

Totalsynthesen von antibiotisch hoch potenten Cystobactamiden

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades

Doktorin der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation

von

Therese Maria Planke, M. Sc.

2019

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2015 bis Juni 2019 unter der Leitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover angefertigt.

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Andreas Kirschning
Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. Markus Kalesse
Tag der Promotion: 27.11.2019

Gewidmet meiner Familie

Zusammenfassung

Therese Planke

Totalsynthesen von antibiotisch hoch potenten Cystobactamiden

Schlagwörter: Totalsynthese, Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, Gyraseinhibitor

Die ersten Cystobactamide wurden 2014 am Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung im Saarland (HIPS) durch Fermentation aus dem Myxobakterium *Cystobacter* sp. Cbv34 isoliert. Sie bestehen aus zwei nicht proteinogenen polyaromatischen Segmenten mit einem einzigartigen Set von *para*-Aminobenzoesäure-Monomeren und einer ungewöhnlichen β -Methoxyasparagin-Einheit als Linker. Die Cystobactamide verfügen über eine außerordentlich hemmende Wirkung gegen zahlreiche klinisch relevante Gram-negative Bakterien, indem sie die Topoisomerase IIa adressieren. Die Kombination aus einzigartigen Strukturelementen und breitem antibakteriellem Wirkungsspektrum machen die Cystobactamide zu einer potentiellen Leitstruktur für die Entwicklung einer neuen Klasse von Gyraseinhibitoren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden synthetische Zugänge zu den Cystobactamiden etabliert und für große Labormaßstäbe optimiert. Als Leitstruktur diente dabei das Cystobactamid 861-2. Die Schutzgruppenstrategie und die Optimierung der Peptidkupplungen spielte dabei eine herausragende Rolle. Des Weiteren wurden 15 Strukturanaloga synthetisiert, die zur Untersuchung des Struktur-Aktivitäts-Profiles verwendet wurden. Da sowohl die Naturstoffe als auch die ersten vereinfachten Derivate eine gewisse Basenlabilität aufwiesen, wurde bei der Wahl der zu synthetisierenden Derivate auf basenstabilere Struktur motive gesetzt. Darüber hinaus bestimmten die Erkenntnisse der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der 1. Generation die Auswahl der Struktur motive beim Entwurf einer zweiten Generation synthetischer Analoga.

Das Ersetzen einer Amidbindung durch ein Harnstoffmotiv oder das Kürzen von polyaromatischen Segmenten führte zu einem Verlust der biologischen Aktivität. Der Einbau einer hydrolytisch stabilen Triazolgruppe bewahrte die Aktivität gegenüber einigen klinisch relevanten Pathogenen, darunter zum Beispiel *P. aeruginosa*, *S. aureus* und *A. baumannii*. Des Weiteren konnte das Aktivitätsspektrum teils auf *K. pneumoniae* erweitert werden. Die neuen Analoga werden zur Weiterentwicklung der Verbindungsklasse verwendet, z.B. indem hydrolytisch stabile Einheiten die Halbwertszeit des Arzneimittels erhöhen.

Abstract

Therese Planke

Total synthesis of the highly potent cystobactamid antibiotics

Key words: Total synthesis, structure-activity-relationship, gyrase inhibitor

In 2014 cystobactamids were first isolated at the Helmholtz Institute for Pharmaceutical Research in Saarland (HIPS), through fermentation of the myxobacterium *Cystobacter* sp. Cbv34. Their structure consists of two non-proteinogenic polyaromatic segments with a unique set of *para*-aminobenzoic acid monomers and an unusual β -methoxyasparagine residue as a linking fragment. The cystobactamids show an extraordinary inhibitory effect against several clinically-relevant strains of Gram-negative bacteria targeting type Iia topoisomerases. The combination of unique structural elements and broad-spectrum antibacterial activity makes the cystobactamids a promising lead for developing a new class of gyrase inhibitors.

In this work, new synthetic approaches to the cystobactamids were established and optimized for large-scale laboratory preparations. The lead structure was cystobactamid 861-2. The protecting group strategy as well as the optimization of the peptide coupling played a decisive role. Furthermore, 15 structural analogues were synthesized to investigate the compound's structure-activity profile. Since the natural products themselves and the first simplified derivatives are known to be base labile, structural motifs with greater base stability were also incorporated into the cystobactamid structure. In addition, structure-activity relationships that became apparent from the 1st generation directed the choice of structural motifs when designing a second round of synthetic analogues.

Unfortunately, substituting one of the amide linkages with an urea motive, or truncating the polyaromatic segments resulted in loss of biological activity. Whereas, incorporating a hydrolytically stable triazole group maintained activity against some clinically relevant pathogens, including *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *A. baumannii*. Moreover, the activity spectrum could be partly extended to *K. pneumoniae*. The new analogues will be instrumental to further development of the compound class e.g. through successful incorporation of hydrolytically stable moieties that will increase the drug's half-life.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	IV
Abstract	V
Inhaltsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VIII
Vorbemerkungen	XII
1 Einleitung	1
1.1 Antibiotika	1
1.1.1 Antibiotikaklassen	1
1.1.1.1 Aktuelle Antibiotikaentwicklungen	3
1.1.2 Antibiotikaresistenzen	4
1.1.2.1 Problem vermehrter Resistenzen	6
1.1.2.2 Strategien zur Bekämpfung von Multiresistenten Keimen	7
1.2 Myxobakterielle Naturstoffe.....	10
1.3 <i>Para</i> -Aminobenzoesäurebasierte oligomere Naturstoffklassen	12
1.3.1 Isolierung und Strukturaufklärung der Cystobactamide	13
1.3.2 Biosynthese der Cystobactamide	14
1.3.3 Topoisomerase – molekulares Target der Cystobactamide.....	17
1.3.3.1 Mechanismus der Topoisomerase IIa	18
1.3.3.2 Gyraseinhibitoren.....	19
1.3.3.3 Targetuntersuchungen der Cystobactamide	20
1.3.4 Entdeckung weiterer Cystobactamide	21
1.3.5 Biologische Aktivität der Cystobactamide.....	22
2 Aufgabenstellung und Zielsetzung	24
2.1 Totalsynthese der natürlichen Cystobactamide 920-1 (29) und 861-2 (30)	24
2.2 Synthese neuer Cystobactamid-Derivate	25
3 Nomenklatur	26
4 Vorarbeiten	27
5 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse	30
5.1 Synthese von Cystobactamid 920-1 (29).....	30
5.1.1 Retrosynthese von Cystobactamid 920 (29).....	30
5.1.2 Synthese des Linkers 36	32
5.1.3 Synthese des Westfragments 32	37
5.1.4 Synthese des tetrasubstituierten Arens – Ring D	38

5.1.5	Synthese des trisubstituierten Arens – Ring E	41
5.1.6	Synthese des Ostfragmentes 37	41
5.1.7	Endspiel	44
5.1.8	Vergleich des synthetischen Naturstoffs mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (29) und 920-2 (31)	57
5.2	Synthese von Cystobactamid 861-2 (30)	62
5.2.1	Retrosynthese von Cystobactamid 861-2 (30)	62
5.2.2	Synthese des Mittelfragments 75	63
5.2.3	Kupplung des Mittelfragments 70 mit dem Ostfragment 80	64
5.2.4	Synthese des Ostfragmentes 76	68
5.2.5	Endspiel	69
5.2.6	Optimierungsstudien zur Installation des primären Amids	71
5.3	Strukturanaloga	72
5.3.1	Synthese des Linkers der zweiten Generation	73
5.3.2	Synthese von Harnstoffderivaten	75
5.3.3	Synthese von verkürzten Cystobactamid-Derivaten	85
5.3.4	Synthese von Triazolderivaten	86
6	Zusammenfassung und Ausblick	92
6.1	Zusammenfassung	92
6.2	Ausblick	94
7	Experimenteller Teil	96
7.1	Allgemeine Hinweise	96
7.2	Darstellung der Verbindungen	101
7.2.1	Verbindungen des Mittelfragments	101
1.1.1	Verbindungen des Westfragments	114
1.1.2	Verbindungen des Ostfragments	125
1.1.3	Endverbindungen	146
8	Spektrenanhang	202
	Danksagung	XIII
	Lebenslauf	XV

Abkürzungsverzeichnis

[α]	Optischer Drehwert
°C	Grad Celsius
δ	chemische Verschiebung (NMR)
λ	Wellenlänge
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
Ø	Durchmesser
%	Prozent
®	registrierte Warenmarke
#	Eintrag
5'dA	5'-Desoxyadenosin
Ac	Acetyl-
AcOH	Essigsäure
Alb	Albicidin
Äq	Äquivalent
ADP	Adenosindiphosphat
atm	Atmosphäre
ATP	Adenosintriphosphat
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
BOP	Benzotriazolylxytris(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat
br	breites Signal (¹ H-NMR)
brsm	<i>based on recovered starting material</i>
BTC	Bis(trichlormethyl)carbonat
c	Konzentration
Cbl	Cobalamin
CD	Circulardichroismus
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CIP	Ciprofloxacin
COMU	(1-Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)dimethylaminomorpholino-carbenium-hexafluorophosphat
COSY	correlation spectroscopy
CRE	Carbapenem-resistente <i>Enterobacteriaceae</i>
Cys	Cystobactamid

d	Dublett ($^1\text{H-NMR}$)
d	Tag
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
<i>ee.</i>	<i>enantiomeric excess</i>
EEDQ	<i>N</i> -Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin
EIC	<i>extracted ion current</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl-
et al.	und andere
h	Stunde(n)
HAPyU	1-(1-Pyrrolidinyl-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-1-ylmethyl)-pyrrolidiniumhexafluorophosphat- <i>N</i> -oxid
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
hept	Heptett ($^1\text{H-NMR}$)
HIPS	Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
Hz	Hertz
HZI	Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung
Ibcf	Isobutylchloroformiat
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
<i>iPr</i>	<i>iso</i> -Propyl
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kopplungskonstante
Lit.	Literatur
LC-MS	Flüssigchromatographie mit Massenspektrometriekopplung

μ	micro
m	Multipllett ($^1\text{H-NMR}$)
<i>m</i>	meta-
MHK	Minimale Hemmkonzentration
MRSA	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
MW	Mirowellenreaktor
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	<i>nuclear magnetic resonance spectroscopy</i>
NRPS	nichtribosomale Peptidsynthetase
<i>o</i>	ortho-
p	primär ($^{13}\text{C-NMR}$)
<i>p</i>	para-
PABA	<i>para</i> -Aminobenzoic acid
Pd/C	Palladium auf Kohle
PE	Petrolether
PG	<i>protecting group</i>
Ph	Phenyl
PNBA	<i>para</i> -Nitrobenzoic acid
ppm	<i>parts per million</i>
<i>p</i> TSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
Py	Pyridin
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
q	Quartett ($^1\text{H-NMR}$)
q	quartär ($^{13}\text{C-NMR}$)
quant.	quantitativ
RNA	Ribonukleinsäure
NP-HPLC	<i>normal phase high-performance liquid chromatography</i>
ROESY	<i>rotating-frame NOE spectroscopy</i>
RP-HPLC	<i>reversed phase high-performance liquid chromatography</i>
RT	Raumtemperatur
s	Singulett ($^1\text{H-NMR}$)
s	sekundär ($^{13}\text{C-NMR}$)
SAH	<i>S</i> -Adenosylhomocystein
SAM	<i>S</i> -Adenosylmethionin

SM	Startmaterial
Smp.	Schmelzpunkt
t	Zeit
t	Triplett ($^1\text{H-NMR}$)
t	tertiär ($^{13}\text{C-NMR}$)
T3P	Propylphosphonsäureanhydrid
t_R	Retentionszeit
TBTA	Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin
TBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminiumtetrafluoroborat
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl-
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
TFFH	Tetramethylfluoroformamidiniumhexafluorophosphat
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
UPLC	<i>ultra high performance liquid chromatography</i>
UV	Ultraviolett
VRE	Vancomycin-resistente <i>Enterococccen</i>
WHO	<i>world health organization</i>
WT	Wildtyp

Vorbemerkungen

Die für die Zuordnung der Wasserstoff- bzw. Kohlenstoffatom-NMR-Signale verwendete Nummerierung in der vorliegenden Arbeit folgt nicht den IUPAC-Regeln.

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht:

[1] Cystobactamids 920-1 and 920-2: Assignment of the Constitution and Relative Configuration by Total Synthesis, T. Planke, M. Moreno, S. Hüttel, J. Fohrer, F. Gille, M. Norris, M. Siebke, L. Wang, R. Müller, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 1359-1363.

[2] Discovery and Total Synthesis of Natural Cystobactamid Derivatives with Superior Activity against Gram-Negative Pathogens, S. Hüttel, G. Testolin, J. Herrmann, T. Planke, F. Gille, M. Moreno, M. Stadler, M. Brönstrup, A. Kirschning, R. Müller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12760-12764, *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12934-12938.

1 Einleitung

1.1 Antibiotika

Antibiotika haben zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten immens beigetragen. Es ist nicht notwendig an dieser Stelle zu wiederholen, wie viele Leben sie gerettet haben.¹ Dabei ist die Exposition gegenüber Antibiotika weitaus länger als die moderne „Antibiotika-Ära“. Bereits seit Jahrtausenden macht sich die Menschheit die therapeutische Wirkung von Naturstoffen zu Nutze.² Zunächst wurden dabei vorwiegend pflanzliche Extrakte zur Wundheilung verwendet. Die wirksamen Bestandteile der natürlichen Extrakte konnten später isoliert und charakterisiert werden.

Das goldene Zeitalter der Antibiotika begann mit der Entdeckung des Penicillin G im Jahre 1928 von A. FLEMING³ (Abbildung 1). Seitdem wurden neben pflanzlichen auch mikrobielle Quellen zur Wirkstofferschließung verwendet. Aufgrund von verbesserten Tauchtechniken in den 70ern wurde der Zugang zu maritimen Quellen geschaffen. Die kombinatorische Chemie aus den 80er und 90er Jahren verlagerte den Fokus der Bemühung zur Entdeckung neuer Medikamente von der Natur ins Laboratprium.²

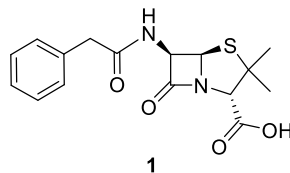


Abbildung 1: Struktur des Naturstoffs Penicillin G (1).

1.1.1 Antibiotikaklassen

Aufgrund der intensiven Bemühungen im Feld der Wirkstoffisolierung konnten neben den Penicillinen eine Reihe anderer Wirkstoffklassen ausfindig gemacht werden. Eine Übersicht ausgewählter etablierter Antibiotikaklassen mit Informationen zu ihrer Entdeckung und ihrer Wirkungsweise sind in Schema 1 zusammengestellt.^{4, 5}

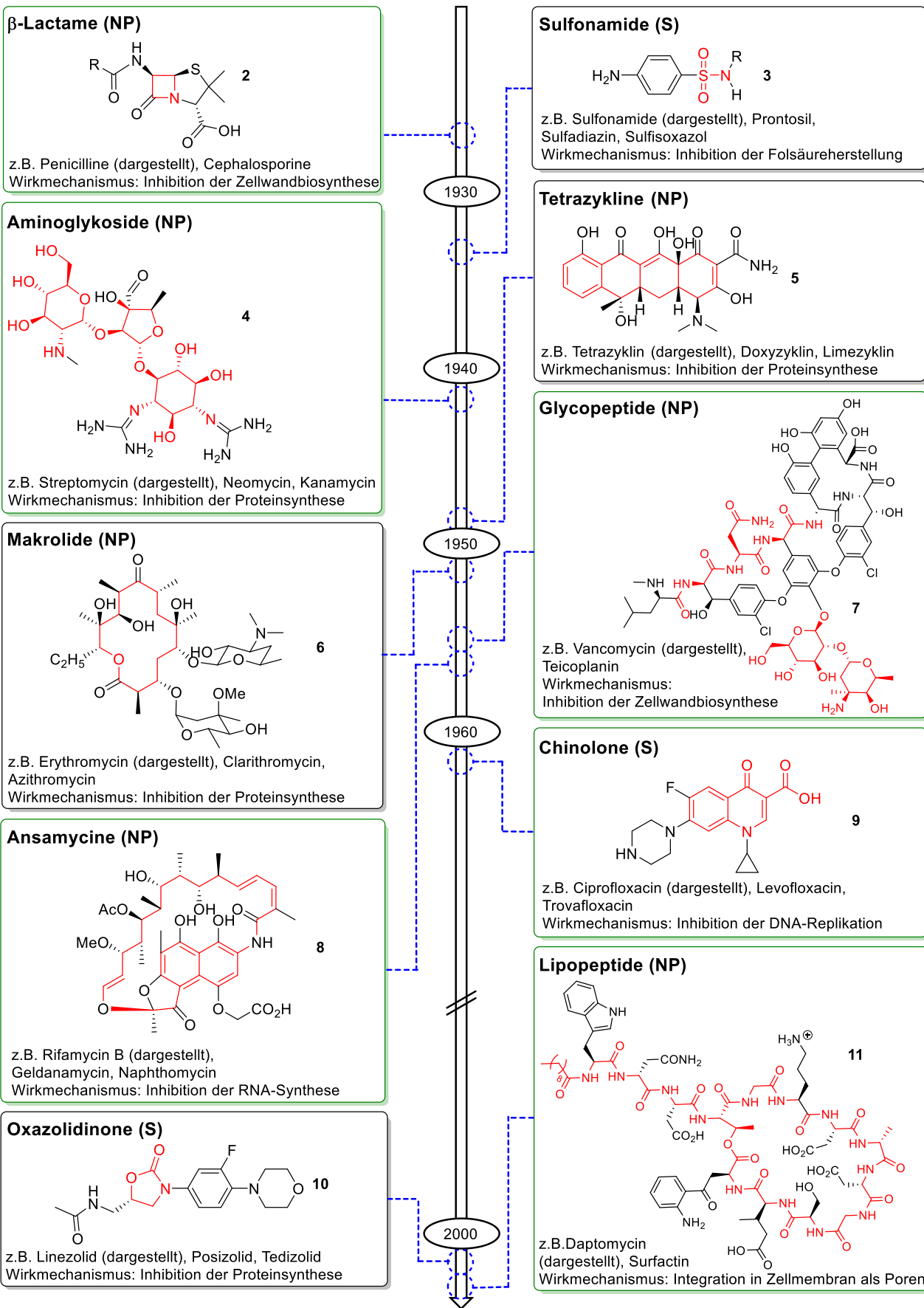
¹ R. I. Aminov, *Front. Microbiol.* **2010**, *1*, 1–7.

² G. M. Cragg, D. J. Newman, *Biochim. Biophys. Acta.* **2013**, *1830*, 3670–3695.

³ A. Fleming, *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, *10*, 226–236.

⁴ <https://www.compoundchem.com/2014/09/08/antibiotics/> (Abgerufen am 25.04.2019)

⁵ A. E. Clatworthy, E. Pierson, D. T. Hung, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 541–548.



Schema 1: Überblick von Antibiotikaklassen anhand zeitlicher Entdeckung (NP = Naturprodukt oder Derivat, S = synthetischer Ursprung; grüner Rahmen bakteriozide Antibiotika, schwarzer Rahmen bakteriostatische Antibiotika).⁴

In den 90 Jahren seit der Entdeckung des Penicillins haben Naturstoffe eine wichtige Grundlage bei der Entwicklung neuer Medikamente gespielt. Lediglich drei der zehn dargestellten Antibiotikaklassen beruhen auf synthetischem Ursprung. Ergänzend ist eine beeindruckende Strukturvielfalt und Komplexität der aus der Natur gewonnenen Antibiotika gegenüber den synthetischen festzustellen.⁶

Eine Betrachtung des Zeitstrahls zeigt, dass zwischen den 1940er und 1960er Jahren die meisten heute bekannten Antibiotikaklassen entdeckt wurden. Anschließend stagnierte die Entwicklung was zu einer Innovationslücke von knapp 40 Jahren führte.^{4,5} Diese wurde mit der Entwicklung der Engspektrumwirkstoffe Daptomycin und Linezolid durchbrochen (Abbildung 2). Nach der Entdeckung des ersten Moleküls der jeweiligen Klasse führten die Bemühungen der Medizinalchemie zu weiteren Derivaten. Dabei sollten die Eigenschaften in Bezug auf Pharmakokinetik, einem breiteren Wirkspektrum und Vermeidung von Resistenzbildung verbessert werden.

1.1.1.1 Aktuelle Antibiotikaentwicklungen

Die Liste der potentiellen Antibiotika, welche sich aktuell weltweit in klinischen Untersuchungen (Phase 1 -3) befinden, enthielt für März 2019 42 Einträge.⁷ Dreizehn potenzielle Antibiotika befinden sich bereits in Phase 3. Statistiken zeigen jedoch, dass lediglich jeder fünfte Wirkstoff den Sprung aus den klinischen Phasen in den Markt schafft.

Elf der 42 Substanzen enthalten ein neues chemisches Gerüst. Sieben davon verfügen außerdem über ein neues Target und somit auch über einen neuen Wirkmechanismus. Die übrigen 29 Verbindungen sind den bereits bekannten Antibiotikaklassen zuzuordnen. Darüber hinaus konnten in der zweiten Jahreshälfte 2018 drei Wirkstoffe die klinischen Phasen erfolgreich passieren und befinden sich bereits auf dem US-Amerikanischen Markt. Bei allen drei Antibiotika handelt es sich um Tetracyclin- bzw. Aminoglycosid-Derivate, welche die 30S Untereinheit der bakteriellen Ribosome inhibieren.⁷

⁶ S. E. Rossiter, M. H. Fletcher, W. M. Wuest, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 12415–12474.

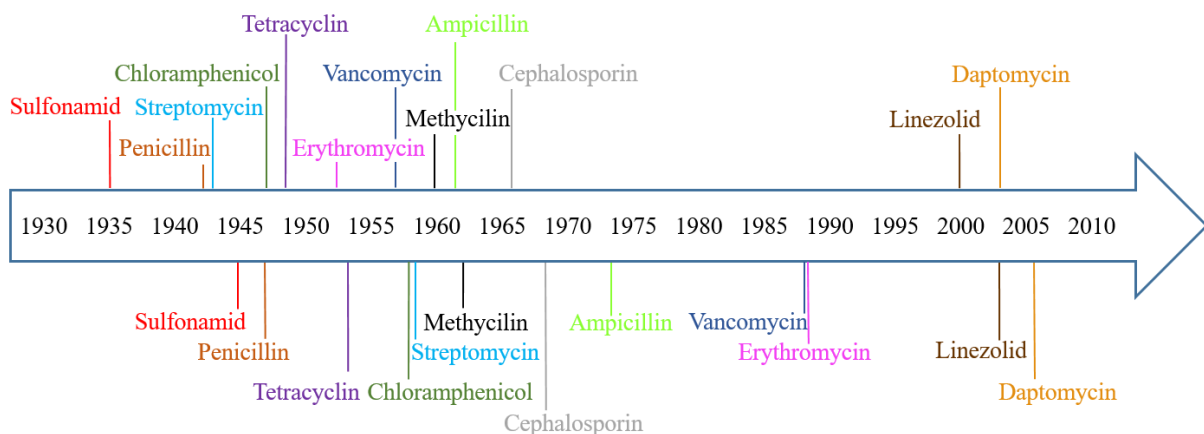
⁷ Antibiotics currently in global clinical development <https://www.pewtrusts.org/-/media/assets/2019/03/antibiotics-currently-in-global-clinical-development.pdf?la=en&hash=078238EF15FACD9753ED2C4EBAB58F16B664B59E> (Abgerufen am 29.04.2019)

Ein kritischer Blick zeigt zwar, dass 20 Verbindungen aktiv gegen Krankheitserreger sind, die laut WHO⁸ bzw. CDC⁹ als kritisch eingestuft werden. Davon sind 13 auch gegen ESKAPE-Pathogene aktiv, jedoch beruht nur eine dieser Verbindungen auf einem neuen Wirkstoffgerüst, welches auch ein neues Target adressiert.

1.1.2 Antibiotikaresistenzen

Aufgrund des massiven Einsatzes von Antibiotika und dem damit verbundenen Selektionsdruck treten Resistenzen gegen praktisch jedes eingesetzte Antibiotikum auf.^{5,10} Die meisten Resistenzen treten sogar innerhalb der ersten Jahre nach Markteinführung auf (Abbildung 2)¹¹, was die moderne Medizin vor einige Herausforderungen stellt. Inzwischen haben auch Regierungen und die Öffentlichkeit erkannt, dass neue Antibiotika dringend benötigt werden.¹²

Markteinführung



Auftreten von ersten Resistenzen

Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Antibiotikaentwicklung sowie der Entstehung von Resistenzen.⁵

Antibiotika werden grundlegend nach ihrer Fähigkeit unterteilt, Bakterien abzutöten (bakteriozid) oder das Wachstum zu hemmen (bakteriostatisch). Sie wirken durch Hemmung

⁸ <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (Abgerufen am 30.04.2019)

⁹ https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html (Abgerufen am 30.04.2019)

¹⁰ K. M. G. O'Connell, J. T. Hodgkinson, H. F. Sore, M. Welch, G. P. C. Salmond, D. R. Spring, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 10706–10733.

¹¹ S. R. Palumbi, *Science* **2001**, 293, 1786–1790.

¹² <https://www.cdc.gov/drugresistance/index.html> (Abgerufen am 26.04.2019)

bakterieller Funktionen.⁵ Die fünf klinisch validierten molekularen Angriffsziele von Antibiotika sind:^{13,14, 15}

- a) Zellwandbiosynthese
- b) Proteinbiosynthese
- c) DNA- und RNA-Synthese
- d) Folsäurestoffwechsel
- e) Membranstruktur

Resistenzen entstehen durch Mutationen im bakteriellen Genom, welche sich durch horizontalen Gentransfer über Artgrenzen hinweg verbreiten. Dies ist in Kombination mit der hohen Mutationsrate von Bakterien die Hauptursache für die schnelle Entwicklung von Resistenzen.^{16, 17} Der Rückgang an Pharmakonzernen, welche die Entwicklung neuer Antibiotika vorantreiben¹⁸ und die eingeschränkte Zahl an zellulären Angriffszielen verstärkt das Problem der Antibiotikaknappheit zusätzlich. Diese Fokussierung ist erstaunlich, da Studien ca. 300 essentielle Gene in Bakterien beschreiben, welche als noch resistenzfreie Targets genutzt werden könnten.^{19, 20}

Das Repertoire an Resistenzstrategien ist sehr vielfältig und reicht weit über die einfache Modifikation der Bindestellen hinaus. Wie in Abbildung 3 gezeigt ist es auch möglich, die Antibiotika chemisch zu inaktivieren, aus den Zellen herauszupumpen oder erst gar nicht in die Zellen aufzunehmen. Des Weiteren kann durch eine Überproduktion der Targets oder durch alternative Stoffwechselwege eine Notwendigkeit des Targets umgangen werden.^{15, 19, 21}

¹³ C. T. Walsh, T. A. Wencewicz, *J. Antibiot.* **2014**, 67, 7–22.

¹⁴ C. T. Walsh, *Antibiotics: Actions, origins, and resistance*, ASM Press, Washington DC, **2003**.

¹⁵ P. F. McDermott, R. D. Walker, D. G. White, *Int. J. Toxicol.* **2003**, 22, 135–143.

¹⁶ M. N. Alekshun, S. B. Levy, *Cell* **2007**, 128, 1037–1050.

¹⁷ P. Courvalin, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, 38, 1447–1451.

¹⁸ M. A. Cooper, D. Shlaes, *Nature* **2011**, 472, p. 32.

¹⁹ M. Lakemeyer, W. Zhao, F. A. Mandl, P. Hammann, S. A. Sieber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, 57, 14440–14475. M. Lakemeyer, W. Zhao, F. A. Mandl, P. Hammann, S. A. Sieber, *Angew. Chem.* **2018**, 130, 14642–14682.

²⁰ S. B. Singh, K. Young, L. Miesel, *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2011**, 9, 589–613.

²¹ A. Giedraitienė, A. Vitkauskienė, R. Naginienė, A. Paviolis, *Medicina* **2011**, 47, p. 19.

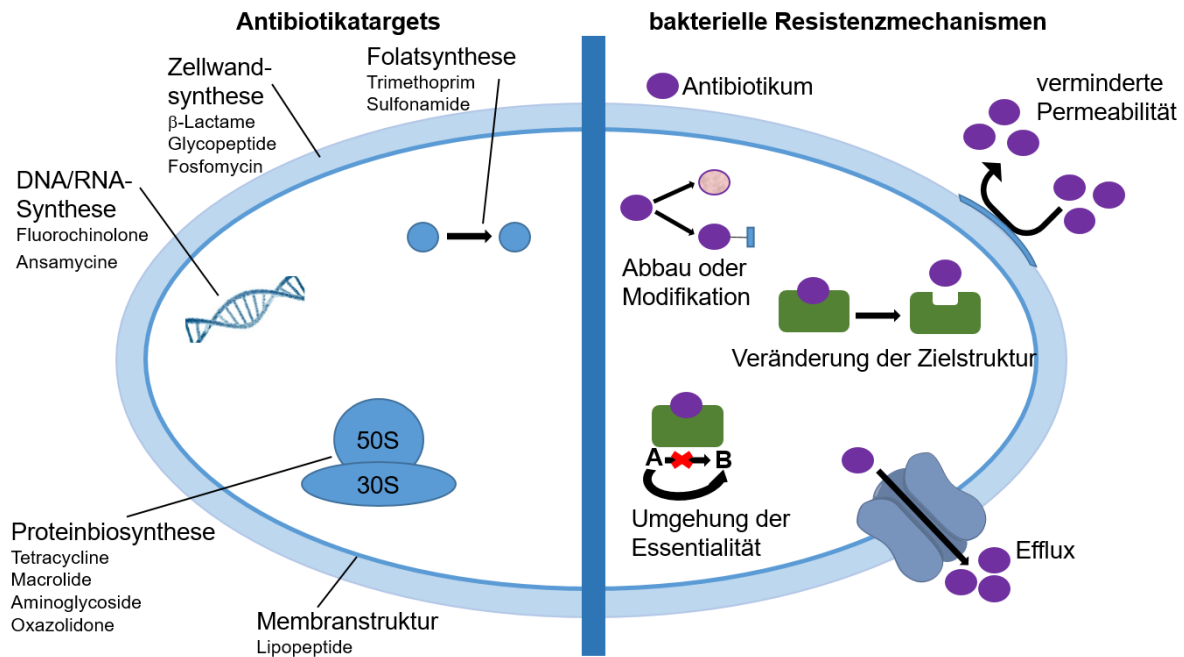


Abbildung 3: Targets von Antibiotika und bakterielle Resistenzmechanismen.¹⁹

1.1.2.1 Problem vermehrter Resistenzen

Besonders problematisch werden Resistenzen, wenn gleichzeitig mehrere auftreten. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf den Bakterien der ESKAPE-Gruppe (*Enterococcus faecium* (Vancomycin resistent), *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistent), *Klebsiella pneumoniae* (Carbapenem resistent), *Acinetobacter baumannii* (meist intrinsisch resistent), *Pseudomonas aeruginosa* (Fluorchinolone resistent) und *Enterobacteriaceae* (erweitertes β -Lactamase-Spektrum resistent)).²² Diese sogenannten multiresistenten Keime sind wesentlich schwieriger behandelbar. Die Entwicklung neuer Antibiotika wird aufgrund dieser multiresistenten Keime zu einem immer drängenderen medizinischen Problem.

Das Auftreten resistenter Bakterien ist in Europa nicht einheitlich. Abhängig vom Erreger, dem eingesetzten Antibiotikum und der geographischen Lage unterscheiden sich die Zahlen teils erheblich.^{23, 24} Generell ist festzuhalten, dass im Süden und Osten Europas höhere

²² J. N. Pendleton, S. P. Gorman, B. F. Gilmore, *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2013**, *11*, 297–308.

²³ A. Cassini, L. D. Högberg, D. Plachouras, A. Quattrocchi, A. Hoxha, G. S. Simonsen, M. Colomb-Cotinat, M. E. Kretzschmar, B. Devleeschauwer, M. Cecchini, D. A. Ouakrim, T. C. Oliveira, M. J. Struelens, C. Suetens, D. L. Monnet, *The Lancet Infectious Diseases* **2019**, *19*, 56–66.

²⁴ European centre for Disease Prevention and Control ECDC Stockholm, **2017**, *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015*.

Resistenzraten auftreten als im Norden und Westen. Beispielsweise lag in Deutschland 2015 die Zahl an Infektionen mit Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) bei 11.2% (von 4871 getesteten Proben). In Schweden lag der Wert sogar bei sensationellen 0.8% (3124 Proben). Im Gegensatz dazu hat Rumänien mit 57.2% (297 Proben) den mit Abstand höchsten Wert. Für den gesamten europäischen Wirtschaftsraum (EEA) lag der Wert bei 16.8% (45364 Proben) was einem Rückgang um 2% für den Zeitraum ab 2012 entspricht. Im Gegensatz zu MRSA ist bei Vancomycin resistenten *Enterococcus faecium* (VRE) EEA-weit ein leichter Anstieg von 8.1 auf 8.3% zu verzeichnen. Für *Klebsiella pneumoniae* liegen Resistenzen gegen Fluorchinolone, Cephalosporine (3. Generation) und Aminoglycoside im halben EEA bei 25-50%. Am gravierendsten ist die Situation bei *Acinetobacter baumannii*. Für Kombinationen aus Fluorchinolonen, Aminoglycosiden und Cephalosporinen liegen die Resistenzen vor allem im östlichen und südlichen Europa bei über 50%.²⁴

1.1.2.2 Strategien zur Bekämpfung von Multiresistenten Keimen

Für viele Jahre waren Mikroorganismen die wichtigste Quelle für diverse Naturstoffe. Zudem haben die großen Bemühungen der Medizinalchemie zahlreiche Antibiotika hervorgebracht. Die bisherigen Klassen sollten jedoch aufgrund der zahlreichen Derivatisierungen zunehmend erschöpft sein. Dementsprechend ist die Auffindung neuartiger Leitstrukturen wichtig. Hierfür kommen verschiedene Methoden infrage. In diesem Kapitel werden vor allem Co-Kultivierungen, metagenomische Methoden und Kombinationen verschiedener Antibiotika diskutiert.

Eine Anpassung der Kultivierungsmethoden stellt eine effektive Strategie dar. Bisher wurden einzelne Organismen im Labor unter optimalen Wachstumsbedingungen kultiviert.²⁵ In der Natur leben Mikroorganismen jedoch im Verbund mit zahlreichen Interaktionen. Das führt dazu, dass weitere Sekundärmetabolite produziert werden. Co-Kultivierungen mehrerer bakterieller Spezies haben sich deshalb als besonders effektiv herausgestellt, um bisher

²⁵ C. Nai, V. Meyer, *Trends Microbiol.* **2018**, *26*, 538–554.

unbekannte Sekundärmetabolite zu isolieren.^{25, 26, 27} Ein Beispiel für erfolgreiche Co-Kultivierung ist das in Abbildung 4 dargestellte Keyicin (**12**).²⁸

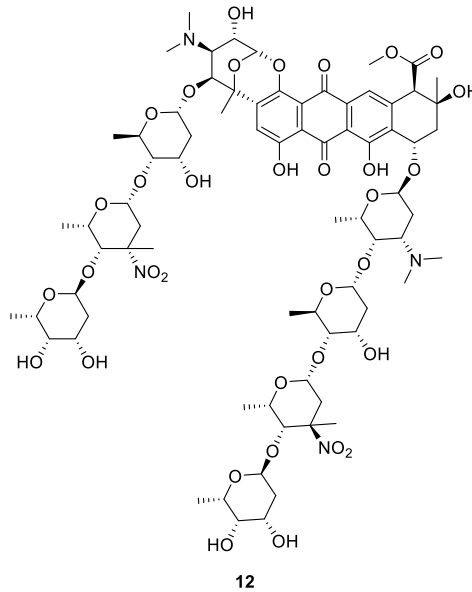


Abbildung 4: Struktur des Naturstoffs Keyicin (**12**).

Das bis-nitroglykosylierte Anthracyclin Keyicin (**12**) wurde aus den Mikroorganismen *Rhodococcus* sp. und *Micromonospora* sp. isoliert. Im Gegensatz zu anderen Anthracyclinen versucht es keine DNA-Schäden sondern greift in den Fettsäuremetabolismus ein.²⁸

Schätzungen zufolge sind jedoch nur ca. 1% der Mikroben unter Standard-Laborbedingungen kultivierbar.²⁹ Um dieses Problem zu Umgehen wurde eine Diffusions-Wachstumskammer entwickelt, welche die Kultivierung in einer simulierten natürlichen Biosphäre erlaubt.^{30, 31} Umweltproben werden dabei mit Agar verdünnt, zwischen zwei semipermeable Membranen

²⁶ S. Bertrand, N. Bohni, S. Schnee, O. Schumpp, K. Gindro, J.-L. Wolfender, *Biotechnol. Adv.* **2014**, 32, 1180–1204.

²⁷ A. Marmann, A. H. Aly, W. Lin, B. Wang, P. Proksch, *Mar. Drugs* **2014**, 12, 1043–1065.

²⁸ N. Adnani, M. G. Chevrette, S. N. Adibhatla, F. Zhang, Q. Yu, D. R. Braun, J. Nelson, S. W. Simpkins, B. R. McDonald, C. L. Myers, J. S. Piotrowski, C. J. Thompson, C. R. Currie, L. Li, S. R. Rajski et al., *ACS Chem. Biol.* **2017**, 12, 3093–3102.

²⁹ I. A. MacNeil, C. L. Tiong, C. Minor, P. R. August, T. H. Grossman, K. A. Loiacono, B. A. Lynch, T. Phillips, S. Narula, R. Sundaramoorthi, A. Tyler, T. Aldredge, H. Long, M. Gilman, D. Holt, M. S. Osburne, *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, 2, 301–308.

³⁰ T. Kaeberlein, K. Lewis, S. S. Epstein, *Science* **2002**, 296, 1127–1129.

³¹ D. Nichols, N. Cahoon, E. M. Trakhtenberg, L. Pham, A. Mehta, A. Belanger, T. Kanigan, K. Lewis, S. S. Epstein, *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, 76, 2445–2450.

platziert und zurück in die natürliche Umgebung gesetzt. Die Membranen ermöglichen Diffusion von Nährstoffen und Wachstumsfaktoren, verhindern aber die Bewegung der Mikroorganismen selbst.¹⁹ Die Zahl der kultivierbaren Zellen konnte so von 1% auf etwa 50% gesteigert werden.³¹

Metagenomische Ansätze ermöglichen die Identifikation neuer Biosynthese-Gen-Cluster ohne Kultivierung der ursprünglich produzierenden Stämme. Diese Gene können auf kultivierbare Organismen übertragen werden. Die so erzeugten Sekundärmetabolite können anschließend untersucht werden.^{10, 19}

Ein weiterer eher klassischer Ansatz ist die Kombination verschiedener Antibiotika. Es kann dabei unterschieden werden zwischen Kombinationen, die Targets von unterschiedlichen Stoffwechselprozessen inhibieren, Targets desselben Stoffwechselprozesses sowie Antibiotika die dasselbe Target mit verschiedenen Inhibitoren adressieren.³² Einige dieser Kombinationen fungieren sogar als Resistenzbrecher. Das Verabreichen von Hilfsstoffen, welche selbst keine antibiotische Wirkung haben, in Kombination mit einem Antibiotikum kann ebenfalls resistenzbrechend wirken. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist Amoxicillin (**14**) mit Clavulansäure (**13**) als Hilfsstoff (Abbildung 5). Aufgrund des vorhandenen β -Lactam-Rings in der Clavulansäure können die β -Lactamase-Enzyme irreversibel inhibiert werden. Eine β -Lactam-Resistenz kann so überwunden werden.^{33, 34}

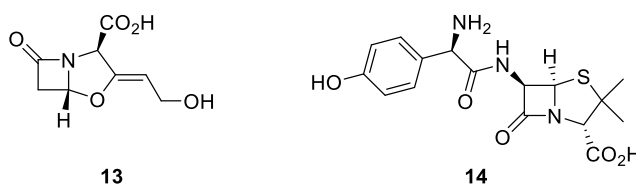


Abbildung 5: Struktur von Clavulansäure (**13**) und dem Antibiotikum Amoxicillin (**14**).

³² R. J. Worthington, C. Melander, *Trends Biotechnol.* **2013**, *31*, 177–184.

³³ M. J. Cheesman, A. Ilanko, B. Blonk, I. E. Cock, *Pharmacogn. Rev.* **2017**, *11*, 57–72.

³⁴ H. C. Neu, K. P. Fu, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1978**, *14*, 650–655.

1.2 Myxobakterielle Naturstoffe

Myxobakterien sind Gram-negative Bakterien, die in den letzten 25 Jahren neben den Actinomyceten zu der größten Gruppe an Naturstoffproduzenten aufgerückt sind.³⁵ Sie besitzen das bisher größte bekannte bakterielle Genom mit 13.1 Millionen Basenpaaren.³⁶ Sie bewegen sich gleitend fort. Im Gegensatz zu allen anderen Bakterien sind die Myxobakterien in der Lage, bei Nährstoffmangel Fruchtkörper zu bilden.³⁷

Typischerweise sind Myxobakterien Multiproduzenten, welche verschiedene Sekundärmetabolite gleichzeitig produzieren. Interessant ist außerdem, dass zahlreiche Produzenten, unabhängig von ihrer geographischen Herkunft, dieselben Naturstoffe herstellen. Des Weiteren wird in der Regel nicht nur ein Naturstoff sondern eine ganze Familie an nah verwandten Verbindungen synthetisiert.³⁸ Ebenso erstaunlich wie der Lebenszyklus ist auch die biosynthetische Leistungsfähigkeit der Myxobakterien. Zum einen bilden sie in der Natur weit verbreitete Substanzenklassen, wie Steroide, Terpenoide, und Alkaloide.³⁹ Zum anderen wurden bisher aber auch über 100 verschiedene Naturstoff-Grundgerüste mit über 600 Variationen gefunden.⁴⁰ Die Anzahl an Biosynthesegenen ist jedoch weitaus größer. Es ist also davon auszugehen, dass bisher nur ein Bruchteil der Naturstoffe fermentativ isoliert werden konnte.³⁸

Myxobakterien produzieren überwiegend Polyketide, nicht-ribosomale Peptide und Polyketid-Peptid-Hybride.⁴¹ Die Wirkung kann in verschiedene Kategorien eingeteilt werden. Der Großteil der Substanzen wirkt jedoch antimykotisch (54%), gefolgt von antibiotischen

³⁵ M. Nett, G. M. König, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1245–1261.

³⁶ S. Schneiker, O. Perlova, O. Kaiser, K. Gerth, A. Alici, M. O. Altmeyer, D. Bartels, T. Bekel, S. Beyer, E. Bode, H. B. Bode, C. J. Bolten, J. V. Choudhuri, S. Doss, Y. A. Elnakady, B. Frank, L. Gaigalat, A. Goesmann, C. Groeger, F. Gross, L. Jelsbak, L. Jelsbak, J. Kalinowski, C. Kegler, T. Knauber, S. Konietzny, M. Kopp, L. Krause, D. Krug, B. Linke, T. Mahmud, R. Martinez-Arias, A. C. McHardy, M. Merai, F. Meyer, S. Mormann, J. Muñoz-Dorado, J. Perez, S. Pradella, S. Rachid, G. Raddatz, F. Rosenau, C. Rückert, F. Sasse, M. Scharfe, S. C. Schuster, G. Suen, A. Treuner-Lange, G. J. Velicer, F. J. Vorhölter, K. J. Weissman, R. D. Welch, S. C. Wenzel, D. E. Whitworth, S. Wilhelm, C. Wittmann, H. Blöcker, A. Pühler, R. Müller, *Nat. Biotechnol.* **2007**, *25*, 1281–1289.

³⁷ H. Reichenbach, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *27*, 149–156.

³⁸ K. J. Weissman, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1276–1295.

³⁹ http://naturstoff-forschung.info/Brosch%C3%BCre+_Vorbild+Natur_-p-9/_/13%20Myxobakterien.pdf
(Abgerufen am 04.05.2019)

⁴⁰ K. I. Mohr, *Microorganisms* **2018**, *6*, 84.

⁴¹ K. J. Weissman, R. Müller, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2121–2136.

Verbindungen (29%).³⁷ Die Wirkmechanismen der myxobakteriellen Naturstoffe sind so vielfältig wie die isolierten Verbindungen.

Die wohl bekanntesten Beispiele myxobakterieller Naturstoffe sind die Epothilone (Abbildung 6) die von REICHENBACH *et al.* isoliert wurden.⁴² Neben Epothilon A und B wurden noch etwa 30 weitere strukturähnliche Verbindungen isoliert. Sie finden in der Krebstherapie Verwendung, da sie den Mikrotubuliabbau hemmen und somit die Zellteilung stören.³⁷ Die Substitution des Makrolactons durch ein Lactam führte zu einer höheren metabolischen Stabilität und konnte unter dem Handelsnamen Ixempra® (**17**) vermarktet werden.⁴³

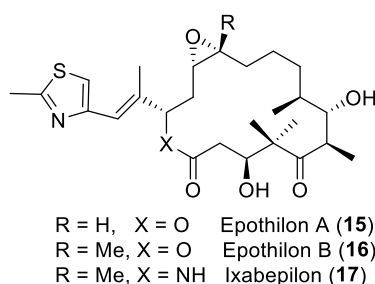


Abbildung 6: Struktur der cytotoxischen Epothilone A (**15**) und B (**16**) sowie des Derivates Ixabepilon (**17**).

Es gibt einige Naturstoffe myxobakteriellen Ursprungs, welche seltene Strukturmerkmale aufweisen. In Chlorotonil A (**18**) befindet sich beispielsweise ein geminales Dichlorid, welches von zwei Carbonylgruppen flankiert ist.⁴⁴ Pyrrolnitrin (**19**) weist eine Nitrogruppe auf⁴⁵ und Tartrolon A (**20**) enthält ein Boratom (Abbildung 7).³⁷

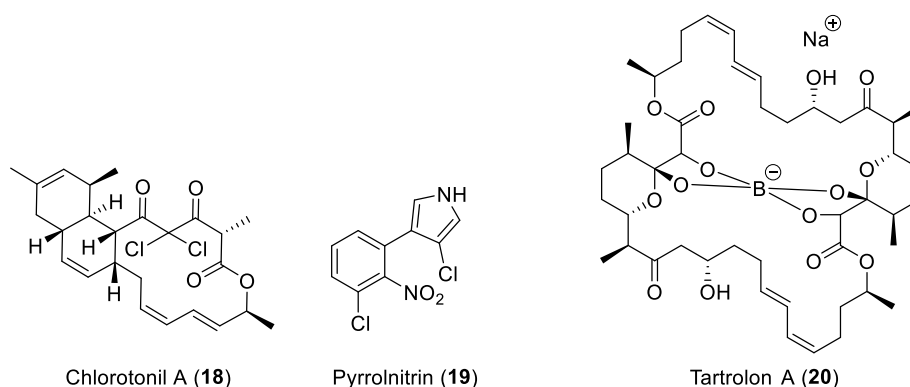


Abbildung 7: Myxobakterielle Naturstoffe mit besonderen Strukturmerkmalen.

⁴² G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth, H. Reichenbach, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1671–1673.

⁴³ M. Steinberg, *Clin. Ther.* **2008**, *30*, 1590–1617.

⁴⁴ K. Gerth, H. Steinmetz, G. Höfle, R. Jansen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 600–602.

⁴⁵ R. S. Gordee, T. R. Matthews, *Appl. Microbiol.* **1969**, *17*, 690–694.

1.3 *Para*-Aminobenzoessäurebasierte oligomere Naturstoffklassen

Die Natur liefert nach wie vor viele neuartige Strukturen mit vielversprechenden antimikrobiellen Aktivitäten. Die Cystobactamide^{46, 47, 48} und Albicidine^{49, 50} weisen eine neuartige Struktur auf, welche auch ausgezeichnete Wirksamkeit im niedrigen $\mu\text{g mL}^{-1}$ -Bereich gegen Gram-positive, als auch -negative Pathogene aufweist. Darüber hinaus sind sie auch gegen ESKAPE-Stämme aktiv.

Beide Naturstoffklassen sind strukturell eng verwandt, wurden jedoch aus zwei nichtverwandten Spezies isoliert. Albicidin (**23**) wurde aus *Xanthomonas albilineans* isoliert.^{49, 50} Die Cystobactamide 919-1, 919-2 (**21**) und 507 konnten aus dem Myxobacterium *Cystobacter* sp. Cbv34 isoliert werden.⁴⁶ KIM *et al.* zeigten, dass das Cystobactamid 935-2 (**22**), welches als Coralmycin A bezeichnet wurde, auch aus dem Myxobacterium *Corallocooccus coralloides* M23 anzutreffen ist.^{51, 52}

Beide Naturstoffklassen enthalten eine zentrale nicht proteinogene Aminosäure, welche von teils substituierten *para*-Aminobenzoensäuren (PABA) flankiert ist (Abbildung 8). In beiden Fällen liegen fünf aromatische Einheiten vor. Am *N*-Terminus der zentralen Aminosäure sind zwei Aromaten gebunden, am *C*-Terminus drei. Alle Untereinheiten sind über Peptidbindungen verknüpft.

Strukturelle Unterschiede sind in Rot hervorgehoben. Zum einen liegen Unterschiede beim Alkoxy substituenten vor. Während bei den Cystobactamiden eine Isopropoxy-Einheit vorliegt, ist bei den Albicidinen eine Methoxy-Einheit vorhanden. Außerdem unterscheiden sich die PABA-Einheit am *N*-Terminus. Während bei den Cystobactamiden eine *para*-Nitrobenzoesäure

⁴⁶ S. Baumann, J. Herrmann, R. Raju, H. Steinmetz, K. I. Mohr, S. Hüttel, K. Harmrolfs, M. Stadler, R. Müller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 14605–14609. S. Baumann, J. Herrmann, R. Raju, H. Steinmetz, K. I. Mohr, S. Hüttel, K. Harmrolfs, M. Stadler, R. Müller, *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 14835–14839.

⁴⁷ S. Hüttel, G. Testolin, J. Herrmann, T. Planke, F. Gille, M. Moreno, M. Stadler, M. Brönstrup, A. Kirschning, R. Müller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12760–12764. S. Hüttel, G. Testolin, J. Herrmann, T. Planke, F. Gille, M. Moreno, M. Stadler, M. Brönstrup, A. Kirschning, R. Müller, *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12934–12938.

⁴⁸ B. Cheng, R. Müller, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12755–12759.

⁴⁹ R. G. Birch, S. S. Patil, *J. Gen. Microbiol.* **1985**, *131*, 1069–1075.

⁵⁰ S. Cociancich, A. Pesic, D. Petras, S. Uhlmann, J. Kretz, V. Schubert, L. Vieweg, S. Duplan, M. Marguerettaz, J. Noëll, I. Pieretti, M. Hügelland, S. Kemper, A. Mainz, P. Rott, M. Royer, R. D. Süssmuth, *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11*, 195–197.

⁵¹ Y. J. Kim, H.-J. Kim, G.-W. Kim, K. Cho, S. Takahashi, H. Koshino, W.-G. Kim, *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 2223–2228.

⁵² B.-M. Kim, N. van Minh, H.-Y. Choi, W.-G. Kim, *Molecules* **2019**, *24*, 1390.

vorliegt, ist bei Albicidin 2-Methyl-*p*-cumarsäure vorhanden. Den größten Unterschied macht jedoch die zentrale Aminosäure aus. Albicidin enthält β -Cyanoalanin, die potentesten Cystobactamide hingegen β -Methoxyasparagin.

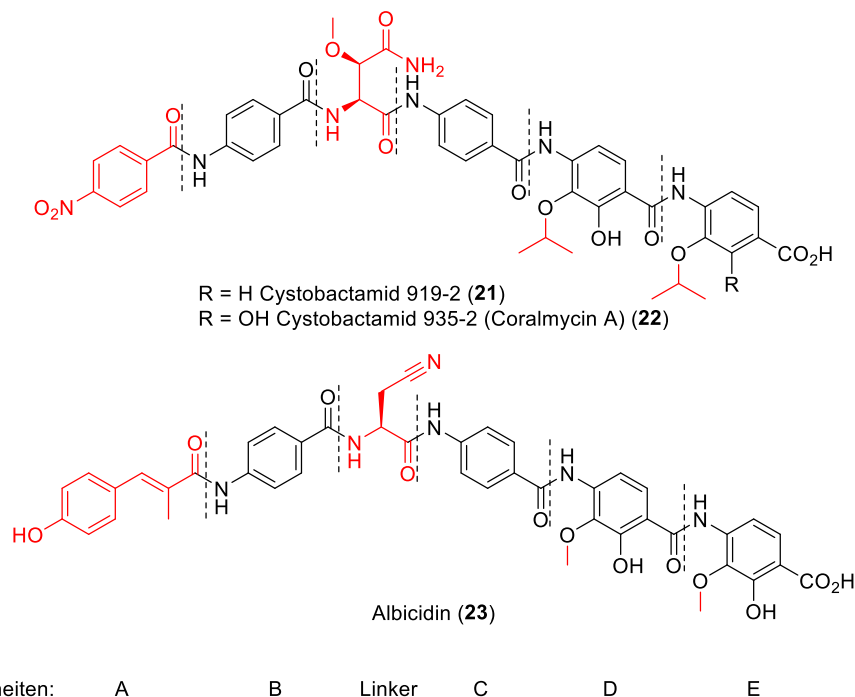
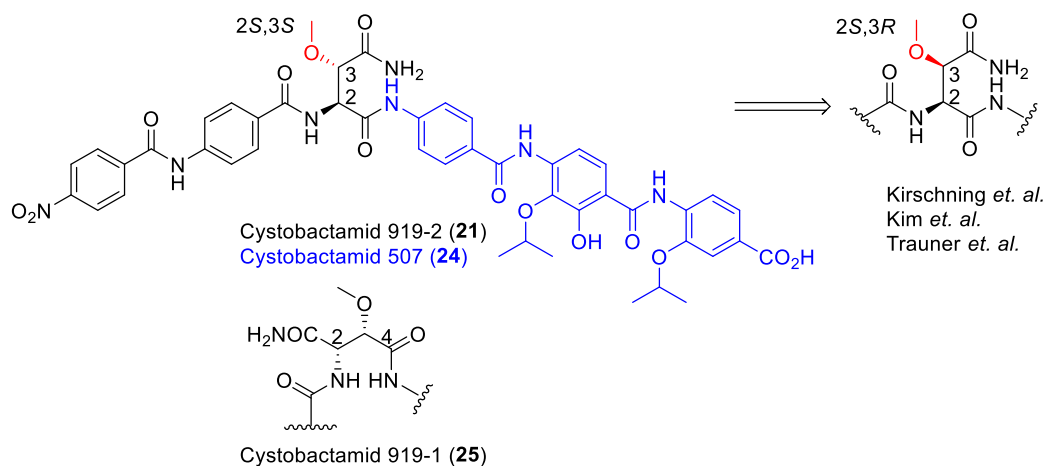


Abbildung 8: Repräsentative Mitglieder der zwei neuen Naturstoffklassen.¹⁹

1.3.1 Isolierung und Strukturaufklärung der Cystobactamide

MÜLLER *et al.* isolierten 2014 die ersten drei Cystobactamide 919-1 (**25**), 919-2 (**21**) und 507 (**24**). Bei dem Cystobactamid 507 (**24**) handelt es sich um ein verkürztes Tripeptid (Schema 2), welches bei den Cystobactamiden 919-1 (**25**) und 919-2 (**21**) jeweils das Ostfragment darstellt. Die beiden großen Cystobactamide unterscheiden sich durch ihren Linker und die Art ihrer Verknüpfung. Während bei 919-1 (**25**) eine Iso- β -methoxyasparagin-Einheit die PABA-Ketten verknüpft (2,4-Verknüpfung), liegt bei 919-2 (**21**) eine β -Methoxyasparagin-Einheit vor (1,2-Verknüpfung).⁴⁶ Die Strukturaufklärung erfolgt mittels spektroskopischer und spektrometrischer Methoden. Zunächst wurde eine (2*S*,3*S*)-Stereochemie publiziert. Untersuchungen der Gruppen von KISCHNING, KIM und TRAUNER konnten jedoch unabhängig voneinander belegen, dass die absolute Stereochemie (2*S*,3*R*) ist.^{47, 48, 51, 52, 53} Weitere Details dazu werden ausführlich in den Kapiteln 4 und 5 diskutiert.

⁵³ T. Planke, M. Moreno, S. Hüttel, J. Fohrer, F. Gille, M. D. Norris, M. Siebke, L. Wang, R. Müller, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 1359–1363.



Schema 2: Struktur der ersten drei isolierten Cystobactamide mit bereits korrigierter Stereochemie.^{53, 54}

1.3.2 Biosynthese der Cystobactamide

Die chemische Struktur der Cystobactamide weist darauf hin, dass es sich um Produkte der nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS) handelt.^{55, 56} Als Hauptbaustein dient PABA. Dieser Baustein ist jedoch nur selten in Sekundärmetaboliten zu finden.⁵⁷

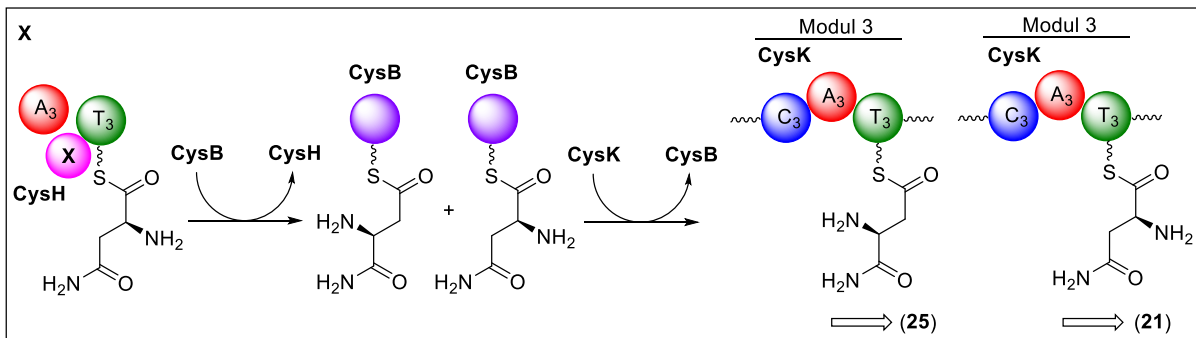
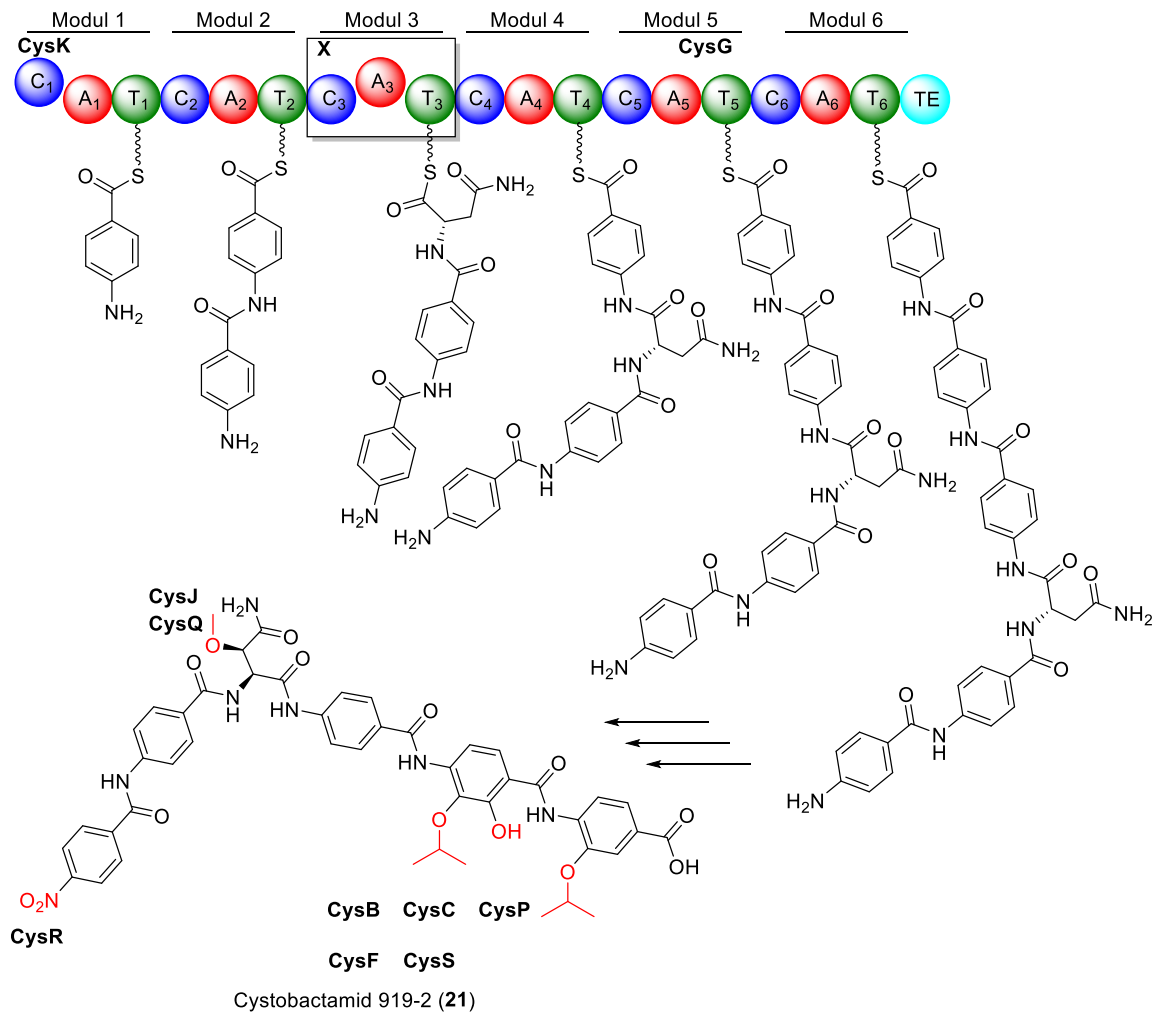
In Schema 3 ist die Biosynthese von Cystobactamiden zusammengefasst. Sie wurde auf Basis einer detaillierten Analyse der modularen NRPS sowie durch Fütterungsexperimente erstellt. Insgesamt umfasst die Biosynthese sechs Module, welche durch die drei Gene CysK, CysH und CysG kodiert werden. Zunächst wird PABA durch Thiolierung von A₁ aktiviert. Anschließend wird PABA auf die Kondensationsdomäne übertragen und mit der zweiten PABA-Einheit, welche sich auf T₂ befindet, über eine Amidbindung verknüpft. A₃ in CysK ist vermutlich inaktiv. Stattdessen wird T₃ durch CysH/CysB beladen. Dabei kann Asparagin geladen werden, was zu 1,2-verknüpften Cystobactamiden führt. Durch eine ungewöhnliche und noch nicht vollständig aufgeklärte Amin-Ligase-Domäne kann Asparagin zunächst zu Isoasparagin isomerisiert werden und anschließend auf T₃ geladen werden. Diese Möglichkeit erklärt das Vorkommen von 2,4-verknüpften Cystobactamiden. Der Transfer von Asparagin bzw. Isoasparagin-Bausteinen kann theoretisch mit oder ohne das Transportprotein CysB erfolgen.

⁵⁴ G. Testolin, Dissertation, *Structural optimization and photopharmacological studies of the cystobactamids class of natural products*, Leibniz Universität Hannover, **2018**.

⁵⁵ M. Strieker, A. Tanović, M. A. Marahiel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2010**, 20, 234–240.

⁵⁶ D. Schwarzer, R. Finking, M. A. Marahiel, *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, p. 275.

⁵⁷ C. T. Walsh, S. W. Haynes, B. D. Ames, *Nat. Prod. Rep.* **2012**, 29, 37–59.



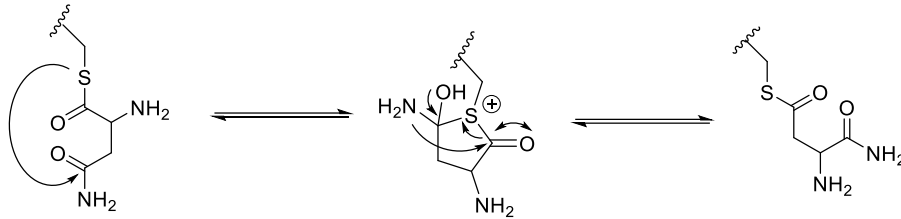
Legende:

- Kondensationsdomäne ● Peptid-Carrier-Protein ● ungewöhnliche Domäne C₁ und A₃ sind inaktive Domänen
- Adenylierungsdomäne ● Thioesterasedomäne ● Transportprotein

Schema 3: Model der Cystobactamid Biosynthese.⁴⁶

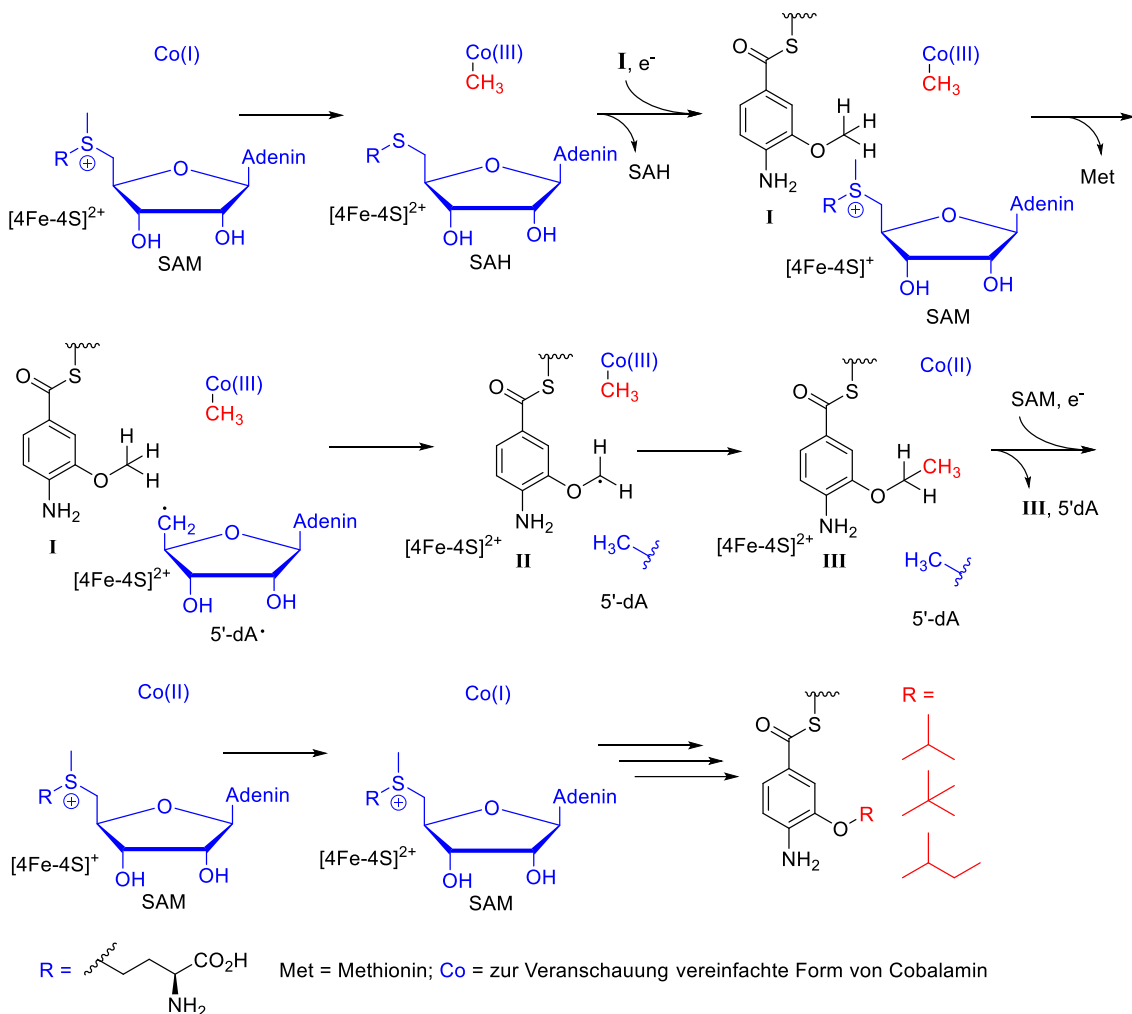
Ein möglicher Mechanismus für die Isomerisierung von Asparagin zu Isoasparagin ist in Schema 4 gezeigt.⁴⁶ Der Einbau von weiteren drei PABA-Einheiten erfolgt nach demselben Prinzip wie bei den ersten beiden Einheiten. Das Modul fünf ist dabei durch die beiden Gene CysK und CysG codiert. Das lineare Hexapeptid wird durch die Thioesterase von CysG

freigesetzt. Eine Vielzahl von einzelnen modifizierenden Enzymen führt im Anschluss zu den in Rot gezeigten Positionen.⁴⁶



Schema 4: Vorgeschlagener Mechanismus zur Umlagerung von Asparagin zu Isoasparagin.⁴⁶

Besonderheiten dieser Biosynthese sind die Oxidation der *N*-terminalen Aminogruppe und Bildung der Nitrogruppe⁵⁸, der Beladungsprozess der Asparagin/Isoasparagin-Einheit und die Isopropoxylierung phenolischer Hydroxygruppen durch SAM-abhängige Methylierungen.⁴⁶ Zunächst werden die Phenole mittels *S*-Adenosylmethionin (SAM) methyliert, gefolgt von zwei weiteren radikalischen SAM-abhängigen Methylierungen.



Schema 5: Mechanismus von Radikal-SAM zur Biosynthese von verzweigten Alkoxygruppen.^{59, 60}

⁵⁸ J. He, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3694–3695.

CysS ist die Cobalamin-abhängige Radikal-SAM Methyltransferase, welche für die radikalischen Methylierungen verantwortlich ist.^{59, 60} Der Mechanismus ist in Schema 5 gezeigt. Zunächst wird Methionin reaktiv von SAM abgespalten. Das dabei freigesetzte 5'-Desoxyadenosyl-Radikal (5'dA•) reagiert mit der Methoxygruppe. Das so entstandene Radikal aus Intermediat II reagiert mit dem methylierten Cobalamin (Cbl). Die Regenerierung des methylierten Cobalamin aus Cbl(II) kann durch Reduktion mittels Eisen-Schwefel-Cluster zu Cbl(I), gefolgt von SAM-vermittelter Methylierung erfolgen. Ausgehend von der Methoxygruppe können verschiedene Alkylverzweigungen auf biologischem Wege synthetisiert werden.⁵⁹

1.3.3 Topoisomerase – molekulares Target der Cystobactamide

Topologie ist die räumliche Anordnung von Teilstrukturen biologischer Makromoleküle. DNA-Moleküle bestehen aus zwei komplementären Polynukleotidketten, die zu einer Doppelhelix spiralisiert sind.⁶¹ Werden die helicalen Doppelstränge zusätzlich verdrillt wird von Superspiralisierung gesprochen. Diese kann in positiv (linksgängige) und negativ (rechtsgängige) Superspiralisierung unterschieden werden.⁶² Bakterielle DNA ist negativ superspiralisiert.⁶³

Topoisomerasen sind Enzyme, die diese zusätzliche Verdrillung durch Änderung der Geometrie, also der Topologie, regulieren. Sie sind essentiell für die Unversehrtheit von genetischem Material während Transkription, Replikation und Rekombinationsprozessen.⁶⁴ Superspiralisierungen im Bereich der Entwindung würde den Vorgang erschweren. Durch die Topoisomerasen wird die Windungsanzahl der DNA verändert, indem sie die Spaltung von einem bzw. beider DNA-Stränge vornimmt. Anschließend tritt einer der beiden DNA-Abschnitte durch und der Strang wird letztendlich wiederverknüpft. Die Topoisomerase kann in zwei Unterkategorien unterteilt werden. Typ-I-Topoisomerasen schneiden einen DNA-Strang, Typ-II-Topoisomerasen hingegen ermöglichen Doppelstrangbrüche unter ATP-Verbrauch.⁶² Typ-I-Topoisomerasen hebt negative Superspiralisierung auf wohingegen Typ-II negative Superspiralisierung einführen kann, aber auch positive Superspiralisierung

⁵⁹ Y. Wang, B. Schnell, S. Baumann, R. Müller, T. P. Begley, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 1742–1745.

⁶⁰ J. B. Broderick, B. R. Duffus, K. S. Duschene, E. M. Shepard, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4229–4317.

⁶¹ S. M. Mirkin, DNA topology: fundamentals in *Encyclopedia of life sciences*, Wiley, Chichester, **2002**, 1–11.

⁶² A. J. Schoeffler, J. M. Berger, *Q. Rev. Biophys.* **2008**, *41*, 41–101.

⁶³ N. Cozzarelli, *Science* **1980**, *207*, 953–960.

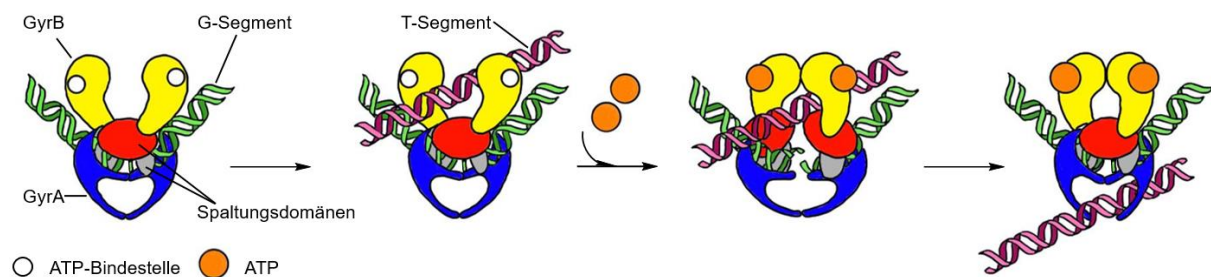
⁶⁴ M. Binaschi, F. Zunino, G. Capranico, *Stem Cells* **1995**, *13*, 369–379.

aufheben kann. Die Komprimierung der DNA mittels Superspiralisierung ist energetisch nicht favorisiert, weshalb Topoisomerasen vom Typ-II ATP benötigen.⁶³ Durch das Zusammenspiel der verschiedenen Topoisomerasen kann die Topologie fein kontrolliert werden. Jeder bisher bekannte Organismus besitzt mindestens ein Enzym von jedem der beiden Typen.⁶⁵

Da das genaue Target der Cystobactamide die Gyrase ist (siehe Kapitel 1.3.3.3), welche zu der Enzymklasse der Topoisomerasen Typ-II gehört, wird im Folgenden nur die Topoisomerase Typ-II beleuchtet. Genau genommen kann diese in zwei Unterkategorien eingeteilt werden. Es kann zwischen Typ IIa und IIb unterschieden werden. Die Einteilung erfolgt anhand der Aminosäuresequenz und der Funktion.⁶² Im Gegensatz zu Typ-IIa kommt Typ-IIb selten vor. Typ-IIa kann als Topo-II, Gyrase oder Topo-IV vorkommen. Topo-II konnte in Eukaryoten, Viren und Bakteriophagen isoliert werden. In Bakterien, Archaeen und Chloroplasten kommt die Gyrase vor. In Bakterien konnte des weiteren Topo-IV nachgewiesen werden.⁶²

1.3.3.1 Mechanismus der Topoisomerase IIa

Topoisomerase-II-Moleküle sind Dimere mit zwei Hohlräumen. Jedes Monomer besteht dabei aus zwei Untereinheiten welche als GyrA und GyrB bezeichnet werden.⁶⁶ Der Mechanismus der Topoisomerase IIa ist in Schema 6 zusammengefasst.



Schema 6: Mechanismus der Topoisomerase IIa.⁶⁷

Zunächst bindet eine Doppelhelix (G-Segment) an das Dimer. Die Position des Stranges wird dabei durch Tyrosine aus den Monomeren positioniert. Anschließend wird ein zweiter DNA-Strang (T-Segment) an den Komplex gebunden. Sobald je ein ATP-Molekül an jedes Monomer gebunden hat findet eine Konformationsänderung des Komplexes statt. Dabei nähern sich die ATP-Bindedomänen aneinander an. Während der T-Strang dabei festgehalten wird, wird

⁶⁵ J. J. Champoux, *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, 70, 369–413.

⁶⁶ M. Nöllmann, N. J. Crisona, P. B. Arimondo, *Biochimie* **2007**, 89, 490–499.

⁶⁷ S. M. Vos, E. M. Tretter, B. H. Schmidt, J. M. Berger, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2011**, 12, 827–841.

gleichzeitig der G-Doppelstrang gespalten und voneinander entfernt. Die gespaltenen Fragmente werden dabei von jeweils einem Monomer fixiert. Die intakte Helix kann nun durch den gespaltenen Strang in den darunter befindlichen Hohlraum wandern. Die daraufhin folgende Ligation des G-Segments ermöglicht den zeitgleichen Verlass des T-Stranges an der Unterseite des Enzyms. Das gebundene ATP wird bei diesem Prozess hydrolysiert. Nach Freisetzung von ADP und Orthophosphat entfernen sich die ATP-Bindestellen voneinander.⁶²

1.3.3.2 Gyraseinhibitoren

Da die Topoisomerasen und somit auch die Gyrase an fast allen Vorgängen des DNA-Stoffwechsels beteiligt sind, stellen sie ein wichtiges biologisches Target dar. Überwiegend dienen sie als Zielmolekül von bakteriellen Infektionen und von Chemotherapeutika. Es sind zwei Inhibierungsmechanismen der Gyrase bekannt. Zum einen kann die Gyraseaktivität inhibiert werden, zum anderen kann der Gyrase-DNA-Komplex kovalent stabilisiert werden.⁶⁷ Das Aminocumarin Novobiocin (**26**) blockiert die Bindung des ATP an die GyrB-Untereinheit.⁶⁸ Ciprofloxacin (**27**), als ein Vertreter der Fluorchinolone, beeinträchtigt die Spaltung und Wiederverbindung der DNA-Kette. Dabei bindet das Chinolon-Derivat kovalent an das GyrA-Tyrosyl-DNA-Addukt, was die Ligation der DNA verhindert (Abbildung 9).⁶⁹

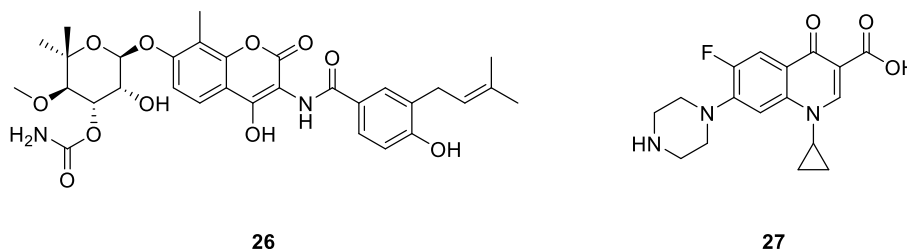


Abbildung 9: Struktur der Gyraseinhibitoren Novobiocin (**26**) und Ciprofloxacin (**27**).

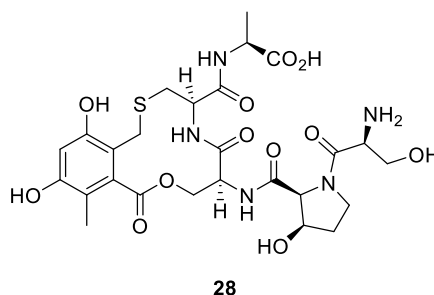
Neben den Aminocumarinen und den Chinolonen sind außerdem Cyclothialidine als Gyraseinhibitoren bekannt (Abbildung 10).⁷⁰ Wie bei den Aminocumarinen wird die ATPase-Aktivität kompetitiv gehemmt. Die Bindungsstelle an der GyrB-Untereinheit ist dabei jedoch

⁶⁸ A. Maxwell, *Mol. Microbiol.* **1993**, 9, 681–686.

⁶⁹ M. Chatterji, *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, 48, 479–485.

⁷⁰ N. Nakada, H. Gmünder, T. Hirata, M. Arisawa, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 14286–14291.

teils abweichend.⁷¹ Weitere Verbindungen, wie z.B. die Chebulinsäure, konnten als Gyraseinhibitoren identifiziert werden.⁷² Sie spielen jedoch bisher nur eine untergeordnete Rolle.



28

Abbildung 10: Struktur von Cyclothiallidin (**28**).

1.3.3.3 Targetuntersuchungen der Cystobactamide

Untersuchungen von MÜLLER *et al.* zeigten, dass die Cystobactamide ebenfalls Gyrase-Inhibitoren sind.⁴⁶ Die Werte der mittleren inhibitorischen Konzentrationen (IC_{50}) lagen für einige Cystobactamide im nanomolaren Bereich (für Cystobactamid 919-2 (**21**) IC_{50} *E. coli* gyrase 0.26 μ M; *E. coli* topo IV 38.0 μ M). Das entspricht derselben Größenordnung wie bei Ciprofloxacin (**27**), einem aktuell in der Klinik verwendetem Fluorchinolon, welches als Referenzsubstanz dient. Der Mechanismus der Inhibierung scheint der der Chinolone zu ähneln, da die beim Doppelstrangbruch auftretenden DNA-Gyrase-Spaltkomplexe durch Plasmid-Linearisierungsassays nachgewiesen werden konnten. Außerdem konnte durch Zugabe großer Mengen an ATP die inhibitorische Aktivität nicht reduziert werden. Untersuchungen mit mutierten Stämmen, welche Resistenzen gegen Chinolone aufwiesen, zeigten, dass die Aktivität der Cystobactamide verglichen zu den Wildtypen geringer ist. Der Einfluss der Mutationen fiel bei den Cystobactamiden insgesamt weniger stark aus, als für Chinolone zu erwarten wäre. Das legt die Vermutung nah, dass die Bindestelle der Cystobactamide am GyrA zwar mit der der Chinolone überlappt, jedoch nicht komplett identisch ist.⁴⁶

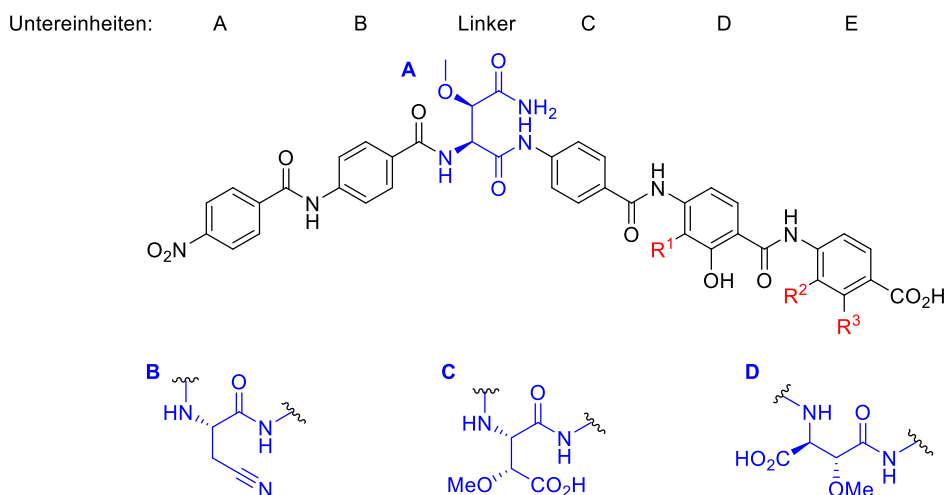
⁷¹ R. J. Lewis, O. M. Singh, C. V. Smith, T. Skarzynski, A. Maxwell, A. J. Wonacott, D. B. Wigley, *EMBO J.* **1996**, *15*, 1412–1420.

⁷² T. Khan, K. Sankhe, V. Suvarna, A. Sherje, K. Patel, B. Dravyakar, *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *103*, 923–938.

1.3.4 Entdeckung weiterer Cystobactamide

Später wurde gefunden, dass neben den bereits erwähnten Stämmen *Cystobacter* sp. Cbv34⁴⁶ und *Coralloccoccus coralloides* M23^{51, 52} auch die Stämme *Myxococcus* sp. SBCy9270⁴⁷ und *Cystobacter velatus* MCy8071^{73, 74, 75} als Produzent für neue Cystobactamide dienen können.

Tabelle 1: Strukturelle Variationen natürlicher, neuer Cystobactamide.⁴⁷



Cys	Linker	R ¹	R ²	R ³	Cys	Linker	R ¹	R ²	R ³
449	-	<i>i</i> PrO	H	H	905-2	A	<i>i</i> PrO	EtO	H
861-2	A	<i>i</i> PrO	H	H	920-1 ^[a]	D	<i>i</i> PrO	<i>i</i> PrO	H
871	B	<i>i</i> PrO	<i>i</i> PrO	H	920-2 ^[a]	C	<i>i</i> PrO	<i>i</i> PrO	H
877-2	A	EtO	MeO	H	934-2	D	<i>i</i> PrO	1-Methylpropoxy	H
891-2	A	<i>i</i> PrO	MeO	H	935-2 ^[b]	A	<i>i</i> PrO	<i>i</i> PrO	OH

[a] Strukturrevision nach Kirschning *et al.*⁵³; [b] auch als Coralmycin A publiziert.^{51, 52}

Strukturell unterscheiden sich die einzelnen Cystobactamide in der Linkerregion und den Substituenten am D- und E-Ring (Tabelle 1).

⁷³ S. Baumann, J. Herrmann, K. Mohr, H. Steinmetz, K. Gerth, R. Raju, R. Müller, Cystobactamides, WO2015/003816 (A2), 15.01.2015.

⁷⁴ S. Baumann, J. Herrmann, K. Mohr, H. Steinmetz, K. Gerth, R. Raju, R. Müller, R. Hartmann, M. Hamed, W. Elgaher, M. Moreno, F. Gille, L.-L. Wang, A. Kirschning, S. Hüttel, Novel Cystobactamides, WO2016/082934 (A1), 02.06.2016.

⁷⁵ S. Baumann, J. Herrmann, K. Mohr, H. Steinmetz, K. Gerth, R. Raju, R. Müller, R. Hartmann, M. Hamed, W. Elgaher, M. Moreno, F. Gille, L.-L. Wang, A. Kirschning, S. Hüttel, Novel Cystobactamides, US2017/0327458 (A1), 16.11.2017.

1.3.5 Biologische Aktivität der Cystobactamide

Das kleinste bisher isolierte Cystobactamid 507 (**24**) wies im Naturextrakt biologische Aktivität auf. Untersuchungen des totalsynthetischen Produkts belegten jedoch, dass diese aus Verunreinigungen im Naturextrakt durch Hexapeptid-Cystobactamide stammen mussten.⁷⁶ Untersuchungen zur minimalen Hemmkonzentration (MHK) des Cystobactamides 919-2 (**21**) zeigten, dass dieses gegenüber Gram-positive Bakterien, wie z.B. *E. faecalis* und *S. pneumoniae*, wirksamer ist als Ciprofloxacin (**27**). Bei Gram-negativen Bakterien sind die MHK-Werte von Cystobactamid 919-2 (**21**) vergleichbar mit denen von Ciprofloxacin (**27**).⁴⁶

Tabelle 2: Minimale Hemmkonzentrationen [$\mu\text{g mL}^{-1}$] der Cystobactamide im Vergleich zu Ciprofloxacin.⁴⁶

	919-1	919-2	CIP
<i>A. baumannii</i>	>59	7.4	0.2 – 0.4
<i>E. coli</i>	14.7 – 29.4	0.9	0.013
<i>S. aureus</i>	32.5	0.1	0.05 – 0.1
<i>S. pneumoniae</i>	14.7	0.1	0.8 – 1.6
<i>E. faecalis</i>	3.7 – 7.4	0.1	0.8

Neuere Untersuchungen zeigten, dass einige Cystobactamide bemerkenswerte Aktivitäten im niedrigen $\mu\text{g mL}^{-1}$ -Bereich gegen *P. aeruginosa* sowie Fluorchinolon-resistente *Enterobacteriaceae* auf (Tabelle 3) aufweisen.⁴⁷

Tabelle 3: Antibakterielle Aktivität der Cystobactamide gegen Gram-negative Bakterien (MHK in $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$).⁴⁷

	919-2	861-2	871	877-2	905-2	920-1	920-2	934-2	935-2	CIP^[a]
<i>A. baumannii</i> DSM-30008	8	0.5	16	>64	64	>64	>64	>64	2	0.8
<i>C. freundii</i> DSM-30039	1	0.06	8	2	8	>64	>64	>64	1	0.003
<i>E. coli</i> (WT)	0.5	0.13	16	2	4	>64	>64	>64	0.5	0.013
<i>E. coli</i> WT-III ^[b] (marRΔ74bp)	>64	0.5	32	>64	>64	>64	>64	>64	2	0.1
<i>E. cloacae</i> (QnrA)	>64	1	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	0.8
<i>K. pneumoniae</i> DSM-30104	>64	>64	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	0.02
<i>P. aeruginosa</i> DSM-24600 ^[b]	64	1	64	64	>64	>64	>64	>64	8	3.2
<i>P. vulgaris</i> DSM-2140	4	0.25	2	4	32	>64	>64	>64	1	0.01

[a] Ciprofloxacin (**27**); [b] Carbapenem-resistent; (nb: nicht bestimmt).

⁷⁶ M. Moreno, W. Elgaher, J. Herrmann, N. Schläger, M. Hamed, S. Baumann, R. Müller, R. Hartmann, A. Kirschning, *Synlett* **2015**, 26, 1175–1178.

Kleine strukturelle Änderungen, wie z.B. das Ersetzen des primären Amids durch eine Carbonsäure, kann bereits zu komplettem Aktivitätsverlust führen (920-1 und 920-2). Die Feinabstimmung der antibakteriellen Aktivität erfolgt über die Substituenten am D- und E-Ring. Während alle Cystobactamide mit A-Linker gegen *E. Coli* aktiv sind, sind gegen *P. aeruginosa* nur die Cystobactamide 861-2 und 935-2 aktiv. Diese weisen auch eine verminderte Kreuzresistenz mit Fluorchinolonen auf. Die besten Ergebnisse konnten für das Cystobactamid 861-2 erhalten werden. Mit Ausnahme von *K. pneumonia* ist es gegenüber allen getesteten klinisch relevanten Pathogenen wirksam.⁴⁷

Es ist außerdem hervorzuheben, dass bei Cystobactamid 861-2 keine zytotoxischen Effekte bis zu einer Konzentration von 100 µM nachgewiesen werden konnten. Genotoxische Effekte auf CHO-K₁-Zellen konnten ebenfalls nicht beobachtet werden.⁴⁷

Die in-vitro-Gyraseaktivität der Cystobactamide 919-2 und 861-2 ist vergleichbar, obwohl das 919-2-Derivat kaum Aktivität gegen *P. aeruginosa* zeigt (Tabelle 4). Das lässt darauf schließen, dass die Wirkung der Cystobactamide möglicherweise nicht direkt durch die Targetbindung entsteht, sondern vielmehr durch Einflüsse auf Aufnahme- und Exportprozesse.⁴⁷

Tabelle 4: IC₅₀-Werte [µM] bezüglich bakterieller Gyrase (MHK [µg mL⁻¹]).⁴⁷

	919-2	861-2	CIP
<i>E. coli</i>-Gyrase	0.67 (0.5)	0.28 (0.13)	0.40
<i>P. aeruginosa</i>-Gyrase	0.34 (64)	0.18 (1)	0.48

Das antibakterielle Profil des Cystobactamids 861-2 ist bereits sehr vielversprechend. Es weist außerdem nur geringe Kreuzresistenzen mit Fluorchinolon-resistenten Stämmen auf.⁴⁷ Die meisten bekannten Albicidinresistenzen (bis auf AlbD) sind auf die Cystobactamide bisher nicht übertragbar.^{77, 78}

Cystobactamid 861-2 ist nicht zytotoxisch und weist keine Inhibierung von Cytochrom P450 3A4 auf. Die geringe Stabilität im Plasma verbunden mit der hohen Plasma-Protein-Bindung führt jedoch zu Aktivitätsverlust. Die geringe Löslichkeit in Phosphat-Puffer ist darüber hinaus das zweite große Problem was durch Derivatisierung umgangen werden soll.⁷⁸

⁷⁷ A. Sikandar, K. Cirski, G. Testolin, C. Volz, M. Brönstrup, O. V. Kalinina, R. Müller, J. Koehnke, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 16641–16649.

⁷⁸ J. Herrmann, unveröffentlichte Daten.

2 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Synthese der Cystobactamide 920-1 (**29**) und 861-2 (**30**), um die Stereochemie aufzuklären. Nach Etablierung der Stereochemie sollten weitere Derivate präpariert werden, um Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR) zu initiieren. Die biologische Aktivität sämtlicher synthetisierter Cystobactamid-Derivate soll in Kooperation mit dem Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung (HIPS) und dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) untersucht werden.

2.1 Totalsynthese der natürlichen Cystobactamide 920-1 (**29**) und 861-2 (**30**)

Zunächst soll das Cystobactamid 920-1 (**29**) synthetisiert werden, um sowohl die Konstitution als auch die Stereochemie zweifelsfrei belegen zu können. Aus Vorarbeiten von Dr. MORENO waren berechtigte Zweifel an der Stereochemie aufgekommen (siehe Kapitel 4)

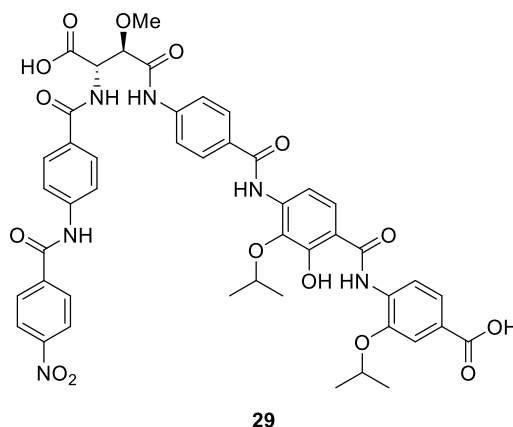
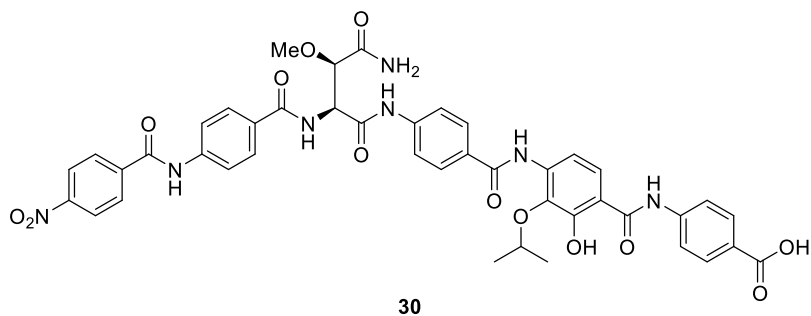


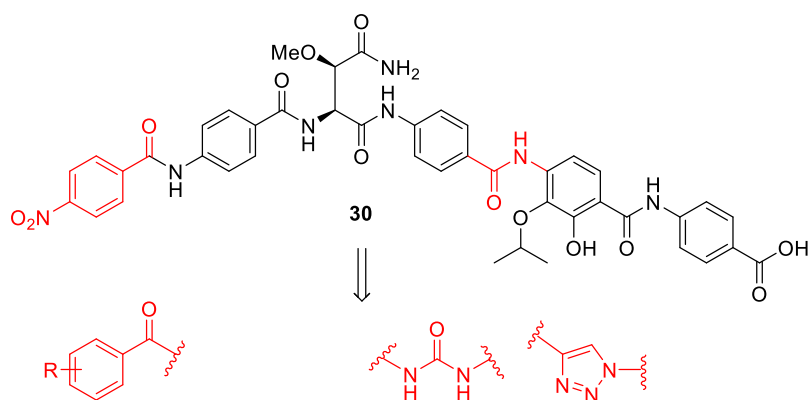
Abbildung 11: Struktur von Cystobactamid 920-1 (**29**).

Da mittels Fermentation nur sehr geringe Mengen an Cystobactamiden erhalten werden konnten, soll des Weiteren ein synthetischer Zugang zu dem bis dato potentesten Cystobactamid 861-2 (**25**) etabliert werden. Parallel soll die Synthese hinsichtlich einer besseren Skalierbarkeit optimiert werden.

Abbildung 12: Struktur von Cystobactamid 861-2 (**30**).

2.2 Synthese neuer Cystobactamid-Derivate

Im Hinblick auf die metabolische Stabilität sollen Derivate von Cystobactamid 861-2 (**30**) synthetisiert werden, in denen die basenlabile Amidbindung (Schema 7) durch ein Harnstoff- oder Triazolmotiv substituiert ist. Darüber hinaus sollen auch die Substituenten am A-Ring variiert werden.



Schema 7: Geplante Derivatisierungspositionen (rot hervorgehoben).

3 Nomenklatur

Die ersten drei Ziffern der Cystobactamide stellen das Molekulargewicht dar. Prinzipiell kann jedes Cystobactamid, welches ein Hexapeptid ist, zwei unterschiedliche Verknüpfungen aufweisen. Bei einer 2,4-Verknüpfung liegt eine Iso- β -methoxyasparagin-Einheit vor. Bei einer 1,2-Verknüpfung werden die PABA-Ketten hingegen über eine β -Methoxyasparagin-Einheit verknüpft.

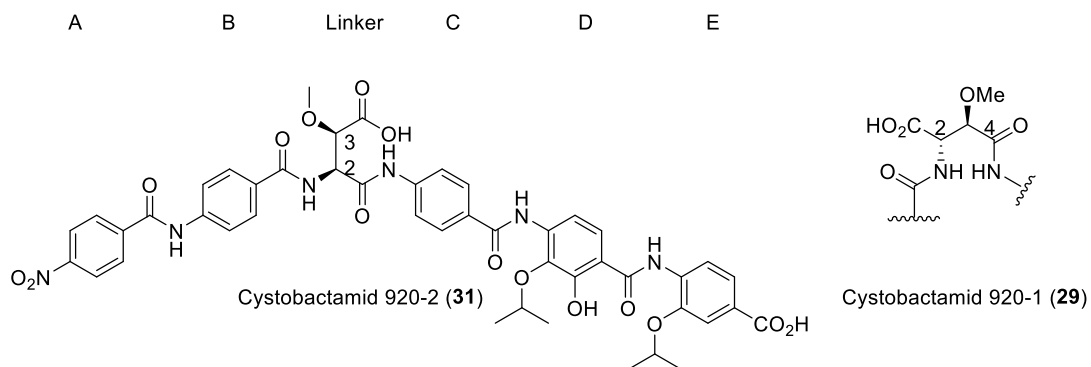


Abbildung 13: Mögliche Verknüpfungsarten des Linkers. Die aromatischen Seitenketten der Cystobactamide 920-1 (**29**) und 920-2 (**31**) sind identisch.

Der Nachtrag „-1“ oder „-2“ bezieht sich nicht auf die Art der Verknüpfung, sondern gibt lediglich die relative Retentionszeit bei der Trennung der natürlichen Cystobactamide an. Das Cystobactamid 920-1 eluiert also vor dem Cystobactamid 920-2.

Die meisten natürlichen Cystobactamide enthalten in der Aspartat-Einheit eine Amid-Funktion anstelle der Carbonsäure. Die Art der Verknüpfung lässt sich für Amide 2D-NMR-spektroskopisch eindeutig nachvollziehen. Im Fall der freien Carbonsäure ist das entsprechende Säure-Proton nicht sichtbar, was eine Zuordnung der Verknüpfung im Linker erschwert.

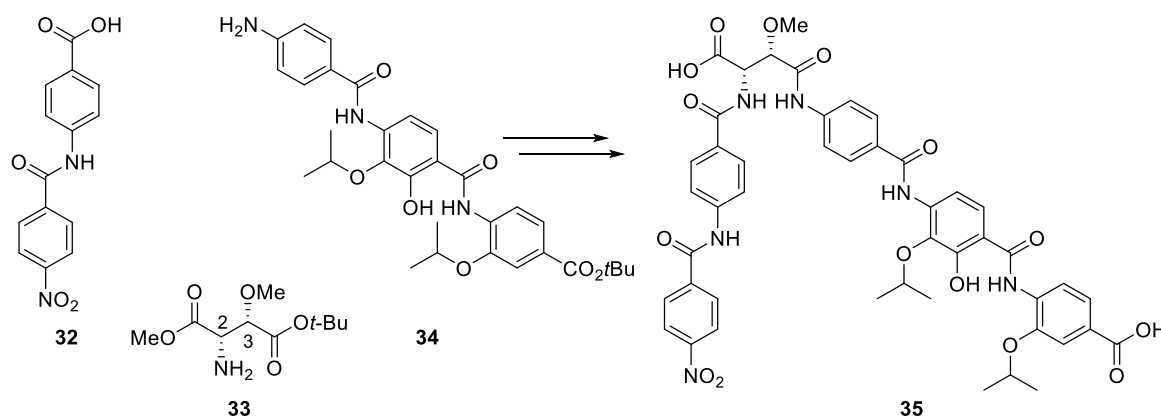
Im Folgenden werden die einzelnen Aromaten von West nach Ost mit den Buchstaben A bis E belegt (Abbildung 13).

4 Vorarbeiten

Vorarbeiten zur Synthese der Cystobactamide werden im Folgenden vorgestellt. Teile der retrosynthetischen Analyse beruhen auf den Arbeiten von Dr. M. MORENO^{53, 76}, Dr. G. TESTOLIN⁵⁴, sowie auf meiner Masterarbeit.⁷⁹ Weitere Arbeiten, speziell zur Skalierbarkeit der Synthese, wurden von Dr. M. NORRIS⁸⁰ und Dr. C. LEITNER⁸¹ durchgeführt. Darüber hinaus wurden Synthesestudien von M. SIEBKE⁸², Dr. A. KANAKIS⁸³, Dr. F. GILLE⁸⁴ und Dr. L. L. WANG⁸⁵ durchgeführt. Letztere sind für die vorliegende Arbeit jedoch nicht von Relevanz.

Grundlegende Arbeiten wurden von Dr. M. MORENO durchgeführt. Ihr Ziel war es Verbindung **35** herzustellen, dem originalen Strukturvorschlag des Cystobactamids 920-2. So sollte neben einem ersten synthetischen Zugang zu den Cystobactamiden vor allem auch die Strukturvorhersage bestätigt werden.

Im Wesentlichen wurde das Molekül in die drei Fragmente Methoxyaspartat-Einheit (**33**)⁵³, West- (**32**)⁸⁶ und Ostfragment (**34**)⁷⁶ unterteilt.



Schema 8: Übersicht der Synthese von Verbindung **35** (Cystobactamid 920-2 nach erstem Strukturvorschlag).

⁷⁹ T. Planke, *Masterarbeit*, Leibniz Universität Hannover, **2015**.

⁸⁰ Dr. M. Norris, unveröffentlichte Daten.

⁸¹ Dr. C. Leitner, unveröffentlichte Daten.

⁸² M. Siebke, *Masterarbeit*, Leibniz Universität Hannover, **2013**.

⁸³ Dr. A. Kanakis, unveröffentlichte Daten.

⁸⁴ Dr. F. Gille, Dissertation, *Studien zur Total- und Mutasyntese von Myxovalargin und synthetische Untersuchungen zu den Cystobactamiden*, Leibniz Universität Hannover, **2016**.

⁸⁵ Dr. L. Wang, unveröffentlichte Daten.

⁸⁶ R. Abbel, H. Frey, D. Schollmeyer, A. F. M. Kilbinger, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 2170–2176.

Nach erfolgten Peptidkupplungen und Entschützungen konnte Verbindung **35** mit einer Ausbeute von 0.32 % in 18 Stufen hergestellt werden (Schema 8).⁵³

Der ¹H-NMR-Vergleich des synthetisierten Produktes **35** (grün) mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (blau) und 920-2 (rot) ist in Abbildung 14 und Tabelle 5 gezeigt.

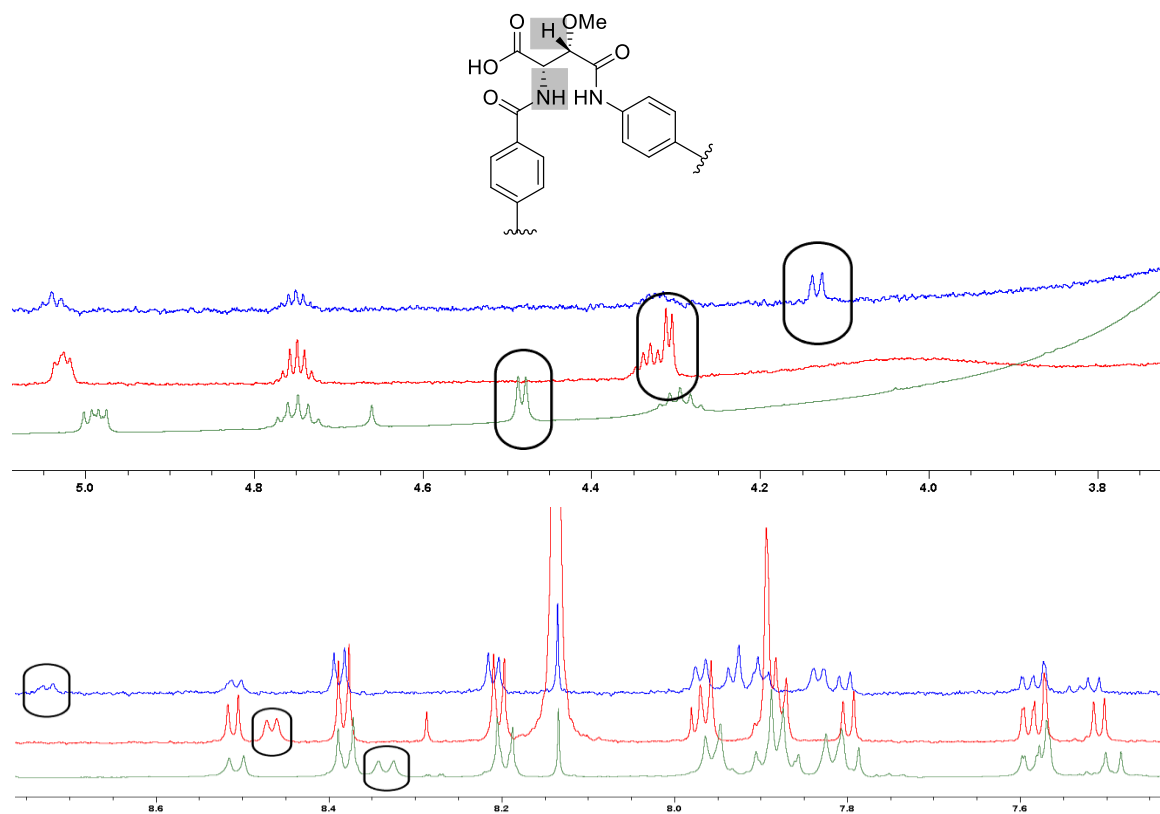


Abbildung 14: ¹H-NMR-Vergleich der synthetisierten Verbindung **30** (grün) mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (blau) und 920-2 (rot). Im oberen Bereich ist das CHOMe-Proton hervorgehoben, im unteren Bereich das NH-Proton (in der Struktur grau hervorgehoben).⁸⁷

Der Vergleich zeigt, dass es sich bei der synthetisierten Verbindung weder um Cystobactamid 920-1 noch um 920-2 handelt. Bei den abweichenden Signalen handelt es sich um die grau hervorgehobenen Protonen der Methoxyaspartat-Einheit.

Tabelle 5: Signifikant unterschiedliche chemische Verschiebung [ppm] der Signale des Linkers.⁵³

Signal	Verbindung 35	Cys 920-1	Cys 920-2
NH	8.34 (d, $J = 8.9$ Hz)	8.72 (d, $J = 8.7$ Hz)	8.47 (d, $J = 8.1$ Hz)
CHOMe	4.48 (d, $J = 4.6$ Hz)	4.13 (d, $J = 8.1$ Hz)	4.31 (d, $J = 5.0$ Hz)

⁸⁷ Nachdruck mit Genehmigung von T. Planke, M. Moreno, S. Hüttel, J. Fohrer, F. Gille, M. D. Norris, M. Siebke, L. Wang, R. Müller, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 1359–1363. Copyright **2019** American Chemical Society.

Die korrekte Zuordnung der beiden stereogenen Zentren in der Methoxyaspartat-Einheit war bereits seit der Isolierung und der damit verbundenen ersten Publikation umstritten.^{46, 53} Ursprünglich wurde die relative Konfiguration als *syn* (relativ zu der in Schema 8 dargestellten Orientierung) interpretiert. Diese Annahme wurde aufgrund von großen homonuklearen vicinalen Kopplungskonstanten ($^3J_{H,H} \sim 8$ Hz) und ROESY-NMR-Daten getroffen. Die absolute Stereochemie, die somit entweder (2*S*,3*S*) oder (2*R*,3*R*) sein konnte, wurde mithilfe optischer Rotationsmessungen und Datenabgleich mit literaturbekannten β -Oxyasparagin-Derivaten bestimmt. Folglich wurde die Konfiguration mit (2*S*,3*S*) bestimmt.⁴⁶

Die NMR-Daten bewiesen nun, dass die umstrittene Stereochemie der Methoxygruppe falsch vorhergesagt wurde. Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Verschiebungen wurde davon ausgegangen, dass es sich bei Verbindung **35** um ein Diastereomer des Cystobactamides 920-2 handeln muss. Um die Schwierigkeiten bei der Strukturaufklärung zu rationalisieren, wurde eine Konformationsanalyse der Cystobactamide 920-1 und 920-2 mittels computergestützter Molekülmodellierungen durchgeführt. Die Berechnungen ergaben, dass die helikale Form durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen begünstigt wird. Diese treten bevorzugt zwischen dem Phenol bzw. dem Sauerstoffatom der Isopropoxygruppe mit NH-Gruppen auf. Darüber hinaus ergaben die Berechnungen aber auch, dass in der energetisch günstigsten Konformation die beiden aromatischen Hemisphären übereinanderliegen und sowohl durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen als auch durch hydrophobe Interaktionen stabilisiert werden. Diese Konformation führt dazu, dass eine der beiden aromatischen Hemisphären eine Art Schleife um die Aspartat-Einheit bildet.

Sowohl die Erkenntnisse aus den NMR-Daten als auch aus den Molekülmodell-Studien führten zu dem in Abbildung 15 gezeigten neuen Strukturvorschlag für das Cystobactamid 920-2 mit invertierter Stereochemie der Methoxygruppe.

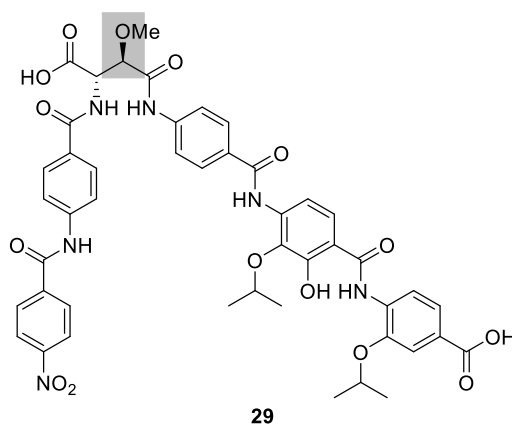


Abbildung 15: Zweiter Strukturvorschlag für das Cystobactamid „920-2“ (**29**).

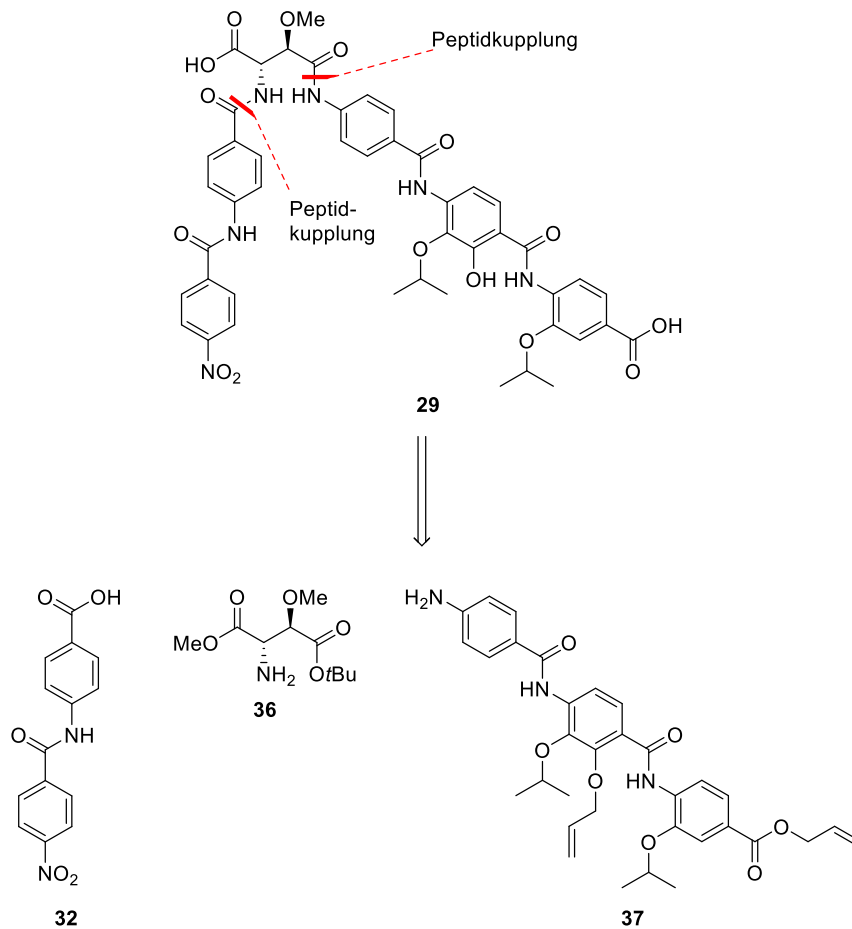
5 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

5.1 Synthese von Cystobactamid 920-1 (29)

Wie in Kapitel 4 erwähnt wurde die Stereochemie der Methoxygruppe falsch bestimmt. Aus diesem Grund sollte das Cystobactamid 920-Derivat mit (2*S*,3*R*)-Stereochemie synthetisiert werden. Des Weiteren muss beachtet werden, dass die Art der Verknüpfung im Falle der 920er Cystobactamide NMR-spektroskopisch nicht eindeutig bestimmt werden konnte, da anstelle eines primären Amids eine Carbonsäure vorliegt, deren Proton nicht nachweisbar war. Die Art der Verknüpfung wurde daher lediglich anhand von charakteristischen massenspektrometrischen Fragmentierungsmustern postuliert (siehe Kapitel 5.1.8). Es besteht daher die Möglichkeit, dass das synthetische Cystobactamid 920 mit der 2,4-Verknüpfung nicht das postulierte Cystobactamid 920-2⁴⁷ ist, sondern das alternative 920-1⁵³. Im Folgenden wird daher bis zur Diskussion der analytischen Daten nur von Cystobactamid 920 (**29**) gesprochen.

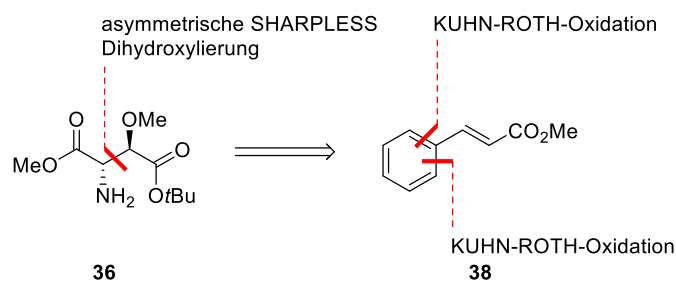
5.1.1 Retrosynthese von Cystobactamid 920 (29)

Die Synthese soll möglichst konvergent gestaltet werden, um später einen einfacheren und schnelleren Zugang zu Derivaten zu ermöglichen. Retrosynthetisch kann das Molekül in die Fragmente Methoxyaspartat-Einheit **36**, West- **32** und Ostfragment **37** unterteilt werden. Diese können, wie in Schema 9 dargestellt, durch Peptidkupplungen verknüpft werden. Neben der Entwicklung einer Aspartat-Synthese soll außerdem die Synthese der einzelnen Bausteine des Ostfragments **37** optimiert werden.



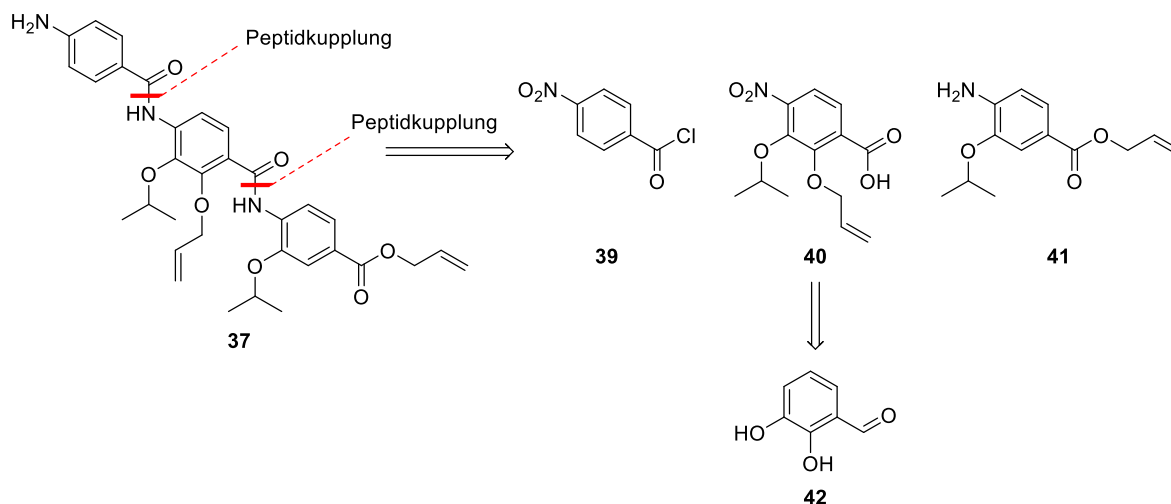
Schema 9: Retrosynthese von Cystobactamid 920 (**29**).

Für die Synthese der Aspartat-Einheit **36** muss ein Vorläufer mit zwei unterschiedlichen Schutzgruppen an den Carboxytermini präpariert werden, um später eine Differenzierung für die oligoaren Einheiten vornehmen zu können. Ein synthetischer Zugang zu der β -Methoxyasparagineinheit kann ausgehend von Zimtsäuremethylester (**38**) erreicht werden (Schema 10). Der Ester wird dabei zunächst gemäß des SHARPLESS-Protokolls asymmetrisch dihydroxyliert und anschließend einer KUHN-ROTH-Oxidation unterzogen.



Schema 10: Retrosynthese des Linkers **36**.

Die Retrosynthese des Ostfragmentes **37** ist in Schema 11 zusammengefasst. Das Ostfragment kann ebenfalls durch Peptidkupplungen aus den Fragmenten **39** bis **41** hergestellt werden. Der tetrasubstituierte Aromat **40** soll ausgehend von 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (**42**) erhalten werden.



Schema 11: Retrosynthese des Ostfragmentes **37**.

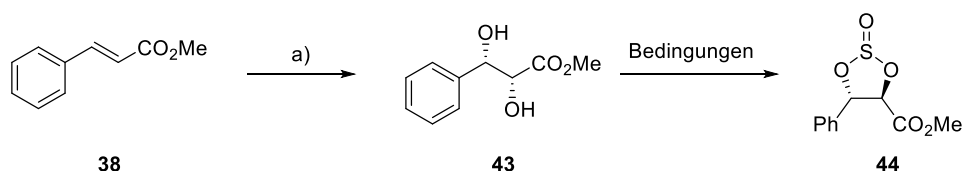
Synthetisch anspruchsvoll sind vor allem die Peptidbindungsbildungen, da *para*-substituierte Aniline mit elektronenziehenden Gruppen nur geringe Nukleophilie zeigen. Der polyaromatische Charakter könnte des Weiteren zu Löslichkeitsproblemen führen. Die bereits bekannte Basenlabilität erfordert eine entsprechende Anpassung der Schutzgruppenstrategie.

5.1.2 Synthese des Linkers **36**

Ausgehend von Zimtsäuremethylester (**38**) konnte die Synthese des Mittelfragmentes **36** begonnen werden. Zunächst wurde eine asymmetrische SHARPLESS Dihydroxylierung des *E*-Alkens mit sehr guten Ausbeuten von 89% und einem exzellenten Enantiomerenüberschuss von 99% erreicht.⁸⁸ Der *ee* wurde dabei mittels chiraler HPLC bestimmt. Das erhaltene Diol **43** wurde im Anschluss in den Sulfitdiester **44** überführt.⁸⁹ Wie in Schema 12 und Tabelle 6 gezeigt mussten dazu einige Optimierungen vorgenommen werden.

⁸⁸ Z.-M. Wang, H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5104–5105.

⁸⁹ S. A. Siddiqui, K. V. Srinivasan, *Tetrahedron: Asym.* **2007**, *18*, 2099–2103.



Schema 12: Synthese des cyclischen Sulfits **44** ausgehend von Zimtsäuremethylester (**38**).

Reaktionsbedingungen: a) AD mix α , MeSO_2NH_2 , $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), 0 °C bis RT, 22 h (89%, 99% ee).

Tabelle 6: Reaktionsbedingungen für die Einführung des Sulfitdiesters **44**.

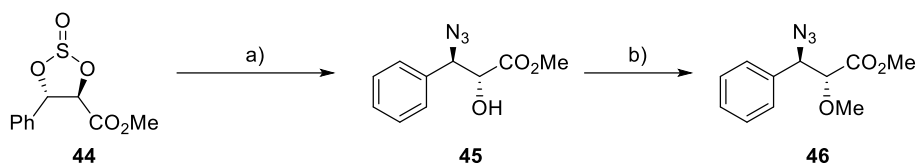
Eintrag	SOCl_2 (Äq)	TEA (Äq)	Lösungsmittel	T [°C]	t [min]	Ausbeute
1	2	15	-	0	30	Zersetzung
2	2	100	-	-78 - 0	30	5%
3	2	15	CH_2Cl_2	-78 - 0	60	65%
4	5	15	CH_2Cl_2	-78 - 0	60	73%
5	5 (CH_2Cl_2)	5	CH_2Cl_2	-78 - 0	45	81%
6	5 (CH_2Cl_2)	5	CH_2Cl_2	0	30	83%
7	5 (CH_2Cl_2)	2.4	CH_2Cl_2	-78 - 0	60	98%
8	5 (CH_2Cl_2)	2.4	CH_2Cl_2	0	30	98%

Zunächst wurde versucht, das Diol **43** in Triethylamin zu lösen und bei 0 °C bzw. -78 °C Thionylchlorid zuzutropfen. Dieses führte jedoch zu einer Vielzahl an Produkten, wie mittels Dünnschichtchromatographie detektiert wurde. Bei tieferen Reaktionstemperaturen ließen sich immerhin 5% des Produkts **44** isolieren. Die Reduktion der Äquivalente an Base in Kombination mit der Verdünnung der Reaktionsmischung in Dichlormethan ließ eine Isolierung des Produktes in 65% Ausbeute zu. Wie den Einträgen 5 bis 8 zu entnehmen ist, ließen sich die Ausbeuten bei Zugabe einer verdünnten Thionylchlorid-Lösung weiter steigern. Optimale Bedingungen sind den Einträgen 7 und 8 zu entnehmen. Die sehr langsame Zugabe der Thionylchlorid-Lösung, sowie ein ausgewogenes Verhältnis zwischen Base und Säurechlorid waren entscheidend, um die Ausbeuten bis zu 98% zu steigern. Das Diastereomerenverhältnis lag bei 1:1. Da das cyclische Sulfit in der nächsten Stufe ohnehin wieder gespalten wurde, konnten beide Diastereomere ohne Trennung verwendet werden.

Die nukleophile Ringöffnung des cyclischen Sulfits (Schema 13) mit Natriumazid läuft laut SRINIVASAN *et al.*⁸⁹ und BITTMAN *et al.*⁹⁰ regiospezifisch über die β -Position, da der Aromat die Reaktivität der benzylichen Position erhöht. Das Azid soll als Schutzgruppe für die später

⁹⁰ H.-S. Byun, L. He, R. Bittman, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 7051–7091.

benötigte Aminogruppe dienen. Erste Versuche mit Natriumazid liefen laut dünnschichtchromatographischer Analyse vollständig ab. Anfänglich konnte das Produkt jedoch nur mit einer Ausbeute von 29% erhalten werden. Da es sich jedoch um eine „Spot to Spot“ Reaktion handelte, wurde zur Optimierung hauptsächlich an der Aufarbeitung gearbeitet.



Schema 13: Synthese des Azids **46** ausgehend von Sulfitdiester **44**.

Reaktionsbedingungen: a) NaN_3 , DMF, 80 °C, 50 h (61%), b) MeI, Ag_2O , CaSO_4 , RT, 22 h (85%).

Zugabe von Wasser gefolgt von einer Extraktion mit Diethylether⁹¹ lieferte lediglich 29% des Azids **45**. Die Durchführung der Reaktion unter denselben Bedingungen mit anschließender Filtration über Kieselgur, sowie zweistündigem Rühren mit Wasser und finaler Extraktion⁸⁹ lieferte das Produkt in einer Ausbeute von 43%. Sowohl längeres Rühren in Wasser als auch in Wasser-Ether-Gemischen führte nicht zur Steigerung der Ausbeute. Das beste Resultat konnte jedoch unter sauren Bedingungen erhalten werden. Dazu wurde das Reaktionsgemisch ebenfalls über Kieselgur filtriert und anschließend über Nacht in einem Zweiphasengemisch bestehend aus 2 N Schwefelsäure und Diethylether gerührt.^{92, 93} Nach anschließender Extraktion konnte das Azid **45** in einer Ausbeute von 61% erhalten werden.

Als Alternativen zu Natriumazid wurden auch Bedingungen mit Tetrabutylammoniumazid^{94,95} und Trimethylsilylazid⁹⁶ erprobt. Während mit TMSN_3 nur geringe Ausbeuten erzielt wurden, konnte mit Bu_4NN_3 Ausbeuten von 64% erzielt werden. Diese sind zwar minimal besser als die mit Natriumazid, jedoch ist Tetrabutylammoniumazid um ein vielfaches teurer. Des Weiteren sinken die Ausbeuten im großen Maßstab ein wenig und sind dann mit denen von NaN_3 vergleichbar.

⁹¹ I. A. Sayyed, A. Sudalai, *Tetrahedron: Asym.* **2004**, *15*, 3111–3116.

⁹² P. Saravanan, E. J. Corey, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2760–2764.

⁹³ R. Ramón, M. Alonso, A. Riera, *Tetrahedron: Asym.* **2007**, *18*, 2797–2802.

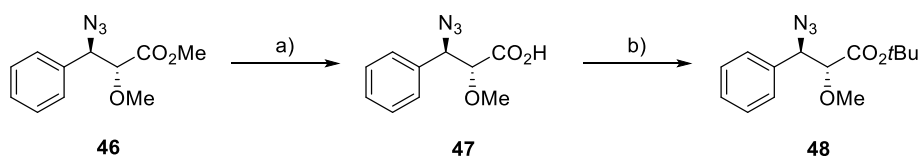
⁹⁴ D. Askin, C. Angst, S. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 622–635.

⁹⁵ A. Santra, an Xiao, H. Yu, W. Li, Y. Li, L. Ngo, J. B. McArthur, X. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 2929–2933.

⁹⁶ E. F. v. Scriven, K. Turnbull, *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297–368.

Der erhaltene Alkohol **45** wurde im Anschluss O-methyliert, um Verbindung **46** zu erhalten (Schema 13). Um mögliche Epimerisierungen zu vermeiden, wurde dabei Silber(I)-oxid als Aktivator genutzt und neutrale Reaktionsbedingungen eingehalten.

Wie in Schema 14 gezeigt wurde Verbindung **46** zunächst verseift und anschließend in den *tert*-Butyl-Ester überführt. Dabei wurde das milde Reagenz *N,N*-Dimethylformamid-di-*tert*-butylacetal^{97, 98} verwendet, um ansonsten unter sauren Bedingungen auftretende Azidoeliminierungen zu vermeiden.



Schema 14: Synthese des *t*Bu-Esters **48** ausgehend von Methylester **46**.

Reaktionsbedingungen: a) KOH, THF/H₂O, 0 °C, 5 h, b) Me₂N-CH(O*t*Bu)₂, Toluol, 80 °C, 8 h (71% über zwei Stufen).

Da sowohl für die Naturstoffsynthese als auch für die Synthese der Derivate große Mengen der Bausteine benötigt werden, wurden die vorherigen Reaktionen in Richtung Multigramm-Maßstab optimiert. Im Zuge dessen war es auch möglich, die Synthese so zu optimieren, dass für die eben genannten sechs Stufen lediglich eine säulenchromatographische Reinigung auf der letzten Stufe notwendig war.

Wie bereits erwähnt dient der Phenylring als ungewöhnliche Schutzgruppe für die zweite Carbonsäurefunktion. Als Schlüsselschritt der Synthese des Mittelfragmentes wurde daher die KUHN-ROTH-Oxidation genutzt.^{99, 100} Dabei wird der Phenylrest oxidativ zur Carbonsäure gespalten. Als Katalysator wurden dabei 3 mol% RuCl₃ verwendet, das durch das stöchiometrische Co-Oxidationsmittel Natriumperodat zu Rutheniumtetroxid oxidiert wurde. Neben dem richtigen Mischungsverhältnis der Lösungsmittel¹⁰¹ ist die Art der Aufarbeitung von besonderer Bedeutung. Das Reaktionsgemisch sollte nach der Filtration zunächst mit

⁹⁷ K. S. Feldman, D. B. Vidulova, A. G. Karatjas, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6429–6440.

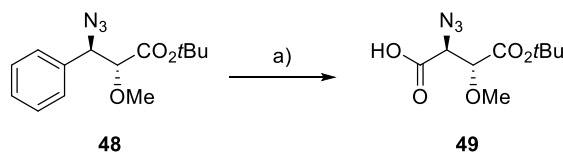
⁹⁸ U. Widmer, *Synthesis* **1983**, *1983*, 135–136.

⁹⁹ L. N. Mander, C. M. Williams, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1105–1136.

¹⁰⁰ M. T. Nunez, V. S. Martin, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1928–1932.

¹⁰¹ P. H. J. Carlsen, T. Katsuki, V. S. Martin, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936–3938.

Ethylacetat extrahiert werden bevor es mit Diethylether versetzt wird. Andernfalls fallen Rutheniumsalze aus, die sowohl die wässrige als auch die organische Phase schwarz färben.

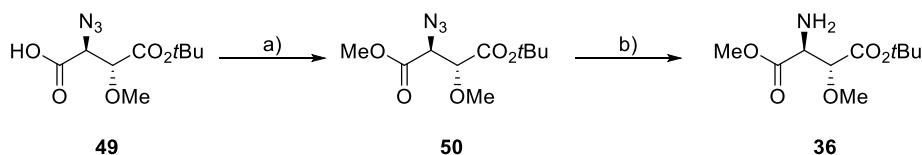


Schema 15: Synthese der Carbonsäure **49** ausgehend von Verbindung **48**.

Reaktionsbedingungen: a) $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaIO_4 , CH_3CN , CHCl_3 , H_2O , RT, 17 h (71%).

Bedauerlicherweise lassen sich Ausbeuten um 70% nur für einen Maßstab bis 800 mg von Verbindung **48** realisieren. Bei größeren Maßstäben sinken die Ausbeuten auf ca. 40%. Somit stellt die Oxidation das Nadelöhr der Synthese dar.

Säure **49** musste geschützt werden, um mögliche Reaktionen bei den nachfolgenden Kupplungsreaktionen zu vermeiden. Da eine unter sauren Bedingungen abspaltbare Gruppe in Form des *t*Bu-Esters bereits vorhanden war, musste eine Alternative gesucht werden. Aus Vorarbeiten von Dr. MORENO war bereits bekannt, dass Methylester unter schwach basischen Bedingungen gemäß den Arbeiten von NICOLAOU¹⁰² zu einem späten Zeitpunkt in der Synthese hydrolysierbar sind, fiel die Wahl auf einen Methylester als Schutzgruppe für Säure **49**. Dazu wurde die Säure ohne weitere Reinigung unter den bereits etablierten Bedingungen zum Methylester **50** umgesetzt (Schema 16). Dieser wurde anschließend einer STAUDINGER-Reduktion unterzogen, um das freie Amin **36** mit dem aktivierten Westfragment **52** kuppeln zu können. Das erhaltene Amin **36** wurde dabei ohne weitere Reinigung direkt weiterverwendet (siehe Kapitel 5.1.3).



Schema 16: Darstellung von Amin **36** ausgehend von Säure **49**.

Reaktionsbedingungen: a) MeI , Ag_2O , CaSO_4 , RT, 22 h (79%), b) PPh_3 , THF, H_2O , 50 °C, 17 h.

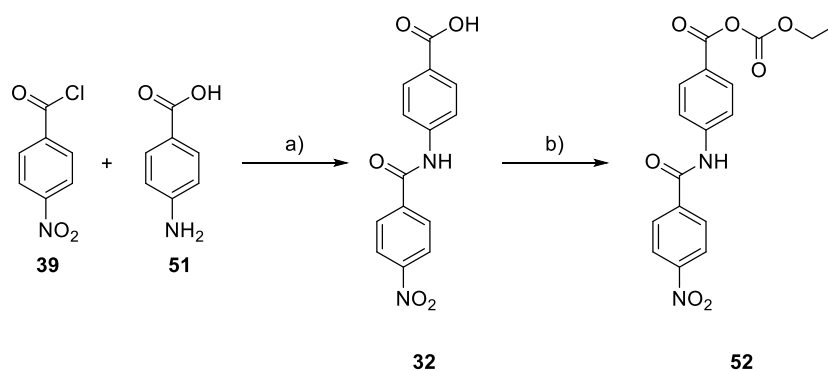
Methoxyaspartat **36** konnte schließlich über 9 Stufen in einer Gesamtausbeute von 18% präpariert werden. Die Synthese erfordert außerdem lediglich eine säulenchromatographische

¹⁰² K. C. Nicolaou, A. A. Estrada, M. Zak, S. H. Lee, B. S. Safina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378–1382.

Reinigung. Die KUHN-ROTH-Oxidation ließ sich als einzige Reaktion nicht in großem Maßstab durchführen. Eine parallele Synthese mit vereinter Aufarbeitung der Einzelansätze war jedoch möglich.

5.1.3 Synthese des Westfragments **32**

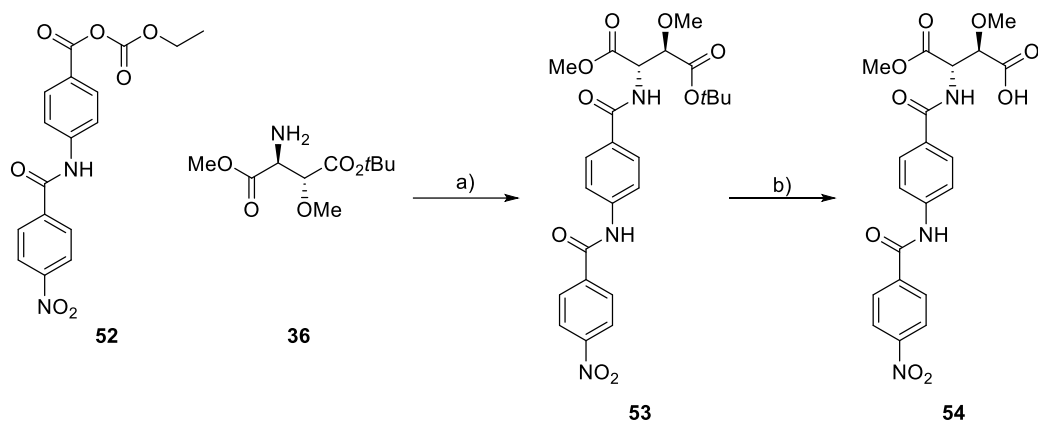
Das Westfragment **32** wurde in einem Reaktionsansatz nach der Vorschrift von FREY⁸⁶ synthetisiert. Säure **32** wurde dann mit Ethylchloroformiat für die anschließende Peptidkupplung mit Amin **36** aktiviert. Beide Produkte wurden filtriert und konnten somit ohne säulenchromatographische Reinigung für die Synthese zugänglich gemacht werden.



Schema 17: Synthese des aktivierten Westfragmentes **52** ausgehend von *p*-Nitrobenzoylchlorid (**39**) und *p*-Aminobenzoesäure (**51**).

Reaktionsbedingungen: a) *N,N*-Dimethylanilin, Aceton, RT, 60 min (62%), b) EtOC(O)Cl, Et₃N, CH₃CN, 0 °C, 30 min (67%).

Das frisch hergestellte gemischte Anhydrid **52** wurde direkt mit Amin **36** gekuppelt, da dieses nicht sehr lagerstabil war. Verbindung **53** konnte in einer Ausbeute von 59% über zwei Stufen erhalten werden. Aufgrund des zuvor für die STAUDINGER-Reduktion verwendeten Triphenylphosphins wurde diese Stufe säulenchromatographisch gereinigt. Wie in Schema 18 zu sehen ist, wurde Verbindung **53** anschließend quantitativ in die freie Säure **54** überführt.

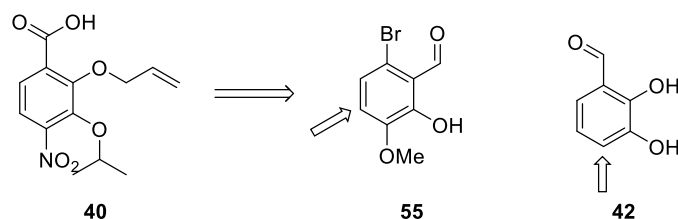


Schema 18: Synthese von Säure **54** ausgehend von aktiviertem Westfragment **52** und Linker **36**. Reaktionsbedingungen: a) DMF, RT, 20 h (59% über zwei Stufen), b) TFA, CH₂Cl₂, RT, 5 h (quant.).

5.1.4 Synthese des tetrasubstituierten Aromaten (Ring D)

Der D-Ring weist ein außergewöhnliches Substitutionsmuster auf, da sich sowohl die Isopropoxy- als auch die Hydroxygruppe auf der gleichen Seite der PABA-Einheit befinden. Die Synthese von vierfach substituierten Aromaten erweist sich im Allgemeinen als schwierig, da die verschiedenen Substituenten oft unterschiedliche dirigierende Einflüsse haben. Mit Hilfe von Schutzgruppen kann der dirigierenden Einfluss zum Teil gesteuert werden. Neben den elektronischen Effekten können sterische Effekte die Reaktionen beeinflussen.

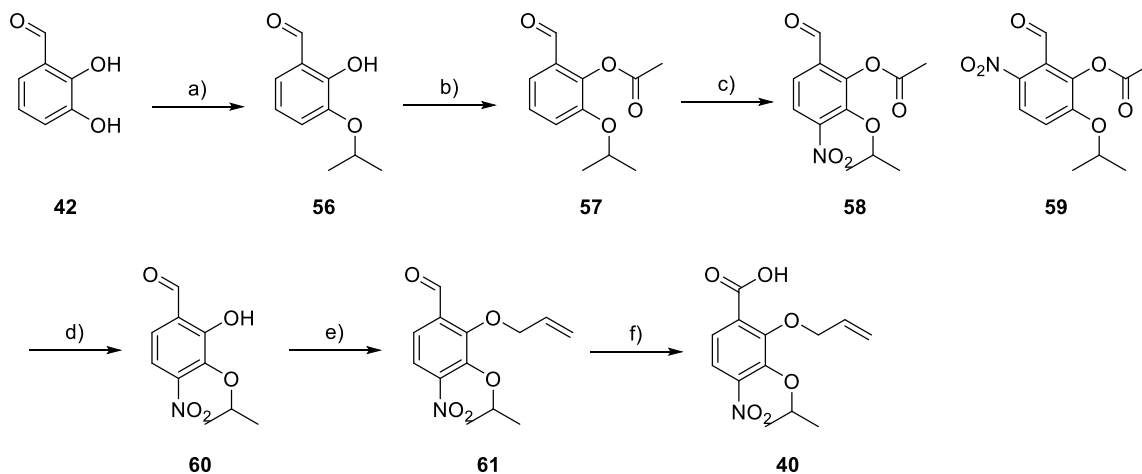
Zu Beginn dieser Arbeit lagen bereits zwei mögliche Synthesen für das Fragment vor. Die verwendeten Startbausteine sind in Schema 19 gezeigt. In beiden Fällen sind drei der vier Substituenten bereits vorhanden. Die Pfeile zeigen auf, in welchen Positionen der vierte Substituent eingeführt werden soll.



Schema 19: Verwendete Startbausteine zur Synthese des D-Rings **40**.

Die erste Synthese, ausgehend von Baustein **55**, wurde von Dr. MORENO⁷⁶ entworfen. Das tetrasubstituierte Aren **40** konnte in 12 Schritten in einer Gesamtausbeute von 6.2% erhalten werden. Alternativ dazu wurde eine verkürzte Synthese von Dr. TESTOLIN^{47,54} entwickelt. Diese

ist in Schema 20 zusammengefasst. Sie umfasst sechs Stufen, in denen Aren **40** in einer Gesamtausbeute von 22% synthetisiert werden kann.



Schema 20: Synthese des tetrasubstituierten Arens **40** ausgehend von 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (**42**). Reaktionsbedingungen: a) NaH, DMSO, 0 °C bis RT, 2 h, dann 2-Brompropan, RT, 36 h (37%), b) AcCl, Pyridin, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 1 h (74%), c) rauchende HNO₃, CH₂Cl₂, -40 °C, 2 h (97%, 6:1 *p:o*), d) LiOH, THF, H₂O, 0 °C, 12 h, e) Allylbromid, K₂CO₃, DMF, RT, 24 h (81% über 2 Stufen), f) 2-Methyl-2-buten, *t*BuOH, NaClO₂, NaH₂PO₄, RT, 2 h (quant.).⁴⁷

Es wurden einige zusätzliche Optimierungen für die Reinigung und Skalierbarkeit im Multigramm-Maßstab vorgenommen. Im Gegensatz zur Synthese der ersten Generation sind bei der zweiten Generation nur zwei säulenchromatographische Reinigungen notwendig.

Die Synthese des D-Rings **40** wird mit 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (**42**) initiiert. Mittels den von Carreira *et al.*¹⁰³ entwickelten Bedingungen wurde zunächst regioselektiv an der sterisch weniger gehinderten Hydroxygruppe mittels Isopropylbromid alkyliert. Bedauerlicherweise lag die Ausbeute der Reaktion bei moderaten 37%. Es konnte jedoch das Startmaterial **42** reisoliert werden, wodurch sich eine Ausbeute von 82% basierend auf dem reisolierten Material ergibt. Bemühungen, die Reaktionszeit zu verlängern, oder die Base und Isopropylbromid in größerem Überschuss zu verwenden, führten jedoch nicht zur Steigerung der Ausbeute. Die Nutzung von Isopropyljodid führte leider auch nicht zum gewünschten Erfolg. Die freie Hydroxygruppe von Verbindung **56** wurde dann acetyliert, um die anschließende Nitrierung in *para*-Position zum Aldehyd zu begünstigen. Wird die Acetylierung in Pyridin unter Verwendung von Essigsäureanhydrid durchgeführt, kann die Ausbeute auf 95% gesteigert werden. Im Gegensatz zum Acetylchlorid in Dichlormethan konnte die Ausbeute um 21% gesteigert werden.

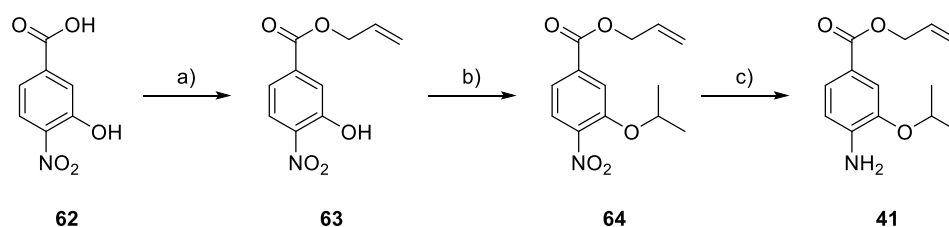
¹⁰³ B. Morandi, B. Mariampillai, E. M. Carreira, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1101–1104.

Bei der anschließenden Nitrierung dient die Nitrogruppe als Maskierung des *N*-Terminus für spätere Peptidkupplungen. Neben dem gewünschten *para*-Produkt **58** wurde auch das nicht erwünschte *ortho*-Produkt **59** isoliert. Variationen der Temperatur zeigten, dass tiefere Temperaturen grundsätzlich das *ortho-para*-Verhältnis zu Gunsten des gewünschten *para*-Produktes beeinflussen (NMR-Analyse). Zu tiefe Temperaturen ($-78\text{ }^{\circ}\text{C}$) hindern bei großen Ansätzen jedoch die Produktbildung auch bei Einsatz deutlich längerer Reaktionszeiten. Dies könnte evtl. auch an der mangelnden Durchmischung des zähen Reaktionsgemisches liegen. Als Optimum wurde eine Temperatur von $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ermittelt, bei der mit 97% Ausbeute ein *ortho-para*-Verhältnis von 1:6 gefunden werden konnte. Grund hierfür ist vermutlich die partielle Hydrolyse der Acetylgruppe unter den harschen Reaktionsbedingungen, welche die dirigierenden Effekte der bereits vorhandenen Substituenten verändert. Da ein Produktgemisch aus vier Verbindungen vorlag, wurde dieses ohne weitere Aufreinigung verseift. Da eine Trennung des *ortho*- und *para*-Produktes aufgrund der Polarität schwierig war, wurde zunächst der Alkohol mit Allylbromid verethert und anschließend das ungewünschte *ortho*-Produkt säulenchromatographisch abgetrennt. Die Umschüttung von Acetyl auf Allylether erfolgte nicht nur aufgrund der partiellen Entschüttung, sondern vor allem wegen der Erkenntnis, dass basische Reaktionsbedingungen zu einem späteren Zeitpunkt der Synthese die Amidbindung zwischen C- und D-Ring hydrolysieren. Da Allylether unter pH-neutralen bzw. leicht sauren/basischen Reaktionsbedingungen gespalten werden können, fiel die Wahl auf diese. Überlegungen, das Phenol ungeschützt zu lassen, wurden ebenfalls unternommen. Diese wurden aufgrund von Erkenntnissen, die im Zusammenhang mit der Synthese von Cystobactamid 861-2 gewonnen wurden, jedoch verworfen (siehe Kapitel 5.2.3). Das Phenol wies eine höhere Reaktivität als das Anilin auf, was in späteren Peptidkupplungen zur Synthese von nicht erwünschten Estern anstelle von Amiden führte. Aldehyd **61** wurde letztendlich mittels PINNICK-Oxidation¹⁰⁴ quantitativ in die korrespondierende Carbonsäure **40** oxidiert. Insgesamt konnte das tetrasubstituierte Aren **40** in einer Ausbeute von 28% über 6 Stufen erhalten werden. Darüber hinaus wurde die Synthese bis zu einem Maßstab von 50 g des Ausgangsmaterials 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (**42**) optimiert.

¹⁰⁴ B. S. Bal, W. E. Childers, H. W. Pinnick, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2091–2096.

5.1.5 Synthese des trisubstituierten Arens – Ring E

Das trisubstituierte Aren **41** wurde ausgehend von 3-Hydroxy-4-nitrobenzoesäure (**62**) in drei Stufen hergestellt. Zunächst wurde, wie von WILSON *et al.*¹⁰⁵ beschrieben, die Carbonsäure **62** mit Allylkohol in einer FISCHER-Veresterung umgesetzt. Das gewünschte Produkt konnte in einer Ausbeute von 88% isoliert werden. Der Allylester wurde gewählt, weil im D-Ring bereits ein Allylether installiert wurde. Die beiden Schutzgruppen können zu einem späteren Zeitpunkt der Synthese global entschützt werden. Im Anschluss an die Allylierung konnte die Isopropylgruppe in moderaten Ausbeuten installiert werden, gefolgt von der finalen Reduktion des Nitroarens **64** unter Verwendung von Stannylchlorid. Pd-katalysierte Hydrogenolyse kam aufgrund der Gegenwart der Allylgruppe nicht infrage. Stannylchloride sind laut Literatur jedoch in der Lage, Nitroarene mild und selektiv zu reduzieren.^{106, 107}



Schema 21: Synthese von Anilin **41** ausgehend von Nitroaren **62**.

Reaktionsbedingungen: a) Allylkohol, *p*TSA, 80 °C, 15 h (88%), b) 2-Brompropan, K₂CO₃, DMF, 50 °C, 16 h (55%), c) SnCl₂·2H₂O, EtOAc, 50 °C, 14 h (81%).

Das trisubstituierte Aren **41** konnte in drei Stufen mit einer Gesamtausbeute von 39% hergestellt werden. Zur Reinigung war lediglich eine säulenchromatographische Reinigung von Verbindung **41** vonnöten.

5.1.6 Synthese des Ostfragmentes 37

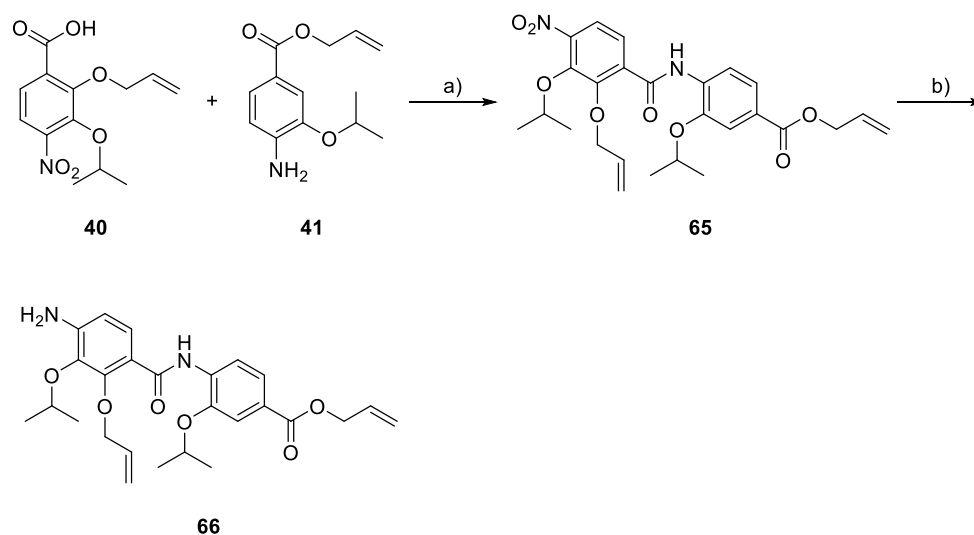
Wie in Schema 22 dargestellt wurde Aren **40** mit DIPEA und POCl₃ *in situ* in das Säurechlorid aktiviert und mit Amin **41** gekuppelt. Die Reduktion der Nitroverbindung **65** kann wie bereits beschrieben mit Zinn(II)-chlorid erfolgen. Diese Methode weist allerdings drei Nachteile auf.

¹⁰⁵ G. M. Burslem, H. F. Kyle, A. L. Breeze, T. A. Edwards, A. Nelson, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Chem. Commun.* **2016**, 52, 5421–5424.

¹⁰⁶ F. D. Bellamy, K. Ou, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 839–842.

¹⁰⁷ J. Plante, F. Campbell, B. Malkova, C. Kilner, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 138–146.

Erstens ist die Aufarbeitung durch die Bildung schwerlöslicher Zinnkomplexe langwierig. Des Weiteren entstehen eben genannte toxische Entsorgungsprodukte. Der dritte Nachteil ist die Notwendigkeit einer säulenchromatographischen Reinigung nach jeder Nitro-Reduktion. Da diese Reaktion dreimal in der Synthese durchgeführt werden muss, wurde nach alternativen Bedingungen gesucht. Es wurde deshalb auf BÉCHAMP ähnliche Bedingungen^{108, 109} mit Zinkstaub und 10% Essigsäure zurückgegriffen.



Schema 22: Synthese des Ostfragments **66** ausgehend von den Arenen **40** und **41**.

Reaktionsbedingungen: a) POCl₃, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C, 1 h (90%), b) Zn-Staub, AcOH, THF, EtOH, RT bis 70 °C, 3 h (85%).

Hervorzuheben ist, dass die Zugabe von je zwei Äquivalenten Zinkstaub im Halbstundentakt die Ausbeute im Multigramm-Maßstab positiv beeinflusst und so ähnlich hohe Ausbeuten erhalten wurden wie mit Zinn(II)-chlorid (siehe Tabelle 7).

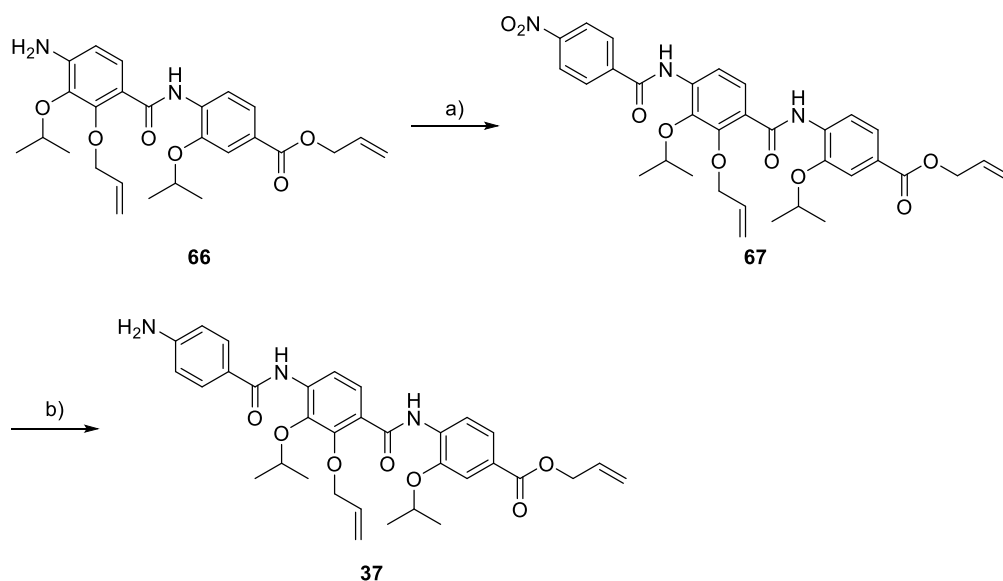
Tabelle 7: Reaktionsbedingungen für die Reduktion des Nitroarens **65**.

Eintrag	Reduktionsmittel mit Art der Zugabe	Ausbeute
1	SnCl ₂ ·2H ₂ O (5 Äq), einmalige Zugabe	87%
2	Zn (8 Äq), AcOH, einmalige Zugabe	64%
3	Zn (8 Äq), AcOH, je 2 Äq im Halbstundentakt	85%

¹⁰⁸ T. Kahl, K.-W. Schröder, F. R. Lawrence, W. J. Marshall, H. Höke, R. Jäckh in *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, Wiley, Chichester, **2010**, S. 131.

¹⁰⁹ P. Kumar, K. Lokanatha Rai, *Chem. Pap.* **2012**, *66*, 2071.

An das D,E-Fragment sollte als nächstes der C-Ring installiert werden (siehe Schema 23). Hierfür wurden zwei Methoden erprobt. Zum einen wurde eine *in situ* Aktivierung von 4-Nitrobenzoesäure mit POCl_3 untersucht. Produkt **67** konnte in einer Ausbeute von 63% erhalten werden. Alternativ dazu wurde die direkte Kupplung von 4-Nitrobenzoylchlorid (**39**) unter basischen Bedingungen untersucht. Verbindung **67** wurde direkt mit den zuvor optimierten Bedingungen reduziert. Amin **68** konnte mit einer Ausbeute von 81% über zwei Stufen isoliert werden. Im Gegensatz dazu lag die zweistufige Ausbeute bei der POCl_3 -Methode bei 58%.



Schema 23: Synthese des Ostfragments **37** ausgehend von dem Aren **66**.

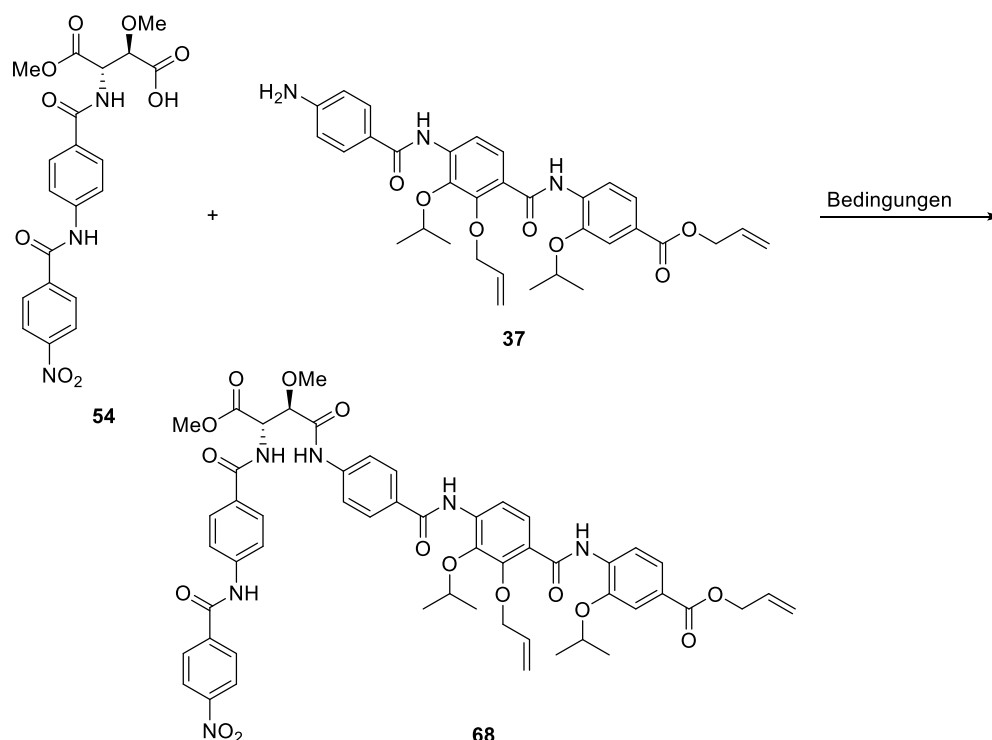
Reaktionsbedingungen: a) 4-Nitrobenzoylchlorid, Pyridin, CH_2Cl_2 , RT, 1.5 h, b) Zn -Staub, AcOH , THF, EtOH, RT bis 70 °C, 3 h (81% über zwei Stufen).

