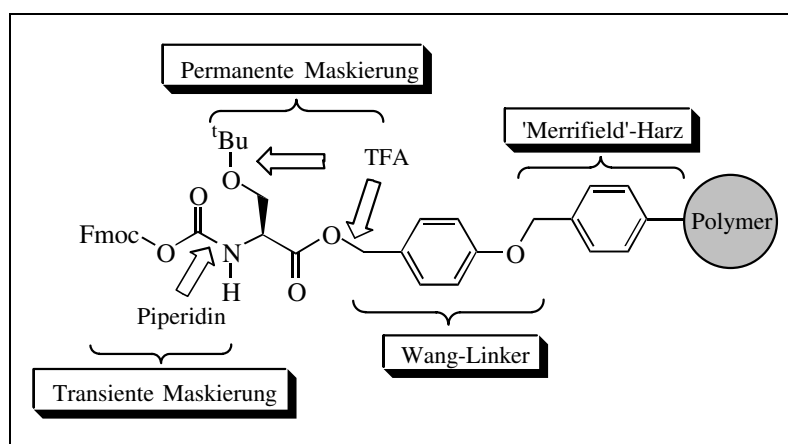
Durch die Einführung der Peptidsynthese an einem festen Träger durch Merrifield et al. wurde die Synthese von Peptiden mit fünf bis 20 Aminosäureresten revolutioniert, da durch die kovalente Fixierung des Peptids an einer heterogenen Phase die zeitraubende Reinigung der Zwischenprodukte entfällt. Der polymere Träger, an dem das Peptid gebunden ist, wird durch einfaches Filtrieren von überschüssigen Reagenzien und anderen Nebenprodukten abgetrennt.<sup>106</sup> Die Merri-

field-Technik benutzt mit 1 - 2 % 1,4-Divinylbenzol vernetzte Polystyrolharze, die mittels einer Chlormethylierung der Styroleinheit mit einer Linkerfunktion versehen sind. Durch Kupplung der ersten Boc-geschützten Aminosäure mit der Chlormethylfunktion des Polystyrols erhält man die erste polymergebundene, als Benzylester geschützte Aminosäure. Die transiente Schützung der  $\alpha$ -Aminofunktion erfolgt durch die Boc-Schutzgruppe, die mittels conc. TFA demaskiert wird, um die folgende Boc-geschützte Aminosäure einzuführen. Die Abspaltung des Peptids vom Harz erfolgt durch Spaltung des C-terminalen Benzylesters mittels flüssigen Fluorwasserstoff oder mittels TfOH in TFA. In diesem Schritt werden außerdem die permanenten Maskierungen der Seitenkettenfunktionalitäten abgespalten (Schema 41). Die Verwendung der sehr aggressiven Säuren HF und TfOH im finalen Deblockierungsschritt und die ungenügende TFA-Stabilität der Schutzgruppen für die Seitenkettenfunktionalitäten führt oftmals zur Bildung von Nebenprodukten. Eine Verbesserung ist die Einführung der Fmoc-Schutzgruppe als orthogonale, transiente Maskierung für die  $\alpha$ -Aminofunktion. Dadurch

kann der finale Abspaltungsschritt unter milderen Bedingungen durch die Verwendung von TFA-labilen Schutzgruppen und Harzlinkern erfolgen (Schema 42). Als Harzanker für die



Schema 41: Schematische Darstellung der Festphasenpeptidsynthese nach Merrifield et al.



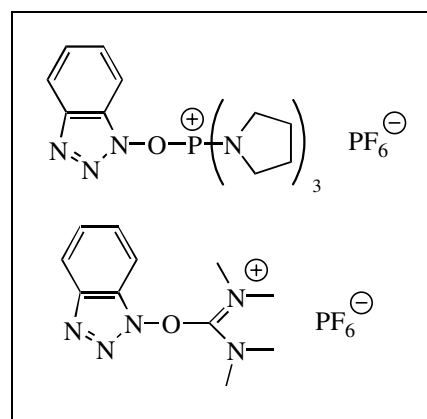
Schema 42: Schematische Darstellung der Fmoc-Festphasenpeptidsynthese

<sup>106</sup> R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149

Synthese von Peptiden mit einer freien Carbonsäure am C-Terminus ist der Wang-Linker geeignet.<sup>107</sup>

Da der Aufbau des Peptids ohne Isolierung der Zwischenstufen durchgeführt wird, akkumulieren die peptidischen Verunreinigungen auf dem Träger, so daß für eine Endreinigung des Produktes ein größerer Aufwand nötig ist. In diesem Zusammenhang ist es wichtig, daß der Kupplungsschritt und der Deblockierungsschritt in hoher Ausbeute verlaufen. Eine Ausbeute von nur 90 % pro Kupplungsschritt bedeutet bei 20 Kupplungen eine Ausbeute von maximal 12 % an gereinigtem Peptid. Aus diesem Grund sind große Überschüsse an Aminosäuren und effiziente Kondensationsmittel notwendig, die eine hohe Reaktivität besitzen, nicht zu Nebenreaktionen oder Racemisierung der Aminosäure neigen und gute Lösungseigenschaften besitzen. Solche Kondensationsmittel sind das Benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat (BOP) bzw. das ungiftigere Trispyrrolidinanalogon (PyBOP) und das 2-Benzotriazol-1-yl-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU).

Bei dem BOP-Reagenz erfolgt die Aktivierung als Acylphosphoniumester, der durch das freigesetzte 1-Hydroxybenzotriazol in den aktivierten 1-Benzotriazolester unter Freisetzung von Hexamethylphosphorsäuretriamid überführt wird. Das billigere HBTU überführt die Aminosäure ebenfalls in den 1-Benzotriazolester, indem die die Carbonsäure durch ein Acyluroniumintermediat aktiviert wird, welches anschließend in den Aktivester und Tetramethylharnstoff zerfällt. Bei langen Reaktionszeiten



Schema 43: PyBOP (oben) und HBTU (unten)

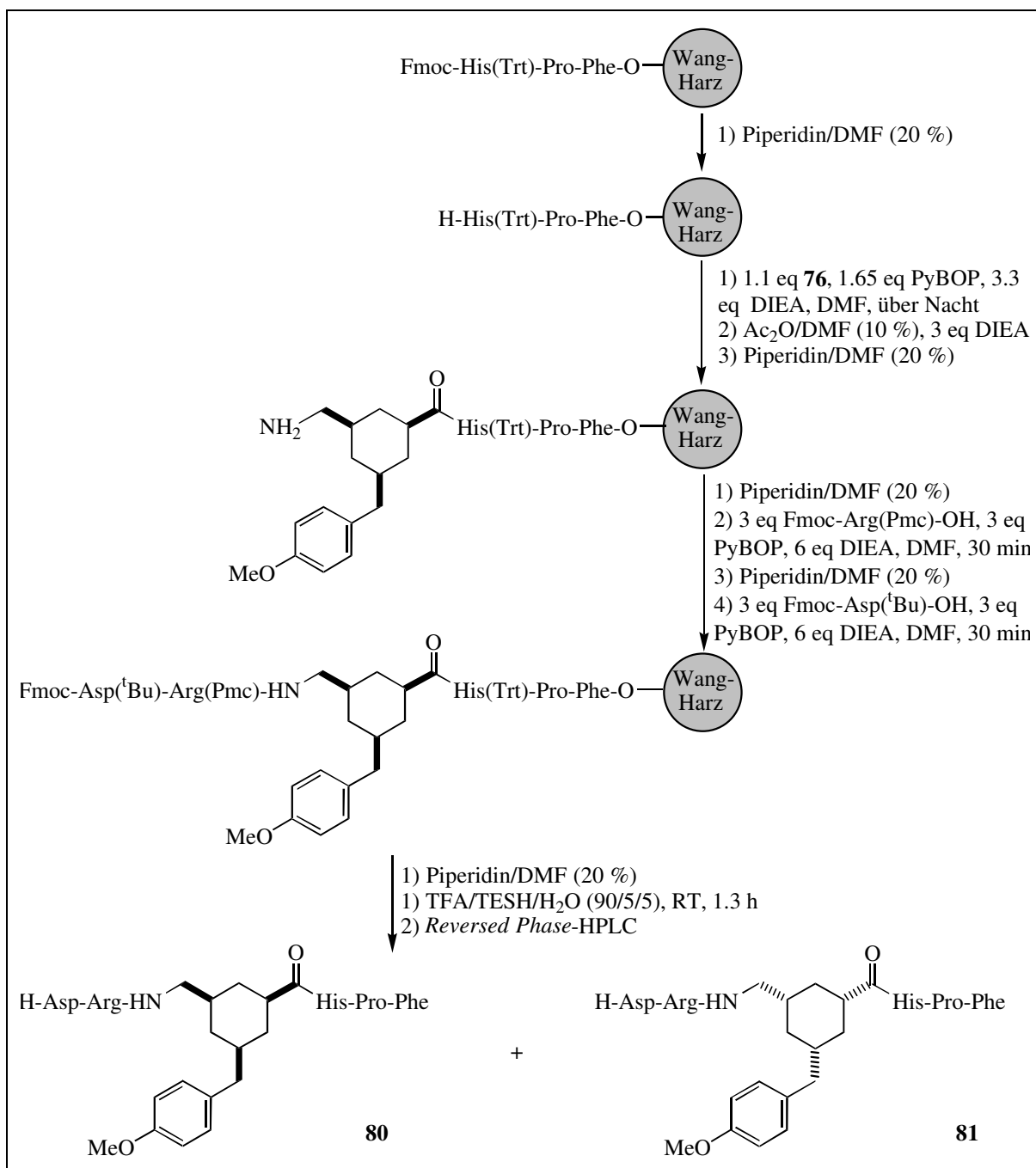
wirkt sich bei HBTU nachteilig die größere Neigung zu Nebenreaktionen aus. Eine Nebenreaktion ist die Bildung von Tetramethylguanidinen an der  $\alpha$ -Aminofunktion. Durch die Überführung der Aminosäure in den 1-Benzotriazolester erfolgt eine dem Carbonsäureanhydrid analoge Aktivierung, die eine ausreichende Acylierungsgeschwindigkeit bietet und eine geringe Racemisierung des  $\alpha$ -Kohlenstoffatoms bewirkt. Durch Zusatz eines weiteren Äquivalentes HOBt wird die Bildung des 1-Benzotriazolester weiter beschleunigt und somit das Racemisierungsrisiko weiter gesenkt.

Die allgemeine Kupplungsprozedur beinhaltet das 30 minütige Schütteln des Harzes in DMF mit jeweils drei Äquivalenten HBTU und der Fmoc-geschützte Aminosäure und mit sechs Äquivalenten DIEA, um die Carbonsäure zu deprotonieren. Bei längeren Reaktionszeiten aufgrund eines geringen Aminosäureüberschusses oder sterischer Hinderung wird PyBOP als Kupplungsreagenz verwendet. Das Filtrieren erfolgt durch dreimaliges Waschen mit DMF. Um nicht acetylierte Aminofunktionen zu terminieren, wird das Harz mit einer 10 %-igen Acetanhydrid-Lösung in DMF und einigen Äquivalenten DIEA behandelt. Somit kann die Bildung von Peptiden mit Fehlstellen vermieden werden, die infolge ähnlicher Eigenschaften nur schwer abtrennbar sind. Die Reaktionskontrolle mittels PDMS zeigte, daß nur beim

<sup>107</sup> S.-W. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328; für eine Übersicht siehe: G.B. Fields, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, *35*, 161



Kupplungsschritt mit dem Turn-Mimetikum **76** aufgrund des geringen Überschusses ein 'capping' mit  $\text{Ac}_2\text{O}$  notwendig war. Nach erneutem Spülen des Harzes mit DMF wird die Fmoc-Schutzgruppe abgespalten, indem das Polymer mehrmals mit 20 %-iger Piperidin-DMF-Lösung geschüttelt wird. Nach dem Entfernen der Piperidin-Lösung durch Filtrieren und Waschen kann das Peptid einer erneuten Kupplung unterworfen werden.



Schema 44: Festphasengebundene Synthese der Ang II-Analoga mit dem inversen  $\gamma$ -Turn-Mimetikum (Nach jedem Reaktionsschritt wird das Harz mit DMF gewaschen.)

Für die Abspaltung des Peptids wird die N-terminale Fmoc-Schutzgruppe abgespalten, das Harz mit DMF und DCM gewaschen und anschließend getrocknet. Für die finale Deblockierung suspendiert man das Polymer für ein bis zwei Stunden in einer TFA/TESH/ $\text{H}_2\text{O}$ -Lösung (90/5/5). Die Zusätze TESH und  $\text{H}_2\text{O}$  dienen als irreversible Kationenfänger, um die Rückre-

aktion bzw. die Kernalkylierung der Aromaten zu vermeiden. Das rohe Peptid wird mit kaltem Ether gefällt, der Rückstand wird mehrmals in Ether suspendiert und durch Zentrifugieren und Dekantieren wieder abgetrennt, um eine Vorreinigung durchzuführen. Der getrocknete Rückstand wird mittels *Reversed Phase*-Chromatographie gereinigt. Nach dieser Methode erhielt man die diastereomeren Ang II-Analoga **80** und **81** in 15 % und 17 % Ausbeute.<sup>96</sup>

Jedoch zeigten diese beiden Peptide **80** und **81** keine Bindungsaffinität zum AT<sub>1</sub>-Rezeptor (siehe Kapitel 8).

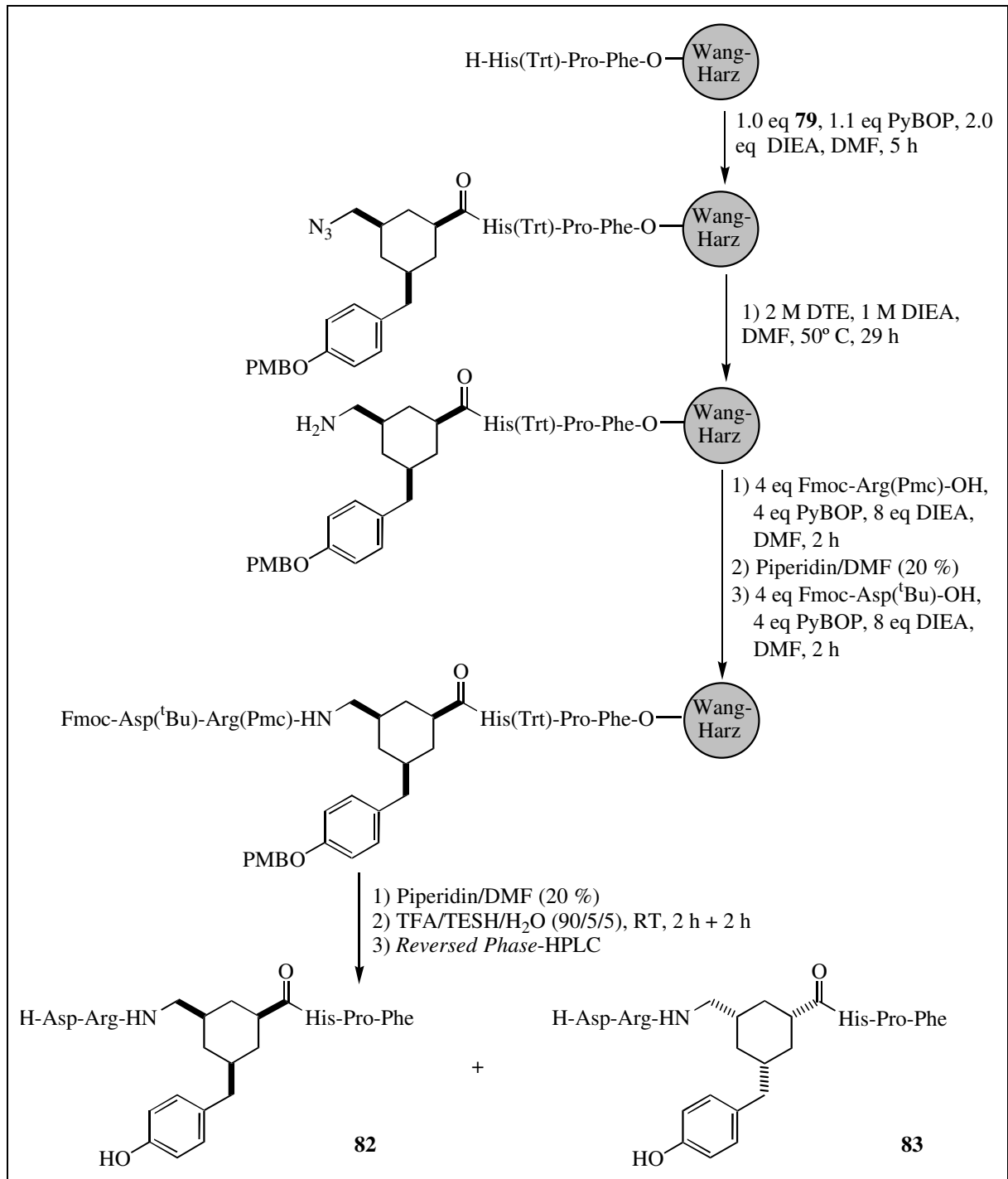
### 5.5 Synthese der diastereomeren Asparagyl-arginyl-(*cis,cis*-3-aminomethyl-5-(4-hydroxybenzyl)-1-cyclohexancarbonyl)-histidyl-prolyl-phenylalanine **82** und **83**

Die Synthese des Ang II-Analoga **82** und **83** mit einer phenolischen Hydroxyfunktion erfolgte in einer Kooperation mit Gunnar Lindeberg<sup>108</sup> (Schema 45).

Die Peptide wurden analog der allgemeinen Synthesevorschrift dargestellt. Die Reduktion des Azids erfolgte mit 2 M DTE (Dithioerythritol) und 1 M DIEA in DMF bei 50° C innerhalb von 29 Stunden. Das Peptid wurde anschließend mit Fmoc-Arg(Pmc)-OH und Fmoc-Asp(<sup>t</sup>Bu)-OH mittels HBTU/DIEA verlängert. Nach der Entschützung des N-Terminus mit Piperidin suspendierte man das Harz in einer TFA-TESH-H<sub>2</sub>O-Lösung, um das Peptid vom Harz abzuspalten und die Seitenkettenfunktionen zu demaskieren. Da die PMB- und die Trt-Schutzgruppen nicht vollständig entfernt wurden, löste man das rohe Peptid ein zweites Mal in einer TFA-Lösung. Nach *Reversed Phase*-HPLC erhielt man die diastereomeren Peptide **82** und **83** in jeweils 2 % Ausbeute.

Über die Bindungsaffinitäten der Ang II-Analoga **82** und **83** liegen zur Zeit noch keine Ergebnisse vor.

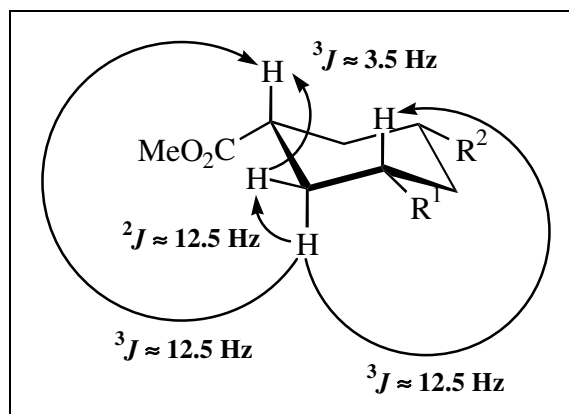
<sup>108</sup> Department of Medical and Physiological Chemistry, Uppsala Universitet, Biomedicinska Centrum, Box 575, S-75123 Uppsala



Schema 45: Synthese des Ang II-Analoga mit einer phenolischen Hydroxyfunktion

## 5.6 NMR-spektroskopische Untersuchungen der Ang II-Analoga

Die relative Konfiguration der *cis,cis*-1,3,5-trisubstituierten Cyclohexane wurde durch  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestätigt. Für die Startverbindung, *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylester **32**, konnte für die  $\alpha$ -Protonen der Ester bzw. der Carbonsäure aufgrund der Überlagerung der beiden Signale keine Zuordnung getroffen werden. Jedoch zeigten die Signale für die axialen Methylenprotonen ein Quartett mit einer Kopplungskonstante von 13.2 Hz. Dieses Signalmuster kommt durch die



Schema 46: Kopplungskonstanten der axialen Protonen im *cis,cis*-1,3,5-trisubstituierten Cyclohexan

geminalen Kopplung des axialen Protons mit dem äquatorialen Methylenproton und durch die vicinale Kopplung mit den  $\alpha$ -Protonen der Carbonsäure bzw. des Esters zustande. Solche großen  $^3J$ -Kopplungskonstanten sind laut der Karpluskurve<sup>109</sup> nur dann möglich, wenn die Protonen antikoplanar zueinander stehen. Das heißt, daß die  $\alpha$ -Protonen auch axial stehen und somit die Substituenten äquatorial. Für das Kupplungsprodukt, den Benzoylcyclohexancarbonsäuredimethylester, erhielt man für die  $\alpha$ -Protonen der Ester und des Arylketons jeweils ein Doppeltriplettsignal mit Kopplungskonstanten von 12.7 Hz und 3.5 Hz bzw. 12.2 Hz und 3.3 Hz im Verhältnis von 2 zu 1. Die große  $^3J$ -Kopplungskonstante von ca. 12 Hz belegt wiederum die antikoplanare Stellung der axialen  $\alpha$ -Protonen zu den axialen Methylenprotonen. Auch nach der Reduktion des Arylketons, der Desymmetrisierung und der anschließenden Substitution des Alkohols läßt sich die äquatoriale Stellung der drei Substituenten durch die großen Kopplungskonstanten der axialen Methinprotonen zu den axialen Ringmethylprotonen nachweisen. Das  $\alpha$ -Proton der Esterfunktion liefert wiederum ein Doppeltriplett ( $J = 3.3$  Hz,  $J = 12.4$  Hz). Die Signale der drei axialen Ringmethylprotonen sind analog der Ausgangsverbindung **32** Quartetts mit einer Kopplungskonstante von ca. 12.2 Hz. Diese Konfiguration des Cyclohexanmimetikums wurde anschließend bei der spektroskopischen Charakterisierung der beiden Ang II-Analoga **80** und **81** mittels 2D- $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestätigt. Über die Konformation der beiden Peptide konnte aufgrund der großen Flexibilität der beiden Moleküle keine Aussage gemacht werden. Auch die großen Temperaturkoeffizienten der chemischen Verschiebung der Amidprotonen zeigen, daß keine intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen einem Amidproton und einer Amidcarbonylfunktion ausgebildet werden. Die chemische Verschiebung für eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zeigt keine oder nur eine geringe Temperaturabhängigkeit aufgrund der stärkeren Abschirmung des Protons vor dem Lösungsmittel. Somit bilden die beiden Ang II-Analoga **80** und **81** keine schleifenförmigen Strukturen aus, die die Bildung einer  $\text{NH-O=C}$ -Wasserstoffbrücke ermöglicht.

<sup>109</sup> Zuordnung analog des Diagrammes in M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, 4. Auflage, 1991, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 105

Diastereomer **80**, (6.3 mg in DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): Temperaturkoeffizienten der chemischen Verschiebung der Amidprotonen:

AS:	Asp	Arg	His	Pro	Phe	<b>29</b>
$\Delta\delta/\Delta T$	n. b.	4.0	5.3	-	4.3	4.0

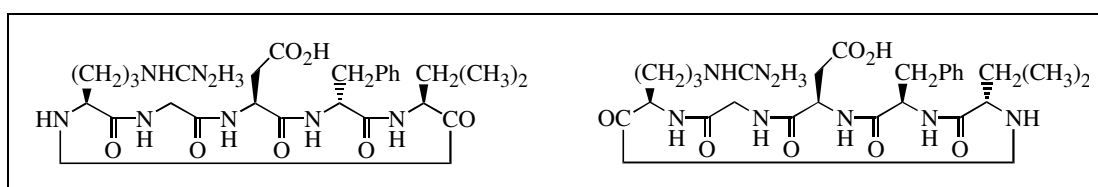
Diastereomer **81**, (7.6 mg in DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): Temperaturkoeffizienten der chemischen Verschiebung der Amidprotonen:

AS:	Asp	Arg	His	Pro	Phe	<b>29</b>
$\Delta\delta/\Delta T$	n. b.	4.0	4.7	-	4.7	4.0

### 5.7 Diskussion der Struktur-Aktivitäts-Beziehung

Für die fehlende Bindungsaktivität der zwei Testsubstanzen **80** und **81** können mehrere Faktoren entscheidend sein, die durch weitere Mimetika überprüft werden müssen. Daher können zunächst nur Hypothesen aufgestellt werden. Nachfolgend werden allgemeine Erklärungen für eine geringe Affinität erläutert, die dann in Bezug auf die einzelnen Mimetika **80** und **81** betrachtet werden:

- Die Strukturen der getesteten Mimetika repräsentieren keinen inversen  $\gamma$ -Turn, so daß aufgrund der fehlenden inversen  $\gamma$ -Turn-Konformation keine Rezeptor-Ligand-Erkennung stattfindet.
- Den Mimetika fehlen infolge modifizierter Strukturen polare Funktionalitäten wie zum Beispiel Amidbindungen, die für die Rezeptor-Ligand-Bindung möglicherweise relevant sind. Kessler et al. konnten am Beispiel des hochaktiven cyclischen  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten *cyclo*(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-) durch die Synthese von retroinversen Analoga zeigen, daß für die  $\alpha_v\beta_3$ -Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung die Struktur des Peptidrückgrates eine entscheidende Rolle spielt. Retroinverse Peptide zeichnen sich durch eine entgegengesetzte Chiralität der Aminosäurereste im Vergleich zum Ausgangspeptid aus. Um die Orientierung der Seitenkette zu konservieren, wird die 'Richtung' der Amidbindung durch Vertauschen des N-Terminus mit dem C-Terminus gedreht. Das retroinverse Peptid *cyclo*(-Val-D-Phe-D-Asp-Gly-D-Arg-) zeigt zwar die annähernd gleiche Topologie der Seitenketten wie der aktive Antagonist, es ist jedoch inaktiv.<sup>110</sup>



Schema 47: Schematische Darstellung des aktiven  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten (links) und einem retroinversen Analogon (rechts). Da die Struktur des Peptids noch von anderen Faktoren abhängt, ist die Konfiguration des Phe- und Val-Restes im retroinversen Peptid entgegengesetzt.

<sup>110</sup> J. Wermuth, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1328

• Die bioaktive Konformation des Ang II, die für die Rezeptorerkennung notwendig ist, ist kein inverser  $\gamma$ -Turn oder hat nur Ähnlichkeit mit einem inversen  $\gamma$ -Turn, so daß es als ein Turn-Mimetikum nur geringe Aktivität aufweist. Hallberg et al. konnten in NMR- und *molecular-modelling*-Studien von Modellverbindungen zeigen, daß das *Ac-cyclo*(Cys-Tyr-Cys)-NHMe zu circa 95 % als inverser  $\gamma$ -Turn und das *Ac-cyclo*(Pen-Tyr-Pen)-NHMe zu circa 75 % als inverser  $\gamma$ -Turn vorliegen und daß nur 25 % der Konformationen des *Ac-cyclo*(Hcy-Tyr-Hcy)-NHMe ein inverser  $\gamma$ -Turn sind. Im Gegensatz dazu zeigt das *cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>]Ang II mit 0.17 nM die größte Bindungsaffinität zum Ang II-Rezeptor, das *cyclo*[Pen<sup>3,5</sup>]Ang II bindet circa zehnmal schwächer an den Ang II-Rezeptor, und das *cyclo*[Cys<sup>3,5</sup>]Ang II hat sogar eine um den Faktor 1750 schwächere Aktivität. Hallberg et al. schlagen deshalb eine offene Turnstruktur als die bioaktive Konformation des Ang II vor.<sup>111</sup> Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangen Nikiforovich et al., die eine inverse  $\gamma$ -Turn oder  $\beta$ -Typ-III-Turn-Struktur für das Tyrosin in der bioaktiven Konformation des Ang II vermuten.<sup>111</sup> Dieses Modell weist jedoch kein *clustering* der aromatischen Reste auf. Ein weiteres Indiz dafür, daß für die Rezeptorerkennung nicht nur  $\gamma$ -Turn-Konformationen eine Rolle spielen, zeigen die *in vivo*-Tests. Das *cyclo*[Pen<sup>3,5</sup>]Ang II zeigte eine 80-mal geringere Aktivität als Ang II, und nur eines der beiden diastereomeren Ang II-Analoga **12** und **13** mit dem inversen  $\gamma$ -Turn-Mimetikum nach Hufmann erwies sich als aktiv. Dieses war jedoch um den Faktor 300 weniger potent. Eine Erklärung ist, daß die cyclisierten Mimetika aufgrund ihrer konfigurativen Restriktion nicht die Änderungen in der Rezeptorkonformation induzieren können, die für Signalübermittlung notwendig sind.

Diese oben genannten allgemeinen Gründe, die die geringe Bindungsaffinität erklären, treffen auch auf das Cyclohexanmimetikum zu. Durch den Ersatz der Amidbindungen der *i*-ten und der (*i*+1)-ten Aminosäure durch Methyleneinheiten wird die Polarität des Peptids gesenkt, so daß möglicherweise notwendige polare Gruppen für die Bindung an den Rezeptor fehlen. Im Gegensatz zu dem Cyclohexanmimetikum besitzt das aktive Hufmann-Turnmimetikum **12** und **13** eine Amidfunktion im Ring.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist die methylierte Phenolfunktion des Cyclohexanmimetikums. Die Methylierung des Tyrosins im Ang II führt generell zu schwachen Antagonisten, so daß im Fall einer schwachen Affinität des Cyclohexanmimetikums die Bindung zum Rezeptor durch die Methoxyfunktion vollständig unterbunden wird.<sup>112</sup>

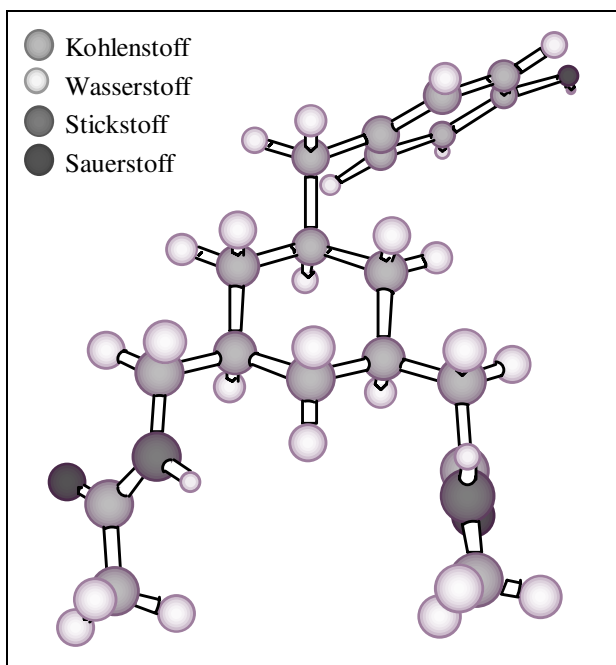
Schließlich kann eine *cis,cis*-5-substituierte 3-Aminomethylcyclohexancarbonsäure aufgrund der abweichenden Struktur nicht als ein Mimetikum für einen inversen  $\gamma$ -Turn fungieren. Die *molecular-modelling*-Studien, die im Kapitel 2.4 beschrieben sind, zeigen zwar, daß das Strukturmotiv des *cis,cis*-trisubstituierten Cyclohexans eine recht gute Ähnlichkeit zum inver-

<sup>111</sup> G. V. Nikiforovich, J. L.-F. Kao, K. Plucinska, W. J. Zhang, G. R. Marshall, *Biochemistry*, **1994**, *31*, 3591

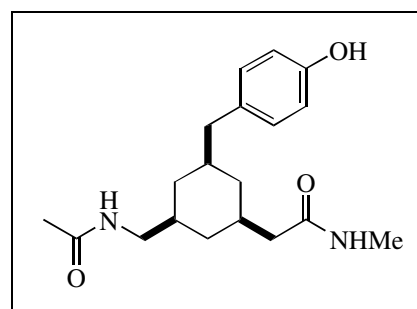
<sup>112</sup> J. M. Matsoukas, M. H. Goghari, M. N. Scanlon, K. J. Franklin, G. J. Moore, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 780

M. H. Goghari, K. J. Franklin, G. J. Moore, *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1121

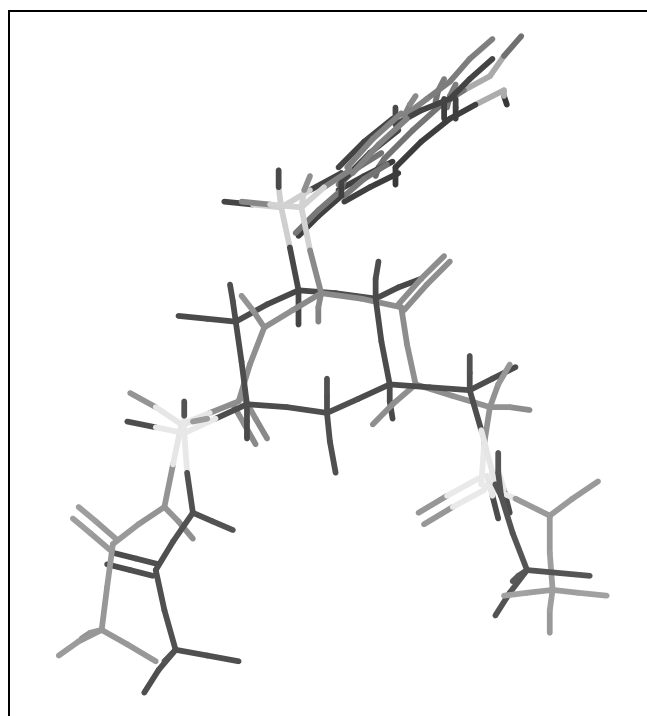
sen  $\gamma$ -Turn besitzt, jedoch weist die Analyse der relevanten Atomabstände für die Distanz zwischen dem  $\alpha$ -Kohlenstoff der (i+1)-ten Aminosäure und dem Carboxylkohlenstoff der (i+2)-ten Aminosäure eine Differenz von ungefähr 20 % auf. Diese Abweichung kann das Peptid so verzerren, daß keine Wechselwirkung zwischen den relevanten Pharmakophoren und dem Rezeptor mehr stattfindet.



Schema 48: Kugelstabmodell des hypothetischen homologen Cyclohexanmimetikums **84**



Schema 49: Strukturformel der Modellverbindung **84**



Schema 50: *least square fit*-Überlagerung, mittelgrau: **15**, dunkelgrau: **84**, hellgrau: Atome, die überlagert wurden

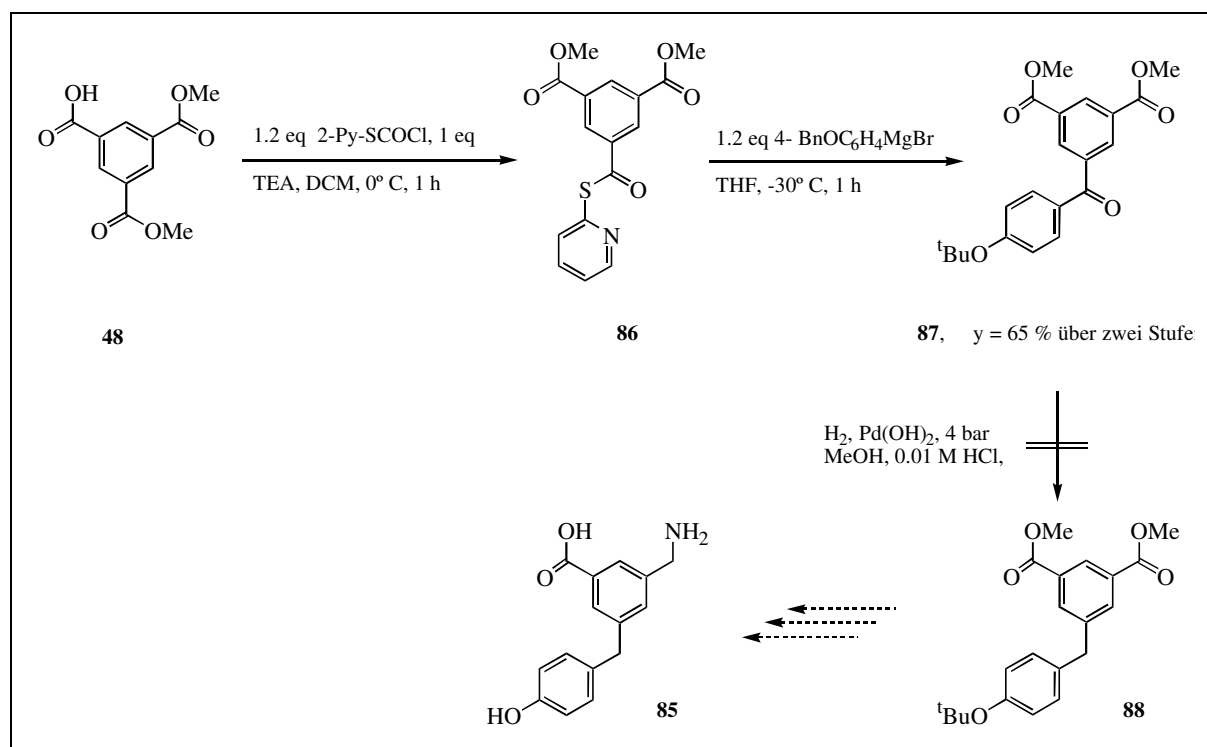
Eine mögliche Strukturoptimierung für das Cyclohexanmimetikum ist die Einführung eines Methylenspacers zwischen der Carboxylfunktion und dem Cyclohexanring (Schema 49). Die *least square fit*-Überlagerung der homologen Modellverbindung **84**, die mittels der im Kapitel 2.4 beschriebenen Verfahren optimiert wurde, mit dem berechneten inversen Modellturn **15** weist mit einem RMS-Fehler von 0.40 Å eine bessere Äquivalenz auf als **14**.

Ebenso entspricht der Abstand zwischen dem  $\alpha$ -Kohlenstoff der (i+1)-ten Aminosäure und dem Carboxylkohlenstoff der (i+2)-ten Aminosäure mit einem Wert von 5.1 Å ungefähr dem des Modellturns. Eine solche Homologisierung der Carbonsäure ist synthetisch durch eine Arndt-Eistert-Reaktion möglich.

Verbindung	$C_{\alpha,1} - C_{\alpha,2}$ [Å]	$C_{\alpha,1} - C_{C=O,3}$ [Å]	$C_{\alpha,2} - C_{C=O,3}$ [Å]	$\Delta(C_{\alpha,1}, C_{\alpha,2}, C_{C=O,3})$
Peptid <b>15</b>	3.8	5.4	4.9	75.4°
<b>84</b>	3.9	5.4	5.1	73.1°

### 5.8 Modellstudien zur Synthese weiterer 1,3,5-substituierter 6-Ringmimetika

Um den Einfluß des *cis,cis*-Substitutionsmuster des potentiellen  $\gamma$ -Turn-Mimetikum **29** zu untersuchen, sollte die Synthese eines aromatischen Analogons **85** untersucht werden.



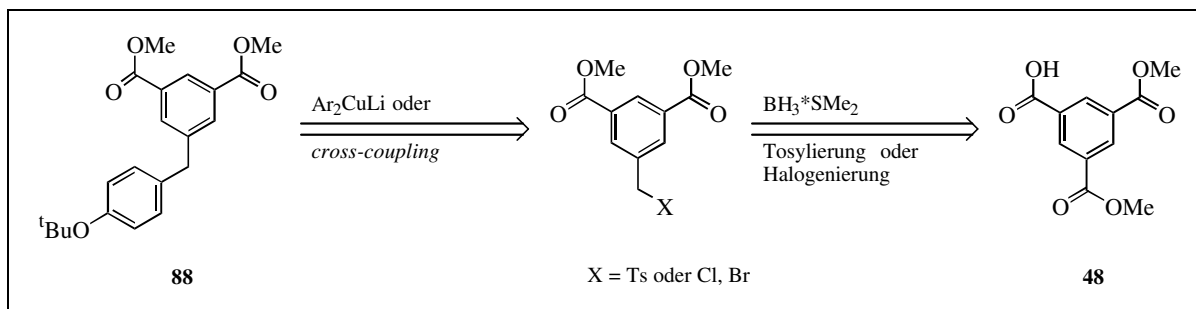
Schema 51: Synthese eines aromatischen Analogons **85**

Die Syntheseroute sollte analog der Synthese der Azidocarbonsäure **79** erfolgen. Anstatt des hydrierten Tricarbonsäuredimethylesters **36** würde man den aromatischen Vorläufer **48** als Ausgangsverbindung für die Kupplung eines 2-Pyridylthioesters **86** mit einem entsprechend geschützten 4-Hydroxyphenylgrignard benutzen. Das so erhaltene Benzophenonderivat **87** würde man mit der erprobten Synthesestrategie zum geschützten Schleifenmimetikum **85** umsetzen (Schema 51).



Die Hydrierung des Benzophenons **87** zum 5-(4-*tert*-Butoxybenzyl)-1,3-benzoldicarbon-säuredimethylester **88** verlief jedoch nicht wie gewünscht. Bei der Umsetzung in 0.01 M methanolischer Salzsäure mit Pearlman-Katalysator, 4 bar Wasserstoffüberdruck und 50° C erfolgte nur eine Reduktion zum Alkohol. Unter drastischeren Bedingungen (kat. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ac<sub>2</sub>O/EE) zersetzte sich das Edukt vollständig.

Für die Darstellung von **88** bietet sich natürlich die gleiche Problemlösung an wie für die Synthese der gesättigten Verbindung **63**. Man würde die phenolische Hydroxyfunktion des **87** mit einer Benzylschutzgruppe versehen, so daß die Entschützung der Benzylschutzgruppe während der Hydrierung eine bessere Desoxygenierung der Carbonylfunktion ermöglicht. Eine andere Methode wäre die Überführung der Carbonsäurefunktion des Diesters **48** in den benzylicischen Alkohol mittels BH<sub>3</sub>\*SMe<sub>2</sub>. Anschließend könnte die benzylicische Position nach einer Halogenierung bzw. einer Tosylierung in einer *cross-coupling*-Reaktion mit einem entsprechenden Arylstannan bzw. in einer Substitution mit einem Arylcuprat in das Diphenylmethanderivat **88** überführt werden (Schema 52). Dies würde die schwierige Reduktion des Benzophenons vermeiden.



Schema 52: Mögliche alternative Syntheseroute via eines Benzylhalogenids oder Tosylats

Eine weitere interessante Derivatisierungsmöglichkeit ist die Synthese des Tetrahydropyrana-analogs **89** bzw. des analogen Piperidins. Um die entwickelte Synthesestrategie beizubehalten, ist die Synthese geeigneter Dicarbonsäureanaloge notwendig, die in die entsprechenden *cis,cis*-1,3,5-trisubstituierten Tetrahydropyrane bzw. Piperidine überführt werden können. Als Startverbindung für die Tetrahydropyrane bietet sich die käufliche, pseudoaromatische Chelidonsäure (4-Oxopyran-1,3-dicarbonsäure) **90** an.

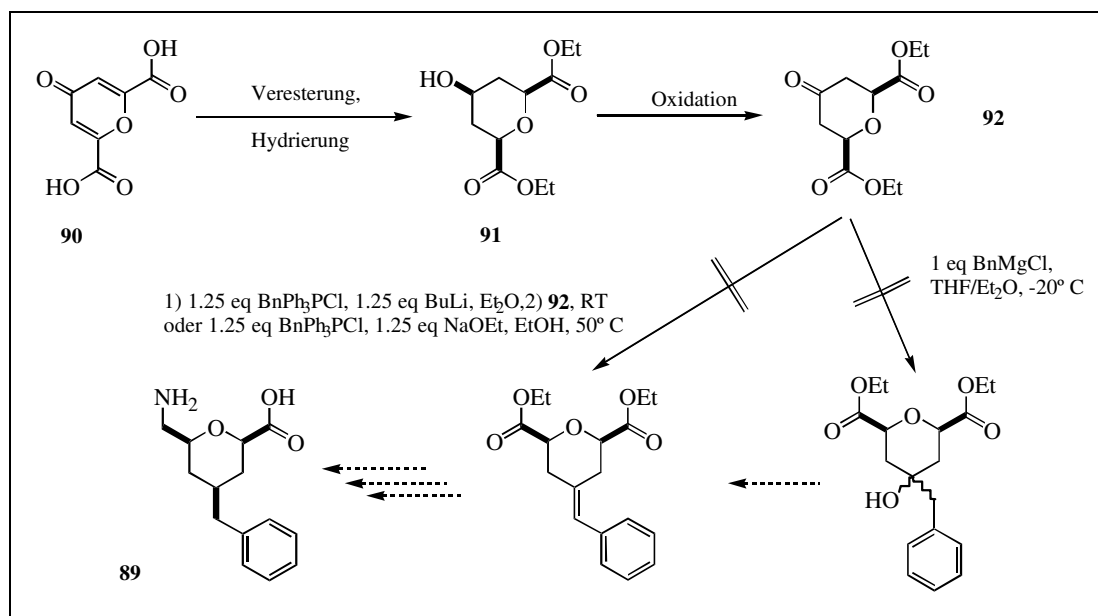
Von dieser Verbindung ist bekannt, daß der Chelidonsäurediethylester mit H<sub>2</sub> und Pd/BaSO<sub>4</sub> unter Normaldruck zum *cis,cis*-substituierten Alkohol **91** reduziert wird.<sup>113</sup> Diese Alkoholfunktion kann anschließend unter wasserfreien Bedingungen zum Keton **92** oxidiert werden.<sup>114</sup> Das Keton **92** fällt auch manchmal als Nebenprodukt bei der Hydrierung an.<sup>115</sup> Die Carbonylfunktion von **92** kann dazu benutzt werden, den Benzylrest einzuführen (siehe auch Kapitel 4.). Dafür sollte das Keton **92** in einer Wittig-Olefinierung mit Benzyltriphenylphosphorylid in das Benzylidenderivat überführt werden. Jedoch zersetzte sich das Edukt vollstän-

<sup>113</sup> J. Attenburrow, J. Elks, D. F. Elliot, B. A. Hems, J. O. Harris, C. I. Brodrick, *J. Chem. Soc.* **1945**, 571

<sup>114</sup> D. Kappler, P. Rosenmund, *Chem. Ber.* **1976**, 109, 3486

<sup>115</sup> B. Schmidt, unveröffentlichte Ergebnisse

dig. Die von Rosenmund et al. publizierten Wittig-Reaktionen wurden nur mit dem stabilisierten Acetylphosphoniumylid durchgeführt.<sup>114</sup> Die Zugabe von Benzylgrignard führte bei -20° C ebenfalls zur vollständigen Zersetzung. Diese Basenempfindlichkeit wurde auch für den Alkohol **91** beobachtet, der sich bei Zugabe von NaH zersetzte.<sup>115</sup>



Schema 53: Die Verwendung von der Chelidonsäure als Precursor für ein 2-Oxa-substituiertes Turnermimetikum

Weitere Untersuchungen sind deshalb nötig, um eine optimale Methode für die Einführung des Benzylrestes zu finden. Bei einer erfolgreichen Synthese des Pyrananalogon könnte dieses Konzept auch auf die Synthese eines Piperidinderivats angewendet werden, da die Chelidonsäure in die entsprechende 4-Hydroxypyridin-2,6-dicarbonsäure (Chelidamsäure) umgewandelt werden kann.

## 6. Die Synthese von substituierten Cyclohexanen und Bicyclo[3.2.1]oct-6-enen

Die Darstellung der Startverbindung **39** erfolgte durch eine [4+3]-Cycloaddition von Cyclopentadien als ( $4\pi4C$ )-Komponente und dem 1,3-Dibromo-2-oxyallylkation als ( $2\pi3C$ )-Komponente. Die anschließende Reduktion des Dibromids **93** mit Zink/ $\text{NH}_4\text{Cl}$  lieferte das Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on **39**.