Das Ostfragment **37** konnte über 10 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 17 % über die längste lineare Sequenz synthetisiert werden. Nach Optimierung der einzelnen Stufen mussten lediglich die vier Verbindungen **37**, **41**, **56** und **61** säulenchromatographisch gereinigt werden. Es bleibt zu erwähnen, dass die jeweiligen Amine **66** und **37** nicht sonderlich lagerstabil sind. Die entsprechenden Nitroverbindungen können im Eisfach auch über längere Zeiträume gelagert werden.

5.1.7 Endspiel

Die Kupplung der Fragmente **37** und **54** stellte sich als besonders schwierig heraus. Standardkupplungsreagenzien wie EDC oder HATU¹¹⁰ führten zu keinerlei Reaktion. Daher wurde entschieden besonders reaktive Kupplungsreagenzien und Aktivierungen über die reaktiveren *in situ* generierten Säurechloride zu untersuchen.

Tabelle 8: Untersuchte Reaktionsbedingungen für die Kupplung der Fragmente **37** und **54**.



#	Aktivierung	Resultat ^[a]	#	Aktivierung	Resultat ^[a]
1	EDC ¹¹¹	keine Produktbildung	7	PyBOP ¹¹¹	keine Produktbildung
2	HATU ¹¹¹	keine Produktbildung	8	TFFH ¹¹¹	keine Produktbildung
3	BTC ¹¹²	keine Produktbildung	9	Thionylchlorid	Zersetzung
4	Ph ₃ PCl ₂	Produktsuren	10	Oxalylchlorid	Zersetzung
5	Ghosez Reagenz ¹¹³	keine Produktbildung	11	T3P	Produktbildung
6	BOP ¹¹¹	Produktsuren	12	POCl ₃	Produktbildung

[a] Produktbildung wurde mittels LCMS überprüft.

¹¹⁰ L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397–4398.

¹¹¹ C. A.G.N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827–10852.

¹¹² J. Kretz, D. Kerwat, V. Schubert, S. Grätz, A. Pesic, S. Semsary, S. Cociancich, M. Royer, R. D. Süßmuth, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1992–1996.

¹¹³ A. Devos, J. Remion, A.-M. Frisque-Hesbain, A. Colens, L. Ghosez, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, *24*, 1180–1181.

Die getesteten Aktivierungen sind in Tabelle 8 aufgeführt. Die geringe Nucleophilie der Aminogruppe von Anilinen machte die Aktivierung unter teils harschen Bedingungen notwendig. Alle Testkupplungen wurden mithilfe der LCMS analysiert, um auch kleine Mengen des Produkts identifizieren zu können. Wie in den Einträgen drei bis acht zu sehen ist, führt weder eine Aktivierung über Aktivester noch *in situ* generierte Säurechloride bzw. –fluoride zu dem gewünschten Erfolg. Lediglich mit BOP und PPh_3Cl_2 konnten geringe Mengen des Kupplungsprodukts nachgewiesen werden. Andere Chlorierungsreagenzien wie Thionylchlorid und Oxalylchlorid führten zur Zersetzung. Mit den Reagenzien Propylphosphonsäureanhydrid (T3P)^{114, 115} und Phosphoroxychlorid¹¹⁶ konnte in ersten Versuchen Produkt **68** detektiert werden.

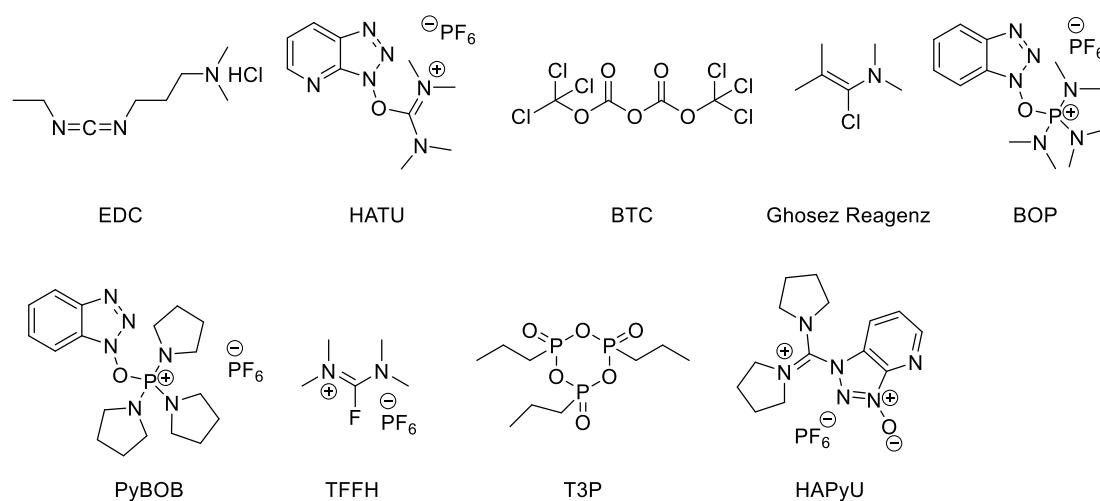


Abbildung 16: Strukturen einiger getesteter Kupplungsreagenzien.

Aufgrund der eben genannten Resultate wurden im Folgenden die beiden Kupplungsreagenzien für die Optimierungsuntersuchungen gewählt. Angesichts der Tatsache, dass eine Aktivierung mittels Triphenylphosphindichlorid¹¹⁷ im Fall des (2*S*,3*S*)-Diastereomers von Verbindung **54** möglich war und in Testkupplungen Spuren an Produkt **68** detektiert werden konnten, wurde dieses Kupplungsreagenz ebenfalls für weitere Optimierungen in Betracht gezogen. BOP

¹¹⁴ J. Klose, M. Bienert, C. Mollenkopf, D. Wehle, C.-W. Zhang, L. A. Carpino, P. Henklein, *Chem. Commun.* **1999**, 18, 1847–1848.

¹¹⁵ E. Valeur, M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 606–631.

¹¹⁶ K. Sakamoto, K. Sato, A. Shigenaga, K. Tsuji, S. Tsuda, H. Hibino, Y. Nishiuchi, A. Otaka, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 6948–6958.

¹¹⁷ J. L. Yap, X. Cao, K. Vanommeslaeghe, K.-Y. Jung, C. Peddaboina, P. T. Wilder, A. Nan, A. D. MacKerell, W. R. Smythe, S. Fletcher, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 2928–2933.

lieferte zwar auch geringe Produktmengen, da jedoch das toxische Nebenprodukt HMPA bei der Reaktion freigesetzt wird, wurde auf eine weitere Optimierung verzichtet.

Erste Untersuchungen mit Triphenylphosphindichlorid führten bei Verwendung von zwölf Äquivalenten nicht zum Umsatz. Untersuchungen mit dem (2*S*,3*S*)-Diastereomer des Tripeptids **54** (dieses war aus der Masterarbeit noch vorhanden⁷⁹) lieferten dieselben Ergebnisse. Da bekannt ist, dass das Reagenz feuchtigkeitsempfindlich ist, wurde eine neue Charge in der Glovebox gelagert und für die nachfolgenden Versuche verwendet. Unter Verwendung von sechs Äquivalenten Triphenylphosphindichlorid in Chloroform wurde die Reaktion zwei Tage bei 45 °C gerührt bis ein vollständiger Umsatz beobachtet werden konnte. Produkt **68** wurde säulenchromatographisch gereinigt. Aufgrund des großen Überschusses an Kupplungsreagenz konnte das Produkt nicht sauber isoliert werden, was eine weitere säulenchromatographische Reinigung erforderlich machte. Kupplungsprodukt **68** konnte unter diesen Bedingungen in einer Ausbeute von 42% isoliert werden. Da sowohl die Ausbeute als auch die lange Reaktionszeit und der verhältnismäßig hohe chromatographische Aufwand nicht zufriedenstellend waren, wurden parallel Bedingungen mit den bereits erwähnten Reagenzien T3P und POCl₃ untersucht.

Sowohl sterisch gehinderte Peptide als auch Amine mit geringer Nukleophilie sollen sich laut Literatur gut mit T3P kuppeln lassen. Dieses soll dabei noch effizienter als HAPyU sein.¹¹⁴ Arbeiten von DUNETZ *et al.* zeigen, dass T3P mit Pyridin eine milde Kombination darstellen, um Amidbindungen ohne Racemisierung in der α -Position herzustellen. Darüber hinaus wird auch von der Eignung für schwach nukleophile Aniline berichtet.¹¹⁸ Je ein Äquivalent Säure **54**, Amin **37** und Pyridin wurden in Ethylacetat bei 0 °C gelöst. Zwei Äquivalente T3P, gelöst in Ethylacetat, wurden langsam zugetropft. Der Überschuss von T3P umgeht die Notwendigkeit von trockenen Reaktionsbedingungen. Da nach sechs Stunden noch kein vollständiger Umsatz vorlag, wurde die Reaktion über Nacht bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch unter schwach sauren Bedingungen extrahiert. Der Vorteil der Verwendung von T3P ist mit der leichten Reinigung verbunden, da alle Nebenprodukte durch Extraktion abgetrennt werden können. Das Hexaamid **68** wurde jedoch nur in einer Ausbeute von 26% isoliert. Inerte Reaktionsbedingungen, längere Reaktionszeiten sowie höhere Temperaturen (RT) führten ebenfalls nicht zu einer Steigerung der Ausbeute.

Als dritte Option wurden Kupplungsbedingungen mit Phosphoroxychlorid untersucht. Die Kupplungen wurden in den meisten Fällen bei 0 °C durchgeführt, um Racemisierung zu

¹¹⁸ J. R. Dunetz, Y. Xiang, A. Baldwin, J. Ringling, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5048–5051.

vermeiden.¹¹⁶ Neben unterschiedlichen Reaktionszeiten und Äquivalenten wurde vor allem die Art der Zugabe (Verdünnung, Tropfgeschwindigkeit) und die Reihenfolge der Zugabe variiert. Ein Überblick über die erprobten Varianten ist in Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9: Untersuchte Reaktionsbedingungen der Peptidkupplung der Verbindungen **37** und **54** mit POCl₃ als Kupplungsreagenz.

#	Reagenz (Äq, Verdünnung)	Reihenfolge der Zugabe	t [h]	T [°C]	Ausbeute
1	POCl ₃ (2.5, neat), DIPEA (3, neat)	DIPEA dann POCl ₃	3	0	Spuren
2	POCl ₃ (2.5, neat), DIPEA (3, neat)	DIPEA dann POCl ₃	17	0	7%
3	POCl ₃ (3, 0.5 M in CHCl ₃), DIPEA (8, 0.5 M in CHCl ₃)	DIPEA dann POCl ₃	5	0	16%
4	POCl ₃ (3, 0.5 M in CHCl ₃), DIPEA (8, 0.5 M in CHCl ₃)	DIPEA dann POCl ₃	17	0	21%
5	POCl ₃ (3, 0.5 M in CHCl ₃), DIPEA (8, 0.5 M in CHCl ₃)	DIPEA dann POCl ₃	17	RT	25%
6	POCl ₃ (3, 0.5 M in CHCl ₃), DIPEA (8, 0.5 M in CHCl ₃)	POCl ₃ dann DIPEA	17	0	48%
7	POCl ₃ (3, 0.1 M in CHCl ₃), DIPEA (8, 0.3 M in CHCl ₃)	POCl ₃ dann DIPEA	17	0	60%
8	POCl ₃ (3, 0.1 M in CHCl ₃), DIPEA (8, 0.3 M in CHCl ₃)	POCl ₃ dann DIPEA	3.5	0	59%

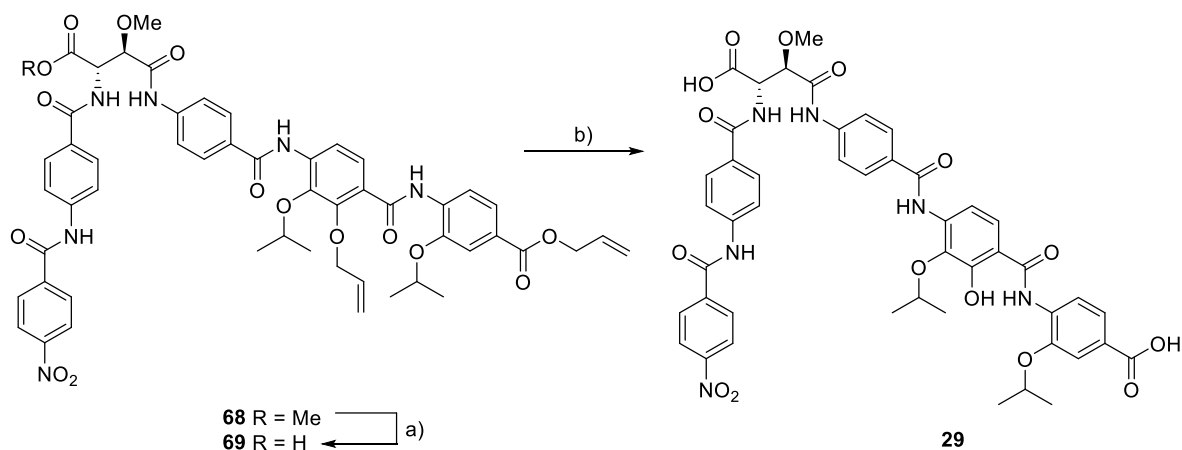
Es wurden 2.5 Äq. Säure und 1 Äq. Amin in einem THF/CHCl₃-Gemisch gelöst und zur Reaktion gebracht. POCl₃ und DIPEA wurden jeweils langsam zutropft.

Die Zugabe der Reagenzien in unverdünnter Form im stöchiometrischen Verhältnis lieferte das gewünschte Produkt in nur geringen Mengen (Einträge 1 und 2). Die Erhöhung der verwendeten Äquivalente, sowie die Zugabe in verdünnter Form führte zur Steigerung der Ausbeute auf maximal 25%. Wie aus den Einträgen sechs bis acht offenbar wird, ist die Reihenfolge der Zugabe von POCl₃ und DIPEA entscheidend. Erfolgt die DIPEA-Zugabe vor der Phosphoroxchlorid-Zugabe, dann sind die Ausbeuten deutlich verringert als bei umgekehrter Zugabe. Mit den vorgenommenen Optimierungen konnte schließlich eine Ausbeute von etwa 60% erzielt werden. Im Vergleich zu T3P (26%) und PPh₃Cl₂ (42%) ist dieses Ergebnis zufriedenstellend. Außerdem reicht ähnlich wie auch bei der Aufarbeitung der Umsetzung mit T3P eine Extraktion aus. Da die finalen Reinigungen jedoch nicht zusätzlich erschwert werden sollten, wurde das Produkt **68** per Chromatographie gereinigt.

Final sollten die beiden Allyl-Schutzgruppen entfernt sowie der Methylester hydrolysiert werden, um Cystobactamid 920 (**29**) zu erhalten. Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten:

- 1) Spaltung des Methylesters gefolgt von der Entfernung der Allylgruppen
- 2) Entfernung der Allylgruppen gefolgt von Methylester-Hydrolyse

Da der Methylester unter leicht basischen Bedingungen verseift werden muss und bereits bekannt ist, dass die Cystobactamide basenlabil sind, sollte dieser Schritt idealerweise nicht als finale Entschützung erfolgen. Des Weiteren wäre das Produkt unpolarer im Vergleich zu dem, welches zunächst von den Allylgruppen befreit wäre. Dieses sollte die Reinigung nach der ersten Entschützung erleichtern. Aufgrund dieser Überlegungen wurde also zunächst versucht, Cystobactamid 920 (**29**) zu hydrolysieren und anschließend die beiden Allylschutzgruppen zu entfernen (Schema 24).

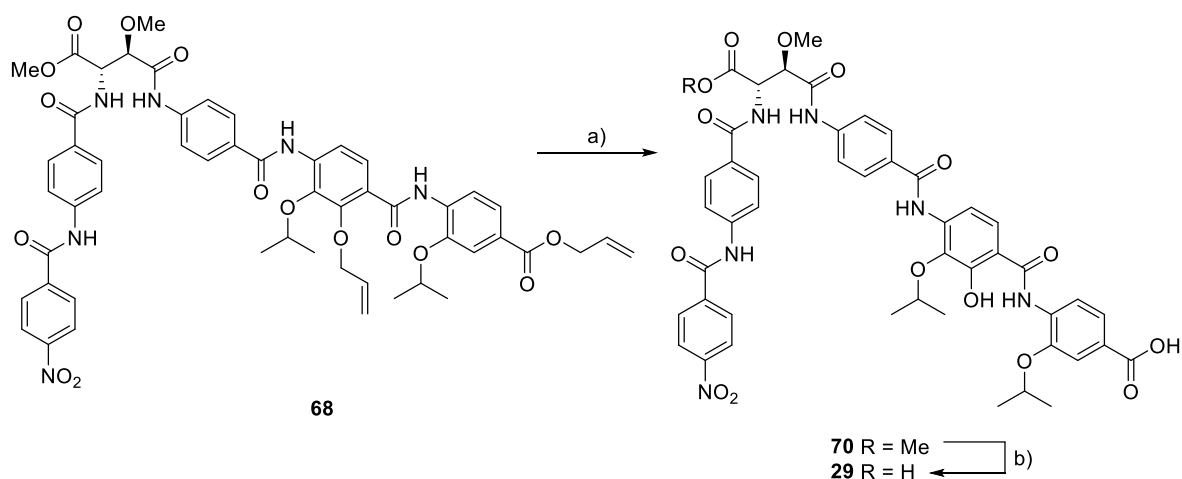


Schema 24: Entschütungsstrategie zum Cystobactamid 920 (**29**).

Reaktionsbedingungen: a) Me_3SnOH , 1,2-Dichlorethan, 75°C , 17 h (51%), b) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, PhSiH_3 , THF, RT, 2 h.

Die Entfernung des Methylesters kann aufgrund der Basenlabilität nicht unter klassischen Verseifungsbedingungen mit wässriger KOH-Lösung in THF erfolgen. Stattdessen wurden von NICOLAOU *et al.*¹⁰² publizierte schwach basische Bedingungen unter Verwendung von Trimethylzinnhydroxid untersucht. Die Reaktion des Methylesters bei 75°C in 1,2-Dichlorethan lieferte nach fünf Stunden das gewünschte Produkt, jedoch offenbarte LCMS-Analyse noch die Anwesenheit des Startmaterials. Nach weiteren 12 Stunden wurde die Reaktion durch Zugabe von 2 Tropfen Salzsäure (1 M) beendet. Nach anschließender RP-HPLC-Aufreinigung konnte die Säure **69** in einer Ausbeute von 51% erhalten werden.

Die Entschützung des Allylesters und -ethers wurde mit dem Katalysator Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) in THF durchgeführt. Als reduktiver *Scavenger* wurde PhSiH_3 verwendet. Abfangreagenzien sind notwendig, um die reaktiven, kationischen Pd-Allylkomplex abzufangen und den Pd(0)-Katalysator zu regenerieren. Nach semipräparativer RP-HPLC-Reinigung konnten jedoch lediglich 2 mg stark verunreinigtes Produkt isoliert werden. Die NMR-Analyse zeigte zwar entschütztes Cystobactamid, jedoch bestand der Großteil der Probe aus Triphenylphosphinoxidresten, welche aus dem Katalysator stammten. Aufgrund der starken Verunreinigung konnte keine zuverlässige Aussage getroffen werden, ob das synthetische Produkt mit dem Naturisolat übereinstimmt. Eine zweite RP-HPLC-Reinigung führte zu keiner erhöhten Reinheit. Da die Substanzmenge so gering war, wurden keine weiteren Optimierungen der Reinigung vorgenommen. Stattdessen wurde die alternative Entschützungsstrategie, welche in Schema 25 gezeigt ist, untersucht.



Schema 25: Alternative Entschützungsstrategie zum Cystobactamid 920 (**29**).

Reaktionsbedingungen: a) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Anilin, THF, RT, 2.5 h (52%), b) Me_3SnOH , Toluol, 80 °C, 5 h (49%).

Die Entschützung des Allylesters und -ethers gelang zwar in dem oben beschriebenen Fall, die Ausbeuten wären aber auch ohne Reinigungsprobleme gering gewesen (unter 20%). Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen wurden daher verschiedene Abfangreagenzien untersucht. Die Verwendung von Phenylsilan¹¹⁹ lieferte das Produkt **70** nach RP-HPLC-Reinigung in einer Ausbeute von 39 %. Neben dem gewünschten Produkt wurde auch die partielle Reduktion der Nitrogruppe beobachtet. Das Ersetzen von Phenylsilan durch

¹¹⁹ M. Dessolin, M.-G. Guillerez, N. Thieriet, F. Guibé, A. Loffet, *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, 5741–5744.

Morpholin¹²⁰ führte zu keiner höheren Ausbeute. Diese war mit 33% sogar noch geringer als unter der Verwendung von Phenylsilan. Es konnte aber Salzbildung beobachtet werden. Erst der Einsatz von Anilin¹²¹ führte schließlich zu einer Ausbeute von 52%.

Die finale Entschützung betraf dann die Hydrolyse des Methylesters. Hierzu wurde auf die bereits etablierten Bedingungen mit Trimethylzinnhydroxid in 1,2-Dichlorethan zurückgegriffen. Da acht Stunden nicht ausreichten, um das Substrat umzusetzen, wurde versucht, die Reaktion bei 100 °C in der Mikrowelle durchzuführen. Dies führte nach zwei Stunden nicht zum gewünschten Resultat. Die Reaktion wurde im Folgenden über Nacht bei 80 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von drei Tropfen Salzsäure (1 M) beendet. Das Rohprodukt wurde mittels semipreparativer RP-HPLC an einer C-18 Säule (Nucleodur C18 Htec, 5 µm, 250x8 mm) vorgereinigt. Da das ¹H-NMR-Spektrum nicht von ausreichender Reinheit war, obwohl die Analyse der RP-HPLC-Reinigung aber nur ein Signal zeigte, wurden weitere Reinigungsschritte am Helmholtzzentrum für Infektionsforschung in Braunschweig¹²² vorgenommen.

Das vorgereinigte Rohprodukt konnte an der präparativen RP-HPLC mit einer C-18 Säule (Hypersil GOLD aQ, 5µm, 250x10 mm) in drei Fraktionen separiert werden. Im analytischen Maßstab waren sogar vier Fraktionen sichtbar (siehe Abbildung 17). Die Peaks 3 und 4 koeluierten dabei im präparativen Maßstab. Das UV-Chromatogramm zeigte, dass keiner der vier Peaks mit einem der beiden natürlichen Cystobactamide 920-1 oder 920-2 übereinstimmte. Die hochaufgelöste Masse zeigte außerdem, dass alle vier Fraktionen dieselbe Masse aufwiesen. Das Hauptsignal zeigte eine Masse von 983.2858. Gesucht war jedoch eine Masse von 921.2943, die jedoch nur in sehr geringen Mengen detektiert werden konnte. Die Massendifferenz von 61.9915 konnte zunächst nicht erklärt werden. Das Hauptprodukt wurde daher mühsam isoliert, um die Strukturaufklärung der unbekannteren Verbindung durchführen zu können. Die Reinigung mittels RP-HPLC musste dabei in vielen verdünnten Einzelschritten erfolgen, um die Trennung der Signale zu erreichen. Außerdem war die Reinigung größerer Mengen (über 40 µL einer Lösung aus 2.6 mg synthetischer Probe in 600 µL DMSO) nicht möglich, da das System aufgrund der großen Wechselwirkungen mit der stationären Phase verstopfte.

¹²⁰ T. J. Woltering, G. Adam, J. Wichmann, E. Goetschi, J. N. C. Kew, F. Knoflach, V. Mutel, S. Gatti, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1091–1095.

¹²¹ H. Murakami, T. Minami, F. Ozawa, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4482–4486.

¹²² Kooperation mit Dr. S. HÜTTEL, HZI Braunschweig.

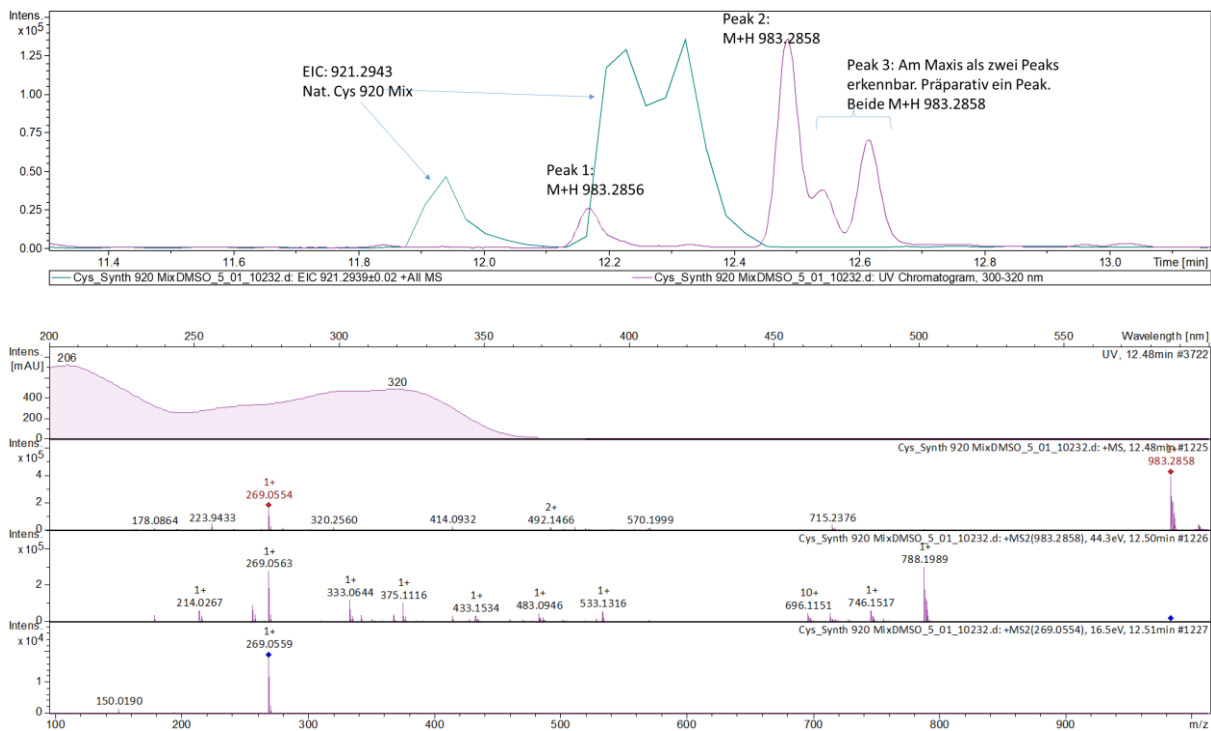


Abbildung 17: Vermessung der hochaufgelösten Masse des synthetischen Rohproduktes in DMSO. Die Messung wurde an einer maXis durchgeführt mit vorheriger Trennung auf einer Waters Aquity BEH 100. Oberer Teil: UV-Chromatogramm einer Mischung aus natürlichem Cystobactamid 920-1/2 (türkis) und synthetischer Probe (violett) mit jeweiliger Masse der einzelnen Peaks. Unterer Teil: MS-MS-Fragmentspektrum des Hauptpeaks der synthetischen Probe (Peak 2).

Es gelang schließlich ca. 1 mg des Hauptprodukts zu isolieren, welcher anhand von NMR (1D und 2D)-Spektroskopie und durch Bestimmung der hochaufgelösten Masse inklusive Fragmentierungen untersucht wurde.

Das in Abbildung 18 gezeigte ^1H -NMR-Spektrum weist fast alle Signale auf, die für das Cystobactamid 920 vorliegen sollten. Lediglich das Signal der Methoxygruppe fehlt. Anhand der 2D-NMR-Spektren ist jedoch zu erkennen, dass dieses von dem großen Wasserpeak überlagert wird. Im aliphatischen Bereich tauchen zwischen 3.8 und 4.8 ppm zwei Triplets auf, die jeweils ein Integral von zwei aufweisen und miteinander koppeln. Das ^1H -NMR-Spektrum der ersten Fraktion wich im Methoxyaspartat-Bereich von dem der zweiten Fraktion ab. Dies deutet auf partielle Epimerisierung der Methoxyaspartat-Einheit hin. In der dritten Fraktion konnte jedoch kein Unterschied zu dem der zweiten Fraktion festgestellt werden. Aufgrund der sehr geringen Substanzmengen (unter 0.3 mg) konnte hierfür keine weitere Analytik durchgeführt werden.

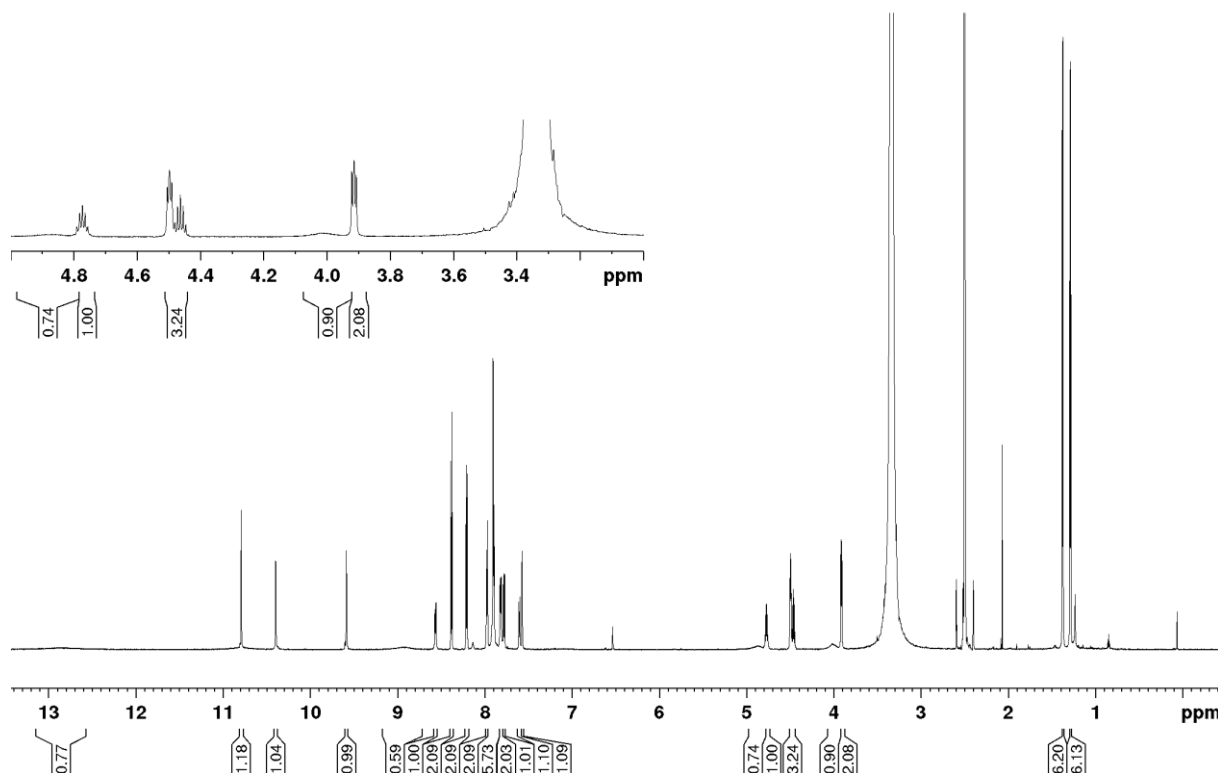


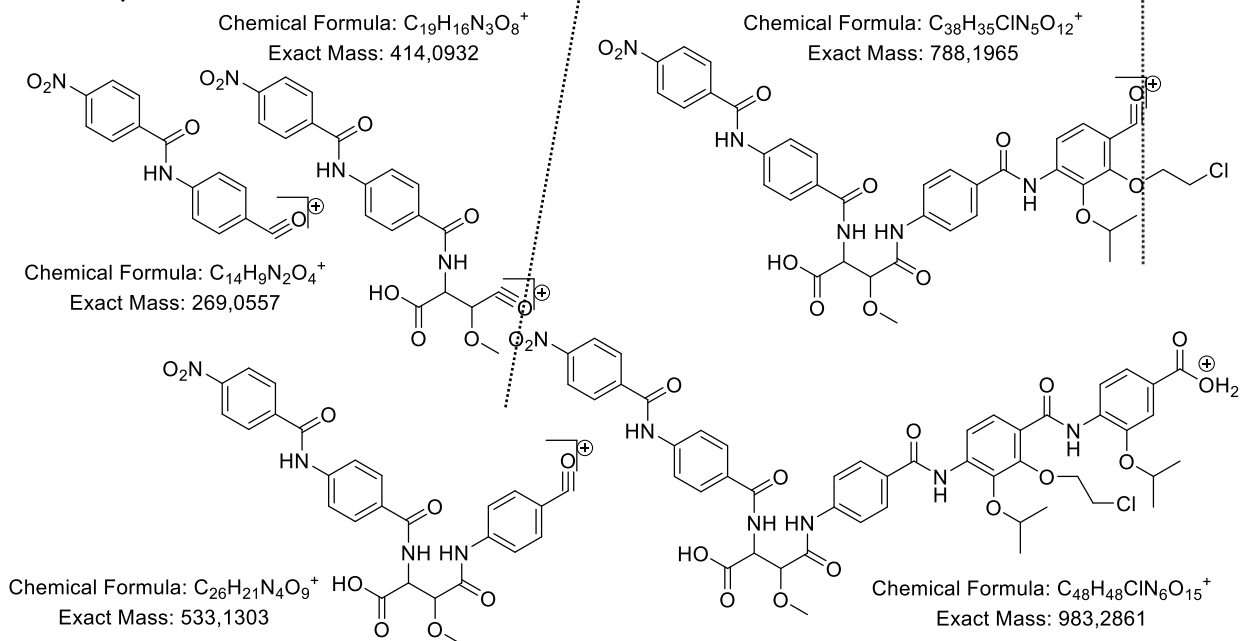
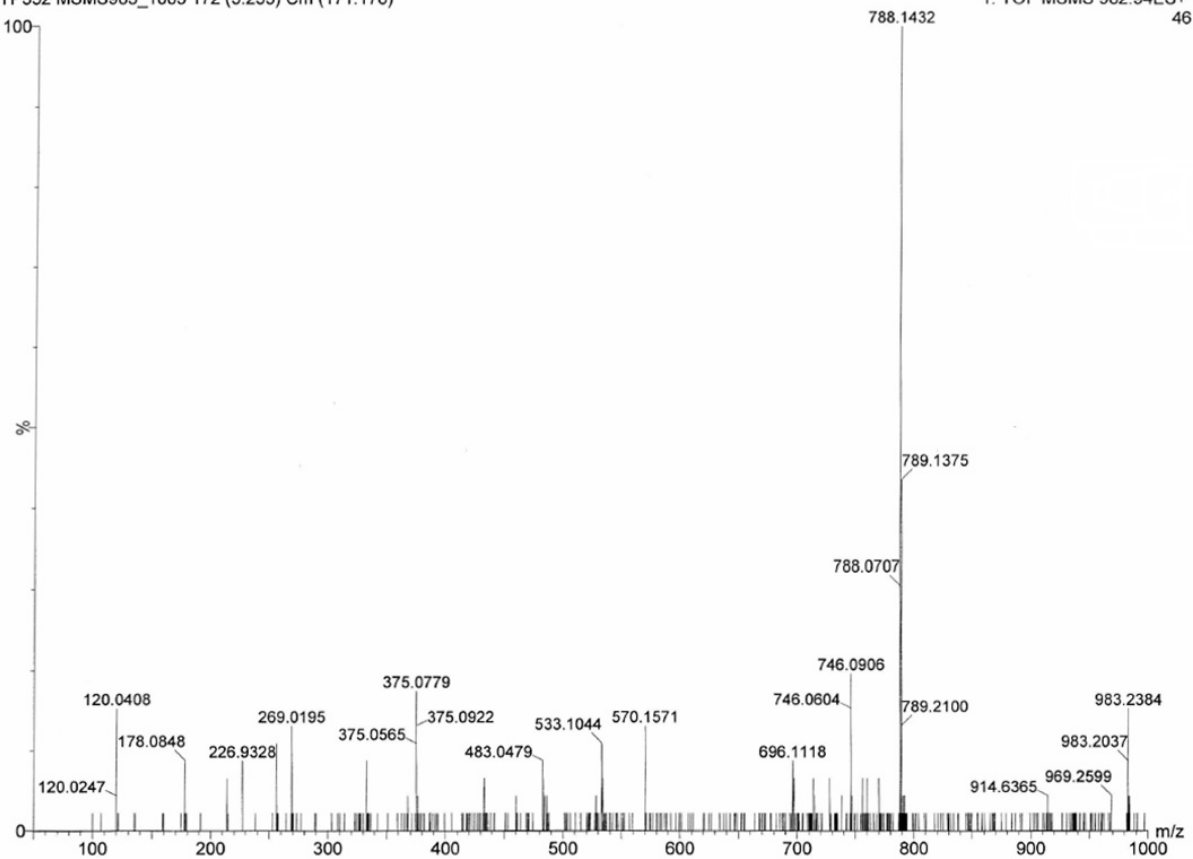
Abbildung 18: ^1H -NMR-Spektrum der mit Me_3SnOH in 1,2-Dichlorethan umgesetzten Verbindung **65**.

Anhand des hochaufgelösten Massechromatogramms und des darin sichtbaren Isotopeneffekts wurde das Vorhandensein eines Chlor- oder Bromatoms vermutet. Die ersten fünf Vorschläge des Massenprogramms für entsprechende Summenformeln enthielten allesamt ein Chloratom. Des Weiteren ergibt eine $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ -Gruppe, welche ein Proton ersetzt, eine Masse von 62.9923. Es lag die Vermutung nahe, dass das Lösungsmittel mit dem Cystobactamid eine unerwünschte Reaktion eingegangen ist. Zu klären blieb, an welcher Position diese stattgefunden haben könnte. Prinzipiell kommen dafür die beiden Carboxylgruppen oder das Phenol in Frage.

Anhand der in Schema 26 gezeigten MS-MS-Fragmentierung wurde festgestellt, dass die Fragmente bis einschließlich zum C-Ring die gewünschten Massen aufwiesen. Die Fragmentmassen mit D-Ring bzw. D- und E-Ringen zeigten jedoch eine um 62 Masseinheiten höhere Masse. Die unerwünschte Reaktion muss also an der Phenolfunktion stattgefunden haben. Mittels zweidimensionaler NMR-Analyse konnte diese Vermutung bestätigt werden.

Cystobactamid 920-2

TP352 MSMS983_1005 172 (3.253) Cm (171:178)

Q-ToF Premier UPLC-MS**10-Aug-2017::5::6**1: TOF MSMS 982.94ES+
46

Schema 26: MS-MS Fragmentierung (15-50 V) der mit Me_3SnOH in 1,2-Dichlorethan umgesetzten Verbindung **70**.

Parallel zu der Strukturaufklärung wurde versucht, den Methylester mit Lithiumiodid^{123, 124} und Ethylacetat in der Mikrowelle zu verseifen. Dieses führte jedoch nicht zur Produktbildung.

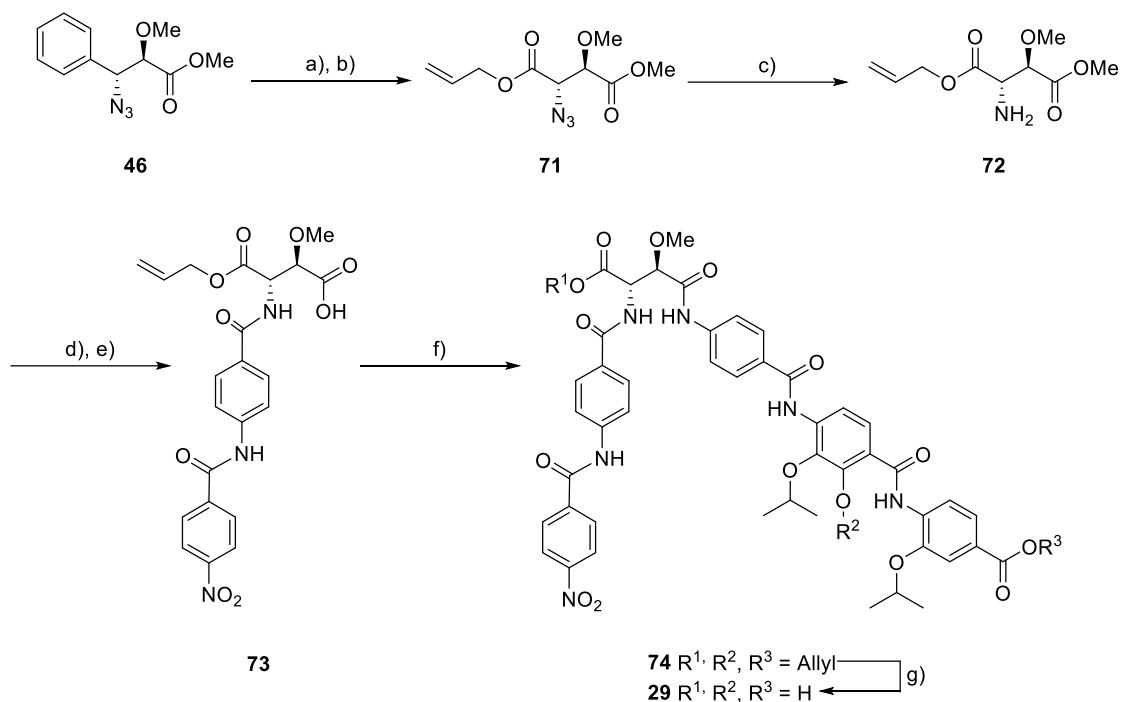
Nachdem geklärt werden konnte, dass die unerwartete Nebenreaktion eindeutig dem Lösungsmittel geschuldet ist, wurde dieses in weiteren Versuchen durch Toluol ersetzt. In diesem Fall waren fünf Stunden bei 80 °C für den vollständigen Umsatz ausreichend. Die Reinigung wurde ebenfalls am HZI durchgeführt.

Wie schon nach der Reaktion mit Trimethylzinnhydroxid musste auch dieses Mal, aufgrund von partieller Epimerisierung, aufwendig in mehreren Durchläufen per HPLC gereinigt werden. Anstelle der C18 Hypersil aQ Säule (5µm, 250x10 mm) wurde auf eine Kintex Biphenyl 100A Säule (5µm, 250x10 mm) zurückgegriffen. Diese Vorgehensweise hatte zwei Vorteile. Zum einen wurden die Signale schmaler und zum anderen konnte die Methode so angepasst werden, dass ein Trenndurchgang 25 Minuten anstelle von 45 Minuten betrug. Nachteilig wirkte sich die Reduktion des Injektionsvolumens aus (20 µL, anstelle von 35µL einer 4 M Cystobactamid-Lösung in DMSO). Nach 19 HPLC-Läufen mit anschließender Gefriertrocknung konnten 0.6 mg des Produktes isoliert werden.

Da der erste „HPLC-Marathon“ bereits gezeigt hatte, dass die Entschützung des Methylesters auf der letzten Stufe äußerst ungünstig ist, wurde parallel an einer Alternative gearbeitet. Anstelle des Methylesters wurde eine dritte Allylgruppe installiert, um die Entschützung auf einen Entschützungsschritt zu vereinfachen. Eine Übersicht hierzu findet sich in Schema 27.

¹²³ X. Hu, S. J. Dawson, Y. Nagaoka, A. Tanatani, I. Huc, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 1137–1150.

¹²⁴ P. Gopinath, L. Wang, H. Abe, G. Ravi, T. Masuda, T. Watanabe, M. Shibasaki, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3364–3367.



Schema 27: Alternative Route zur Umgehung der Entschützungsproblematik.

Reaktionsbedingungen: a) RuCl_3 , NaIO_4 , CHCl_3 , CH_3CN , H_2O , RT, 17 h, b) Allylalkohol, *p*TSA, 80 °C, 5 h (73% über zwei Stufen), c) PPh_3 , THF, H_2O , 50 °C, 17 h, d) **52**, DMF, RT, 20 h (53% über zwei Stufen), e) Me_3SnOH , 1,2-Dichlorethan, 80 °C, 5 h (29%), f) **37**, POCl_3 , DIPEA, CH_2Cl_2 , THF, 0 °C bis RT, 3.5 h (52%), g) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Anilin, THF, RT, 2.5 h (26%).

Ausgehend von Verbindung **46** wurde eine KUHN-ROTH-Oxidation durchgeführt gefolgt von der Veresterung der freien Carbonsäure mit Allylalkohol. Allylester **71** konnte in einer Ausbeute von 73% über zwei Stufen erhalten werden. Nach einer STAUDINGER-Reduktion des Azids konnte das Westfragment, welches als Anhydrid aktiviert wurde, an das entsprechende Amin gekuppelt werden. Die anschließende Verseifung des Methylesters erfolgte mit Trimethylzinnhydroxid in moderaten Ausbeuten von 29%. Eine Optimierung der Reaktionsbedingungen wurde nicht vorgenommen, da ausreichend Material für die Fertigstellung der Synthese isoliert werden konnte. Säure **73** wurde mit Amin **37** unter den bereits optimierten Reaktionsbedingungen mit Phosphoroxchlorid gekuppelt. Die globale Entschützung des mit Allylgruppen geschützten Cystobactamids erfolgte mit den bereits optimierten Bedingungen unter der Verwendung von Anilin als *Scavenger*. Eine RP-HPLC-Reinigung im semipräparativen Maßstab an einer C18-Säule mit einem Acetonitril-Wasser-Gradienten (0.1% Ameisensäure in beiden Lösungsmitteln) von 95:5 auf 0:100 in 70 Minuten lieferte das Produkt in verunreinigter Form, da das Triphenylphosphinoxid zur selben Zeit eluiert wie das Produkt. Eine Anpassung des Gradienten führte ebenfalls nicht zum Erfolg. Da saure Bedingungen nicht zielführend waren, wurde auf eine optimierte Methode von Dr.

TESTOLIN unter schwach basischen Bedingungen zurückgegriffen.⁵⁴ Mittels einer RP-HPLC-Reinigung mit 10 mM wässriger NH_4HCO_3 -Lösung und Acetonitril (10-70% CH_3CN in 65 Minuten) konnten 1.8 mg Cystobactamid 920 (**29**) in 26% Ausbeute als Ammoniumsalz isoliert werden. Da mit Hilfe von LCMS keine Nebenreaktion detektiert wurden, stellt sich die Frage, zur Ursache der geringen Ausbeute von 26%. Möglicherweise führt der polyaromatische Charakter der Cystobactamide in Form von π -stacking¹²⁵ zu sehr starken bis irreversiblen Wechselwirkungen mit der stationären C18-Phase bzw. Biphenyl-Phase, was den hohen Produktverlust erklären könnte.

Insgesamt konnte das Cystobactamid 920 (**29**) mit einer Gesamtausbeute von 2.6% über die längste lineare Sequenz von 14 Stufen isoliert werden. Im Vergleich zu Dr. MORENOS^{53, 76} Vorarbeiten konnte die Gesamtausbeute um 2.28% gesteigert werden. Es wurden zwei Strategien für die finalen Entschützungen gefunden. Die Verwendung von Schutzgruppen, welche unter basischen Bedingungen entfernt werden müssen, sollte in Zukunft jedoch vermieden werden. Die Gesamtanzahl an Syntheseschritten beträgt 29 Stufen. Aufgrund der hohen Konvergenz der Synthese lassen sich Derivatisierungen an den Aromaten und am Linker relativ schnell vornehmen. Das isolierte Produkt lag als farbloser Schaum vor. In Methanol ist das Produkt unter Lichteinfluss nicht lagerstabil. Unter Ausschluss von Licht kann es sowohl als Feststoff als auch als Lösung in DMSO über Monate kühl gelagert werden. In Wasser und unpolaren, organischen Lösungsmitteln ist das Produkt nur in sehr geringen Mengen löslich. Der Drehwert der synthetischen Verbindung beträgt $+16^\circ$ (c 0.04, MeOH/THF 1:1). Für den Naturstoff lag aufgrund von zu geringen Substanzmengen kein Drehwert vor. Da der Naturstoff bereits keine interessante biologische Aktivität vorweist und nur 0.6 mg synthetische Reinsubstanz isoliert wurden, wurden keine weiteren biologischen Daten für die synthetische Verbindung erhoben.

¹²⁵ D.-W. Zhang, X. Zhao, J.-L. Hou, Z.-T. Li, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 5271–5316.

5.1.8 Vergleich des synthetischen Naturstoffs mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (29) und 920-2 (31)

Zunächst wurde das synthetische Cystobactamid 920 mit den beiden Naturstoffen Cystobactamid 920-1 (29) und 920-2 (31) koeluiert. Es ist ersichtlich, dass das synthetische Produkt exakt dieselbe Retentionszeit hat wie das natürliche Cystobactamid 920-1 (29) (Abbildung 19).

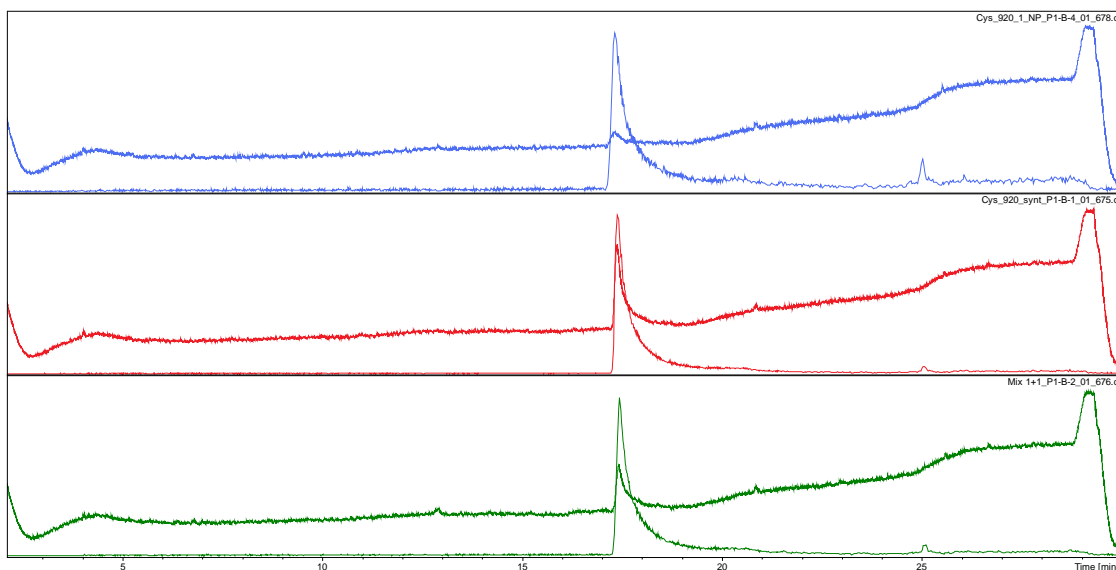


Abbildung 19: UV/Vis (oben) und EIC (unten) des natürlichen Cystobactamids 920-1 (blau); UV/Vis und EIC des synthetischen Cystobactamids 920-1 (rot); UV/Vis und EIC des Gemisches aus synthetischem Cystobactamid 920-1 und natürlichen Cystobactamids 920-1 (grün).⁸⁷

Die Säure ist im Vergleich zu den aktiveren Amiden labiler. Des Weiteren begünstigt sie das *Tailing* bei der Chromatographie, was die Reinigung erschwert.

Ein Vergleich der charakteristischen Signale in den ¹H-NMR-Spektren ist in den Abbildungen 20 und 21 zusammengestellt. Die Spektren wurden in DMSO-d₆ unter Zugabe von 2 μL deuterierter Ameisensäure gemessen. Wie bereits berichtet haben die Cystobactamide die Eigenart, mit zunehmender Reinheit breitere Signale zu zeigen. Dieser Effekt kann durch Zugabe kleiner Mengen Säure unterdrückt werden.⁴⁶

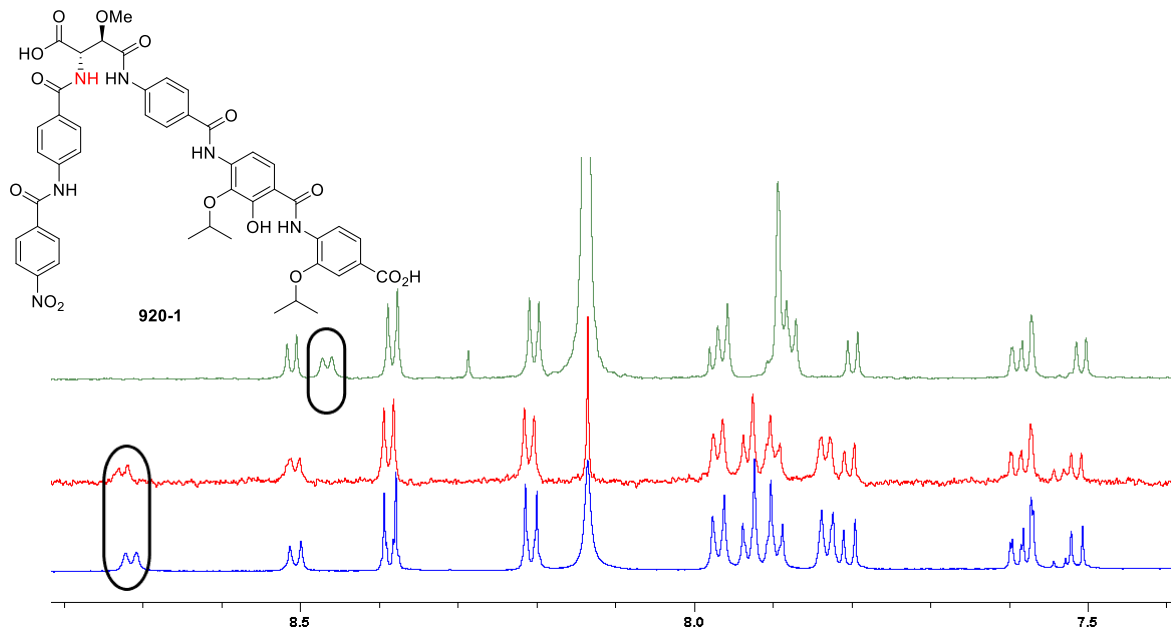


Abbildung 20: Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Region (über $\delta = 7.5$ ppm) des synthetischen Cystobactamids 920-1 (blau) mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (rot) und 920-2 (grün) in der NH-Region (betrachtetes Proton ist in der Struktur rot markiert). Alle Spektren wurden in DMSO-d_6 mit Zugabe von $2 \mu\text{L DCO}_2\text{D}$ aufgenommen.⁸⁷

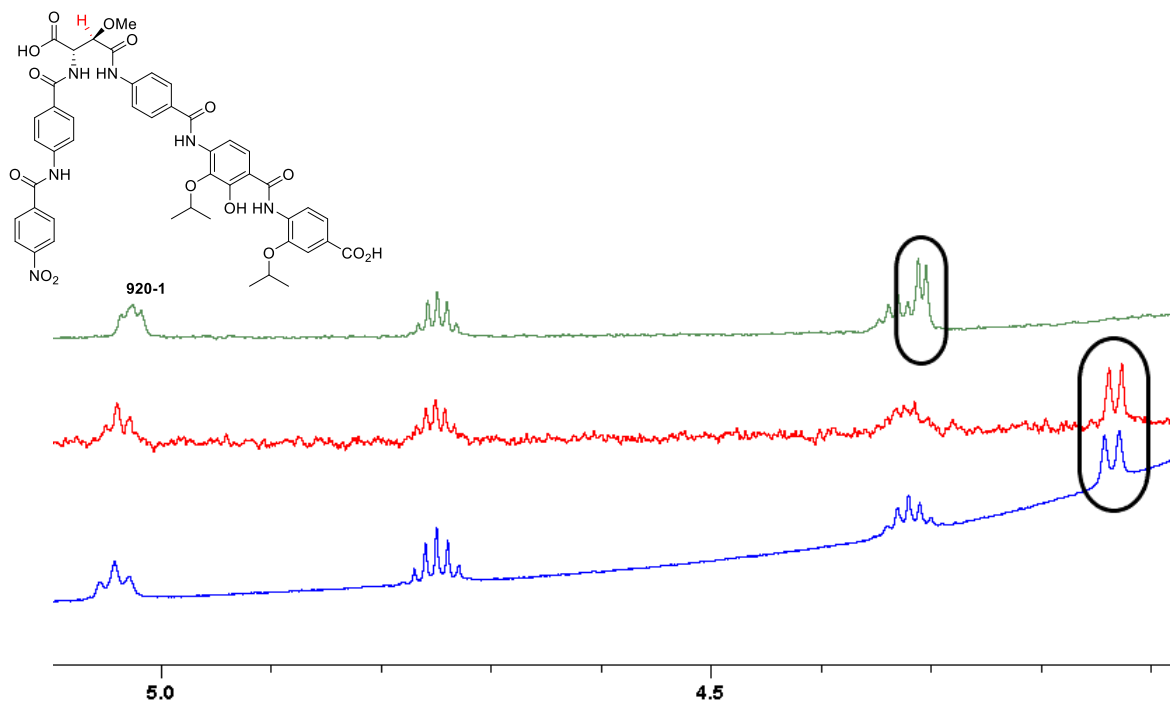


Abbildung 21: Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Region (über $\delta = 4$ ppm) des synthetischen Cystobactamids 920-1 (blau) mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (rot) und 920-2 (grün) in der Methoxyasparagin-Linker-Region (betrachtetes Proton ist in der Struktur rot markiert). Alle Spektren wurden in DMSO-d_6 mit Zugabe von $2 \mu\text{L DCO}_2\text{D}$ aufgenommen.⁸⁷

Ein Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren bestätigt ebenfalls die Übereinstimmung des synthetischen Produktes mit dem natürlichen Cystobactamid 920-1 (**29**). Die charakteristischen Signale sind in Tabelle 10 aufgelistet.

Tabelle 10: Vergleich der charakteristischen Linker-Signale des synthetischen Cystobactamids 920-1 mit den natürlichen Cystobactamiden 920-1 (**29**) und 920-2 (**31**).

	synth. Cys 920-1	Nat. Cys 920-1	Nat. Cys 920-2
NH	8.71 (d, $J = 8.7$ Hz)	8.72 (d, $J = 8.67$ Hz)	8.47 (d, $J = 8.12$ Hz)
HCOMe	4.14 (d, $J = 8.2$ Hz)	4.13 (d, $J = 8.05$ Hz)	4.31 (d, $J = 4.96$ Hz)

Ein vollständiger Vergleich der ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten inklusive Zuordnung befindet sich im Experimentellen Teil. Die in Abbildung 22 dargestellten ROE-Korrelationen konnten am synthetischen Cystobactamid 920-1 (**29**) detektiert werden.

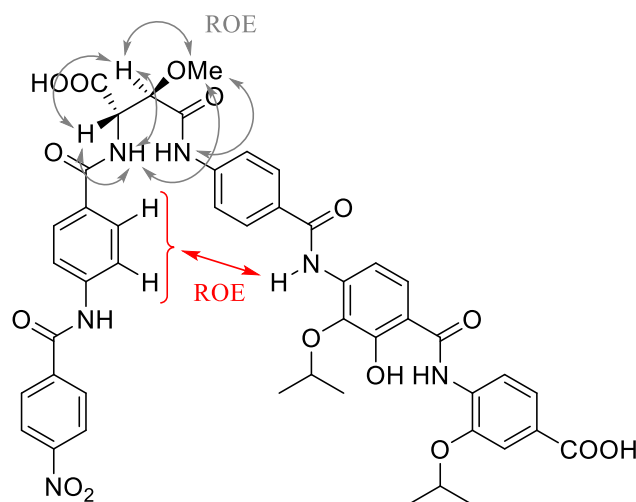
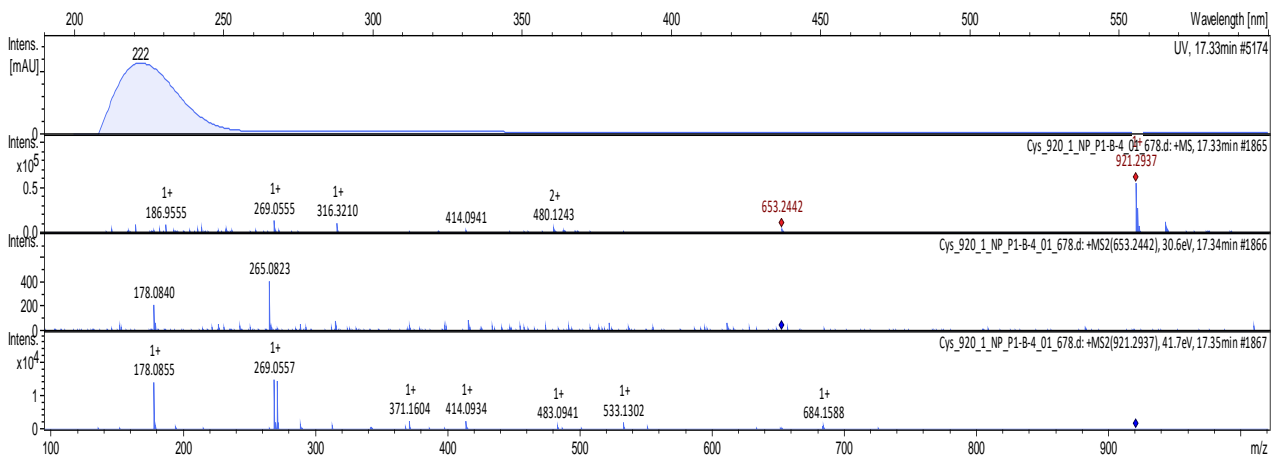
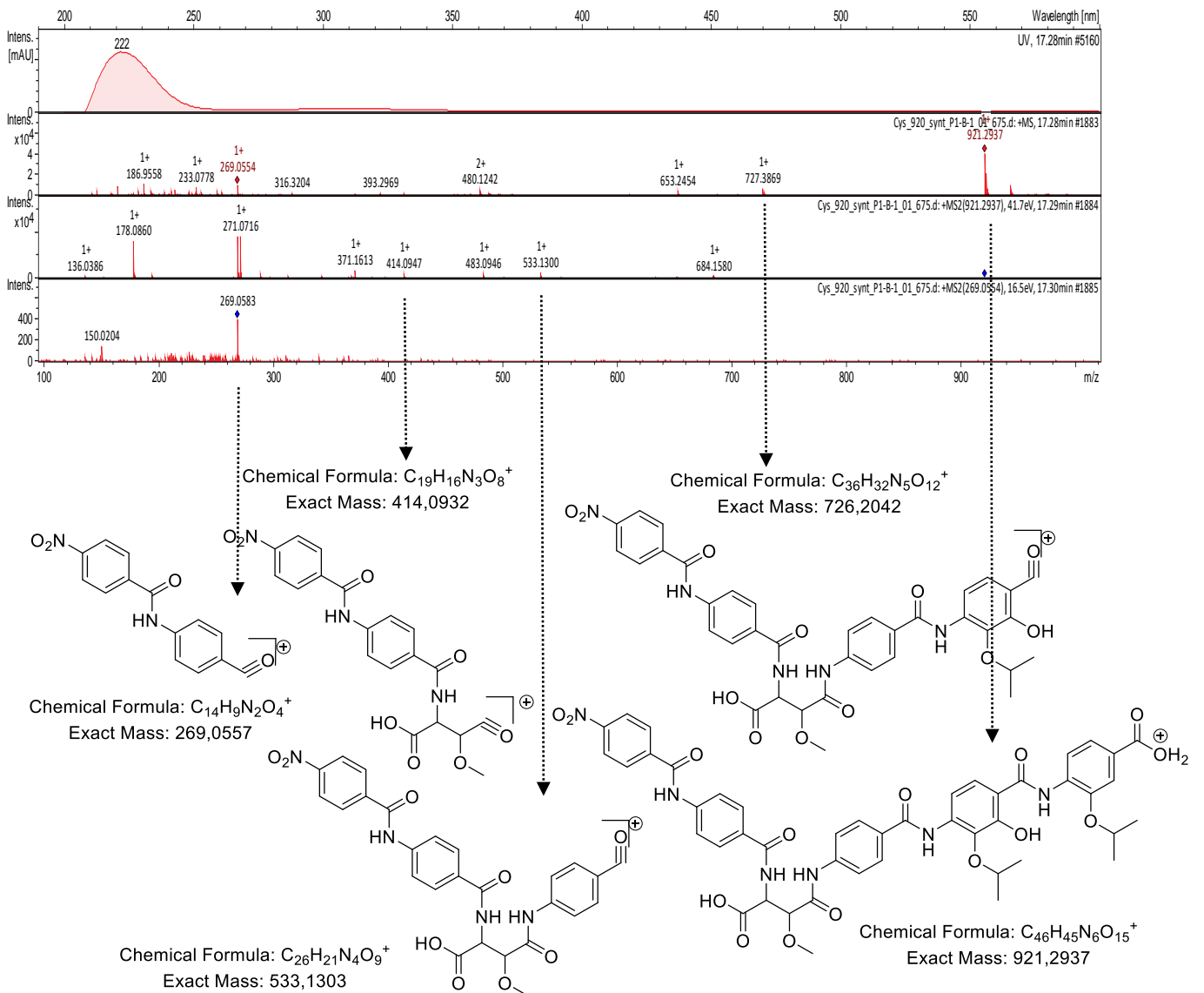


Abbildung 22: Korrelationen zwischen den Protonen des Linkers im ROESY-Spektrum des synthetischen Cystobactamids 920-1 (**29**).⁸⁷

Die massenspektrometrische Analyse ergibt ein charakteristisches Fragmentierungsmuster für die beiden Naturstoffe. Ein Vergleich des MS-MS-Fragmentierungsmusters der synthetischen Probe mit dem Naturstoff stimmt ebenfalls überein.

Abbildung 23: UV-Spektrum und MS-MS-Fragmentierung des natürlichen Cystobactamids 920-1 (29).⁸⁷Abbildung 24: UV-Spektrum und MS-MS-Fragmentierung des synthetischen Cystobactamids 920-1 (29).⁸⁷

Die Totalsynthese des Cystobactamids 920 mit der 2,4-Verknüpfung revidierte nicht nur die Stereochemie am Methoxygruppe tragenden C-Atom der bisher bekannten Cystobactamide, welche ursprünglich als (*S*)-Konfiguration postuliert wurde.⁴⁶ Neben der Stereochemie musste auch die Konstitution revidiert werden. Die 2,4-Verknüpfung wurde ursprünglich für das Cystobactamid 920-2 (**31**) publiziert.⁴⁷ Die analytischen Daten der zuvor dargestellten Synthese belegen jedoch eindeutig die Übereinstimmung mit dem Cystobactamid 920-1 (**29**).⁵³

Wie konnten diese beiden Fehlinterpretationen entstehen? In beiden Fällen kann von „dünnere“ Datenlage gesprochen werden. Im Fall der Konstitution war das Proton der freien Carbonsäure aufgrund der geringen Substanzmengen nicht sichtbar, entsprechende Interaktionen in den 2D-Spektren fehlten ebenfalls. Eine eindeutige Art der Verknüpfung konnte somit nicht mittels NMR-Spektroskopie erfolgen. Deswegen musste die Zuordnung anhand von Vergleichen der Fragmentierungsmuster in den MS-MS-Spektren durchgeführt werden. Die Verknüpfungsart der Cystobactamide, die freie Amide im chiralen Teil enthalten, konnte mittels NMR-Spektroskopie zweifelsfrei ermittelt werden. Die Fragmentierungsmuster zeigten, dass im Fall der 2,4-Verknüpfungen das Fragment des A,B-Ringsystems mit Linker ($m/z = 413.1097$) nicht zu sehen ist. Bei den 1,2-verknüpften Cystobactamiden ist dieses jedoch zu sehen. Aufgrund der großen Strukturübereinstimmung der Cystobactamide 920 und 919 (freie Carbonsäure vs. freies Amid) wurde dieselbe Annahme für die 920er Cystobactamide adaptiert. Folglich wurde das Cystobactamid 920-2 als 2,4-verknüpft postuliert, da das Fragment mit der Masse 413.1097 nicht zu sehen war. Untersuchungen nach der Fertigstellung der Synthese zeigten jedoch, dass die Fragmentierungsmuster abhängig von den Fragmentierungsbedingungen für dieselbe Probe abweichen können.

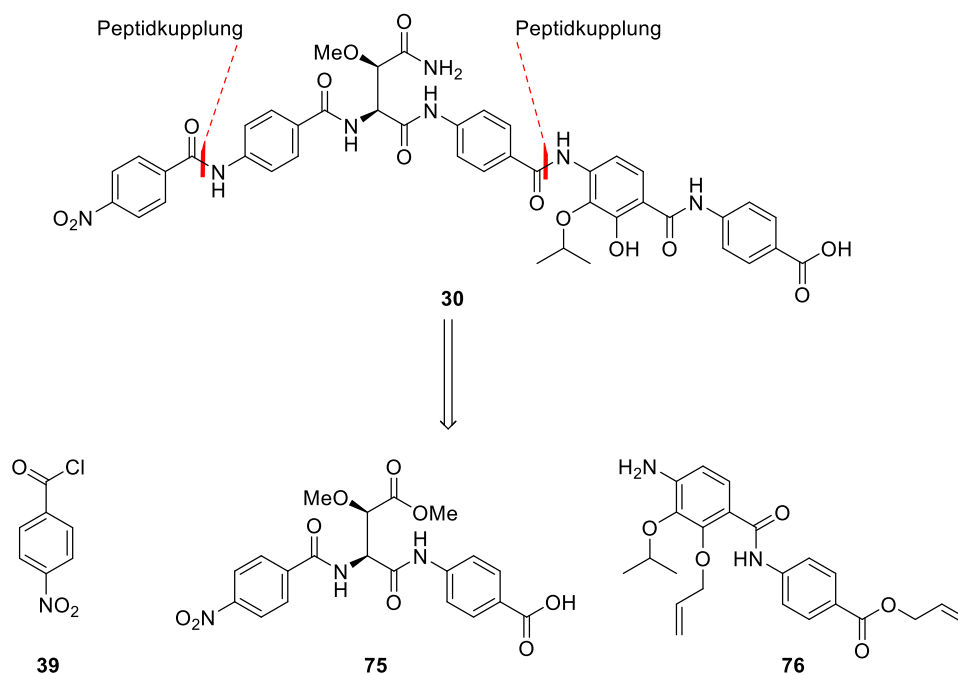
Die Fehlinterpretation der Stereochemie wurde bereits ausführlich in Kapitel 4 diskutiert.

5.2 Synthese von Cystobactamid 861-2 (30)

Parallel zur Synthese des Cystobactamids 920-1 (29) wurde auch an der Synthese des aktuell potentesten Cystobactamids 861-2 (30) gearbeitet. Im Gegensatz zum Cystobactamid 920-1 (29) war hier die Konstitution eindeutig, da dank der Amid-Protonen-Signale die Art der Verlinkung eindeutig mittels NMR nachvollzogen werden konnte.

5.2.1 Retrosynthese von Cystobactamid 861-2 (30)

Retrosynthetisch sollte das Cystobactamid 861-2 (30) ebenfalls durch Peptidkupplungen verknüpft werden. Im Vergleich zur Synthese von Cystobactamid 920-1 (29) wurden die Schnitte jedoch an anderen Positionen gesetzt. Da zu dem Zeitpunkt nicht klar war, welche Kupplungsstrategie am Ende zielführend sein wird, konnten so parallel unterschiedliche Systeme getestet werden.



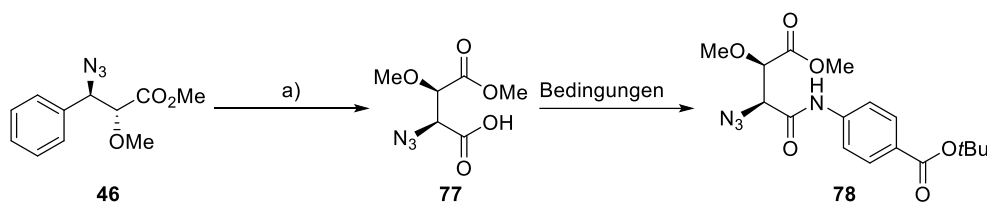
Schema 28: Retrosynthese von Cystobactamid 861-2 (30).⁴⁷

Wie in Schema 28 gezeigt, ergeben die Schnitte das kommerziell erhältliche *p*-Nitrobenzoylchlorid (39) als Westfragment. Das Mittelfragment 75 enthält neben dem Linker bereits einen Aromaten auf jeder Seite. Der Linker soll nach derselben Strategie aufgebaut werden wie beim Cystobactamid 920-1 (29). Um literaturbekannte Nebenreaktionen der

Asparagin-Seitenkette^{126, 127} zu vermeiden, wurde entschieden, das primäre Amid zu einem späten Zeitpunkt in der Synthese einzuführen. Das Mittelfragment **75** wurde daher zunächst mit einem Methylester geplant, da dieser laut Literatur direkt in das korrespondierende Amid überführbar ist.^{128, 129} Das Ostfragment ist in Anlehnung an die Synthese des Cystobactamids 920-1 (**29**) analog geplant.

5.2.2 Synthese des Mittelfragments **75**

Ausgehend von der bereits etablierten Verbindung **46** wurde eine KUHN-ROTH-Oxidation durchgeführt, um Säure **77** in guter Ausbeute von 72% zu erhalten.



Schema 29: Synthese von Amid **78** ausgehend von Verbindung **46**.

Reaktionsbedingungen: a) RuCl₃, NaIO₄, CHCl₃, CH₃CN, H₂O, 70 °C, 3 h (71%).

Die Säure **77** sollte im Anschluss mit *t*Bu-4-aminobenzoat zu Amid **78** gekuppelt werden. Hierfür wurden unterschiedliche Bedingungen erprobt, welche in Tabelle 11 zusammengestellt sind.

Tabelle 11: Getestete Reaktionsbedingungen für die Peptidkupplung zum Amid **78**.

#	Kupplungsreagenz	Base	Reaktionsbedingungen	Ausbeute [%]
1	Ibcf	NMM	CH ₃ CN, RT, 1 d	SM
2	DCC		DMF, 40 °C, 2 d	Spuren
3	HATU	DIPEA	DMF, RT, 1 d	SM
4	HATU	DIPEA	DMF, 40 °C, 2 d	29
5	TBTU, HOBt	DIPEA	DMF, 40 °C, 2 d	31
6	POCl ₃	DIPEA	CH ₂ Cl ₂ , 0 °C, 17 h	81

¹²⁶ S. Mojsov, A. R. Mitchell, R. B. Merrifield, *J. Org. Chem.* **1980**, *4*, 555–560.

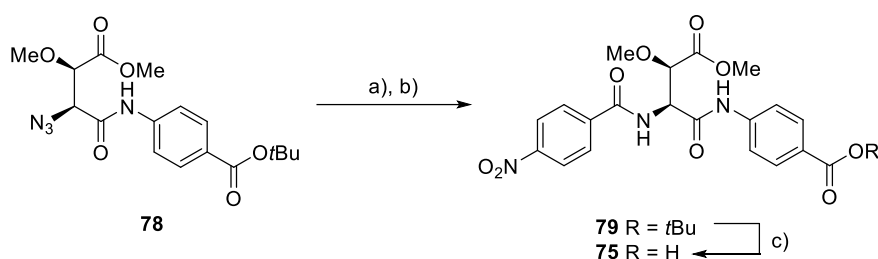
¹²⁷ A. Isidro-Llobet, M. Alvarez, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2009**, *6*, 2455–2504.

¹²⁸ S. M. Lynch, L. Tafesse, K. Carlin, P. Ghatak, D. J. Kyle, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 43–47.

¹²⁹ V. M. de Oliveira, R. Silva de Jesus, A. F. Gomes, F. C. Gozzo, A. P. Umpierre, P. A. Z. Suarez, J. C. Rubim, B. A. D. Neto, *Chem. Cat. Chem.* **2011**, *3*, 1911–1920.

Aktivierungen der Carboxylgruppe als gemischtes Anhydrid oder Aktivester führten je nach Bedingungen zu keiner Reaktion oder nur zu unzureichenden Ausbeuten von ca. 30%. Die Aktivierung als Säurechlorid mittels Phosphoroxychlorid war wesentlich erfolgreicher. Das Produkt **78** konnte so in einer Ausbeute von 81% isoliert werden.

Azid **78** wurde im Anschluss mittels STAUDINGER-Reduktion zu dem korrespondierenden Amin umgesetzt. Dieses wurde mit *p*-Nitrobenzoylchlorid (**39**) in guter Ausbeute von 71% über zwei Stufen gekuppelt. Die quantitative, finale Entschützung des *tert*-Butylesters mit TFA lieferte das Mittelfragment **75** in einer Gesamtausbeute von 20.7% über acht Stufen.



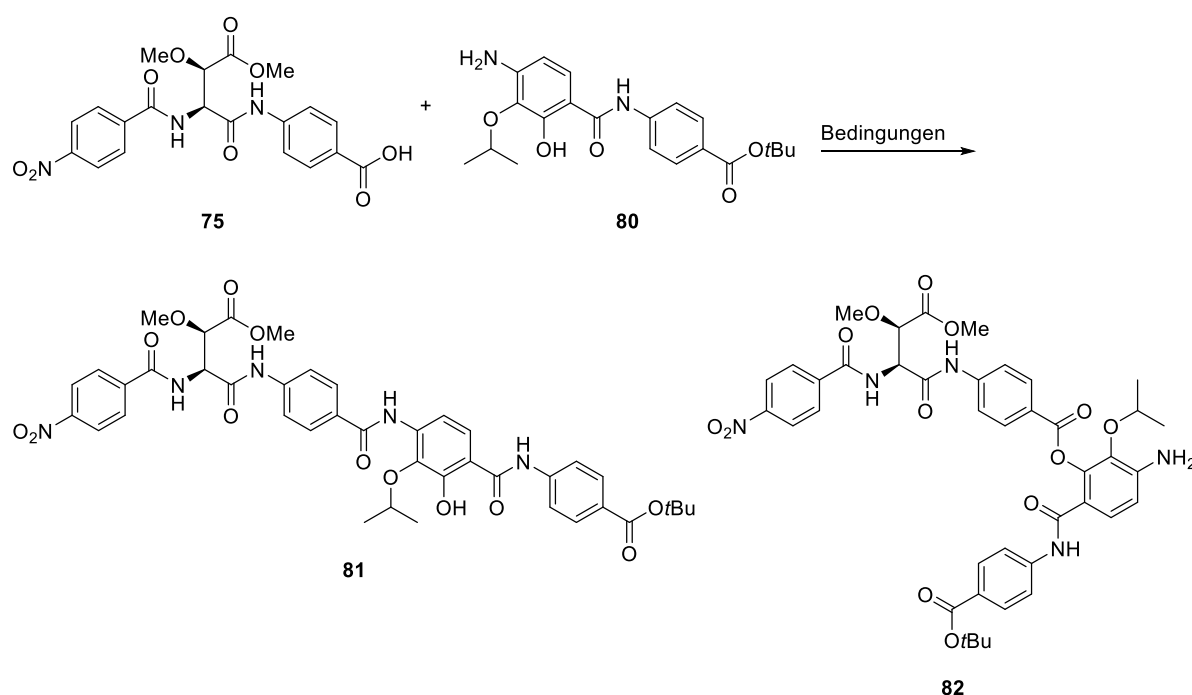
Schema 30: Synthese des Mittelfragments **75** ausgehend von Azid **78**.

Reaktionsbedingungen: a) PPh_3 , THF, H_2O , $50\text{ }^\circ\text{C}$, 15 h, b) **39**, DIPEA, DMF, RT, 16 h (71% über zwei Stufen), c) TFA, CH_2Cl_2 , RT, 5 h (quant.).

5.2.3 Kupplung des Mittelfragments **70** mit dem Ostfragment **80**

Da noch Bestände an Verbindung **80** vorlagen¹³⁰, wurden damit Kupplungsuntersuchungen vorgenommen. Die Aktivierung über Aktivester war in diesem Fall ebenso erfolglos wie bei dem Cystobactamid 920-1 (**29**) (siehe Einträge 1 – 3 in Tabelle 12). Aufgrund der geringen Nukleophilie des Anilins **80** wurde in allen drei Fällen keinerlei Produktbildung beobachtet. Eine Aktivierung mit Phosphoroxychlorid führte sowohl bei Raumtemperatur als auch bei $40\text{ }^\circ\text{C}$ nicht zur Produktbildung. Da die Untersuchung der Kupplungsbedingungen der jeweiligen Fragmente für die Cystobactamide 920-1 (**29**) und 861-2 (**30**) mehr oder weniger zeitgleich erfolgte, handelt es sich bei den POCl_3 -Bedingungen noch nicht um die für Cystobactamid 920-1 (**29**) optimierte Methode.

¹³⁰ Verbindungen die von Dr. M. MORENO und Dr. G. TESTOLIN zur Verfügung gestellt wurden.

Tabelle 12: Untersuchte Kupplungsbedingungen des Mittelfragments **75** mit dem tetrasubstituierten Aren **80**.

#	Kupplungsreagenz	Base	Reaktionsbedingungen	Resultat
1	EDC, HOAt	2,6-Lutidin	RT, 6 d	SM
2	HATU	DIPEA	DMF, 40 °C, 4 d	SM
3	TBTU, HOBt	DIPEA	DMF, 40 °C, 4 d	SM
4	POCl ₃	DIPEA	CH ₂ Cl ₂ , 0 °C bis RT, 2 d	SM
5	POCl ₃	DIPEA	THF, 40 °C, 4 d	SM
6	BTC ^[a]	DIPEA, 2,4,6-Collidin	THF, RT, 1 d	Spuren
7	BTC ^[b]	DIPEA, 2,4,6-Collidin	THF, RT, 1 d	82 (18%)
8	BTC, AgNO ₃ ^[b]	DIPEA, 2,4,6-Collidin	THF, -30 °C, 4 h	Zersetzung
9	BTC ^[b]	DIPEA, Pyridin	THF, RT, 1 d	82 (58%)

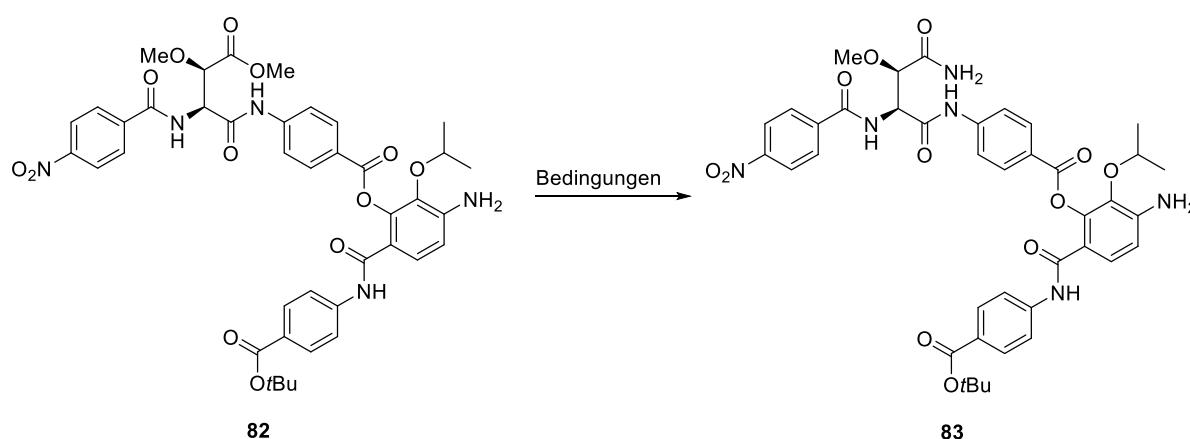
[a] Zugabe aller Komponenten ohne Voraktivierung; [b] **75**, 2,4,6-Collidin, BTC, THF, dann **80**, DIPEA, THF.

Erste Erfolge konnten mit Triphosgen als Kupplungsreagenz erzielt werden. Durch einfaches Mischen aller Komponenten konnten erste Spuren des Produkts via LCMS detektiert werden (Eintrag 6). Die Voraktivierung des *N*-terminalen Mittelfragmentes **75** zum Säurechlorid erfolgte mit BTC und 2,4,6-Collidin in THF. Anschließende Zugabe des Amins **80** und der stärkeren Base DIPEA führten zur Kupplung. Diese Art der Reaktionsführung wurde bereits

von Jung *et al.* etabliert.^{131, 132, 133} Süssmuth *et al.*¹¹² wandte sie bereits erfolgreich für das Albicidin an. Wie in Eintrag 7 zu sehen ist, waren die Ausbeuten für die Cystobactamide mit 18% jedoch nicht zufriedenstellend. Eine zusätzliche Aktivierung durch die Zugabe von Silbernitrat war nicht erfolgreich und führte selbst bei -30 °C zur Zersetzung. Der Austausch der Base 2,4,6-Collidin gegen Pyridin zur Aktivierung der Carbonsäure führte zur erhöhten Ausbeuten von 58%. NMR-Studien zeigten jedoch, dass unter den Reaktionsbedingungen gemäß der Einträge 7 und 9 nicht das gewünschte Produkt **81** entsteht. Anstelle des gewünschten Amids entstand der Ester **82**. Das Phenol ist zwar reaktiver als das Amin, jedoch war aufgrund der starken sterischen Hinderung die Entstehung des Produktes **82** nicht zu erwarten.

Da Verbindung **82** für die Synthese des Naturstoffs unbrauchbar ist, wurde es als Testsystem für die Installation des primären Amids genutzt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Untersuchte Reaktionsbedingungen zur Installation des primären Amids an Testverbindung **82**.



#	Reagenz	Reaktionsbedingungen	Ausbeute [%]
1	NH ₃ (0.5 M, THF)	RT, 17 h	SM
2	NH ₃ (7 N, MeOH)	RT, 30 Min	Epimerisierung
3	NH ₃ (7 N, MeOH)	-10 °C, 3 h	40 ^[a]
4	NH ₃ (7 N, MeOH)	NH ₄ Cl, -10 °C, 3 h	44 ^[a]
5	NH ₃ (15% aq.)	-10 °C, 30 Min	Zersetzung

[a] ca 5% Epimerisierung; 45% Startmaterial reisoliert. Längere Reaktionszeiten führen zu höherem Epimerisierungsgrad.

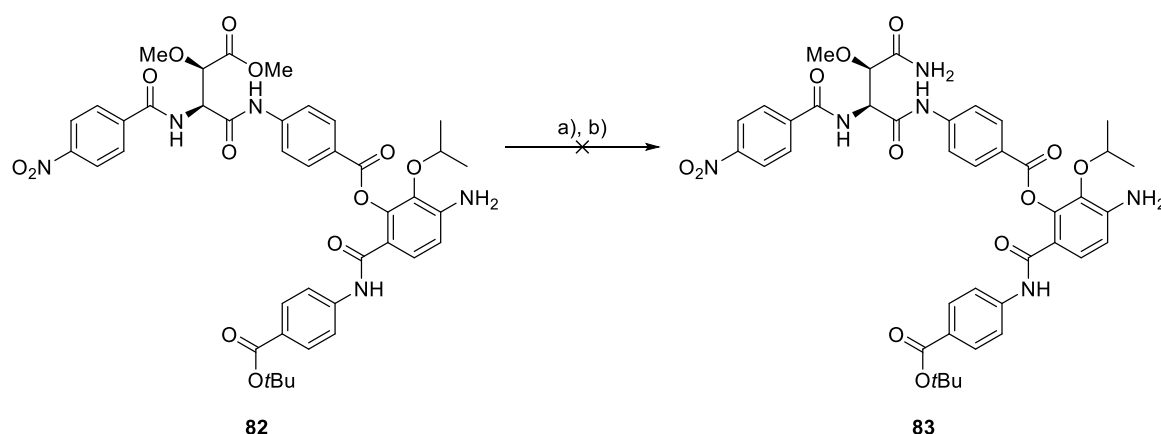
¹³¹ B. Thern, J. Rudolph, G. Jung, *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 5013–5016.

¹³² B. Thern, J. Rudolph, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2307–2309.

¹³³ N. Sewald, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 4661–4663.

Der Methylester sollte direkt in das primäre Amid überführt werden. Eine Lösung aus NH_3 in THF (0.5 M) lieferte auch bei langen Reaktionszeiten über Nacht keinen Umsatz. Konzentriertere Lösungen in Methanol (7 N) führten bei Raumtemperatur sehr schnell zur Epimerisierung. Bei tiefen Temperaturen ($-78\text{ }^\circ\text{C}$ und $-30\text{ }^\circ\text{C}$) läuft die Reaktion gar nicht oder nur sehr langsam ab. Ein Screening der Temperaturen zeigte ein Optimum bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$. Nach 3 h konnten 40% des Produkts **83** isoliert werden, ohne eine Epimerisierung beobachten zu können. Die Reaktion war jedoch noch nicht zur Vollständigkeit geführt. Das reisolierte Material konnte in weiteren Zyklen ebenfalls zum Amid umgesetzt werden. Eine Pufferung des Systems mit Ammoniumchlorid, wie in Eintrag 4 zu sehen, führte zu keiner nennenswerten Verbesserung. Die Verwendung von wässriger Ammoniaklösung (15%) führte zur Zersetzung des Materials.

Da die Ergebnisse aus den Einträgen 3 und 4 nicht befriedigend sind, wurde mit dem restlichen Material alternativ eine Verseifung gefolgt von einer Aktivierung als gemischtes Anhydrid getestet.



Schema 31: Alternative Bemühungen zur Amideinführung.

Reaktionsbedingungen: a) Me_3SnOH , 1,2-Dichlorethan, $50\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h (64%), b) Ibcf , NMM, THF, dann NH_3 (25% aq).

Wie in Schema 31 dargestellt lief die Verseifung des Methylesters mit dem mild basischen Trimethylzinnhydroxid in guten Ausbeuten. Bei der anschließenden Aktivierung mit Isobutylchlorformiat konnte das korrespondierende gemischte Anhydrid nicht *in situ* durch Zugabe einer wässrigen Ammoniak-Lösung in das gewünschte Amid überführt werden.¹³⁴ Möglicherweise war die Reaktionszeit zu kurz gewählt oder aber die Reaktionsbedingungen

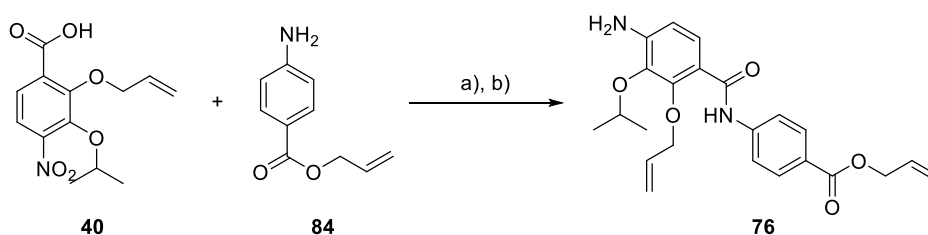
¹³⁴ T. Kuranaga, Y. Sesoko, K. Sakata, N. Maeda, A. Hayata, M. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5467–5474.

mit wässriger Ammoniak-Lösung zu „harsch“. Da das Material aufgebraucht war, wurden diesbezüglich keine weiteren Untersuchungen unternommen.

5.2.4 Synthese des Ostfragmentes 76

Aufgrund der nicht erwarteten Reaktion des Phenols musste diese Funktion vor der Kupplung geschützt werden. Wie beim Cystobactamid 920-1 (**29**) wurde ebenfalls ein Allylether verwendet, da dieser unter milden, neutralen Bedingungen entfernt werden kann. Des Weiteren kann der tetrasubstituierte D-Ring **40** für die Synthesen beider Cystobactamide genutzt werden.

Das Ostfragment **76** kann ausgehend von der Säure **40** und dem Amin **84** in zwei Stufen synthetisiert werden. Die Synthese der Säure **40** wurde dabei schon in Kapitel 5.1.4 diskutiert. Anilin **84** wurde nach Otaka *et al.*¹³⁵ in einer Stufe ausgehend von *p*-Aminobenzoesäure mit Allylbromid und Kaliumcarbonat in DMF in einer Ausbeute von 73% umgesetzt.



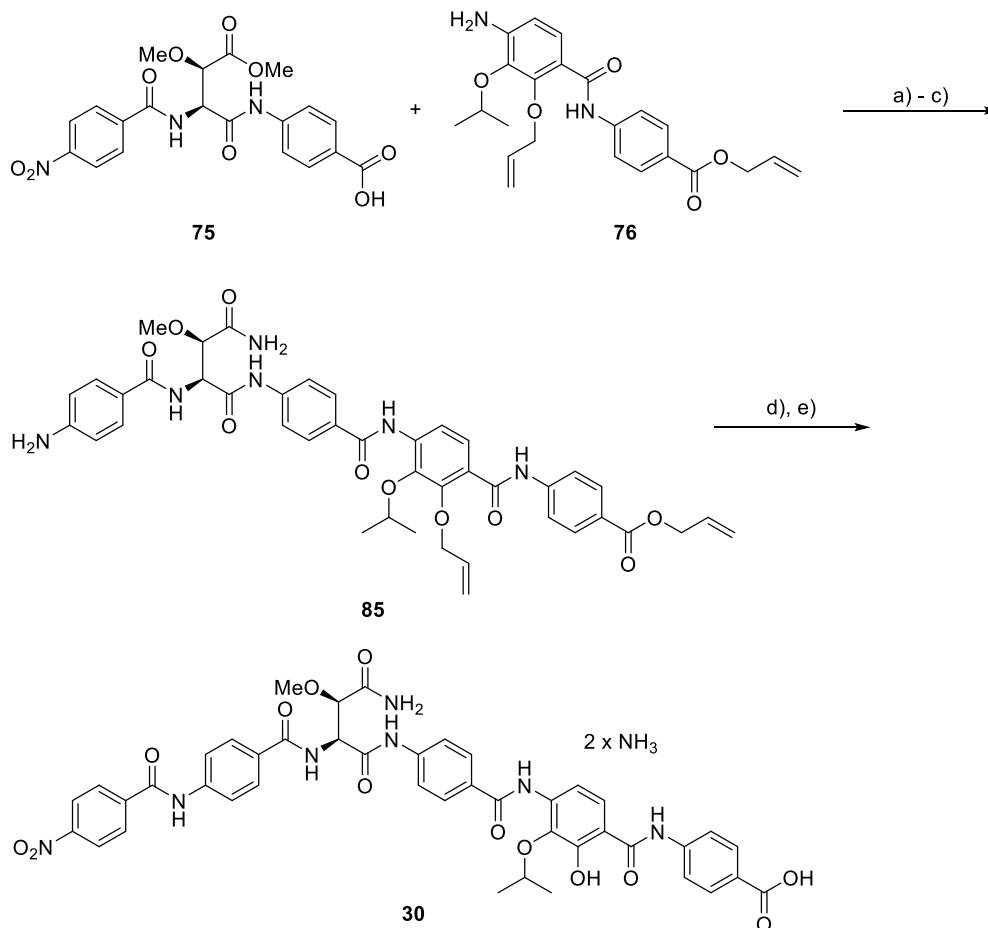
Schema 32: Synthese des Ostfragmentes **76** ausgehend vom tetrasubstituierten Aren **40** und Anilin **84**. Reaktionsbedingungen: a) POCl₃, DIPEA, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT, 17 h (88%), b) SnCl₂·2H₂O, EtOAc, 60 °C, 5 h (83%).

Die in Schema 32 gezeigten Reaktionsbedingungen für die Peptidkupplung und anschließende Reduktion kamen bereits beim Ostfragment des Cystobactamids 920-1 (**29**) zum Einsatz. Sie sind für den Multigram-Maßstab ausgelegt. Ostfragment **76** kann ausgehend von 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (**42**) in einer Gesamtausbeute von 15.7% über acht Stufen erhalten werden.

¹³⁵ S. Tsuda, A. Shigenaga, K. Bando, A. Otaka, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 823–826.

5.2.5 Endspiel

Die Fertigstellung des Cystobactamids 861-2 (**30**) erfolgte auf ähnliche Weise wie beim Cystobactamid 920-1 (**29**). Eine Übersicht ist in Schema 33 dargestellt.¹³⁶



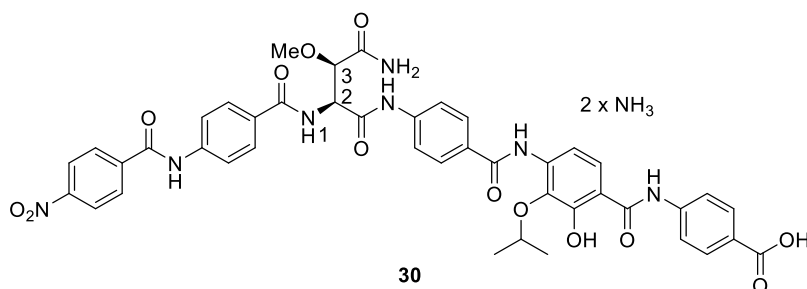
Schema 33: Fertigstellung des Cystobactamids 861-2 (**30**) ausgehend von den Fragmenten **75** und **76**. Reaktionsbedingungen: a) DIPEA, POCl₃, THF/CH₂Cl₂ (1:1), 0 °C bis RT, 3.5 h (61%), b) Zn-Staub, AcOH, THF, EtOH, RT, 2 h, c) THF, NH₃ (7 N MeOH), 0 °C bis RT, 2 h (51% über zwei Stufen), d) **39**, DIPEA, THF, 0 °C, 2 h, e) Pd(PPh₃)₄, PhSiH₃, THF, RT, 2 h (59% über zwei Stufen).⁴⁷

Die Kupplung des sterisch gehinderten, wenig nukleophilen Anilins **76** mit der Säure **75** verlief unter den bereits etablierten Bedingungen mit POCl₃ in guten Ausbeuten von 61%. Die anschließende Reduktion des Nitroarens wurde ebenfalls mit den etablierten Zink-Staub-Bedingungen durchgeführt. Die Installation des primären Amids erwies sich als ein wenig problematisch. Wie in den bereits durchgeführten Testversuchen gefunden neigt der Cystobactamid-Vorläufer unter diesen Bedingungen zur partieller Epimerisierung. Die

¹³⁶ Die Fertigstellung der Synthese, ausgehend von den zur Verfügung gestellten Fragmenten **75** und **76** wurde von Dr. G. TESTOLIN am HZI in Braunschweig vorgenommen.

Diastereomere konnten unter Verwendung von verschiedenen Chromatographiemethoden voneinander getrennt werden. Dabei wurde das Rohprodukt zunächst mittels Säulenchromatographie (0-20% MeOH in CH₂Cl₂) vorgereinigt. Eine anschließende präparative NP-HPLC mit einem isokratischen Gradienten (PE:EtOAc:MeOH 50:45:9) lieferte schließlich Verbindung **85** in einer Ausbeute von 51% über zwei Stufen. Nach Kupplung des A-Rings mit Anilin **85** wurden die Allylschutzgruppen unter Verwendung von Pd(PPh₃)₄ als Katalysator entfernt. Da die RP-HPLC-Reinigung unter sauren Bedingungen nicht zielführend ist, wurde mit einem Gemisch aus Acetonitril und 10 mM wässriger Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung eluiert. Cystobactamid 861-2 (**30**) konnte so mit einer Ausbeute von 59% über zwei Stufen als Diammoniumsalz erhalten werden. Die Gesamtausbeute betrug 2.3% über eine längste lineare Sequenz von 13 Stufen. Die charakteristischen Signale des synthetischen Linkers stimmten im ¹H-NMR-Spektrum mit dem natürlichen Linker überein (siehe Tabelle 14).⁴⁷

Tabelle 14: Vergleich der ¹H-NMR-Daten des natürlichen und synthetischen Cystobactamids 861-2 (**30**).⁴⁷

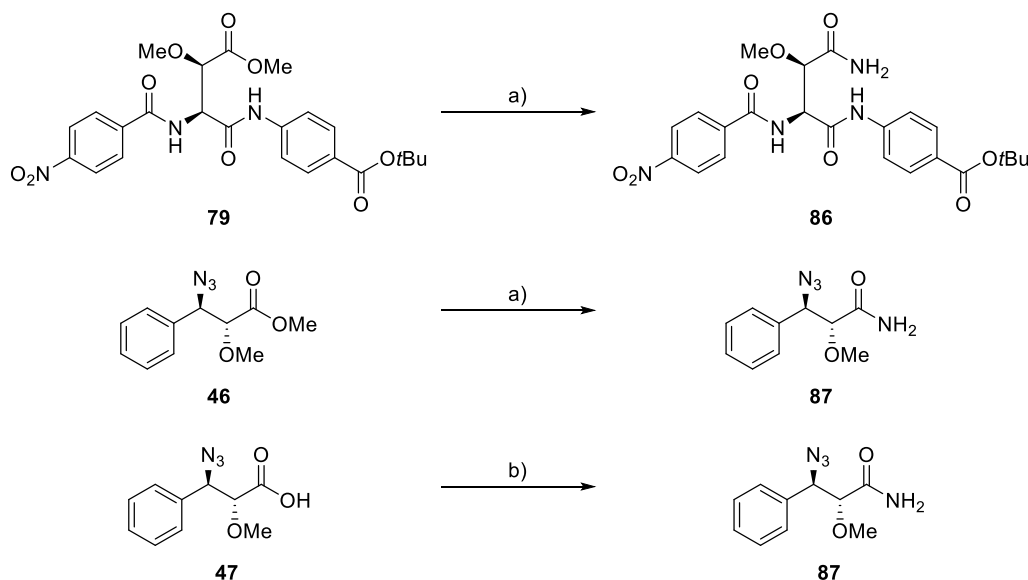


	natürliches Cys 861-2	synthetisches Cys 861-2
H1	8.49 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz)	8.47 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz)
H2	4.92 (t, <i>J</i> = 8.0 Hz)	4.91 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz)
H3	4.10 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	4.09 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz)

Neben dem Protonen-Spektrum stimmen auch das Massenchromatogramm und das CD-Spektrum überein. Die biologischen Daten der synthetischen Verbindung sind in Einklang mit denen der natürlichen Verbindung. Ausführliche Daten wurden bereits in Kapitel 1.3.5 dargestellt.

5.2.6 Optimierungstudien zur Installation des primären Amids

Da das Einbauen des primären Amids zu einem späten Zeitpunkt der Synthese aufgrund von Epimerisierung problematisch ist, wurde untersucht, an welcher Stelle der Einbau alternativ erfolgen kann.



Schema 34: Studien zur Installation des primären Amides.

Reaktionsbedingungen: a) NH_3 (7 N MeOH), $-10\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h; b) NH_4HCO_3 , Boc_2O , Pyridin, Dioxan, RT, 16 h. Bedingungen a) führten in beiden Fällen zur partieller Epimerisierung, Bedingungen b) hingegen nicht.

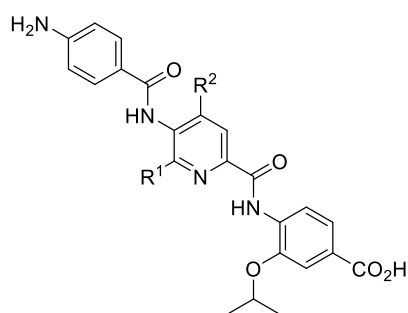
Wie in Schema 34 abgebildet epimerisiert sowohl Verbindung **86** als auch Verbindung **87** in Anwesenheit von Ammoniak in Methanol in geringer Weise. Alternative, mildere Reaktionsbedingungen mit Ammoniumhydrogencarbonat und Boc-Anhydrid^{137, 138} lieferten jedoch Verbindung **87** epimerisierungsfrei. Es wurden keine Ausbeuten bestimmt, da lediglich Testansätze durchgeführt wurden, welche im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum analysiert wurden.

¹³⁷ V. F. Pozdnev, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 7115–7118.

¹³⁸ L. von Eckardstein, D. Petras, T. Dang, S. Cociancich, S. Sabri, S. Grätz, D. Kerwat, M. Seidel, A. Pesic, P. C. Dorrestein, M. Royer, J. B. Weston, R. D. Süßmuth, *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 15316–15321.

5.3 Strukturanaloga

Erste Struktur-Aktivitäts-Beziehungen wurden bereits von Dr. TESTOLIN am vereinfachten Desmethoxy-861-2 Cystobactamid durchgeführt.⁵⁴ Sowohl der C- als auch der N-Terminus wurden dabei untersucht. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass für den A-Ring elektronenarme Substituenten in *para*-Position die besten Resultate liefern. Heterocyclen wirken sich ebenfalls günstig aus. Am C-Terminus ist das Vorhandensein der Carboxylgruppe essentiell. Das freie Phenol am D-Ring schien ebenfalls notwendig, da alle untersuchten Modifikationen dieses Rings negative Auswirkungen auf die Aktivität hatten. Im Gegensatz dazu können Modifikationen am E-Ring vorgenommen werden.⁵⁴ Hartmann *et al.* führten Derivatisierungen an dem verkürzten Cystobactamid 507 (**24**) durch.¹³⁹ Dabei wurden unter anderem die beiden Verbindungen **88** und **89** synthetisiert. Wird das tetrasubstituierte Aren durch ein trisubstituiertes Pyridin ersetzt, sind die Verbindungen um ein vielfaches aktiver als das Cystobactamid 507 (**24**). Verbindung **88**, bei der die Isopropoxygruppen *syn* zueinander stehen, ist dabei viermal so aktiv wie Verbindung **89**.¹³⁹



88 R¹ = O*i*Pr, R² = H
89 R¹ = H, R² = O*i*Pr

Abbildung 25: Strukturen der aktiveren Derivate der verkürzten Cystobactamide.

Neben der Synthese natürlicher Cystobactamide sollten auch im Rahmen dieser Arbeit Strukturanaloga des Cystobactamids 861-2 (**30**) synthetisiert werden. Dabei soll der Einfluss der Methoxygruppe im Vergleich zu den Desmethoxy-Derivaten auf das Aktivitätsspektrum untersucht werden. Des Weiteren soll die basenlabile Amidbindung zwischen dem C- und dem D-Ring durch den stabileren Harnstoff substituiert werden. Alternativ zum Harnstoff sollen die entsprechenden Ringe durch einen Triazolring verknüpft werden.

¹³⁹ W. Elgaher, M. Hamed, S. Baumann, J. Herrmann, L. Siebenbürger, A. Kirschning, M. Brönstrup, R. Müller, W. Hartmann, Manuskript in Vorbereitung.

Eine Übersicht der beiden synthetischen Routen ist in Tabelle 15 gezeigt. Die Ausbeuten der beiden unterschiedlichen Synthesestrategien sind zwar ähnlich, jedoch ist sie im Fall des 920-1 (**29**) trotz einer zusätzlichen Stufe besser. Für die Derivate sollen also folglich bevorzugt die Arylfragmente AB bzw. CDE an den Linker gekuppelt werden.

Tabelle 15: Zusammenfassung der Synthesestrategien der Cystobactamide 920-1 (**29**) und 861-2 (**30**) sowie zwei mögliche Strategien für geplante Derivate.

Cys 920-1 (29)	Cys 861-2 (30)	Derivate
D + E	Linker + C	Linker + CDE
C + DE	B + LinkerC	AB + LinkerCDE
AB + Linker	BLinkerC + DE	AB + Linker
ABLinker + CDE	A + BLinkerCDE	ABLinker + CDE
2.6 % l.l.S. (14 Stufen)	2.3 % l.l.S. (13 Stufen)	

Die Synthesen beider Arylsysteme wurden bereits für Multigramm-Maßstäbe optimiert.⁸¹ Die Zahl der chromatographischen Reinigungen beläuft sich dabei auf keine für das AB-Fragment und drei für das CDE-Fragment.

Der Großteil der Linkersynthese ist ebenfalls im Multigramm-Maßstab skalierbar. Die KUHN-ROTH-Oxidation stellt jedoch ein Nadelöhr dar, da sie lediglich in kleinem Maßstab (bis max. 1 g) ohne Einbruch der Ausbeute gelingt. Aufgrund dessen wurde von Dr. NORRIS⁸⁰ eine alternative Synthese des Linkers entwickelt, welche ihre Anwendung in der Herstellung neuer Derivate fand.

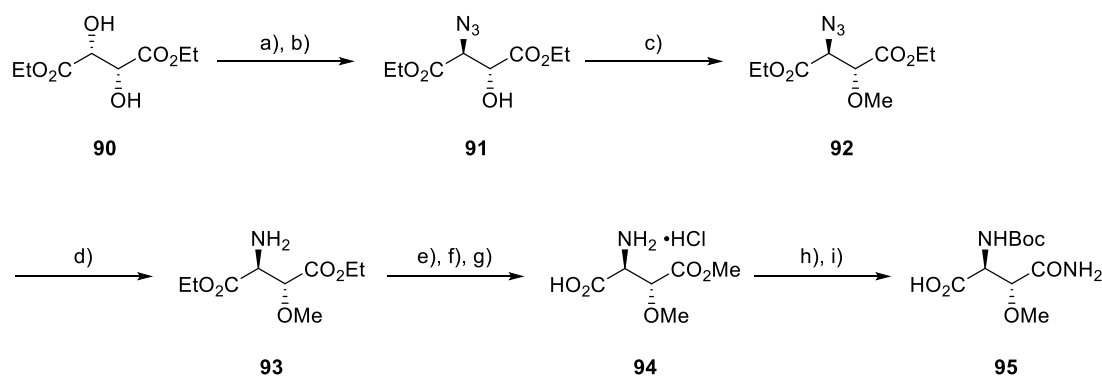
5.3.1 Synthese des Linkers der zweiten Generation

Neben der bereits erwähnten Problematik der KUHN-ROTH-Oxidation ist der für die SHARPLESS Dihydroxylierung benötigte AD-Mix relativ teuer. Die späte Einführung des primären Amids führte bei der Synthese des Cystobactamids 861-2 (**30**) ebenfalls zu Problemen. Eine Umstellung der Synthese war somit ohnehin notwendig. Die neue Syntheseroute sollte zuverlässig in großen Maßstäben durchführbar sein. Außerdem soll sie hohe Konvergenz aufweisen. Dies würde die Handhabung der größeren Moleküle bei den Endstufen auf ein Minimum reduzieren und die Synthesen der jeweiligen Fragmente skalierbar machen. Für die

Synthese des Methoxyaspartats sollten außerdem möglichst kostengünstige Chemikalien und keine sensitiven Methoden verwendet werden. Die benötigte Chiralität sollte möglichst kostengünstig verfügbar sein.

Prinzipiell würde es die zwei in Tabelle 15 dargestellten Möglichkeiten geben, die Fragmente AB und CDE an den Linker zu koppeln. Bei der Kupplung des AB-Fragments handelt es sich um eine Amidkupplung zwischen einem Benzoat und einem aliphatischen Amin. Bei der Kupplung des CDE-Fragments an die Aspartat-Einheit handelt es sich jedoch um eine Amidkupplung zwischen einem elektronenarmen Anilin mit einer aliphatischen Carbonsäure. Da diese Kupplung anspruchsvoller ist, soll sie als erstes durchgeführt werden.

Das neue Aspartatderivat **95** wurde ausgehend von (2*R*,3*R*)-Diethyltartrat (**90**) synthetisiert. Eine Übersicht der Synthese ist in Schema 35 gezeigt. Azid **91** konnte ausgehend von Tartrat **90** problemlos in einem Maßstab von 30 g durch eine S_N2-Reaktion hergestellt werden. Die Aufarbeitung wurde so optimiert, dass keine säulenchromatographische Reinigung notwendig war. Die Stereochemie beider benötigter Zentren konnte so in zwei Stufen zu Beginn der Synthese eingestellt werden. Die anschließende Methylierung des Alkohols lieferte Produkt **92** in exzellenten Ausbeuten von 97%. Die nachfolgende Hydrierung zu Amin **93** lieferte ebenfalls nahezu quantitative Ausbeuten.



Schema 35: Synthese des Mittelfragmentes **95** ausgehend von (2*R*,3*R*)-Diethyltartrat (**90**). Reaktionsbedingungen: a) SOCl₂, DMF, 50 °C, 1.5 h, b) NaN₃, DMF, 35 °C, 20 h (64% über zwei Stufen), c) MeI, Ag₂O, CH₂Cl₂, RT, 20 h (97%), d) H₂ (1 atm), Pd(OH)₂ (1.1 mol% auf Aktivkohle), EtOAc, RT, 3 d (97%), e) HCl, H₂O, 80 °C, 20 h, f) Propylenoxid, THF, RT, 3 h, g) AcCl, MeOH, RT, 20 h (57% über drei Stufen), h) Boc₂O, NaHCO₃, H₂O, THF, RT, 18 h, i) NH₃, RT, 4 h (73% über zwei Stufen).⁸⁰

Beide Ethylester wurden mit 5 M Salzsäure hydrolysiert. Da unter diesen Bedingungen als Nebenreaktion das Hydrochlorid desamins gebildet wird, wurde die überschüssige Salzsäure durch Zugabe von Propylenoxid entfernt. Die Carboxylgruppe in α -Position zum freien Amin

wurde *in situ* geschützt, was die Veresterung der β -Carboxylgruppe begünstigte. Amin **94** konnte als Hydrochlorid in einer Ausbeute von 57% über drei Stufen gefällt werden. Es wurde selektiv die Bildung des Produktes **94** 2D-NMR-spektroskopisch nachgewiesen. Schließlich konnte das Amin Boc-geschützt werden und der Methylester in das primäre Amid **95** überführt werden. Dieses wurde mit einer minimalen Verunreinigung von unter 5% gefällt. Bei dem Nebenprodukt könnte es sich entweder um epi-**95** oder um das Boc-freie Amin handeln. Die Frage der Verunreinigung konnte aufgrund der geringen Menge allerdings nicht geklärt werden. Das Methoxyaspartat **95** konnte insgesamt in einer Ausbeute von 25% über neun Stufen hergestellt werden. Es war keine säulenchromatographische Reinigung notwendig, da alle Nebenprodukte unter den sauren Bedingungen während der Esterhydrolyse entfernt wurden. Die anschließende Fällung der Produkte **94** und **95** erhöhte die Reinheit zusätzlich.

5.3.2 Synthese von Harnstoffderivaten

Wie bereits erwähnt ist die Amidbindung zwischen dem C- und dem D-Ring aufgrund ihrer hohen Azidität besonders labil. Das Enzym AlbD, welches in dem Gram-negativen Bakterium *Pantoea dispersa* gefunden wurde, spaltet Albicidin (**23**) an besagter Amidbindung in zwei inaktive Fragmente. Süssmuth *et al.* konnten zeigen, dass das Enzym Cystobactamide ebenfalls effektiv hydrolysieren kann.¹⁴⁰ Noch ist das Bakterium ungefährlich und somit ohne klinische Relevanz.¹⁴¹ Durch horizontalen Gentransfer könnten jedoch klinisch relevante Bakterienstämme entstehen, welche auch Auswirkungen auf die Wirksamkeit der Albicidine und Cystobactamide hätten.⁵⁴ Um zum einen mögliche Resistenzen zu umgehen und zum anderen die Moleküle stabiler gegen Hydrolyse im Plasma zu machen, soll die Amidbindung durch den stabileren Harnstoff ersetzt werden. Eine Übersicht der zunächst geplanten Derivate ist in Abbildung 26 zusammengefasst.

Es soll ein verkürztes Derivat synthetisiert werden. Neben einem Harnstoff zwischen dem C- und dem D-Ring sollte auch ein Thioharnstoff installiert werden. Der Einbau eines zusätzlichen Kohlenstoffatoms sollte ebenfalls untersucht werden, da aufgrund des Harnstoffs die lineare Form der Seitenkette nicht mehr gegeben ist. Die Position des Harnstoffs sollte ebenfalls variiert werden. Dieser sollte somit zwischen dem A- und dem B-Ring eingebaut

¹⁴⁰ L. Vieweg, J. Kretz, A. Pesic, D. Kerwat, S. Grätz, M. Royer, S. Cociancich, A. Mainz, R. D. Süssmuth, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7608–7611.

¹⁴¹ V. Mehar, D. Yadav, J. Sanghvi, N. Gupta, K. Singh, *Braz. J. Infect. Dis.* **2013**, *17*, 726–728.

werden. Ein Strukturanalogon mit zwei Harnstoffen zwischen A-,B-Ring und zwischen C-,D-Ring wurde ebenfalls geplant. Die meisten Analoga wurden mit einem Nitril am *N*-Terminus geplant, da Vorarbeiten bereits zeigten, dass diese Verbindungen aktiver sind als die entsprechenden Verbindungen mit einer Nitrogruppe.⁵⁴

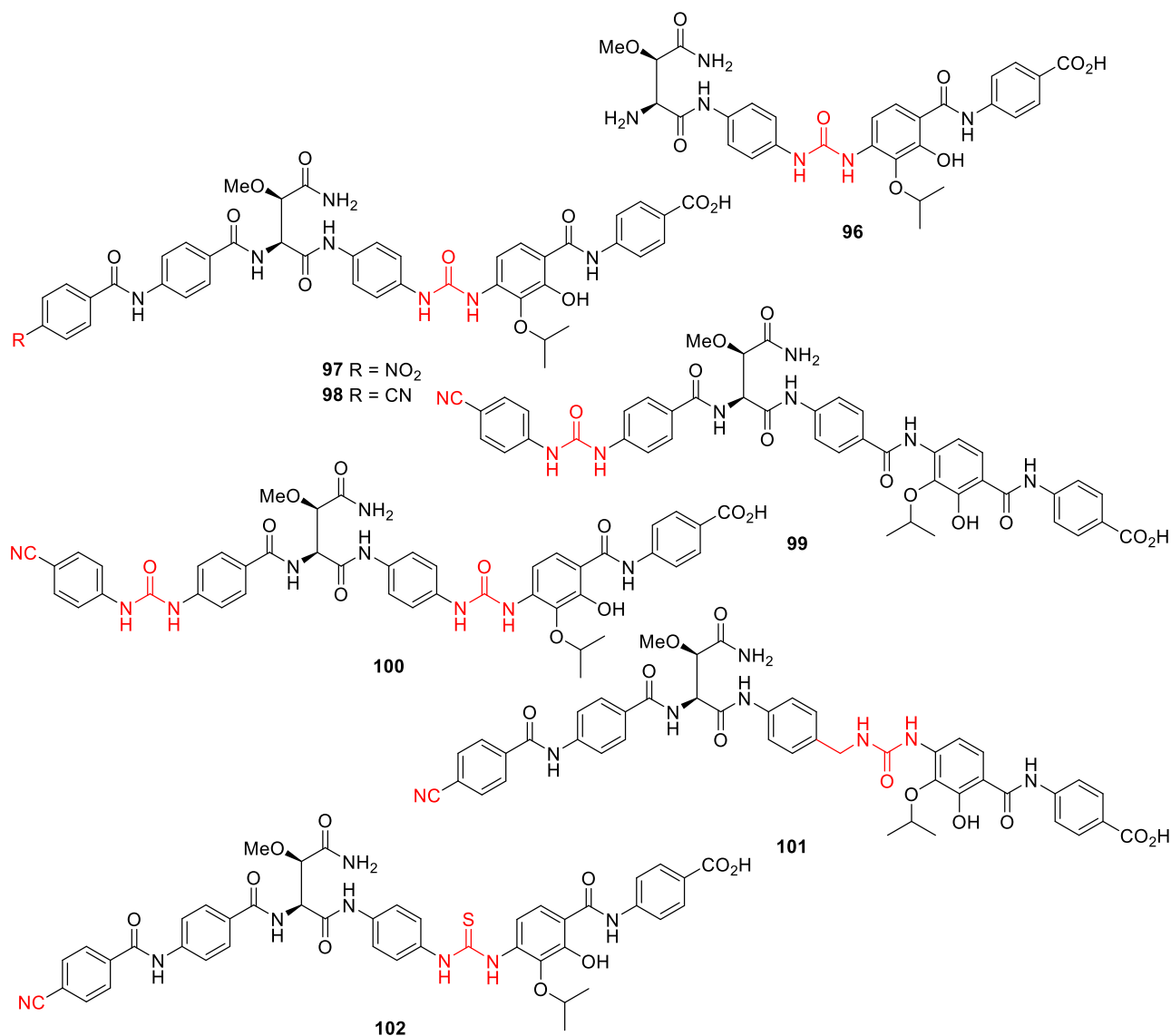
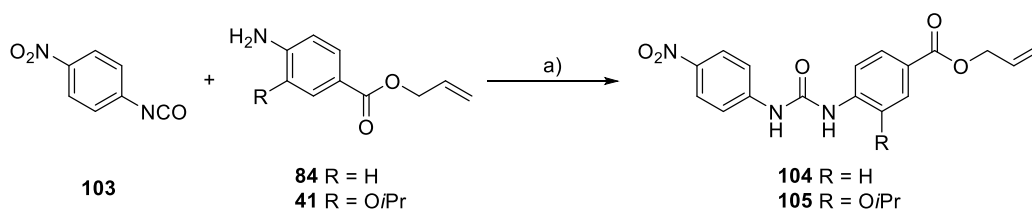


Abbildung 26: Geplante Harnstoff- und Thioharnstoffderivate.

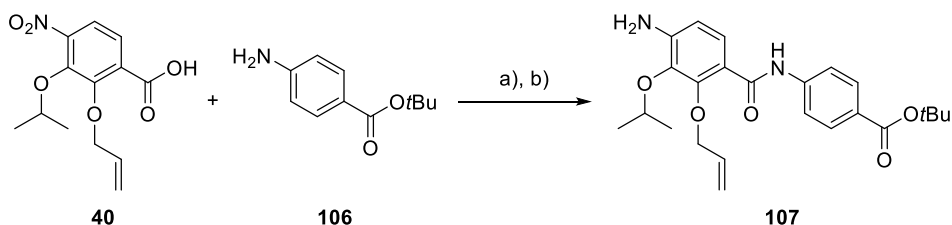
Da für die Verbindungen **96-98** und **100** der Harnstoff an derselben Position sitzt, wurde zunächst versucht, diesen zu installieren. Zumal bekannt war, dass das tetrasubstituierte Aren aufgrund seiner geringen Nukleophilie sehr reaktionsträge ist, wurden zunächst Testreaktionen mit geschützten *para*-Aminobenzoesäuren durchgeführt, um prinzipiell geeignete Reaktionsbedingungen zu finden.



Schema 36: Testsysteme zur Etablierung geeigneter Reaktionsbedingungen des Harnstoffostfragments. Reaktionsbedingungen: a) THF, 40 °C, 17 h (82% **104**; 76% **105**).

Die Installation der Harnstoffgruppe ausgehend von Isocyanat **103** mit der *para*-Aminobenzoesäure **84** und mit dem trisubstituierten Aren **41** lieferten gute Ausbeuten zwischen 76-82%. Alternative Reaktionsbedingungen von *para*-Nitroanilin mit Verbindung **84** und Triphosgen führten lediglich zu einer Ausbeute von 46%.

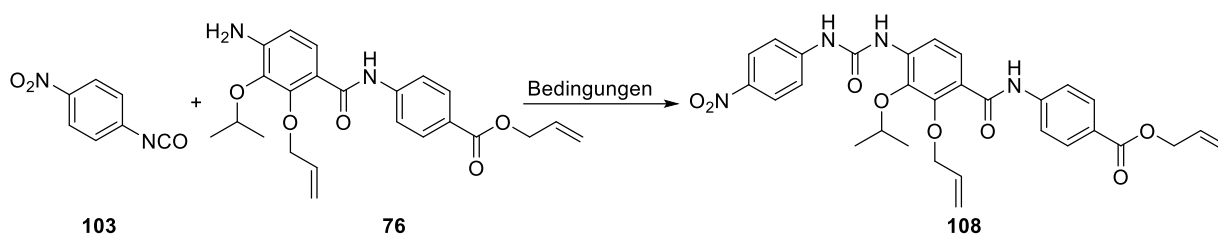
Aufgrund der erfolgreichen Testkupplungen sollten die in Schema 36 gezeigten Bedingungen auf das tetrasubstituierte Aren **107** übertragen werden. Im Gegensatz zu den Synthesen der beiden Naturstoffe wurde hier eine Allylschützung des Phenols und ein *t*Bu-Ester für die C-terminale Carbonsäure gewählt. Diese Modifikation der Schutzgruppen sollte die Reinigung der finalen Produkte erleichtern.



Schema 37: Synthese des Amins **107** ausgehend von Säure **40** und Anilin **106**.

Reaktionsbedingungen: a) DIPEA, POCl₃, CH₂Cl₂, RT, 1 h (98%), b) Zn-Staub, AcOH, THF, EtOH, 70 °C, 3 h (83%).

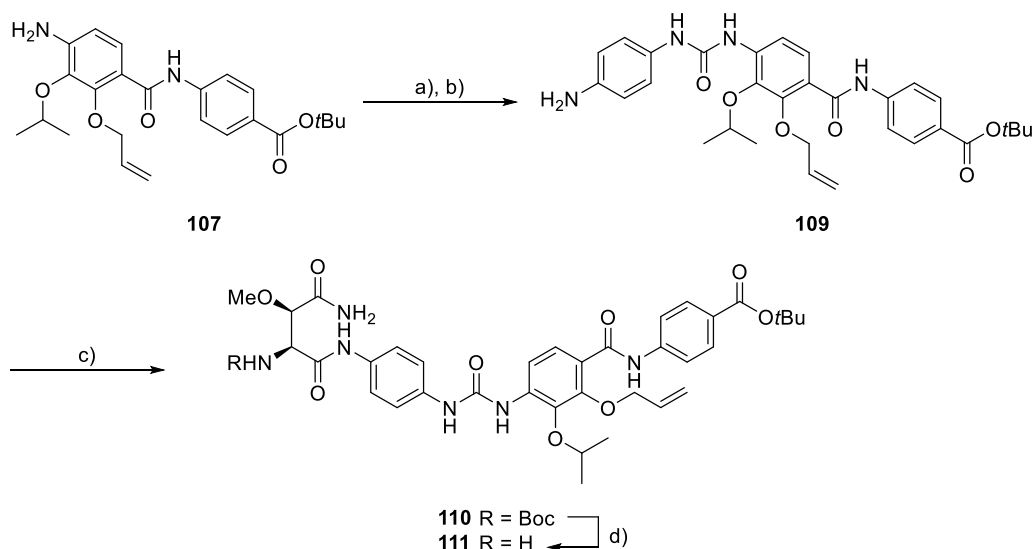
Da noch ein wenig Aren **76** vorhanden war, wurde dieses zunächst zur Optimierung der Bedingungen am tetrasubstituierten System verwendet. Wie in Tabelle 16 zu sehen ist, lieferten die Bedingungen aus Schema 36 lediglich 18% des Produkts. Verlängerung der Reaktionszeit, Zugabe von Triethylamin und eine schrittweise Zugabe von Isocyanat **103** konnten die Ausbeute bis auf 76% erhöhen. Diese gute Ausbeute kann allerdings lediglich in kleinem Maßstab (bis 50 mg Aren **76**) erreicht werden. Das parallele Durchführen der Reaktionen mit vereinigter Aufarbeitung ist jedoch möglich. Die Durchführung der Reaktion in der Mikrowelle konnte die Ausbeute ebenfalls nicht erhöhen.

Tabelle 16: Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Synthese des Harnstoffs **108**.

#	Reaktionsbedingungen	Ausbeute [%]
1	103 (2 Äq), THF, 40 °C, 24 h	18
2	103 (2 Äq), NEt ₃ , THF, 40 °C, 17 h	41
3	103 (2 x 2 Äq), NEt ₃ , THF, 40 °C, 2 d	53
4	103 (3 x 1.5 Äq), NEt ₃ , THF, 40 °C, 2 d	76

Die Synthese des Harnstoffderivats wurde unter den Bedingungen aus Eintrag vier ebenfalls mit Anilin **107** durchgeführt. Die anschließende Reduktion der Nitrogruppe mit Zinkstaub lieferte das Ostfragment **109** (siehe Schema 38). Das elektronenarme Anilin **109** konnte erfolgreich an den Linker **95** gekuppelt werden. Dieser Schritt stellt eine besondere Herausforderung dar, da klassische Kupplungsbedingungen auf elektronenreichen stickstoffhaltigen Nucleophilen beruhen. Die hier vorliegenden Aniline sind gering nukleophil. Darüber hinaus könnte das Asparagincarboxamid mögliche Konkurrenzreaktionen eingehen. Klassische Kupplungs-reagenzien wie Säurechloride, Aktivester und gemischte Anhydride sind zwar prinzipiell reaktiv genug, jedoch werden sie gewöhnlich in Gegenwart von Basen eingesetzt. Das vorhandene Carboxamid könnte unter diesen Bedingungen allerdings dehydratisieren oder isomerisieren.^{126, 127} Mit EEDQ als Kupplungsreagenz ist keine Base notwendig, was die Razemisierungstendenz gering hält.¹⁴² Kupplungsprodukt **110** konnte in einer Ausbeute von 68% isoliert werden. Die Polarität des Lösungsmittels ist hierbei entscheidend für die Dehydratationsrate. Während in Chloroform überwiegend das gewünschte Carboxamid gebildet wird, entsteht in DMF unter denselben Reaktionsbedingungen überwiegend das Nitril.¹³⁸ Eine säulenchromatographische Reinigung konnte nicht umgangen werden. Die selektive Entschützung der Boc-Gruppe in Gegenwart des *t*Bu-Esters ist möglich. Die angegebenen Reaktionsbedingungen müssen jedoch exakt eingehalten werden, da sowohl bei zu langen Reaktionszeiten als auch bei zu hohen Temperaturen der *t*Bu-Ester mit hydrolysiert.

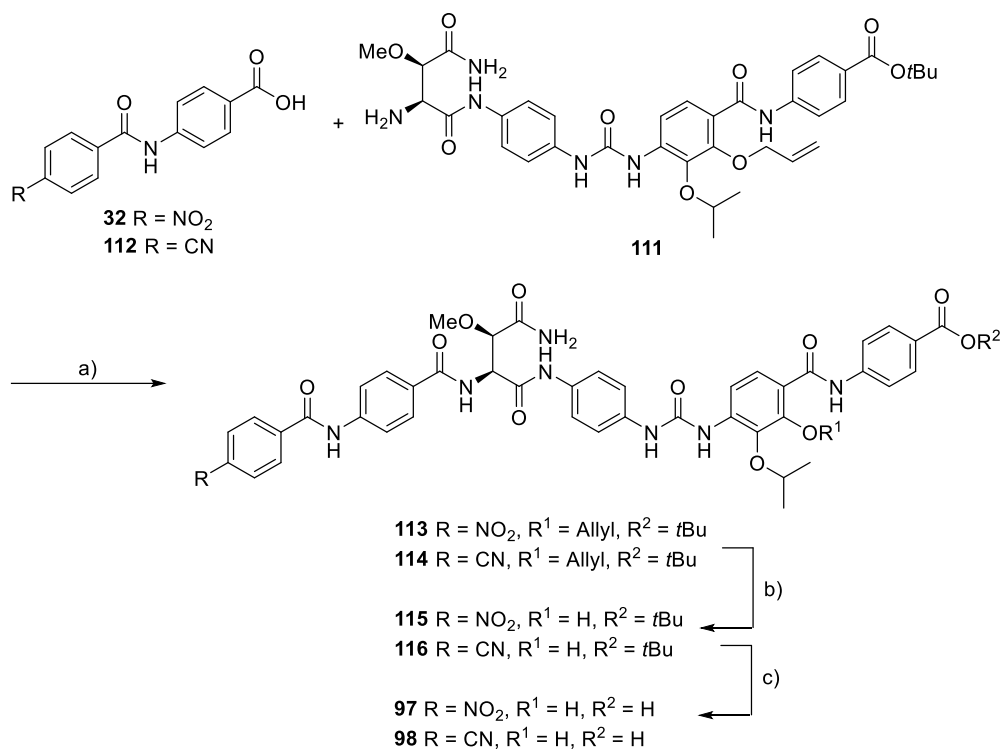
¹⁴² B. Belleau, G. Malek, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1651–1652.



Schema 38: Darstellung von Verbindung **111** ausgehend von Diarylsystem **107**.

Reaktionsbedingungen: a) **103** (3 x 1.5 Åq), NEt₃, THF, 40 °C, 2 d (72%), b) Zn-Staub, AcOH, THF, EtOH, 55 °C, 3 h (70%), c) **95**, EEDQ, CHCl₃, RT, 16 h (68%), d) HCl (4M Dioxan), 0 °C, 20 min (49%).

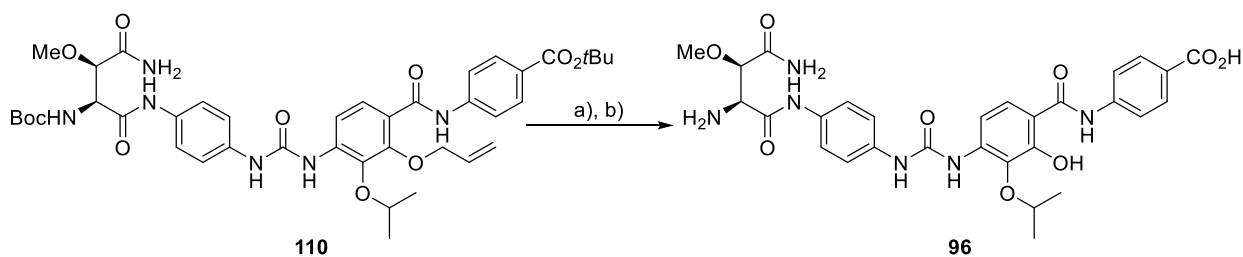
Die nachfolgende Kupplung mit HATU lieferte die Verbindungen **113** und **114** (Schema 39). Diese enthalten bereits das gewünschte Grundgerüst und wurden in den nachfolgenden zwei Stufen entschützt. Zunächst wurde die Allylgruppe mittels Pd(PPh₃)₄ und Anilin als *Scavenger* entfernt. Die Reinigung mittels RP-HPLC ist unter sauren Bedingungen aufgrund des *t*Bu-Esters möglich, da die Retentionszeiten der Produkte von der Retentionszeit des Triphenylphosphinoxids abweichen. Eine Reinigung mittels Säulenchromatographie ist ebenfalls möglich. Dabei kann unter Verwendung eines zweistufigen Gradienten zunächst das Nebenprodukt abgetrennt werden. Die gewünschten Produkte konnten im Anschluss unter Verwendung von 5% MeOH in Dichlormethan eluiert werden. Es ist wichtig, alle Verunreinigungen auf dieser Stufe zu entfernen, da nach der finalen Entschützung des *t*Bu-Esters in TFA die Produkte durch Zugabe von Diethylether gefällt werden können und lediglich mit Ether gewaschen und am Hochvakuum getrocknet werden. Diese optimierte Aufarbeitung ermöglicht die unproblematische Herstellung der Cystobactamide und deren Strukturanaloga bisher im Multimiligramm-Maßstab (aktuell bis ca. 150 mg).



Schema 39: Synthese der Harnstoffderivate **97** und **98** ausgehend von Amin **111** und den Säuren **32** und **112**.

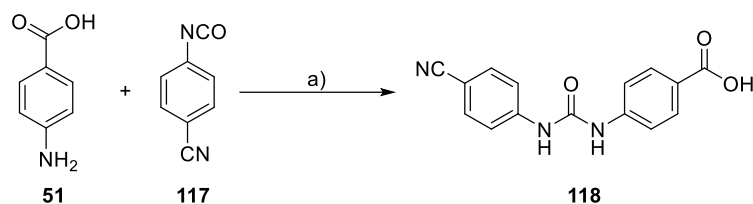
Reaktionsbedingungen: a) HATU, DIPEA, DMF, RT, 15 h (59% **113**, 54% **114**), b) Pd(PPh₃)₄, Anilin, THF, RT, 2,5 h (48% **115**, 61% **116**), c) TFA, 0 °C, 0,5 - 6 h (69% **97**, 99% **98**).

Das verkürzte Derivat **96** wurde ausgehend von Verbindung **110** synthetisiert. Diese wurde nach zwei Stunden Reaktion mit 4 M HCl sowohl Boc- als auch *t*Bu-entschützt. Eine finale Entschützung der Allylgruppe mit anschließender RP-HPLC-Reinigung lieferte das Derivat **96** in guten Ausbeuten.



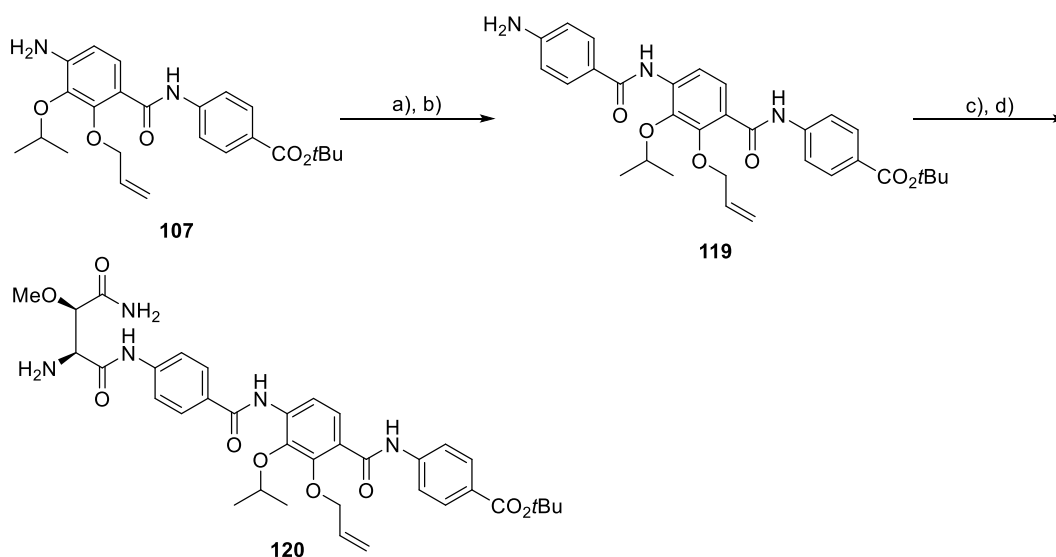
Schema 40: Synthese des verkürzten Harnstoffderivats **96** ausgehend von Verbindung **110**. Reaktionsbedingungen: a) HCl (4 M Dioxan), RT, 30 min (89%), b) Pd(PPh₃)₄, Anilin, THF, RT, 2,5 h (69%).

Zur Synthese des Harnstoff-tragenden Westfragmentes wurden 4-Aminobenzoesäure (**51**) und 4-Cyanophenylisocyanat (**117**) gekuppelt. Das Produkt **118** konnte in einer sehr guten Ausbeute von 96% erhalten werden.



Schema 41: Synthese des Harnstoffwestfragmentes **118**.
Reaktionsbedingungen: a) DIPEA, THF, 55 °C, 16 h (96%).

Das Fragment **120**, welches für das Derivat **99** benötigt wurde, konnte analog unter den bereits etablierten Bedingungen synthetisiert werden (Schema 42).



Schema 42: Synthese des Fragmentes **120** ausgehend vom Anilin **107**.
Reaktionsbedingungen: a) **39**, Pyridin, CH₂Cl₂, RT, 1.5 h, b) Zn-Staub, AcOH, THF, EtOH, 70 °C, 3 h (82% über zwei Stufen), c) **95**, EEDQ, CHCl₃, RT, 16 h (63%), d) HCl (4M Dioxan), 0 °C, 15 min (48%).

Analog zu den in Schema 39 dargestellten Bedingungen wurden die Fragmente **118** und **111** zu dem geschützten Vorläufer von Derivat **100** gekuppelt. Die Fragmente **118** und **120** ergaben entsprechend den Vorläufer von Derivat **99**. Beide Verbindungen konnten gemäß der beschriebenen Bedingungen entschützt und gefällt werden.

Bevor die Derivate auf ihre biologische Aktivität getestet werden sollten, wurde zunächst untersucht, ob die Verbindungen im basischen Milieu stabiler sind als die Naturstoffe. Hierzu

wurde das Derivat **98** in DMSO- d_6 gelöst und mit 10 μ L Triethylamin (12 Äq) versetzt. Anschließend wurde in regelmäßigen Abständen ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum gemessen. Die Studie zeigte, dass auch nach 27 h keine Veränderung im NMR-Spektrum erkennbar war (Abbildung 27).

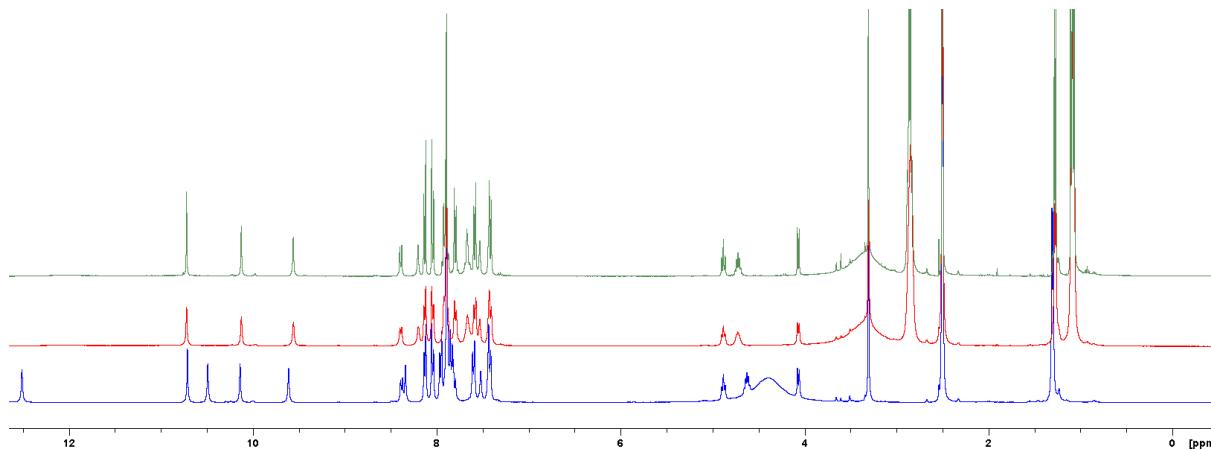


Abbildung 27: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren Vergleich im basischen Milieu über einen Zeitraum von 27 h. Blau: Derivat **98** ohne Zugabe von Base, rot: Derivat **98** unmittelbar nach Zugabe von 12 Äq TEA, grün: Derivat **98** nach 27 h basischer Exposition.

Zusätzlich zum NMR-Experiment wurde ein weiteres Derivat mit AlbD umgesetzt (Abbildung 28). Auch diese Untersuchung zeigte, dass die Harnstoffe nicht von AlbD hydrolysiert werden.¹⁴³

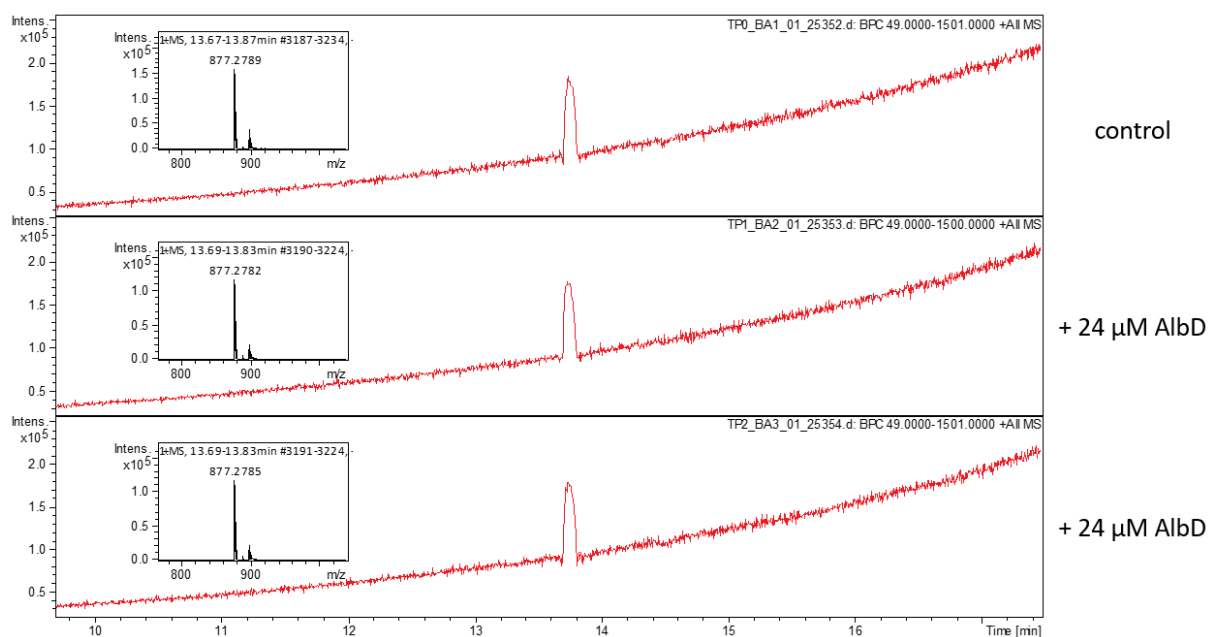
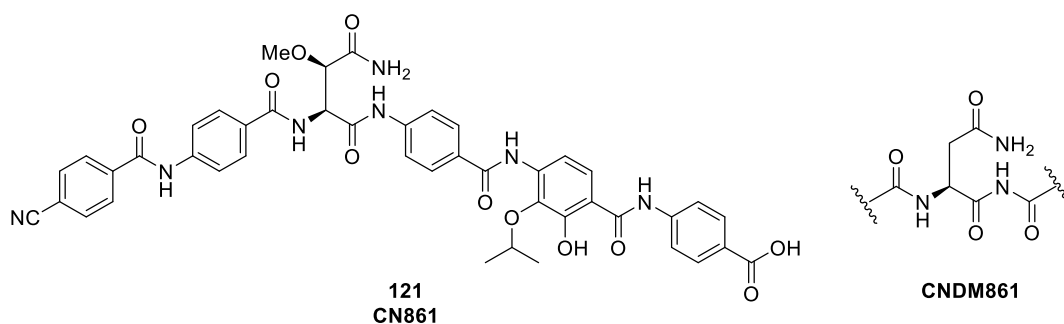


Abbildung 28: AlbD Spaltungs-Assay für das Derivat **97**.¹⁴³

¹⁴³ Das Experiment wurde von J. KRULL am HZI in Braunschweig durchgeführt.

Die biologischen Daten der ersten fünf Harnstoffderivate sind in Tabelle 17 aufgeführt. Als Referenzen wurden das aktuell in der Klinik verwendete Fluorchinolon Ciprofloxacin (**27**) sowie die beiden Cystobactamide Cyano-861-2 (**121**)¹⁴⁴ und Cyanodesmethoxy-861-2¹⁴⁵ gewählt. Bisher galt das Cyanodesmethoxy-861-2 als Referenz, da es bis dato das Cystobactamid-Derivat mit den besten biologischen Daten war. Das Cyano-861-2 (**121**) weist jedoch noch bessere biologische Aktivitäten auf. Die Vermutung, dass die Methoxygruppe wichtig für die biologische Wirkung der Cystobactamide ist, konnte somit bestätigt werden.

Tabelle 17: Getestete antibakterielle Aktivität der ersten Strukturanaloga.



Verbindung	MHK [$\mu\text{g/mL}$]				
	<i>E. coli</i> BW25113	<i>E. coli</i> Δ acrB	<i>S. aureus</i> Newman	<i>P. aeruginosa</i> Pa14	Pa14A <i>mexAB</i>
CIP	0.005	<0.003	0.2	0.2	0.01
CNDM861^a	<0.03	<0.03	1	4	1
CN861^b	<0.03	0.06	0.125	1	0.125
96	>64	>64	>64	>64	>64
97	>64	>64	>64	>64	>64
98	1	<0.03	>64	>64	>64
99	<0.03	<0.03	16	1	1
100	>64	>64	>64	>64	>64

a) Cyanodesmethoxy-861-2 b) Cyano-861-2; Alle MHKs wurden am Helmholtz Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) in der Abteilung für mikrobielle Naturstoffe (MINS) von K. CIRNSKI bzw. Dr. J. HERRMANN ermittelt. Verdünnungsreihen wurden aus Cysto-Stammlösungen (5 mg/mL, DMSO) hergestellt.

Das verkürzte Derivat **96** sowie der Diharnstoff **100** sind gegenüber allen getesteten Stämmen inaktiv. Interessanterweise zeigt das Cyanoderivat **98** im Vergleich zum Nitroderivat **97** Aktivität gegen *E. coli* Stämme, was den positiven Effekt der Cyanogruppe nochmals

¹⁴⁴ Synthetisiert von M. MÖLLER (M. Möller, *Masterarbeit*, Leibniz Universität Hannover, 2018.)

¹⁴⁵ Synthetisiert von G. TESTOLIN (siehe Fußnote 54)

verdeutlicht. Leider zeigt keines der Harnstoff-Derivate, mit Urea-Gruppe zwischen dem C- und dem D-Ring nennenswerte antibakterielle Aktivität. Ist die Harnstoffgruppe zwischen dem A- und dem B-Ring lokalisiert wird hingegen Aktivität gefunden. Das entsprechende Derivat **99** zeigte im Primärscreen eine Aktivität gegenüber allen getesteten Bakterien. Im Weiteren wurde der Kreis der Bakterienstämme erweitert, wie in Tabelle 18 aufgeführt.

Tabelle 18: Erweiterte Validierung zur antibakteriellen Aktivität des Derivats **99**.

	MHK [$\mu\text{g/mL}$]			
	CIP	CN-861	CN-DM861	99
<i>E. faecalis</i> ATCC-29212	0.8	<0.03	0.5	>64
<i>S. epidermidis</i> DSM-28765	0.32	<0.03	0.06	16
<i>A. baumannii</i> DSM-30008	0.32	1	0.5	0.5
<i>E. coli</i> DSM-1116	0.01	0.125	<0.03	0.25
<i>E. coli</i> DSM-1116 CP ^R nr1	0.16	2	0.5	1
<i>E. coli</i> DSM-1116 Cys861-2 ^R nr3	0.02	>64	>64	>64
<i>E. coli</i> DSM-1116 Cys919-2 ^R nr5	0.01	4	2	>64
<i>E. coli</i> DSM-26863 (<i>tolC3</i>)	0.01	<0.03	0.06	0.25
<i>E. coli</i> WT	0.025	<0.03	<0.03	0.25
<i>E. coli</i> WT-3 [<i>gyrA</i> (S83L,D87G)]	0.32	0.06	0.06	1
<i>E. coli</i> WT-III [<i>marR</i> Δ 74bp]	0.05	0.125	0.125	1
<i>E. coli</i> BW25113	0.005	<0.03	<0.03	<0.03
<i>E. coli</i> Δ <i>acrB</i>	<0.003	0.06	<0.03	<0.03
<i>E. aerogenes</i> DSM-30053	0.1	2	0.25	>64
<i>E. cloacae</i> DSM-30054	0.1	64	0.25	>64
<i>P. aeruginosa</i> DSM-24600 (ESBL)	6.4	1	64	>64
<i>P. aeruginosa</i> DSM-46316 (ESBL)	0.1	0.5	1	64
<i>K. pneumoniae</i> DSM-30104	0.01	64	>64	>64
<i>C. freundii</i> DSM-30039	<0.03	<0.03	<0.03	0.25
<i>S. marcescens</i> DSM-30121	0.2	64	>64	>64
<i>P. vulgaris</i> DSM-2140	0.06	<0.03	0.25	1
<i>P. mirabilis</i> DSM-2140	0.02	2	>64	1
<i>S. pneumoniae</i> DSM-20566	0.8	<0.03	<0.03	<0.03
<i>S. aureus</i> DSM-29213	0.4	0.125	0.25	>64

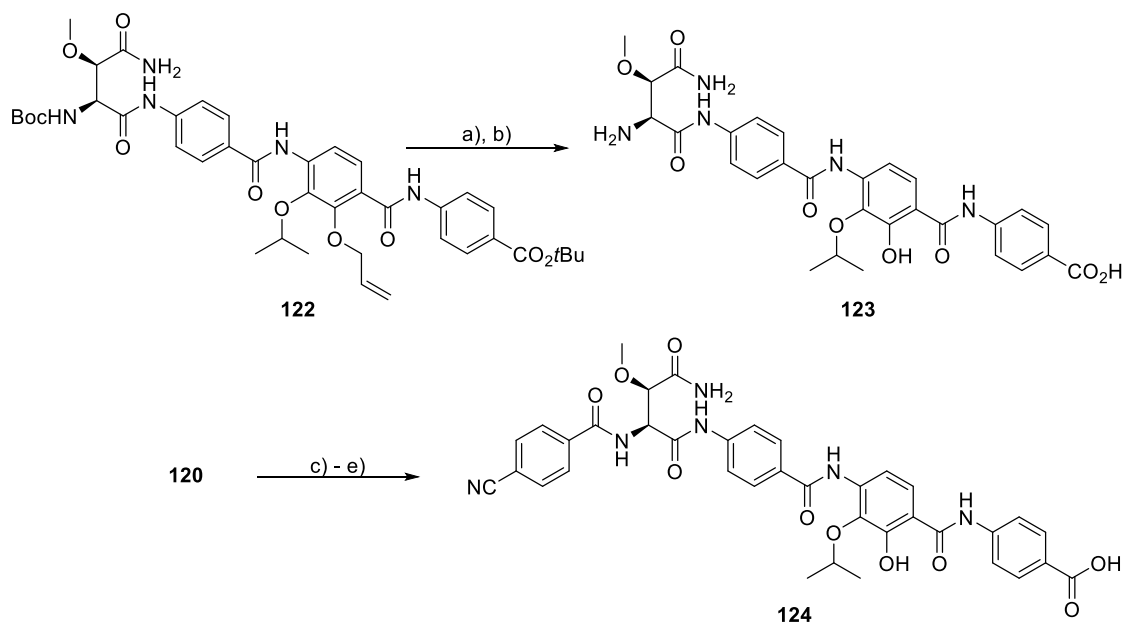
ESBL: Erweitertes β -Lactamase-Spektrum; *E. coli* WT-3 trägt charakteristische Mutationen, die Resistenzen gegen Fluorchinolone verursachen. Alle MHKs wurden am Helmholtz Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) in der Abteilung für mikrobielle Naturstoffe (MINS) von K. CIRNSKI bzw. Dr. J. HERRMANN ermittelt. Verdünnungsreihen wurden aus Cysto-Stammlösungen (5 mg/mL, DMSO) hergestellt.

Verbindung **99** zeigt zum Teil vergleichbare Wirkung mit den aktuell potentesten Cystobactamiden. Im direkten Vergleich ist es jedoch gegenüber einer geringeren Zahl an Bakterienstämmen aktiv. Allein gegen *P. mirabillis* konnte eine bessere antibakterielle Aktivität erzielt werden als mit den bisher aktivsten Verbindungen.

Aufgrund der nicht vorhandenen antibakteriellen Aktivität der Harnstoffderivate wurde der Plan, die Derivate **101** und **102** herzustellen, verworfen.

5.3.3 Synthese von verkürzten Cystobactamid-Derivaten

Alle Derivate, welche zwischen dem C- und dem D-Ring Harnstoffverknüpfungen aufweisen, sind inaktiv. Es sollte getestet werden, ob ein verkürztes Cystobactamid wie das Derivat **96** ohne Harnstoffverknüpfung aktiv ist. Aus diesem Grund wurden die beiden Verbindungen **123** und **124**, wie in Schema 43 gezeigt, synthetisiert.



Schema 43: Synthese der Derivate **123** und **124** ausgehend von den Verbindungen **120** und **122**. Reaktionsbedingungen: a) Pd(PPh₃)₄, Anilin, THF, RT, 2.5 h (57%), b) TFA, 0 °C, 2 h (quant.), c) 4-Cyanobenzoylchlorid, DIPEA, DMF, RT, 15 h (44%), d) Pd(PPh₃)₄, Anilin, THF, RT, 2.5 h (60%), e) TFA, 0 °C, 3.5 h (quant.).

Die minimalen Hemmkonzentrationen sind in Tabelle 19 zusammengestellt. Es ist zu sehen, dass Verbindung **123** ebenso wie Verbindung **96** keine antibakterielle Aktivitäten aufweisen. Im Gegensatz dazu zeigt Verbindung **124** noch Aktivität gegenüber *E. coli* Stämme auf. Es ist also essentiell, mindestens eine aromatische Einheit auf der „Westseite“ zu installieren.

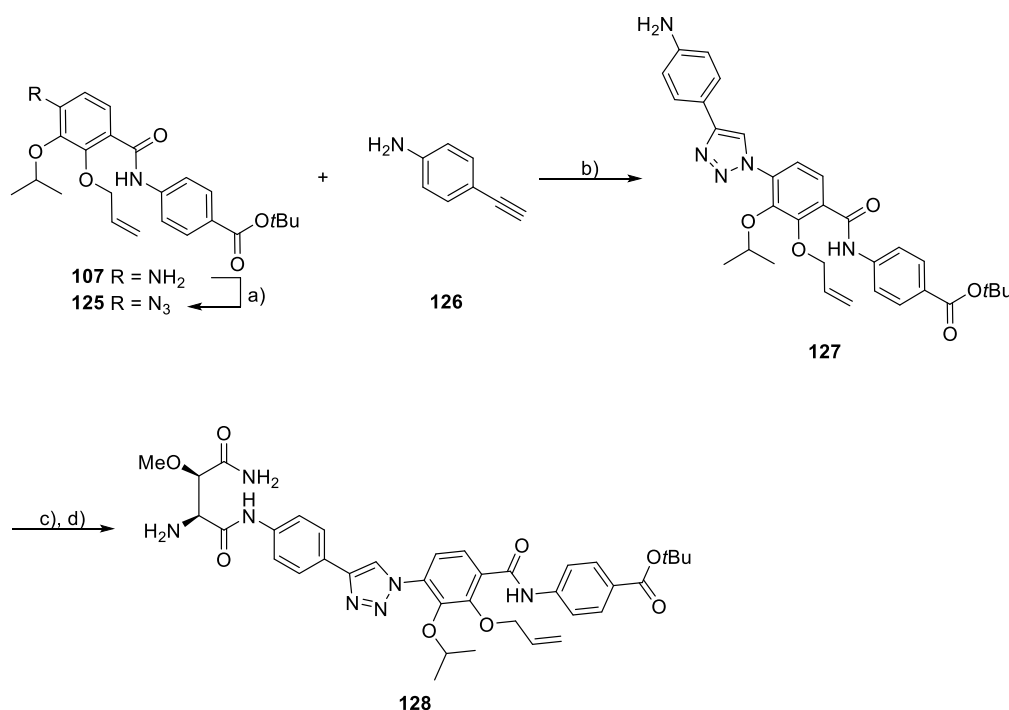
Tabelle 19: Getestete antibakterielle Aktivität der am Westfragment verkürzten Derivate.

Verbindung	MHK [$\mu\text{g/mL}$]				
	<i>E. coli</i> BW25113	<i>E. coli</i> ΔacrB	<i>S. aureus</i> Newman	<i>P. aeruginosa</i> Pa14	Pa14A <i>mexAB</i>
CIP	0.005	<0.003	0.2	0.2	0.01
CNDM861	<0.03	<0.03	1	4	1
CN861	<0.03	0.06	0.125	1	0.125
123	>64	>64	>64	>64	>64
124	8	4	64	>64	64

Alle MHKs wurden am Helmholtz Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) in der Abteilung für mikrobielle Naturstoffe (MINS) von K. CIRNSKI bzw. Dr. J. HERRMANN ermittelt. Verdünnungsreihen wurden aus Cysto-Stammlösungen (5 mg/mL, DMSO) hergestellt.

5.3.4 Synthese von Triazolderivaten

Die Harnstoffderivate sind zwar gegenüber der Endopeptidase AlbD stabil, weisen nahezu jedoch keinerlei antibakterielle Aktivität auf. Um beides zu erreichen, wurde das für Amide biomimetische Triazol als Alternative eingebaut.⁵⁴ Dieses wurde per „Click“-Chemie installiert.¹⁴⁶



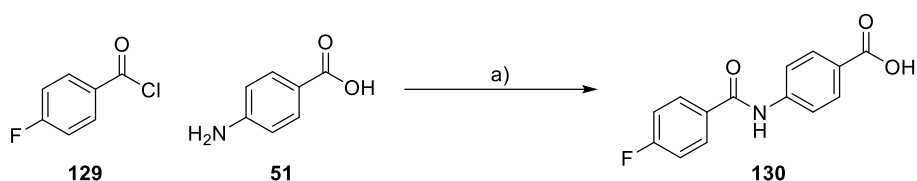
Schema 44: Synthese von Triazol **128** ausgehend von Anilin **107**.

Reaktionsbedingungen: a) *t*BuNO₂, TMSN₃, CH₃CN, 0 °C bis RT, 2 h (quant.), b) Natriumascorbat, CuSO₄, TBTA, H₂O, THF, DMSO, RT, 2 h (95%), c) **95**, EEDQ, CHCl₃, RT, 16 h (67%), d) HCl (4M Dioxan), 0 °C, 15 min (46%).

¹⁴⁶ H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.

Wie in Schema 44 aufgeführt, wurde das Anilin **107** mittels SANDMEYER-Reaktion quantitativ in das Azid **125** überführt. Anschließend wurden das Azid **125** und das terminale Alkin **126** in einer Cu(I)-katalysierten HUISGEN-Cycloaddition^{147, 148} regioselektiv zum 1,4-substituierten Triazol umgesetzt. Das TBTA wird eingesetzt, um die Disproportionierung und Oxidation von Cu(I) zu verhindern.¹⁴⁹ Die Kupplung des Linkers **95** und die anschließende Entschützung der Boc-Gruppe erfolgten unter Nutzung der bereits optimierten Bedingungen.

Da der A-Ring modifiziert werden sollte, wurden nun neben den bereits etablierten Westfragmenten **32** und **112** weitere sechs Westfragmente hergestellt. Das Fluor-Derivat wurde ausgehend aus dem Säurechlorid **129** in 98% Ausbeute erhalten (siehe Schema 45).



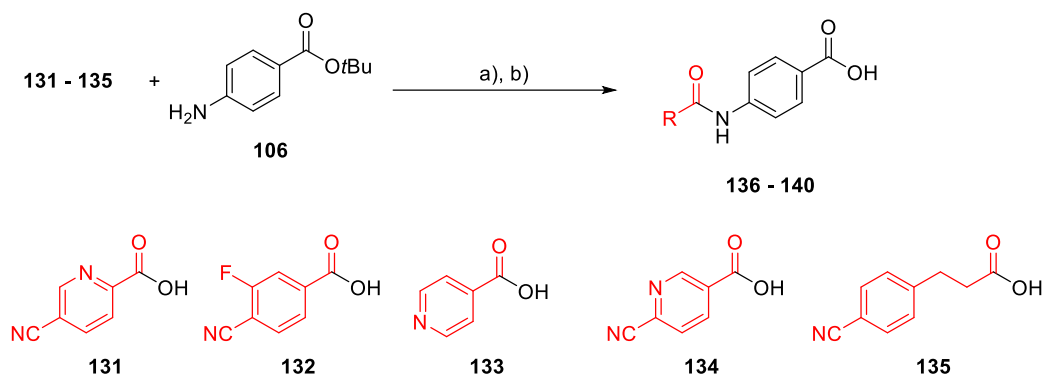
Schema 45: Synthese von Westfragment **130** ausgehend von Säurechlorid **129**.
Reaktionsbedingungen: Na₂CO₃, THF, H₂O, RT, 3 h (98%).

Die übrigen fünf Westfragmente wurden, wie in Schema 46 gezeigt, ausgehend aus den Säuren **131** bis **135** hergestellt. Als Kupplungsreagenz wurde COMU verwendet. Im Gegensatz zu den meisten Kupplungsreagenzien wie HATU kann dieses durch wässrige Extraktion entfernt werden. Die säulenchromatographische Reinigung ist somit nicht erforderlich. Um größeren Spielraum bezüglich des pH-Werts bei der Extraktion zu haben, wurde zur Kupplung das *t*Bu-geschützte Anilin **106** verwendet. Zwar war so ein zusätzlicher Entschützungsschritt vonnöten, dieser Weg wurde jedoch gewählt, um die erhaltenen Produkte leichter zu reinigen. Wurden die *t*Bu-geschützten Kupplungsprodukte eine halbe Stunde in TFA gerührt und anschließend mit einem Überschuss Diethylether versetzt, konnten die entstandenen Produkte **136** bis **140** gefällt und filtriert werden. Die Produkte wurden am Hochvakuum getrocknet und in Ausbeuten von 66 - 98% isoliert. Dabei wurden vorwiegend Pyridine mit unterschiedlichen Substitutionsmustern und Aromaten mit elektronenziehenden Substituenten verwendet. Es sollte untersucht werden, ob die stabileren Triazolderivate vergleichbare antibakterielle Aktivitäten zu den bisherigen Favoriten aufweisen.

¹⁴⁷ V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1, 51–68.

¹⁴⁸ V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596–2599.

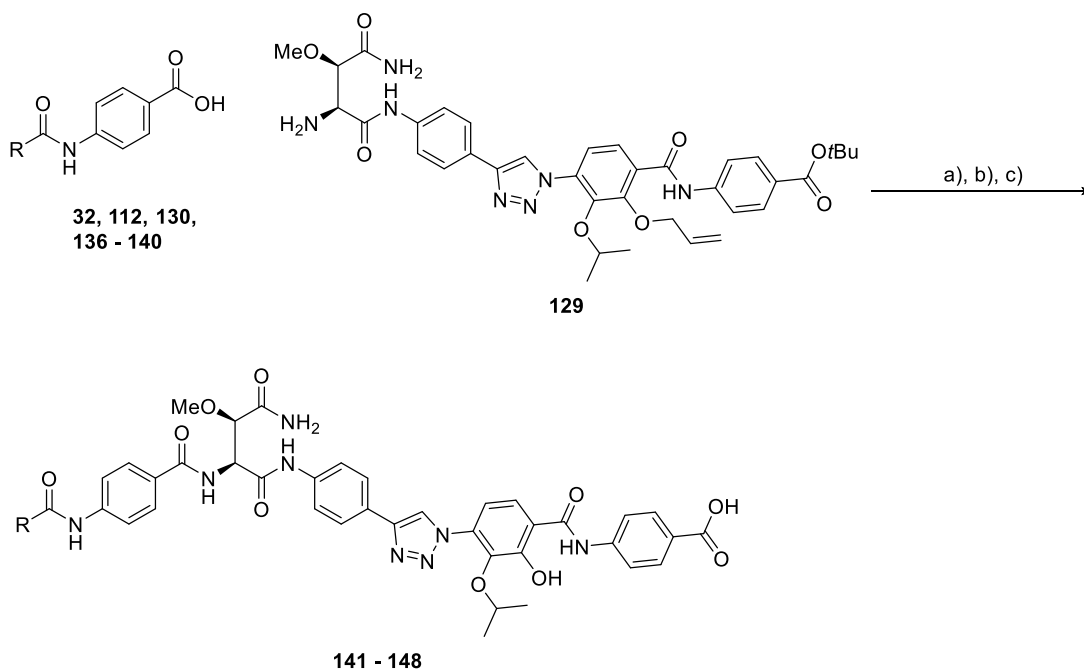
¹⁴⁹ T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2004**, 6, 2853–2855.



Schema 46: Allgemeine Darstellungsweise der Westfragmente **136** bis **140**.

Reaktionsbedingungen: a) COMU, DIPEA, DMF, RT, 16 h, b) TFA, RT, 30 min. Die Ausbeuten der jeweiligen Verbindungen sind dem Experimentellen Teil zu entnehmen.

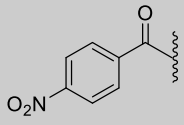
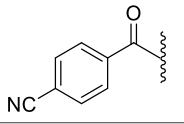
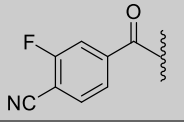
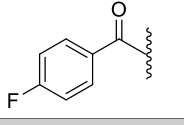
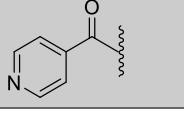
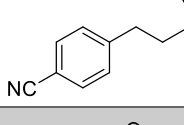
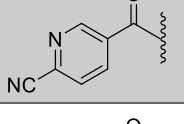
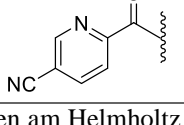
Die erhaltenen Westfragmente **136** bis **140**, sowie die Verbindungen **32**, **112** und **129** wurden mit dem Fragment **128** gekuppelt und danach entschützt. Ein allgemeines Vorgehen ist in Schema 47 dargestellt. Die jeweiligen Ausbeuten der entsprechenden Derivate sind dem Experimentellen Teil zu entnehmen. Sowohl die Kupplungen mit HATU als auch die Entschützungen der Allyl- und *t*Bu-Gruppen gelangen unter den optimierten Bedingungen problemlos und lieferten in allen Fällen zwischen 5.1 bis 14.4 mg der Zielmoleküle.



Schema 47: Allgemeine Darstellungsweise der Triazololderivate **141-148**.

Reaktionsbedingungen: a) HATU, DIPEA, DMF, RT, 15 h, b) Pd(PPh₃)₄, Anilin, THF, RT, 2.5 h, c) TFA, 0 °C, 0.5 - 6 h. Verbindung **144** wurde als TFA-Salz isoliert. Die jeweiligen Reste sind Tabelle 20 zu entnehmen.

Tabelle 20: Getestete antibakterielle Aktivität der Triazolderivate **141** - **148**.

Verbindung	A-Ring	MHK [$\mu\text{g/mL}$]				
		<i>E. coli</i> BW25113	<i>E. coli</i> ΔacrB	<i>S. aureus</i> Newman	<i>P. aeruginosa</i> Pa14	Pa14 <i>mexAB</i>
CIP		0.005	<0.003	0.2	0.2	0.01
CNDM861		<0.03	<0.03	1	4	1
CN861		<0.03	0.06	0.125	1	0.125
141		<0.03	<0.03	1	4	4
142		<0.03	<0.03	1	4	4
143		<0.03	<0.03	1	4	4
144		<0.03	<0.03	8	8	8
145		1	0.5	>64	>64	64
146		0.25	0.125	>64	>64	>64
147		<0.03	0.25	64	32	32
148		0.125	<0.03	4	8	4

Alle MHKs wurden am Helmholtz Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) in der Abteilung für mikrobielle Naturstoffe (MINS) von K. CIRNSKI bzw. Dr. J. HERRMANN ermittelt. Verdünnungsreihen wurden aus Cysto-Stammlösungen (5 mg/mL, DMSO) hergestellt.

Wie Tabelle 20 zu entnehmen ist, sind die Triazolderivate mit modifiziertem A-Ring wesentlich aktiver als die Harnstoffderivate. Alle Verbindungen weisen eine exzellente Aktivität gegenüber beiden *E. coli* Stämmen im niedrigen μM -Bereich auf. Lediglich die Derivate **144** und **145** zeigen keine Aktivität gegenüber *S. aureus* und *P. aeruginosa*. Eine Kettenverlängerung kann somit zum drastischen Rückgang der Aktivität führen. Eventuell

würde das aus dem Albicidin bekannte Michael-System der Methylcumarsäure Abhilfe schaffen. Das Derivat, welches 6-Cyano-nicotinsäure als A-Ring enthält, weist keine Aktivität gegenüber *S. aureus* auf. Die Aktivität gegenüber *P. aeruginosa* beträgt lediglich ein Achtel im Vergleich zu den anderen Derivaten. Die Gegenüberstellung der Cyanopyridine **147** und **148** zeigt eine Zunahme der Aktivität hin zu Verbindung **148** gegenüber *P. aeruginosa* und zwar um das Vierfache. Die Position des Stickstoffatoms im Pyridin-Ring scheint in *ortho*-Position zum Amid am effizientesten zu sein. Verbindung **148** ist das einzige Cystobactamid-Derivat, bei der sich die Aktivität gegenüber den beiden *P. aeruginosa* Stämmen Pa14 und Pa14Δ*mexAB* unterscheidet. Bei letzterem Stamm fehlt ein Efflux-Mechanismus. Die doppelt so guten Werte deuten also darauf hindeuten, dass das Cystobactamid-Derivat Efflux-Prozessen unterliegt.

Das Potential, als Breitbandantibiotikum Anwendung zu finden, sollte für die fünf vielversprechendsten Kandidaten **141** bis **144** und **148** in weiteren Untersuchungen validiert werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Unter anderem wurde die Aktivität gegenüber *A. baumannii*, Fluorchinolon-resistente *E. coli* (Gyrase-mutiert), *E. cloacae*, zwei resistente Stämme von *P. aeruginosa* (ESBL), *K. pneumoniae* und *S. aureus* getestet. Das Cyanoderivat **142** ist das potenteste der getesteten Cystobactamid-Derivate. Es weist ein vergleichbares Aktivitätsspektrum wie die bisher potenteste Verbindung CN-861 (**121**) auf. Es ist ebenfalls gegenüber *P. aeruginosa* aktiv, welches in der Lage ist β -Lactam-Antibiotika zu spalten. Darüber hinaus konnte eine Aktivität gegenüber *K. pneumoniae* festgestellt werden. Diese weisen die bisherigen Favoriten noch nicht auf. Gegenüber *S. pneumoniae* konnte sogar ein besseres Ergebnis als mit Ciprofloxacin (**27**) erhalten werden. Die Triazol-Derivate sind, wie die Harnstoffderivate, stabil unter basischen Bedingungen. Ein entsprechender Assay mit AlbD steht noch aus.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ein Derivat mit ähnlichem Wirkprofil gefunden wurde, welches aufgrund des Triazolrings jedoch stabiler ist als die bisherigen Favoriten. Ein potenzieller Resistenzmechanismus konnte durch chemische Modifikation des empfindlichen Amids überwunden werden. Des Weiteren lassen sich die Triazole aufgrund der verwendeten Klick-Chemie in höheren Ausbeuten erhalten als die Amide, welche mittels klassischer Peptidkupplung generiert werden.

Tabelle 21: Erweiterte Validierung zur antibakteriellen Aktivität der potentesten Triazolderivate.

	MHK [$\mu\text{g/mL}$]							
	CIP	CN-861	CN-DM861	141	142	143	144	148
<i>E. faecalis</i> ATCC-29212	0.8	<0.03	0.5	>64	>64	>64	16	8
<i>S. epidermidis</i> DSM-28765	0.32	<0.03	0.06	4	0.5	0.5	4	4
<i>A. baumannii</i> DSM-30008	0.32	1	0.5	>64	>64	>64	>64	32
<i>E. coli</i> DSM-1116	0.01	0.125	<0.03	1	0.25	0.5	4	2
<i>E. coli</i> DSM-1116 CP ^R nr1	0.16	2	0.5	8	8	8	8	16
<i>E. coli</i> DSM-1116 Cys861-2 ^R nr3	0.02	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>E. coli</i> DSM-1116 Cys919-2 ^R nr5	0.01	4	2	>64	8	>64	16	32
<i>E. coli</i> DSM-26863 (<i>tolC3</i>)	0.01	<0.03	0.06	0.25	<0.03	<0.03	0.25	0.25
<i>E. coli</i> WT	0.025	<0.03	<0.03	16	0.25	0.25	1	2
<i>E. coli</i> WT-3 [<i>gyrA</i> (S83L,D87G)]	0.32	0.06	0.06	>64	4	4	8	4
<i>E. coli</i> WT-III [<i>marRA</i> 74bp]	0.05	0.125	0.125	8	2	2	4	8
<i>E. coli</i> BW25113	0.005	<0.03	<0.03	<0.03	0.06	0.125	<0.03	0.5
<i>E. coli</i> Δ <i>acrB</i>	<0.003	0.06	<0.03	<0.03	0.06	0.125	0.125	0.06
<i>E. aerogenes</i> DSM-30053	0.1	2	0.25	>64	>64	8	16	32
<i>E. cloacae</i> DSM-30054	0.1	64	0.25	>64	>64	>64	64	>64
<i>P. aeruginosa</i> DSM-24600 (ESBL)	6.4	1	64	>64	16	>64	>64	64
<i>P. aeruginosa</i> DSM-46316 (ESBL)	0.1	0.5	1	>64	8	>64	64	32
<i>K. pneumoniae</i> DSM-30104	0.01	64	>64	>64	8	>64	32	>64
<i>C. freundii</i> DSM-30039	<0.03	<0.03	<0.03	1	0.5	0.5	1	2
<i>S. marcescens</i> DSM-30121	0.2	64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>P. vulgaris</i> DSM-2140	0.06	<0.03	0.25	4	4	4	8	8
<i>P. mirabilis</i> DSM-2140	0.02	2	>64	2	1	1	16	4
<i>S. pneumoniae</i> DSM-20566	0.8	<0.03	<0.03	0.5	0.25	1	4	2
<i>S. aureus</i> DSM-29213	0.4	0.125	0.25	64	>64	>64	>64	>64

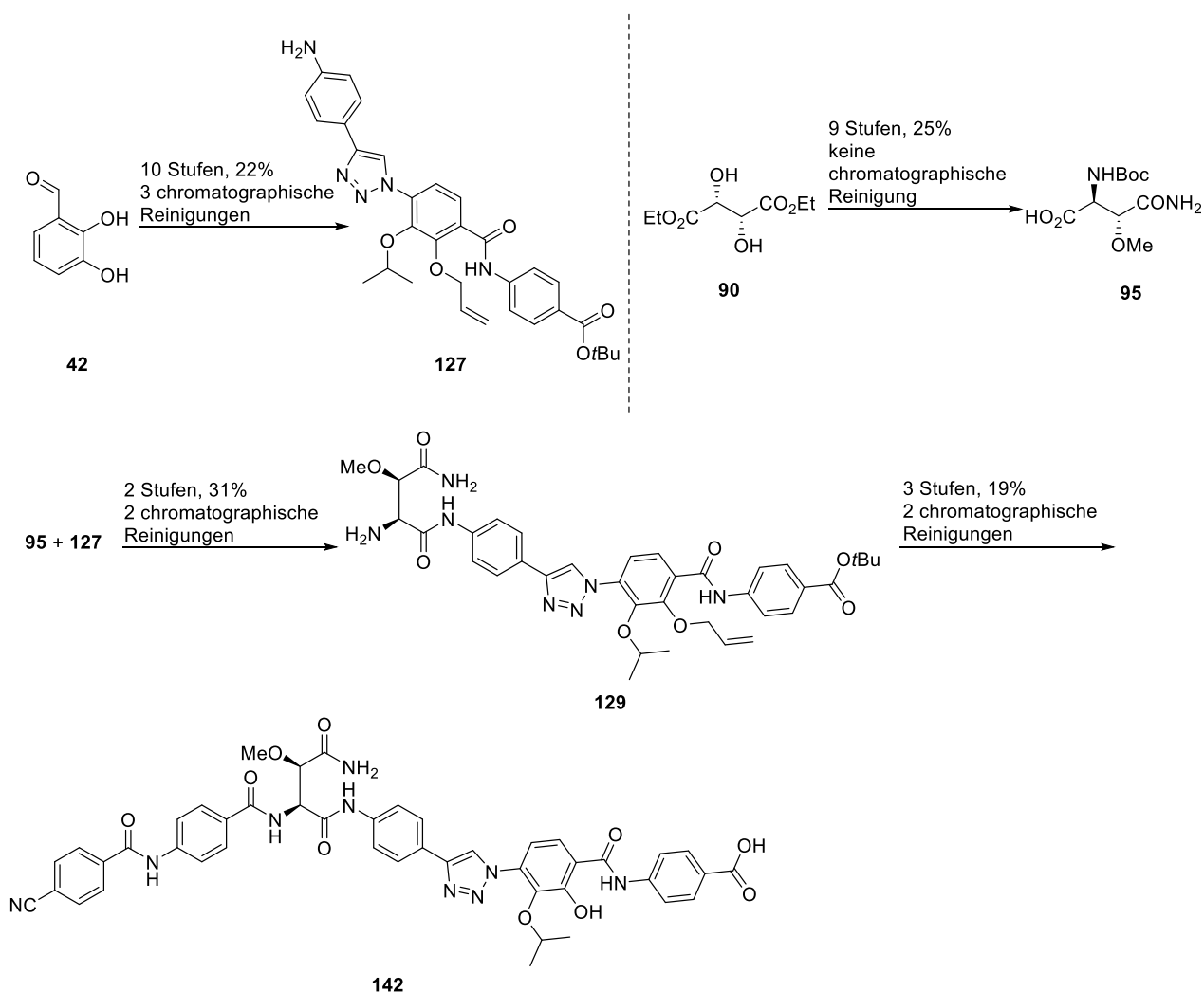
ESBL: Erweitertes β -Lactamase-Spektrum; *E. coli* WT-3 trägt charakteristische Mutationen, die Resistenzen gegen Fluorchinolone verursachen. Alle MHKs wurden am Helmholtz Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) in der Abteilung für mikrobielle Naturstoffe (MINS) von K. CIRNSKI bzw. Dr. J. HERRMANN ermittelt. Verdünnungsreihen wurden aus Cysto-Stammlösungen (5 mg/mL, DMSO) hergestellt.

6 Zusammenfassung und Ausblick

6.1 Zusammenfassung

Cystobactamide weisen eine ungewöhnliche Struktur auf und verfügen über ein antibakterielles Wirkungsspektrum im niedrigen $\mu\text{g mL}^{-1}$ -Bereich gegen eine Vielzahl an Gram-positiven und -negativen Bakterien. Ziel dieser Arbeit war es, einen synthetischen Zugang zu den natürlichen Cystobactamiden zu etablieren. Des Weiteren sollten Struktur-Aktivitäts-Beziehungen anhand von basenstabileren Derivaten untersucht werden.

Für beide Naturstoffe wurden unterschiedliche Synthesestrategien gewählt. Aufgrund der breiten Variation wurden so Methoden zur Optimierung von allen Fragmenten des Moleküls entwickelt. Je nach Synthesestrategie variieren die Ausbeuten zwischen 1.3 - 2.6 % bei 13 bis 15 Stufen der längsten linearen Sequenz. Eine Übersicht der Synthese ist beispielhaft für das Derivat **141** gezeigt.



Schema 48: Syntheseübersicht des Derivats **141**.

Neben der Revision der Stereochemie durch die Totalsynthese des natürlichen Cystobactamids 920-1 (**29**) konnten auch die Synthesen der einzelnen Bausteine und die Kupplungsbedingungen optimiert werden.

Die Entwicklung eines Verständnis für Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ist in der frühen Phase der Arzneimittelentwicklung essentiell. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Methoxysubstituent in der Methoxyaspartat-Einheit bedeutungsvoll ist, um das Wirkspektrum der Cystobactamide zu erweitern. Des Weiteren konnte belegt werden, dass das basenlabile Amid im Ostteil des Moleküls durch Bioisostere substituiert werden kann. Der nicht bioisostere Harnstoff führte aufgrund des erzeugten „Knicks“ im Molekül zu Aktivitätsverlust.

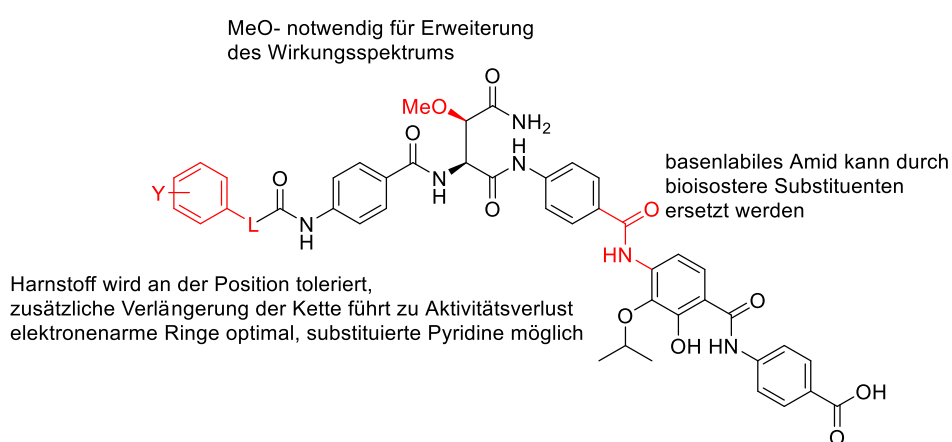


Abbildung 29: Struktur-Aktivitäts-Beziehung der Cystobactamide.⁵⁴

Das Kürzen des *N*-Terminus um einen oder beide Aromaten führt ebenfalls zu komplettem Aktivitätsverlust. Interessanterweise kann das Amid zwischen dem A- und dem B-Ring durch eine Harnstoffgruppe ersetzt werden. Das Einführen eines Abstandelements in Form von zwei Methylengruppen führt jedoch zu Aktivitätsverlust.

Der A-Ring kann durch verschiedene elektronenarme Aromaten substituiert werden. Pyridine und Cyanopyridine anstelle des Phenylrings werden ebenfalls toleriert. Die Position des Stickstoffatoms ist dabei entscheidend für die Wirksamkeit der Verbindungen. Der zur Nitrogruppe bioisostere Cyanosubstituent liefert nach wie vor die besten Aktivitäten. Unter Verwendung dieses Substituenten wurde das Derivat **142** synthetisiert. Dieses Triazolderivat weist ein ähnliches Aktivitätsprofil auf wie die bisher aktivste Verbindung CN-861 (**121**). Im Gegensatz dazu ist Verbindung **142** jedoch stabil unter basischen Bedingungen. Insgesamt wurden 15 Derivate synthetisiert, deren biologische Eigenschaften anhand von MHK-Werten beurteilt wurden. Neben der antibakteriellen Aktivität gegenüber *P. aeruginosa* (ESBL) konnte

das Wirkprofil teilweise auf *K. pneumoniae* erweitert werden. Die Aktivität gegenüber einer Vielzahl an kritischen Gram-negativen Bakterien zeigt das große Potential als zukünftiges Breitbandantibiotikum. In einigen Fällen konnte sogar die Aktivität von Ciprofloxacin (**27**) überschritten werden. Bis zur Marktreife eines neuen Antibiotikums müssen jedoch noch viele Probleme bezüglich Löslichkeit, Stabilität und potentiellen Resistenzmechanismen erforscht und optimiert werden.

6.2 Ausblick

Neben den eben erwähnten Problemen der Löslichkeit und der Stabilität gehört auch die Vervollständigung des antibakteriellen Spektrums zu den ausstehenden Aufgaben. Die Hydrolyseempfindlichkeit der basenlabilen Amidbindung konnte bereits durch die Substitution zum Triazol verbessert werden. Weitere Bioisostere für Amide sind in Abbildung 30 gezeigt.¹⁵⁰ Einige könnten ebenfalls untersucht werden, um potenzielle stabile, aktive Verbindungen zu generieren.

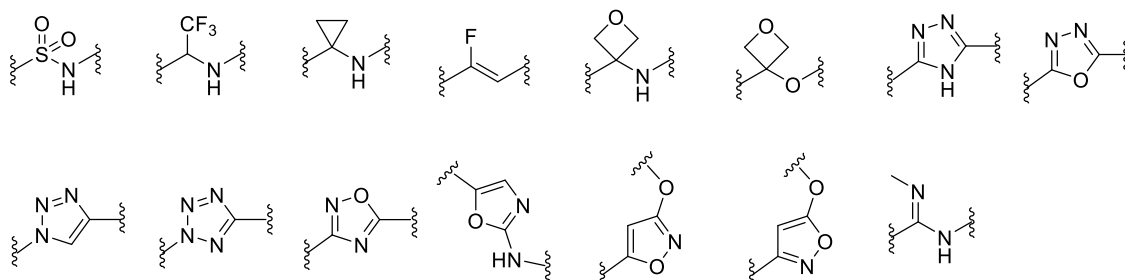


Abbildung 30: Bioisostere für Amide.¹⁵⁰

Für die Entwicklung von Verbindungen mit verbessertem antibakteriellen Profil könnten neben dem A-Ring auch die Ringe B, C und E durch weitere Heteroaromaten substituiert werden. Derivate mit dem von HARTMANN *et al.* optimierten D-Ring¹³⁹ sind ebenfalls möglich.

Außer dem Einbringen von Heteroaromaten könnte die Löslichkeit auch durch Reduktion des π -stackings verbessert werden. Dafür müssten ein bis zwei Aromaten durch nichtaromatische Bausteine ersetzt werden. Geeignete nichtaromatische Bioisostere für 1,4-substituierte Phenylringe

¹⁵⁰ N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* **2011**, *54* 2529–2591.

sind Bicyclo[1.1.1]pentane¹⁵¹ oder Cubane¹⁵² (Abbildung 31). Beide Verbindungen weisen einen ähnlichen Abstand zwischen den Substituenten auf. Der Diederwinkel ist ebenfalls ähnlich.

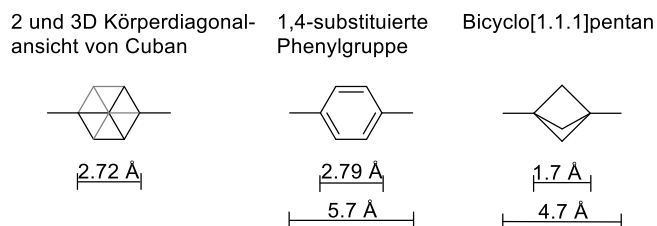


Abbildung 31: Mögliche Bioisostere für 1,4-substituierte Phenylgruppen mit räumlichem Abstand.

Eine Variation des Linkers durch andere nicht proteinogene Aminosäuren oder deren Bioisostere stellt ebenfalls einen großen Bereich für Optimierungen dar. Die Variation der Stereochemie wäre ebenso denkbar.

Neben der Optimierung des Aktivitätsprofils, der Stabilität und der Verbesserung der Löslichkeit können noch einige Stufen der Synthese optimiert werden. Mit der Synthese der zweiten Generation können Cystobactamide und deren Strukturanaloga in größeren Mengen von um die 100-200 mg hergestellt werden. Allerdings werden für zukünftige *in vivo* Studien Substanzmengen im Gram-Bereich benötigt. Die Herstellung des tetrasubstituierten Arens bietet hier noch den größten Spielraum für Optimierungen. Ziel wäre die Synthese des Arens ausgehend von einem Mol 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (138 g) darzustellen. Die selektive Installation der Isopropylgruppe läuft nicht vollständig ab und nur mit Ausbeuten von um die 40%, sodass eine Optimierung dieser Stufe den Durchsatz der Synthese bereits äußerst positiv beeinflussen würde. Darüber hinaus wäre auch eine Optimierung der Nitrierungsbedingungen denkbar, um eine vollständige und selektive Nitrierung der *para*-Position zu ermöglichen und somit die nachfolgende aufwendige säulenchromatographische Trennung zu umgehen.

¹⁵¹ J. M. Lopchuk, K. Fjelbye, Y. Kawamata, L. R. Malins, C.-M. Pan, R. Gianatassio, J. Wang, L. Prieto, J. Bradow, T. A. Brandt, M. R. Collins, J. Elleraas, J. Ewanicki, W. Farrell, O. O. Fadeyi, G. M. Gallego, J. J. Mousseau, R. Oliver, N. W. Sach, J. K. Smith, J. E. Spangler, H. Zhu, J. Zhu, P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 3209–3226.

¹⁵² B. A. Chalmers, H. Xing, S. Houston, C. Clark, S. Ghassabian, A. Kuo, B. Cao, A. Reitsma, C.-E. P. Murray, J. E. Stok, G. M. Boyle, C. J. Pierce, S. W. Littler, D. A. Winkler, P. V. Bernhardt, C. Pasay, J. J. De Voss, J. McCarthy, P. G. Parsons, G. H. Walter, M. T. Smith, H. M. Cooper, S. K. Nilsson, J. Tsanaktsidis, G. P. Savage, C. M. Williams, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 3580–3585.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemeine Hinweise

Glasgeräte und Verbrauchsmaterialien

Für alle Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurde unter Schutzgasatmosphäre gearbeitet. Dies gilt auch für sämtliche Peptidkupplungen. Die benötigten Glasgeräte wurden im Vakuum ausgeheizt.

Lösungsmittel und Reagenzien

Lösungsmittel für die Verwendung bei feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden nach Standardverfahren¹⁵³ getrocknet und unter Stickstoffatmosphäre aufbewahrt bzw. frisch destilliert eingesetzt. Tetrahydrofuran, Methylchlorid, Acetonitril und *N,N*-Dimethylformamid wurde aus dem mit einer Trockenkartusche versehenem Solvent Purification System der Firma M. BRAUN (Garching) verwendet. Triethylamin wurde mit Kaliumhydroxid in einer Argonatmosphäre und Rückfluss getrocknet. Weitere absolute Lösungsmittel wurden kommerziell von ACROS und SIGMA-ALDRICH erworben. Alle zum Einsatz gelangten Reagenzien, deren Herstellung nicht angegeben ist, stammen von den Firmen SIGMA-ALDRICH, TCI, ACROS, ALFA AESAR, ABCR, HONEYWELL, FISCHER SCIENTIFIC, SOLVAY und IRIS-BIOTECH.

Zum Trocknen feuchter organischer Lösungen wurde wasserfreies Natriumsulfat verwendet. Eingesetzte Lösungen anorganischer Salze kamen, sofern nicht anders angegeben, ausschließlich als gesättigte, wässrige Lösungen zum Einsatz. Reaktionsführung bei tiefen Temperaturen erfolgten unter Verwendung von Kältemischungen.

Extraktion

Wässrige Lösungen wurden in der Regel mindestens drei Mal extrahiert. In jedem Fall wurde solange extrahiert, bis kein Produkt mittels Dünnschichtchromatographie in der wässrigen Phase nachgewiesen werden konnte.

¹⁵³ W. L. F. Armarego, D. D. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, 4th Ed., Butterworth and Heinemann, Oxford 1996.

Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien des Typs ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄ der Firma MACHERY-NAGEL verwendet. Die Indikation erfolgte durch UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm, sowie verschiedene Färbereagenzien (Kaliumpermanganat, Cer(IV)-sulfat/Schwefelsäure und Ninhydrin) mit anschließender Wärmebehandlung.

Säulenchromatographie

Die Reaktionsprodukte wurden mittels Flash-Chromatographie über Kieselgel als stationäre Phase gereinigt. Das verwendete Kieselgel der Firma MACHERY-NAGEL hatte eine Korngröße von 40 bis 70 μm . Die verwendeten Lösungsmittel wurden einfach destilliert, das Eluentenverhältnis ist den entsprechenden Versuchsvorschriften zu entnehmen.

In einigen Fällen wurden die Rohprodukte auf Kieselgel aufgezogen. Dazu wurden die Rohprodukte in EtOAc gelöst, mit circa derselben Menge Kieselgel versetzt und unter vermindertem Druck getrocknet. Das beladene Kieselgel wurde anschließend für die Flash-Chromatographie eingesetzt.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Für Umkehrphasen-HPLC wurde membranfiltriertes und anschließend bidestilliertes Wasser verwendet. Kommerziell erhältliche Lösungsmittel in HPLC-Qualität wurden von den Firmen ACROS und HONEYWELL bezogen. Dem bidestillierten Wasser wurde zusätzliche Ameisensäure hinzugefügt ($\varphi = 0.1\%$). Das Eluentenverhältnis, der Lösungsmittelgradient und die Retentionszeit t_R sind den jeweiligen Versuchsdurchführungen zu entnehmen.

Für die semipräparative HPLC wurde eine Alliance 2695 der Firma WATERS mit einem WATERS 996 Photodioden Array Detektor ($\lambda = 200\text{-}350$ nm) verwendet. Es wurde eine Nucleodur C18 HTec (5 μm , 250 mm, \varnothing 8 mm) Chromatographiesäule der Firma MACHERY-NAGEL verwendet. Die Massendetektion erfolgte über ein WATERS Quattro *micro* API Massenspektrometer.

Für die präparativen Reinigungen wurde die in Tabelle 22 dargestellte HPLC-Anlage mit paralleler Massendetektion (MICROMASS Typ LCT von WATERS) verwendet.

Tabelle 22: Bestandteile der präparativen HPLC-Anlage

Geräte Bestandteil	Bezeichnung	Firma
Fraktionssammler	VARIAN proStar, Modell 701	ALPHACHROM
Detektor	Variabler Wellendetektor ProStar [$\lambda=248$ nm] Paralleler Massendetektor Micromass Typ ZMD	WATERS WATERS
Pumpen	VARIAN preStar, Modell 218	ALPHACHROM
Präparative Säule:		
C-18-Phase	Reprosil-Pur 120 C18 AQ 5 μm , 250 mm \varnothing 25 mm	TRENTEC Analysentechnik
Vorsäulenkartusche:		
C-18-Phase	Reprosil-Pur 120 C18 AQ 10 μm , 30 mm \varnothing 20 mm	TRENTEC Analysentechnik

NMR-Spektroskopie

Die ^1H -NMR Spektren wurden mit den Geräten Ascend 400 (400 MHz), Ultrashield 400 (400 MHz), Ultrashield 500 (500 MHz) und Ascend 600 (600 MHz) der Firma BRUKER bei Raumtemperatur aufgenommen. Das jeweils verwendete Lösungsmittel ist in den Versuchsvorschriften angegeben. Die Kalibration erfolgte anhand des Restprotonengehalts des vom Lösungsmittel verursachten Signals¹⁵⁴ und ist zusammen mit den experimentellen Daten der Substanzen angegeben. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm, die der Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz). Die Spektren wurden mit dem Programm TopSpin der Firma BRUKER ausgewertet. Für die ^1H -NMR-Spektren sind die Multiplizitäten der Signale wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, dd = doppeltes Dublett, t = Triplett, q = Quartett, hept = Heptett, m = Multipllett und br = breit. Die Spektren wurden entsprechend erster Ordnung interpretiert.

Die ^{13}C -NMR Spektren wurden mit den Geräten Ascend 400 (100 MHz), Ultrashield 400 (100 MHz), Ultrashield 500 (125 MHz) und Ascend 600 (125 MHz) der Firma BRUKER bei 25 °C aufgenommen. Das jeweils verwendete Lösungsmittel ist in den Versuchsvorschriften angegeben. Die Kalibration erfolgte anhand des vom Lösungsmittel verursachten Signals¹⁵⁴ und ist zusammen mit den experimentellen Daten der Substanzen angegeben. Die Angabe der

¹⁵⁴ H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7512–7515.

chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm. Für die Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: p = primär, s = sekundär, t = tertiär und q = quartär.

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

Massenspektrometrie

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

Die zur Reaktionskontrolle verwendete LC/MS besteht aus einer Hewlett Packard Series 1100 HPLC-Anlage mit einer Nucleoshell RP-18 (2.7 μm , 100 mm, \varnothing 2 mm, mit Vorfilter) Säule von MACHERY-NAGEL. Die Massendetektion erfolgte mit einem LCT Massenspektrometer von MICROMASS.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Gerät SRS OptiMelt MPA100 der Firma STANFORD RESEARCH System bestimmt.

Drehwerte

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

Infrarotspektrometrie

IR-Spektren wurden mit einem FT-IR Gerät Affinity-1S der Firma SHIMADZU gemessen. Die Verschiebung der Schwingungsbanden wird in cm^{-1} angegeben.

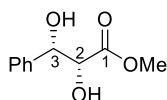
Chirale HPLC

Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurde eine chirale LC der Firma BECKMAN verwendet. Als stationäre Phase wurde eine analytische Säule von DAICEL CHIRALCEL[®] (OD-H) genutzt. Pumpe (125 Solvent Module) und Detektor (166 Detector) stammen jeweils von BECKMAN System Gold[®]. Für die Anwendung wurden kommerziell verfügbare HPLC-Qualität-Lösungsmittel verwendet, welche zuvor in einem Verhältnis von 1:1000 mit Ameisensäure gemischt wurden. Das Eluentenverhältnis, der Lösungsmittelgradient und die Retentionszeit t_R sind den jeweiligen Versuchsdurchführungen zu entnehmen.

7.2 Darstellung der Verbindungen

7.2.1 Verbindungen des Mittelfragments

(2*R*,3*S*)-Methyl-2,3-dihydroxy-3-phenylpropanoat (**43**)



AD mix *a* (100 g) wurde bei Raumtemperatur in einem Gemisch aus *t*BuOH/H₂O (1:1; 360 mL) gelöst. Nach Zugabe von Methansulfonamid (6.81 g, 71.3 mmol, 1.00 Äq) wurde auf 0 °C gekühlt. Zimtsäuremethylester (**38**, 11.58 mL, 71.3 mmol, 1.00 Äq) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch unter starkem Rühren 16 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde für weitere 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde wässrige Na₂SO₃-Lösung (108 g, 857 mmol, 12.0 Äq) zugegeben und für weitere 2,5 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 1:1) lieferte das gewünschte Diol **43** (12.5 g, 63.4 mmol, 89%) als farblosen Feststoff mit einem Enantiomerenüberschuss von > 99.9% (chirale HPLC, CHIRALCEL® OD-H Säule, *n*Hexan/*i*PrOH = 90 : 10, 1.0 mL/min, Laufzeit 30 min, *t*_R = 17.1 min, 254 nm).

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.⁸⁸

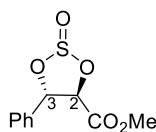
Smp. = 86 °C.

[α]_D²¹ = +4.6° (*c* 1.38, EtOH).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.43 – 7.30 (5H, m, ArH), 5.03 (1H, dd, *J* = 2.7, 7.2 Hz, H-3), 4.39 (1H, dd, *J* = 2.7, 6.0 Hz, H-2), 3.83 (3H, s, H-8), 3.05 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, 2-OH), 2.66 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, 3-OH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 173.3 (q, C-1), 140.1 (q, C-4), 128.6 (2C, t, C-6), 128.3 (t, C-7), 126.3 (2C, t, C-5), 74.8 (t, C-2), 74.5 (t, C-3), 53.1 (p, C-8) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₂O₄Na [M + Na]⁺: 219.0633; gefunden 219.0633.

(4*R*,5*S*)-Methyl -5-phenyl-1,2,3-dioxathiolane-4-carboxylate 2-oxid (44)

(2*R*,3*S*)-Methyl-2,3-dihydroxy-3-phenylpropanoat (**43**, 12.5 g, 63.4 mmol, 1.0 Äq) wurde bei 0 °C in CH₂Cl₂ (300 mL) gelöst. Triethylamin (21 mL, 152 mmol, 2.4 Äq) und eine Lösung aus Thionylchlorid (21 mL, 292 mmol, 4.6 Äq) in CH₂Cl₂ (300 mL) wurden hinzugegeben. Nach Beenden der Zugabe wurde für weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch die Zugabe von Eis beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte den gewünschten Sulfitdiester **44** (15.1 g, 62.1 mmol, 98%) als gelbes Öl (Diastereomergemisch 1:1).

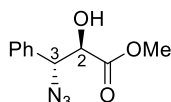
Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.⁸⁹

$[\alpha]_D^{22} = -96.6^\circ$ (*c* 1.3, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.55 - 7.39$ (10H, m, ArH), 6.16 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-3), 5.59 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3), 5.21 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2), 4.83 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-2), 3.86 (3H, s, H-8), 3.85 (3H, s, H-8) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 167.6$ (q, C-1), 166.7 (q, C-1), 134.1 (t, C-4), 133.9 (t, C-4), 130.0 (t, C-7), 129.8 (t, C-7), 129.3 (t, C-6), 129.2 (t, C-6), 127.7 (t, C-5), 127.0 (t, C-5), 88.0 (t, C-2), 83.6 (t, C-2), 83.4 (t, C-3), 81.5 (t, C-3), 53.5 (p, C-8) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₀O₅SNa [M + Na]⁺: 265.0147; gefunden 265.0147.

(2*R*,3*R*)-Methyl-3-azido-2-hydroxy-3-phenylpropanoat (45)

Zu einer Lösung aus Sulfitdiester **44** (15.5 g, 62.1 mmol, 1 Äq) in DMF (150 mL) wurde Natriumazid (20.2 g, 311 mmol, 5.0 Äq) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 50 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde das DMF unter vermindertem Druck entfernt, der erhaltene

Feststoff in Ethylacetat aufgenommen und über Kieselgur filtriert. Nach Zugabe von Schwefelsäure (1 M, 200 mL) und Diethylether (200 mL) wurde das Reaktionsgemisch 15 h gerührt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Azid **45** (8.39 g, 37.9 mmol, 61%) als gelbe Flüssigkeit.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur überein.⁸⁹

$[\alpha]_D^{22} = -43.9^\circ$ (*c* 1.4, EtOH).

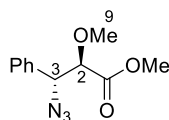
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.40 - 7.32$ (5H, m, ArH), 4.88 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-3), 4.54 (1H, dd, *J* = 4.0, 6.3 Hz, H-2), 3.72 (3H, s, H-8), 2.94 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, 2-OH) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 171.9$ (q, C-1), 134.5 (q, C-4), 129.1 (t, C-7), 128.8 (2C, t, C-6), 127.9 (2C, t, C-5), 73.9 (t, C-2), 67.4 (t, C-3), 52.9 (p, C-8) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₁O₃N₃Na [M + Na]⁺: 244.0702; gefunden 244.0698.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 3319, 2106, 1647, 702, 418, 407$ cm⁻¹.

(2R,3R)-Methyl -3-azido-2-methoxy-3-phenylpropanoat (**46**)



Alkohol **45** (8.39 g, 37.9 mmol, 1.0 Äq) wurde in Iodmethan (190 mL) gelöst. Calciumsulfat (41 g, 303 mmol, 8.0 Äq) und Ag₂O (26.3 g, 114 mmol, 3.0 Äq) wurden hinzugegeben. Die Suspension wurde 22 h bei Raumtemperatur im Dunkeln gerührt. Anschließend wurden die Feststoffe über Kieselgur abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **46** (7.57 g, 32.2 mmol, 85%) als gelbes Öl.

$[\alpha]_D^{20} = -63.2^\circ$ (*c* 0.62, CHCl₃).

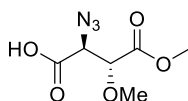
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.40 - 7.35$ (5H, m, ArH), 4.77 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-3), 4.00 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-2), 3.75 (3H, s, H-8), 3.36 (3H, s, H-9) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 170.4$ (q, C-1), 135.4 (q, C-4), 129.0 (t, C-7), 128.8 (2C, t, C-6), 128.1 (2C, t, C-5), 83.5 (p, C-9), 66.1 (t, C-2), 59.3 (t, C-3), 52.4 (p, C-8) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 258.0854; gefunden 258.0855.

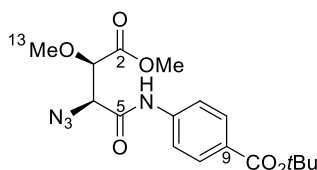
IR (neat): $\tilde{\nu} = 2953, 2104, 1747, 1454, 1261, 1199, 1132, 704$ cm^{-1} .

(2*S*,3*R*)-2-Azido-3,4-dimethoxy-4-oxobutansäure (**77**)



(2*R*,3*R*)-Methyl-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropanoat (**46**, 900 mg, 3.8 mmol, 1.00 Äq) wurde in Chloroform (10 mL), Acetonitril (43 mL) und Wasser (96 mL) gelöst. Nach Zugabe von NaIO_4 (24 g, 115 mmol, 30 Äq) und RuCl_3 (238 mg, 1.15 mmol, 0.30 Äq) wurde das Reaktionsgemisch für drei Stunden unter Rückfluss erwärmt. Der gebildete weiße Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden unter vermindertem Druck konzentriert und in Et_2O aufgenommen. Der entstandene Feststoff wurde über Kieselgur abfiltriert. Das Rohprodukt **77** wurde unter vermindertem Druck konzentriert und ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

tert-Butyl-4-((2*S*,3*R*)-2-azido-3,4-dimethoxy-4-oxobutanamido)benzoat (**78**)



Zu einer Lösung aus Säure **77** (465 mg, 2.28 mmol, 1.2 Äq) in CH_2Cl_2 (32 mL) wurde DIPEA (0.48 mL, 2.85 mmol, 1.5 Äq) bei 0 °C zugegeben. Phosphoroxychlorid (0.2 mL, 2.28 mmol, 1.2 Äq) wurde langsam zugetropft. Nach 10 Minuten wurde *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (367 mg, 1.90 mmol, 1.0 Äq) zugegeben und das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt. Dieses wurde 17 h gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktion durch Zugabe von NaHCO_3 -Lösung beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert.

Säulenchromatographische Reinigung (PE/Et₂O = 2:1) lieferte das gewünschte Produkt **78** (582 mg, 1.54 mmol, 81%) als gelbes Öl.

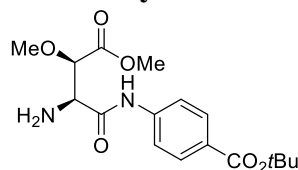
$[\alpha]_D^{23} = -9.6^\circ$ (*c* 0.94, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.28 (1H, s, NH), 7.96 (2H, m, H-8, H-8'), 7.59 (2H, m, H-7, H-7'), 4.56 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-3), 4.51 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-4), 3.76 (3H, s, H-1), 3.59 (3H, s, H-13), 1.58 (9H, s, H-12) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.0 (q, C-2), 165.3 (q, C-10), 164.1 (q, C-5), 140.5 (q, C-6), 130.8 (2C, t, C-8, C-8'), 128.5 (q, C-9), 119.2 (2C, t, C-7, C-7'), 81.4 (t, C-4), 81.2 (q, C-11), 65.4 (t, C-3), 59.6 (p, C-13), 52.7 (p, C1), 28.3 (3C, p, C-12) ppm.

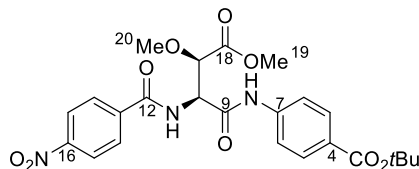
HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₇H₂₂O₆N₄Na [M + Na]⁺: 401.1437; gefunden 401.1435.

***tert*-Butyl-4-((2*S*,3*R*)-2-amino-3,4-dimethoxy-4-oxobutanamido)benzoat (149)**



Azid **78** (582 mg, 1.54 mmol, 1.0 Äq) wurde in THF (17 mL) und Wasser (0.7 mL) gelöst. Nach Zugabe von PPh₃ (1.21 g, 4.62 mmol, 3.0 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 15 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **149** wurde ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

***tert*-Butyl-4-((2*S*,3*R*)-3,4-dimethoxy-2-(4-nitrobenzamido)-4-oxobutanamido)benzoat (79)**



Amin **149** (542 mg, 1.54 mmol, 1.0 Äq) wurde in DMF (7.0 mL) gelöst. Anschließend wurden DIPEA (0.40 mL, 2.31 mmol, 1.5 Äq) und 4-Nitrobenzoylchlorid (427 mg, 2.31 mmol, 1.5 Äq) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck

konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 3:1 → 1: 1) lieferte das gewünschte Produkt **79** (548 mg, 1.09 mmol, 71% über 2 Stufen) als orangefarbenen Feststoff.

Smp. = 129 °C.

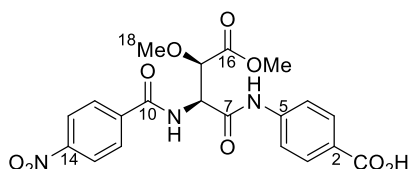
$[\alpha]_D^{23} = +9.2^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.83 (1H, s, 8-NH), 8.32 (2H, m, H-15, H-15'), 8.02 (2H, m, H-14, H-14'), 7.94 (2H, m, H-5, H-5'), 7.86 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, 11-NH), 7.56 (2H, m, H-6, H-6'), 5.18 (1H, dd, *J* = 7.4, 5.1 Hz, H-10), 4.30 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, H-17), 3.87 (3H, s, H-19), 3.52 (3H, s, H-20), 1.58 (9H, s, H-1) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.6 (q, C-18), 166.4 (q, C-9), 166.1 (q, C-12), 165.2 (q, C-3), 150.2 (q, C-16), 140.9 (q, C-4), 138.6 (q, C-13), 130.7 (2C, t, C-5, C-5'), 128.7 (2C, t, C-14, C-14'), 128.3 (q, C-7), 124.1 (2C, t, C-15, C-15'), 119.2 (2C, t, C-6, C-6'), 81.2 (t, C-17), 79.3 (q, C-2), 59.7 (p, C-20), 55.8 (t, C-10), 53.1 (p, C-19), 28.3 (3C, p, C-1) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₄H₂₇O₉N₃Na [M + Na]⁺: 524.1645; gefunden 524.1641.

4-((2*S*,3*R*)-3,4-Dimethoxy-2-(4-nitrobenzamido)-4-oxobutanamido)benzoesäure (**75**)



Ester **79** (548 mg, 1.09 mmol, 1.0 Äq) wurde in CH₂Cl₂ (16 mL) und TFA (10 mL) bei Raumtemperatur gelöst. Nach 5 h wurde Wasser (10 mL) und EtOAc (15 mL) zugegeben. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säure **75** (484 mg, 1.09 mmol, quant.) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Smp. = 208 °C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{24} = +11.3^\circ$ (*c* 0.8, MeOH).

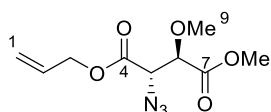
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.6 (1H, s, 6-NH), 9.25 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, 9-NH), 8.32 (2H, m, H-13, H-13'), 8.10 (2H, m, H-12, H-12'), 7.90 (2H, m, H-3,

H-3'), 7.76 (2H, m, H-4, H-4'), 5.10 (1H, t, $J = 8.3$ Hz, H-8), 4.22 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-15), 3.66 (3H, s, H-17), 3.33 (3H, s, H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 170.0$ (q, C-16), 167.3 (q, C-7), 166.9 (q, C-1), 165.3 (q, C-10), 149.3 (q, C-14), 142.6 (q, C-2), 139.3 (q, C-11), 130.4 (2C, t, C-12, C-12'), 129.3 (2C, t, C-3, C-3'), 125.7 (q, C-5), 123.5 (2C, t, C-13, C-13'), 118.9 (2C, t, C-4, C-4'), 79.6 (t, C-15), 58.6 (p, C-18), 55.6 (t, C-8), 52.1 (p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{N}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 468.1019; gefunden 468.1015.

(2S,3R)-1-Allyl-4-methyl-2-azido-3-methoxysuccinat (71)



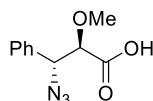
Säure **77** (691 mg, 3.40 mmol, 1.0 Äq) wurde in Allylalkohol (1.86 mL, 27.2 mmol, 8.0 Äq) gelöst. Nach Zugabe von *para*-Toluolsulfonsäure (129 mg, 0.68 mmol, 0.2 Äq) wurde bei 80 °C für 5 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von Wasser beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde mit NaHCO_3 - und NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1 \rightarrow 7: 1) lieferte das gewünschte Produkt **71** (604 mg, 2.48 mmol, 73% über 2 Stufen) als gelbes Öl.

$[\alpha]_D^{24} = +52.7^\circ$ (c 0.9, CHCl_3).

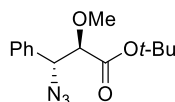
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.95 - 5.85$ (1H, m, H-2), 5.36 (1H, dd, $J = 1.2, 17.2$ Hz, H-1_{cis}), 5.28 (1H, dd, $J = 1.2, 10.1$ Hz, H-1_{trans}), 4.69 (2H, d, $J = 5.8$ Hz, H-3), 4.26 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-5), 4.20 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-6), 3.79 (3H, s, H-8), 3.54 (3H, s, H-9) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.1$ (q, C-7), 166.8 (q, C-4), 131.2 (t, C-2), 119.5 (s, C-1), 81.5 (t, C-6), 67.0 (s, C-3), 63.1 (t, C-5), 59.7 (p, C-9), 52.6 (p, C-8) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{O}_5\text{N}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 266.0753; gefunden 266.0753.

(2*R*,3*R*)-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropansäure (47)

Zu einer Lösung des Methyl-Esters **46** (2.18 g, 9.29 mmol, 1.0 Äq) in THF (150 mL) wurde bei 0 °C eine KOH-Lösung (1M, 75 mL, 10.0 Äq) zugetropft. Die Reaktion wurde 5 h bei 0 °C gerührt und anschließend durch die Zugabe von HCl (2 N, 40 mL) beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Das Rohprodukt **47** (2.05 g, 9.29 mmol, quant.) wurde ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

***tert*-Butyl-(2*R*,3*R*)-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropanoat (48)**

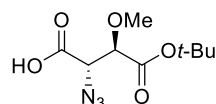
Säure **47** (2.05 g, 9.29 mmol, 1.0 Äq) und *N,N*-Dimethylformamid-di-*tert*-butyl-acetal (20 mL, 83.6 mmol, 9 Äq) wurden in Toluol (55 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 30:1) lieferte das gewünschte Produkt **48** (1.83 g, 6.60 mmol, 71% über 2 Stufen) als gelbes Öl.

$[\alpha]_D^{25} = -31.4^\circ$ (*c* 0.9, CHCl₃).

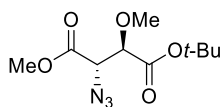
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.41 - 7.34$ (5H, m, ArH), 4.69 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, CHN₃), 3.90 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, CHOMe), 3.38 (3H, s, OMe), 1.41 (9H, s, *t*Bu) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 168.8$ (q, CO₂*t*Bu), 135.6 (q, C-Ar), 128.8 (t, C-Ar), 128.7 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 84.0 (t, CHOMe), 82.5 (q, C(CH₃)₃), 66.1 (t, CHN₃), 59.0 (p, OCH₃), 28.1 (3C, p, C(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₁₉O₃N₃Na [M + Na]⁺: 300.1324; gefunden 300.1323.

(2*S*,3*R*)-2-Azido-4-(*tert*-butoxy)-3-methoxy-4-oxobutansäure (49)

tert-Butyl-(2*R*,3*R*)-3-azido-2-methoxy-3-phenylpropanoat (**48**, 1.58 g, 5.70 mmol, 1.0 Äq) wurde in Chloroform (15 mL), Acetonitril (64 mL) und Wasser (142 mL) gelöst. Nach Zugabe von NaIO₄ (36.6 g, 171 mmol, 30 Äq) und RuCl₃ (354 mg, 1.71 mmol, 0.30 Äq) wurde das Reaktionsgemisch für drei Stunden unter Rückfluss erwärmt. Der gebildete weiße Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden unter vermindertem Druck konzentriert und in Et₂O aufgenommen. Der entstandene Feststoff wurde über Kieselgur abfiltriert. Das Filtrat mit Rohprodukt **49** wurde unter vermindertem Druck konzentriert und ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

4-(*tert*-Butyl)-1-methyl-(2*S*,3*R*)-2-azido-3-methoxysuccinat (50)

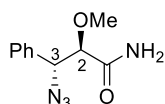
Säure **49** (1.39 g, 5.7 mmol, 1.0 Äq) wurde in Iodmethan (27 mL) gelöst. Calciumsulfat (5.95 g, 43.7 mmol, 8.0 Äq) und Ag₂O (3.8 g, 16.4 mmol, 3.0 Äq) wurden hinzugegeben. Die Suspension wurde 22 h bei Raumtemperatur im Dunkeln gerührt. Anschließend wurden die Feststoffe über Kieselgur abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **50** (620 mg, 2.39 mmol, 42%) als gelbes Öl.

$[\alpha]_D^{25} = +41.0^\circ$ (*c* 1.3, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.23 (1H, d, *J* = 3.4 Hz, CHN₃), 4.08 (1H, d, *J* = 3.4 Hz, CHOMe), 3.80 (3H, s, CO₂CH₃), 3.53 (3H, s, OCH₃), 1.49 (9H, s, *t*Bu) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 167.8 (q, CO₂*t*Bu), 167.3 (q, CO₂Me), 83.1 (q, C(CH₃)₃), 81.5 (t, CHOMe), 63.3 (t, CHN₃), 59.5 (p, OCH₃), 52.9 (p, CO₂CH₃), 28.1 (3C, p, C(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₇O₅N₃Na [M + Na]⁺: 282.1066; gefunden 282.1064.

(2*R*,3*R*)-3-Azido-2-methoxy-3-phenylpropanamid (87)

Säure **47** (180 mg, 0.81 mmol, 1.0 Äq) wurde in Dioxan (1.6 mL) gelöst. Pyridin (40 µL, 0.49 mmol, 0.6 Äq), Boc₂O (230 mg, 1.05 mmol, 1.3 Äq) und NH₄HCO₃ (83.6 mg, 1.05 mmol, 1.3 Äq) wurden zugegeben. Die Reaktion wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend durch die Zugabe von NaHCO₃-Lösung beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit KHSO₄-Lösung (10%) und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Das Amid **87** (132 mg, 0.60 mmol, 74%) wurde aus *n*Hexan gefällt, filtriert und am Hochvakuum getrocknet. Es wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 129 °C.

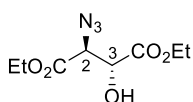
$[\alpha]_D^{25} = -75.6^\circ$ (*c* 0.7, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 7.46 – 7.34 (7H, m, ArH, NH₂), 4.87 (1H, d, *J* = 6.1 Hz, H-3), 3.95 (1H, d, *J* = 6.1 Hz, H-2), 3.29 (3H, s, OCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 170.6 (q, C-1), 135.8 (t, C-7), 128.3 (4C, t, C-5, C-5', C-6, C-6'), 83.2 (t, C-2), 65.1 (t, C-3), 58.4 (p, OCH₃) ppm.¹⁵⁵

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₂O₂N₄Na [M + Na]⁺: 243.0858; gefunden 243.0858.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 3394, 2097, 1630, 1497, 1287, 1231, 1115, 1030, 733, 698, 623 \text{ cm}^{-1}$.

(2*S*,3*R*)-Diethyl-2-azido-3-hydroxysuccinat (91)

Thionylchlorid (16.0 mL, 219 mmol, 1.5 Äq) wurde bei 0 °C langsam zu (2*R*,3*R*)-Diethyltartrat (**90**, 30.1 g, 146 mmol, 1.0 Äq) getropft. Nach tropfenweiser Zugabe von DMF (0.22 mL, 2.8 mmol, 0.02 Äq) wurde die Reaktionslösung bei Raumtemperatur 90 Minuten gerührt. Anschließend wurde weitere 90 Minuten bei 50 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck konzentriert. Der erhaltene Sulfiddiester wurde in DMF (40 mL) gelöst

¹⁵⁵ Ein quartäres Kohlenstoffatom-Signal fehlt aufgrund von mangelnder Relaxation.

und langsam zu einer Suspension aus NaN_3 (28.6 g, 440 mmol) in DMF (45 mL) bei 0 °C getropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei 35 °C gerührt. Das Reaktionsvolumen wurde unter vermindertem Druck auf circa die Hälfte konzentriert. Nach Zugabe von EtOAc (80 mL) und Wasser (80 mL) wurde das Reaktionsgemisch 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Zugabe von EtOAc (80 mL) und Wasser (80 mL) wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaHCO_3 - und NaCl -Lösung (3x) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 7:1) lieferte das gewünschte Produkt **91** (21.6 g, 93.4 mmol, 64% über 2 Stufen) als farbloses Öl.

$[\alpha]_D^{23} = +13.1^\circ$ (c 0.8, MeOH).

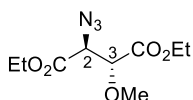
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.61$ (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-3), 4.31 – 4.21 (5H, m, H-2, 2x CH_2CH_3), 3.37 (1H, s, OH), 1.29 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 1.28 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 170.9$ (q, C-1/C-4), 167.1 (q, C-1/C-4), 72.2 (t, C-3), 64.5 (t, C-2), 62.7 (s, CH_2CH_3), 62.4 (s, CH_2CH_3), 14.1 (2C, p, CH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_5\text{N}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 254.0753; gefunden 254.0754.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 3278, 2980, 2110, 1736, 1370, 1200, 1107, 1025, 865$ cm^{-1} .

(2S,3R)-Diethyl-2-azido-3-methoxysuccinat (**92**)



Zu einer Suspension aus Alkohol **91** (21.6 g, 93.4 mmol, 1.0 Äq) und Ag_2O (22.7 g, 98.1 mmol, 1.1 Äq) in CH_2Cl_2 (60 mL) wurde Iodmethan (19.5 mL, 312 mmol, 3.3 Äq) bei 0 °C zugegeben. Nach 20 h bei Raumtemperatur wurde über Kieselgur filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **92** (22.2 g, 90.6 mmol, 97%) als farbloses Öl.

$[\alpha]_D^{24} = +61.1^\circ$ (c 0.9, MeOH).

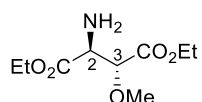
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.27 - 4.18$ (5H, m, H-2, 2x CH_2CH_3), 4.14 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 3.52 (3H, s, OCH_3), 1.28 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 1.27 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.5$ (q, C-1/C-4), 167.0 (q, C-1/C-4), 81.4 (t, C-3), 63.0 (t, C-2), 62.4 (s, CH_2CH_3), 61.7 (s, CH_2CH_3), 59.6 (p, OCH_3), 14.2 (p, CH_2CH_3), 14.2 (p, CH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_5\text{N}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 268.0909; gefunden 268.0914.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 2980, 2110, 1741, 1370, 1288, 1197, 1125, 1020, 863$ cm^{-1} .

(2*S*,3*R*)-Diethyl -2-amino-3-methoxysuccinat (**93**)



Eine Suspension aus Azid **92** (22.0 g, 89.7 mmol, 1.0 Äq) und $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (1.46 g, 20% auf Kohle mit 50% Wasser, 1.0 mmol, 0.01 Äq) in EtOAc (120 mL) wurde bei Raumtemperatur unter Wasserstoffatmosphäre (1 atm) drei Tage gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Kieselgur filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (EtOAc) lieferte das gewünschte Amin **93** (19.1 g, 87.2 mmol, 97%) als farbloses Öl.

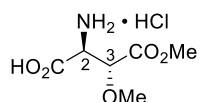
$[\alpha]_D^{21} = +65.4^\circ$ (c 0.7, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.27 - 4.13$ (4H, m, 2x CH_2CH_3), 4.03 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-2), 3.90 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 3.46 (3H, s, OCH_3), 1.88 (2H, s, NH_2), 1.25 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 1.24 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 171.8$ (q, C-1/C-4), 169.7 (q, C-1/C-4), 82.7 (t, C-2), 61.5 (s, CH_2CH_3), 61.2 (s, CH_2CH_3), 59.3 (p, OCH_3), 56.8 (t, C-3), 14.2 (p, CH_2CH_3), 14.1 (p, CH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{O}_5\text{NNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 242.1004; gefunden 242.1003.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 2980, 1731, 1373, 1186, 1111, 1024, 863$ cm^{-1} .

(2*S*,3*R*)-2-Amino-3,4-dimethoxy-4-oxobutansäure Hydrochlorid (94)

Eine Suspension aus Amin **93** (19.1 g, 87.2 mmol, 1.0 Äq) und HCl (280 mL, 5 M in H₂O, 1.4 mol, 1.4 Äq) wurde für 20 h bei 80 °C gerührt. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wurde filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der erhaltene Feststoff wurde zerkleinert und in siedendem THF (250 mL) 20 Minuten intensiv gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C gekühlt und Propylenoxid (60 mL) wurde langsam zugetropft. Nach 3 h bei Raumtemperatur wurde der erhaltene Feststoff filtriert, mit THF gewaschen und am Hochvakuum getrocknet. Das Zwischenprodukt wurde in MeOH (20 mL) resuspendiert. Eine Lösung aus trockener HCl, hergestellt aus tropfenweiser Zugabe von AcCl (9.0 mL, 127 mmol, 1.5 Äq) zu MeOH (70 mL), wurde langsam bei 0 °C zugetropft. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 20 h gerührt. Im Anschluss wurde das Reaktionsgemisch langsam in Et₂O (600 mL) getropft. Der erhaltene Feststoff wurde filtriert, mit Et₂O gewaschen und am Hochvakuum getrocknet. Produkt **94** (10.6 g, 49.7 mmol, 57%) wurde als farbloser Feststoff isoliert.

Smp. = 209 °C (Zersetzung).

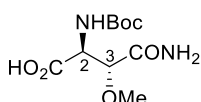
$[\alpha]_D^{22} = +90.9^\circ$ (*c* 0.6, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CH₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 4.50$ (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-2), 4.33 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-3), 3.81 (3H, s, H-5), 3.56 (3H, s, OCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): $\delta = 169.9$ (q, C-4), 167.9 (q, C-1), 79.0 (t, C-3), 60.0 (s, OCH₃), 55.7 (t, C-2), 53.0 (s, C-5) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₆H₁₂O₅NNa [M + H]⁺: 178.0715; gefunden 178.0713.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 2903, 1751, 1477, 1438, 1233, 1213, 1160, 1111, 1055, 1016, 836$ cm⁻¹.

(2*S*,3*R*)-4-Amino-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-methoxy-4-oxobutansäure (95)

In Wasser (63 ml) gelöstes Hydrochlorid **94** (5.3 g, 24.9 mmol, 1.0 Äq) wurde bei 0 °C zu NaHCO₃ (6.3 g, 75 mmol, 3.0 Äq) in Wasser (40 mL) getropft. Eine Lösung aus Boc₂O (7.6 g,

34.5 mmol, 1.4 Äq) in THF (80 mL) wurde hinzugegotropft. Die entstandene Mischung wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Et₂O (2 x 88 mL) extrahiert und durch tropfenweise Zugabe von HCl (konz., aq, 6.6 mL) auf pH 1 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die vereinigten CH₂Cl₂-Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der erhaltene Rückstand wurde in NH₃ (28% in H₂O, 35 mL, 578 mmol, 23 Äq) gelöst und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung langsam in ein Gemisch aus HCl (1 M, aq, 650 mL) und EtOAc (650 mL) bei 0 °C getropft. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Mögliche Säurereste wurden mit Toluol coevaporiert. Produkt **95** (4.76 g, 18.2 mmol, 73%) wurde als amorpher, farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 67 °C.

$[\alpha]_D^{25} = +33.3^\circ$ (*c* 0.5, MeOH).

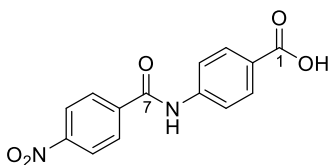
¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, CH₃OH = 3.31 ppm): δ = 4.67 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H-3), 4.09 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H-2), 3.49 (3H, s, OCH₃), 1.45 (9H, s, CO₂C(CH₃)₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD, CD₃OD = 49.00 ppm): δ = 174.5 (q, C-1), 172.3 (q, C-4), 157.7 (q, CO₂C(CH₃)₃), 83.6 (t, C-2), 80.9 (q, CO₂C(CH₃)₃), 59.6 (p, OCH₃), 55.9 (t, C-3), 28.6 (3C, p, CO₂C(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₈O₆N₂Na [M + Na]⁺: 285.1063; gefunden 285.1064.

1.1.1 Verbindungen des Westfragments

4-(4-nitrobenzamido)-benzoesäure (**32**)



4-Aminobenzoesäure (**51**, 3.00 g, 22.0 mmol, 1.0 Äq) und *N,N*-Dimethylanilin (4.20 mL, 22.0 mmol, 1.0 Äq) wurden in Aceton (30 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und 4-Nitrobenzoylchlorid (**39**, 4.00 g, 22.0 mmol, 1.0 Äq) zugegeben. Anschließend wurde das Gemisch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene cremefarbene

Feststoff wurde filtriert, mit Aceton gewaschen und lieferte Produkt **32** (3.84 g, 13.6 mmol, 62%).

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.⁸⁶

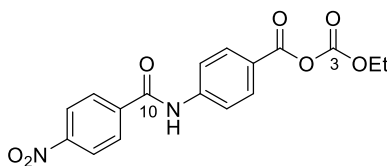
Smp. = 336 °C.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.8 (1H, s, H-6), 8.40 – 8.37 (2H, m, H-10, H-10'), 8.21 – 8.18 (2H, m, H-9, H-9'), 7.98 – 7.91 (4H, m, H-3, H-3', H-4, H-4') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 166.9 (q, C-1), 164.3 (q, C-7), 149.3 (q, C-11), 142.8 (q, C-5), 140.3 (q, C-8), 130.3 (2C, t, C-3, C-3'), 129.4 (2C, t, C-9, C-9'), 126.0 (q, C-2), 123.6 (2C, t, C-10, C-10'), 119.7 (2C, t, C-4, C-4') ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₉N₂O₅ [M – H]⁻: 285.0511; gefunden 285.0511.

(Ethyl)-4-(4-nitrobenzamido)-benzoesäureanhydrid (**52**)



4-(4-Nitrobenzamido)-benzoesäure **32** (6.50 g, 25.2 mmol, 1.0 Äq) wurde in trockenem Acetonitril (167 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Triethylamin (3.70 mL, 27.7 mmol, 1.1 Äq) und Ethylchloroformiat (2.50 mL, 27.7 mmol, 1.1 Äq) wurden zugegeben. Nach 30 Minuten bei 0 °C wurde das weiße Präzipitat abfiltriert und mit eisgekühltem Acetonitril gewaschen. Anhydrid **52** (6.11 g, 17.4 mmol, 69%) wurde unter vermindertem Druck getrocknet und als farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 322 °C.

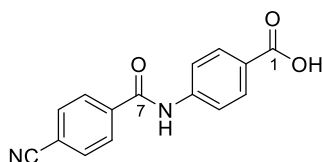
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 11.0 (1H, s, H-9), 8.40 – 8.38 (2H, m, H-13, H-13'), 8.23 – 8.18 (2H, m, H-12, H-12'), 8.08 – 8.01 (4H, m, H-6, H-6', H-7, H-7'), 4.37 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, H-2), 1.32 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, H-1) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 164.6 (q, C-10), 160.5 (q, C-4), 149.4 (q, C-14), 148.9 (q, C-3), 144.9 (q, C-8), 140.0 (q, C-11), 131.6 (2C, t, C-6, C-6'), 129.4

(2C, t, C-12, C-12'), 123.6 (2C, t, C-13, C-13'), 121.7 (q, C-5), 120.0 (2C, t, C-7, C-7') 66.0 (s, C-2), 13.8 (p, C-1) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{17}H_{14}N_2O_7Na$ $[M + Na]^+$: 381.0699; gefunden 381.0699.

4-(4-Cyanobenzamido)-benzoesäure (**112**)



4-Aminobenzoesäure (**51**, 4.14 g, 30.2 mmol, 1.0 Äq) wurde in THF (23 mL) und gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung (23 mL) gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch auf 0 °C gekühlt war, wurde 4-Cyanobenzoylchlorid (5.00 g, 30.2 mmol, 1.0 Äq) portionsweise zugegeben. Anschließend wurde die Reaktion 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Salzsäure (1 M) wurde so lange zugegeben bis sich ein Niederschlag gebildet hat. Dieser wurde filtriert, mit HCl (1 M, 80 mL) und Et_2O (150 mL) gewaschen sowie am Hochvakuum getrocknet. Produkt **112** (7.48 g, 28.1 mmol, 93%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.¹⁵⁶

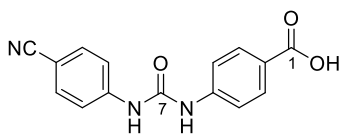
Smp. = 317 °C (Lit. Smp. = 320 °C).¹⁵⁶

1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$, $DMSO = 2.50$ ppm): $\delta = 12.8$ (1H, br. s, CO_2H), 10.8 (1H, s, H-6), 8.12 (2H, m, H-9, H-9'), 8.04 (2H, m, H-10, H-10'), 7.96 (2H, m, H-4, H-4'), 7.91 (2H, m, H-3, H-3') ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$, $DMSO = 39.52$ ppm): $\delta = 166.9$ (q, C-1), 164.6 (q, C-7), 142.8 (q, C-5), 138.6 (q, C-11), 132.5 (2C, t, C-10, C-10'), 130.3 (2C, t, C-4, C-4'), 128.7 (2C, t, C-9, C-9'), 126.0 (q, C-2), 119.7 (2C, t, C-3, C-3'), 118.3 (q, CN), 114.1 (q, C-8) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{15}H_9N_2O_3$ $[M - H]^-$: 265.0613; gefunden 265.0613.

¹⁵⁶ Y. Dong, X. Wang, M. Cal, M. Kaiser, J. L. Vennerstrom, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 944–948; F. Makovec, W. Peris, L. Revel, R. Giovanetti, D. Redaelli, L. C. Rovati, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3633–3640.

4-(3-(4-Cyanophenyl)ureido)-benzoesäure (118)

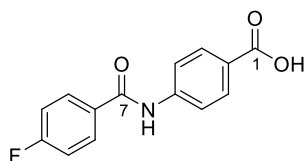
4-Aminobenzoesäure (**51**, 952 mg, 6.94 mmol, 1.0 Äq) und 4-Cyanophenylisocyanat (**117**, 1.00 g, 6.94 mmol, 1.0 Äq) wurden in THF (30 mL) gelöst. Nach Zugabe von DIPEA (3.50 mL, 20.8 mmol, 3.0 Äq) wurde die Reaktion 16 h bei 55 °C gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit Et₂O (200 mL) gewaschen. Säulenchromatographische Reinigung (CH₂Cl₂/MeOH, 5-10% MeOH) lieferte das gewünschte Produkt **118** (1.87 g, 6.66 mmol, 96%) als farblosen Feststoff.

Smp. = 290 °C (Zersetzung).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.7 (1H, br. s, CO₂H), 9.31 (1H, s, H-6/H-8), 9.23 (1H, s, H-6/H-8), 7.88 (2H, m, H-3, H-3'), 7.74 (2H, m, H-10, H-10'), 7.64 (2H, m, H-11, H-11'), 7.57 (2H, m, H-4, H-4') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 167.0 (q, C-1), 151.9 (q, C-7), 143.9 (q, C-9), 143.4 (q, C-5), 133.3 (2C, t, C-11, C-11'), 130.5 (2C, t, C-3, C-3'), 124.2 (q, C-2), 119.2 (q, CN), 118.2 (2C, t, C-10, C-10'), 117.6 (2C, t, C-4, C-4'), 103.6 (q, C-12) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₅H₁₀N₃O₃ [M – H]⁻: 280.0722; gefunden 280.0723.

4-(4-Fluorobenzamido)-benzoesäure (130)

4-Aminobenzoesäure (**51**, 1.0 g, 7.29 mmol, 1.0 Äq) und Na₂CO₃ (1.55 g, 14.6 mmol, 2.0 Äq) wurden in Wasser (47 mL) gelöst. Nach langsamen Zutropfen von 4-Fluorbenzoylchlorid (**129**, 3.5 mL, 29.2 mmol, 4.0 Äq) wurde die Reaktion 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit heißem Wasser gewaschen (1.5 L) und am Hochvakuum getrocknet. Produkt **130** (1.85 g, 7.15 mmol, 98%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.¹⁵⁷

Smp. = 301 °C (Lit. Smp. = 300 °C)¹⁵⁸.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.8 (1H, s, CO₂H), 10.5 (1H, s, H-6), 8.07 – 8.03 (2H, m, H-9, H-9'), 7.95 – 7.89 (4H, m, H-3, H-3', H-4, H-4'), 7.41 – 7.36 (2H, m, H-10, H-10') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 166.9 (q, C-1), 164.8 (q, C-7), 164.2 (d, *J* = 249.4 Hz, C-11), 143.2 (q, C-5), 131.1 (d, *J* = 2.9 Hz, C-8), 130.6 (d, *J* = 9.2 Hz, C-9, C-9'), 130.2 (2C, t, C-3, C-3'), 125.5 (q, C-2), 119.5 (2C, t, C-4, C-4'), 115.4 (d, *J* = 21.8 Hz, C-10, C-10') ppm.

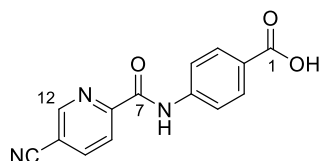
HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₉NO₃F [M – H][–]: 258.0566; gefunden 258.0564.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Peptidkupplung und Verseifung des Westfragments (Methode 1)

Carbonsäure (2.0 Äq) und *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (1.0 Äq) wurden bei 0 °C in DMF (0.15 M) gelöst. Nach Zugabe von DIPEA (4.0 Äq) und COMU (2.0 Äq) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für 15 h gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von NaHCO₃-Lösung beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde mit NaHCO₃-Lösung (4x) und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verseift. Dazu wurde es 30 min bei 0 °C in TFA (0.02 M) gerührt. Durch die Zugabe von Et₂O wurde das Produkt gefällt, filtriert, mit Et₂O gewaschen und am Hochvakuum getrocknet.

¹⁵⁷ C.-H. Zheng, H. Yang, M. Zhang, S.-H. Lu, D. Shi, J. Wang, X.-H. Chen, X.-H. Ren, J. Liu, J.-G. Lv, J. Zhu, Y.-J. Zhou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 39–44.

¹⁵⁸ Novartis AG, Amide Derivatives and their use as Inhibitors of 11-Beta-hydroxysteroid-dehydrogenase Type 1, WO2004/65351(A1), 05.08.2004.

4-(5-Cyanopyridinamido)-benzoesäure (136)

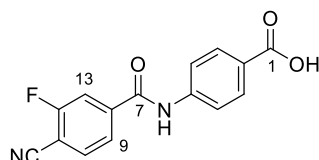
5-Cyanopyridine-2-carbonsäure (**131**, 50 mg, 0.34 mmol) wurde mit *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (**106**, 32.6 mg, 0.17 mmol) gemäß **Methode 1** umgesetzt. Es wurde Produkt **136** (33.7 mg, 0.13 mmol, 75%) als beigefarbener Feststoff isoliert.

Smp. = 354 °C.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.8 (1H, s, CO₂H), 11.1 (1H, s, H-6), 9.22 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-12), 8.60 (1H, dd, *J* = 1.7, 8.1 Hz, H-10), 8.31 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-9), 8.06 (2H, m, H-4, H-4'), 7.95 (2H, m, H-3, H-3') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 166.9 (q, C-1), 161.8 (q, C-7), 152.3 (q, C-8), 151.5 (t, C-10), 142.3 (t, C-12), 142.1 (q, C-5), 130.2 (2C, t, C-3, C-3'), 126.2 (q, C-2), 122.6 (t, C-9), 120.0 (2C, t, C-4, C-4'), 116.6 (q, CN), 111.8 (q, C-11) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₈N₃O₃ [M – H]⁻: 266.0566; gefunden 266.0564.

4-(4-Cyano-3-fluorobenzamido)-benzoesäure (137)

4-Cyano-3-fluorobenzoesäure (**132**, 100 mg, 0.61 mmol) wurde mit *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (**106**, 58.5 mg, 0.30 mmol) gemäß **Methode 1** umgesetzt. Es wurde Produkt **137** (57.0 mg, 0.20 mmol, 66%) als farbloser Feststoff isoliert.

Smp. = 298 °C.

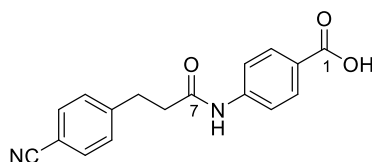
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.8 (1H, s, CO₂H), 10.8 (1H, s, H-6), 8.16 – 8.13 (1H, m, H-9), 8.08 – 8.05 (1H, m, H-13), 7.98 – 7.95 (3H, m, H-4, H-4', H-10), 7.91 – 7.88 (2H, m, H-3, H-3') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 166.8 (q, C-1), 163.5 (q, C-7), 162.1 (d, *J* = 238.1 Hz, C-12), 142.6 (q, C-5), 141.5 (d, *J* = 7.3 Hz, C-8), 134.3 (t, C-9), 130.3

(2C, t, C-3, C-3'), 126.1 (q, C-2), 124.7 (d, $J = 3.5$ Hz, C-10), 119.7 (2C, t, C-4, C-4'), 115.8 (d, $J = 21.4$ Hz, C-13), 113.6 (q, CN), 102.9 (d, $J = 15.3$ Hz, C-11) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{15}H_8N_2O_3F$ $[M - H]^-$: 283.0519; gefunden 283.0516.

4-(3-(4-Cyanophenyl)-propanamido)-benzoesäure (**140**)



3-(4-Cyanophenyl)-propansäure (**135**, 100 mg, 0.57 mmol) wurde mit *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (**106**, 55.1 mg, 0.29 mmol) gemäß **Methode 1** umgesetzt. Es wurde Produkt **140** (66.0 mg, 0.22 mmol, 79%) als farbloser Feststoff isoliert.

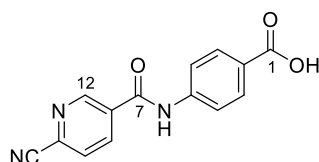
Smp. = 280 °C.

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.7$ (1H, br. s, CO_2H), 10.3 (1H, s, H-6), 7.87 (2H, m, H-3, H-3'), 7.76 (2H, m, H-12, H-12'), 7.67 (2H, m, H-4, H-4'), 7.47 (2H, m, H-11, H-11'), 3.00 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-9), 2.71 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-8) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 170.5$ (q, C-7), 166.9 (q, C-1), 147.2 (q, C-10), 143.1 (q, C-5), 132.2 (2C, t, C-12, C-12'), 130.4 (2C, t, C-3, C-3'), 129.4 (2C, t, C-11, C-11'), 125.0 (q, C-2), 119.0 (q, CN), 118.3 (2C, t, C-4, C-4'), 108.9 (q, C-13), 37.1 (s, C-8), 30.5 (s, C-9) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{17}H_{13}N_2O_3$ $[M - H]^-$: 293.0926; gefunden 293.0924.

4-(6-Cyanonicotinamido)-benzoesäure (**139**)



6-Cyanopyridine-3-carbonsäure (**134**, 100 mg, 0.68 mmol) wurde mit *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (**106**, 65.2 mg, 0.34 mmol) gemäß **Methode 1** umgesetzt. Es wurde Produkt **139** (75.0 mg, 0.28 mmol, 83%) als beigefarbener Feststoff isoliert.

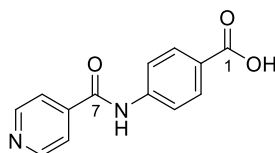
Smp. = 289 °C (Zersetzung).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.7 (1H, s, CO₂H), 10.9 (1H, s, H-6), 9.23 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-12), 8.53 (1H, dd, *J* = 1.9, 8.0 Hz, H-9), 8.26 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-10), 7.97 (2H, m, H-4, H-4'), 7.90 (2H, m, H-3, H-3') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 166.8 (q, C-1), 163.1 (q, C-7), 150.2 (t, C-12), 142.5 (q, C-5), 137.3 (t, C-9), 134.5 (q, C-8), 133.4 (q, C-11), 130.4 (2C, t, C-4, C-4'), 128.8 (t, C-10), 126.2 (q, C-2), 119.6 (2C, t, C-3, C-3'), 117.1 (q, CN) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₄H₈N₃O₃ [M – H][–]: 266.0566; gefunden 266.0565.

4-(Isonicotinamido)-benzoesäure (**138**)



Isonicotinsäure (**133**, 100 mg, 0.81 mmol) wurde mit *tert*-Butyl-4-aminobenzoat (**106**, 78.4 mg, 0.41 mmol) gemäß **Methode 1** umgesetzt. Es wurde Produkt **138** (92.3 mg, 0.38 mmol, 94%) als beigefarbener Feststoff isoliert.

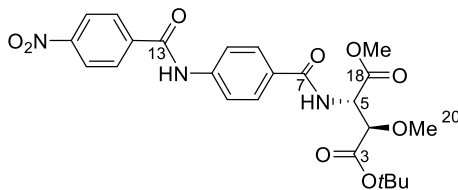
Smp. = 381 °C.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.8 (1H, s, CO₂H), 10.8 (1H, s, H-6), 8.82 (2H, m, H-10, H-10'), 7.97 (2H, m, H-4, H-4'), 7.92 – 7.91 (2H, m, H-3, H-3'), 7.90 – 7.89 (2H, m, H-9, H-9') ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 166.9 (q, C-1), 164.3 (q, C-7), 149.9 (2C, t, C-10, C-10'), 142.6 (q, C-5), 142.1 (q, C-8), 130.3 (2C, t, C-4, C-4'), 126.1 (q, C-2), 121.9 (2C, t, C-9, C-9'), 119.7 (2C, t, C-3, C-3') ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₃H₉N₂O₃ [M – H][–]: 241.0613; gefunden 241.0608.

1-(*tert*-Butyl)-4-methyl-(2*R*,3*S*)-2-methoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-succinat (53)



4-(*tert*-Butyl)-1-methyl-(2*S*,3*R*)-2-azido-3-methoxysuccinat (**50**, 351 mg, 1.35 mmol, 1.0 Äq) wurde in THF (15 mL) gelöst. Nach Zugabe von Wasser (0.6 mL) und PPh₃ (1.07 g, 4.06 mmol, 3.0 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 17 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Amin wurde in DMF (6.5 mL) gelöst. Nach Zugabe von (Ethyl)-4-(4-nitrobenzamido)-benzoesäureanhydrid (**52**, 582 mg, 1.63 mmol, 1.2 Äq) wurde 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von Wasser beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 4:1 → 1:1) lieferte das gewünschte Produkt **53** (399 mg, 0.80 mmol, 59%) als gelben Feststoff.

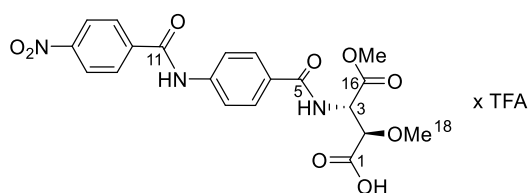
Smp. = 113 °C.

$[\alpha]_D^{23} = +31.8^\circ$ (*c* 0.8, EtOAc).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.8$ (1H, s, H-12), 8.73 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-6), 8.39 (2H, m, H-16, H-16'), 8.20 (2H, m, H-15, H-15'), 7.91 (4H, m, H-9, H-9', H-10, H-10'), 4.97 (1H, dd, *J* = 5.4, 8.3 Hz, H-5), 4.09 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, H-4), 3.64 (3H, s, H-19), 3.36 (3H, s, H-20), 1.41 (9H, s, H-1) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 169.1$ (q, C-18), 168.0 (q, C-3), 165.8 (q, C-7), 164.2 (q, C-13), 149.3 (q, C-17), 141.7 (q, C-11), 140.3 (q, C-14), 129.3 (2C, t, C-15, C-15'), 128.7 (q, C-8), 128.6 (2C, t, C-10, C-10'), 123.6 (2C, t, C-16, C-16'), 119.5 (2C, t, C-9, C-9'), 81.4 (t, C-4), 80.2 (q, C-2), 58.5 (t, C-20), 54.3 (p, C-5), 52.0 (p, C-19), 27.6 (3C, p, C-1) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₄H₂₇N₃O₉Na [M + Na]⁺: 524.1645; gefunden 524.1647.

(2*R*,3*S*)-2,4-Dimethoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutansäure (54)

In eine Lösung aus *tert*-Butylester **53** (81 mg, 0.16 mmol, 1.0 Äq) in CH₂Cl₂ (2.7 mL) wurde bei Raumtemperatur TFA (1.6 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h gerührt und anschließend mit EtOAc verdünnt. Nach Zugabe von Wasser wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (5x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säure **54** (71 mg, 0.16 mmol, quant.) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Smp. = 203 °C (Zersetzung).

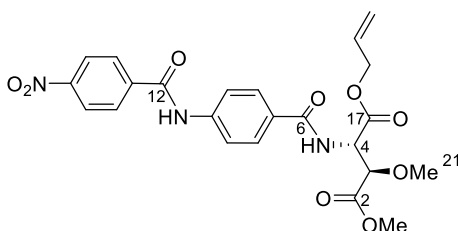
$[\alpha]_D^{24} = +4.6^\circ$ (*c* 1.4, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.8$ (1H, s, H-10), 8.71 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-4), 8.38 (2H, d, *m*, H-14, H-14'), 8.21 (2H, m, H-13, H-13'), 7.91 (4H, m, H-7, H-7', H-8, H-8'), 5.06 (1H, dd, *J* = 4.7, 8.1 Hz, H-3), 4.11 (1H, d, *J* = 4.7 Hz, H-2), 3.64 (3H, s, H-17), 3.39 (3H, s, H-18) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 170.6$ (q, C-1), 169.3 (q, C-16), 166.0 (q, C-5), 164.3 (q, C-11), 158.5 (q, *J* = 38.2 Hz, TFA), 149.4 (q, C-15), 141.8 (q, C-9), 140.4 (q, C-12), 129.4 (2C, t, C-13, C-13'), 128.8 (q, C-6), 128.7 (2C, t, C-8, C-8'), 123.6 (2C, t, C-14, C-14'), 119.6 (2C, t, C-7, C-7'), 115.2 (d, *J* = 288.6 Hz, TFA), 79.9 (t, C-2), 58.7 (t, C-18), 54.5 (p, C-3), 52.1 (p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₀H₁₈N₃O₉ [M – H][–]: 444.1043; gefunden 444.1045.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 3275, 1745, 1647, 1597, 1521, 1313, 1267, 1238, 1112$ cm^{–1}.

(2*S*,3*R*)-1-Allyl-4-methyl-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)succinat (150)

(2*S*,3*R*)-1-Allyl-4-methyl-2-azido-3-methoxysuccinat (**71**, 219 mg, 0.90 mmol, 1.0 Äq) wurde in THF (10 mL) gelöst. Nach Zugabe von Wasser (0.4 mL) und PPh₃ (708 mg, 2.70 mmol, 3.0 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 17 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Amin wurde in DMF (4.5 mL) gelöst. Nach Zugabe von (Ethyl)-4-(4-nitrobenzamido)-benzoesäureanhydrid (**52**, 386 mg, 1.08 mmol, 1.2 Äq) wurde 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von Wasser beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 4:1 → 1:1) lieferte das gewünschte Produkt **150** (231 mg, 0.48 mmol, 53%) als gelbes Öl.

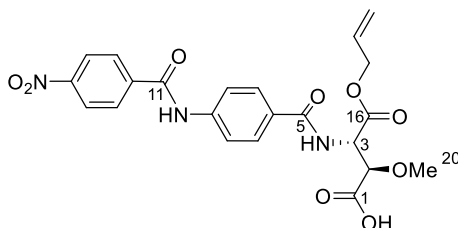
$[\alpha]_D^{23} = +10.4^\circ$ (*c* 0.6, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.34 (2H, m, H-15, H-15'), 8.22 (1H, s, H-11), 8.07 (2H, m, H-14, H-14'), 7.86 (2H, m, H-9, H-9'), 7.76 (2H, m, H-8, H-8'), 7.03 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 5.93 – 5.83 (1H, m, H-19), 5.38 – 5.36 (1H, m, H-4), 5.37 – 5.32 (1H, m, H-20), 5.29 – 5.26 (1H, m, H-20), 4.67 – 4.65 (2H, m, H-18), 4.28 (1H, d, *J* = 3.1 Hz, H-3), 3.82 (3H, s, H-1), 3.52 (3H, s, H-21) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.6 (q, C-2), 168.3 (q, C-17), 166.7 (q, C-6), 164.2 (q, C-12), 149.9 (q, C-16), 141.2 (q, C-10), 140.2 (q, C-13), 131.1 (t, C-19), 129.6 (q, C-7), 128.7 (2C, t, C-14, C-14'), 128.5 (2C, t, C-9, C-9'), 124.1 (2C, t, C-15, C-15'), 120.2 (2C, t, C-8, C-8'), 119.5 (s, C-20), 80.4 (t, C-3), 67.0 (s, C-18), 59.9 (p, C-21), 54.8 (t, C-4), 52.5 (p, C-1) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₃H₂₃N₃O₉Na [M + Na]⁺: 508.1332; gefunden 508.1327.

(2*R*,3*S*)-4-(Allyloxy)-2-methoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutansäure (73)



Methylester **150** (140 mg, 0.29 mmol, 1.0 Äq) und Trimethylzinnhydroxid (157 mg, 0.87 mmol, 3.0 Äq) wurden in 1,2-Dichlorethan (14 mL) gelöst und für 5 h bei 80 °C gerührt.

Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 85:15 → 0:100 in 80 min, t_r = 35 min). Produkt **73** (39 mg, 82.8 μ mol, 29%) wurde als weißer Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{23} = +9.6^\circ$ (c 0.7, MeOH).

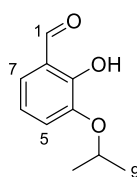
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.8 (1H, s, H-10), 8.74 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-4), 8.38 (2H, m, H-14, H-14'), 8.21 (2H, m, H-13, H-13'), 7.91 (4H, m, H-7, H-7', H-8, H-8'), 5.92 – 5.82 (1H, m, H-18), 5.36 – 5.31 (1H, m, H-19), 5.22 – 5.12 (1H, m, H-19), 5.07 (1H, dd, J = 4.6, 8.1 Hz, H-3), 4.61 – 4.59 (2H, m, H-17), 4.12 (1H, d, J = 4.6 Hz, H-2), 3.40 (3H, s, H-20) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 170.6 (q, C-1), 168.4 (q, C-16), 166.0 (q, C-5), 164.2 (q, C-11), 149.3 (q, C-15), 141.7 (q, C-9), 140.3 (q, C-12), 132.1 (t, C-18), 129.3 (2C, t, C-13, C-13'), 128.8 (q, C-6), 128.6 (2C, t, C-8, C-8'), 123.6 (2C, t, C-14, C-14'), 119.5 (2C, t, C-7, C-7'), 117.5 (s, C-19), 79.8 (t, C-2), 65.1 (s, C-17), 58.7 (t, C-20), 54.9 (p, C-3) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₂₂H₂₁N₃O₉Na [M + Na]⁺: 494.1175; gefunden 494.1176.

1.1.2 Verbindungen des Ostfragments

2-Hydroxy-3-isopropoxybenzaldehyd (**56**)



Eine Lösung aus 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (**42**, 25 g, 181 μ mol, 1.0 Äq) in DMSO (170 mL) wurde bei 0 °C langsam zu einer Suspension aus NaH (60% in Mineralöl, 18.1 g, 452 μ mol, 2.5 Äq) in DMSO (300 mL) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h gerührt. Anschließend wurde *i*PrBr (17 mL, 181 μ mol, 1.0 Äq) zugegeben und die Reaktion für 48 h gerührt. Durch Zugabe von HCl (1 M) wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit Et₂O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische

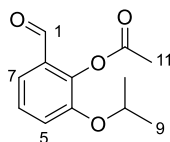
Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **56** (12.4 g, 68.7 mmol, 38%) als gelbes Öl.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 11.0 (1H, s, H-1), 9.92 (1H, s, OH), 7.19 (1H, dd, *J* = 1.5, 7.9 Hz, H-7), 7.14 (1H, dd, *J* = 1.5, 7.9 Hz, H-5), 6.94 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-6), 4.58 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, H-8), 1.38 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, H-9) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.6 (t, C-1), 153.1 (q, C-3), 146.5 (q, C-4), 125.4 (t, C-7), 122.8 (t, C-5), 121.4 (q, C-2), 119.6 (t, C-6), 72.2 (t, C-8), 22.2 (2C, p, C-9) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₂O₃Na [M + Na]⁺: 203.0684; gefunden 203.0683.

2-Formyl-6-isopropoxyphenylacetat (**57**)

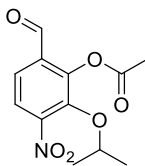


Zu einer Lösung aus Alkohol **56** (12.4 g, 68.8 mmol, 1.0 Äq) in Pyridin (34 mL) wurde Essigsäureanhydrid (13 mL, 138 mmol, 2.0 Äq) zugegeben. Nach zweistündigem Rühren des Reaktionsgemisches bei Raumtemperatur wurde die Reaktion bei 0 °C durch Zugabe von NaHSO₄ (1 M) beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit Et₂O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaHCO₃- und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **57** (14.5 g, 65.4 mmol, 95%) als gelbes Öl.

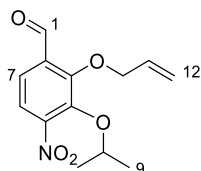
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.1 (1H, s, H-1), 7.44 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.0 Hz, H-5), 7.30 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, H-6), 7.21 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.0 Hz, H-7), 4.56 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, H-8), 2.39 (3H, s, H-11), 1.34 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, H-9) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 188.9 (t, C-1), 168.8 (q, C-10), 150.3 (q, C-4), 143.0 (q, C-3), 129.6 (q, C-2), 126.7 (t, C-6), 121.2 (t, C-5), 120.7 (t, C-7), 72.0 (t, C-8), 22.1 (2C, p, C-9), 20.6 (p, C-11) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₂H₁₄O₄Na [M + Na]⁺: 245.0790; gefunden 245.0789.

6-Formyl-2-isopropoxy-3-nitrophenylacetat (58)

Eine Lösung aus Verbindung **57** (14.5 g, 65.2 mmol, 1.0 Äq) in CH_2Cl_2 (93 mL) wurde langsam bei $-40\text{ }^\circ\text{C}$ in rauchende Salpetersäure (44 mL, 1.05 mol, 16 Äq) getropft. Nach 3 h Reaktionszeit bei dieser Temperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Produkt **58** wurde als orangefarbenes Öl erhalten und ohne weitere Reinigung für die nächste Reaktion verwendet.

2-(Allyloxy)-3-isopropoxy-4-nitrobenzaldehyd (61)

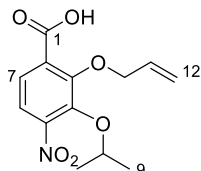
Zu einer Lösung von Verbindung **58** (17.4 g, 65.2 mmol, 1.0 Äq) in THF (80 mL) wurde bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ LiOH (7.81 g, 326 mmol, 5.0 Äq) in Wasser (80 mL) gegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und mit HCl auf pH 1 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der erhaltene Rückstand (14.7 g, 65.2 mmol, 1.0 Äq) wurde in DMF (130 mL) gelöst. Nach Zugabe von K_2CO_3 (18.0 g, 130 mmol, 2.0 Äq) und Allylbromid (8.45 mL, 97.8 mmol, 1.5 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Wasser wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit Et_2O (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 20:1) lieferte das gewünschte Produkt **61** (11.6 g, 43.7 mmol, 67% über 3 Stufen) als gelbes Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 10.4$ (1H, d, $J = 0.9$ Hz, H-1), 7.63 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 7.50 (1H, dd, $J = 0.9, 8.5$ Hz, H-7), 6.09 – 6.00 (1H, m, H-11), 5.39 (1H, dq, $J = 1.2, 17.1$ Hz, H-12_{trans}), 5.33 (1H, dq, $J = 1.2, 10.4$ Hz, H-12_{cis}), 4.73 (2H, dt, $J = 1.2, 6.1$ Hz, H-10), 4.76 (1H, hept, $J = 6.2$ Hz, H-8), 1.32 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-9) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 188.9$ (t, C-1), 156.4 (q, C-3), 150.0 (q, C-5), 145.1 (q, C-4), 133.1 (q, C-2), 132.0 (t, C-11), 122.4 (t, C-6), 120.4 (s, C-12), 119.6 (t, C-7), 78.4 (t, C-8), 75.8 (s, C-10), 22.5 (2C, p, C-9) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 288.0848; gefunden 288.0846.

2-(Allyloxy)-3-isopropoxy-4-nitrobenzoesäure (**40**)



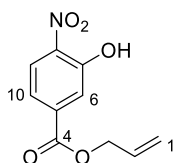
Aldehyd **61** (15.5 g, 58.4 mmol, 1.0 Äq) wurde in *t*BuOH (240 mL) gelöst. Anschließend wurde 2-Methyl-2-buten (62 mL, 584 mmol, 10 Äq) zugegeben. Eine Lösung aus NaClO_2 (80% rein, 7.26 g, 64.2 mmol, 1.1 Äq) in NaH_2PO_4 (1 M, 50 mL) wurde bei Raumtemperatur zugegeben. Die Reaktion wurde 3 h gerührt, bevor sie durch Zugabe von NaOH (6 M, pH 11) beendet wurde. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit Petrolether (3x) extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit HCl (6 M, pH 1) angesäuert und mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säure **40** (16.3 g, 58.3 mmol, 99%) wurde als gelber, kristalliner Feststoff erhalten.

Smp. = 80 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.95$ (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6), 7.58 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.13 – 6.03 (1H, m, H-11), 5.48 (1H, dq, $J = 1.0, 17.1$ Hz, H-12_{trans}), 5.42 (1H, dq, $J = 1.0, 10.3$ Hz, H-12_{cis}), 4.85 (2H, dt, $J = 1.0, 6.4$ Hz, H-10), 4.61 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, H-8), 1.33 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-9) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 164.5$ (t, C-1), 152.8 (q, C-3), 149.2 (q, C-4), 144.6 (q, C-5), 131.2 (t, C-11), 127.2 (q, C-2), 127.0 (t, C-6), 122.1 (s, C-12), 120.0 (t, C-7), 79.1 (t, C-8), 76.4 (s, C-10), 22.5 (2C, p, C-9) ppm.

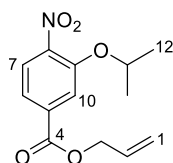
HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_6\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 304.0797; gefunden 304.0798.

Allyl-3-hydroxy-4-nitrobenzoat (63)

3-Hydroxy-4-nitrobenzoesäure (**62**, 1.0 g, 5.46 mmol, 1.0 Äq) wurde in Allylalkohol (3.0 mL, 43.69 mmol, 8.0 Äq) gelöst. Nach Zugabe von *para*-Toluolsulfonsäure (208 mg, 1.09 mmol, 0.2 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 15 h bei 80 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von Wasser beendet. Die organische Phase wurde mit NaHCO₃- und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Produkt **63** (1.06 g, 4.80 mmol, 88%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.¹⁰⁵

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.5 (1H, s, OH), 8.18 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-9), 7.85 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-6), 7.63 (1H, dd, *J* = 1.7, 8.8 Hz, H-10), 6.08 – 5.98 (1H, m, H-2), 5.43 (1H, dq, *J* = 1.0, 17.1 Hz, H-1_{trans}), 5.34 (1H, dq, *J* = 1.0, 10.3 Hz, H-1_{cis}), 4.86 (2H, dt, *J* = 1.0, 6.4 Hz, H-3) ppm.

Allyl-3-isopropoxy-4-nitrobenzoat (64)

2-Brompropan (0.67 mL, 7.12 mmol, 1.5 Äq) wurde zu einer Suspension aus Phenol **63** (1.06 g, 4.75 mmol, 1.0 Äq) und K₂CO₃ (5.95 g, 43.0 mmol, 5.0 Äq) in DMF (20 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 50 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von Wasser beendet. Die organische Phase wurde mit Wasser und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **64** (1.25 g, 4.73 mmol, 55%) als gelbes Öl.

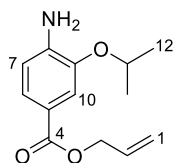
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.76 – 7.74 (2H, m, H-7, H-10), 7.68 – 7.65 (1H, m, H-6), 6.08 – 5.99 (1H, m, H-2), 5.43 (1H, dq, *J* = 1.4, 17.1 Hz, H-1_{trans}), 5.33 (1H, dq, *J* = 1.0, 10.2 Hz, H-1_{cis}), 4.86 – 4.84 (2H, m, H-3), 4.78 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, H-11), 1.41 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, H-12) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 164.7$ (q, C-4), 150.9 (q, C-9), 143.9 (q, C-8), 134.6 (q, C-5), 131.7 (t, C-2), 125.2 (t, C-7), 121.3 (t, C-6), 119.2 (s, C-1), 117.1 (t, C-10), 73.1 (t, C-11), 66.5 (s, C-3), 21.9 (2C, p, C-12) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 288.0848; gefunden 288.0844.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 2981, 1726, 1606, 1531, 1421, 1359, 1294, 1232, 1109, 989, 843$ cm^{-1} .

Allyl-4-amino-3-isopropoxybenzoat (**41**)



Nitrobenzoat **64** (880 mg, 3.32 mmol, 1.0 Äq) wurde in EtOAc (65 mL) gelöst. Nach Zugabe von $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (3.74 g, 16.59 mmol) wurde das Reaktionsgemisch 14 h bei 50°C gerührt. Durch Zugabe von NaOH (1 M, 10 mL) wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die organische Phase mit NaOH-Lösung (1 M) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **41** (633 mg, 2.69 mmol, 81%) als gelbes Öl.

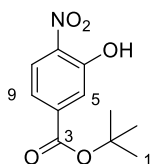
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.56$ (1H, dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, H-6), 7.49 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-10), 6.71 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-7), 6.08 – 5.98 (1H, m, H-2), 5.38 (1H, dq, $J = 1.6, 17.2$ Hz, H-1_{trans}), 5.26 (1H, dq, $J = 1.4, 10.4$ Hz, H-1_{cis}), 4.78 (2H, dt, $J = 1.5, 5.5$ Hz, H-3), 4.63 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, H-11), 1.37 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, H-12) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.6$ (q, C-4), 144.6 (q, C-9), 141.7 (q, C-8), 132.9 (t, C-2), 124.0 (t, C-6), 120.0 (q, C-5), 117.8 (s, C-1), 114.3 (t, C-10), 114.0 (t, C-7), 71.0 (t, C-11), 65.2 (s, C-3), 23.0 (2C, p, C-12) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 258.1106; gefunden 258.1108.

IR (neat): $\tilde{\nu} = 3391, 2978, 1701, 1614, 1517, 1436, 1373, 1261, 991, 766$ cm^{-1} .

tert-Butyl 3-hydroxy-4-nitrobenzoat (**151**)

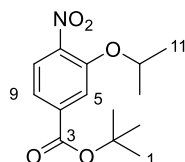


Zu einer Lösung aus 3-Hydroxy-4-nitrobenzoesäure (3.43 g, 18.7 mmol, 1.0 Äq) in CH₂Cl₂ (40 mL) wurden bei 0 °C *t*BuOH (6.2 mL, 65.5 mmol, 3.5 Äq), DMAP (107 mg, 0.88 mmol, 0.05 Äq) und Boc₂O (9.10 g, 41.7 mmol, 2.2 Äq) zugegeben. Nach Zutropfen von Et₃N (2.6 ml, 18.5 mmol, 1.0 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde für die Zugabe von Piperidin (4.0 mL, 40 mmol, 2.1 Äq) auf 0 °C gekühlt. Nach erfolgter Zugabe wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann durch Zugabe von KHSO₄-Lösung angesäuert. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 20:1) lieferte das gewünschte Produkt **151** (4.47 g, 18.7 mmol, quant.) als gelben Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.¹⁵⁹

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.5 (1H, s, OH), 8.14 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-8), 7.76 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-5), 7.56 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.8 Hz, H-9), 1.60 (9H, s, H-1) ppm.

tert-Butyl-3-isopropoxy-4-nitrobenzoat (**152**)



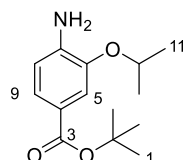
2-Bromopropan (2.82 mL, 29.9 mmol, 1.6 Äq) wurde zu einer Suspension aus Alkohol **151** (4.47 g, 18.7 mmol, 1.0 Äq) und K₂CO₃ (4.80 g, 34.8 mmol, 1.86 Äq) in DMF (20 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei 55 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt und durch Zugabe von Wasser beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 20:1) lieferte das gewünschte Produkt **152** (4.31 g, 15.3 mmol, 82%) als gelben Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.⁷⁶

¹⁵⁹ S. R. Adams, J. P. Y. Kao, R. Y. Tsien, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7957–7968.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.75 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-8), 7.72 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-5), 7.58 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.4 Hz, H-9), 4.75 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, H-10), 1.61 (9H, s, H-1), 1.41 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, H-11) ppm.

***tert*-Butyl-4-amino-3-isopropoxybenzoat (153)**

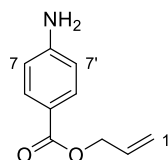


Zu einer Suspension von Pd(OH)₂ (400 mg, 20% auf Kohle mit 50% Wasser) in MeOH (25 mL) wurde Nitrobenzoat **152** (4.31 g, 15.3 mmol, 1.0 Äq) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde unter H₂-Atmosphäre für 18 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend über Kieselgur filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Anilin **153** (3.84 g, 15.3 mmol, quant.) wurde als farbloser Feststoff isoliert.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.⁷⁶

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.46 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.1 Hz, H-9), 7.44 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-5), 6.66 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-8), 4.61 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, H-10), 4.28 (2H, br. s, NH₂), 1.57 (9H, s, H-1), 1.36 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, H-11) ppm.

Allyl-4-aminobenzoat (84)



Zu einer Suspension aus 4-Aminobenzoesäure (**51**, 5.00 g, 36.5 mmol, 1.0 Äq) und K₂CO₃ (7.54 g, 54.7 mmol, 1.5 Äq) in DMF (143 mL) wurde Allylbromid (3.47 mL, 40.1 mmol, 1.1 Äq) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 15 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit EtOAc verdünnt. Durch Zugabe von Wasser wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **84** (5.31 g, 30.0 mmol, 83%) als gelben Feststoff.

Die analytischen Daten stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.¹⁶⁰

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.88 (1H, m, H-6, H-6'), 6.66 (1H, m, H-7, H-7'), 6.07 – 5.98 (1H, m, H-2), 5.38 (1H, dq, *J* = 1.6, 17.2 Hz, H-1_{trans}), 5.26 (1H, dq, *J* = 1.4, 10.4 Hz, H-1_{cis}), 4.77 (2H, dt, *J* = 1.5, 5.5 Hz, H-3), 4.05 (2H, br. s, NH₂) ppm.

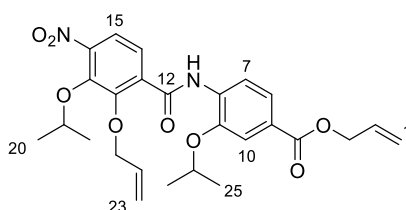
Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Kupplung der Arene des Ostfragments (Methode 2)

Säure (1.1 Äq) und Amin (1.0 Äq) wurden in CH₂Cl₂ (0.3 M) gelöst. Nach Zugabe von DIPEA (1.7 Äq) und POCl₃ (1.1 Äq) bei 0 °C wurde die Reaktion 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Durch Zugabe von NH₄Cl-Lösung wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Reduktion der Nitrogruppen (Methode 3)

Zu einer Lösung von Nitroaren (1.0 Äq) in THF (0.6 M), EtOH (0.6 M) und AcOH (2.88 M) wurde Zink (2.0 Äq) bei Raumtemperatur zugegeben. Nach 30 min wurde erneut Zink (2.0 Äq) zugefügt. Diese Prozedur wurde wiederholt bis zur Zugabe des 8. Äq Zink. Anschließend wurde die Reaktion 1 h bei 70 °C gerührt. Nachdem die Reaktion abgekühlt war, wurde sie mit Et₂O verdünnt und durch Zugabe von NaHCO₃-Lösung (basischer pH) beendet. Der Niederschlag wurde filtriert und mit Et₂O gespült. Das wässrige Filtrat wurde mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-nitrobenzamido)-3-isopropoxybenzoat (65)



¹⁶⁰ S. Tsuda, A. Shigenaga, K. Bando, A. Otaka, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 823–826. H. Garrido-Hernandez, K. D. Moon, R. L. Geahlen, R. F. Borch, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3368–3376.

Säure **40** (122 mg, 0.44 mmol) und Amin **41** (93 mg, 0.40 mmol) wurden gemäß **Methode 2** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 15:1) lieferte das gewünschte Produkt **65** (177 mg, 0.36 mmol, 90%) als gelben Feststoff.

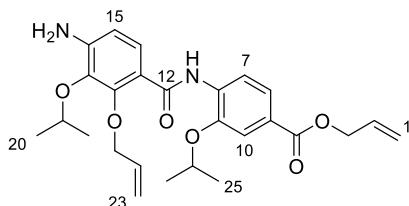
Smp. = 79 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.6 (1H, s, H-11), 8.67 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-15), 8.00 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 7.75 (1H, dd, *J* = 1.7, 8.8 Hz, H-6), 7.62 – 7.60 (2H, m, H-14, H-10), 6.10 – 5.97 (2H, m, H-2, H-22), 5.42 (1H, dq, *J* = 1.5, 17.2 Hz, H-23_{trans}), 5.32 – 5.22 (3H, m, H-23_{cis}, H-22_{trans}, H-22_{cis}), 4.83 (2H, dt, *J* = 1.4, 5.6 Hz, H-3), 4.80 – 4.73 (3H, m, H-21, H-24), 4.62 (1H, hept, *J* = 6.2 Hz, H-19), 1.43 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, H-25), 1.37 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H-20) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 166.1 (q, C-4), 161.6 (q, C-12), 151.4 (q, C-18), 148.0 (q, C-9), 146.2 (q, C-17), 145.1 (q, C-16), 133.0 (q, C-8), 132.5 (q, C-5), 132.3 (t, C-2/C-22), 131.8 (t, C-2/C-22), 126.0 (q, C-13), 125.7 (t, C-7), 123.4 (t, C-6), 122.0 (s, C-1), 120.0 (t, C-14), 119.7 (t, C-15), 118.4 (s, C-23), 113.4 (t, C-10), 78.8 (t, C-19), 76.4 (s, C-21), 71.8 (t, C-24), 65.7 (s, C-3), 22.5 (p, C-25), 22.3 (p, C-20) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₆H₃₁N₂O₈ [M + H]⁺: 499.2080; gefunden 499.2083.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-4-amino-3-isopropoxybenzamido)-3-isopropoxybenzoat (**66**)



Nitroaren **65** (178 mg, 0.36 mmol) wurden gemäß **Methode 3** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1 → 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **66** (107 mg, 0.23 mmol, 64%) als gelbes Öl.

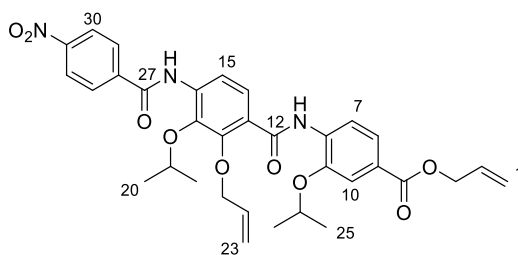
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.6 (1H, s, H-11), 8.71 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.78 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-14), 7.71 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.5 Hz, H-6), 7.59 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-10), 6.60 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-15), 6.11 – 5.99 (2H, m, H-2, H-22), 5.40 (1H, dq, *J* = 1.5, 17.2 Hz, H-23_{trans}), 5.28 (1H, dq, *J* = 1.5, 10.4 Hz, H-23_{cis}), 5.22 (1H, dq, *J* = 1.3, 17.1 Hz, H-1_{trans}), 5.15 (1H, dq, *J* = 1.3, 10.2 Hz, H-1_{cis}), 4.81 (2H, dt, *J* = 1.4, 5.6 Hz, H-3),

4.75 – 4.68 (3H, m, H-21, H-24), 4.56 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, H-19), 4.33 (2H, br. s, NH_2), 1.41 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, H-25), 1.35 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-20) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.3$ (q, C-4), 163.9 (q, C-12), 150.8 (q, C-18), 146.1 (q, C-9), 145.8 (q, C-16), 137.1 (q, C-17), 134.5 (q, C-8), 133.0 (t, C-2/C-22), 132.6 (t, C-2/C-22), 127.3 (t, C-14), 124.3 (q, C-5), 123.5 (t, C-6), 120.2 (s, C-1), 119.4 (t, C-7), 118.1 (s, C-23), 117.7 (q, C-13), 113.6 (t, C-10), 111.3 (t, C-15), 75.5 (t, C-19), 75.4 (s, C-21), 71.8 (t, C-24), 65.5 (s, C-3), 22.9 (p, C-20), 22.2 (p, C-25) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{26}H_{33}N_2O_6$ $[M + H]^+$: 469.2339; gefunden 469.2341.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-3-isopropoxybenzoat (**67**)



4-Nitrobenzoesäure (32 mg, 0.19 mmol) und Amin **66** (45 mg, 96.0 μ mol) wurden gemäß **Methode 2** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **67** (37.4 mg, 60.5 μ mol, 63%) als gelben Schaum.

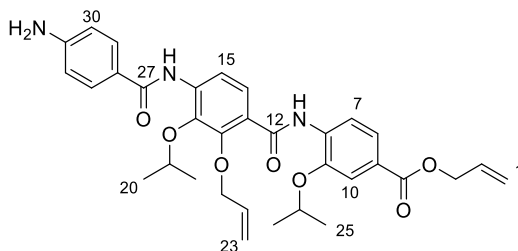
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 10.5$ (1H, s, H-11), 8.78 (1H, s, H-26), 8.72 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 8.45 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-14), 8.40 (2H, m, H-30, H-30'), 8.08 (2H, m, H-29, H-29'), 8.03 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-15), 7.75 (1H, dd, $J = 1.7, 8.5$ Hz, H-6), 7.62 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-10), 6.12 – 6.00 (2H, m, H-2, H-22), 5.42 (1H, dq, $J = 1.5, 17.3$ Hz, H-23_{trans}), 5.30 (1H, dq, $J = 2.0, 10.4$ Hz, H-23_{cis}), 5.26 – 5.20 (2H, m, H-1_{trans}, H-1_{cis}), 4.83 (2H, dt, $J = 1.4, 5.6$ Hz, H-3), 4.80 – 4.73 (2H, m, H-19, H-24), 4.71 – 4.69 (2H, m, H-21), 1.43 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, H-25), 1.40 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-20) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.2$ (q, C-4), 163.0 (q, C-12/C-27), 162.9 (q, C-12/C-27), 150.1 (q, C-31), 149.2 (q, C-18), 146.1 (q, C-9), 140.2 (q, C-28), 139.6 (q, C-17), 136.4 (q, C-16), 133.7 (q, C-8), 132.5 (t, C-2/C-22), 132.3 (t, C-2/C-22), 131.4 (q, C-5), 128.3 (2C, t, C-29, C-29'), 127.3 (t, C-14), 124.4 (2C, t, C-30, C-30'), 123.7 (q, C-13), 123.5 (t, C-7), 121.1 (s, C-1), 119.6 (t, C-6), 118.3 (s, C-23), 115.7 (t, C-15), 113.5 (t, C-10),

77.0 (t, C-19/C-24), 75.9 (s, C-21), 71.7 (t, C-19/C-24), 65.7 (s, C-3), 23.0 (p, C-20), 22.3 (p, C-25) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{33}H_{36}N_3O_9$ $[M + H]^+$: 618.2452; gefunden 618.2454.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-aminobenzamido)-3-isopropoxybenzamido)-3-isopropoxybenzoat (37)



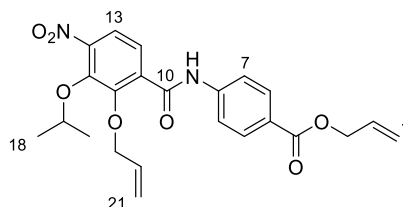
Nitroaren **67** (31.0 mg, 50.2 μ mol) und $SnCl_2 \cdot 2 H_2O$ (57 mg, 0.25 mmol) wurden in MeOH (2 mL) gelöst und 5 h bei 55 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in EtOAc gelöst und mit NaOH (1 M, 2 mL) versetzt. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die organische Phase mit NaOH- (3x) und NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 1:1) lieferte das gewünschte Produkt **37** (27.4 mg, 46.6 μ mol, 93%) als gelben Schaum.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 10.6$ (1H, s, H-11), 8.72 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 8.65 (1H, s, H-26), 8.46 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-14), 7.98 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-15), 7.76 – 7.72 (3H, m, H-29, H-29', H-6), 7.61 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-10), 6.76 (2H, m, H-30, H-30'), 6.12 – 6.00 (2H, m, H-2, H-22), 5.41 (1H, dq, $J = 1.4, 17.3$ Hz, H-23_{trans}), 5.30 – 5.17 (3H, m, H-1_{trans}, H-1_{cis}, H-23_{cis}), 4.82 (2H, m, H-3), 4.77 – 4.69 (4H, m, H-19, H-21, H-24), 3.90 (2H, br. s, NH_2), 1.42 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, H-20/H-25), 1.39 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-20/H-25) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.3$ (q, C-4), 164.9 (q, C-12), 163.3 (q, C-27), 150.2 (q, C-31), 149.3 (q, C-18), 146.1 (q, C-9), 139.2 (q, C-17), 137.8 (q, C-16), 134.0 (q, C-8), 132.6 (t, C-2/C-22), 129.1 (2C, t, C-29, C-29'), 127.2 (t, C-15), 124.8 (q, C-5), 124.2 (q, C-28), 123.5 (t, C-2/C-22), 122.6 (t, C-6), 120.8 (s, C-1), 119.6 (s, C-23), 119.5 (q, C-13), 118.2 (t, C-7), 115.5 (t, C-14), 114.7 (2C, t, C-30, C-30'), 113.5 (t, C-10), 76.6 (t, C-19/C-24), 75.8 (s, C-21), 71.7 (t, C-19/C-24), 65.6 (s, C-3), 23.0 (p, C-20/C-25), 22.3 (p, C-20/C-25) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{33}H_{38}N_3O_7$ $[M + H]^+$: 588.2710; gefunden 588.2708.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-nitrobenzamido)benzoat (154)



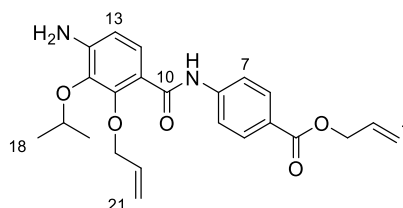
Säure **40** (529 mg, 1.88 mmol) und Amin **84** (303 mg, 1.71 mmol) wurden gemäß **Methode 2** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **154** (662 mg, 1.50 mmol, 88%) als gelben Schaum.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 10.2$ (1H, s, H-9), 8.09 (3H, m, H-6, H-6', H-13), 7.75 (2H, m, H-7, H-7'), 7.63 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-12), 6.14 – 6.00 (2H, m, H-2, H-20), 5.50 (1H, dq, $J = 1.2, 17.1$ Hz, H-21_{trans}), 5.45 – 5.40 (2H, m, H-21_{cis}, H-1_{trans}), 5.30 (1H, dq, $J = 1.1, 10.4$ Hz, H-1_{cis}), 4.83 (2H, d, $J = 5.6$ Hz, H-3), 4.79 (2H, d, $J = 6.1$ Hz, H-19), 4.65 (1H, hept, $J = 6.2$ Hz, H-17), 1.35 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 165.8$ (q, C-4), 161.3 (q, C-10), 151.6 (q, C-16), 148.4 (q, C-15), 144.8 (q, C-14), 142.0 (q, C-8), 132.4 (t, C-2), 131.7 (t, C-20), 131.2 (2C, t, C-6, C-6'), 130.6 (q, C-5), 126.4 (t, C-12), 126.3 (q, C-11), 121.2 (t, C-13), 120.2 (s, C-21), 119.5 (2C, t, C-7, C-7'), 118.4 (s, C-1), 78.9 (t, C-17), 75.9 (s, C-19), 65.7 (s, C-3), 22.5 (2C, p, C-18) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{23}H_{24}N_2O_7\text{Na}$ $[M + \text{Na}]^+$: 463.1481; gefunden 463.1485.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-4-amino-3-isopropoxybenzamido)benzoat (76)



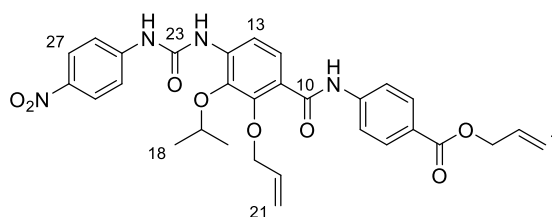
Nitroaren **154** (131 mg, 0.30 mmol) wurden gemäß **Methode 3** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **76** (102 mg, 0.25 mmol, 83%) als gelbes Öl.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.3 (1H, s, H-9), 8.04 (2H, m, H-7, H-7'), 7.84 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-12), 7.74 (2H, m, H-6, H-6'), 6.62 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-13), 6.19 – 5.99 (2H, m, H-2, H-20), 5.49 (1H, dq, *J* = 1.5, 17.1 Hz, H-21_{trans}), 5.43 – 5.37 (2H, m, H-21_{cis}, H-1_{trans}), 5.28 (1H, dq, *J* = 1.3, 10.2 Hz, H-1_{cis}), 4.81 (2H, d, *J* = 5.6 Hz, H-3), 4.68 (2H, d, *J* = 5.8 Hz, H-19), 4.58 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, H-17), 1.34 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 166.1 (q, C-4), 163.6 (q, C-10), 150.9 (q, C-16), 146.3 (q, C-14), 143.3 (q, C-8), 136.8 (q, C-15), 132.8 (t, C-2/C-20), 132.6 (t, C-2/C-20), 131.0 (2C, t, C-6, C-6'), 127.7 (t, C-12), 124.9 (q, C-5), 119.6 (s, C-21), 119.1 (2C, t, C-7, C-7'), 118.2 (s, C-1), 116.0 (q, C-11), 111.4 (t, C-13), 75.7 (t, C-17), 74.6 (s, C-19), 65.5 (s, C-3), 22.8 (2C, p, C-18) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₃H₂₇N₂O₅ [M + H]⁺: 411.1920; gefunden 411.1922.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-(3-(4-nitrophenyl)ureido)benzamido)benzoat (**108**)



Amin **76** (20.0 mg, 48.7 μmol, 1.0 Äq) und 4-Nitrophenylisocyanat (**103**, 24.0 mg, 146 μmol, 3.0 Äq) wurden in THF (1 mL) gelöst. Nach Zugabe von DIPEA (16.6 μL, 97.4 μmol, 2.0 Äq) wurde die Reaktion 6 h bei 55 °C gerührt. Weiteres 4-Nitrophenylisocyanat (24.0 mg, 146 μmol, 3.0 Äq) wurde zugegeben und nochmals für 24 h bei 55 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 80 min, *t_r* = 66 min). Produkt **108** (10.9 mg, 18.9 μmol, 39%) wurde als farbloser Schaum erhalten.

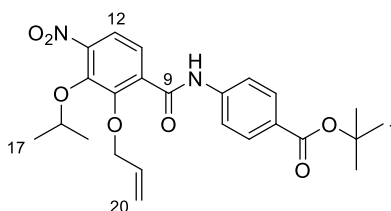
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.5 (1H, s, H-9), 10.3 (1H, s, H-24), 8.55 (1H, s, H-22), 8.22 (2H, m, H-27, H-27'), 8.08 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-12), 7.98 (2H, m, H-6, H-6'), 7.85 (2H, m, H-7, H-7'), 7.72 (2H, m, H-26, H-26'), 7.42 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-13), 6.10 – 5.98 (2H, m, H-2, H-20), 5.41 (1H, dq, *J* = 1.6, 17.2 Hz, H-1_{trans}), 5.38 (1H, dq, *J* = 1.6, 17.2 Hz, H-21_{trans}), 5.28 (1H, dq, *J* = 1.3, 10.5 Hz, H-1_{cis}), 5.22 (1H, dq, *J* = 1.4, 10.4 Hz,

H-21_{cis}), 4.79 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, H-3), 4.66 – 4.59 (3H, m, H-17, H-19), 1.33 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 165.0$ (q, C-4), 164.4 (q, C-10), 151.6 (q, C-23), 149.3 (q, C-16), 146.0 (q, C-28), 143.5 (q, C-8), 141.3 (q, C-25), 138.9 (q, C-15), 136.8 (q, C-14), 133.6 (t, C-2/C-20), 132.8 (t, C-2/C-20), 130.4 (2C, t, C-6, C-6'), 125.2 (2C, t, C-27, C-27'), 124.4 (t, C-13), 124.2 (q, C-5/C-11), 124.1 (q, C-5/C-11), 119.0 (2C, t, C-7, C-7'), 118.0 (s, C-1/C-21), 117.9 (s, C-1/C-21), 117.6 (2C, t, C-26, C-26'), 114.0 (t, C-12), 76.2.3 (t, C-17), 74.1 (s, C-19), 64.9 (s, C-3), 22.0 (2C, p, C-18) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₃₀H₃₁N₄O₈ [M + H]⁺: 575.2142; gefunden 575.2141.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-nitrobenzamido)benzoat (155)**



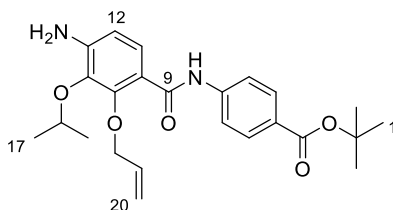
Säure **40** (14.7 g, 52.3 mmol) und Amin **106** (9.61 g, 49.7 mmol) wurden gemäß **Methode 2** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 20:1 → 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **155** (22.2 g, 48.7 mmol, 98%) als gelben Schaum.

Smp. = 112 °C.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.7$ (1H, s, H-8), 7.90 (2H, m, H-5, H-5'), 7.80 (2H, m, H-6, H-6'), 7.72 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-12), 7.45 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-11), 6.00 – 5.90 (1H, m, H-19), 5.33 (1H, dq, $J = 1.5, 17.1$ Hz, H-20_{trans}), 5.17 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-20_{cis}), 4.67 (1H, hept, $J = 6.2$ Hz, H-16), 4.60 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, H-18), 1.54 (9H, s, H-1), 1.24 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-17) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 164.5$ (q, C-3), 163.8 (q, C-9), 149.9 (q, C-15), 146.8 (q, C-14), 143.4 (q, C-13), 142.6 (q, C-7), 136.0 (q, C-10), 133.1 (t, C-19), 130.1 (2C, t, C-5, C-5'), 126.4 (q, C-4), 123.2 (t, C-11), 119.2 (t, C-12), 118.9 (2C, t, C-6, C-6'), 118.2 (s, C-20), 80.4 (q, C-2), 77.2 (t, C-16), 74.7 (s, C-18), 27.8 (3C, p, C-1), 22.1 (2C, p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₂₄H₂₈N₂O₇Na [M + Na]⁺: 479.1794; gefunden 479.1790.

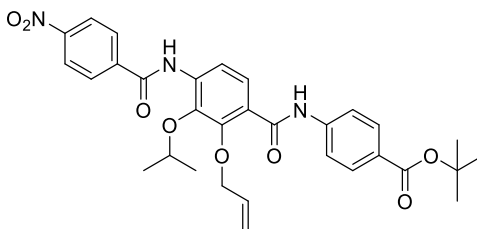
tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-amino-3-isopropoxybenzamido)benzoat (107)

Nitroaren **155** (2.88 g, 6.31 mmol) wurden gemäß **Methode 3** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 5:1) lieferte das gewünschte Produkt **107** (2.25 g, 5.27 mmol, 83%) als gelbes Öl.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.2 (1H, s, H-8), 7.95 (2H, m, H-5, H-5'), 7.82 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-11), 7.71 (2H, m, H-6, H-6'), 6.59 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-12), 6.18 – 6.08 (1H, m, H-19), 5.47 (1H, dq, *J* = 1.4, 17.3 Hz, H-20_{trans}), 5.37 (1H, dq, *J* = 1.0, 10.3 Hz, H-20_{cis}), 4.67 (2H, d, *J* = 5.8 Hz, H-18), 4.57 (1H, hept, *J* = 6.2 Hz, H-16), 4.24 (2H, br. s, NH₂), 1.58 (9H, s, H-1), 1.32 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H-17) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 165.6 (q, C-3), 163.6 (q, C-9), 150.9 (q, C-15), 146.6 (q, C-13), 142.8 (q, C-7), 136.6 (q, C-14), 132.8 (t, C-19), 130.7 (2C, t, C-5, C-5'), 127.6 (t, C-11), 126.8 (q, C-4), 119.5 (s, C-20), 118.9 (2C, t, C-6, C-6'), 115.8 (q, C-10), 111.2 (t, C-12), 80.8 (q, C-2), 75.6 (t, C-16), 74.6 (s, C-18), 28.3 (3C, p, C-1), 22.8 (2C, p, C-17) ppm.

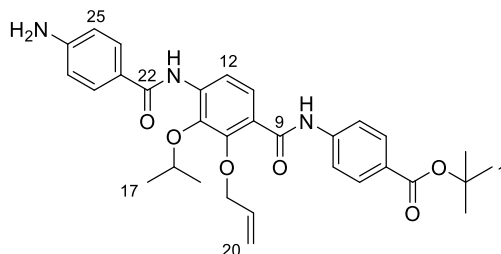
HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₄H₃₀N₂O₅Na [M + Na]⁺: 449.2052; gefunden 449.2050.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoat (156)

Zu einer Lösung aus Amin **107** (5.00 g, 11.7 mmol, 1.0 Äq) und Pyridin (3.78 mL, 46.8 mmol, 4.0 Äq) in CH₂Cl₂ (80 mL) wurde 4-Nitrobenzoylchlorid (**39**, 3.48 g, 18.7 mmol, 1.6 Äq) portionsweise zugegeben. Nach 1.5 h bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von NaHSO₄ (1 M) beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet,

filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Das Rohprodukt **156** (6.66 g, 11.6 mmol, 99%) wurde ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe verwendet.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-aminobenzamido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (119)



Nitroaren **156** (3.33 g, 5.79 mmol) wurden gemäß **Methode 3** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 3:1) lieferte das gewünschte Produkt **119** (2.59 g, 4.75 mmol, 82% über zwei Stufen) als gelben Feststoff.

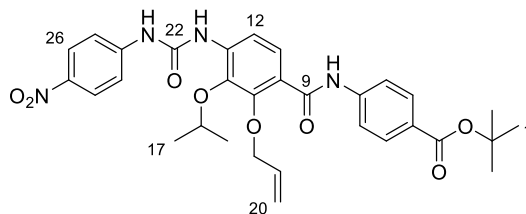
Smp. = 90 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.2 (1H, s, H-8), 8.65 (1H, s, H-21), 8.49 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-11), 8.05 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-12), 7.98 (2H, m, H-5, H-5'), 7.74 (2H, m, H-24, H-24'), 7.73 (2H, m, H-6, H-6'), 6.73 (2H, m, H-25, H-25'), 6.19 – 6.09 (1H, m, H-19), 5.49 (1H, dq, *J* = 1.4, 17.1 Hz, H-20_{trans}), 5.40 (1H, dq, *J* = 1.1, 10.4 Hz, H-20_{cis}), 4.73 (1H, hept, *J* = 6.2 Hz, H-16), 4.69 (2H, dt, *J* = 1.2, 5.9 Hz, H-18), 4.11 (2H, br. s, NH₂), 1.60 (9H, s, H-1), 1.38 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H-17) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 165.6 (q, C-3), 164.8 (q, C-22), 162.9 (q, C-9), 150.5 (q, C-26), 149.4 (q, C-15), 142.4 (q, C-7), 138.9 (q, C-14), 138.2 (q, C-4), 132.4 (t, C-19), 130.8 (2C, t, C-5, C-5'), 129.1 (2C, t, C-24, C-24'), 127.6 (q, C-13), 127.3 (t, C-12), 123.8 (q, C-23), 121.1 (q, C-10), 120.1 (s, C-20), 119.1 (2C, t, C-6, C-6'), 115.7 (t, C-11), 114.5 (2C, t, C-25, C-25'), 80.9 (q, C-2), 76.7 (t, C-16), 75.0 (s, C-18), 28.4 (3C, p, C-1), 23.0 (2C, p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₁H₃₆N₃O₆ [M + H]⁺: 546.2604; gefunden 546.2600.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-3-isopropoxy-4-(3-(4-nitrophenyl)ureido)benzamido)benzoat
(157)**



Amin **107** (45 mg, 106 μmol , 1.0 $\text{\AA}q$) und 4-Nitrophenylisocyanat (52 mg, 317 μmol , 3.0 $\text{\AA}q$) wurden in THF (2 mL) gelöst. Nach Zugabe von DIPEA (36 μL , 211 μmol , 2.0 $\text{\AA}q$) wurde die Reaktion 6 h bei 55 $^{\circ}\text{C}$ gerührt. Weiteres 4-Nitrophenylisocyanat (52 mg, 317 μmol , 3.0 $\text{\AA}q$) wurde zugegeben und nochmals für 14 h bei 55 $^{\circ}\text{C}$ gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 53$ min). Produkt **157** (26.7 mg, 45.6 μmol , 43%) wurde als weißgelber Feststoff erhalten.

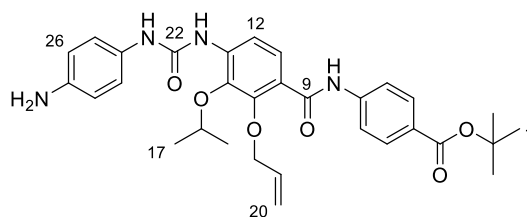
Smp. = 202 $^{\circ}\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 10.4$ (1H, s, H-8), 10.3 (1H, s, H-23), 8.55 (1H, s, H-21), 8.22 (2H, m, H-26, H-26'), 8.09 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-11), 7.88 (2H, m, H-5, H-5'), 7.81 (2H, m, H-6, H-6'), 7.73 (2H, m, H-25, H-25'), 7.42 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-12), 6.08 – 5.98 (1H, m, H-19), 5.40 (1H, dq, $J = 1.6, 17.2$ Hz, H-20_{trans}), 5.22 (1H, dq, $J = 1.4, 10.4$ Hz, H-20_{cis}), 4.66 – 4.59 (3H, m, H-16, H-18), 1.54 (9H, s, H-1), 1.33 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, H-17) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 164.6$ (q, C-3), 164.3 (q, C-9), 151.6 (q, C-22), 149.3 (q, C-15), 146.0 (q, C-27), 143.0 (q, C-7), 141.3 (q, C-24), 138.9 (q, C-13), 136.8 (q, C-10), 133.6 (t, C-19), 130.1 (2C, t, C-5, C-5'), 126.0 (q, C-4), 125.3 (2C, t, C-26, C-26'), 124.4 (t, C-12), 124.1 (q, C-14), 118.8 (2C, t, C-6, C-6'), 117.9 (s, C-20), 117.6 (2C, t, C-25, C-25'), 114.0 (t, C-11), 80.3 (q, C-2), 76.2 (t, C-16), 74.2 (s, C-18), 27.9 (3C, p, C-1), 22.0 (2C, p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 613.2274; gefunden 613.2278.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(3-(4-aminophenyl)ureido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (109)



Nitroaren **157** (352 mg, 0.60 mmol) wurden gemäß **Methode 3** umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 3:1) lieferte das gewünschte Produkt **109** (234 mg, 0.42 mmol, 70%) als gelben Feststoff.

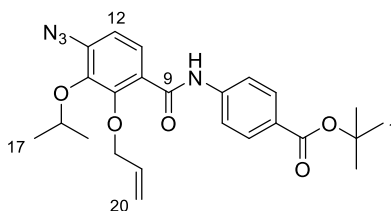
Smp. = 134 °C.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.4 (1H, s, H-8), 9.05 (1H, s, H-21), 8.10 (1H, s, H-23), 8.08 (1H, s, H-11), 7.88 (2H, m, H-5, H-5'), 7.80 (2H, m, H-6, H-6'), 7.39 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-12), 7.10 (2H, m, H-25, H-25'), 6.53 (2H, m, H-26, H-26'), 6.07 – 5.98 (1H, m, H-19), 5.40 (1H, dq, *J* = 1.6, 17.2 Hz, H-20_{trans}), 5.22 (1H, dq, *J* = 1.4, 9.3 Hz, H-20_{cis}), 4.83 (2H, br. s, NH₂), 4.62 – 4.57 (3H, m, H-16, H-18), 1.54 (9H, s, H-1), 1.29 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, H-17) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 174.7 (q, C-3), 164.6 (q, C-9), 164.3 (q, C-22), 152.5 (q, C-13), 149.3 (q, C-15), 144.3 (q, C-27), 143.1 (q, C-7), 138.5 (q, C-10), 138.2 (q, C-14), 133.6 (t, C-19), 130.1 (2C, t, C-5, C-5'), 128.4 (q, C-24), 125.9 (q, C-4), 124.4 (t, C-12), 122.2 (2C, t, C-25, C-25'), 118.8 (2C, t, C-6, C-6'), 117.9 (s, C-20), 114.2 (2C, t, C-26, C-26'), 113.6 (t, C-11), 80.3 (q, C-2), 75.7 (t, C-16), 74.0 (s, C-18), 27.9 (3C, p, C-1), 21.9 (2C, p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₁H₃₇N₄O₆ [M + H]⁺: 561.2713; gefunden 561.2705.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-azido-3-isopropoxybenzamido)benzoat (125)



Amin **107** (2.70 g, 6.34 mmol, 1.0 Äq) wurde in Acetonitril (127 mL) gelöst. Bei 0 °C wurden *tert*-Butylnitrit (1.13 mL, 9.50 mmol, 1.5 Äq) und Trimethylsilylazid (1.26 mL, 9.50 mmol, 1.5 Äq) zugetropft. Nach 2 h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 20:1 → 10:1) lieferte das gewünschte Produkt **125** (2.86 g, 6.34 mmol, quant.) als gelben Feststoff.

Smp. = 78 °C.

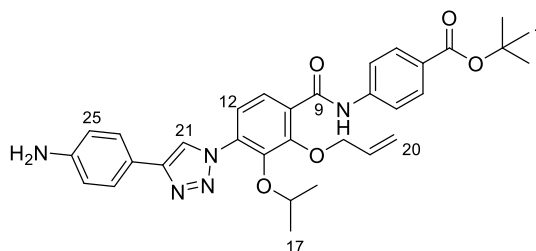
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.2 (1H, s, H-8), 8.00 – 7.96 (3H, m, H-5, H-5', H-11), 7.71 (2H, m, H-6, H-6'), 6.95 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-12), 6.17 – 6.08 (1H, m, H-19), 5.48 (1H, dq, *J* = 1.4, 17.2 Hz, H-20_{trans}), 5.40 (1H, dq, *J* = 1.2, 10.3 Hz, H-20_{cis}), 4.73 (2H, dt, *J* = 1.2, 6.0 Hz, H-18), 4.60 (1H, hept, *J* = 6.2 Hz, H-16), 1.60 (9H, s, H-1), 1.36 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H-17) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 165.5 (q, C-3), 162.5 (q, C-9), 151.4 (q, C-15), 143.1 (q, C-14), 142.2 (q, C-7), 139.2 (q, C-13), 132.3 (t, C-19), 130.8 (2C, t, C-5, C-5'), 127.6 (q, C-4), 127.1 (t, C-11), 123.3 (q, C-10), 120.3 (s, C-20), 119.2 (2C, t, C-6, C-6'), 116.4 (t, C-12), 81.0 (q, C-2), 76.9 (t, C-16), 75.3 (s, C-18), 28.4 (3C, p, C-1), 22.3 (2C, p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₄H₂₈N₄O₅Na [M + Na]⁺: 475.1957; gefunden 475.1959.

IR (neat): $\tilde{\nu}$ = 3318, 2980, 2118, 1708, 1672, 1589, 1528, 1252, 1101, 978, 770 cm⁻¹.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-aminophenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (127)**



Azid **125** (2.98 g, 6.58 mmol, 1.0 Äq) und 4-Ethynylanilin (**126**, 771 mg, 6.56 mmol, 1.0 Äq) wurden in einem Gemisch aus THF (55 mL) und DMSO (110 mL) gelöst. Natriumascorbat (782 mg, 3.95 mmol, 0.6 Äq) wurde in Wasser (5.5 mL) gelöst und zum Reaktionsgemisch gegeben. Nach Zugabe von Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin (1.40 g, 2.63 mmol, 0.4 Äq) und CuSO₄ (105 mg, 0.66 mmol, 0.1 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 2 h

bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde circa zur Hälfte unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NH₄Cl-Lösung, Wasser und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 20:1) lieferte das gewünschte Produkt **127** (3.56 g, 6.25 mmol, 95%) als gelben Feststoff.

Smp. = 75 °C.

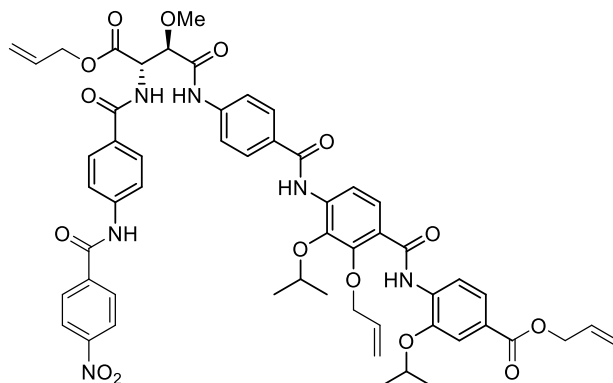
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 10.2 (1H, s, H-8), 8.36 (1H, s, H-21), 8.16 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-11), 8.00 (2H, m, H-5, H-5'), 7.80 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-12), 7.76 – 7.72 (4H, m, H-6, H-6', H-24, H-24'), 6.38 (2H, m, H-25, H-25'), 6.22 – 6.12 (1H, m, H-19), 5.53 (1H, dq, *J* = 1.2, 17.1 Hz, H-20_{trans}), 5.44 (1H, dq, *J* = 1.0, 10.4 Hz, H-20_{cis}), 4.83 (2H, d, *J* = 6.0 Hz, H-18), 4.36 (1H, hept, *J* = 6.2 Hz, H-16), 1.60 (9H, s, H-1), 1.12 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H-17) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77.16 ppm): δ = 165.4 (q, C-3), 162.0 (q, C-9), 151.4 (q, C-15), 148.1 (q, C-22), 146.0 (q, C-26), 142.9 (q, C-14), 141.9 (q, C-7), 135.8 (q, C-13), 132.1 (t, C-19), 130.8 (2C, t, C-5, C-5'), 127.8 (q, C-4/C-10), 127.3 (q, C-4/C-10), 127.3 (t, C-11), 127.2 (2C, t, C-24, C-24'), 121.3 (q, C-23), 120.8 (t, C-12), 120.6 (s, C-20), 120.3 (t, C-21), 119.3 (2C, t, C-6, C-6'), 115.9 (2C, t, C-25, C-25'), 81.0 (q, C-2), 77.9 (t, C-16), 75.6 (s, C-18), 28.4 (3C, p, C-1), 22.3 (2C, p, C-17) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₂H₃₆N₅O₅ [M + H]⁺: 570.2716; gefunden 570.2714.

1.1.3 Endverbindungen

Allyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2R,3S)-4-(allyloxy)-2-methoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)-benzamido)-4-oxobutanamido)benzamido)-3-isopropoxybenzamido)-3-isopropoxybenzoat (74)



Stammlösungen aus POCl₃ (400 μmol) in CH₂Cl₂ (3.6 mL) und aus DIPEA (500 μL) in CH₂Cl₂ (1.5 mL) wurden hergestellt. Säure **73** (16.1 mg, 34.0 μmol, 2.5 Äq) und Amin **37** (8.0 mg, 13.6 μmol, 1.0 Äq) wurden in THF (0.23 mL) und CH₂Cl₂ (0.23 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde POCl₃ (28 μL) zugetropft. Nach 5 Minuten wurde DIPEA (57 μL) zugetropft und das Reaktionsgemisch 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis und HCl (1 M, 1 Tropfen) wurde die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde partiell entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (3 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 80 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 70 min, t_r = 54 min). Produkt **74** (7.3 mg, 7.07 μmol, 52%) wurde als weißgelber Schaum erhalten.

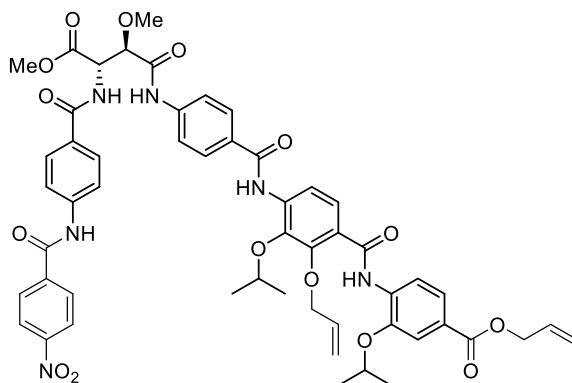
$[\alpha]_D^{24} = +14.1^\circ$ (*c* 0.4, THF).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.8 (1H, s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 9.57 (1H, s, NH), 8.76 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, NH), 8.61 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, ArH), 8.38 (2H, m, ArH), 8.20 (2H, m, ArH), 7.98 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.86 (7H, m, ArH), 7.80 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, ArH), 7.66 (1H, dd, *J* = 1.7, 8.5 Hz, ArH), 7.60 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, ArH), 6.11 – 5.98 (2H, m, CH_{allyl}), 5.90 – 5.81 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dq, *J* = 1.6, 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.33 – 5.21 (4H, m, CH_{allyl-cis/trans}), 5.17 – 5.11 (2H, m, CH_{allyl-cis}, CHNH), 4.84 – 4.76 (5H, m, OCH₂allyl, CHMe₂), 4.63 – 4.61 (2H, m, OCH₂allyl), 4.46 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.37 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, CHOMe), 3.49 (3H, s, OCH₃), 1.37 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, CH(CH₃)₂), 1.30 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): δ = 168.7 (q, CO₂allyl), 168.0 (q, CONH), 166.1 (q, CONH), 165.0 (q, CO₂allyl), 164.3 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 162.3 (q, CONH), 149.7 (q, C-Ar), 149.3 (q, C-Ar), 145.8 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 141.8 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 137.3 (q, C-Ar), 133.3 (q, C-Ar), 132.8 (t, CHallyl), 132.6 (t, CHallyl), 132.1 (t, CHallyl), 129.3 (t, C-Ar), 128.8 (q, C-Ar), 128.7 (q, C-Ar), 128.5 (t, C-Ar), 128.3 (t, C-Ar), 125.5 (t, C-Ar), 124.4 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 123.2 (q, C-Ar), 122.7 (t, C-Ar), 120.5 (s, CH₂allyl), 119.6 (t, C-Ar), 119.6 (t, C-Ar), 119.0 (t, C-Ar), 119.0 (t, C-Ar), 117.8 (s, CH₂allyl), 117.8 (s, CH₂allyl), 113.2 (t, C-Ar), 81.4 (t, CHOMe), 76.6 (t, CH(CH₃)₂), 75.2 (s, OCH₂allyl), 71.6 (t, CH(CH₃)₂), 65.3 (s, OCH₂allyl), 65.0 (s, OCH₂allyl), 58.9 (p, OCH₃), 54.3 (t, CHNH), 22.3 (p, CH(CH₃)₂), 21.6 (p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₅₅H₅₇N₆O₁₅ [M + H]⁺: 1041.3882; gefunden 1041.3883.

Allyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*R*,3*S*)-2,4-dimethoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutan-amido)benzamido)-3-isopropoxybenzamido)-3-isopropoxybenzoat (68)



Stammlösungen aus POCl₃ (400 μmol) in CH₂Cl₂ (3.6 mL) und aus DIPEA (500 μL) in CH₂Cl₂ (1.5 mL) wurden hergestellt. Säure **54** (89 mg, 198 μmol , 3.0 Äq) und Amin **37** (39 mg, 66 μmol , 1.0 Äq) wurden in THF (1.33 mL) und CH₂Cl₂ (1.33 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde POCl₃ (170 μL) zugetropft. Nach 5 Minuten wurde DIPEA (280 μL) zugetropft und das Reaktionsgemisch 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Eis und HCl (1 M) wurde die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde partiell entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (5 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 80 min, t_r = 61 min). Produkt **68** (38.9 mg, 38.9 μmol , 59%) wurde als weißgelber Schaum erhalten.