Für die [4+3]-Cycloadditionen sind einige Methoden entwickelt worden, die sich in der Erzeugung des Oxyallylkations unterscheiden. Bei der Methode von Noyori et al. verwendet man 1,1,3,3-Tetrabromoacetone, welches durch  $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$  zu einem Eisenoxyallylkation reduziert wird.<sup>116</sup> Als ein weiteres Reduktionsmittel dienen Zink/Kupfer-Legierungen, die mittels Ultraschallaktivierung das 1,1,3,3-Tetrabromoacetone zum Oxyallylkation reduzieren, welches anschließend mit Furan abgefangen wurde.<sup>117</sup> Eine zusätzliche Aktivierung des TBA bietet die Zink/Borat-Methode, die sich durch die Verwendung von wohlfeilen und ungiftigen Reagenzien auszeichnet. Der erste Schritt des für die Reaktion postulierten Mechanismus ist die Enolisierung des TBA durch die Komplexbildung des Carbonylsauerstoffs durch das  $\text{Et}_3\text{B}$ . Anschließend wird ein Bromid durch die intramolekulare nucleophile Hilfe eines Sauerstoffatoms der Ethoxygruppe eliminiert, so daß das Diethoxyboroxyallylkation entsteht. Nach der Cycloaddition wird das kationische Addukt durch Reduktion eines Bromatoms mit Zn in den Dibrombicyclus **93** transformiert.<sup>118</sup> Weitere Methoden und Anwendungen werden in den Übersichtsartikeln von H. M. R. Hoffmann und R. Noyori behandelt.<sup>119</sup>

Die Darstellung erfolgte gemäß den Vorschriften von Ansell et al. und Hoffmann et al. für die Zink/Borat-Methode.<sup>118,120</sup> Das Cycloadditionsprodukt 2,3-Dibromobicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on wurde nach einer wäßrigen Aufarbeitung und einer Säulenfiltration an Kieselgel als Rohprodukt in die Zink/ $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Reduktion eingesetzt. Der Bicyclus **39** wurde anschließend in geringer Ausbeute (3 - 12 %) isoliert, unabhängig davon ob Tributylborat oder das reaktivere Triethylborat benutzt wurde. Als Hauptproblem erwies sich die Produktisolation nach der Reduktion, da nach einer wäßrigen Aufarbeitung und einer Kugelrohrdestillation ein Gemisch aus vier Substanzen erhalten wurde, die nur durch fraktionierende Kristallisation getrennt wurden.

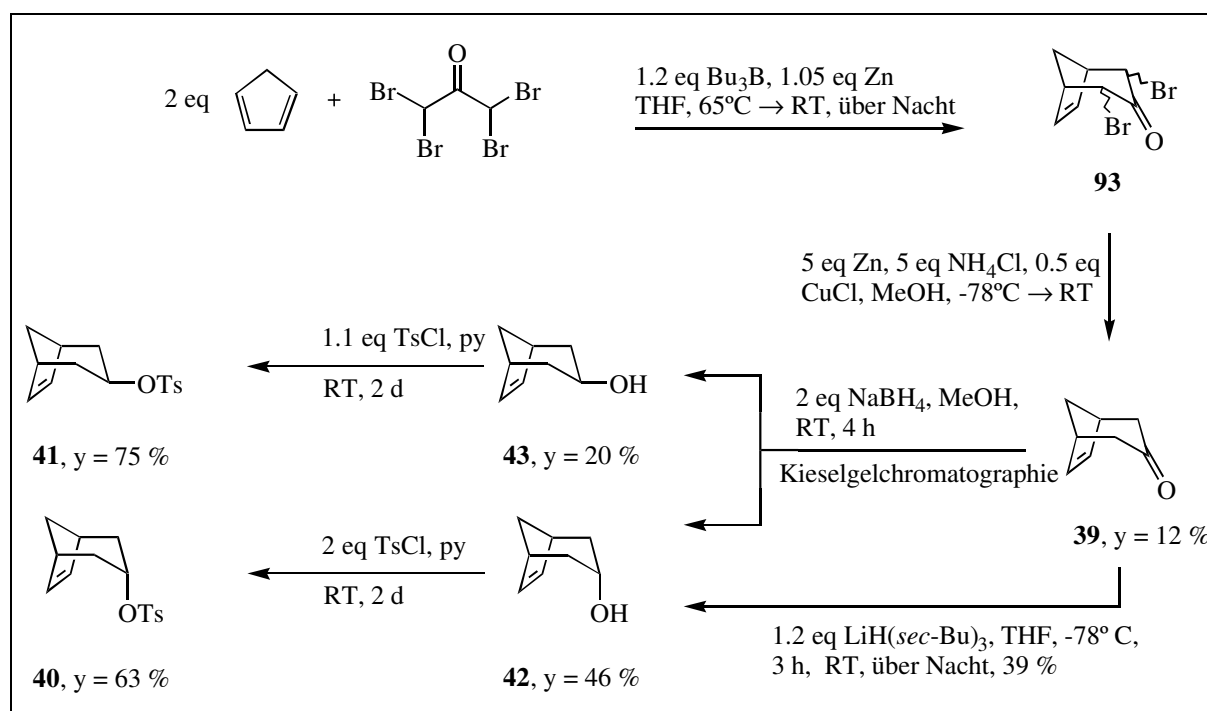
<sup>116</sup> R. Noyori, Y. Baba, Y. Hayakawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 3336

<sup>117</sup> H. M. R. Hoffmann, U. Karama, *Chem Ber.* **1992**, *125*, 2803

<sup>118</sup> H. M. R. Hoffmann, M. N. Iqbal, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4487

<sup>119</sup> Umfassende Übersichten zu [4+3]-Cycloadditionen: a) H. M. R. Hoffmann, *Angew. Chem. Int. Edt. Engl.*, **1973**, *12*, 819; b) R. Noyori, Y. Hayakawa, *Org. Reactions*, **1983**, *29*, 163; c) H. M. R. Hoffmann, *Angew. Chem.*, **1984**, *96*, 29-48

<sup>120</sup> M. F. Ansell, J. S. Mason, M. P. L. Caton, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1984**, 1061



Schema 54: Synthese der isomeren Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-yl-tosylate

Anschließend wurde der Bicyclus **39** analog der Vorschrift von LeBel et al.<sup>38</sup> mit  $NaBH_4$  in abs. MeOH zu den epimeren Alkoholen **42** und **43** in 66 % Ausbeute reduziert, die mittels Kieselgelchromatographie getrennt wurden. Das Verhältnis zwischen dem *endo*- und dem *exo*-Alkohol betrug 2.3 zu 1. Die Reduktion der Ketofunktion mit  $LiBH(sec-Bu)_3$  lieferte in 39 % Ausbeute (ausgehend von rohen Bicyclus **39**) den *endo*-Alkohol **42** als einziges Produkt. Diese stereoselektive Reduktion ist eine Folge der Konkav-Konvex-Lenkung des sterisch anspruchsvollen Reduktionsmittel auf die sterisch freiere Seite der Carbonylfunktion, während bei der Reduktion mit  $NaBH_4$  aufgrund des kleineren Raumanspruchs nur eine geringe Selektivität für die nucleophile Addition von der  $\beta$ -Seite erreicht wird. Anschließend wurden die beiden Alkohole **42** und **43** mittels Tosylchlorid in abs. Pyridin in die Tosylate **40** und **41** überführt.<sup>38</sup>

Für die Substitution von Tosylaten eignen sich besonders Cuprate oder Grignardverbindungen mit katalytischen Mengen an Cu(I)-Salzen. In einer Modellstudie von Johnson et al. wurde (+)-S-2-Butyltosylat mit  $Ph_2CuLi$  zu (-)-R-2-Phenylbutan umgesetzt. Die Ausbeute betrug 45 % bei 100 % Inversion des chiralen Zentrums. Mit 98 % Ausbeute reagierte (n-Bu) $_2CuLi$  mit n-Pentyltosylat zum n-Nonan.<sup>121</sup>

Bei der Darstellung von Benzylolithium oder Benzylgrignard, welche für die Substitutionsreaktion benötigt wurden, ergibt sich das Problem der Dimerisierung des Benzylhalogenids zum Dibenzyl. Während die Dimerisierung bei der Grignarddarstellung durch Verwendung des weniger reaktiven Benzylchlorids zurückgedrängt wird, ist bei der BnLi-Darstellung die Dimerisierung quantitativ. Deshalb wurde das Benzylolithium durch Deprotonierung von Toluol mit Butyllithium in Anwesenheit von TMEDA dargestellt. Das TMEDA dient zur Komplexierung des Lithiums, um die Basizität des Butyllithiums durch Ionenpaartrennung zu steigern.

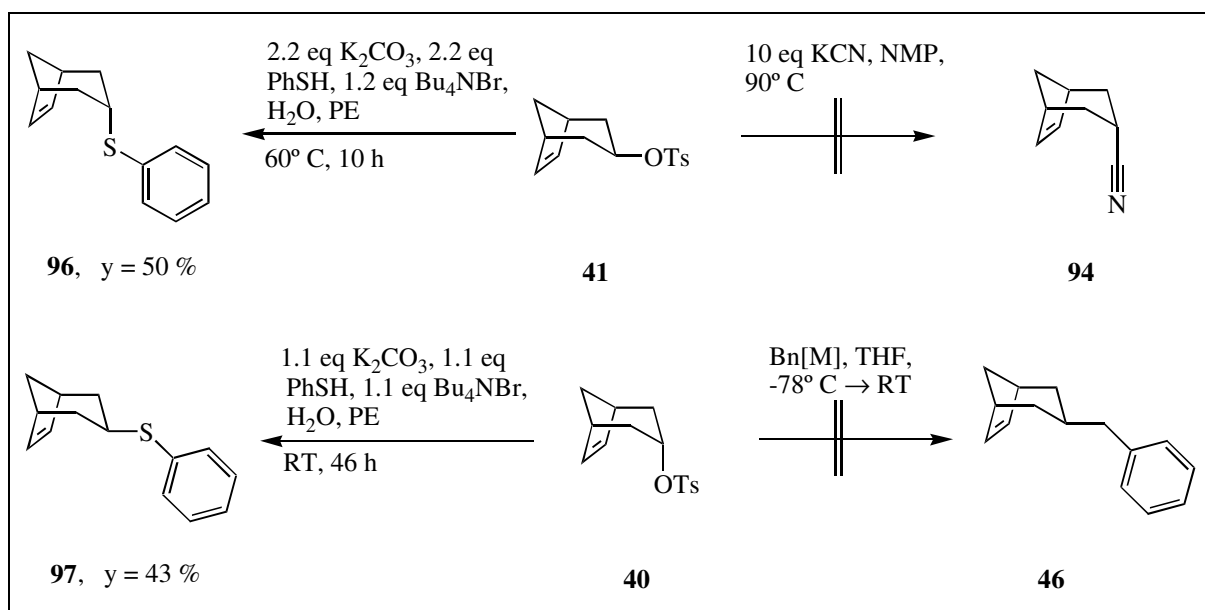
<sup>121</sup> C. R. Johnson, G. A. Dutra, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7783

Das Benzylcuprat wurde durch Zugabe einer Benzylolithium-Toluol-Lösung zu einer Cu(I)-Et<sub>2</sub>O-Suspension bei 0° C und zehn minütigem Rühren bei 0° C dargestellt.

Die Substitutionsreaktion wurde unter den folgenden Bedingungen durchgeführt. In jedem Versuch setzte sich das Edukt vollständig um.

Methode:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	5 eq (Bn) <sub>2</sub> CuLi, TMEDA, Et <sub>2</sub> O, -78° C → RT, <i>endo</i> -Tosylat <b>40</b>	4 % <sup>122</sup>
B	1.1 eq Bn MgBr, 0.1 eq Cu(I)I, Et <sub>2</sub> O, -78° C → RT, <i>endo</i> -Tosylat <b>40</b>	0 % (GC-Kontrolle)
C	3 eq BnLi←TMEDA, THF/DMPU = 3/1, <i>endo</i> -Tosylat <b>40</b>	0 % (GC-Kontrolle)

Bei den durchgeführten Versuchsvarianten wurde das gewünschte Produkt **46** allenfalls in Spuren gebildet. Da sich die Tosylate vollständig umsetzten und keine Nebenprodukte isoliert wurden, ist es anzunehmen, daß die Eliminierung des Tosylats die Hauptreaktion war. Das Bicyclo[3.2.1]oct-2,6-dien konnte aufgrund seiner geringen Molmasse und der damit verbundenen hohen Flüchtigkeit nicht isoliert werden.



Schema 55: Darstellung der bicyclischen Thioether **96** und **97**

Um die Eliminierungsreaktion zurückzudrängen, wurde die Verwendung eines weicheren C-Nucleophils mit einer geringeren Basizität geplant. Das Cyanidanion ist ein weiches C<sub>1</sub>-Nucleophil, welches nach der Substitution als Nitrilfunktion die Addition von Phenylgrignardreagenzien ermöglicht. Nach einer Reduktion des Arylketons könnte man den Benzylrest etablieren. Für die Substitution von sekundären Halogeniden bzw. Tosylaten erweist sich DMSO als Lösungsmittel der Wahl. Die Reaktion von Cyclohexylchlorid mit NaCN in DMSO versagt jedoch unter diesen Bedingungen. Als alternatives Lösungsmittel verwendeten

<sup>122</sup> Die Charakterisierung erfolgte aufgrund der geringen Menge nur mit MS (RT): 198 (35, M<sup>+</sup>), 156 (23), 132 (33, M), 117 (51), 107 (46, M<sup>+</sup> - Bn), 91 (97, Bn<sup>+</sup>), 79 (100), 66 (84), kein M<sup>+</sup> für das Dibenzyl. Das Peakmuster ist dem des *exo*-Tosylats ähnlich.

Henbest et al. N-Methylpyrrolidon/<sup>t</sup>BuOH, in dem die Umsetzung des 3 $\beta$ -Cholestanyltsylats zu dem 3 $\alpha$ -Cyanid in 40 % Ausbeute erfolgte.<sup>123</sup> Unter diesen Reaktionsbedingungen zersetzte sich das *exo*-Tosylat **41**, ohne daß das Nitril **94** gebildet wurde.

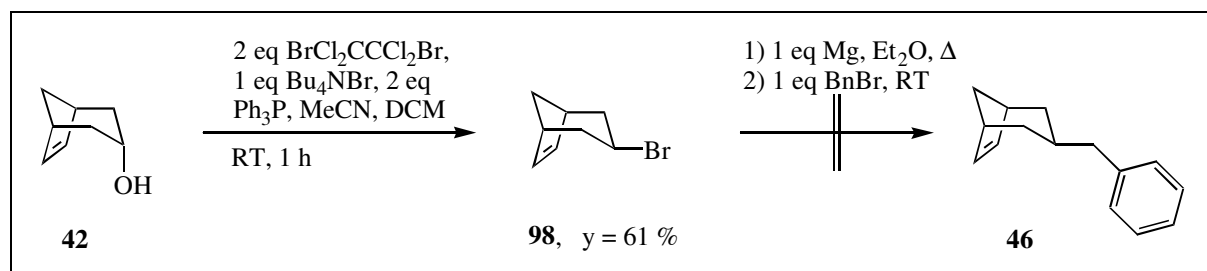
Um die elektrophilen Eigenschaften des Tosylats zu untersuchen, wurde die Substitution der Tosylate **40** und **41** mit dem Anion des Thiophenols als sehr reaktivem Nucleophil durchgeführt (Schema 55).

Methode:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	1 eq K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1 eq PhSH, <i>endo</i> -Tosylat <b>40</b> , H <sub>2</sub> O, PE, RT	43 % <sup>a</sup>
B	PhSNa, THF, <i>endo</i> -Tosylat <b>40</b> , RT	46 %
C	2 eq K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 2 eq PhSH, <i>exo</i> -Tosylat <b>41</b> , 60° C	50 % <sup>a,b</sup>

a: Die Reaktion wurde in einem Zweiphasensystem mit Phasentransferkatalyse durchgeführt.

b: Unter diesen Bedingungen wurden 40 % des Thioethers zum Sulfoxid **95** oxidiert.

Sowohl das *endo*- und als auch das *exo*-Sulfan **96** und **97** wurden nur in mäßigen Ausbeuten isoliert, obwohl eine höhere Ausbeute für die Umsetzung mit dem *exo*-Tosylat erwartet werden konnte. Dieses erwies sich allerdings als reaktionsträger, da es erst bei höheren Temperaturen mit dem Thiophenolat reagierte.



Schema 56: 'Umpolung' der Reaktionspartner: Die Überführung des *endo*-Alkohols in das *exo*-Bromid

Da die Substitution des Tosylats mit einem metallorganischen Benzylreagenz nicht zu dem gewünschten Produkt führte, wurde eine Umpolung der Reaktionszentren geplant. Die Alkylierung des Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ylmagnesiumbromids mit dem reaktiven Benzylbromid sollte die konkurrierende Eliminierung vermeiden. Ein Nachteil ist die Bildung des *exo*-Grignard unter teilweisem Konfigurationsverlust.

Das *exo*-Bromid **98** wurde durch eine Substitution des *endo*-Alkohols **42** mit Triphenylphosphin und 1,2-Dibromo-1,1,2,2-tetrachloroethan in 61 % Ausbeute dargestellt. Bei dieser Reaktion wird *in situ* Triphenylphosphoniumdibromid durch den nucleophilen Angriff des Triphenylphosphins auf ein Bromatom des 1,2-Dibromo-1,1,2,2-tetrachloroethans unter gleichzeitiger Eliminierung des zweiten Bromids erzeugt.<sup>124</sup> Aufgrund der Oxophilie des Phosphors entsteht ein Alkoxyphosphoniumsalz, das sich in einer Arbuzow-Umlagerung zum Bromid **98** und Triphenylphosphinoxid zersetzt.<sup>125</sup> Bei der anschließenden Grignardreaktion zersetzte

<sup>123</sup> H. B. Henbest, W. R. Jackson, *J. Chem. Soc.* **1986**, I, 954

<sup>124</sup> G. Bringmann, S. Schneider, *Synthesis* **1983**, I, 139

<sup>125</sup> R. Appel, Tertiäres Phosphan/CCl<sub>4</sub>, ein vielseitiges Reagenz zur Chlorierung, Dehydratisierung und PN-Verknüpfung, *Angew. Chem.* **1975**, 87, 863

sich das Bromid. Da in den Reaktionsprodukten gaschromatographisch Dibenzyl nachgewiesen wurde, ist eine mögliche Nebenreaktion eine schnelle Ummetallierung des Grignards mit dem Benzylbromid aufgrund der höheren Stabilisierung des Benzylgrignards. Anschließend dimerisiert der Benzylgrignard mit einem weiteren Benzylbromid zu Dibenzyl. Solche Nebenreaktionen wurden schon bei der Umsetzung von Arylgrignards mit Benzylbromid beobachtet.<sup>126</sup> Eine weitere mögliche Zersetzungsreaktion ist die Fragmentierung des Grignards zu dem Allylanion des 3-(2-Propenyl)-1-cyclopentens.

Die Resultate dieser Substitutionen lassen sich durch einen Vergleich der Ergebnisse von LeBel et al. erklären, die die Acetolysegeschwindigkeiten des *endo*- und *exo*-Tosylats **40** und **41** sowie die Produktverteilung bestimmten. Analog der Acetolyse, die für das *endo*-Tosylat **40** bei RT 25-mal schneller abläuft als beim *exo*-Tosylat **41**, konnte man qualitativ feststellen, daß die Substitution der *endo*-Tosylfluchtgruppe mit dem Thiophenolat schneller stattfindet als beim *exo*-Tosylat **41**. Während man beim *exo*-Tosylat **41** die Reaktion auf 50° C erwärmen mußte, um eine Umsetzung zu erreichen, erfolgte die Reaktion des *endo*-Tosylats

**40** bereits bei RT. Aus diesem Grund nahmen LeBel et al. an, daß beim *exo*-Tosylat kein durch die C6-C7-Doppelbindung stabilisiertes Kation analog dem Bicyclo[2.2.2]oct-5-en-2-yltosylat entsteht, welches eine höhere Acetolysegeschwindigkeit im Vergleich zum *endo*-Tosylat **40** bewirken würde. Diese Annahme wird auch durch die höhere Acetolysegeschwindigkeit des gesättigten *exo*-Bicyclo[3.2.1]octan-3-yltosylats bestätigt, welches auf keinen Fall ein solches stabilisiertes Kation bilden kann. Die höhere Geschwindigkeit der *endo*-Verbindung im Verhältnis zur *exo*-Verbindung ist analog zu dem *cis*- und *trans*-4-*tert*-Butylcyclohexyltosylat. Vergleichbar dem 4-*tert*-Butylcyclohexyltosylat, dessen voluminöser *tert*-Butylrest stets die äquatoriale Position einnimmt, ist die Sesselkonformation des 6-Ringes des Bicyclo[3.2.1]oct-6-en aufgrund der Ethenobrücke 'eingefroren'. Das bedeutet, daß die Substituenten nicht zwischen der axialen und äquatorialen Position wechseln können. Dadurch steht der Tosylrest im *endo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-tosylat antiko-planar zu den axialen  $\beta$ -Protonen. Diese Anordnung von Proton und Abgangsgruppe erfüllt die Voraussetzung für den Übergangszustand der E<sub>2</sub>-Reaktion, so daß die Geschwindigkeitskonstante für die Eliminierungsreaktion im Verhältnis zur Substitutionsreaktion größer wird und somit auch die Gesamtreaktionsgeschwindigkeit der Acetolyse steigt. Die relative Acetolyserate des *trans*-4-

<i>para</i> -Toluolsulfonat	Rel. Rate
Cyclohexyl	1
<i>trans</i> -4- <i>tert</i> -Butylcyclohexyl	0.86
<i>cis</i> -4- <i>tert</i> -Butylcyclohexyl	3.08
<i>exo</i> -Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-yl	3.53
<i>endo</i> -Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-yl	10.1
<i>exo</i> -Bicyclo[3.2.1]octan-3-yl	73.5
<i>endo</i> -Bicyclo[3.2.1]octan-3-yl	110.0

Relative Acetolysegeschwindigkeiten von verschiedenen Cyclohexyltosylaten (Die Tabelle wurde der Publikation von LeBel et al. entnommen).<sup>38</sup>

<sup>126</sup> M. S. Kharasch, O. Reinmuth, *Grignard Reactions of Nonmetallic Substances*, 1954, Prentice-Hall, New York, 1102

*tert*-Butylcyclohexyltosylats ist kleiner als die vom *cis*-Derivat bzw. vom Cyclohexyltosylat, da eine sterische Hinderung des Nucleophils durch die 1-3-diaxialen Protonen die Substitution behindert und die notwendige antikoplanare Anordnung für eine E<sub>2</sub>-Eliminierung von Nucleofug und Proton aufgrund einer axialen *tert*-Butylgruppe nicht eingenommen werden kann. Jedoch zeigen bereits das *exo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-yltosylat und das gesättigte Analoga eine höhere Acetolysegeschwindigkeit als das *cis*-4-*tert*-Butylcyclohexyltosylat. Dieses Resultat deutet darauf hin, daß bei der Eliminierung bzw. Substitution noch ein anderer Mechanismus eine Rolle spielt, der die Reaktion stark beschleunigt.

Ein weiterer Hinweis auf andere Effekte ist die annähernd gleiche Produktverteilung bei der Reaktion der beiden Tosylate mit NaOAc in HOAc. Beim *endo*-Tosylat **40** wurden von LeBel et al. 31 - 39 % Eliminierungsprodukte und 29 - 33 % *exo*-Acetat erhalten, beim *exo*-Tosylat **41** 45 - 52 % Eliminierungsprodukte und 36 % *endo*-Acetat. Analog diesem Ergebnis wurde bei der Substitution mit dem Thiophenolat 43 % *exo*-Phenylthioether **97** und 50 % *endo*-Phenylthioether **96** isoliert. Eine ähnliche Ausbeute von 42 % liefert die Umsetzung von *cis*-4-*tert*-Butylcyclohexyltosylat mit Thiophenolat zu *trans*-4-*tert*-Butyl-1-phenyl-sulfanyl-cyclohexan.<sup>127</sup> Eine kürzlich von Otera et al. veröffentlichte Methode benutzt anstatt einer Base 1.5 - 3 eq Cäsiumfluorid als Promotor für eine S<sub>N</sub>2-Reaktion mit verschiedenen Nucleophilen. Unter diesen Bedingungen wurde das *cis*- bzw. das *trans*-4-*tert*-Butylcyclohexylmesylat mit Thiophenol bei 90° C in 52 % bzw. 90 % Ausbeute in die entsprechenden S<sub>N</sub>2-Produkte überführt.<sup>128</sup> Das weitaus basischere Benzylcuprat liefert bei der Umsetzung mit dem bicyclischen *endo*-Tosylat **40** fast quantitativ das Eliminierungsprodukt. Eine analoge Umsetzung von dem *cis*-4-*tert*-Butylcyclohexyltosylat mit Methylcuprat produzierte nach Johnson et al. 94 % 4-*tert*-Butylcyclohex-1-en und 6 % *trans*-1-*tert*-Butyl-4-methylcyclohexan.<sup>121</sup>

Die Ausbeute an Substitutionsprodukt kann jedoch durch die Aktivierung der Alkoholfunktion als Alkyloxytriphenylphosphoniumsalz verbessert werden. So wurde der *endo*-Alkohol **42** mit Ph<sub>3</sub>PBr<sub>2</sub>, welches *in situ* erzeugt wurde, in 61 % zum *exo*-Bromid **98** überführt, obwohl das Bromid ein schlechteres Nucleophil ist als das Thiophenolat. In einem ähnlichen Fall wurde das *endo*-8-Oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol mit 2-Nitrobenzoesäure mittels einer Mitsunobu-Reaktion, bei der *in situ* auch ein Alkyloxyphosphoniumsalz erzeugt wird, und anschließender Verseifung des Esters in 93 % Ausbeute zum *exo*-Alkohol konvertiert.<sup>129</sup>

### 6.1 NMR-spektroskopische Charakterisierung der bicyclischen Thioether **96** und **97**

Der Cyclohexanring kann je nach Substitutionsmuster in der Sessel- oder in der Bootkonformation vorliegen. Im Normalfall ist die Sesselkonformation die wesentlich stabilere Struktur. Jedoch kann der 6-Ring aufgrund von 1-3-diaxialen Wechselwirkungen der Substituenten mit den axialen Wasserstoffatomen wie bei *cis*-1-4-Di-*tert*-butylcyclohexan in eine verzerrte Bootkonformation (Twist-Form) gezwungen werden.

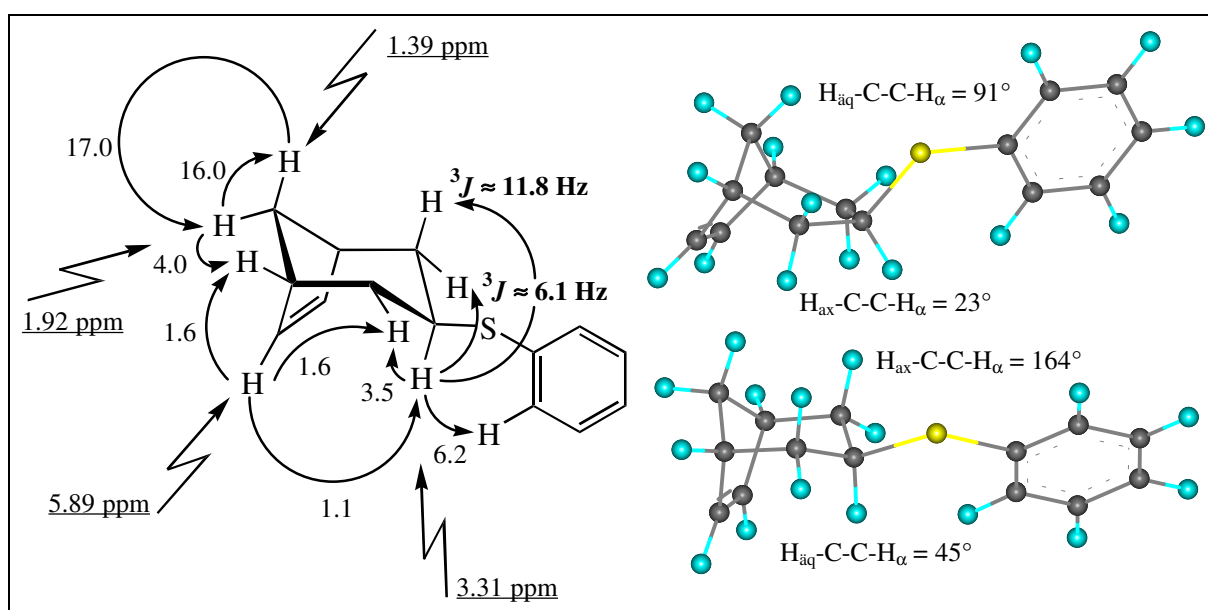
<sup>127</sup> E. L. Eliel, R. S. Ro, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 5995

<sup>128</sup> J. Otera, K. Nakazawa, K. Sekuguchi, A. Orita, *Tetrahedron* **1997**, 53, 13633

<sup>129</sup> M. Lautens, S. Ma, A. Yee, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4185



Für das *exo*-3-Phenylsulfanyl bicyclo[3.2.1]oct-6-en **97** ist der Sessel die stabilste Konformation, da der Phenylsulfanylrest in dieser Konformation eine äquatoriale Position einnimmt. Ein Vergleich beider Konformationen, die mit dem MM+-Kraftfeldprogramm mittels der Standardmethode errechnet wurden, ergab, daß die Sesselkonformation um 27.7 kJ/mol stabiler ist als die Bootkonformation. Diese Konformation konnte durch mehrere NOE-Experimente bestätigt werden. Die olefinischen Protonen zeigen NOE-Effekte zu den Brückenkopfprotonen, zu den äquatorialen 2- und 4-Methylenprotonen und zu dem  $\alpha$ -Proton des Thioethers. Das letzte NOE-Signal kann nur zustande kommen, wenn das  $\alpha$ -Proton durch eine axiale Position in einer Sesselkonformation in die Nähe der olefinischen Protonen 'gerückt' wird. Das  $\alpha$ -Proton weist einen NOE-Effekt zu den *ortho*-Protonen des Phenylringes und zu den äquatorialen 2- und 4-Methylenprotonen auf. Nur durch eine *syn*-Anordnung des  $\alpha$ -Sulfanprotons und der äquatorialen Methylenprotonen wie im *exo*-Sulfan **97** ist ein NOE-Effekt möglich.

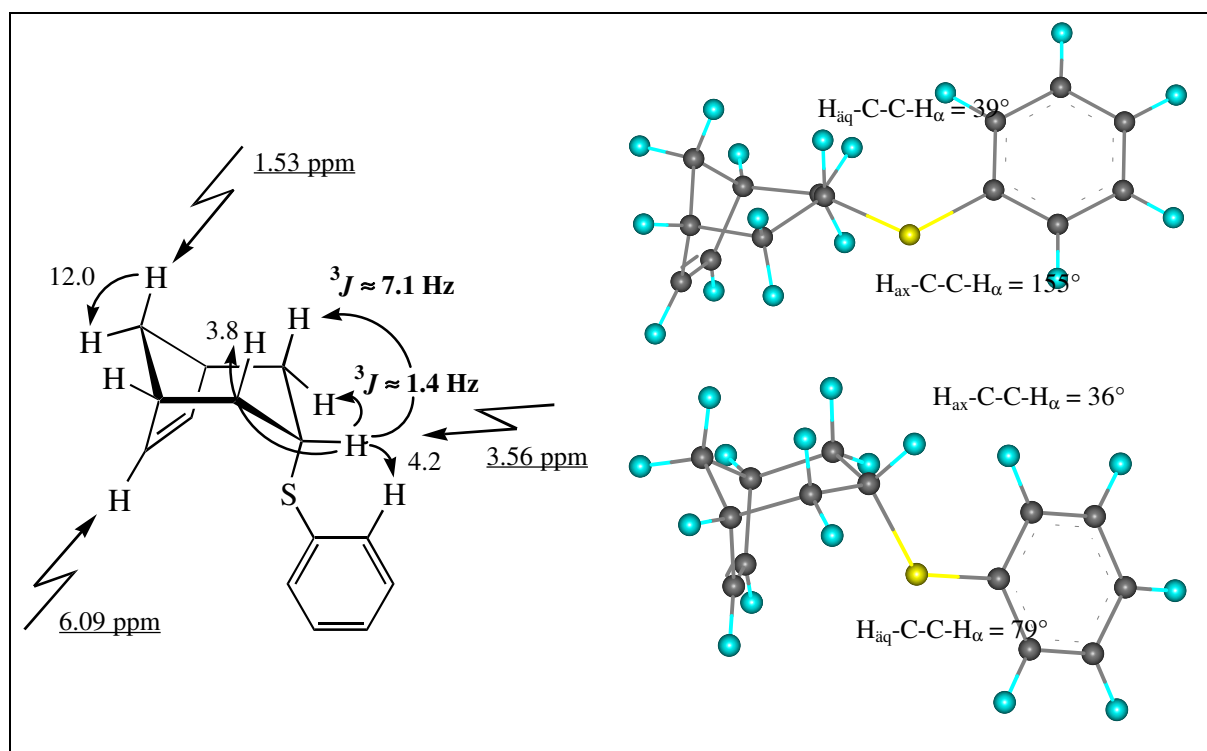


Schema 57: Die linke Graphik ist eine schematische Darstellung der ermittelten Konformation mit den gemessenen NOE-Werten (in %) und Kopplungskonstanten. Die Einstrahlfrequenzen sind unterstrichen, und die NOE-Werte stehen an den gekrümmten Pfeilen, deren Spitze die Position des NOE-Effektes angibt. Die Werte für die Kopplungskonstanten zwischen den mit Pfeilen verbundenen Protonen sind in fetten Lettern angegeben. Rechts sind die mit MM+ berechneten Strukturen des *exo*-Sulfans **97** mit den berechneten Torsionswinkeln abgebildet (oben: Bootkonformation, unten: Sesselkonformation).

Ein weitere Bestätigung dieser Konformation bzw. Konfiguration sind die Kopplungskonstanten des  $\alpha$ -Protons mit den 2- und 4-Methylenprotonen. Die axialen Protonen der 2- und 4-Methylengruppe koppeln mit 11.8 Hz mit dem  $\alpha$ -Proton. Dies entspricht anhand der Karpluskurve einem Torsionswinkel von ca.  $160 - 180^{\circ}$ , eine annähernd antikoplanare Stellung. Für diesen Torsionswinkel wurde mit dem MM+-Kraftfeldprogramm ein Winkel von  $164^{\circ}$  ermittelt. Die Kopplungskonstante der äquatorialen Methylenprotonen zu dem  $\alpha$ -Proton weist mit einem Wert von 6.1 Hz auf einen Torsionswinkel von ca.  $30 - 50^{\circ}$  oder  $120 - 140^{\circ}$  hin. Dies stimmt mit dem berechneten Winkel von  $45^{\circ}$  gut überein.

Bei dem *endo*-3-Phenylsulfanyl bicyclo[3.2.1]oct-6-en **96** besteht die Möglichkeit, daß das Molekül beide Konformationen annehmen kann. In der Sesselkonformation besteht eine un-

günstige 1-3-diaxiale transannulare Wechselwirkung zwischen dem axialen Phenylsulfanylsubstituent und der Vinylidenbrücke, die in diesem Bicyclus eine Art Ankerfunktion hat, da sie nur die diaxiale Position einnehmen kann. Durch das Einnehmen der ungünstigeren Bootkonformation belegt der Thioetherrest die günstigere äquatoriale Position, die durch die ekliptische Stellung der 2- und 4-Methylenprotonen mit den Brückenkopfprotonen und der Vinylidenbrücke und durch die 1-6-diaxiale Wechselwirkung des  $\alpha$ -Protons und des axialen 8-Methylenprotons destabilisiert wird. Die NOE-Effekte und die Kopplungskonstanten des  $\alpha$ -Sulfanproton deuten auf eine Sesselkonformation hin. Nur für das  $\alpha$ -Proton wurde ein NOE-Signal zu den *ortho*-Protonen des Phenylrings und zu den axialen 2- und 4-Methylenprotonen gemessen. Da dieser NOE-Effekt nichts über die Cylohexankonformation aussagt und ein nicht gemessener NOE-Effekt kein Beweis für eine Struktur ist, erfolgt die Zuordnung mittels der Kopplungskonstanten zwischen dem  $\alpha$ -Proton und den 2- und 4-Methylenprotonen.

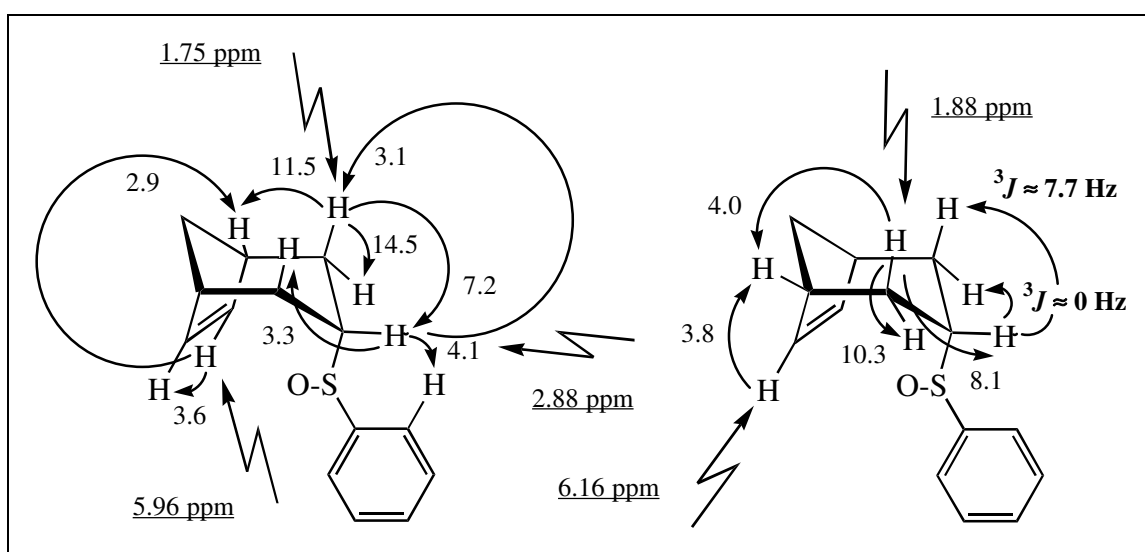


Schema 58: Die linke Graphik ist eine schematische Darstellung der ermittelten Konformation mit den gemessenen NOE-Werten und Kopplungskonstanten (Legende siehe Schema 57). Rechts sind die mit MM+ berechneten Strukturen des *endo*-Sulfans **96** mit den berechneten Torsionswinkel abgebildet (oben: Bootkonformation, unten: Sesselkonformation).

Für die Bootkonformation wurden Torsionswinkel von  $39^\circ$  und  $155^\circ$  für das  $\alpha$ -Proton und den 2- bzw. 4-Methylenprotonen berechnet. Diese entsprechen Kopplungskonstanten von 6 - 8 bzw. 9 - 12 Hz. Für die Torsionswinkel des Sessels wurden Werte von  $36^\circ$  und  $79^\circ$  berechnet. Diese entsprechen Kopplungskonstanten von 7 - 9 Hz bzw. 0 - 1 Hz. Die in der  $^1\text{H-NMR}$ -Messung bestimmten Kopplungskonstanten betragen 1.4 Hz und 7.1 Hz. Aus dem Vergleich mit den theoretischen Kopplungskonstanten folgt, daß das *endo*-Sulfan **96** in der Sesselkonformation vorliegt. Die mit MM+ berechnete Energiedifferenz beträgt 11.3 kJ/mol zwischen der energieärmeren Sesselkonformation und der Bootkonformation. Interessanterweise erhält

man mit den semiempirischen quantenmechanischen AM 1- und PM 3-Kraftfeldprogrammen das gegenteilige Ergebnis, daß das Bootkonformer die energieärmere Struktur ist.

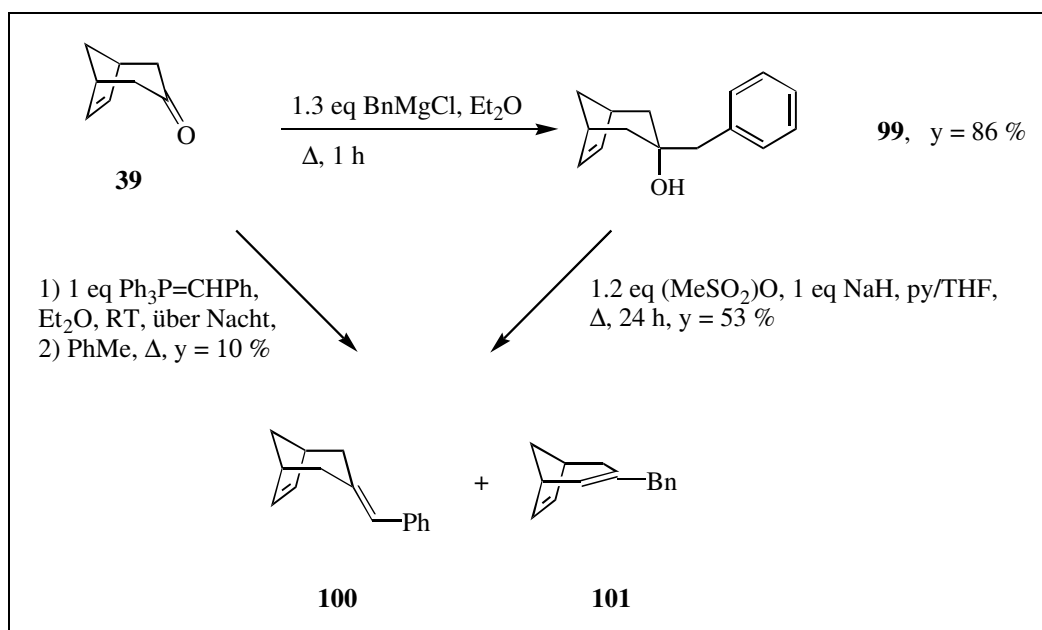
Diese Konformation wird durch das bei der Substitution entstandene Nebenprodukt, dem S-(Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-yl)-S-phenylsulfoxid **95** bestätigt. Das Sulfoxid **95** wurde durch die Zuordnung der Signale mittels H,H- und H,C-COSY-Spektroskopie und durch die unterschiedliche chemische Verschiebungen der  $^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -Signale des Aromaten im Vergleich zum Phenylsulfanylrest identifiziert, die durch den Wechsel vom Donor zum Akzeptor substituierten Aromaten zustande kommen. Außerdem spaltet das chirale Sulfoxid die Protonen diastereotop auf. Hier erhält man für das  $\alpha$ -Sulfoxidproton ein Triplett-Signal mit einer



Schema 59: Die Struktur des Sulfoxids **95** mit den ermittelten NOE-Werten und Kopplungskonstanten (Legende siehe Schema 57).

Kopplungskonstante von 7.7 Hz, die andere beträgt somit ca. 0 Hz. Dies entspricht den Torsionswinkeln von  $40^\circ$  bzw.  $90^\circ$  des  $\alpha$ -Protons zu den  $\beta$ -Methylenprotonen, die nur so in der Sesselkonformation vorliegen. Die NOE-Effekte wurden erwartungsgemäß zwischen den benachbarten H-Atomen beobachtet.

Somit ist die von LeBel et. al. getroffene Zuordnung<sup>38</sup> der Konstitution für die epimeren bicyclischen Alkohole **42** und **43** richtig. Dies gilt natürlich nur, wenn die Substitution nach einem  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus abläuft.

6.2 Synthese des *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbaldehyd

Schema 60: Synthese des 3-Benzylidenbicyclo[3.2.1]oct-6-en

Wegen der geringen Substitutionsneigung der Tosylgruppe wurde der Benzylrest durch die nucleophile Addition eines Benzylgrignards an die Carbonylfunktion des Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on eingeführt. Die Addition erfolgte in 86 % stereoselektiv von der Oberseite. Der entstandene tertiäre Alkohol **99** wurde in einer Eintopfreaktion in einen Sulfonsäureester überführt, der aufgrund seines tertiären Charakters unter den basischen Bedingungen sofort zum Dien **100** eliminiert. Die Durchführung dieser Reaktion erfolgte mit verschiedenen Sulfonierungsreagenzien und Basen:

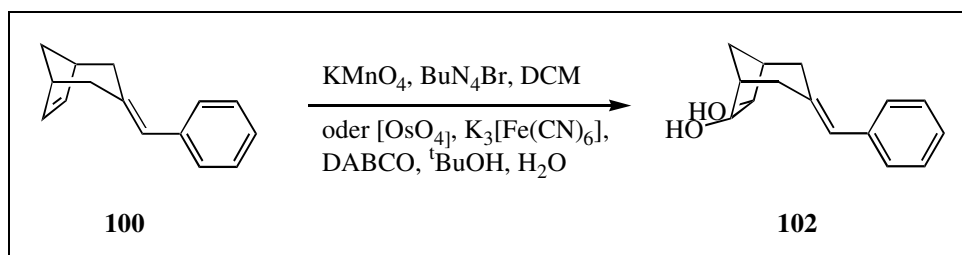
Methode:	Bedingungen:	Base:	Sulfonierungsreagenz:	Ausbeute:
A	Alkohol <b>99</b> , c = 0.1 M, THF, 24 h, Rückfluß	1 eq NaH, 4 eq py	1.2 eq (MeSO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	53 %
B	Alkohol <b>99</b> , c = 0.8 M, CHCl <sub>3</sub> , 24 h, Rückfluß	5.3 eq TEA	1.1 eq (MeSO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	36 %
C	Alkohol <b>99</b> , c = 1.9 M, 24 h, Rückfluß	6.25 eq py	1.6 eq MsCl	31 %
D	1-Bn-1-cyclohexanol, c = 0.5 M, CHCl <sub>3</sub> , 24 h, Rückfluß	12 eq py	1.35 TsCl	61 %

Die Modellsubstanz 1-Benzyl-1-cyclohexanol wurde in 61 % Ausbeute mit Tosylchlorid zum Olefin dehydratisiert. Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu steigern, wurde das reaktivere Mesylchlorid oder Methansulfonsäureanhydrid verwendet, welches jedoch keine Steigerung der Reaktionsrate bewirkte. Die Ausbeute an Dehydratisierungsprodukt fällt mit zunehmender Konzentration der Edukte, ohne daß die Reaktionsgeschwindigkeit wesentlich gesteigert wurde. Die Eliminierung erfolgte nicht stereoselektiv, sondern es wurde ein 5 zu 1 Gemisch des Diens **100** und des 3-Benzyl[3.2.1]oct-2,6-dien **101** erhalten (Versuch C). Eine Optimie-

zungsmöglichkeit ist die Verwendung des Burgess-Reagenz ((Methoxycarbonylsulfamoyl)-triethylammoniumhydroxid), welches sich besonders zum Eliminieren tertiärer Alkohole eignet.<sup>130</sup> Die ozonolytische Spaltung der Ethylenbrücke des *exo*-3-Benzylbicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol **99** mit anschließender reduktiver Aufarbeitung mit NaBH<sub>4</sub> und Acetylierung führte zur Zersetzung des Bicyclus. Dieser Weg wurde nicht weiter verfolgt.

Die direkte Olefinierung der Carbonylfunktion mittels einer Wittig-Reaktion erfolgte nur in 10 % Ausbeute zu dem 3-Benzylidenbicyclo[3.2.1]oct-6-en **100**. Das Hauptprodukt der Reaktion, die analog der Umsetzung von Benzyltriphenylphosphorylid mit Cyclohexanon durchgeführt wurde,<sup>131</sup> war ein hellbrauner Feststoff, der weder in organischen Lösungsmitteln noch in Wasser löslich war.

Ein Problem, das durch die Einführung des Benzylidenrestes entstand, war die chemoselektive Differenzierung zwischen der di- und trisubstituierten Doppelbindung. Nur nach einer Oxidation der Cyclopentendoppelbindung konnte die Benzylidendoppelbindung hydriert werden. Um die Konkav-Konvex-Lenkung bei der Hydrierung des Bicyclus auszunutzen, sollte die Cyclopentendoppelbindung nur dihydroxyliert werden, damit das Gerüst des Bicyclus erhalten bleibt. Außerdem ist das geminale Diol eine Sollbruchstelle, die mittels Natriumperjodat gespalten werden kann. Die Oxidation mit KMnO<sub>4</sub> oder OsO<sub>4</sub> sollte chemoselektiv an der sterisch weniger anspruchsvollen Cyclopentendoppelbindung stattfinden, die wegen der deformierten Bindungswinkel der trigonalen C-Atome reaktiver ist.