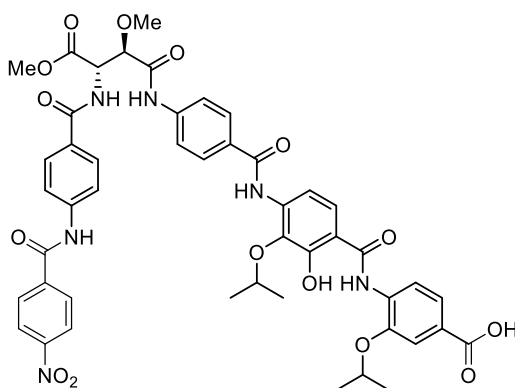
$[\alpha]_D^{24} = +42.4^\circ$ (c 1.4, THF).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.8$ (1H, s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 9.57 (1H, s, NH), 8.73 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NH), 8.61 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, ArH), 8.38 (2H, m, ArH), 8.20 (2H, m, ArH), 7.98 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.87 (7H, m, ArH), 7.80 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, ArH), 7.66 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 7.60 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, ArH), 6.11 – 5.99 (2H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dd, $J = 1.3, 17.2$ Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-trans}}$), 5.31 – 5.22 (3H, m, CH_{allyl}), 5.11 (1H, dd, $J = 5.7, 8.1$ Hz, CHNH), 4.84 – 4.76 (5H, m, OCH_2allyl , CHMe_2), 4.47 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.36 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, CHOMe), 3.68 (3H, s, CO_2CH_3), 3.49 (3H, s, OCH_3), 1.37 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.30 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 169.5$ (q, CO_2Me), 168.0 (q, CONH), 166.1 (q, CONH), 165.0 (q, CO_2allyl), 164.3 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 162.3 (q, CONH), 149.7 (q, C-Ar), 149.3 (q, C-Ar), 145.8 (q, C-Ar), 143.8 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 141.7 (2C, q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 137.3 (q, C-Ar), 133.3 (q, C-Ar), 132.8 (t, CH_{allyl}), 132.6 (t, CH_{allyl}), 129.3 (t, C-Ar), 128.8 (q, C-Ar), 128.5 (t, C-Ar), 128.3 (t, C-Ar), 125.5 (t, C-Ar), 124.4 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 123.2 (q, C-Ar), 122.7 (t, C-Ar), 120.5 (s, CH_2allyl), 119.7 (t, C-Ar), 119.6 (t, C-Ar), 119.0 (t, C-Ar), 119.0 (t, C-Ar), 117.8 (s, CH_2allyl), 113.2 (t, C-Ar), 81.4 (t, CHOMe), 76.6 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 75.2 (s, OCH_2allyl), 71.6 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 65.0 (s, OCH_2allyl), 58.8 (p, OCH_3), 54.1 (t, CHNH), 52.2 (p, CO_2CH_3), 22.3 (p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 21.6 (p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{53}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_{15}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 1037.3545; gefunden 1037.3547.

4-(4-(4-((2R,3S)-2,4-Dimethoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutanamido)-benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-3-isopropoxybenzoesäure (70)



Verbindung **68** (23 mg, 22.7 μmol , 1.0 $\text{\AA}q$) wurde in THF (1 mL) gelöst. Nach Zugabe von Anilin (4 μL , 45.3 μmol , 2.0 $\text{\AA}q$) und Tetrakis(triphenylphosphane)palladium(0) (6.5 mg, 5.67 μmol , 0.25 $\text{\AA}q$) wurde das Reaktionsgemisch 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von HCl (1 M, 2 Tropfen) wurde die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 48$ min). Produkt **70** (14.5 mg, 15.6 μmol , 52%) wurde als weißgelber Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{21} = +7.5^\circ$ (c 1.1, THF).

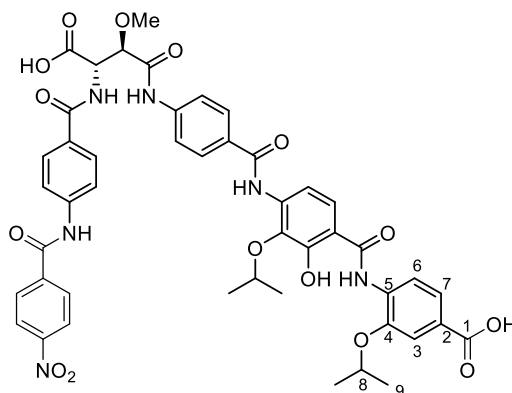
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.8$ (1H, br. s, OH), 11.2 (1H, br. s, CO_2H), 11.0 (1H, br. s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 9.61 (1H, s, NH), 8.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NH), 8.51 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, ArH), 8.38 (2H, m, ArH), 8.20 (2H, m, ArH), 7.97 (2H, m, ArH), 7.90 – 7.86 (6H, m, ArH), 7.80 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH), 7.59 (2H, m, ArH), 7.51 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH), 5.10 (1H, dd, $J = 5.5, 8.0$ Hz, CHNH), 4.75 (1H, hept, $J = 6.0$ Hz, CHMe_2), 4.36 – 4.31 (2H, m, CHMe_2 , CHOMe), 3.67 (3H, s, CO_2CH_3), 3.48 (3H, s, OCH_3), 1.38 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.26 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 169.5$ (q, CO_2Me), 168.0 (q, CONH), 167.1 (q, CO_2H), 166.1 (q, CONH), 166.1 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 151.5 (q, C-Ar), 149.3 (q, C-Ar), 146.4 (q, C-Ar), 141.8 (q, C-Ar), 141.5 (q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 139.2 (q, C-Ar), 138.5 (q, C-Ar), 134.5 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 129.7 (t, C-Ar), 129.4 (t, C-Ar), 128.8 (t, C-Ar), 128.6 (t, C-Ar), 128.2 (q, C-Ar), 127.8 (q, C-Ar), 127.4 (q, C-Ar), 124.9 (t, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar), 119.7 (t, C-Ar), 119.6 (t, C-Ar), 81.4 (t, CHOMe), 71.8 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 58.8 (p, OCH_3), 54.1 (t, CHNH), 52.2 (p, CO_2CH_3), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.¹⁶¹

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{47}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{15}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 957.2919; gefunden 957.2921.

¹⁶¹ Drei tertiäre Kohlenstoffatom-Signale fehlen aufgrund von mangelnder Relaxation.

4-(4-(4-((2*R*,3*S*)-3-Carboxy-2-methoxy-3-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-propanamido)-benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-3-isopropoxybenzoessäure (Cystobactamid 920-1) (29)



Methylgeschütztes Cystobactamid 920-1 **70** (5.0 mg, 5.3 μmol , 1.0 Äq) wurde in Toluol (0.5 mL) gelöst. Nach Zugabe von Me_3SnOH (5.8 mg, 32.0 μmol) wurde das Reaktionsgemisch 5 h bei 80 °C gerührt. Salzsäure (1 M, 2 Tropfen) wurden zum Beenden der Reaktion verwendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 85:15 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 48$ min). Produkt **29** (2.4 mg, 2.6 μmol , 49%) wurde als farbloser Schaum erhalten. Aufgrund partieller Epimerisierung wurde eine kleine Probe zur Strukturbelegung weiter gereinigt. Es wurde eine Thermo Scientific Dionex (UltiMate 3000 HPLC system) mit einer Kinetex Biphenyl 100A (250 x 10.0 mm, 5 μm) Säule verwendet (Laufzeit 25 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 60 : 40 \rightarrow 0 : 100$; $t_r = 12$ min).

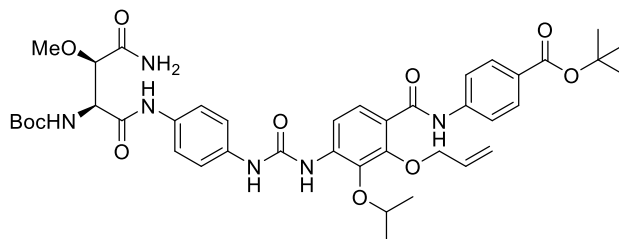
$[\alpha]_D^{21} = +16^\circ$ (c 0.04, MeOH/THF 1:1).

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_{15}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 943.2786; gefunden 943.2747.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆ +2 μL DCO₂D, DMSO = 2.50 ppm); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆ +2 μL DCO₂D, DMSO = 39.52 ppm):

synthetisiertes Cys 920-1					natürliches Cys 920-1	
Position	δ _H [ppm]	Mult.	J [Hz]	δ _C [ppm]	δ _H [ppm]	δ _C [ppm]
4-Amino-3-Isopropoxybenzoesäure						
1	-			166.9	-	166.7
2	-			125.3	-	125.5
3	7.59	d	1.8	113.9	7.57	113.7
4	-			146.2	-	146.2
5	-			133.5	-	133.0
6	8.50	d	8.3	119.5	8.51	119.2
7	7.57	dd	1.8, 8.3	122.8	7.51	122.4
8	4.75	hept	6.0	71.8	4.75	71.4
9	1.38	d	6.0	21.5	1.38	21.5
NH	11.0	br. s		-	-	-
4-Amino-2-hydroxy-3-isopropoxybenzoesäure						
1	-			163.4	-	-
2	-			116.4	-	116.3
3	7.80	d	8.8	124.9	7.80	124.7
4	7.51	d	8.8	114.7	7.52	114.7
5	-			128.0	-	-
6	-			138.9	-	138.2
7	-			150.9	-	150.4
8	4.32	hept	6.2	71.9	4.32	75.4
9	1.26	d	6.2	21.9	1.26	21.8
NH	9.60	s		-	9.57	-
4-Aminobenzoesäure						
1	-			164.3	-	164.0
2	-			128.0	-	128.0
3/3'	7.93	m		128.5	7.95	128.1
4/4'	7.89	m		118.9	7.88	118.6
5	-			141.6	-	141.4
NH	10.5	br. s		-	10.5	-
Iso-β-methoxyasparagin						
1	-			170.7	-	170.7
2	4.14	d	8.2	79.8	4.13	79.7
3	5.04	t	8.5	55.2	5.02	55.3
4	-			168.0	-	168.0
5	3.35	s		58.0	3.35	57.9
NH	8.71	d	8.7	-	8.72	-
4-Aminobenzoesäure						
1	-			165.6	-	165.4
2	-			128.8	-	128.7
3/3'	7.97	m		128.5	7.88	128.1
4/4'	7.83	m		119.5	7.88	119.2
5	-			141.6	-	141.4
NH	10.8	s		-	10.7	-
4-Nitrobenzoesäure						
1	-			163.9	-	163.9
2	-			140.1	-	140.1
3/3'	8.21	m		129.2	8.19	129.0
4/4'	8.39	m		123.5	8.37	123.2
5	-			149.2	-	149.0

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**110**)**



Eine Lösung aus Ethyl-*N*-(2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin)carboxylat (156 mg, 630 μ mol, 1.5 Äq) in Chloroform (0.8 mL) wurde bei 0 °C zu einer Lösung aus Säure **95** (186 mg, 710 μ mol, 1.7 Äq) und Amin **109** (234 mg, 417 μ mol, 1.0 Äq) in Chloroform (1.2 mL) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf Kieselgel aufgetragen. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 2:1 \rightarrow 1:4) lieferte das gewünschte Produkt **110** (229 mg, 284 μ mol, 68%) als gelben Feststoff.

Smp. = 168 °C.

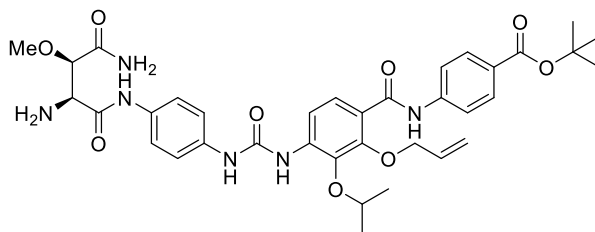
$[\alpha]_D^{21} = -7.0^\circ$ (*c* 0.9, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.4 (1H, s, NH), 9.94 (1H, s, NH), 9.52 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.30 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.11 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, ArH), 7.88 (2H, m, ArH), 7.81 (2H, m, ArH), 7.57 (2H, m, ArH), 7.42 – 7.38 (5H, m, ArH, NH₂), 6.70 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, NHBoc), 6.05 – 5.98 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dd, *J* = 1.6, 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.22 (1H, dd, *J* = 1.4, 9.3 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.64 – 4.58 (3H, m, OCH₂allyl, CHMe₂), 4.35 (1H, t, *J* = 8.5 Hz, CHNH), 3.83 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, CHOMe), 3.25 (3H, s, OCH₃), 1.54 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.38 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.33 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 170.8 (q, CONH₂), 167.8 (q, CONH), 164.6 (2C, q, CONH), 164.3 (q, CO₂*t*Bu), 152.0 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 143.1 (q, C-Ar), 138.4 (q, C-Ar), 137.8 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 130.1 (2C, t, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 124.5 (t, C-Ar), 124.4 (q, C-Ar), 123.0 (q, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.6 (2C, t, C-Ar), 117.9 (s, CH₂allyl), 113.7 (t, C-Ar), 80.3 (t, CHOMe), 78.6 (2C, q, C(CH₃)₃), 75.9 (t, CH(CH₃)₂), 74.1 (s, OCH₂allyl), 57.6 (p, OCH₃), 56.5 (t, CHNH), 28.1 (3C, p, C(CH₃)₃), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₁H₅₃N₆O₁₁ [M + H]⁺: 805.3772; gefunden 805.3772.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-2,4-diamino-3-methoxy-4-oxobutanamido)-phenyl)ureido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (111)**



Auf 0 °C gekühlte Salzsäure (4 M in Dioxan, 5.5 mL, 22.1 mmol, 100 Äq) wurde zu Verbindung **110** (178 mg, 0.22 mmol, 1.0 Äq) gegeben. Nach 15 min bei 0 °C wurde das Reaktionsgemisch langsam in eine Suspension aus EtOAc (80 mL) und NaHCO₃ (80 mL, 80% gesättigt, aq) gegossen. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 80 min, t_r = 26 min). Produkt **111** (76.2 mg, 0.11 mmol, 49%) wurde als gelber Schaum erhalten.

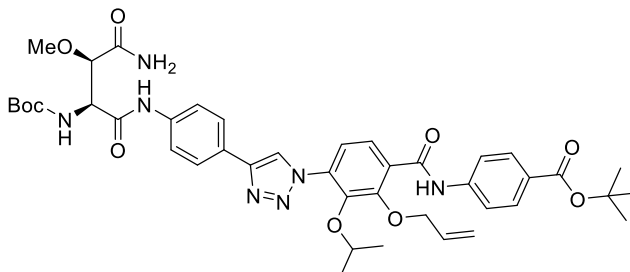
$[\alpha]_D^{21} = +4.1^\circ$ (*c* 1.1, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.4 (1H, s, NH), 9.87 (1H, br. s, NH), 9.59 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.33 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.11 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, ArH), 7.88 (2H, m, ArH), 7.81 (2H, m, ArH), 7.58 (2H, m, ArH), 7.43 – 7.41 (3H, m, ArH), 7.36 (2H, d, *J* = 80.3 Hz, CONH₂), 6.07 – 5.98 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dd, *J* = 1.6, 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.22 (1H, dd, *J* = 1.4, 9.3 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.65 – 4.59 (3H, m, OCH₂allyl, CHMe₂), 3.76 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, CHOMe), 3.59 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, CHNH₂), 3.37 (2H, br. s, NH₂), 3.28 (3H, s, OCH₃), 1.54 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.33 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.7 (q, CONH₂), 170.7 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂*t*Bu), 164.3 (q, CONH), 152.1 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 143.1 (q, C-Ar), 138.4 (q, C-Ar), 137.8 (q, C-Ar), 134.9 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 130.1 (2C, t, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 124.5 (t, C-Ar), 122.9 (q, C-Ar), 119.9 (2C, t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.7 (2C, t, C-Ar), 117.9 (s, CH₂allyl), 113.7 (t, C-Ar), 83.2 (t, CHOMe), 80.3 (q, C(CH₃)₃), 75.9 (t, CH(CH₃)₂), 74.1 (s, OCH₂allyl), 57.8 (p, OCH₃), 57.1 (t, CHNH₂), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₆H₄₅N₆O₉ [M + H]⁺: 705.3248; gefunden 705.3242.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (**158**)**



Eine Lösung von Ethyl-*N*-(2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin)carboxylat (3.05 g, 7.50 mmol, 1.5 Äq) in Chloroform (10 mL) wurde bei 0 °C zu einer Lösung aus Säure **95** (2.22 g, 8.45 mmol, 1.7 Äq) und Amin **127** (2.83 g, 4.97 mmol, 1.0 Äq) in Chloroform (15 mL) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf Kieselgel aufgetragen. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 2:1 → 1:4) lieferte das gewünschte Produkt **158** (2.72 g, 3.34 mmol, 67%) als gelben Schaum.

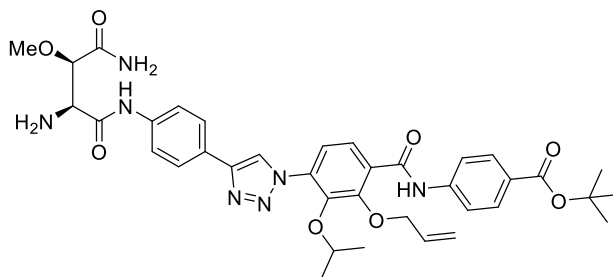
$[\alpha]_D^{24} = -3.9^\circ$ (*c* 2.0, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.7 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 8.89 (1H, s, CH_{Triazol}), 7.93 – 7.91 (4H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.76 (2H, m, ArH), 7.61 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, ArH), 7.54 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, ArH), 7.43 (2H, d, *J* = 17.8 Hz, NH₂), 6.76 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, NHBoc), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dq, *J* = 1.6, 17.3 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.20 (1H, dd, *J* = 1.4, 9.6 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.69 (2H, d, *J* = 5.5 Hz, OCH₂allyl), 4.40 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, CHNH), 4.28 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 3.86 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, CHOMe), 3.26 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.39 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 170.7 (q, CONH₂), 168.4 (q, CONH), 168.1 (q, CO₂*t*Bu), 164.6 (q, CONH), 164.3 (q, CO₂*t*Bu), 150.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 132.9 (q, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.3 (q, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-H_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH₂allyl), 80.4 (t, CHOMe), 80.2 (q, C(CH₃)₃), 78.6 (q, C(CH₃)₃), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.6 (p, OCH₃), 56.5 (t, CHNH), 28.1 (3C, p, C(CH₃)₃), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₂H₅₁N₇O₁₀Na [M + Na]⁺: 836.33595; gefunden 836.3596.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-2,4-diamino-3-methoxy-4-oxobutanamido)-phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**128**)**



Auf 0 °C gekühlte Salzsäure (4 M in Dioxan, 13 mL, 51.6 mmol, 100 Äq) wurde zu Verbindung **158** (420 mg, 0.52 mmol, 1.0 Äq) gegeben. Nach 15 min bei 0 °C wurde das Reaktionsgemisch langsam in eine Suspension aus EtOAc (200 mL) und NaHCO₃ (200 mL, 80% gesättigt, aq) gegossen. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 80:20 → 0:100 in 80 min, t_r = 31 min). Produkt **128** (131 mg, 0.18 mmol, 36%) wurde als gelber Schaum erhalten.

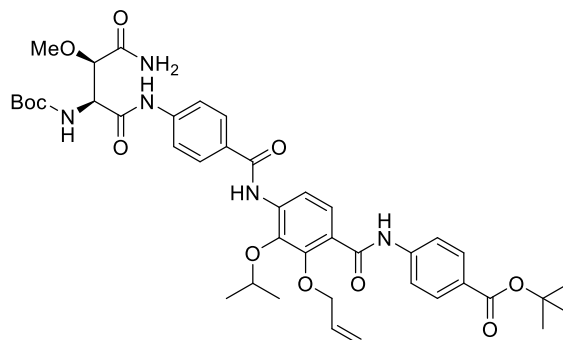
$[\alpha]_D^{24} = +27.7^\circ$ (*c* 1.1, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.7 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.14 – 7.73 (10H, m, NH, ArH), 7.66 – 7.53 (3H, m, ArH, NH₂), 6.07 – 5.99 (1H, m, CH_{allyl}), 5.39 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.20 (1H, d, *J* = 10.3 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.69 (2H, d, *J* = 5.5 Hz, OCH₂allyl), 4.31 – 4.13 (3H, m, CHNH₂, CHOMe, CHMe₂), 3.39 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.00 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 170.0 (q, CONH₂), 164.6 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 163.0 (q, CO₂*t*Bu), 150.3 (q, C-Ar), 146.2 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 138.2 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 133.0 (q, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 126.0 (2C, t, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.9 (t, C-H_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 120.0 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH₂allyl), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 78.7 (t, CHOMe), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 58.6 (p, OCH₃), 54.3 (t, CHNH₂), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₇H₄₄N₇O₈ [M + H]⁺: 714.3251; gefunden 714.3250.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**122**)**



Eine Lösung aus Ethyl-N-(2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin)carboxylat (1.00 g, 4.15 mmol, 1.5 Äq) in Chloroform (5.3 mL) wurde bei 0 °C zu einer Lösung aus Säure **95** (1.23 g, 4.68 mmol, 1.7 Äq) und Amin **119** (1.50 g, 2.75 mmol, 1.0 Äq) in Chloroform (8.0 mL) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf Kieselgel aufgetragen. Säulenchromatographische Reinigung (PE/EtOAc = 2:1 → 1:4) lieferte das gewünschte Produkt **122** (1.37 g, 1.73 mmol, 63%) als gelben Schaum.

$[\alpha]_D^{22} = -0.9^\circ$ (c 1.3, MeOH).

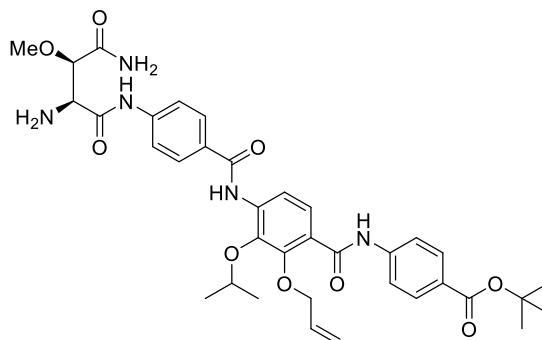
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.5 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.51 (1H, s, NH), 7.98 (2H, m, ArH), 7.90 (2H, m, ArH), 7.84 – 7.80 (5H, m, ArH), 7.45 – 7.40 (3H, m, ArH, NH₂), 6.80 (1H, d, J = 8.4 Hz, NHBoc), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.37 (1H, dd, J = 1.6, 17.1 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.20 (1H, dd, J = 1.4, 9.8 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.61 (2H, d, J = 5.4 Hz, OCH₂allyl), 4.50 (1H, hept, J = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.41 (1H, t, J = 7.9 Hz, CHNH), 3.86 (1H, d, J = 7.4 Hz, CHOMe), 3.26 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.38 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.26 (6H, d, J = 6.2 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 170.6 (q, CONH₂), 168.9 (q, CONH), 164.6 (q, CONH), 164.5 (q, CONH), 164.3 (q, CO₂*t*Bu), 154.8 (q, CO₂*t*Bu), 149.5 (q, C-Ar), 143.0 (q, C-Ar), 142.5 (q, C-Ar), 142.2 (q, C-Ar), 135.7 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 130.1 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 127.0 (q, C-Ar), 126.0 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 118.9 (t, C-Ar), 118.8 (4C, t, C-Ar), 117.8 (s, CH₂allyl), 80.3 (t, CHOMe), 80.1 (q, C(CH₃)₃), 78.7 (q, C(CH₃)₃), 76.3 (t, CH(CH₃)₂), 74.3 (s, OCH₂allyl), 57.6 (p, OCH₃), 56.6 (t, CHNH), 28.1 (3C, p, C(CH₃)₃), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.¹⁶²

¹⁶² Ein quartäres Kohlenstoffatom-Signal fehlt aufgrund von mangelnder Relaxation.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{41}H_{51}N_5O_{11}Na$ $[M + Na]^+$: 812.3483; gefunden 812.3480.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-2,4-diamino-3-methoxy-4-oxobutanamido)-benzamido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**120**)**



Auf 0 °C gekühlte Salzsäure (4 M in Dioxan, 6.3 mL, 25.3 mmol, 100 Äq) wurde zu Verbindung **122** (200 mg, 0.25 mmol, 1.0 Äq) gegeben. Nach 15 min bei 0 °C wurde das Reaktionsgemisch langsam in eine Suspension aus EtOAc (200 mL) und $NaHCO_3$ (200 mL, 80% gesättigt, aq) gegossen. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit einer $NaCl$ -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; $H_2O/CH_3CN = 80:20 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 32$ min). Produkt **120** (83 mg, 0.12 mmol, 48%) wurde als gelber Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{23} = +3.8^\circ$ (c 1.1, MeOH).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.5$ (1H, s, NH), 9.53 (1H, s, NH), 7.98 (2H, m, ArH), 7.89 (2H, m, ArH), 7.84 – 7.80 (5H, m, ArH), 7.47 (2H, d, $J = 70$ Hz, NH_2), 7.41 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, ArH), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dd, $J = 1.7, 17.1$ Hz, $CH_{allyl-trans}$), 5.20 (1H, dd, $J = 1.5, 9.8$ Hz, $CH_{allyl-cis}$), 4.61 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, OCH_2allyl), 4.50 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, $CHMe_2$), 3.86 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, $CHOMe$), 3.79 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, $CHNH_2$), 3.31 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 1.26 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.1$ (q, $CONH_2$), 164.6 (q, $CONH$), 164.5 (q, $CONH$), 164.3 (q, $CONH$), 163.0 (q, CO_2tBu), 149.5 (q, C-Ar), 143.0 (q, C-Ar), 142.5 (q, C-Ar), 142.0 (q, C-Ar), 135.6 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 130.1 (2C, t, C-Ar), 128.5 (q, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 127.1 (q, C-Ar), 126.0 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 119.0 (t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 117.8 (s, CH_2allyl), 82.1 (t, $CHOMe$), 80.3

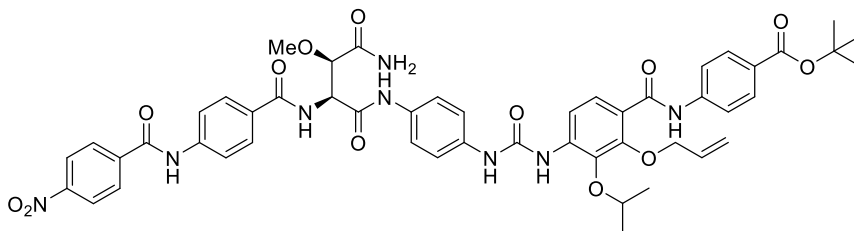
(q, $C(CH_3)_3$), 76.2 (t, $CH(CH_3)_2$), 74.3 (s, OCH_2 allyl), 58.0 (p, OCH_3), 56.6 (t, $CHNH_2$), 27.9 (3C, p, $C(CH_3)_3$), 22.3 (2C, p, $CH(CH_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{36}H_{43}N_5O_9Na$ $[M + Na]^+$: 712.2958; gefunden 712.2960.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Peptidkupplung des Ost- und Westfragments (Methode 4)

Zu einer Lösung aus Säure (2.5 Äq) und HATU (2.5 Äq) in DMF (0.11 M) wurde DIPEA (12.7 Äq) zugetropft. Nach 5 Minuten wurde die Lösung zu Amin (1.0 Äq), gelöst in DMF (0.07 M), getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 15 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter vermindertem Druck konzentriert.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (113)



Säure **32** (31.0 mg, 108 μ mol) und Amin **111** (31.0 mg, 44.0 μ mol) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; $H_2O/CH_3CN = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 57$ min) wurde Produkt **113** (25.2 mg, 25.9 μ mol, 59%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 230 °C (Zersetzung).

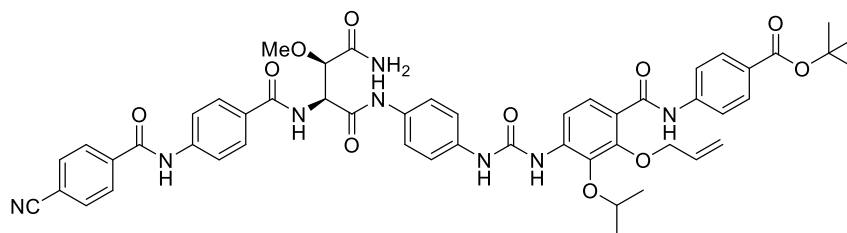
$[\alpha]_D^{21} = +46.1^\circ$ (c 0.9, MeOH).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 9.67 (1H, s, $NH_{\text{Harnstoff}}$), 8.43 – 8.35 (4H, m, ArH, $NH_{\text{Harnstoff}}$, NHCH), 8.22 (2H, m, ArH), 8.11 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, ArH), 7.91 – 7.87 (6H, m, ArH), 7.81 (2H, m, ArH), 7.61 – 7.55 (3H, m, ArH, $CONH_2$), 7.44 – 7.40 (4H, m, ArH, $CONH_2$), 6.06 – 5.98 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dd, $J = 1.4, 17.3$ Hz, $CH_{\text{allyl-trans}}$), 5.22 (1H, dd, $J = 1.1, 9.2$ Hz, $CH_{\text{allyl-cis}}$), 4.89 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.63 – 4.59 (3H, m, OCH_2 allyl, $CHMe_2$), 4.09 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH_3), 1.54 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 1.33 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.1 (q, CONH₂), 167.6 (q, CONH), 165.3 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.3 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 152.1 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 143.1 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.7 (q, C-Ar), 138.4 (q, C-Ar), 137.9 (q, C-Ar), 135.1 (q, C-Ar), 133.6 (t, CHallyl), 130.1 (2C, t, C-Ar), 129.4 (2C, t, C-Ar), 129.1 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 124.5 (t, C-Ar), 123.6 (2C, t, C-Ar), 122.9 (q, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.6 (2C, t, C-Ar), 117.9 (s, CH₂allyl), 113.7 (t, C-Ar), 80.3 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 75.9 (t, CH(CH₃)₂), 74.1 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.6 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.¹⁶³

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₅₀H₅₂N₈O₁₃Na [M + Na]⁺: 995.3552; gefunden 995.3553.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(4-cyanobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (114)**



Säure **112** (34.5 mg, 129 μ mol) und Amin **111** (36.5 mg, 51.8 μ mol) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 \rightarrow 0:100 in 80 min, t_r = 56 min) wurde Produkt **114** (26.6 mg, 27.9 μ mol, 54%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 239 °C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{23}$ = +24.4° (c 1.2, MeOH).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 10.1 (1H, s, NH), 9.54 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.39 (1H, d, J = 8.1 Hz, NHCH), 8.31 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.13 – 8.10 (3H, m, ArH), 8.04 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.81 (6H, m, ArH), 7.81 (2H, m, ArH), 7.60 (2H, m, ArH), 7.53 (1H, s, CONH₂), 7.44 – 7.40 (4H, m, ArH, CONH₂), 6.05 – 6.00 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dq, J = 1.6, 17.1 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.22 (1H, dq, J = 1.3, 10.4 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.88 (1H, t, J = 8.1 Hz, CHNH), 4.63 – 4.59 (3H, m, OCH₂allyl, CHMe₂),

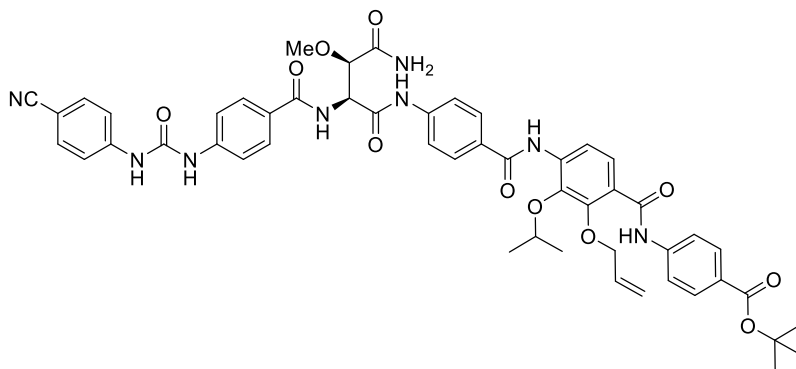
¹⁶³ Zwei quartäre Kohlenstoffatom-Signal fehlen aufgrund von mangelnder Relaxation.

4.07 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.30 (3H, s, OCH₃), 1.54 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.33 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH₂), 167.6 (q, CONH), 165.3 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.5 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 152.0 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 143.1 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 138.4 (q, C-Ar), 137.8 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.6 (t, CHallyl), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 129.0 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 124.5 (t, C-Ar), 123.0 (q, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.6 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, C-Ar), 117.9 (s, CH₂allyl), 117.3 (q, CN), 114.0 (q, C-Ar), 113.7 (t, C-Ar), 80.3 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 75.9 (t, CH(CH₃)₂), 74.1 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.5 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 22.0 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₅₁H₅₃N₈O₁₁ [M + H]⁺: 953.3834; gefunden 953.3840.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)ureido)-benz-amido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (159)**



Säure **118** (41.8 mg, 149 μ mol, 2.5 \AA q) und Amin **120** (41.0 mg, 59.4 μ mol, 1.0 \AA q) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 60:40 \rightarrow 0:100 in 80 min, $t_r = 67$ min) wurde Produkt **159** (42.7 mg, 44.8 μ mol, 75%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 226 °C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{22} = +34.0^\circ$ (c 4.2, MeOH).

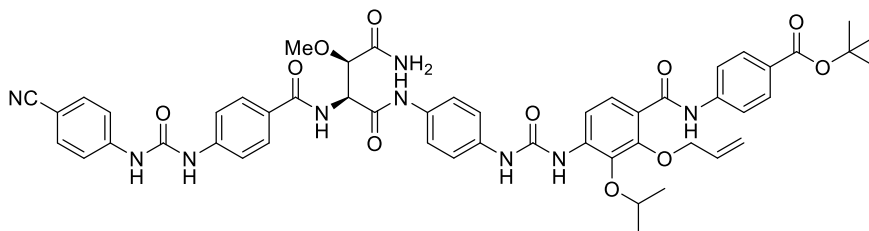
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.5$ (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 9.52 (1H, s, NH), 9.51 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 9.38 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.37 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 7.98 (2H, m, ArH), 7.89 (2H, m, ArH), 7.84 – 7.82 (7H, m, ArH), 7.74 (2H, m, ArH), 7.66 (2H, m, ArH), 7.59 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 27.1$ Hz, CONH₂), 7.41 (1H, d,

$J = 8.5$ Hz, ArH), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dq, $J = 1.6, 17.2$ Hz, $CH_{allyl-trans}$), 5.20 (1H, dq, $J = 1.3, 10.5$ Hz, $CH_{allyl-cis}$), 4.90 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, $CHNH$), 4.61 (2H, d, $J = 5.4$ Hz, OCH_2allyl), 4.50 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, $CHMe_2$), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, $CHOMe$), 3.01 (3H, s, OCH_3), 1.54 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 1.26 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 170.9$ (q, $CONH_2$), 168.8 (q, $CONH$), 165.5 (q, $CONH$), 164.6 (q, $CONH$), 164.5 (q, CO_2tBu), 164.3 (q, $CONH$), 152.0 (q, $NHCONH$), 149.5 (q, C-Ar), 144.0 (q, C-Ar), 143.0 (q, C-Ar), 142.5 (q, C-Ar), 142.5 (q, C-Ar), 142.2 (q, C-Ar), 135.7 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 133.3 (2C, t, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 128.5 (2C, t, C-Ar), 128.5 (t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 127.1 (q, C-Ar), 126.0 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 119.3 (q, CN), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.2 (2C, t, C-Ar), 117.8 (s, CH_2allyl), 117.5 (2C, t, C-Ar), 103.5 (q, C-Ar), 80.3 (q, $C(CH_3)_3$), 80.0 (t, $CHOMe$), 76.3 (t, $CH(CH_3)_2$), 74.3 (s, OCH_2allyl), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, $CHNH$), 27.9 (3C, p, $C(CH_3)_3$), 22.3 (2C, p, $CH(CH_3)_2$) ppm.¹⁶⁴

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{51}H_{52}N_8O_{11}Na$ $[M + Na]^+$: 975.3653; gefunden 975.3633.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)ureido)-benz-amido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (160)**



Säure **118** (26.0 mg, 92.2 μ mol, 2.5 \ddot{A} q) und Amin **111** (26.0 mg, 36.9 μ mol, 1.0 \ddot{A} q) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; $H_2O/CH_3CN = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 56$ min) wurde Produkt **160** (27.0 mg, 27.9 μ mol, 76%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp. = 203 °C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{24} = +40.0^\circ$ (c 0.8, MeOH).

1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.4$ (1H, s, NH), 10.1 (1H, s, NH), 9.52 (1H, s, $NH_{Harnstoff}$), 9.43 (1H, s, $NH_{Harnstoff}$), 9.30 (1H, s, $NH_{Harnstoff}$), 8.31 – 8.30 (2H, m,

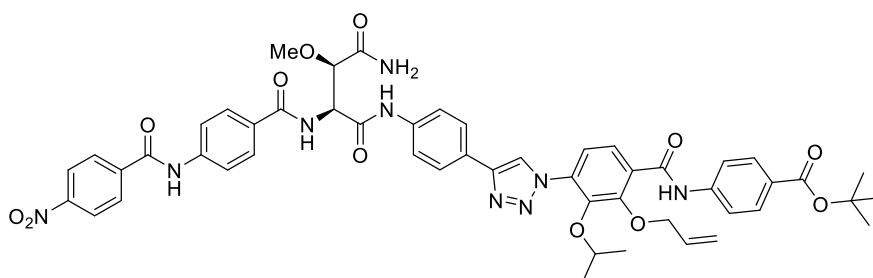
¹⁶⁴ Zwei quartäre Kohlenstoffatom-Signal fehlen aufgrund von mangelnder Relaxation.

$NH_{\text{Harnstoff}}$, $NHCH$), 8.11 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH), 7.88 (2H, m, ArH), 7.82 – 7.80 (4H, m, ArH), 7.74 (2H, m, ArH), 7.65 (2H, m, ArH), 7.60 – 7.57 (4H, m, ArH), 7.51 (1H, s, $CONH_2$), 7.43 – 7.40 (4H, m, ArH , $CONH_2$), 6.07 – 5.99 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dd, $J = 1.7, 17.2$ Hz, $CH_{\text{allyl-trans}}$), 5.22 (1H, dd, $J = 1.5, 10.5$ Hz, $CH_{\text{allyl-cis}}$), 4.86 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, $CHNH$), 4.64 – 4.59 (3H, m, $OCH_2\text{allyl}$, $CHMe_2$), 4.06 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, $CHOMe$), 3.30 (3H, s, OCH_3), 1.54 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 1.32 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ppm.

$^{13}C\text{-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.1$ (q, $CONH_2$), 167.7 (q, $CONH$), 165.4 (q, $CONH$), 164.6 (q, $CONH$), 164.3 (q, CO_2tBu), 152.0 (q, $NHCONH$), 152.0 (q, $NHCONH$), 149.3 (q, C-Ar), 144.0 (q, C-Ar), 143.1 (q, C-Ar), 142.4 (q, C-Ar), 138.4 (q, C-Ar), 137.8 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 133.3 (2C, t, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 128.5 (2C, t, C-Ar), 127.2 (q, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 124.4 (t, C-Ar), 123.0 (q, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.3 (q, CN), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.6 (2C, t, C-Ar), 118.2 (2C, t, C-Ar), 117.9 (s, $CH_2\text{allyl}$), 117.5 (2C, t, C-Ar), 113.7 (t, C-Ar), 103.5 (q, C-Ar), 80.3 (q, $C(CH_3)_3$), 80.1 (t, $CHOMe$), 75.9 (t, $CH(CH_3)_2$), 74.1 (s, $OCH_2\text{allyl}$), 57.7 (p, OCH_3), 55.5 (t, $CHNH$), 27.9 (3C, p, $C(CH_3)_3$), 21.9 (2C, p, $CH(CH_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{51}H_{53}N_9O_{11}Na$ [$M + Na$] $^+$: 990.3762; gefunden 990.3769.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (161)**



Säure **32** (32.0 mg, 112 μmol , 2.5 $\text{\AA}q$) und Amin **128** (32.0 mg, 44.9 μmol , 1.0 $\text{\AA}q$) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; $H_2O/CH_3CN = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 58$ min) wurde Produkt **161** (20.1 mg, 20.5 μmol , 45%) als farbloser Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{24} = +48.6^\circ$ (c 2.0, DMSO).

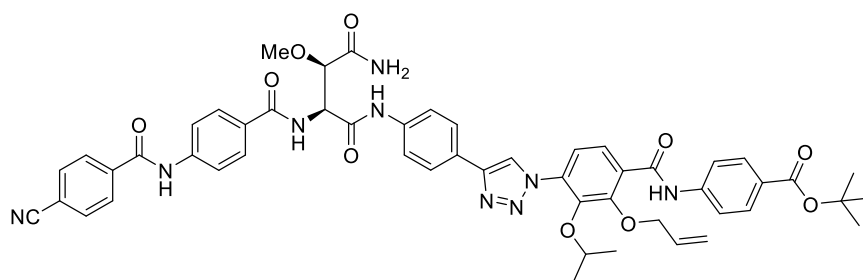
$^1H\text{-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.8$ (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.50 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, $NHCH$), 8.39 (2H, m, ArH),

8.21 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.92 (8H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.80 (2H, m, ArH), 7.62 – 7.60 (2H, m, ArH, CONH₂), 7.54 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, ArH), 7.48 (1H, s, CONH₂), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.21 (1H, d, *J* = 10.3 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.92 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, *J* = 4.8 Hz, OCH₂allyl), 4.28 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, CHMe₂), 4.11 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.1 (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.3 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 150.3 (q, C-Ar), 149.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 144.0 (q, C-Ar), 142.9 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 133.5 (q, C-Ar), 133.0 (t, CH_{allyl}), 130.2 (q, C-Ar), 129.4 (2C, t, C-Ar), 129.1 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.3 (2C, t, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (2C, t, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 123.6 (2C, t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (q, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH₂allyl), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 76.9 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.8 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₅₁H₅₁N₉O₁₂Na [M + Na]⁺: 1004.3555; gefunden 1004.3553.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(4-cyanobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (162)



Säure **112** (30.0 mg, 112 μmol, 2.5 Äq) und Amin **128** (32.0 mg, 44.9 μmol, 1.0 Äq) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 80 min, *t_r* = 56 min) wurde Produkt **162** (19.2 mg, 20.0 μmol, 44%) als farbloser Schaum erhalten.

[α]_D²⁵ = +53.4° (*c* 1.9, DMSO).

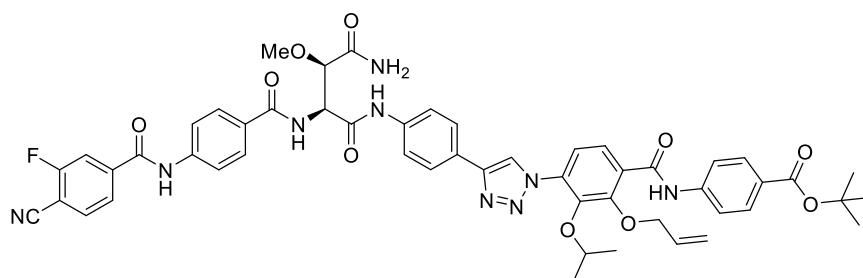
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.8 (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.51 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 8.13 (2H, m, ArH),

8.04 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.90 (8H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.61 – 7.60 (2H, m, ArH, CONH₂), 7.53 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, ArH), 7.47 (1H, s, CONH₂), 6.05 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, d, *J* = 17.3 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.20 (1H, d, *J* = 10.5 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.92 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, *J* = 5.0 Hz, OCH₂allyl), 4.28 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, CHMe₂), 4.11 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.0 (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.5 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 150.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 144.0 (q, C-Ar), 142.9 (q, C-Ar), 141.8 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (q, C-Ar), 133.0 (t, CH_{allyl}), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.2 (q, C-Ar), 129.0 (q, C-Ar), 128.7 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.3 (2C, t, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (2C, t, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (q, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, CN), 118.0 (s, CH₂allyl), 114.1 (q, C-Ar), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₅₂H₅₁N₉O₁₀Na [M + Na]⁺: 984.3657; gefunden 984.3649.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(4-cyano-3-fluorobenzamido)-benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxy-benzamido)benzoat (163)



Säure **137** (47.7 mg, 168 μmol, 2.5 Äq) und Amin **128** (48.0 mg, 67.2 μmol, 1.0 Äq) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 80 min, *t_r* = 59 min) wurde Produkt **163** (56.2 mg, 57.4 μmol, 85%) als farbloser Schaum erhalten.

[α]_D²³ = +36.7° (*c* 0.3, MeOH).

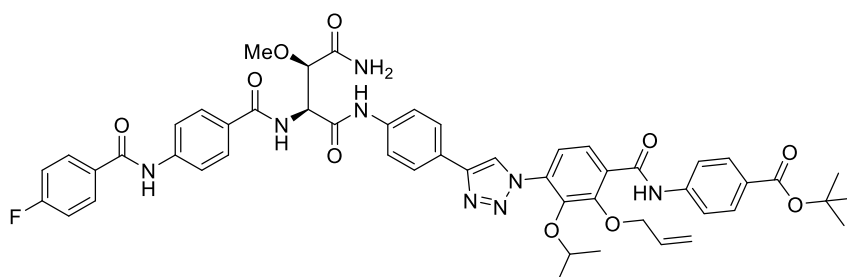
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.8 (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.47 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, NHCH), 8.17 – 8.13 (1H, m,

ArH), 8.09 – 8.06 (1H, m, ArH), 7.99 – 7.96 (1H, m, ArH), 7.94 – 7.90 (8H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.61 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, ArH), 7.56 – 7.47 (3H, m, ArH, CONH₂), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dd, $J = 1.5, 17.2$ Hz, CH_{allyl-trans}), 5.21 (1H, dd, $J = 1.2, 10.4$ Hz, CH_{allyl-cis}), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, $J = 5.4$ Hz, OCH₂allyl), 4.28 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH₂), 168.1 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.3 (q, CONH), 163.5 (q, CONH), 162.1 (d, $J = 223.0$ Hz, C-F), 150.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 141.5 (d, $J = 5.5$ Hz, CCONH), 138.9 (q, C-Ar), 134.3 (t, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 132.9 (q, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 124.7 (d, $J = 3.3$ Hz, CHCHCCONH), 123.9 (t, C-Ar), 122.7 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 120.7 (q, CN), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH₂allyl), 115.8 (d, $J = 21.8$ Hz, CHCF), 113.6 (q, C-Ar), 102.9 (d, $J = 15.3$ Hz, CCN), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.0 (t, CHOMe), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₅₂H₅₁N₉O₁₀F [M + H]⁺: 980.3743; gefunden 980.3753.

tert-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2S,3R)-4-amino-2-(4-(4-fluorobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (164)



Säure **130** (43.6 mg, 168 μ mol, 2.5 μ g) und Amin **128** (48.0 mg, 67.2 μ mol, 1.0 μ g) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 \rightarrow 0:100 in 80 min, $t_r = 59$ min) wurde Produkt **164** (33.9 mg, 35.5 μ mol, 53%) als beigefarbener Feststoff erhalten.

Smp. = 231 °C (Zersetzung).

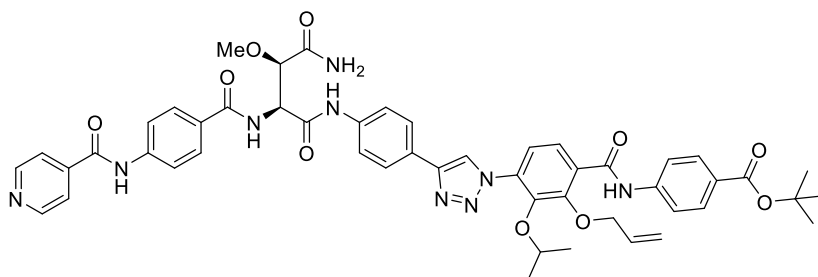
$[\alpha]_D^{22} = +87.8^\circ$ (*c* 0.5, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.7$ (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.45 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 8.08 – 8.05 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.88 (8H, m, ArH), 7.85 (2H, m, ArH), 7.80 (2H, m, ArH), 7.62 – 7.47 (4H, m, ArH, CONH₂), 7.41 – 7.32 (2H, m, ArH), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dd, *J* = 1.5, 17.1 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.21 (1H, d, *J* = 10.6 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.92 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, *J* = 5.3 Hz, OCH₂allyl), 4.28 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.10 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.7 (q, CO₂*t*Bu), 164.6 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 164.2 (d, *J* = 254.2 Hz, C-F), 150.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 132.9 (q, C-Ar), 131.1 (d, *J* = 2.8 Hz, C-Ar), 130.5 (2C, d, *J* = 9.2 Hz, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 128.6 (q, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.5 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH₂allyl), 115.4 (2C, d, *J* = 21.9 Hz, C-Ar), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₅₁H₅₁N₈O₁₀FNa [M + Na]⁺: 977.3610; gefunden 977.3611.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(isonicotinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (165)**



Säure **138** (32.2 mg, 133 μ mol, 2.5 Äq) und Amin **128** (38.0 mg, 53.2 μ mol, 1.0 Äq) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 \rightarrow 0:100 in 80 min, *t_r* = 50 min) wurde Produkt **165** (26.7 mg, 28.5 μ mol, 54%) als farbloser Schaum erhalten.

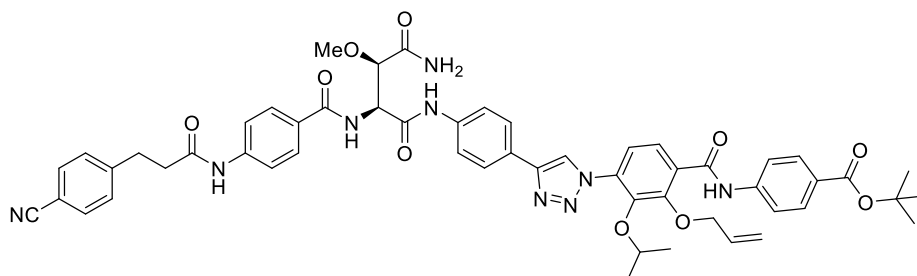
$[\alpha]_D^{24} = +32.4^\circ$ (*c* 2.3, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.8$ (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.81 (2H, d, $J = 5.8$ Hz, ArH), 8.51 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 7.94 – 7.88 (10H, m, ArH), 7.85 (2H, m, ArH), 7.80 (2H, m, ArH), 7.62 – 7.47 (4H, m, ArH, CONH₂), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dd, $J = 1.6, 17.2$ Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-trans}}$), 5.21 (1H, dd, $J = 1.5, 10.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-cis}}$), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, $J = 5.4$ Hz, OCH_2allyl), 4.28 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.11 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.01 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO_2tBu), 164.3 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 150.3 (2C, t, C-Ar), 150.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 141.6 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 132.9 (q, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 129.1 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (2C, t, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar_{Triazol}), 121.6 (2C, t, C-Ar), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (q, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH_2allyl), 80.4 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 76.8 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 74.6 (s, OCH_2allyl), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{50}\text{H}_{51}\text{N}_9\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 960.3657; gefunden 960.3654.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)-propan-amido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (166)**



Säure **140** (39.0 mg, 133 μmol , 2.5 $\text{\AA}q$) und Amin **128** (38.0 mg, 53.2 μmol , 1.0 $\text{\AA}q$) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 57$ min) wurde Produkt **166** (29.5 mg, 29.8 μmol , 56%) als farbloser Schaum erhalten.

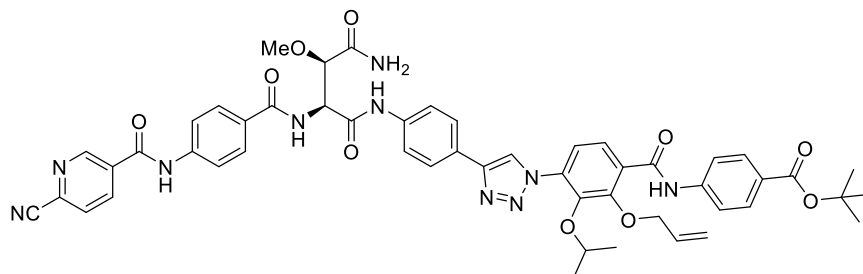
$[\alpha]_D^{25} = +23.2^\circ$ (*c* 2.7, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.41 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, NHCH), 7.94 – 7.91 (4H, m, ArH), 7.86 – 7.75 (8H, m, ArH), 7.68 (2H, m, ArH), 7.61 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, ArH), 7.57 – 7.53 (2H, m, ArH, CONH₂), 7.49 – 7.47 (3H, m, ArH, CONH₂), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.21 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.89 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, *J* = 5.1 Hz, OCH₂allyl), 4.28 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, CHOMe), 3.30 (3H, s, OCH₃), 3.01 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, ArCH₂CH₂), 2.71 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, ArCH₂CH₂), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.0 (q, CONH₂), 170.4 (q, CONH), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂*t*Bu), 164.3 (q, CONH), 150.3 (q, C-Ar), 147.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 133.0 (q, C-Ar), 132.3 (2C, t, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 129.5 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 128.0 (q, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.0 (q, CN), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.2 (s, CH₂allyl), 118.0 (2C, t, C-Ar), 108.9 (q, C-Ar), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.0 (t, CHOMe), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 37.1 (s, ArCH₂CH₂), 30.6 (s, ArCH₂CH₂), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₅₄H₅₆N₉O₁₀ [M + H]⁺: 990.4150; gefunden 990.4148.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(6-cyanonicotinamido)-benz-amido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxybenz-amido)benzoat (167)**



Säure **139** (35.5 mg, 133 μ mol, 2.5 \ddot{A} q) und Amin **128** (38.0 mg, 53.2 μ mol, 1.0 \ddot{A} q) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 70:30 \rightarrow 0:100 in 80 min, *t_r* = 55 min) wurde Produkt **167** (34.4 mg, 35.7 μ mol, 67%) als beigefarbener Schaum erhalten.

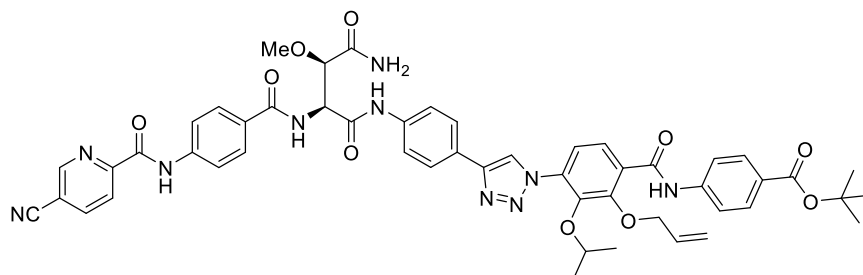
$[\alpha]_D^{23} = +30.5^\circ$ (*c* 3.3, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.9$ (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.24 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, ArH), 8.90 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.55 (1H, dd, $J = 1.9$, 8.0 Hz, ArH), 8.48 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NHCH), 8.25 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, ArH), 7.94 – 7.88 (8H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.61 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, ArH), 7.54 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, ArH), 7.52 (2H, d, $J = 39.5$ Hz, CONH_2), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dd, $J = 1.6$, 17.2 Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-trans}}$), 5.21 (1H, dd, $J = 1.5$, 10.5 Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-cis}}$), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, OCH_2allyl), 4.28 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.10 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.01 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO_2tBu), 164.3 (q, CONH), 163.0 (q, CONH), 150.3 (q, C-Ar), 150.2 (t, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 141.5 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 137.3 (t, C-Ar), 134.5 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (t, CH_{allyl}), 133.4 (q, C-Ar), 132.9 (q, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.8 (t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 120.9 (t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH_2allyl), 117.1 (q, CN), 80.4 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.0 (t, CHOMe), 76.8 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 74.6 (s, OCH_2allyl), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{51}\text{H}_{51}\text{N}_{10}\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 963.3790; gefunden 963.3795.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(5-cyanopicolinamido)-benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-3-isopropoxy-benzamido)benzoat (168)**



Säure **136** (31.8 mg, 119 μmol , 2.5 $\text{\AA}q$) und Amin **128** (34.0 mg, 47.6 μmol , 1.0 $\text{\AA}q$) wurden gemäß **Methode 4** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min;

H₂O/CH₃CN = 70:30 → 0:100 in 80 min, t_r = 56 min) wurde Produkt **168** (23.0 mg, 23.9 μmol, 50%) als beigefarbener Schaum erhalten.

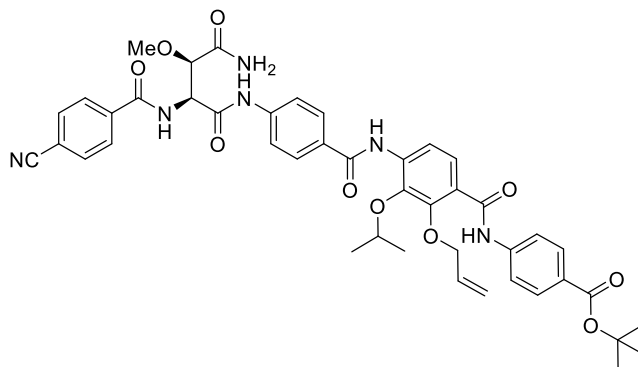
$[\alpha]_D^{22} = +27.7^\circ$ (*c* 0.3, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 11.0 (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.22 (1H, br. s, ArH), 8.90 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.60 (1H, dd, *J* = 1.7, 8.1 Hz, ArH), 8.49 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 8.31 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, ArH), 8.06 (2H, m, ArH), 7.94 – 7.89 (6H, m, ArH), 7.85 (2H, m, ArH), 7.80 (2H, m, ArH), 7.61 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, ArH), 7.54 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, ArH), 7.53 (2H, d, *J* = 40.9 Hz, CONH₂), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.20 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.92 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.69 (2H, d, *J* = 5.1 Hz, OCH₂allyl), 4.28 (1H, hept, *J* = 6.0 Hz, CHMe₂), 4.11 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.01 (6H, d, *J* = 6.0 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.0 (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.3 (q, CONH), 161.7 (q, CONH), 152.3 (q, C-Ar), 151.5 (q, C-Ar), 150.3 (t, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 143.9 (q, C-Ar), 142.8 (q, C-Ar), 142.3 (t, C-Ar), 141.1 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.5 (q, C-Ar), 132.9 (t, CH_{allyl}), 130.2 (2C, t, C-Ar), 129.3 (q, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.9 (t, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.9 (t, C-Ar), 119.9 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.0 (s, CH₂allyl), 116.6 (q, CN), 111.8 (q, C-Ar), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.0 (t, CHOMe), 76.8 (t, CH(CH₃)₂), 74.6 (s, OCH₂allyl), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₅₁H₅₀N₁₀O₁₀Na [M + Na]⁺: 985.3609; gefunden 985.3609.

***tert*-Butyl-4-(2-(allyloxy)-4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-cyanobenzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-3-isopropoxybenzamido)benzoat (169)**



DIPEA (71 μL , 416 μmol , 7.0 \AA q) wurde in eine Lösung von Amin **120** (41.0 mg, 59.4 μmol , 1.0 \AA q) in DMF (3 mL) getropft. Nach Zugabe von 4-Cyanobenzoylchlorid (24.6 mg, 149 μmol , 2.5 \AA q) wurde das Reaktionsgemisch 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung wurde die Reaktion beendet. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck konzentriert. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 100 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 80 min, $t_r = 57$ min) wurde Produkt **169** (21.6 mg, 26.4 μmol , 44%) als gelber Schaum erhalten.

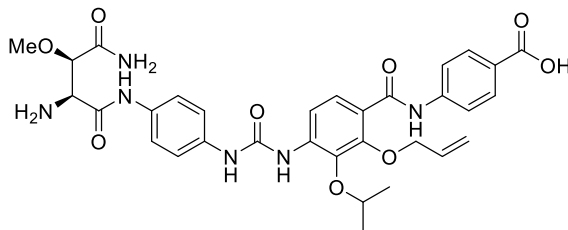
$[\alpha]_D^{23} = +17.2^\circ$ (c 2.2, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 10.6$ (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 9.52 (1H, s, NH), 8.88 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, CHNH), 8.03 – 7.97 (6H, m, ArH), 7.89 (2H, m, ArH), 7.83 – 7.82 (5H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 17.6$ Hz, NH_2), 7.41 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, ArH), 6.07 – 5.97 (1H, m, CH_{allyl}), 5.38 (1H, dd, $J = 1.6, 17.2$ Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-trans}}$), 5.20 (1H, dd, $J = 1.3, 10.4$ Hz, $\text{CH}_{\text{allyl-cis}}$), 4.95 (1H, t, $J = 8.2$ Hz, CHNH), 4.61 (2H, d, $J = 5.4$ Hz, OCH_2allyl), 4.50 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.08 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.54 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.26 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 170.8$ (q, CONH_2), 168.3 (CONH), 164.9 (q, CONH), 164.6 (q, CONH), 164.5 (q, CONH), 164.3 (q, CO_2tBu), 149.5 (q, C-Ar), 143.0 (q, C-Ar), 142.6 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 137.7 (q, C-Ar), 135.7 (q, C-Ar), 133.7 (2C, t, C Ar), 133.7 (t, CH_{allyl}), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.1 (2C, t, C-Ar), 128.6 (q, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 127.1 (q, C-Ar), 126.0 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 119.0 (t, C-Ar), 118.8 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, CN), 117.8 (s, CH_2allyl), 114.0 (q, C-Ar), 80.3 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.0 (t, CHOMe), 76.3 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 74.3 (s, OCH_2allyl), 57.9 (p, OCH_3), 55.9 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 22.4 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 819.3354; gefunden 819.3352.

4-(2-(Allyloxy)-4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-2,4-diamino-3-methoxy-4-oxobutanamido)-phenyl)-ureido)-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (170)



Salzsäure (4 M in Dioxan, 2.48 mL, 9.94 mmol, 100 Äq) wurde zu Verbindung **110** (80 mg, 99.4 μ mol, 1.0 Äq) gegeben. Nach 30 min bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde einer präparativen HPLC-Reinigung unterzogen (Laufzeit 100 min; H₂O/CH₃CN = 95:05 \rightarrow 0:100 in 90 min, t_r = 30 min). Produkt **170** (57.3 mg, 88.4 μ mol, 89%) wurde als gelber Schaum erhalten.

$[\alpha]_D^{22} = +7.0^\circ$ (c 0.9, MeOH).

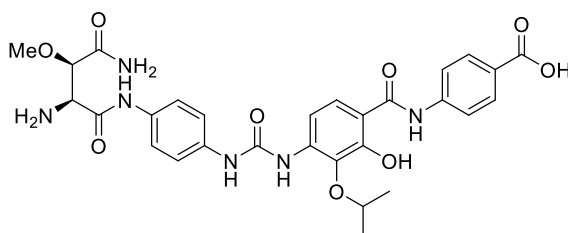
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 10.4 (1H, s, NH), 9.87 (1H, br. s, NH), 9.56 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.31 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.11 (1H, d, J = 8.8 Hz, ArH), 7.92 (2H, m, ArH), 7.81 (2H, m, ArH), 7.58 (2H, m, ArH), 7.42 – 7.40 (3H, m, ArH), 7.37 (2H, d, J = 80.7 Hz, CONH₂), 6.08 – 5.99 (1H, m, CH_{allyl}), 5.40 (1H, dd, J = 1.7, 17.2 Hz, CH_{allyl-trans}), 5.23 (1H, dd, J = 1.4, 10.4 Hz, CH_{allyl-cis}), 4.64 – 4.59 (3H, m, OCH₂allyl, CHMe₂), 3.76 (1H, d, J = 6.8 Hz, CHOMe), 3.60 (1H, d, J = 6.8 Hz, CHNH₂), 3.27 (3H, s, OCH₃), 1.33 (6H, d, J = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.7 (q, CONH₂), 170.7 (q, CONH), 167.1 (q, CO₂H), 164.3 (q, CONH), 152.1 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 142.9 (q, C-Ar), 138.5 (q, C-Ar), 137.8 (q, C-Ar), 134.9 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 133.6 (t, CH_{allyl}), 130.4 (2C, t, C-Ar), 125.8 (q, C-Ar), 124.5 (t, C-Ar), 123.1 (q, C-Ar), 119.9 (2C, t, C-Ar), 118.9 (2C, t, C-Ar), 118.7 (2C, t, C-Ar), 117.9 (s, CH₂allyl), 113.7 (t, C-Ar), 83.2 (t, CHOMe), 76.0 (t, CH(CH₃)₂), 74.1 (s, OCH₂allyl), 57.8 (p, OCH₃), 57.1 (t, CHNH₂), 22.0 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₃₂H₃₇N₆O₉ [M + H]⁺: 649.2622; gefunden 649.2624.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Allylschutzung (Methode 5)

Die allylgeschützte Verbindung (1.0 Äq) wurde in THF (0.04 M) gelöst. Nach Zugabe von Anilin (2.0 Äq) und Tetrakis(triphenylphosphane)palladium(0) (0.25 Äq) wurde das Reaktionsgemisch 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von HCl (1 M, 2 Tropfen) wurde die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt.

4-(4-(3-(4-((2S,3R)-2,4-diamino-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (96)

Allylgeschützte Verbindung **170** (10.0 mg, 15.4 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 95:05 \rightarrow 0:100$ in 60 min, $t_r = 21$ min) wurde Produkt **96** (6.5 mg, 10.7 μmol , 69%) als weißer Feststoff erhalten.

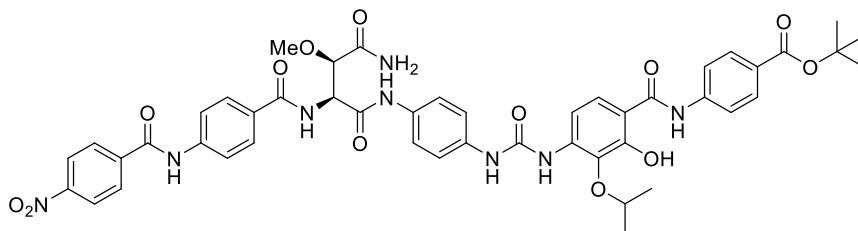
$[\alpha]_D^{23} = +24.1^\circ$ (c 0.7, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 9.83$ (1H, br. s, CO_2H), 9.55 (1H, s, NH), 8.34 (2H, br. s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.09 (1H, s, NH), 7.87 (2H, m, ArH), 7.76 (2H, m, ArH), 7.57 – 7.54 (3H, m, ArH), 7.46 – 7.43 (2H, m, ArH, CONH_2), 7.40 (2H, m, ArH), 7.24 (1H, s, CONH_2), 4.79 (1H, hept, $J = 6.5$ Hz, CHMe_2), 3.74 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, CHOMe), 3.57 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, CHNH_2), 3.27 (3H, s, OCH_3), 1.25 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.8$ (q, CONH_2), 170.8 (q, CONH), 168.0 (q, CO_2H), 164.8 (q, CONH), 152.2 (q, NHCONH), 143.5 (q, C-Ar), 137.4 (q, C-Ar), 135.3 (q, C-Ar), 134.5 (q, C-Ar), 133.9 (q, C-Ar), 133.9 (q, C-Ar), 130.4 (q, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 123.4 (t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.2 (2C, t, C-Ar), 118.5 (2C, t, C-Ar), 112.0 (q, C-Ar), 104.0 (t, C-Ar), 83.3 (t, CHOMe), 72.0 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 57.1 (t, CHNH_2), 22.1 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 631.2128; gefunden 631.2127.

***tert*-Butyl-4-(4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)-benzamido)-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (115)**



Allylgeschützte Verbindung **113** (25.0 mg, 25.7 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 90:10 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 61$ min) wurde Produkt **115** (11.5 mg, 12.3 μmol , 48%) als gelber Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{24} = +130.6^\circ$ (c 0.9, MeCN).

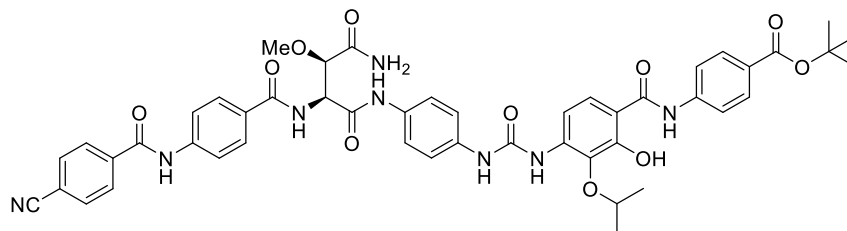
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.5$ (1H, s, OH), 10.8 (1H, s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 9.61 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.39 – 8.37 (3H, m, ArH, NHCH), 8.33 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.21 (2H, m, ArH), 7.92 – 7.79 (10H, m, ArH), 7.60 (2H, m, ArH), 7.53 (1H, s, CONH₂), 7.44 – 7.41 (3H, m, ArH, CONH₂), 4.89 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, CHNH), 4.63 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.07 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.30 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH₂), 169.0 (q, CONH), 167.6 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.2 (q, CONH), 151.9 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 139.0 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 132.9 (q, C-Ar), 129.9 (2C, t, C-Ar), 129.4 (2C, t, C-Ar), 129.1 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.7 (q, C-Ar), 123.6 (2C, t, C-Ar), 123.0 (t, C-Ar), 120.7 (2C, t, C-Ar), 120.2 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.7 (2C, t, C-Ar), 109.3 (t, C-Ar), 80.5 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 74.2 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.5 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 22.0 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.¹⁶⁵

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{47}\text{H}_{47}\text{N}_8\text{O}_{13}$ $[\text{M} - \text{H}]^-$: 931.3268; gefunden 931.3262.

¹⁶⁵ Zwei quartäre Kohlenstoffatom-Signal fehlen aufgrund von mangelnder Relaxation.

***tert*-Butyl-4-(4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(4-cyanobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**116**)**



Allylgeschützte Verbindung **114** (26.0 mg, 27.3 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 26$ min) wurde Produkt **116** (15.8 mg, 17.3 μmol , 61%) als grauer Feststoff erhalten.

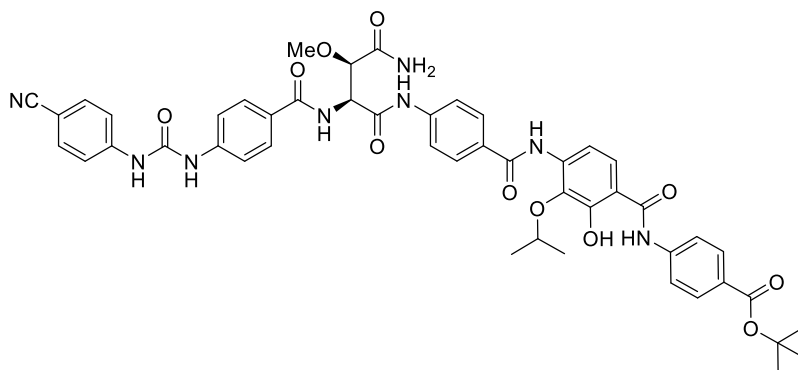
$[\alpha]_D^{25} = +66.7^\circ$ (c 0.8, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.5$ (1H, br. s, OH), 10.7 (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 10.1 (1H, s, NH), 9.62 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.39 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.34 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.13 (2H, m, ArH), 8.04 (2H, m, ArH), 7.93 – 7.87 (7H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.81 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, ArH), 7.60 (2H, m, ArH), 7.53 (1H, s, CONH_2), 7.44 – 7.42 (3H, m, ArH, CONH_2), 4.89 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.63 (1H, hept, $J = 6.2$ Hz, CHMe_2), 4.07 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.30 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH_2), 169.0 (q, CONH), 167.6 (q, CONH), 165.3 (q, CONH), 164.6 (q, CO_2tBu), 164.5 (q, CONH), 154.4 (q, C-Ar), 151.9 (q, NHCONH), 142.1 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 139.1 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 132.8 (q, C-Ar), 132.5 (2C, t, C-Ar), 129.9 (2C, t, C-Ar), 129.0 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.7 (q, C-Ar), 123.0 (t, C-Ar), 120.7 (2C, t, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.6 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, CN), 114.0 (q, C-Ar), 109.2 (q, C-Ar), 108.1 (t, C-Ar), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 74.2 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.5 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.9 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{N}_8\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 935.3340; gefunden 935.3339.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)ureido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat
(171)**



Allylgeschützte Verbindung **159** (42.0 mg, 44.1 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 56$ min) wurde Produkt **171** (29.8 mg, 32.6 μmol , 74%) als weißer Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{21} = +29.3^\circ$ (c 1.2, MeOH).

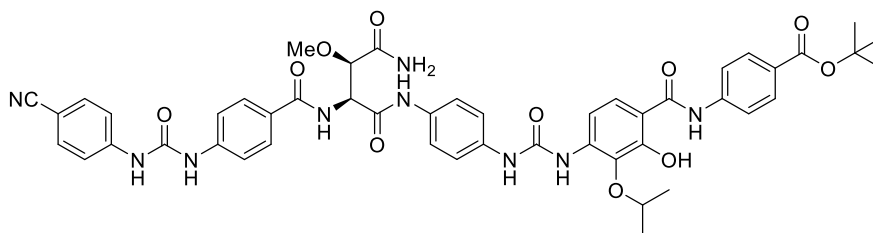
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.4$ (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, br. s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 9.40 (1H, s, NH), 9.38 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 9.28 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.38 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 7.96 (2H, m, ArH), 7.92 (2H, m, ArH), 7.86 – 7.82 (7H, m, ArH), 7.74 (2H, m, ArH), 7.70 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, ArH), 7.66 (2H, m, ArH), 7.59 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 26.5$ Hz, CONH_2), 4.91 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.56 (1H, hept, $J = 6.2$ Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.27 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 170.9$ (q, CONH_2), 168.8 (q, CONH), 168.4 (q, CONH), 165.5 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.2 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 152.0 (q, NHCONH), 144.0 (q, C-Ar), 142.4 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 137.0 (q, C-Ar), 136.3 (q, C-Ar), 133.3 (2C, t, C-Ar), 129.9 (2C, t, C-Ar), 128.5 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 127.1 (q, C-Ar), 126.7 (q, C-Ar), 122.9 (t, C-Ar), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.3 (q, CN), 119.0 (2C, t, C-Ar), 118.2 (2C, t, C-Ar), 117.5 (2C, t, C-Ar), 112.5 (t, C-Ar), 111.8 (q, C-Ar), 103.5 (q, C-Ar), 80.5 (q, C(CH₃)₃), 80.0 (t, CHOMe), 74.7 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.8 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.¹⁶⁶

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{N}_8\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 935.3340; gefunden 935.3342.

¹⁶⁶ Ein quartäres Kohlenstoffatom-Signal fehlt aufgrund von mangelnder Relaxation.

tert-Butyl 4-(4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)ureido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (172)



Allylgeschützte Verbindung **160** (26.0 mg, 26.8 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 61$ min) wurde Produkt **172** (9.3 mg, 10.0 μmol , 37%) als weißer Feststoff erhalten.

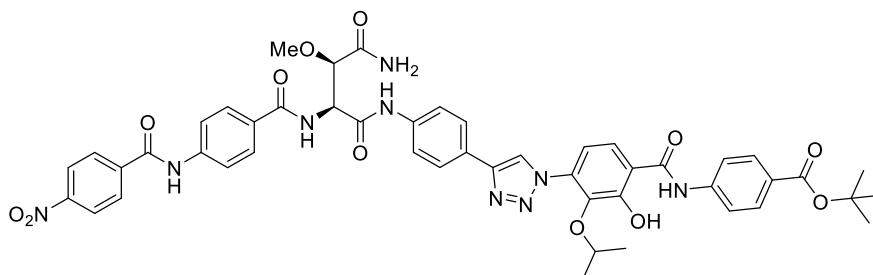
$[\alpha]_D^{22} = +43.6^\circ$ (c 0.9, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.5$ (1H, br. s, OH), 10.6 (1H, br. s, NH), 10.1 (1H, s, NH), 9.61 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 9.50 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 9.36 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 9.32 (1H, s, $\text{NH}_{\text{Harnstoff}}$), 8.30 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 7.91 (2H, m, ArH), 7.88 – 7.79 (6H, m, ArH), 7.73 (2H, m, ArH), 7.66 (2H, m, ArH), 7.60 – 7.56 (4H, m, ArH), 7.52 – 7.38 (4H, m, ArH, CONH₂), 4.86 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.63 (1H, hept, $J = 6.2$ Hz, CHMe₂), 4.06 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.30 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.30 (6H, d, $J = 6.2$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH₂), 169.0 (q, CONH), 167.7 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 154.6 (q, C-Ar), 152.0 (q, NHCONH), 151.9 (q, NHCONH), 144.0 (q, C-Ar), 142.4 (q, C-Ar), 142.2 (q, C-Ar), 139.0 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.6 (q, C-Ar), 133.3 (2C, t, C-Ar), 132.9 (q, C-Ar), 129.9 (2C, t, C-Ar), 128.5 (2C, t, C-Ar), 127.2 (q, C-Ar), 126.6 (q, C-Ar), 123.0 (t, C-Ar), 120.6 (2C, t, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.3 (q, CN), 118.6 (2C, t, C-Ar), 118.2 (2C, t, C-Ar), 117.5 (2C, t, C-Ar), 109.3 (q, C-Ar), 107.9 (t, C-Ar), 103.5 (q, C-Ar), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 74.1 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.5 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{49}\text{N}_9\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 950.3449; gefunden 950.3447.

***tert*-Butyl 4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (173)**



Allylgeschützte Verbindung **161** (20.0 mg, 20.4 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_{\text{r}} = 53$ min) wurde Produkt **173** (8.5 mg, 9.03 μmol , 44%) als gelber Feststoff erhalten.

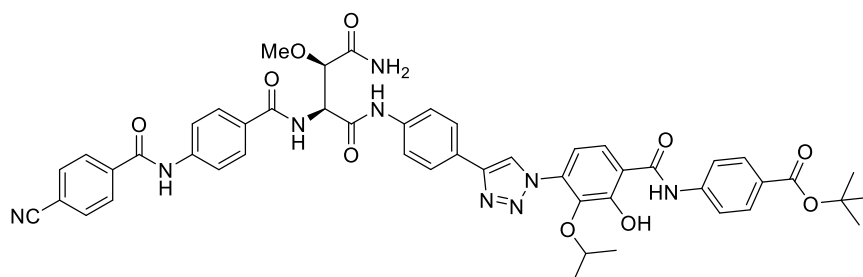
$[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +42.9^\circ$ (c 0.9, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.1 (1H, br. s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.92 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.44 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.39 (2H, m, ArH), 8.21 (2H, m, ArH), 7.95 – 7.87 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 46.5$ Hz, CONH_2), 7.30 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, ArH), 4.93 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.28 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.56 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.5 (q, CO_2tBu), 164.2 (q, CONH), 151.5 (q, C-Ar), 149.3 (q, C-Ar), 146.2 (q, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 142.1 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 134.3 (q, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.3 (2C, t, C-Ar), 129.1 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.8 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (t, C-Ar), 124.9 (q, C-Ar), 123.6 (2C, t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 120.5 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 114.1 (t, C-Ar), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 75.4 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{47}\text{N}_9\text{O}_{12}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 964.3242; gefunden 964.3229.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((*2S,3R*)-4-amino-2-(4-(4-cyanobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (**174**)**



Allylgeschützte Verbindung **162** (19.0 mg, 20.4 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_{\text{r}} = 52$ min) wurde Produkt **174** (10.1 mg, 11.0 μmol , 56%) als gelber Feststoff erhalten.

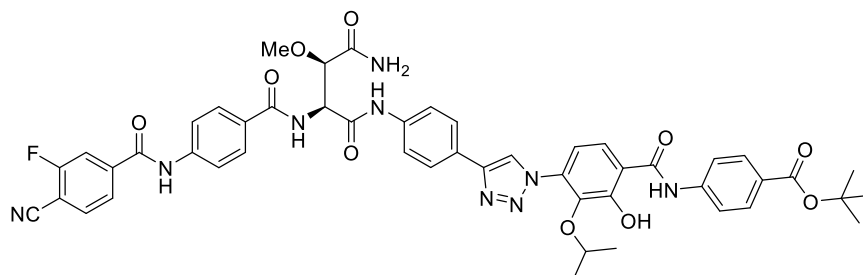
$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +49.6^\circ$ (c 1.0, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.0 (1H, br. s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.44 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.13 (2H, m, ArH), 8.05 (2H, m, ArH), 7.96 – 7.87 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 37.9$ Hz, CONH_2), 7.32 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.27 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.56 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.5 (q, CO_2tBu), 164.5 (q, CONH), 155.0 (q, C-Ar), 146.2 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.0 (q, C-Ar), 141.8 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.8 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.3 (q, C-Ar), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.0 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.9 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.5 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 118.3 (q, CN), 114.4 (q, C-Ar), 114.1 (t, C-Ar), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 75.5 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{49}\text{H}_{48}\text{N}_9\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 922.3524; gefunden 922.3529.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(4-cyano-3-fluorobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxy-benzamido)benzoat (175)**



Allylgeschützte Verbindung **163** (56.2 mg, 57.4 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 50$ min) wurde Produkt **175** (22.4 mg, 23.8 μmol , 42%) als farbloser Feststoff erhalten.

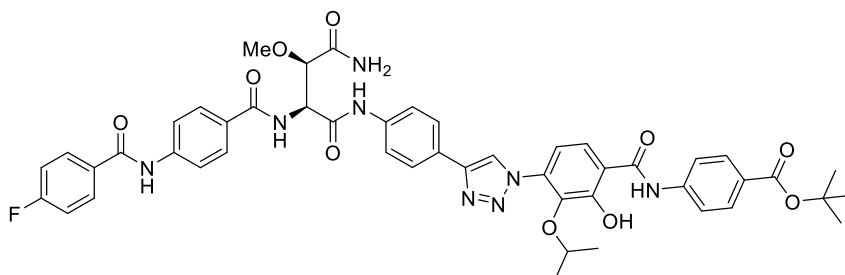
$[\alpha]_D^{23} = +21.8^\circ$ (c 1.1, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.0 (1H, s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.92 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.45 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.16 – 8.13 (1H, m, ArH), 8.09 – 8.06 (1H, m, ArH), 7.99 – 7.86 (12H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 30.5$ Hz, CONH_2), 7.32 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.93 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.28 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.10 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.5 (q, CO_2tBu), 163.5 (q, CONH), 162.1 (d, $J = 223.6$ Hz, C-F), 155.2 (q, C-Ar), 146.2 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.0 (q, C-Ar), 141.5 (q, C-Ar), 141.5 (d, $J = 7.2$ Hz, CCONH), 141.5 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.8 (q, C-Ar), 134.3 (d, $J = 7.0$ Hz, CHCCN), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.9 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 124.7 (d, $J = 3.5$ Hz, CHCHCCONH), 123.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.5 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, CN), 115.8 (d, $J = 21.3$ Hz, CHCF), 114.2 (t, C-Ar), 113.6 (q, C-Ar), 102.9 (d, $J = 15.3$ Hz, CCN), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 75.5 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{49}\text{H}_{46}\text{N}_9\text{O}_{10}\text{FNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 962.3249; gefunden 962.3253.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(4-fluorobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (176)**



Allylgeschützte Verbindung **164** (33.9 mg, 35.5 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 51$ min) wurde Produkt **176** (20.1 mg, 22.0 μmol , 62%) als gelber Feststoff erhalten.

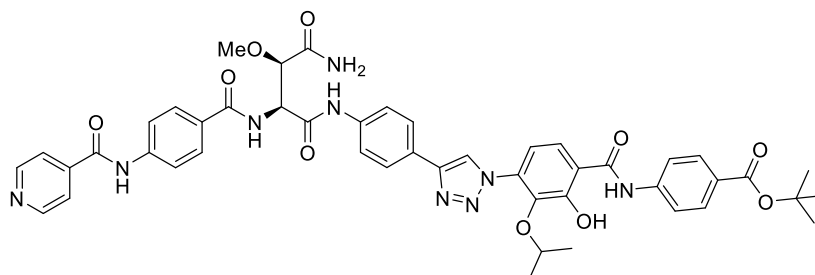
$[\alpha]_D^{24} = +29.2^\circ$ (c 1.8, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.4 (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.91 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.42 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.08 – 8.05 (2H, m, ArH), 7.95 – 7.86 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 30.8$ Hz, CONH_2), 7.39 (2H, m, ArH), 7.25 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.93 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.32 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.10 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.01 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.0 (q, CONH), 164.7 (q, CO_2tBu), 164.6 (q, CONH), 164.2 (d, $J = 249.2$ Hz, C-F), 156.0 (q, C-Ar), 146.1 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.2 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 139.0 (q, C-Ar), 138.8 (q, C-Ar), 134.2 (q, C-Ar), 131.1 (d, $J = 2.9$ Hz, C-Ar), 130.5 (2C, d, $J = 9.2$ Hz, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 128.6 (q, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.7 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.5 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.3 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.5 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 115.4 (2C, d, $J = 21.8$ Hz, C-Ar), 113.5 (t, C-Ar), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 75.1 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.6 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{47}\text{N}_8\text{O}_{10}\text{FNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 937.3297; gefunden 937.3273.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(isonicotinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoat (**177**)**



Allylgeschützte Verbindung **165** (26.7 mg, 28.4 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_{\text{r}} = 45$ min) wurde Produkt **177** (16.5 mg, 18.4 μmol , 65%) als gelber Feststoff erhalten.

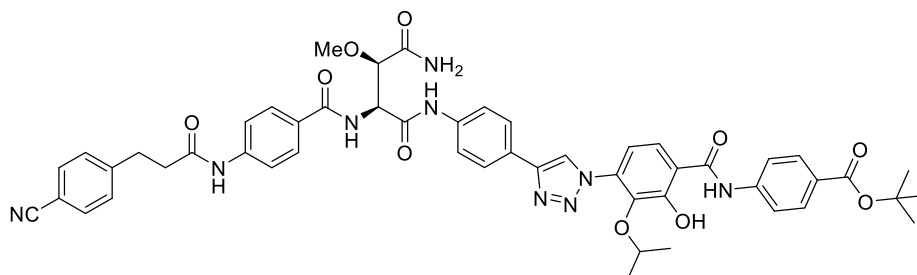
$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +22.1^\circ$ (c 0.9, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.82 (2H, m, ArH), 8.45 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 7.97 – 7.87 (13H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 49.8$ Hz, CONH_2), 7.36 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.93 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, CHNH), 4.25 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.10 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.56 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.5 (q, CO_2tBu), 163.0 (q, CONH), 154.6 (q, C-Ar), 150.4 (2C, t, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 141.9 (q, C-Ar), 141.6 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 131.5 (q, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.1 (q, C-Ar), 128.8 (2C, t, C-Ar), 127.0 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 121.8 (2C, t, C-Ar), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 114.7 (t, C-Ar), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 76.7 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{47}\text{H}_{48}\text{N}_9\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 898.3524; gefunden 898.3525.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)propanamido)-benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**178**)**



Allylgeschützte Verbindung **166** (29.5 mg, 29.8 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 49$ min) wurde Produkt **178** (19.8 mg, 20.9 μmol , 70%) als gelber Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{22} = +14.9^\circ$ (c 1.0, MeOH).

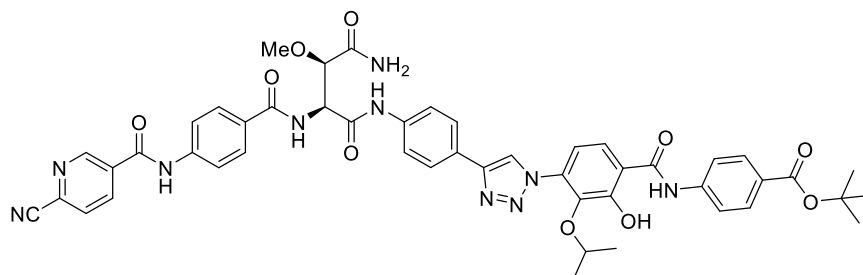
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.2 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 8.92 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.37 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, NHCH), 7.95 – 7.87 (7H, m, ArH), 7.83 – 7.75 (6H, m, ArH), 7.68 (2H, m, ArH), 7.54 – 7.46 (4H, m, ArH, CONH₂), 7.29 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, ArH), 4.90 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, CHNH), 4.29 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.08 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 3.01 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, ArCH₂CH₂), 2.71 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, ArCH₂CH₂), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH₂), 170.5 (q, CONH), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.5 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂*t*Bu), 147.3 (q, C-Ar), 146.2 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.1 (q, C-Ar), 139.0 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 134.3 (q, C-Ar), 132.3 (2C, t, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.5 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 128.1 (q, C-Ar), 126.9 (q, C-Ar), 125.9 (2C, t, C-Ar), 125.5 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.5 (2C, t, C-Ar), 119.9 (2C, t, C-Ar), 119.0 (q, C-Ar), 118.5 (q, CN), 118.3 (2C, t, C-Ar), 108.9 (q, C-Ar), 80.6 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 75.4 (t, CH(CH₃)₂), 57.8 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 37.2 (s, ArCH₂CH₂), 30.6 (s, ArCH₂CH₂), 27.9 (3C, p, C(CH₃)₃), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.¹⁶⁷

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{51}\text{H}_{51}\text{N}_9\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 972.3657; gefunden 972.3661.

¹⁶⁷ Ein tertiäres und zwei quartäre Kohlenstoffatom-Signale fehlen.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(6-cyanonicotinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxy-benzamido)benzoat (179)**



Allylgeschützte Verbindung **167** (26.7 mg, 27.7 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_{\text{r}} = 47$ min) wurde Produkt **179** (24.4 mg, 26.5 μmol , 95%) als gelber Feststoff erhalten.

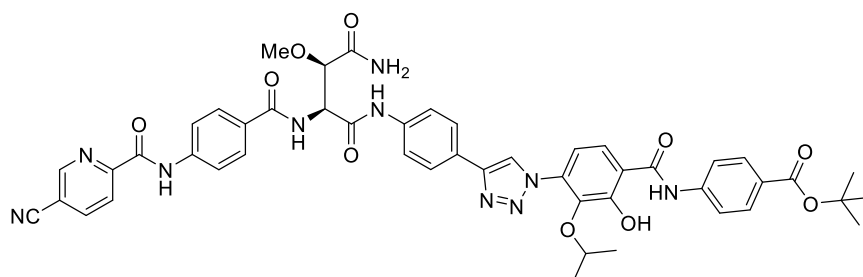
$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +19.5^\circ$ (c 1.2, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.4 (1H, br. s, NH), 10.9 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.24 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, ArH), 8.90 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.55 (1H, dd, $J = 2.0, 8.1$ Hz, ArH), 8.46 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, NHCH), 8.25 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, ArH), 7.94 – 7.86 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, $J = 31.3$ Hz, CONH_2), 7.25 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, ArH), 4.93 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.31 (1H, hept, $J = 6.0$ Hz, CHMe_2), 4.10 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.02 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.1 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO_2tBu), 163.0 (q, CONH), 155.9 (q, C-Ar), 150.2 (t, C-Ar), 146.1 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.2 (q, C-Ar), 141.5 (q, C-Ar), 139.0 (q, C-Ar), 138.8 (q, C-Ar), 137.3 (t, C-Ar), 134.5 (q, C-Ar), 134.2 (q, C-Ar), 133.4 (q, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.8 (t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.7 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.5 (q, C-Ar), 123.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.4 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 117.1 (q, CN), 113.5 (t, C-Ar), 80.5 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 75.2 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{47}\text{N}_{10}\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 923.3477; gefunden 923.3469.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-(5-cyanopicolinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (180)**



Allylgeschützte Verbindung **168** (23.0 mg, 23.9 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 51$ min) wurde Produkt **180** (21.8 mg, 23.6 μmol , 99%) als gelber Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{24} = +15.4^\circ$ (c 1.1, MeOH).

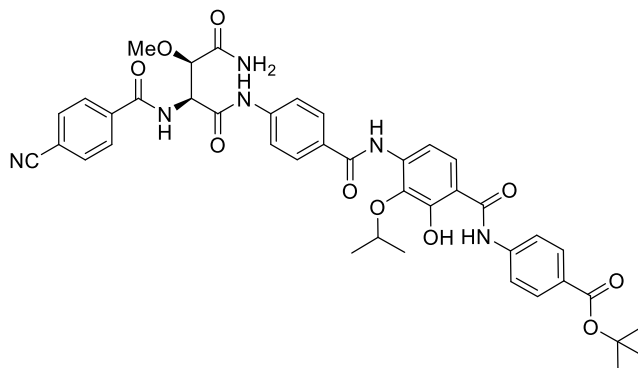
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 11.0 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.22 (1H, br. s, ArH), 8.87 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.60 (1H, dd, $J = 2.0$, 8.1 Hz, ArH), 8.44 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.31 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, ArH), 8.06 (2H, m, ArH), 7.92 – 7.85 (9H, m, ArH), 7.78 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 31.1$ Hz, CONH_2), 7.08 (1H, br. s, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.40 (1H, br. s, CHMe_2), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.55 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.00 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.1 (q, CONH), 167.3 (q, CONH), 165.4 (q, CONH), 164.6 (q, CO_2tBu), 163.0 (q, C-Ar), 161.7 (q, CONH), 152.3 (q, C-Ar), 151.5 (t, C-Ar), 146.0 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.7 (q, C-Ar), 142.3 (t, C-Ar), 141.0 (q, C-Ar), 139.5 (q, C-Ar), 138.8 (q, C-Ar), 134.0 (q, C-Ar), 130.0 (2C, t, C-Ar), 129.3 (q, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.2 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.6 (q, C-Ar), 123.7 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.0 (2C, t, C-Ar), 119.9 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 118.5 (q, C-Ar), 116.6 (q, CN), 111.8 (q, C-Ar), 80.4 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.1 (t, CHOMe), 74.4 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 27.9 (3C, p, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.9 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.¹⁶⁸

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{46}\text{N}_{10}\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 945.3296; gefunden 945.3298.

¹⁶⁸ Ein tertiäres Kohlenstoffatom-Signal fehlt aufgrund von mangelnder Relaxation.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-(4-cyanobenzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**181**)**



Allylgeschützte Verbindung **169** (21.5 mg, 26.3 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 49$ min) wurde Produkt **181** (12.2 mg, 15.7 μmol , 60%) als gelber Feststoff erhalten.

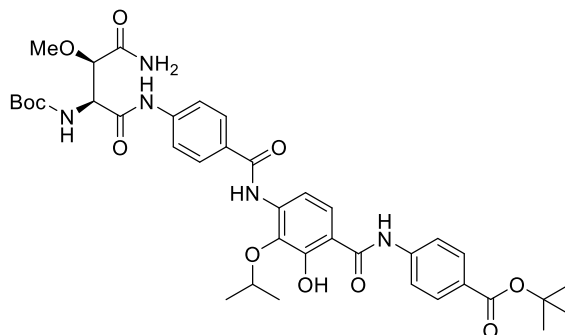
$[\alpha]_D^{23} = +14.5^\circ$ (c 1.2, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.3$ (1H, br. s, OH), 11.0 (1H, br. s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 9.36 (1H, s, NH), 8.87 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, CHNH), 8.03 – 7.99 (4H, m, ArH), 7.96 – 7.91 (4H, m, ArH), 7.86 – 7.81 (5H, m, ArH), 7.66 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, ArH), 7.49 (2H, d, $J = 13.5$ Hz, CONH₂), 4.95 (1H, t, $J = 8.2$ Hz, CHNH), 4.58 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.08 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.27 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 170.8$ (q, CONH₂), 168.4 (CONH), 168.3 (q, CONH), 164.8 (q, CONH), 164.6 (q, CO₂tBu), 164.1 (q, CONH), 155.1 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 137.7 (q, C-Ar), 136.8 (q, C-Ar), 136.4 (q, C-Ar), 132.5 (2C, t, C Ar), 129.9 (2C, t, C-Ar), 128.7 (q, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 122.9 (t, C-Ar), 120.5 (2C, t, C-Ar), 119.0 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, CN), 114.0 (q, C-Ar), 112.7 (q, C-Ar), 111.3 (t, C-Ar), 80.4 (q, C(CH₃)₃), 80.0 (t, CHOMe), 74.5 (t, CH(CH₃)₂), 57.9 (p, OCH₃), 55.8 (t, CHNH), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 779.3041; gefunden 779.3036.

***tert*-Butyl-4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-amino-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-methoxy-4-oxo-butanamido)benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoat (**182**)**



Allylgeschützte Verbindung **122** (77.0 mg, 97.5 μmol) wurden gemäß **Methode 5** umgesetzt. Nach präparativer HPLC-Reinigung (Laufzeit 80 min; $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} = 70:30 \rightarrow 0:100$ in 70 min, $t_r = 54$ min) wurde Produkt **182** (41.6 mg, 55.6 μmol , 57%) als farbloser Feststoff erhalten.

$[\alpha]_D^{24} = -5.6^\circ$ (c 0.4, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 2.50$ ppm): $\delta = 12.3$ (1H, br. s, OH), 10.7 (1H, br. s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.39 (1H, s, NH), 7.96 – 7.92 (4H, m, ArH), 7.87 – 7.81 (5H, m, ArH), 7.71 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, ArH), 7.44 (2H, d, $J = 12.7$ Hz, CONH₂), 6.82 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, NHBoc), 4.56 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.41 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, CHNH), 3.86 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, CHOMe), 3.26 (3H, s, OCH₃), 1.55 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.38 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.27 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , $\text{DMSO} = 39.52$ ppm): $\delta = 170.7$ (q, CONH₂), 169.0 (q, CONH), 168.5 (q, CONH), 164.6 (q, CONH), 164.2 (q, CO₂*t*Bu), 154.8 (q, CO₂*t*Bu), 154.3 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 137.0 (q, C-Ar), 136.3 (q, C-Ar), 129.9 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.8 (q, C-Ar), 122.9 (q, C-Ar), 120.6 (2C, t, C-Ar), 118.9 (t, C-Ar), 112.4 (q, C-Ar), 111.9 (t, C-Ar), 80.5 (q, C(CH₃)₃), 80.1 (t, CHOMe), 78.7 (q, C(CH₃)₃), 74.8 (t, CH(CH₃)₂), 57.6 (p, OCH₃), 56.6 (t, CHNH), 28.1 (3C, p, C(CH₃)₃), 27.8 (3C, p, C(CH₃)₃), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

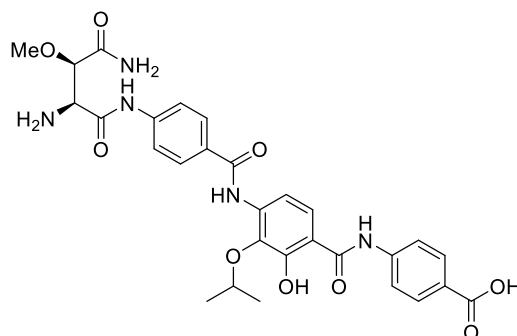
HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{38}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 772.3170; gefunden 772.3167.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die *t*Bu-Entschützung (Methode 6)

Die *t*Bu-geschützte Verbindung (1.0 Äq) wurde bei 0 °C in TFA (0.02 M) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur zwischen 30 min und 6 h gerührt. Durch Zugabe

von Et₂O wurde die Reaktion beendet. Das Präzipitat wurde filtriert, mit Et₂O gewaschen und am Hochvakuum getrocknet.

4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-2,4-Diamino-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (123)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **182** (41.6 mg, 55.6 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 2 h umgesetzt. Produkt **123** (32.8 mg, 55.6 μ mol, quant.) wurde als beigefarbener Feststoff erhalten.

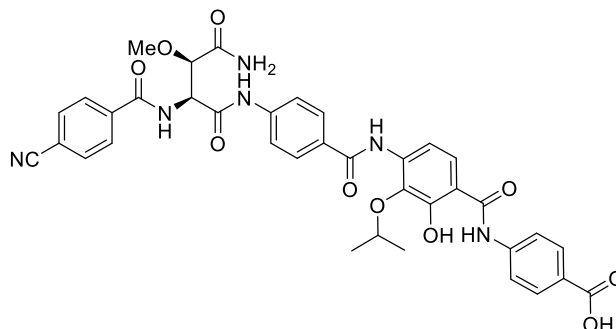
$[\alpha]_D^{25} = +26.8^\circ$ (*c* 2.2, DMSO).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆ + 2 μ L DCO₂D, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.3$ (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, br. s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 9.45 (1H, s, NH), 8.41 (2H, br. s, NH₂), 8.01 – 7.94 (4H, m, ArH), 7.88 – 7.85 (4H, m, ArH, CONH₂), 7.77 – 7.74 (3H, m, ArH, CONH₂), 7.70 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, ArH), 4.55 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.29 (1H, br. s, CHNH), 4.13 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, CHOMe), 3.40 (3H, s, OCH₃), 1.27 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 169.7$ (q, CONH₂), 168.5 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 164.3 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 154.2 (q, C-Ar), 142.0 (q, C-Ar), 141.3 (q, C-Ar), 137.0 (q, C-Ar), 136.4 (q, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 129.3 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 122.9 (t, C-Ar), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.3 (2C, t, C-Ar), 112.5 (q, C-Ar), 112.3 (t, C-Ar), 78.5 (t, CHOMe), 74.9 (t, CH(CH₃)₂), 58.7 (p, OCH₃), 54.2 (t, CHNH), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₉H₃₁N₅O₉Na [M + Na]⁺: 616.2019; gefunden 616.2021.

4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-cyanobenzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)-benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (124)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **181** (12.2 mg, 15.7 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 3.5 h umgesetzt. Produkt **124** (11.3 mg, 15.6 μ mol, quant.) wurde als beigefarbener Feststoff erhalten.

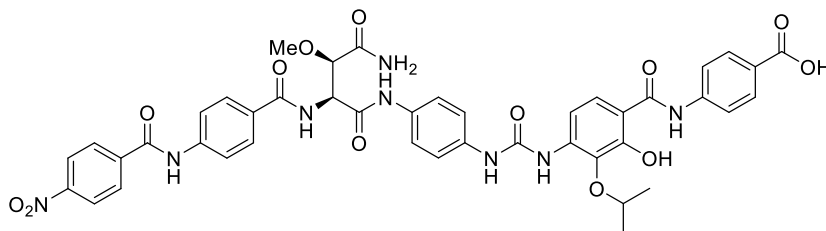
$[\alpha]_D^{23} = +7.2^\circ$ (*c* 1.1, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.8$ (1H, br. s, CO₂H), 12.3 (1H, br. s, OH), 10.6 (1H, br. s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 9.40 (1H, s, NH), 8.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, CHNH), 8.04 – 8.01 (4H, m, ArH), 7.98 – 7.95 (4H, m, ArH), 7.90 – 7.82 (5H, m, ArH), 7.70 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, ArH), 7.49 (2H, d, $J = 15.8$ Hz, CONH₂), 4.94 (1H, t, $J = 8.2$ Hz, CHNH), 4.54 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.07 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.26 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 170.8$ (q, CONH₂), 168.5 (CONH), 168.3 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 164.9 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 154.1 (q, C-Ar), 142.2 (q, C-Ar), 142.0 (q, C-Ar), 137.7 (q, C-Ar), 137.0 (q, C-Ar), 136.3 (q, C-Ar), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.4 (2C, t, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar), 120.7 (2C, t, C-Ar), 120.6 (q, C-Ar), 119.0 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, C-Ar), 114.0 (q, CN), 112.4 (q, C-Ar), 112.2 (t, C-Ar), 80.0 (t, CHOMe), 74.9 (t, CH(CH₃)₂), 57.9 (p, OCH₃), 55.8 (t, CHNH), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₇H₃₄N₆O₁₀Na [M + Na]⁺: 745.2234; gefunden 745.2236.

4-(4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxobutan-amido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (97)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **115** (9.0 mg, 9.64 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 6 h umgesetzt. Produkt **97** (5.8 mg, 6.62 μ mol, 69%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

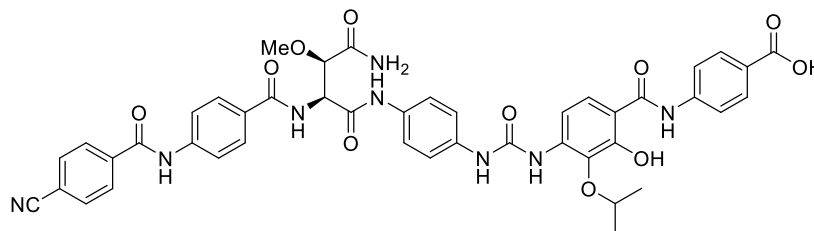
$[\alpha]_D^{24} = +38.7^\circ$ (*c* 0.6, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 + 2 μ L DCO $_2$ D, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 10.8$ (1H, s, NH), 10.6 (1H, br. s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 9.61 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.40 – 8.37 (3H, m, ArH, NHCH), 8.33 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.20 (2H, m, ArH), 7.96 (2H, m, ArH), 7.92 – 7.84 (5H, m, ArH), 7.84 (2H, m, ArH), 7.80 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, ArH), 7.60 (2H, m, ArH), 7.49 (2H, d, $J = 46.1$ Hz, CONH $_2$), 7.42 (2H, m, ArH), 4.89 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, CHNH), 4.63 (1H, hept, $J = 6.0$ Hz, CHMe $_2$), 4.07 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, CHOMe), 3.30 (3H, s, OCH $_3$), 1.30 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, CH(CH $_3$) $_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 + 2 μ L DCO $_2$ D, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH $_2$), 169.0 (q, CONH), 167.6 (q, CONH), 167.0 (q, CO $_2$ H), 165.4 (q, CONH), 164.3 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 152.0 (q, NHCONH), 149.3 (q, C-Ar), 142.1 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.4 (q, C-Ar), 139.1 (q, C-Ar), 135.0 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 132.9 (q, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 129.4 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.2 (q, C-Ar), 123.6 (2C, t, C-Ar), 123.1 (t, C-Ar), 120.8 (2C, t, C-Ar), 120.2 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.7 (2C, t, C-Ar), 109.3 (q, C-Ar), 108.2 (t, C-Ar), 80.2 (t, CHOMe), 74.2 (t, CH(CH $_3$) $_2$), 57.7 (p, OCH $_3$), 55.6 (t, CHNH), 22.0 (2C, p, CH(CH $_3$) $_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C $_{43}$ H $_{40}$ N $_8$ O $_{13}$ Na [M + Na] $^+$: 899.2613; gefunden 899.2613.

4-(4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(4-cyanobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxo-butanamido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (98)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **116** (14.0 mg, 15.3 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 30 min umgesetzt. Produkt **98** (13.0 mg, 15.2 μ mol, 99%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

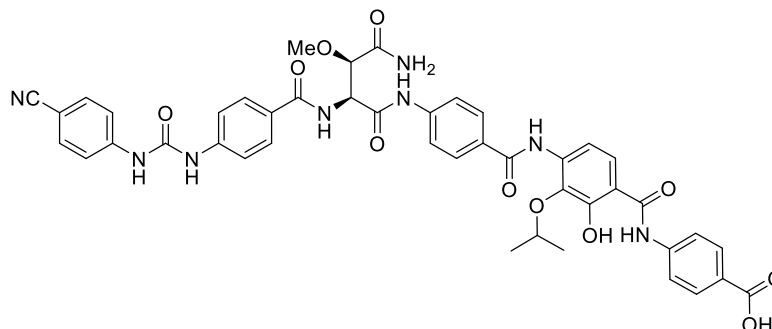
$[\alpha]_D^{23} = +37.2^\circ$ (*c* 0.3, DMSO).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆+2 μ L DCO₂D, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.5 (1H, s, OH), 10.7 (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 10.1 (1H, s, NH), 9.61 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.38 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 8.34 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.13 (2H, m, ArH), 8.04 (2H, m, ArH), 7.96 (2H, m, ArH), 7.91 – 7.83 (7H, m, ArH), 7.81 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, ArH), 7.60 (2H, m, ArH), 7.52 – 7.41 (4H, m, ArH, CONH₂), 4.88 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.62 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.06 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.30 (3H, s, OCH₃), 1.30 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆+2 μ L DCO₂D, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.1 (q, CONH₂), 169.0 (q, CONH), 167.6 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 165.3 (q, CONH), 164.5 (q, CONH), 154.3 (q, C-Ar), 151.9 (q, NHCONH), 142.0 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 139.1 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.9 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 129.0 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.1 (q, C-Ar), 123.0 (t, C-Ar), 120.8 (2C, t, C-Ar), 120.6 (q, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.7 (2C, t, C-Ar), 118.3 (q, CN), 114.1 (q, C-Ar), 109.2 (q, C-Ar), 108.2 (t, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 74.3 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.5 (t, CHNH), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₄H₄₀N₈O₁₁Na [M + Na]⁺: 879.2714; gefunden 879.2714.

4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)ureido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)benzamido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (99)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **171** (29.8 mg, 32.6 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 5.5 h umgesetzt. Produkt **99** (22.5 mg, 26.3 μ mol, 81%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

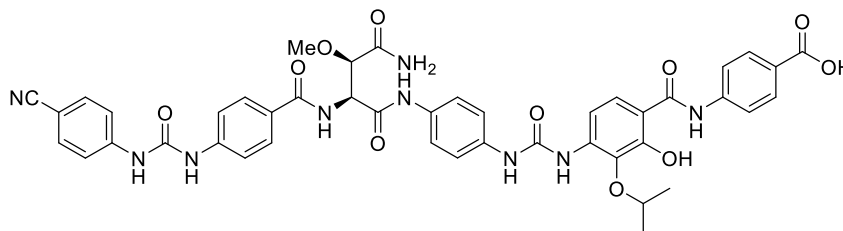
$[\alpha]_D^{22} = +23.1^\circ$ (*c* 1.1, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.3$ (1H, br. s, OH), 10.6 (1H, br. s, NH), 10.6 (1H, s, NH), 9.40 (1H, s, NH), 9.38 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 9.26 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.37 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 7.98 – 7.95 (4H, m, ArH), 7.88 – 7.82 (7H, m, ArH), 7.76 – 7.70 (3H, m, ArH), 7.66 (2H, m, ArH), 7.58 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, *J* = 26.7 Hz, CONH₂), 4.90 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.55 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH₃), 1.27 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 170.9$ (q, CONH₂), 168.8 (q, CONH), 168.5 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 165.5 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 154.1 (q, C-Ar), 151.9 (q, NHCONH), 144.0 (q, C-Ar), 142.4 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 142.0 (q, C-Ar), 137.0 (q, C-Ar), 136.3 (q, C-Ar), 133.3 (2C, t, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 128.5 (2C, t, C-Ar), 128.5 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 127.1 (q, C-Ar), 126.3 (q, C-Ar), 122.8 (t, C-Ar), 120.7 (2C, t, C-Ar), 119.3 (q, CN), 119.0 (2C, t, C-Ar), 118.2 (2C, t, C-Ar), 117.5 (2C, t, C-Ar), 112.4 (t, C-Ar), 112.2 (q, C-Ar), 103.5 (q, C-Ar), 80.0 (t, CHOMe), 74.9 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 22.3 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₄H₄₁N₈O₁₁ [M + H]⁺: 857.2895; gefunden 857.2896.

4-(4-(3-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)ureido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)ureido)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (100)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **172** (9.0 mg, 9.70 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 30 min umgesetzt. Produkt **100** (8.4 mg, 9.70 μ mol, quant.) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

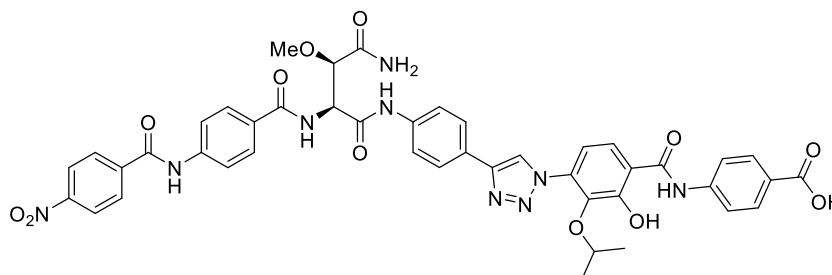
$[\alpha]_D^{23} = +12.7^\circ$ (*c* 1.1, MeOH).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆ + 2 μ L DCO₂D, DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.5$ (1H, br. s, OH), 10.5 (1H, br. s, NH), 10.1 (1H, s, NH), 9.61 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 9.37 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 9.25 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.34 (1H, s, NH_{Harnstoff}), 8.30 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 7.96 (2H, m, ArH), 7.89 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, ArH), 7.85 – 7.80 (5H, m, ArH), 7.74 (2H, m, ArH), 7.65 (2H, m, ArH), 7.60 – 7.55 (4H, m, ArH), 7.52 – 7.41 (4H, m, ArH, CONH₂), 4.86 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.62 (1H, hept, *J* = 6.2 Hz, CHMe₂), 4.06 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.30 (3H, s, OCH₃), 1.30 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆ + 2 μ L DCO₂D, DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.1$ (q, CONH₂), 169.0 (q, CONH), 167.7 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 165.4 (q, CONH), 154.3 (q, C-Ar), 152.0 (q, NHCONH), 151.9 (q, NHCONH), 144.0 (q, C-Ar), 142.3 (q, C-Ar), 142.0 (q, C-Ar), 139.1 (q, C-Ar), 134.9 (q, C-Ar), 133.7 (q, C-Ar), 133.3 (2C, t, C-Ar), 132.8 (q, C-Ar), 130.2 (2C, t, C-Ar), 128.5 (2C, t, C-Ar), 127.3 (q, C-Ar), 126.2 (q, C-Ar), 123.0 (t, C-Ar), 120.8 (2C, t, C-Ar), 120.1 (2C, t, C-Ar), 119.3 (q, CN), 118.7 (2C, t, C-Ar), 118.2 (2C, t, C-Ar), 117.5 (2C, t, C-Ar), 109.2 (q, C-Ar), 108.2 (t, C-Ar), 103.5 (q, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 74.3 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.5 (t, CHNH), 21.9 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₄H₄₂N₉O₁₁ [M + H]⁺: 872.3004; gefunden 872.3004.

4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-3-methoxy-2-(4-(4-nitrobenzamido)benzamido)-4-oxo-butanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoessäure (141)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **173** (8.5 mg, 9.03 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 6 h umgesetzt. Produkt **141** (6.2 mg, 7.00 μ mol, 78%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

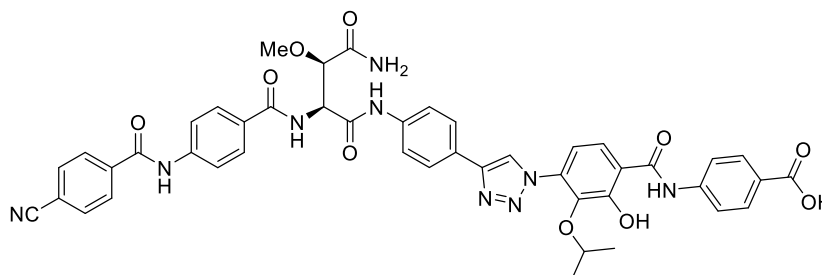
$[\alpha]_D^{24} = +37.1^\circ$ (*c* 0.1, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.9$ (1H, br. s, CO_2H), 12.2 (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, br. s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.44 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.39 (2H, m, ArH), 8.21 (2H, m, ArH), 8.00 – 7.87 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 39.2$ Hz, CONH_2), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.24 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.9 (q, CO_2H), 165.4 (q, CONH), 164.2 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 149.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 141.9 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 140.3 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 130.7 (2C, t, C-Ar), 130.3 (q, C-Ar), 129.4 (2C, t, C-Ar), 128.7 (2C, t, C-Ar), 128.3 (q, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (t, C-Ar), 123.6 (2C, t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 114.8 (t, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 75.7 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.7 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{40}\text{N}_9\text{O}_{12}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 886.2796; gefunden 886.2798.

4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(4-cyanobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxo-butanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoessäure (142)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **174** (10.1 mg, 11.0 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 3 h umgesetzt. Produkt **142** (7.4 mg, 8.55 μ mol, 78%) wurde als beigefarbener Feststoff erhalten.

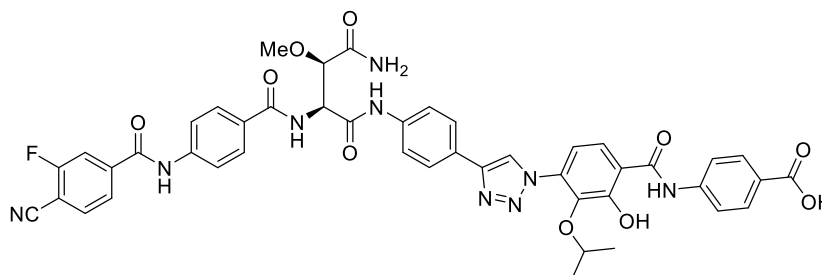
$[\alpha]_D^{25} = +55.9^\circ$ (*c* 0.2, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.8$ (1H, br. s, CO_2H), 12.2 (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, br. s, NH), 10.7 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.43 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.13 (2H, m, ArH), 8.05 (2H, m, ArH), 7.99 – 7.87 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 45.0$ Hz, CONH_2), 7.34 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.26 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.4 (q, CONH), 166.8 (q, CO_2H), 165.4 (q, CONH), 164.5 (q, CONH), 154.7 (q, C-Ar), 146.2 (q, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 141.9 (q, C-Ar), 141.7 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.8 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.3 (q, C-Ar), 132.5 (2C, t, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.0 (q, C-Ar), 128.6 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.4 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 118.3 (q, CN), 114.6 (q, C-Ar), 114.0 (t, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 75.6 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.6 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{45}\text{H}_{40}\text{N}_9\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 866.2898; gefunden 866.2897.

4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(4-cyano-3-fluorobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoessäure (143)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **175** (22.4 mg, 23.8 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 2 h umgesetzt. Produkt **143** (21.0 mg, 23.8 μ mol, quant.) wurde als beigefarbener Feststoff erhalten.

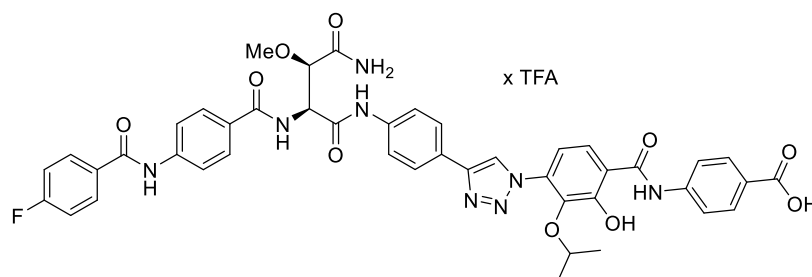
$[\alpha]_D^{24} = +39.5^\circ$ (*c* 1.3, DMSO).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 2.50 ppm): δ = 12.8 (1H, br. s, CO₂H), 12.2 (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.45 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, NHCH), 8.16 – 8.13 (1H, m, ArH), 8.09 – 8.07 (1H, m, ArH), 8.00 – 7.96 (4H, m, ArH), 7.93 – 7.87 (8H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.51 (2H, d, *J* = 47.9 Hz, CONH₂), 7.37 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, ArH), 4.92 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, CHNH), 4.25 (1H, hept, *J* = 6.1 Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.03 (6H, d, *J* = 6.1 Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, DMSO = 39.52 ppm): δ = 171.0 (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 165.4 (q, CONH), 163.2 (q, CONH), 162.2 (d, *J* = 256.3 Hz, C-F), 154.5 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 141.9 (q, C-Ar), 141.5 (d, *J* = 6.1 Hz, CCONH), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (d, *J* = 7.0 Hz, CHCCN), 130.7 (q, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.8 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 124.7 (d, *J* = 3.4 Hz, CHCHCCONH), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, CN), 115.8 (d, *J* = 21.3 Hz, CHCF), 114.8 (t, C-Ar), 113.6 (q, C-Ar), 102.9 (d, *J* = 15.3 Hz, CCN), 80.1 (t, CHOMe), 75.7 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₅H₃₉N₉O₁₀F [M + H]⁺: 884.2804; gefunden 884.2808.

4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(4-fluorobenzamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxo-butanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoessäure (144)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **176** (20.1 mg, 22.0 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 3.5 h umgesetzt. Produkt **144** (19.1 mg, 19.6 μ mol, 89%) wurde als orangefarbener Feststoff erhalten.

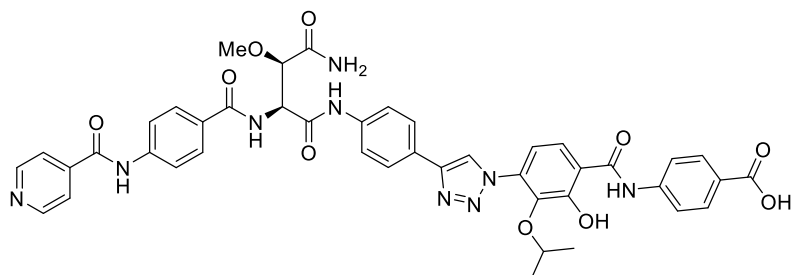
$[\alpha]_D^{24} = +27.6^\circ$ (*c* 0.9, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, s, NH), 10.5 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.41 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.07 – 8.05 (2H, m, ArH), 8.00 – 7.87 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 47.2$ Hz, CONH₂), 7.40 – 7.36 (3H, m, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.25 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.03 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 165.0 (q, CONH), 164.7 (q, CONH), 164.4 (d, $J = 311.0$ Hz, C-F), 158.2 (TFA), 154.5 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.1 (q, C-Ar), 141.9 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 131.1 (d, $J = 2.8$ Hz, C-Ar), 130.5 (2C, d, $J = 9.1$ Hz, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.8 (TFA), 128.6 (q, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.5 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 115.4 (2C, d, $J = 21.8$ Hz, C-Ar), 114.8 (t, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 75.7 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.6 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für C₄₄H₄₀N₈O₁₀F [M + H]⁺: 859.2851; gefunden 859.2851.

4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(isonicotinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxo-butanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)-benzoesäure (145)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **177** (16.5 mg, 18.4 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 4 h umgesetzt. Produkt **145** (13.7 mg, 16.3 μ mol, 89%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

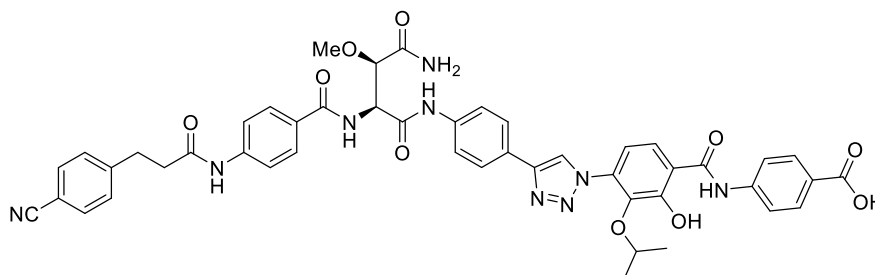
$[\alpha]_D^{24} = +22.6^\circ$ (*c* 1.4, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.2$ (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 8.93 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.85 (2H, m, ArH), 8.44 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, NHCH), 8.13 – 7.87 (13H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 31.9$ Hz, CONH₂), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, CHNH), 4.25 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.03 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.9 (q, CO₂H), 165.4 (q, CONH), 164.1 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 149.8 (2C, t, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 141.9 (q, C-Ar), 141.5 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.9 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 122.0 (2C, t, C-Ar), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.7 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 114.8 (t, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 75.7 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.7 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₃H₄₀N₉O₁₀ [M + H]⁺: 842.2898; gefunden 842.2903.

4-(4-(4-(4-((2S,3R)-4-Amino-2-(4-(3-(4-cyanophenyl)propanamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (146)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **178** (19.8 mg, 20.9 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 4.5 h umgesetzt. Produkt **146** (18.6 mg, 20.9 μ mol, quant.) wurde als grauer Feststoff erhalten.

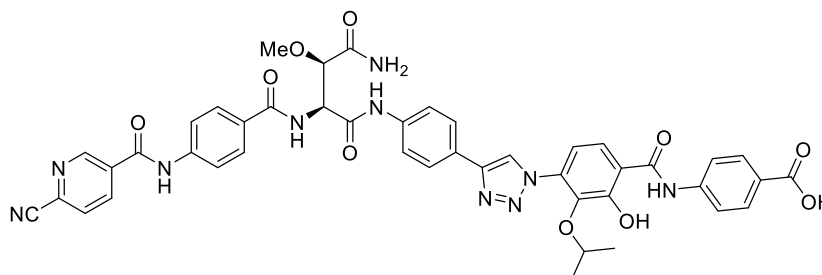
$[\alpha]_D^{24} = +20.8^\circ$ (*c* 1.9, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.8$ (1H, br. s, CO_2H), 12.2 (1H, br. s, OH), 10.8 (1H, s, NH), 10.3 (1H, s, NH), 10.2 (1H, s, NH), 8.92 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.35 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.00 – 7.95 (3H, m, ArH), 7.93 – 7.87 (4H, m, ArH), 7.82 – 7.75 (6H, m, ArH), 7.67 (2H, m, ArH), 7.53 – 7.45 (4H, m, ArH , CONH_2), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.90 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.25 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe_2), 4.07 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.31 (3H, s, OCH_3), 3.01 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, ArCH_2CH_2), 2.71 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, ArCH_2CH_2), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 170.4 (q, CONH), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.8 (q, CO_2H), 165.4 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 147.3 (q, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 142.1 (q, C-Ar), 141.9 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 132.2 (2C, t, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.5 (2C, t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 128.0 (q, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.0 (q, C-Ar), 118.4 (q, CN), 118.2 (2C, t, C-Ar), 114.8 (t, C-Ar), 108.9 (q, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 75.7 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.6 (t, CHNH), 37.1 (s, ArCH_2CH_2), 30.6 (s, ArCH_2CH_2), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{47}\text{H}_{43}\text{N}_9\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 916.3031; gefunden 916.3029.

4-(4-(4-(4-((2S,3R)-4-Amino-2-(4-(6-cyanonicotinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxobutanamido)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (147)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **179** (24.4 mg, 26.5 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 5 h umgesetzt. Produkt **147** (15.6 mg, 18.0 μ mol, 68%) wurde als beigefarbener Feststoff erhalten.

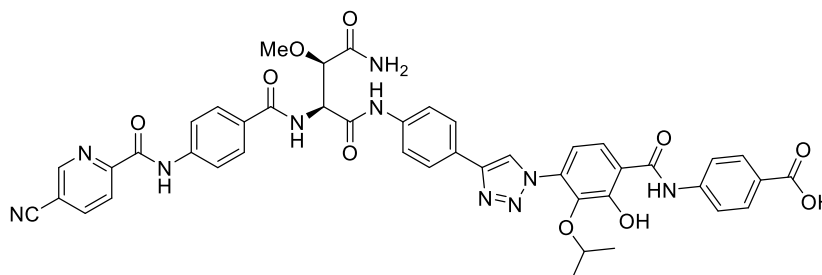
$[\alpha]_D^{22} = +25.1^\circ$ (*c* 1.5, DMSO).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.8$ (1H, br. s, CO_2H), 12.2 (1H, br. s, OH), 10.9 (1H, br. s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.24 – 9.23 (1H, m, ArH), 8.93 (1H, s, $\text{CH}_{\text{Triazol}}$), 8.55 – 8.53 (1H, m, ArH), 8.45 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.26 – 8.25 (1H, m, ArH), 8.00 – 7.87 (11H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 46.3$ Hz, CONH_2), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.92 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.25 (1H, hept, $J = 6.0$ Hz, CHMe_2), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH_3), 1.03 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH_2), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.8 (q, CO_2H), 165.3 (q, CONH), 163.0 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 150.2 (t, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 141.9 (q, C-Ar), 141.5 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 137.3 (t, C-Ar), 134.5 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 133.4 (q, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.2 (q, C-Ar), 128.8 (t, C-Ar), 128.3 (2C, t, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar $_{\text{Triazol}}$), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 119.6 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 117.1 (q, CN), 114.8 (t, C-Ar), 80.0 (t, CHOMe), 75.7 (t, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.7 (p, OCH_3), 55.6 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) ppm.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{39}\text{N}_{10}\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 867.2851; gefunden 867.2858.

4-(4-(4-(4-((2*S*,3*R*)-4-Amino-2-(4-(5-cyanopicolinamido)benzamido)-3-methoxy-4-oxo-butanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxy-3-isopropoxybenzamido)benzoesäure (148)



Die *t*Bu-geschützte Verbindung **180** (21.8 mg, 23.6 μ mol) wurden gemäß **Methode 6** in 6 h umgesetzt. Produkt **148** (8.2 mg, 9.47 μ mol, 40%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

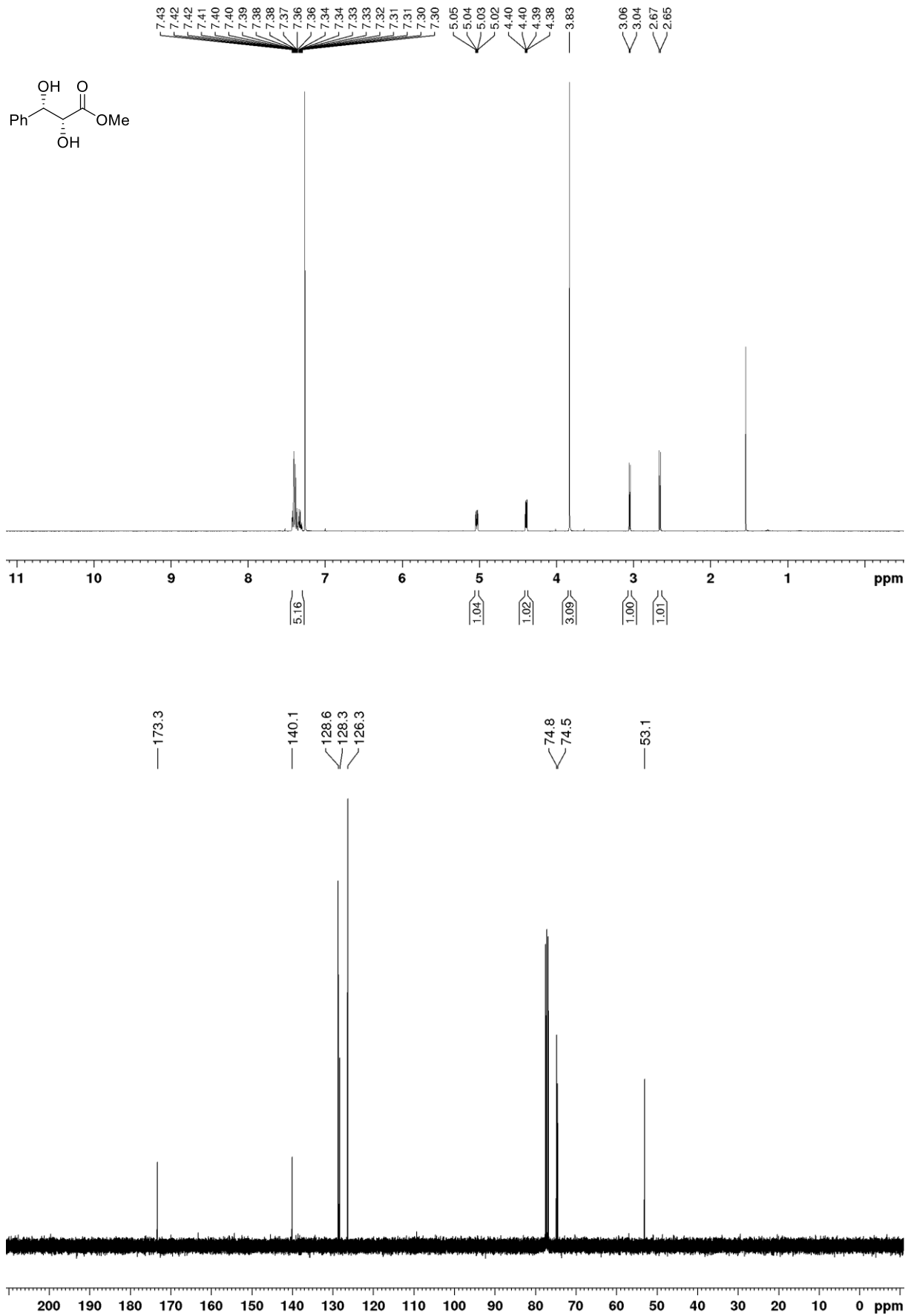
$[\alpha]_D^{24} = +27.2^\circ$ (*c* 0.8, DMSO).

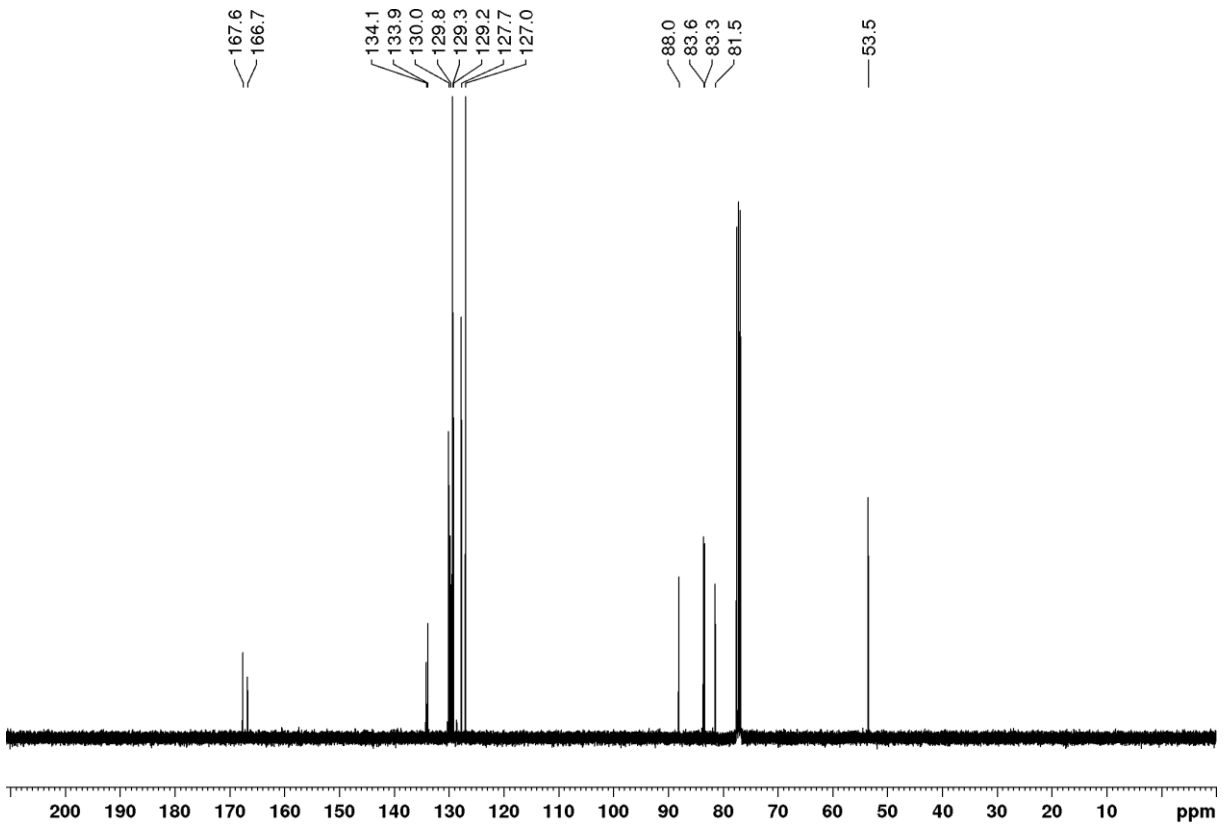
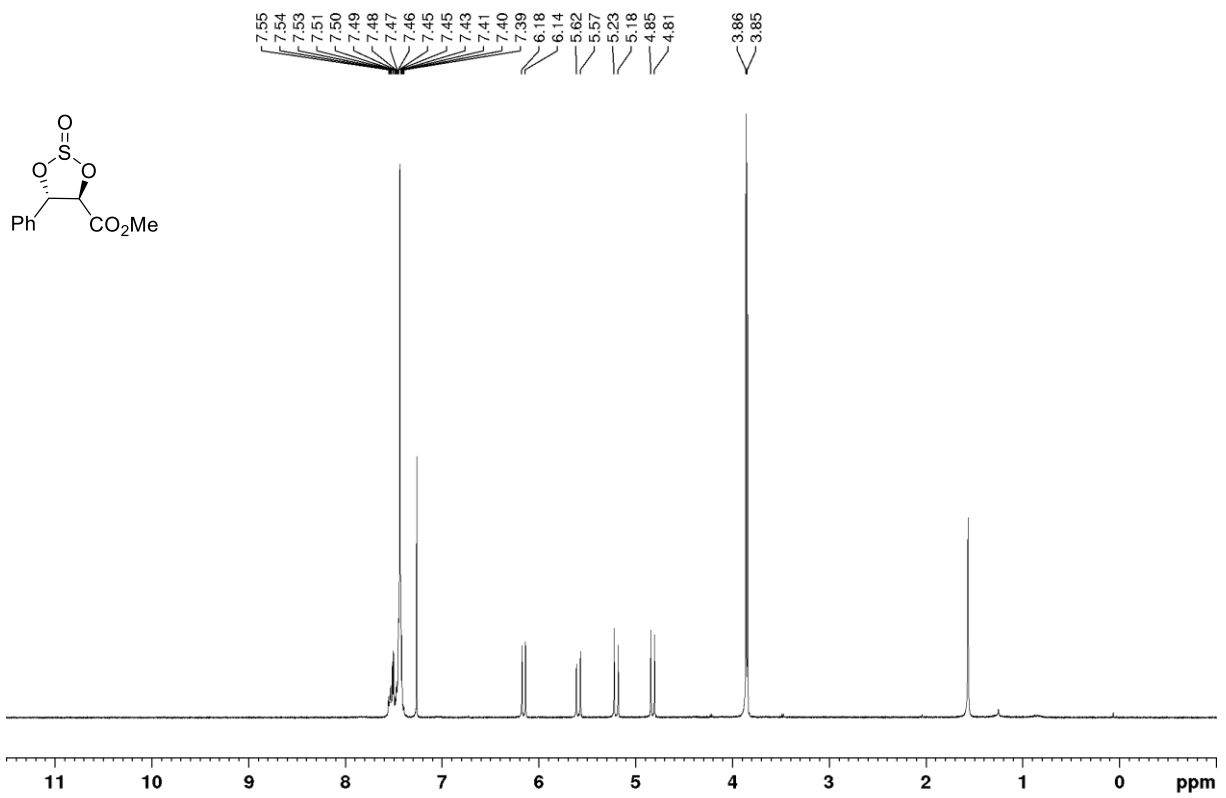
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 2.50 ppm): $\delta = 12.9$ (1H, br. s, CO₂H), 12.2 (1H, br. s, OH), 11.0 (1H, s, NH), 10.8 (1H, s, NH), 10.4 (1H, s, NH), 9.22 (1H, dd, $J = 0.7, 2.0$ Hz, ArH), 8.93 (1H, s, CH_{Triazol}), 8.61 (1H, dd, $J = 2.0, 8.2$ Hz, ArH), 8.43 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, NHCH), 8.31 (1H, dd, $J = 0.7, 8.2$ Hz, ArH), 8.06 (2H, m, ArH), 7.99 – 7.87 (9H, m, ArH), 7.79 (2H, m, ArH), 7.50 (2H, d, $J = 43.0$ Hz, CONH₂), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, ArH), 4.91 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, CHNH), 4.24 (1H, hept, $J = 6.1$ Hz, CHMe₂), 4.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, CHOMe), 3.32 (3H, s, OCH₃), 1.02 (6H, d, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂) ppm.

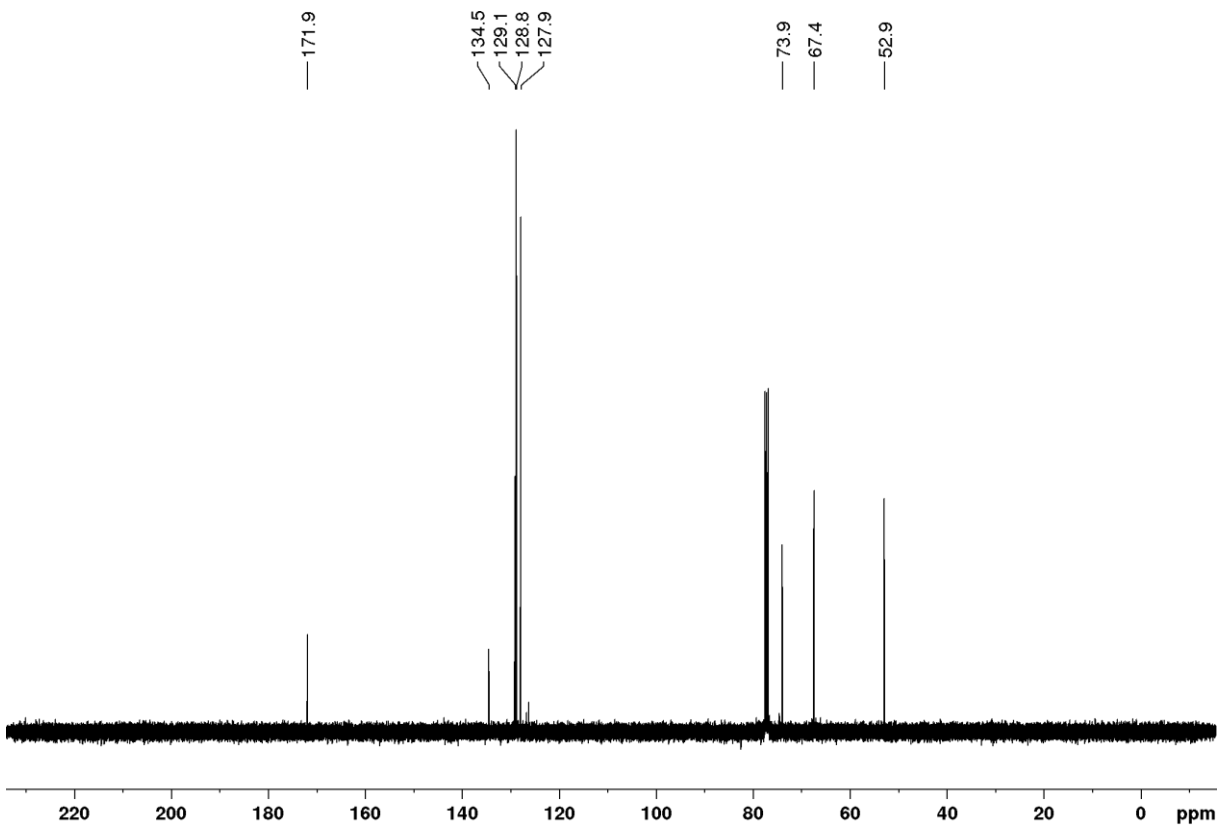
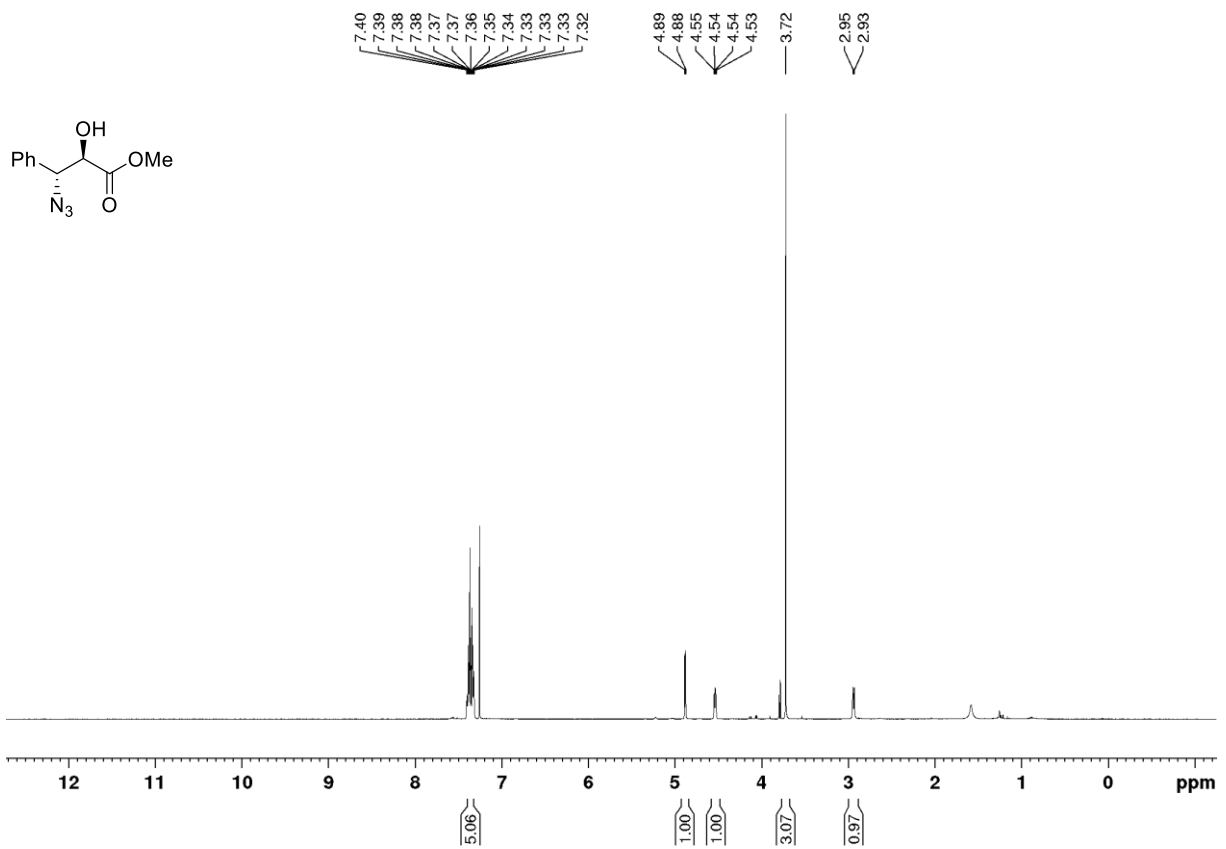
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6 , DMSO = 39.52 ppm): $\delta = 171.0$ (q, CONH₂), 168.2 (q, CONH), 167.5 (q, CONH), 166.8 (q, CO₂H), 165.4 (q, CONH), 161.7 (q, CONH), 154.5 (q, C-Ar), 152.3 (q, C-Ar), 151.5 (t, C-Ar), 146.3 (q, C-Ar_{Triazol}), 142.3 (t, C-Ar), 141.9 (q, C-Ar), 141.0 (q, C-Ar), 138.9 (q, C-Ar), 138.7 (q, C-Ar), 134.4 (q, C-Ar), 130.3 (2C, t, C-Ar), 129.3 (q, C-Ar), 128.2 (2C, t, C-Ar), 126.5 (q, C-Ar), 125.8 (2C, t, C-Ar), 125.4 (q, C-Ar), 123.5 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar), 122.6 (t, C-Ar_{Triazol}), 120.6 (2C, t, C-Ar), 119.9 (2C, t, C-Ar), 119.8 (2C, t, C-Ar), 118.4 (q, C-Ar), 116.7 (q, CN), 114.8 (t, C-Ar), 111.8 (q, C-Ar), 80.1 (t, CHOMe), 75.7 (t, CH(CH₃)₂), 57.7 (p, OCH₃), 55.6 (t, CHNH), 21.8 (2C, p, CH(CH₃)₂) ppm.

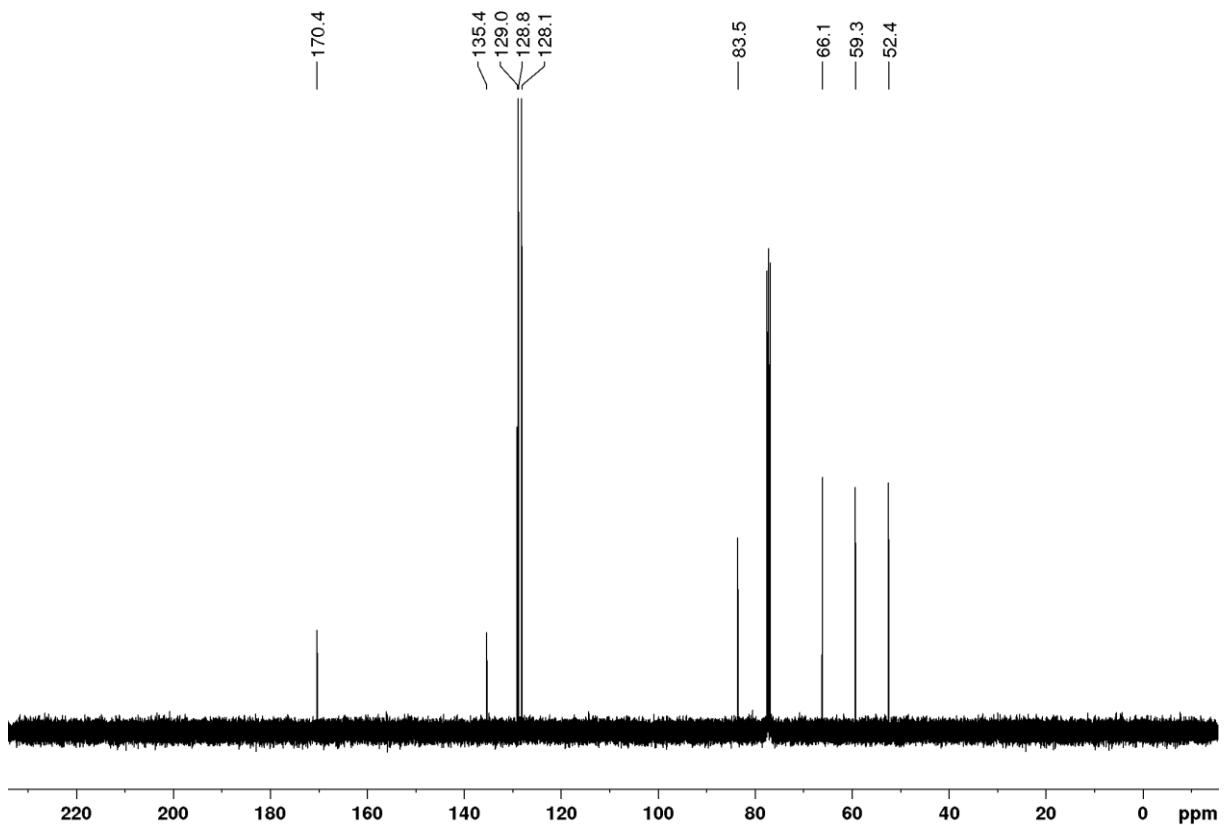
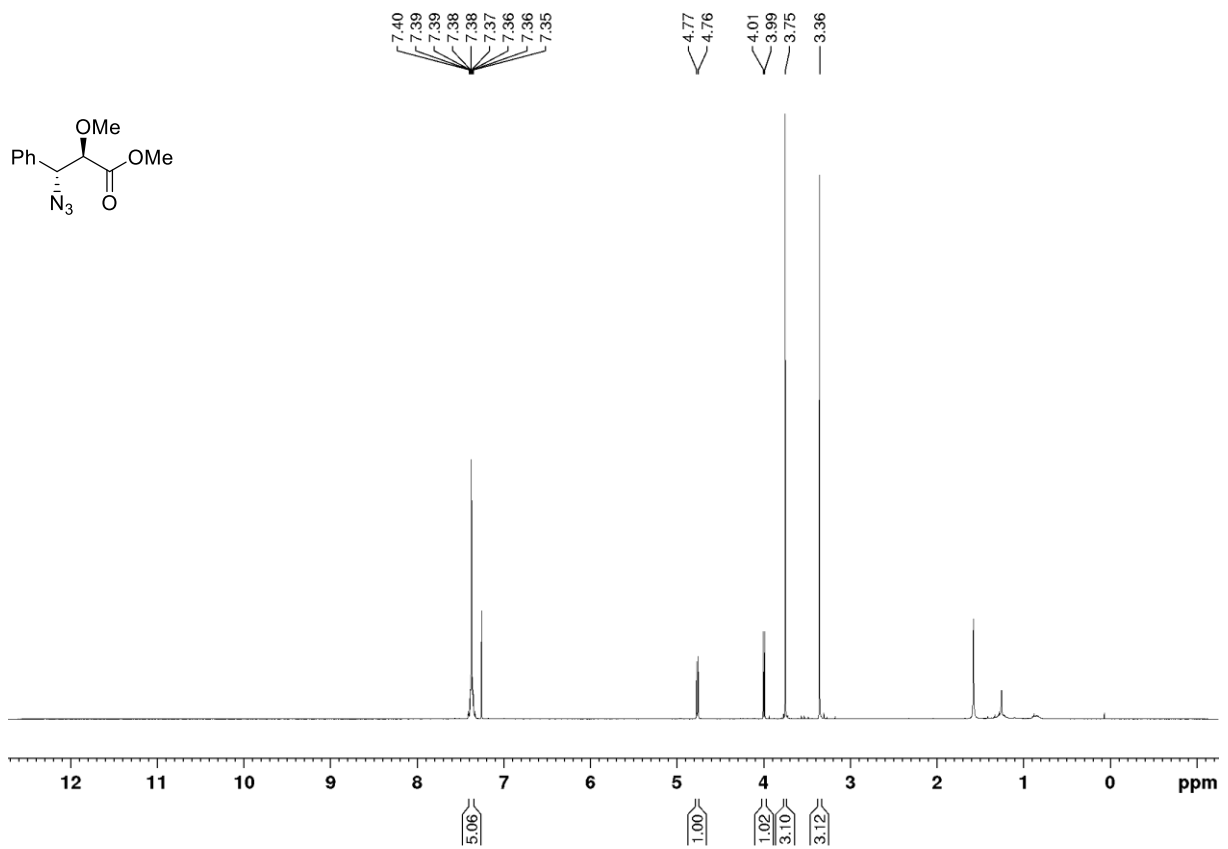
HRMS (ESI): m/z berechnet für C₄₄H₃₉N₁₀O₁₀ [M + H]⁺: 867.2851; gefunden 867.2857.

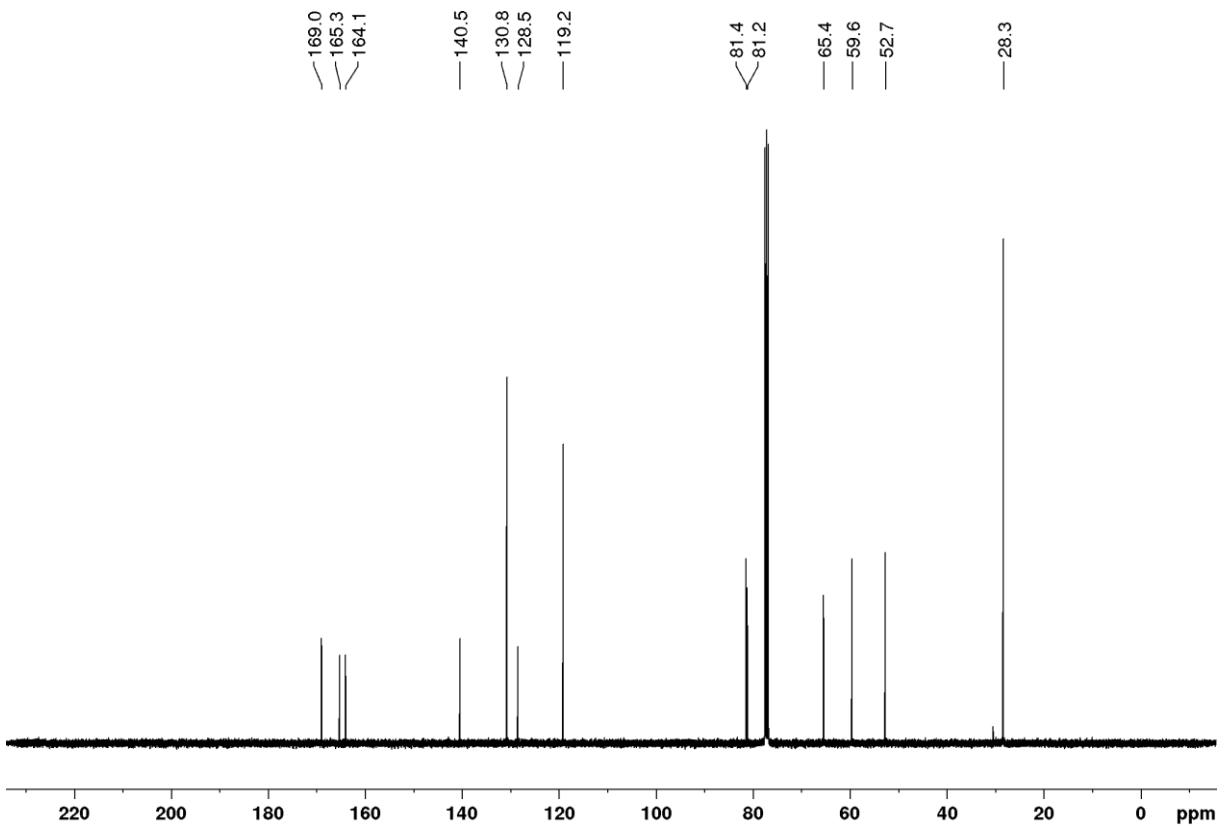
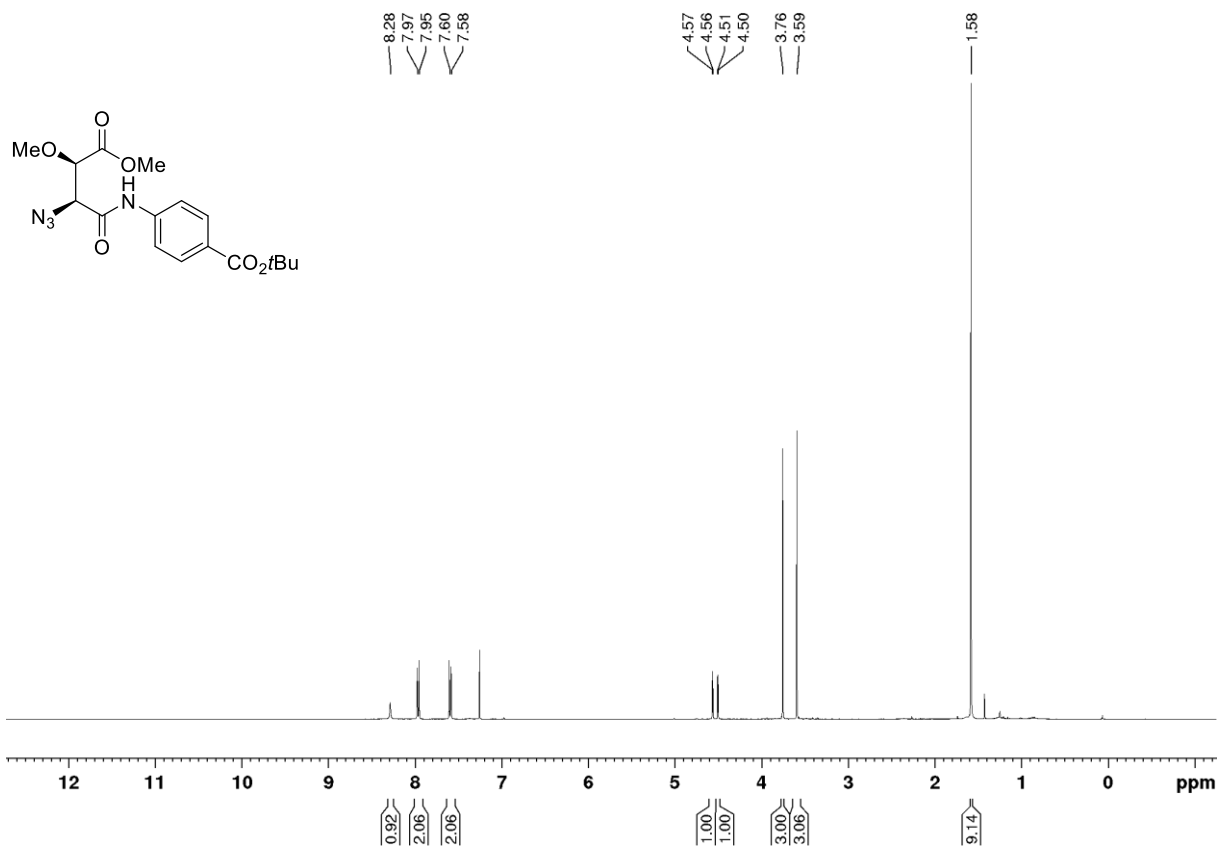
8 Spektrenanhang

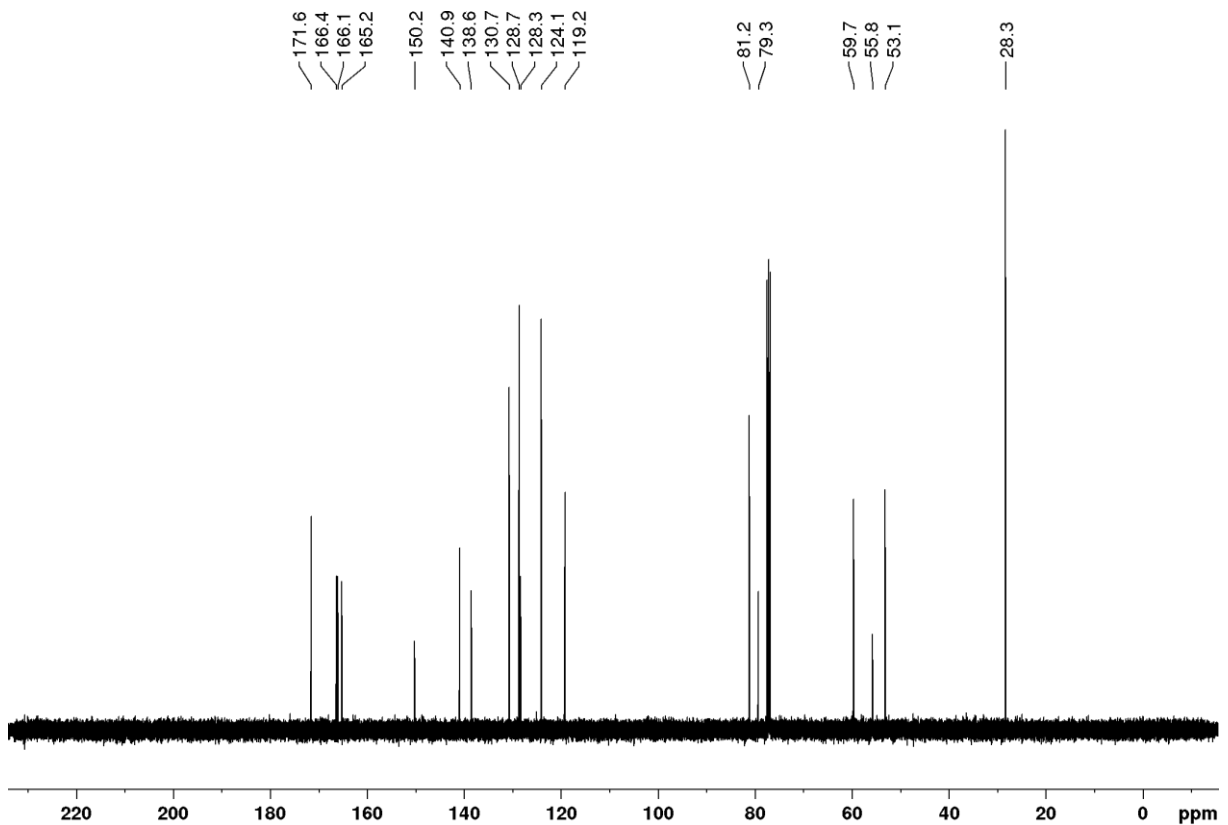
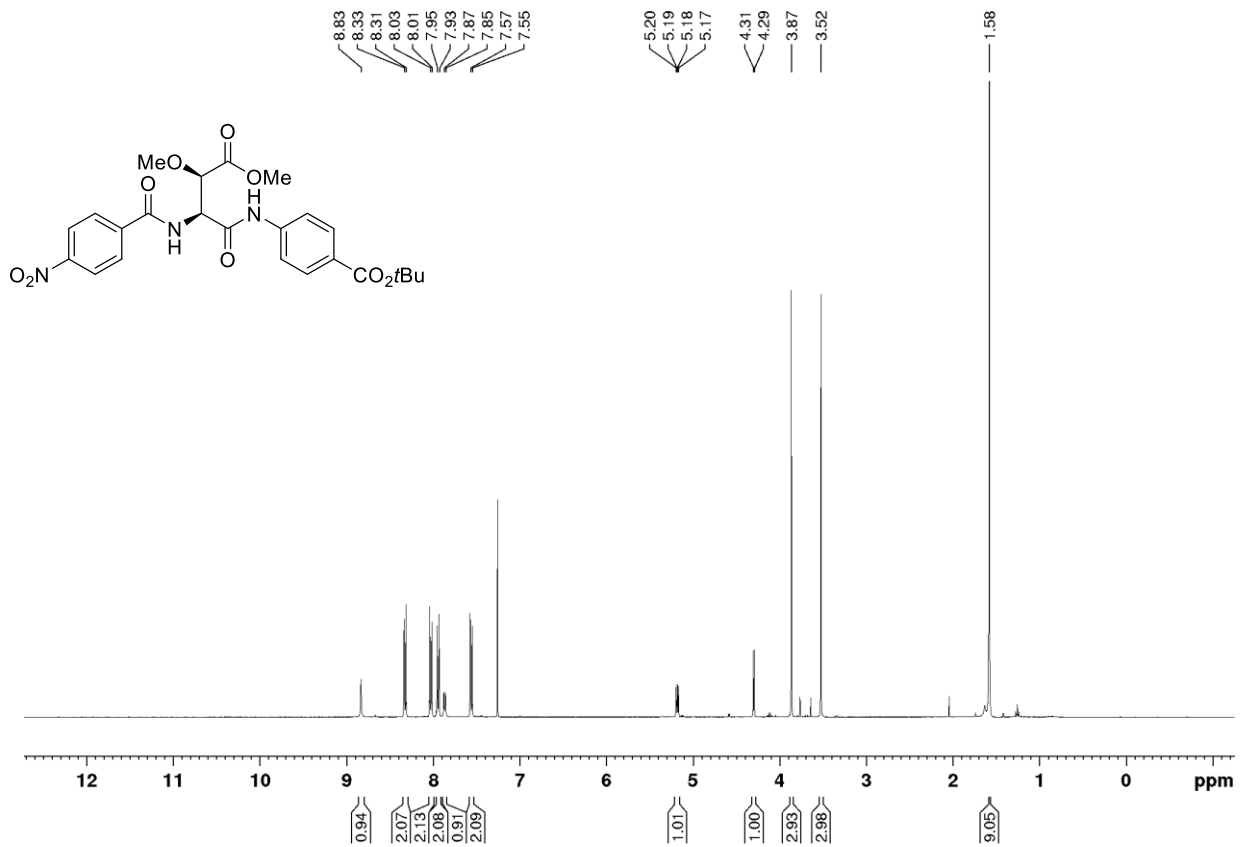


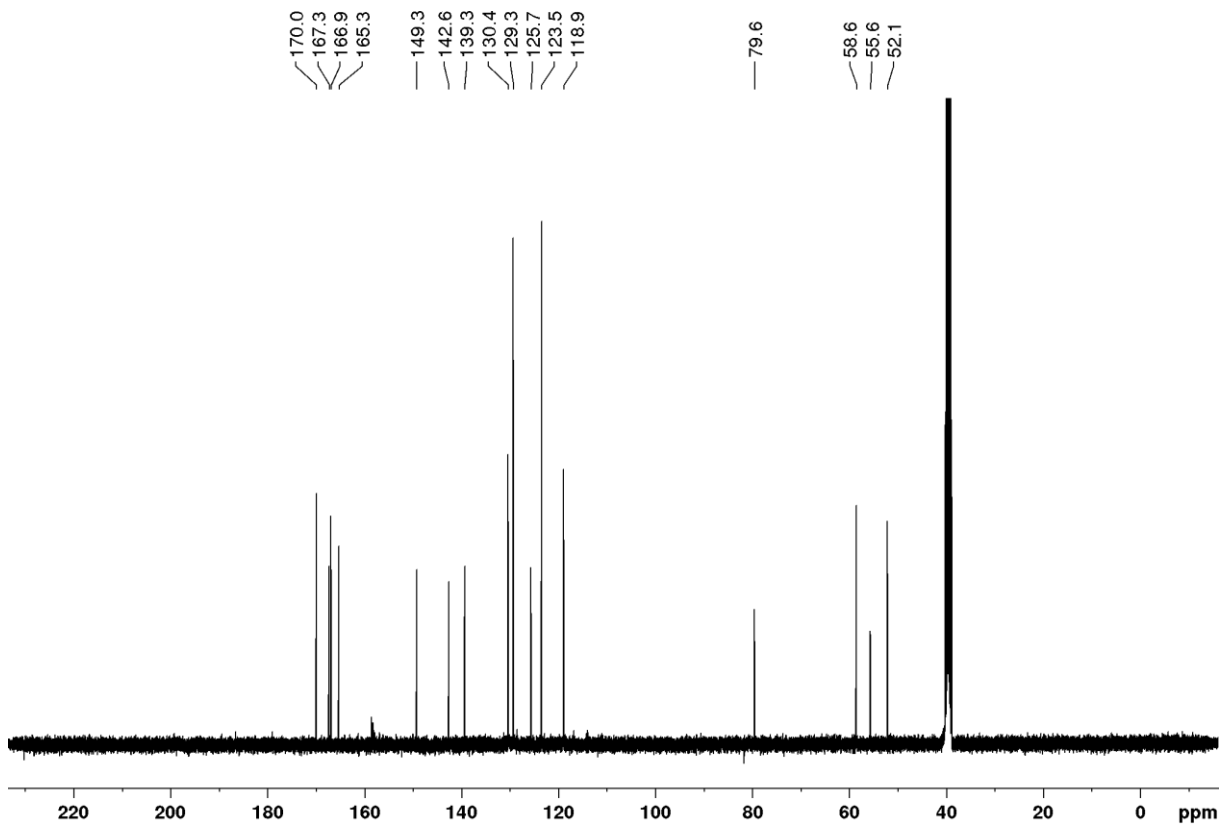
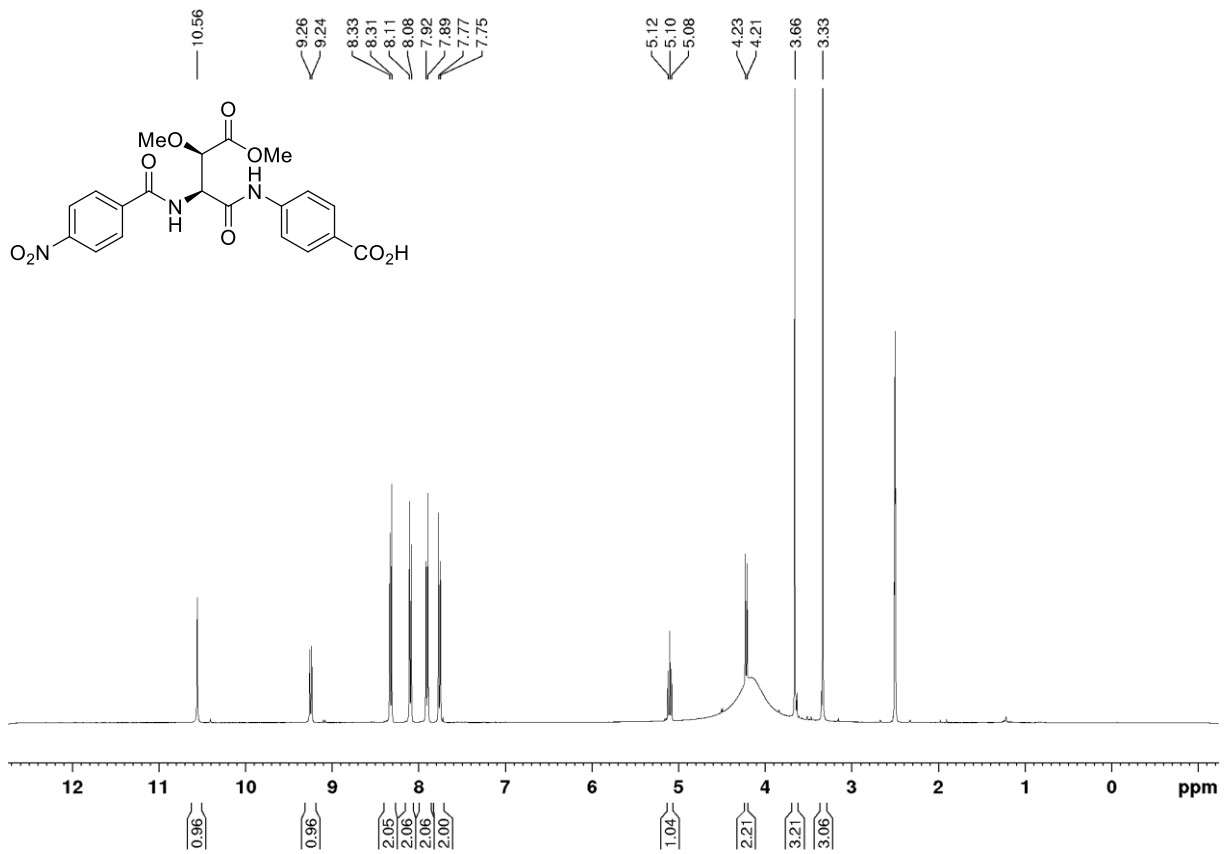


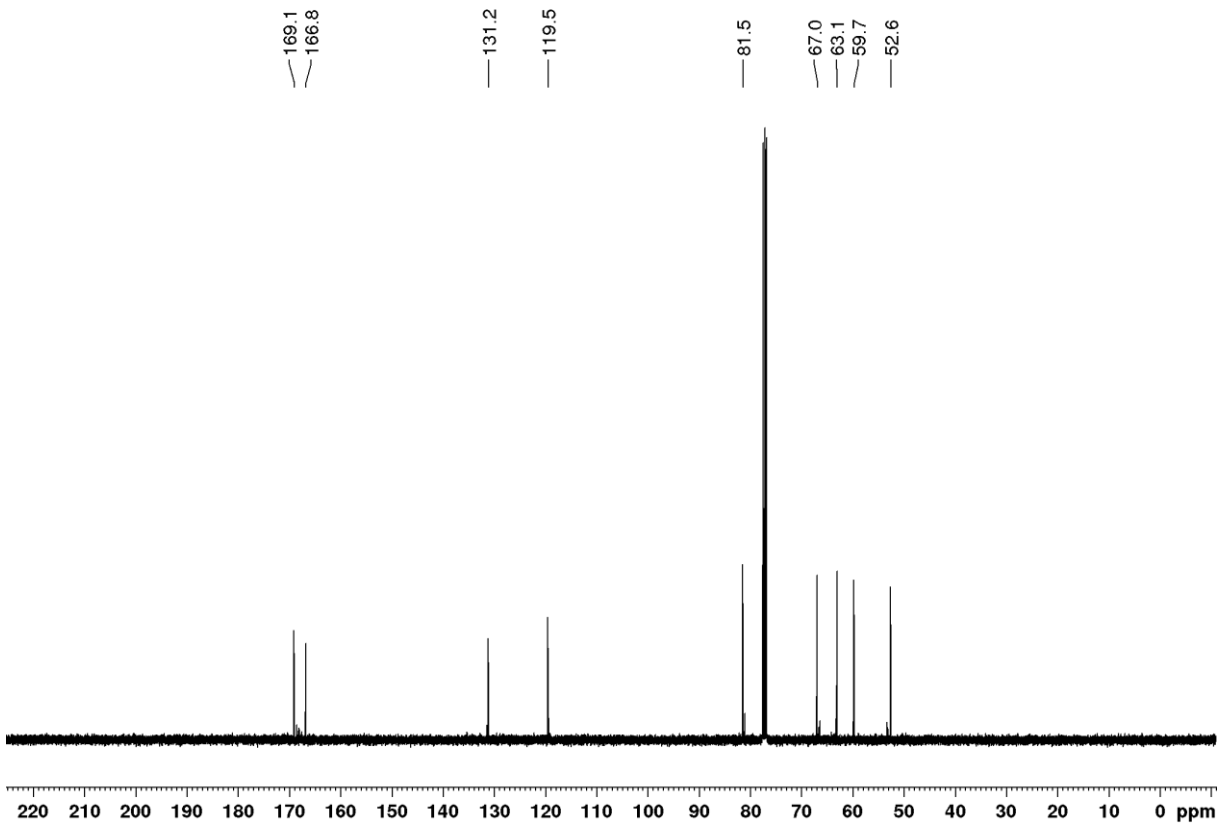
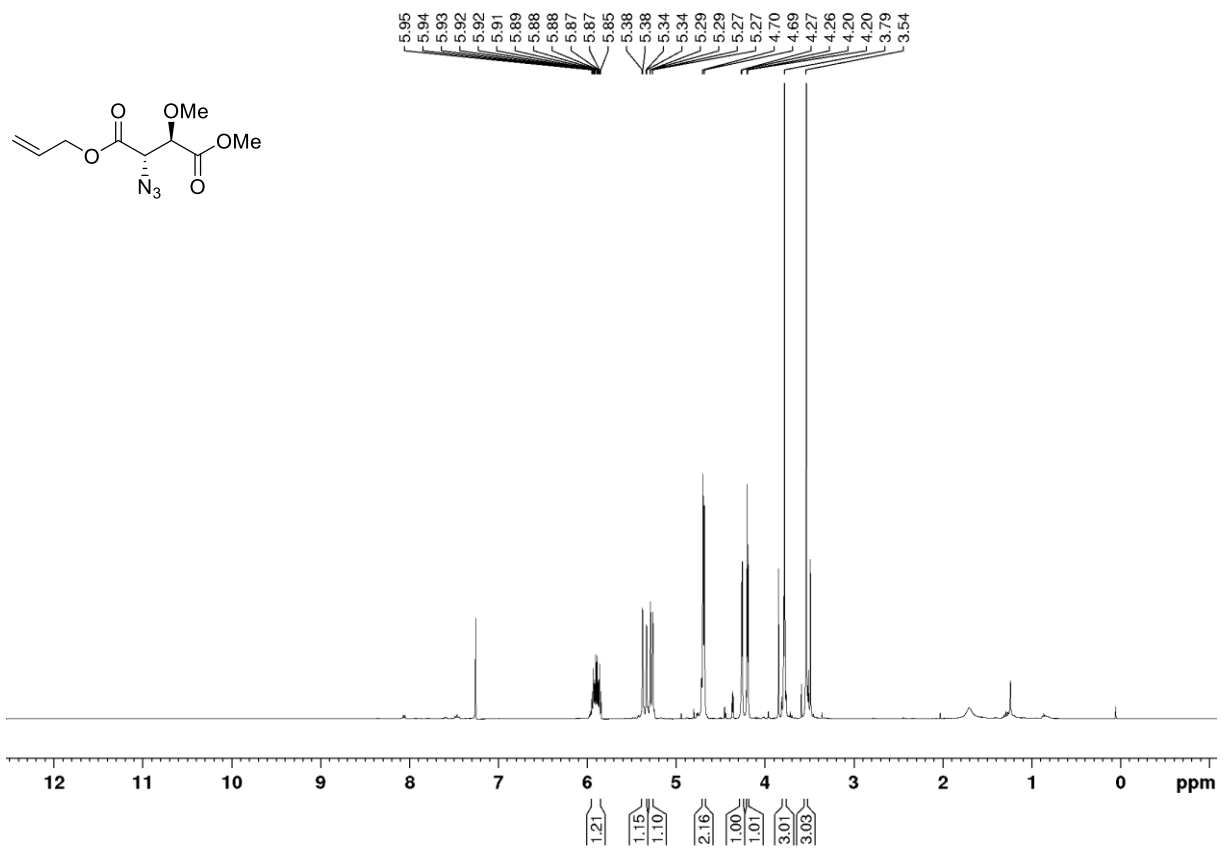


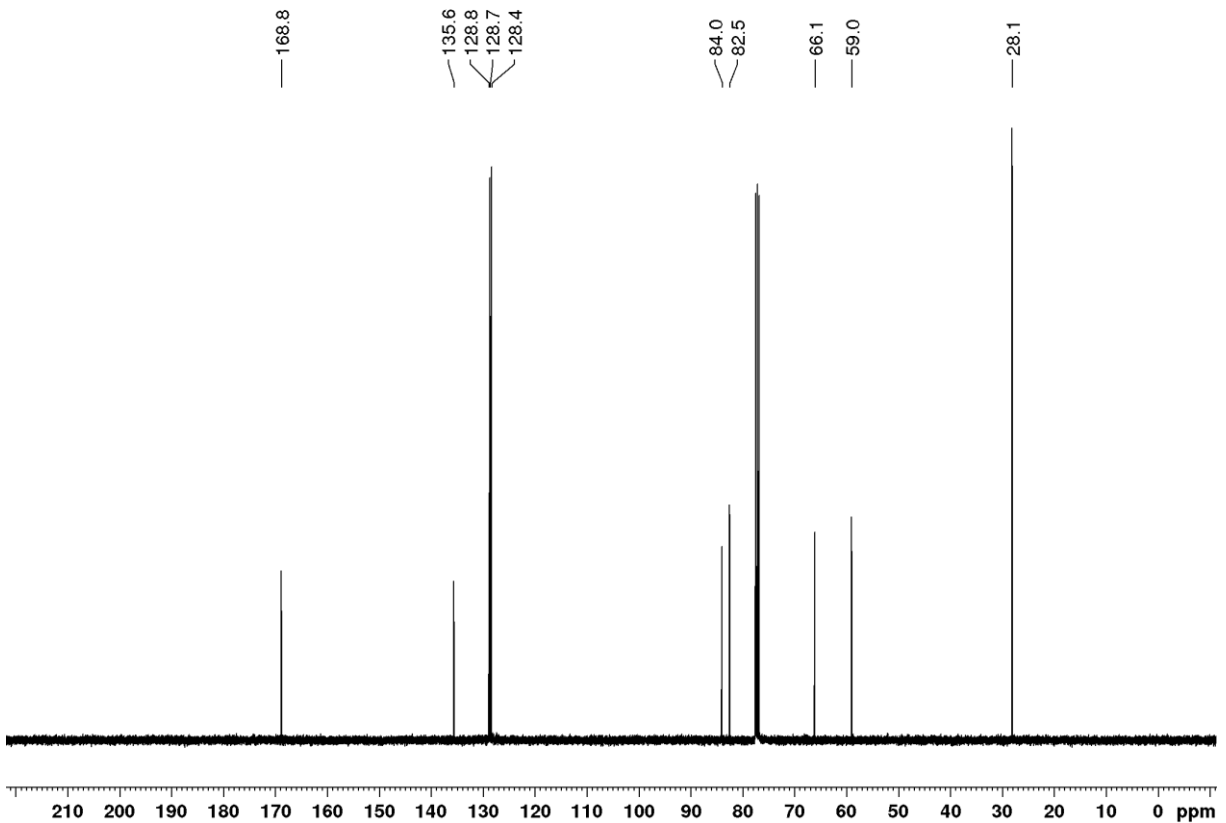
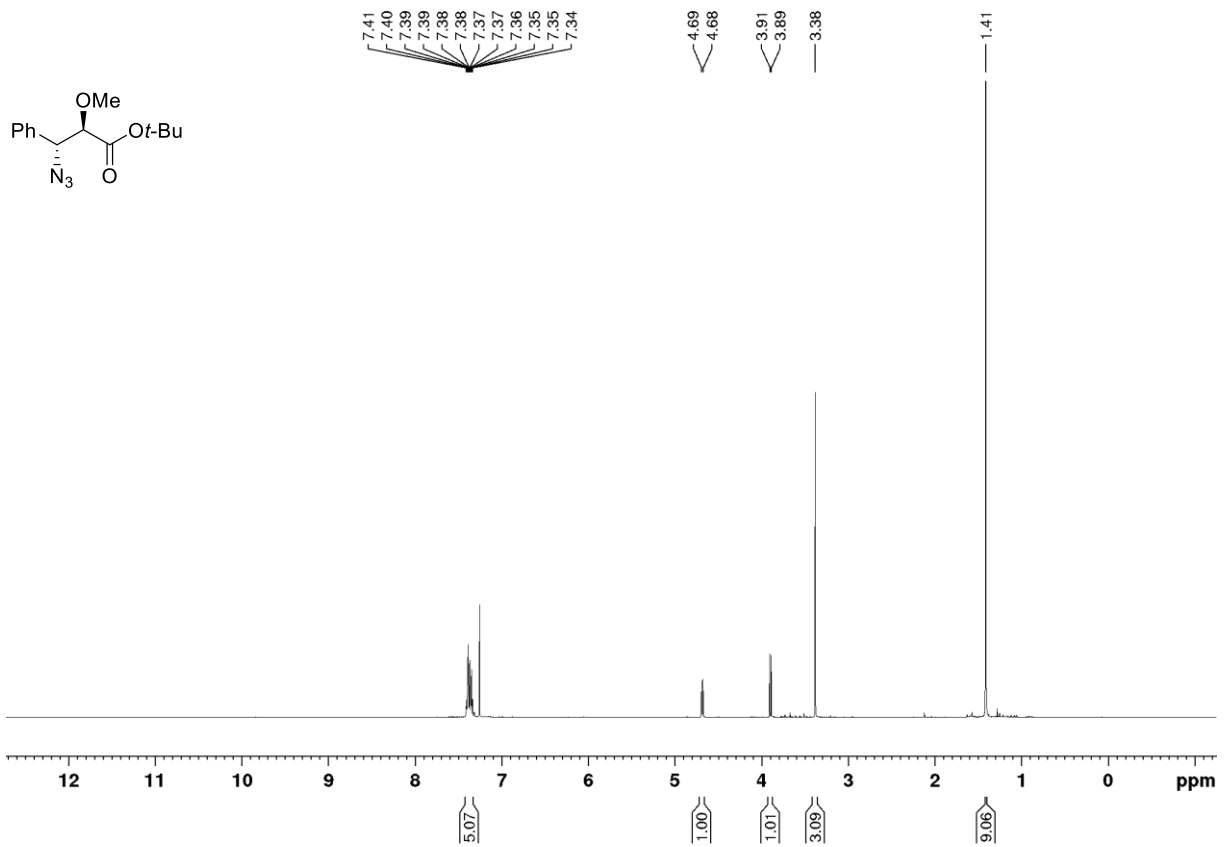


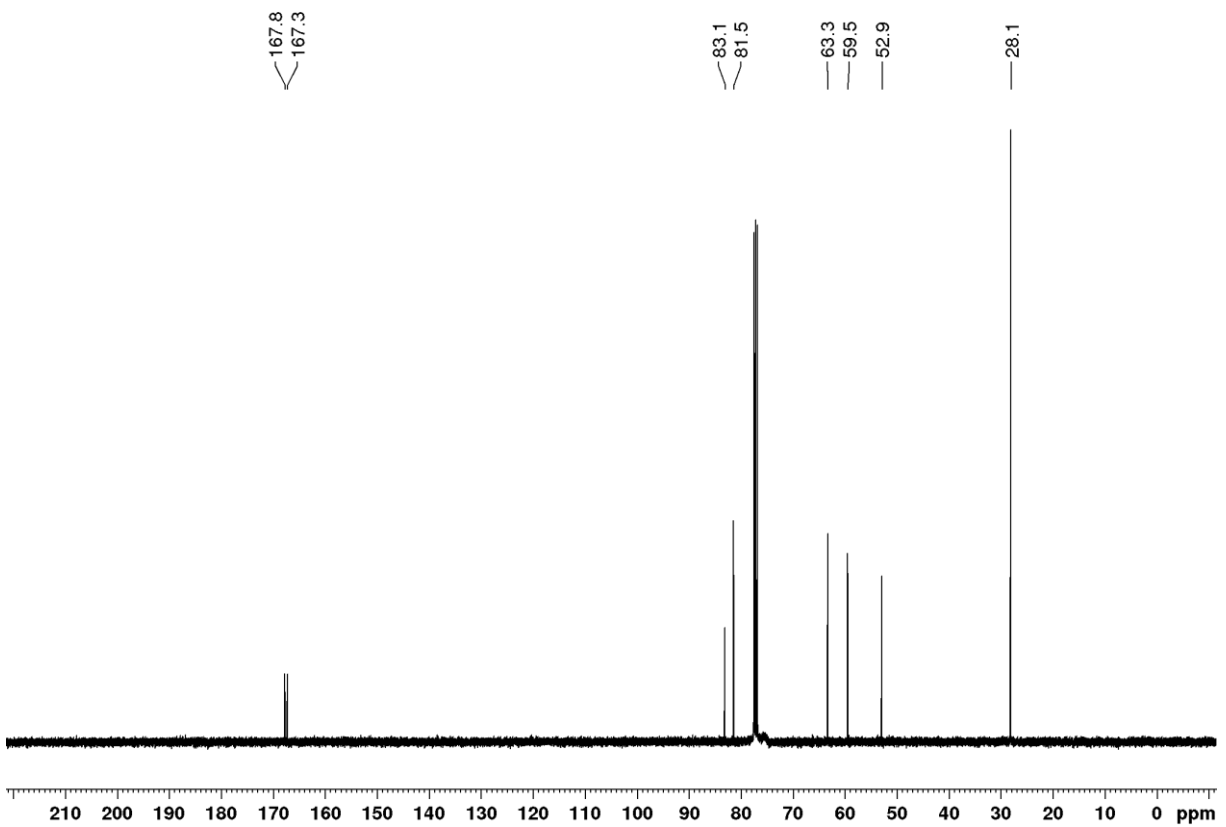
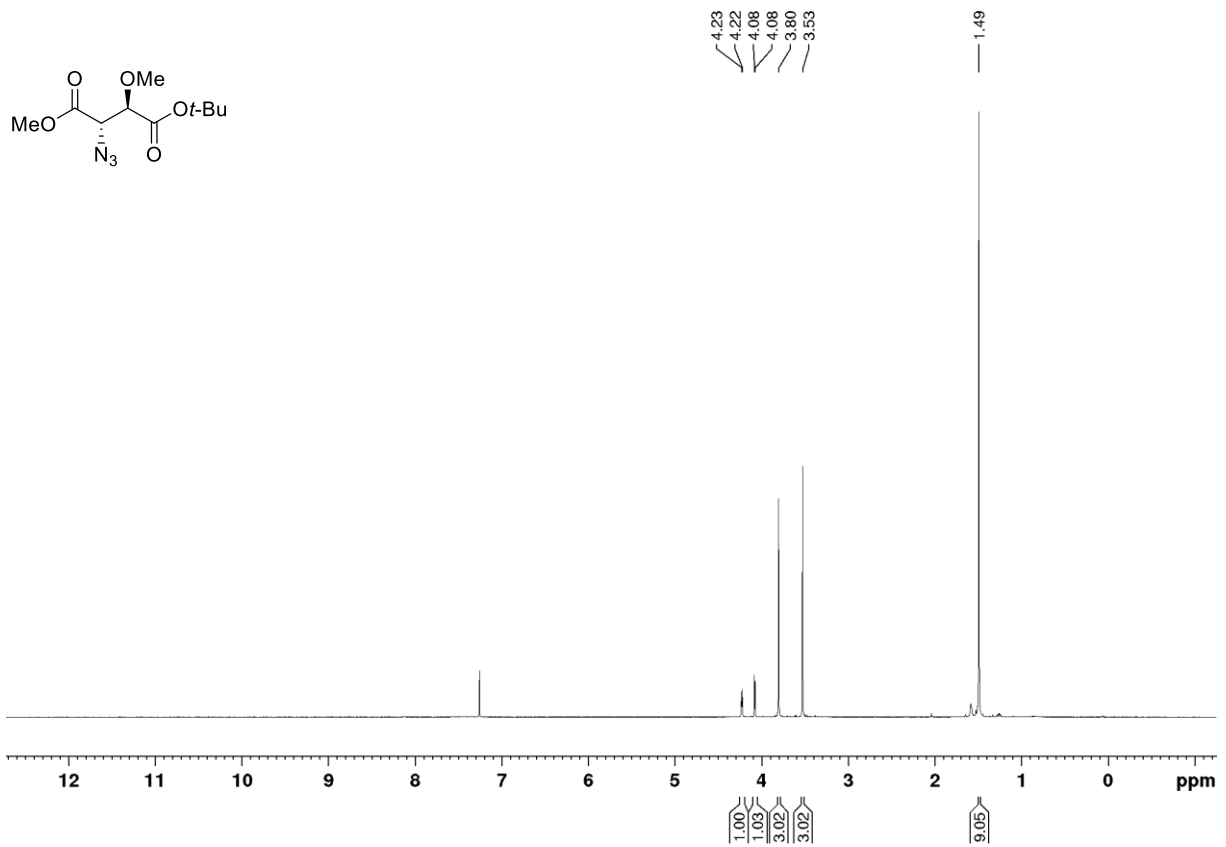


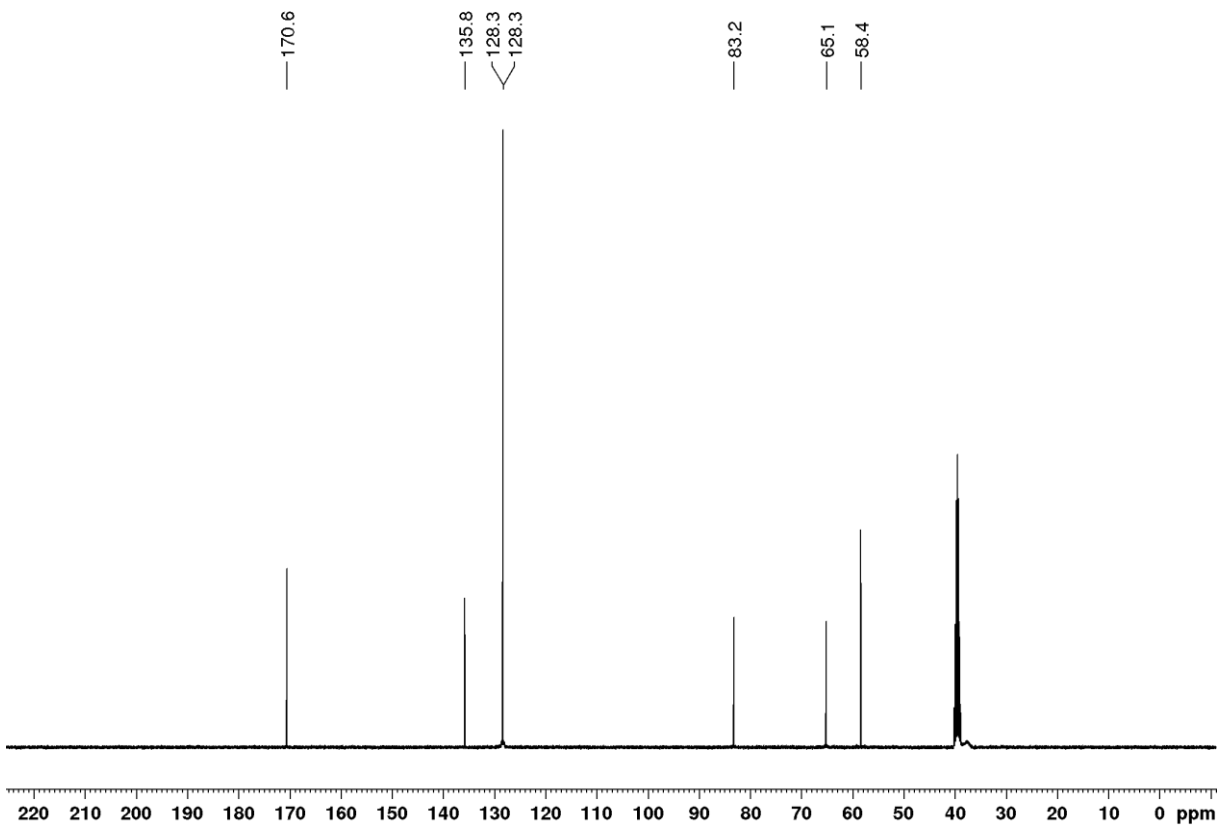
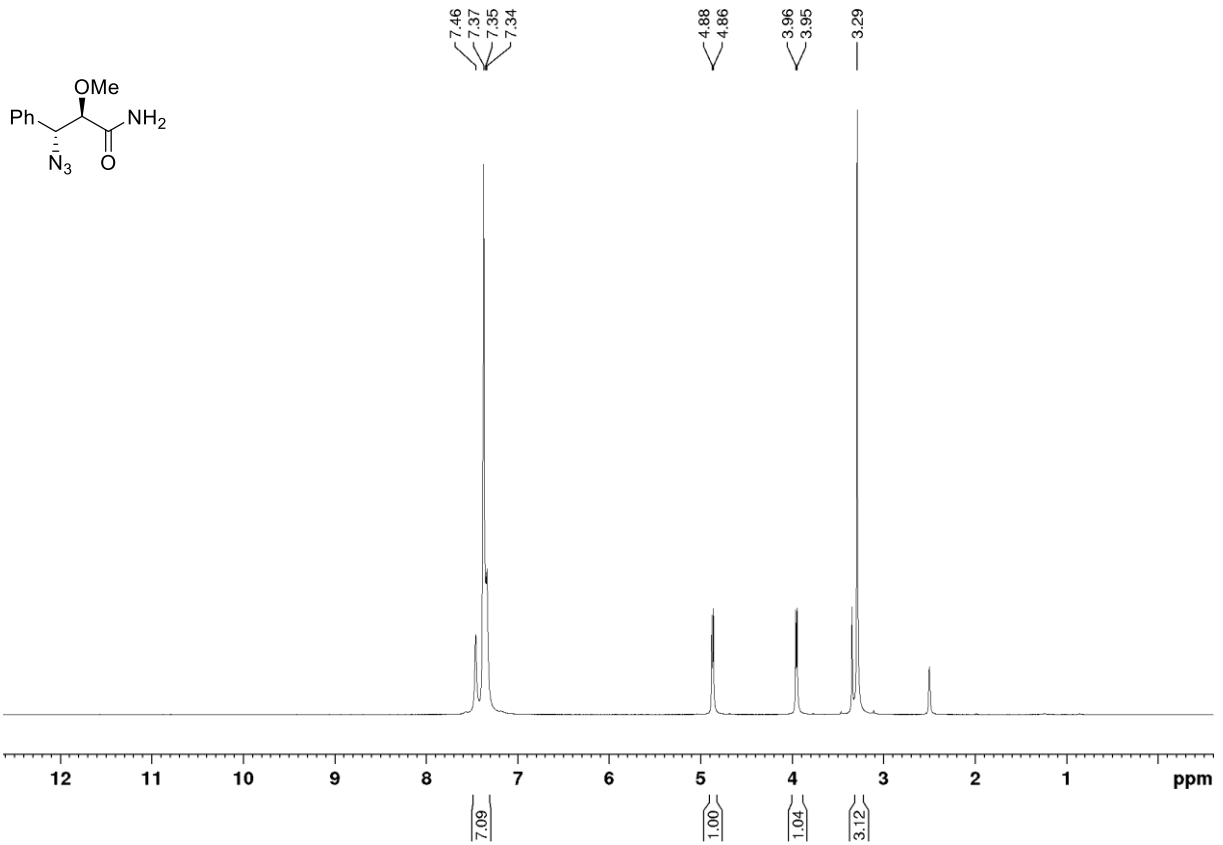


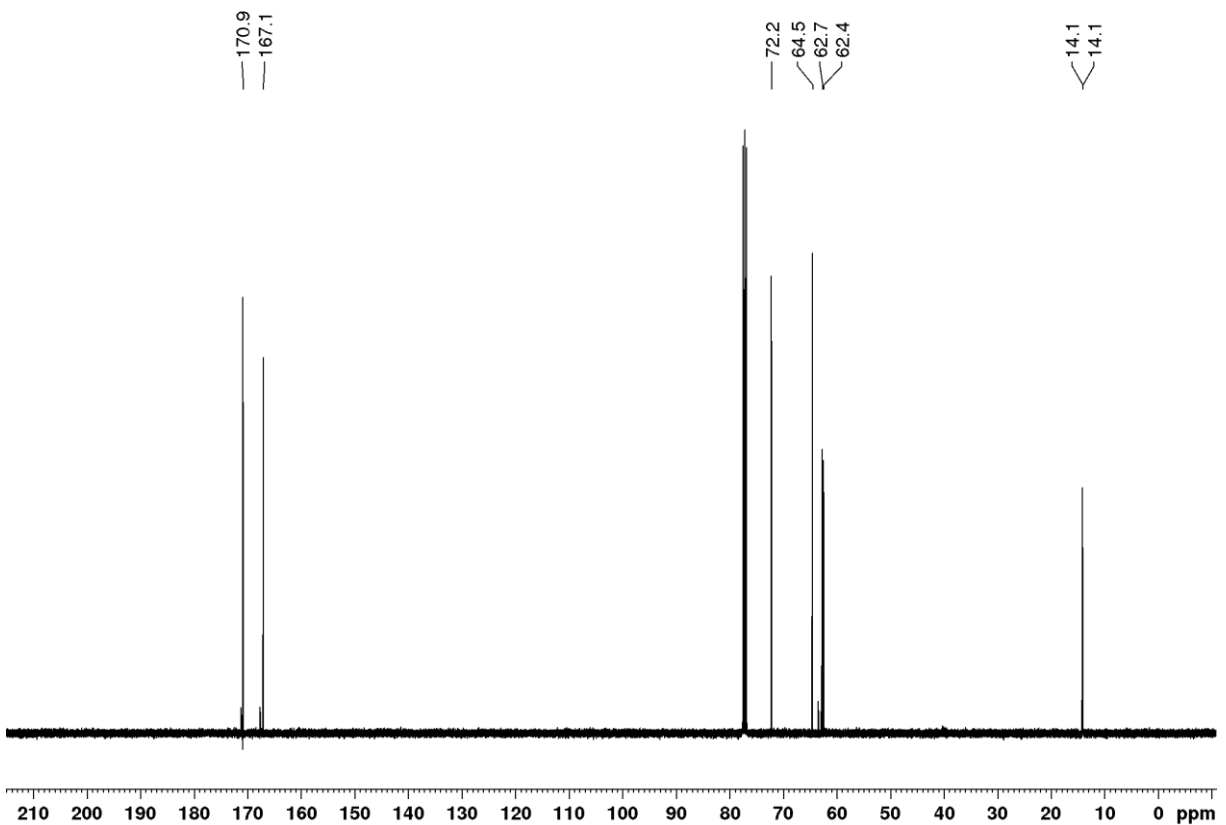
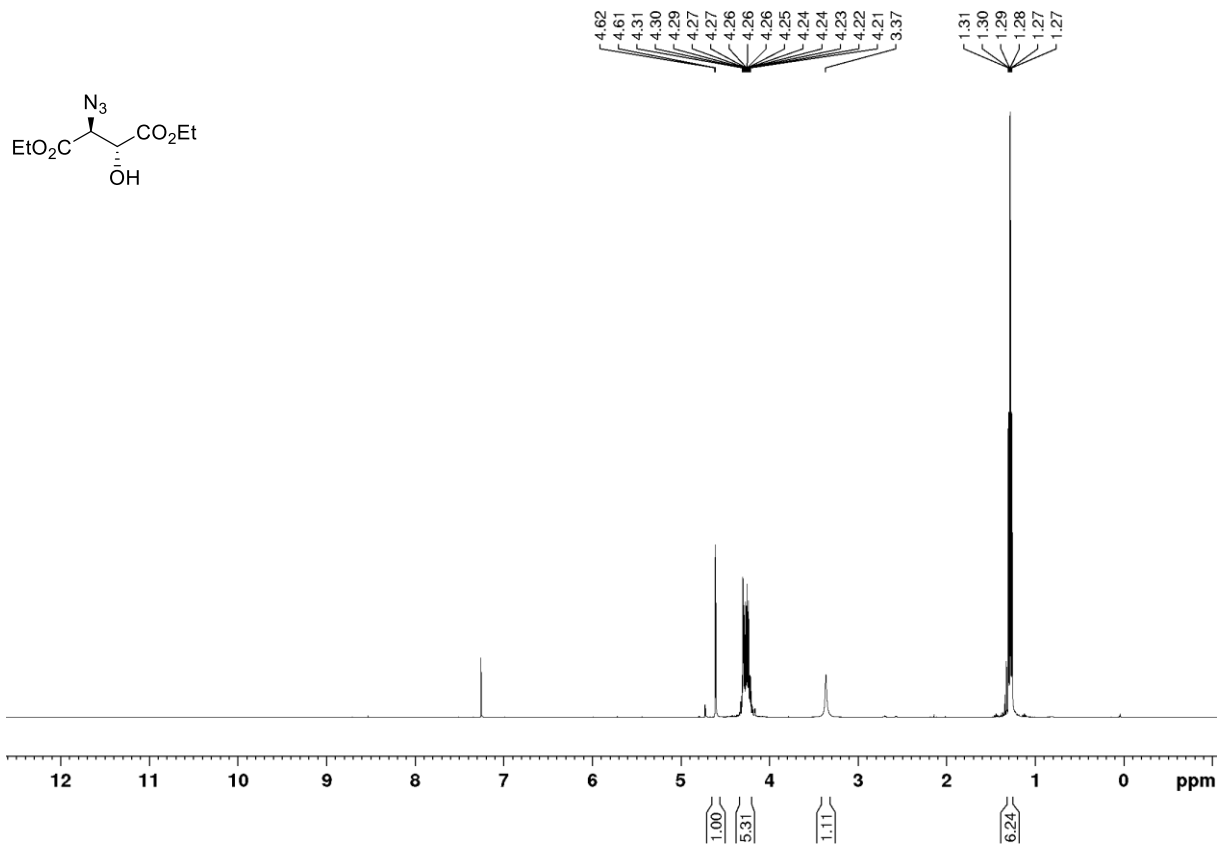


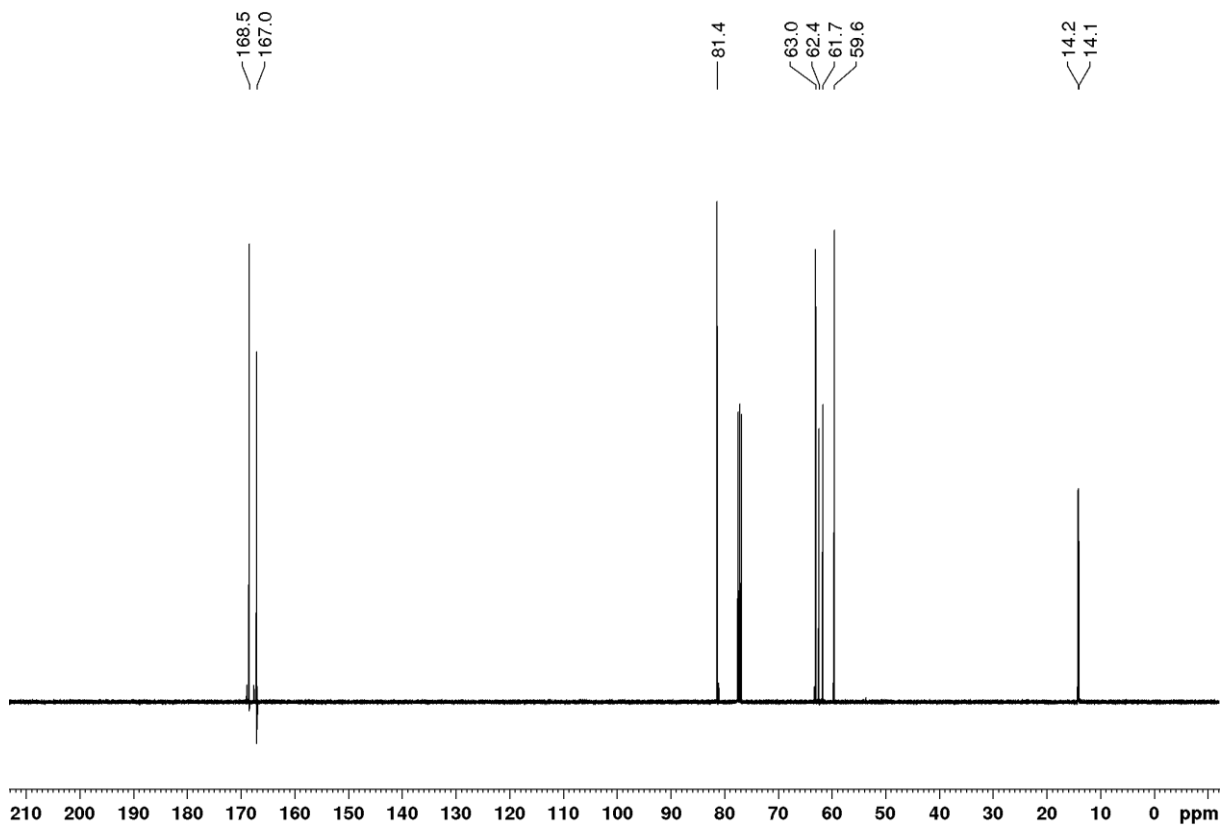
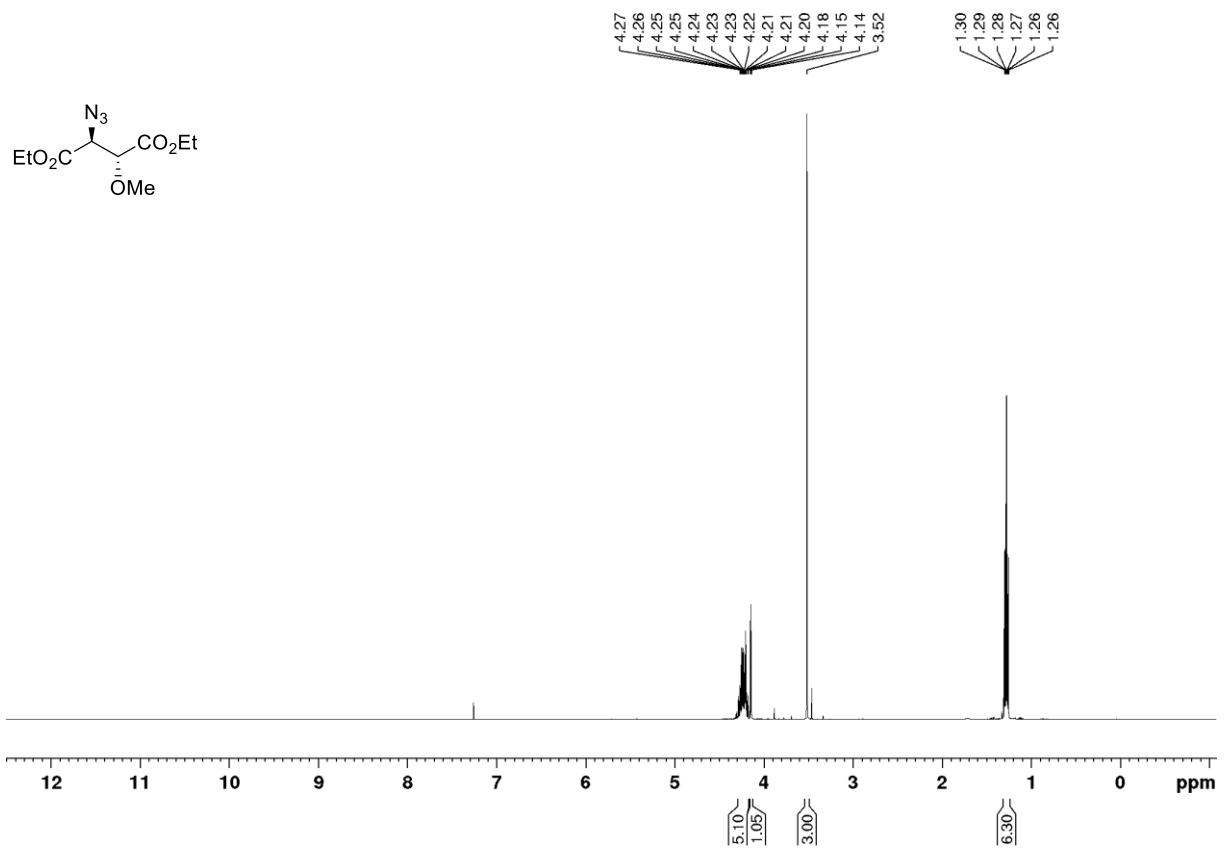


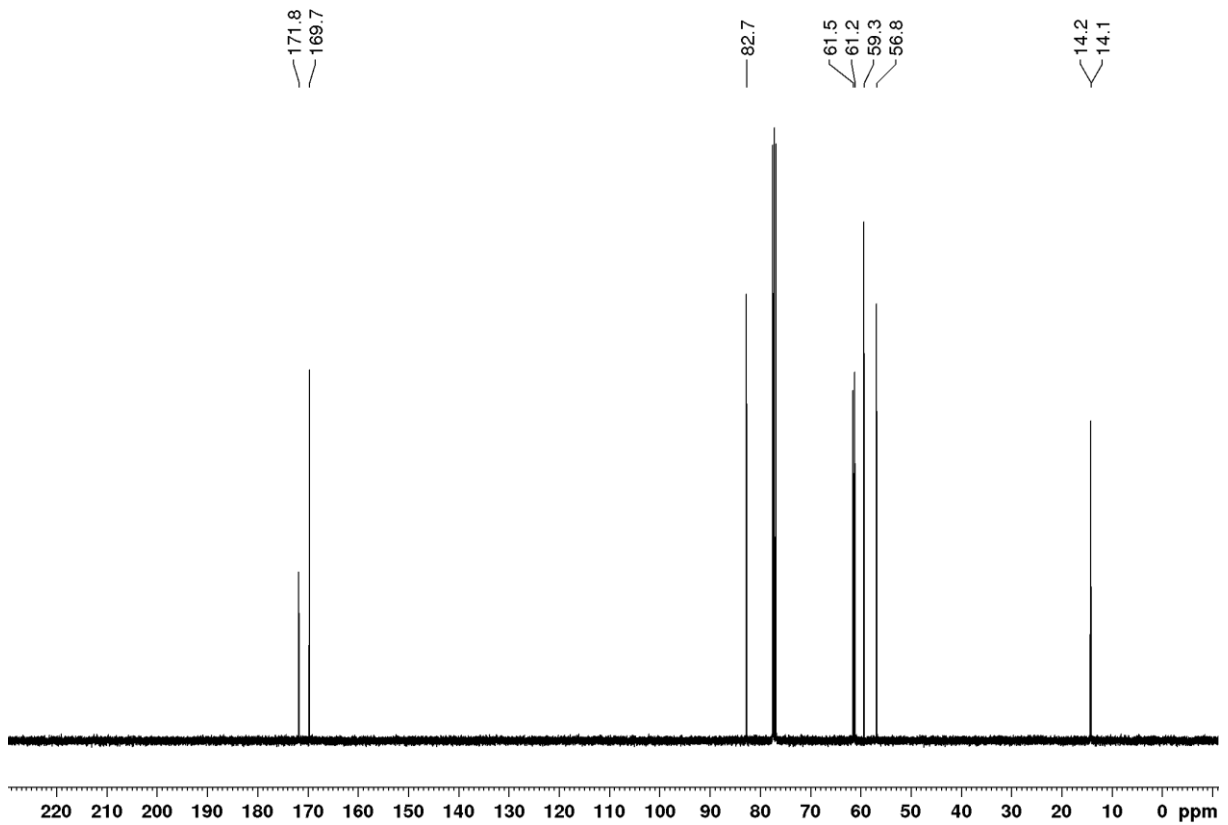
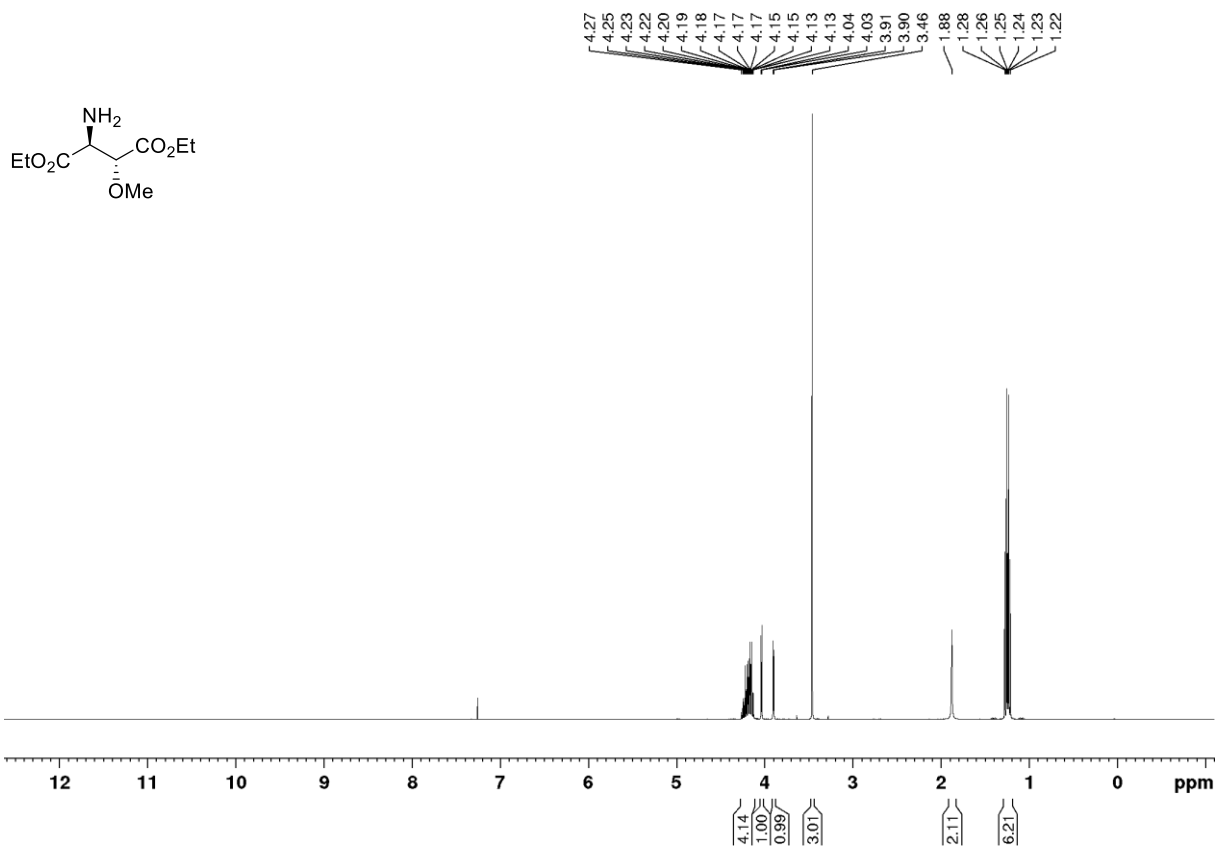


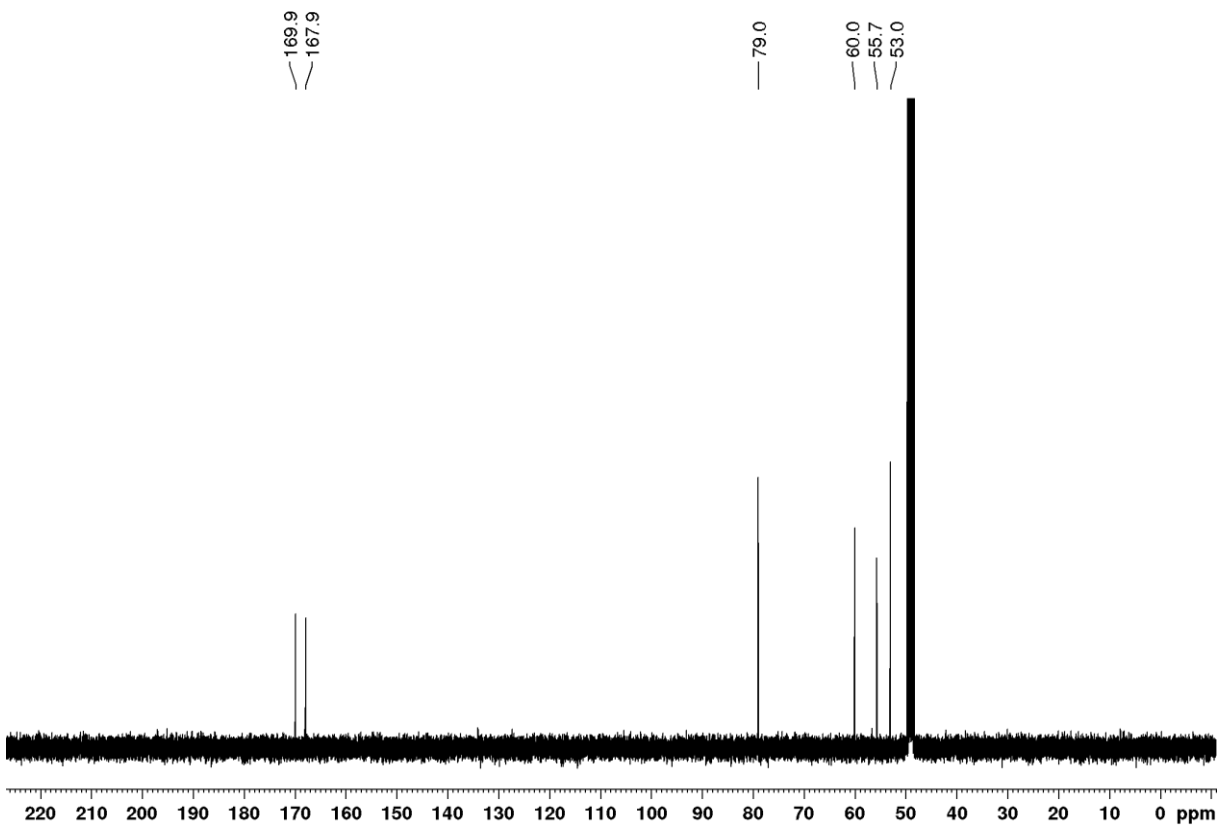
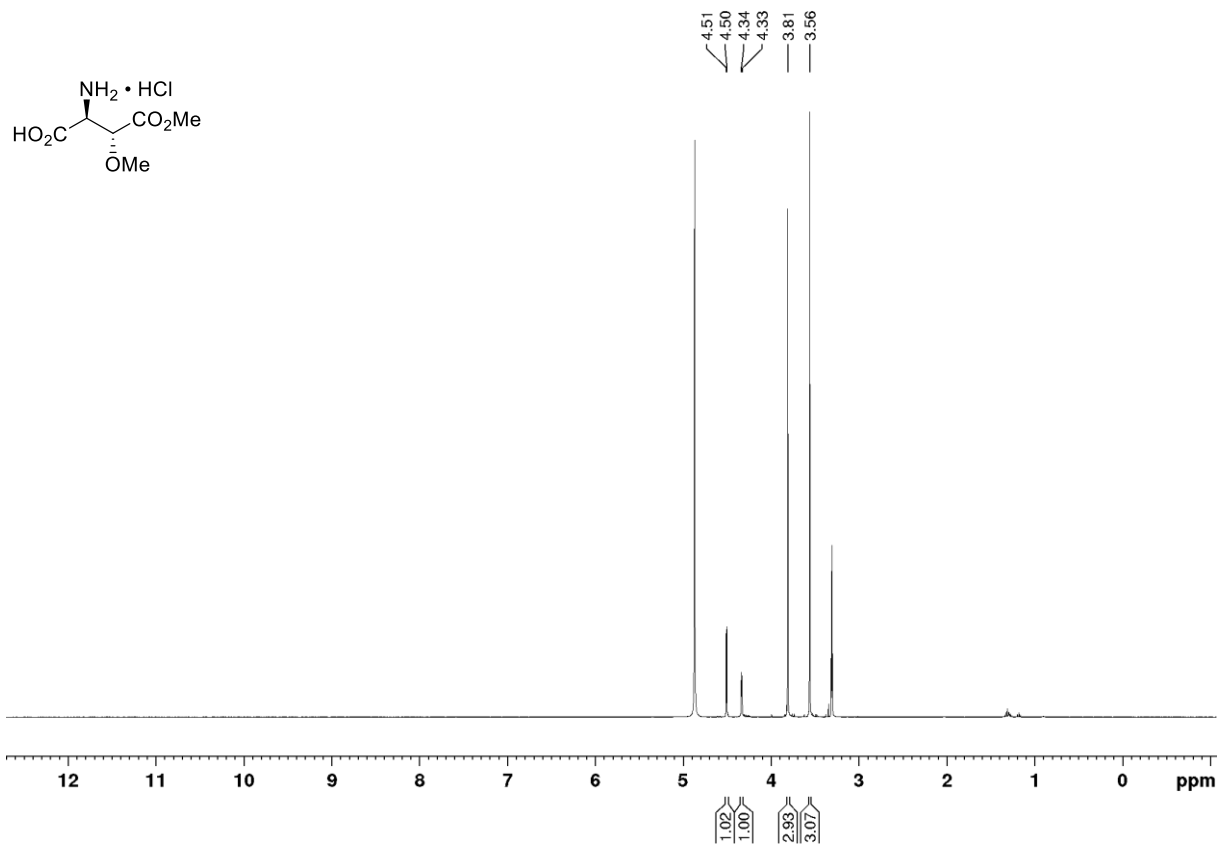


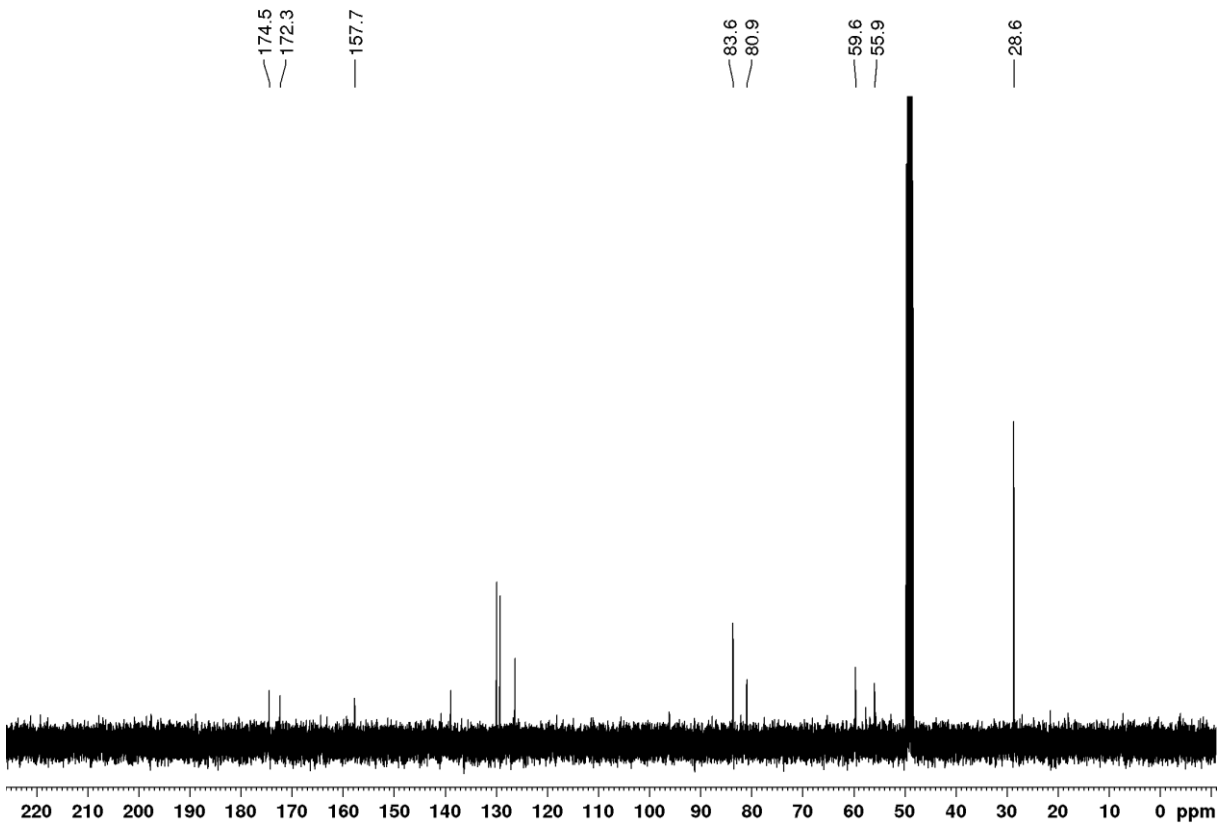
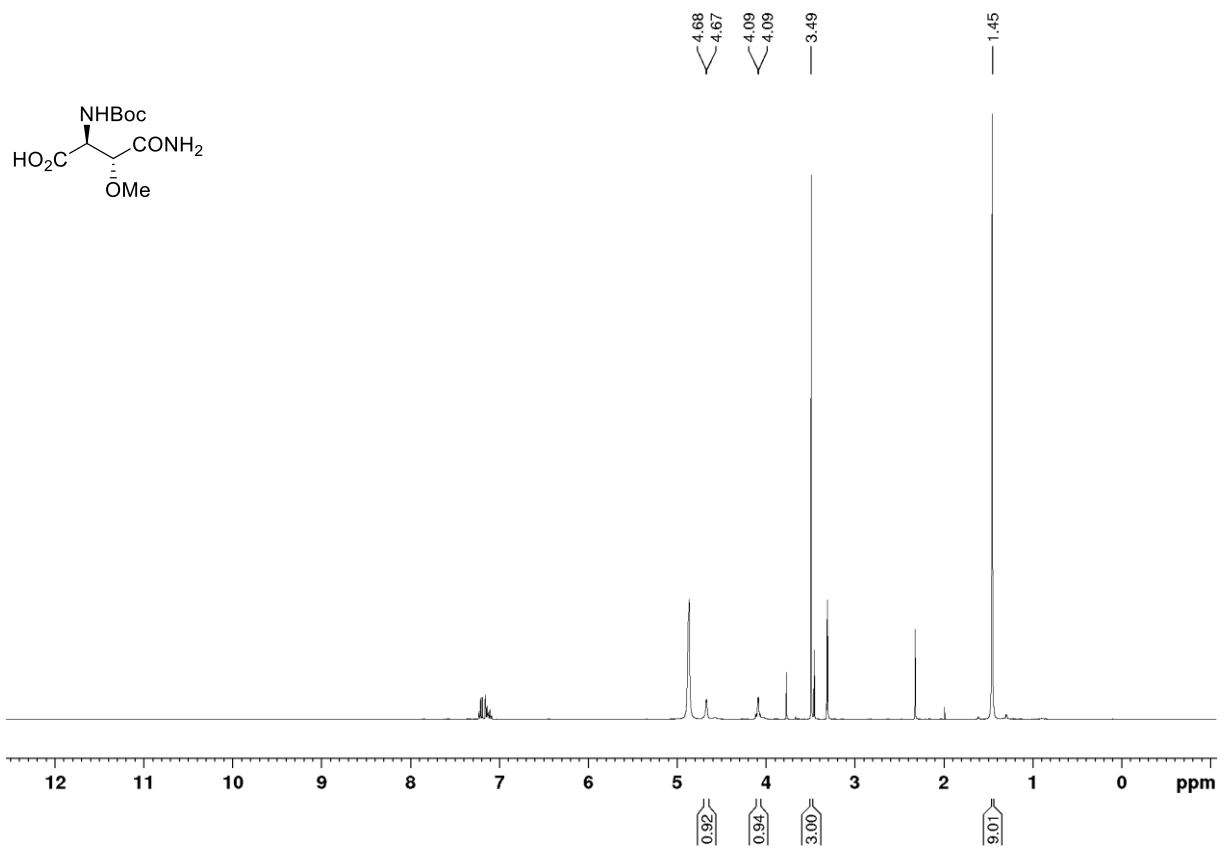


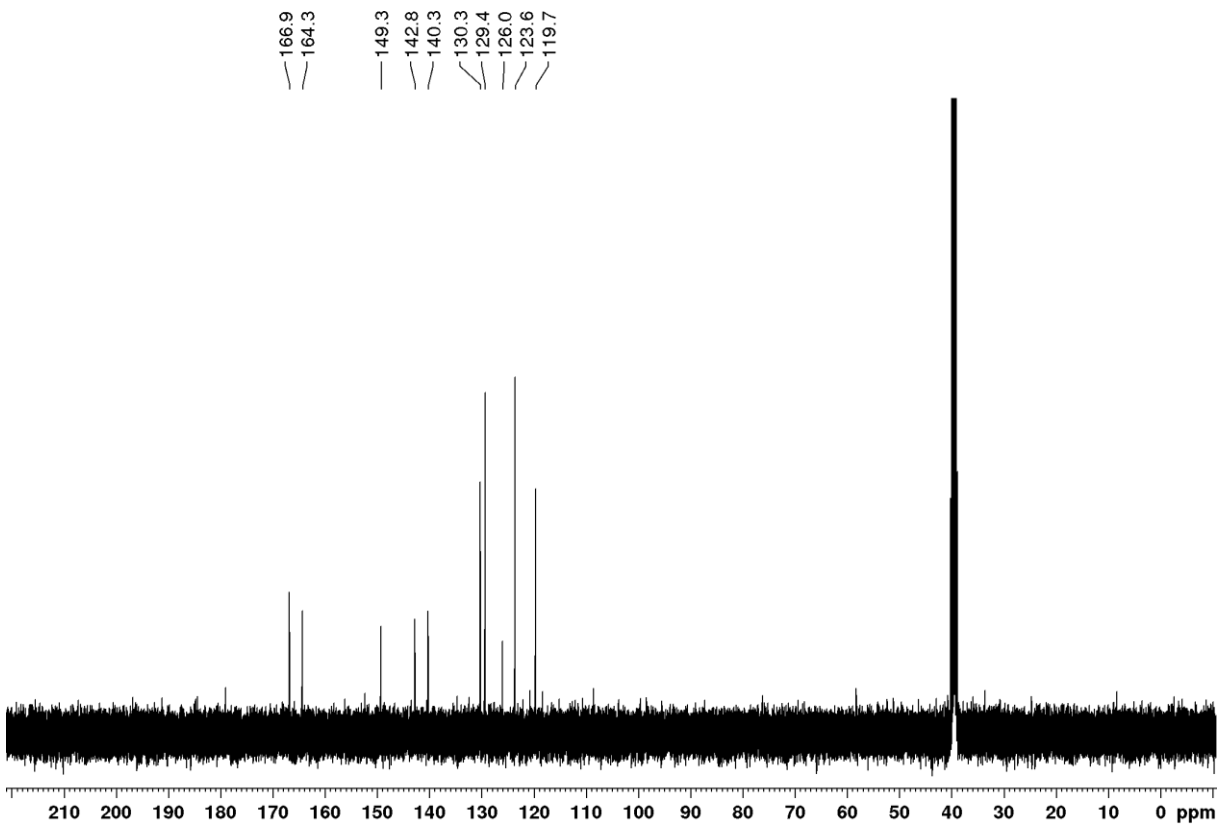
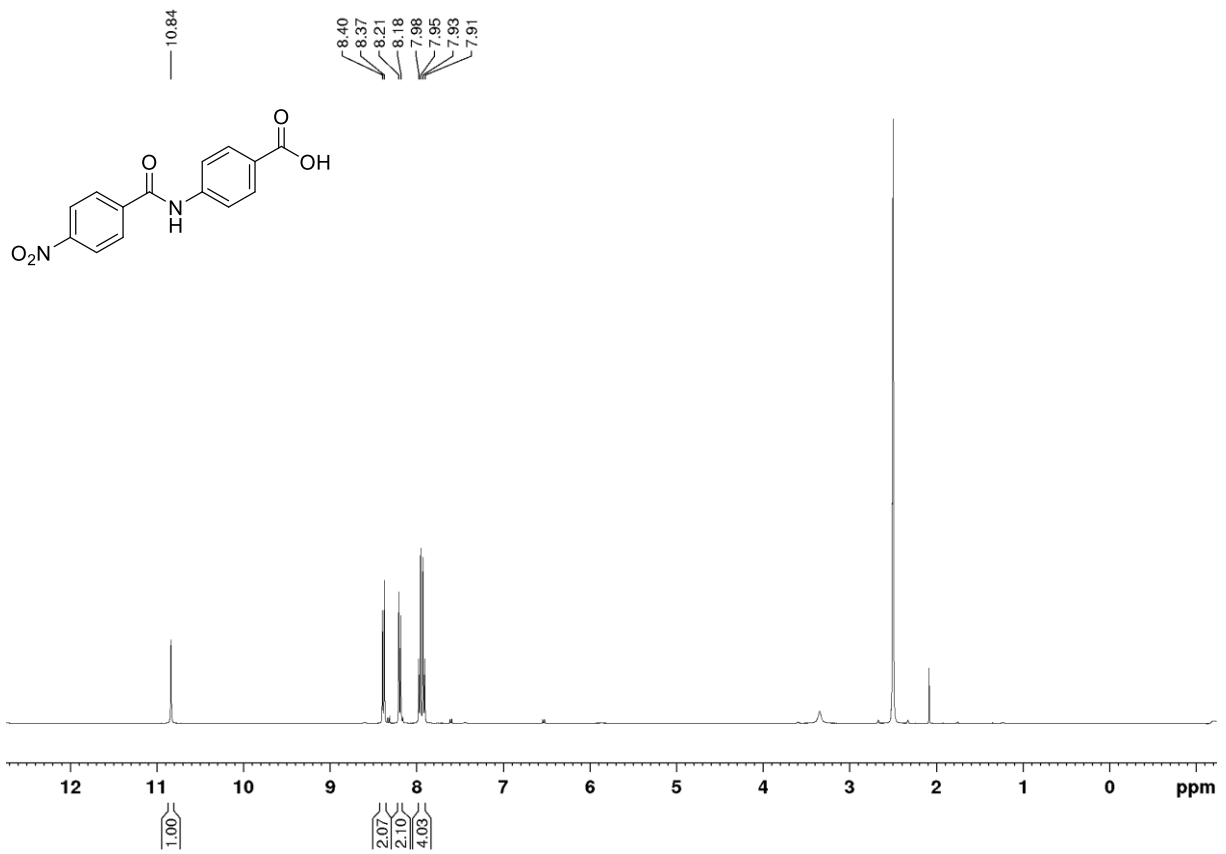


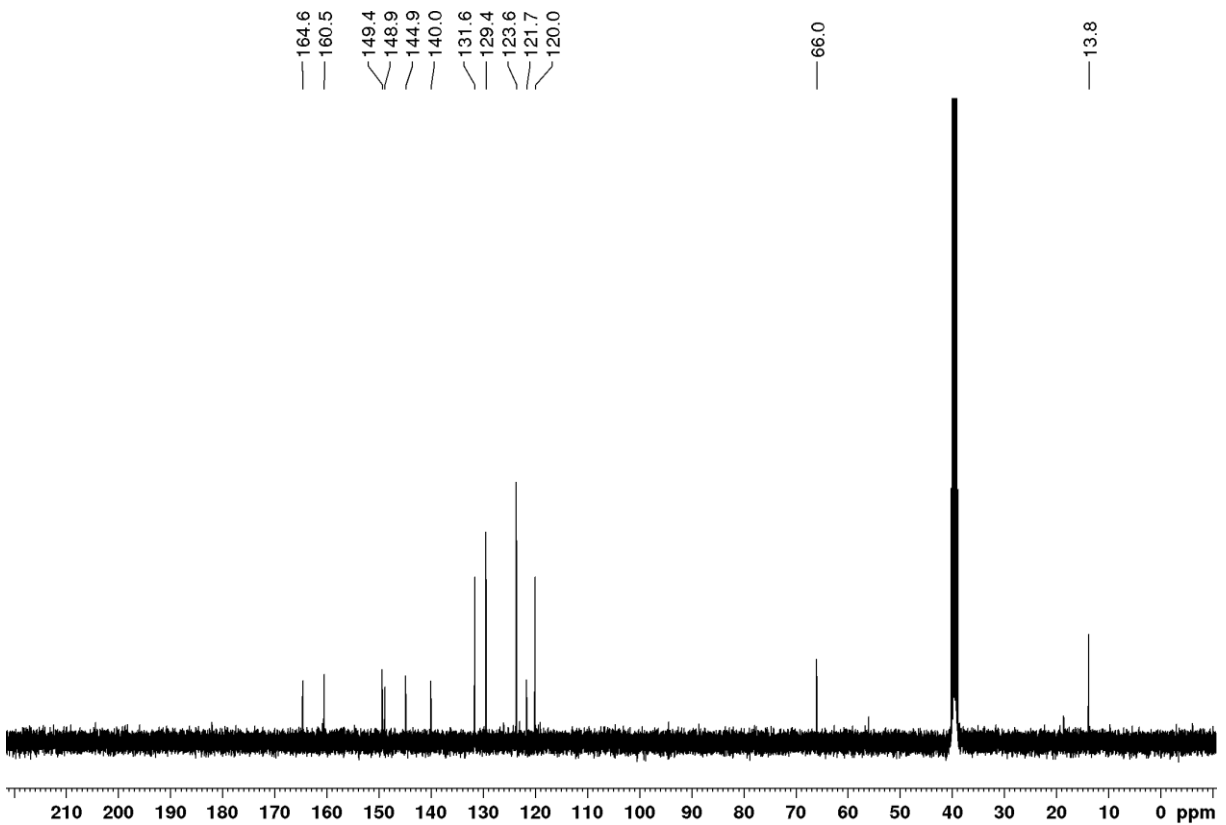
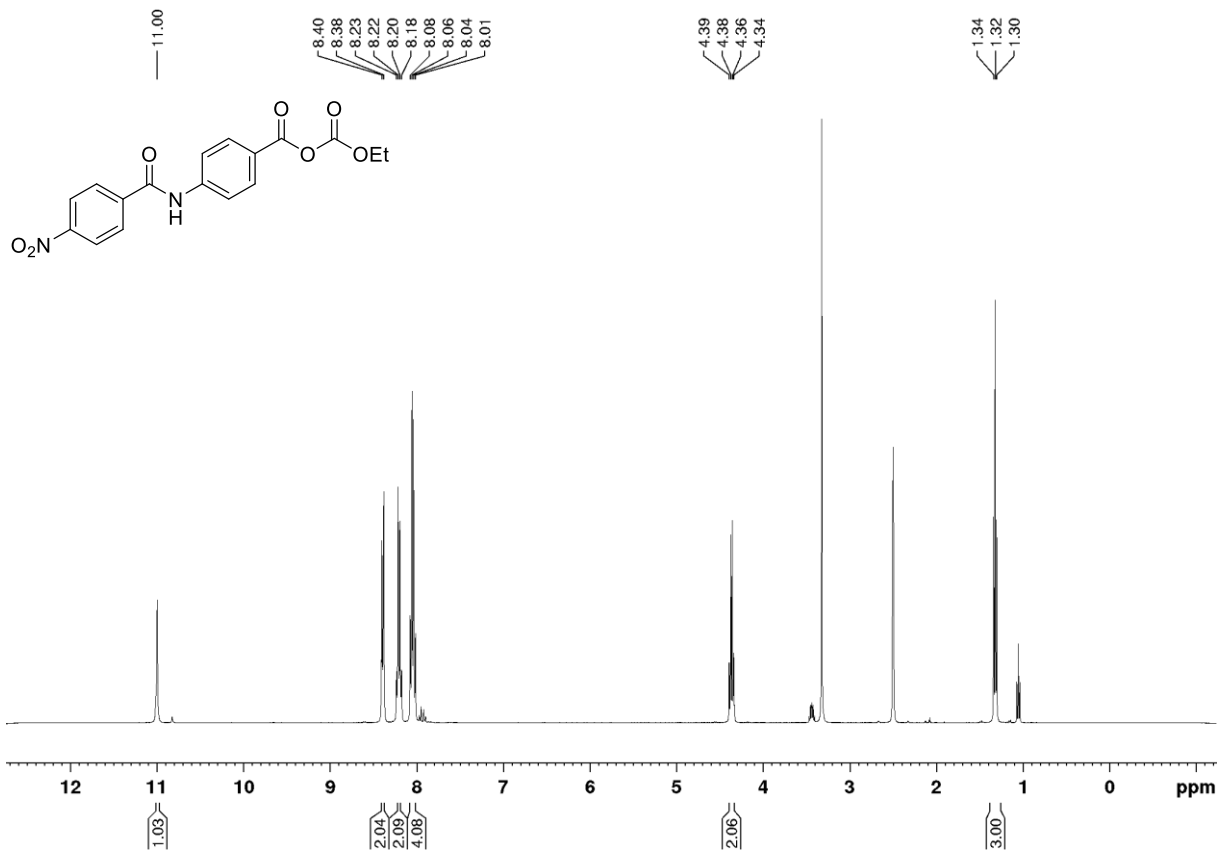


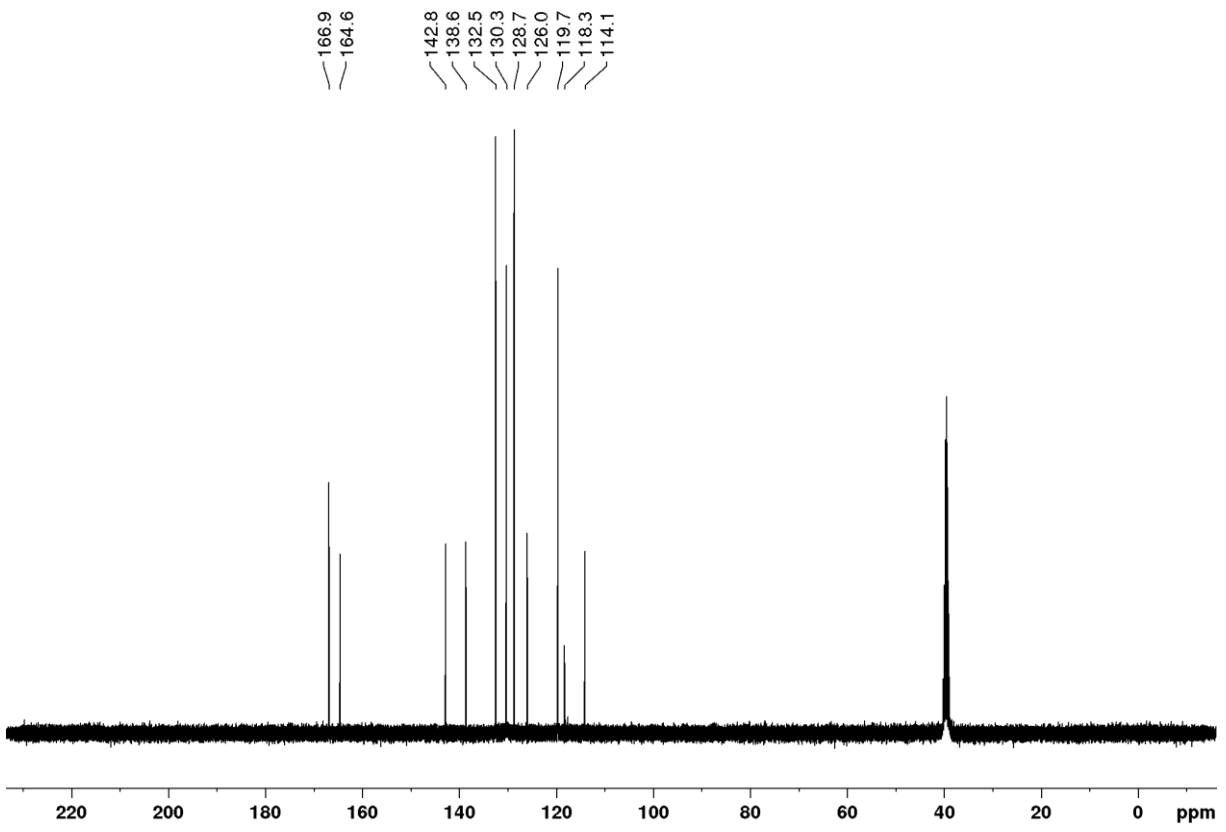
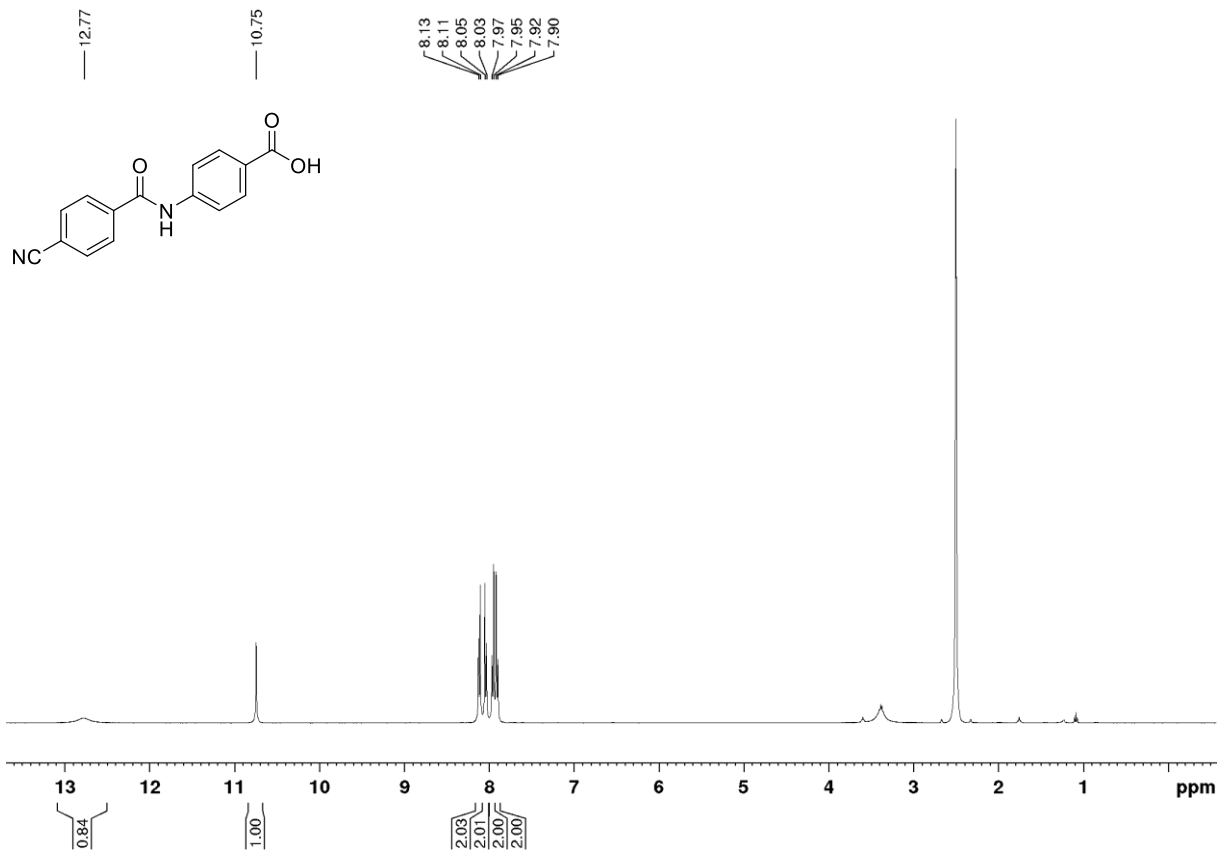


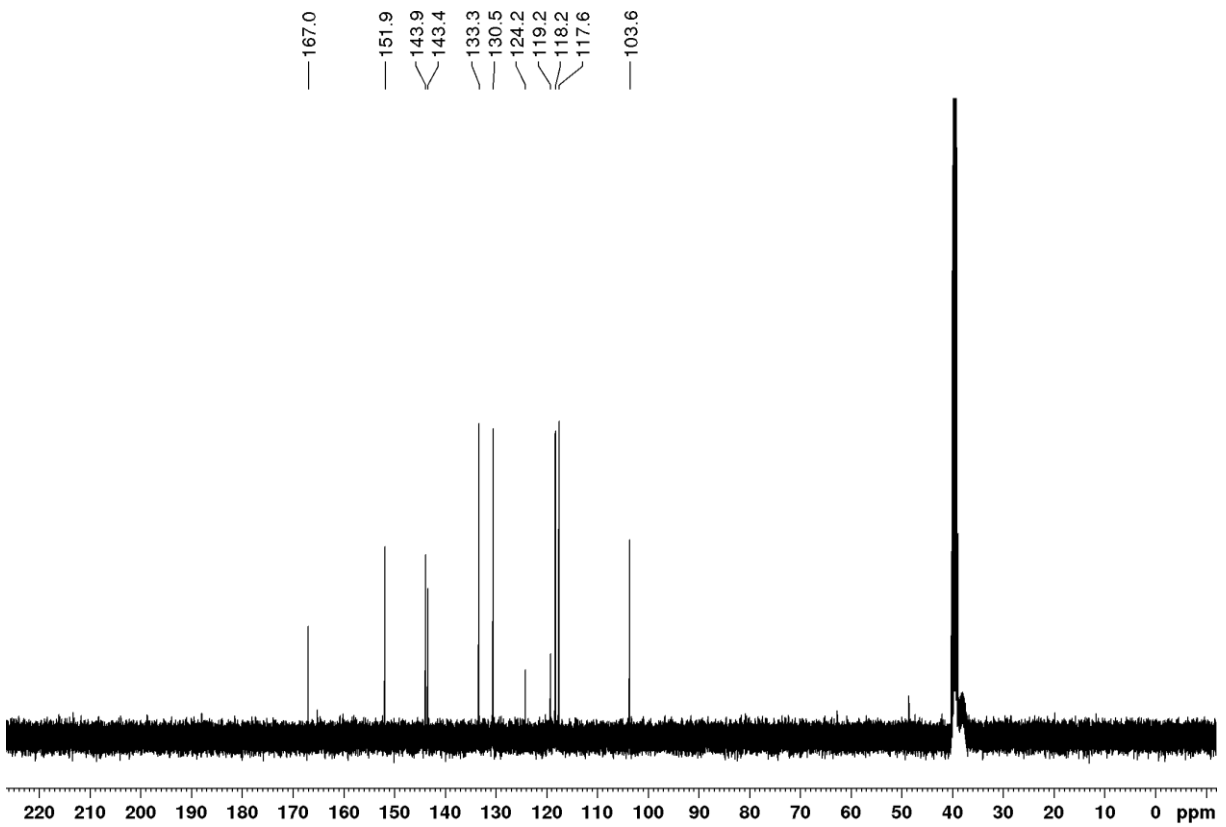
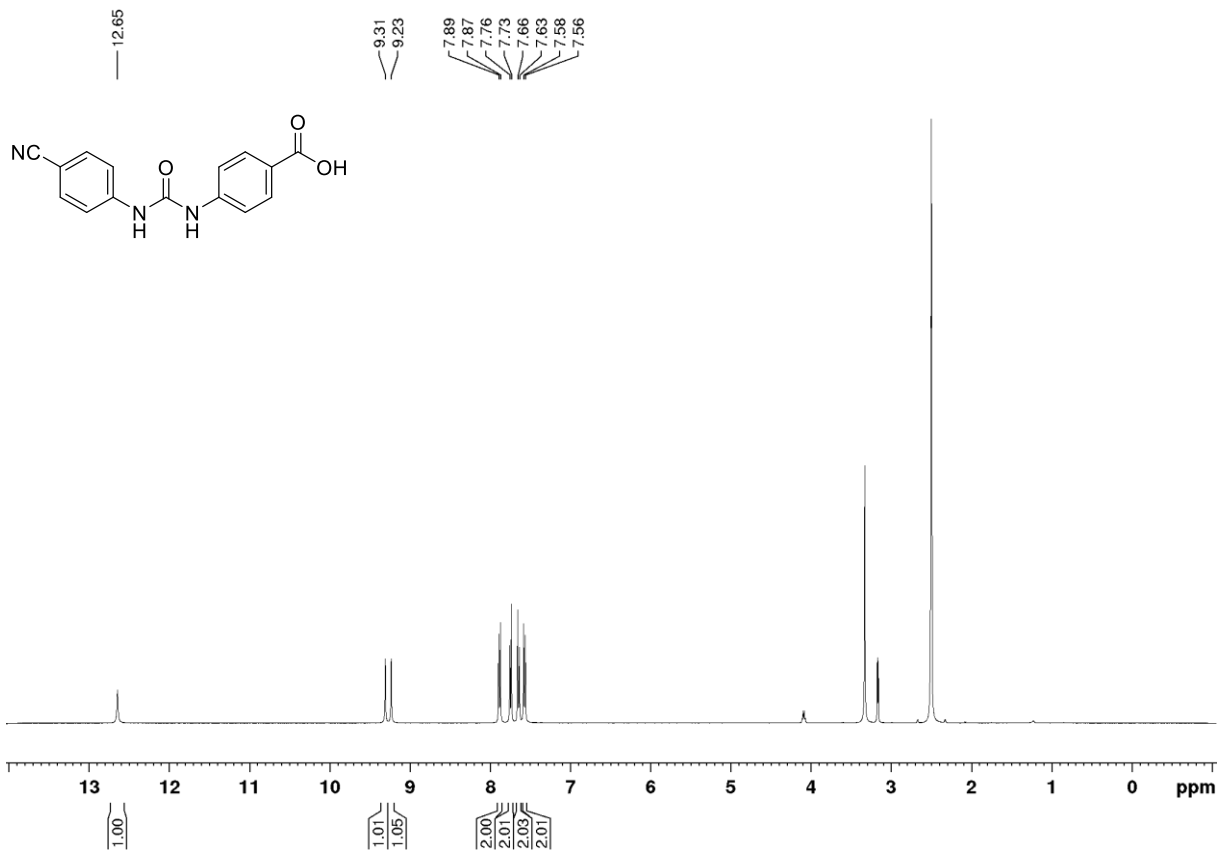


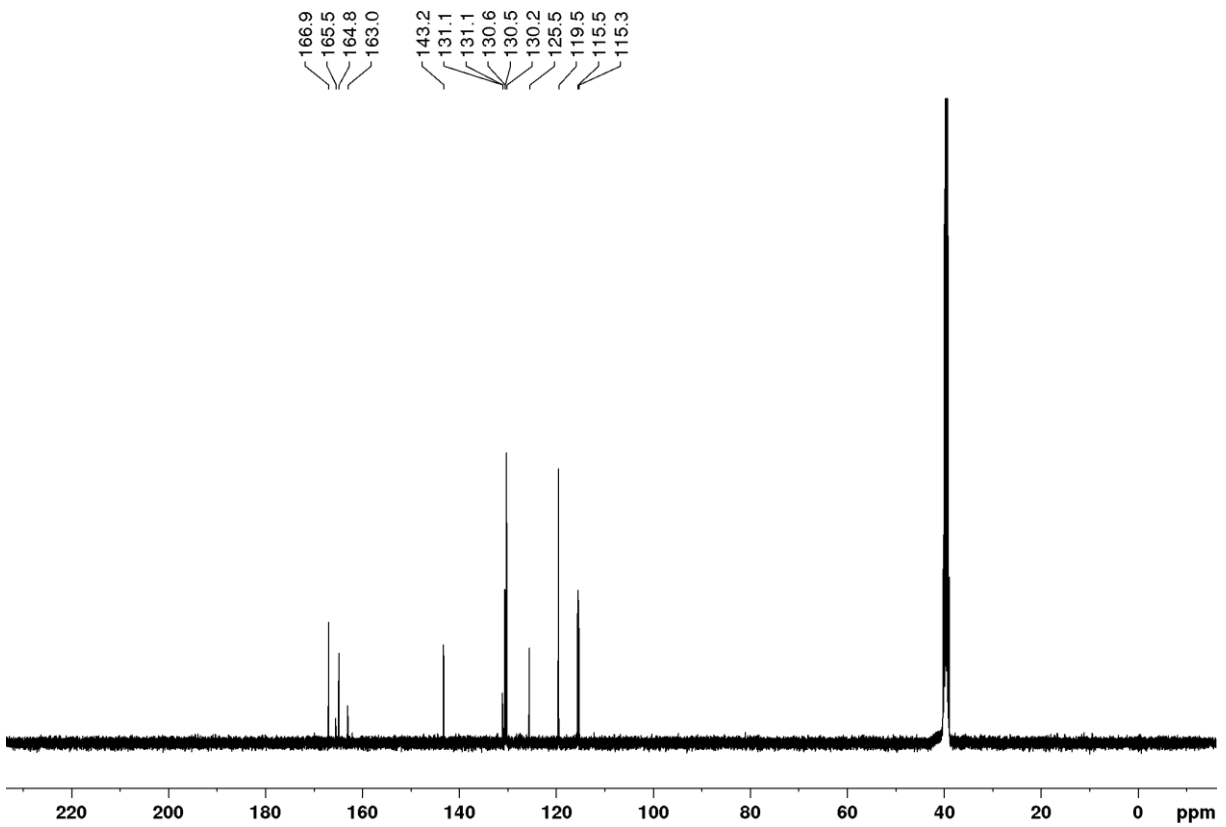
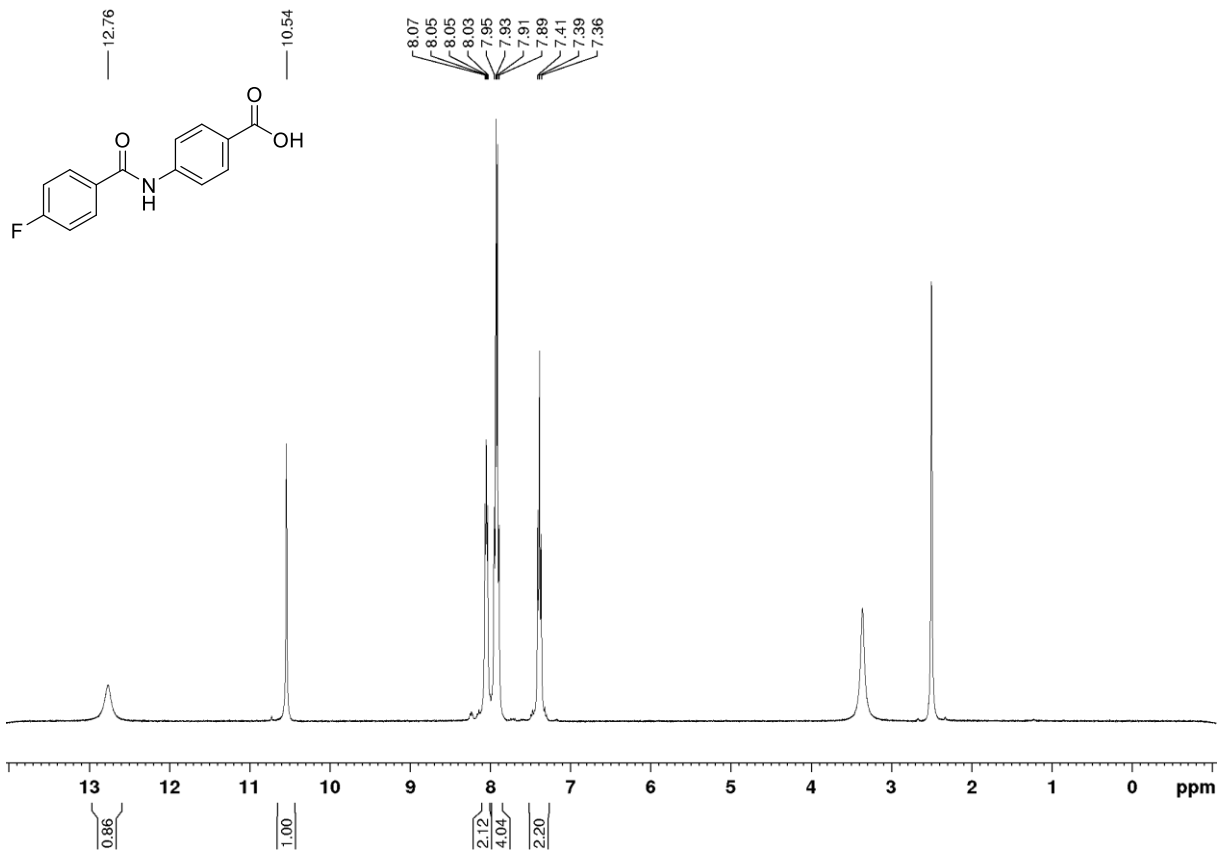


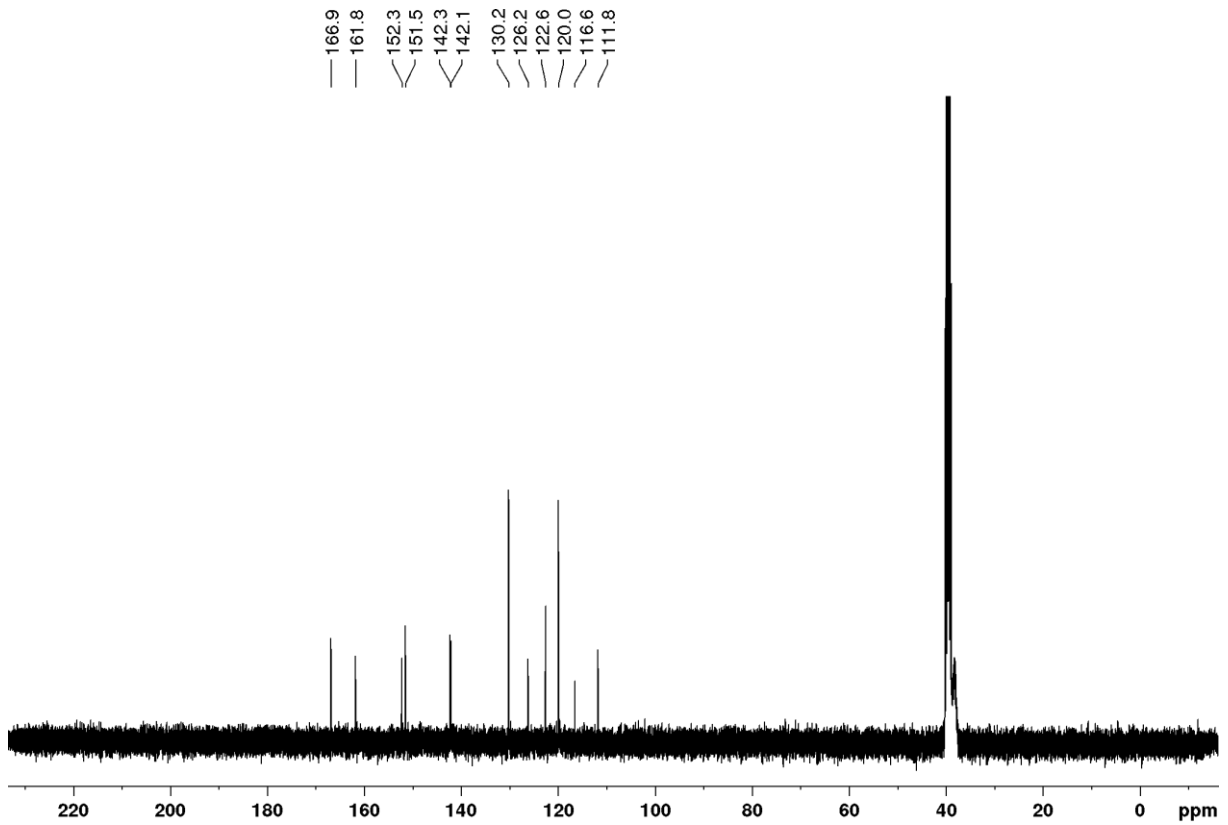
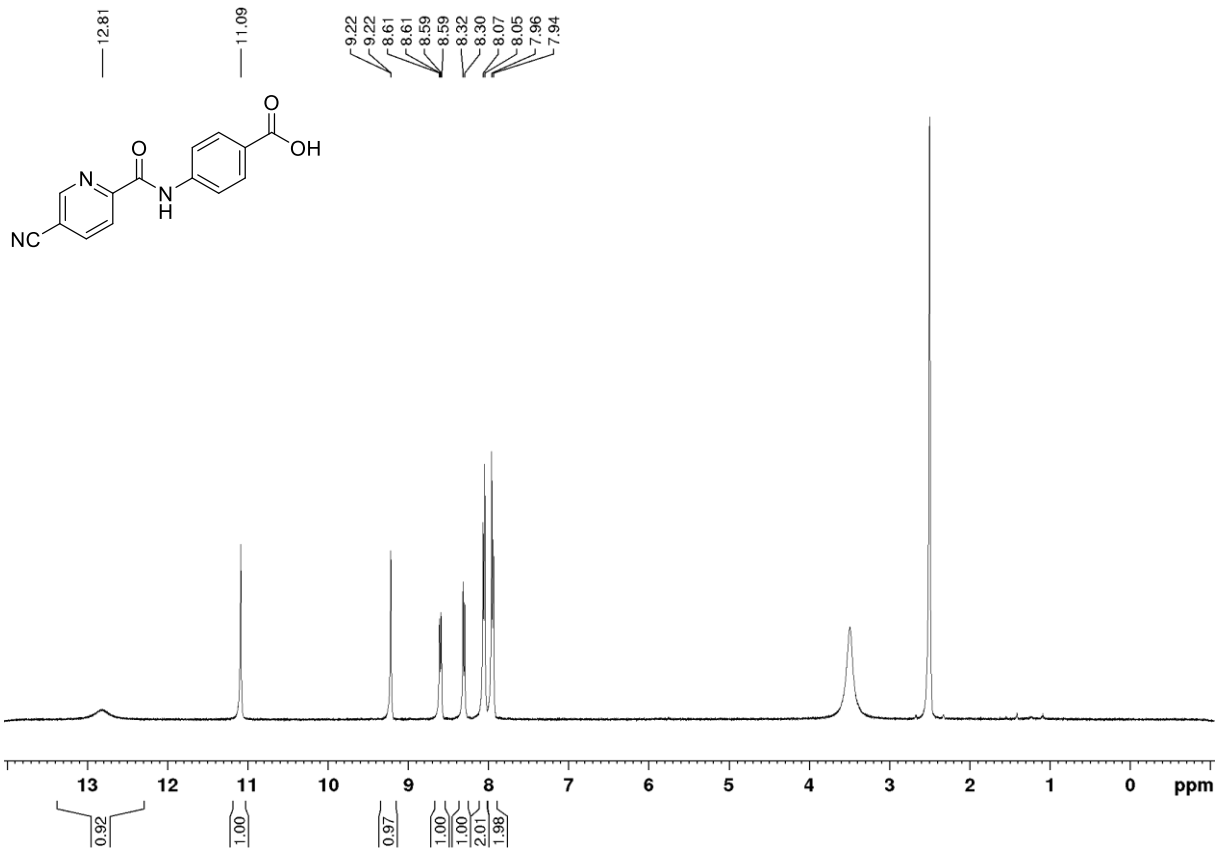


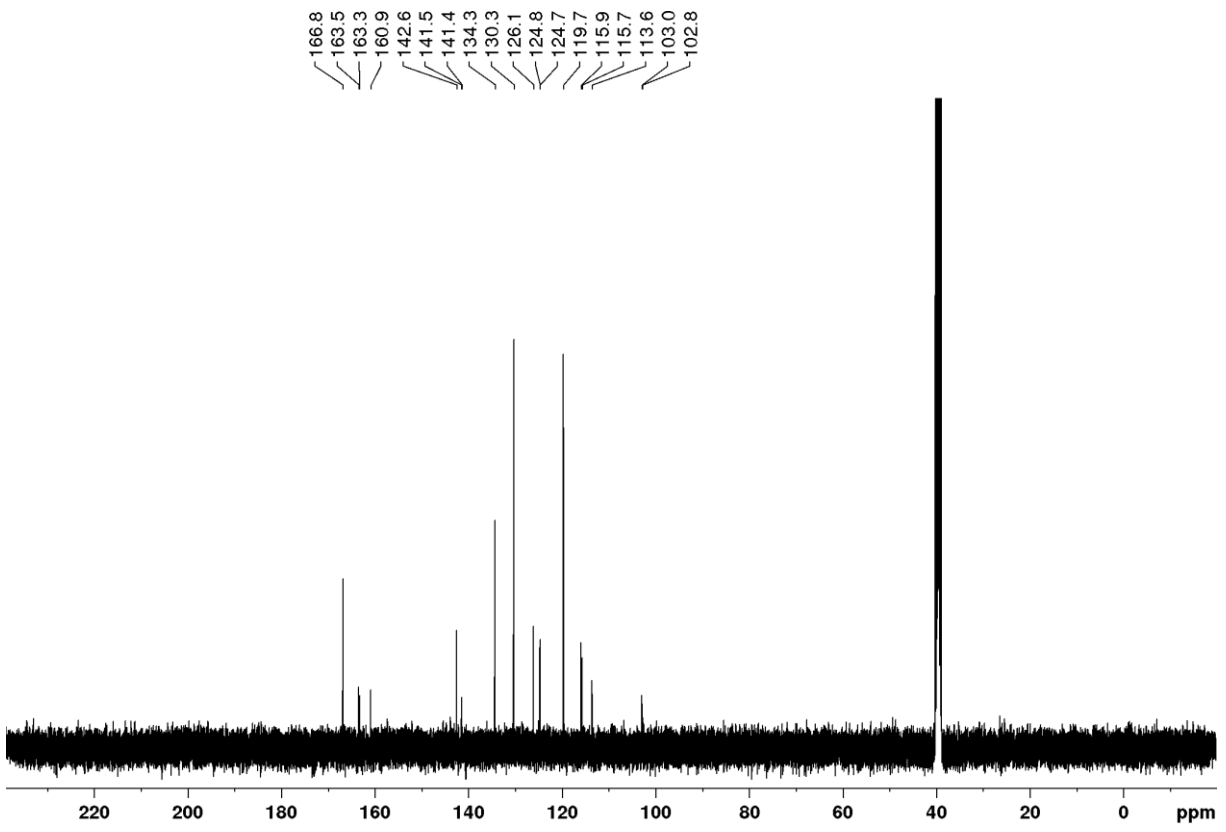
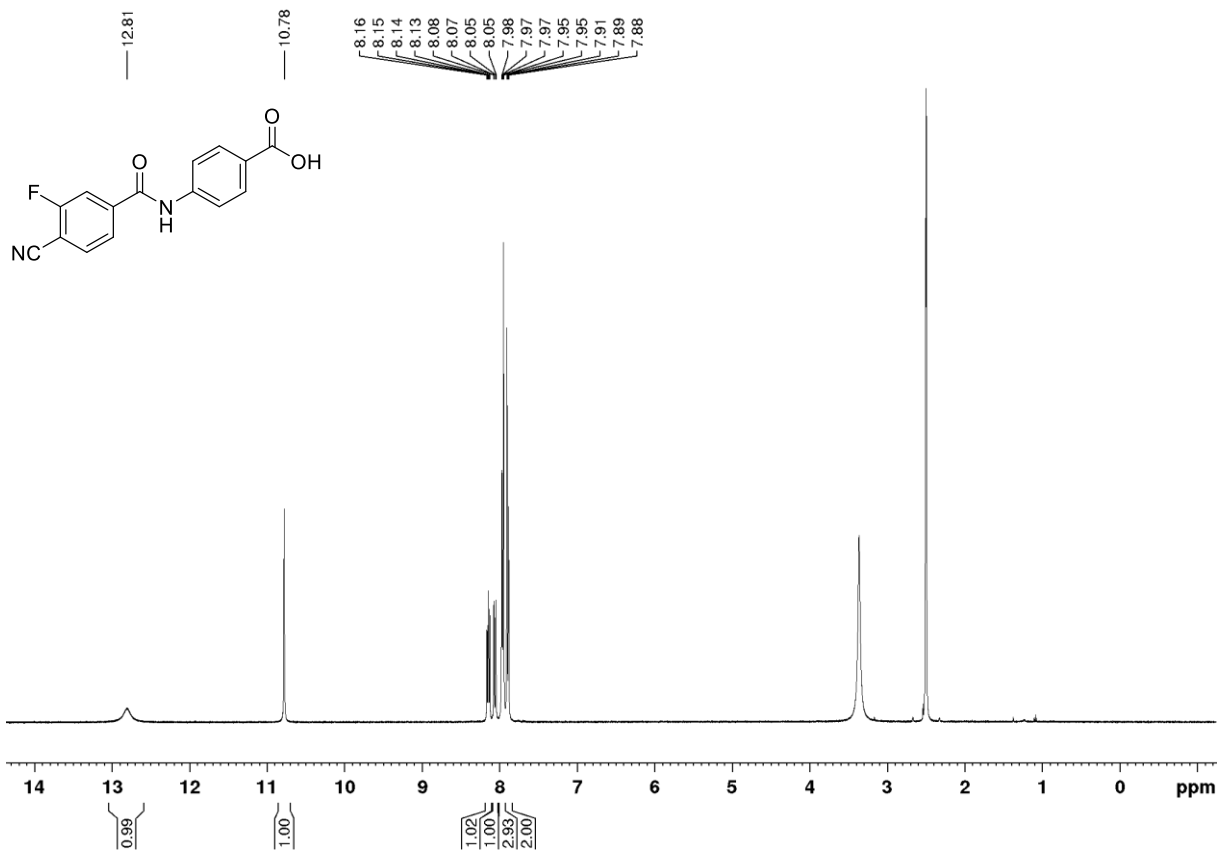


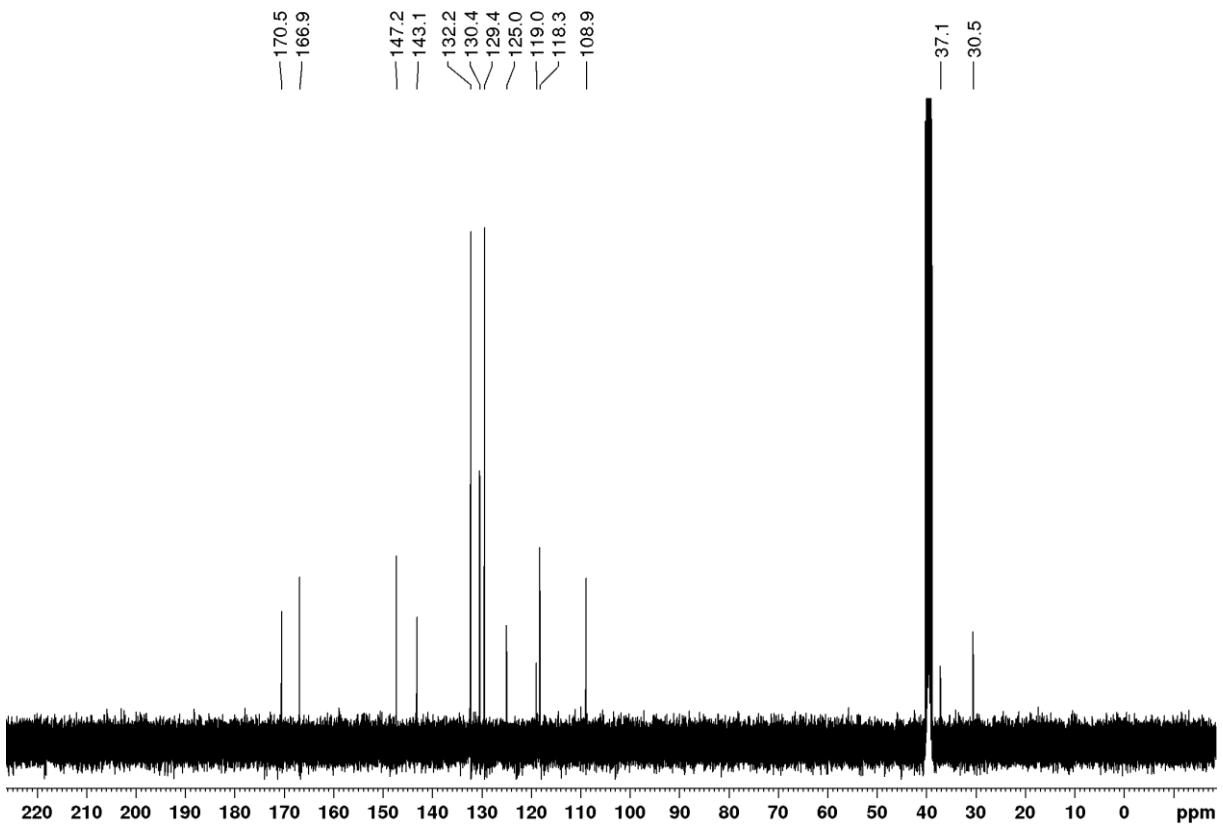
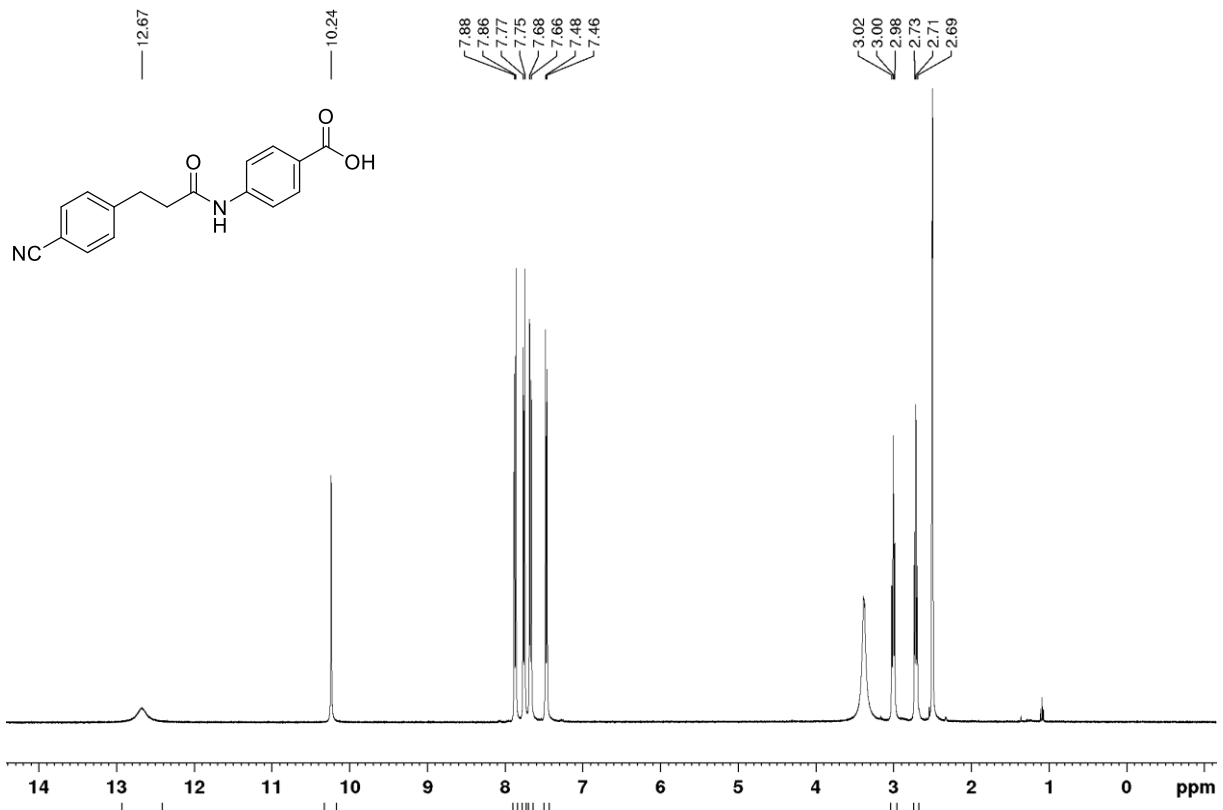


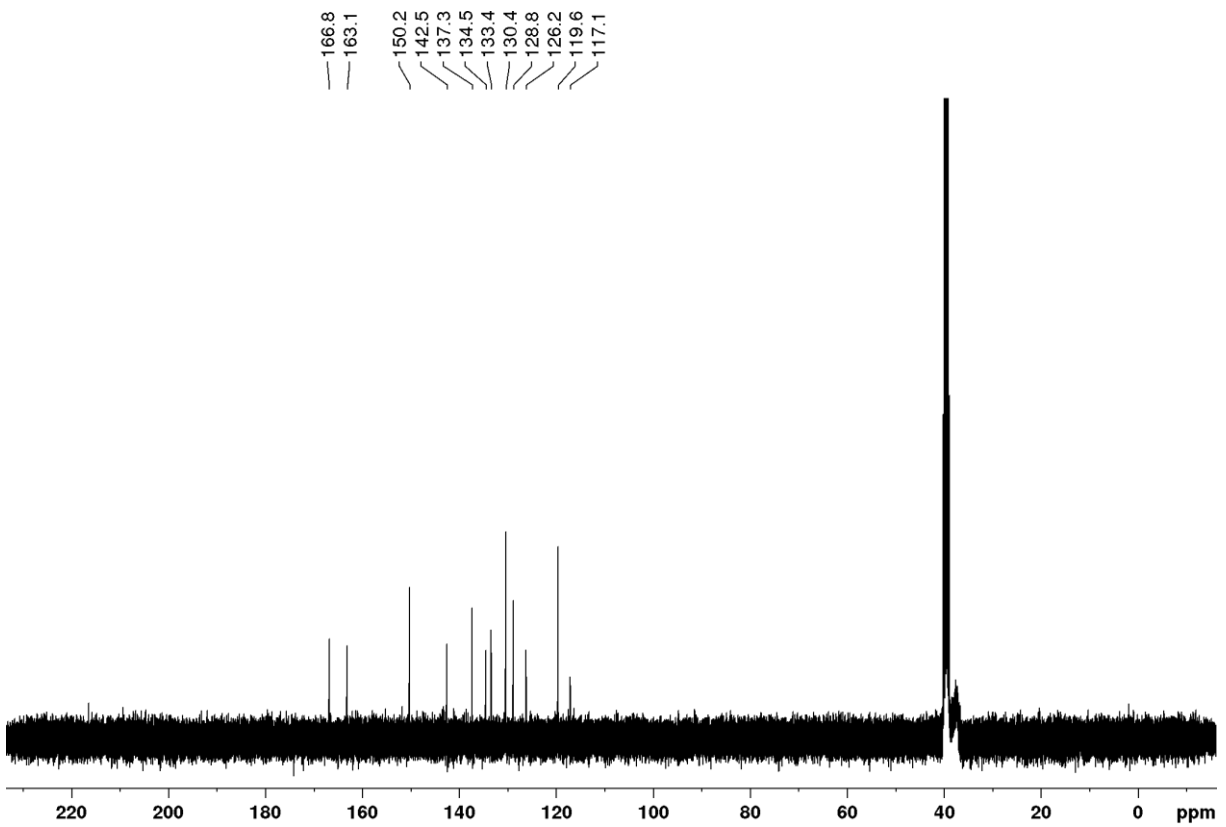
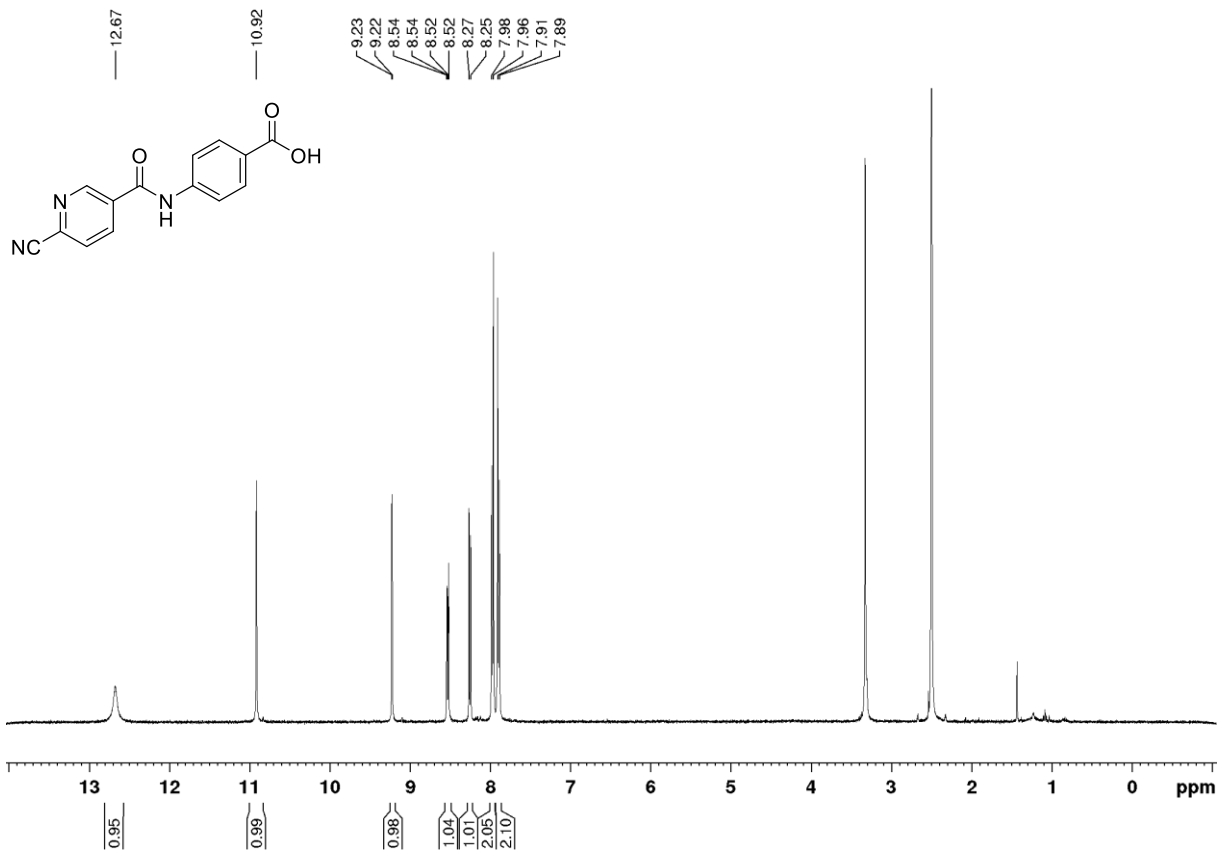


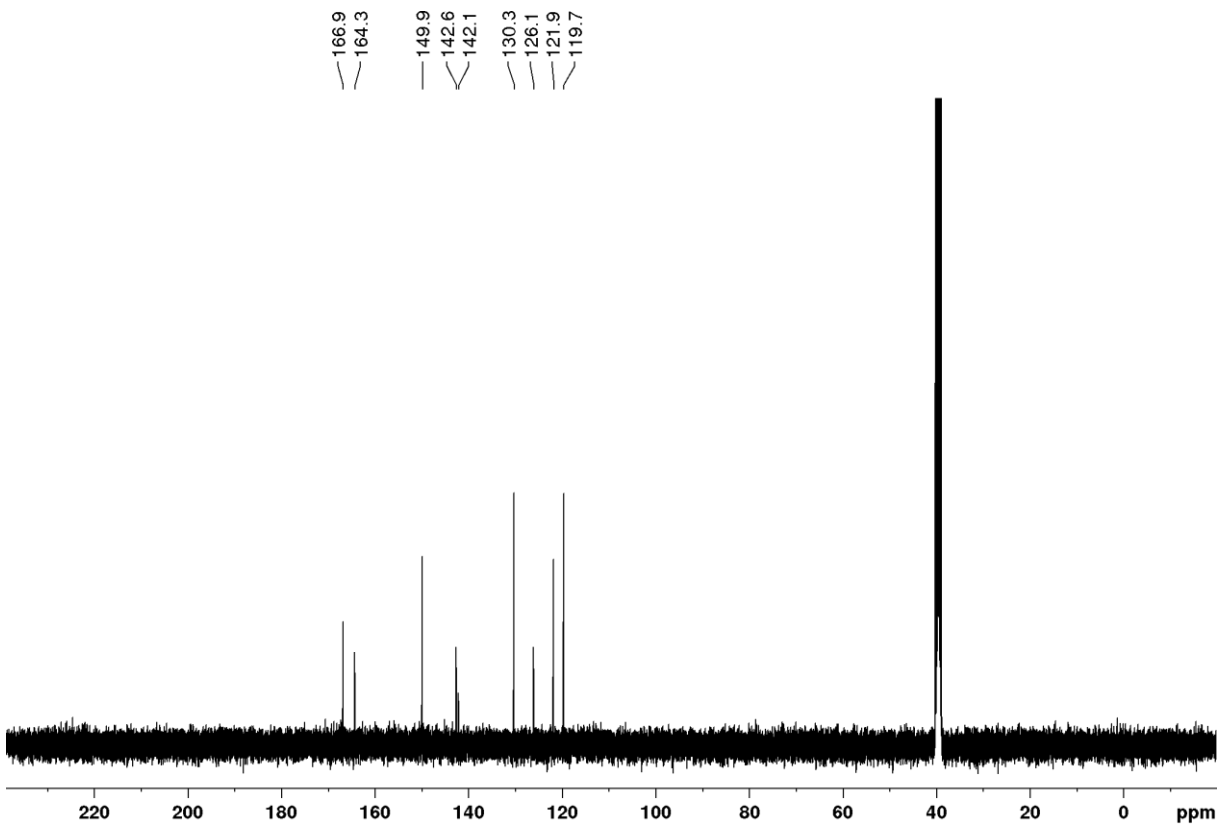
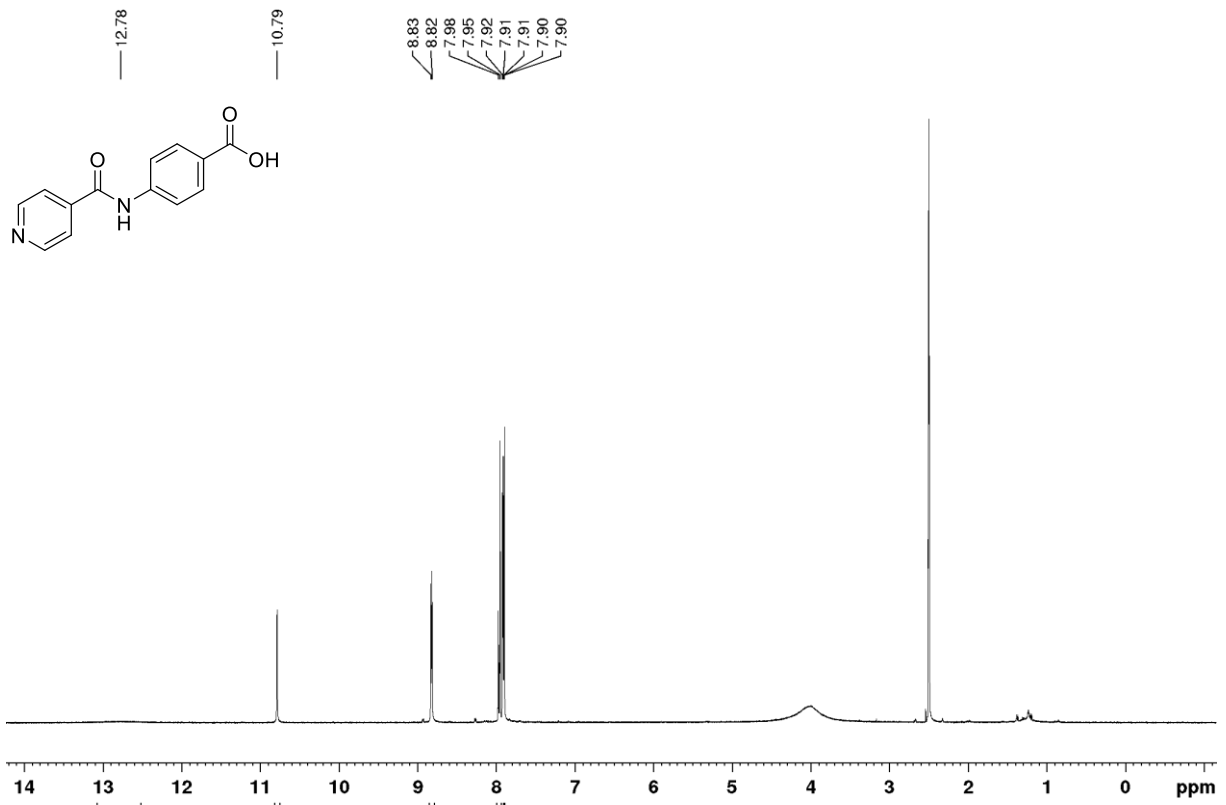


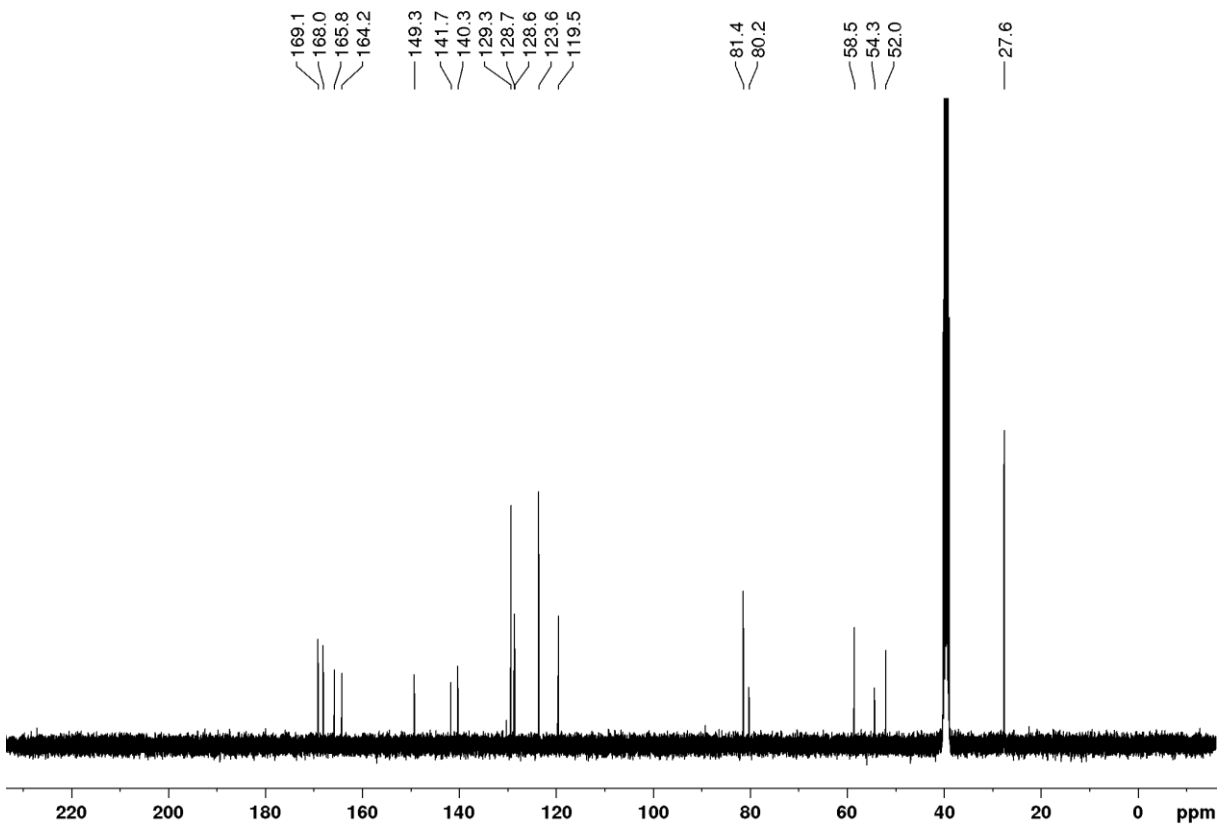
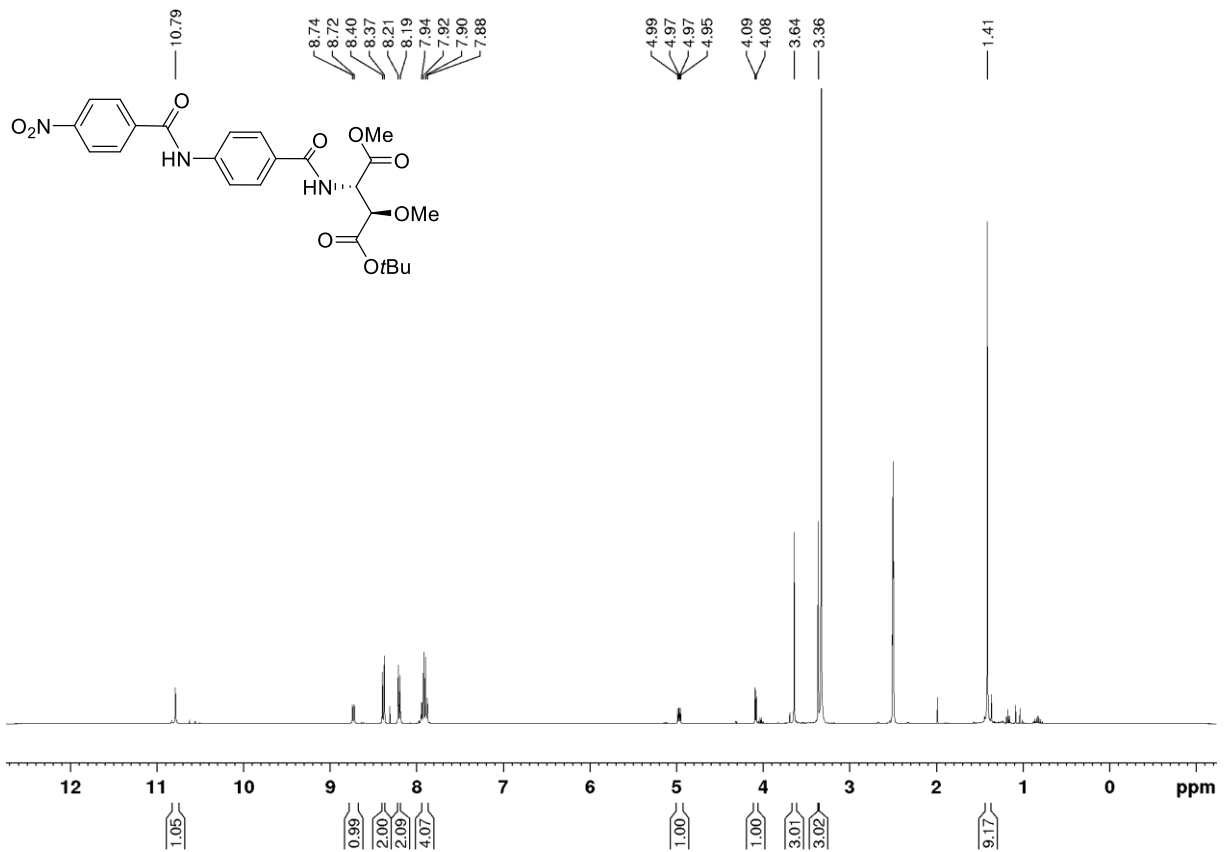


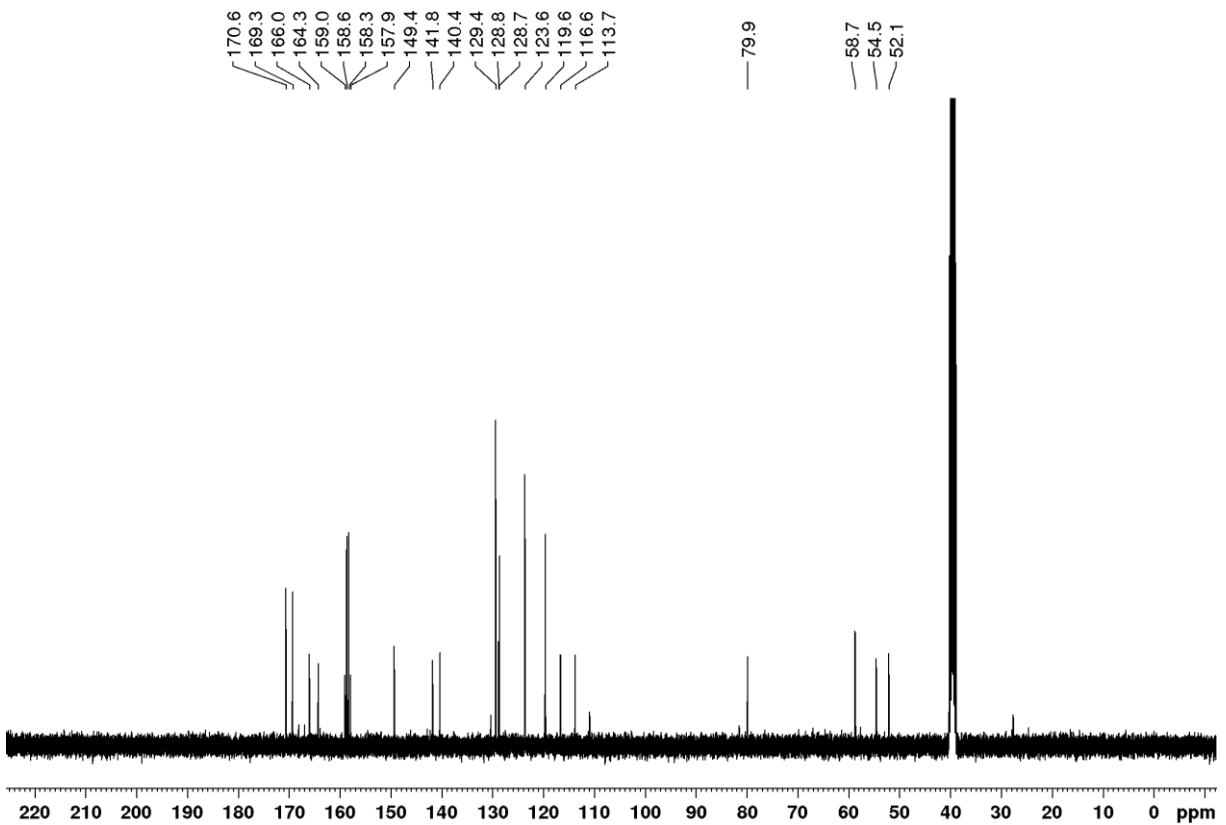
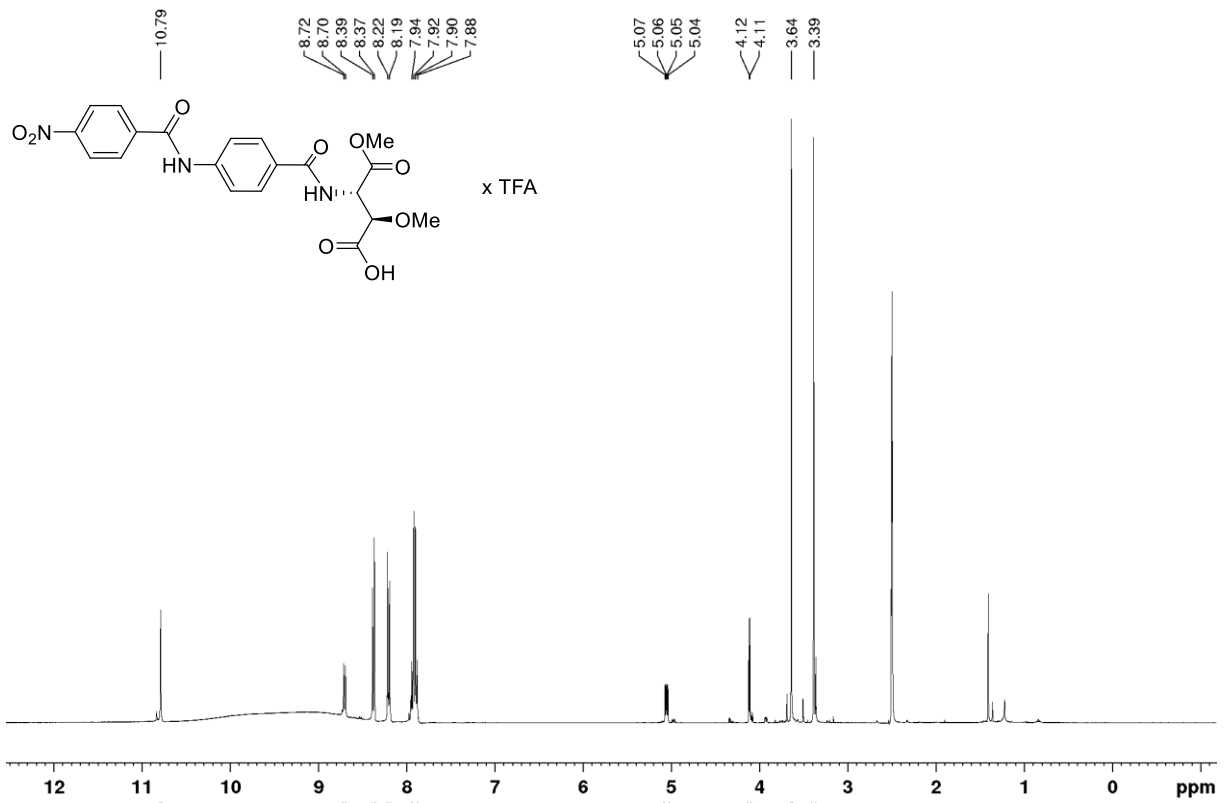


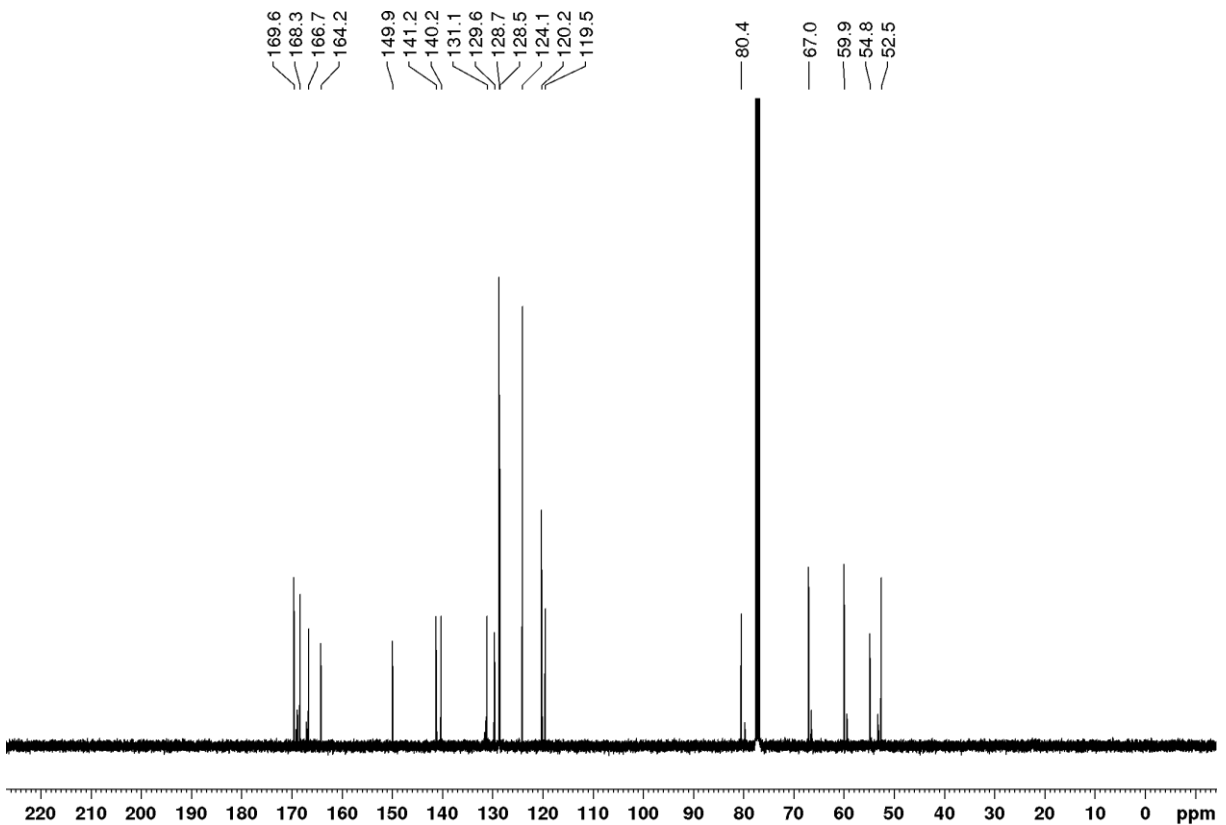
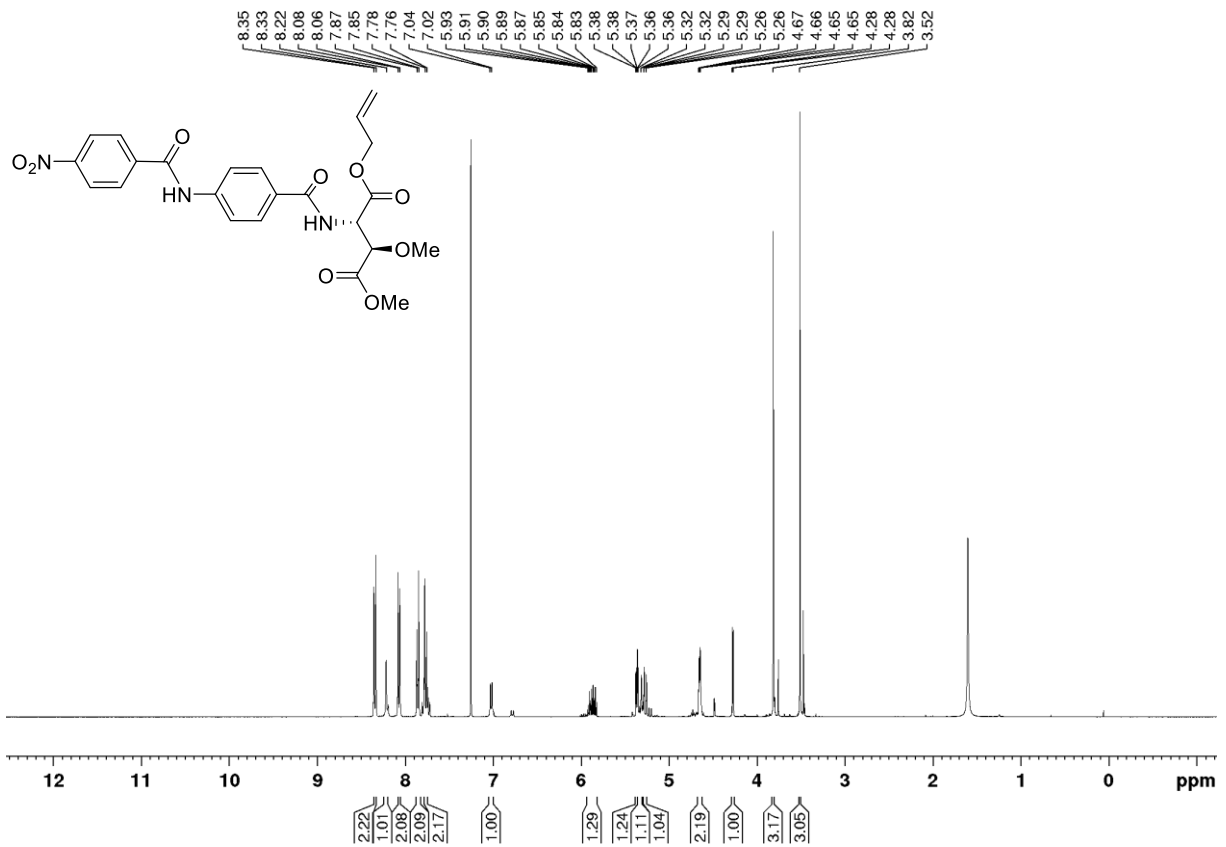