Schema 61: Regioselektive Dihydroxylierung des Diens **100** zu dem Diol **102**

Die Oxidation mit OsO<sub>4</sub> erfolgte katalytisch mit K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> als Cooxidationsmittel in einem <sup>t</sup>BuOH-H<sub>2</sub>O-Zweiphasensystem mit DABCO als Komplexligand. Das stark basische Amin beschleunigt die Reaktion und steigert die Ausbeuten bei reaktionsträgen Olefinen, indem es die Hydrolyse des Osmatesters zum Diol und Os(VI) beschleunigt.<sup>132</sup> Die Oxidation mit KMnO<sub>4</sub> wurde in DCM mit einem Phasentransferkatalysator durchgeführt. Unter diesen Bedingungen bleibt der [3+2]-Cycloadditionskomplex des KMnO<sub>4</sub> mit dem Olefin erhalten und schützt das Diol vor einer weiteren Oxidation durch nicht abreagiertes KMnO<sub>4</sub>. Nachdem die Cycloaddition beendet ist, wird durch eine Hydrolyse mit 3 %-ger NaOH-Lösung der Mn(VI)-Diolester hydrolysiert. Eine Hydrolyse des Mn(VI)-Diolester bei pH 3 - 5 führt zur Spaltung des Diols zum Dialdehyd.<sup>133</sup> Unter diesen Bedingungen wurde von Ogina et al. selektiv *endo*-

<sup>130</sup> E. M. Burgess, H. R. Penton jr., E. A. Taylor, *J. Org. Chem.* **1973**, 38, No. 1, S. 26

<sup>131</sup> G. Wittig, W. Haag, *Chem. Ber.* **1955**, 88, 1654

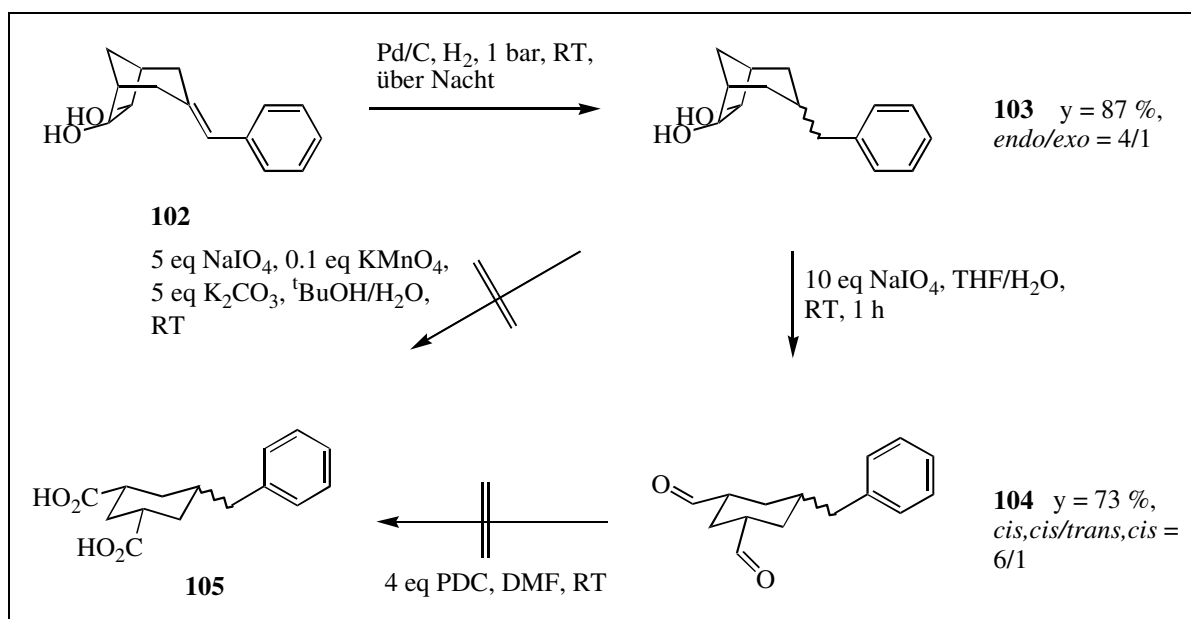
<sup>132</sup> M. Minato, K. Yamamoto, J. Tsuji, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 766

<sup>133</sup> A. J. Fatiadi, *The Classical Permanganate Ion: Still a Novel Oxidant in Organic Chemistry, Synthesis.* **1987**, 1, 85

Dicyclopentadien an der Norbornendoppelbindung dihydroxiliert, so daß man in 83 % Ausbeute 2,6-*exo*-8,9-*exo*-Tricyclo[5.2.1.0<sup>2.6</sup>]dec-3-en-8,9-diol erhielt.<sup>134</sup>

Methode:	Bedingungen:	Ausbeute:
A	0.02 eq OsO <sub>4</sub> , 5 eq K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ], 0.25 eq DABCO, 3 eq K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 2 d, 50° C	57 - 66 %
B	1) 2 eq KMnO <sub>4</sub> , 2 eq Bu <sub>4</sub> NCl, 24 h, RT, 2) 3 %-ge NaOH, 24 h, RT	50 %

Das Diol **102** wurde bei Methoden mit ca. 50 % Ausbeute isoliert. Das andere isomere Diol wurde nicht isoliert, da dieses unter den gegebenen Bedingungen sofort zum Tetrol weiterreagiert, welches infolge seiner hohen Hydrophilie bei der wäßrigen Aufarbeitung verloren geht. Beide Oxidationssysteme zeichnen sich bei diesem Substrat durch eine relativ langsame Reaktionsgeschwindigkeit im Vergleich mit den Literaturbeispielen aus. Die Oxidation mit OsO<sub>4</sub> erfolgt trotz erhöhter Temperaturen langsamer als mit KMnO<sub>4</sub>. Diese geringere Reaktionsgeschwindigkeit könnte die Folge einer sterischen Hinderung des voluminösen DABCO-OsO<sub>4</sub>-Komplex mit dem Substrat sein.



Schema 62: Überführung des *exo*-3-Benzylidenbicyclo[3.2.1]octan-6,7-diol in das *cis,cis*-1,3,5-trisubstituierten Cyclohexan mittels stereoselektiver Hydrierung und oxidativer Spaltung des Diols

Das *exo*-3-Benzylidenbicyclo[3.2.1]octan-6,7-diol **102** wurde anschließend mit Pd/C und Wasserstoff bei Normaldruck und RT hydriert. Nach der Isolierung erhält man ein Gemisch der *endo/exo*-Benzylisomeren im Verhältnis von vier zu eins, welches durch die relativen Integralverhältnisse der <sup>1</sup>H-NMR-Signale der Benzyliden- und der α-Hydroxyprotonen bestimmt wurde.

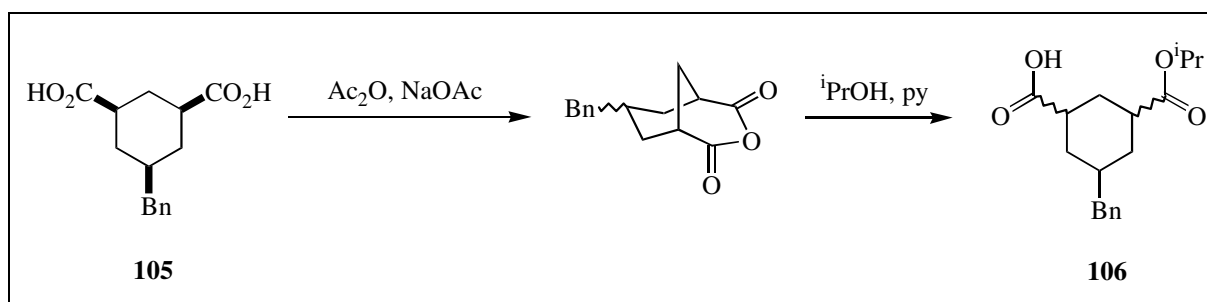
Anschließend spaltete man oxidativ das Isomerengemisch **103** mit Natriumperjodat<sup>135</sup> in einer THF/H<sub>2</sub>O-Lösung bei RT in einer Stunde zum *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbaldehyd

<sup>134</sup> T. Ogino, K. Mochizuki, *Chem. Lett.* **1979**, 443

T. Ogino, *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 177

**104** in 66 - 72 % Ausbeute. Durch die Spaltungsreaktion der Ethylenbrücke des Bicyclus wurde die *cis-cis*-Konfiguration der Substituenten am Cyclohexanring aufgebaut, die durch  $^1\text{H-NMR}$  bestätigt werden konnte. Die großen Kopplungskonstanten von 12.5 Hz (ttt) der  $\alpha$ -Carbaldehydprotonen und von 13.1 Hz (bd) des 3-H-Atoms weisen anhand der Karplus-Kurve auf eine antikoplanare Stellung dieser Protonen zu weiteren Wasserstoffatomen des Cyclohexans hin. Dies ist nur möglich, wenn alle Substituenten äquatorial angeordnet sind und die tertiären Protonen axial stehen, so daß sie in einem  $180^\circ$  Torsionswinkel zu den axialen Methylenprotonen stehen. Das Verhältnis von *cis*- zu *trans*-Benzylisomer, das mittels der Integrale der  $^1\text{H-NMR}$ -Signale der Aldehydprotonen und der Benzylidenprotonen bestimmt wurde, betrug ca. 6 zu 1 bzw. 5 zu 1. Diese Verschiebung zu Gunsten des thermodynamisch stabileren *cis,cis*-Produktes kann die Folge einer Säure oder Basen induzierten Epimerisierung der  $\alpha$ -Aldehydprotonen während der Reaktion oder der Aufarbeitung sein.

Die direkte Überführung des bicyclischen Diols **103** mit  $\text{NaIO}_4$  und katalytischen Mengen  $\text{KMnO}_4$  in  $^t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$  lieferte nur in geringer Ausbeute die verunreinigte *cis,cis*-3-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbonsäure **105**. Eine andere Methode von Corey et al. benutzt PDC in DMF als mildes Oxidationsmittel für Aldehyde.<sup>136</sup> Auch hier wurde das mit DMF verunreinigte, gewünschte Produkt allenfalls in Spuren isoliert. Als Hauptproblem erwies sich die Reinigung der Disäure bzw. die Abtrennung der anorganischen Oxidationsmittel. Nur begrenzt möglich war im zweiten Beispiel die Abtrennung des DMF, das sich in der wäßrigen und in der organischen Phase verteilt, und der Pyridinium-Chrom-Salze, die eine hohe Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln aufweisen und in der Kieselgelchromatographie die gleichen Laufeigenschaften besitzen wie Dicarbonsäuren. Um die Isolierung zu erleichtern, sollte die Dicarbonsäure in das bicyclische Anhydrid oder über das Anhydrid in den Monoester überführt werden, indem die Disäure in Acetanhydrid mit katalytischen Mengen Natriumacetat unter Rückfluß dehydratisiert wurde. Nach dem Einengen wurde das Rohprodukt mit  $^i\text{PrOH}$  und py aufgenommen und eine Stunde erwärmt. Dabei wurden geringe Mengen eines Gemisches isoliert, das aus zwei isomeren Isopropylestern **106** bestand.



Schema 63: Desymmetrisierung der Dicarbonsäure **105** zum Monoisopropylester unter Verlust der Konfiguration der Substituenten durch eine Epimerisierung der Carbonsäurereste

Diese Isomerisierung wird durch die von Armitage et al. gemachte Beobachtung erklärt, daß die *cis,cis*-3-(*tert*-Butyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäure durch die Überführung in das Anhydrid mittels heißem Acetanhydrid und Natriumacetat und anschließender Hydrolyse mit Methanol

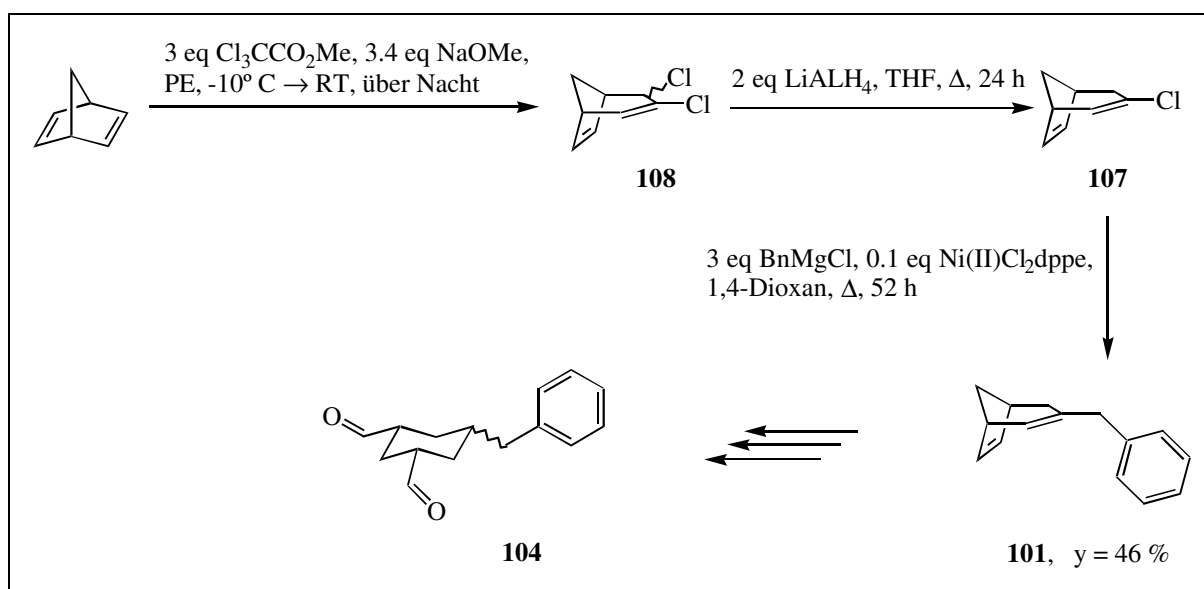
<sup>135</sup> E. P. Lodge, C. H. Heathcock, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3353

<sup>136</sup> E. J. Corey, G. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *5*, 399

den *trans,cis*-3-(*tert*-Butyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuremonomethylester liefert. Die Bildung des Anhydrids ist nicht mit kaltem Acetylchlorid möglich. Der Grund für dieses Reaktionsverhalten ist eine 1,3,5-triaxiale transannulare Abstoßung der Substituenten, die bei der Bildung des Anhydrids auftritt. Unter den epimerisierenden Bedingungen der Anhydridbildung wird das Gleichgewicht zu dem thermodynamisch stabileren *trans,cis*-3-(*tert*-Butyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäureanhydrid verschoben, bei dem der *tert*-Butylrest die äquatoriale Lage einnimmt.<sup>34</sup>

Aufgrund der erfolgreichen Synthese des *cis,cis*-3-(4-Methoxybenzyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylesters **62**, ausgehend von 1,3,5-Benzoltricarbonsäuretrimethylester, wurde diese Syntheseroute nicht weiter verfolgt.

Um die aufwendige Reinigung bei der Synthese des Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ons und die umständliche Einführung des Benzylrestes zu vermeiden, sollte das Dien **100** bzw. **101** direkt synthetisiert werden.



Schema 64: Die Synthese des Dialdehyds ausgehend von Norbornadien

Als geeigneter Vorläufer diente das 3-Chloro[3.2.1]oct-2,6-dien **107**, dessen Vinylchlorid die Möglichkeit der Benzylierung via Metallierung und Substitution oder via *cross coupling* bietet. Das Dien **101** wurde in zwei Schritten aus Norbornadien erhalten.<sup>137</sup> Im ersten Schritt wird ein Dichlorcarben, das aus Trichloressigsäureethylester und Natriummethylat erzeugt wird, an eine der zwei C-C-Doppelbindungen des Norbornadiens addiert. Dieses Addukt lagert spontan zum 3,4-Dichloro[3.2.1]oct-2,6-dien **108** um. Nach einer destillativen Trennung reduzierte man das allylische Chlorid des Dichlorids **108** mit  $\text{LiAlH}_4$ . Nach einer weiteren Destillation wurde das 3-Chloro[3.2.1]oct-2,6-dien **107** in 30 % Ausbeute erhalten. Die Hydrolyse des Vinylchlorids zum Keton mittels  $\text{Cu(I)}$ -Acetat erfolgte nicht, da die Vinylchloride weniger reaktiv sind als die in der Literatur benutzten Vinylbromide. Außerdem zersetzte sich

<sup>137</sup> analog der Vorschrift: C. W. Jefford, J. Gunsher, D. T. Hill, P. Brun, J. Le Gras, B. Waegell, *Org. Synth. Col. Vol. VI*, **1988**, 142



das Vinylchlorid beim Halogen-Metall-Austausch mit Lithium. Als Reaktion der Wahl erwies sich eine Ni(0) katalysierte *cross-coupling*-Reaktion zwischen dem Vinylchlorid **107** und Benzylmagnesiumchlorid.<sup>138</sup> Anschließend wurde das Dien **101** entsprechend der Syntheseroute in den Dialdehyd **104** überführt.

<sup>138</sup> K. Tomao, K. Sumitani, Y. Kiso, M. Zembayashi, A. Fujioka, S. Kodama, I. Nakajima, A. Minato, M. Kumada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 1958

## 7. Studien zur Synthese von neuen cyclischen Ang II-Analoga

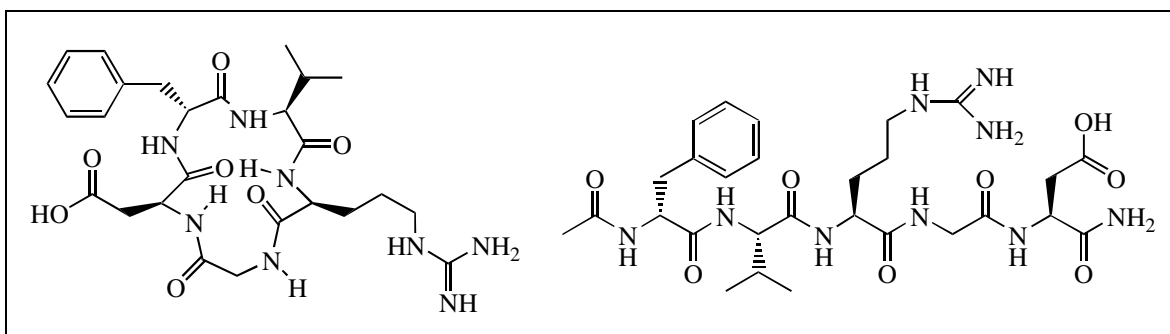
### 7.1 Einleitung

Eine weitere Methode im Arsenal des Chemikers ist die Verknüpfung von Seitenkettenfunktionalitäten von Aminosäuren oder der Termini des Peptids, um cyclische Peptide bzw. cyclische Peptiduntereinheiten zu erhalten. Diese Peptide zeichnen sich durch ein rigides Grundgerüst aus, da durch die Cyclisierung Rotationsfreiheitsgrade des Peptidrückgrates vermindert werden. Durch diese rigide Molekülstruktur können bioaktive Konformationen eingefroren werden, die bei dem uncyclisierten Peptid für die Interaktion mit dem biologischen Wirkort verantwortlich sind. Falls ein Peptid mit mehreren Rezeptoren wechselwirken kann, führt oftmals eine solche Cyclisierung zu einer Erhöhung der Selektivität für einen Rezeptor, da das cyclisierte Peptid nur die notwendige bioaktive Konformation eines Rezeptors zuläßt. Andere Konformationen, die für eine Wechselwirkung mit anderen Rezeptorsubtypen relevant sind, können jedoch wegen der Cyclisierung nicht eingenommen werden.

Diese neuen, konformativ eingeschränkten Peptide geben Aufschluß darüber, welche bioaktive Konformation das uncyclisierte Peptid einnehmen kann. Aufgrund der geringen Modifikationen, die notwendig für die Cyclisierung sind, sind Vergleiche der jeweiligen Struktur des cyclisierten und des uncyclisierten Peptids einfacher durchzuführen. Mit dieser Methode können Turnstrukturen, die als strukturelles Motiv im uncyclisierten Peptid die bioaktive Konformation repräsentieren, identifiziert bzw. stabilisiert werden.

#### 7.1.1 Cyclisierungsmethoden

Die einfachste Möglichkeit zur Cyclisierung ist die Verknüpfung des C- und N-Terminus eines Peptids mittels einer Amidbindung. Bei dieser Methode bleibt die Aminosäuresequenz und die Seitenkettenfunktionalitäten des uncyclisierten Peptids erhalten. Als Beispiel seien hier die  $\alpha_v\beta_3$ -Integrin-Antagonisten genannt, die in letzter Zeit wegen ihrer tumorstatistischen Eigenschaften Interesse gefunden haben, da sie die tumorinduzierte Angiogenese (Neubildung von Blutgefäßen) hemmen können.

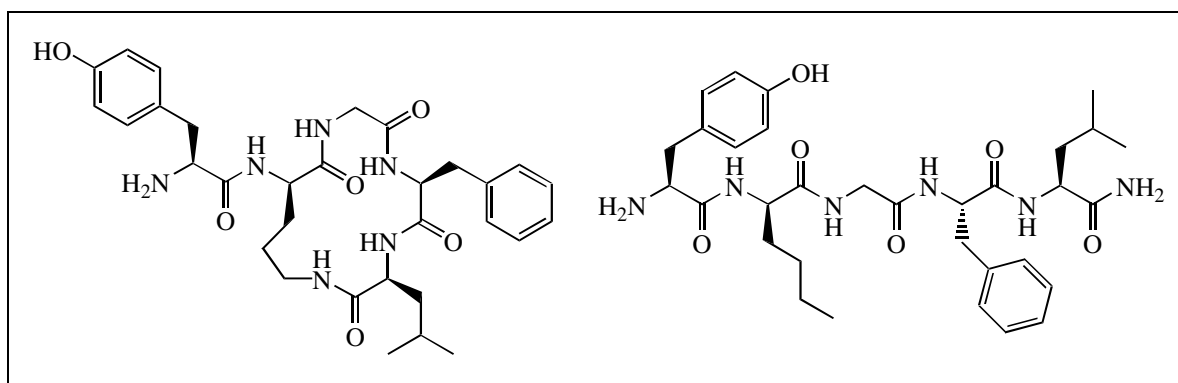


Schema 65: Kessler et al. cyclische 'Kopf-Schwanz'-Peptid

Das cyclische Peptid *cyclo(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-)* ( $IC_{50} = 0.002 \mu\text{mol}$ ) bindet 15-mal stärker an den  $\alpha_v\beta_3$ -Integrin-Rezeptor als die drei linearen Peptide Ac-D-Phe-Val-Arg-Gly-

Asp-NH<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> = 0.03 μmol), Ac-Arg-Gly-Asp-Val-D-Phe-NH<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> = 0.04 μmol) und Ac-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-NH<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> = 0.19 μmol) (Schema 65).<sup>139</sup>

Eine weitere Möglichkeit mittels Amidbindungen Cyclisierungen zu bewirken, ist die Kondensation des α,ε-Diaminosäurerestes Lysin oder des N-Terminus mit den Aminodisäuren Glutaminsäure bzw. Asparaginsäure oder mit dem C-Terminus, um cyclische *homodet* Peptiduntereinheiten zu erhalten. Somit besteht die Möglichkeit nur Teilsequenzen konformativ zu stabilisieren, die für die Rezeptorerkennung notwendig sind, während andere Teilsequenzen ihre Flexibilität beibehalten, um zum Beispiel für die Signalweiterleitung notwendige Konformationsänderungen im Rezeptor zu induzieren. Ein Beispiel für lactamanaloge Peptidmimetika sind die cyclischen [Leu<sup>5</sup>]Enkephalin-Analoga H-Tyr-*cyclo*[-D-Xaa-Gly-Phe-Leu-] (Xaa = Orn, Lys, α,β-Diaminopropansäure oder α,γ-Diaminobuttersäure), die im Gegensatz zu den linearen Peptiden H-Tyr-D-Xaa-Gly-Phe-Leu-NH<sub>2</sub> eine erhöhte Selektivität zu dem μ-Opiatrezeptor im Vergleich zu dem δ-Opiatrezeptor haben (Schema 66). Daraus wird geschlossen, daß der μ- und der δ-Opiatrezeptor unterschiedliche Ligandkonformationen für die Wechselwirkung benötigen. Jedoch zeigen die vier cyclischen Peptide geringere Affinitäten zu dem μ- und dem δ-Opiatrezeptor als die linearen Peptide.<sup>140</sup>



Schema 66: 'Seitenkette-C-Terminus'-Lactam als μ-selektiver Opiatligand

Eine Erweiterung dieses Cyclisierungsmodus ist die Synthese von Peptidlactonen aus Hydroxyaminosäuren und von Peptoliden aus Aminosäuren und Hydroxysäuren. Man erhält cyclische *heterodet* Peptide.

Durch Oxidation von Peptiden, die mindestens zwei freie bzw. entsprechend geschützte Thiofunktionalitäten enthalten, mit Sauerstoff, Jod etc. sind cyclische *heterodet* Peptide zugänglich. Solche Disulfidbrücken sind einerseits strukturelle Merkmale von natürlich vorkommenden Peptiden wie zum Beispiel Oxytocin, Vasopressin, Somatostatin und dem Haarprotein Keratin, das durch seine Disulfidbrücken die Form der Haare bestimmt. Andererseits findet man solche Disulfidbrücken als cyclische Strukturelemente in Peptidmimetika. Generell werden bei dieser Methode zwei oder mehrere Paare von Aminosäureresten durch Cystein

<sup>139</sup> R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440

<sup>140</sup> J. DiMaio, P. W. Schiller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 7162  
P. W. Schiller, J. DiMaio, *Nature (London)* **1982**, *297*, 74

oder Homocystein substituiert und oxidativ cyclisiert. Beispielhaft dafür sind die bereits erwähnten *cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>]Ang II **1**, *cyclo*[Pen<sup>3,5</sup>]Ang II **2** und *cyclo*[Cys<sup>3,5</sup>]Ang II **7**.

Jedoch hat die Disulfidcyclisierung aufgrund der chemischen Eigenschaften der S-S-Bindung einige Nachteile:

- Bei mehreren Thiofunktionen müssen die jeweiligen Thiofunktionen, die später eine Brücke bilden sollen, durch orthogonale Schutzgruppen selektiv entschützt und gekuppelt werden, um eine statistische Bildung der isomeren Disulfide zu verhindern.
- Die Flexibilität der S-S-Bindung ist aufgrund des festgelegten C<sub>x</sub>-S-S-C<sub>y</sub>-Diederwinkels von 90° und der hohen Inversionsbarriere aufgrund der Abstoßung der freien Elektronenpaare<sup>141</sup> eingeschränkt, so daß der Makrocyclus nur bestimmte Konformationen einnehmen kann.
- Aufgrund des Redoxpotentials der S-S-Bindung kann die Bindung durch milde Reduktionsmittel wieder gespalten werden. Solche Spaltungsreaktionen können durch freie Thiole gemäß der Reaktionsgleichung  $R_1-S-S-R_2 + R_3-SH \rightarrow R_1-S-S-R_3 + R_2-SH$  induziert werden. Dies bedeutet häufig eine verminderte metabolische Stabilität *in vivo* und *in vitro*.

Ein äquivalenter Ersatz für die Disulfidbrücke wäre eine Ethyleneinheit, die isoster zur S-S-Bindung ist. Die CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Bindung zeichnet sich allerdings durch eine sehr viel höhere Flexibilität aus.<sup>141</sup> Ein Vinylidenfragment ist ein möglicher synthetischer Vorläufer der Ethyleneinheit. Diese beiden Fragmente haben folgende Vorteile gegenüber der S-S-Bindung:

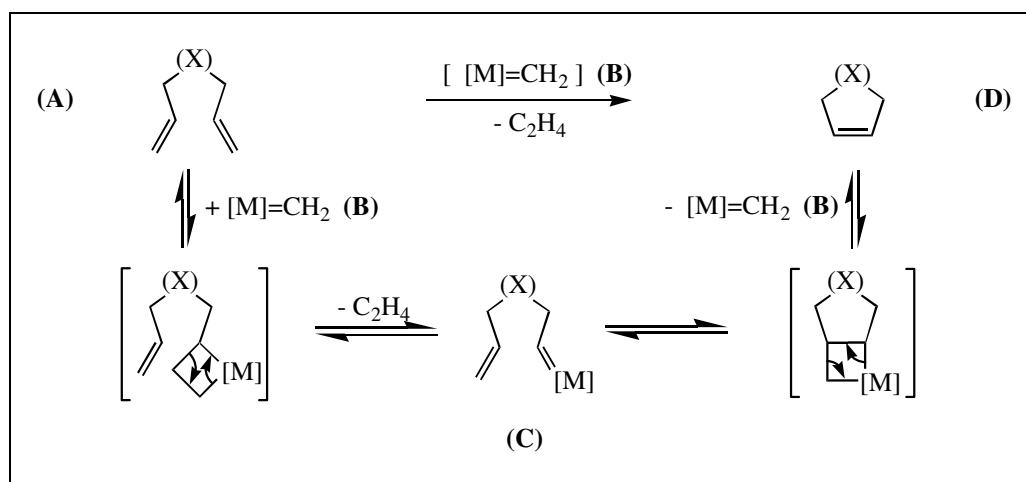
- Die Ethylen- und Vinylidenfragmente sind relativ stabil gegen chemischen und enzymatischen Abbau.
- Das Vinylidenfragment bietet die nachträgliche Möglichkeit der Derivatisierung der Doppelbindung durch Hydrierung, Epoxidierung, Dihydroxilierung, Bromierung etc.
- Durch Wahl des jeweiligen Brücke kann der Makrocyclus durch die Alkangeometrie flexibler bzw. durch die Doppelbindungsgeometrie rigider gestaltet werden.

### 7.1.2 Die Metathesereaktion als Cyclisierungsmethode

Ein neuer synthetischer Zugang zu solchen makrocyclischen Olefinen ist die Ringschlußmetathese (RCM), bei der ein Diolefin mittels eines Übergangsmetallkatalysators unter Verlust eines Alkens zum cyclischen Monoolefin cyclisiert wird. Nach heutiger Kenntnis des Mechanismus besteht der erste Schritt aus einer [2+2]-Cycloaddition zwischen einer C-C-Doppelbindung des acyclischen Substrates A und einem Alkylidenmetallkomplex B zum Anti-Markovnikov-Produkt und einer nachfolgende Cycloreversion des Metallacyclobutans. Im dritten Schritt reagiert der neu gebildete Alkylidenkomplex C intramolekular in einer [2+2]-Cycloaddition mit einer weiteren C-C-Doppelbindung im Molekül A. Der intermediäre Metallabicyclus zerfällt in einer weiteren Cycloreversion zu dem cyclischen monoolefinischen Produkt D und dem Alkylidenkomplex B, der erneut in einen weiteren Katalysecyclus mit einem Olefin reagieren kann. Dabei bilden sich gewöhnlich Z- und E-Isomere des Olefins.

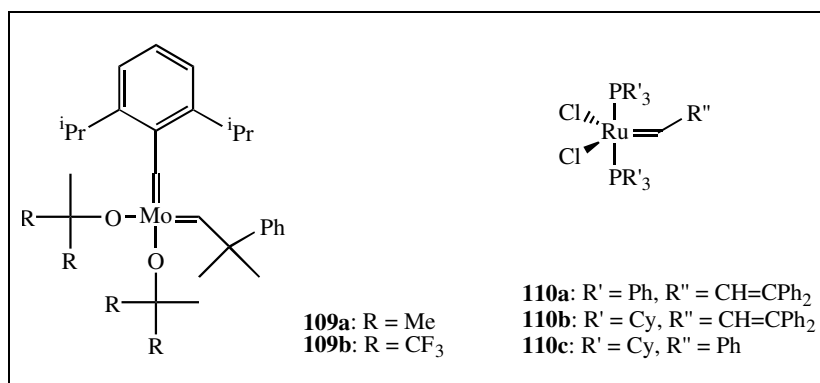
<sup>141</sup> Rotationsbarriere für H-S-S-H: 28.4 und 30.1 kJ/mol; für H<sub>3</sub>C-CH<sub>3</sub>: 12.25 kJ/mol; Holleman-Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 91. - 100. Auflage, **1985**, Walter de Gruyter, Berlin, 559

Das entstehende Ethen verschiebt durch seine Flüchtigkeit das Gleichgewicht auf die Seite des cyclischen Monoolefins (Schema 67).<sup>142</sup>



Schema 67: Katalysezyklus der Ringschlußmetathese

Für die Metathesereaktion werden verschiedene Typen von Katalysatoren eingesetzt. Heterogene Katalysatoren, wie sie in der Petrochemie verwendet werden, sind z. B.  $\text{MoO}_3/\text{CoO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{WO}_3/\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{Re}_2\text{O}_7/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Me}_4\text{Sn}$ . Homogene Katalysatorsysteme, die dem Ziegler-Natta-Typ zugerechnet werden, bestehen z. B. aus  $\text{WCl}_6/\text{EtOH}/\text{EtAlCl}_2$ ,  $\text{WCl}_6/\text{Et}_2\text{O}/\text{SnR}_4$  oder  $[\text{MoCl}_2(\text{NO})_2(\text{PR}_3)_2]/\text{RAlCl}_2$ . Die Nachteile dieser Katalysatoren sind die geringe Toleranz gegenüber polaren Funktionalitäten und  $\text{H}_2\text{O}$  und die schlecht definierte Struktur des tatsächlichen aktiven Katalysators. Ein wesentlicher Fortschritt war die Identifizierung des Methyltrioxorhenium (MTO) als eine aktive Spezies des  $\text{Re}_2\text{O}_7/\text{SnMe}_4$ -Systems.<sup>143</sup>



Schema 68: Metathesekatalysatoren nach Schrock und Grubbs

Die nächste Generation von aktiven Metathesekatalysatoren, die eine weitere Verbesserung in Hinblick auf Reaktivität und Selektivität erzielt haben, sind die von Schrock et al. hergestellten Molybdän-Komplexe **109** und die von Grubbs et al. entwickelten Ruthenium-Komplexe

<sup>142</sup> M. Schuster, S. Blechert, Die Olefinmetathese in der organischen Chemie, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2125

<sup>143</sup> W. A. Herrmann, F. E. Kühn, E. W. Fischer, W. R. Thiel, C. C. Romao, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 4431

**110**.<sup>144, 145</sup> Die als Katalysatoren eingesetzten Alkyliidenübergangsmetallkomplexe initiieren die Metathesereaktion, indem sie aus dem olefinischen Edukt durch [2+2]-Cycloaddition und anschließender Cycloreversion den eigentlichen Katalysator, den Methyliidenübergangsmetallkomplex, erzeugen. Die Schrock-Molybdän-Komplexe **109** zeichnen sich durch einen sehr hohen Anfangsumsatz und eine wesentlich größere Metatheseaktivität als die Ruthenium-Komplexe **110** aus, so daß sie zur Umsetzung von Olefinen mit sterisch anspruchsvoll substituierten Doppelbindungen geeignet sind. Bei den Grubbs-Ruthenium-Komplexen hat der Phenylmethyliidenkomplex **110c** eine sehr hohe Initiierungsgeschwindigkeit, und die Tricyclohexylphosphinokomplexe **110b/c** haben die größte Metatheseaktivität. Der besondere Vorteil der Komplexe **110** ist jedoch die große Toleranz gegenüber vielen polaren Funktionalitäten, so sind sie weniger empfindlich gegenüber Feuchtigkeit und Sauerstoff als die Komplexe **109**. Dies ermöglicht das Arbeiten mit dem Katalysator unter nicht inerten Reaktionsbedingungen. Die Komplexe **110b** und **110c** sind kommerziell erhältlich.

Besonders wegen der großen Toleranz des Ruthenium-Komplexes **110** gegenüber einer Vielzahl von funktionellen Gruppen und der hohen Metatheseaktivität hat die Ringschlußmetathese sich zu einer breit einsetzbaren Methode in der organischen synthetischen Chemie entwickelt. So werden Allylalkohole, Allylether, Allylacetale, Olefine mit Amidfunktionen und Olefine mit tertiären Ammoniumfunktionen umgesetzt. Jedoch reagieren tertiäre Amine und Dialkylsulfide nicht. Neben der Synthese von Fünf- und Sechsringen ist die Ringschlußmetathese auch für die Herstellung von mittleren und großen Ringen geeignet. Ein aktuelles Beispiel aus der Naturstoffsynthese ist die von Nicolaou et al. vorgestellte Synthese von Epothilon A, bei der die Ringschlußmetathese zum 16-gliedrigen Makrolacton der Schlüsselschritt ist (Schema 69).<sup>146</sup> Durch Erweiterung dieser Synthesemethodik auf Festphasen gebundene Diolefine konnten systematisch Epothilonbibliotheken erstellt werden.<sup>147</sup>

<sup>144</sup> R. R. Schrock, J. S. Murdzek, G. C. Bazan, J. Robbins, M. DiMare, M. O'Regan, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3875

<sup>145</sup> S. T. Nguyen, L. K. Johnson, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3974

S. T. Nguyen, R. H. Grubbs, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9858

P. Schwab, M. B. France, J. W. Ziller, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2179

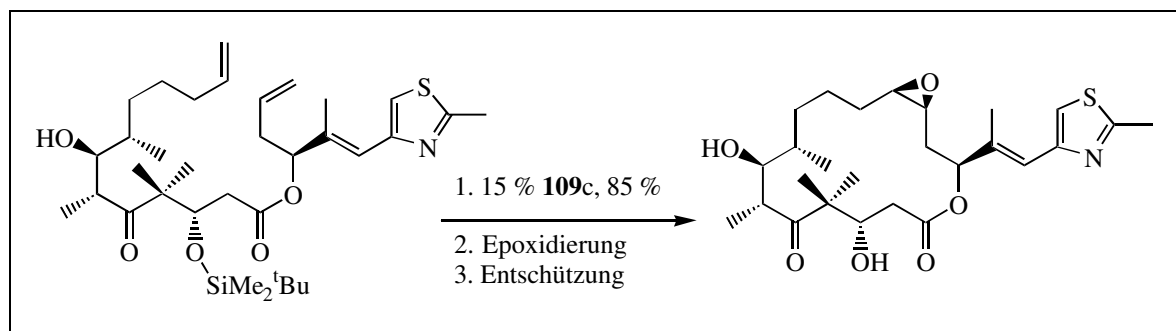
P. Schwab, R. H. Grubbs, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 100

G. C. Fu, S. T. Nguyen, R. H. Grubbs, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9856

S. H. Kim, W. J. Zuercher, N. B. Bowden, R. H. Grubbs, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1073

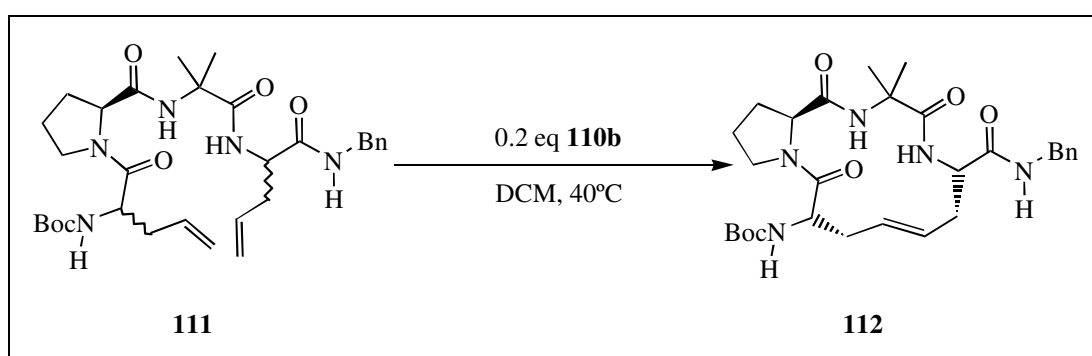
<sup>146</sup> Z. Yang, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, K. C. Nicolaou, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 170

<sup>147</sup> K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, T. Li, J. Pastor, N. Winssinger, Y. He, S. Ninkovic, F. Sarabia, H. Vallberg, F. Roschangar, N. P. King, M. R. V. Finlay, P. Giannakakou, P. Verdier-Pinard, E. Hamel, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2181



Schema 69: Schlüsselschritt in der Epothilon-A-Synthese (Nicolaou et al.)

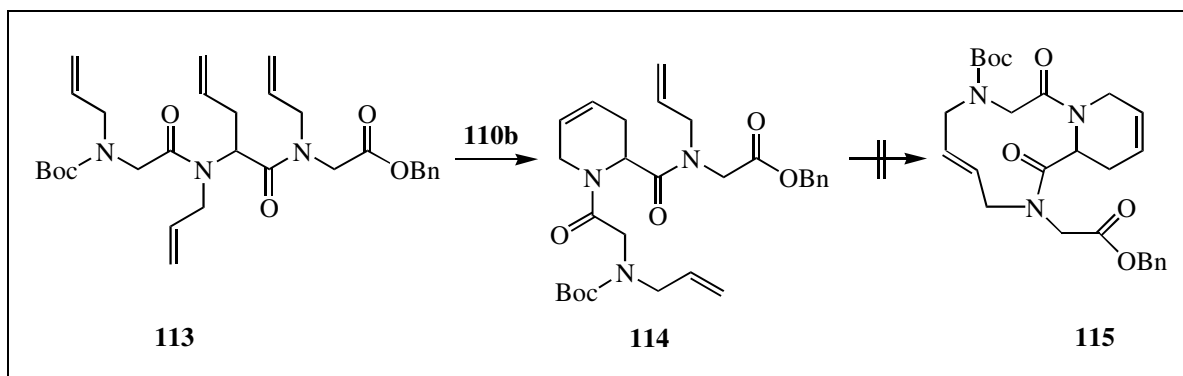
Auch im Bereich von peptidischen Substraten wurde von Grubbs et al. die Anwendbarkeit der Ringschlußmetathese demonstriert. So wird nur eines der Diastereomeren des Modellpeptids **111**, dessen  $\alpha$ -Allylglycinreste racemisch sind, zum cyclischen *heterodet* Peptid **112** cyclisiert.



Schema 70: Cyclisierung des Modellpeptids nach Grubbs et al.

Bei der Umsetzung der reinen Verbindung **111** mit 20 % **110b** in einer Verdünnung von 0.002 M wird **112** in 60 % Ausbeute erhalten.<sup>148</sup> Bei diesem Modellpeptid erzielt man durch das Prolin in der zweiten Position, welches eine cisoide  $\psi$ -Bindung hat, und durch die sterisch anspruchsvolle  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure ( $\alpha$ -Methylalanin) in der dritten Position, welche den geminalen Dialkyleffekt (Thorpe-Ingold-Effekt) hervorruft, eine Vorfaltung des linearen Peptids zu einer  $\beta$ -Turn-Konformation. Dies hat eine hinreichende Annäherung der Doppelbindungen für die Cyclisierung zur Folge. In einer weiteren Veröffentlichung haben Grubbs et al. gezeigt, daß die beiden konformativ eingeschränkten Aminosäuren Prolin und  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure gegen Leucin ausgetauscht werden können. Essentiell ist jedoch auch hier die schwächer ausgeprägte  $\beta$ -Schleife. So wurde Boc-( $\alpha$ -Allyl)Gly-Leu-Leu-( $\alpha$ -Allyl)Gly-OBn in 60 % Ausbeute mit 0.3 eq Katalysator **110b** in DCM bei 45° C innerhalb von 21 Stunden zu dem cyclischen Peptid umgesetzt. Außerdem konnte gezeigt werden, daß diese Methode für die Festphasenpeptidsynthese geeignet ist. Das an einem festen Träger gebundene Peptid Fmoc-Gly-( $\alpha$ -Allyl)Gly-Pro-Tyr(<sup>t</sup>Bu)-( $\alpha$ -Allyl)Gly-Val-NH-(PEG/PS)-Harz wurde nach der Reaktion mit 0.5 eq **110b** in DCM bei 40° C als ein 3 zu 2 Gemisch des cyclischen und des linearen Peptids vom Harz abgespalten.

<sup>148</sup> S. J. Miller, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5855



Schema 71: Das Tetraolefin **113** von Grubbs et al. reagiert nur zum sechsgliedrigen Heterocyclus **114**, nicht zum 1-3-cyclisierten Bicyclus.

Die Umsetzung des tetraolefinischen Peptids **113** erfolgte nur zum monocyclischen Produkt **114**. Die Cyclisierung zum 1-3-verbrückten Produkt **115** konnte von Grubbs et al. nicht beobachtet werden (Schema 71).<sup>149</sup>

Diese Resultate veranlaßten uns, diese Methode für die Synthese olefinischer cyclischer Peptide als konformativ eingeschränkte Peptidmimetika zu verwenden. Dabei bieten sich das *cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>]Ang II **1** und das *cyclo*[Cyc<sup>3,5</sup>]Ang II **7** als Modellstrukturen an, weil die Ang II-Analoga eine S-S-Bindung haben, die aufgrund ihrer Disulfidbrücke ein aktives Mimetikum sind und die durch eine Vinylidenbrücke ausgetauscht werden kann. Damit wäre ein Vergleich der beiden Cyclisierungsmodi in Hinblick auf die biologische Aktivität möglich (Schema 72).

Da enantiomerenreine  $\alpha$ -Allylglycine nur über mehrstufige Synthesen zugänglich sind und möglicherweise nur ein Diastereomer der vier Diastereomeren cyclisiert, wurde der Ersatz des  $\alpha$ -Allylglycins durch das achirale N-Allylglycin geplant. Das N-Allylglycin ist durch die Prozedur von Zuckermann et al.<sup>150</sup> leicht zu synthetisieren, und besitzt im Peptid eine höhere Flexibilität als das  $\alpha$ -Allylglycin, so daß die Cyclisierung erleichtert sein sollte.

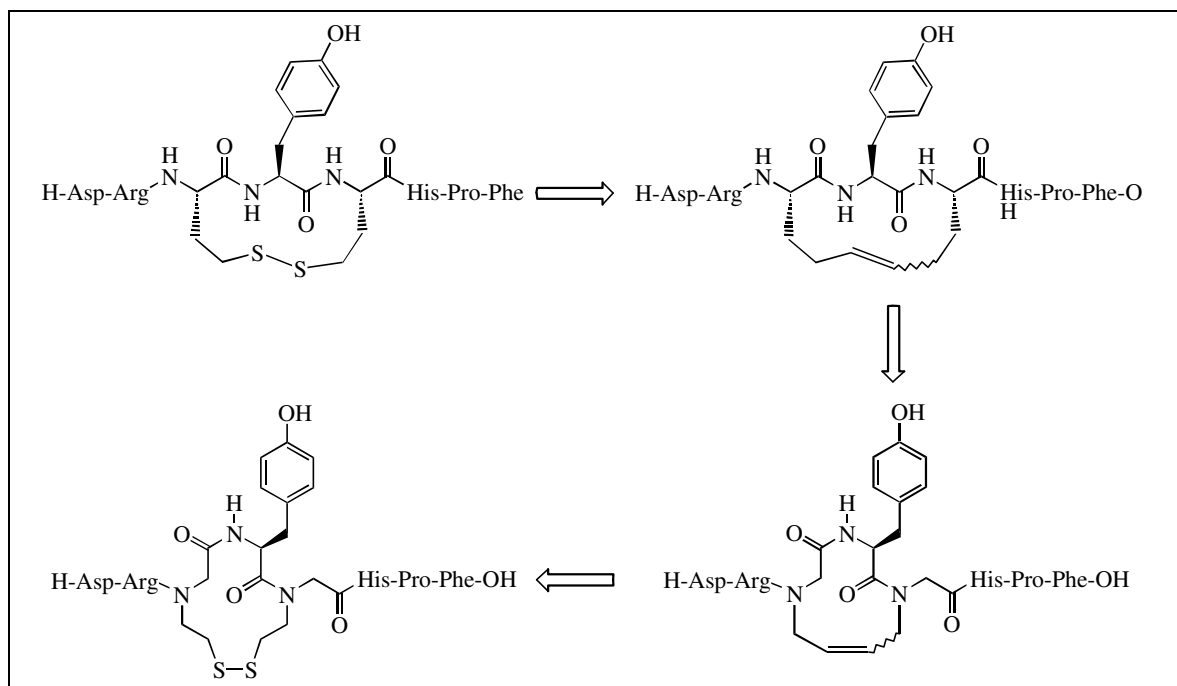
Um direkte Vergleiche mit einem Disulfid verbrückten Peptidmimetikum machen zu können, sollte ein dem Peptid *cyclo*[(N-Etd)Gly<sup>3,5</sup>]Ang II **116**<sup>151</sup> analoges Disulfidmimetikum **117** synthetisiert werden. Die Synthese ist in einer analogen Weise möglich. Die Cyclisierung erfolgt anschließend durch Oxidation der freien N-(2-Mercaptoethyl)glycinreste (Nmg) nach Standardmethoden. Diese neue Verbindung zeigt den Einfluß, welche die Position der Verbrückung auf die Aktivität des Peptids hat.

<sup>149</sup> S. J. Miller, H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9606

<sup>150</sup> R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10646

<sup>151</sup> Der einfacheren Benennung wegen werden die verbrückenden Vinylidenaminosäuren in den cyclischen Peptiden durch N-Etd-Gly abgekürzt (Etd: Ethylden; -CH<sub>2</sub>-CH=).





Schema 72:  $cyclo[Hcy^{3,5}]Ang II$  **1** als Leitstruktur für mögliche cyclische Ang II-Mimetika mit Vinylidenbrücke bzw. mit N-(Mercaptoethyl)disulfidbrücke

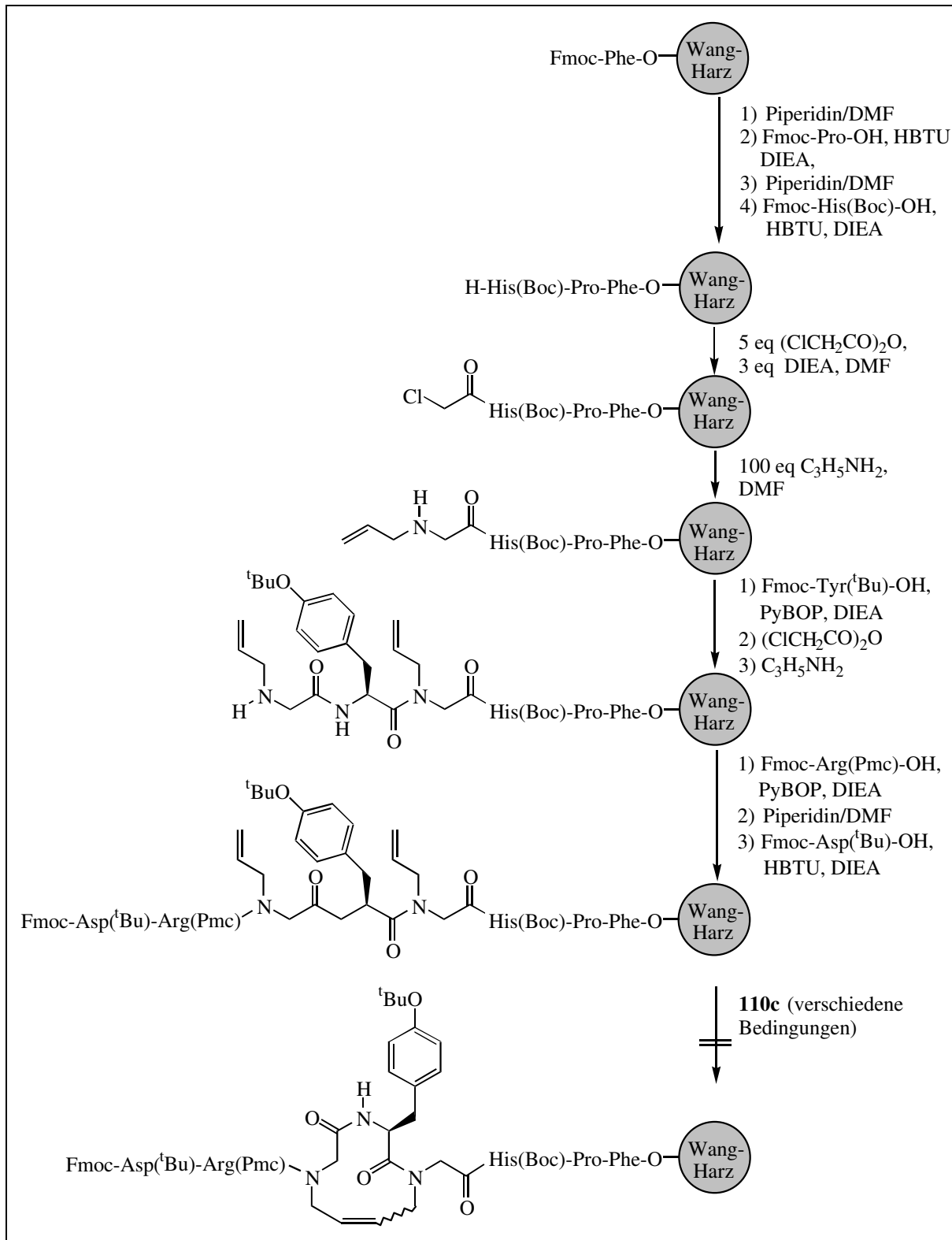
Die Synthese der Peptide erfolgte mittels Fmoc-Festphasentechnik auf einem Wang-Harz. Als Schutzgruppen für das Tyrosin und die Asparaginsäure wurde die *tert.*-Butylether bzw. *tert.*-Butylester gewählt, und der N-Terminus wurde mit der Fmoc-Schutzgruppe versehen. Diese Schutzgruppen sollten kompatibel mit den Metathesereaktionsbedingungen sein, wie es bereits schon von Grubbs et al. demonstriert wurde. Schwieriger ist die geeignete Maskierung des Histidins und des Arginins, da sie aufgrund ihrer starken *Lewis*-Basizität den Katalysator durch Komplexbildung inhibieren. Deshalb wurde für das Histidin die Tritylschutzgruppe durch die *tert.*-Butoxycarbonylschutzgruppe ersetzt, um die Elektronendichte des Imidazols durch den Akzeptorcharakter der Formylgruppe zu senken. Für die Guanidinfunktionalität des Arginins wird die Pmc-Schutzgruppe beibehalten, da die Sulfonylfunktionalität der Pmc-Schutzgruppe aufgrund ihrer Elektronegativität die Elektronendichte am Guanidin senkt.

Das harzgebundene Tripeptid H-His(Boc)-Pro-Phe wurde analog der Standardprozedur mittels drei Äquivalenten HBTU und Fmoc-geschützter Aminosäure und sechs Äquivalenten DIEA und anschließender Demaskierung des N-Terminus mittels 20 %-iger (v/v) Piperidin-DMF-Lösung aus einem Phe-Wang-Harz aufgebaut. Das Harz wurde dann mit DMF und DCM gewaschen, getrocknet und für die zwei Ansätze aufgeteilt.

## 7.2 Versuche zur RCM von (N-(Allyl)Gly<sup>3,5</sup>)Ang II (118)

Das N-Allylglycin wurde in zwei Schritten nach der Prozedur von Zuckermann et al. eingeführt. Der N-Terminus wurde mit fünf Äquivalenten Chloressigsäureanhydrid und drei Äquivalenten DIEA acetyliert. Im zweiten Schritt substituierte man das Chlorid durch Allylamin in einer  $S_N2$ -Reaktion. Um die Reaktion zu beschleunigen, wurde ein 100-facher Überschuss gewählt. Dies ist möglich, da man überschüssiges Edukt durch einfaches Waschen des polymeren Trägers entfernen kann und Mehrfachalkylierung desamins durch die Pseudoverdün-

nung des Chlorids auf dem Harz nicht möglich ist. Die von Zuckermann et al. beschriebene Verwendung von DMSO für die  $S_N2$ -Reaktion ist nicht unbedingt erforderlich. Die Polarität von DMF ist für diese Reaktion ausreichend. Dadurch entfällt der Solvenswechsel.



Schema 73: Synthese des (3,5-N-Allyl-Gly)Ang II an einem polymeren Träger

Nach dem Einführen des Tyrosins mit PyBOP und DIEA wurde ein weiterer N-Allylglycinrest durch die oben beschriebene Methode eingeführt, welcher mit Fmoc-Arg(Pmc)-OH, PyBOP

und DIEA acetyliert wurde. Da die sekundären Amine der N-Allylglycinreste langsamer acetyliert werden, verwendete man PyBOP anstatt von HBTU, da dieses bei längeren Reaktionszeiten zu weniger Nebenreaktionen neigt als HBTU. Der Asparaginrest wurde wieder nach der Standardprozedur mit HBTU und DIEA eingeführt.

Die Cyclisierung zum cyclischen Olefin wurde mit dem Katalysator **110c**<sup>152</sup> unter verschiedenen Bedingungen versucht. Es wurde ein Teil des Harzes und der Katalysator in einem silanierten Glaskolben mit Septum unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt, mit dem in der Tabelle angegebenen trockenen Lösungsmittel versetzt und für eine bestimmte Zeit erwärmt. Die Reaktion wurde durch PDMS verfolgt, indem eine kleine, vom Harz entnommene Probe mit DMF und DCM gewaschen wurde. Anschließend spaltete man das Peptid mit einer TFA-TESH-H<sub>2</sub>O-Lösung (90/5/5) vom Polymer ab. Ein Teil der Peptid-TFA-Lösung wurde mit Ethanol verdünnt, zentrifugiert und auf einem Nitrocelluloseträger im Stickstoffstrom getrocknet.

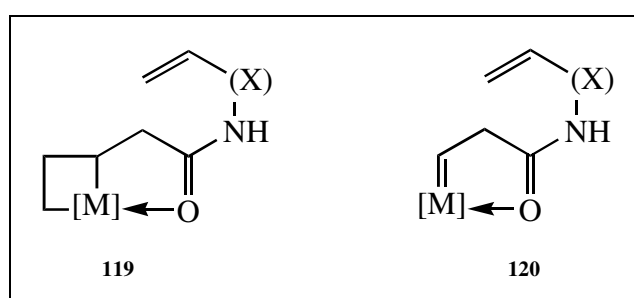
Versuch:	Bedingungen:	T, t	Ergebnis:
1	0.6 eq <b>110c</b> , 0.024 g Harz auf 2.2 ml DCM	5 h bei RT, 19 h bei 40° C	Lösung färbte sich von violett nach braun. kein Produkt
2	0.46 eq <b>110c</b> , 0.028 g Harz auf 2.5 ml PhH	15 h bei 70° C	dito
3	0.43 eq <b>110c</b> , 0.025 g Harz auf 2.2 ml CHCl <sub>3</sub>	7 h bei 0° C und Ultraschall	dito

In allen drei Versuchen konnte kein Edukt nachgewiesen werden. Das Harz verfärbte sich mit zunehmender Reaktionszeit braun. Nach dem Behandeln des Harzes mit TFA wurde es schwarz. Dies deutet darauf hin, daß der Katalysator in das Harz diffundiert ist und dort gebunden wurde. Den Versuch 1 terminierte man durch Zugabe von 0.3 ml 4-Methyl-1-penten und rührte weitere 28 Stunden bei 40° C. Es konnten keine Kreuzmetatheseprodukte des Peptids **118** mit dem 4-Methyl-1-penten mittels PDMS detektiert werden und keine Dimerisierungsprodukte des 4-Methyl-1-penten in der Reaktionslösung mittels GC-MS nachgewiesen werden. Dies deutet auf eine Inaktivierung des Katalysators hin. Das Versagen der Metathesereaktion kann mehrere Gründe als Ursache haben:

- Der Metathesekatalysator wird entweder durch das Peptid oder durch das Harz gebunden und inaktiviert. Die Maskierung des Histidinrestes durch die Boc-Schutzgruppe und des Argininrestes durch die Pmc-Schutzgruppe ist nicht ausreichend, so daß ein möglicher Imidazol- bzw. Guanidin-Katalysator-Komplex den Katalysator irreversibel bindet. Anstatt das von Grubbs et al. benutzte Polyethylenglycol-Polystyrol-Copolymer wurde das klassische Merrifield-Harz (Polystyrol mit 1 % Divinylbenzol vernetzt) benutzt. Das Merrifield-Harz besitzt eine geringere Quellfähigkeit als das PEG/PS-Copolymer, so daß zwar der Katalysator in das Harz diffundiert jedoch aufgrund der geringeren Beweglichkeit nicht mit dem Peptid reagieren kann.

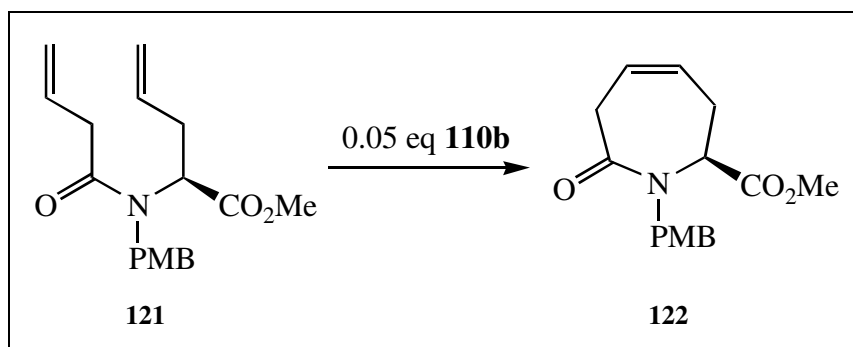
<sup>152</sup> kommerziell erworben bei Strem Chemicals Inc., 44-0065

- Aufgrund des 1-3-Abstandes der N-Allylglycinreste ( $\gamma$ -Turn ähnliches Motiv) kann der Übergangszustand für die zweite [2+2]-Cycloaddition des Peptidylen-Ruthenium-Komplexes mit der zweiten C-C-Doppelbindung nicht eingenommen werden, und der Katalysezyclus wird somit unterbrochen. An dem Modellpeptid Ac-(N-Allyl)Gly-Gly-(N-Allyl)Gly-OEt konnte B. Schmidt zeigen, daß die Ringschlußmetathese bei 40° C in DCM mit dem Katalysator **110c** nicht funktioniert.<sup>153</sup> Auch wurden von Grubbs et al. nur Beispiele publiziert, bei denen die olefinischen Aminosäurereste einen 1-4-Abstand ( $\beta$ -Turn ähnliches Motiv) hatten.
- Es gibt Beispiele, bei denen die normalerweise inerte Amidbindung den Metathesekatalysator durch intramolekulare Komplexierung inhibiert. Dabei bilden sich bei  $\alpha,\beta$ - und  $\beta,\gamma$ -ungesättigten Amiden die durch den Carbonylsauerstoff intramolekular komplexierten Metallkomplexe **119** und **120** (Schema 74).



Schema 74: Intramolekulare Komplexierung durch eine Amidbindung

Ein Beispiel von Rutjes et al. ist die Cyclisierung des N-(4-Methoxybenzyl)-N-(3-butenoyl)- $\alpha$ -allylglycinmethylester **121**, welcher in 65 % Ausbeute zu dem  $\epsilon$ -Lactam **122** umgesetzt wird. Bei Abwesenheit der PMB-Schutzgruppe sinkt die Ausbeute auf 20 %.<sup>154</sup>



Schema 75: Beispiel für ein olefinisches Substrat, das nur mit Amidschutzgruppen in hoher Ausbeute cyclisiert

Für weitere Untersuchungen müßten also verschiedene Aspekte für die Ringschlußmetathese geklärt werden: Anhand von einfachen Modellsystemen mit aliphatischen Aminosäuren muß der Einfluß des 1-3-Abstandes der olefinischen Aminosäuren bestimmt werden. Um den Ringschluß zu forcieren, ist der Einbau von Prolin als cisoide Aminosäure in die 2-Position

<sup>153</sup> B. Schmidt, unveröffentlichte Ergebnisse

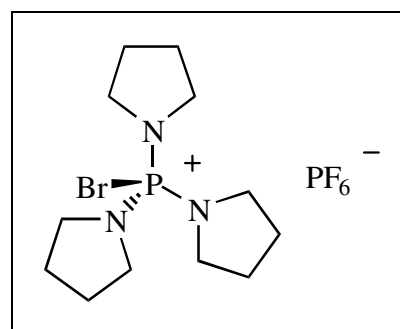
<sup>154</sup> F. P. J. T. Rutjes, H. E. Schoemaker, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 677

denkbar.<sup>155</sup> Dadurch wird der Abstand zwischen den beiden C-C-Doppelbindungen verringert. Eine weitere Möglichkeit ist das Gleichgewicht der *cis-trans*-Isomere zu verschieben, indem die Amidbindung zwischen dem ersten und dem zweiten Aminosäurerest mit einer Schutzgruppe versehen wird, die aufgrund der Pseudo-Allylspannung die Rotation um die Amidbindung ermöglichen sollte, so daß sich die beiden C-C-Doppelbindungen annähern können. Bei einem funktionierenden Modellsystem muß durch sukzessives Einführen von funktionalisierten Aminosäuren, die entsprechend maskiert sind, der Einfluß dieser Zweitfunktionen untersucht werden und gegebenenfalls dementsprechend modifiziert werden.

### 7.3 Synthese des *cyclo*[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II (117)

Die Synthese des linearen Peptids erfolgte analog der Darstellung des [N-(Allyl)Gly<sup>3,5</sup>]Ang II. Der N-(2-Mercaptoethyl)glycinrest wurde durch Substitution eines  $\alpha$ -Bromacetates mit S-Triphenylmethyl-2-aminoethanthiol **123** in DMF eingeführt. Aufgrund des sterischen Anspruches der Tritylschutzgruppe wurde das Bromid als bessere Abgangsgruppe gewählt, welches durch Acetylierung des N-Terminus mit  $\alpha$ -Bromessigsäure, DIC und DIEA eingeführt wurde. Bei der Acetylierung mit  $\alpha$ -Bromessigsäure sollte das Harz nicht länger als 30 Minuten in der Reaktionslösung suspendiert sein, da sonst Nebenreaktionen auftreten. Die Substitution mit 15 Äquivalenten des Amins **123** in DMF war in zwei Stunden quantitativ verlaufen. Für die Sulfhydrylfunktion wurde die Tritylschutzgruppe gewählt, weil man diese durch konzentrierte TFA unter Freisetzung des Thiols oder durch Oxidationsmittel unter Bildung von Disulfiden abspalten kann, so daß verschiedene Möglichkeiten zur Disulfidbildung bestehen. Außerdem ist das S-Triphenylmethyl-2-aminoethanthiol durch Umsetzung von 2-Aminoethanthiol mit Triphenylmethanol und Bortrifluorid-Etherat in AcOH und anschließender Umkristallisation leicht zugänglich.

Für die Acetylierung des sterisch anspruchsvollen Aminosäurerestes N-(2-Tritylsulfanylethyl)glycin war die Aktivierung des einzuführenden Fmoc-Tyr(<sup>t</sup>Bu)-OH als 1-Hydroxybenzotriazol-Aktivester mittels PyBOP nicht ausreichend. Wie man durch PDMS nachweisen kann, wird der N-Terminus des Peptids nur sehr langsam acyliert. Deshalb wurde PyBroP **124** als Kondensationsmittel benutzt (Schema 76), welches die Aminosäure in ein reaktives Acylbromid überführt. PyBroP wurde für die Kondensation von Aminosäuren mit sterisch anspruchsvollen N-Termini wie z. B.  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure entwickelt.<sup>156</sup> Die verbliebenen nicht acetylierten Aminofunktionen des Peptids wurden mit Ac<sub>2</sub>O in DMF und DIEA terminiert. Anschließend wurde das Peptid analog der Prozedur mit  $\alpha$ -Bromessigsäure, DIC und

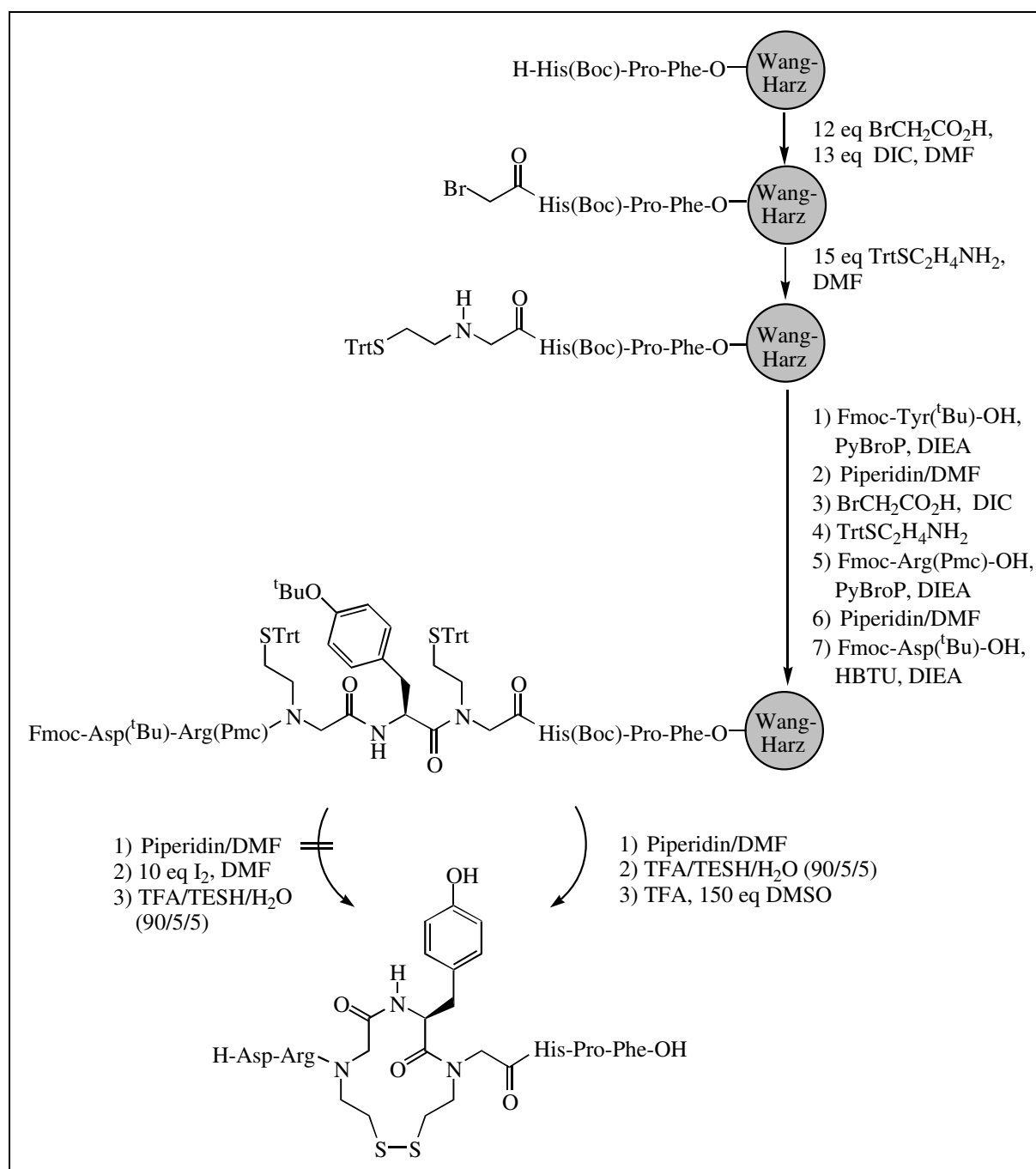


Schema 76: PyBroP

<sup>155</sup> Die *cis/trans*-Isomerie der Xaa-Pro-Amidbindung ist z. B. mit <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie bestimmbar. S. J. Oppella, L. M. Gierasch, *The Peptides*, Eds.: S. Udenfriend, J. Meienhofer, **1985**, Academic Press, Orlando, 7, 419

<sup>156</sup> J. Coste, M.-N. Dufour, A. Pantaloni, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 32, 669

DIEA, mit S-Triphenylmethyl-2-aminoethanthiol und mit Fmoc-Arg(Pmc)-OH, PyBroP und DIEA verlängert. Der Asparaginrest wurde wieder nach der Standardprozedur mit HBTU und DIEA eingeführt.



Schema 77: Syntheschema für das *cyclo*[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II

Für die Oxidation von freien oder geschützten Thiolen sind eine Vielzahl von Oxidationsmitteln wie zum Beispiel Luftsauerstoff, Jod, Dirhodan, Tl(OAc)<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, DMSO verwendet worden. Für die direkte Oxidation von Trityl-geschützten Thiolen ist das elektrophile Jod geeignet, so daß die Cyclisierung zum Disulfid auf dem polymeren Träger durchgeführt werden kann. So wurde von Albericio et al. Ac-Cys(Trt)-Pro-Val-Cys(Trt)-PAL-Harz mit 1.5 Äqui-

valenten Jod und anschließender Abspaltung in 80 % Ausbeute cyclisiert.<sup>157</sup> Durch die so gegebene Pseudoverdünnung werden Di- und Oligomerisierungen, die als Nebenreaktionen auftreten, unterdrückt. Für die Oxidation wurden 6.7 mg des Harzes mit 10 Äquivalenten Jod in 0.9 ml DMF bei ca. 5° C für eine Stunde gelagert. Anschließend wurde das Harz mit DMF und DCM gewaschen, getrocknet und in TFA/TESH/H<sub>2</sub>O (90/5/5) suspendiert. Das Peptid fällte man anschließend mit Ether, spülte es mit Ether und trocknete den Feststoff im Vakuum. Der Rückstand wurde mit C<sub>18</sub>-Reversed Phase-HPLC analysiert (Schema 77).

Alternativ wurde das Peptid mittels TFA-TESH-H<sub>2</sub>O-Lösung abgespalten, mit Ether gefällt und gewaschen. Das ungereinigte Peptid wurde mit 150 Äquivalenten DMSO in TFA (c = 0.01 M) gelöst, über Nacht bei RT gelagert und durch Fällern und Waschen mit Ether isoliert. Das Rohprodukt des linearen und des cyclischen Peptids trennte man mittels HPLC und charakterisierte die Fraktionen mit PDMS. Anhand der HPLC-Chromatogramme beobachtete man, daß sich die Retentionszeit für das lineare Peptid nach der Oxidation mit DMSO veränderte, da durch die Cyclisierung die Lipophilie des Moleküls größer wird. Das Kontrollchromatogramm des Gemisches der beiden Peptide zeigte, daß es sich um zwei verschiedene Substanzen handelte. Die Oxidation mit Jod in DMF hatte unter den beschriebenen Bedingungen nicht das gewünschte Produkt geliefert, da keine Signale für das *cyclo*[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II noch für das [Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II mit den entsprechenden Retentionszeiten im HPLC-Chromatogramm sichtbar waren. Das ist ein weiterer Hinweis, daß die Cyclisierung der funktionalisierten Glycine im 1-3-Abstand durch sterische Gründe auf dem benutzten festen Träger gehemmt ist. Die Ausbeute mit 3 % bezogen auf das entschützte Peptid ist sehr gering, aber nicht optimiert. Durch Synthese des Harz gebundenen Peptids nach der optimierten Prozedur ist eine Steigerung der Ausbeute an dem uncyclisierten Vorläufer möglich, so daß die gesteigerte Reinheit des linearen Vorläufers die möglichen Nebenreaktionen mit z. B. Monosulphydrylpeptiden verringert. Eine andere Möglichkeit die Nebenreaktionen zu unterdrücken, ist die Isolierung des linearen [Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II mittels HPLC und anschließender Oxidation des reinen Peptids. Außerdem kann das Oxidationssystem durch Zusatz von TMSCl gesteigert werden.<sup>158</sup> Die Verwendung eines anderen Oxidationsmittel ist auch denkbar. Ein weiterer wichtiger Punkt ist, daß die Ausbeute des cyclischen Disulfids stark von der Ringspannung abhängt. So wurde das gespannte Ang II-Analogon *cyclo*[Sar<sup>1</sup>,Mpc<sup>3</sup>,Cys<sup>5</sup>]Ang II (Mpc: *cis*-4-Mercaptoproline) von Marshall et al. in nur 2.2 % Ausbeute ausgehend von dem rohen linearen Peptid dargestellt. Marshall erklärte dies durch eine reversible Öffnung des gespannten cyclischen Disulfids mit einer anschließenden Dimerisierung zu dem thermodynamisch stabileren, cyclischen *antiparallel*-Dimer bzw. mit einer anschließenden Oligomerisierung bei der Aufarbeitung.<sup>159</sup>

<sup>157</sup> F. Albericio, R. P. Hammer, C. Garcia-Echeverria, M. A. Molins, J. L. Chang, M. C. Munson, M. Pons, E. Giralt, G. Barany, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1991**, 37, 402

<sup>158</sup> H. Tamamura, T. Ishihara, A. Otaka, T. Koide, K. Miyoshi, T. Ibuka, N. Fujii, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 1911

<sup>159</sup> K. Plucinska, T. Kataoka, M. Yodo, W. L. Cody, J. X. He, C. Humblet, G. H. Lu, E. Lunney, T. C. Major, R. L. Panek, P. Schelkum, R. Skeean, G. R. Marshall, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1902

Das Ang II-Mimetikum *cyclo*[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II **117** zeigte keine Bindungsaffinität zum AT<sub>1</sub>-Rezeptor (siehe Kapitel 8).

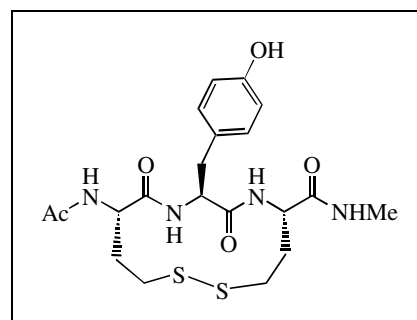
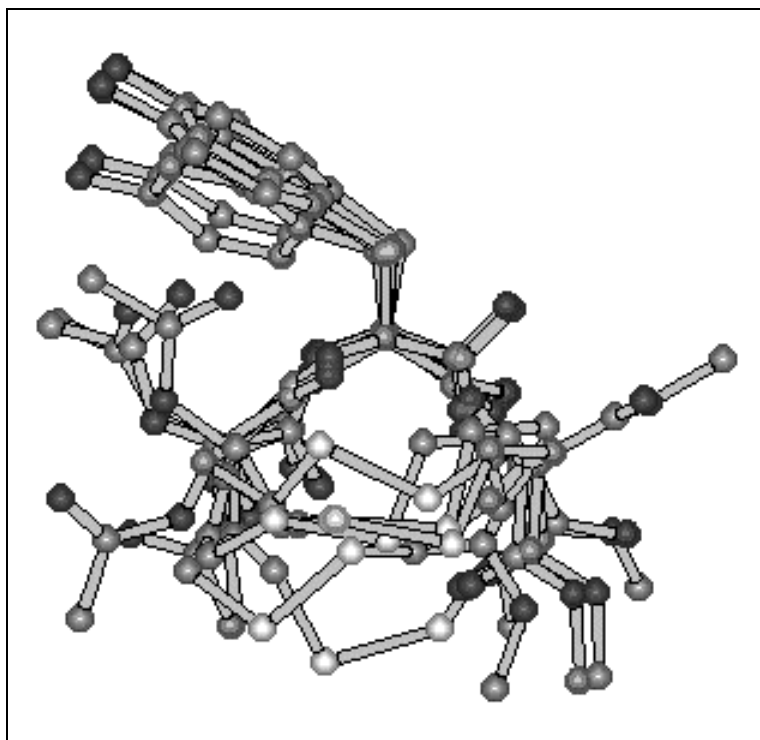
#### 7.4 Diskussion der Struktur-Aktivitäts-Beziehung

Das Disulfid-Ang II-Analogon *cyclo*[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II zeichnet sich gegenüber dem hochaktiven *cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>]Ang II durch eine um ein Atom in Richtung N-Terminus verschobene -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Brücke aus. Dadurch werden die Protonen der zweiten und vierten Amidbindung durch Alkylgruppen ersetzt, so daß das *cyclo*[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II an diesen Positionen keine Wasserstoffbrücken zum Rezeptor ausbilden kann, die möglicherweise notwendig für die Bindung sind.

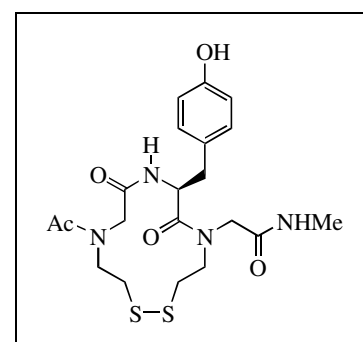
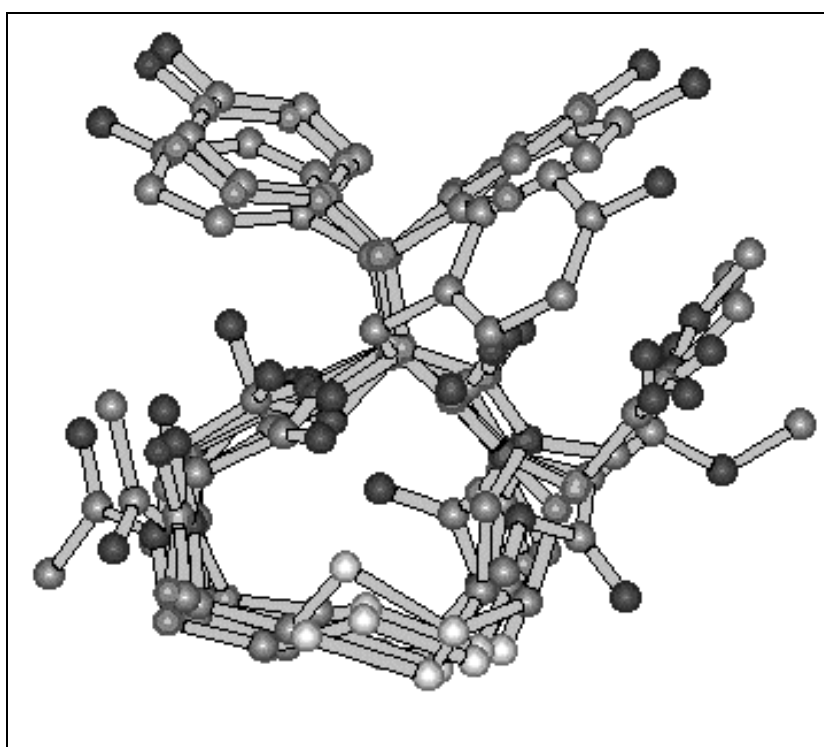
Darüber hinaus sind auch konformative Veränderungen in der Peptidkette durch die Verschiebung der Cyclisierungsbrücke zu erwarten, da sich die Geometrie der Brückenkopf-atome von einer tetragonalen Konfiguration zu einer trigonalen ändert. Um eine Vorstellung zu erhalten, welche Konformationen das cyclische Strukturmotiv -*cyclo*(Nmg-Tyr-Nmg)- einnimmt, wurde eine Konformationssuche mit der Programmerweiterung *Chem Plus* für *Hyper Chem 3.0* durchgeführt. Bei der Optimierung von einer Molekülstruktur ergibt sich bei der Verwendung von Suchalgorithmen der Kraftfeldprogramme das Problem, daß bei der Suche des Energieminimums auf der Energiehyperfläche des molekularen Systems möglicherweise nur ein lokales Minimum gefunden wird, das trotzdem einer energiereichen Konformation relativ zum globalen Minimum entspricht. Um verschiedene Minima zu finden, ist es notwendig die Startstruktur zu variieren. Bei der Konformationssuche durch *Chem Plus* werden Torsionswinkel definiert, die anschließend automatisch nach dem Zufallsprinzip variiert werden. Nach jeder Winkelveränderung wird die so erhaltene Struktur mit einem beliebigen Kraftfeld optimiert. Die so erhaltenen Konformationen werden anschließend nach bestimmten Kriterien selektiert und für weitere Strukturvariationen und Optimierungen benutzt. Auswahlkriterien sind Korrektheit der vorhandenen chiralen Zentren, die Energiedifferenz zu der energieärmsten Konformation und die Duplizität zu bereits gefundenen Strukturen, die durch die Energiedifferenz zu bereits gefundenen Strukturen und/oder durch die Strukturabweichung des gefundenen Konformers mit den anderen Konformationen definiert wird.

Für diese Konformationssuche wurde das Amber-Kraftfeld benutzt, das ein für die Berechnung von Peptiden geeignetes Molekülmechanikkraftfeld ist. Außerdem ist das Kraftfeldprogramm schneller als MM+, so daß mehr Konformationen berechnet werden können. Ansonsten wurden die Standardabbruchskriterien von *Hyper Chem 3.0* benutzt. Für die Variation der Torsionswinkel wurden folgende Winkel verwendet:  $\varphi_1$ ,  $\psi_1$ ,  $\varphi_2$ ,  $\psi_2$ ,  $\varphi_3$ , -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>- und -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-. Es wurden bis zu acht Winkel gleichzeitig geändert. Die erhaltenen Konformationen wurden verworfen, wenn sich die Konstitution der chiralen Zentren verändert hatte, wenn die Energie um 100 kcal/mol höher war als der niedrigste Energiewert und wenn die Übereinstimmung der Ringatome mit anderen Konformationen einen RMS-Fehler von kleiner gleich 0.3 Å hatte.





Schema 78: Strukturformel und Überlagerung der sechs stabilsten Konformationen der Modellverbindung *Ac-cyclo*(Hcy-Tyr-Hcy)-NMe (**125**); Hellgrau: Schwefel; Grau: Kohlenstoff; Dunkelgrau: Stickstoff und Sauerstoff; Die Wasserstoffatome wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit ausgeblendet.



Schema 79: Strukturformel und Überlagerung der sechs stabilsten Konformationen der Modellverbindung *Ac-cyclo*(Nmg-Tyr-Nmg)-NMe (**126**); Atomlegende siehe oben

Für die Visualisierung der Ergebnisse wurden die sechs energieärmsten Konformationen mit dem *least square fit*-Verfahren überlagert (Schema 78 und Schema 79). Für die Überlagerung des Peptids **125** wurden die  $\alpha$ -Kohlenstoffatome gewählt. Die Energiedifferenz zwischen dem stabilsten Konformer und der sechsten Konformation beträgt 11.7 kJ/mol. Mittels der Gleichung  $N_{(i+1)}/N_i = e^{-(\Delta E/RT)}$  läßt sich aus der Energiedifferenz der Verteilungskoeffizient zwischen den beiden Energieniveaus bestimmen. Bei Raumtemperatur liegt das Molekül nur zu ungefähr 1 % in der energiereicheren Konformation vor. Die Betrachtung von weniger stabilen Konformationen erübrigt sich deshalb. Für die Überlagerung des Peptids **126** wurden das

$\alpha$ -Kohlenstoffatom des Tyrosins und die Stickstoffatome der beiden Glycinreste gewählt. Die Energiedifferenz zwischen der stabilsten und sechsten Konformation beträgt 6.7 kJ/mol. Dieser Wert entspricht einem Besetzungsgrad von ungefähr 6 % für das Energieniveau der sechsten Konformation. Die Analyse der Torsionswinkel  $\phi$  und  $\psi$  des Tyr<sup>2</sup> und des Nmg<sup>3</sup> ergab, daß keine definierten Turnstrukturen eingenommen werden. Anhand der Kugelstabmodelle der beiden cyclischen Peptide **125** und **126** sieht man, daß die relative Anordnung der Ringsubstituenten sich durch die Verschiebung der  $-(\text{CH}_2)_2\text{-S-S-(CH}_2)_2$ -Brücke zueinander verändert. Während in beiden Molekülen der 4-Hydroxybenzylrest eine pseudoäquatoriale Position einnimmt, verringert sich der Abstand zwischen dem  $\beta$ -Kohlenstoff des Tyrosinrestes und dem Methylkohlenstoffatom des C-terminalen Amids von durchschnittlich  $(7.5 \pm 1.0)$  Å auf  $(6.4 \pm 0.7)$  Å. Dafür vergrößert sich die Distanz zwischen dem  $\beta$ -Kohlenstoff des Tyrosinrestes und dem Carbonylkohlenstoffatom der N-terminalen Acetylgruppe. Jedoch aufgrund der großen Varianz des Abstandes ( $(5.4 \pm 1.0)$  Å) beim *Ac-cyclo(Hcy-Tyr-Hcy)-NMe* bleibt die durchschnittliche Distanz mit  $(5.4 \pm 0.5)$  Å konstant. Ein weiterer Punkt ist die flexible Orientierung des C-Terminus vom *Ac-cyclo(Hcy-Tyr-Hcy)-NMe*, der sowohl axiale als auch äquatoriale Position einnehmen kann. Der C-Terminus des berechneten Modellcyclus **126** liegt nur in der äquatorialen Position vor. Ähnliche strukturelle Begebenheiten beim *cyclo[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II* wie bei der Modellverbindung **126** können die Konformation des Peptidrückgrates so verändern, daß die relevanten Pharmakophore nicht mehr mit dem Rezeptor wechselwirken können. Die Folge wäre das Ausbleiben der biologischen Aktivität. Für weitere strukturelle Evaluierungen sind jedoch NMR-Experimente des *cyclo[Nmg<sup>3,5</sup>]Ang II* notwendig, um genauere Aussagen über die Konformation zu erhalten.

## 8. Pharmakologische Testergebnisse

Die Bindungsstudien der Ang II-Analoga führte Susanna Lindman<sup>160</sup> an Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters durch, in denen der Ratten-AT<sub>1</sub>-Rezeptor exprimiert wurde. Diese Zelllinie wurde von Dr. T. Schwartz bereitgestellt.<sup>161</sup>

Die Zellen vermehrten sich in einem RPMI-Medium mit 10 % Fötusserum vom Kalb und Antibiotika. Anschließend wurde die Nährlösung mit dem HBSS-Bindungspuffer ersetzt.<sup>162</sup> Nach zehn Minuten bei 37° C zentrifugierte man die Suspension, dekantierte ab und nahm die

<sup>160</sup> Department of Organic Pharmaceutical Chemistry, Uppsala Universitet, Biomedicinska Centrum, Box 574, S-75123 Uppsala

<sup>161</sup> H. T. Schambye, S. A. Hjorth, D. J. Bergsma, G. Sathe, T. W. Schwartz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1994**, *91*, 7046

H. T. Schambye, S. A. Hjorth, J. Weinstock, T. W. Schwartz, *Molecular Pharmacology* **1994**, *47*, 425

<sup>162</sup> HBSS: *Hank's Balanced Salt Solution*; 500 ml *minimum essential medium* enthalten 3 g HEPES, 1 g BSA (Bovine Serum Albumin), 98 mg Phenantrolin, gelöst in 2 ml EtOH, 50  $\mu$ l Leupeptide-Lösung (5 mg/ml), 5 ml Bacitracin (20 mg/ml) und einige Tropfen NaOH, um pH 7,6 einzustellen.

Zellen mit HBSS auf. Die Suspension wurde in 24 Vertiefungen einer 96-Microtiterplatte verteilt und durch Zentrifugieren und Abdekantieren wurde die überstehende Lösung entfernt. Anschließend verteilte man die zwölf Rezeptorligandlösungen mit den unterschiedlichen Konzentrationen auf die Zellproben. Die zwölf Konzentrationen wurden mittels einer Verdünnungsreihe hergestellt. Der potentielle Rezeptorligand löste man in 250  $\mu\text{l}$  einer Lösung aus dem Radioliganden  $^{125}\text{I}$ -Ang II und dem Bindungspuffer, die eine Konzentration von circa 20000 cpm/50  $\mu\text{l}$  aufwies. Anschließend wurden durch sukzessives Verdünnen von 57  $\mu\text{l}$  der jeweiligen verdünntesten Rezeptorligandlösung mit 123  $\mu\text{l}$   $^{125}\text{I}$ -Ang II-Lösung elf weitere Konzentrationen hergestellt.

Nach einer Stunde bei RT wurde die Suspension zentrifugiert und die Lösung abdekantiert. Die Zellen wurden mit drei Tropfen eiskaltem Bindungspuffer gespült und anschließend mit vier Tropfen 0.1 M NaOH aufgenommen. Nach zehn Minuten konnte die Radioaktivität der Suspension in einem  $\gamma$ -Zähler gemessen werden. Die Daten wurden mit dem Programm *GratFit 3.0* (Softwindows) ausgewertet. Zum Vergleich wurden die bekannten Verbindungen **9**, **1**, **2** und **7** getestet.

Verbindung	IC <sub>50</sub> (nM) <sup>a</sup>
Ang II	2.60 $\pm$ 0.34
Dup 753 ( <b>9</b> )	26.1 $\pm$ 9.1
<i>cyclo</i> [Hcy <sup>3,5</sup> ]Ang II ( <b>1</b> )	0.17 $\pm$ 0.02
<i>cyclo</i> [Cys <sup>3,5</sup> ]Ang II ( <b>2</b> )	300 $\pm$ 170
<i>cyclo</i> [Pen <sup>3,5</sup> ]Ang II ( <b>7</b> )	1.63 $\pm$ 0.13
<b>12</b>	2.08 <sup>b</sup>
<b>13</b>	2.88 <sup>b</sup>
<b>80</b>	>1000
<b>81</b>	>1000
<b>117</b>	>1000

Die Bindungsaffinitäten der synthetisierten Mimetika **80**, **81** und **117**

a Die Tests wurden mit BSA durchgeführt.

b Diese Werte (ohne BSA) wurden der Publikation von A. Hallberg entnommen.<sup>11</sup>

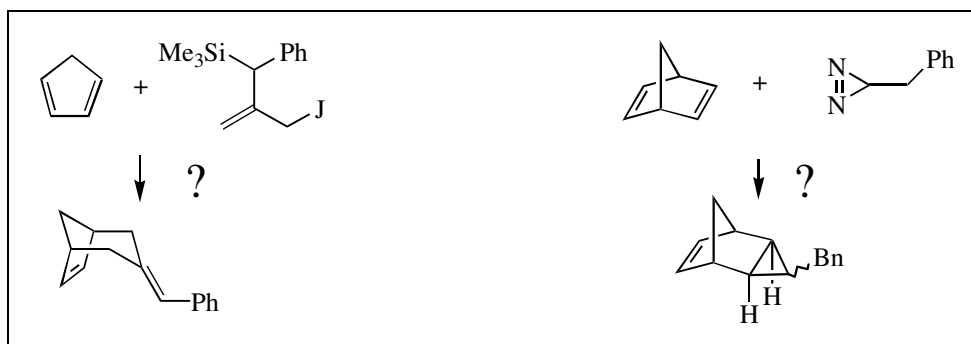
Das Testergebnis zeigt, daß die Cyclohexanmimetika **80** und **81** und das Disulfidanalogen **117** keine signifikante Bindungsaffinität zu dem Ratten-AT<sub>1</sub>-Rezeptor im nanomolaren Bereich zeigen.

## 9. Fazit und Ausblick

Im ersten Abschnitt dieser Arbeit wurde die Synthese der diastereomeren Ang II-Analoga **80** und **81** mit einem potentiellen inversen  $\gamma$ -Turn-Mimetikum beschrieben. Als  $\gamma$ -Turn-Templat diente die *cis,cis*-5-Benzyl-3-aminomethylcyclohexancarbonsäure **29** mit unterschiedlichen Resten in der aromatischen *para*-Position. Die Synthese des Templates **29** erfolgte mittels einer Desymmetrisierung der *meso*-Diester **62** und **67** mit einer anschließenden Substitution mit  $\text{HN}_3$  bzw. mit Phthalimid. Als besonders effektiv erwies sich die Reduktion mit etwas mehr als 2 eq  $\text{LiBH}(\text{sec-Bu})_3$ , die in einem Schritt mit 70 - 80% Ausbeute den Hydroxyester **69** lieferte.