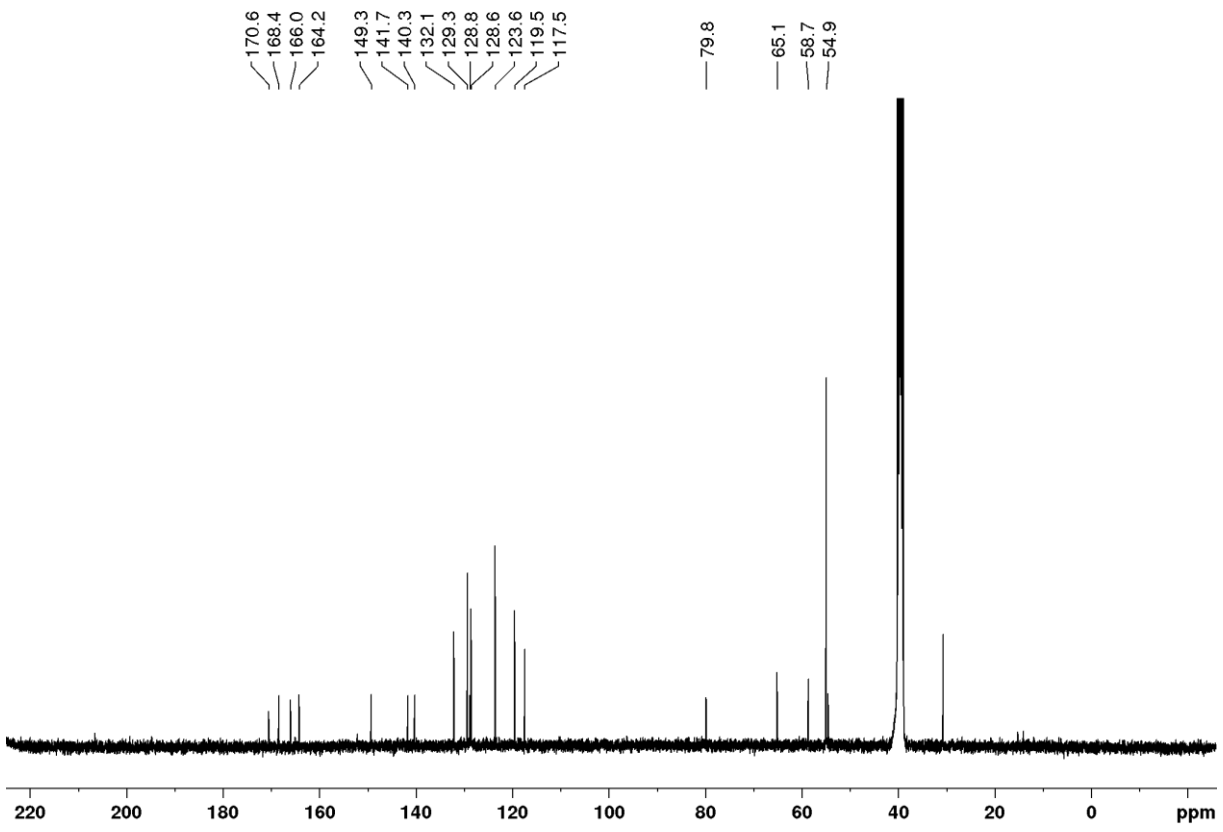
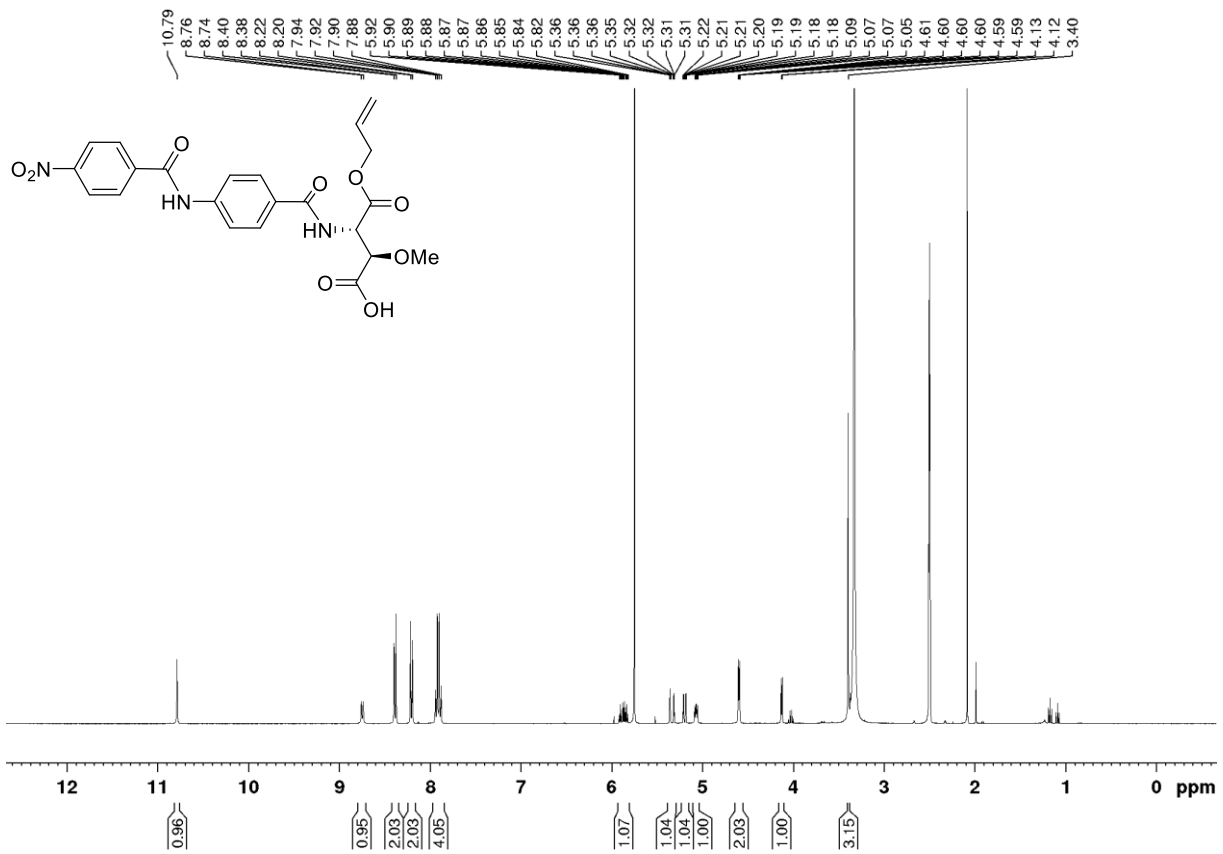


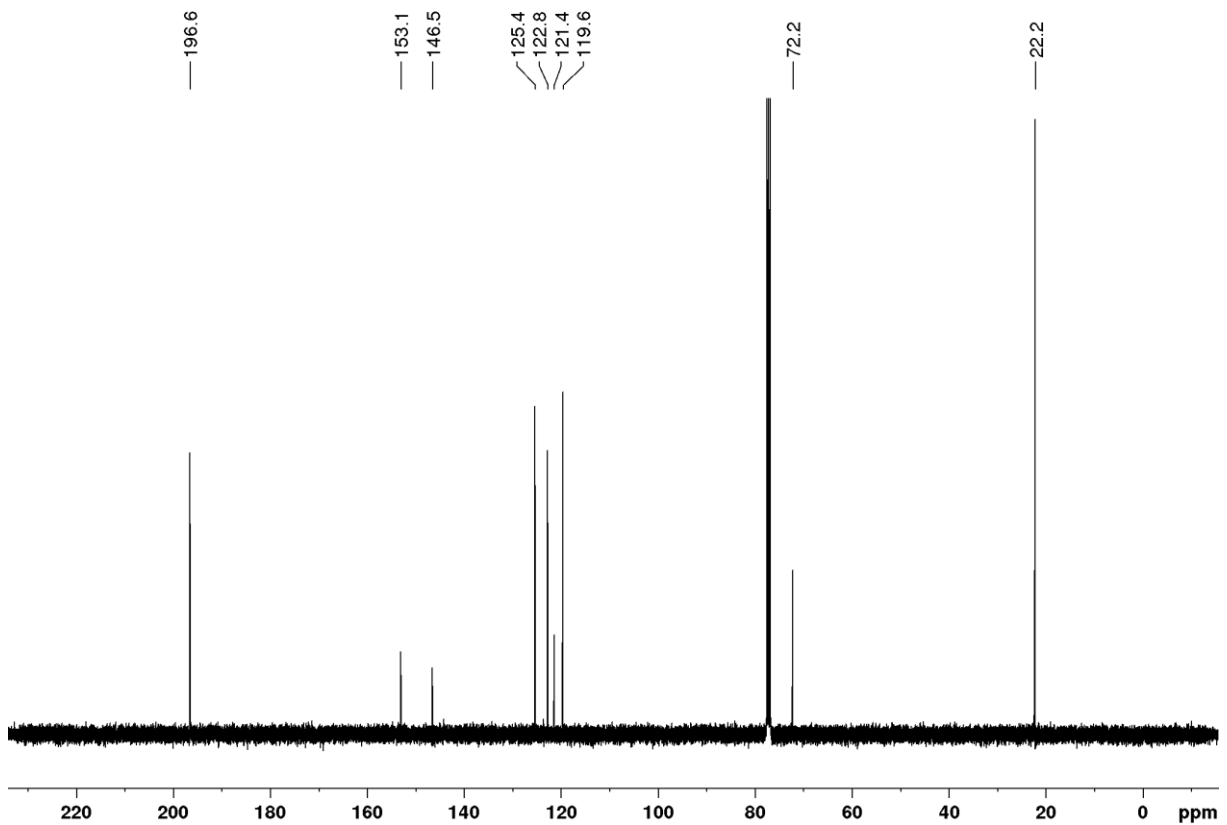
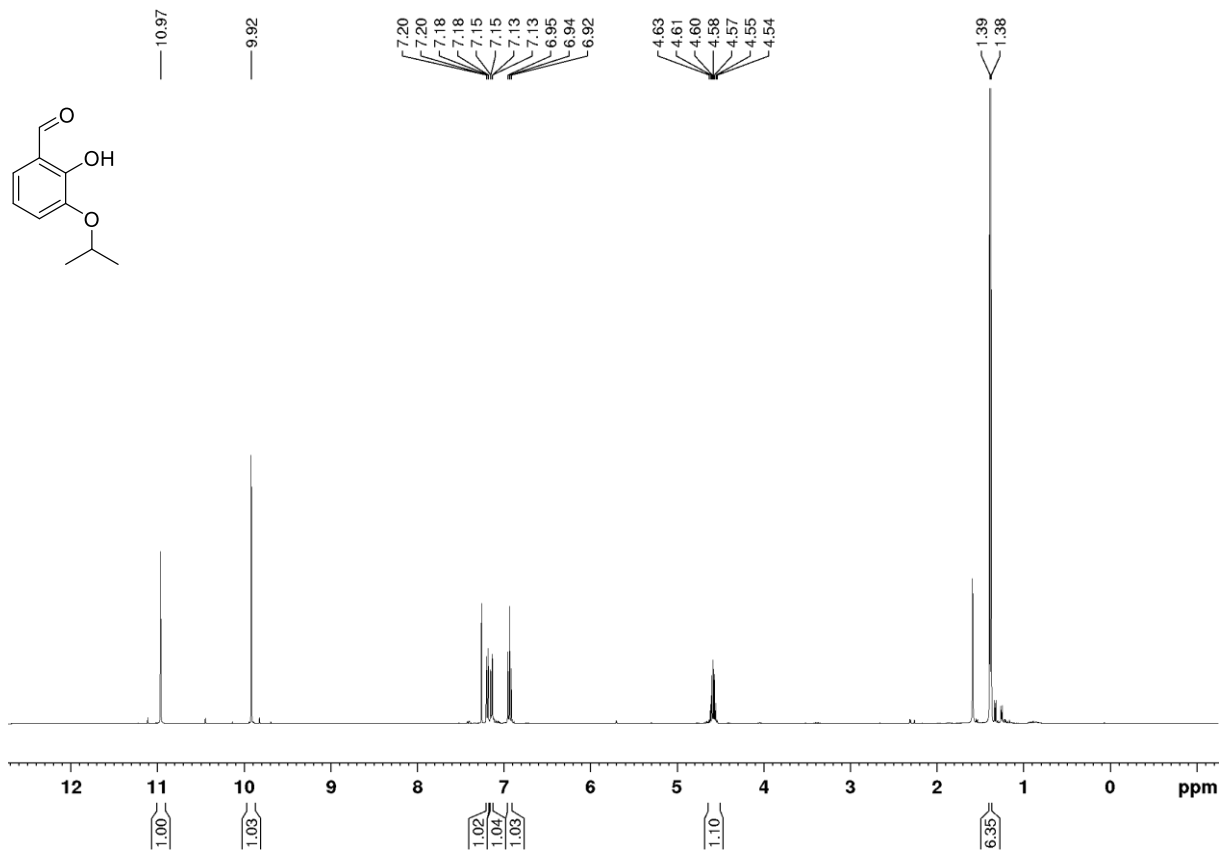


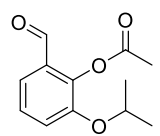
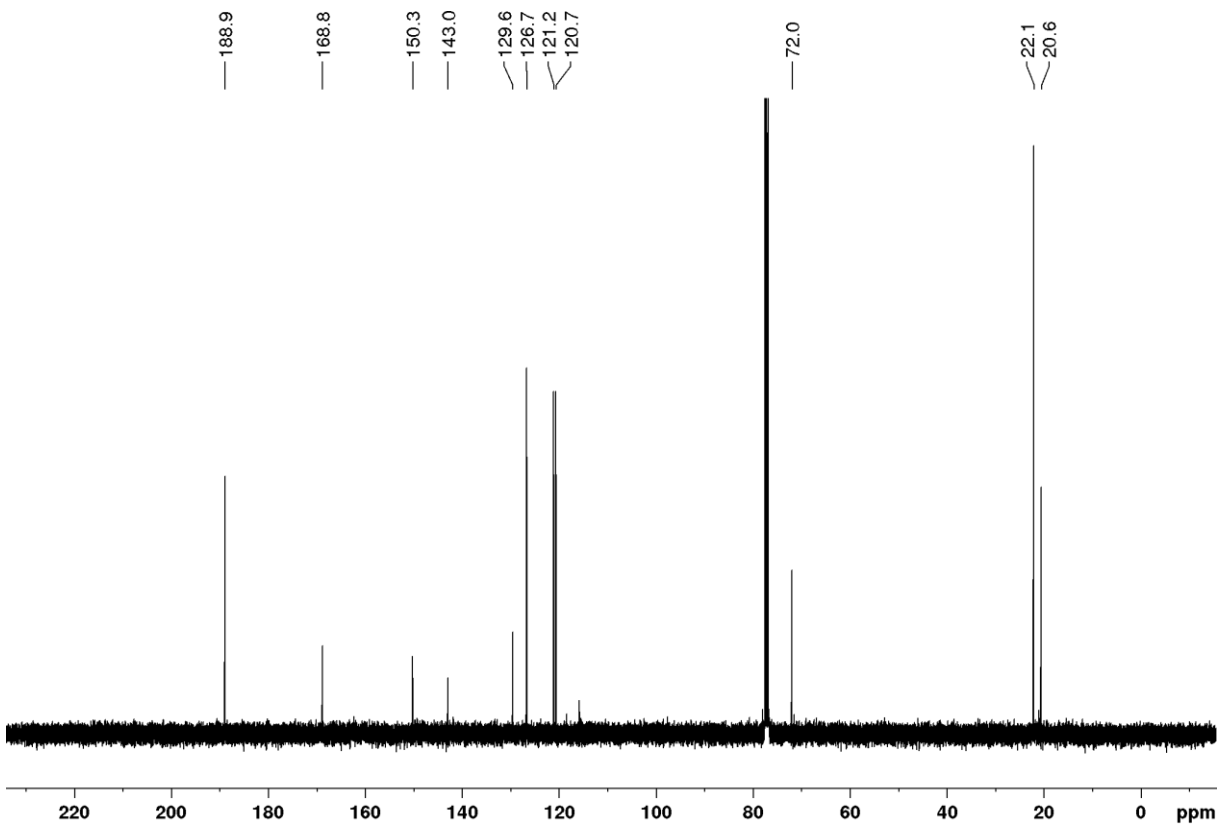
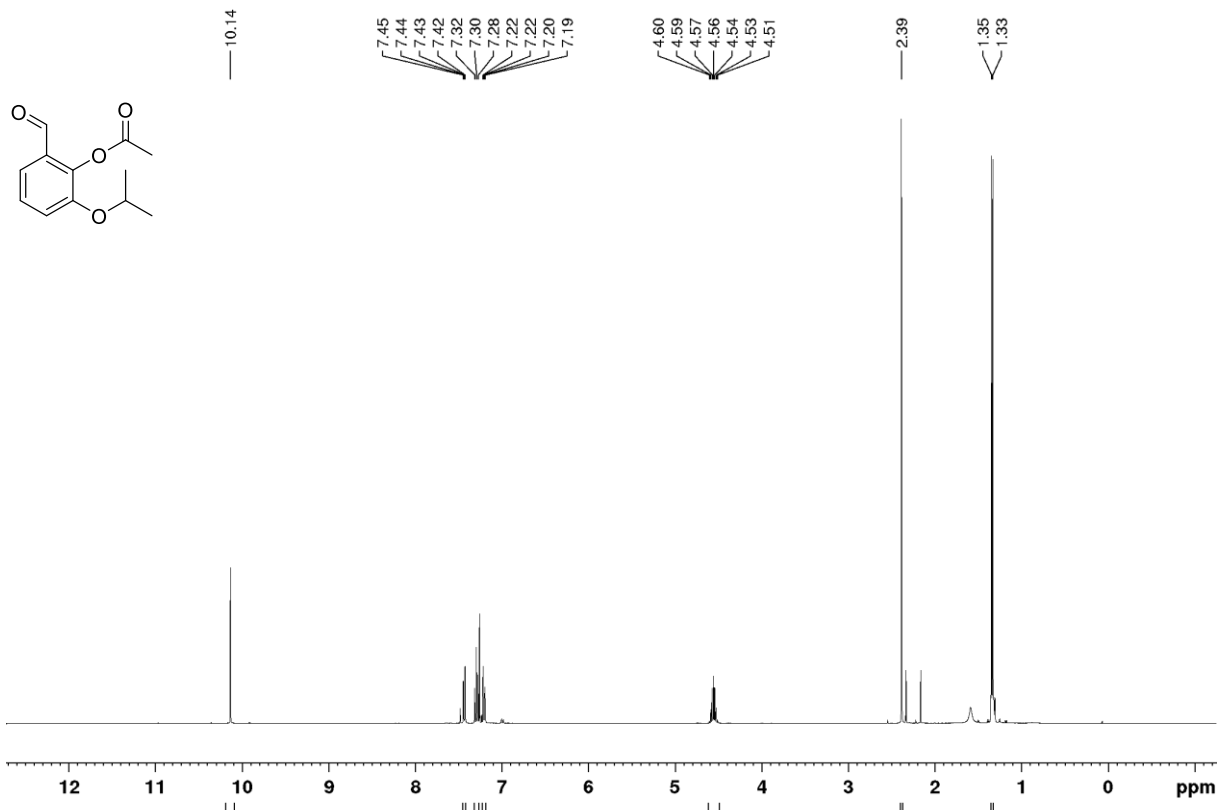


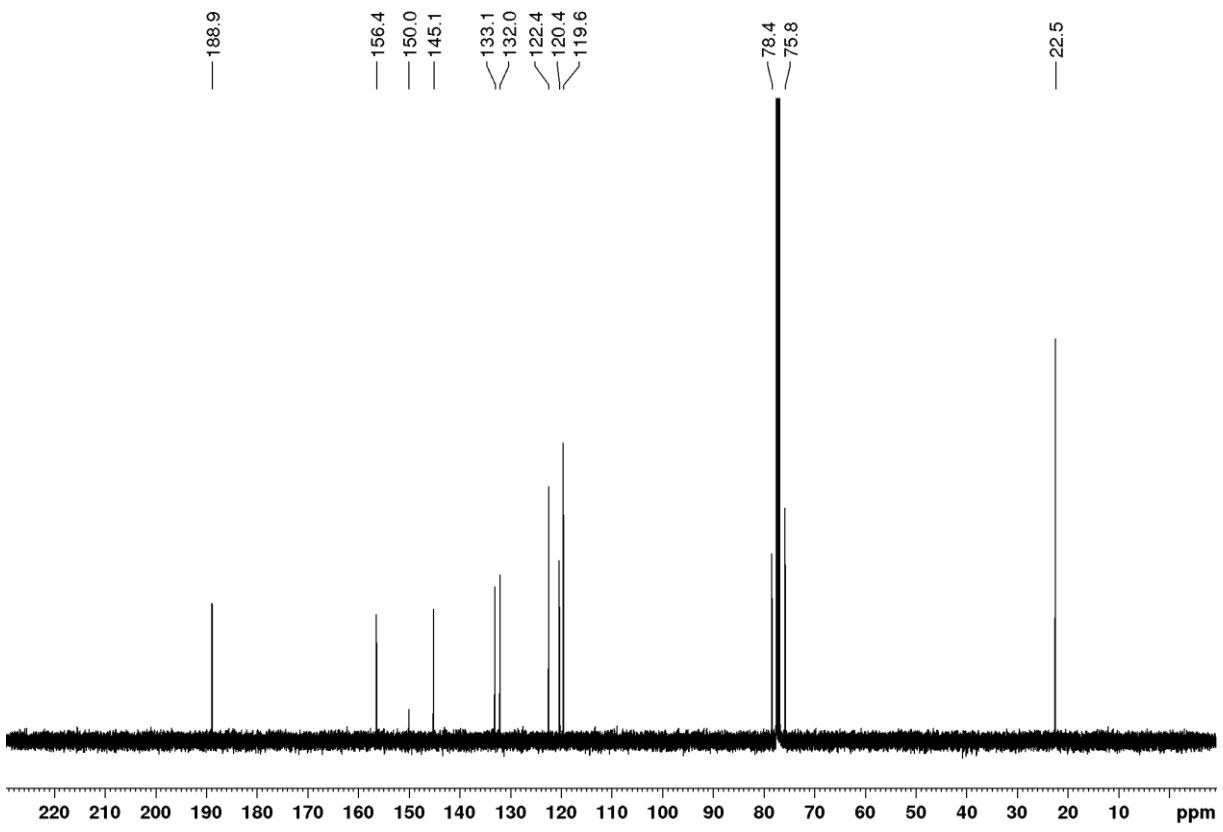
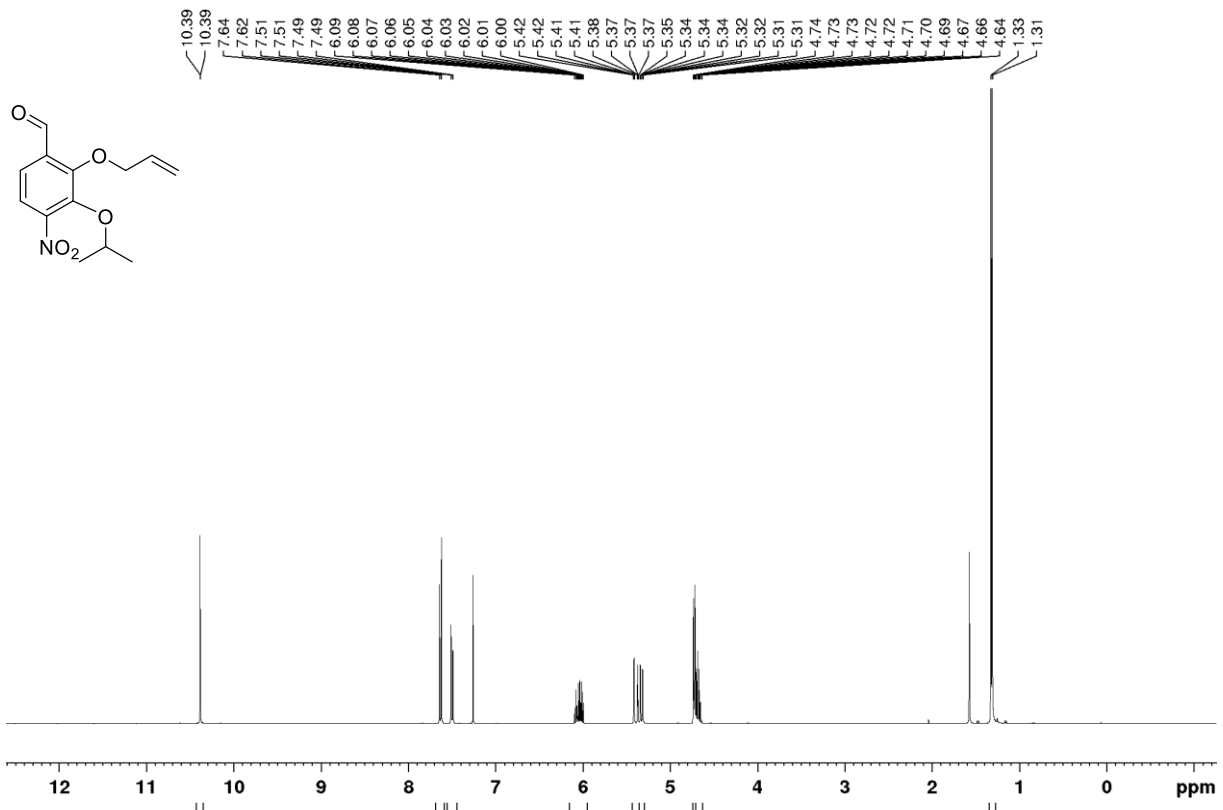


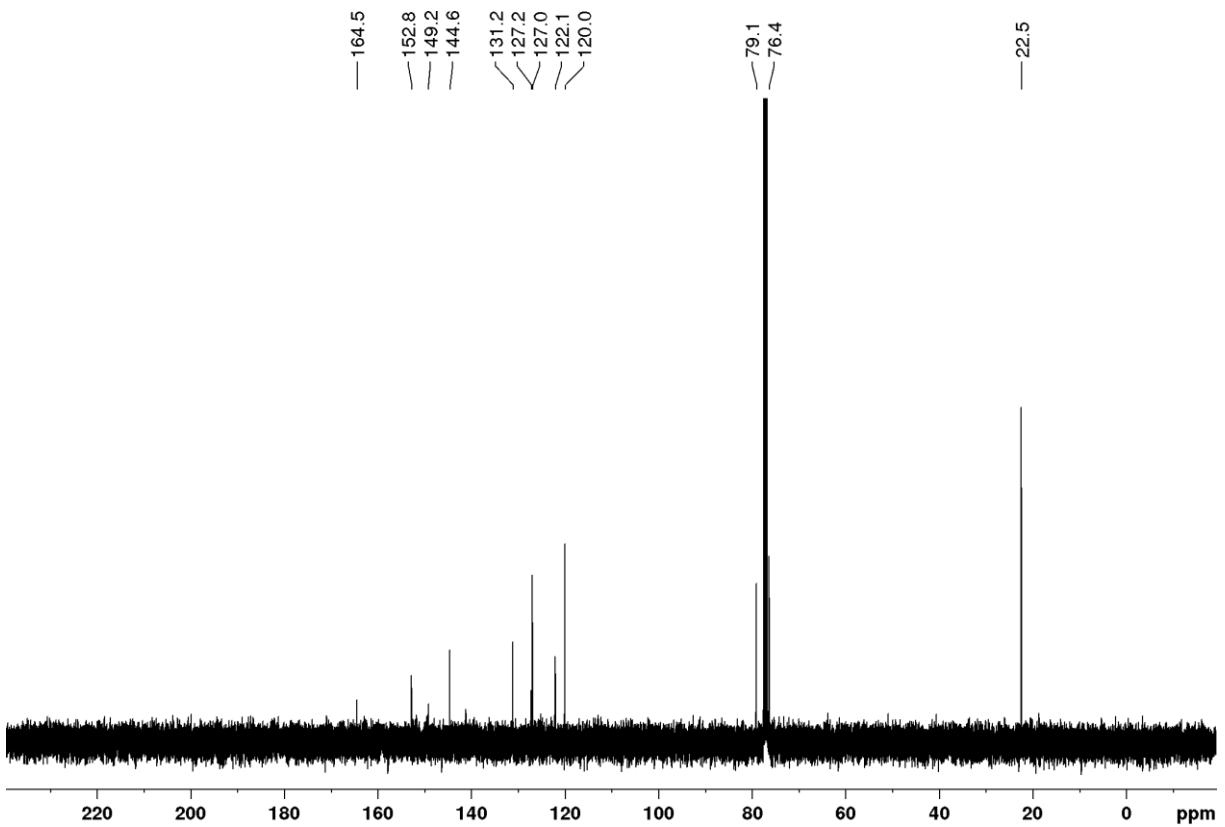
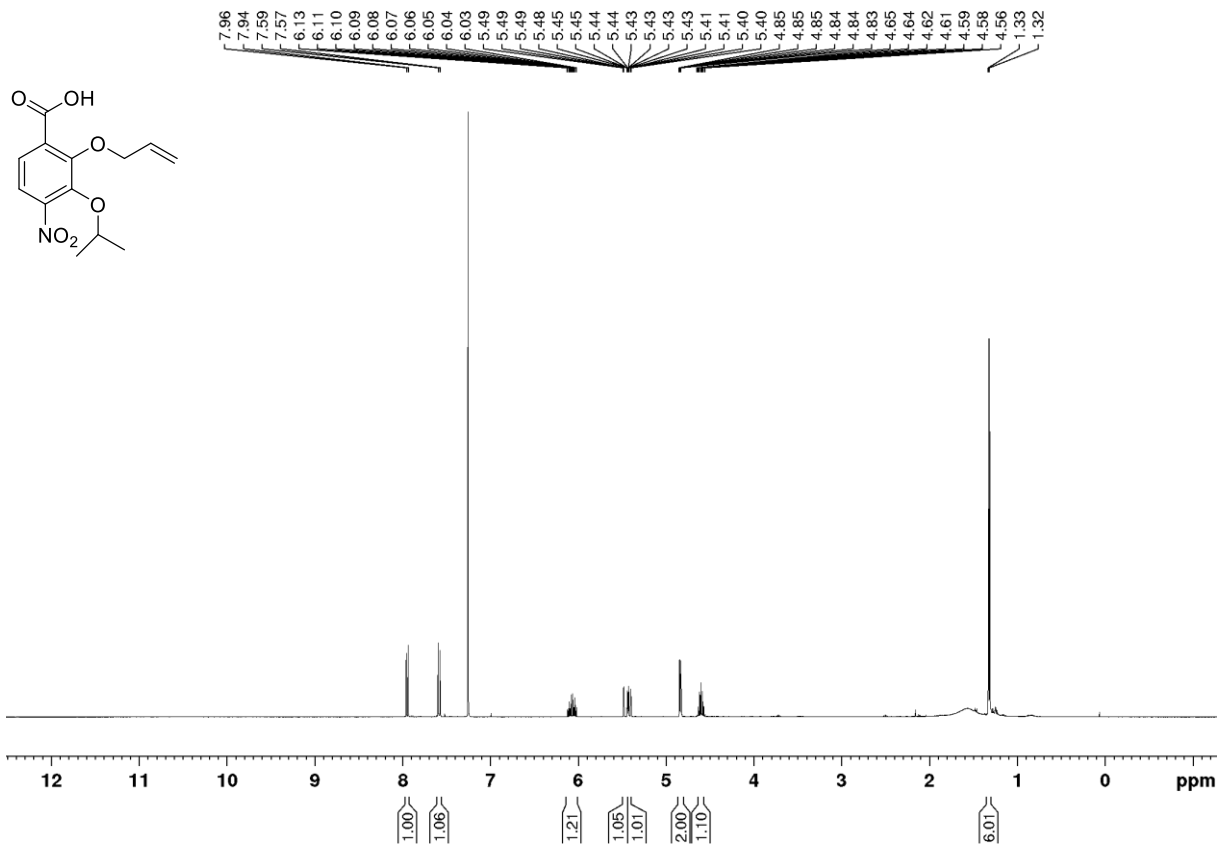


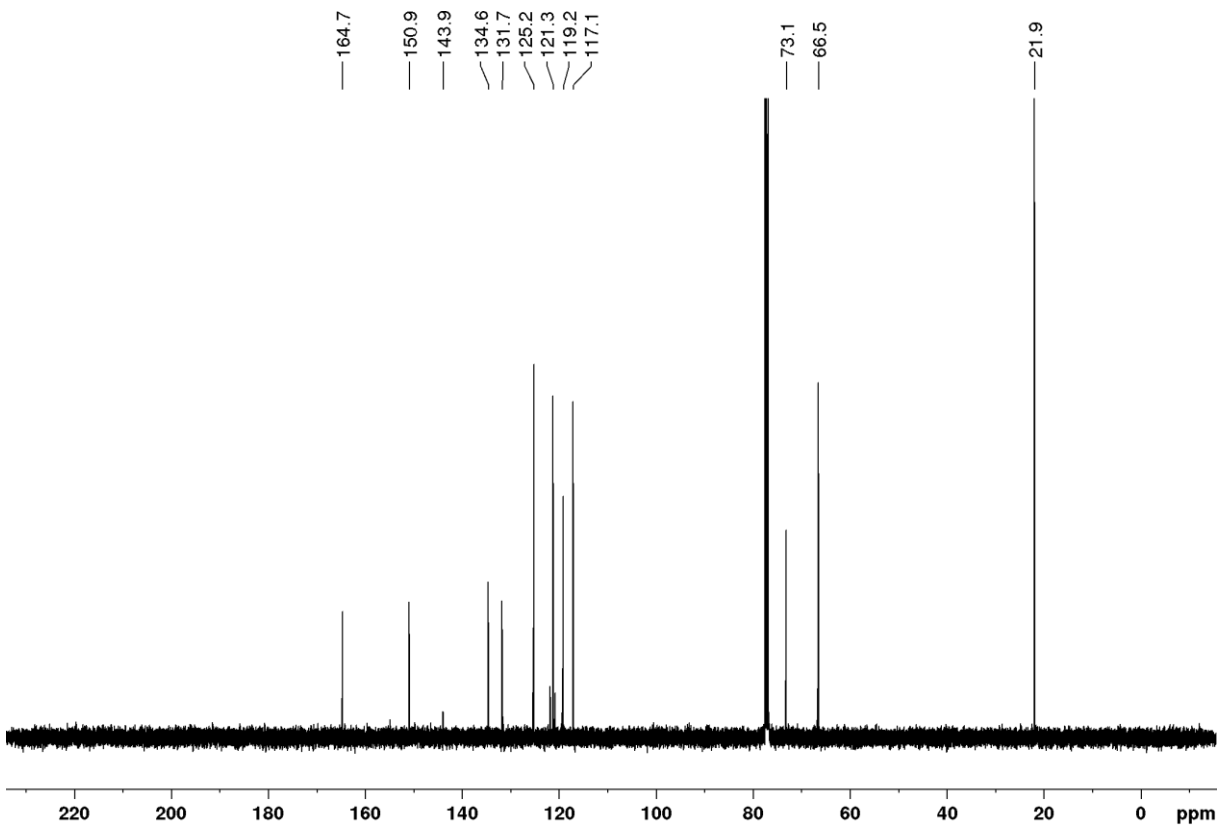
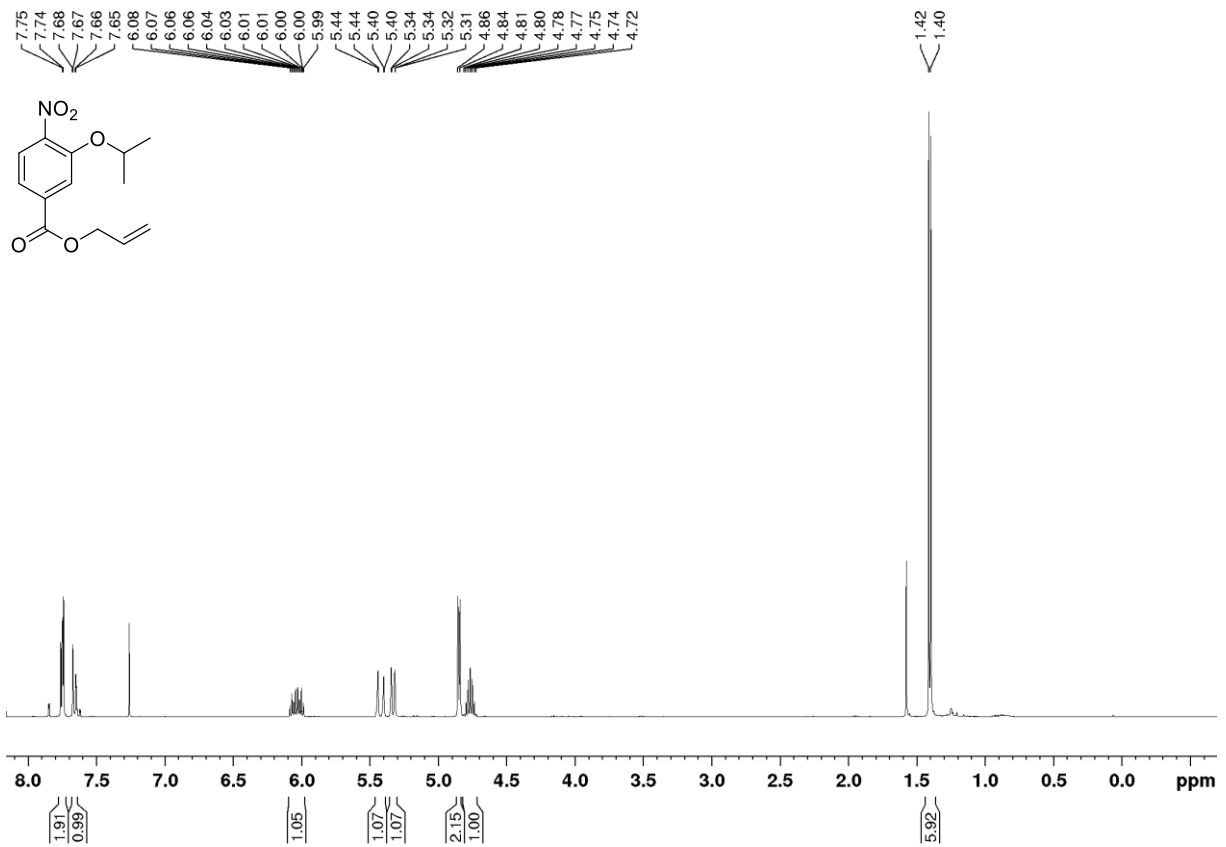


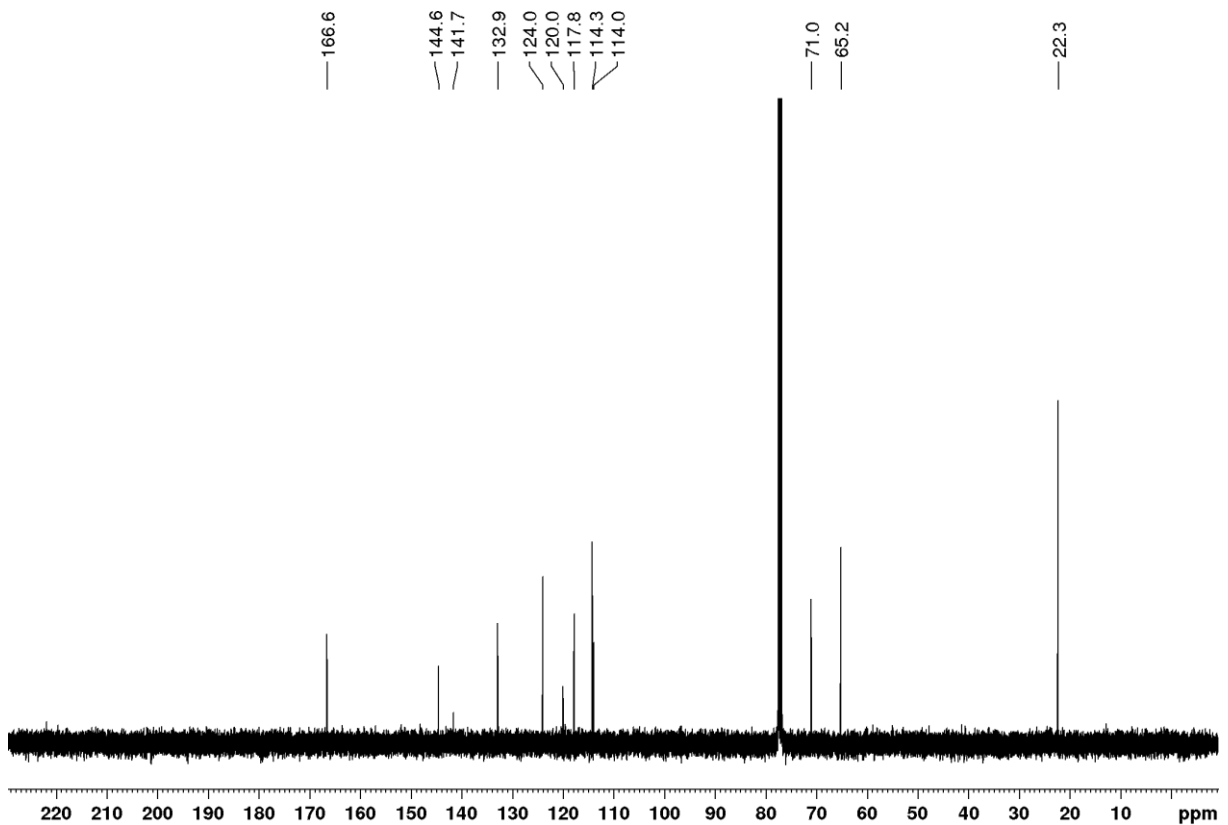
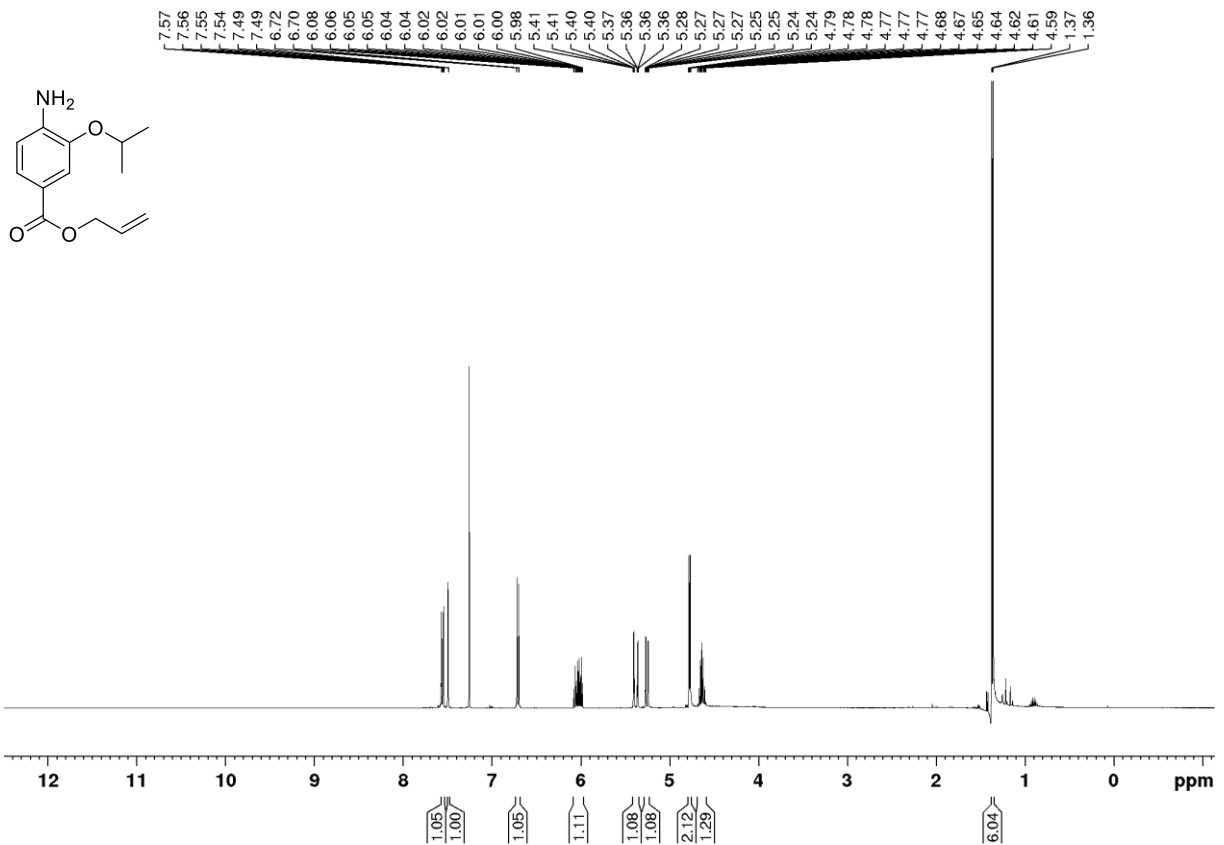


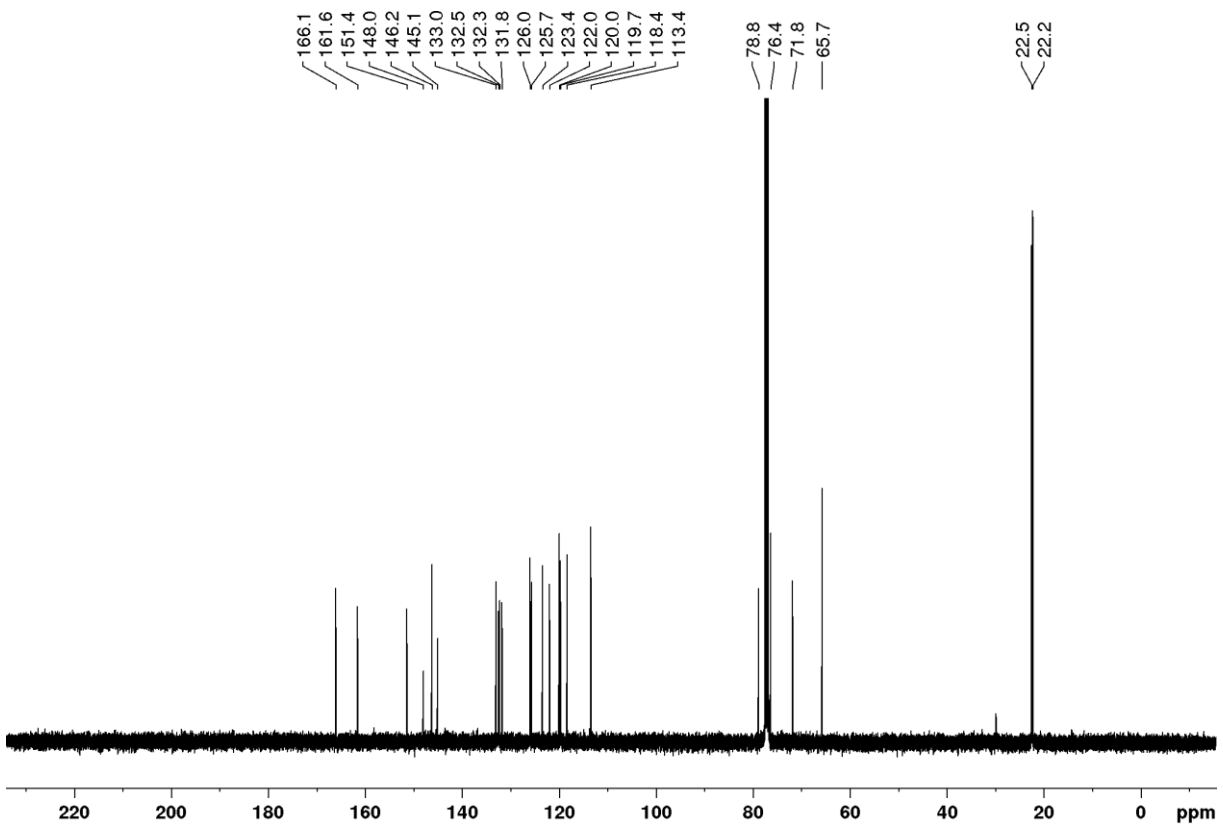
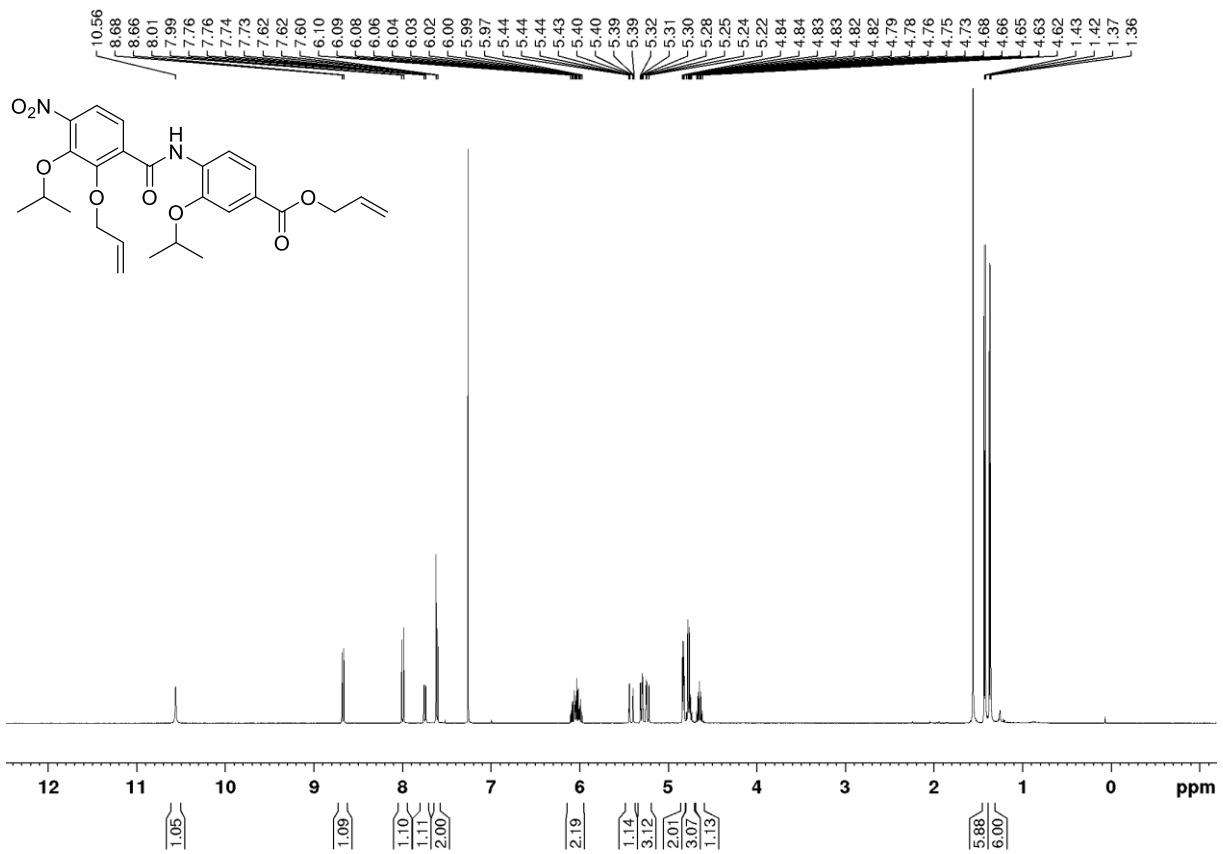


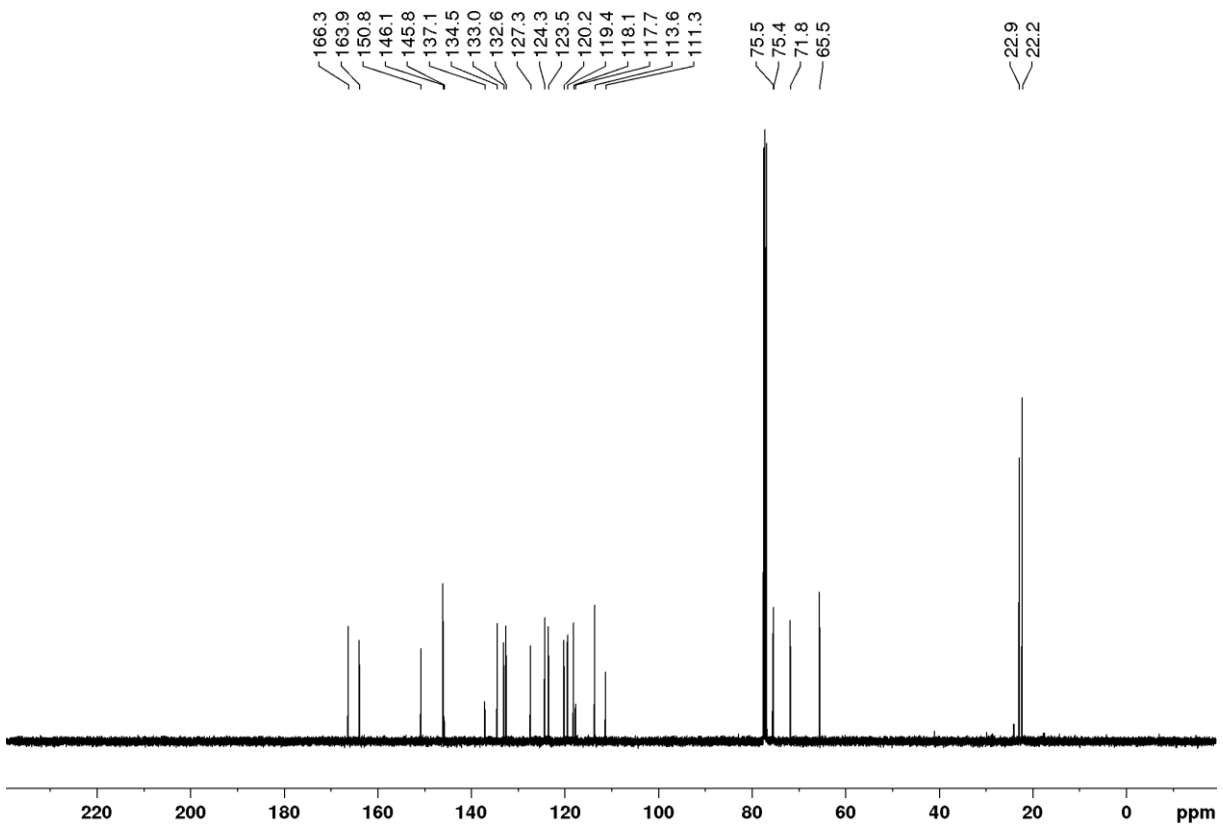
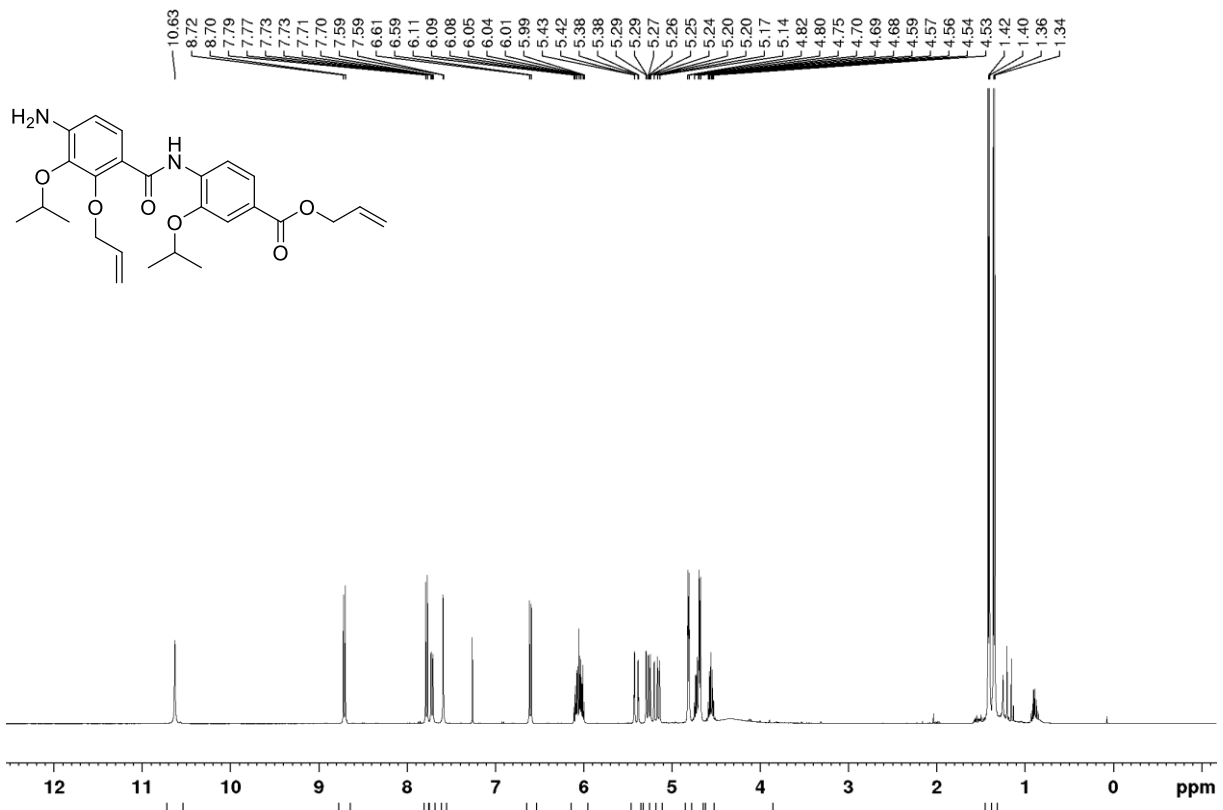


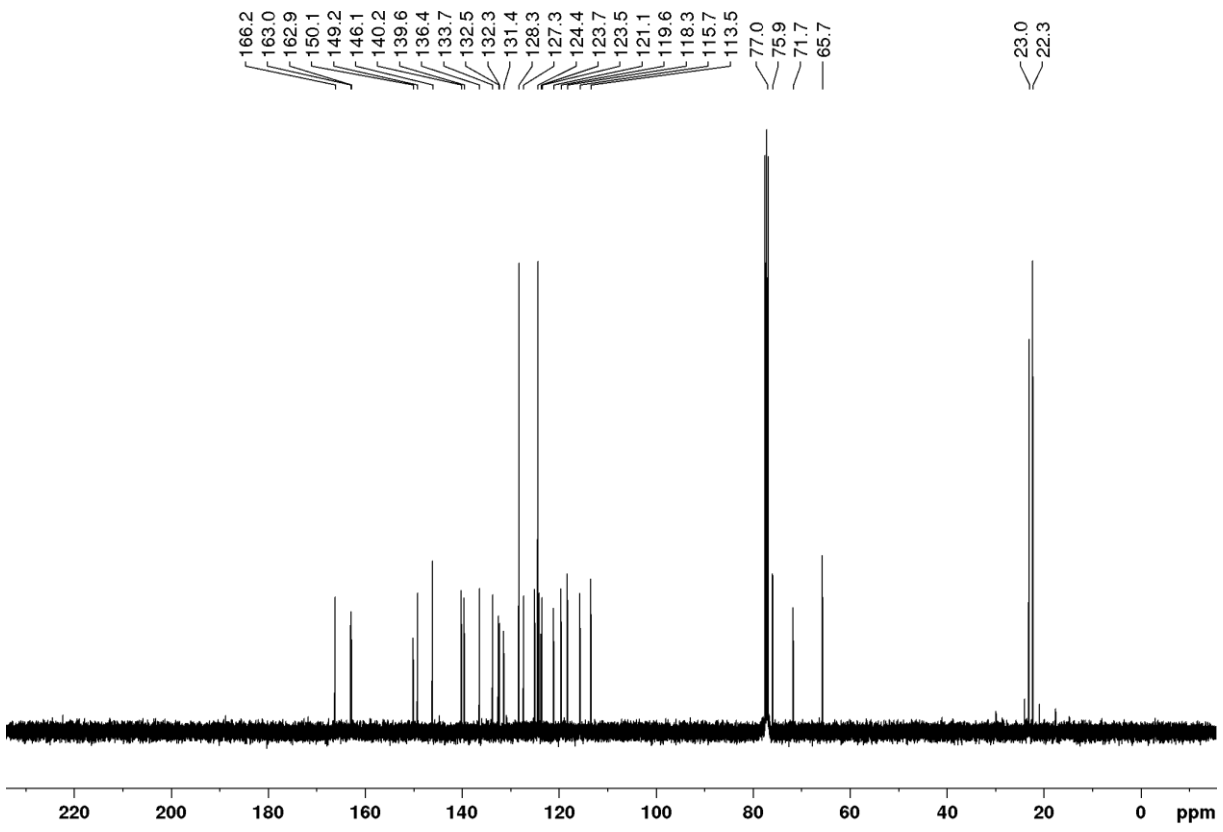
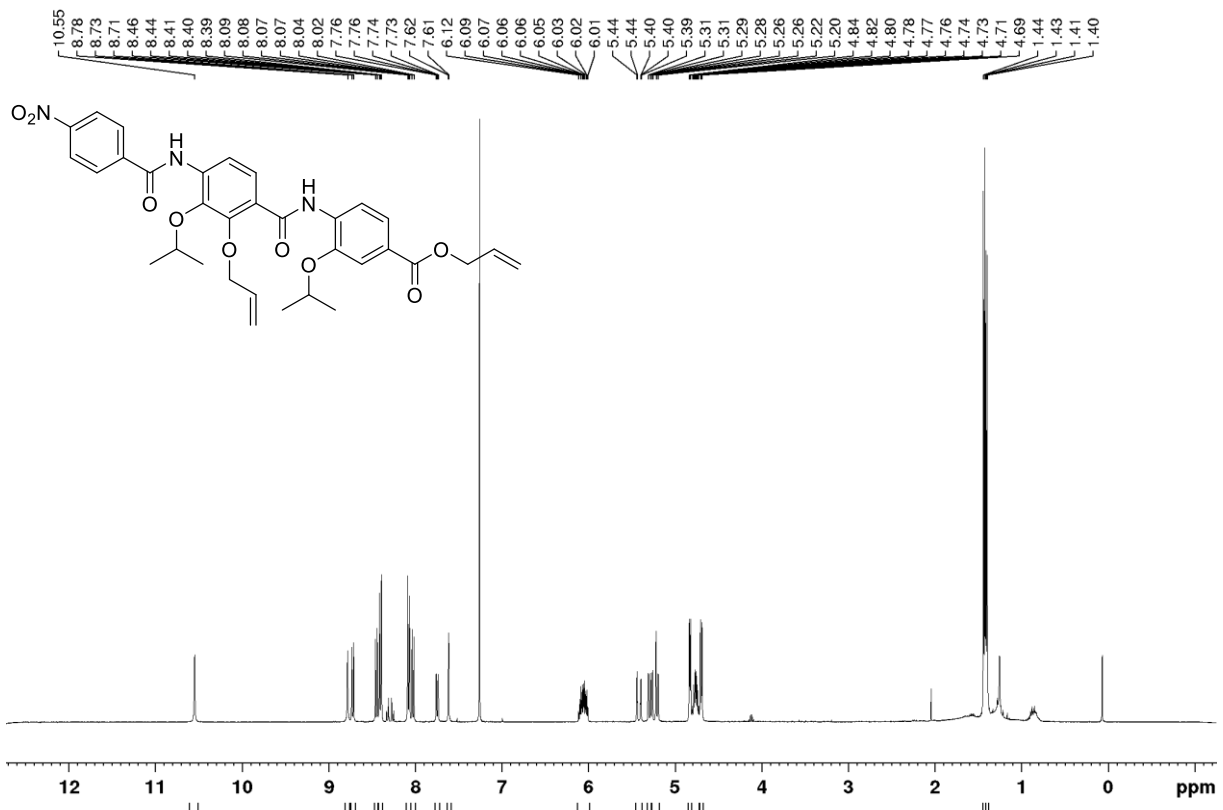


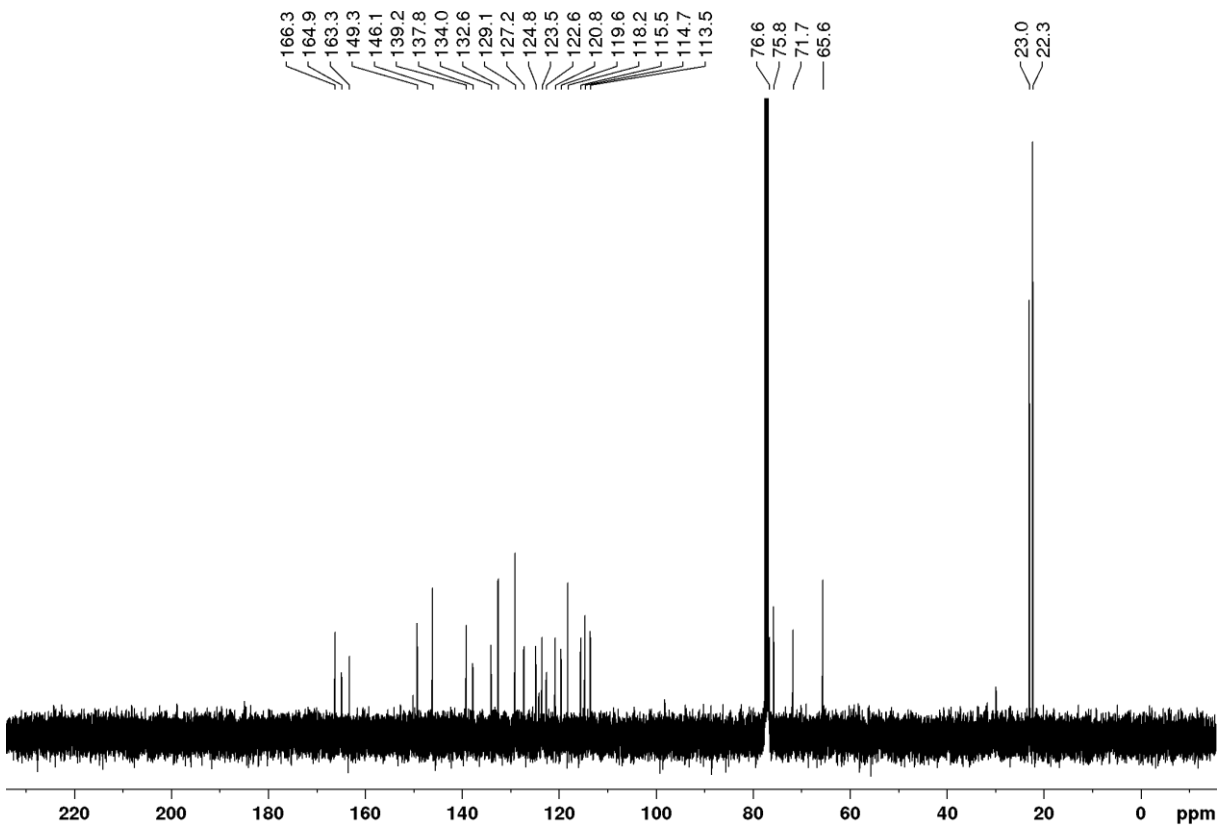
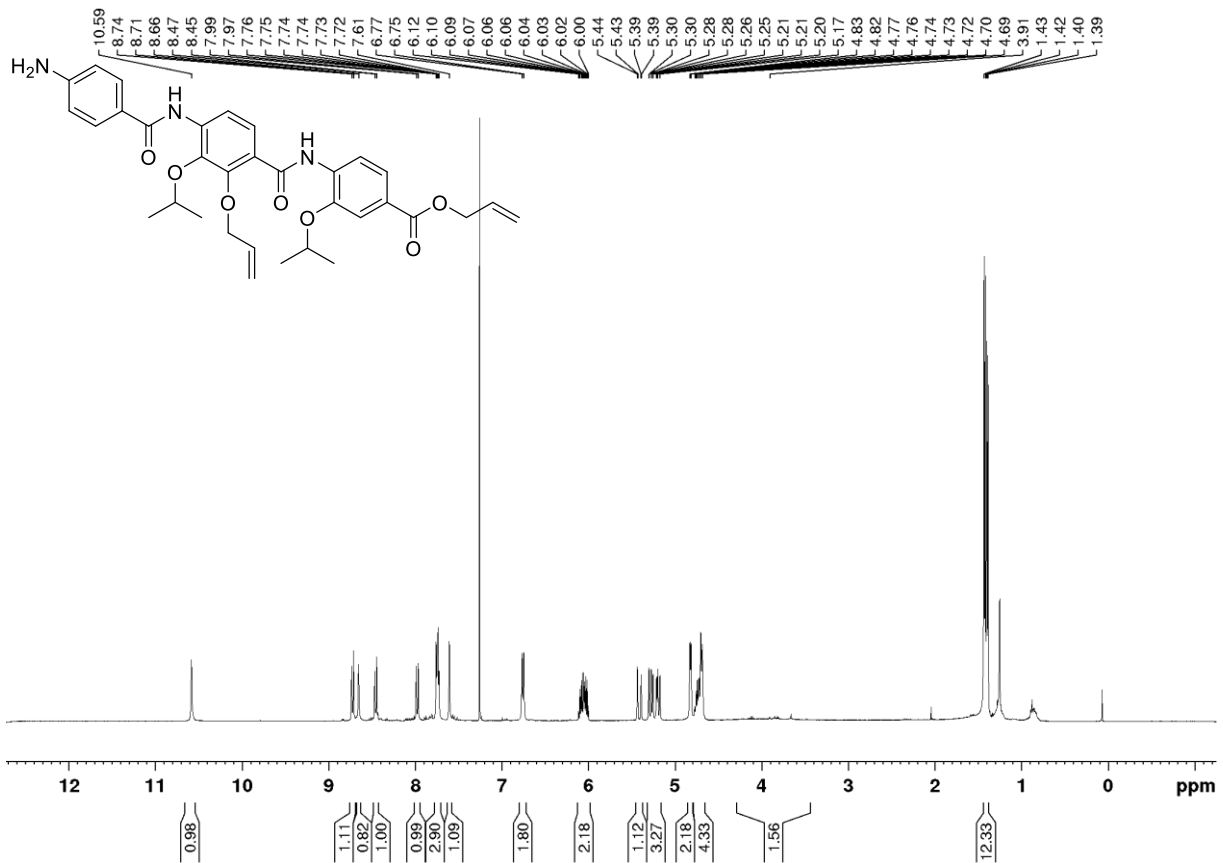


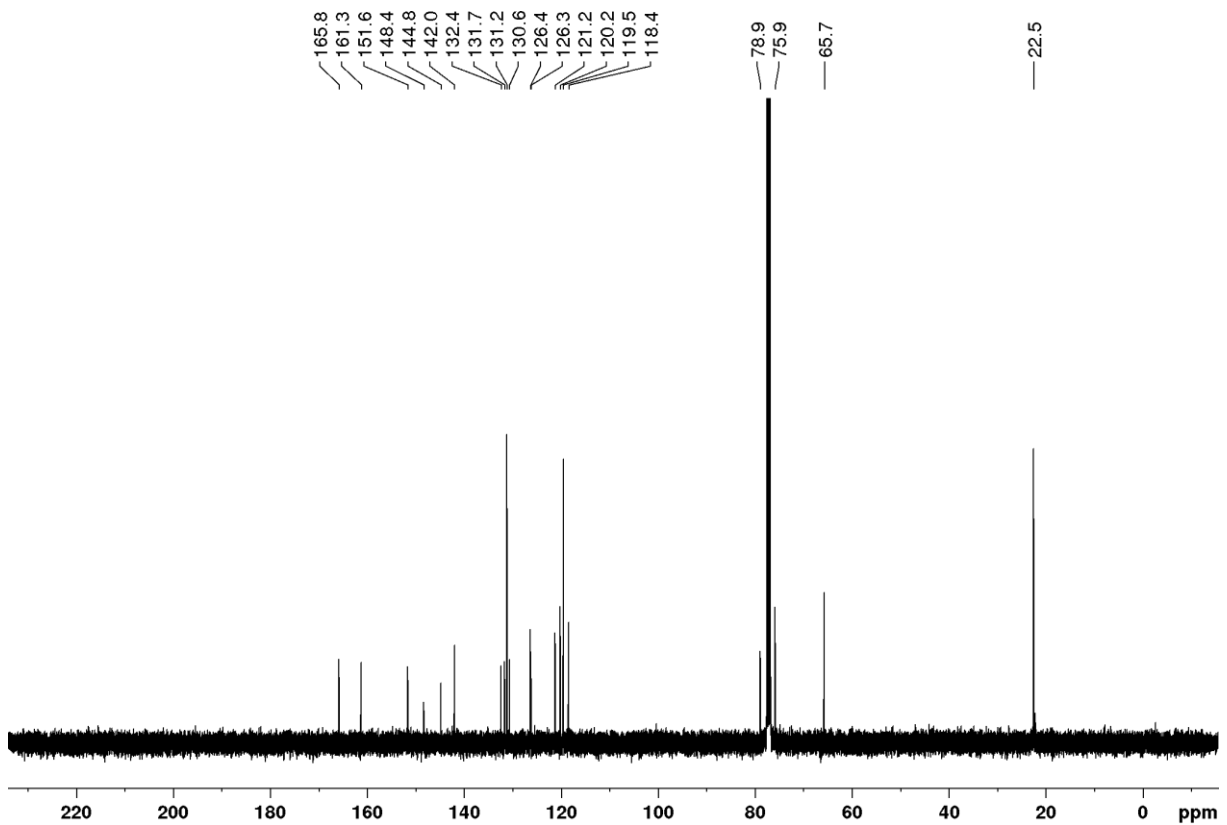
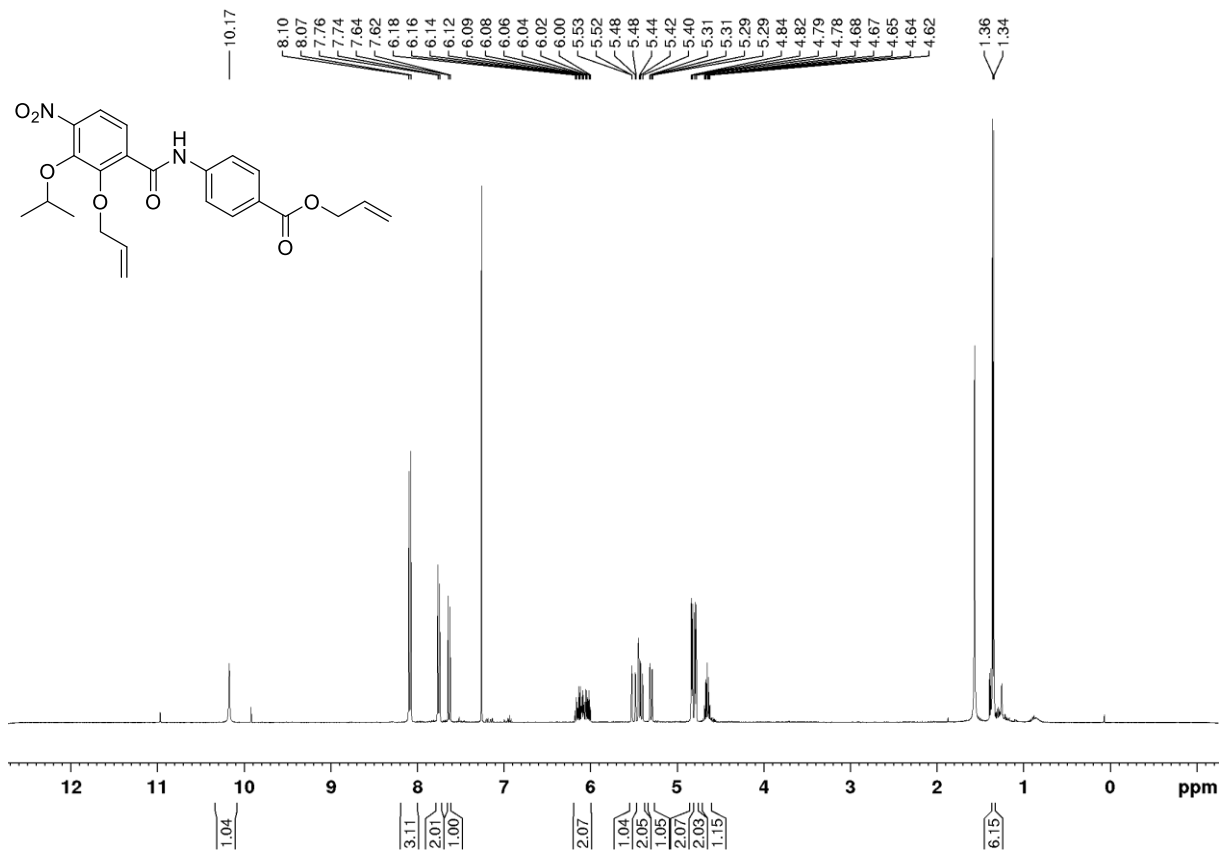


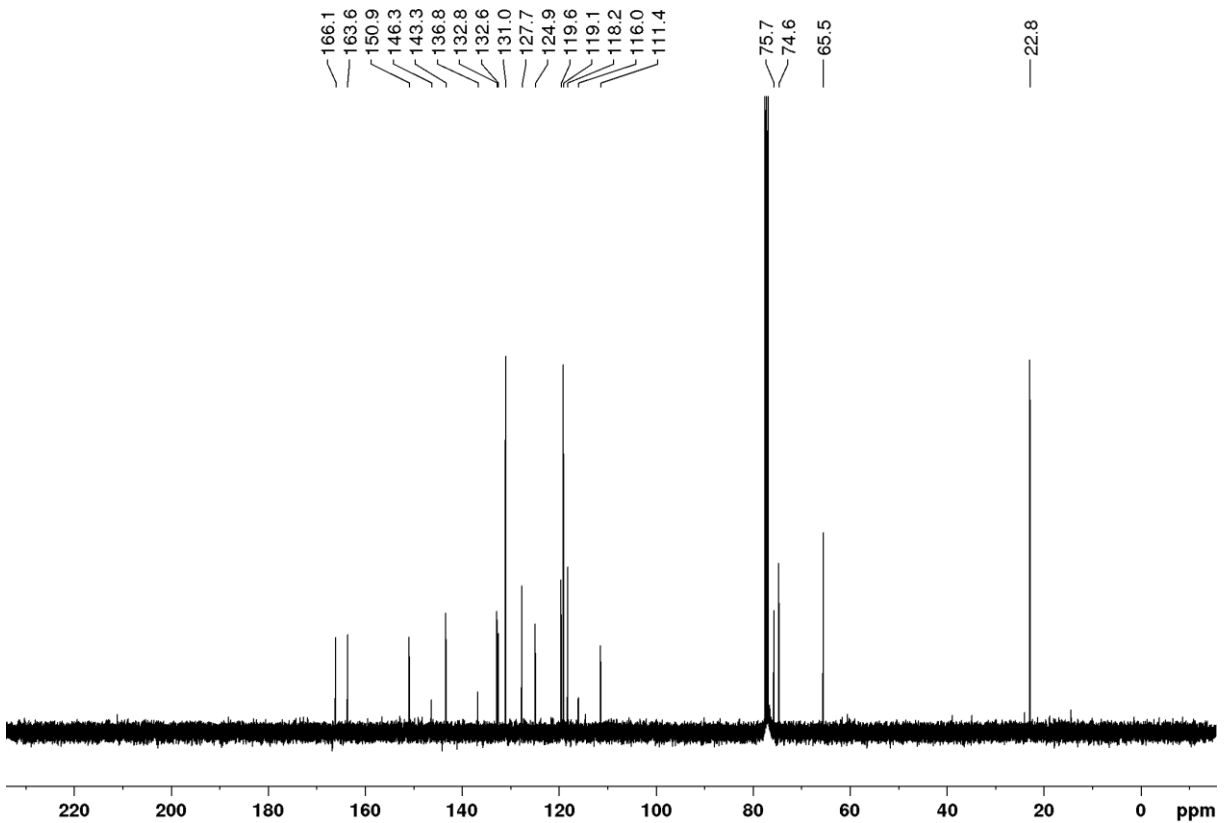
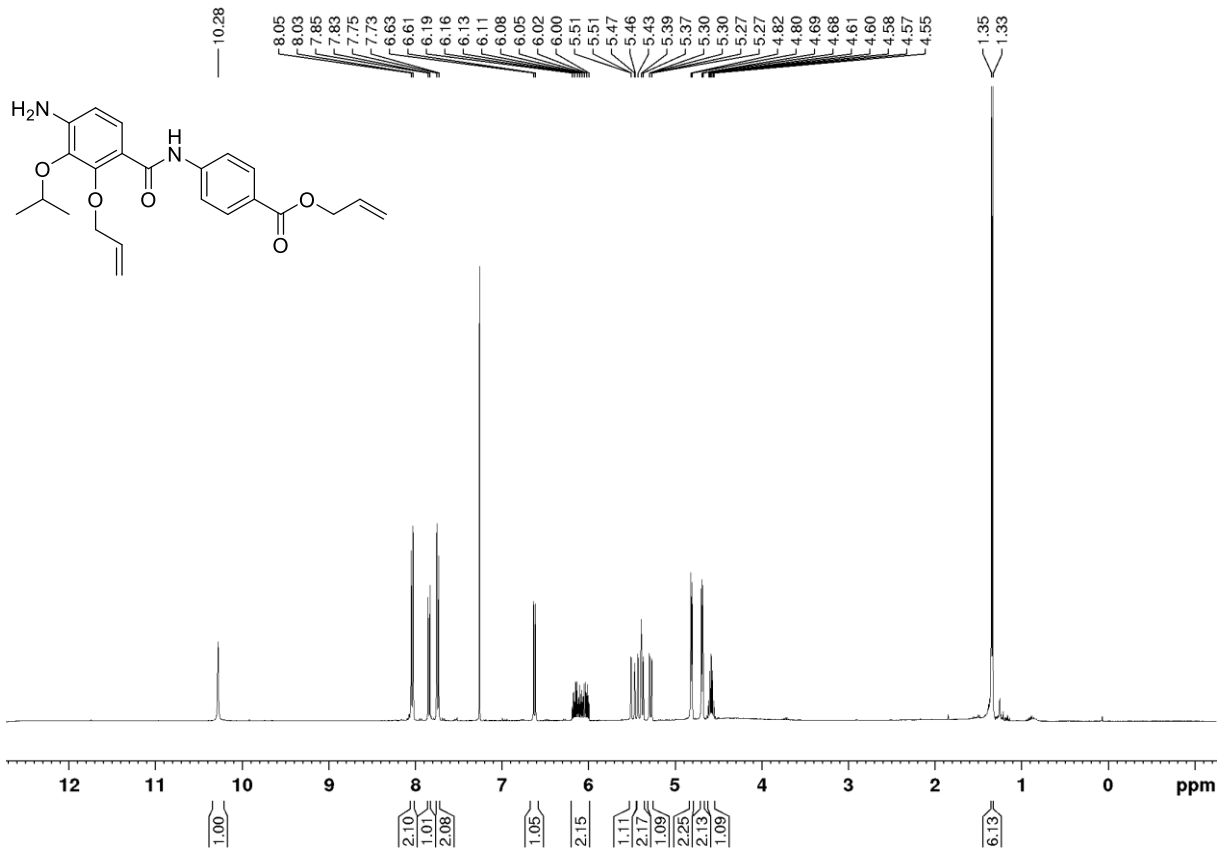


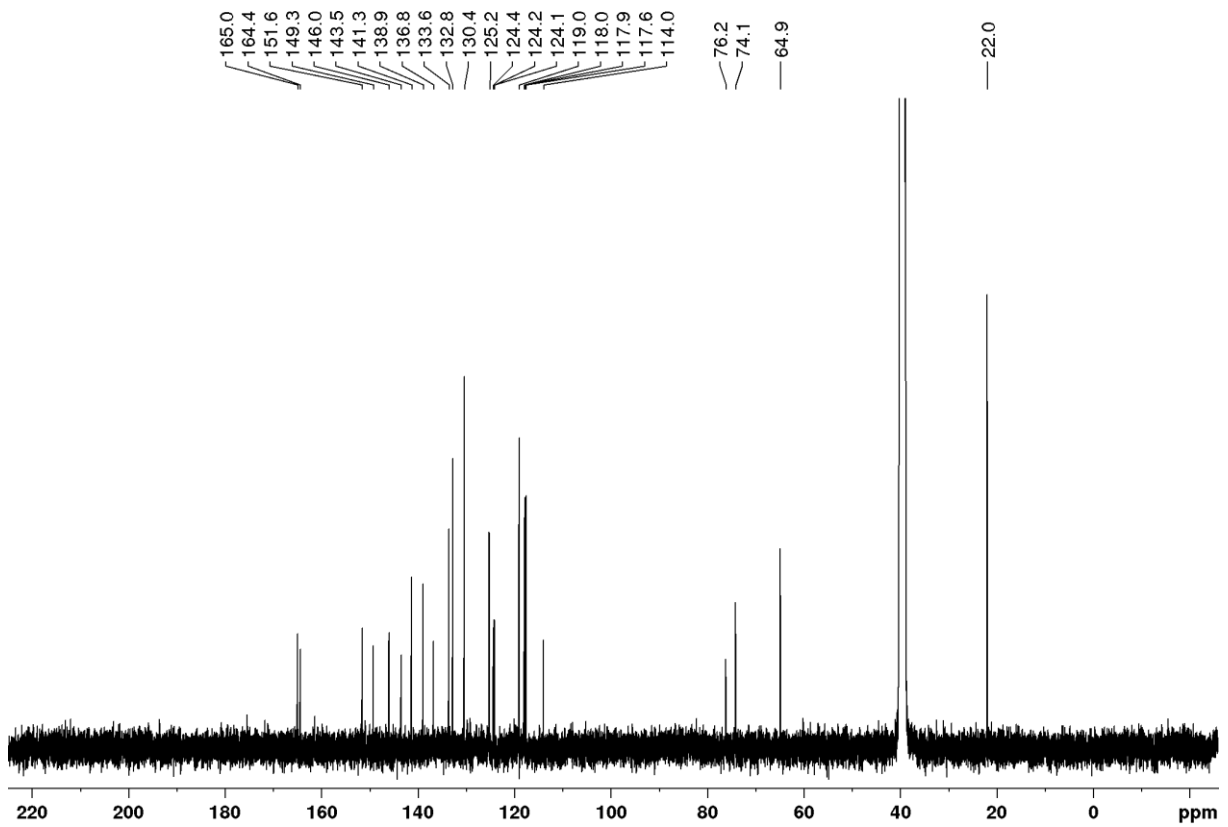
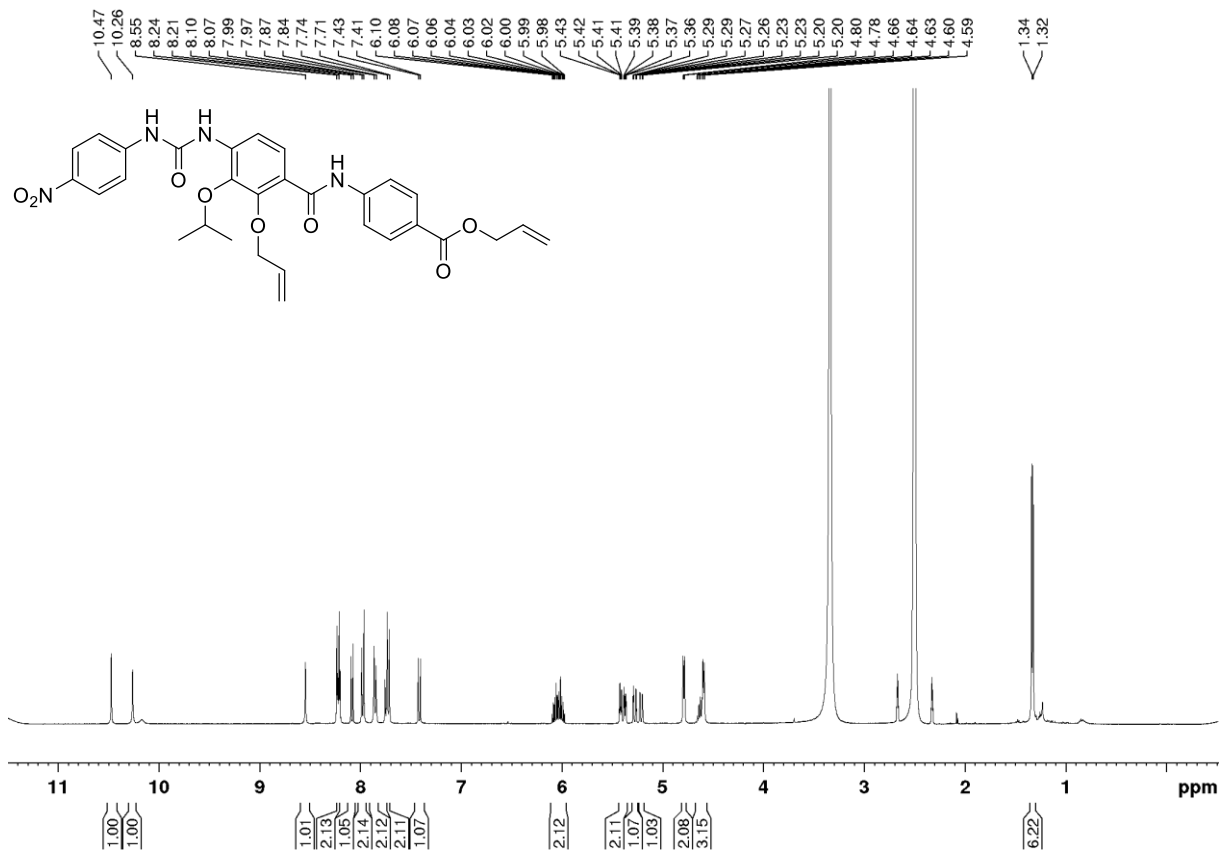


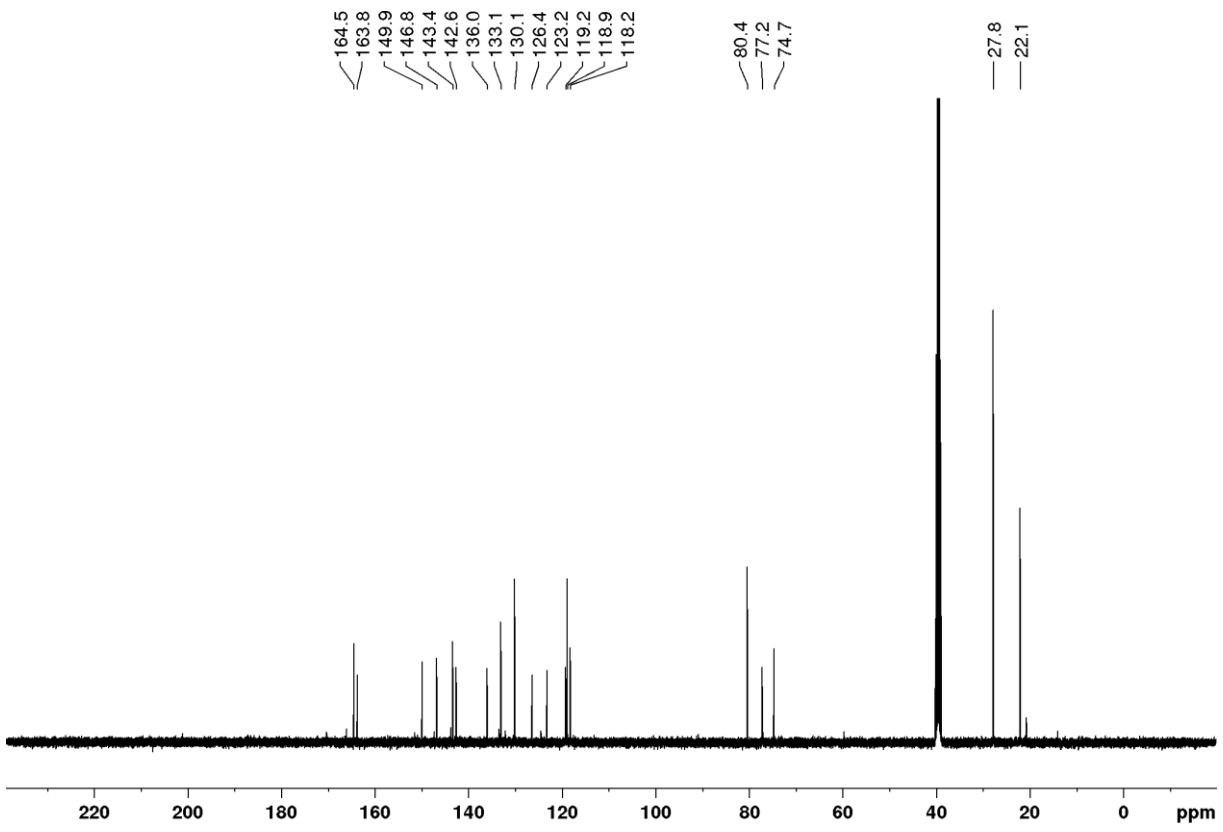
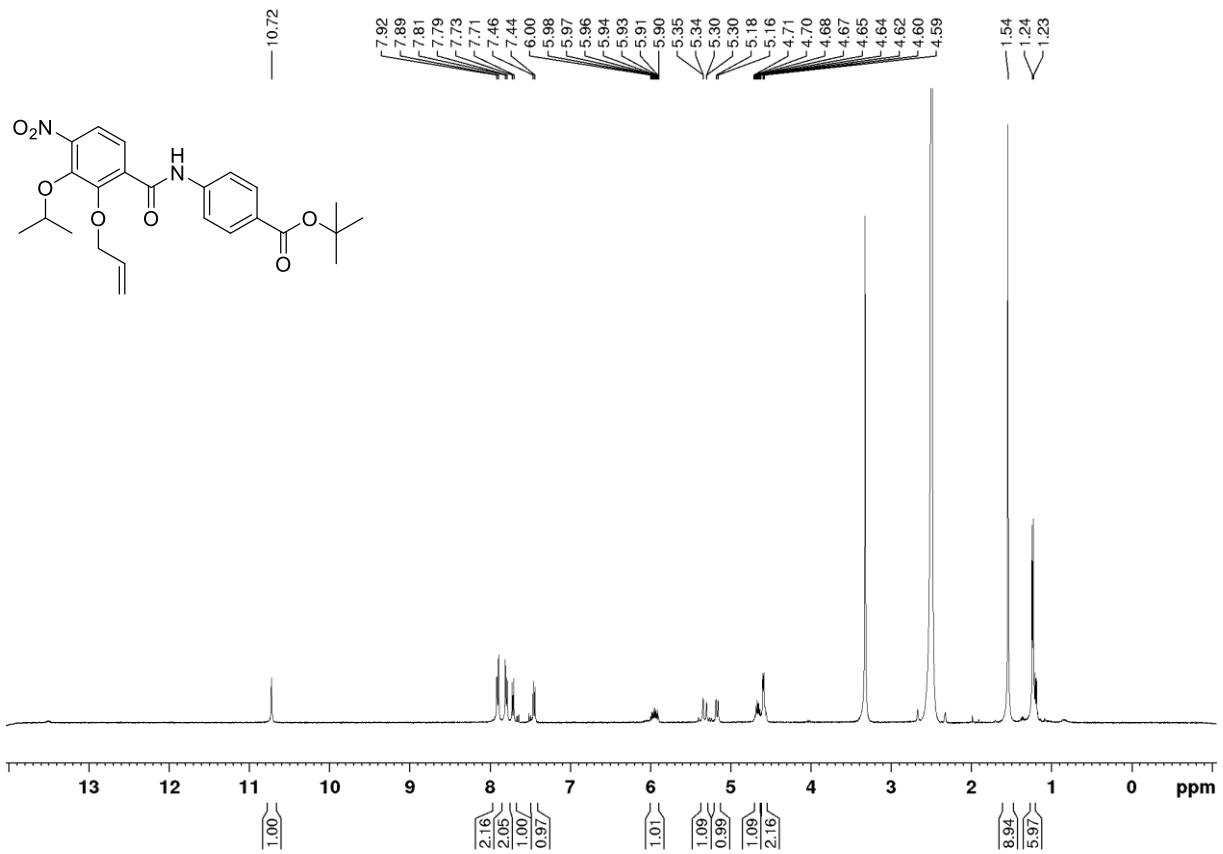


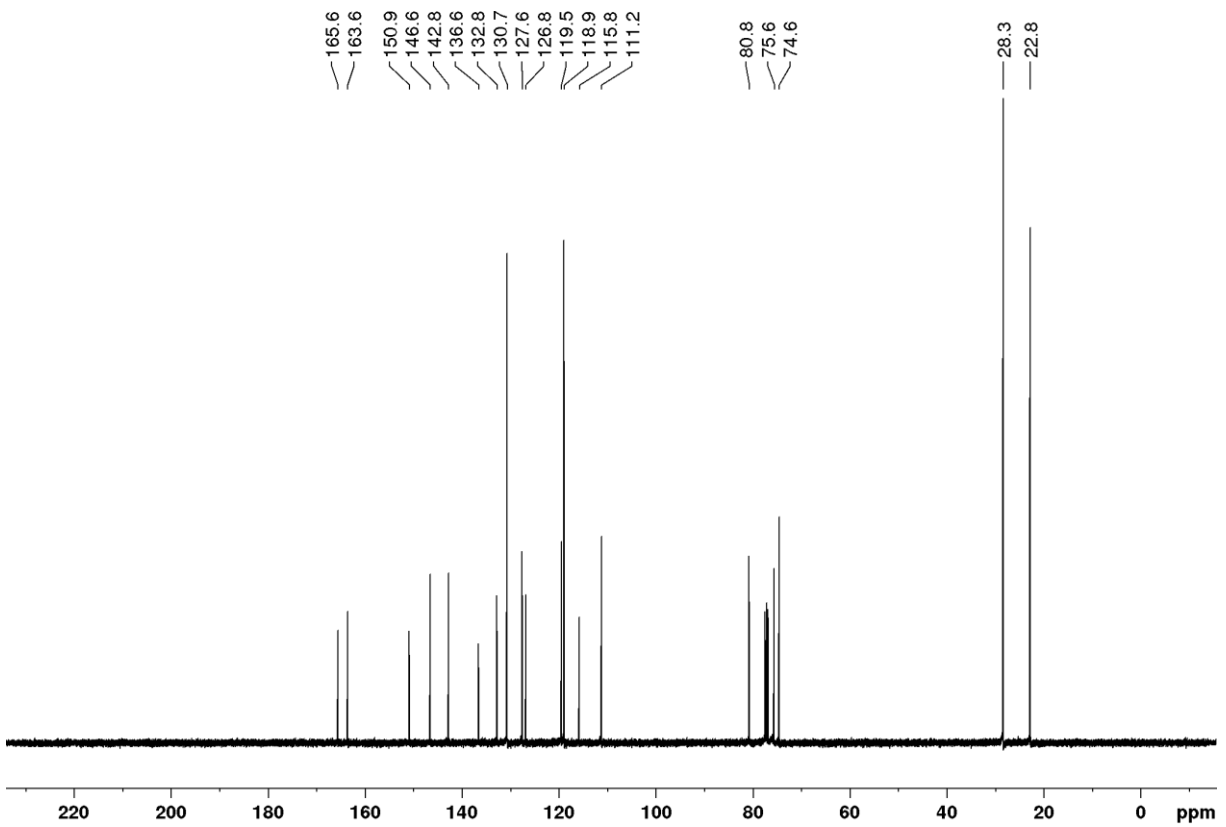
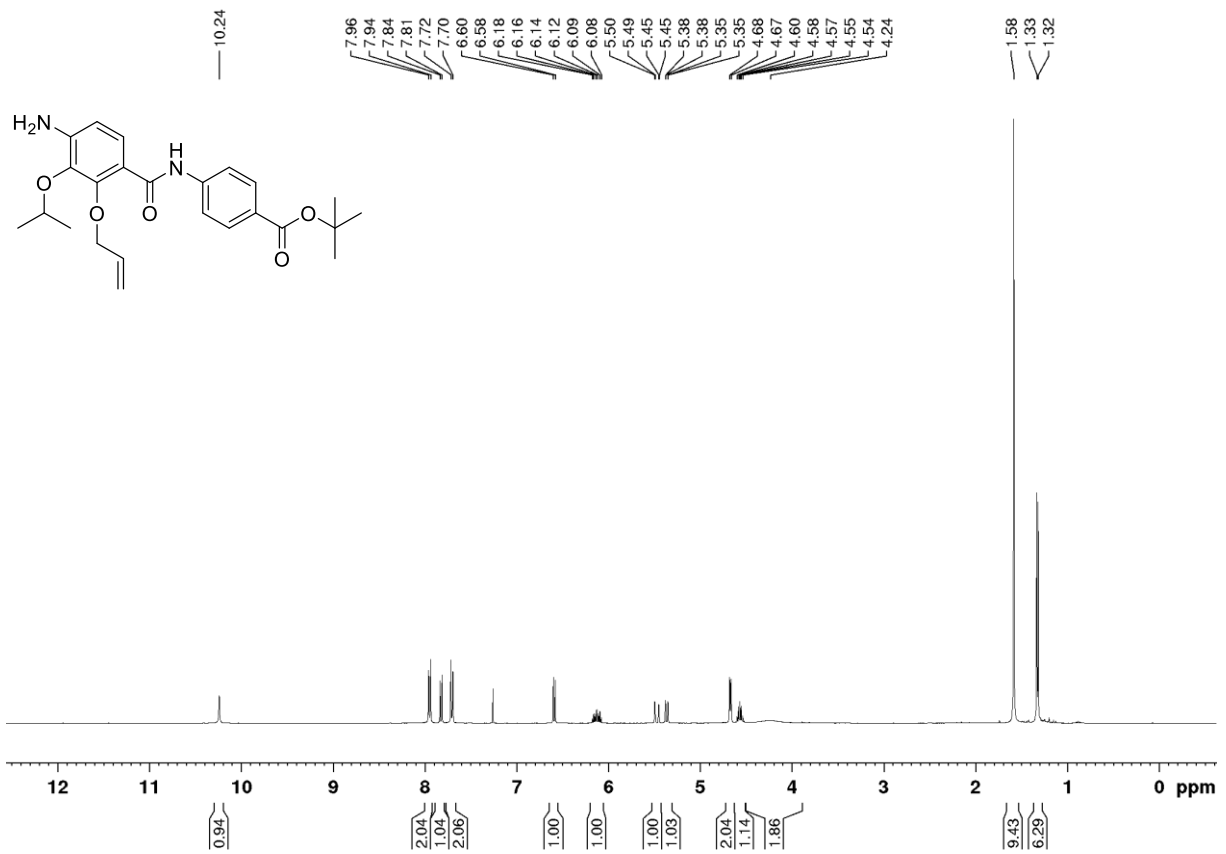


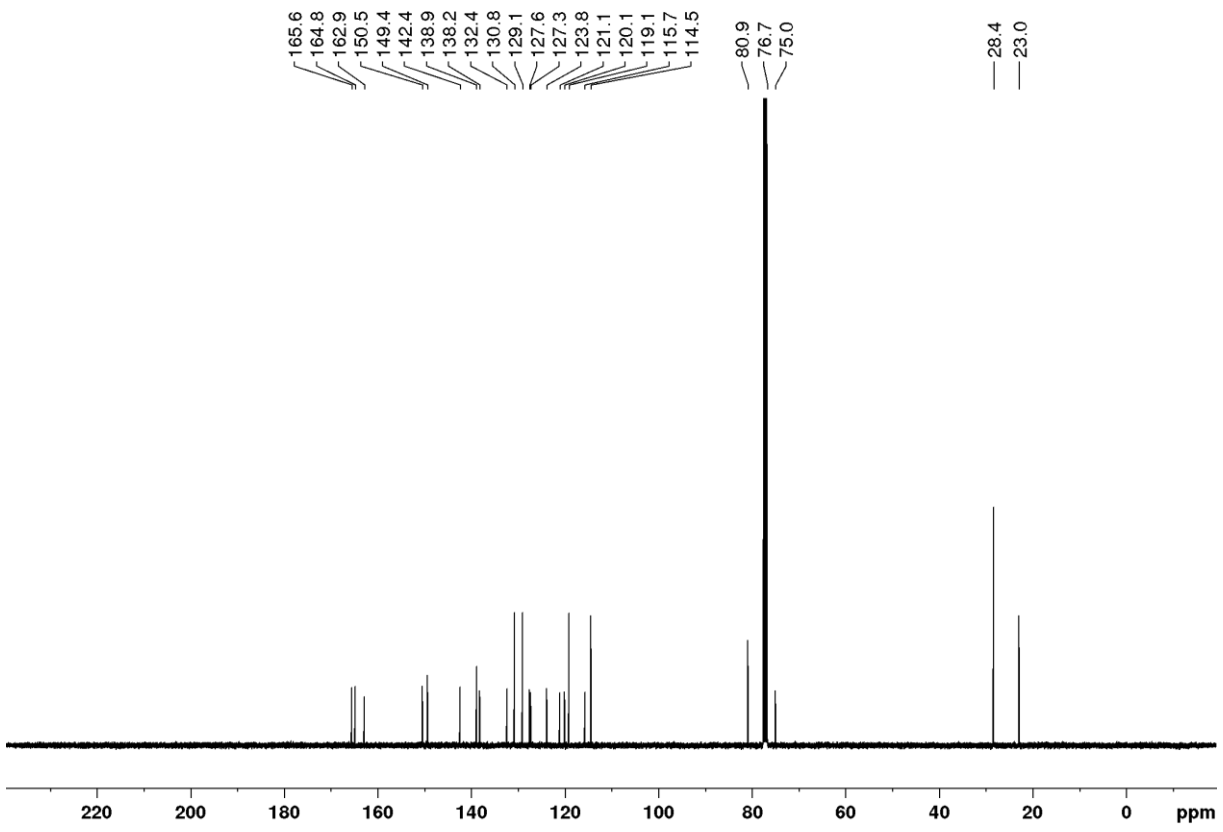
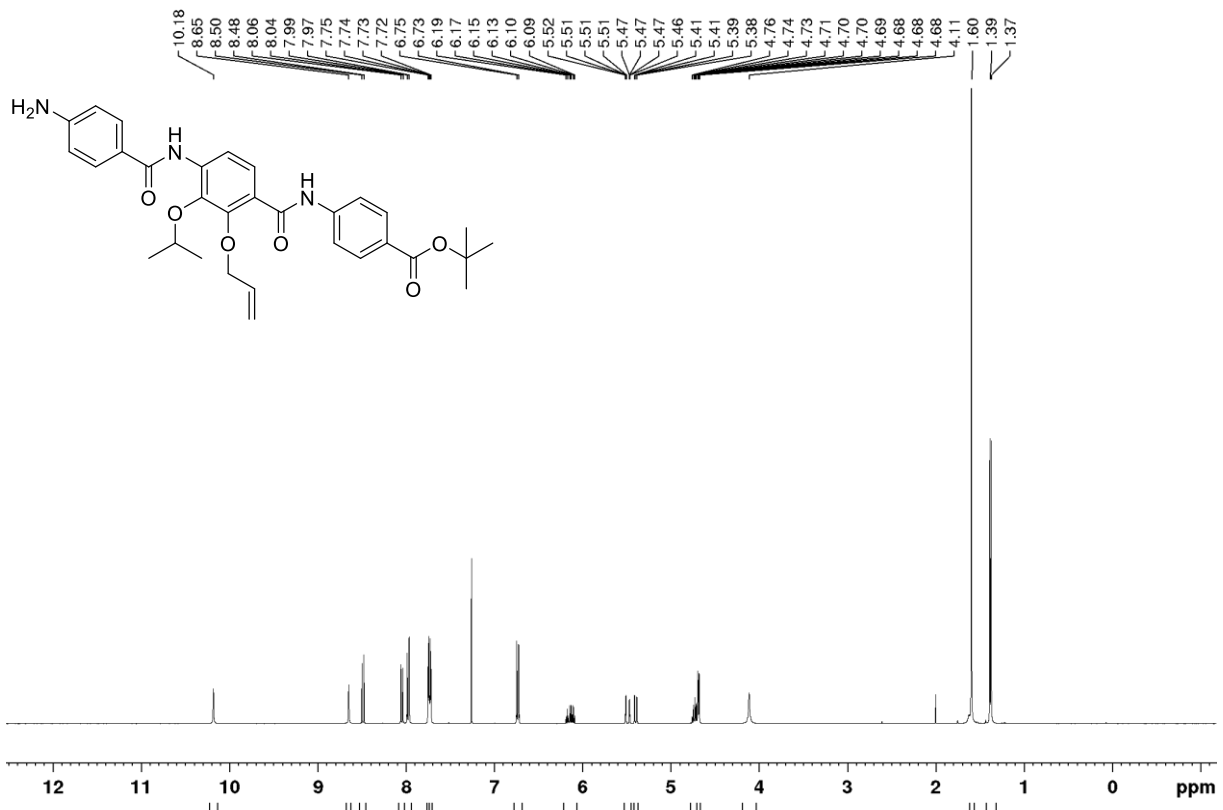


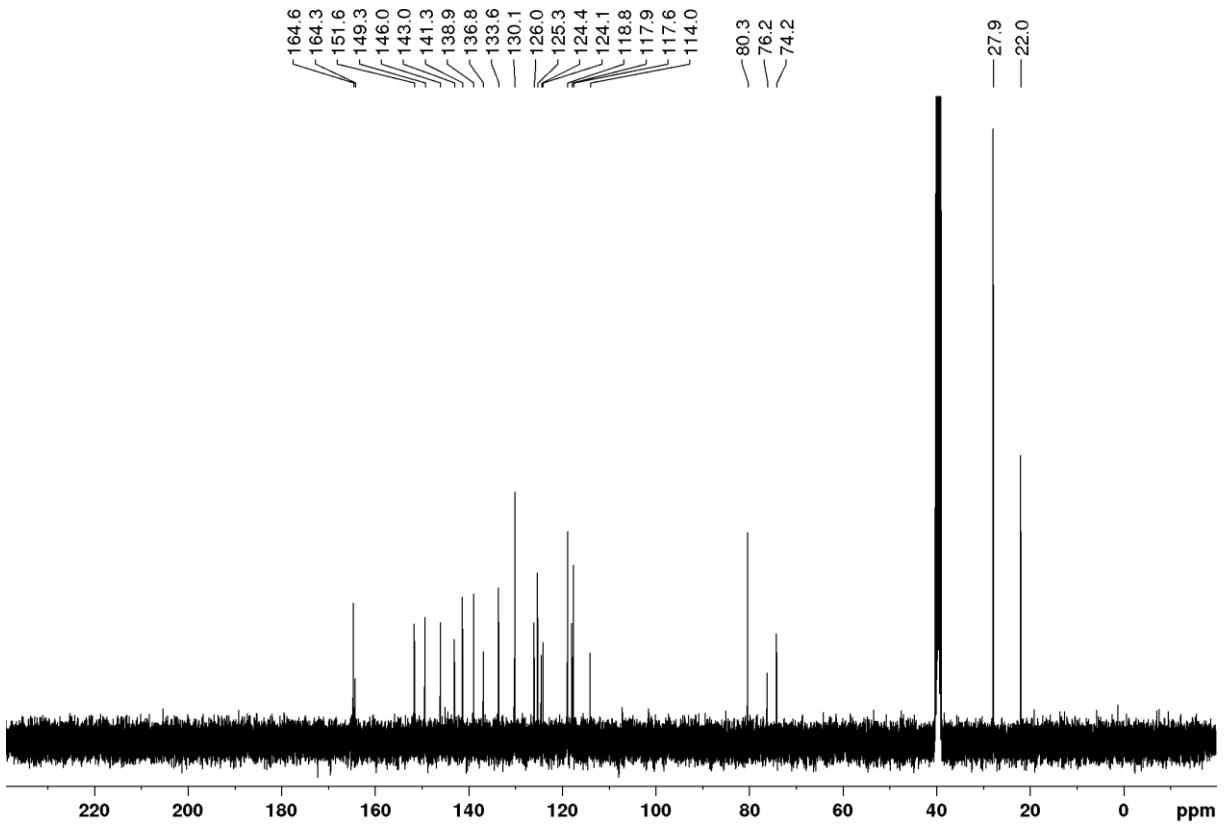
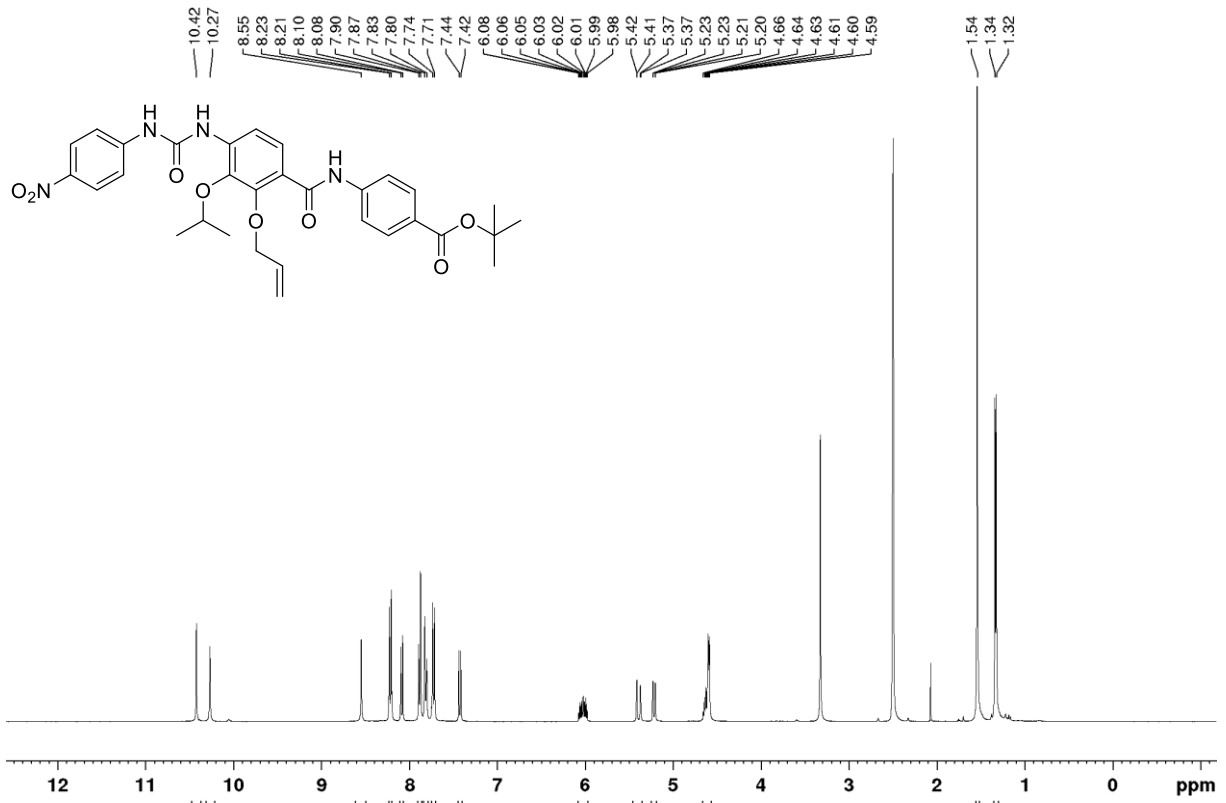


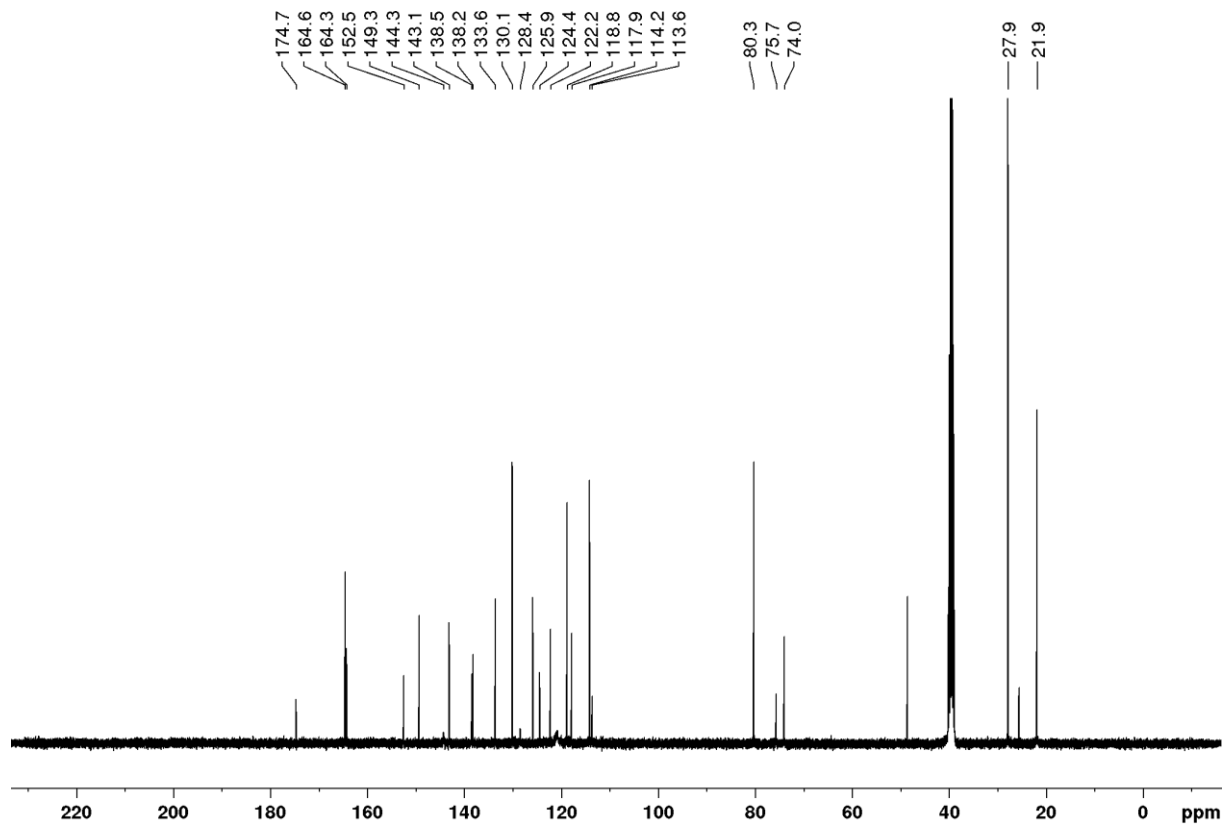
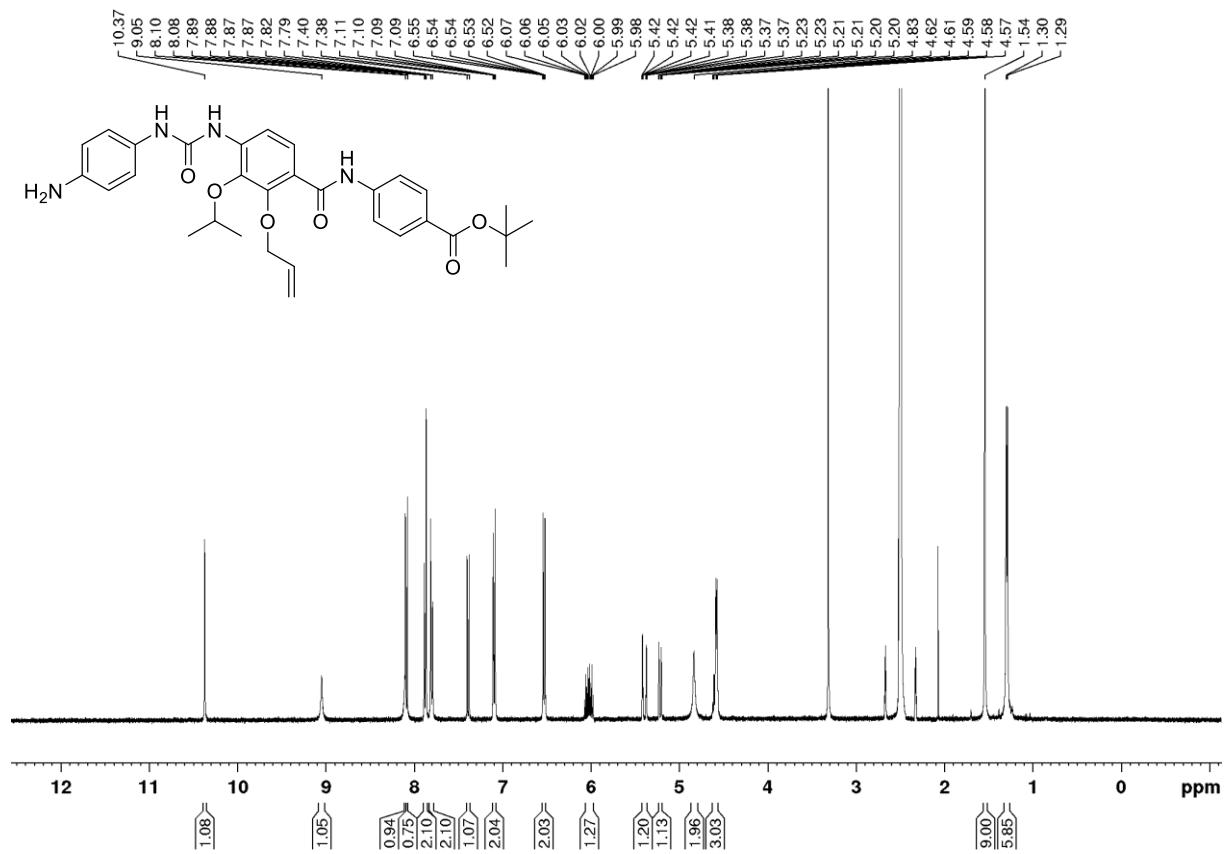


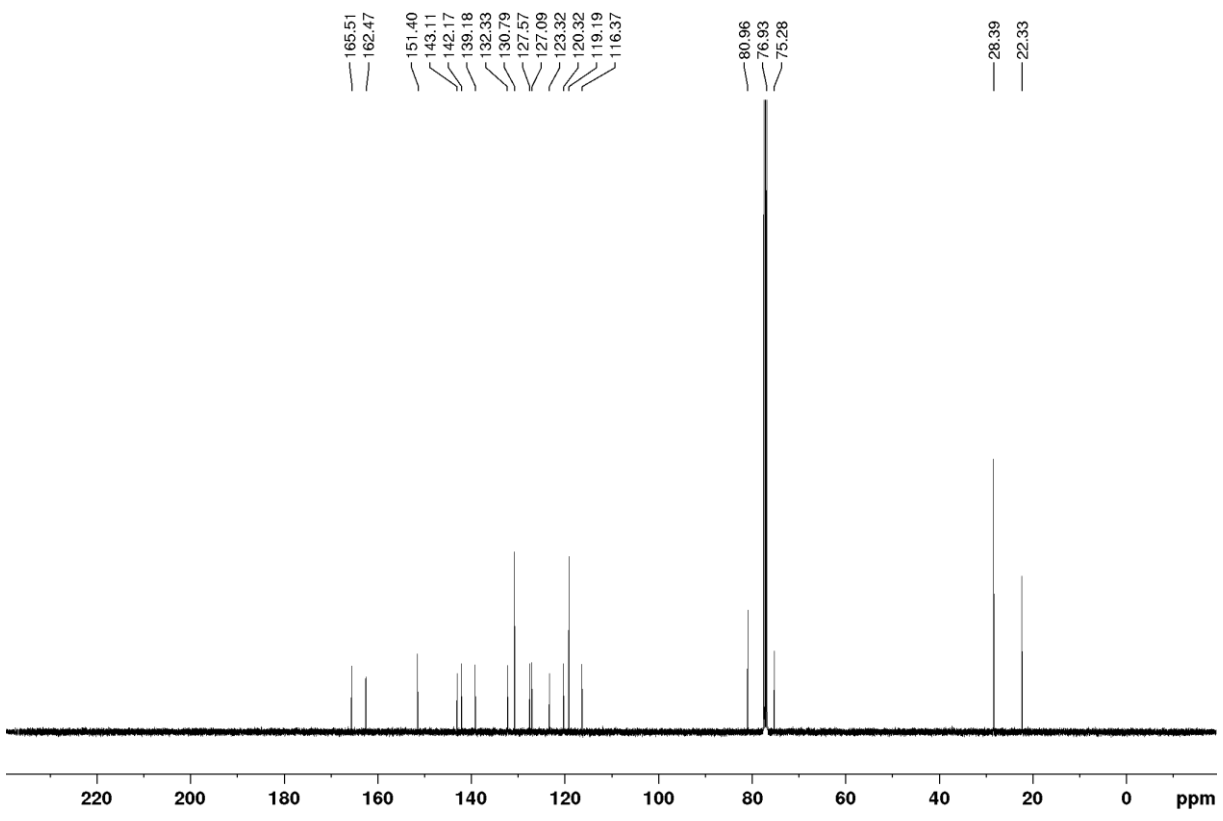
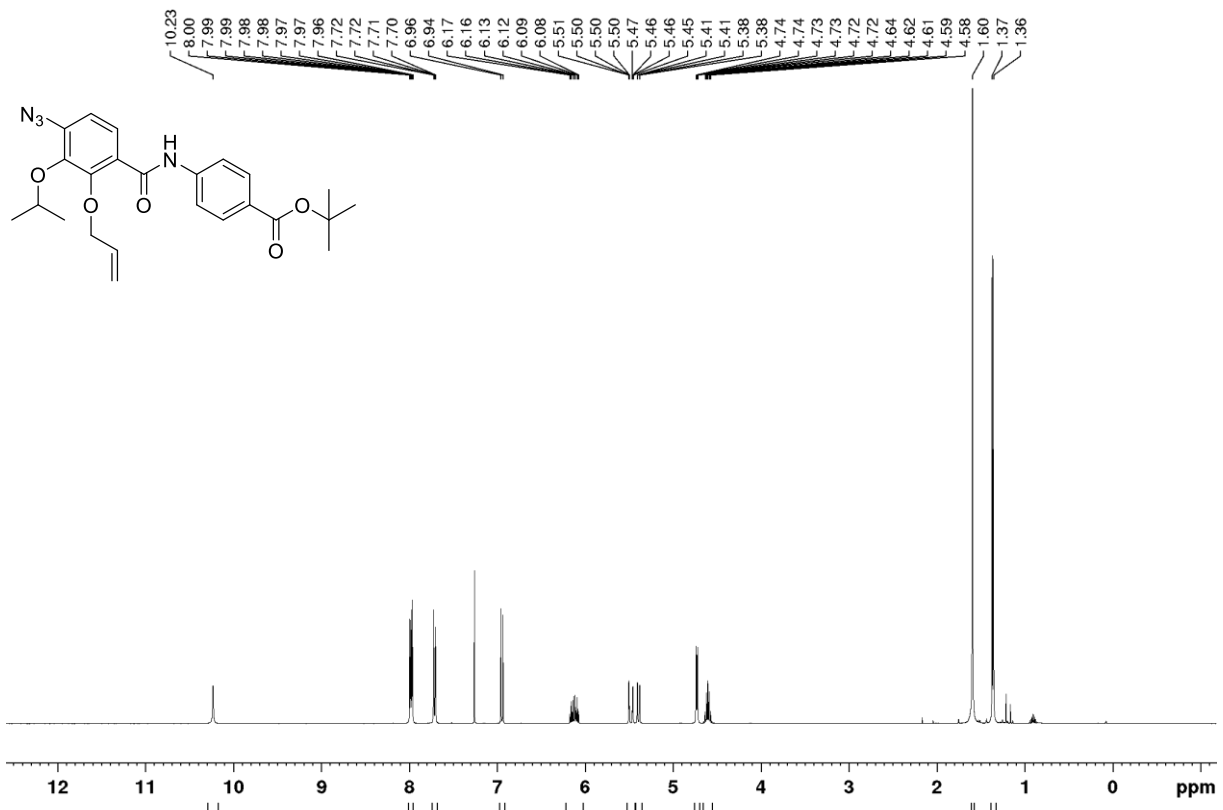


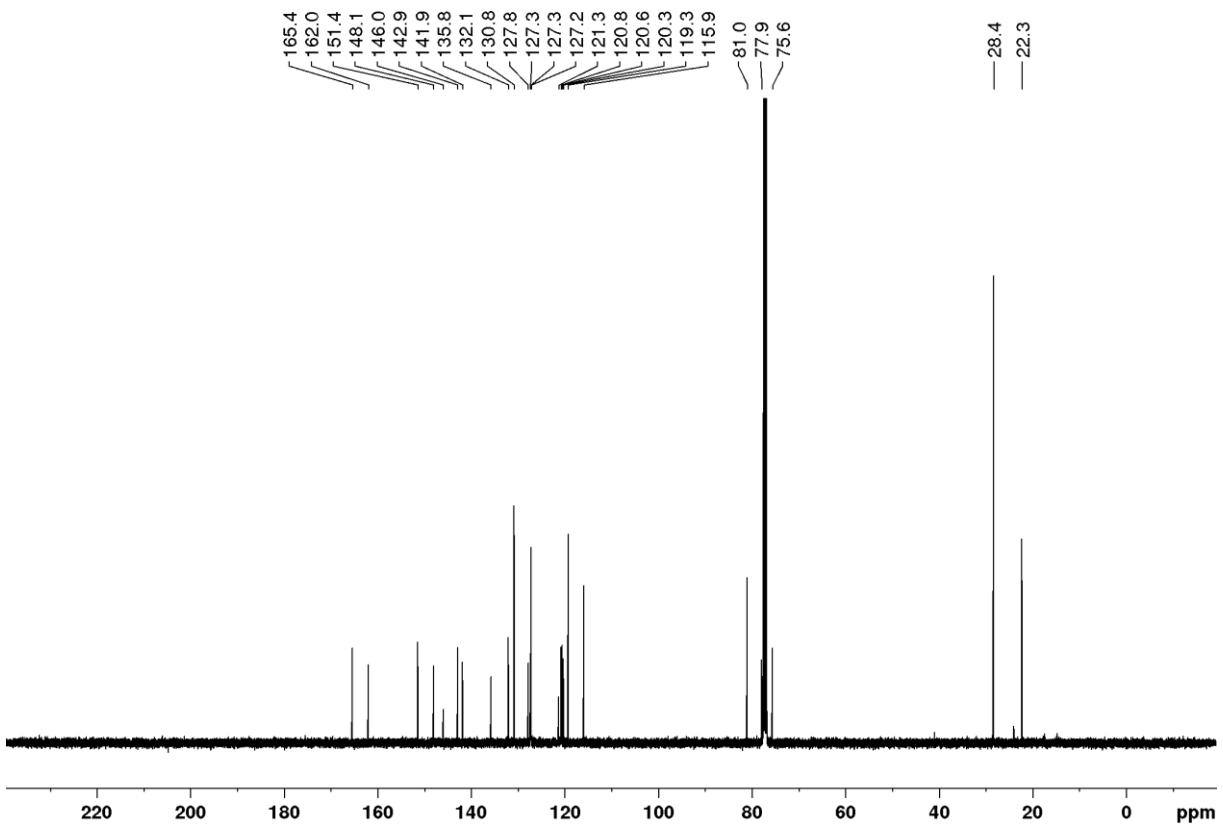
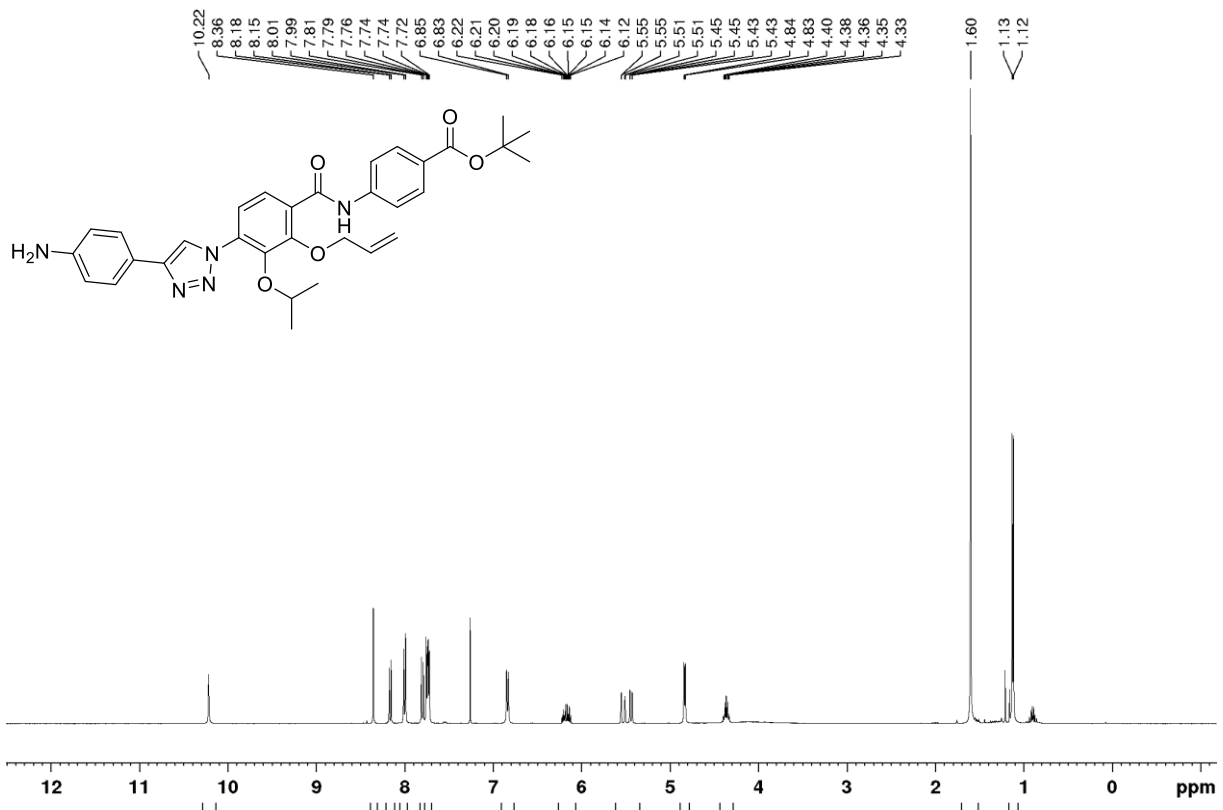


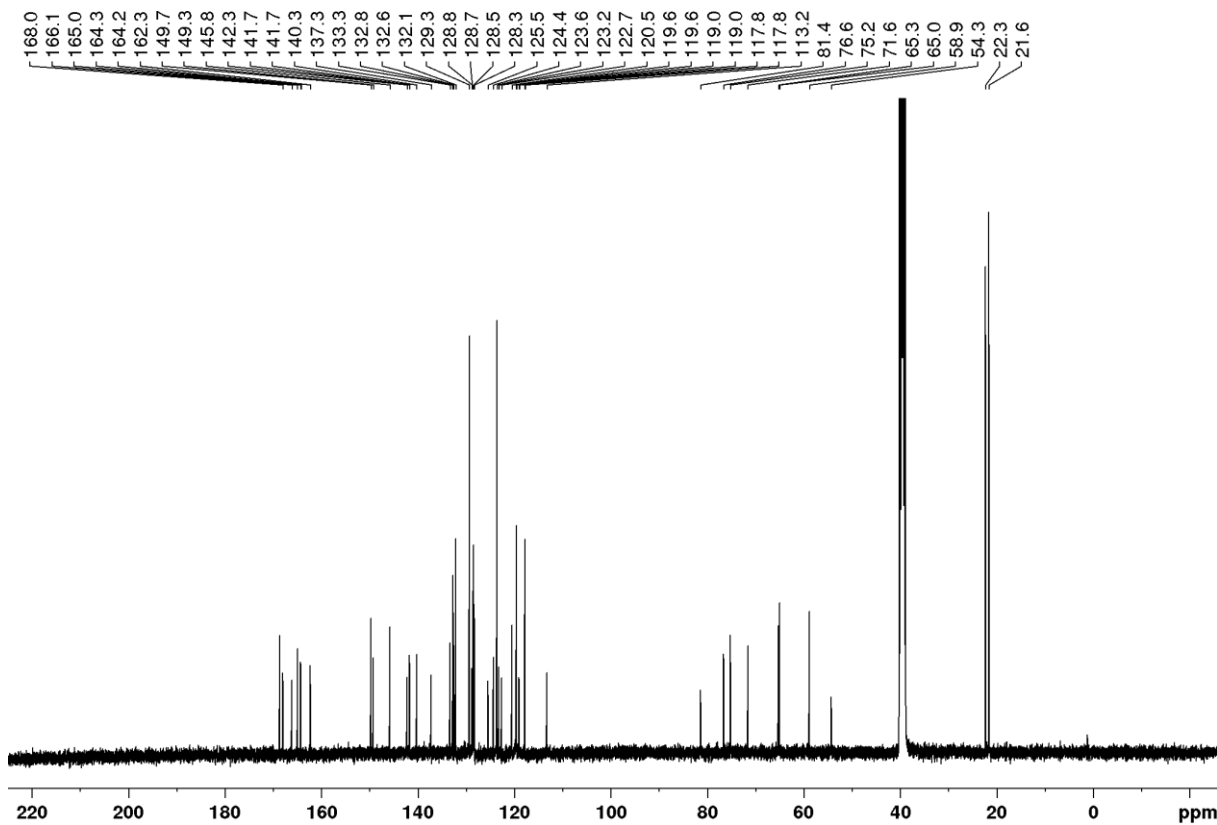
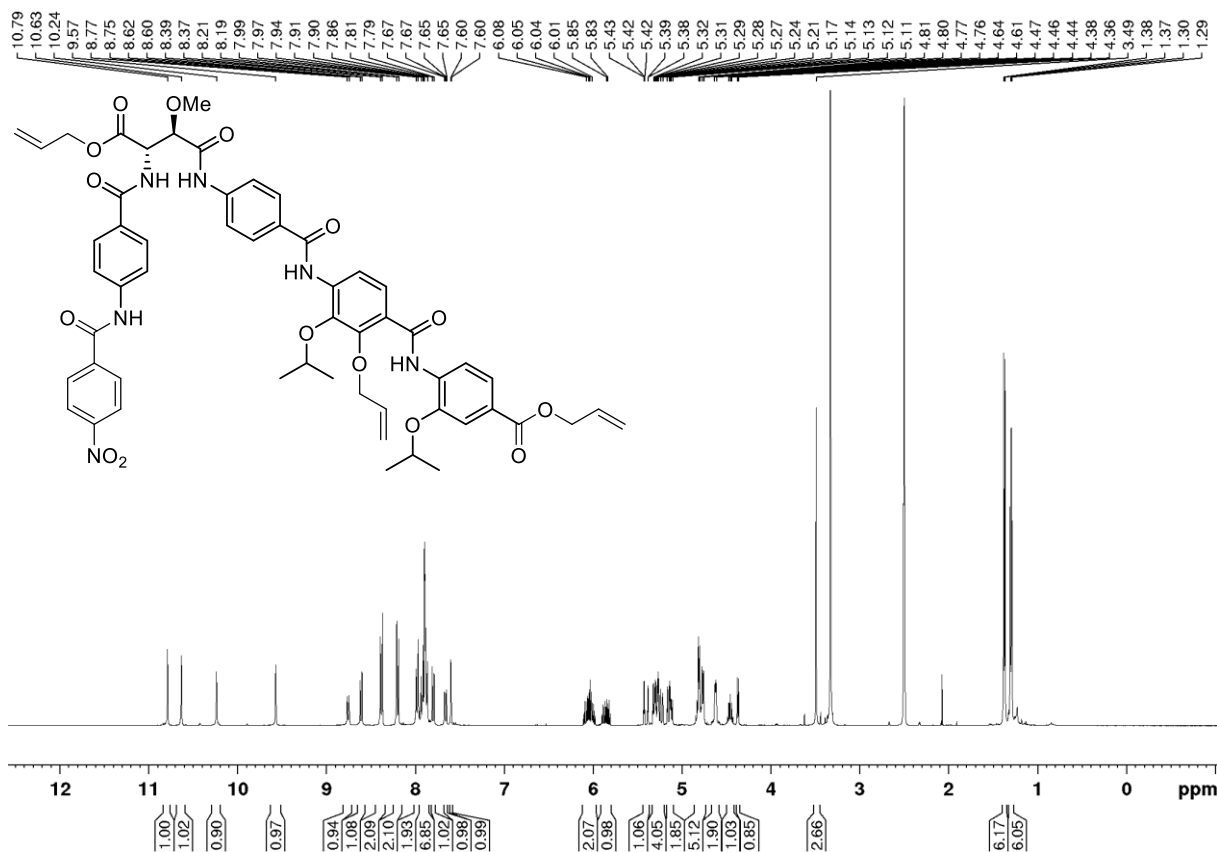


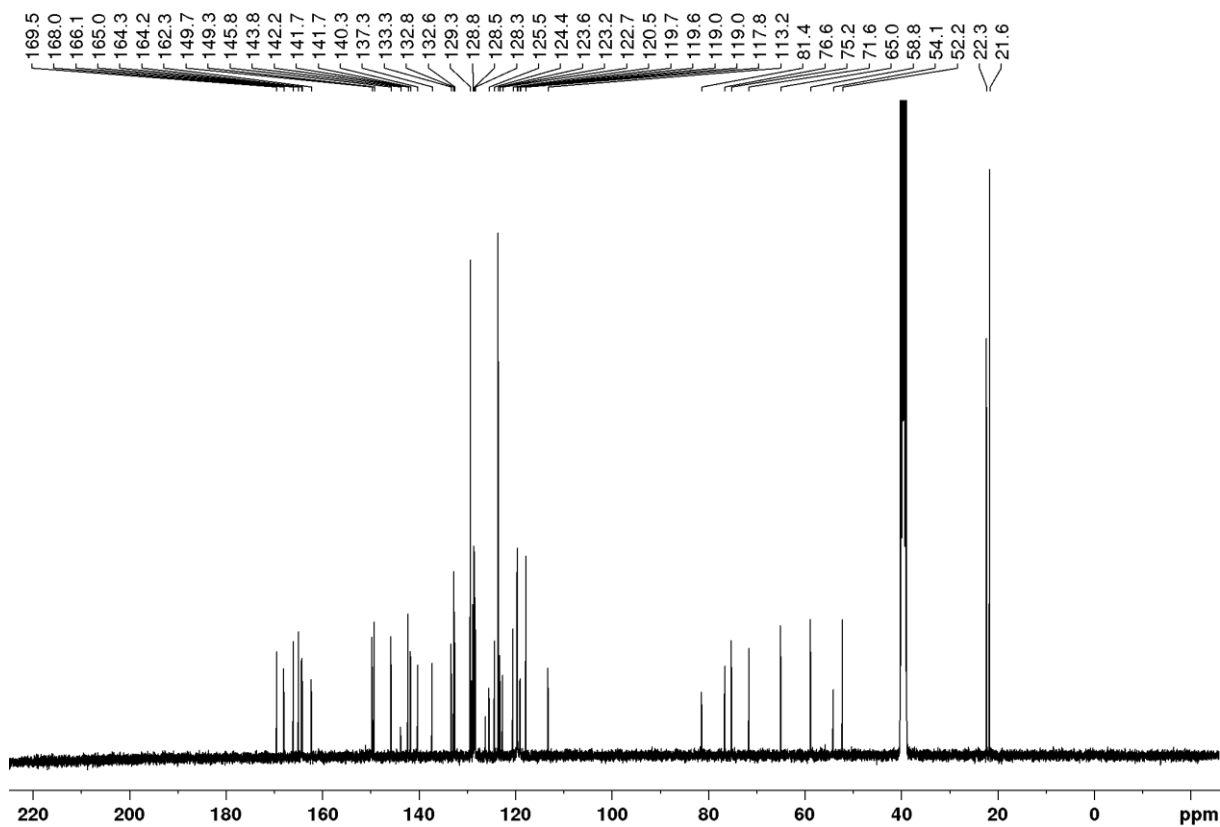
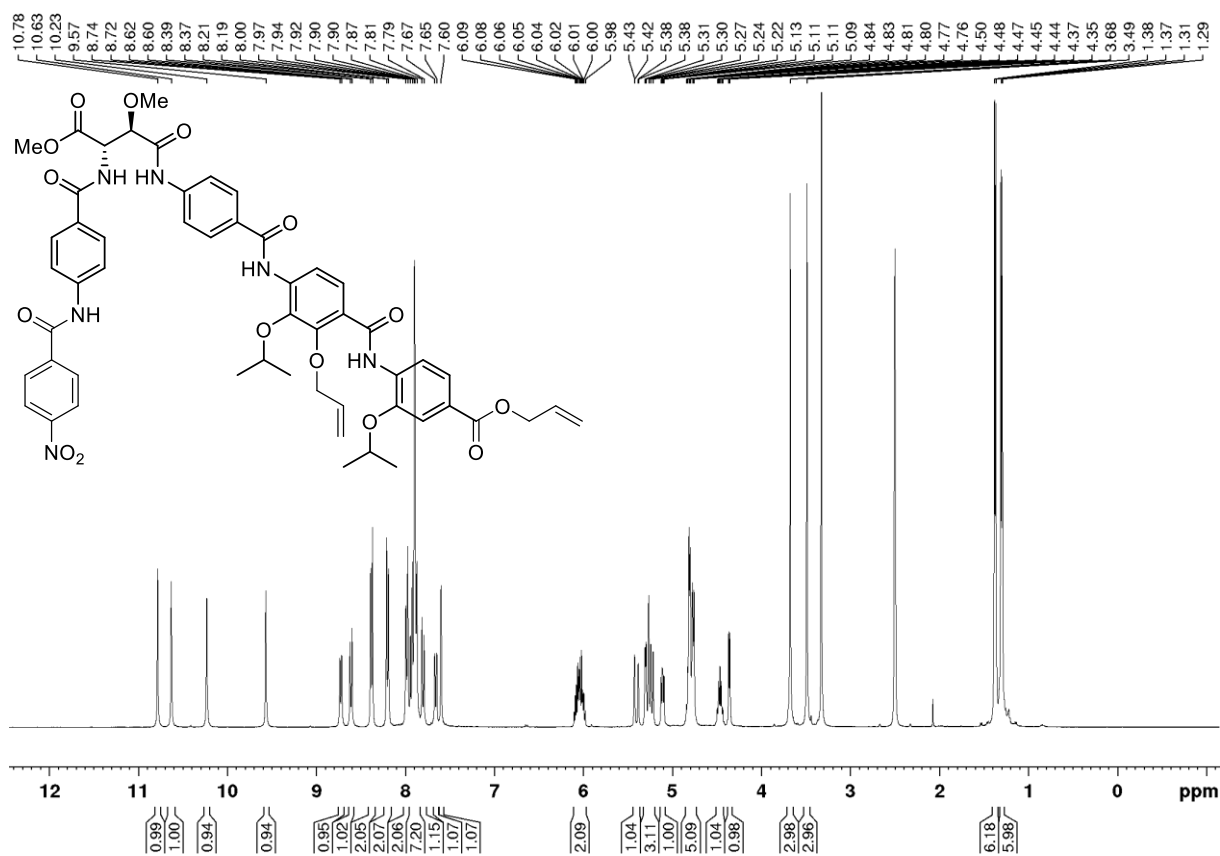


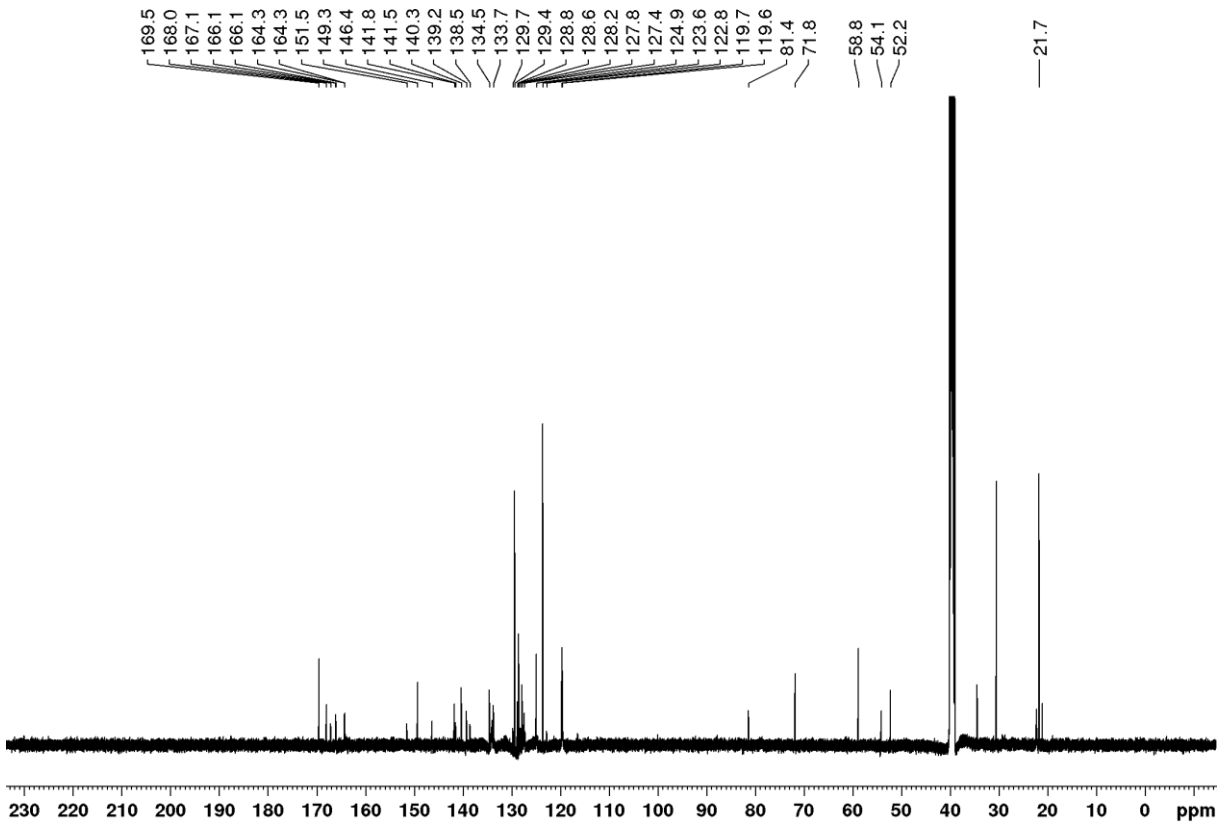
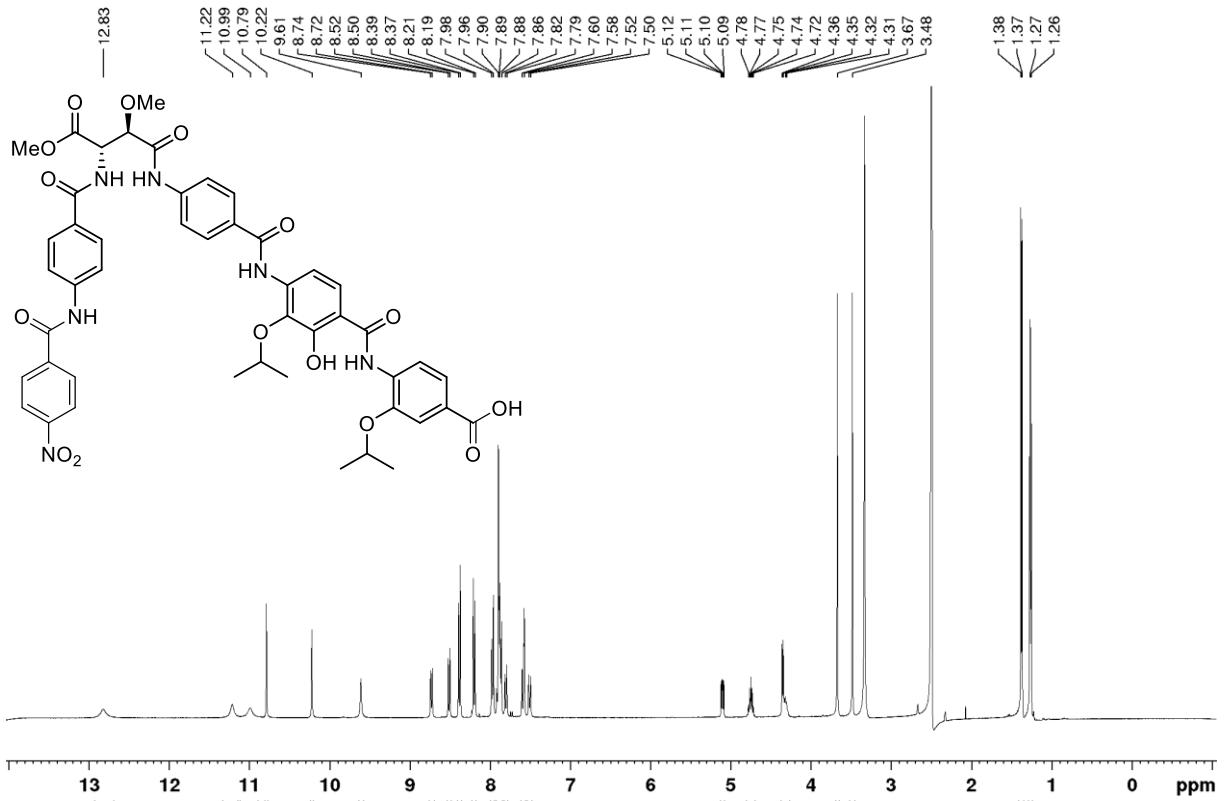


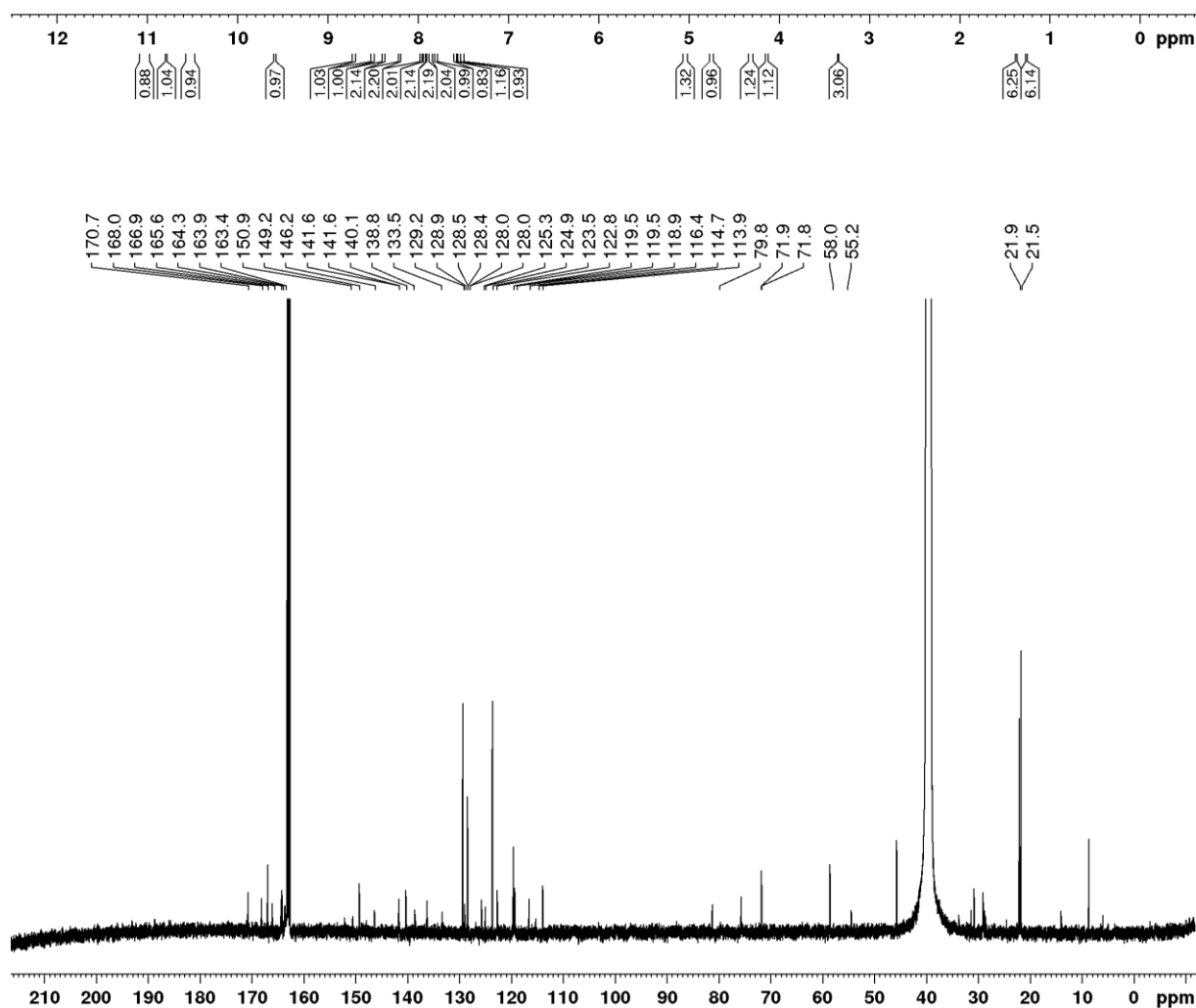
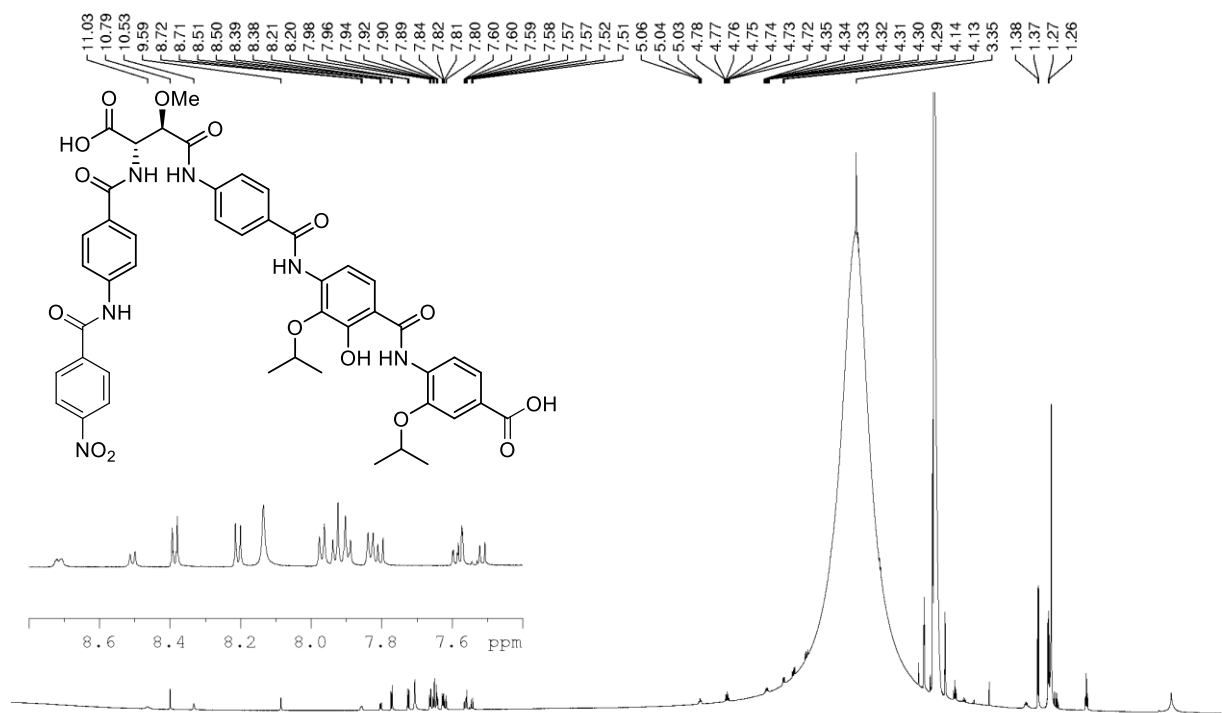


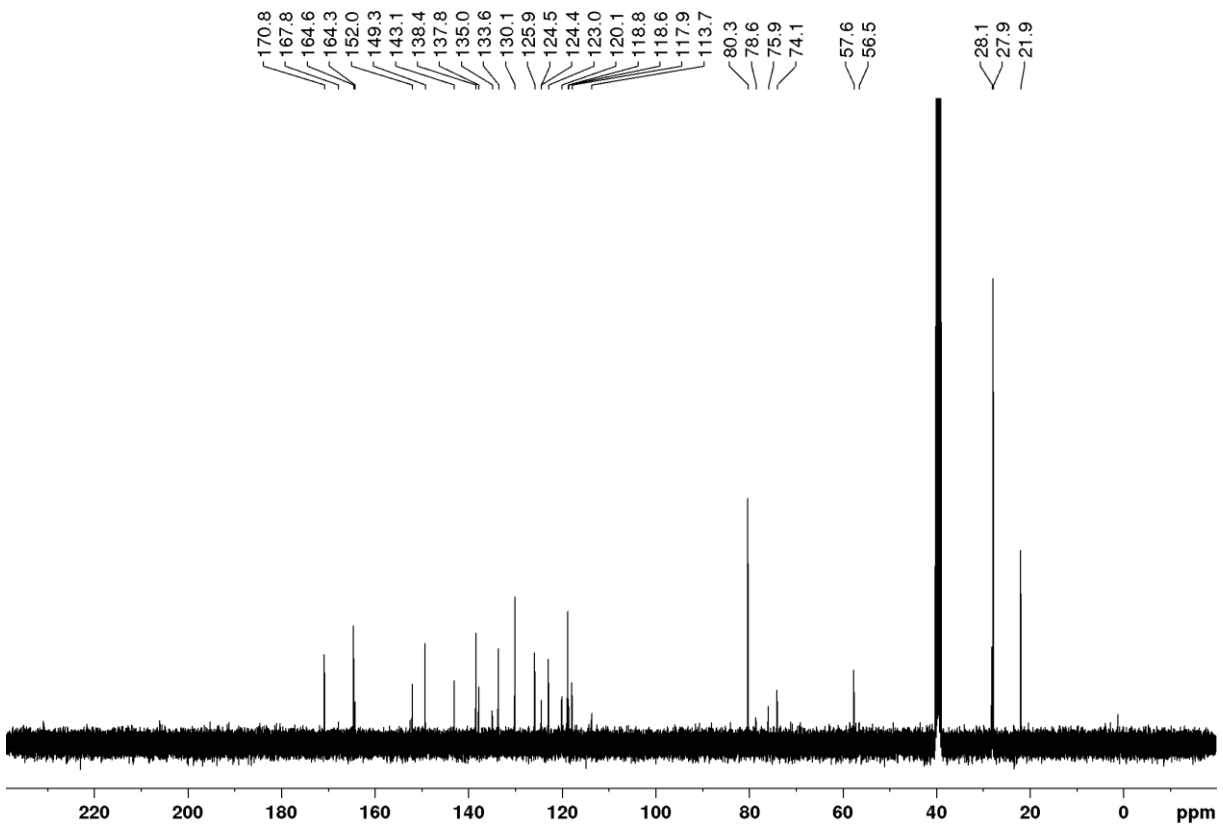
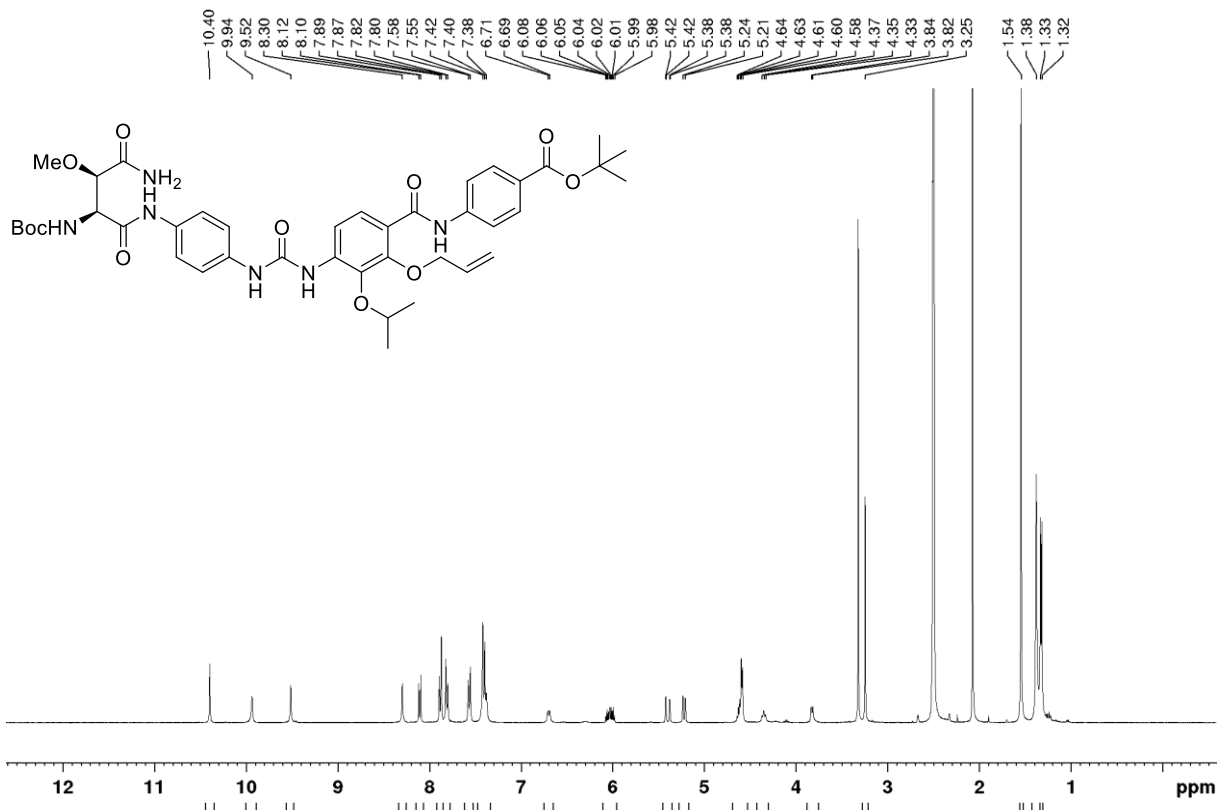


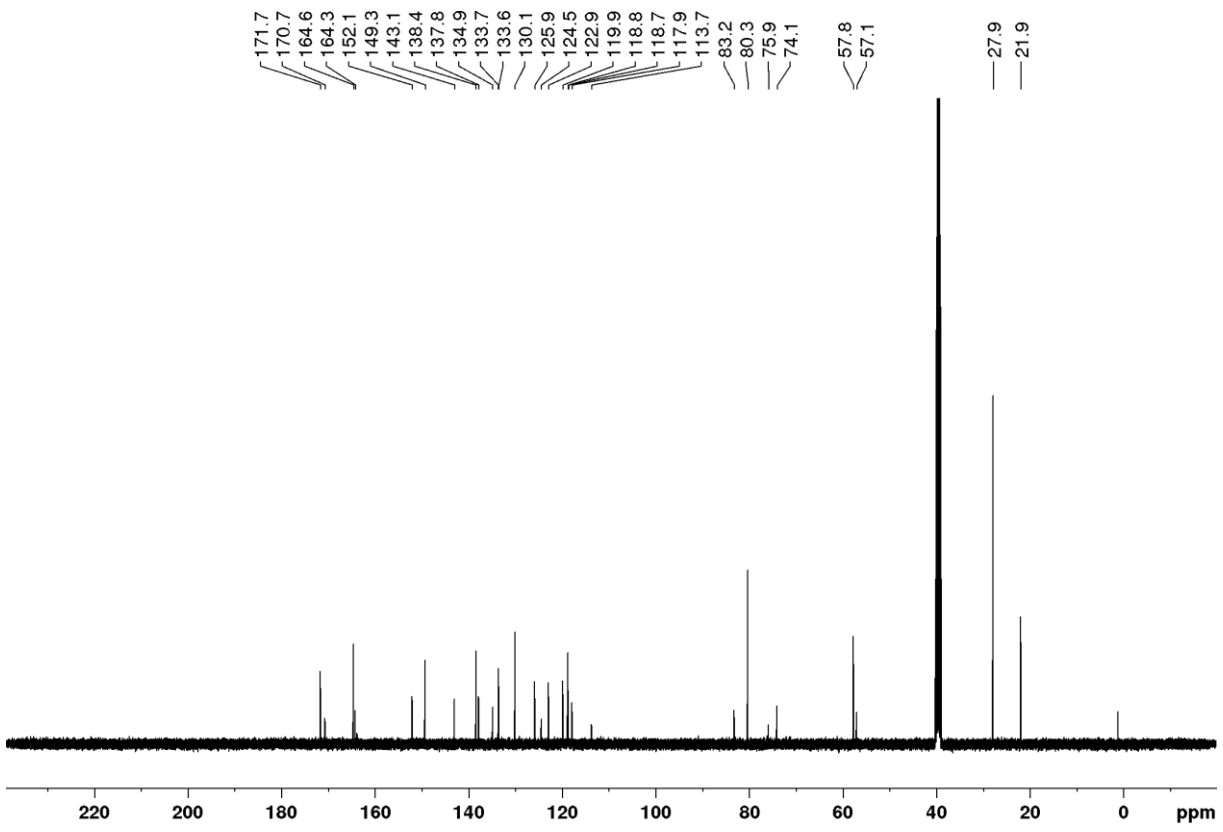
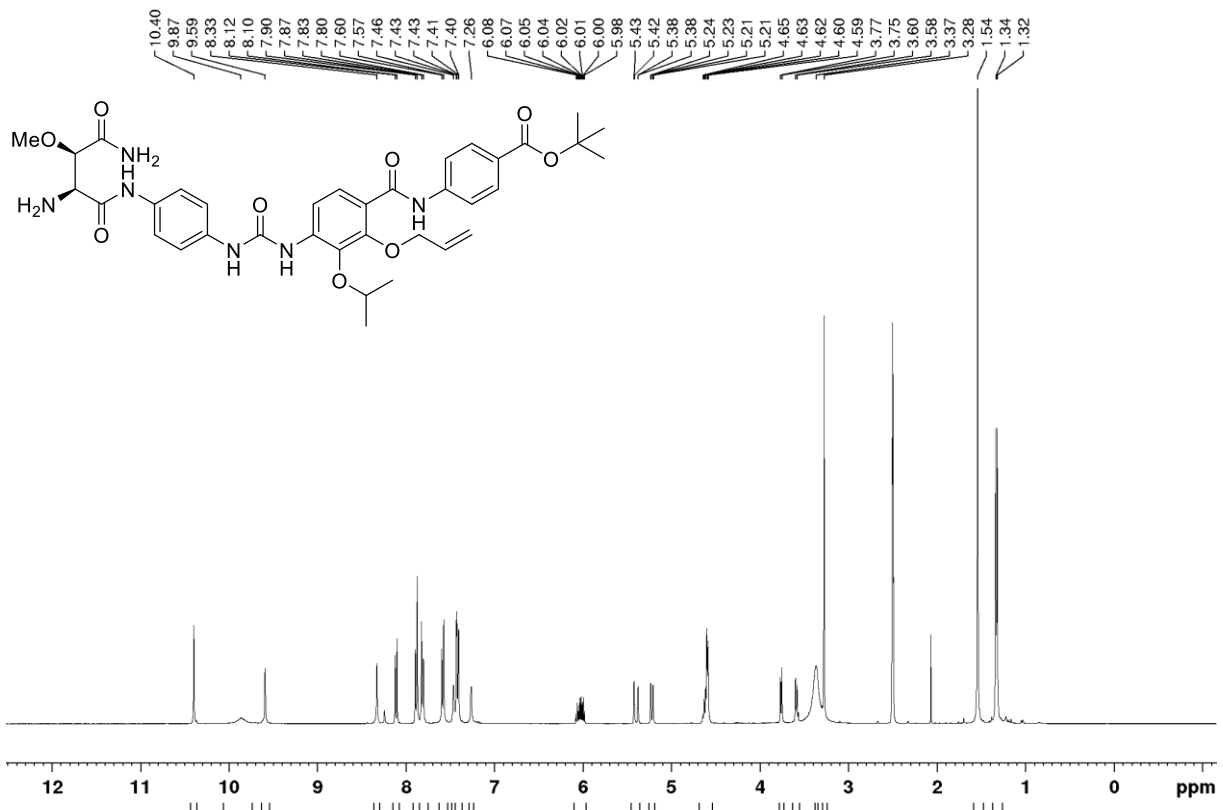


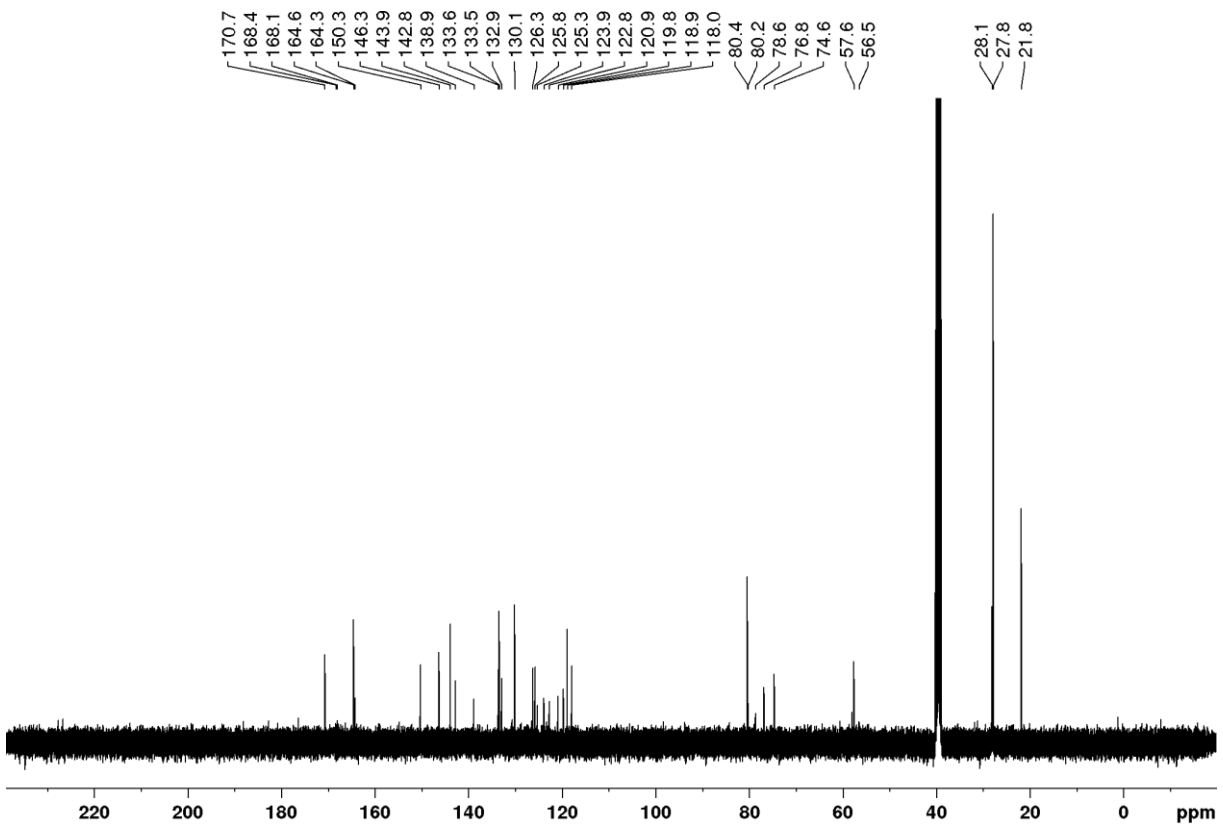
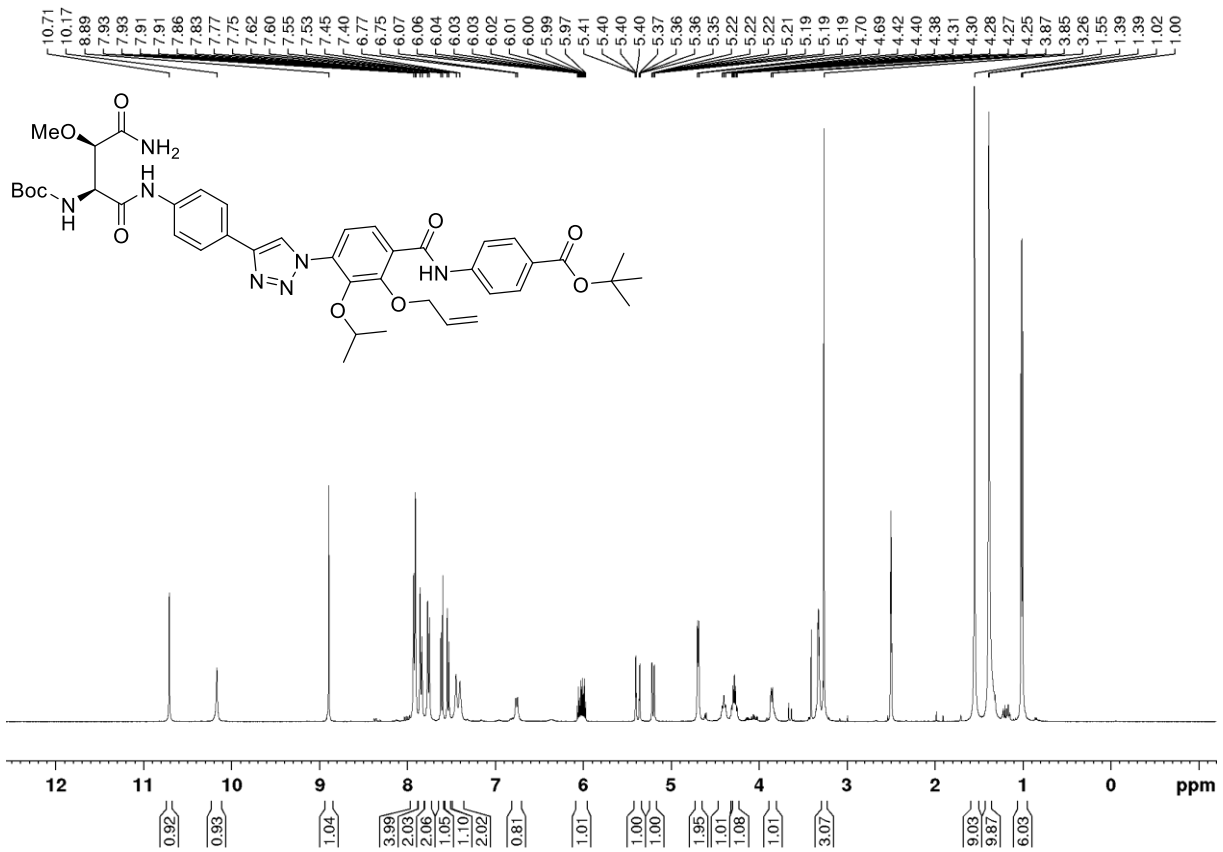


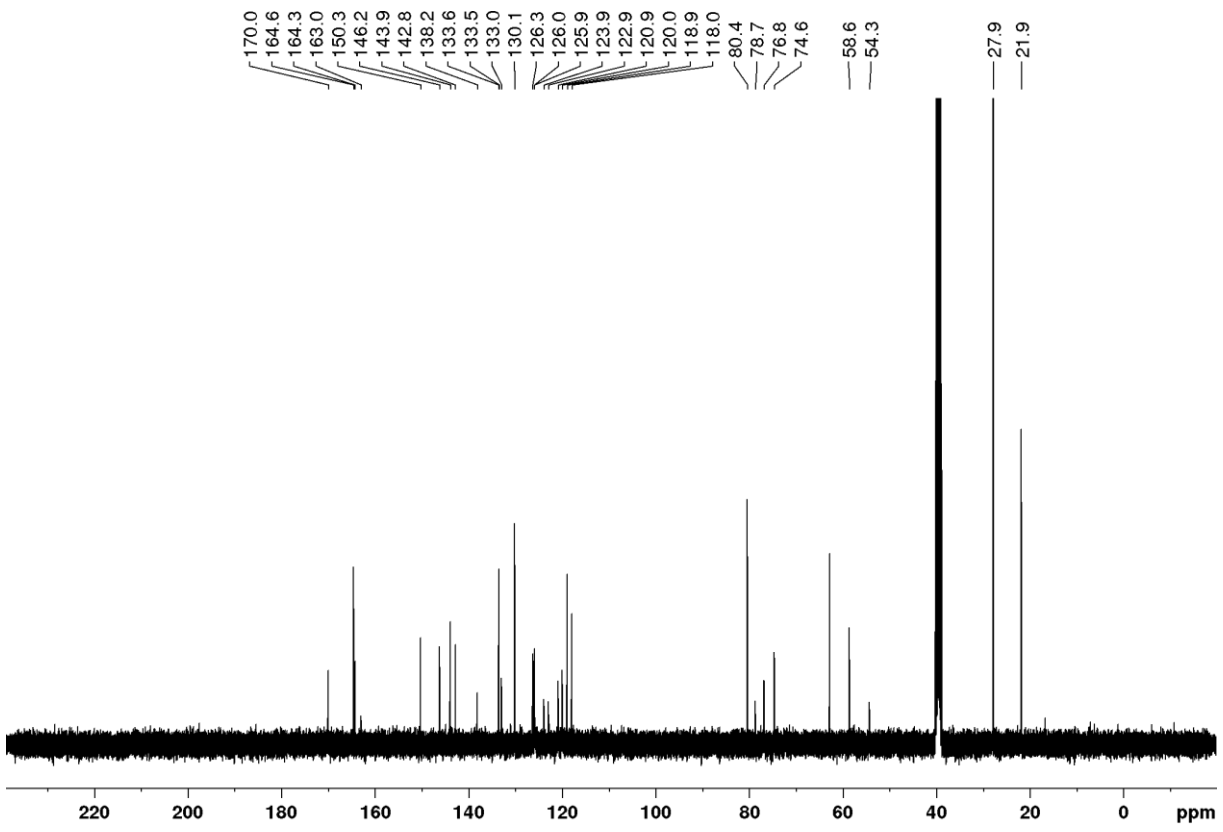
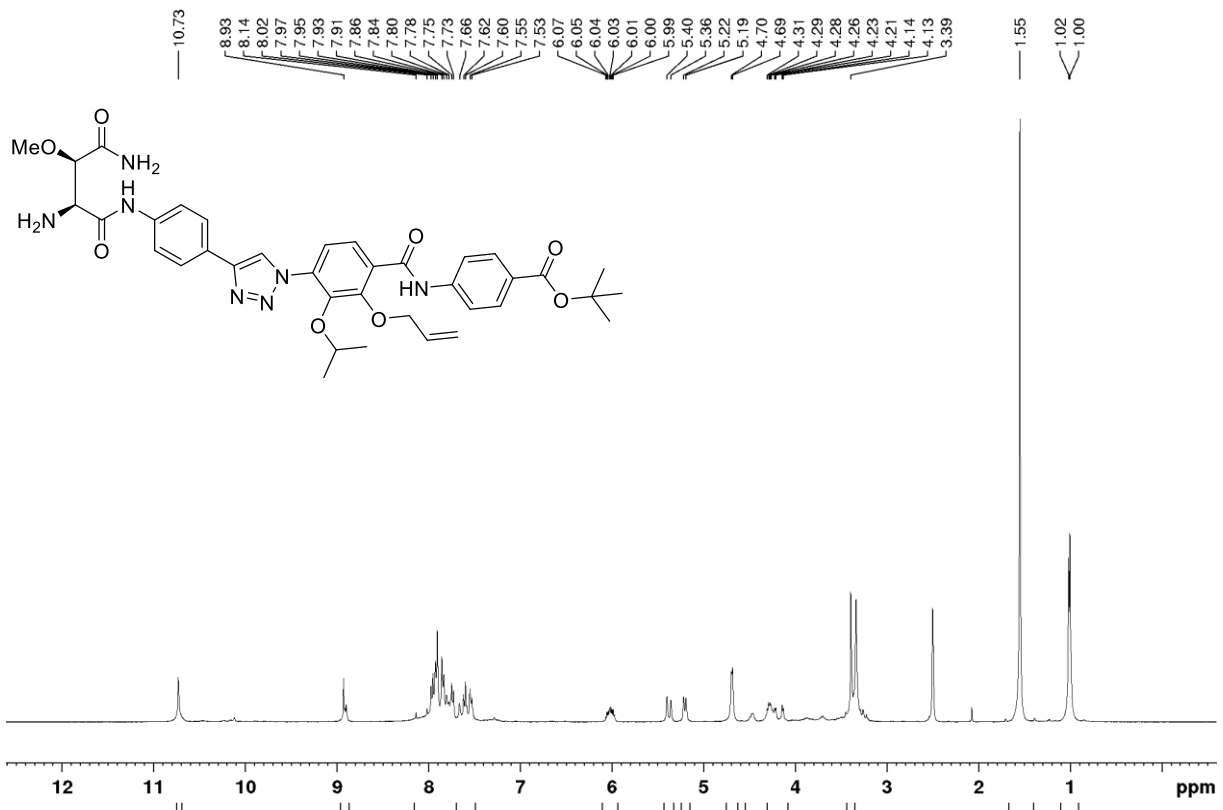


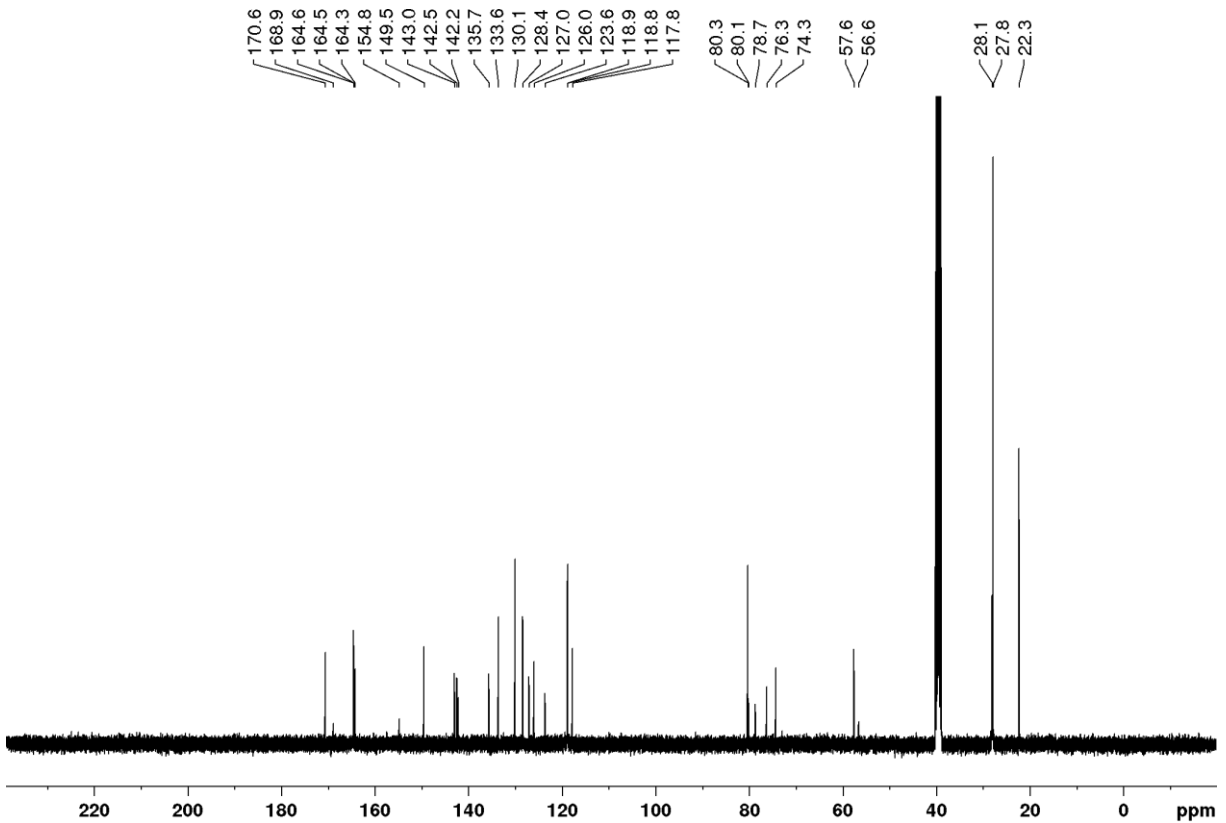
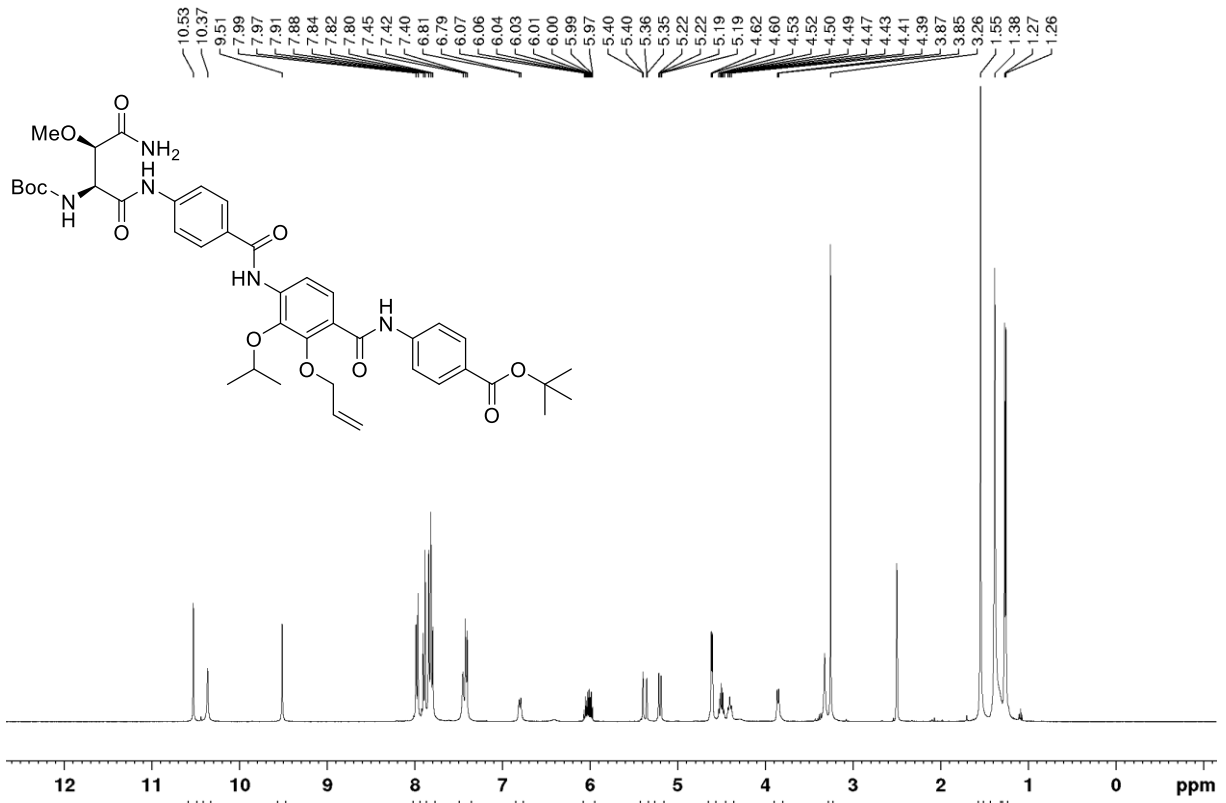


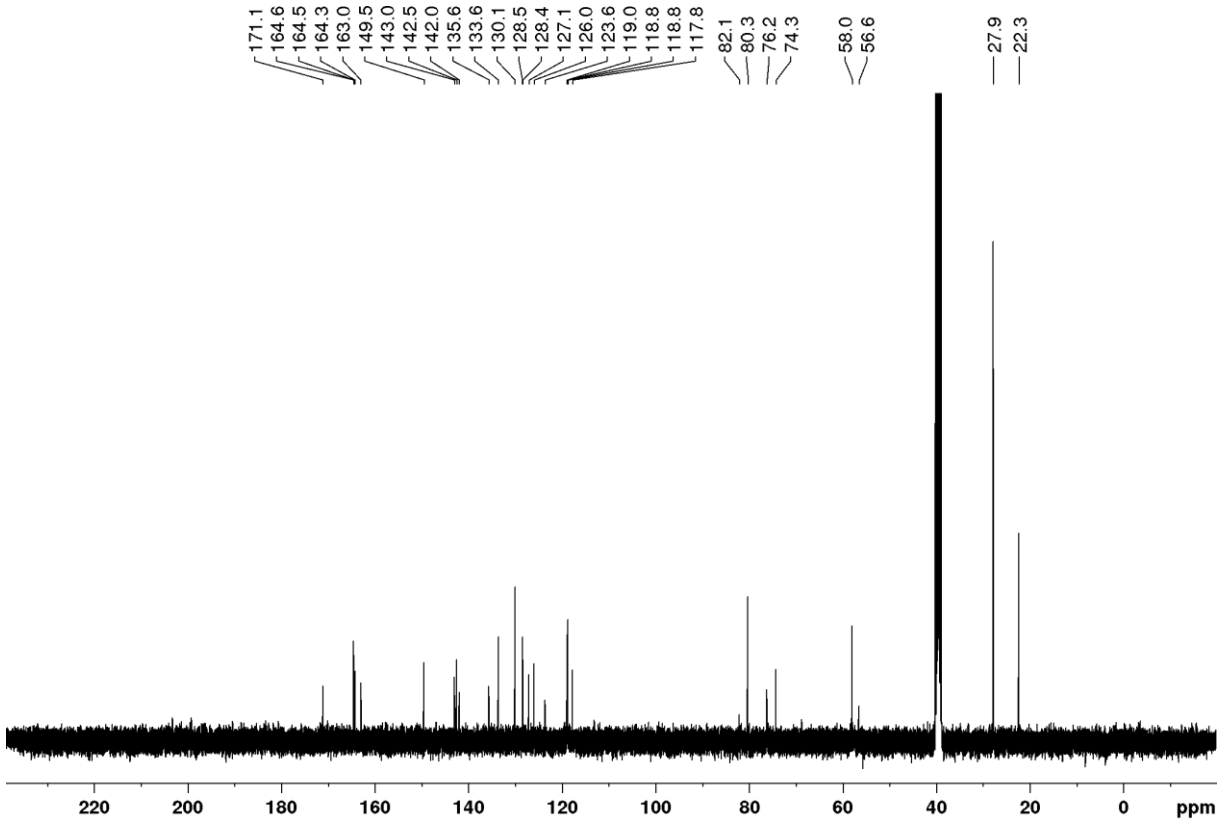
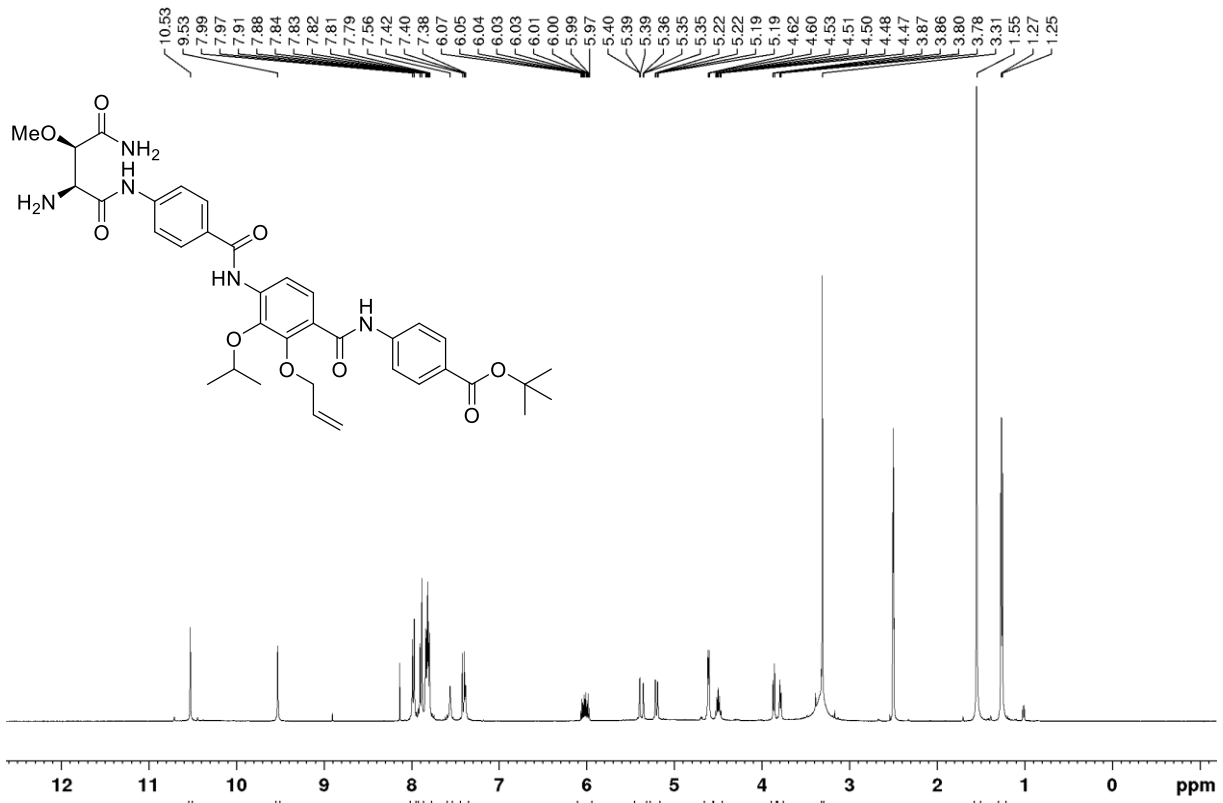


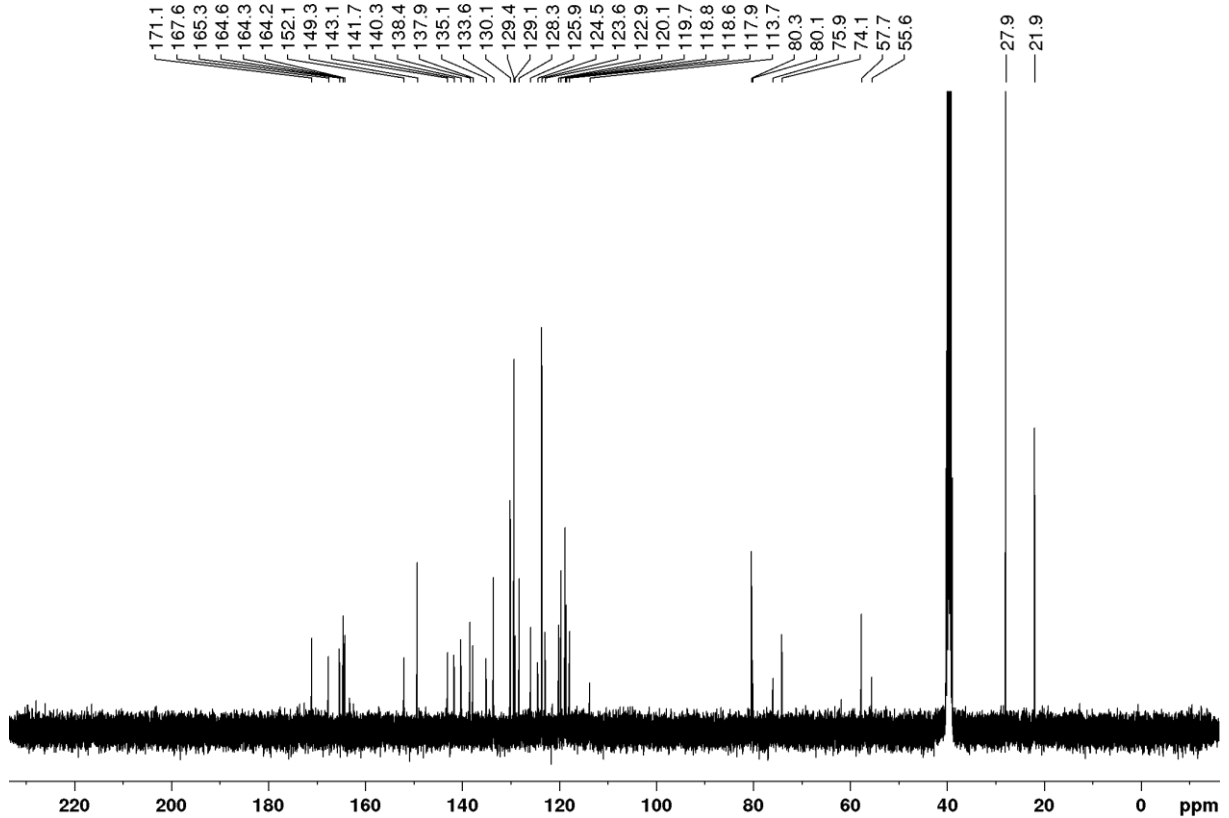
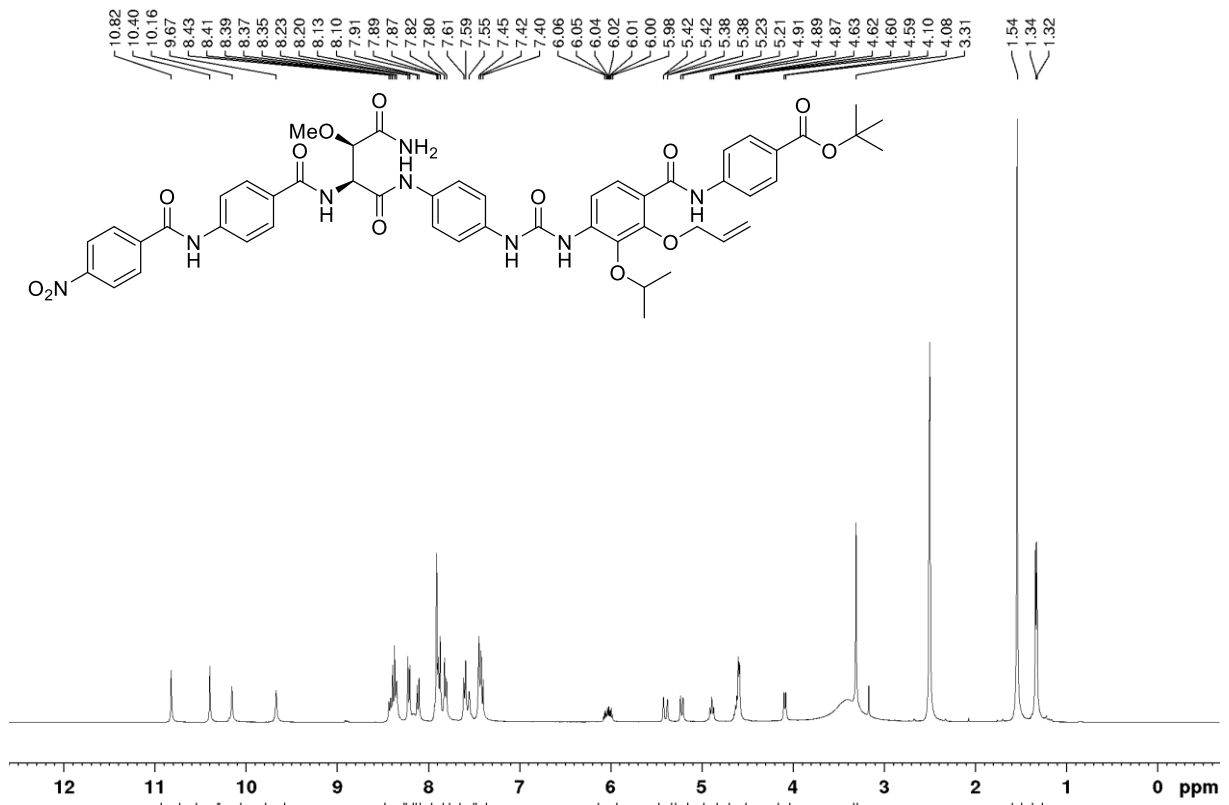


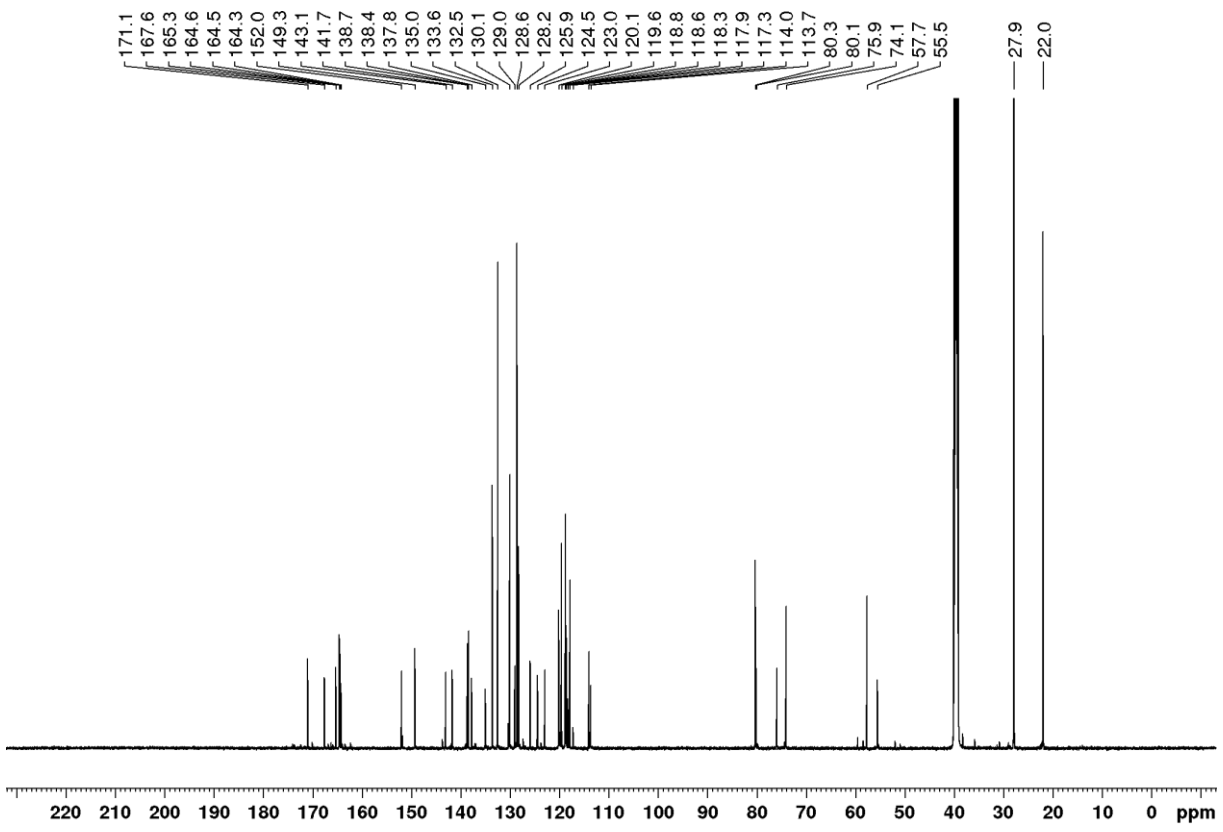
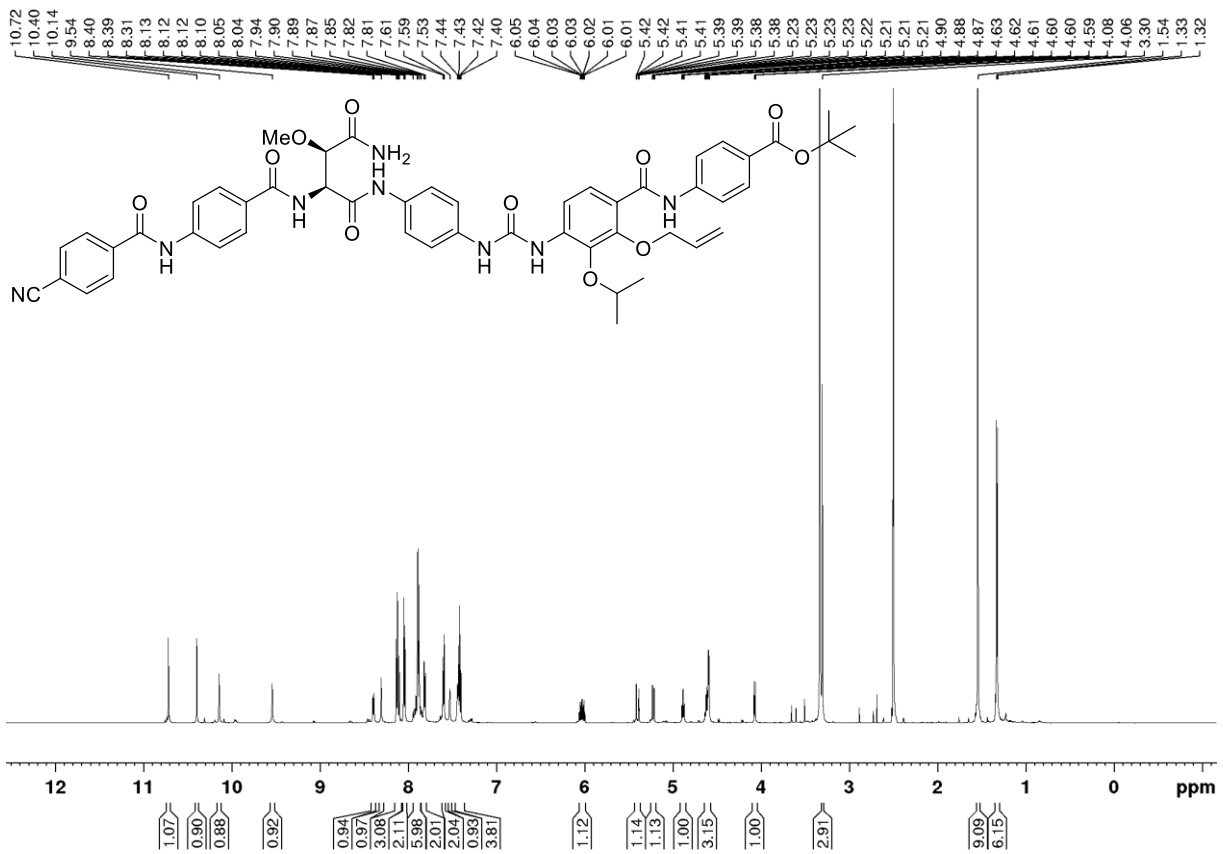


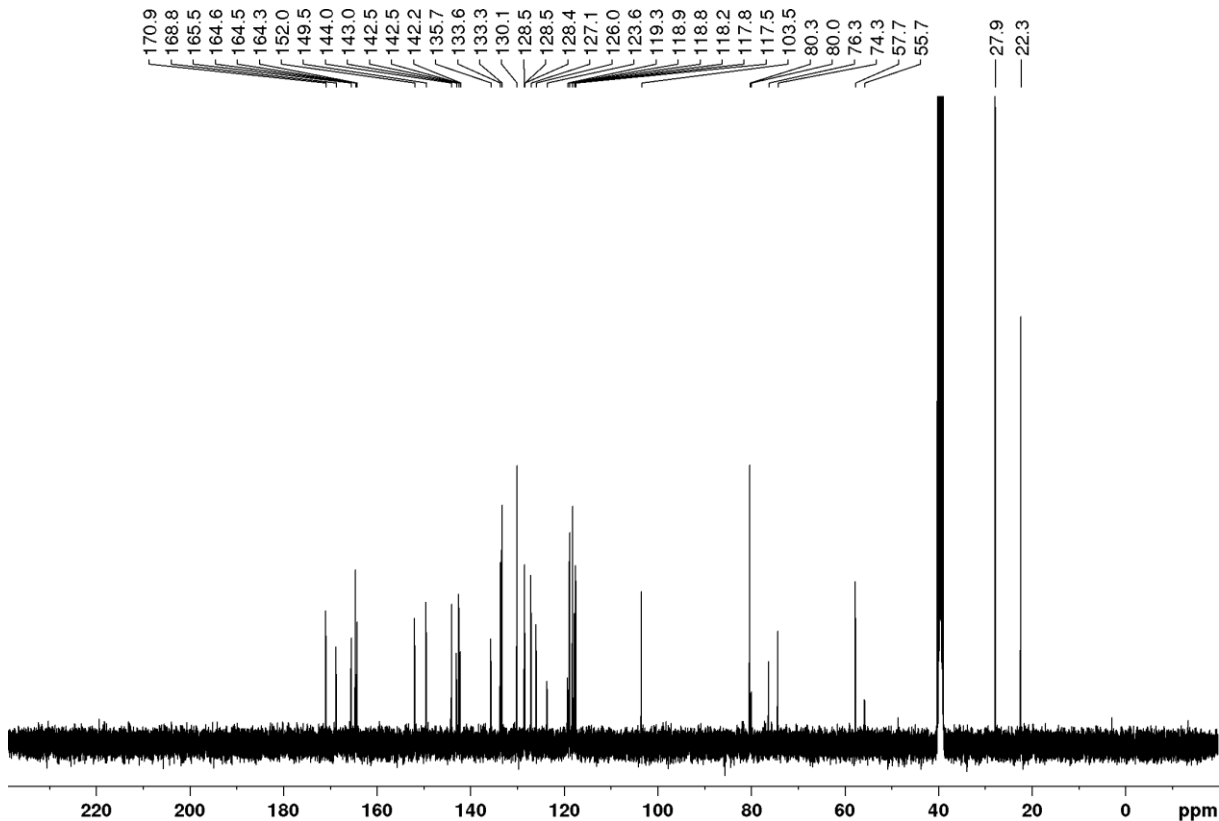
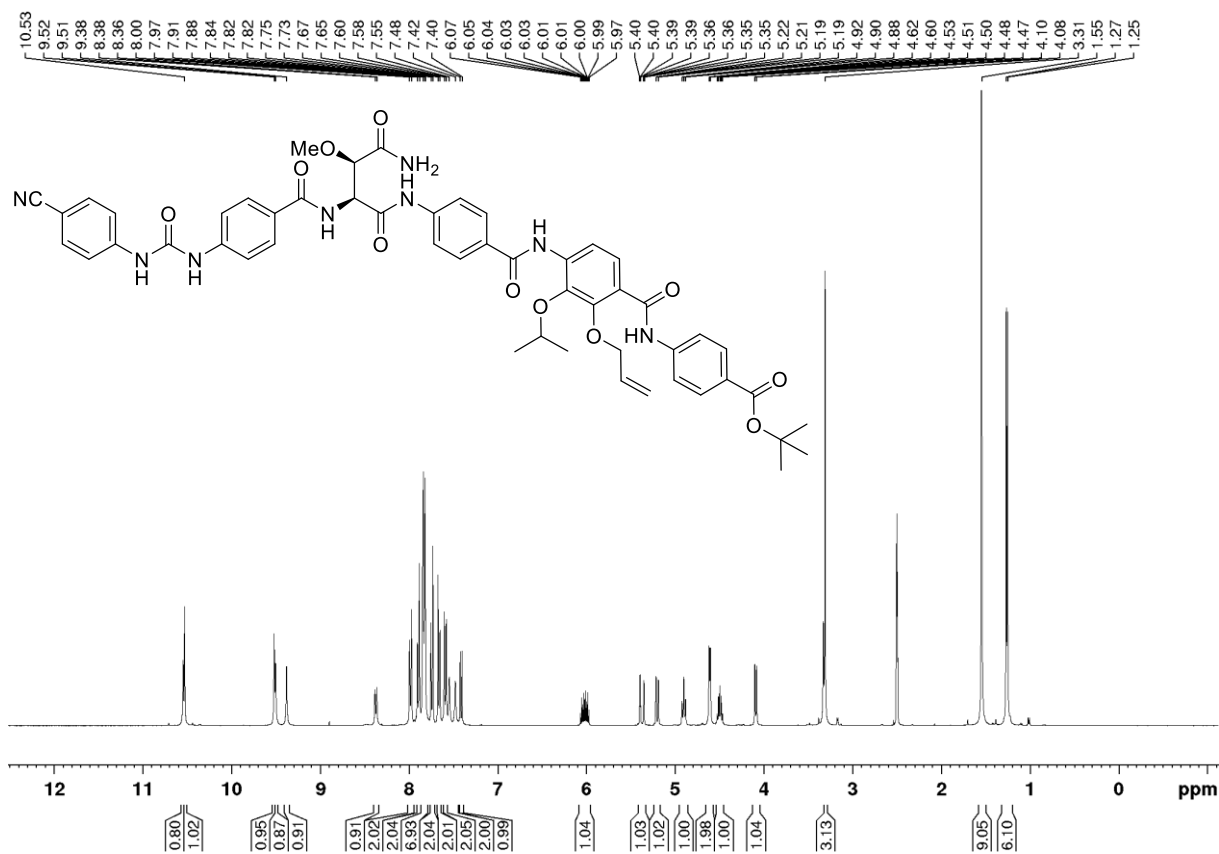


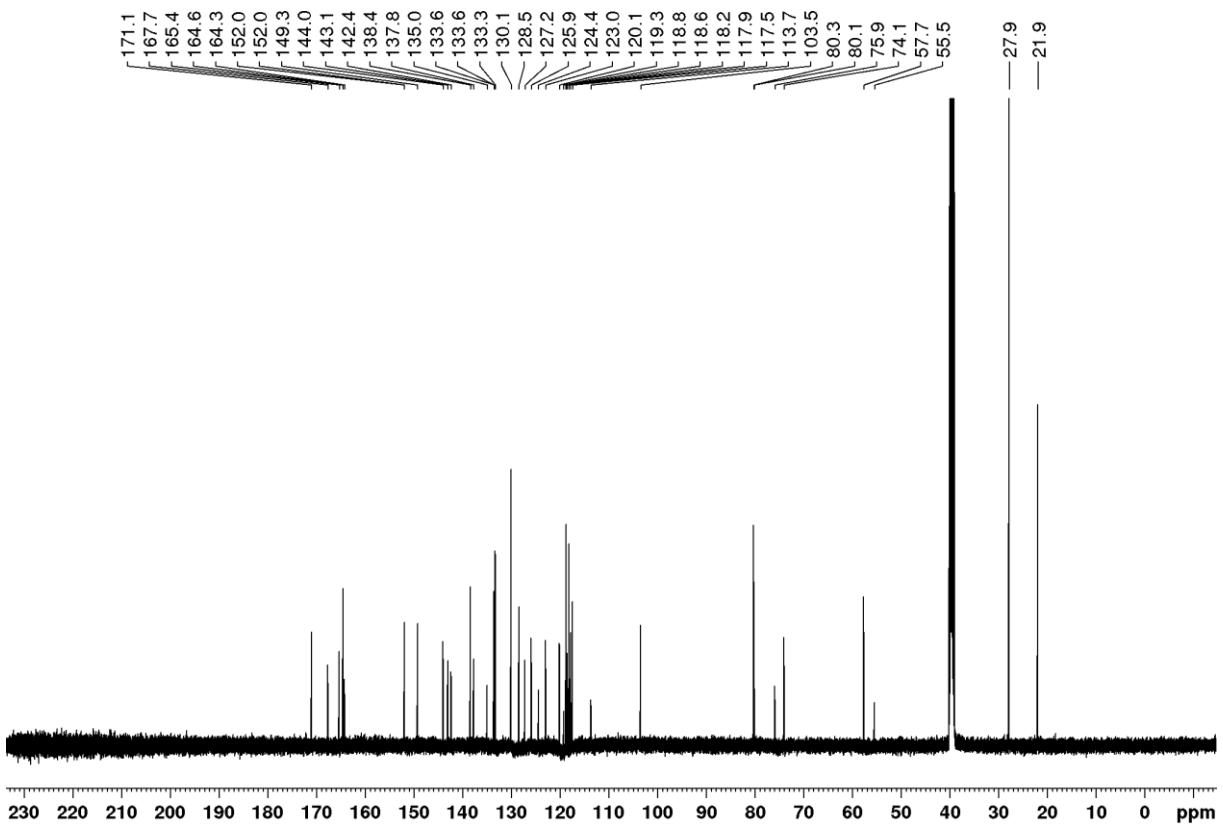
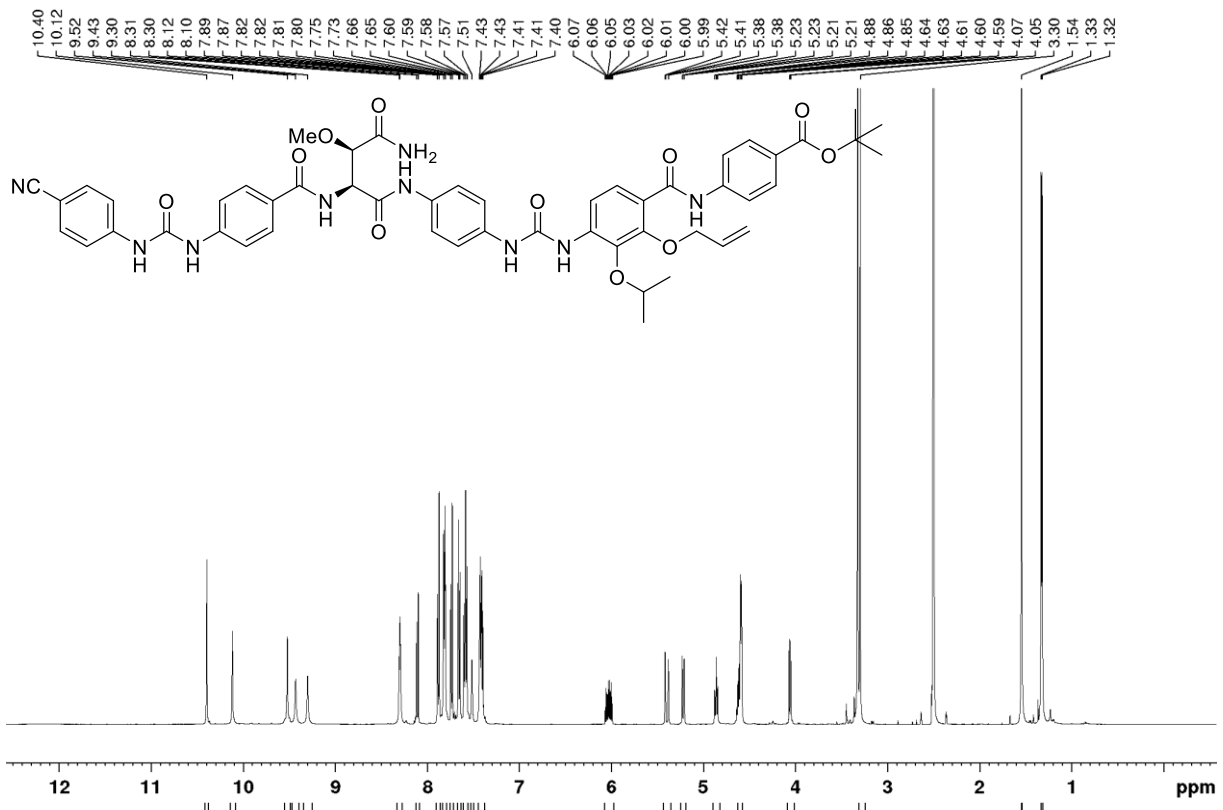


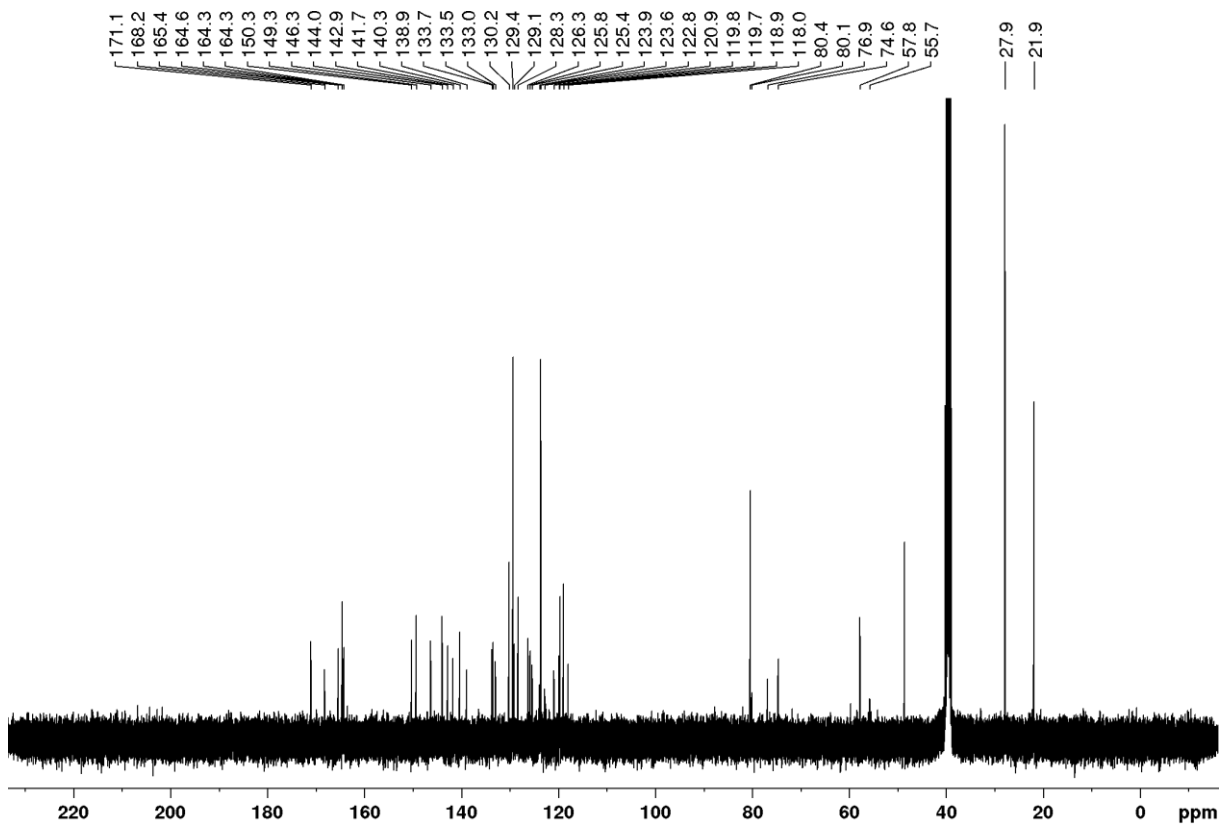
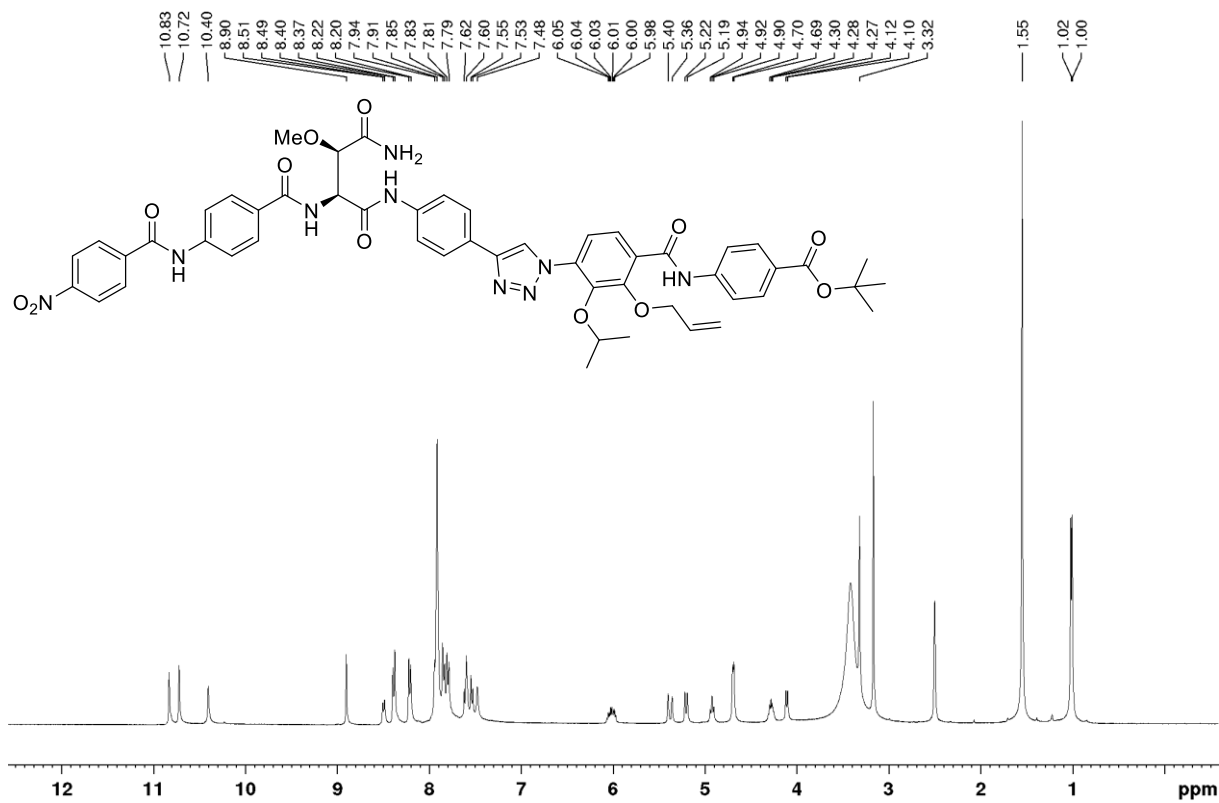


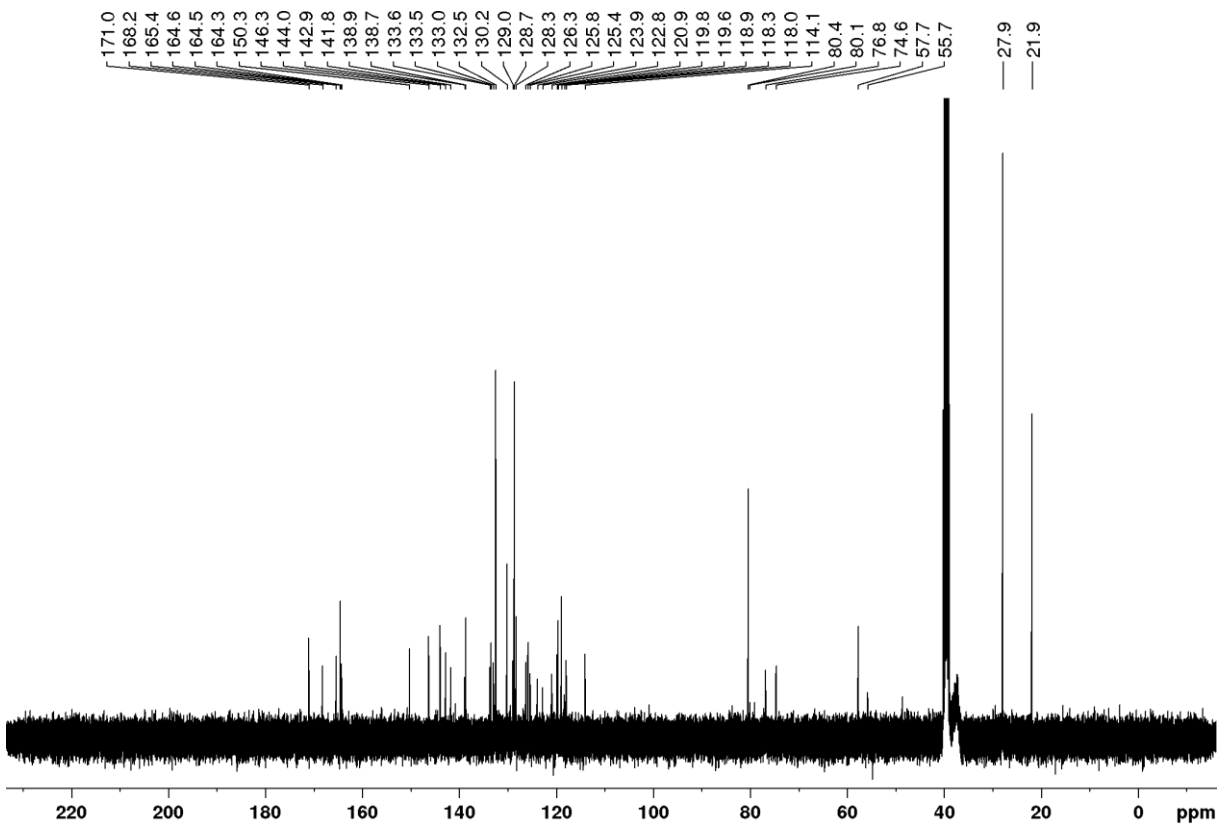
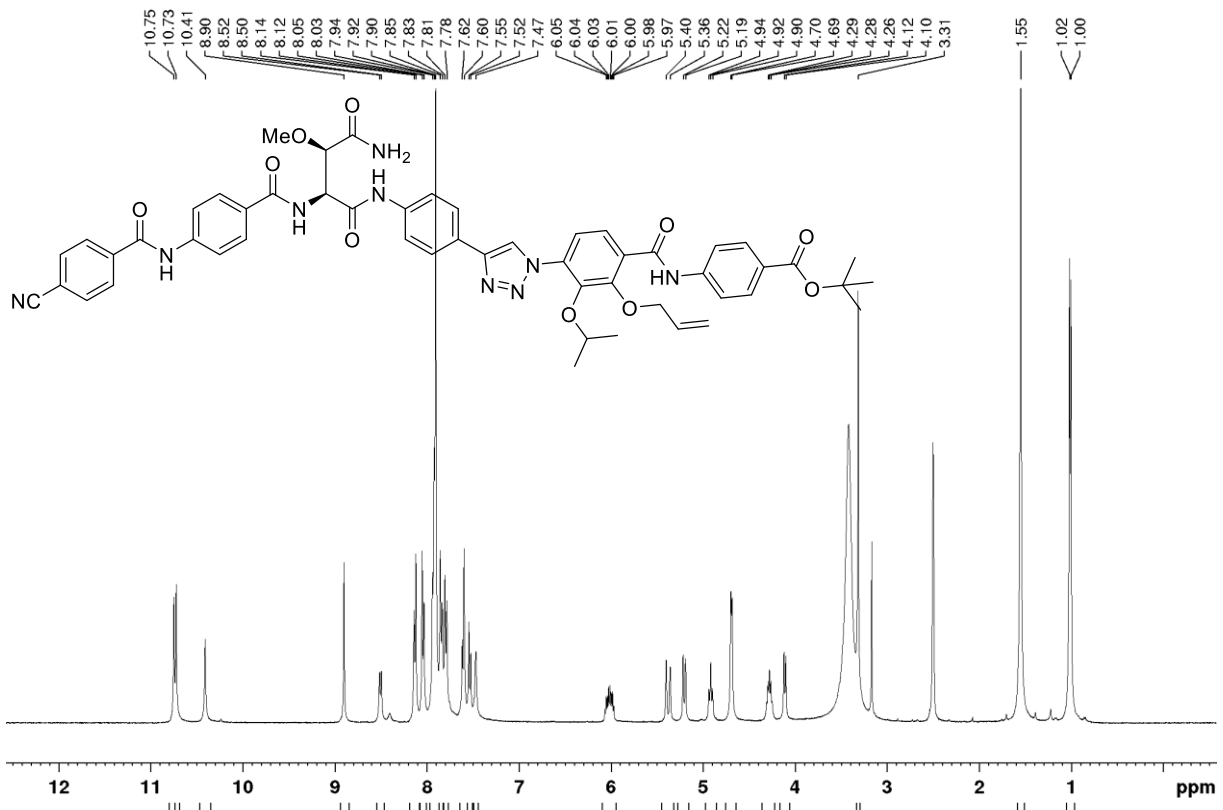


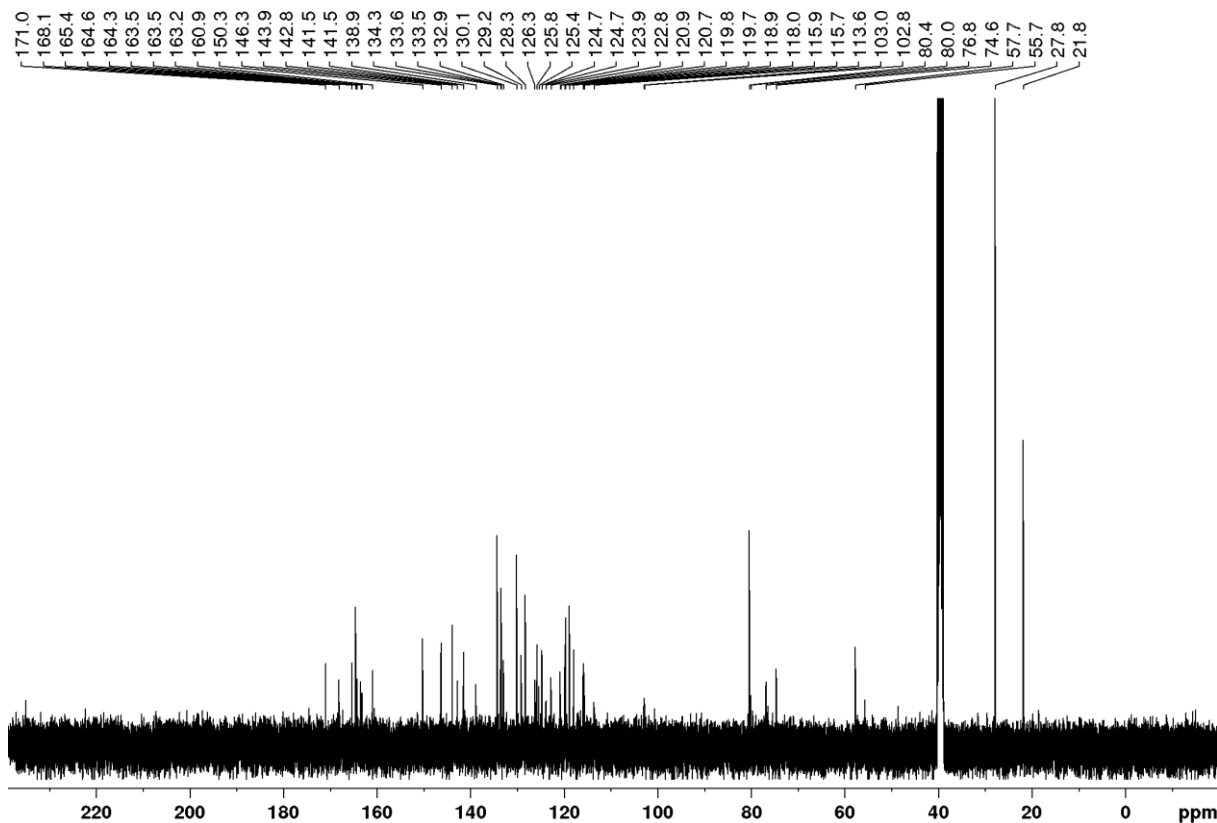
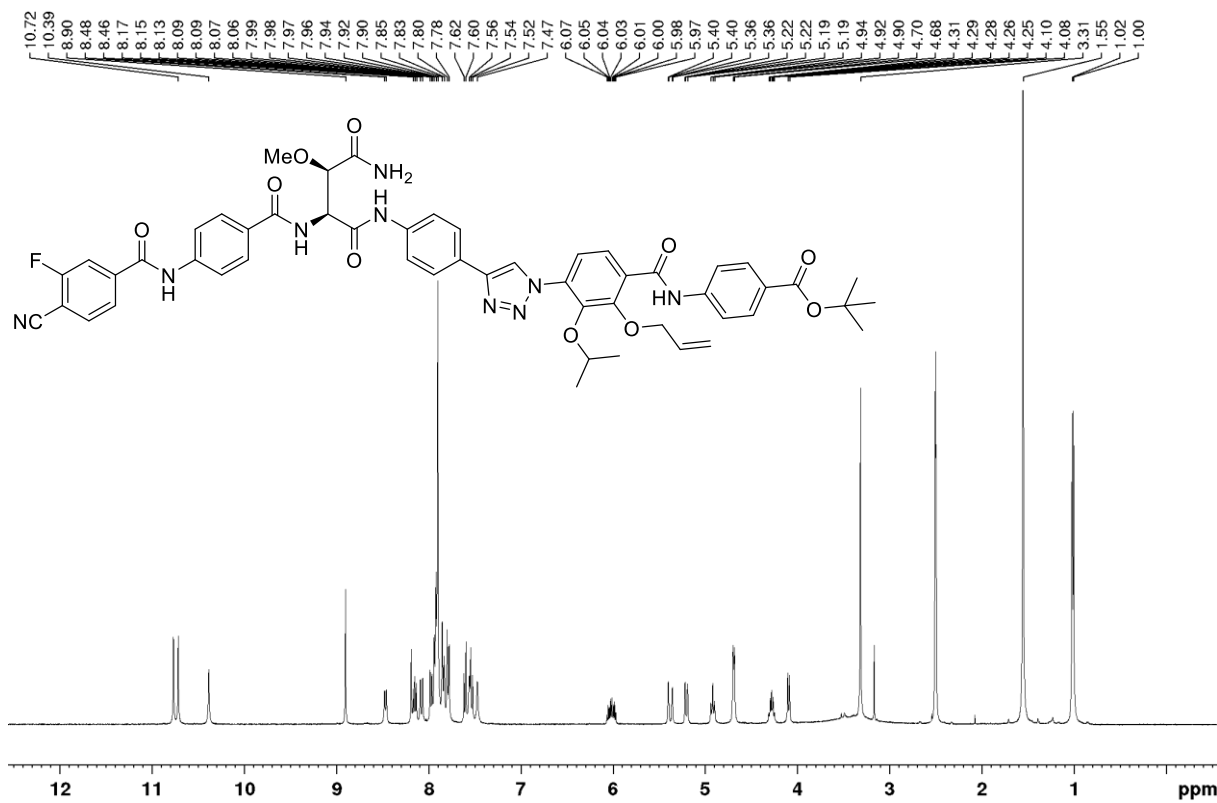


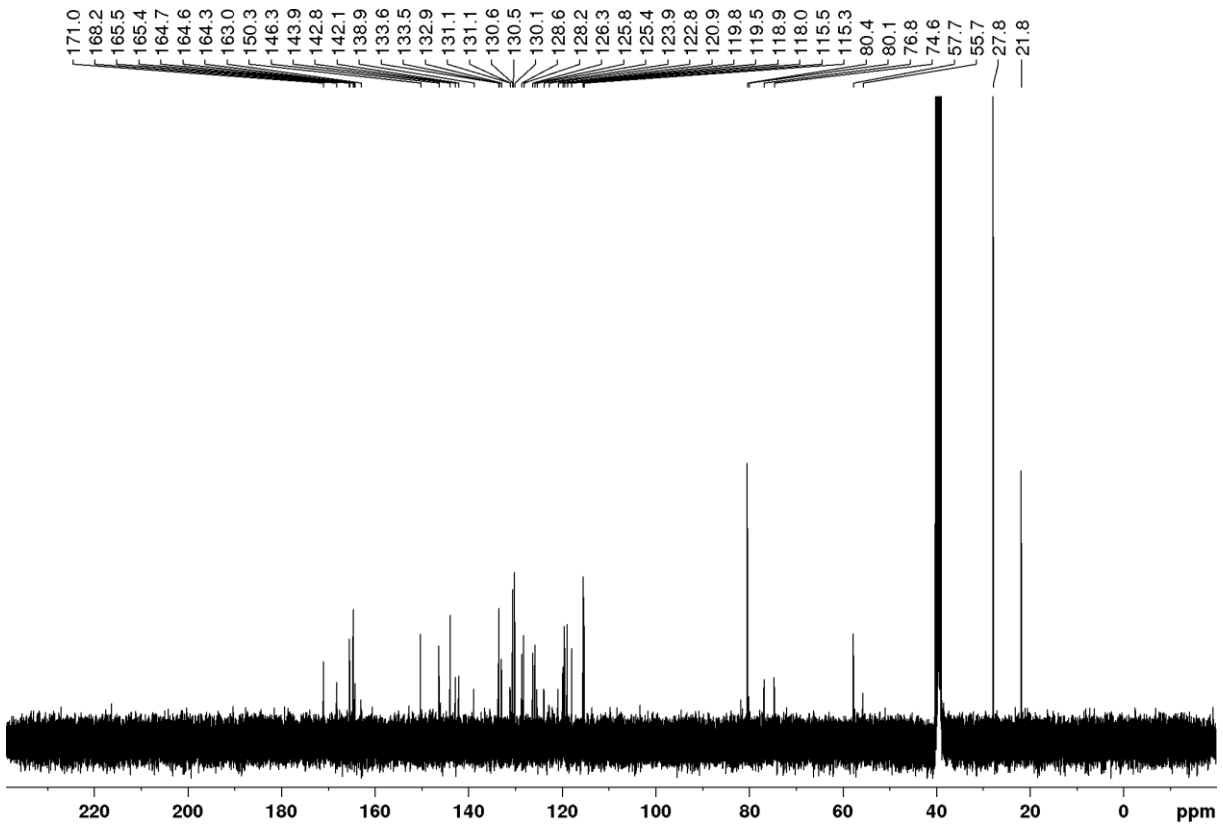
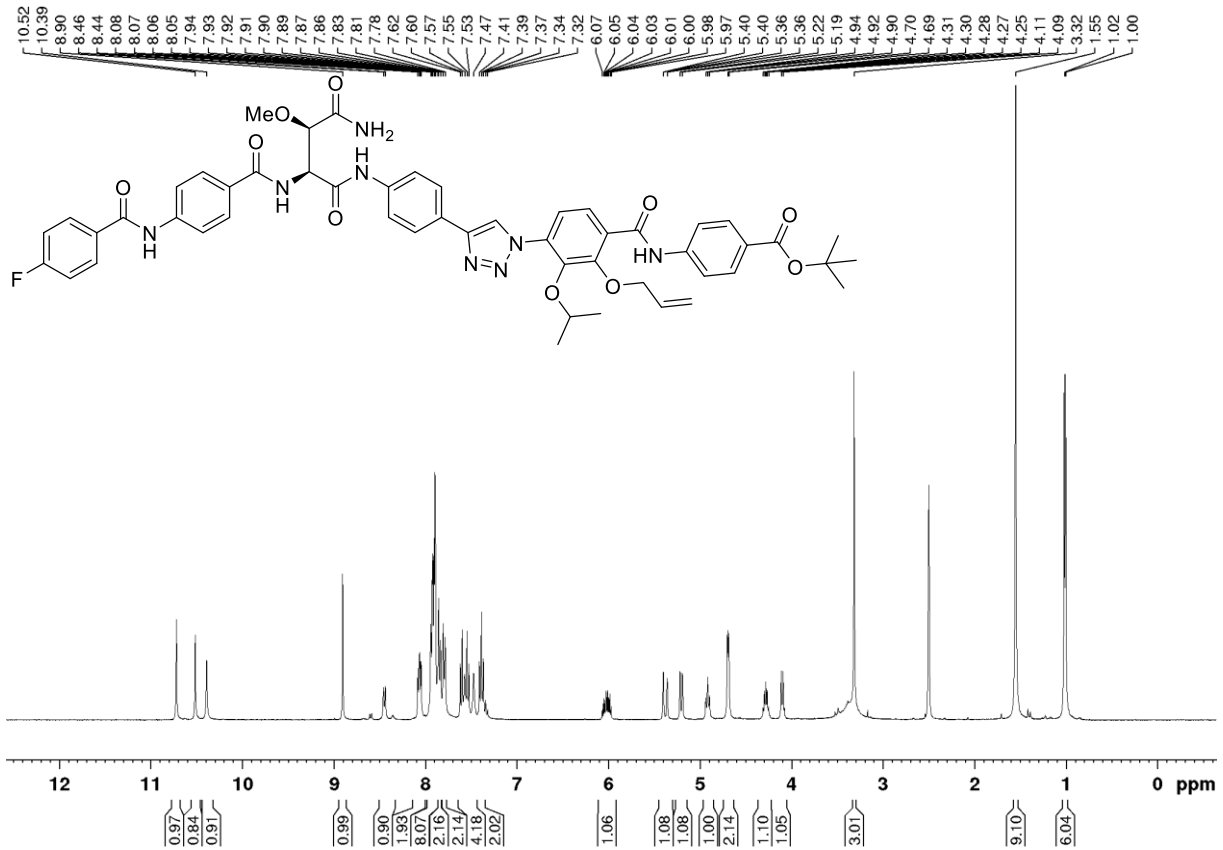


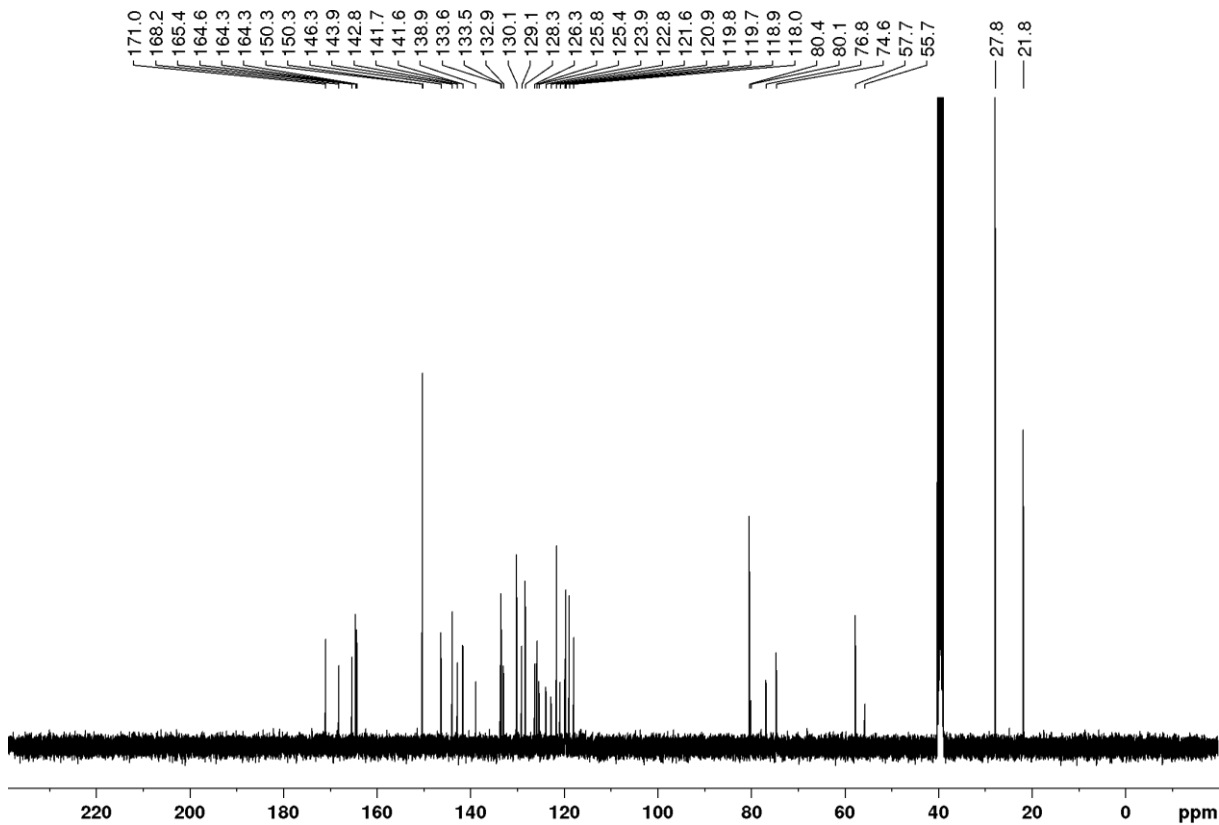
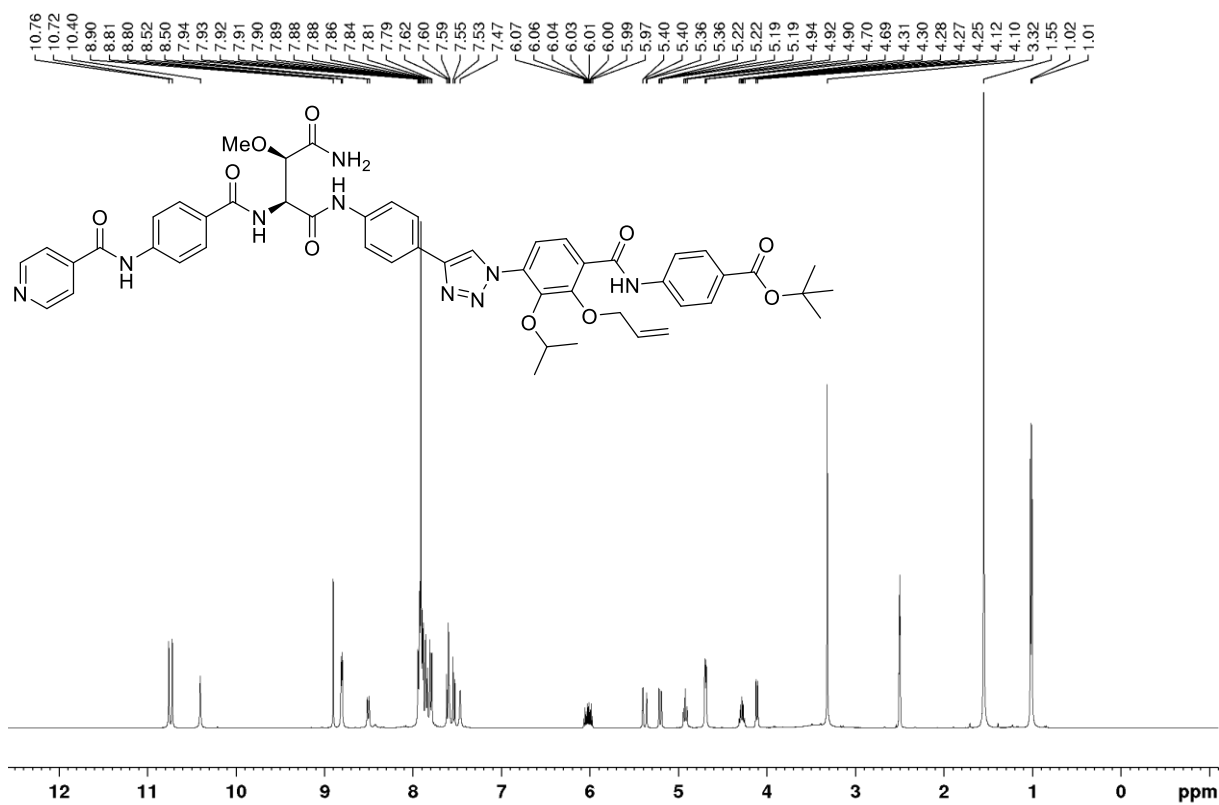


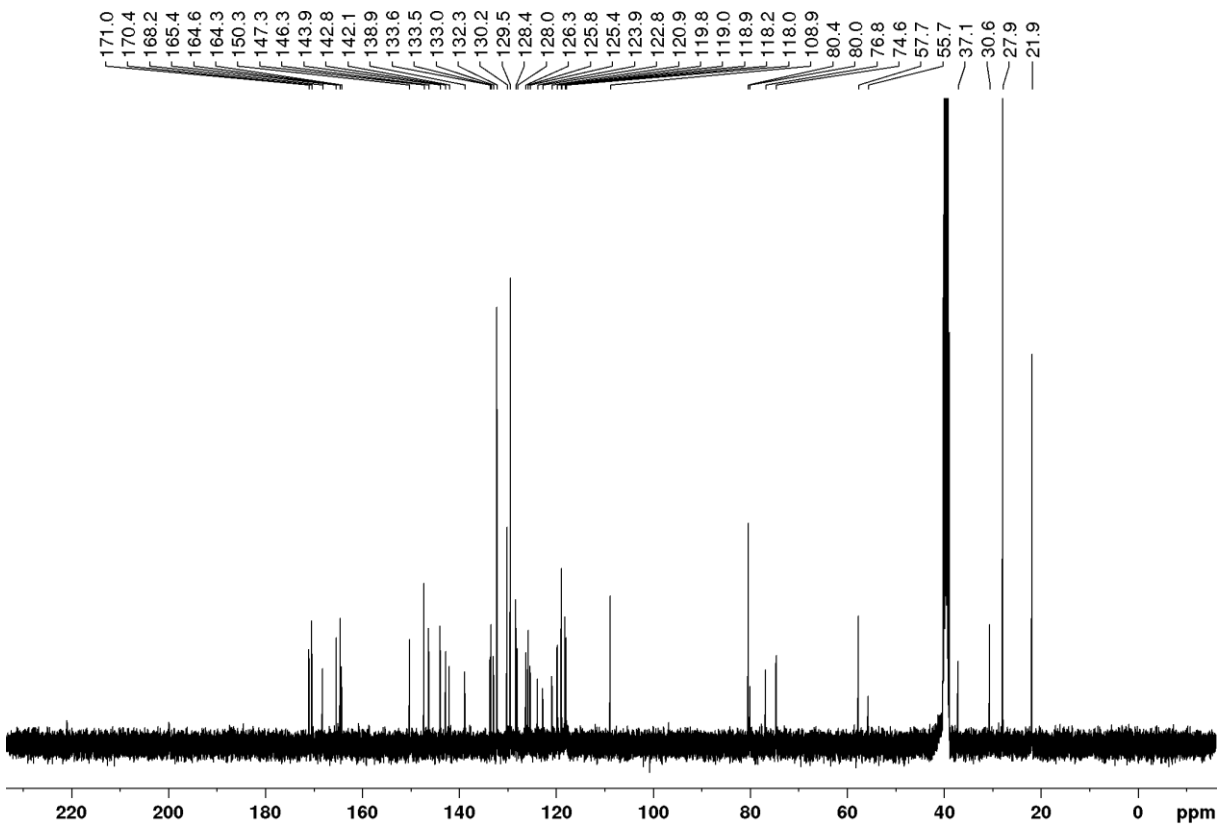
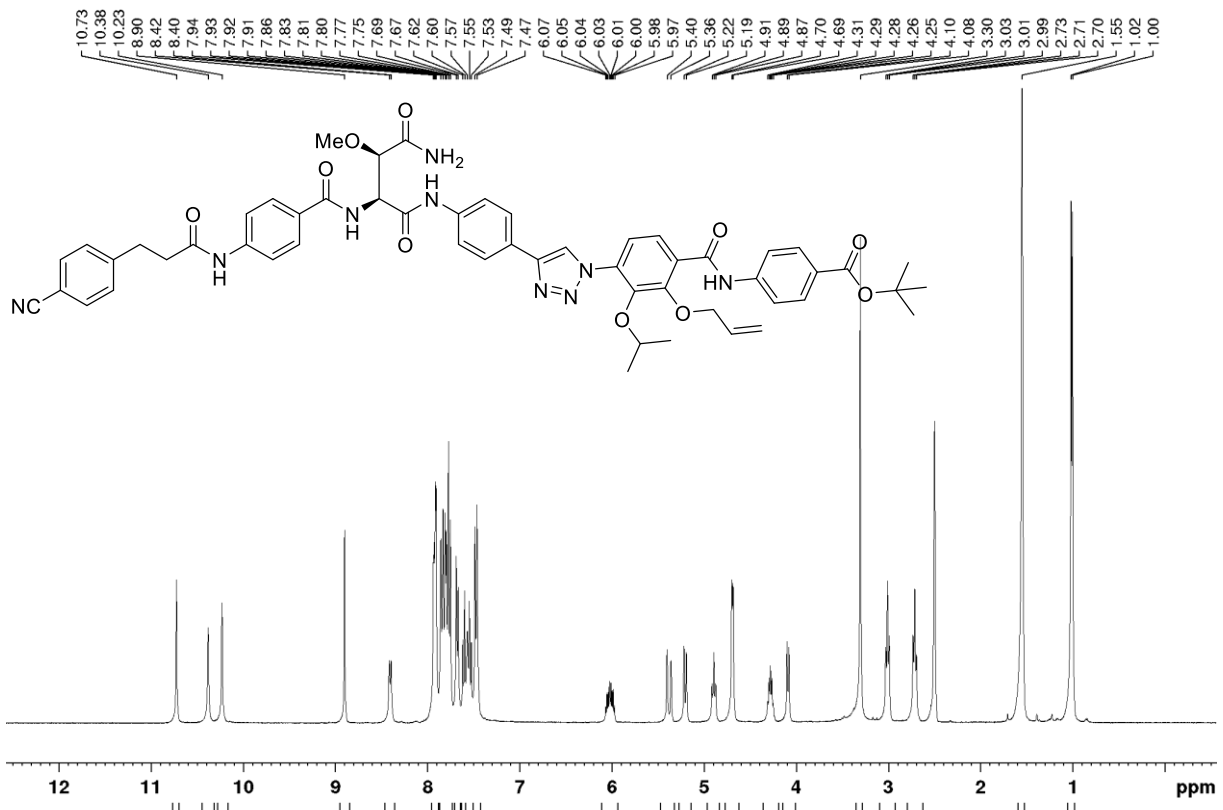


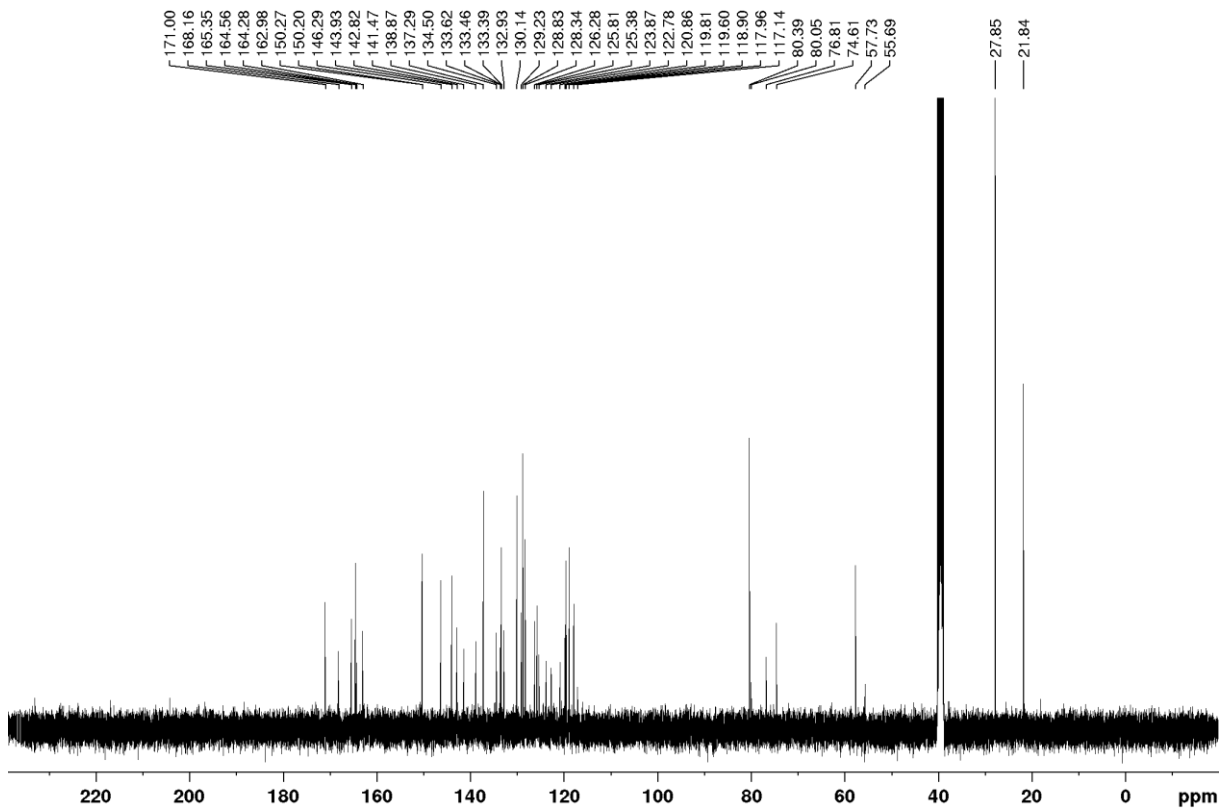
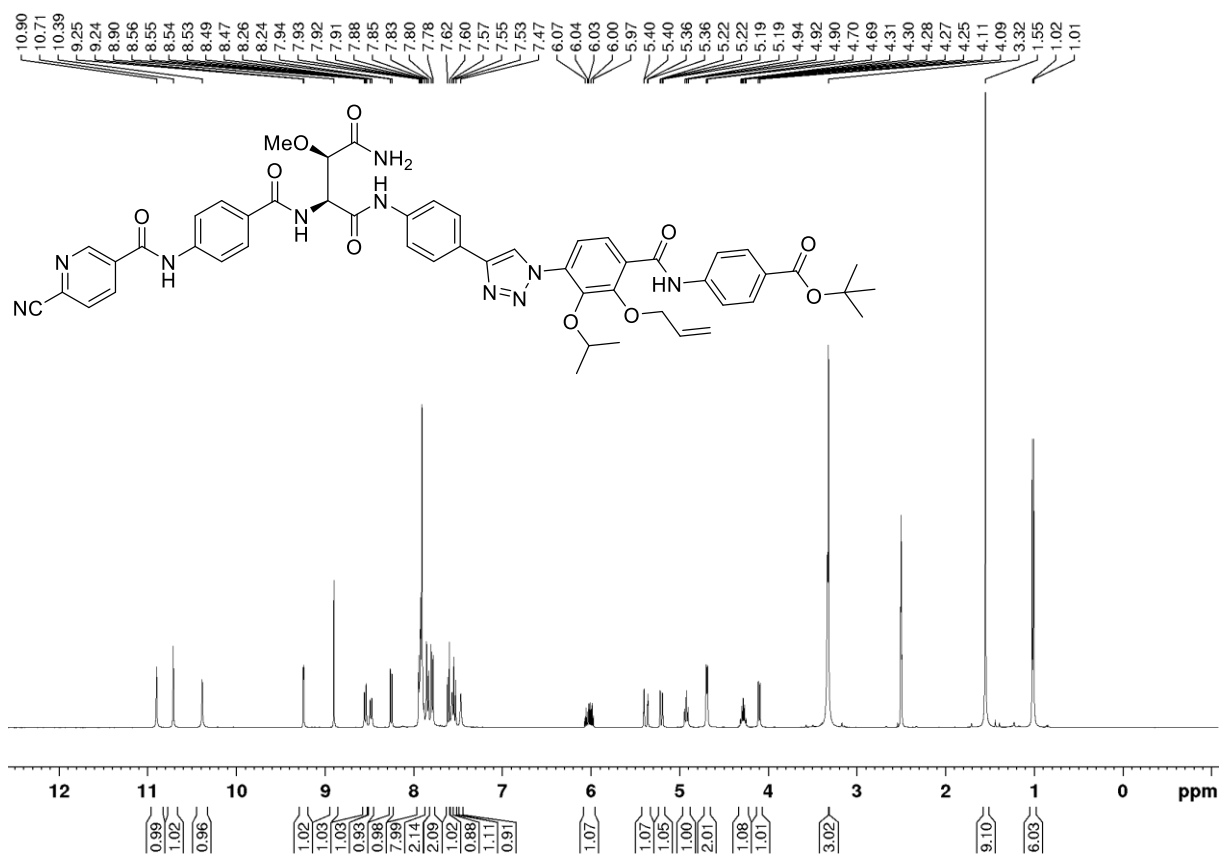


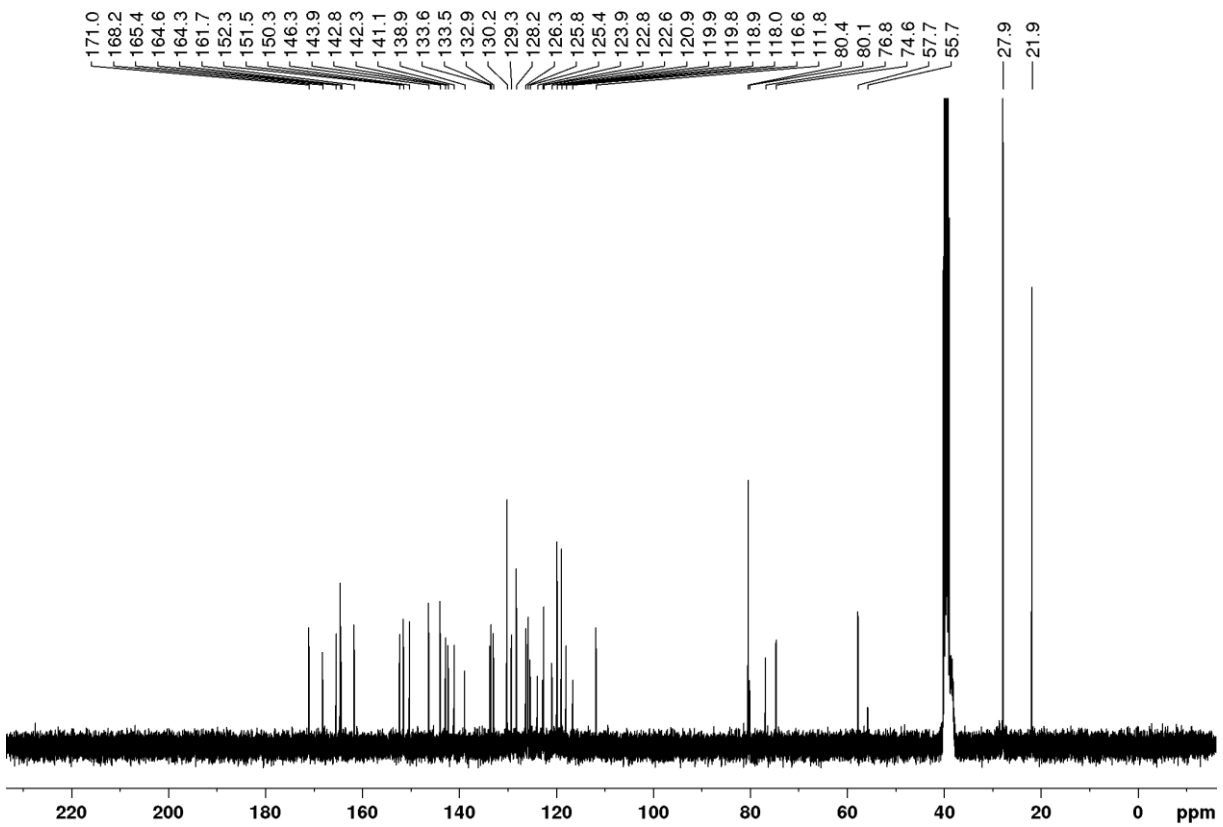
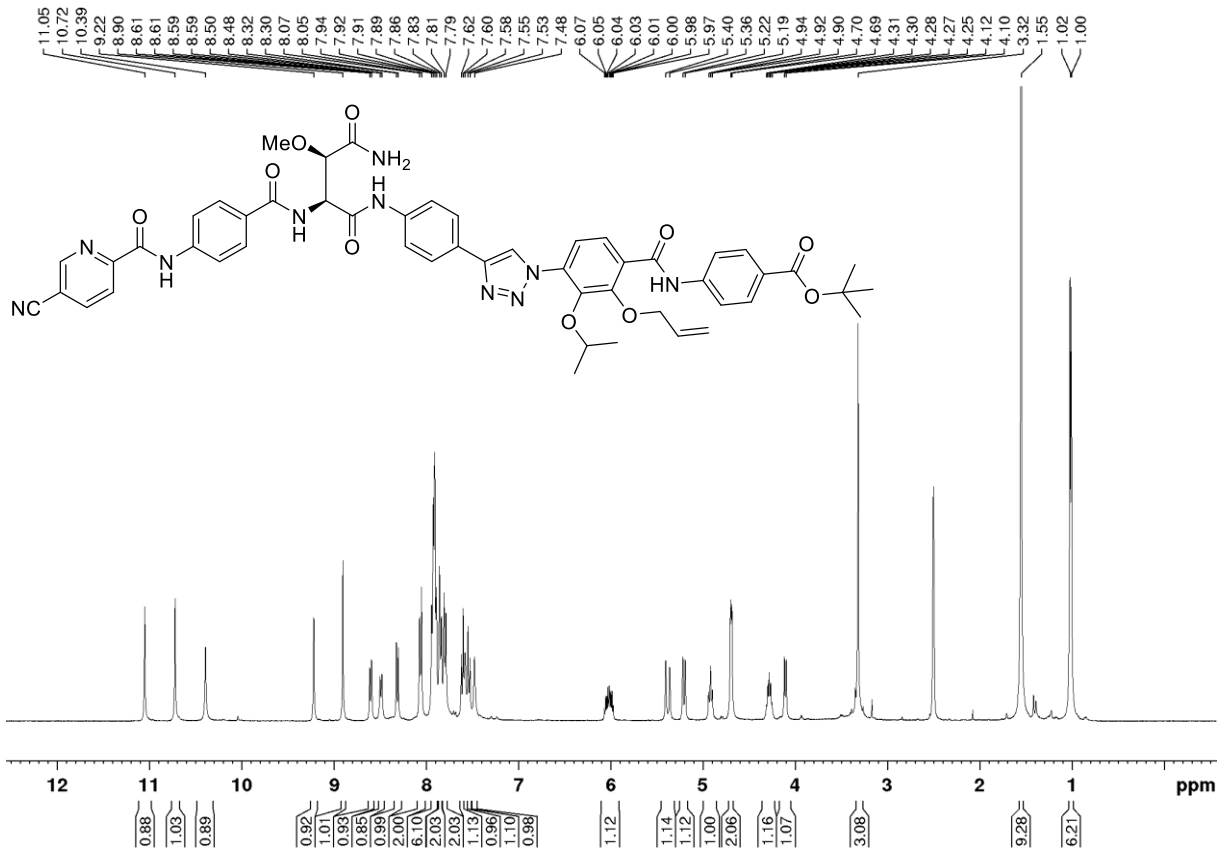


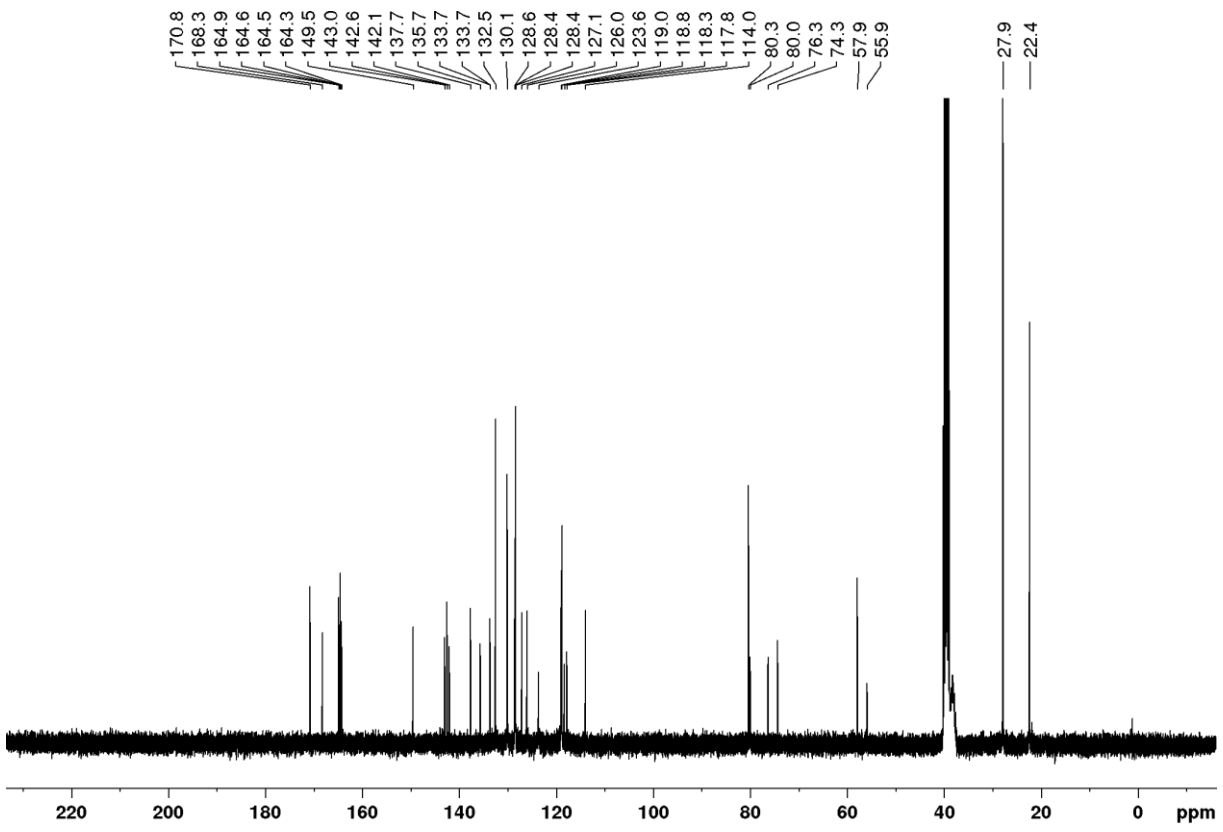
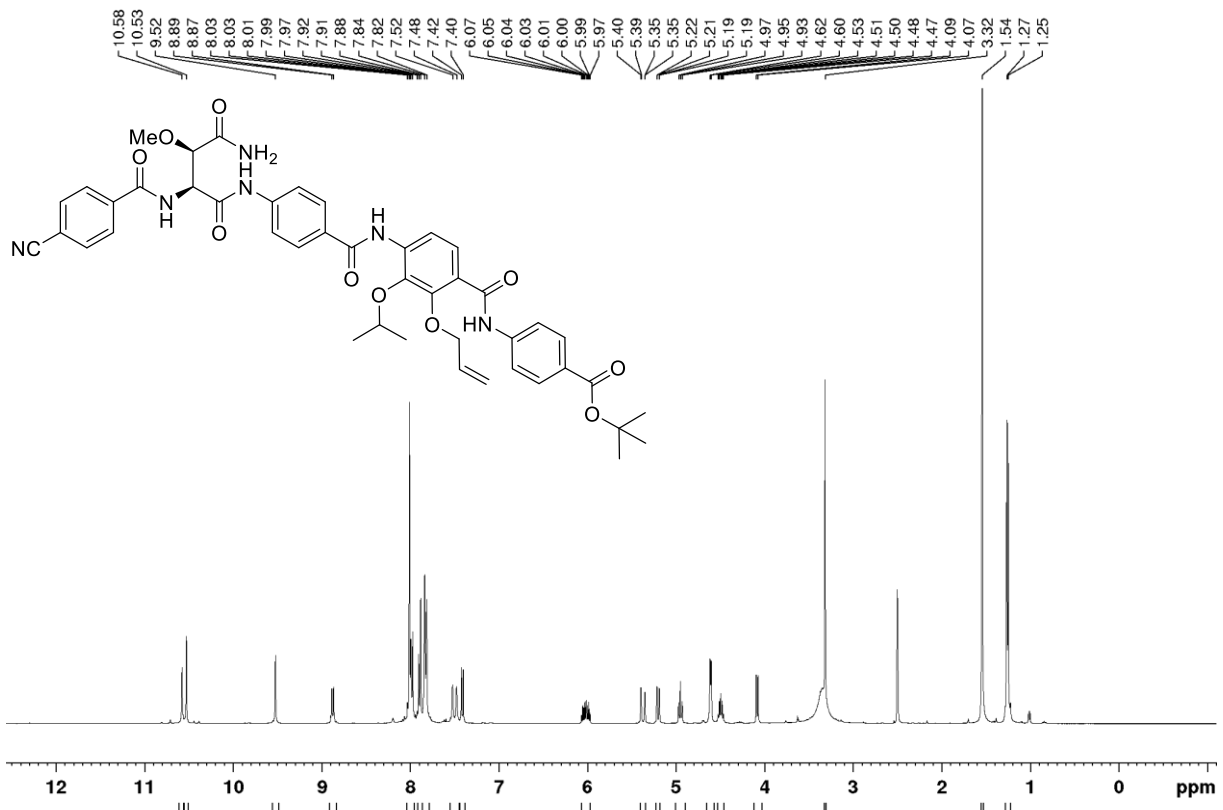


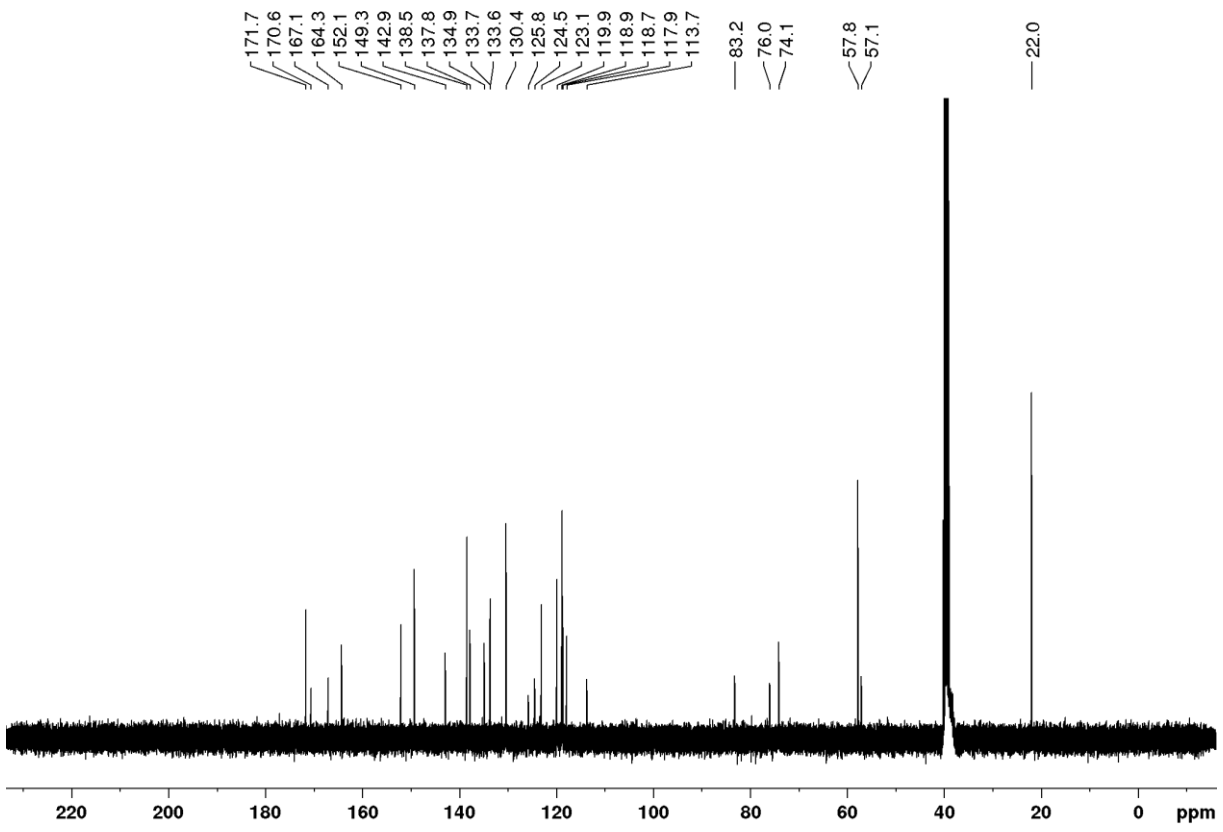
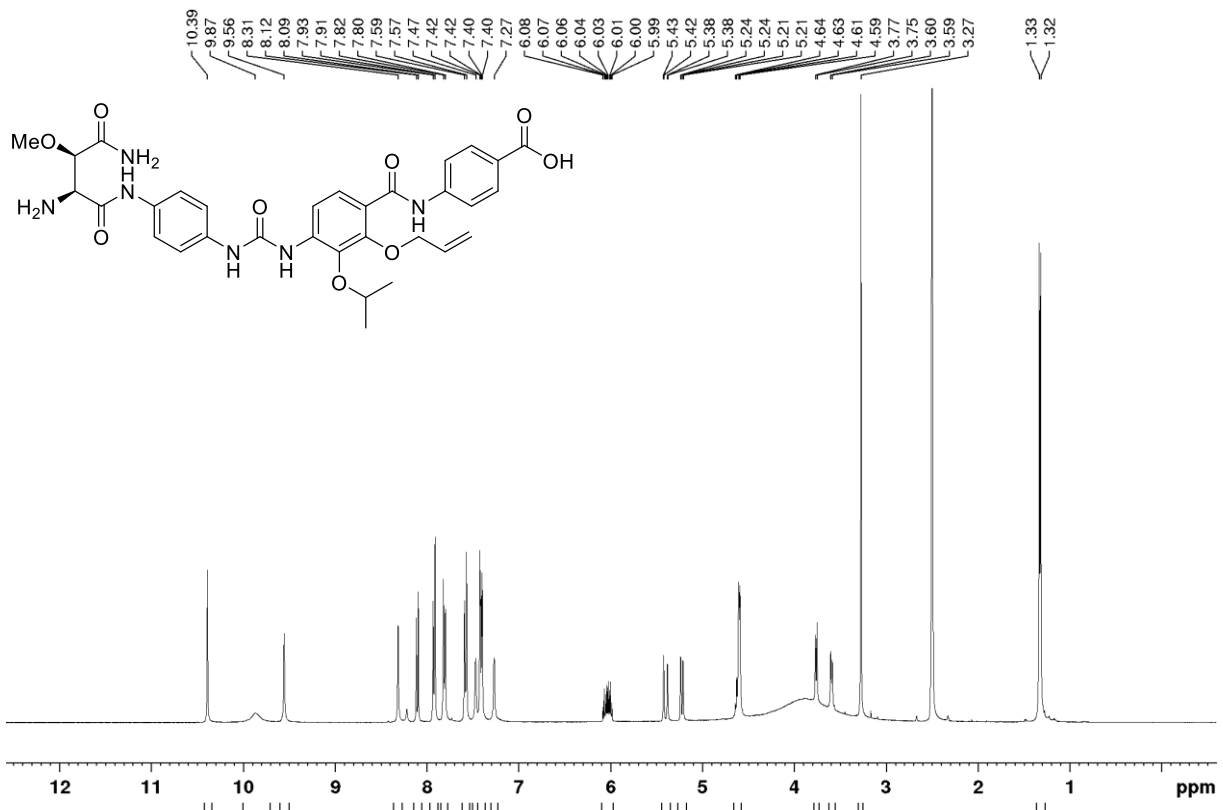


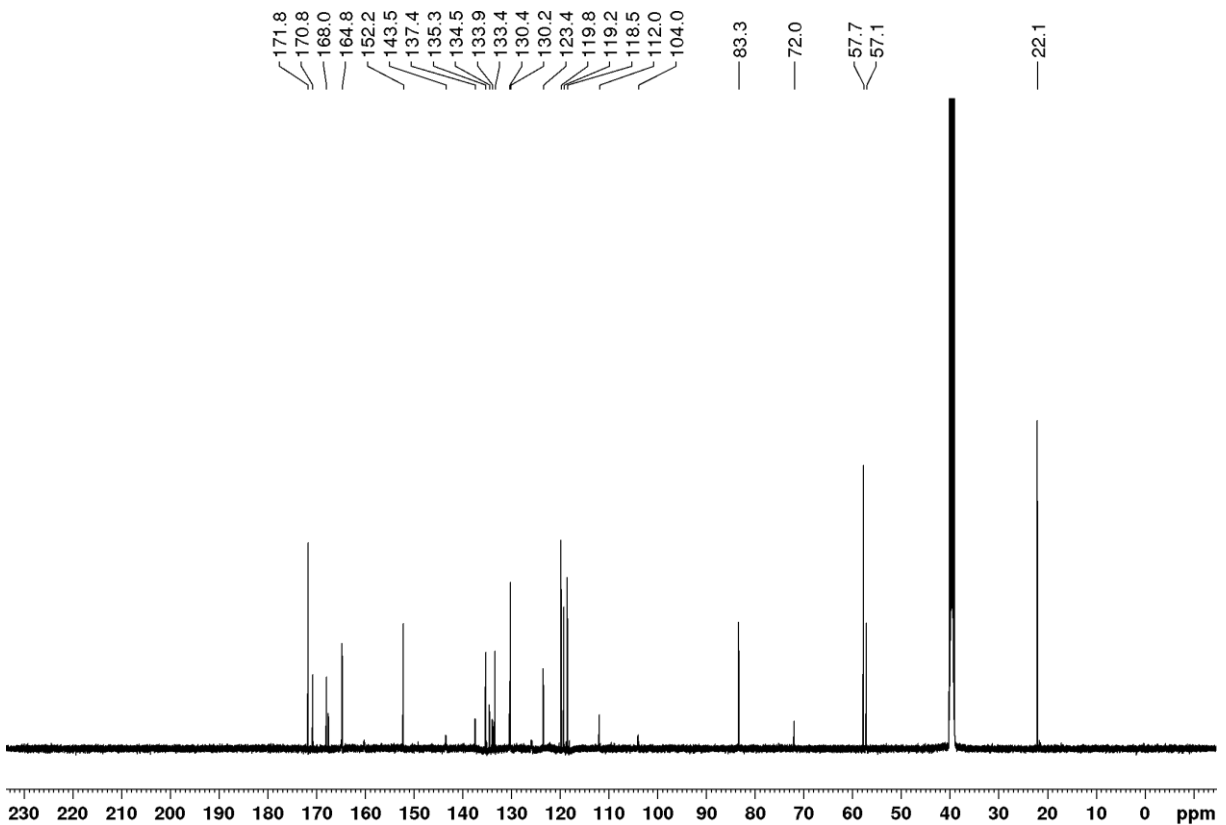
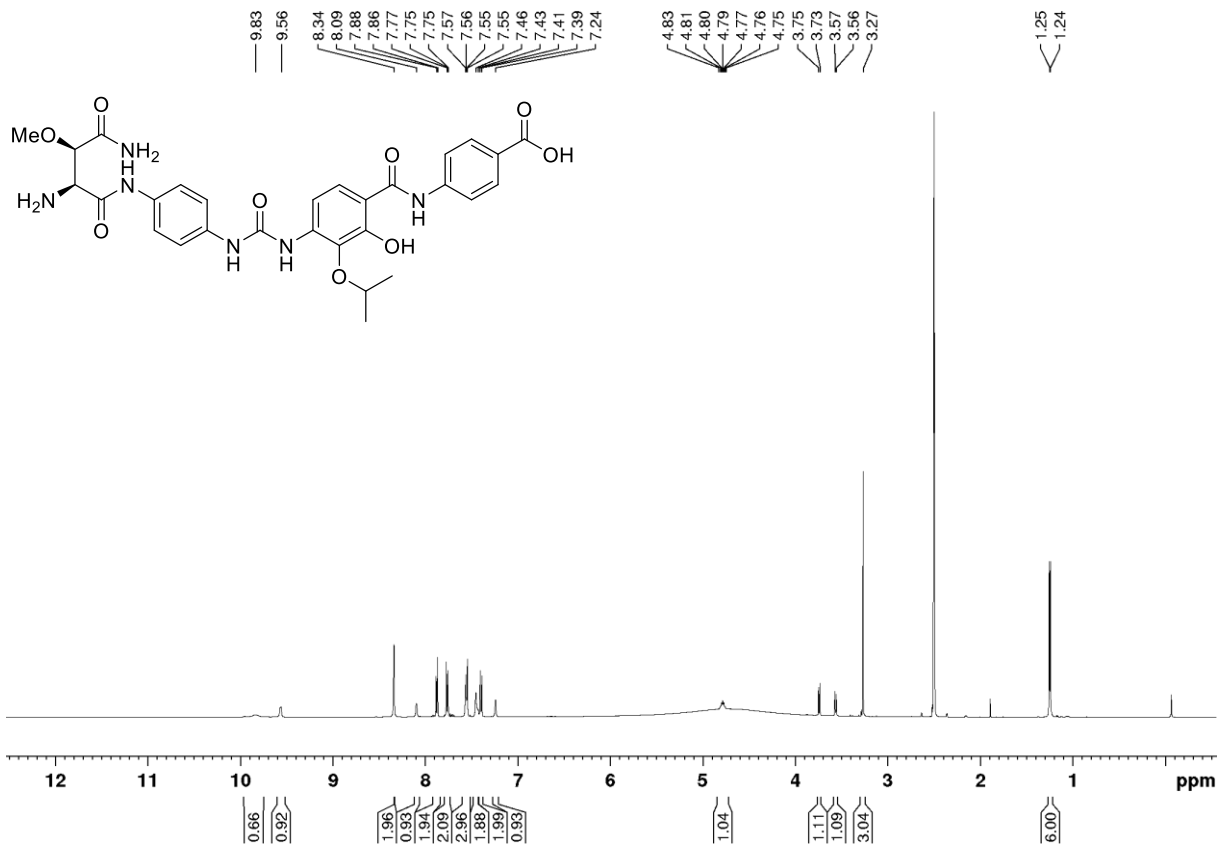


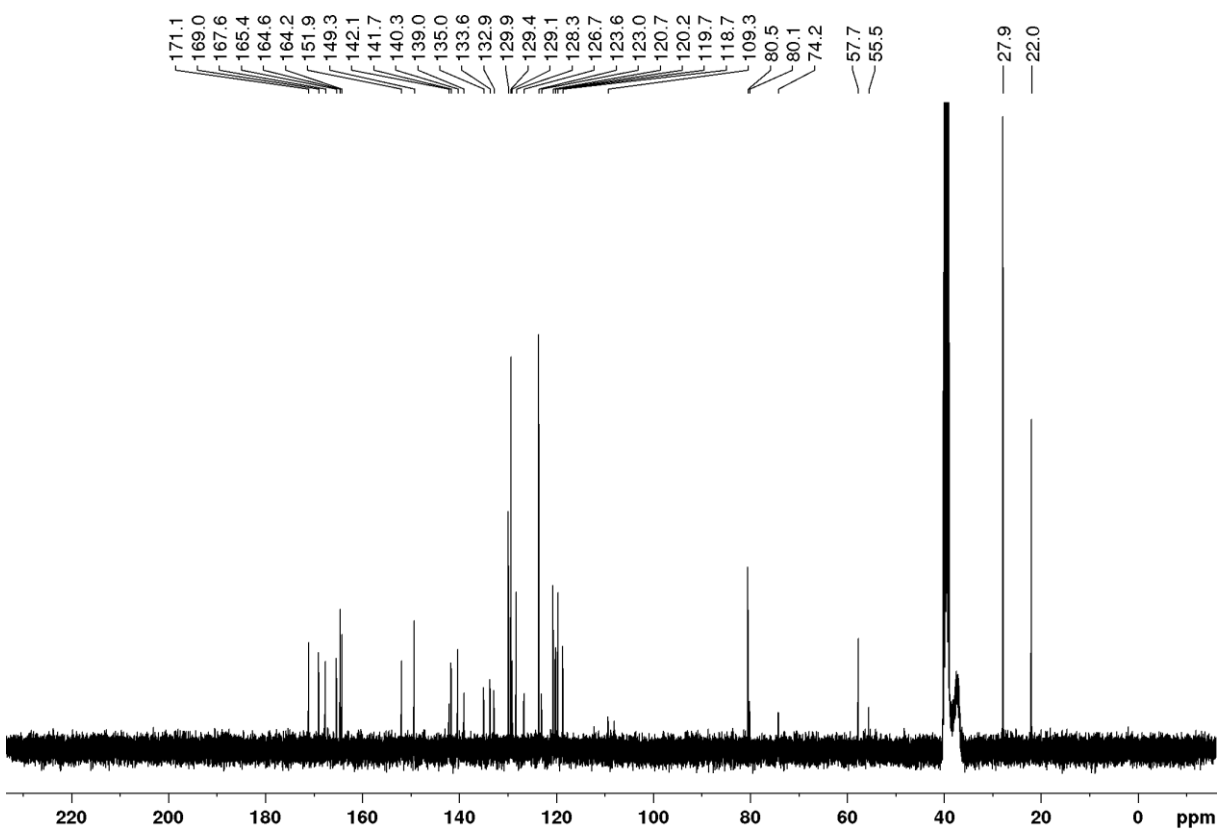
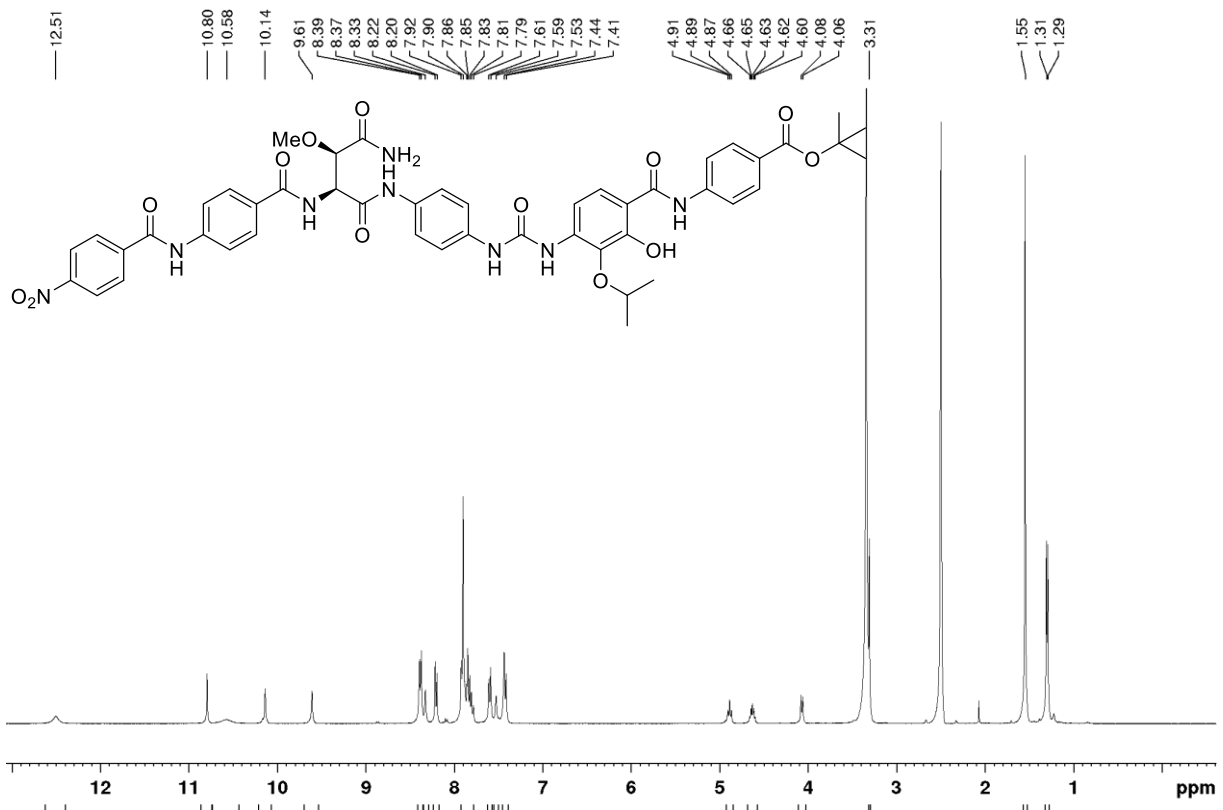


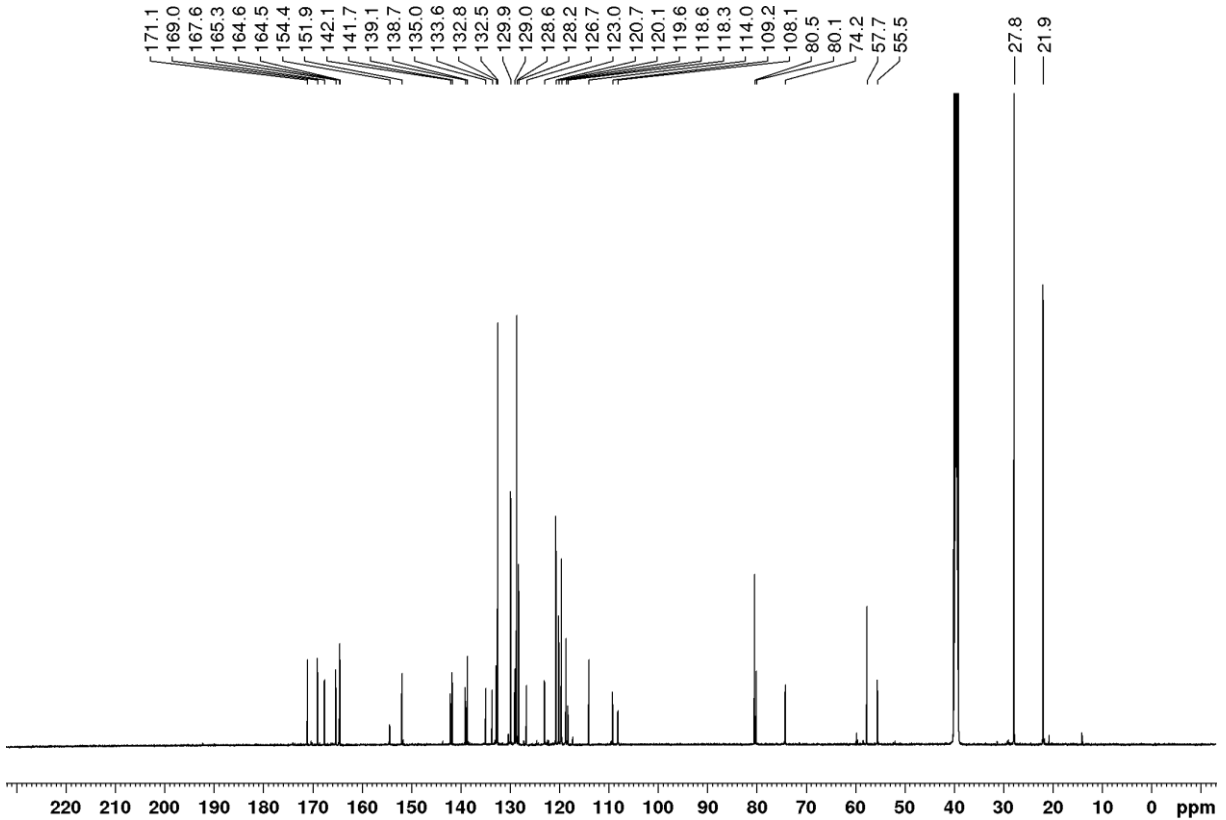
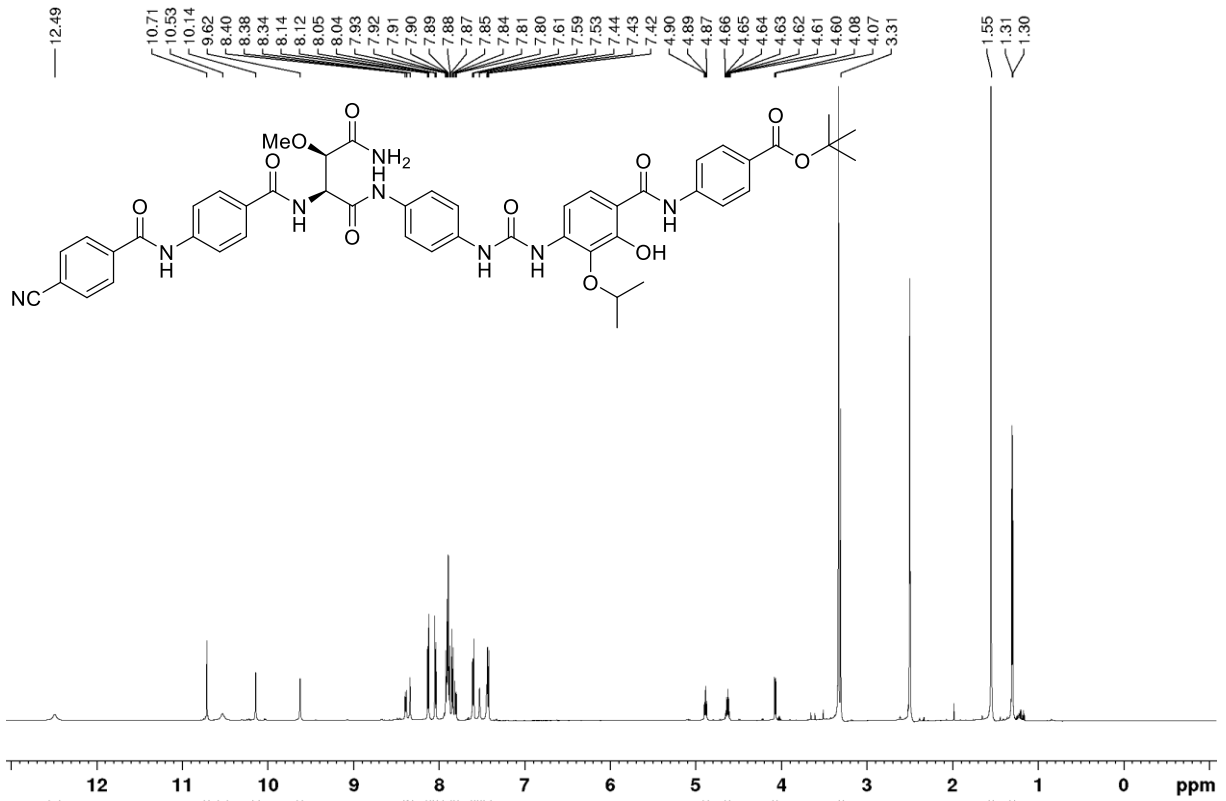


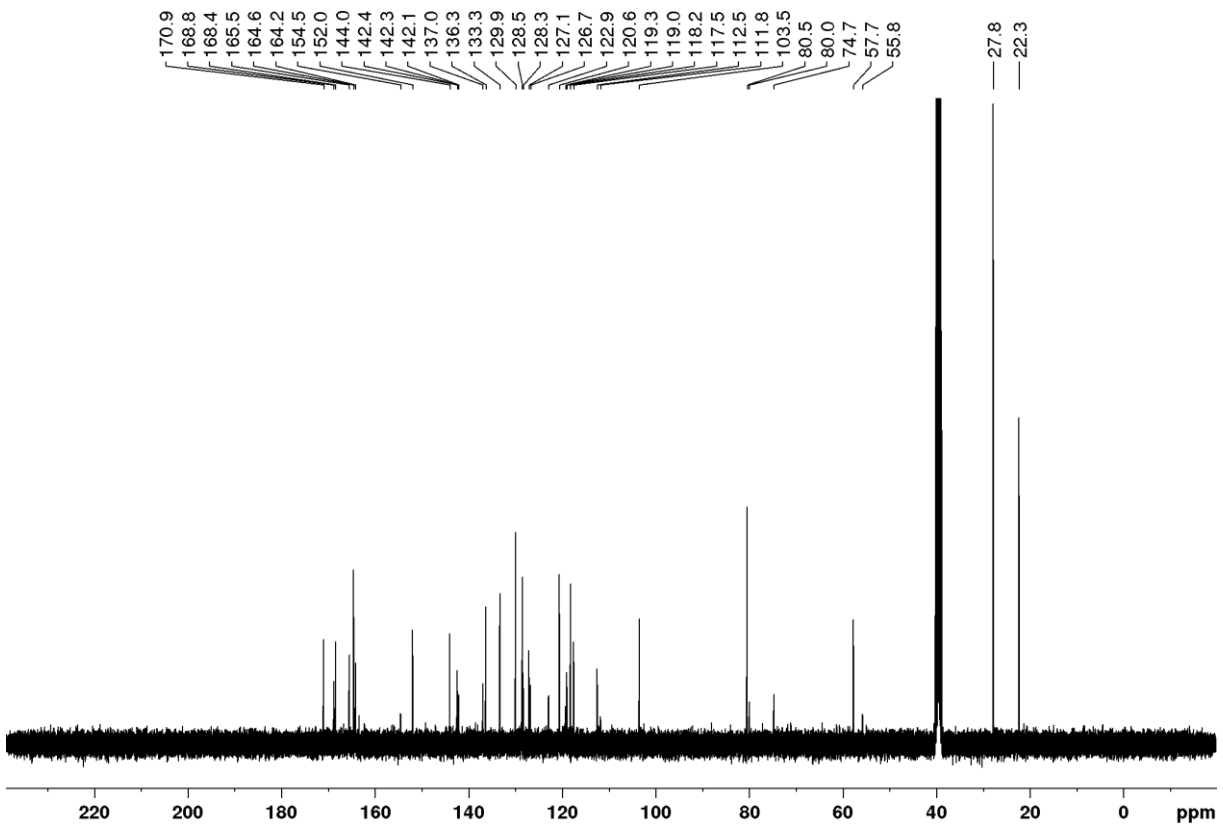
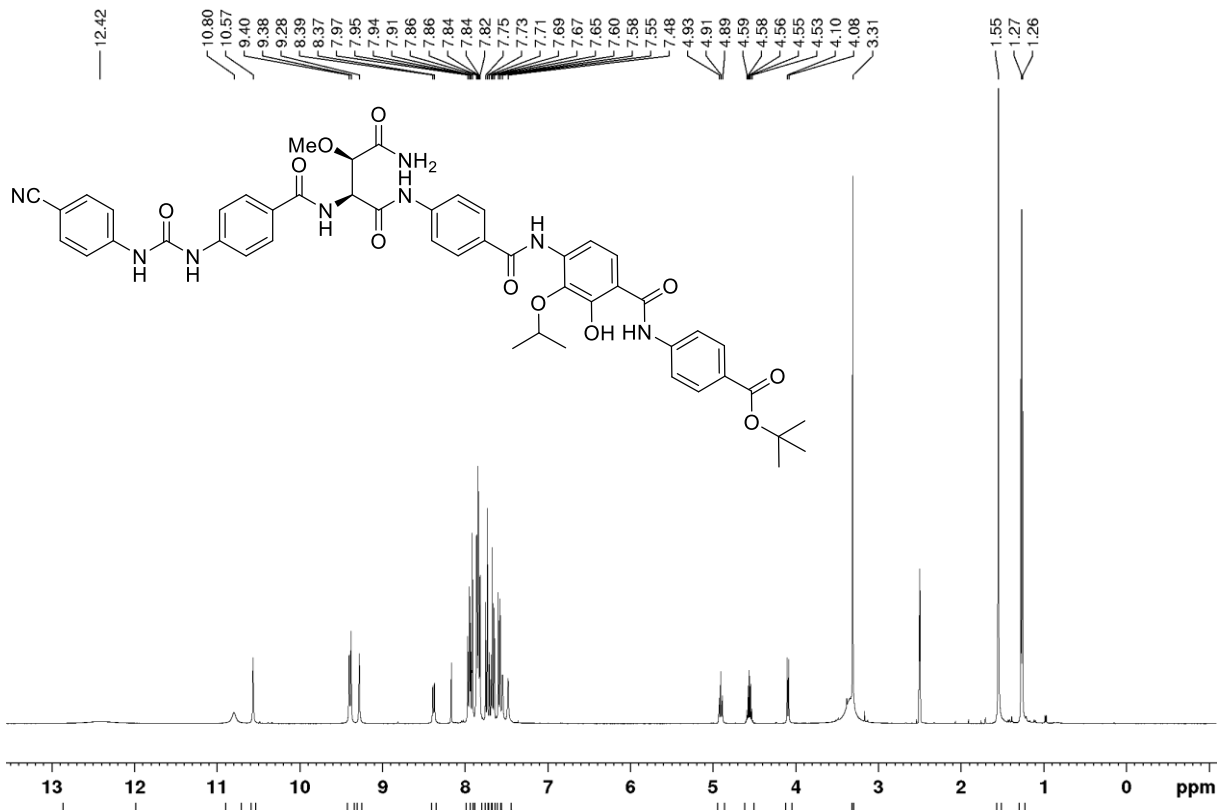


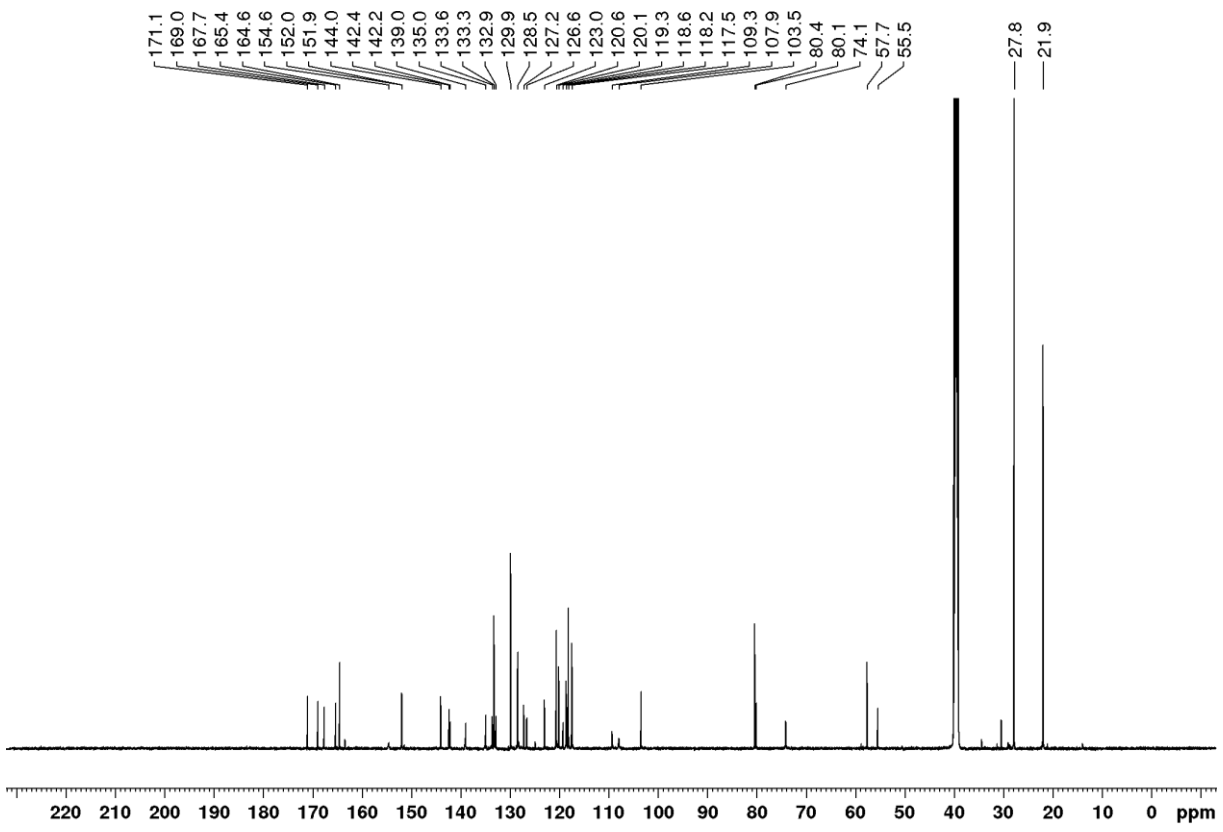
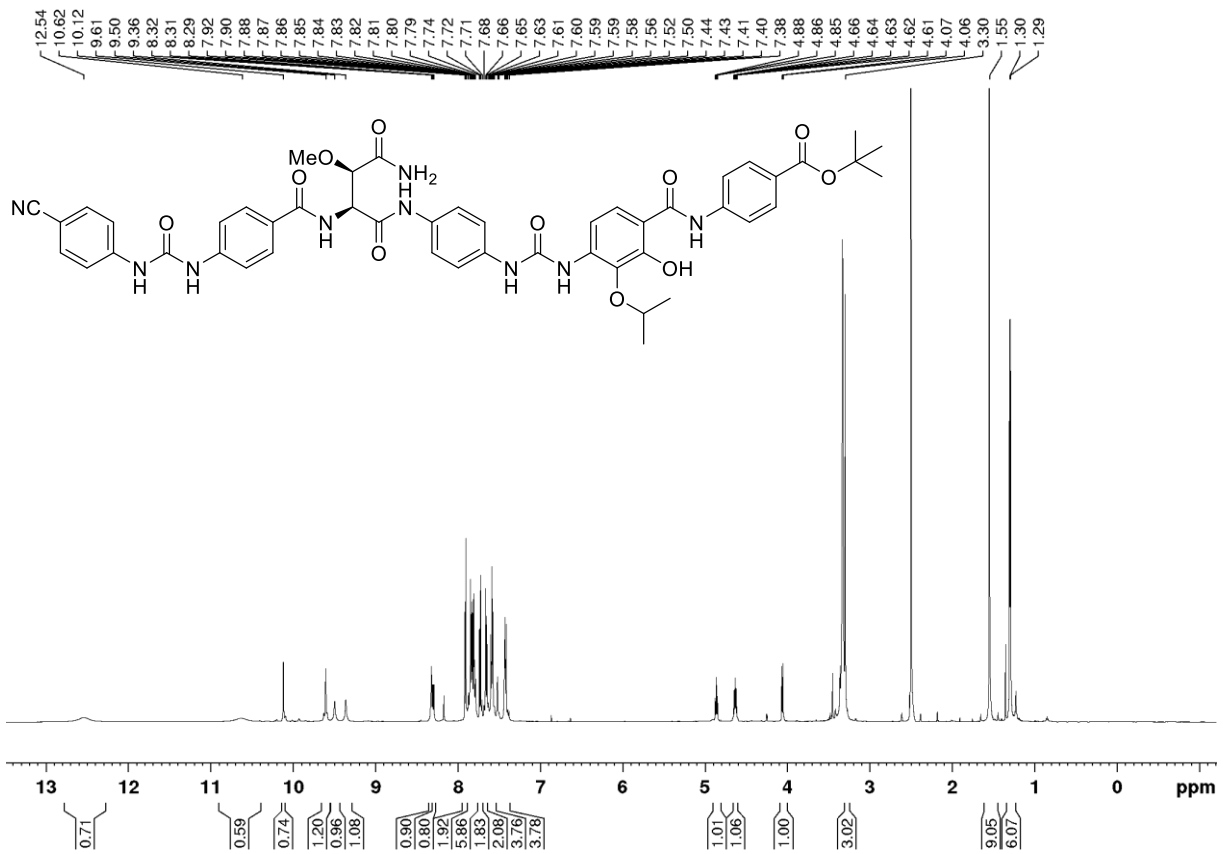