Für die Synthese des *para*-substituierten *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester bzw. den *cis,cis*-5-Benzyl-1,3-cyclohexandicarbaldehyd **104** wurden zwei unterschiedliche Methoden entwickelt. Die erste Methode benutzt den einfach zugänglichen *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylester **36**, der in drei Stufen mit 65 % Ausbeute aus der wohlfeilen 1,3,5-Benzoltricarbonsäure hergestellt wird. Für die Einführung des Benzylrestes erwies sich die Addition eines Phenylgrignards an ein 2-Pyridylthioester als Methode der Wahl. Nach einer Desoxygenierung des Arylketons durch eine katalytische Hydrierung erhielt man ausgehend vom Vorläufer **36** den Benzyl-diester **67** in 64 % Ausbeute.

Die zweite Synthesestrategie zur Darstellung des Dialdehyds **104** geht von Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on **39** als Startmaterial aus. Die stereoselektive Einführung des Benzylrestes erfolgte durch eine Grignardaddition an die Ketofunktion, Eliminierung des Alkohols und einer stereoselektive Hydrierung mit einem *endo/exo*-Verhältnis von vier zu eins für den Benzylsubstituenten. Die zwei C-C-Doppelbindungen des intermediären Diens **100** wurden durch eine regioselektive Dihydroxilierung differenziert. Dieses Diol wurde nach der Hydrierung mittels  $\text{NaIO}_4$  gespalten, um den Dialdehyd **104** zu erhalten. Die stereoselektive Substitution von den bicyclischen Tosylaten **40** und **41** mit Kohlenstoffnucleophilen führte zu unbefriedigenden Ergebnissen aufgrund der stereochemischen Eigenschaften der Tosylate und wurde nicht weiter verfolgt.



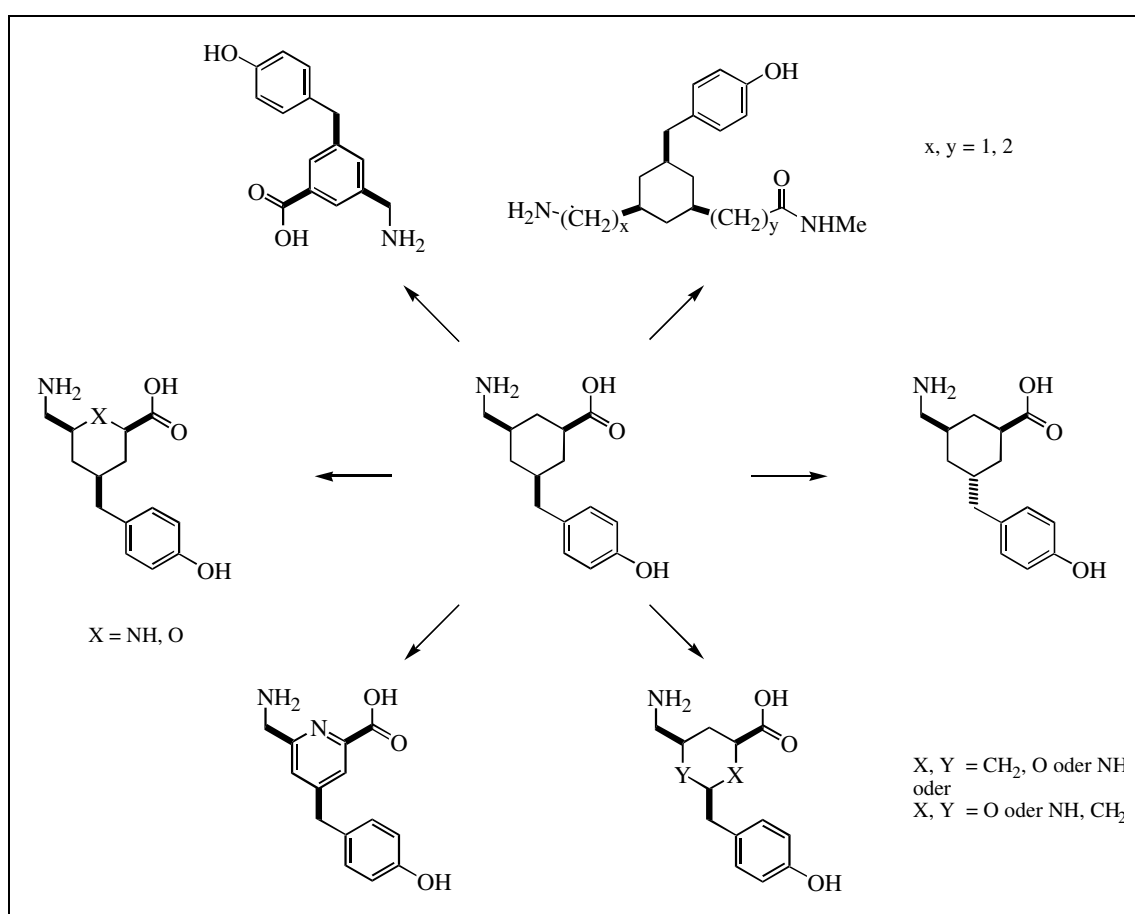
Schema 80: Mögliche Verbesserung der Bicyclo[3.2.1]-oct-6-en-Synthese durch eine Erhöhung der Konvergenz

Ein Nachteil dieser Synthesestrategie ist die umständliche Synthese der Benzyl-substituierten Bicyclen **100** bzw. **101**, da erst der Bicyclus aufgebaut und anschließend in vier bzw. drei Stufen der Benzylrest eingeführt wurde. Eleganter ist die direkte Synthese des Benzyl-

substituierten Bicyclus mittels einer [4+3]-Cycloaddition eines entsprechend substituierten Oxyallylkation oder einer Carbenaddition an Norbornadien analog der Dichlorcarbenaddition, um eine hoch konvergente Synthese zu erhalten (Schema 80).

Die *cis,cis*-3-Aminomethyl-5-benzylcyclohexancarbonsäure **29** zeigt in einer *least square fit*-Überlagerung eine gute räumliche Ähnlichkeit mit einem inversen  $\gamma$ -Turn. Jedoch wiesen die beiden Ang II-Analoga **80** und **81** keine signifikante Bindungaffinitäten zu dem AT<sub>1</sub>-Rezeptor in einem *in vitro*-Essay auf. Dies wurde mit drei möglichen Erklärungen begründet:

- Die bioaktive Konformation ist kein inverser  $\gamma$ -Turn.
- Das Templat repräsentiert keinen inversen  $\gamma$ -Turn.
- Die Phenolmethylierung verhinderte eine Rezeptorbindung.

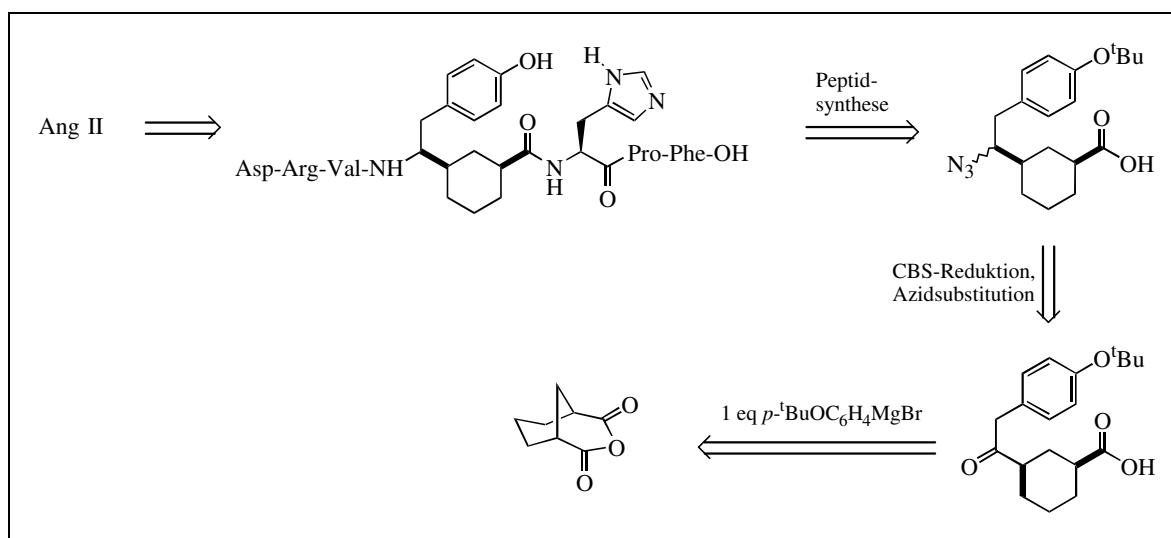


Schema 81: Weitere mögliche Schleifenmimetika, die sich aus dem 1,3,5-*cis,cis*-trisubstituierten  $\gamma$ -Turn-Mimetikum **29** ableiten lassen.

Aufgrund der letzten möglichen Erklärung wurden die beiden Ang II-Derivate **82** und **83** mit freier Phenolschutzgruppe synthetisiert. Als Vereinfachung und Verbesserung erfolgte die Inkorporation des Templates als Azidocarbonsäure **79** mit anschließender Reduktion des Azids zur Aminofunktion an dem festen Träger für die Peptidsynthese. Dadurch wurde die Synthese um zwei Stufen verkürzt, und es wurde die schwierige Aufarbeitung der freien Aminosäure vermieden. Bis dato liegen noch keine Testergebnisse über die Bindungaffinitäten zum AT<sub>1</sub>-Rezeptor von **82** und **83** vor.

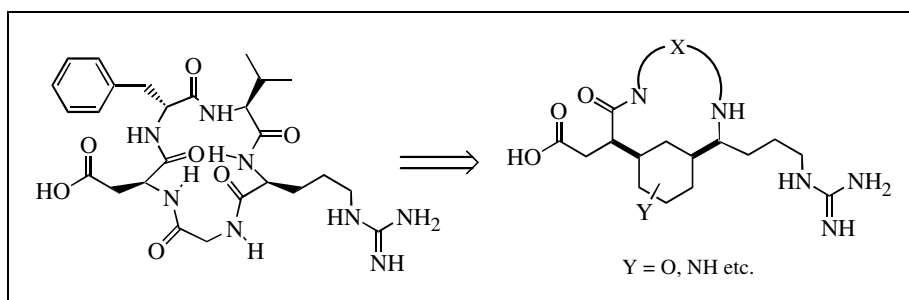
Falls diese Peptide eine schwache Rezeptorbindung zeigen, bietet dieses Templat die Möglichkeit weiterer Derivatisierungsmöglichkeiten, um eine größere Diversität an Templatstrukturen zu erreichen (Schema 81).

Falls keine Aktivität festgestellt wird, besteht weiterhin die Möglichkeit, dieses potentielle Schleifenmimetikum in anderen Positionen bzw. Peptiden einzubauen. Dieses Templat könnte als Schleifen induzierender Ersatz für die Tyr<sup>4</sup>-Ile<sup>5</sup>-Sequenz in Ang II eingebaut werden, um das Modell der Deprotonierungskaskade nachzuahmen (Schema 82).



Schema 82: Ein Cyclohexantemplat als Schleifenmimetikum für die 4,5-Position in Ang II

Als weiteres biologisches Target sind die  $\alpha_v\beta_3$ -Integrin-Rezeptoren von besonders aktuellen Interesse (Schema 83), weil die signalgebende RGD-Sequenz durch hochselektive cyclische Pentapeptide mit einem  $\gamma$ -Turn inhibiert werden kann. Sie haben ein pharmakologisches Potential in der Tumorbehandlung durch die Inhibierung der Angiogenese (siehe Kapitel 7.1.1).



Schema 83: Ein Cyclohexantemplat als  $\gamma$ -Turn-Mimetikum für ein potentiellen  $\alpha_v\beta_3$ -Integrin-Rezeptorinhibitor

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit wurde eine neue Peptidcyclisierung vorgestellt, indem zwei in ein Peptid eingeführte N-(2-Mercaptoethyl)glycinreste durch eine Oxidation mit DMSO-TFA-Lösung zum Disulfid dimerisiert werden. Dieses Schleifenmotiv entspricht jedoch keinem der klassischen  $\gamma$ - oder  $\beta$ -Turns. Für weitere Evaluierungen dieser Cyclisierungsmethode sind Untersuchungen mittels <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen an weiteren Verbindungen mit unterschiedlicher Aminosäuresequenz und differierenden Abständen der N-(2-Mercaptoethyl)glycinreste notwendig.

Die Cyclisierung der olefinischen Reste des [N-Allyl-Gly<sup>3,5</sup>]Ang II **118** mittels der RCM-Reaktion war nicht möglich. Dieses Ausbleiben der Metathesereaktion kann mehrere Gründe haben. Ein Hauptgrund ist die Bildung eines gespannten 11-Ringes, deren Synthese mittels RCM noch nicht in der Literatur beschrieben wurde. Eine einfache Versuchsmodifikation ist die Verwendung von 3-Butenamin oder von 2-Amino-5-hexensäure (Homoallylglycin), so daß man ein 13-gliedrigen Makrocyclus erhalten würde. Dies würde auch der Ringgröße des *cyclo*[Hcy<sup>3,5</sup>]Ang II **1** entsprechen.

## II. Experimenteller Teil

### 1. Allgemeine Bemerkungen

Die  $^1\text{H}$ -NMR- bzw.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden mit den Spektrometern Bruker WP 200 SY, Bruker AM 400, Varian Unity 400 und Jeol JNM-EX 270 mit den Meßfrequenzen 200 (50.3) MHz, 400.1 (100.6) MHz, 400.0 MHz und 270 (67.8) MHz aufgenommen. Die Messungen erfolgten bei Raumtemperatur und in den angegebenen deuterierten Lösungsmitteln mit Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard. Die chemischen Verschiebungen sind auf der  $\delta$ -Skala in "parts per million" (ppm) angegeben. Die Multiplizitäten der Signale werden durch folgende Abkürzungen bzw. deren Kombination charakterisiert: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, qui = Quintett, m = Multipllett, Präfix b = breit. Die Kopplungskonstanten sind in Hertz angegeben. Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden entweder als DEPT oder APT aufgenommen.

Die Infrarotspektren (IR) wurden mit dem Elektrophotometer 580 oder dem FT-Spektrometer der Firma Perkin-Elmer aufgenommen. Die unterschiedlichen Aufnahmetechniken sind jeweils gekennzeichnet durch:  $\text{CHCl}_3$  = Lösung in Chloroform, KBr = KBr-Preßling, Kap.-Film = Kapilarfilm. Die Angabe der Wellenzahlen ( $\text{cm}^{-1}$ ) erfolgt mit Kennzeichnung der relativen Intensitäten: s = stark, m = mittel, w = schwach, Präfix b = breit.

Die Massenspektren (MS, MS-FAB, HR-MS) wurden mit dem MAT 312 Spektrometer der Firma Finnigan (Ionisierungspotential 70 eV) oder dem Autospec der Firma VG aufgenommen. Die Meßtemperatur und die relativen Intensitäten, in Prozent zum Basispeak, sind jeweils angegeben. MS-FAB-Spektren wurden bei Raumtemperatur in m-NBA (m-Nitrobenzylalkohol) gemessen. Die Plasmadesorptionmassenspektren (PDMS) wurden mit dem Applied Biosystems BIOION 20 aufgenommen. Als Matrix dienten mit Nitrocellulose beschichtete Aluminiumträger.

Die Elementaranalysen (EA) wurden mit dem Gerät CHN-Rapid der Firma Heräus oder dem Elementar Vario EL durchgeführt.

Die Aminosäureanalysen und die Bestimmung des Peptidgehaltes wurden von Dr. M. Sunquist an Hydrolysaten, die 24 h in Salzsäure erhitzt wurden, mit dem LKB 4151 Alpha-Plus-Analyser mit Ninhydrindetektion durchgeführt.

Die Schmelzpunkte (mp.) wurden mit einer Büchi Apparatur nach Dr. Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert.

HPLC-Trennungen und Analysen wurden mit den VYDAC-Säulen 218TP10415 ( $\text{C}_{18}$ , 10  $\mu\text{m}$ , 0.46 x 15 cm) und 218TP1010 ( $\text{C}_{18}$ , 10  $\mu\text{m}$ , 1 x 25 cm) durchgeführt. Die Gaschromatogramme (GC) wurden mit einem HP-5800 II Gaschromatograph der Firma Hewlett-Packard mit einer SE-54-Kapilarsäule (Länge 25 m, Firma Macherey-Nagel) unter Verwendung von  $\text{N}_2$  als Trägergas aufgenommen. Die Detektion erfolgte mit einem Flammenionisationsdetektor. Mit einem HP 3896 Integrator wurden die Signale integriert. Säulenchromatographie wurde mit Silicagel der Firma T.J. Baker (Partikelgröße 60  $\mu\text{m}$ ) bei schwachem Überdruck durchgeführt. Die verwendete Menge Silicagel bzw. das Eluentensystem sind jeweils angegeben. Dünnschichtchromatographie (DC) erfolgte auf Silica-beschichteten Aluminium-Fertigfolien

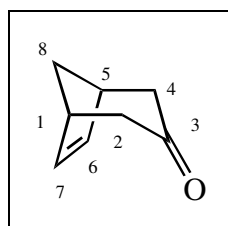


60 F<sub>254</sub> (Schichtdicke 0.2 mm) der Firma E. Merk. Die Visualisierung der Spots erfolgte mit Cer(IV)-Molybdän-, Vanilin-, Ninhydrin-, Bromkresolgrün- und Dinitrophenylhydrazin-Lösung mit anschließendem Erwärmen der Folien.

Alle Reaktionen, die unter Verwendung absoluter (abs.) Lösungsmittel verliefen, wurden in sorgfältig ausgeheizten Glasgefäßen unter Inertgas (Ar) und mit trockenen Spritzen durchgeführt. Alle benutzten Lösungsmittel wurden destilliert. Der verwendete Petrolether (PE) bestand aus einem Gemisch niedrigsiedender Kohlenwasserstoffe und hatte einen maximalen Siedepunkt von 70°C. Absolute Solventien und trockene Reagenzien wurden nach Anleitung<sup>163</sup> bereitet und über aktiven Molsieben bzw. Natriumdraht unter Ar-Atmosphäre aufbewahrt. Tetrahydrofuran (THF) und Diethylether (Et<sub>2</sub>O) wurden frisch destilliert von Natrium/Benzophenon eingesetzt.

## 2. Beschreibung der Experimente

### 2.1.1 Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on (39)



Frisch destilliertes Cyclopentadien, Tetrabromaceton, Tributylborat bzw. Triethylborat und Zink in THF werden gemäß der Literatur-Methoden<sup>117,120</sup> zu den isomeren 2,4-Dibromobicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-on umgesetzt. Gegebenenfalls wird das Reaktionsgemisch erwärmt, um die Reaktion zu starten. Das durch Säulenfiltration an Alox gereinigte Rohprodukt wird mittels Zink, Kupfer-(I)-chlorid und NH<sub>4</sub>Cl in MeOH und Et<sub>2</sub>O zum Bicyclus **39** reduziert.

Ausbeute: 3 – 12 %, farbloser Feststoff, C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O (122.17)

DC: R<sub>f</sub> = 0.48 (PE/MTB = 1/1)

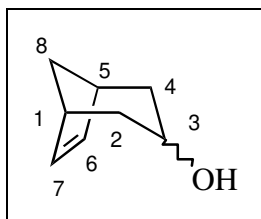
IR (CHCl<sub>3</sub>): 3060 w, 3000 m, 2952 s, 2892 m, 1708 s, 1456 m, 1412 m, 1072 w, 980 m

<sup>1</sup>H-NMR: (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 6.02 (m, 2 H, H-6 u. H-7), 2.92 (m, 2 H, H-1 u. H-5), 2.46 (dd, J = 18 Hz, J = 3 Hz, 2 H, H-2äq u. H-4äq), 2.34 (dt, J = 18 Hz, J = 2 Hz, J = 2 Hz, 2 H, H-2ax u. H-4ax), 2.09 (m, 1 H, H-8äq), 1.77 (d, J = 11 Hz, 1 H, H-8ax)

<sup>163</sup> D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals, 3rd Ed.*, **1988**, Pergamon Press, Oxford

MS (RT): 122 (32, M<sup>+</sup>), 107 (6), 108 (4), 94 (5, M<sup>+</sup> - CO), 93 (4), 80 (46), 79 (100), 77 (23), 66 (5), 65 (6)

### 2.1.2 *endo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol (**42**) und *exo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol (**43**)



0.975 g (7.9 mmol) Bicycloketon **39** und 0.539 g (14.3 mmol) NaBH<sub>4</sub> werden in 20 ml abs. MeOH unter Eiskühlung gelöst und anschließend bei RT vier Stunden lang gerührt. Die Reaktion wird mit 20 ml aqua dest terminiert und weitere zehn Minuten gerührt. Die wäßrige Phase wird dreimal mit 50 ml MTB extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel PE/Aceton = 6/1) in die beiden Epimere getrennt.

#### *endo*-Alkohol **42**:

Ausbeute: 0.460 g (3.7 mmol, 46 %), farbloser Feststoff, C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O (124.18)

DC: R<sub>f</sub> = 0.32 (PE/Aceton = 6/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3584 m, 3052 w, 3000 m, 2940 s, 2864 w, 1352 m, 1276 m, 1180 m, 1076 s, 1036 m, 992 s

<sup>1</sup>H-NMR: (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 6.26 (m, 2 H, H-6 u. H-7), 3.88 (qui, *J* = 6 Hz, 1 H, H-3äq), 2.60 (bs, 2 H, H-1 u. H-5), 2.05 – 2.20 (m, 1 H, H-8äq), 1.95 (ddd, *J* = 12 Hz, *J* = 6 Hz, *J* = 2 Hz, 2 H, H-2äq u. H-4äq), 1.86 (bd, *J* = 14 Hz, 2 H, H-2ax u. H-4ax), 1.57 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, H-8ax)

MS (RT): 124 (10, M<sup>+</sup>), 109 (2), 108 (4), 106 (3, M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O), 95 (11), 91 (17), 80 (63), 79 (100), 77 (25), 66 (26), 65 (10)

#### *exo*-Alkohol **43**:

Ausbeute: 0.195 g (1.5 mmol, 20 %), farbloser Feststoff, C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O (124.18)

DC: R<sub>f</sub> = 0.20 (PE/Aceton = 6/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3604 m, 3056 w, 3000 m, 2940 s, 2860 m, 1252 m, 1216 s, 1040 s, 964 s

<sup>1</sup>H-NMR: (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 5.83 (m, 2 H, H-6 u. H-7), 3.77 (tt, *J* = 10 Hz, *J* = 6 Hz, 1 H, H-3ax), 2.68 (s, 2 H, H-1 u. H-5), 1.79 –2.02 (m, 3 H, H-8äq, H-2äq u. H-4äq), 1.52 (bs, 1 H, -OH), 1.41 (d, *J* = 8 Hz, 1 H, H-8ax), 1.27 (ddd, *J* = 14 Hz, *J* = 10 Hz, *J* = 2 Hz, 2 H, H-2ax u. H-4ax)

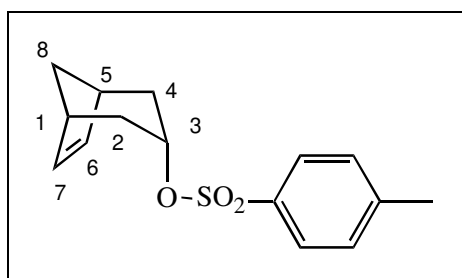
MS (RT): 124 (12, M<sup>+</sup>), 106 (1, M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O), 105 (2), 95 (5), 91 (9), 91 (9), 80 (19), 79 (49), 77 (15), 67 (19), 66 (100)

### *endo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol (**42**)

0.8 g (6.5 mmol) rohes Bicycloketon **39** werden bei –78° C in THF unter Argon-Atmosphäre vorgelegt, und 7.9 ml einer 1 M L-Selectride®-Lösung in THF (7.9 mmol) werden innerhalb von 15 Minuten zugetropft. Man rührt weitere drei Stunden bei –78° C und läßt dann die Reaktionslösung über Nacht auf RT kommen. Die Reaktionsmischung wird mit Eis gekühlt, mit 7 ml 20 %-ger NaOH-Lösung und 4 ml 30 %-ger Wasserstoffperoxidlösung versetzt und eine Stunde unter Eiskühlung gerührt. Die Lösung wird dreimal mit 20 ml MTB extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und konzentriert. Mit Säulenchromatographie (80 g Kieselgel, Laufmittel PE/Et<sub>2</sub>O = 1/1) wird der Rückstand gereinigt.

Ausbeute: 0.308 g (2.4 mmol, 39 %), farbloser Feststoff, C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O (124.18)

### 2.1.3 *endo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-tosylat (**40**)<sup>38</sup>

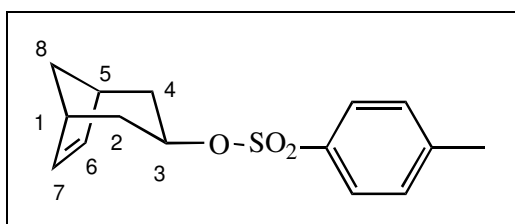


Zu einer Lösung aus 0.687 g (3.6 mmol) Tosylchlorid und 2 ml abs. Pyridin werden 0.308 g (2.4 mmol) *endo*-Alkohol **42** bei 0° C zugegeben. Die Lösung wird zwei Tage bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt, mit 10 ml 2 N HCl-Lösung aufgenommen und dreimal mit 10 ml MTB extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml ges. NaCl-Lösung, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wird aus PE/Et<sub>2</sub>O umkristallisiert.

Ausbeute: 0.420 g (1.5 mmol, 63 %), farbloser kristalliner Feststoff, C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>S (278.37)

mp.:	80 - 82° C (PE/Et <sub>2</sub> O, Lit.: 87 – 89° C)
DC:	R <sub>f</sub> = 0.31 (PE/Et <sub>2</sub> O = 5/1)
IR (CHCl <sub>3</sub> ):	2944 s, 2868 w, 1596 w, 1356 s, 1172 s, 1096 m, 1068 m, 908 s, 880 s
<sup>1</sup> H-NMR:	(400.1 MHz, CDCl <sub>3</sub> , TMS) 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, <i>ortho</i> -C-H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2 H, <i>meta</i> -C-H), 5.98 (s, 2 H, H-6 u. H-7), 4.78 (t, J = 5.5 Hz, 1 H, H-3 <sub>äq</sub> ), 2.49 (bd, J = 2.4 Hz, 2 H, H-1 u. H-5), 2.43 (s, 3 H, <i>para</i> -CH <sub>3</sub> ) 1.99 – 2.07 (m, 1 H, H-8 <sub>äq</sub> ), 1.87 (ddd, J = 15.4 Hz, J = 5.5 Hz, J = 1.5 Hz, 2 H, H-2 <sub>äq</sub> u. H-4 <sub>äq</sub> ), 1.80 (bdd, J = 15.3 Hz, J = 1.5 Hz, 2 H, H-2 <sub>ax</sub> u. H-4 <sub>ax</sub> ), 1.41 (d, J = 10.3 Hz, 1 H, H-8 <sub>ax</sub> )
<sup>13</sup> C-NMR:	(100.6 MHz, CDCl <sub>3</sub> , TMS) 144.2 (s, <i>para</i> -C), 135.2 (d, C-6 u. C-7), 134.9 (s, C <sub>ar</sub> -SO <sub>3</sub> -), 129.7 (d, <i>meta</i> -C), 127.5 (d, <i>ortho</i> -C), 78.5 (d, C-3), 43.2 (t, C-8), 37.1 (d, C-1 u. C-5), 33.7 (t, C-2 u. C-4), 21.6 (q, CH <sub>3</sub> )
MS (50° C):	278 (21, M <sup>+</sup> ), 244 (7), 213 (12), 199 (10), 173 (31), 172 (18, TsOH <sup>+</sup> ), 155 (65), 123 (58), 106 (78, M <sup>+</sup> - TsOH), 91 (100), 79 (76), 65 (63)
EA.:	berechnet für C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> S: C: 64.7, H: 6.5, gefunden: C: 64.3, H: 6.5

#### 2.1.4 *exo*-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-tosylat (**41**)<sup>38</sup>



0.065 g (0.52 mmol) *exo*-Alkohol **43**, 0.110 g (0.58 mmol) Tosylchlorid und 1.3 ml abs. Pyridin werden analog der Vorschrift für das *endo*-Tosylat umgesetzt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (15 g Kieselgel, Laufmittel PE/Et<sub>2</sub>O = 4/1) gereinigt.

Ausbeute:	0.108 g (0.39 mmol, 75 %), farbloser kristalliner Feststoff, C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> S (278.37)
mp.:	59 - 61° C (PE/Et <sub>2</sub> O, Lit.: 61 - 63° C)
DC:	R <sub>f</sub> = 0.57 (PE/Et <sub>2</sub> O = 1/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2948 s, 2868 m, 1600 w, 1356 s, 1172 s, 1096 m, 940 s, 868 s

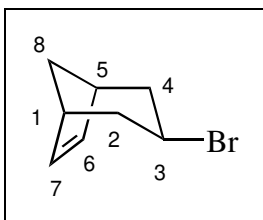
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.75 (d, *J* = 8.3 Hz, 2 H, *ortho*-C-H), 7.31 (d, *J* = 7.9 Hz, 2 H, *meta*-C-H),  
5.81 (s, 2 H, H-6 u. H-7), 4.57 (tt, *J* = 6.9 Hz, *J* = 5.0 Hz, 1 H, H-3ax), 2.65  
(bs, 2 H, H-1 u. H-5), 2.44 (s, 3 H, *para*-CH<sub>3</sub>), 1.80 - 1.88 (m, 3 H, H-2äq,  
H-4äq u. H-8äq), 1.50 (ddd, *J* = 12.7 Hz, *J* = 10.0 Hz, *J* = 2.5 Hz, 2 H, H-  
2ax u. H-4ax), 1.39 (d, *J* = 9.9 Hz, 1 H, H-8ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
144.3 (s, *para*-C), 134.8 (s, C<sub>ar</sub>-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>), 132.8 (d, C-6 u. C-7), 129.7 (d, *meta*-  
C), 127.6 (d, *ortho*-C), 79.9 (d, C-3), 44.3 (t, C-8), 39.0 (d, C-1 u. C-5), 32.3  
(t, C-2 u. C-4), 21.6 (q, *para*-CH<sub>3</sub>)

MS (80° C): 278 (11, M<sup>+</sup>), 236 (2), 213 (1), 173 (4, [TsOH+H]<sup>+</sup>), 155 (31), 123 (92), 106  
(42, M<sup>+</sup> - TsOH), 91 (100), 79 (77), 66 (28)

EA.: berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>S: C: 64.7, H: 6.5, gefunden: C: 64.1, H: 6.5

### 2.1.5 *exo*-3-Bromobicyclo[3.2.1]oct-6-en (98)



Zu einer Lösung aus 0.25 g (2.0 mmol) *endo*-Alkohol **42**, 1.05 g (4.0 mmol) Triphenylphosphin, 0.65 g (2.0 mmol) Tetrabutylammoniumbromid in 20 ml abs. MeCN werden unter Argon-Atmosphäre bei RT innerhalb von zwei Stunden 1.30 g 1,2-Dibromo-1,1,2,2-tetrachloroethan, gelöst in 10 ml abs. DCM, zuge tropft. Nach einer weiteren halben Stunde wird die Reaktionslösung mit abs. MeOH beendet, am Rotationsverdampfer eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Laufmittel PE) gereinigt.

Ausbeute: 0.23 g (1.23 mmol, 61 %), farblose Flüssigkeit, C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>Br (187.08)

DC: R<sub>f</sub> = 0.46 (PE)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3056 w, 2944 s, 2864 m, 1356 m, 1336 w, 1256 m, 1160 w, 1100 w, 1076  
w, 1020 m

<sup>1</sup>H-NMR: (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)

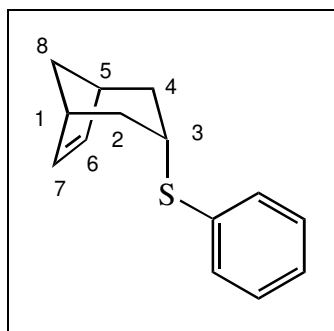
5.88 (m, 2 H, H-6 u. H-7), 4.18 (tt,  $J = 12$  Hz,  $J = 6$  Hz, 1 H, H-3ax), 2.66 (s, 2 H, H-1 u. H-5), 1.78 – 2.05 (m, 5 H, H-8äq, H-2 u. H-4), 1.54 (d,  $J = 10$  Hz, 1 H, H-8ax)

$^{13}\text{C}$ -NMR: (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
132.5 (d, C-6 u. C-7), 48.3 (d, C-3), 44.7 (t, C-8), 41.2 (d, C-1 u. C-5), 37.0 (t, C-2 u. C-4)

MS (RT): 188 (5,  $\text{M}^+$ ), 186 (6,  $\text{M}^+$ ), 107 (33,  $\text{M}^+ - \text{Br}$ ), 91 (27), 79 (100), 66 (90)

HRMS: berechnet für  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{Br}$ : 186.0044076, gefunden: 186.004398

### 2.1.6 *endo*-3-Phenylsulfanyl bicyclo[3.2.1]oct-6-en (**96**)



0.110 g (0.40 mmol) *exo*-Tosylat **41** werden in 0.5 ml hochsiedenden PE gelöst. Nach dem Hinzufügen von 2 ml aqua dest, 0.140 g (0.43 mmol) Tetrabutylammoniumbromid, 0.122 g (0.88 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und 0.097 g (0.09 ml, 0.88 mmol) Thiophenol wird die Emulsion zehn Stunden bei  $60^\circ\text{C}$  gerührt. Die Reaktionslösung wird mit 15 ml ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen und dreimal mit 20 ml PE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit 15 ml 2 N  $\text{NaOH}$ -Lösung und mit 20 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Nach Säulenchromatographie an 20 g Kieselgel (Laufmittel PE) erhält man ein 0.044 g eines gelblichen Öles.

Das Öl ist ein Gemisch aus dem Thioether **96** und dem durch Luftsauerstoffoxidation entstandenen Sulfoxid **95**. Die Charakterisierung und Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale erfolgt mittels H,H- und H,C-COSY-Experimenten.

Ausbeute: 0.025 g (0.12 mmol, 30 %), gelbliches Öl,  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{S}$  (216.34), verunreinigt mit 0.019 g (0.082 mmol, 20 %) Sulfoxid **95**

DC:  $R_f = 0.23$  (PE)

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3060 m, 2940 s, 2860 w, 1584 m, 1480 m, 1436 m, 1352 m, 1308 m, 1248 m, 1084 m, 1024 s, 984 m, 860 m

MS (RT): 216 (33, M<sup>+</sup>), 200 (6), 150 (6), 139 (25), 134 (5), 126 (8), 110 (13), 109 (14, PhS<sup>+</sup>), 108 (29), 107 (27, M<sup>+</sup> - PhS), 91 (47), 79 (100), 76 (23)

EA.: berechnet für 0.59 C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>S + 0.41 C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>OS: C: 75.4, H: 7.2, gefunden: C: 74.2, H: 7.0

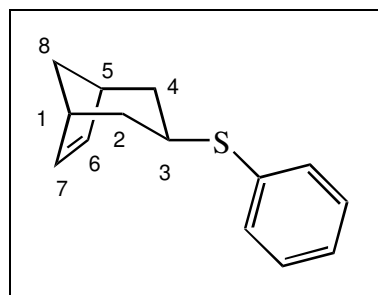
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.10 -7.33 (m, 5 H, H<sub>ar</sub>), 6.09 (s, 2 H, H-6 u. H-7), 3.31 (tt, *J* = 7.1 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1 H, H-3äq), 2.67 (m, 2 H, H-1 u. H-5), 2.19 (ddd, *J* = 14.6 Hz, *J* = 7.1 Hz, *J* = 2.9 Hz, 2 H, H-2ax u. H-4ax), 2.01 - 2.09 (m, 1 H, H-8äq), 1.97 (bd, *J* = 14.4 Hz, 2 H, H-2äq u. H-4äq), 1.53 (d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, H-8ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
140.2 (s, S-C<sub>ar</sub>), 136.1 (d, C-6 u. C-7), 129.1 (d, *meta*-C), 128.8 (d, *ortho*-C), 125.6 (d, *para*-C), 44.0 (t, C-8), 42.0 (d, C-3), 38.5 (d, C-1 u. C-5), 35.3 (t, C-2 u. C-4)

#### S-Bicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-yl-S-phenylsulfoxid (**95**)

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.60 - 7.66 (m, 1 H, *para*-H<sub>ar</sub>), 7.45 -7.50 (m, 3 H, *ortho*-H<sub>ar</sub> u. *meta*-H<sub>ar</sub>), 6.16 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 2.9 Hz, 1 H, H-7), 5.96 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1 H, H-6), 2.94 (t, *J* = 7.7 Hz, 1 H, H-3äq), 2.71 (sex, *J* = 2.6, 1 H, H-1), 2.61 (sex, *J* = 2.6, 1 H, H-5), 2.56 (bd, *J* = 16.0 Hz, 1 H, H-2äq), 2.01 - 2.09 (m, 1 H, H-8äq), 1.88 (ddd, *J* = 15.5 Hz, *J* = 7.6 Hz, *J* = 2.9 Hz, 1 H, H-2ax), 1.75 (ddd, *J* = 15.5 Hz, *J* = 7.8 Hz, *J* = 3.1 Hz, 1 H, H-4ax), 1.53 (d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, H-8ax), 1.35 (bd, *J* = 15.6 Hz, 1 H, H-4äq)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
145.1 (s, (OS)-C<sub>ar</sub>), 135.6 (d, C-6), 135.3 (d, C-7), 131.3 (d, *para*-C), 129.1 (d, *meta*-C), 125.8 (d, *ortho*-C), 60.0 (d, C-3), 43.1 (t, C-8), 37.6 (d, C-5), 37.5 (d, C-1), 25.3 (t, C-4), 25.3 (t, C-2)

2.1.7 *exo*-3-Phenylsulfanyl bicyclo[3.2.1]oct-6-en (97)

## Methode A:

Eine Emulsion aus 0.100 g (0.36 mmol) *endo*-Tosylat **40**, 0.129 g (0.40 mmol) Tetrabutylammoniumbromid, 0.055 g (0.40 mmol)  $K_2CO_3$  und 0.044 g (0.04 ml, 0.40 mmol) Thiophenol, 0.5 ml PE, 0.5 ml  $Et_2O$  und 2 ml aqua dest wird 46 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird mit 5 ml 2 N NaOH-Lösung aufgenommen und dreimal mit 5 ml  $Et_2O$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 5 ml ges.  $NaHCO_3$ -Lösung und mit 5 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit  $MgSO_4$  getrocknet, filtriert und eingeeengt. Nach Säulenchromatographie an 10 g Kieselgel (Laufmittel PE) erhält man ein 0.033 g eines gelblichen Öles, das beim Stehen erstarrt.

Ausbeute: 0.033 g (0.15 mmol, 43 %), gelblicher Feststoff,  $C_{14}H_{16}S$  (216.34)

mp.: 37- 39° C (PE)

DC:  $R_f = 0.34$  (PE)

IR ( $CHCl_3$ ): 3060 w, 2944 s, 1600 m, 1456 s, 1432 s, 1172 s, 1096 m, 1068 w, 908 s, 880 s, 812 m

$^1H$ -NMR: (400.1 MHz,  $CDCl_3$ , TMS)  
 7.33 -7.39 (m, 2 H, *ortho*-C-H), 7.16 - 7.30 (m, 3 H, *meta*-C-H u. *para*-C-H),  
 5.87 (s, 2 H, H-6 u. H-7), 3.31 (tt,  $J = 11.8$  Hz,  $J = 6.1$  Hz, 1 H, H-3ax), 2.63  
 (bs, 2 H, H-1 u. H-5), 1.88 - 1.95 (m, 1 H, H-8äq), 1.75 - 1.85 (m, 2 H, H-2äq u. H-4äq),  
 1.46 (ddd,  $J = 13.3$  Hz,  $J = 11.4$  Hz,  $J = 2.1$  Hz, 2 H, H-2ax u. H-4ax), 1.38 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1 H, H-8ax)

$^{13}C$ -NMR: (100.6 MHz,  $CDCl_3$ , TMS)  
 135.2 (s, S-C<sub>ar</sub>), 132.8 (d, C-6 u. C-7), 131.9 (d, *meta*-C), 128.7 (d, *ortho*-C),  
 126.6 (d, *para*-C), 44.6 (t, C-8), 40.9 (d, C-3), 39.9 (d, C-1 u. C-5), 33.0  
 (t, C-2 u. C-4)



MS (RT): 216 (56,  $M^+$ ), 186 (3), 174 (4), 150 (90), 135 (30), 117 (13), 109 (16,  $\text{PhS}^+$ ), 108 (29), 106 (15,  $M^+ - \text{PhSH}$ ), 92 (30), 79 (100), 65 (17)

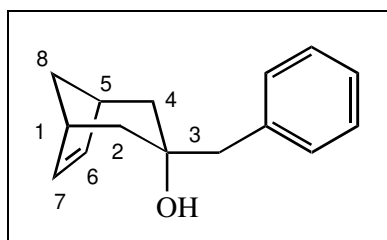
EA.: berechnet für  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{S}$ : C: 77.7, H: 7.5, gefunden: C: 77.4, H: 7.5

#### Methode B:

0.012 g (0.40 mmol) Natriumhydrid (80 %-ige Suspension in Mineralöl) werden in 0.5 ml THF vorgelegt und mit 0.044 g (0.04 ml, 0.40 mmol) Thiophenol versetzt. Nachdem die Suspension für ein paar Minuten gerührt wurde, gibt man das *endo*-Tosylat **40**, gelöst in 1 ml THF, zu und rührt fünf Tage bei RT. Die Suspension wird mit 10 ml ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen und dreimal mit 10 ml  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 ml ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und mit 10 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (16 g Kieselgel, Laufmittel PE) gereinigt.

Ausbeute: 0.036 g (0.15 mmol, 46 %), gelblicher Feststoff,  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{S}$  (216.34)

#### 2.1.8 *exo*-3-Benzylbicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol (**99**)



0.267 g (11 mmol) Magnesium werden in 10 ml abs.  $\text{Et}_2\text{O}$  unter einer Argon-Atmosphäre vorgelegt und mit 10 % einer Lösung aus 1.395 g (1,27 ml, 11 mmol) Benzylchlorid und 5 ml abs.  $\text{Et}_2\text{O}$  versetzt. Nachdem die Reaktion angesprungen ist, wird die restliche Benzylchloridlösung zugetropft. Die Suspension wird 15 Minuten bei RT und weitere 15 Minuten bei der Siedetemperatur gerührt. Zu der Grignardlösung werden 1.000 g (8.2 mmol) Keton **39**, gelöst in 5 ml abs.  $\text{Et}_2\text{O}$ , bei RT zugetropft. Die Lösung wird eine Stunde unter Rückfluß erwärmt. Es fällt ein farbloser Niederschlag aus. Man terminiert die Reaktion mit 20 ml ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung und extrahiert die wäßrige Phase mit dreimal 20 ml  $\text{Et}_2\text{O}$ . Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird aus PE umkristallisiert.

Ausbeute: 1.517 g (7.1 mmol, 86 %), farbloser kristalliner Feststoff,  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}$  (214.31)

mp.: 61.5 - 63.0° C (PE)

DC:  $R_f = 0.42$  (PE/MTB = 1/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3528 m, 3084 w, 3056 w, 2940 s, 2864 w, 2844 w, 1604 w, 1496 m, 1452 m, 1364 m, 1092 s, 1044 m

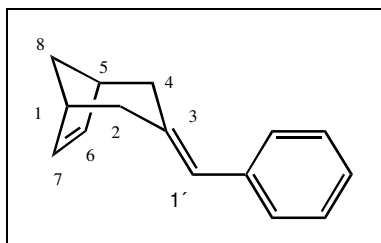
<sup>1</sup>H-NMR: (200 Hz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.15 -7.31 (m, 5 H, H<sub>ar</sub>), 6.19 (s, 2 H, H-6 u. H-7), 2.93 (s, 1 H, -OH), 2.63 (bs, 4 H, -CH<sub>2</sub>Ph, H-1 u. H-5), 2.00 - 2.15 (m, 1 H, H-8äq), 1.85 (dd, *J* = 14 Hz, *J* = 2.5 Hz, 2 H, H-2äq u. H-4äq), 1.67 (bd, 2 H, *J* = 13 Hz, H-2ax u. H-4ax), 1.43 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, H-8ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
138.2 (d, C-6 u. C-7), 137.4 (s, -CH<sub>2</sub>-C<sub>ar</sub>), 130.8 (d, *meta*-C), 127.7 (d, *ortho*-C), 126.1 (d, *para*-C), 72.6 (s, C-3), 51.4 (t, CH<sub>2</sub>Ph), 45.3 (t, C-8), 41.1 (t, C-2 u. C-4), 38.6 (d, C-1 u. C-5)

MS (RT): 214 (1, M<sup>+</sup>), 197 (1, M<sup>+</sup> - OH), 165 (2), 153 (2), 123 (93 M<sup>+</sup> - Bn), 115 (11), 105 (16), 96 (28), 92 (100), 91 (100), 81 (48), 77 (42), 65 (46)

EA.: berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O: C: 84.1, H: 8.5, gefunden: C: 83.8, H: 8.4

### 2.1.9 3-Benzylidenbicyclo[3.2.1]oct-6-en (100)



#### Methode A:

Eine Lösung aus 1.800 g (8.4 mmol) Alkohol **99**, 1.203 g (0.81 ml, 10.5 mmol) Methylsulfonfylchlorid und 4.5 ml abs. Pyridin wird 33 h unter Rückfluß erwärmt. Nach 15 Stunden werden nochmals 0.296 g (0.20 ml, 2.6 mmol) Methylsulfonfylchlorid, gelöst in 1 ml abs. CHCl<sub>3</sub>, zugefügt. Die Reaktion wird mit 15 ml aqua dest terminiert. Die Lösung wird dreimal mit 15 ml PE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit 15 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Das Konzentrat wird mittels Säulenchromatographie an 100 g Kieselgel (Laufmittel PE) gereinigt.

Ausbeute: 0.517 g (2.6 mmol, 31 %), farbloses Öl, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub> (196.29)

DC: R<sub>f</sub> = 0.63 (PE/Et<sub>2</sub>O = 5/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3068 w, 2940 s, 2880 w, 2832 w, 1600 m, 1492 m, 1436 m, 1120 w, 1092 w, 1072 w

<sup>1</sup>H-NMR: (200 Hz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.06 -7.40 (m, 5 H, H<sub>ar</sub>), 6.23 (s, 1 H, H-1'), 5.90 (dd, *J* = 6 Hz, *J* = 2 Hz, 1 H, H-7), 5.77 (dd, *J* = 6 Hz, *J* = 2 Hz, 1 H, H-6), 2.41 - 2.72 (m, 4 H, H-1, H-5, H-2äq u. H-5äq), 2.26 (bt, *J* = 18 Hz, 2 H, H-2ax u. H-4ax), 1.92 - 2.07 (m, 1 H, H-8äq), 1.63 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, H-8ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
139.0 (s, C-3), 138.0 (s, =CH-C<sub>ar</sub>), 133.9 (d, C-6 u. C-7), 129.0 (d, *meta*-C), 127.9 (d, *para*-C), 127.8 (d, *ortho*-C), 125.8 (d, C-1'), 43.8 (t, C-8), 39.5 (d, C-1), 39.4 (d, C-5), 38.8 (t, C-2), 33.0 (t, C-4)

MS (RT): 196 (70, M<sup>+</sup>), 181 (16), 167 (23), 155 (42), 129 (58), 115 (77), 105 (100), 91 (100), 79 (43), 77 (40), 65 (31)

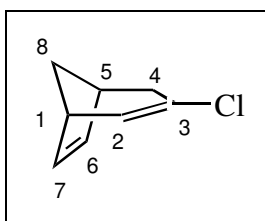
HRMS: berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>: 196.125201, gefunden: 196.1253

#### Methode B:

1.100 g (2.53 mmol) Benzyltriphenylphosphoniumbromid werden in 10 ml abs. Et<sub>2</sub>O unter einer Argon-Atmosphäre suspendiert, und anschließend werden mit 1.7 ml einer 1.45 M Bu-Li-n-Hexan-Lösung (2.53 mmol) bei RT über ein Septum zu injiziert. Die Reaktionslösung, die sich sofort orangerot färbt, wird 30 Minuten bei RT gerührt. Zu der Lösung werden 0.300 g (2.46 mmol) Bicyclusketon **39**, gelöst in 5 ml abs. Et<sub>2</sub>O, innerhalb von 15 Minuten bei RT zugetropft. Die Lösung wird über Nacht bei RT gerührt, anschließend mit 10 ml abs. PhMe verdünnt und vier Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die bräunliche Suspension wird mit 30 ml aqua dest und 30 ml Et<sub>2</sub>O aufgenommen. Die Phasen werden separiert, die wäßrige Phase wird dreimal mit 30 ml Et<sub>2</sub>O extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit 30 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (60 g Kieselgel, Laufmittel PE) gereinigt.

Ausbeute: 0.050 g (0.25 mmol, 10 %), farbloses Öl, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub> (196.29)

#### 2.1.10 3-Chlorobicyclo[3.2.1]oct-2,6-dien (107)



Norbornadien, Trichloressigsäureethylester, Natriummethylat und PE werden analog der Literaturvorschrift<sup>137</sup> zum 3,4-Dichlorobicyclo[3.2.1]oct-2,6-dien (bp.: 65 – 75° C, 2 Torr) umgesetzt, welches mit 1.5 eq LiAlH<sub>4</sub> in abs. THF bei der Siedetemperatur zum Chlorid **107** (bp.: 68° C, 14 Torr) umgesetzt wird.

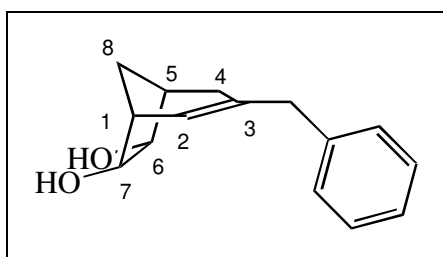
Ausbeute: 29 - 30 %, farblose, stechend riechende Flüssigkeit, C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>Cl (156.65)

IR (Kap.-F.): 3056 s, 2952 s, 1628 s, 1328 s, 1028 s, 952 m, 828 s, 724 s

<sup>1</sup>H-NMR: (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 1.69 (d, *J* = 10 Hz, 1 H, H-8ax), 1.88 (q, *J* = 4 Hz, 1 H, H-8äq), 2.05 (d, *J* = 18 Hz, 1 H, H-4ax), 2.61 (ddd, *J* = 18 Hz, *J* = 6 Hz, *J* = 2 Hz, 1 H, H-4äq), 2.78 – 2.89 (m, 2 H, H-1 u. H-5), 5.81 (dd, *J* = 6 Hz, *J* = 2 Hz, 1 H, H-2), 6.15 (bd, *J* = 6 Hz, 1 H, H-6), 6.25 (dd, *J* = 6 Hz, *J* = 2 Hz, 1 H, H-7)

MS (RT): 140 (28, M<sup>+</sup>), 125 (8), 112 (11), 105 (100, M<sup>+</sup> - Cl), 103 (25), 91 (6), 79 (30), 77 (37), 65 (7)

### 2.1.11 3-Benzylbicyclo[3.2.1]oct-2-en-*exo*-6,7-diol



Methode A:

0.869 (4.4 mmol) Dien **101**, 0.123 g (1.1 mmol) DABCO, 1.824 g (13.2 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 4.347 g (13.2 mmol) K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] werden in 25 ml aqua dest und 25 ml <sup>t</sup>BuOH suspendiert. Zu dieser Suspension werden 4.4 ml 0.02 M OsO<sub>4</sub>-PhMe-Lösung (0.088 mmol) hinzugefügt. Man rührt zwei Tage bei 50° C und fügt portionsweise weitere 3 g (9.1 mmol) K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] zu. Die Reaktion terminiert man durch Zugabe von 2 g (19.4 mmol) Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. Die grüne Lösung wird 15 Minuten bei RT gerührt und mit 20 ml ges. NaCl-Lösung verdünnt. Die Phasen werden getrennt, die organische Phase wird fünfmal mit 30 ml EE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit 30 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Das Konzentrat wird mittels Säulenchromatographie (150 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 1/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.584 g (2.5 mmol, 57 %), farbloses Wachs, C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> (230.31)

DC: R<sub>f</sub> = 0.42 (PE/EE = 1/3)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3624 m, 3500 bm, 3080 w, 3060 m, 2944 s, 2836 w, 1600 w, 1492 m, 1444 m, 1392 m, 1240 m, 1056 s, 1020 s

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.36 (m, 5 H, C-H<sub>ar</sub>), 5.61 (d, *J* = 7.0 Hz, 1 H, H-2), 4.00 (d, *J* = 5.7 Hz, 1 H, CHOH), 3.78 (d, *J* = 5.7 Hz, 1 H, CHOH), 3.17 (d, *J* = 14.5 Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.12 (d, *J* = 14.5 Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>Ph), 2.32 - 2.37 (m, 1 H, H-1), 2.18 (dd, *J* = 17.6, *J* = 3.1, 1 H, H-4), 2.03 - 2.09 (m, 1 H, H-5), 1.94 - 2.02 (m, 1 H, H-8<sub>äq</sub>), 1.74 (d, *J* = 17.6 Hz, 1 H, H-4), 1.33 (d, *J* = 10.6 Hz, 1 H, H-8<sub>ax</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
141.5 (s, C-3), 138.6 (s, CH<sub>2</sub>-C<sub>ar</sub>), 130.0 (d, *meta*-C), 129.6 (d, *meta*-C'), 128.4 (d, *ortho*-C), 128.3 (d, *ortho*-C'), 127.7 (d, *para*-C), 127.4 (d, *para*-C'), 79.5 (d, C-7), 78.3 (d, C-6), 44.5 (d, C-1), 44.4 (t, C-8), 43.9 (d, C-5), 37.7 (t, C-4), 30.2 (t, CH<sub>2</sub>Ph)

MS (RT): 230 (53, M<sup>+</sup>), 212 (45, M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O), 193 (48), 181 (38), 170 (51), 155 (48), 141 (46), 139 (45, M<sup>+</sup> - Bn), 129 (50), 115 (53), 103 (45), 91 (100, Bn<sup>+</sup>), 79 (55), 65 (50)

HRMS: berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>: 230.1306805, gefunden: 230.1307

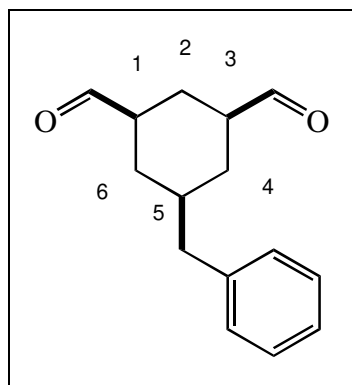
EA.: berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>: C: 78.2, H: 7.9, gefunden: C: 76.9, H: 7.7

#### Methode B:

Zu einer Lösung aus 0.586 g (3.0 mmol) Dien **100** und 20 ml DCM werden unter einer Argon-Atmosphäre 0.949 g (6.0 mmol) KMnO<sub>4</sub> und 1.934 g (6.0 mmol) Tetrabutylammoniumbromid, gelöst in 40 ml DCM, innerhalb von 30 Minuten bei 0° C zugetropft. Die Lösung wird langsam auf RT erwärmt und 24 Stunden gerührt. Die Reaktion wird mit 40 ml 0.75 M NaOH-Lösung terminiert und weitere 24 Stunden bei RT gerührt. Die Suspension wird gefiltert, der Niederschlag mit EE gespült. Die Phasen werden getrennt, die organische Phase wird dreimal mit 60 ml EE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und konzentriert. Das Konzentrat wird mittels Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 1/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.352 g (1.5 mmol, 50 %), farbloses Wachs

### 2.1.12 *cis,cis*-5-Benzylcyclohexan-1,3-dicarbaldehyd (**104**)



In einer Lösung aus 0.352 g (1.5 mmol) Endiol **102** und 5 ml EtOH werden 0.030 g Pd/C (10 %) suspendiert. Anschließend wird der Kolben zweimal evakuiert und mit H<sub>2</sub> gespült. Die Suspension wird bis zum Reaktionsende heftig bei RT unter H<sub>2</sub>-Normaldruck gerührt. Der Katalysator wird mittels einer Säulenfiltration über Cellite (Laufmittel EE) abgetrennt, und das Eluat wird bis zur Trockne eingengt.

0.177 g (0.73 mmol) des erhaltenen Diols und 1.662 g (7,8 mmol) Natriumperjodat werden in 3 ml THF und 3 ml aqua dest gelöst und eine Stunde bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird mit 10 ml DCM verdünnt, die Phasen werden separiert, und die wäßrige Phase wird dreimal mit 10 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie gereinigt.

Man erhält ein Gemisch der beiden Benzylepimeren, die durch einfache Säulenchromatographie an Kieselgel nicht getrennt werden können. Das Verhältnis der beiden Isomere wird durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie an den Aldehydprotonensignalen bestimmt.

Ausbeute: 0.121 g (0.53 mmol, 64 % über beide Stufen), farbloses Wachs, Isomerenverhältnis: *cis,cis/cis,trans* = 6/1, C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> (230.31)

DC: R<sub>f</sub> = 0.68 (PE/EE = 1/3)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3048 w, 3064 w, 3000 w, 2924 m, 2852 m, 2820 w, 2724 w, 1724 s, 1000 w, 1492 m, 1452 m, 1232 w, 1104 w

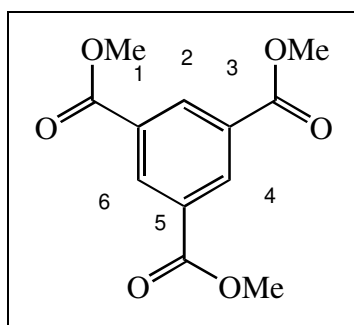
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 9.60 (d, *J* = 1.3 Hz, 2 H, CHO), 7.10 - 7.33 (m, 5 H, C-H<sub>ar</sub>), 2.61 (d, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 2.30 (tt, *J* = 12.5 Hz, *J* = 1.7 Hz, *J* = 1.1 Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.18 - 2.25 (m, 1 H, H-2äq), 1.99 - 2.07 (m, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.67 - 1.81 (m, 1 H, H-5), 1.21 (q, *J* = 13.0 Hz, 1 H, H-2ax), 0.91 (q, *J* = 12.9 Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax)

$^{13}\text{C}$ -NMR: (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
202.9 (s,  $-\underline{\text{C}}\text{HO}$ ), 139.6 (s,  $\text{CH}_2-\underline{\text{C}}_{\text{ar}}$ ), 129.1 (d, *meta*-C), 128.4 (d, *ortho*-C),  
126.2 (d, *para*-C), 49.0 (d, C-1 u. C-5), 43.4 (t,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 38.3 (d, C-5), 31.8  
(t, C-4 u. C-6), 25.3 (t, C-2)

MS (RT): 230 (13,  $\text{M}^+$ ), 213 (22,  $\text{M}^+ - \text{OH}$ ), 203 (12), 184 (36), 155 (28), 142 (35),  
117 (30), 104 (31), 91 (100,  $\text{Bn}^+$ ), 79 (33), 67 (32)

HRMS: berechnet für  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$ : 230.1306805, gefunden: 230.1307

### 2.2.1 1,3,5-Benzoltricarbonsäuretrimethylester (38)<sup>45</sup>



1,3,5-Benzoltricarbonsäure **47** (0.3 bis 47.6 mmol) wird mit abs. MeOH und katalytischer Menge an conc. Schwefelsäure verestert oder alternativ mit  $\text{PCl}_5$  ins Säurechlorid überführt und anschließend mit abs. MeOH in abs. py verestert.

Das Rohprodukt wird mittels einer basisch wäßrigen Aufarbeitung gereinigt. Das so erhaltene Produkt ist rein genug für Folgereaktionen.

Ausbeute: 88 - 94 %, farbloser kristalliner Feststoff,  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_6$  (252.22)

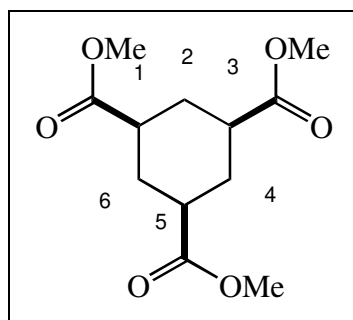
DC:  $R_f = 0.54$  (PE/ $\text{Et}_2\text{O} = 1/1$ )

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3040 w, 2952 w, 1728 s, 1432 m, 1252 s, 1004 m

$^1\text{H}$ -NMR: (400.1 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
8.85 (s, 3 H, H-2, H-4 u. H-6), 3.99 (s, 9 H,  $\text{CO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$ )

MS (RT): 252 (39,  $\text{M}^+$ ), 237 (3,  $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ), 221 (100,  $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ), 207 (28), 193  
(37), 178 (23), 161 (31), 134 (29), 119 (25), 102 (29)

### 2.2.2 *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuretrimethylester (37)<sup>33</sup>



#### Allgemeine Vorschrift:

In einer Parr-Apparatur wird eine Lösung des 1,3,5-Benzoltricarbonsäuretrimethylesters (0.9 - 1.0 mmol), in der ein Edelmetallkatalysator suspendiert ist, vorgelegt. Die Glasbombe wird dreimaliges Evakuieren und Spülen mit H<sub>2</sub> gefüllt. Nach beendeter Reaktion wird der Katalysator abfiltriert, und die Lösung wird eingeeengt.

Methode:	Katalysator:	Menge (Gew.-%)	LM	T, p, t	Ausbeute:
A <sup>33</sup>	PtO <sub>2</sub>	12 %	AcOH	RT, 4 bar, 4 d	kein Umsatz
B	Rh/C (5%)	40 %	abs. MeOH	RT, 4 bar, 5 d	88 %

Status: farbloser kristalliner Feststoff, C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> (258.27)

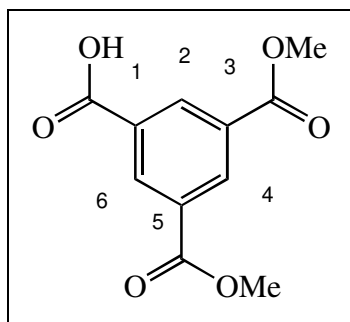
DC: R<sub>f</sub> = 0.35 (PE/Et<sub>2</sub>O = 1/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2952 m, 2872 w, 1732 s, 1436 s, 1288 s, 1256s, 1228 s, 1168s, 1008 m

<sup>1</sup>H-NMR: (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 3.70 (s, 9 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.20 - 2.50 (m, 6 H, H-1, H-3, H-5, H-2äq, H-4äq u. H-6äq), 1.54 (q, J = 12 Hz, 6 H, H-2ax, H-4ax u. H-6ax)

MS (RT): 258 (9, M<sup>+</sup>), 227 (47, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 198 (39, M<sup>+</sup> - CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 167 (50), 152 (11), 138 (70), 126 (17), 111 (36), 95 (35)



2.2.3 1,3,5-Benzoltricarbonsäuredimethylester (**48**)<sup>44,45</sup>

6.000 g (23.8 mmol) 1,3,5-Benzoltricarbonsäuretrimethylester **48**, gelöst in 476 ml MeOH und 30.6 ml 1 N NaOH-Lösung (30.6 mmol), werden bei RT 36 Stunden gerührt. Die Reaktionslösung wird durch Zugabe von 2 N Salzsäure neutralisiert und am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Der Niederschlag wird mit EE aufgenommen, mit 2 N Salzsäure und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und erneut eingengt. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisation aus MTB, PE und MeOH. oder vorteilhafter aus MeOH und aqua dest. Man erhält 4.202 g farblosen Dimethylester **48**. Die verbleibende Mutterlauge wird konzentriert und durch Kieselgelchromatographie (PE/EE/AcOH = 50/50/1) in 0.323 g Dimethylester **48** und 0.101 g 1,3,5-Benzoltricarbonsäuremonomethylester **49** getrennt.

Ausbeute: 4.525 g (19.0 mmol, 80 %), farbloser Feststoff, C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub> (238.20)

DC: R<sub>f</sub> = 0.57 (PE/Et<sub>2</sub>O/AcOH = 20/20/1)

mp.: 144 - 146° C (PE/MTB/AcOH)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3084 bw, 2956 m, 2652 w, 2576 w, 1728 s, 1696 s, 1604 w, 1448 m, 1252 s, 1196 w, 996 m, 740 s

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CD<sub>3</sub>OD, TMS)  
8.69 (d, *J* = 1.6 Hz, 2 H, H-2 u. H-6), 8.64 (t, *J* = 1.6 Hz, 1 H, H-4), 3.97 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

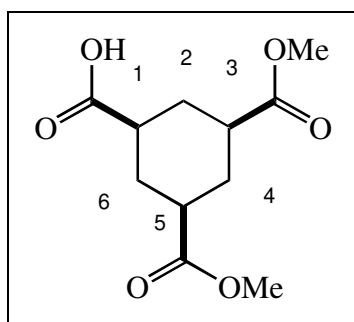
<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CD<sub>3</sub>OD, TMS)  
167.8 (s, C=O<sub>2</sub>H), 166.9 (s, C=O<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 135.6 (d, C-2 u. C-6), 135.2 (d, C-4), 133.6 (s, C-1), 132.7 (s, C-3 u. C-5), 53.4 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

MS (100° C) 238 (21, M<sup>+</sup>), 221 (14, M<sup>+</sup> - OH), 207 (100, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 193 (6, M<sup>+</sup> - CO<sub>2</sub>H), 179 (19, M<sup>+</sup> - CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 163 (5), 147 (10), 120 (7), 102 (5), 75 (15)

EA.: berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub> C: 55.5, H: 4.2, gefunden: C: 55.3, H: 4.9

1,3,5-Benzoltricarbonsäuremonomethylester **49**

Ausbeute:	0.101 g (0.45 mmol; 2 %), farbloser Feststoff, C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> (224.17)
DC:	R <sub>f</sub> = 0.43 (PE/Et <sub>2</sub> O/AcOH = 20/20/1)
mp.:	180 - 185° C (Bei 175 - 180° C wird <b>49</b> glasig.) (PE/EE/AcOH)
IR (CHCl <sub>3</sub> ):	3080 bs, 3004 bs, 2956 w, 2648 w, 2572 w, 1732 s, 1708 s, 1608 w, 1448 m, 1408 m, 1268 s, 988 m, 932 m, 740 s
<sup>1</sup> H-NMR:	(400.1 MHz, CD <sub>3</sub> OD, TMS) 8.76 (t, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1 H, H-2), 8.71 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 2 H, H-4 u. H-6), 3.97 (s, 3 H, CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C-NMR:	(100.6 MHz, CD <sub>3</sub> OD, TMS) 168.1 (s, <u>CO</u> <sub>2</sub> H), 167.1 (s, <u>CO</u> <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 135.9 (d, C-2), 135.5 (d, C-4 u. C-6), 133.6 (s, C-1 u. C-3), 132.5 (s, C-5), 53.4 (q, <u>CO</u> <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )
MS (160° C)	224 (21, M <sup>+</sup> ), 207 (42, M <sup>+</sup> - OH), 193 (100, M <sup>+</sup> - OCH <sub>3</sub> ), 179 (10, M <sup>+</sup> - CO <sub>2</sub> H), 165 (18, M <sup>+</sup> - CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 147 (7), 120 (8), 102 (4), 75 (16)
EA.:	berechnet für C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> C: 53.6, H: 3.6, gefunden: C: 53.6, H: 4.3

2.2.4 *cis,cis*-1,3,5-Cyclohexantricarbonsäuredimethylester (**36**)

Eine Parr-Apparatur mit 4.202 g (17.6 mmol) 1,3,5-Benzoltricarbonsäuredimethylester **36** und 1.660 g Rh/C (5%) in 60 ml abs. MeOH wird durch dreimaliges Evakuieren und Spülen mit H<sub>2</sub> gefüllt. Die Lösung wird heftig fünf Tage bei einem H<sub>2</sub>-Druck von 4 bar gerührt. Alternativ kann die Hydrierung in einem Tag bei 50° C und 4 bar durchgeführt werden. Die Suspension wird filtriert und eingengt. Man erhält ein farbloses viskoses Öl, das nach circa zwei Monaten im Kühlschrank auskristallisiert.

Der Katalysator kann mit Waschen durch methanolischer  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung und Methanol regeneriert werden und in weiteren Hydrierungen eingesetzt werden.

Ausbeute: 4.078 g (16.7 mmol, 95 %), farbloser kristalliner Feststoff,  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_6$  (244.24)

DC:  $R_f = 0.28$  (PE/Et<sub>2</sub>O/AcOH = 20/20/1)

mp.: 65 - 66° C (PE/EE)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3512 w, 2952 s, 1732 s, 1713 s, 1436 s, 1288 s, 1260 s, 1172 s, 1132 m, 1036 w, 1008 w, 940 w

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
3.72 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.40 - 2.51 (m, 3 H, H-1, H-3 u. H-5), 2.27 - 2.39 (m, 3 H, H-2äq, H-4äq u. H-6äq), 1.57 (q,  $J = 13.2$  Hz, 2 H, H-2ax u. H-6ax), 1.56 (q,  $J = 13.2$  Hz, 1 H, H-4ax)

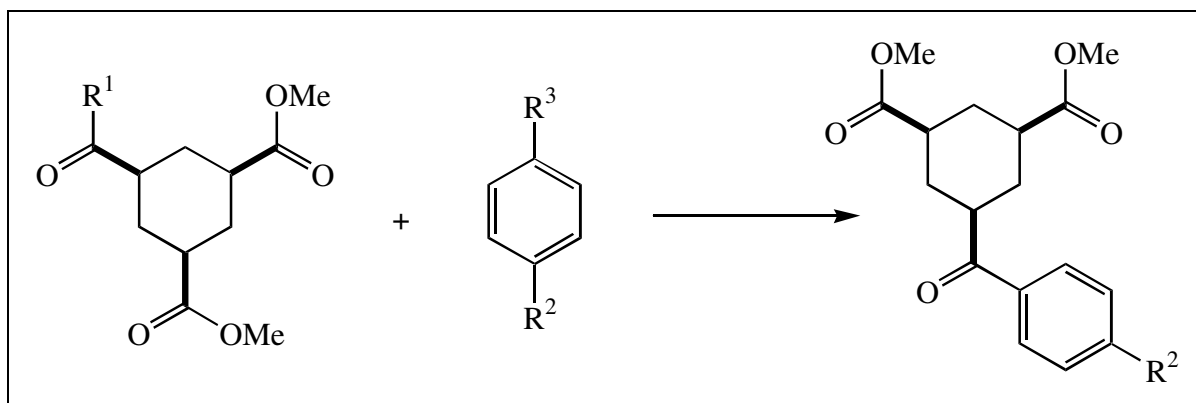
<sup>13</sup>C-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
179.8 (s, CO<sub>2</sub>H), 174.4 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 51.9 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 41.5 (d, C-1), 41.4 (d, C-3 u. C-5), 30.3 (t, C-2), 30.1 (t, C-4 u. C-6)

MS (110° C): 227 (11, M<sup>+</sup> - OH), 213 (19, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 198 (9, M<sup>+</sup> - CO<sub>2</sub>H), 184 (6, M<sup>+</sup> - CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 166 (30), 153 (11), 138 (59), 125 (21), 107 (15), 79 (100)

FABMS: 267 (95, [M + Na]<sup>+</sup>), 245 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 227 (51, M<sup>+</sup> - OH), 213 (41, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>)

EA.: berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_6$ : C: 54.1, H: 6.6, gefunden: C: 53.0, H: 6.5

## 2.2.5 Versuche zur Arylketonsynthese



## Allgemeine Durchführung:

Die freie Säure **49** (0.35 - 0.45 mmol) wird in 0.2 - 0.5 ml Thionylchlorid drei Stunden bei 50 - 70° C gerührt. Anschließend wird das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum abdestilliert, und der Rückstand wird im Vakuum getrocknet.

Das Säurechlorid wird ohne weitere Reinigung in dem angegebenen absoluten Lösungsmittel gelöst und auf die entsprechende Temperatur abgekühlt. Zu dieser Lösung wird über ein Septum die Phenylmetall-Lösung in dem angegebenen Zeitraum injiziert. Die Reaktion wird mit gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung bzw. mit 2 %-ger Schwefelsäure beendet, die Phasen werden separiert, die wäßrige Phase wird DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird entweder säulenchromatographisch (Kieselgel, Laufmittel PE/EE) gereinigt, oder die polaren Verunreinigungen werden mittels einer Säulenfiltration an Kieselgel abgetrennt, und die Ausbeute wird durch GC-Analytik mit Benzophenon als internem Standard bestimmt

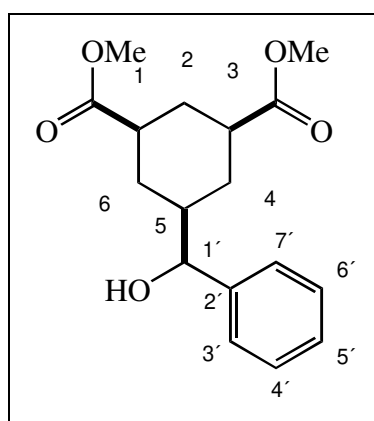
	R <sup>1</sup> :	R <sup>2</sup> :	R <sup>3</sup> :	Bedingungen:	Ausbeute:
A <sup>47</sup>	OMe	H	BrMg	PhMe, THF, 5.8 eq TEA, inverse Zugabe 30 min, -10° C → RT	0 %
B	Cl <sup>a</sup>	H	BrMg	Et <sub>2</sub> O, 0.1 eq Cu(I)I, -10° C, Zugabe 55 min, 1 h bei -10° C	10 % bezogen auf den Triester <b>37</b>
C	Cl	H	0.5 LiCu <sup>b</sup>	Et <sub>2</sub> O, -78° C, Zugabe 5 min, 30 min bei -78° C	0 %
D	Cl	H	H	PhH, 1 eq AlCl <sub>3</sub> , Rückfluß	0 %
E	Cl	H	0.5 LiCu <sup>c</sup>	Et <sub>2</sub> O, -78° C, Zugabe 5 min, 20 min bei -78° C	37 %
F	Cl	H	BrMg	THF, -78° C, Zugabe 30 min, -78° C → RT	67 % <sup>d, e</sup>
G <sup>164</sup>	Cl	H	BrMg	Et <sub>2</sub> O, THF, 1 eq Cu(I)I, -78° C, Zugabe 5 min, 10 min bei -78° C	15 % <sup>d</sup>
H	Cl	H	BrMg	THF, 0.05 eq Fe(III)acac <sub>3</sub> , 0° C, Zugabe 40 min, 10 min bei 0° C	30 % <sup>d</sup>
I	Cl	H	BrMg	THF, 2 eq DMPU, -40° C, Zugabe 50 min, 1 h bei -40° C	16 % <sup>d</sup>
J	Cl	H	0.5 Zn	PhH, 0° C → RT	0 % <sup>d</sup>
K	Cl	H	[LiCu* SMe <sub>2</sub> ] <sup>f</sup>	THF, -78° C, Zugabe 5 min, 1 h bei -78° C	6 % <sup>d</sup>
L	PPh <sub>3</sub> <sup>+</sup> <sup>g</sup>	OMe	BrMg	THF, Zugabe 1 min, 15 min bei -15° C	52 %
M	Cl	OMe	ClZn <sup>h</sup>	THF, 1 eq Ph-C≡C-Cu(I), -78° C, Zugabe 1 min, 4 h bei 0° C	21 %

<sup>164</sup> Y. Oshima, C. Konno, H. Hikino, *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 3381

	R <sup>1</sup> :	R <sup>2</sup> :	R <sup>3</sup> :	Bedingungen:	Ausbeute:
N	Cl	OMe	ClZn <sup>h</sup>	THF, 1 eq CuCN, 2 eq LiCl, -78° C, Zugabe 1 min, 4 h bei 0° C	12 %
O	Cl	OMe	0.5 Zn <sup>i</sup>	THF, 1 eq CuCN, 2 eq LiCl, -40° C, Zugabe 5 min, 1 h bei -30° C, 2 h bei 0° C	36 %

- a: Der Triester **37** wird mit 2 eq KOH und 1 eq LiI·H<sub>2</sub>O in MeOH/H<sub>2</sub>O 24 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wird angesäuert, mit EE extrahiert, die organische Phase wird mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Die ungereinigte Säure (ca. 59 % Ausbeute) wird wie oben beschrieben in das Säurechlorid überführt.
- b: Das Cuprat wird durch Reaktion von 2 eq PhLi mit 1 eq Cu(I)I in Et<sub>2</sub>O dargestellt.<sup>52</sup>
- c: Das Cuprat wird durch Reaktion von 2 eq PhLi mit 1 eq Cu(I)Br in Et<sub>2</sub>O dargestellt.
- d: Ausbeute wird mittels GC bestimmt.
- e: Das Produkt wird nach Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> spektroskopisch charakterisiert.
- f: Das Cuprat wird durch Reaktion von 2 eq PhLi mit 1 eq Cu(I)Br·SMe<sub>2</sub> in THF dargestellt.
- g: Das Acylphosphoniumchlorid wird in situ bei -20° C durch Zugabe von Bu<sub>3</sub>P und Rühren (20 min) hergestellt.
- h: Das Anisylzinkchlorid wird in situ durch Reaktion von 1 eq Anisyllithium mit 1 eq ZnCl<sub>2</sub> in THF (0° C → RT) synthetisiert.<sup>165</sup>
- i: Das Bisanisylzink wird in situ hergestellt, indem man bei -40° C 2 eq Anisylmagnesiumbromid mit 1 eq ZnCl<sub>2</sub> umsetzt und anschließend 1 h bei 0° C rührt.

### 2.2.6 *cis,cis*-5-(Hydroxyphenylmethyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (**55**)



1.000 g (4.09 mmol) Monosäure **36** werden in 0.5 ml Thionylchlorid zwei Stunden unter Rückfluß erwärmt. Anschließend wird unter reduziertem Druck das überschüssige Thionylchlorid abdestilliert. Nach dem Trocknen im Hochvakuum erhält man 1.086 g eines gelben Öles.

<sup>165</sup> E. Negishi, A. O. King, N. Okukado, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1823

0.988 g des Säurechlorids werden in 5 ml abs. THF gelöst und auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Anschließend tropft man innerhalb von einer Stunde zu der Lösung 2 ml einer 1.78 M Phenylmagnesiumbromid-Lösung (3.56 mmol). Man erwärmt langsam über Nacht die Reaktionslösung auf RT. Die Lösung wird mit ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung verdünnt und mit  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert, und das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingeengt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (Kieselgel, Laufmittel  $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O} = 1/1$ ) erhält man 0.576 g eines farblosen Öles, das aufgrund seiner nicht abtrennbaren Verunreinigungen zum Alkohol reduziert wird.

Das Keton wird in 3 ml  $^i\text{PrOH}$  gelöst und auf  $0^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Zur Lösung werden 0.028 g (0.75 mmol)  $\text{NaBH}_4$  zugegeben. Es wird eine Stunde bei  $0^{\circ}\text{C}$  und dann über Nacht bei RT gerührt. Man gibt zur Reaktionslösung 2 N Salzsäure, bis keine Gasentwicklung mehr auftritt. Anschließend nimmt man die Lösung mit 5 ml aqua dest auf und separiert die Phasen. Die wäßrige Phase wird viermal mit 5 ml  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und konzentriert. Der Rückstand wird zweimal säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel  $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O} = 1/1$ ) gereinigt.

Ausbeute: 0.141 g (0.46 mmol, 12 % bezogen auf die Monosäure **36**), farbloser Feststoff,  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5$  (306.36)

DC:  $R_f = 0.23$  ( $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O} = 1/1$ )

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3608 m, 2952 m, 2912 w, 2872 w, 1732 s, 1604 w, 1436 m, 1256 m, 1168 m, 1020 m

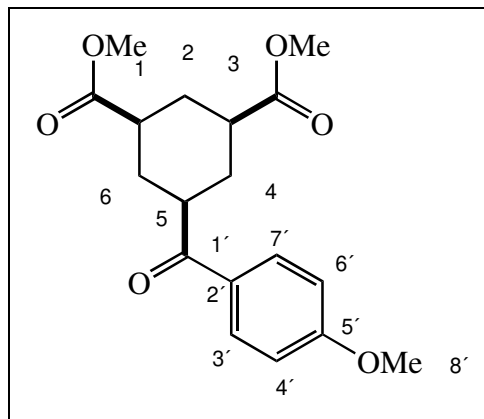
$^1\text{H-NMR}$ : (400.1 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
7.24 - 7.38 (m, 5 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 4.42 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, H-1'), 3.66 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.61 (s, 3 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 2.25 - 2.35 (m, 3 H, H-1, H-3 u. H-6äq), 2.14 - 2.21 (m, 1 H, H-4äq), 1.70 - 1.79 (m, 1 H, H-5), 1.63 - 1.70 (m, 1 H, H-2äq), 1.48 (q,  $J = 12.7$  Hz, 2 H, H-2ax), 1.21 (q,  $J = 12.1$  Hz, 1 H, H-4ax), 1.15 (q,  $J = 12.7$  Hz, 1 H, H-6ax)

$^{13}\text{C-NMR}$ : (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
175.4 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 175.3 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 142.8 (s, C-2'), 128.4 (d, C-4' u. C-6'), 127.8 (d, C-5'), 126.5 (d, C-3' u. C-7'), 78.3 (d, C-1'), 51.74 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 51.72 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 43.5 (d, C-5), 42.2 (d, C-3), 42.1 (d, C-1), 31.0 (t), 30.8 (t), 30.4 (t)

MS ( $130^{\circ}\text{C}$ ): 257 (2), 243 (3), 229 (8,  $\text{M}^+ - \text{Ph}$ ), 215 (8), 200 (88,  $\text{M}^+ - \text{Ph} - \text{H}$ ), 168 (100), 154 (12), 140 (34), 126 (48), 114 (21), 107 (66), 91 (22), 78 (58), 77 (40), 66 (6)

FABMS: 329 (28,  $[M + Na]^+$ ), 307 (29,  $[M + H]^+$ ), 289 (100,  $M^+ - OH$ ), 229 (43,  $M^+ - Ph$ )

### 2.2.7 *cis,cis*-5-(4-Methoxybenzoyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (56)



0.110 g (0.45 mmol) Monosäure **36** werden in 0.1 ml Thionylchlorid und einem Tropfen DMF drei Stunden bei 50° C gerührt. Das Thionylchlorid wird anschließend im Vakuum abgezogen. Das ungereinigte Säurechlorid wird mit 0.243 g (2.25 mmol) Anisol versetzt. Unter Eiskühlung tropft man 1.4 ml einer 1 M  $SnCl_4$ -Lösung in DCM innerhalb von zehn Minuten zu. Man rührt die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT. Die Reaktion wird mit 0.5 ml 2 N Salzsäure und circa 1 g Eis terminiert und solange gerührt, bis die rotbraune Färbung der Lösung verschwunden ist. Die Phasen werden separiert und die wäßrige Phase wird dreimal mit jeweils 3 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $MgSO_4$  getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Kieselgelchromatographie (PE/EE = 2/1 zu PE/EE = 1/1) gereinigt. Man erhält 0.103 g eines farblosen Öles, das beim Trocknen kristallisiert.

Ausbeute: 0.103 g (0.308 mmol, 69 %), farbloser kristalliner Feststoff,  $C_{18}H_{22}O_6$  (334.37)

DC:  $R_f = 0.28$  (PE/EE = 2/1)

mp.: 75 -78° C (PE/Et<sub>2</sub>O)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2952 m, 2844 w, 1732 s, 1672 s, 1600 s, 1576 m, 1508 m, 1436 m, 1256 s, 1168 s, 1032 m, 1012 m, 956 w, 840 w

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.92 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2 H, H-3' u. H-7'), 6.95 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2 H, H-4' u. H-6'), 3.88 (s, 3 H, H-8'), 3.68 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.34 (tt,  $J = 3.3$  Hz,  $J = 12.2$  Hz, 1 H, H-5), 2.55 (tt,  $J = 3.5$  Hz,  $J = 12.7$  Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.29 -

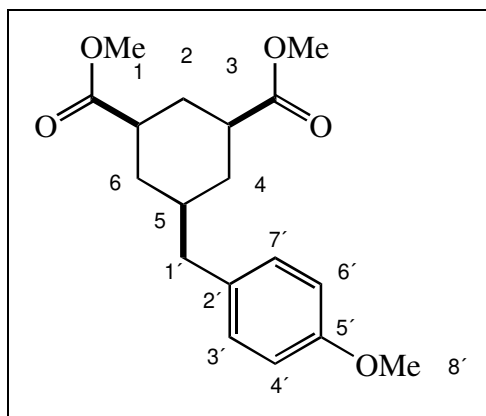
2.37 (m, 1 H, H-2äq), 2.15 - 2.22 (m, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.65 (q,  $J = 12.8$  Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax), 1.63 (q,  $J = 12.8$  Hz, 1 H, H-2ax)

$^{13}\text{C}$ -NMR: (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
 199.8 (s, C-1'), 174.6 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 163.6 (s, C-5'), 130.6 (d, C-3' u. C-7'),  
 128.6 (s, C-2'), 114.0 (d, C-4' u. C-6'), 55.5 (q, C-8'), 51.9 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ),  
 43.4 (d, C-5), 42.1 (d, C-1 u. C-3), 31.0 (t, C-4 u. C-6), 30.5 (t, C-2)

MS (100° C): 334 (3,  $\text{M}^+$ ), 303 (4,  $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ), 274 (2,  $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 197 (1), 149 (2),  
 135 (100), 111 (3), 107 (5), 83 (3), 77 (8)

EA.: berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_6$ : C: 64.7, H: 6.6, gefunden: C: 64.7, H: 6.5

### 2.2.8 *cis,cis*-5-(4-Methoxybenzyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (62)



Methode A:

Eine Lösung von 0.045 g (0.13 mmol) Arylketodiester **56** und 0.008 g Pd/C (10%) in 1 ml Eisessig werden in einer Parr-Apparatur bei einem  $\text{H}_2$ -Druck von 3.7 bar und einer Temperatur von 50° C 20 Stunden vigoros gerührt. Der Katalysator wird mittels einer Kieselgelsäulenfiltration abgetrennt. Nach dem Einengen erhält man 0.040 g eines gelblichen Öles.

Ausbeute: 0.040 g (0.124 mmol, 95 %), gelbliches Öl,  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$  (320.38)

DC:  $R_f = 0.43$  (PE/EE = 2/1)

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 2952 m, 2860 w, 1732 s, 1612 m, 1584 w, 1512 s, 1436 m, 1244 s, 1176 s,  
 1036 m, 832 w

$^1\text{H}$ -NMR: (400.1 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
 7.04 (d,  $J = 8.4$ , 2 H, H-3' u. H-7'), 6.82 (d,  $J = 8.4$ , 2 H, H-4' u. H-6'), 3.79  
 (s, 3 H, H-8'), 3.65 (s, 6 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 2.51 (d,  $J = 7.0$ , 2 H, H-1'), 2.33 (tt,  $J$



= 3.5 Hz,  $J = 12.4$  Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.16 - 2.24 (m, 1 H, H-2äq), 1.92 - 2.00 (m, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.54 - 1.66 (m, 1 H, H-5), 1.52 (q,  $J = 12.7$ , 1 H, H-2ax), 1.10 (q,  $J = 12.6$  Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax)

$^{13}\text{C}$ -NMR: (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
 175.4 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 157.9 (s, C-5'), 131.9 (s, C-2'), 130.0 (d, C-3' u. C-7'), 113.7 (d, C-4' u. C-6'), 55.2 (q, C-8'), 51.7 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 42.4 (t, C-1'), 42.3 (d, C-1 u. C-3), 38.6 (d, C-5), 34.4 (t, C-4 u. C-6), 31.1 (t, C-2)

MS (120° C): 320 (12,  $\text{M}^+$ ), 289 (3,  $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ), 256 (2), 221 (4), 201 (1), 199 (1,  $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$ ), 167 (2), 147 (2), 139 (3), 122 (14), 121 (100,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3^+$ ), 111 (2), 107 (1), 99 (3), 77 (7)

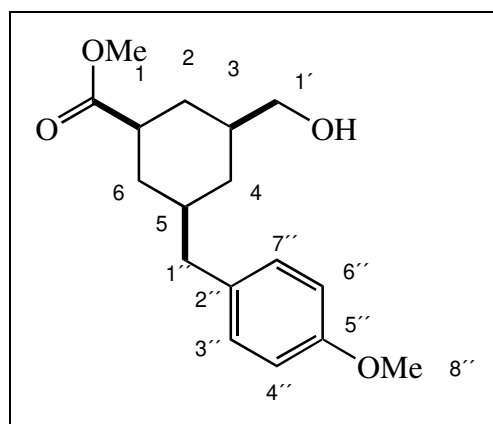
HRMS: berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$ : 320.162374, gefunden: 320.16229

#### Methode B:

0.450 g (1.35 mmol) Arylketodiester **56** und 0.942 g (8.1 mmol) TESH in 1.1 ml TFA werden bei 50° C sieben Stunden gerührt und anschließend über Nacht bei RT weitergerührt. Die Reaktionslösung wird eingengt und mit 15 ml DCM und 15 ml ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung aufgenommen. Die Phasen werden separiert. Die wäßrige Phase wird dreimal mit 15 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 15 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Kieselgelchromatographie (PE/EE = 30/1 zu PE/EE = 1/1) gereinigt. Man erhält ein gelbliches Öl (0.320 g).

Ausbeute: 0.320 g (1.00 mmol, 74 %), gelbliches Öl,  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$  (320.38)

### 2.2.9 *cis,cis*-3-Hydroxymethyl-5-(4-methoxybenzyl)-1-cyclohexancarbonsäuremethylester (**68**)



0.360 g (1.13 mmol) Benzylidiester **62** und 0.089 g (1.59 mmol) KOH werden in 18.8 ml MeOH und 1.2 ml H<sub>2</sub>O unter Rückfluß erhitzt. Nach 36 Stunden wird die Reaktionslösung eingengt, mit 10 ml ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung aufgenommen und zweimal mit jeweils 5 ml MTB extrahiert. Die vereinigten MTB-Phasen werden mit 5 ml ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung reextrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Der erhaltene Rückstand besteht hauptsächlich aus dem Edukt (0.062 g), welches erneut einer Verseifung unterworfen wird.

Die vereinigten wäßrigen Phasen werden mit conc. Salzsäure angesäuert und fünfmal mit jeweils 25 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingengt. Man erhält 0.253 g eines amorphen Feststoffes, der aus zwei Säuren besteht (DC: R<sub>f,1</sub> = 0.15, R<sub>f,2</sub> = 0.34, PE/EE/AcOH=10/5/0.75, Beide Spots werden durch Bromkresolgrün gelb angefärbt.).

Das Gemisch der beiden Säuren wird ohne weitere Reinigung in 5 ml abs. THF unter einer Argon-Atmosphäre gelöst. Bei -78° C injiziert man langsam 0.12 ml (1.2 mmol) Borandimethylsulfid zur THF-Lösung. Anschließend läßt man die Lösung über Nacht auf RT kommen. Man nimmt die THF-Lösung mit 3 ml ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung auf und extrahiert fünfmal mit jeweils 10 ml DCM. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingengt. Nach der Kieselgelchromatographie (PE/EE=3/2 zu PE/EE=1/1) erhält man 0.193 g eines gelben Harzes und 0.62 g eines braunen Harzes.

Ausbeute: 0.193 g (0.66 mmol, 60 %), farbloses Wachs, C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub> (292.37)

DC: R<sub>f</sub> = 0.34 (PE/EE = 1/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3328 w, 3372 bm, 2928 s, 2860 m, 1724 s, 1612 m, 1512 s, 1460 m, 1436 m, 1244 s, 1176 m, 1124 w, 1072 w, 1036 m, 832 w

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 6.82 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 3.79 (s, 3 H, H-8''), 3.64 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.47 (dd, J = 1.7 Hz, J = 6.1 Hz, 2 H, H-1'), 2.50 (d, J = 7.0 Hz, 2 H, H-1''), 2.33 (tt, J = 3.5 Hz, J = 12.4 Hz, 1 H, H-1), 1.91 - 2.06 (m, 2 H, Häq), 1.71 - 1.80 (m, 1 H, Häq), 1.49 - 1.66 (m, 2 H, H-3 u. H-5), 1.09 (q, J = 12.5 Hz, 1 H, Hax), 1.08 (q, J = 12.5 Hz, 1 H, Hax), 0.67 (q, J = 12.2 Hz, 1 H)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 176.3 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 157.8 (s, C-5''), 132.4 (s, C-2''), 130.0 (d, C-3'' u. C-7''), 113.6 (d, C-4'' u. C-6''), 67.9 (t, C-1'), 55.2 (q, C-8''), 51.6 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 42.74 (t, C-1''), 42.66 (d, C-1), 39.5 (d, C-3), 38.7 (d, C-1'), 35.15 (t), 35.05 (t), 31.8 (t)

MS (80° C): 292 (5, M<sup>+</sup>), 261 (1, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 221 (1), 215 (1), 149 (2), 121 (43, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 111 (3), 107 (1), 97 (4), 86 (63), 84 (100)

HRMS: berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>: 292.167460, gefunden: 292.1675

*cis,cis*-1,3-Bis(hydroxymethyl)-5-(4-methoxybenzyl)cyclohexan **70**

Ausbeute: 0.062 g (0.22mmol, 20 %), farbloses Wachs, C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> (264.36)

DC: R<sub>f</sub> = 0.20 (PE/EE = 1/1)

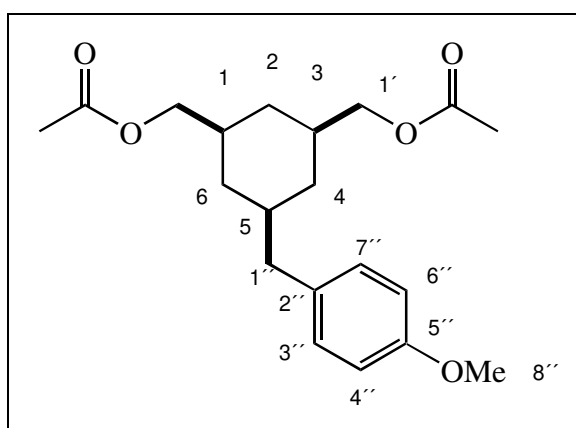
IR (CHCl<sub>3</sub>): 3324 m, 3428 bm, 2916 s, 2844 w, 1752 w, 1712 m, 1672 m, 1612 m, 1512 s, 1300 w, 1244 s, 1176 m, 1036 m, 836 w, 812 w

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 6.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 3.79 (s, 3 H, H-8''), 3.45 - 3.53 (m, 4 H, H-1'), 2.48 (d, *J* = 7.0 Hz, 2 H, H-1'), 1.86 (bd, *J* = 11.8 Hz, 1 H, H-2äq), 1.75 (bd, *J* = 12.3 Hz, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.44 - 1.67 (m, 3 H, H-1, H-3 u. H-5), 0.62 (q, *J* = 12.1 Hz, 3 H, H-2ax, H-4ax u. H-6ax)

MS (90° C): 264 (13, M<sup>+</sup>), 151 (1), 122 (20), 121 (68, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 111 (2), 107 (3), 97 (4), 91 (4), 86 (64), 84 (100), 73 (42)

HRMS: berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>: 264.172545, gefunden: 264.173.

### 2.2.10 *cis,cis*-1,3-Bis(acetoxymethyl)-5-(4-methoxybenzyl)cyclohexan (72)



Eine Lösung aus 0.060 g (0.23 mmol) Diol **70**, 0.216 g (2.1 mmol) Acetanhydrid und 0.4 ml abs. py wird drei Tage bei RT gerührt und anschließend konzentriert und im Hochvakuum

getrocknet. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (10 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 3/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.057 g (0.16 mmol, 72 %), farbloses Wachs, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> (348.44)

DC: R<sub>f</sub> = 0.42 (PE/EE = 1/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2920 m, 2848 w, 1732 s, 1612 m, 1512 s, 1464 m, 1388 m, 1364 m, 1244 s, 1036 m

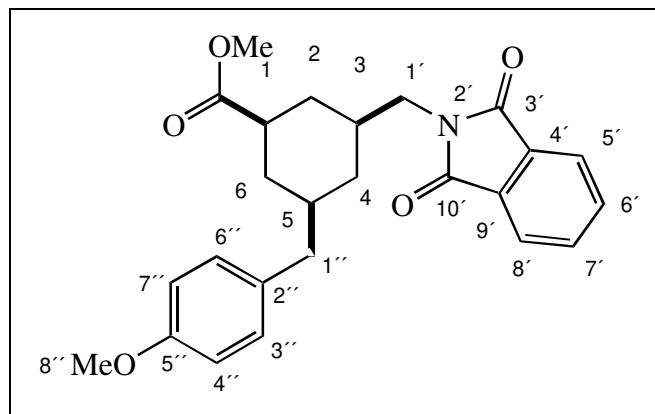
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.04 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 6.82 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 3.91 (dd, *J* = 10.8 Hz, *J* = 6.1 Hz, 2 H, H-1'), 3.86 (dd, *J* = 10.8 Hz, *J* = 6.6 Hz, 2 H, H-1'), 3.79 (s, 3 H, H-8'), 2.47 (d, *J* = 7.0 Hz, 2 H, H-1'), 2.04 (s, 3 H, H<sub>3</sub>CCO), 1.80 (bd, *J* = 12.5 Hz, 1 H, H-2äq), 1.73 (bd, *J* = 13.4 Hz, 2 H, H-3äq u. H-6äq), 1.68 (m, 2 H, H-1 u. H-3), 1.59 (m, 1 H, H-5), 0.69 (q, *J* = 12.2 Hz, 1 H, H-2ax), 0.66 (q, *J* = 12.1 Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
171.2 (s, H<sub>3</sub>CCO), 157.8 (s, C-5'), 132.5 (s, C-2'), 130.0 (d, C-3'' u. C-7''), 113.6 (d, C-4'' u. C-6''), 69.2 (t, C-1'), 55.2 (q, C-8'), 42.9 (t, C-1'), 38.7 (d, C-5), 36.4 (d, C-1 u. C-3), 35.6 (t, C-4 u. C-6), 32.6 (t, C-2), 20.9 (q, H<sub>3</sub>CCO)

MS (70° C): 348 (17, M<sup>+</sup>), 228 (3), 185 (4), 149 (4), 121 (100, MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 106 (4), 93 (6)

HRMS: berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>: 348.193674, gefunden: 348.1939

### 2.2.11 *cis,cis*-3-(4-Methoxybenzyl)-3-Phthalimidomethyl-1-cyclohexancarbonsäuremethylester (73)



0.080 g (0.27 mmol) Hydroxyester **68**, 0.045 g (0.30 mmol) Phthalimid und 0.079 g (0.30 mmol) Triphenylphosphin werden in 0.12 ml abs. THF unter einer Argon-Atmosphäre vorgelegt, und es wird bei RT 0.052 g (0.30 mmol) Diethylazodicarboxylat innerhalb von fünf Minuten hinzu injiziert. Die Lösung rührt man über Nacht bei RT. Anschließend wird die Lösung eingengt, und der Rückstand wird säulenchromatographisch über Kieselgel (PE/EtOAc=3/2) gereinigt.

Ausbeute: 0.106 g (0.25 mmol, 93%), wachsartiger farbloser Feststoff, C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub> (421.49)

DC: R<sub>f</sub> = 0.49 (PE/EE = 2/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2932 m, 2848 w, 1772 s, 1734 s, 1712 s, 1612 w, 1512 m, 1396 m, 1244 m, 1176 m, 1052 w, 1036 w

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.81 - 7.86 (m, 2 H, H-8' u. H-5'), 7.69 - 7.74 (m, 2 H, H-6' u. H-7'), 7.02 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 6.80 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 3.77 (s, 3 H, H-8'), 3.61 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.55 (dd, J = 1.2 Hz, J = 6.6 Hz, 2 H, C-1'), 2.51 (dd, J = 6.4 Hz, J = 13.5 Hz, 1 H, C-1''), 2.42 (dd, J = 7.6 Hz, J = 13.6 Hz, 1 H, C-1''), 2.26 (tt, J = 3.3 Hz, J = 12.4 Hz, 1H, C-1), 1.81 - 1.96 (m, 3 H), 1.69 - 1.77 (m, 1 H), 1.49 - 1.61 (m, 1 H, H-5), 1.15 (q, J = 12.3 Hz, 1 H), 1.07 (q, J = 12.4 Hz, 1 H), 0.78 (q, J = 12.1 Hz, 1 H)

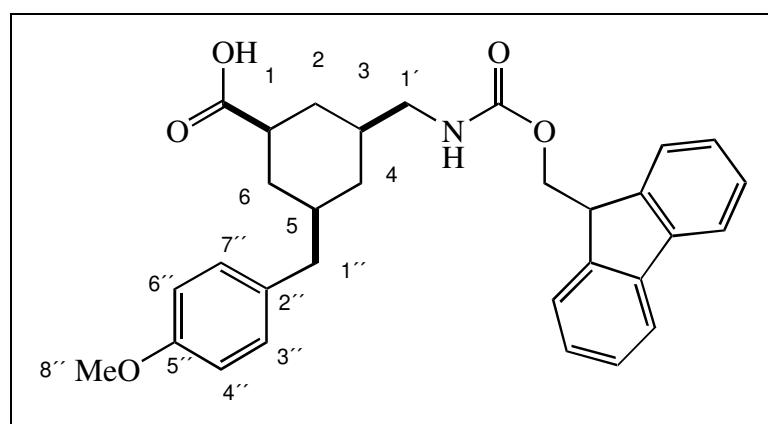
<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 175.8 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 168.6 (s, C-3' u. C-10'), 157.8 (s, C-5''), 134.0 (d, C-6' u. C-7'), 132.2 (s), 132.0 (s), 130.0 (d, C-3'' u. C-7''), 123.3 (d, C-5' u. C-8'), 113.6 (d, C-4'' u. C-6''), 55.2 (q, C-8'), 51.6 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 43.6 (t, C-

1'), 42.63 (d, C-1), 42.60 (t, C-1''), 38.6 (d, C-5), 36.6 (t), 36.35 (d, C-3), 34.6 (t), 32.9 (t)

MS (100° C): 422 (3), 421 (6, M<sup>+</sup>), 363 (1, M<sup>+</sup> - CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 334 (2), 274 (1), 268 (2), 240 (2), 214 (2), 192 (3), 174 (13), 161 (9), 160 (11, Ph<sub>t</sub>=NCH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 148 (14), 147 (87), 122 (12), 151 (51), 105 (23), 104 (73), 91 (9), 90 (10), 76 (100)

HRMS: berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>: 412.188923, gefunden: 412.1883

### 2.2.12 N-Fluorenylmethyloxycarbonyl-3-aminomethyl-5-(p-methoxybenzyl)cyclohexan-carbonsäure (76)



Methode A:

0.144 g (0.343 mmol) Phthalimidoester **73** werden in 2.8 ml 2 N Salzsäure (40 % 1,4-Dioxan) drei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wird eingeeengt und mit drei Tropfen conc. Salzsäure versetzt. Die wäßrige Phase wird fünfmal mit 5 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand (0.133 g) wird in 1.3 ml EtOH und 0.026 g (0.53 mmol) Hydrazinhydrat für vier Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die ethanolische Lösung wird bis zur Trockne eingeeengt, und der Rückstand wird mit 2.5 ml methanolischer 2 N Salzsäure aufgenommen und zehn Minuten auf 50° C erwärmt. Das ausgefallene Phthalhydrazid wird abfiltriert und zweimal mit 1.5 ml 2 N Salzsäure gewaschen. Das Filtrat wird mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> auf pH 4 eingestellt und sechsmal mit 8 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mittels MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand (0.070 g) wird in 0.72 ml 10 %-ger Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und 0.35 ml 1,4-Dioxan gelöst. Bei 0° C werden 0.069 g (0.26 mmol) Fmoc-Cl ,gelöst in 0.53 ml 1,4-Dioxan, unter Rühren zur gelblichen Lösung innerhalb von 30 Minuten hinzu gegeben. Es wird drei Stunden bei 0° C und eine Stunde bei RT gerührt. Die Reaktion wird mit 14 ml H<sub>2</sub>O terminiert und mit conc. Salzsäure auf pH 2 angesäuert. Die wäßrige Phase wird sechsmal mit 10 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingeeengt.

Das erhaltene Rohprodukt (0.142 g) wird mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, PE/EE/AcOH = 50/50/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.030 g (0.06 mmol, 17%), gelbliches Öl, C<sub>31</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>5</sub> (499.61)

DC: R<sub>f</sub> = 0.66 (PE/EE/AcOH = 50/50/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3454 w, 1711 m, 1660 s, 1365 m, 1092 m

<sup>1</sup>H-NMR: (270.2 MHz, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, TMS)

7.43 - 7.73 (m, 4 H, H<sub>ar,Fmoc</sub>), 7.17 - 7.39 (m, 4 H, H<sub>ar,Fmoc</sub>), 6.96 (bd, *J* = 8.2 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 6.73 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 4.21 - 4.37 (m, 2 H, OCH<sub>2,Fmoc</sub>), 4.11 (d, *J* = 7.2 Hz, 1 H, CH<sub>Fmoc</sub>), 3.69 (s, 3 H, H-1'), 2.97 (dd, *J* = 6.4 Hz, *J* = 13.7 Hz, 1 H, H-1'), 2.87 (dd, *J* = 7.1 Hz, *J* = 13.7 Hz, 1 H, H-1'), 3.55 (bd, *J* = 2.40 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>NHFmoc), 2.19 (bt, *J* = 10.5, 1 H, C-1), 1.75 - 1.97 (m, 2 H), 1.58 - 1.70 (m, 1 H), 1.35 - 1.56 (m, 2 H), 0.74 - 1.06 (m, 2 H), 0.54 (q, *J* = 12.1 Hz, 1 H)

<sup>13</sup>C-NMR: (69.9 MHz; CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, TMS)

178.4 (C=O), 157.5 (C-5''), 156.8 (C=O), 143.7, 141.0, 132.2 (C-2''), 129.8 (C-3'' u. C-7''), 127.4, 126.8, 124.7, 119.6, 113.6 (C-4'' u. C-6''), 70.8 (OCH<sub>2,Fmoc</sub>), 66.2 (CH<sub>Fmoc</sub>), 54.9 (C-8''), 47.0, 46.5, 42.4, 38.5, 37.0, 36.0, 34.8, 32.5

PDMS: 523 ([M+Na+H]<sup>+</sup>)

#### Methode B:

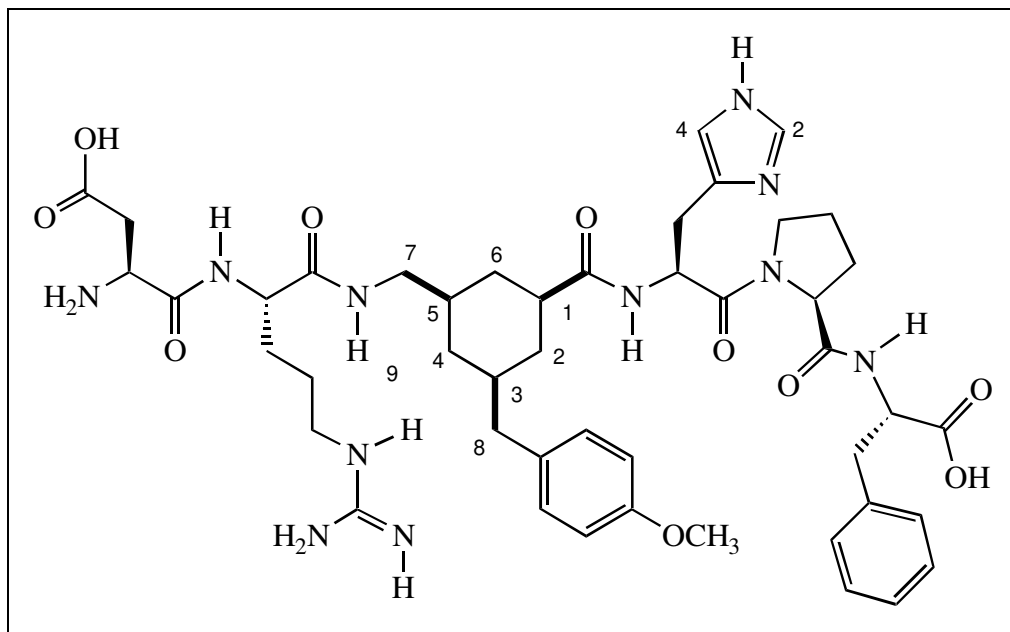
0.085 g (0.2 mmol) Phthalimidoester **73** werden in 2 ml EtOH gelöst, mit 0.010 g (0.2 mmol) Hydrazinhydrat versetzt. Nach 25 Stunden bei RT werden nochmals 0.010 g (0.2 mmol) Hydrazinhydrat hinzugefügt. Nach weiteren fünf Stunden bei RT wird die ethanolische Lösung bis zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird in 0.2 ml 2 N NaOH-Lösung (0.4 mmol), 0.2 ml MeOH und 0.2 ml DMF suspendiert. Nach 14 Stunden Rühren bei RT wird die Reaktionslösung mit conc. Salzsäure auf pH 4 angesäuert und bis zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird mit heißem Ethanol aufgenommen und auf 5° C abgekühlt. Der ausgefallene Niederschlag wird abfiltriert. Das Filtrat wird mit Et<sub>2</sub>O versetzt, um die Aminosäure zu fällen. Nach dem Abfiltrieren des Feststoffs wird unter Vakuum getrocknet.

Das Rohprodukt (0.096 g) und 0.053 g (0.5 mmol) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> werden in 0.3 ml 1,4-Dioxan und 0.53 ml H<sub>2</sub>O suspendiert. Bei 0° C wird 0.082 g (0.36 mmol) Fmoc-Cl unter Rühren in zwei Portionen zugefügt. Man läßt über Nacht auf RT kommen. Nach 19 Stunden wird die Reaktion mit 10 ml H<sub>2</sub>O beendet und auf pH 4 mit conc. Salzsäure angesäuert. Die wäßrige Phase wird viermal mit 25 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 ml 6 N Salzsäure gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer

eingengt. Das erhaltene Rohprodukt (0.109 g) wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel,  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH} = 30/1$ ) und präparativer Dünnschichtchromatographie (Kieselgel,  $\text{PE}/\text{EE}/\text{AcOH} = 50/50/1$ ) gereinigt.

Ausbeute: 0.012 g (0.024 mmol, 12%), gelbliches Öl,  $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{NO}_5$  (499.61)

### 2.2.13 Asparagyl-arginyl-(*cis,cis*-3-aminomethyl-5-(*p*-methoxybenzyl)-1-cyclohexancarboxyl)-histidyl-prolyl-phenylalalin (**80**) und (**81**)



Es werden 89.4 mg (42.09  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-His(Trt)-Pro-Phe-Wang-Harz (Nova) in einer 2 ml Einwegspritze mit Polyethylenfilter in ca. 1 ml DMF mittels langsamen Rotieren suspendiert. Danach wird das harzgebundene Peptid mit einer 20 %-gen (v/v) Piperidin-DMF-Lösung (0, 2 und 10 min) geschüttelt und sechsmal mit DMF eine Minute gewaschen. Anschließend schüttelt man das Harz mit 23.1 mg (46.3  $\mu\text{mol}$ ) *cis-cis*-N-Fluorenylmethyloxycarbonyl-3-aminomethyl-5-(*p*-methoxybenzyl)-1-cyclohexancarbonsäure **76**, 36.1 mg (69.5  $\mu\text{mol}$ ) PyBOP und 17.9 mg (139.0  $\mu\text{mol}$ ) DIEA in 1 ml DMF. Nach 22 Stunden wird das Harz mit DMF (3 x 1 min) gewaschen, mit 10 %-ger (v/v)  $\text{Ac}_2\text{O}$ -DMF-Lösung und 15.9 mg (122.7  $\mu\text{mol}$ ) DIEA zehn Minuten geschüttelt, mit DMF (6 x 1 min) gewaschen, mit Piperidin-DMF-Lösung (0,2 und 10 min) entschützt und mit DMF (6 x 1min) gewaschen. Nachfolgend erfolgt die Verlängerung des Peptids nach der Standardprozedur. Das Harz wird mit 96.5 mg (126.2  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Arg(Pmc)-OH\*(<sup>t</sup>Pr)<sub>2</sub>O, 65.7 mg (126.2  $\mu\text{mol}$ ) PyBOP und 32.6 mg (252.4  $\mu\text{mol}$ ) DIEA in 0.75 ml DMF zwei Stunden geschüttelt, mit DMF (6x 1 min) gewaschen, mit Piperidin-DMF-Lösung (0,2 und 10 min) entschützt, wieder mit DMF (6x 1min) gewaschen und mit 51.9 mg (126.2  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Asp(<sup>t</sup>Bu)-OH, 65.7 mg (126.2  $\mu\text{mol}$ ) PyBOP und 32.6 mg (252.4  $\mu\text{mol}$ ) DIEA in 0.75 ml DMF umgesetzt. Der N-Terminus des harzgebundenen Peptids wird mit Piperidin-DMF-Lösung (0, 2 und 10 min) entschützt. Das Polymer wird mit DMF (6x 1 min) und DCM (6x 1 min) gewaschen und anschließend an der Luft über Nacht getrocknet.



Für die Abspaltung des Peptids vom Harz wird das Harz in 1.5 ml TFA-TESH-H<sub>2</sub>O-Lösung (90/5/5) für 80 Minuten suspendiert. Die TFA-Lösung wird abfiltriert und das Harz dreimal mit 0.3 ml TFA gespült. Die vereinigten TFA-Lösungen werden im N<sub>2</sub>-Strom auf circa 1.5 ml eingengt, mit 15 ml Et<sub>2</sub>O versetzt und 20 Minuten bei 0° C gelagert. Der ausgeflockte farblose Feststoff wird abzentrifugiert, und die überstehende Etherphase wird abdekantiert. Das ausgefallene Peptid wird fünfmal mittels Suspendieren in 7 ml Et<sub>2</sub>O, Zentrifugieren und Abdekantieren gewaschen. Der Rückstand wird erst im N<sub>2</sub>-Strom und dann im Wasserstrahlvakuum getrocknet. Man erhält 29.9 mg des ungereinigten Peptids, welches mit C<sub>18-Reversed Phase</sub>-Chromatographie (Säule 218TP1010 VYDAC, 1 cm x 25 cm, Partikelgröße 10 µm, 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O und 0.1 % TFA in MeCN, 3 ml/min, Gradient 20 → 50 % MeCN in 60 min) gereinigt wird. Nach dem Gefriertrocknen erhält man die beiden Diastereomere als farblose amorphe Feststoffe.

**Diastereomer 80**

Ausbeute: 7.8 mg, farbloser Feststoff, C<sub>46</sub>H<sub>63</sub>N<sub>11</sub>O<sub>10</sub> (930.07)

HPLC: t<sub>Ret</sub> = 22.30 min (Säule 218TP10415 VYDAC, 0.46 cm x 15 cm, 10 µm, 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O und 0.1 % TFA in MeCN, 3.0 ml/min, Gradient 20 → 50 % MeCN in 40 min)

<sup>1</sup>H-NMR: (400.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  
8.93 (s, 1 H, H<sub>His-4</sub>), 8.60 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, NH<sub>Arg</sub>), 8.25 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, NH<sub>Phe</sub>), 8.08 (d, J = 7.9 Hz, 1H, NH<sub>His</sub>), 7.94 (t, J = 5.5 Hz, 1 H, H-9), 7.73 (t, J = 5.6 Hz, 1 H, H<sub>Arg,NH-ε</sub>), 7.31 (s, 1H, H<sub>His-4</sub>), 7.17 - 7.25 (m, 5 H, H<sub>Phe,ar</sub>), 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 2 H, H<sub>ortho</sub>), 6.83 (d, J = 8.5 Hz, 2 H, H<sub>meta</sub>), 4.75 (dd, J = 7.4 Hz, J = 14.3 Hz, 1 H, H<sub>His,CH-α</sub>), 4.42 (dd, J = 7.7 Hz, J = 13.3 Hz, 1 H<sub>Phe, H,CH-α</sub>), 4.37 (m, 1 H, H<sub>Pro,CH-α</sub>), 4.21 (m, 1 H, H<sub>Arg,CH-α</sub>), 4.12 (dd, J = 4.0 Hz, J = 8.0 Hz, 1 H, H<sub>Asp,CH-α</sub>), 3.71 (s, 2 H, OCH<sub>3</sub>), 3.56 (m, 1 H, H<sub>Pro,CH-δ</sub>), 3.47 (m, 1 H, H<sub>Pro,CH-δ</sub>), 3.06 (m, 2H, H<sub>Arg,CH-δ</sub>), 3.02 (m, 1 H, H<sub>Phe,CH-β</sub>), 2.96 (m, 1 H, H<sub>His,CH-β</sub>), 2.92 (m, 1 H, H<sub>Phe,CH-β</sub>), 2.87 (m, 2 H, H-7), 2.85 (m, 1 H, H<sub>Asp,CH-β</sub>), 2.83 (m, 1 H, H<sub>His,CH-β</sub>), 2.68 (dd, J = 8.6 Hz, J = 17.8 Hz, 1 H, H<sub>Asp,CH-β</sub>), 2.41 (dd, J = 5.7 Hz, J = 13.3 Hz, 1 H, H-8), 2.34 (dd, J = 7.0 Hz, J = 13.3 Hz, 1 H, H-8), 2.11 (bt, J = 11.0 Hz, 1 H, H-1), 2.03 (m, 1 H, H<sub>Pro,CH-β</sub>), 1.80 (m, 3 H, H<sub>Pro,CH-β</sub> u. H<sub>Pro,CH-γ</sub>), 1.64 (m, 1H, H<sub>Arg,CH-β</sub>), 1.56 (m, 2 H, H-2äq u. H-4äq), 1.46 (m, 1H, H<sub>Arg,CH-β</sub> u. H<sub>Arg,CH-γ</sub>), 1.45 (m, 1 H, H-5), 1.42 (m, 1 H, H-6äq), 1.35 (m, 1 H, H-3), 0.88 (q, J = 12.0 Hz, 1H, H-2ax), 0.82 (q, J = 12.0 Hz, 1H, H-6ax), 0.51 (q, J = 12.0 Hz, 1H, H-4ax)

PDMS: 930.5 ((M+H)<sup>+</sup>)

Aminosäure-A.: gefunden: Asp: 1.00, Pro: 1.00, Phe: 0.98, His: 1.00, Arg: 1.01, Peptidgehalt: 77 %

### Diastereomer **81**

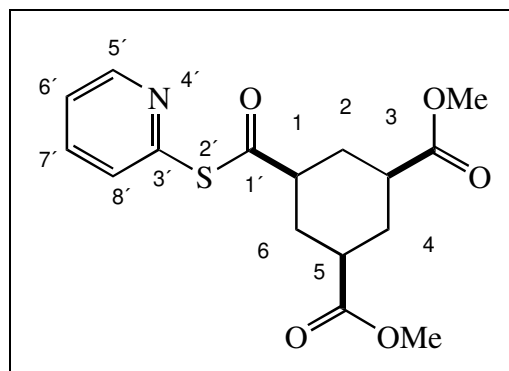
Ausbeute: 9.0 mg, farbloser Feststoff, C<sub>46</sub>H<sub>63</sub>N<sub>11</sub>O<sub>10</sub> (930.07)

HPLC: t<sub>Ret</sub> = 25.70 min (Säule 218TP10415 VYDAC, 0.46 cm x 15 cm, 10 μm, 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O und 0.1 % TFA in MeCN, 3.0 ml/min, Gradient 20 → 50 % MeCN in 40 min)

<sup>1</sup>H-NMR: (400.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  
8.92 (s, 1 H, H<sub>His-4</sub>), 8.62 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H, NH<sub>Arg</sub>), 8.25 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H, NH<sub>Phe</sub>), 8.07 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH<sub>His</sub>), 7.94 (t, *J* = 5.4 Hz, 1 H, H-9), 7.76 (t, *J* = 5.4 Hz, 1 H, H<sub>Arg,NH-ε</sub>), 7.32 (s, 1H, H<sub>His-4</sub>), 7.18 - 7.26 (m, 5 H, H<sub>Phe,ar</sub>), 7.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H, H<sub>ortho</sub>), 6.81 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H, H<sub>meta</sub>), 4.74 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 14.4 Hz, 1 H, H<sub>His,CH-α</sub>), 4.42 (m, 1 H<sub>Phe, H,CH-α</sub>), 4.36 (m, 1 H, H<sub>Pro,CH-α</sub>), 4.23 (m, 1 H, H<sub>Arg,CH-α</sub>), 4.13 (dd, *J* = 4.0 Hz, *J* = 8.4 Hz, 1 H, H<sub>Asp,CH-α</sub>), 3.70 (s, 2 H, OCH<sub>3</sub>), 3.47 (m, 2 H, H<sub>Pro,CH-δ</sub>), 3.07 (m, 2 H, H<sub>Arg,CH-δ</sub>), 3.01 (m, 1 H, H<sub>Phe,CH-β</sub>), 2.96 (m, 1 H, H<sub>His,CH-β</sub>), 2.93 (m, 1 H, H-7), 2.92 (m, 1 H, H<sub>Phe,CH-β</sub>), 2.86 (m, 1 H, H-7), 2.83 (m, 1 H, H<sub>Asp,CH-β</sub>), 2.83 (m, 1 H, H<sub>His,CH-β</sub>), 2.68 (dd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 17.7 Hz, 1 H, H<sub>Asp,CH-β</sub>), 2.47 (m, 1 H, H-8), 2.29 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 13.3 Hz, 1 H, H-8), 2.11 (bt, *J* = 12.0 Hz, 1 H, H-1), 2.00 (m, 1 H, H<sub>Pro,CH-β</sub>), 1.77 (m, 3 H, H<sub>Pro,CH-β</sub> u. H<sub>Pro,CH-γ</sub>), 1.64 (m, 1 H, H-4äq), 1.63 (m, 1H, H<sub>Arg,CH-β</sub>), 1.49 (m, 6 H, H-2äq, H-6äq, H-5, H<sub>Arg,CH-β</sub> u. H<sub>Arg,CH-γ</sub>), 1.43 (m, 1 H, H-3), 0.87 (q, *J* = 12.0 Hz, 1H, H-2ax), 0.84 (q, *J* = 12.0 Hz, 1H, H-6ax), 0.52 (q, *J* = 12.0 Hz, 1H, H-4ax)

PDMS: 930.7 ((M+H)<sup>+</sup>)

Aminosäure-A.: gefunden: Asp: 1.00, Pro: 0.98, Phe: 1.00, His: 1.03, Arg: 0.98, Peptidgehalt: 75%

2.3.1 *cis,cis*-3,5-Methoxycarbonylcyclohexancarbonsäure-(2-pyridyl)thioester (60)

## Methode A:

0.132 g (0.54 mmol) Monosäure **36** werden in 0.2 ml Thionylchlorid und einem Tropfen DMF drei Stunden auf 50° C erwärmt, anschließend wird bis zur Trockne eingengt. Das ungereinigte Säurechlorid wird in 0.3 ml abs. DCM vorgelegt, und bei 0° C werden 0.067 g (0.60 mmol) 2-Mercaptopyridin und 0.083 ml (0.061 g, 0.60 mmol) TEA, gelöst in 1.2 ml abs. DCM, innerhalb von 15 Minuten zugetropft. Man rührt weitere 40 Minuten bei 0° C und verdünnt dann die Reaktionslösung mit 5 ml eiskalter 0.1 M NaOH-Lösung. Die Lösung wird dreimal mit 4 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit 5 ml eiskaltem aqua dest gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach dem Filtrieren und Einengen wird der Rückstand säulenchromatographisch (15 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 1/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.125 g (0.37 mmol, 69 %), gelbes Öl, C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>S (337.40)

DC: R<sub>f</sub> = 0.23 (PE/EE = 2/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2996 m, 1732 s, 1600 w, 1572 w, 1256 s, 1172 m, 1132 m, 1032 w

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 8.64 (ddd, *J* = 0.8 Hz, *J* = 1.9 Hz, *J* = 4.9 Hz, 1 H, H-5'), 7.76 (td, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.9 Hz, 1 H, H-7'), 7.60 (td, *J* = 1.0 Hz, *J* = 7.9 Hz, 1 H, H-8'), 7.29 - 7.35 (m, 1 H, H-6'), 3.70 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.74 (tt, *J* = 3.4 Hz, *J* = 12.3 Hz, 1 H, H-1), 2.24 - 2.51 (m, 5 H, H-3, H-5 u. Häq), 1.66 (q, *J* = 12.7 Hz, 2 H, H-2 u. H-6), 1.57 (q, *J* = 12.6 Hz, 1 H, H-4)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 197.8 (s, COSpy), 174.2 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 150.4 (s, C-5'), 137.3 (d), 130.3 (d), 123.7 (d), 52.0 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 41.7 (d, C-1), 41.6 (d, C-3 u. C-5), 30.8 (t, C-2 u. C-6), 30.4 (t, C-4)

MS (140° C): 306 (10,  $M^+ - OCH_3$ ), 227 (14,  $M^+ - 2-S-py$ ), 213 (8), 198 (11), 167 (39), 139 (92), 125 (7), 111 (61,  $2-S-py^+$ ), 108 (13), 79 (98), 67 (33)

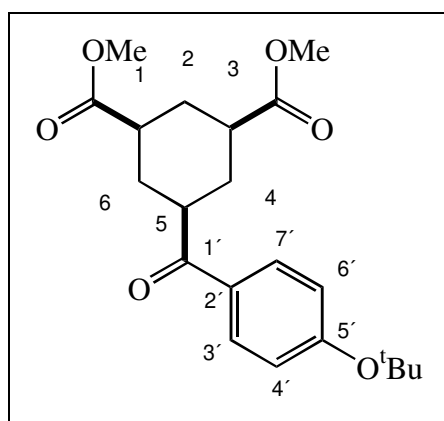
FABMS: 360 (14,  $[M + Na]^+$ ), 338 (22,  $[M + H]^+$ ), 227 (14,  $M^+ - 2-S-py$ )

Methode B:

0.100 g (0.40 mmol) Monosäure **36** und 0.049 g (0.44 mmol) 2-Mercaptopyridin werden in 1 ml abs. DCM bei -5° C vorgelegt. 0.091 g (0.44 mmol) DCC, gelöst in 1 ml abs. DCM, werden zugegeben, und die Lösung wird eine Stunde bei 0° C und eine Stunde bei RT gerührt. Die Lösung lagert man über Nacht im Kühlschrank, um den Dicyclohexylharnstoff auszufällen. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit etwas Et<sub>2</sub>O gewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt und säulenchromatographisch (15 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 1/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.101 g (0.30 mmol, 75 %), gelbes Öl, C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>S (337.40)

### 2.3.2 *cis,cis*-5-(4-*tert*-Butoxybenzoyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (**61**)



0.123 g (0.37 mmol) Thioester **60** werden in 1 ml abs. THF gelöst und auf -10° C abgekühlt. Anschließend werden schnell 1.54 ml (0.37 mmol) einer 0.24 M *p*-(*tert*-Butoxy)-phenylmagnesiumbromid-Lösung zugegeben, die aus *p*-Bromo-(*tert*-butoxy)benzol<sup>166</sup> und Magnesium in THF hergestellt wird. Die Abnahme des Thioesters **60** in der Reaktionslösung wird mittels DC verfolgt. Nach 45 Minuten ist dünn-schichtchromatographisch kein Edukt **60** nachweisbar. Die Reaktionslösung wird mit 3 ml ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung terminiert und anschließend dreimal mit 5 ml Et<sub>2</sub>O extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen mit 10 ml 2 N NaOH-Lösung, mit 10 ml 1 N Salzsäure und mit 10 ml ges. NaCl-Lösung, trocknet mit MgSO<sub>4</sub>, filtriert und engt das Filtrat ein. Das Produkt wird durch Umkristallisieren aus PE/Et<sub>2</sub>O isoliert.

<sup>166</sup> Dargestellt analog: J. L. Holcombe, T. Livinghouse, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 111

Ausbeute: 0.091 g (0.24 mmol, 65 %), farbloser kristalliner Feststoff, C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (376.45)

DC: R<sub>f</sub> = 0.26 (PE/EE = 2/1)

mp.: 79 - 81° C (PE/EE)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2980 m, 2952 m, 2872 w, 1732 s, 1676 s, 1596 s, 1572 m, 1436 m, 1368 m, 1256 s, 1160 s, 1036 w, 1008 w, 896 m

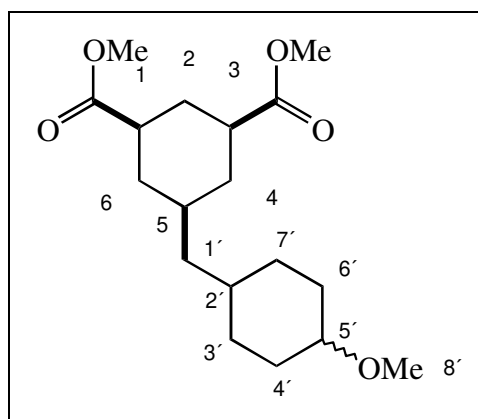
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.87 (bd, *J* = 8.8 Hz, 2 H, H-3' u. H-7'), 7.04 (bd, *J* = 8.8 Hz, 2 H, H-4' u. H-6'), 3.68 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.35 (tt, *J* = 3.3 Hz, *J* = 12.1 Hz, 1 H, H-5), 2.54 (tt, *J* = 3.4 Hz, *J* = 12.6 Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.29 - 2.37 (m, 1 H, H-2äq), 2.19 (bd, *J* = 13.2 Hz, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.65 (q, *J* = 12.9 Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax), 1.63 (q, *J* = 12.8 Hz, 1 H, H-2ax), 1.43 (s, 9 H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 200.1 (s, C-1'), 174.6 (s, C=O), 160.6 (s, C-5'), 130.1 (s, C-2'), 129.8 (d, C-3' u. C-7'), 122.4 (d, C-4' u. C-6'), 79.2 (s, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 51.9 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 43.5 (d, C-5), 42.1 (d, C-1 u. C-3), 31.0 (t, C-4 u. C-6), 30.6 (t, C-2), 28.9 (q, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)

MS (100° C): 376 (0.3, M<sup>+</sup>), 361 (1, M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>), 345 (0.6, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 320 (7, M<sup>+</sup> - C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>), 290 (8), 260 (4), 229 (2), 167 (1), 161 (1), 138 (1), 121 (100), 94 (4), 79 (5)

EA.: berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>: C: 67.0, H: 7.5, gefunden: C: 67.3, H: 7.6

### 2.3.3 *cis,cis*-5-(4-Methoxycyclohexylmethyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (64) und (65)



0.910 g (2.42 mmol) Benzoyldiester **61**, 0.228 Pd(OH)<sub>2</sub>/C (5%), 0.075 ml (0.15 mmol) 2 N Salzsäure und 15 ml MeOH (pH 2) werden analog der Versuchsbeschreibung 2.2.4 bei 50° C und 4 bar Wasserstoffdruck umgesetzt. Nach vier Tagen wird die Reaktion beendet, und der Katalysator wird mittels einer Säulenfiltration (Alox, Laufmittel EE) abgetrennt. Nach dem Konzentrieren wird der Rückstand mittels Kieselgelchromatographie aufgetrennt. Man erhält als Hauptfraktion den vollständig hydrierten Diester neben 0.076 g des gewünschten Produktes **63** und anderen Nebenprodukten .

Der Diester ist ein Gemisch aus dem *cis*-4-Methoxycyclohex-1-ylmethyl-diester und dem *trans*-4-Methoxycyclohex-1-ylmethyl-diester im von Verhältnis drei zu zwei (Verhältnis der <sup>1</sup>H-NMR-Integrale), das sich nicht durch einfache Kieselgelchromatographie trennen läßt. Die Zuordnung der NMR-Signale erfolgte durch H,C-COSY- und H,H-COSY-Experimenten.

Ausbeute: 0.295 g (0.90 mmol, 38 %), farbloses viskoses Öl, C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (326.4)

DC: R<sub>f</sub> = 0.46 (PE/EE = 2/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2932 s, 2856 m, 1728 s, 1436 m, 1288 m, 1256 m, 1168 m

MS (50° C): 326 (3, M<sup>+</sup>), 311 (1, M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>), 294 (26, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 279 (3), 262 (23), 234 (21), 212 (6), 202 (8), 175 (12), 135 (10), 93(17)

FABMS: 349 (21, [M + Na]<sup>+</sup>), 327 (100, [M + H]<sup>+</sup>), 326 (69, M<sup>+</sup>), 295 (41)

EA.: berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>: C: 66.2, H: 9.3, gefunden: C: 66.0, H: 9.3

*cis,cis*-5-(*cis*-4-Methoxycyclohexylmethyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester **64**

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)

3.68 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.40 (m, 1 H, H-5'äq), 3.30 (s, H-8'), 2.36 (tt, J = 3.3 Hz, J = 12.5 Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.22 (bd, J = 13.0 Hz, 1 H, H-2äq), 1.97 (bd, J = 12.8 Hz, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.81 - 1.89 (m, 2 H, H-4'äq und H-6'äq), 1.52 (q, J = 12.9 Hz, 1 H, H-2ax), 1.43 (m, 2 H, H-4'ax u. H-6'ax), 1.42 (m, 1 H, H-5), 1.42 (m, 1 H, H-2'), 1.37 (m, 2 H, H-3'äq u. H-6'äq), 1.25 (m, 2 H, H-3'ax u. H-7'ax), 1.17 (t, J = 7.1 Hz, H-1'), 1.01 (q, J = 12.5 Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)

175.49 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 75.5 (d, C-5'), 55.57 (s, C-8'), 51.72 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 43.7 (t, C-1'), 42.44 (d, C-1 u. C-3), 35.10 (t, C-4 u. C-6), 33.56 (d, C-2'), 33.2 (d, C-5), 31.0 (t, C-2), 29.0 (t, C-4' u. C-6'), 27.4 (t, C-3' u. C-7')

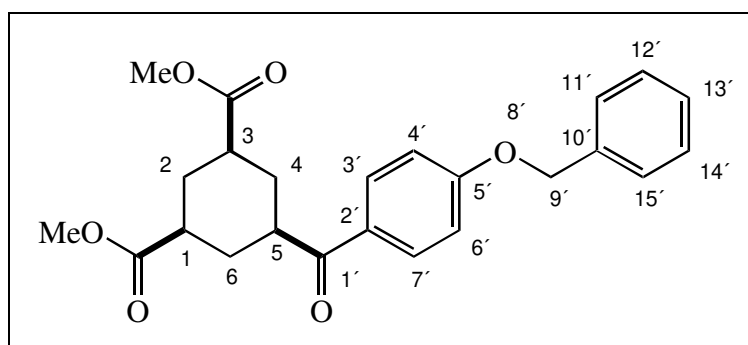
*cis,cis*-5-(*trans*-4-Methoxycyclohexylmethyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester **65**

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)

3.68 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.34 (s, H-8'), 3.07 (tt,  $J = 4.2$  Hz,  $J = 10.8$  Hz, 1 H, H-5'ax), 2.36 (tt,  $J = 3.3$  Hz,  $J = 12.5$  Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.22 (bd,  $J = 13.0$  Hz, 1 H, H-2äq), 2.01 - 2.08 (m, 2 H, H-4'äq und H-6'äq), 1.97 (bd,  $J = 12.8$  Hz, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.74 (bd,  $J = 12.7$  Hz, 2 H, H-3'äq u. H-6'äq), 1.52 (q,  $J = 12.9$  Hz, 1 H, H-2ax), 1.42 (m, 1 H, H-5), 1.33 (m, 1 H, H-2'), 1.13 (t,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 1.01 (q,  $J = 12.5$  Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax), 0.88 (dq,  $J = 3.1$  Hz,  $J = 12.6$  Hz, 2 H, H-3'ax u. H-7'ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 175.42 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 79.7 (d, C-5'), 55.63 (s, C-8'), 51.70 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 44.1 (t, C-1'), 42.41 (d, C-1 u. C-3), 35.09 (t, C-4 u. C-6), 33.60 (d, C-2'), 33.1 (d, C-5), 32.0 (t, C-4' u. C-6'), 31.4 (t, C-3' u. C-7'), 31.0 (t, C-2)

### 2.3.4 *cis,cis*-5-(4-Benzyloxybenzoyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (57)



Eine Lösung aus 1.59 ml (2.592 g, 13.1 mmol) Diphosgen<sup>167</sup> und 38 ml abs. DCM werden bei 0° C vorgelegt, und in 45 Minuten werden 1.668 g (15.0 mmol) 2-Mercaptopyridin, 2.25 ml (1.643 g, 16.2 mmol) TEA und 112 ml abs. DCM zugetropft. Die Lösung wird eine Stunde bei 0° C gerührt und anschließend im Rotationsverdampfer und im Hochvakuum bis zur Trockne eingengt. Das gelbe Öl wird mit 100 ml Toluol-PE-Lösung (2/8) aufgenommen. Dabei fällt ein farbloser voluminöser Feststoff aus. Die überstehende Lösung wird mittels einer Spritze über ein Septum vorsichtig vom Niederschlag abgesaugt. Der Niederschlag wird mit 100 ml Toluol-PE-Lösung (2/8) gewaschen, und die überstehende Lösung wird abgesaugt. Die vereinigten Extrakte werden eingengt und im Hochvakuum getrocknet, um 2.59 g eines gelben Öles zu erhalten. Das 2-Mercaptopyridylchloroformiat wird in 50 ml abs. DCM gelöst. Zu 2.000 g (8.2 mmol) der Monosäure **36**, 1.25 ml (0.910 g, 9 mmol) TEA und 40 ml abs. DCM werden bei 0° C 36 ml (ca. 10.7 mmol) 2-Mercaptopyridylchloroformiat-DCM-Lösung hinzugefügt, und die Lösung wird eine Stunde bei 0° C gerührt, nachfolgend mit 120 ml DCM verdünnt und mit 150 ml eiskaltem aqua dest gewaschen. Es wird 10 Minuten über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und konzentriert. Man erhält 3.26 g eines gelben Öles.

<sup>167</sup> Alle Arbeiten mit Diphosgen werden in einem gut belüfteten Abzug durchgeführt.

Zu dem Thioester **60**, gelöst in 40 ml abs. THF, wird bei  $-30^{\circ}\text{C}$  20 ml einer  $\sim 0.4\text{ M}$  *p*-Benzyloxyphenylmagnesiumbromid-THF-Lösung zugegeben. Die Reaktion wird dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Nach 30 Minuten werden nochmals 7 ml  $\sim 0.4\text{ M}$  *p*-Benzyloxyphenylmagnesiumbromid-THF-Lösung zugefügt. Nach weiteren 30 Minuten wird die Reaktion durch Zugabe von 50 ml ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung terminiert. Die Lösung wird vier-mal mit 50 ml EE extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden zweimal mit 50 ml 2 N NaOH-Lösung und mit 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und ein-geengt. Das Arylketon wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel PE/EE = 3/1) isoliert.

Entscheidend für die Grignardaddition an den Thioester ist eine stetige DC-Kontrolle der Re-aktion, um sofort nach dem Ende der Reaktion überschüssiges Grignard-Reagenz zu zerstö-ren. Für die Detektion des Thioesters eignet sich besonders Bromkresolgrün, welches erst nach Erwärmen der Dünnschichtkarte eine gelbe Farbreaktion zeigt. Beim Ausbleiben dieser Farbreaktion wird die Reaktion terminiert.

Ausbeute: 2.2 g (5.4 mmol, 65 % bezogen auf die Monosäure **36**), farbloser Feststoff,  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_6$  (410.47)

DC:  $R_f = 0.34$  (PE/EE = 3/1)

mp.: 153 - 155° C (PE/EE)

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 2952 m, 2872 w, 1732 s, 1676 s, 1600 s, 1576 w, 1508 m, 1436 m, 1376 m, 1252 s, 1168 s, 1008 m, 840 w

$^1\text{H-NMR}$ : (400.1 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
7.91 (bd,  $J = 8.8\text{ Hz}$ , 2 H, H-3' u. H-7'), 7.31 - 7.47 (m, 5 H,  $\text{H}_{\text{ar,Bn}}$ ), 7.02 (bd,  $J = 9.0\text{ Hz}$ , 2 H, H-4' u. H-6'), 5.13 (s, 2 H, H-9'), 3.68 (s, 6 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.325 (tt,  $J = 3.3\text{ Hz}$ ,  $J = 12.21\text{ Hz}$ , 1 H, H-5), 2.53 (tt,  $J = 3.5\text{ Hz}$ ,  $J = 12.6\text{ Hz}$ , 2 H, H-1 u. H-3), 2.29 - 2.37 (m, 1 H, H-2äq), 2.17 (bd,  $J = 13.2\text{ Hz}$ , 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.65 (q,  $J = 13.2\text{ Hz}$ , 2 H, H-4ax u. H-6ax), 1.63 (q,  $J = 13.0\text{ Hz}$ , 1 H, H-2ax)

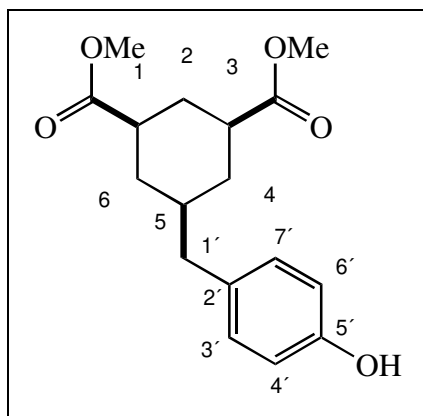
$^{13}\text{C-NMR}$ : (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
199.8 (s, C-1'), 174.6 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 162.8 (s, C-5'), 136.1 (s, C-10'), 130.6 (d, C-3' u. C-7'), 128.6 (s, C-2'), 128.7 (d, C-12' u. C-14'), 128.3 (d, C-13'), 127.5 (d, C-10' u. C-15'), 114.8 (d, C-4' u. C-6'), 70.2 (t, C-9'), 51.9 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 43.5 (d, C-5), 42.1 (d, C-1 u. C-3), 31.0 (t, C-4 u. C-6), 30.5 (t, C-2)



MS (170° C): 410 (4, M<sup>+</sup>), 379 (6, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 319 (1, M<sup>+</sup> - Bn), 220 (3), 212 (11), 211 (68, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OBn<sup>+</sup>), 156 (3), 139 (3), 121 (5), 91 (100, Bn<sup>+</sup>), 79 (7)

EA.: berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>: C: 70.2, H: 6.4, gefunden: C: 69.6, H: 6.1

### 2.3.5 *cis,cis*-5-(4-Hydroxybenzyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (**66**)



0.170 g (0.42 mmol) Benzoyldiester **57**, 0.050 Pd(OH)<sub>2</sub>/C (5%) und 2 ml HOAc werden analog der Versuchsbeschreibung 2.2.4 bei 50° C und 4 bar Wasserstoffdruck umgesetzt. Nach fünf Stunden wird die Reaktion beendet, die Essigsäure wird im Hochvakuum entfernt, und der Katalysator wird mittels einer Säulenfiltration (5 g Kieselgel, Laufmittel EE) abgetrennt. Das Eluat wird konzentriert und im Hochvakuum getrocknet.

Gegebenenfalls muß der Reaktion mehr Katalysator zugefügt werden, um inaktivierten Katalysator zu ersetzen, da das Edukt **57** aufgrund der Darstellung mit Schwefelverbindungen verunreinigt ist.

Ausbeute: 0.132 g (0.41 mmol, 98 %), farbloses Öl, C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> (306.36)

DC: R<sub>f</sub> = 0.51 (PE/EE = 2/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3596 m, 3432 bm, 2952 m, 2860 w, 1728 s, 1612 w, 1512 s, 1436 s, 1264 s, 1168 s, 1012 w, 828 w

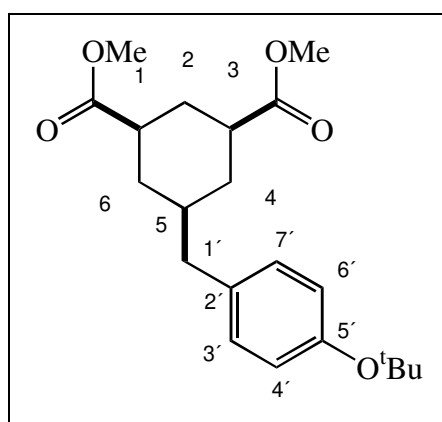
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 6.97 (bd, *J* = 8.2 Hz, 2 H, H-3' u. H-7'), 6.75 (bd, *J* = 8.4 Hz, 2 H, H-4' u. H-6'), 3.66 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.48 (d, *J* = 7.0 Hz, 2 H, H-1'), 2.33 (tt, *J* = 3.4 Hz, *J* = 12.4 Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.17 - 2.24 (m, 1 H, H-2ax), 1.96 (bd, *J* = 12.8 Hz, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.52 - 1.65 (m, 1 H, H-2äq), 1.52 (q, *J* = 12.8 Hz, 1 H, H-5), 1.10 (q, *J* = 12.5 Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax)

$^{13}\text{C}$ -NMR: (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
 175.7 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 154.2 (s, C-5'), 131.7 (s, C-2'), 130.2 (d, C-3' u. C-7'),  
 115.2 (d, C-4' u. C-6'), 51.8 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 42.5 (t, C-1'), 42.4 (d, C-1 u. C-3),  
 38.6 (d, C-5), 34.4 (t, C-4 u. C-6), 31.0 (t, C-2)

MS (100° C): 306 (10,  $\text{M}^+$ ), 274 (11,  $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ), 242 (11), 214 (6), 200 (4), 199 (3), 167 (7), 139 (12), 121 (5), 107 (100,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}^+$ ), 91 (14), 79 (24)

EA.: berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5$ : C: 66.7, H: 7.2, gefunden: C: 65.9, H: 7.2

### 2.3.6 *cis,cis*-5-(4-*tert*-Butoxybenzyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (63)



Allgemeine Versuchsvorschrift:

In einen auf  $-78^\circ\text{C}$  eingekühlten Kolben wird Isobuten, welches durch Dehydratisierung von  $t\text{BuOH}$  mit  $\text{H}_3\text{PO}_4$  hergestellt wird, einkondensiert. Anschließend werden 0.100 g (0.327 mmol) Phenoldiester, gelöst in einem absolutem Lösungsmittel, und eine Säure hinzugefügt. Nachdem das Edukt nicht mehr durch DC nachweisbar ist, wird die Reaktion mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung terminiert. Die Lösung wird extrahiert, die organische Phase wird über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und eingengt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch (10 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 6/1).

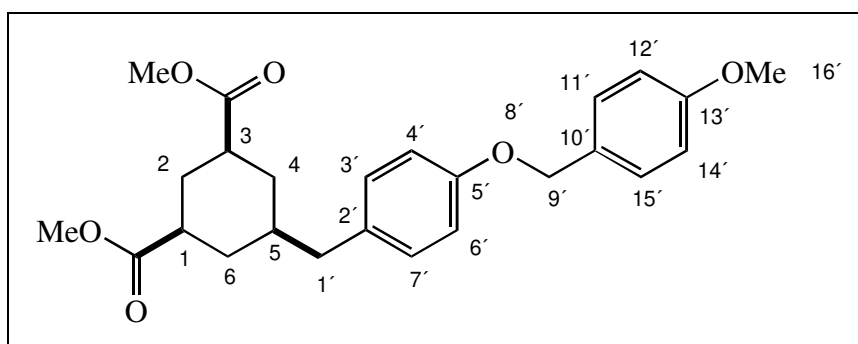
Methode:	Säure:	Bedingungen:	T, t	Ausbeute:
A <sup>90</sup>	TfOH (0.09 eq)	9.1 eq $\text{C}_4\text{H}_8$ , 0.88 ml DCM	$-78^\circ\text{C}$ <sup>a</sup> , 5.5 h	38 %
B	TfOH (0.09 + 0.18 eq)	9.1 eq $\text{C}_4\text{H}_8$ , 0.3 ml MeCN, 0.3 ml THF	$-45^\circ \rightarrow -20^\circ\text{C}$ 5 d	kein Umsatz
C <sup>89</sup>	$\text{H}_2\text{SO}_4$ (0.2 eq)	12.8 eq $\text{C}_4\text{H}_8$ , 0.35 ml DCM	RT, 5 d	29 %

a: Da das Edukt bei tiefen Temperaturen als Öl ausfällt, muß die Reaktionslösung mehrmals auf  $-20^\circ\text{C}$  erwärmt werden, um das Edukt wieder zu lösen.

Status: farbloses Öl,  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$  (362.47)

- DC:  $R_f = 0.60$  (PE/EE = 2/1)
- IR (CHCl<sub>3</sub>): 2980 s, 2952 s, 2868 m, 1732 s, 1608 w, 1504 s, 1436 m, 1260 s, 1236 s, 1160 s, 1016 m, 896 m
- <sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.05 (bd,  $J = 8.4$  Hz, 2 H, H-3' u. H-7'), 6.93 (bd,  $J = 8.3$  Hz, 2 H, H-4' u. H-6'), 3.70 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.56 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, H-1'), 2.38 (tt,  $J = 3.5$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, 2 H, H-1 u. H-3), 2.21 - 2.29 (m, 1 H, H-2<sub>äq</sub>), 2.01 (bd,  $J = 12.7$  Hz, 2 H, H-4<sub>äq</sub> u. H-6<sub>äq</sub>), 1.60 - 1.73 (m, 1 H, H-5), 1.57 (q,  $J = 12.7$  Hz, 1 H, H-2<sub>ax</sub>), 1.37 (s, 9 H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.15 (q,  $J = 12.5$  Hz, 2 H, H-4<sub>ax</sub> u. H-6<sub>ax</sub>)
- <sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 175.4 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 153.6 (s, C-5'), 134.7 (s, C-2'), 129.4 (d, C-3' u. C-7'), 124.0 (d, C-4' u. C-6'), 78.2 (s, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 51.7 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 42.7 (t, C-1'), 42.4 (d, C-1 u. C-3), 38.5 (d, C-5), 34.5 (t, C-4 u. C-6), 31.0 (t, C-2), 28.9 (q, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)
- MS (RT): 362 (1, M<sup>+</sup>), 347 (2, M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>), 331 (2, M<sup>+</sup> - OCH<sub>3</sub>), 306 (30, M<sup>+</sup> - C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>), 274 (29), 242 (21), 214 (9), 200 (4), 199 (2), 186 (4), 167 (6), 139 (10), 120 (5), 110 (15), 107 (100, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH<sup>+</sup>), 79 (14)
- EA.: berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>: C: 69.6, H: 8.3, gefunden: C: 69.5, H: 8.3

### 2.3.7 *cis,cis*-5-(4-(4'-Methoxybenzyloxy)benzyl)-1,3-cyclohexandicarbonsäuredimethylester (67)



0.875 g (2.86 mmol) Phenoldiester **66**, 0.895 g (5.72 mmol) PMB-Cl<sup>168</sup>, 1.186 g (8.58 mmol) wasserfreies K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 0.106 g (0.286 mmol) Tetrabutylammoniumjodid werden in 10 ml

<sup>168</sup> Dargestellt aus *p*-Methoxybenzylalkohol und HCl; R. Stroh, *Houbel-Weyl, Methoden der Organischen Chemie*, 4. Auflage, **1962**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, V/3, 835

abs. Aceton in einer Argon-Atmosphäre unter Rückfluß 17 Stunden erhitzt. 3 ml abs. MeOH werden zugegeben, und die Lösung wird weitere eineinhalb Stunden unter Rückfluß erwärmt. Die Reaktionslösung wird mit 40 ml aqua dest aufgenommen, und die wäßrige Phase wird viermal mit 40 ml EE extrahiert. Die vereinigten Phasen werden mit 40 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und anschließend konzentriert. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (130 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 4/1) gereinigt.

Ausbeute: 0.825 g (1.94 mmol, 68 %), gelblicher Feststoff, C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> (426.51)

DC: R<sub>f</sub> = 0.55 (PE/EE = 2/1)

mp.: 93 - 94° C (PE/EE)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2952 m, 2886 w, 1732 s, 1612 m, 1512 s, 1436 m, 1240 s, 1172 s, 1036 m, 1008 m, 828 m

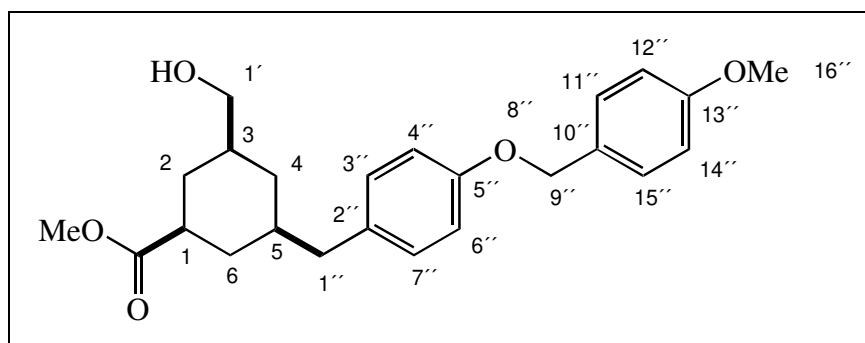
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.35 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-11' u. H-15'), 7.04 (bd, *J* = 8.4 Hz, 2 H, H-3' u. H-7'), 6.91 (bd, *J* = 8.8 Hz, 2 H, H-12' u. H-14'), 6.88 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-4' u. H-6'), 4.95 (s, 2 H, H-9'), 3.81 (s, 3 H, H-16'), 3.65 (s, 6 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.50 (d, *J* = 7.0 Hz, 2 H, H-1'), 2.32 (tt, *J* = 3.5 Hz, *J* = 12.4 Hz, 1 H, H-1 u. H-3), 2.16 - 2.24 (m, 1 H, H-2äq), 1.92 - 2.01 (m, 2 H, H-4äq u. H-6äq), 1.53 - 1.67 (m, 1 H, H-5), 1.65 (q, *J* = 12.8 Hz, 1 H, H-2ax), 1.10 (q, *J* = 12.6 Hz, 2 H, H-4ax u. H-6ax)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
175.4 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 159.4 (s, C-13'), 157.3 (s, C-5'), 132.1 (s, C-2'), 130.0 (d), 129.2 (d), 114.7 (d), 114.0 (d), 69.8 (t, C-9'), 55.3 (q, C-16'), 51.7 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 42.5 (t, C-1'), 42.4 (d, C-1 u. C-3), 38.6 (d, C-5), 34.5 (t, C-4 u. C-6), 30.1 (t, C-2)

MS (90° C): 426 (1, M<sup>+</sup>), 227 (11, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OPMB<sup>+</sup>), 199 (4, M<sup>+</sup> - CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OPMB<sup>+</sup>), 198 (5), 167 (11), 139 (20), 138 (20), 107 (10), 79 (34)

EA.: berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>: C: 70.4, H: 7.1, gefunden: C: 70.0, H: 7.1

### 2.3.8 *cis,cis*-3-Hydroxymethyl-5-(4-(4'-methoxybenzyloxy)benzyl)-1,3-cyclohexancarbonsäuremethylester (**69**)



#### Methode A:

0.200 g (0.47 mmol) Diester **67** und 0.033 g (0.588 mmol) KOH werden in 2 ml abs. MeOH suspendiert, eine Stunde bei RT gerührt und anschließend unter Rückfluß zwei Tage erwärmt. Die Reaktionslösung wird mit 2 N Salzsäure auf pH 2 - 3 eingestellt, mit NaCl gesättigt und viermal mit 10 ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 ml ges. NaCl-Lösung (salzsauer pH 1) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Man erhält ein Gemisch aus zwei Säuren. (0.190 g, DC: R<sub>f,1</sub> = 0.62, R<sub>f,2</sub> = 0.46, PE/EE/AcOH=10/5/0.75, Beide Spots werden durch Bromkresolgrün gelb angefärbt.)

Das Rohprodukt wird in 2 ml abs. THF gelöst und auf -78° C gekühlt. Über ein Septum werden 0.059 ml (0.6 mmol) BH<sub>3</sub>\*SMe<sub>2</sub> injiziert. Man läßt die Reaktionslösung über Nacht auf RT kommen. Die Reaktionslösung wird mit halbgesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung und 20 ml EE verdünnt. Die Phasen werden separiert, und die wäßrige Phase wird mit NaCl gesättigt und fünfmal mit 10 ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und konzentriert. Mittels Säulenchromatographie (15 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 2/1 → EE) wird der Rückstand gereinigt.

Ausbeute: 0.090 g (0.23 mmol, 48 %), farbloser Feststoff, C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (398.50)

DC: R<sub>f</sub> = 0.43 (PE/EE = 2/1)

mp.: 65 - 68° C (Bei 120° C wird die trübe Schmelze klar.) (PE/EE)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3628 w, 3520 bw, 2928 m, 2868 w, 1728 s, 1612 m, 1512 s, 1240 s, 1172 m, 1036 m, 828 m

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
 7.35 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-11'' u. H-15''), 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 6.91 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-12'' u. H-14''), 6.88 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 4.95 (s, 2 H, H-16''), 3.81 (s, 3 H, H-9''), 3.64 (s, 3 H,

CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.41 - 3.50 (m, 2 H, H-1'), 2.50 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2 H, H-1''), 2.33 (tt,  $J = 3.4$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, 1 H, H-1), 1.91 - 2.06 (m, 2 H, H<sub>äq</sub>), 1.71 - 1.79 (m, 1 H, H<sub>äq</sub>), 1.48 - 1.66 (m, 2 H, H-3 u. H-5), 1.08 (q,  $J = 12.5$  Hz, 1 H), 1.07 (q,  $J = 12.5$  Hz, 1 H), 0.66 (q,  $J = 12.2$  Hz, 1 H)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
176.2 (s, C=O<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 159.3 (s, C-13''), 157.8 (s, C-5''), 132.5 (s, C-2''), 130.0 (d), 129.2 (d), 129.1 (s, C-10''), 114.5 (d), 113.9 (d), 69.8 (t, C-9''), 67.9 (t, C-1'), 55.2 (q, C-16''), 51.6 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 42.7 (t, C-1'), 42.6 (d, C-1), 39.4 (d), 38.6 (d), 35.1 (t), 35.0 (t), 31.8 (t)

MS (140° C): 399 (0.5, M<sup>+</sup>), 121 (100, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OMe<sup>+</sup>), 107 (5), 92 (3), 77 (4)

EA.: berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>: C: 72.3, H: 7.6, gefunden: C: 71.3, H: 7.5

*cis,cis*-1,3-Bis(hydroxymethyl)-5-(4-(4'-methoxybenzyloxy)benzyl)cyclohexan (**71**)

Ausbeute: 0.057 g (0.15 mmol, 32 %), farbloser Feststoff, C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (370.49)

DC: R<sub>f</sub> = 0.15 (PE/EE = 1/1)

mp.: 127 - 128° C (PE/EE)

IR (KBr): 3332 bm, 3032 w, 2992 m, 2912 w, 1608 w, 1512 s, 1244 s, 1176 m, 1032 m, 1012 m, 816 m

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  
7.37 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2 H, H-11'' u. H-15''), 7.04 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2 H, H-3'' u. H-7''), 6.94 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2 H, H-12'' u. H-14''), 6.89 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 4.96 (s, 2 H, H-9''), 3.75 (s, 3 H, H-16''), 3.22 (dd,  $J = 5.9$  Hz,  $J = 10.5$  Hz, 1 H, H-1'), 3.16 (dd,  $J = 5.9$  Hz,  $J = 10.5$  Hz, 1 H, H-1'), 2.40 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2 H, H-1'), 1.62 - 1.76 (m, 3 H, H-2<sub>äq</sub>, H-4<sub>äq</sub> u. H-6<sub>äq</sub>), 1.42 - 1.56 (m, 1 H, H-1), 1.28 - 1.41 (m, 2 H, H-3 u. H-5), 0.50 (q,  $J = 12.2$  Hz, 2 H, H-4<sub>ax</sub> u. H-6<sub>ax</sub>), 0.45 (q,  $J = 12.3$  Hz, 1 H, H-2<sub>ax</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TMS)  
162.1 (s, C-13''), 159.7 (s, C-5''), 135.9 (s, C-2''), 133.1 (d), 132.6 (d), 132.3 (s), 117.5 (d), 117.0 (d), 72.1 (t, C-9''), 69.9 (t, C-1'), 58.2 (q, C-16''), 45.8 (t, C-1'), 42.9 (d, C-1 u. C-3), 41.7 (d, C-5), 39.2 (t, C-4 u. C-6), 35.9 (t, C-2)

MS (140° C): 252 (7), 221 (40), 193 (6), 161 (3), 147 (4), 121 (100, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OMe<sup>+</sup>), 107 (5), 91 (5)

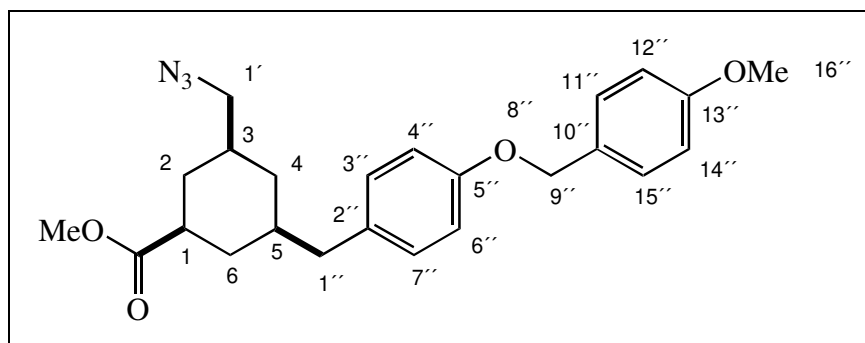
EA.: berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>: C: 74.6, H: 8.2, gefunden: C: 73.7, H: 8.0

#### Methode B:

0.100 g (0.23 mmol) Diester **67** werden in einem Gemisch aus 0.1 ml abs. THF und 0.5 ml abs. PhMe gelöst. Bei -78° C werden 0.56 ml (0.56 mmol) einer 1 M L-Selectride®-Lösung innerhalb von zwei Stunden zugetropft. Man rührt solange bei -78° C, bis das Edukt annähernd abreagiert ist, und terminiert die Reaktion mit 2 ml 0.01 M Salzsäure. Die Lösung wird mit 1 ml 2 N NaOH-Lösung und 5 ml EE verdünnt und anschließend bei 0° C langsam mit 0.7 ml 30 %-ger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung versetzt. Die Lösung wird zwei Stunden bei RT gerührt. Die EE-Phase wird abgetrennt, und die wäßrige Phase wird mit NaCl gesättigt und fünfmal mit 10 ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (10 g Kieselgel, Laufmittel PE/EE = 2/1 → EE) gereinigt.

Ausbeute: 0.073 g (0.18 mmol, 80 %), farbloser Feststoff, Hydroxyester **69**  
0.007 g (0.02 mmol, 8 %), farbloser Feststoff, Diol **71**

### 2.3.9 *cis,cis*-3-Azidomethyl-5-(4-(4'-methoxybenzyloxy)benzyl)-1,3-cyclohexancarbonsäure-remethylester (**78**)



0.217 g (0.55 mmol) Hydroxyester **69**, 0.286 g (1.09 mmol) Triphenylphosphin und 1.5 ml abs. THF werden bei 0° C mit 0.199 g (1.14 mmol) Diethylazodicarboxylat versetzt und fünf Minuten bei 0° C gerührt. Anschließend werden 2 ml (~5.5 mmol) HN<sub>3</sub>-Benzol-Lösung<sup>169</sup> zugegeben, und die Lösung wird in 90 Minuten auf RT erwärmt. Die Reaktionslösung wird mit 10 ml ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung verdünnt und dreimal mit 15 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 15 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das eingeeengte Filtrat wird mittels Säulenchromatographie an 28 g Kieselgel (Laufmittel PE/EE = 6/1) isoliert.

<sup>169</sup> Alle Arbeiten mit HN<sub>3</sub> werden im Abzug durchgeführt.

Herstellung der HN<sub>3</sub>-Benzol-Lösung: 0.650 g (10 mmol) NaN<sub>3</sub> werden in 0.5 ml aqua dest und 3 ml Benzol suspendiert. Unter Eiskühlung werden langsam 0.8 ml conc. Schwefelsäure eingetragen. Nach Beendigung der Gasentwicklung wird noch 15 Minuten gerührt, und die organische Phase wird vorsichtig mit einer Spritze von der farblosen Suspension getrennt. Nach dem Trocknen über MgSO<sub>4</sub> ist die Lösung gebrauchsfertig.

Die Ausbeute, die Reaktionszeit und Temperatur der Reaktion ist entscheidend abhängig von der Qualität des verwendeten Diethylazodicarboxylats. Bei minderwertigen Chargen muß die Reaktion auf 50° C erwärmt werden, oder es bilden sich quantitativ Nebenprodukte. Auch sollte ein größerer Überschuß an Diethylazodicarboxylat vermieden werden, da dieses durch Säulenchromatographie nicht abtrennbar ist.

Ausbeute: 0.174 g (0.41 mmol, 75 %), gelbliches Wachs, C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (423.51)

DC: R<sub>f</sub> = 0.58 (PE/EE = 1/1)

mp.: 35 - 40° C (PE/EE), Zersetzung bei 80° C

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2928 m, 2864 w, 2100 s, 1728 s, 1612 m, 1512 s, 1240 s, 1172 s, 1032 w, 940 w, 824 w

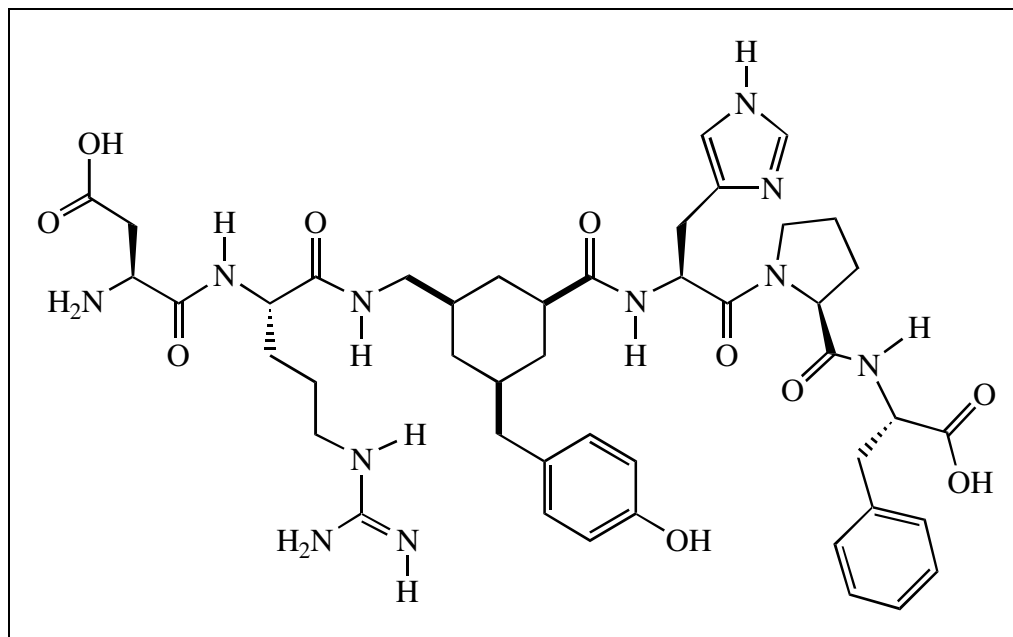
<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.36 (bd, *J* = 8.8 Hz, 2 H, H-11'' u. H-15''), 7.04 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-3'' u. H-7'), 6.91 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-12'' u. H-14'), 6.89 (bd, *J* = 8.6 Hz, 2 H, H-4'' u. H-6''), 4.96 (s, 2 H, H-16'), 3.81 (s, 3 H, H-9'), 3.65 (s, 3 H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.19 (dd, *J* = 6.3 Hz, *J* = 12.0 Hz, 1 H, H-1'), 3.14 (dd, *J* = 6.7 Hz, *J* = 12.1 Hz, 1 H, H-1'), 2.49 (d, *J* = 7.0 Hz, 2 H, H-1'), 2.32 (tt, *J* = 3.5 Hz, *J* = 12.4 Hz, 1 H, H-1), 1.91 - 2.06 (m, 2 H, Häq), 1.70 - 1.79 (m, 1 H, Häq), 1.54 - 1.66 (m, 2 H, H-3 u. H-5), 1.11 (q, *J* = 12.5 Hz, 1 H), 1.07 (q, *J* = 12.5 Hz, 1 H), 0.70 (q, *J* = 12.5 Hz, 1 H)

<sup>13</sup>C-NMR: (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
175.8 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 159.4 (s, C-13'), 157.2 (s, C-5'), 132.2 (s, C-2'), 130.0 (d), 129.22 (d), 129.20 (s, C-10'), 114.6 (d), 114.0 (d), 69.8 (t, C-9'), 57.5 (t, C-1'), 55.3 (q, C-16'), 51.7 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 42.62 (t, C-1'), 42.56 (d), 39.0 (d), 38.7 (d), 36.1 (t), 34.8 (t), 32.7 (t)

MS (150° C): 424 (0.7, M<sup>+</sup>), 396 (1), 355 (1), 279 (2), 236 (1), 173 (1), 167 (1), 155 (9), 123 (25), 121 (100, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OMe<sup>+</sup>), 106 (15), 91 (35), 80 (26)



### 2.3.10 Asparagyl-arginyl-(*cis,cis*-3-aminomethyl-5-(*p*-hydroxybenzyl)-1-cyclohexancarboxyl)-histidyl-prolyl-phenylalalin (**82**) und (**83**)



0.021 g (0.05 mmol) Azidocarbonsäuremethylester **78** werden in 0.05 ml einer 2 M LiOH-Lösung und 0.05 ml 1,4-Dioxan gelöst, und die Lösung wird über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird mit 5 ml EE verdünnt und mit 20 %-ger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf pH 2 - 3 angesäuert. Die Phasen werden getrennt und die wäßrige Phase wird nochmals mit 5 ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach dem Filtrieren, dem Einengen und dem Trocknen im Hochvakuum erhält man 0.020 g eines farblosen Feststoffes ( $R_f = 0.$ ; Der Spot wird mit Bromkresolgrün gelb angefärbt; IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3008 bw, 2100 s, 1708 s).

Die Synthese des Peptids und die Inkorporation der rohen Azidocarbonsäure **79** wurden von Gunnar Lindeberg analog der allgemeinen Synthesevorschrift 2.2.13 durchgeführt (0.122 g (50  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-His(Trt)-Pro-Phe-Wang-Harz). Die Reduktion des harzgebundenen Azidopeptids erfolgte nach der Literaturvorschrift<sup>105</sup> mit 2 M DTE (Dithioerythritol) und 1 M DIEA in DMF (50° C, 29 h). Um die Trt- und die PMB-Schutzgruppe vollständig zu entfernen, wurde das rohe Peptid nochmals in TFA/TESH/ $\text{H}_2\text{O}$  (90/5/5) für zwei weitere Stunden gelöst.

#### Diastereomer **82**

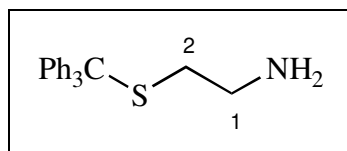
Ausbeute: 1.6 mg, farbloser Feststoff,  $\text{C}_{45}\text{H}_{61}\text{N}_{11}\text{O}_{10}$  (916.04)

PDMS: 938.3 ((M + Na)<sup>+</sup>), 916.9 (M<sup>+</sup>)

Aminosäure-A.: gefunden: Asp: 1.01, Pro: 1.00, Phe: 1.02, His: 1.00, Arg: 0.98, Peptidgehalt: 49 %

Diastereomer **83**Ausbeute: 2.6 mg, farbloser Feststoff, C<sub>45</sub>H<sub>61</sub>N<sub>11</sub>O<sub>10</sub> (916.04)PDMS: 938.9 ((M + Na)<sup>+</sup>), 916.5 (M<sup>+</sup>)

Aminosäure-A.: gefunden: Asp: 0.91, Pro: 1.10, Phe: 1.10, His: 1.08, Arg: 0.80, Peptidgehalt: 40 %

**S-Triphenylmethyl-2-aminoethanthiol (123)**

In 60° C heißer Essigsäure (20 ml) werden 1.542 g (20 mmol) 2-Aminoethanthiol, 5.206 g (20 mmol) Triphenylmethanol und 3.264 g (23 mmol) Bortrifluorid-Etherat analog der allgemeinen Literaturvorschrift<sup>170</sup> umgesetzt. Die Reaktion wird mit 1 N Salzsäure (50 % MeOH) terminiert, der Niederschlag wird abgenutscht und gewaschen, mit 1 N NaOH und Et<sub>2</sub>O wäßrig aufgearbeitet. Das Rohprodukt wird in Et<sub>2</sub>O, Toluol und *i*-Hexan umkristallisiert.

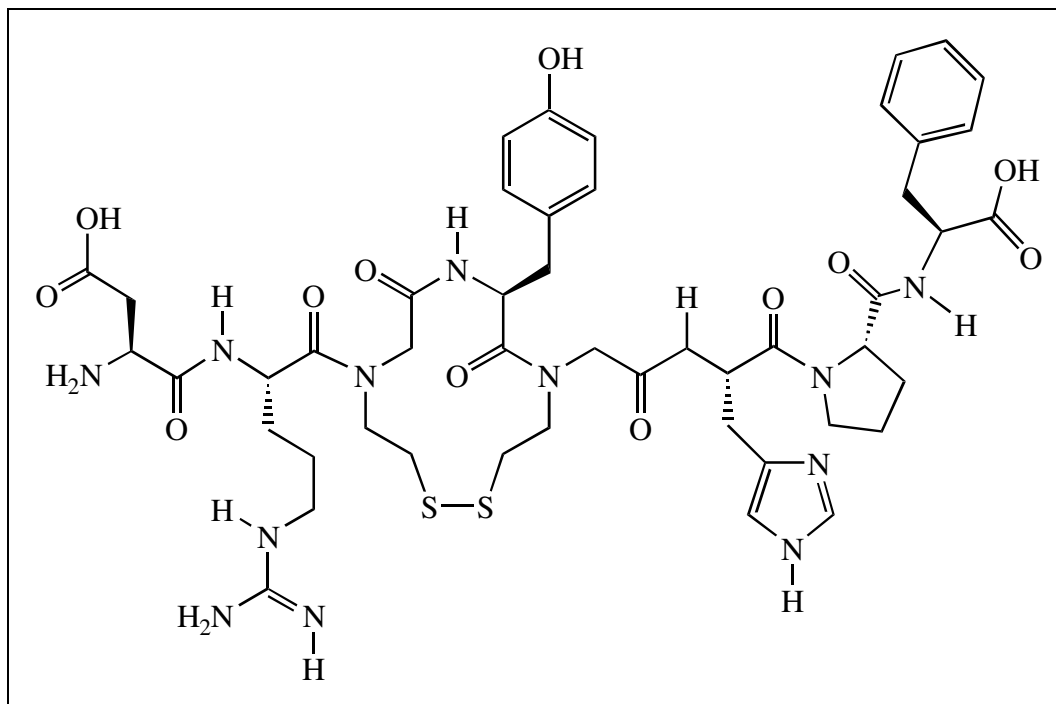
Ausbeute: 5.633 g (17.6 mmol, 88%), gelblicher kristalliner Feststoff, C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NS (319.46)IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 (w), 3380 bm, 3060 m, 2956 m, 2864 w, 1596 m, 1488 s, 1444 s, 1192 m, 1076 m, 856 m

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)  
7.16 - 7.29 (m, 15 H, H<sub>ar,Trt</sub>), 2.52 (t, *J* = 6.6 Hz, 2 H, H-1), 2.28 (t, *J* = 6.6 Hz, 2 H, H-2)

MS(120° C): 243 (100, Ph<sub>3</sub>C<sup>+</sup>), 228 (6), 215 (5), 165 (54), 106 (5)

<sup>170</sup> M. Bodanszky, A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlin, 1984, 83

### 2.4.1 S,S-cyclo-Asparagyl-arginyl-N-(2-mercaptoethyl)glycyl-tyrosyl-N-(2-mercaptoethyl)glycyl-histidyl-prolyl-phenylalanin (117)



333 mg (200  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Phe-Wang-Harz werden durch langsames Rotieren mit 3 ml DMF geschüttelt. Dann wird das Harz dreimal mit 20 %-ger (v/v) Piperidin-DMF-Lösung (0, 2 und 10 min) geschüttelt, mit DMF (sechsmal 1 min) gewaschen und mit 202 mg (600  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Pro-OH, 228 mg (600  $\mu\text{mol}$ ) HBTU und 155 mg (1200  $\mu\text{mol}$ ) DIEA in 2 ml DMF 30 Minuten geschüttelt. Anschließend wird das Harz mit DMF (sechsmal 1 min) gewaschen. Nach dieser allgemeinen Prozedur wird das Peptid mit 380 mg (600  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-His(Boc)-OH, 228 mg (600  $\mu\text{mol}$ ) HBTU und 155 mg (1200  $\mu\text{mol}$ ) DIEA in 2 ml DMF umgesetzt. Das Harz wird zuerst mit DMF und dann mit DCM gewaschen, an der Luft und anschließend unter Vakuum getrocknet.

122.1 mg (68.6  $\mu\text{mol}$ ) des getrockneten Harzes werden in DMF suspendiert, dreimal mit 20 %-ger (v/v) Piperidin-DMF-Lösung (0, 2 und 10 min) entschützt und mit DMF (sechsmal 1 min) gewaschen. Das Harz wird in jeweils 114.4 mg (824  $\mu\text{mol}$ ) Bromessigsäure, 112.5 mg (891.8  $\mu\text{mol}$ ) Diisopropylcarbodiimid und 1 ml DMF zweimal 30 min und einmal 15 h suspendiert. Anschließend wird das Harz mit DMF (sechsmal 1 min) gewaschen und drei Stunden mit 328.7 mg (1029  $\mu\text{mol}$ ) S-Triphenyl-2-aminoethanthiol in 0.8 ml DMF geschüttelt. Das mit DMF (sechsmal 1 min) gewaschene Harz wird nach der allgemeinen Prozedur mit jeweils 157.6 mg (343  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Tyr(<sup>t</sup>Bu)-OH, 159.9 mg (343  $\mu\text{mol}$ ) PyBroP, 88.6 mg (686  $\mu\text{mol}$ ) DIEA und 1 ml DMF 20 Stunden bzw. eine Stunde umgesetzt. Danach wird das Polymer mit 10 %-ger (v/v) Ac<sub>2</sub>O-DMF-Lösung und 88.6 mg (686  $\mu\text{mol}$ ) DIEA zehn Minuten geschüttelt. Nach dem Waschen mit DMF (6x 1 min) wird das Peptid mit 114.4 mg (824  $\mu\text{mol}$ ) Bromessigsäure, 112.5 mg (891.8  $\mu\text{mol}$ ) Diisopropylcarbodiimid und 1 ml DMF (2 x 30 min und 15 h) acetyliert, mit 328.7 mg (1029  $\mu\text{mol}$ ) S-Triphenyl-2-aminoethanthiol in 0.8

ml DMF geschüttelt, mit DMF (6 x 1 min) gewaschen, mit 262.4 (343  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Arg(Pmc)-OH\*(<sup>i</sup>Pr)<sub>2</sub>O, 159.9 mg (343  $\mu\text{mol}$ ) PyBroP, 88.6 mg (686  $\mu\text{mol}$ ) DIEA und 1 ml DMF (17 h bzw. 3 h) verlängert. Das Harz wird nacheinander mit 10 %-ger (v/v) Ac<sub>2</sub>O-DMF-Lösung und 88.6 mg (686  $\mu\text{mol}$ ) DIEA (10 min), mit DMF (6 x 1 min), mit 20 %-ger (v/v) Piperidin-DMF-Lösung (0, 2 und 10 min) und abschließend mit DMF (6 x 1 min) geschüttelt. Das Harz wird dann in 84.7 mg (206  $\mu\text{mol}$ ) Fmoc-Asp(<sup>t</sup>Bu)-OH, 78.1 mg (205.8  $\mu\text{mol}$ ) HBTU und 53.2 mg (411.6  $\mu\text{mol}$ ) DIEA in 1 ml DMF (30 Minuten) suspendiert. Nach dem Waschen mit DMF (6 x 1 min) wird der N-Terminus mit 20 %-ger (v/v) Piperidin-DMF-Lösung (0, 2 und 10 min) entschützt. Das Harz wird mit DMF (6x 1 min) und mit DCM (6x 1 min) gewaschen, an der Luft und dann unter Vakuum getrocknet.

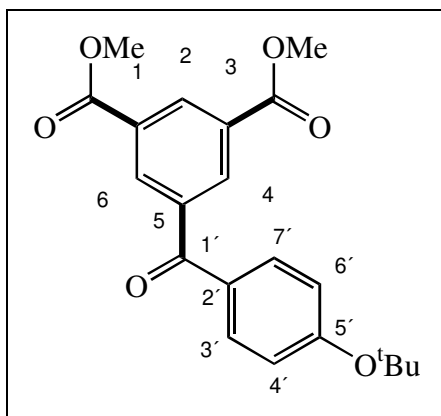
303.8 mg (44.4  $\mu\text{mol}$ ) Harz werden zwei Stunden in 2 ml TFA-TESH-H<sub>2</sub>O-Lösung (90/5/5) suspendiert, filtriert und mit dreimal 0.25 ml TFA gespült. Die TFA-Lösung wird mit 10 ml Et<sub>2</sub>O verdünnt, 15 min auf 0° C abgekühlt, zentrifugiert, und die überstehende Lösung wird abdekantiert. Der Niederschlag wird dreimal in 10 ml Et<sub>2</sub>O resuspendiert, zentrifugiert, und die Etherphase abdekantiert. Das rohe Peptid wird im Vakuum getrocknet. Man erhält 44.2 mg eines farblosen amorphen Feststoffes, welcher in zwei Portionen mit jeweils 0.2 ml DMSO und 1.8 ml TFA über Nacht gerührt wird. Die Reaktion wird mit 10 ml Et<sub>2</sub>O terminiert. Die Suspension wird auf 0° C gekühlt, zentrifugiert, und die Etherphase wird abdekantiert. Der Rückstand wird fünfmal mit 6 ml Et<sub>2</sub>O resuspendiert, zentrifugiert, und die flüssige Phase abdekantiert. Anschließend wird erst im Luftstrom und dann im Gefriertrockner getrocknet. Das reine Peptid wird mittels C<sub>18</sub>-Reversed Phase-Chromatographie (Säule 218TP1010 VYDAC, 1 cm x 25 cm, Partikelgröße 10  $\mu\text{m}$ , 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O und 0.1 % TFA in MeCN, 3.0 ml/min, Gradient 20 → 50 % MeCN in 80 min) isoliert und im Gefriertrockner getrocknet.

Ausbeute: 1.7 mg, farbloser amorpher Feststoff, C<sub>48</sub>H<sub>64</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub> (1065.23)

HPLC:  $t_{\text{Ret}}$  = 13.06 min (Säule 218TP10415 VYDAC, 0.46 cm x 15 cm, 10  $\mu\text{m}$ , 0.1 % TFA in H<sub>2</sub>O und 0.1 % TFA in MeCN, 1.5 ml/min, Gradient 10 → 50 % MeCN in 40 min)

PDMS: 1067 ((M+2 H)<sup>+</sup>)

Aminosäure-A.: gefunden: Asp: 1.00, Pro: 1.09, Tyr: 0.89, Phe: 0.99, His: 0.99, Arg: 1.01, Peptidgehalt: 72 %

2.5.1 5-(4-*t*-Butoxybenzoyl)-1,3-benzoldicarbonsäuredimethylester (87)

1.072 g (4.5 mmol) des aromatischen Diesters **127** werden in 147.5 ml abs. DCM und 0.7 ml (0.506 g, 5 mmol) TEA gelöst und auf 0° C gekühlt. Anschließend werden 10.5 ml einer 0.48 M Mercaptochlorothioformiat-Lösung (5 mmol) hinzugefügt. Die Lösung wird zwei Stunden bei 0° C gerührt und anschließend mit DCM aufgenommen und nacheinander mit 50 ml eiskalter ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, mit 50 ml eiskalter 1 N Salzsäure und 50 ml eiskalter ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Rotationsverdampfer eingengt. Nach dem Trocknen im Hochvakuum erhält man einen gelblichen Feststoff (1.140 g), der ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt wird.

0.994 g (3.0 mmol) Thioester **86** werden in 15 ml abs. THF gelöst und auf -30° C abgekühlt. Anschließend werden schnell 5.6 ml (3.3 mmol) einer 0.59 M *p*-(*tert*-Butoxy)-phenylmagnesiumbromid-Lösung zugegeben. Dabei wechselt die Farbe der Lösung von gelb nach orange. Nach 60 Minuten Rühren bei -30° C werden weitere 2.5 ml (1.5 mmol) der Grignardlösung zugegeben. Nach weiteren 30 Minuten ist dünnschichtchromatographisch kein Edukt **86** mehr nachweisbar. Die Reaktionslösung wird mit 10 %-ger NH<sub>4</sub>Cl-Lösung terminiert und anschließend sechsmal mit jeweils 20 ml Et<sub>2</sub>O extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen mit 50 ml 1 N NaOH-Lösung und mit 50 ml ges. NaCl-Lösung, trocknet mit MgSO<sub>4</sub>, filtriert und engt das Filtrat ein. Das Produkt wird durch Säulenchromatographie (100 g Kieselgel; Laufmittel PE/Et<sub>2</sub>O = 5/1 → 1/1) isoliert.

Ausbeute: 0.603 g (1.6 mmol, 36 % bezogen auf die Monosäure **48**), farbloses Öl, C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub> (370.40)

DC: R<sub>f</sub> = 0.15 (PE/EE = 3/1)

IR (CHCl<sub>3</sub>): 2980 m, 2952 m, 1728 s, 1656 s, 1596 s, 1504 m, 1444 m, 1252 s, 1156 s, 1000 m, 896 m

<sup>1</sup>H-NMR: (400.1 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS)

8.87 (t,  $J = 1.6$  Hz, 1 H, H-2), 8.59 (d,  $J = 1.6$  Hz, 2 H, H-4 u. H-6), 7.77 (bd,  $J = 8.8$  Hz, 2 H, H-3' u. H-7'), 7.09 (bd,  $J = 8.3$  Hz, 2 H, H-4' u. H-6'), 3.98 (s, 6 H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 1.47 (s, 9 H,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ )

$^{13}\text{C}$ -NMR: (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  
193.7 (s, C-1'), 165.6 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 160.8 (s, C-5'), 139.1 (s, C-5), 134.5 (d, C-4 u. C-6), 133.5 (d, C-2), 131.8 (d, C-3' u. C-7'), 131.0 (s, C-1 u. C-3), 130.5 (s, C-2'), 122.1 (d, C-4' u. C-6'), 79.9 (s,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ), 52.6 (q,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 29.0 (q,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ )

MS (140° C): 370 (0.6,  $\text{M}^+$ ), 355 (4,  $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ), 339 (5,  $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ), 314 (47,  $\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_8$ ), 286 (3), 255 (4), 221 (14,  $\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_4\text{O}^t\text{Bu}$ ), 202 (21), 193 (4), 186 (9), 121 (100,  $\text{OCC}_6\text{H}_4\text{OH}^+$ ), 110 (5)

EA.: berechnet für  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ : C: 68.1, H: 6.0, gefunden: C: 67.6, H: 6.4

### III. Abkürzungsverzeichnis:

aa	Aminosäure
abs.	absolut
Ac	Acetyl
acac	Acetylaceton
AcOH	Essigsäure
Ala	Alanin
Alox	Aluminiumoxid
Ang	Angiotensin
äq	äquatorial
Arg	Arginin
Asp	Asparginsäure
ax	axial
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert.</i> -Butoxycarbonyl
Bz	Benzoyl
conc.	konzentriert
Cys	Cystein
DC	Dünnschichtchromatographie
DCCI	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIEA	Diisopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigsäureethylester
eq	Äquivalent(e)
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
ges.	gesättigt
h	Stunde(n)
HBTU	2-Benzotriazol-1-yl-1,1,3,3-tetramethyl-uroniumhexafluorophosphat
Hcy	Homocystein
His	Histidin
HOBt*H <sub>2</sub> O	N-Hydroxybenzotriazol (Monohydrat)
Ile	Isoleucin
IR	Infrarotspektroskopie
Lys	Lysin
MeCN	Acetonitril

min	Minute(n)
Ms	Mesyl
MTB	Methyl- <i>tert</i> -butylether
Nmg	N-(2-Mercaptoethyl)glycin
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NOE	Nuclear Overhauser Effekt
p	Druck
PDMS	Plasmadesorption-Massenspektrometrie
PE	Petrolether
PEG	Polyethylenglycol
Ph	Phenyl
Phe	Phenylalanin
PhH	Benzol
PMB	<i>para</i> -Methoxybenzyl
Pmc	Pentamethylchromansulfonyl
Pro	Prolin
PS	Polystyrol
py	Pyridin
PyBOP	Benzotriazol-1-yloxy-tris(pyrrolidino)- phosphoniumhexafluorophosphat
PyBroP	Bromo-tris(pyrrolidino)-phosphonium- hexafluorophosphat
RCM	'Ring closure metathesis'
RT	Raumtemperatur
R <sub>t</sub>	Retentionszeit
s	Sekunde(n)
Sar	Sarcosin
t	Zeit
TEA	Triethylamin
<i>tert.</i>	tertiär
TESH	Triethylsilan
TFA	Trifluoressigsäure
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
Trt	Trityl (Triphenylmethyl)
Tyr	Tyrosin
v	Volumen
Val	Valin
y	<i>yield</i> (Ausbeute)
Z	Benzyloxycarbonyl



## IV. Lebenslauf:

### **Persönliche Daten**

Geburtstag und Ort: 17. März 1969, Berlin  
Eltern: Günter und Hildegard Kühn, geb. Wollschläger

### **Schulbildung**

August 1975 - Juli 1981 Bürgermeister-Herz-Grundschule  
August 1981 - Juni 1988 Hermann-Hesse-Gymnasium; Abschluß: Abitur

### **Studium**

Oktober 1988 Immatrikulation im Studiengang Chemie an der Technischen Universität Berlin  
12. April 1991 Abschluß der Diplom-Vorprüfungen  
März 1993 - Oktober 1993 Diplomprüfungen in Anorganischer, Physikalischer und Makromolekularer Chemie an der Technischen Universität Berlin  
April 1993 Fortsetzung des Studiengangs an der Universität Hannover  
Juni 1994 Diplomprüfung in Organischer Chemie an der Universität Hannover  
Juni 1994 - Januar 1995 Anfertigung der Diplomarbeit unter der Leitung von Herrn Professor H. M. R. Hoffmann, PhD, DSc am Institut für Organische Chemie der Universität Hannover  
Thema: "Synthese von Peptidmimetika"  
April 1995 Beginn der Promotion unter der Leitung von Herrn Professor H. M. R. Hoffmann, PhD, DSc  
Thema: "Synthese von rigiden Angiotensin II-Analoga durch die Inkorporation von 4'-substituierten *cis,cis*-5-Benzyl-3-aminomethyl-cyclohexancarbonsäuren und durch die Cyclisierung von N-(2-Mercaptoethyl)glycinen"  
November - Dezember 1996 Auslandsaufenthalt in Uppsala, Schweden am Inst. f. Org. Farm. Kemi, Uppsala Universitet, Biomedicinska Centrum  
Oktober 1998 Promotionsprüfung mit der Gesamtnote sehr gut

### **Veröffentlichungen**

C. Kühn, G. Lindeberg, A. Gogoll, A. Hallberg, B. Schmidt, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12497

Posterpräsentation auf der 26. GdCh-Hauptversammlung in Wien

B. Schmidt, C. Kühn, *Syn. Lett.* **1998**, 1240