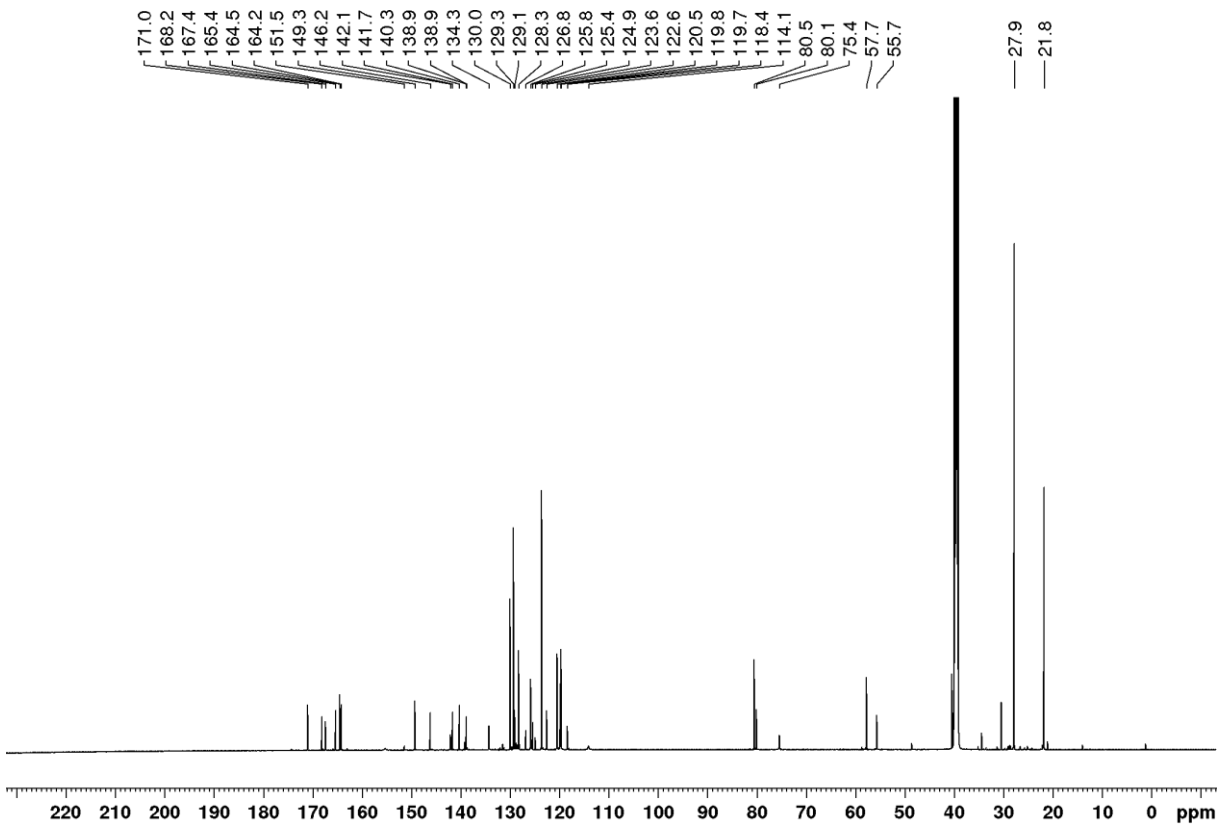
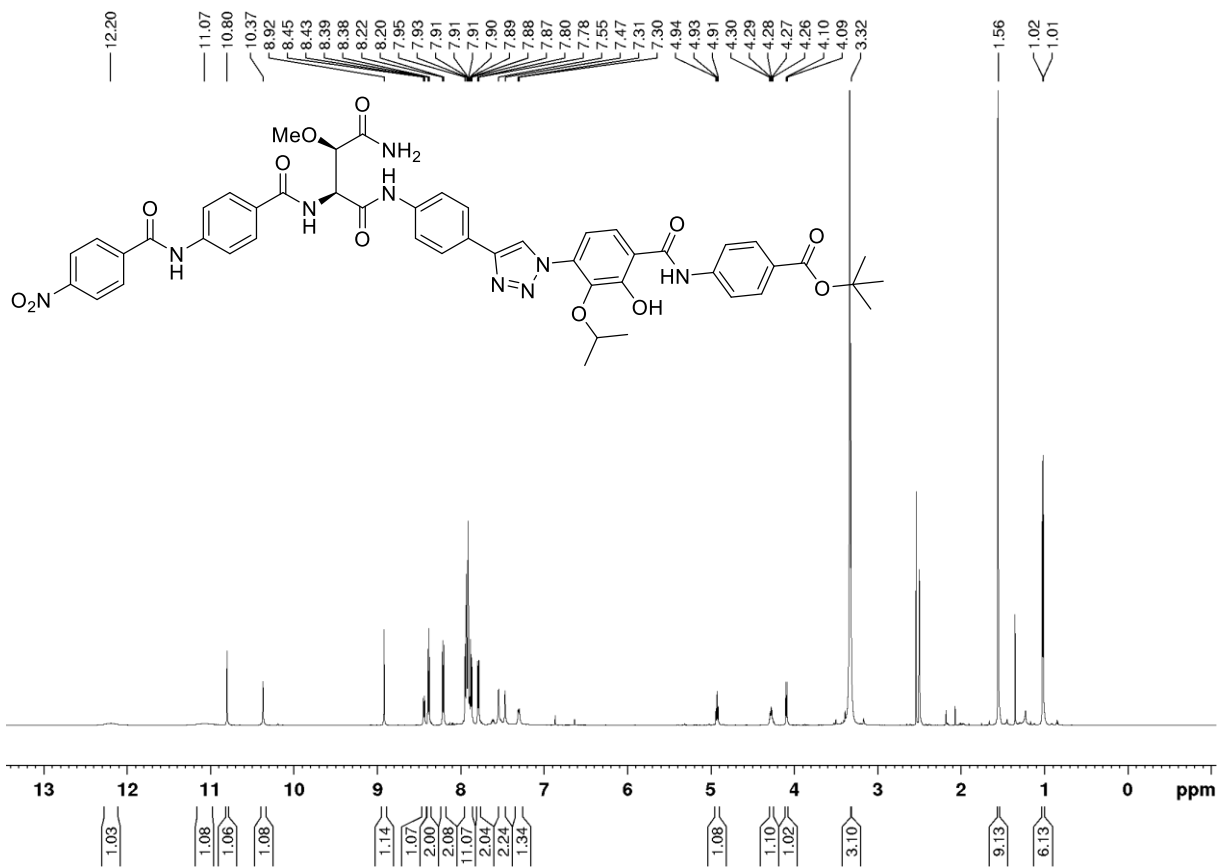


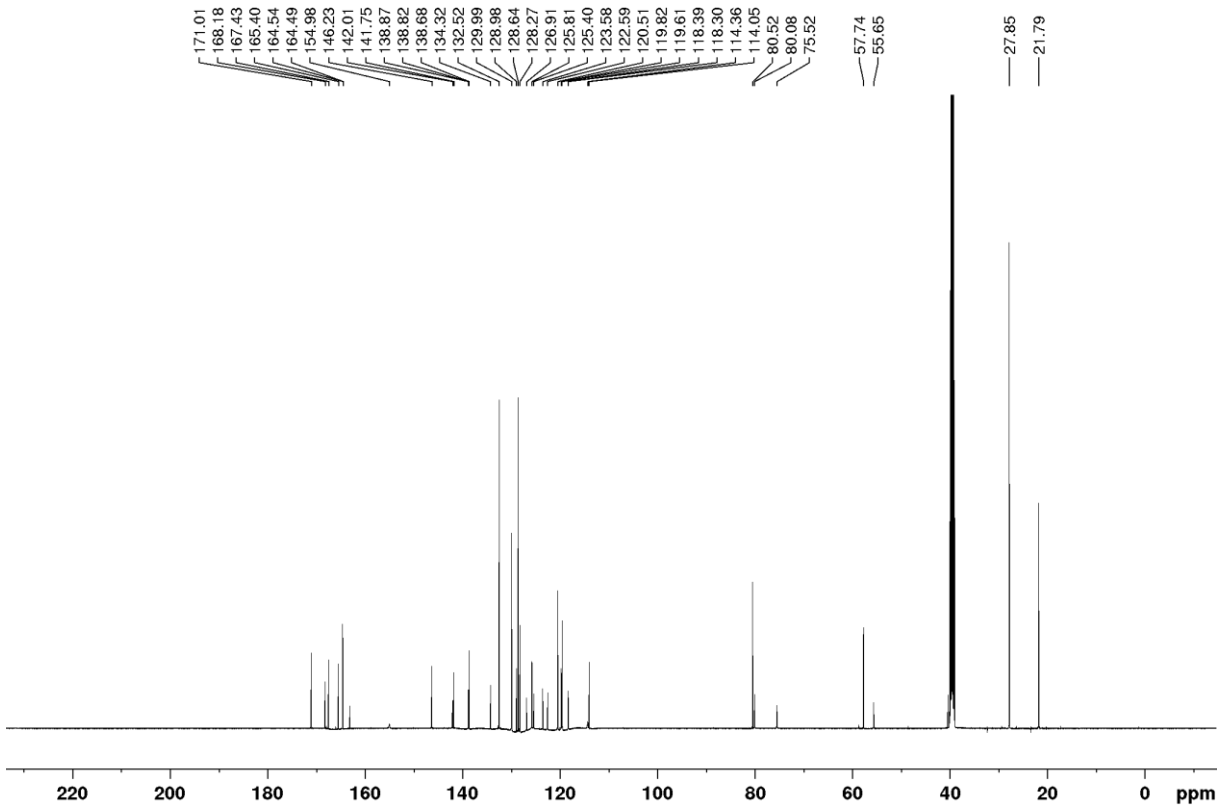
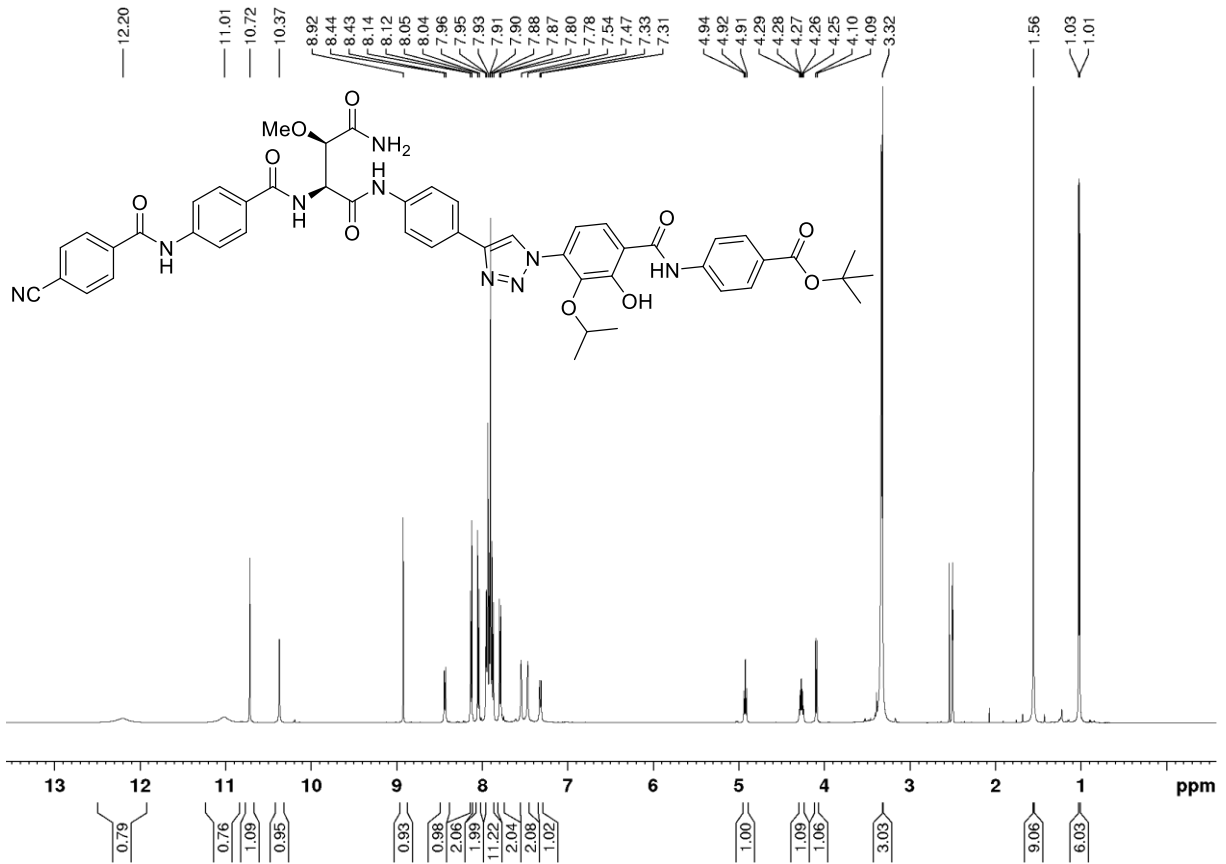


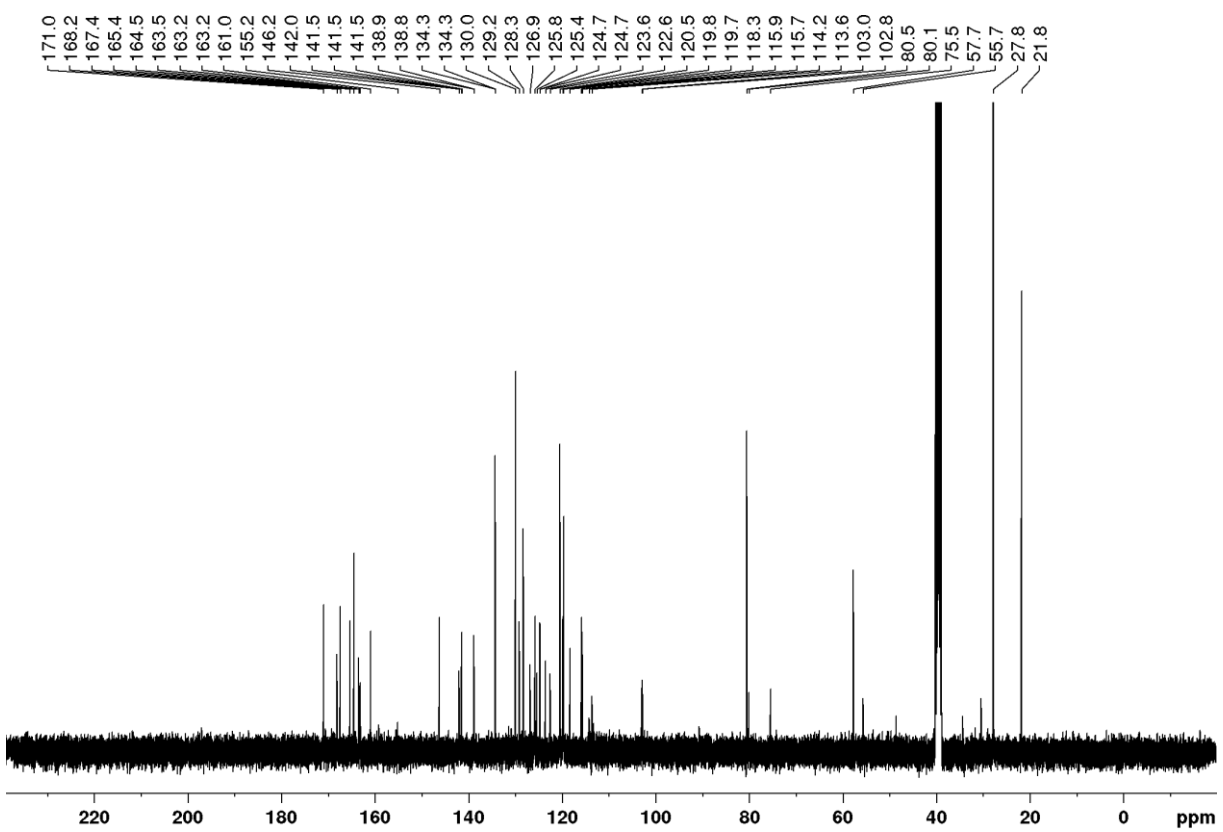
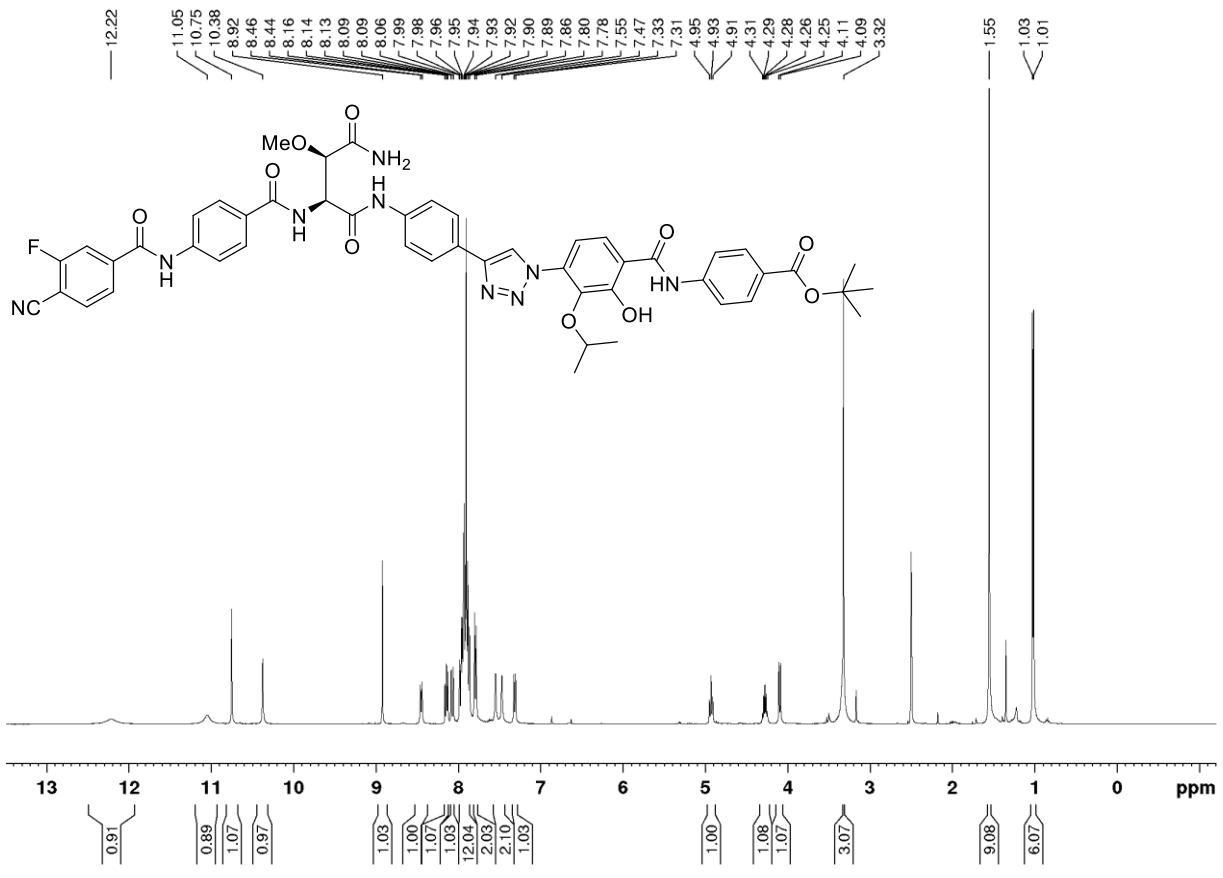


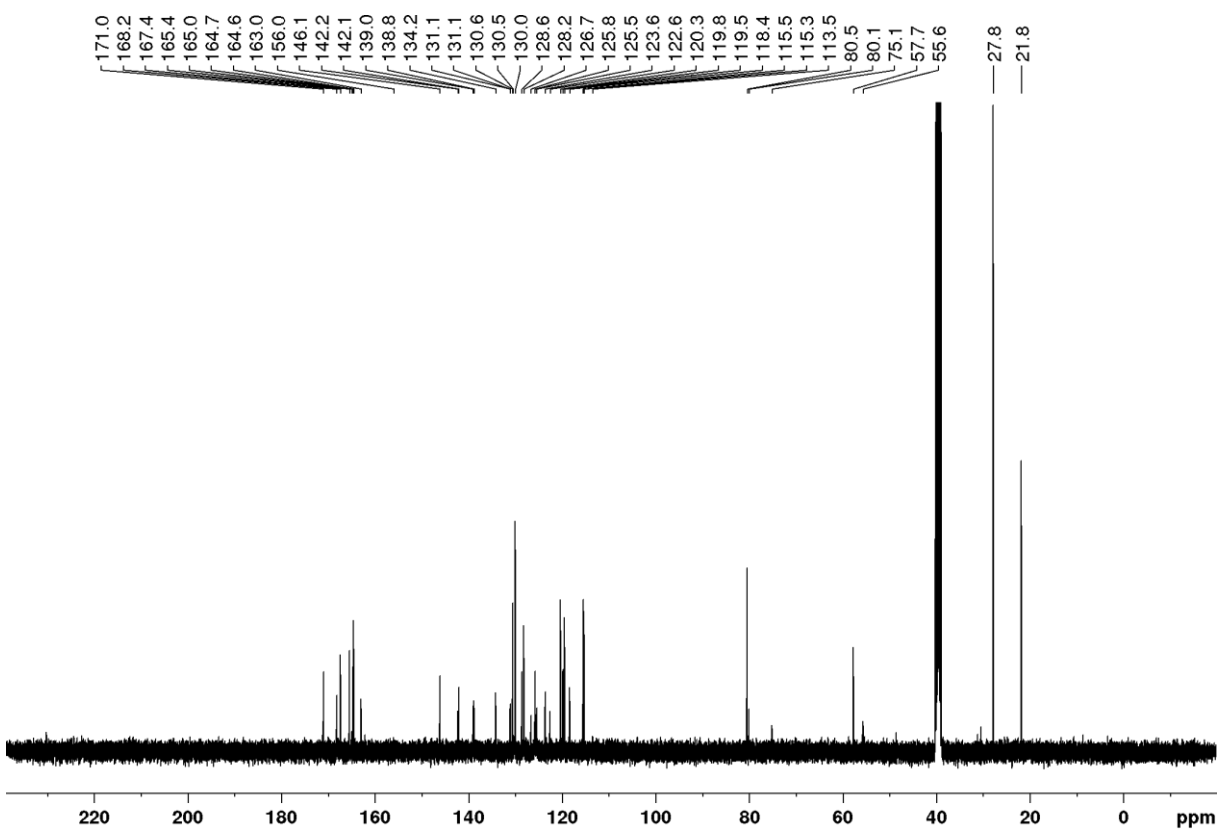
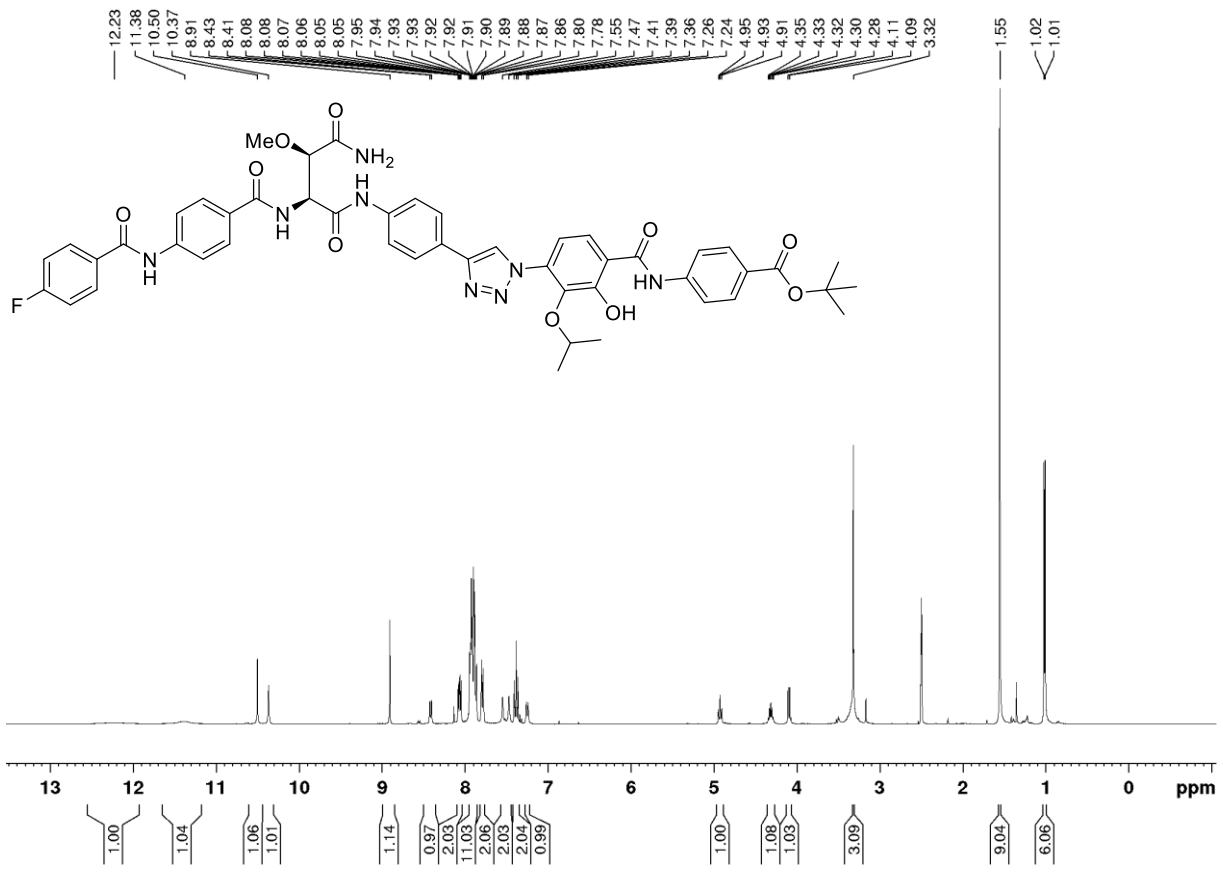


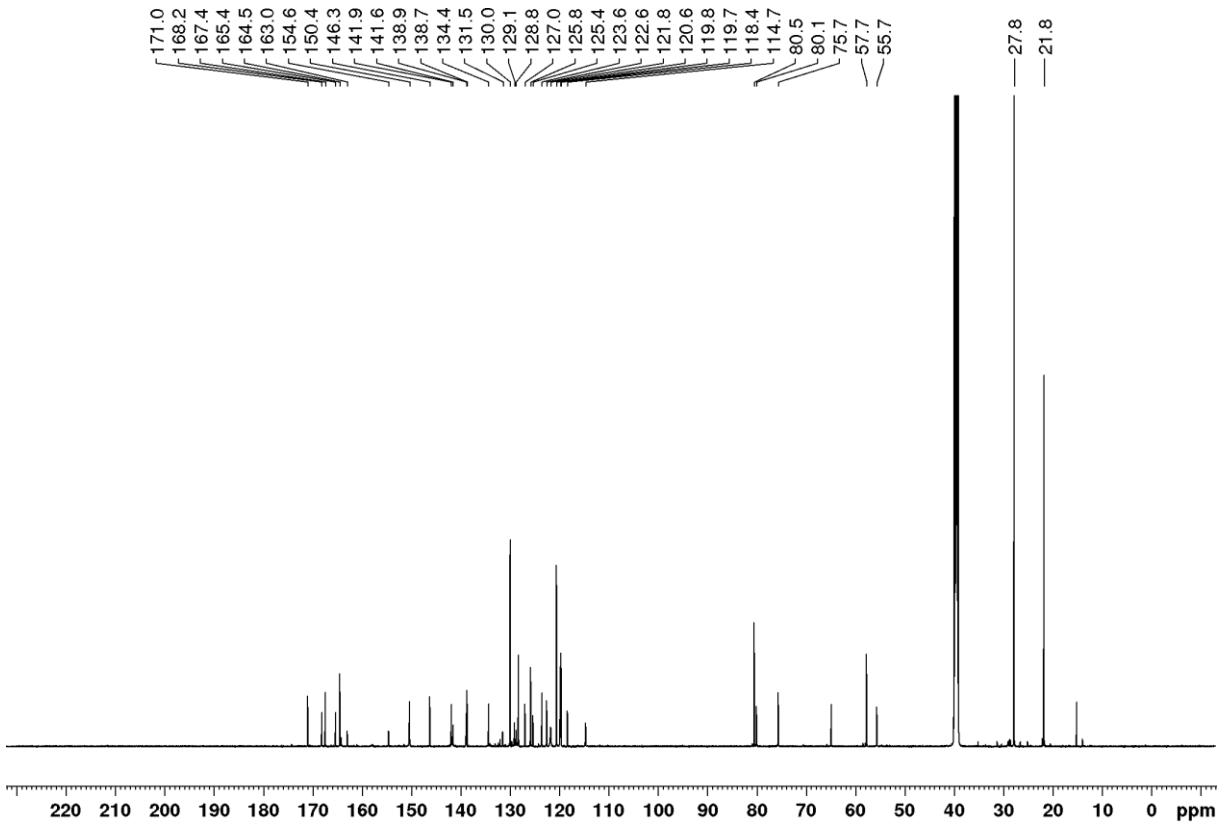
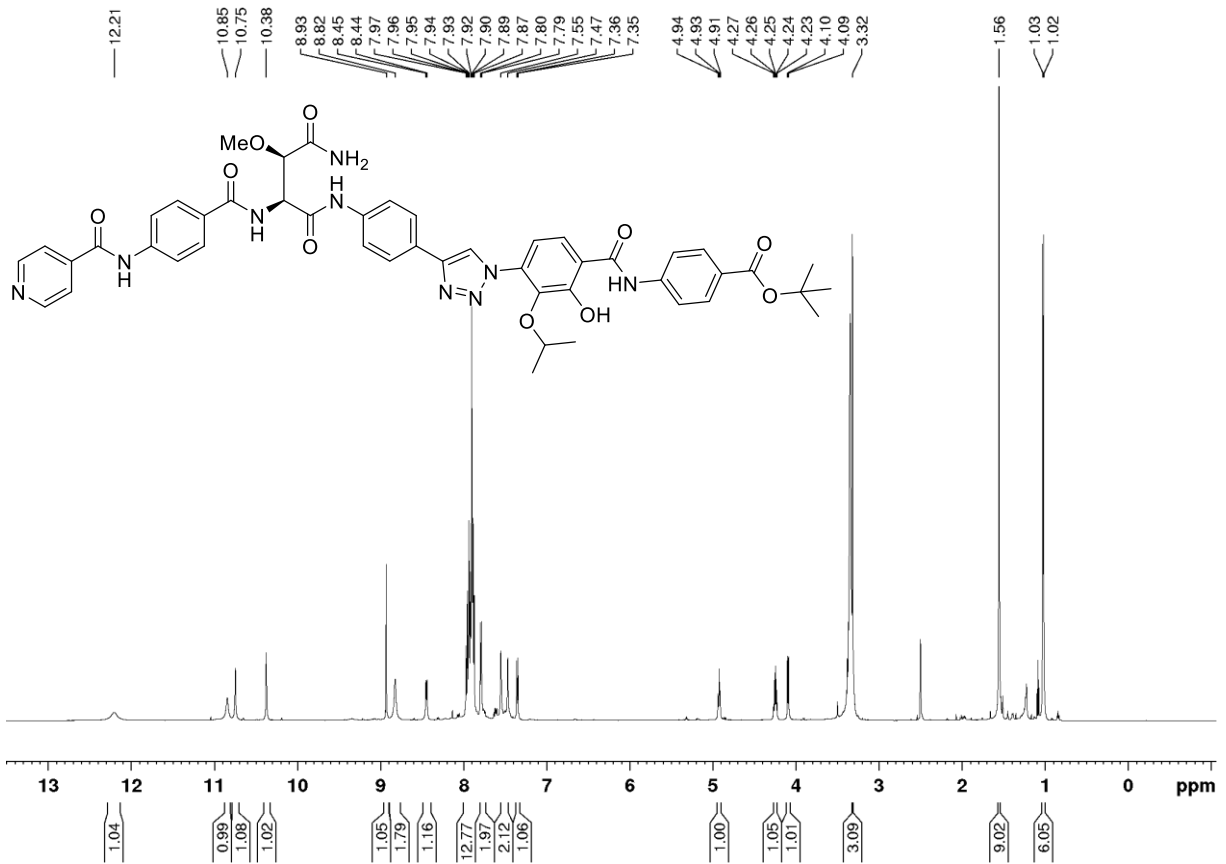


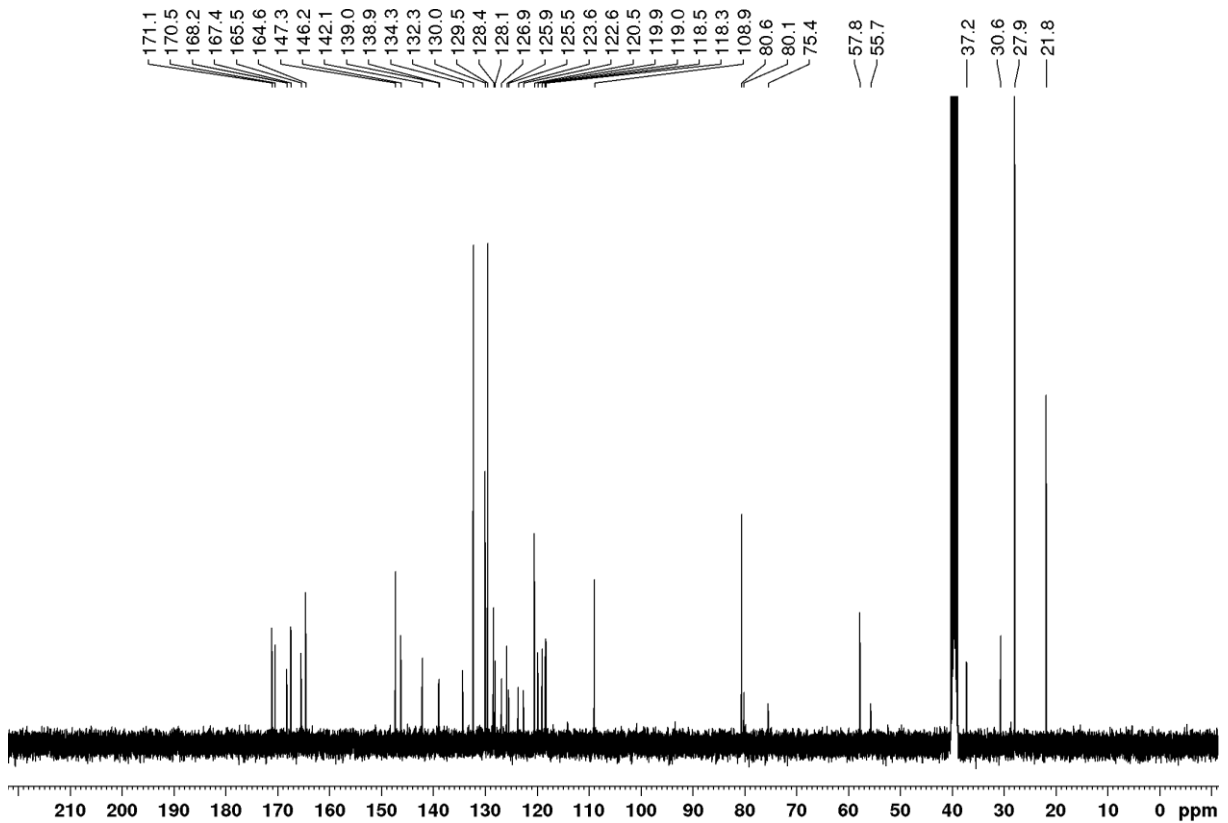
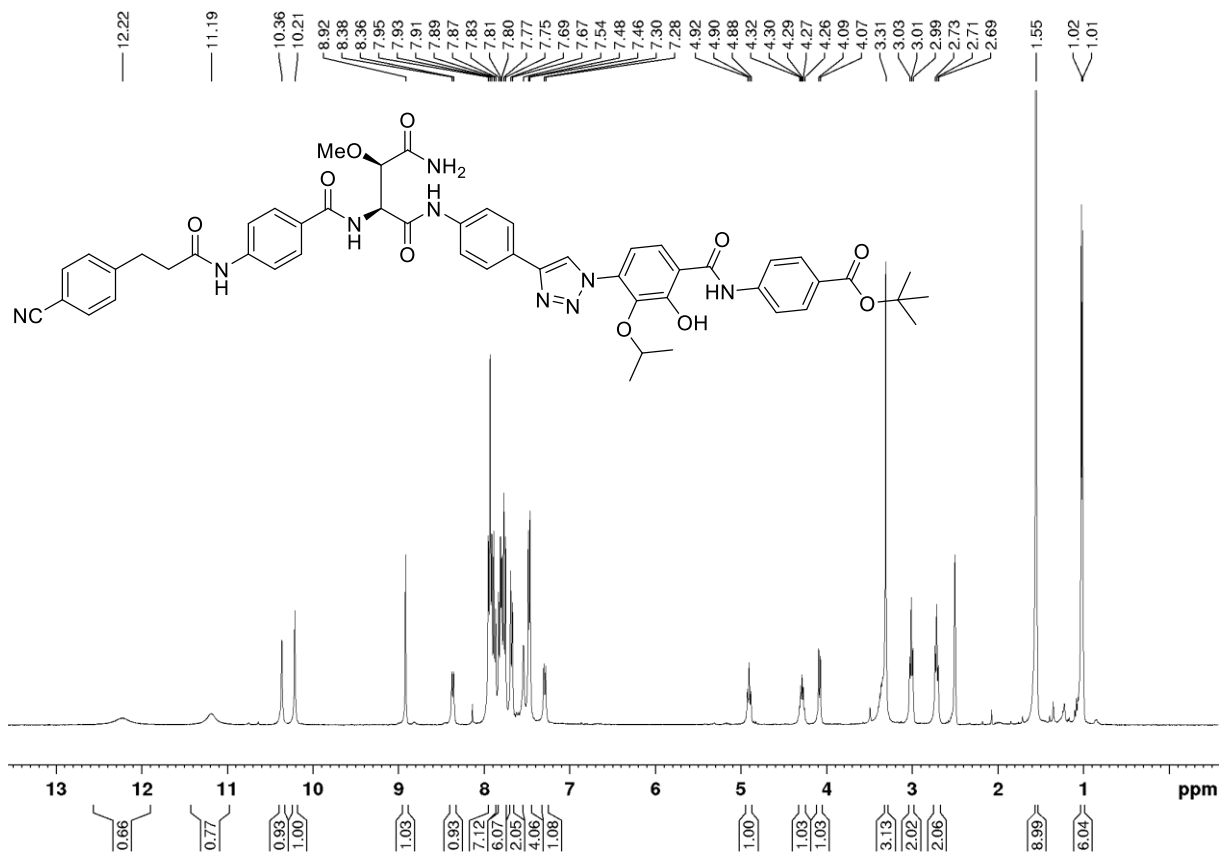


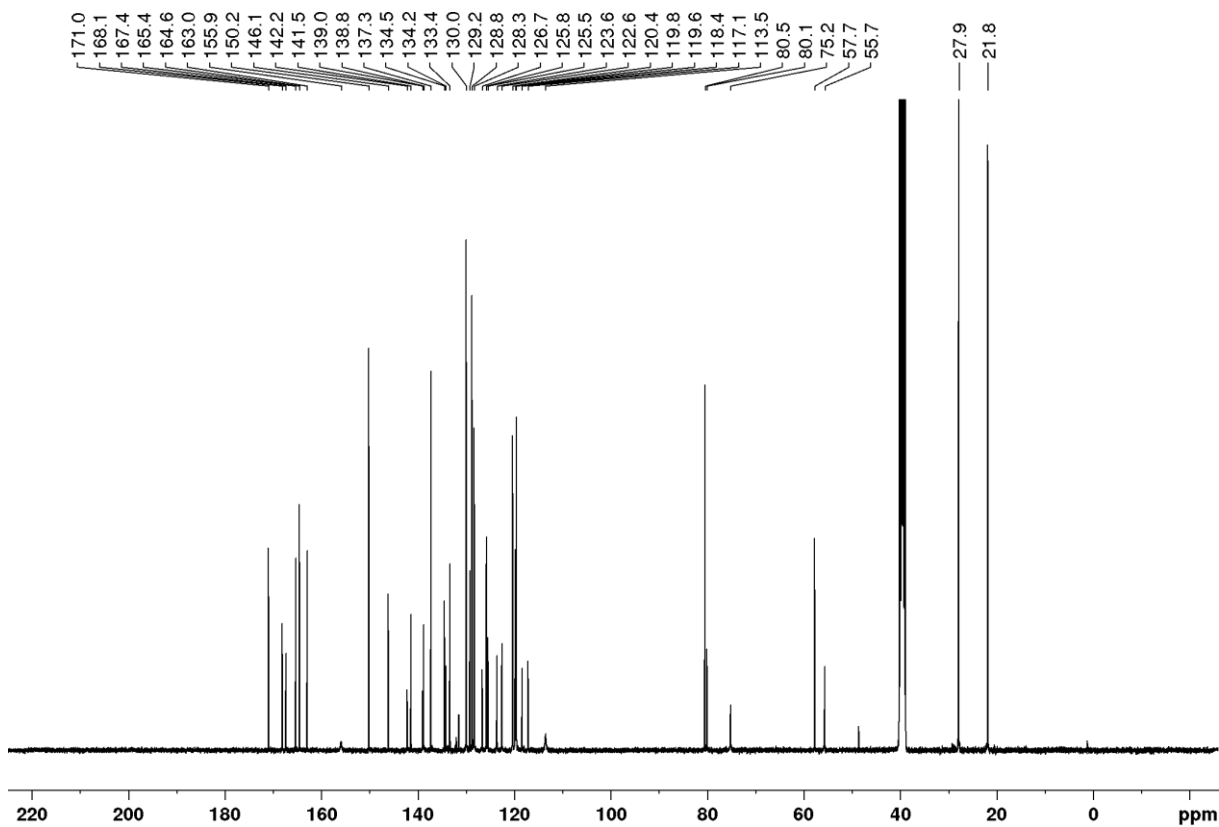
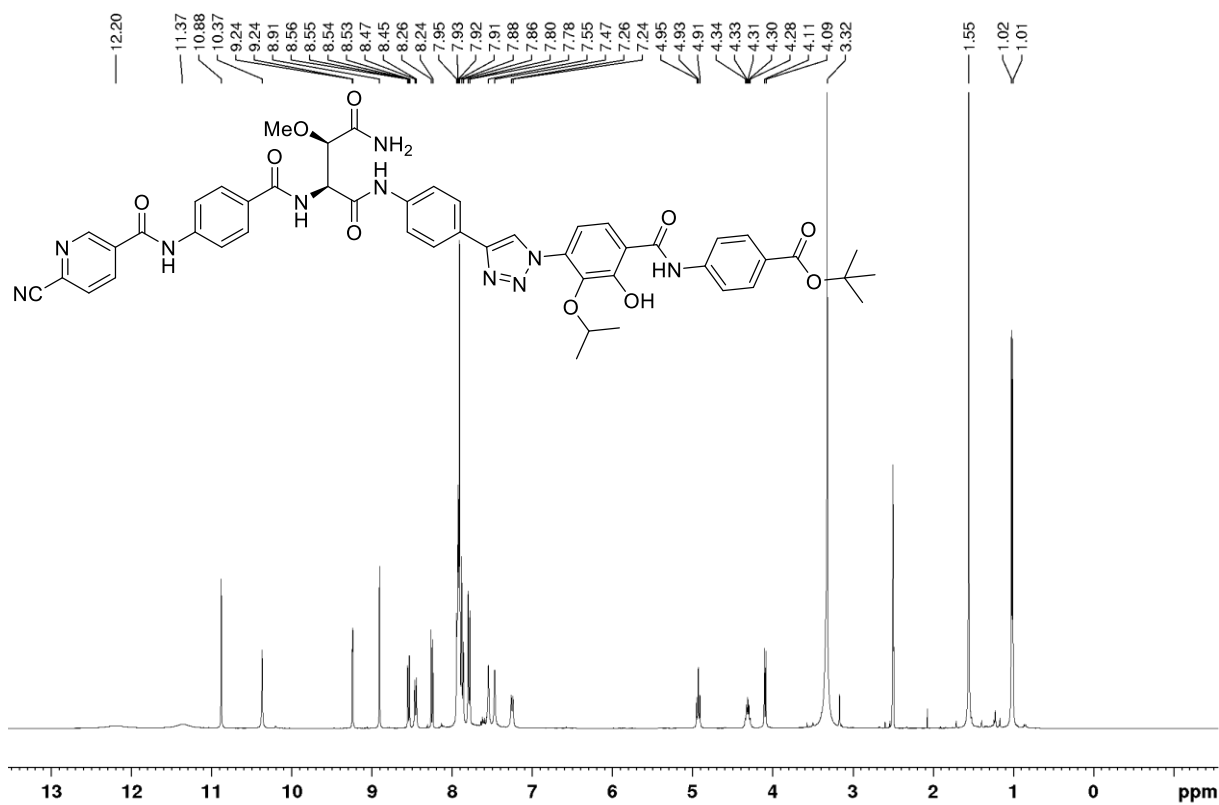


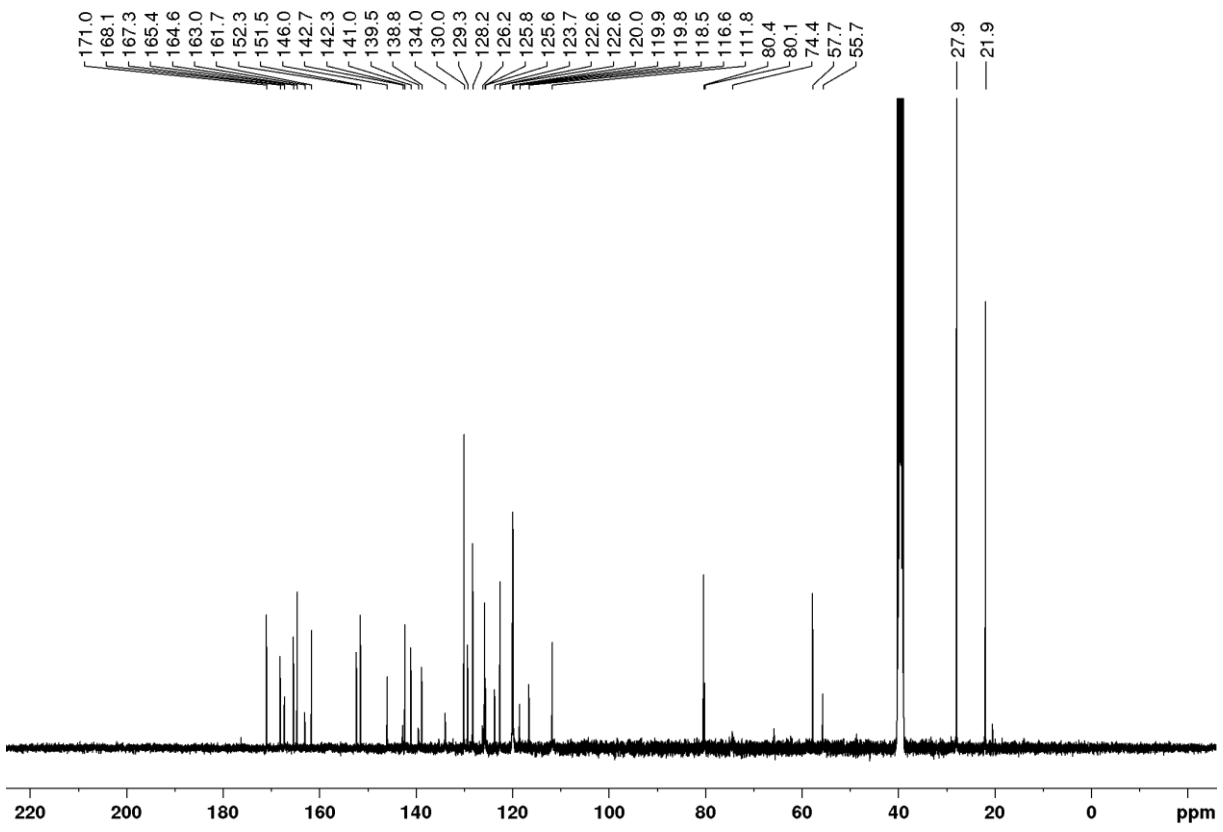
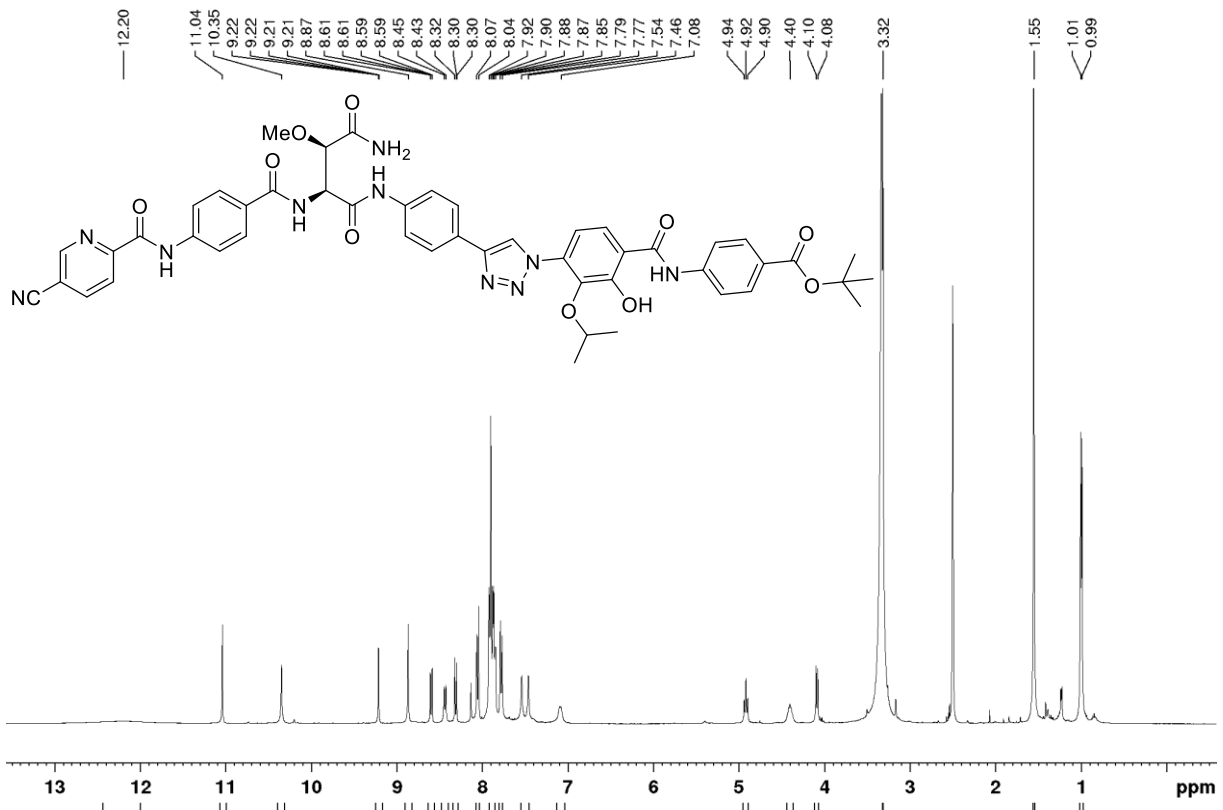


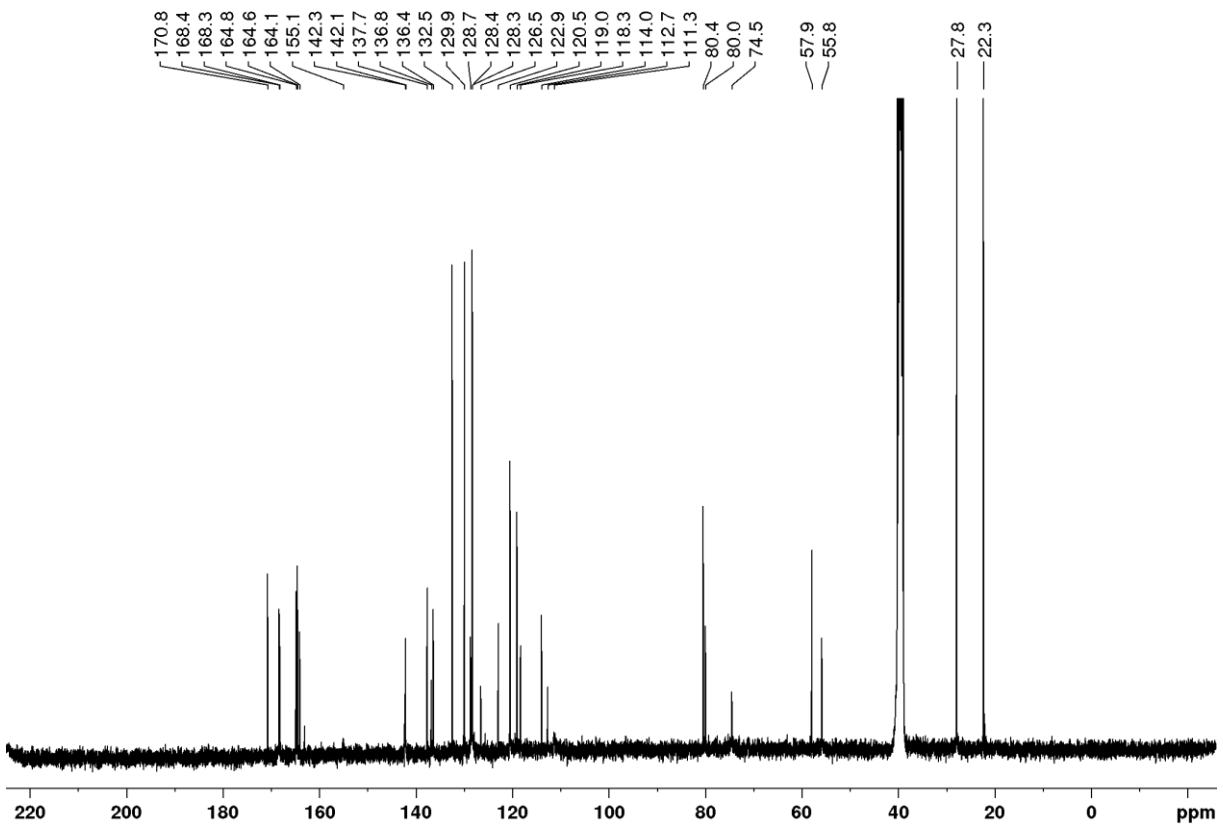
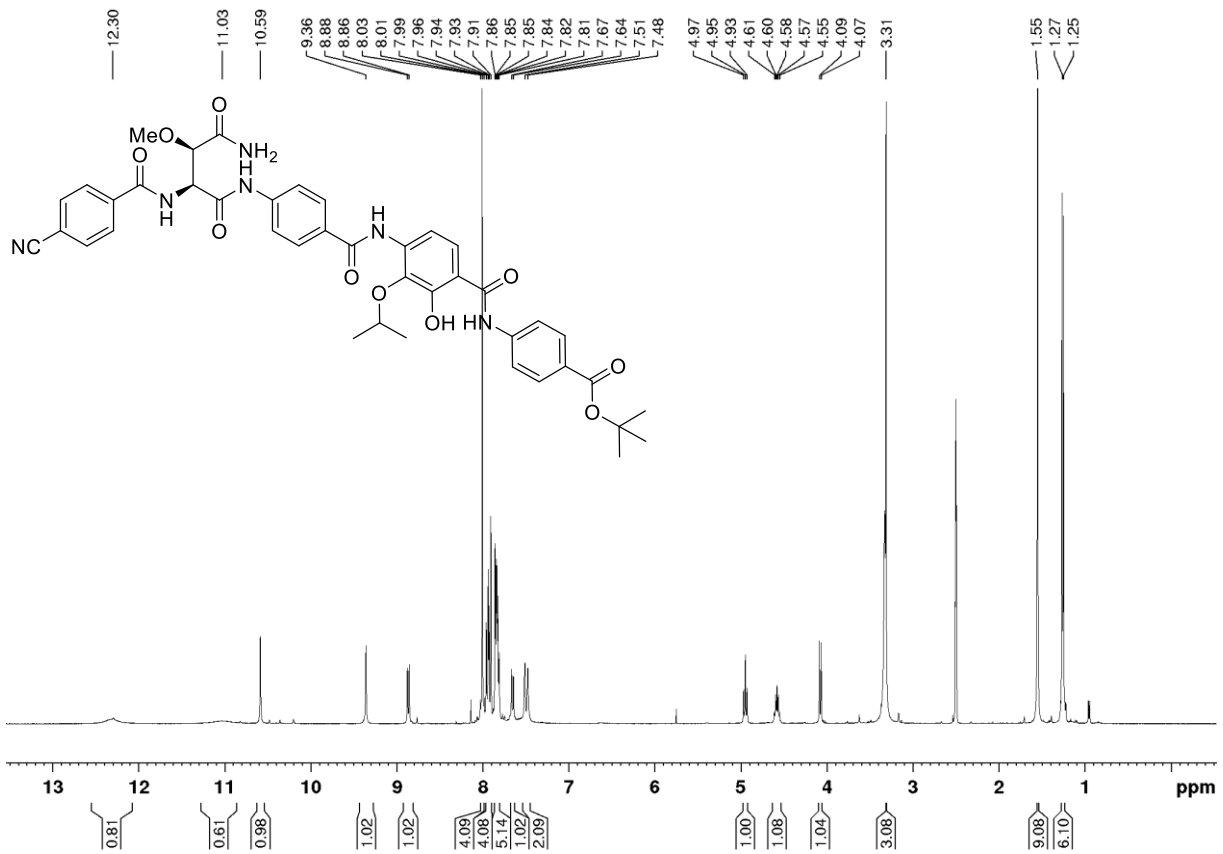


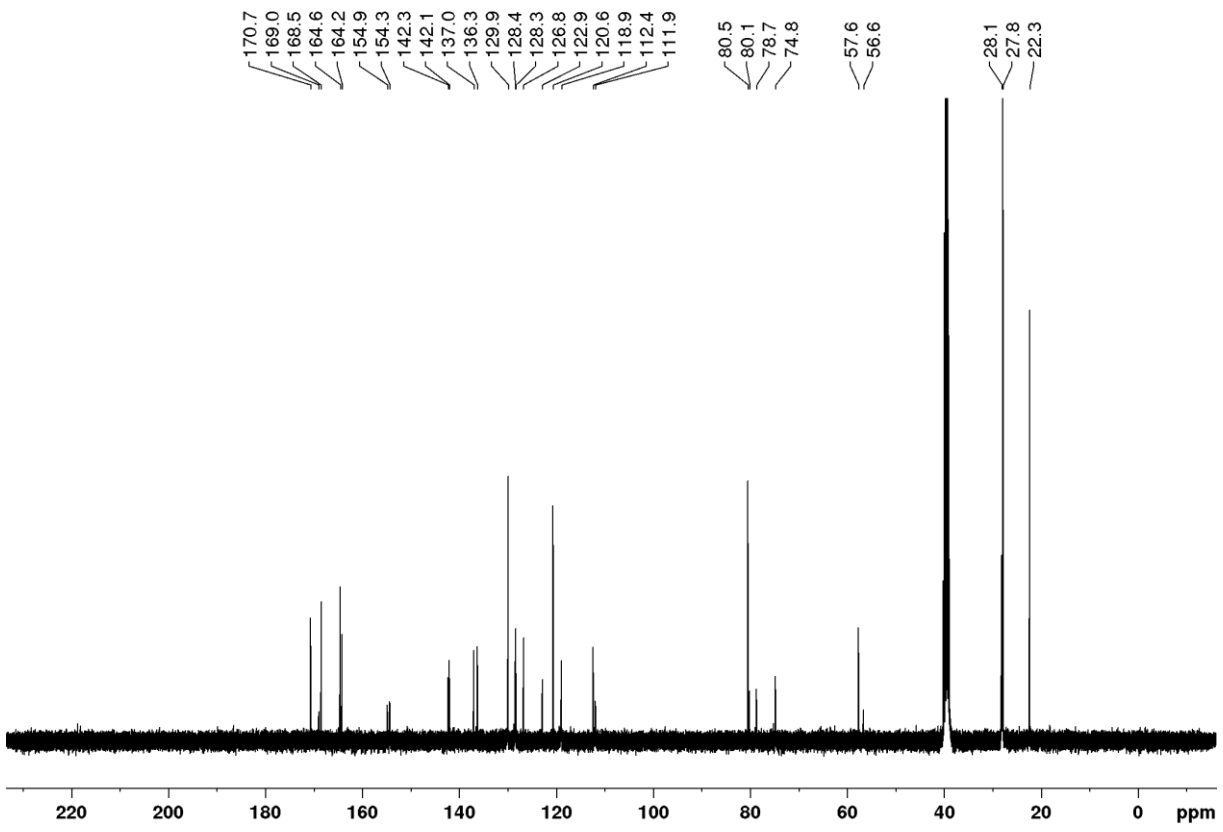
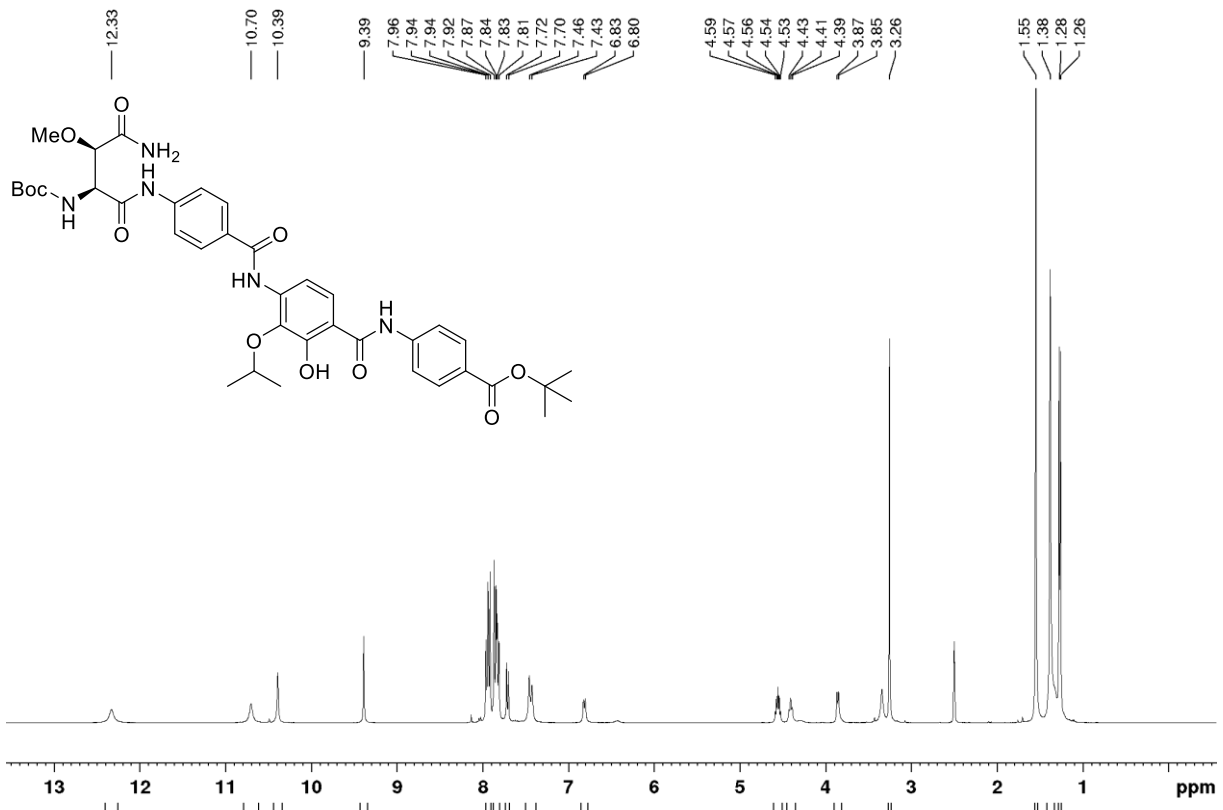


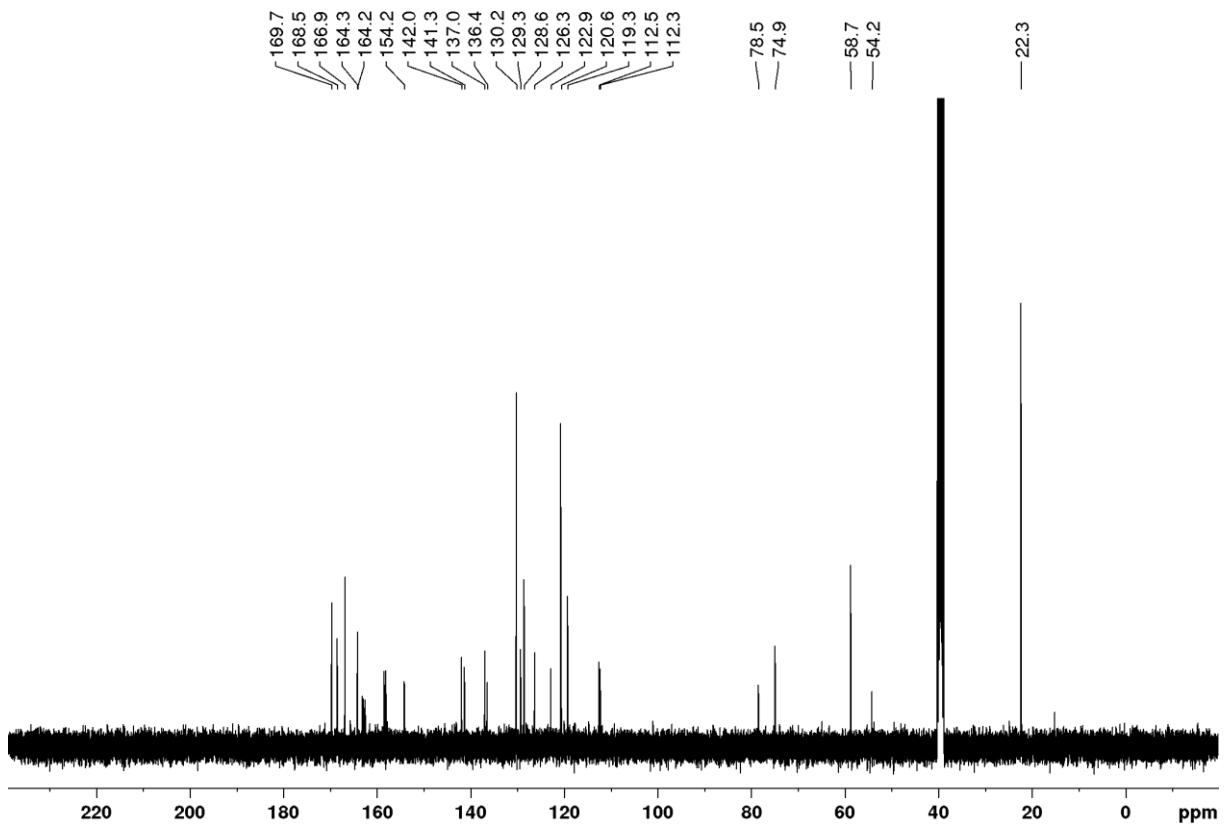
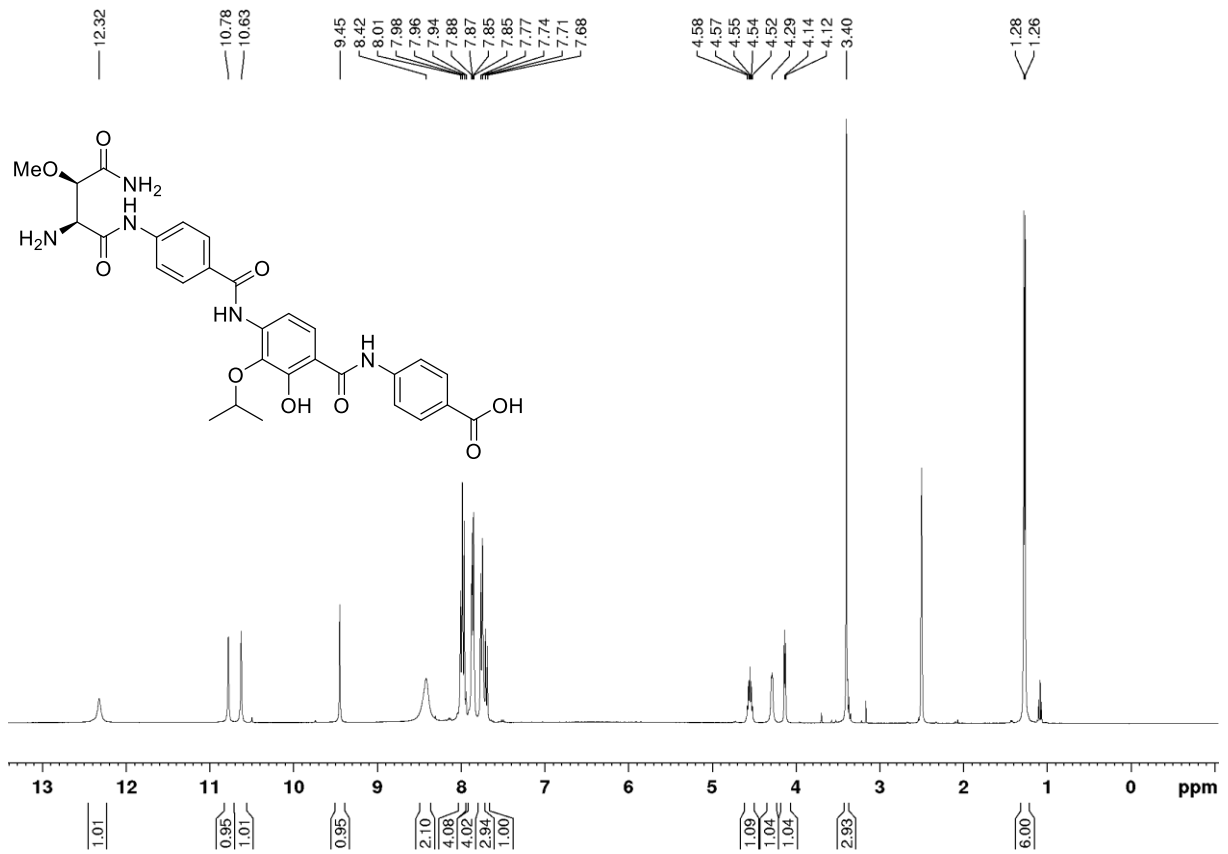


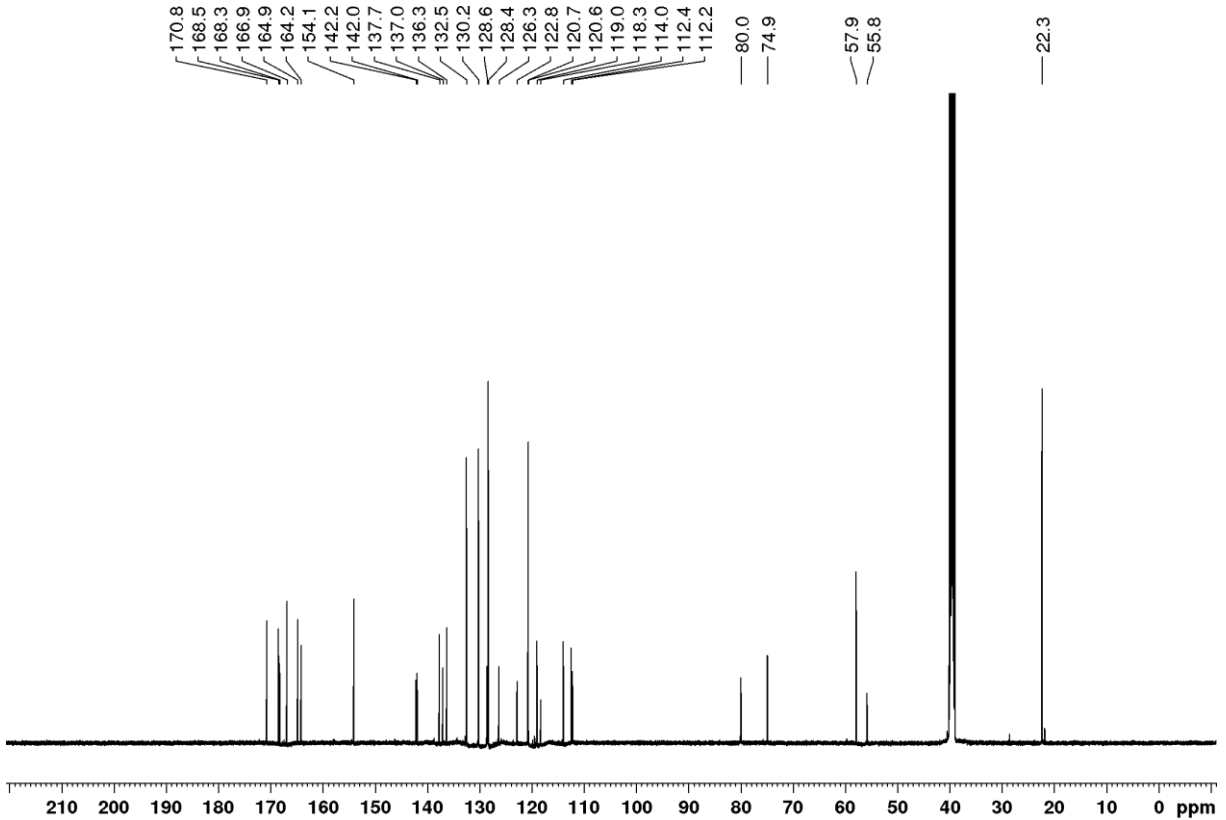
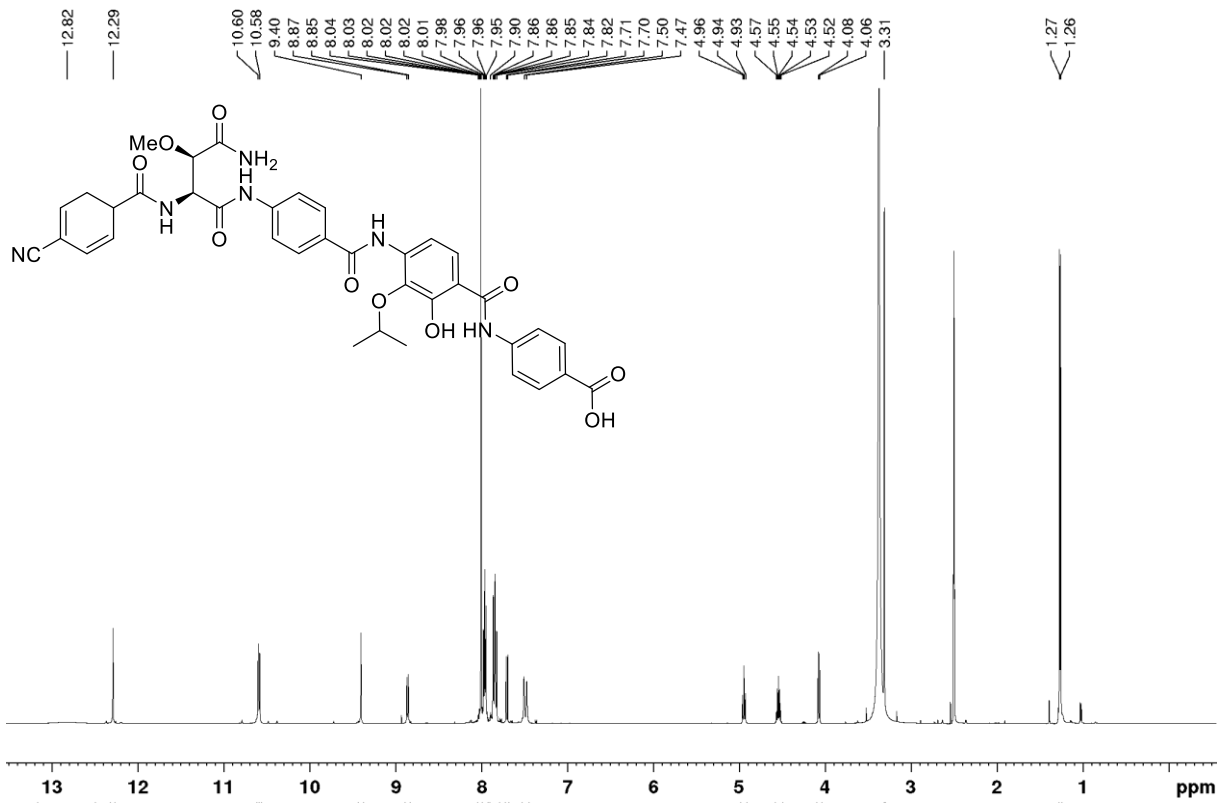


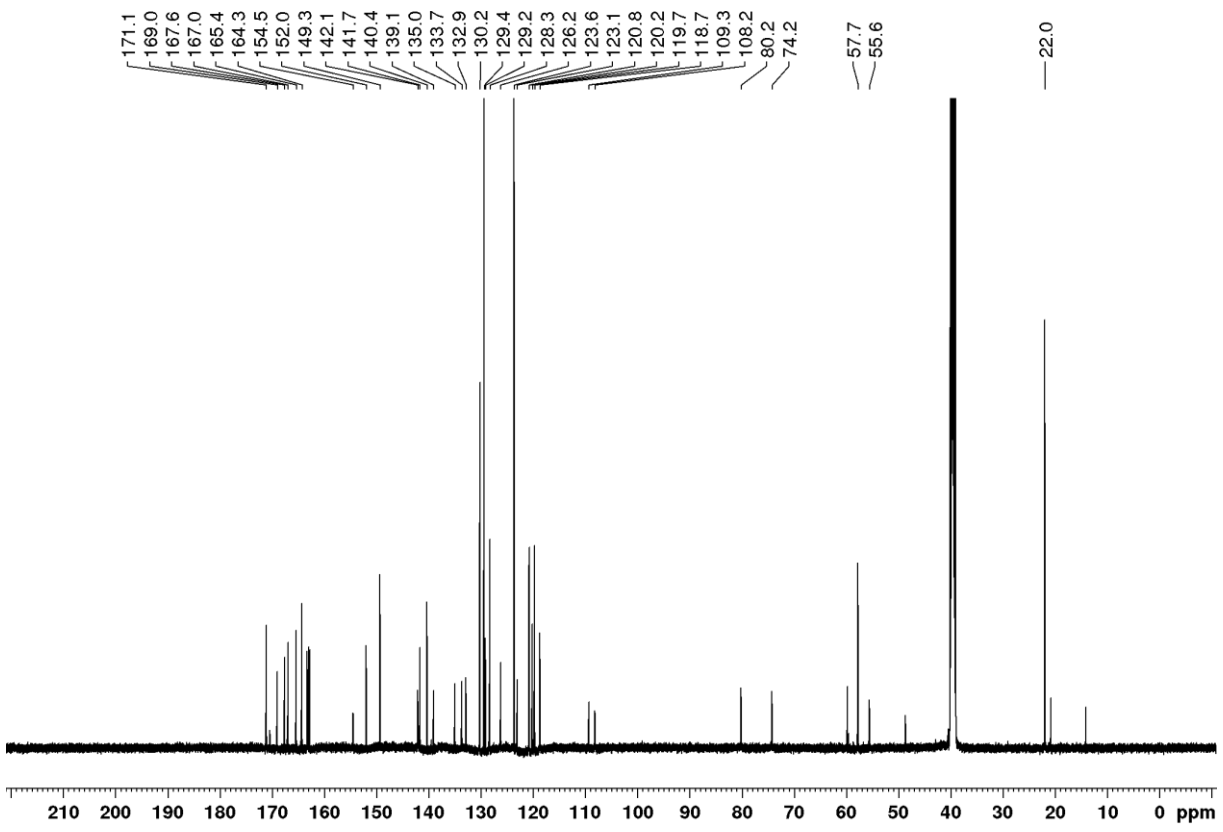
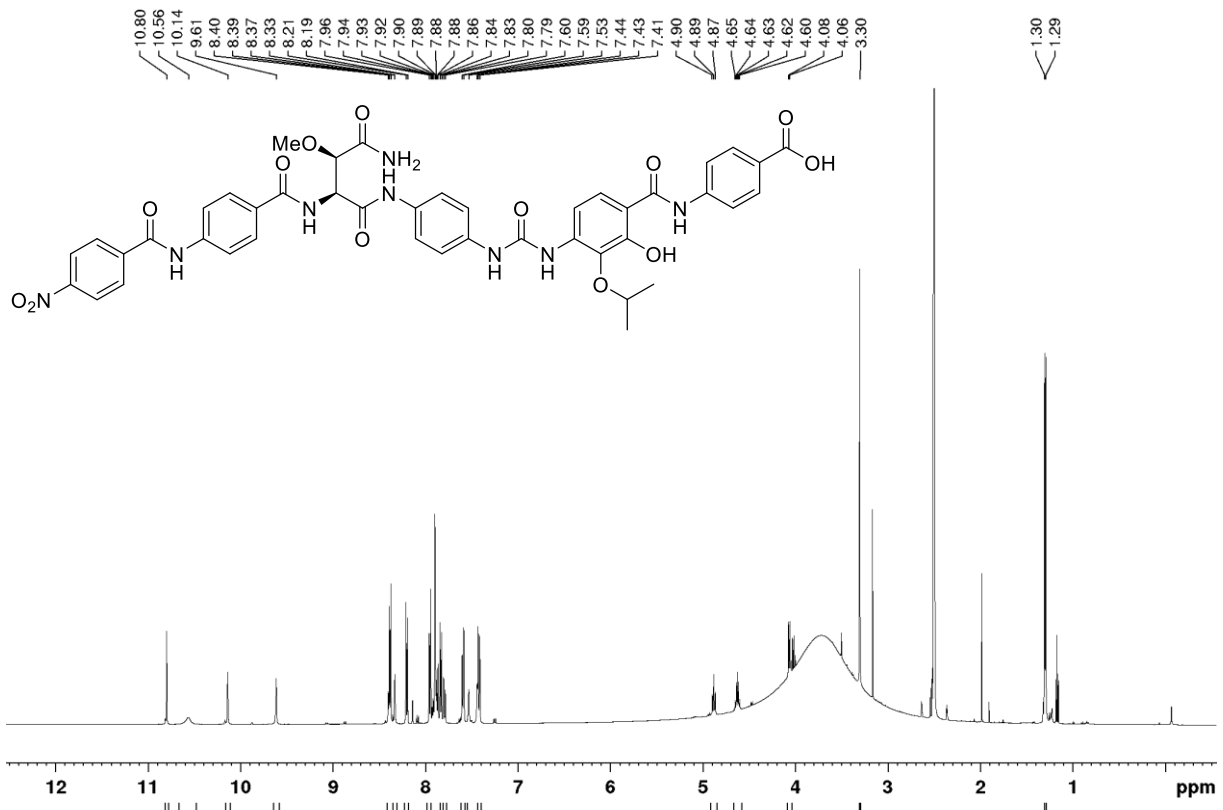


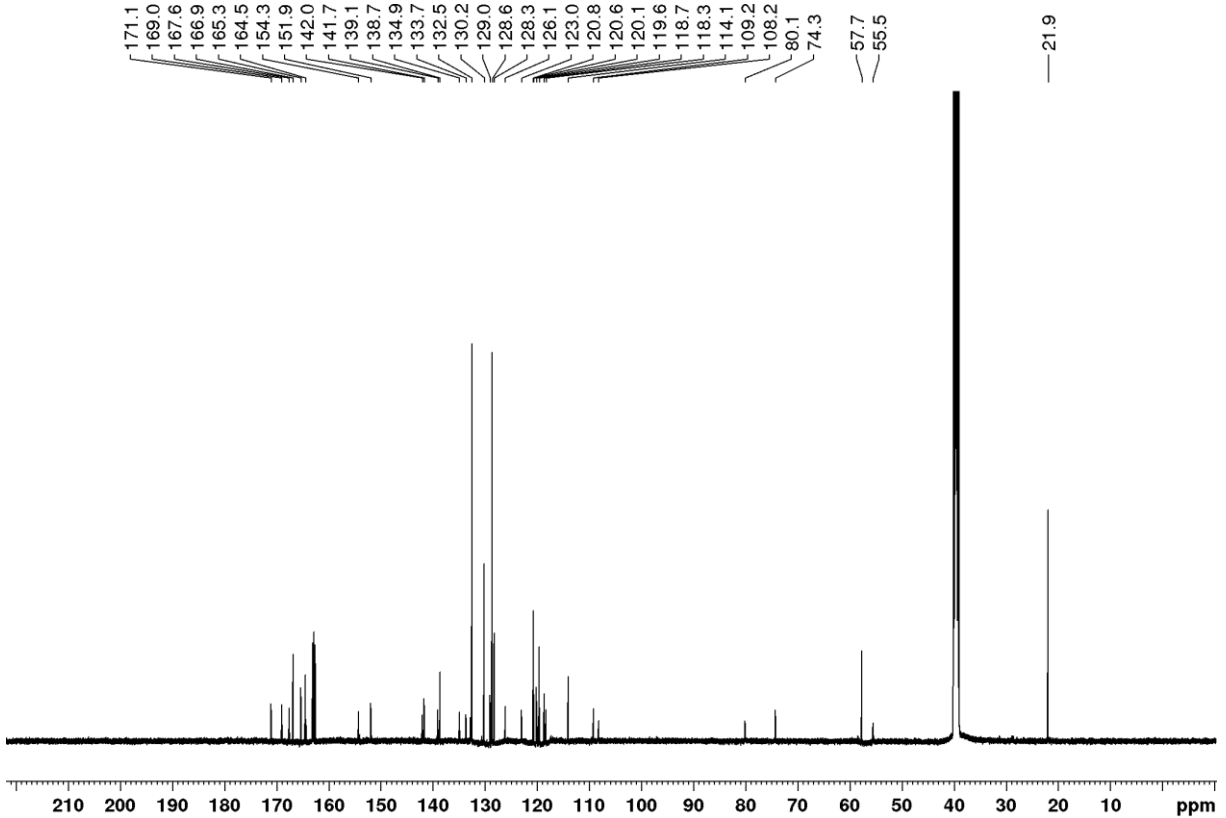
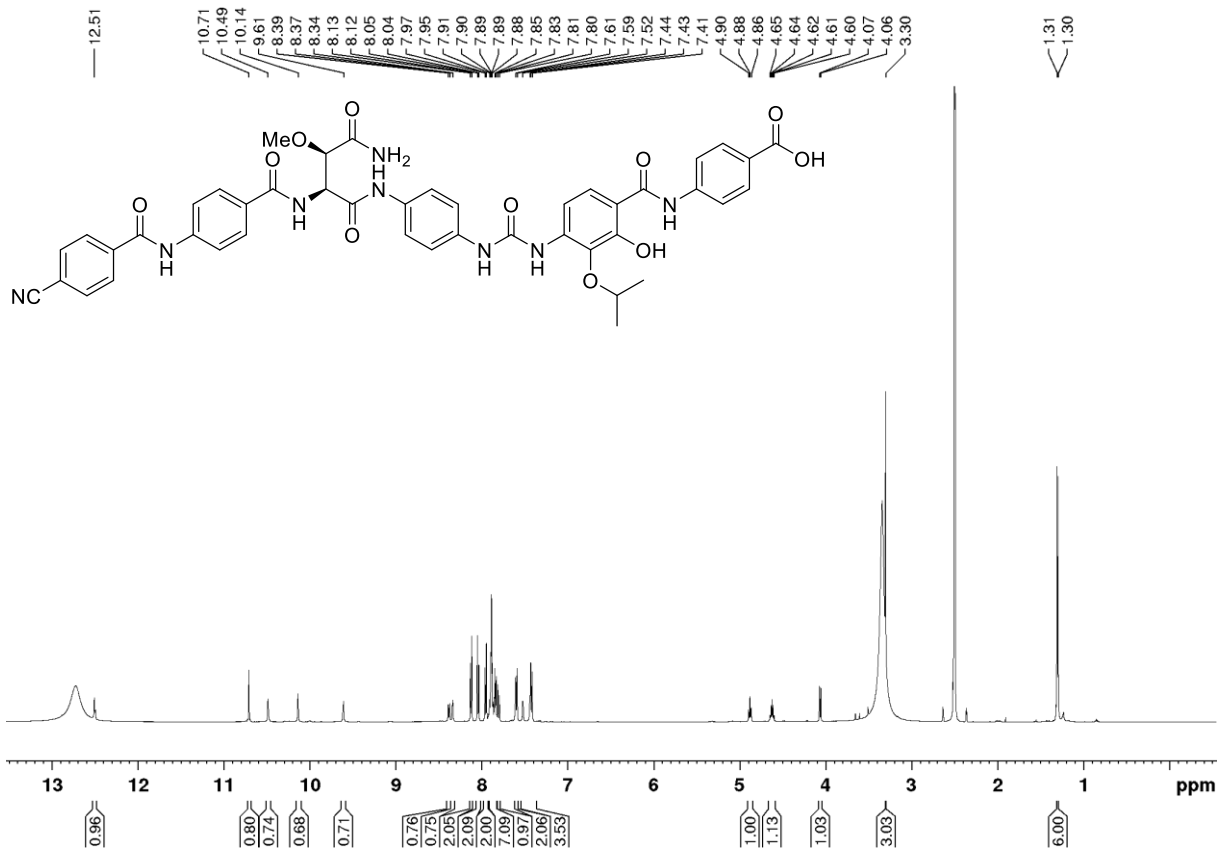


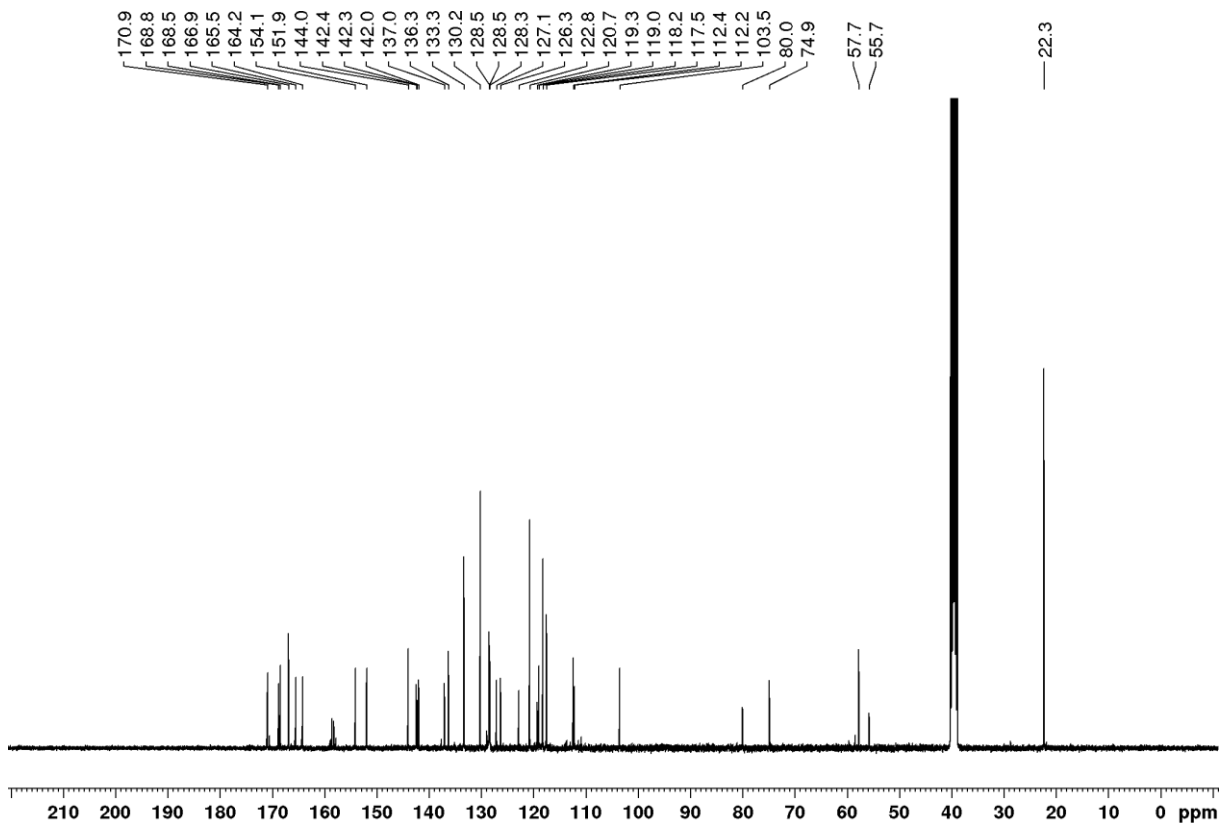
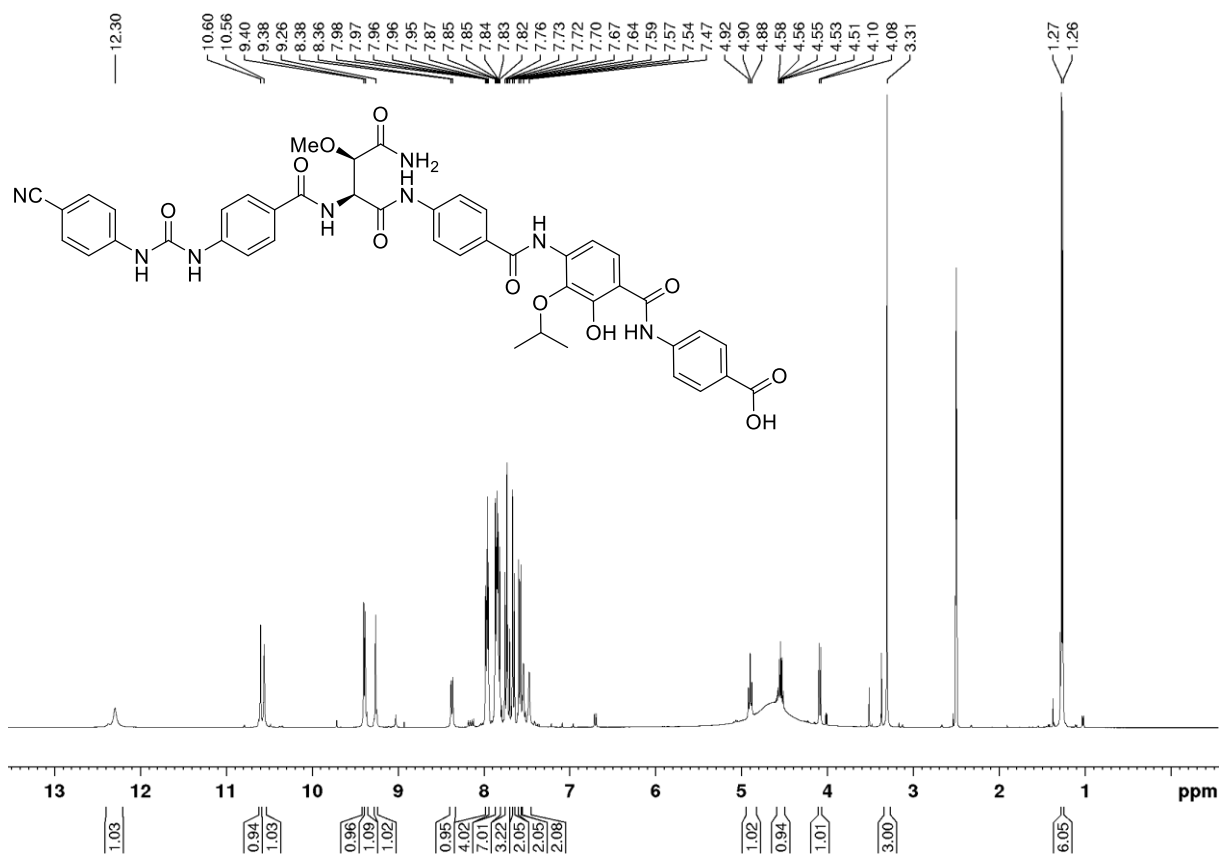


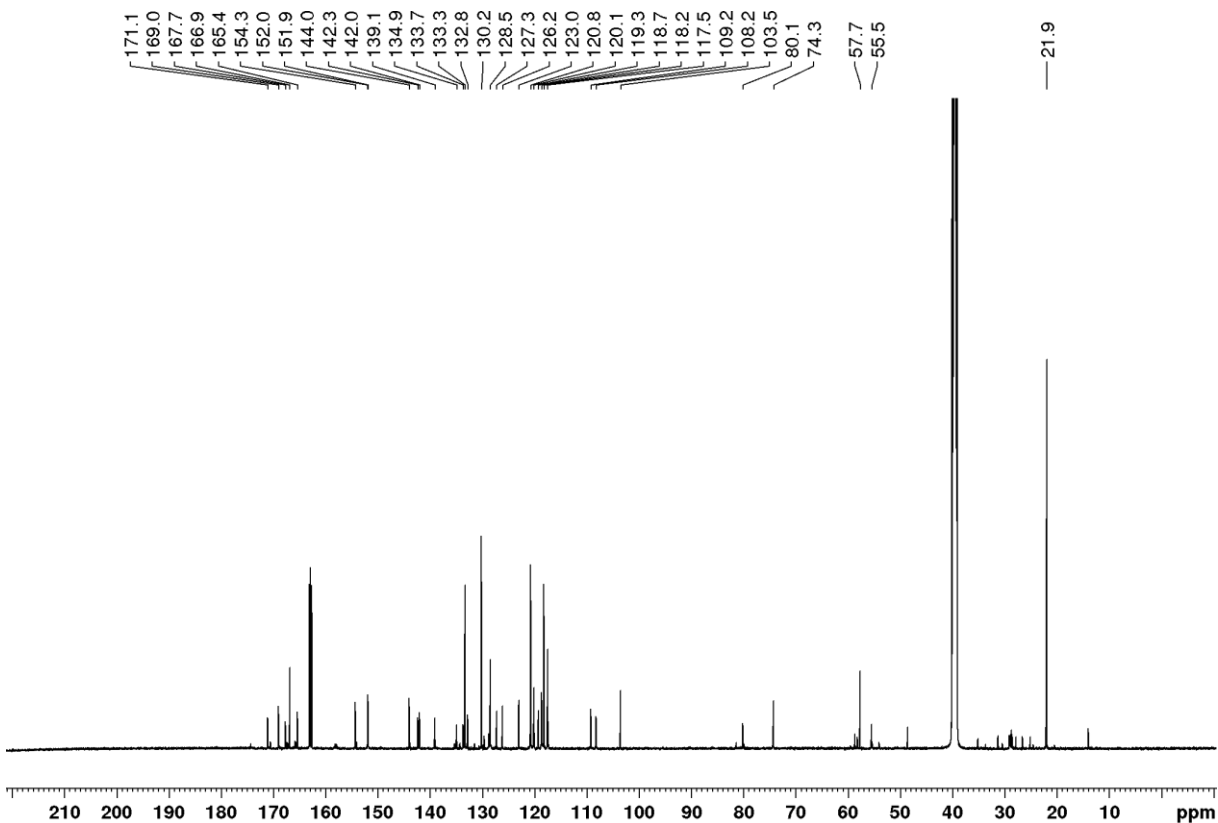
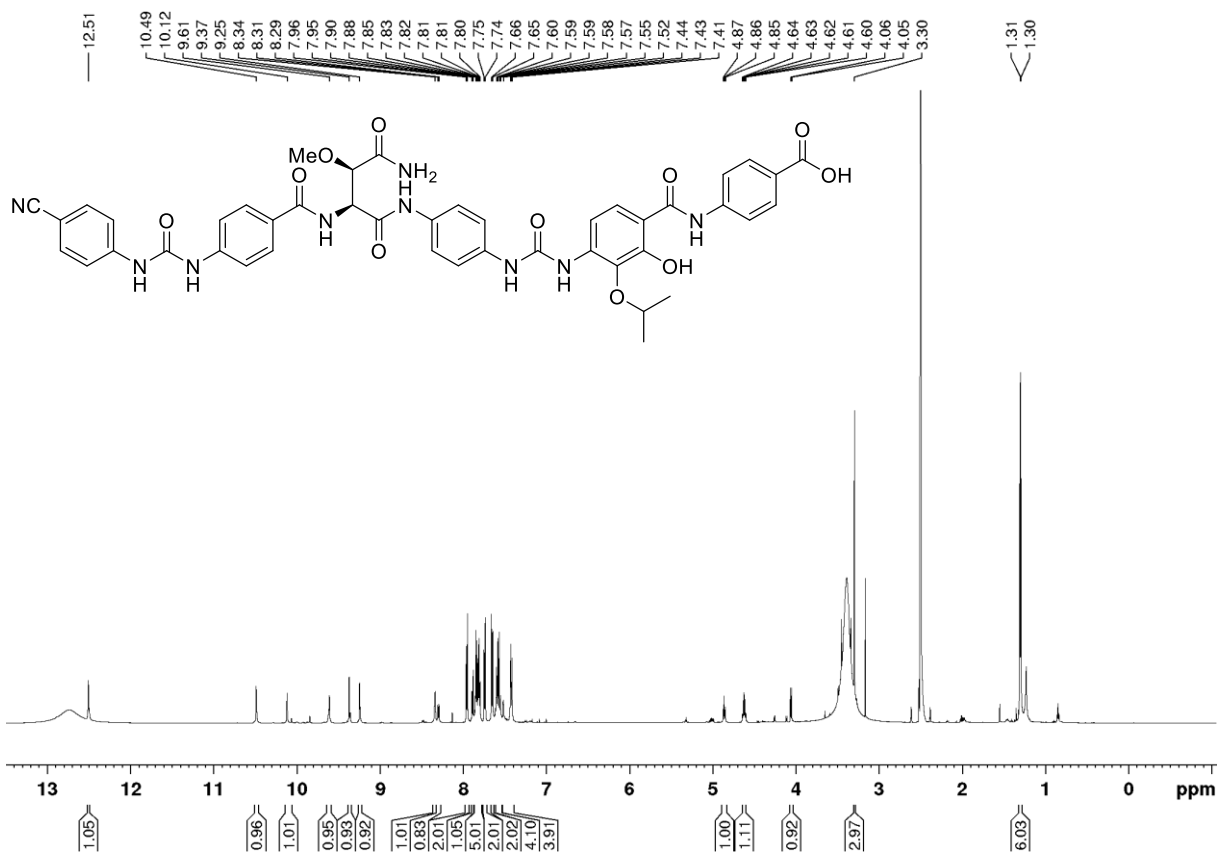


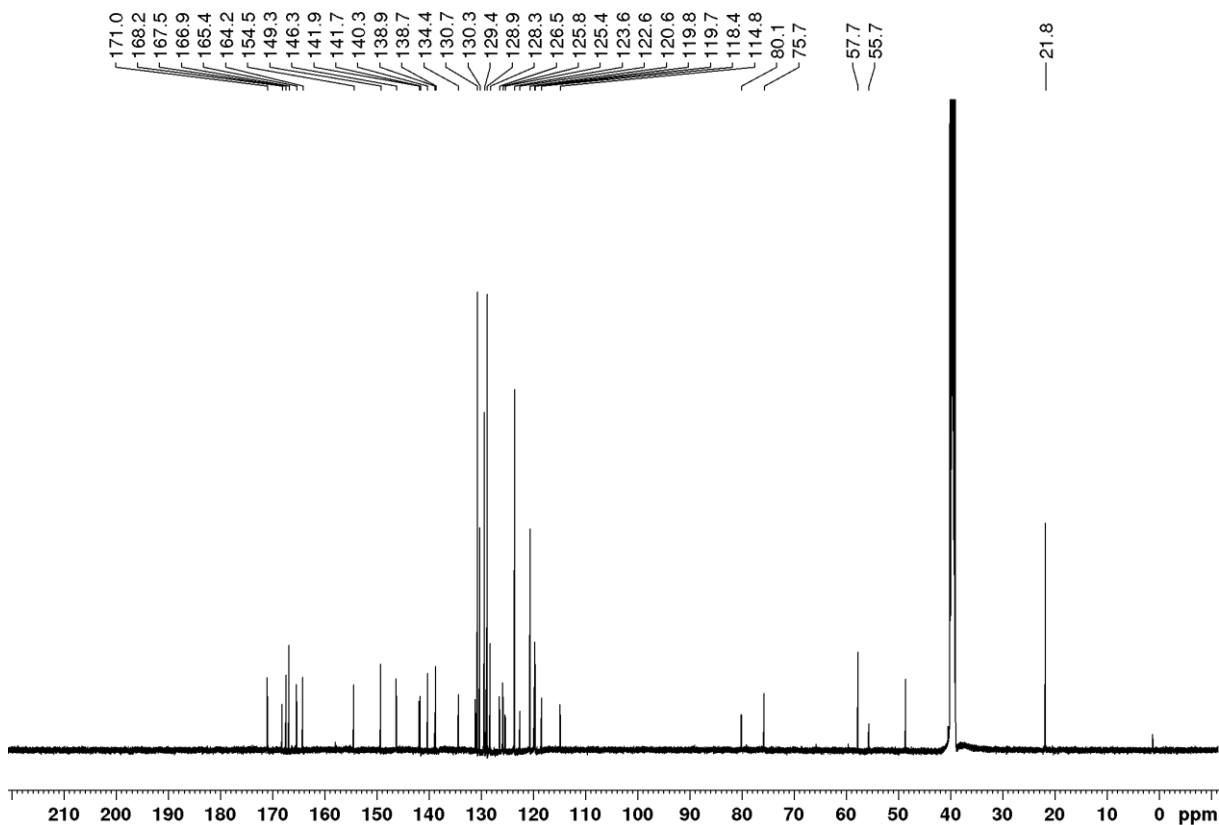
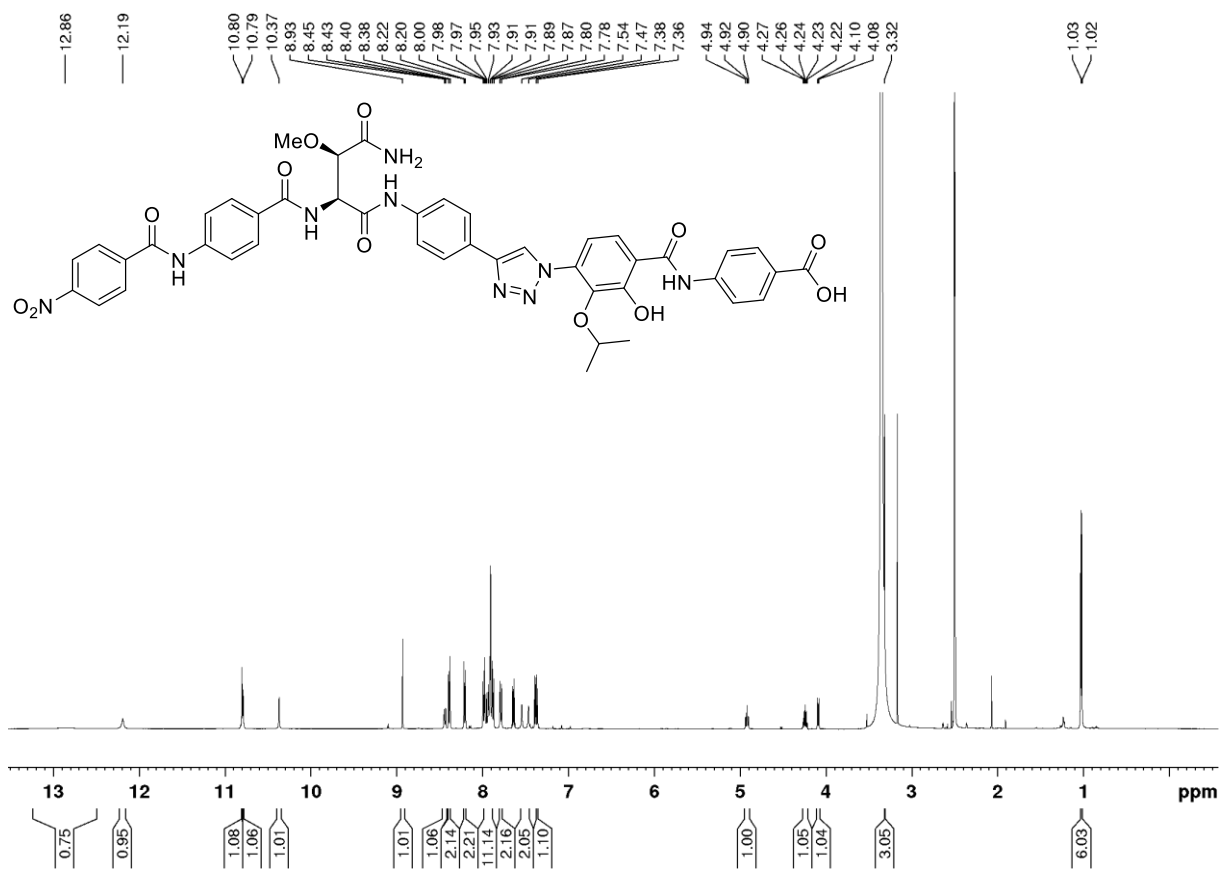


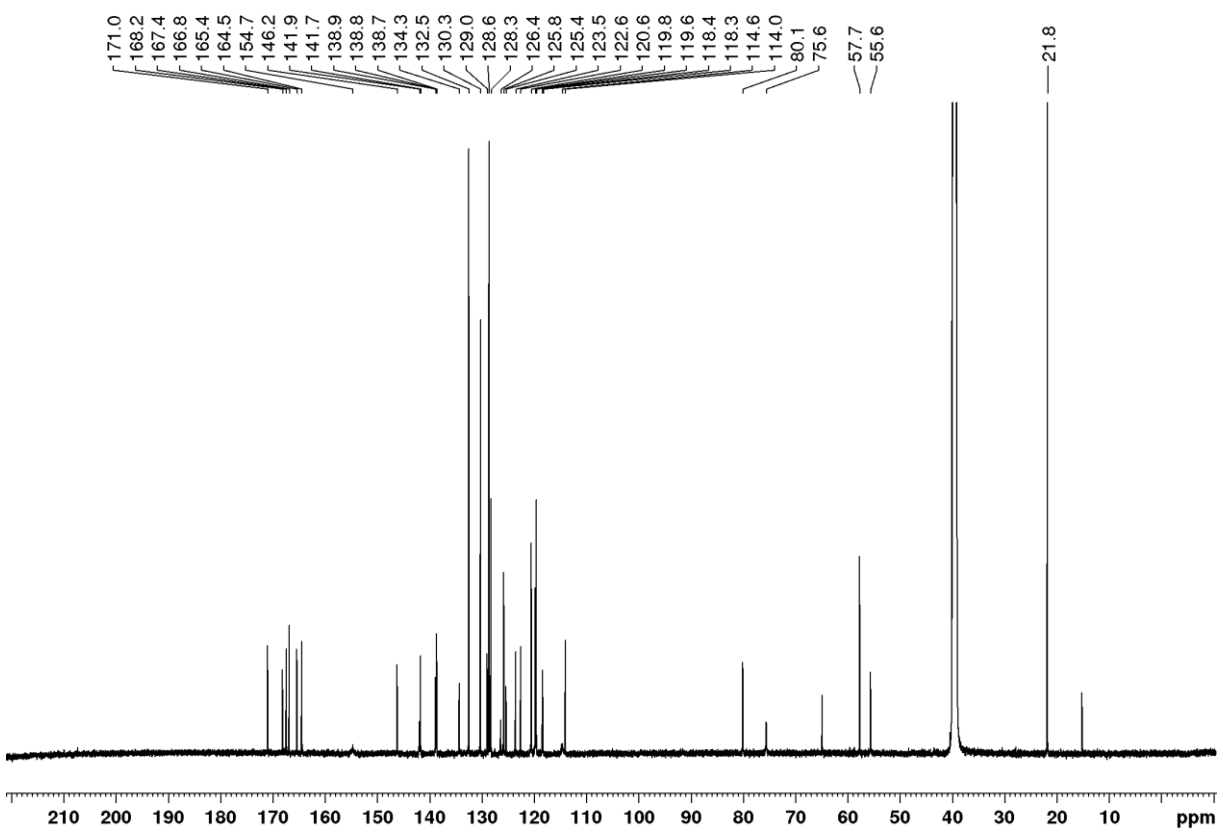
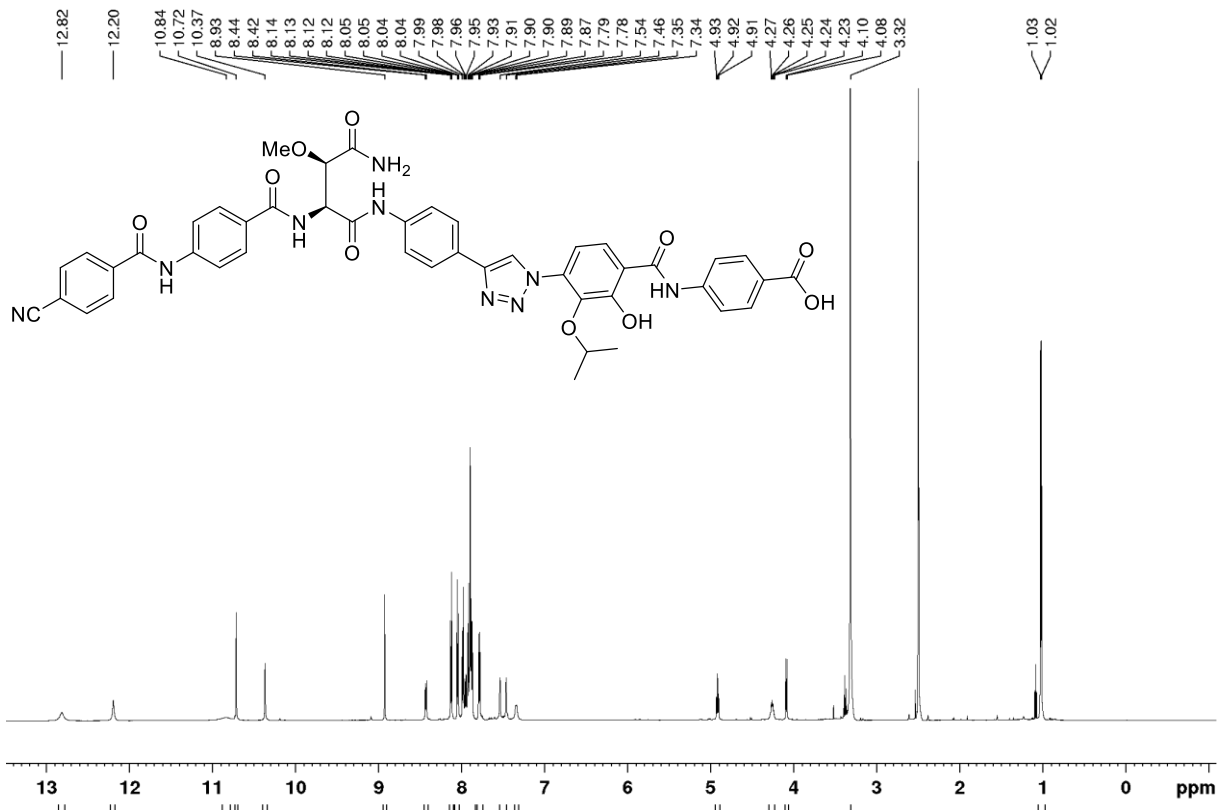


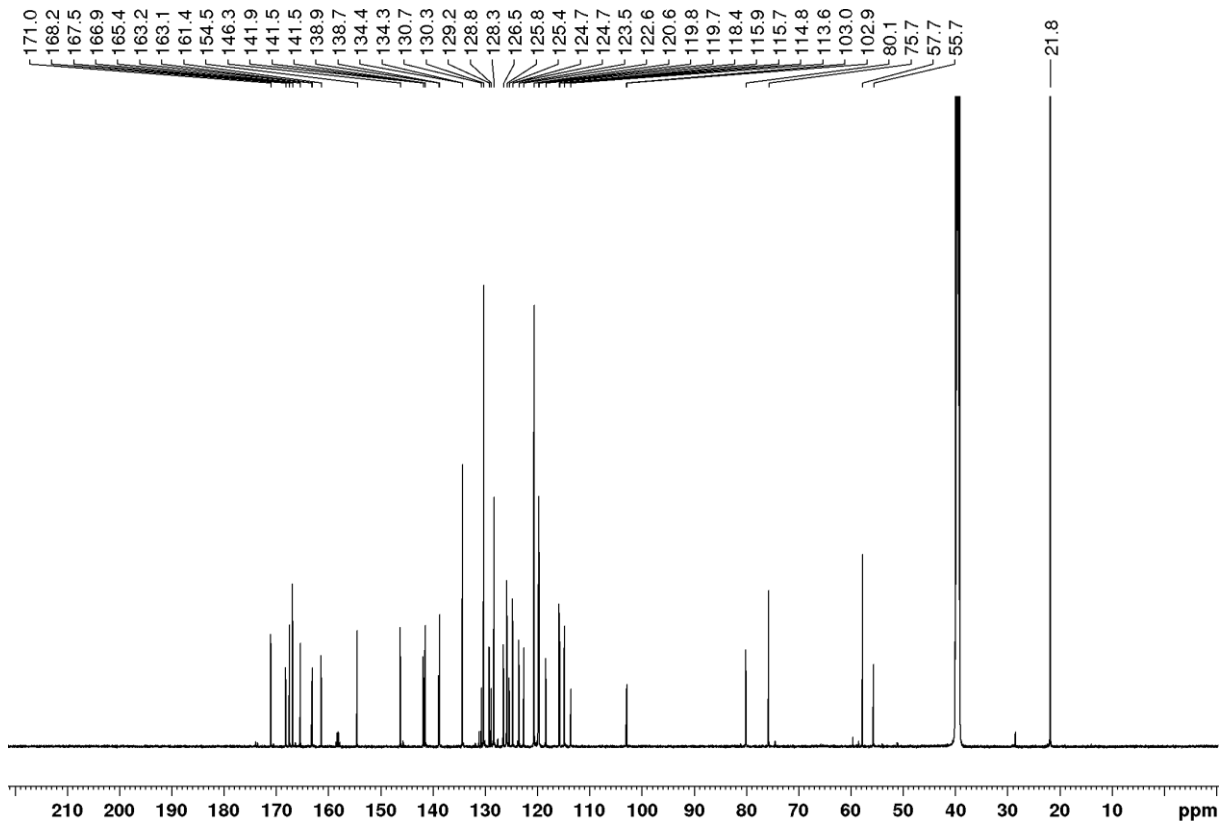
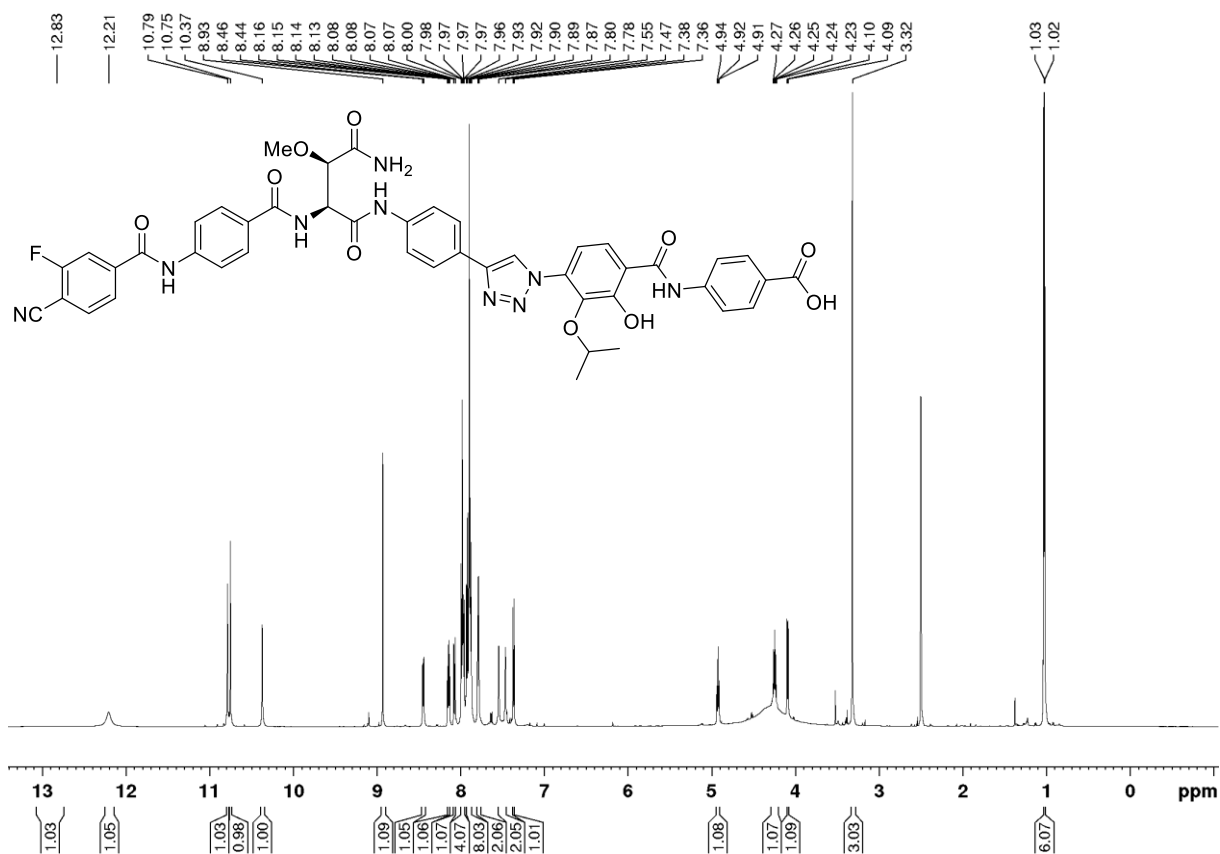


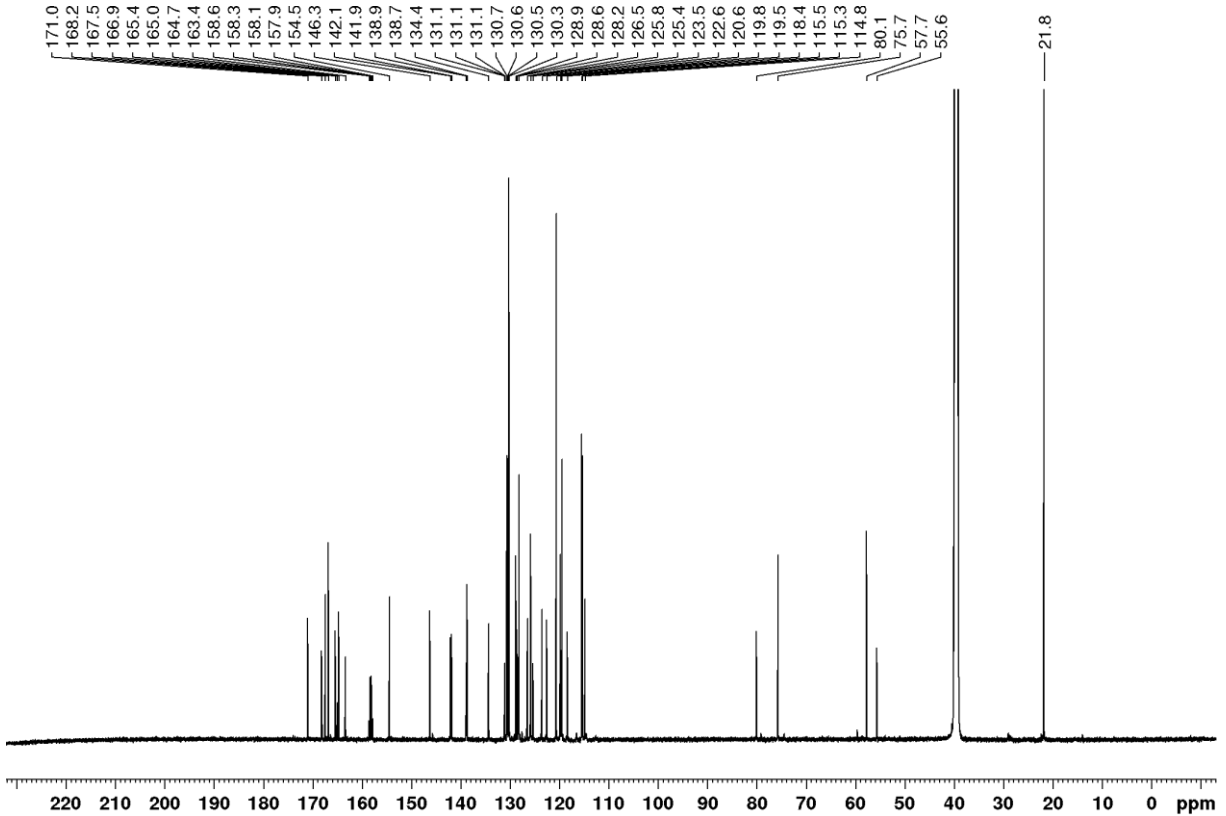
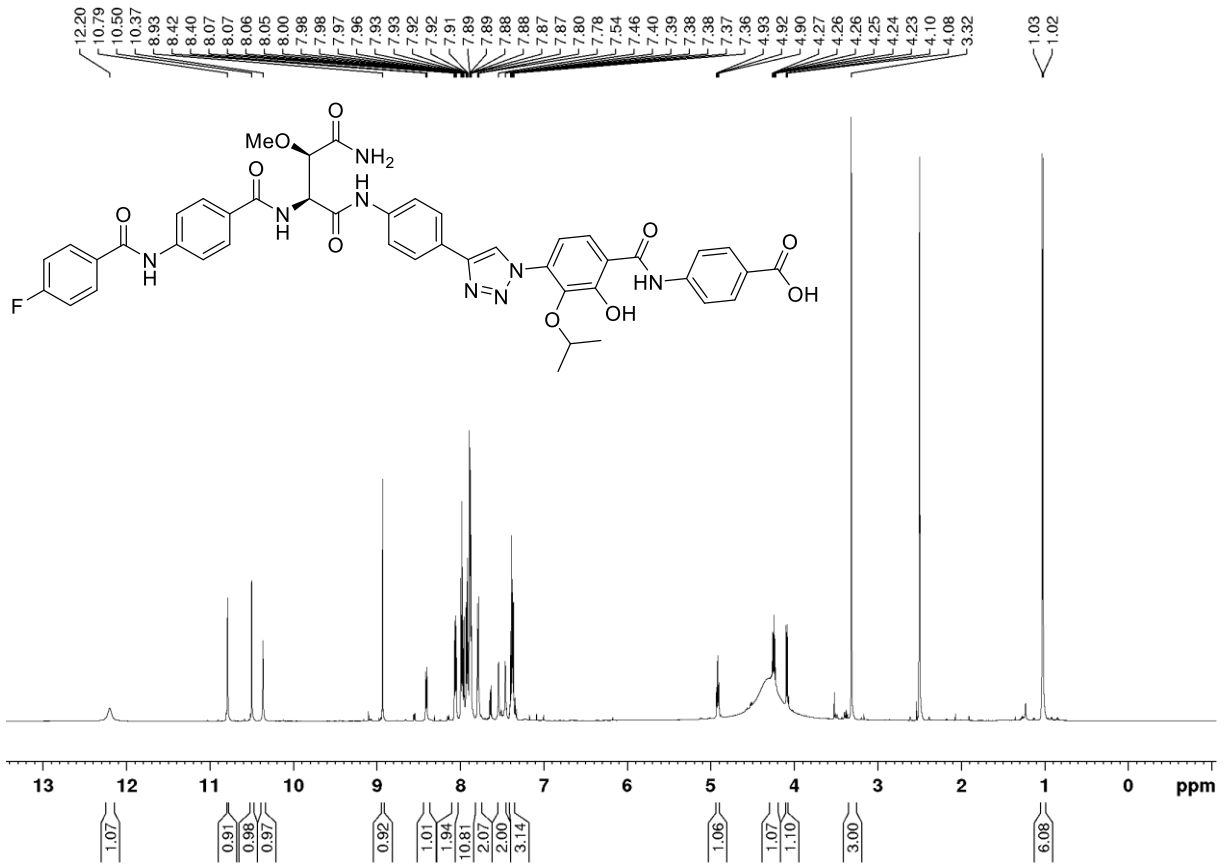


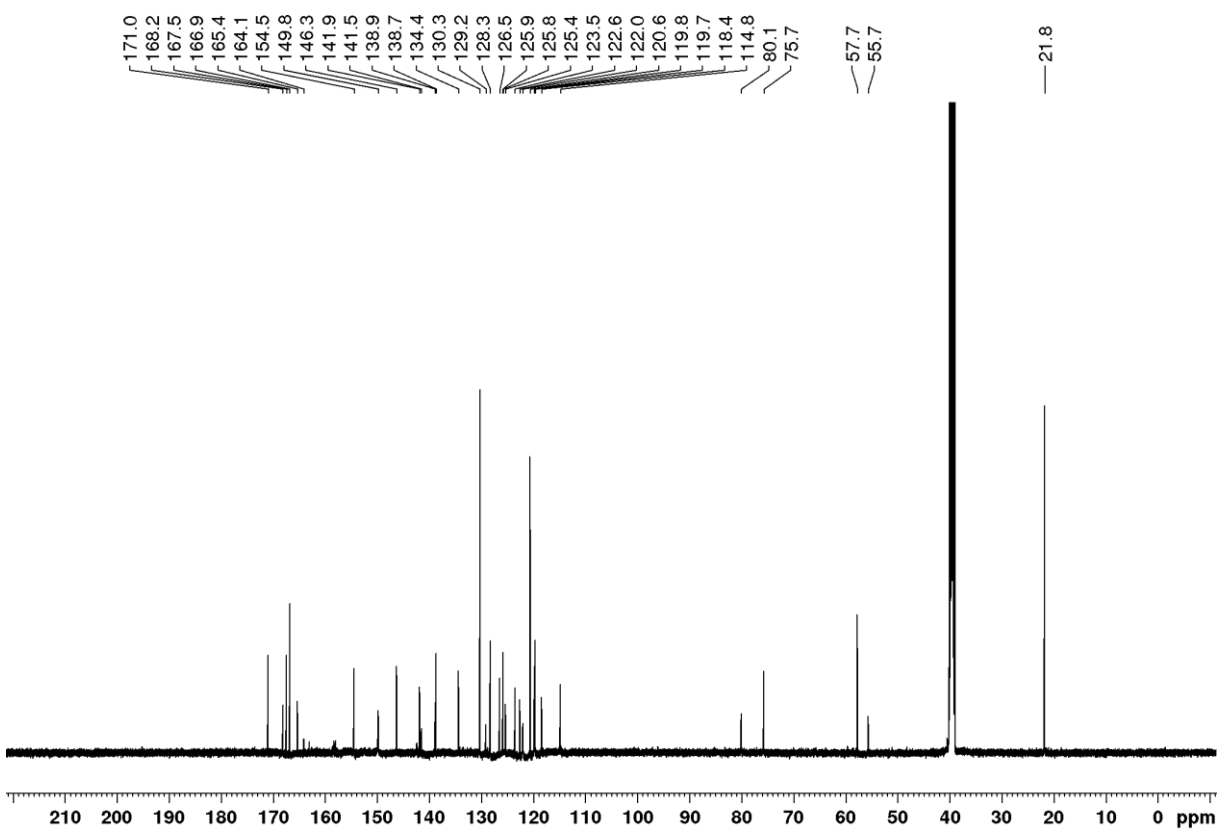
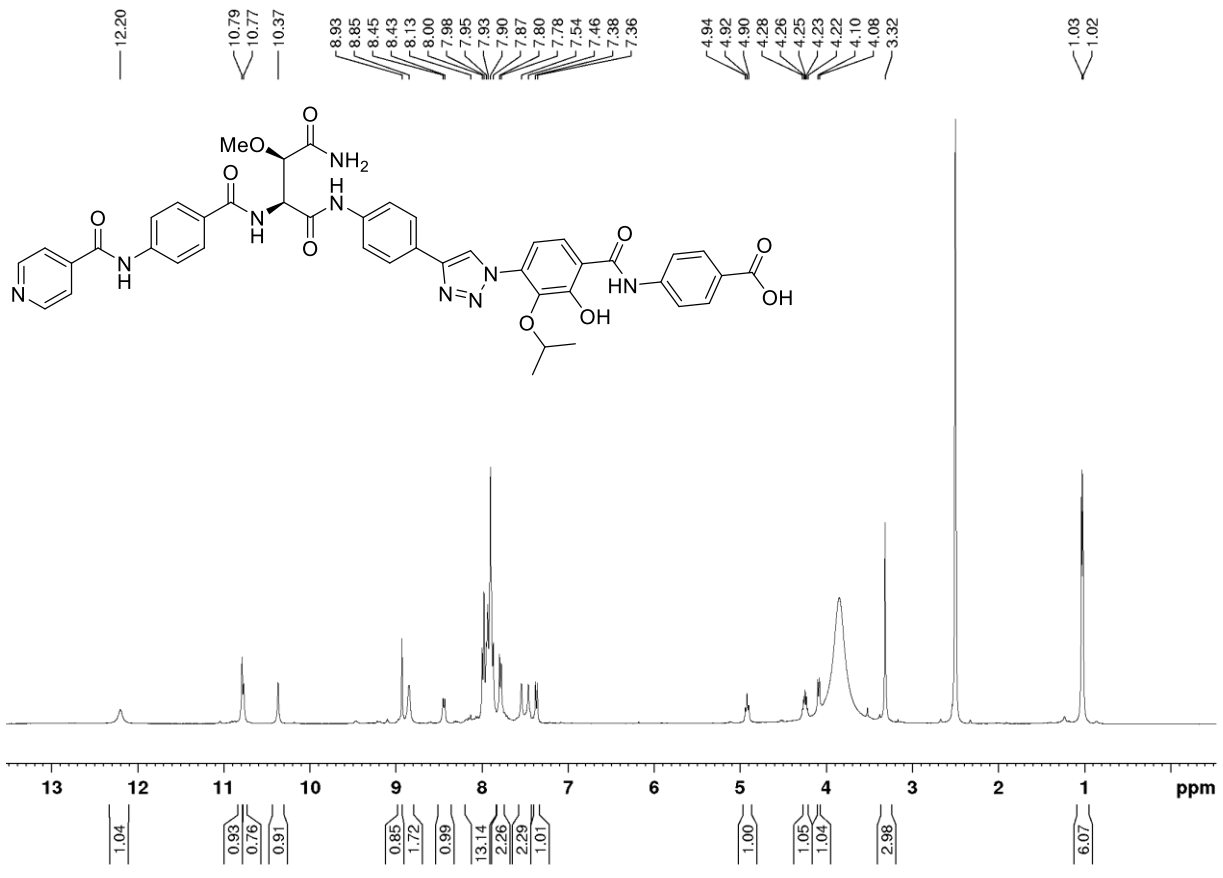


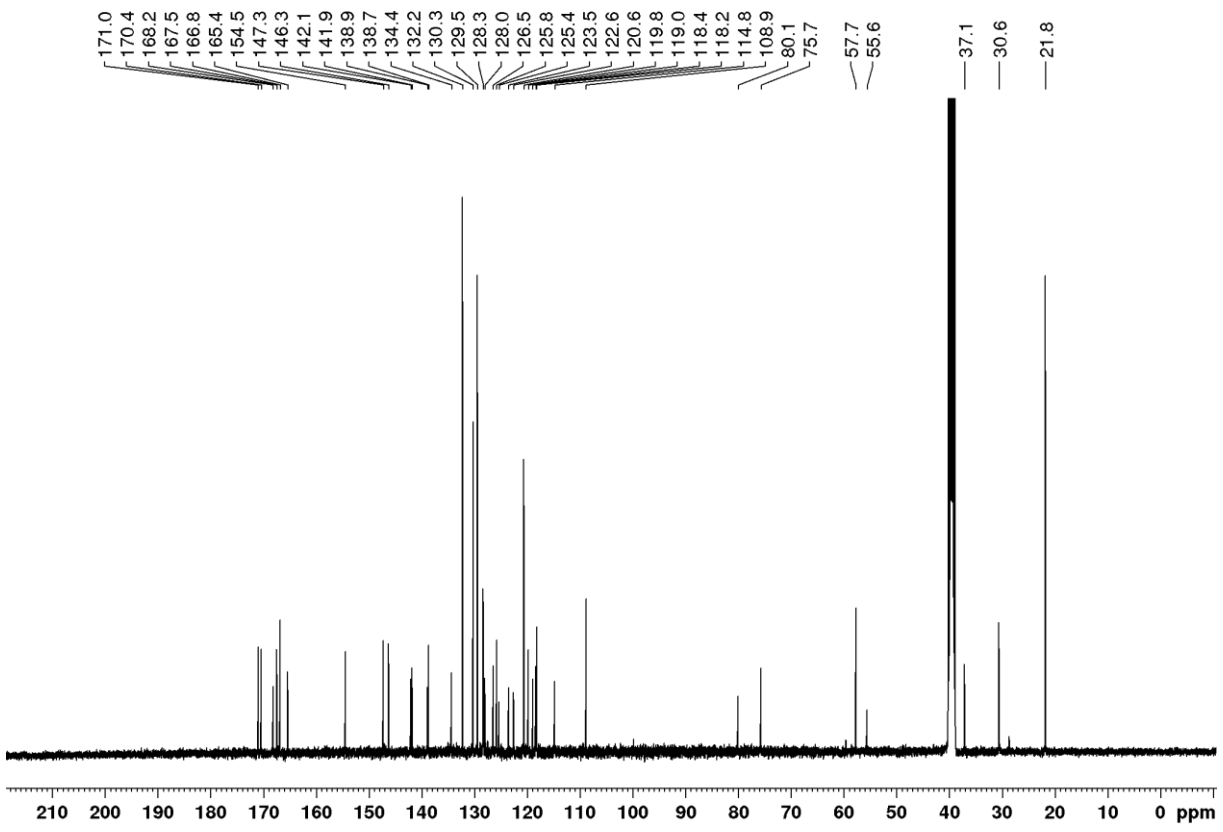
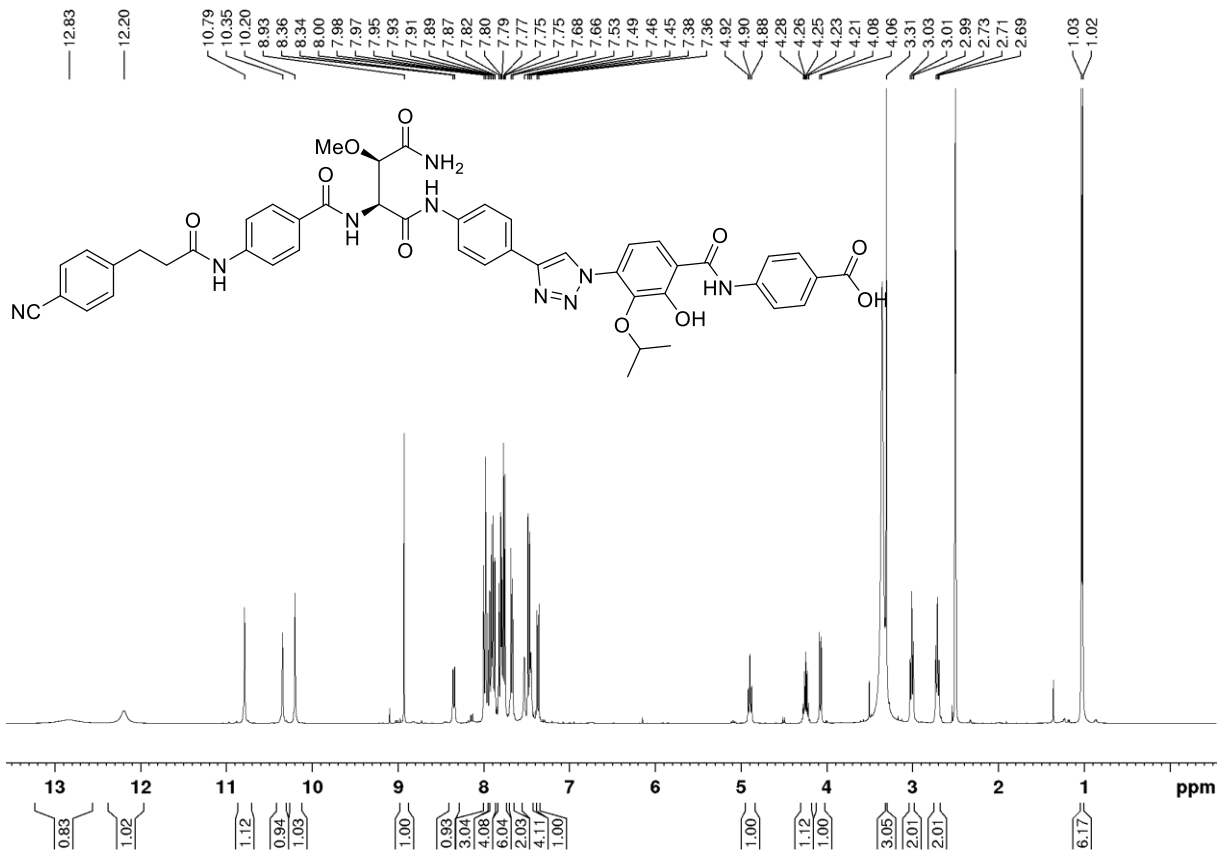


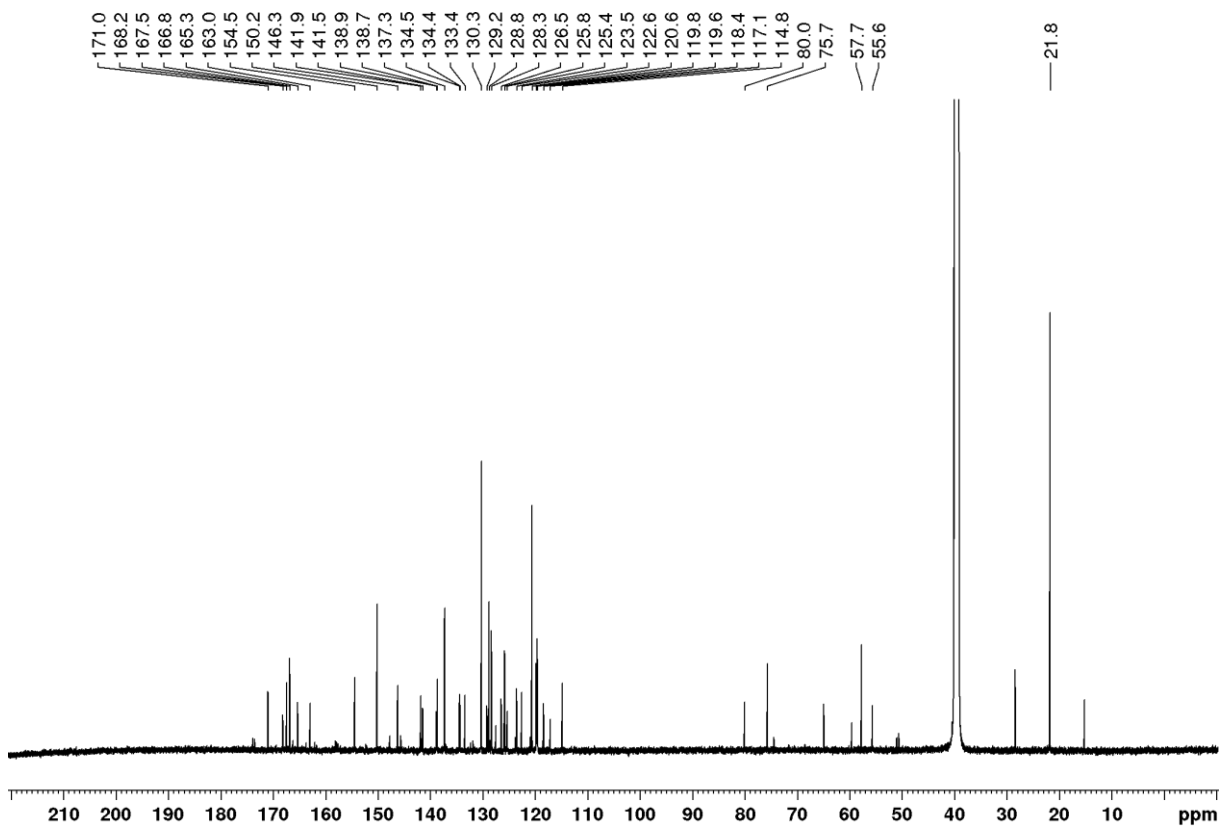
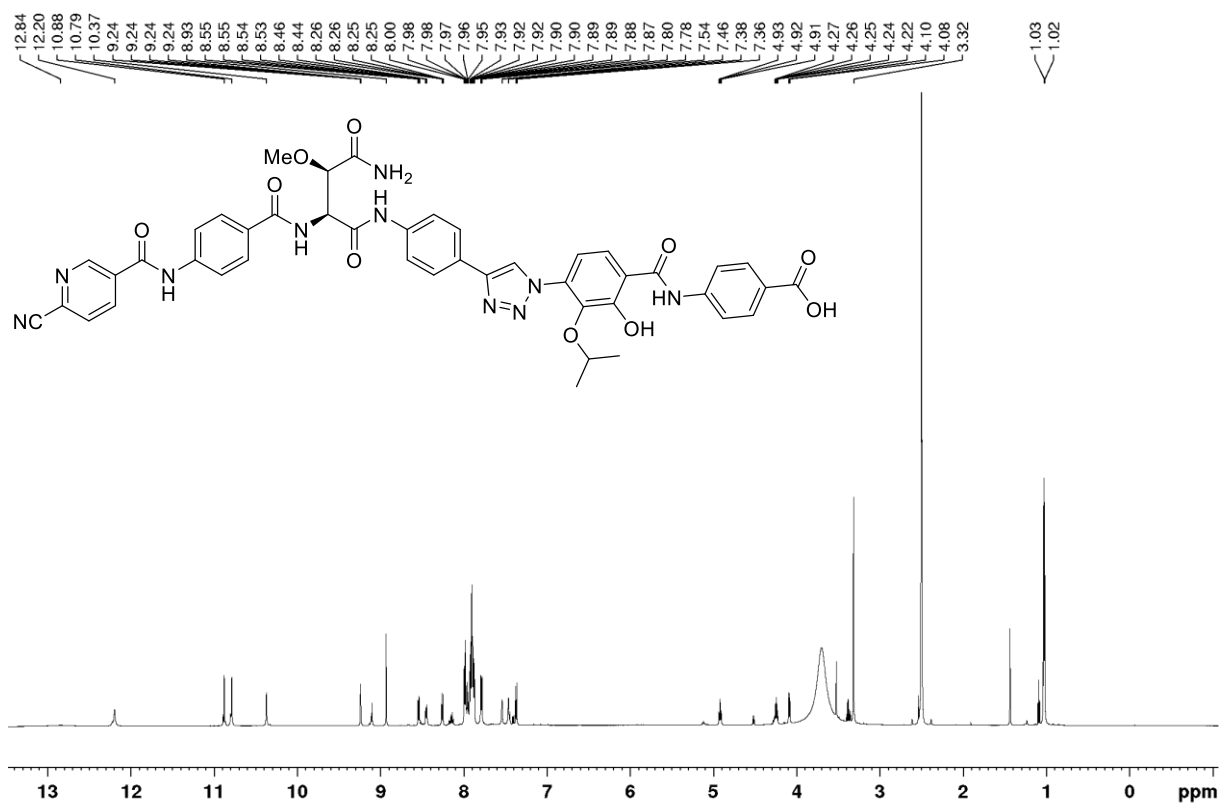


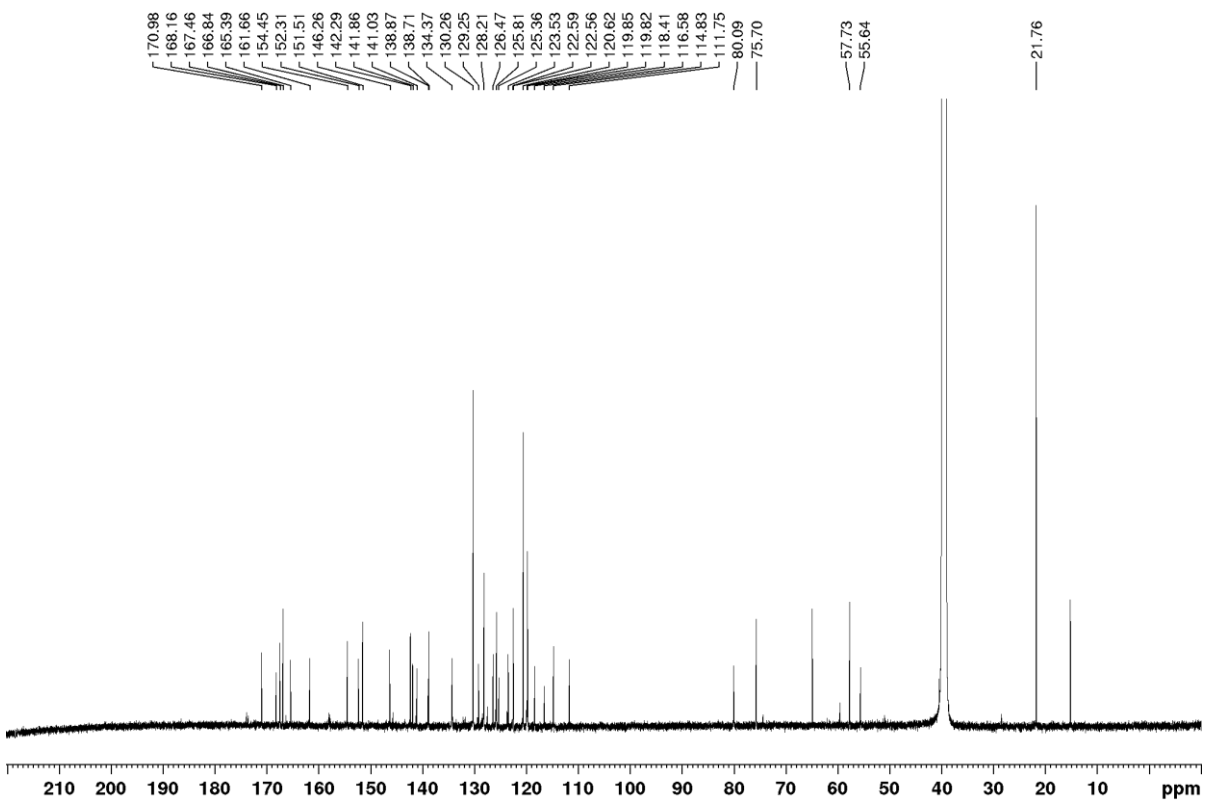
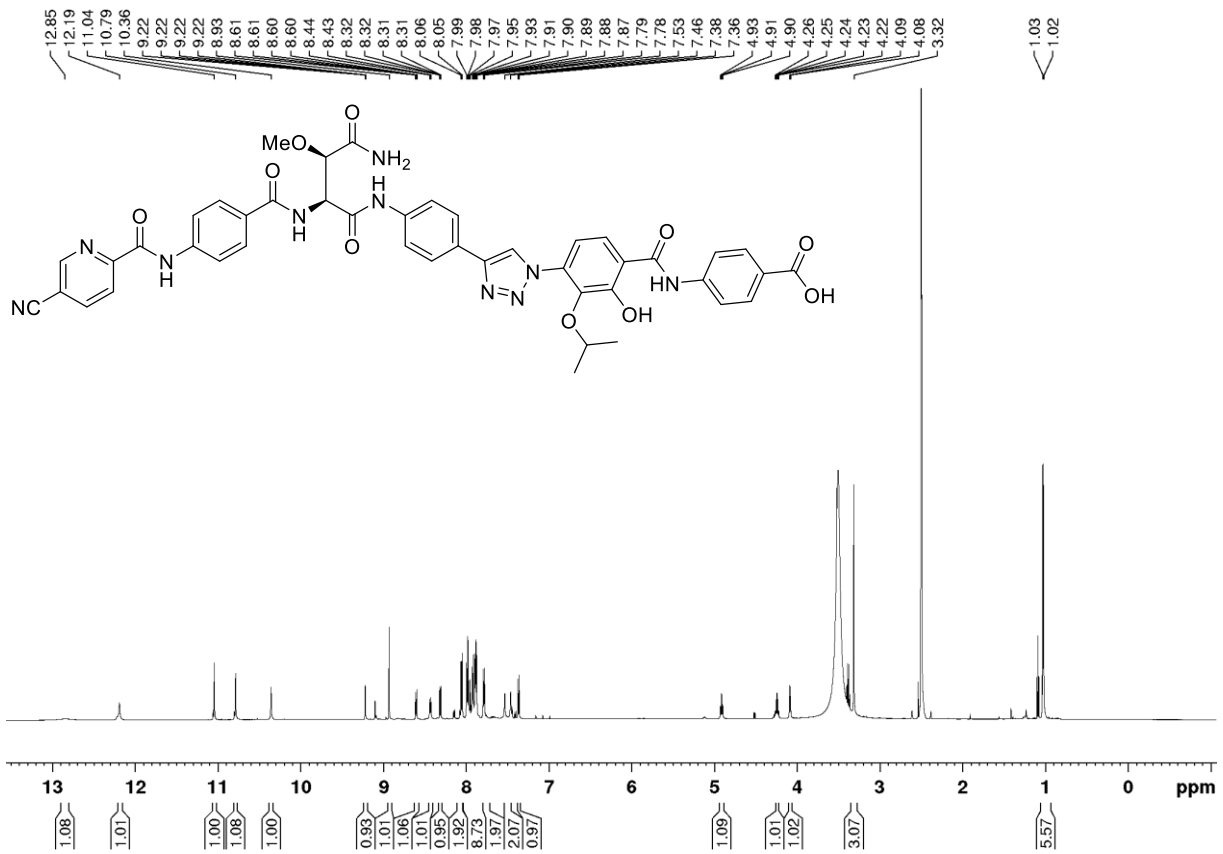












Danksagung

Mein besonderer Dank geht an meinen Doktorvater Prof. Dr. Andreas Kirschning für die Vergabe des interessanten Themas. Besonders hervorheben möchte ich die gewährten Freiheiten bei der Gestaltung der Arbeit, sowie die sehr guten Arbeitsbedingungen und die gute Betreuung.

Herrn Prof. Dr. Markus Kalesse danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Prof. Dr. Jürgen Caro danke ich für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Bei Dr. Gerald Dräger möchte ich mich herzlich für die unermüdliche Hilfsbereitschaft sowie sein stets offenes Ohr bedanken. Die schnellen Reparaturen der HPLC-Technik und Massenspektrometrie waren darüber hinaus überaus hilfreich. Das Messen und Analysieren einiger Sonderwünsche soll ebenfalls gewürdigt werden.

Giambattista Testolin, Matthew Norris, Maria Moreno, Christian Leitner, Daniel Kohnhäuser, Prof. Dr. Mark Brönstrup Prof. Dr. Rolf Müller und allen weiteren aktuellen und ehemaligen „Team Cysto“-Mitgliedern danke ich für den fachlichen Austausch und die anregenden Diskussionen. Dr. Stephan Hüttel danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Aufreinigung der synthetischen Naturstoffe und die anregenden Diskussionen. Dr. Jennifer Herrmann sowie Katarina Cirnski danke ich für die Durchführung der biologischen Experimente.

Für das gründliche Korrekturlesen dieser Arbeit möchte ich mich bei meinen Kolleginnen und Kollegen Friederike Schäkel, Danny Solga, Tanja Lau und Matthew Norris bedanken.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeiterinnen der analytischen Abteilung Monika Rettstadt, Dagmar Körtje, Anne Schulz und Roswitha Reichel für das schnelle Messen zahlreicher NMR- und Massenproben. Dr. Jörg Fohrer danke ich für die zusätzliche Messung von Sonderwünschen in kürzester Zeit.

Dem Sekretariat mit Ines Roloff, Monika Griese und Christine Bartetzko danke ich für die unkomplizierte Hilfe bei organisatorischen Dingen.

Mihail Astratov danke ich für die zügige Bestellung von Chemikalien.

Meinen Bachelorstudenten Alexey Stepanyuk, Florian Fricke und Christian Klepper, meinen Auslandsstudenten Alison Deyett und Martina Prochota sowie meinen Masterpraktikanten

Teresa Kösel, Viktoria Ravkina, Merete Ahrens und Elisa Ospanow danke ich für die synthetische Unterstützung im Labor.

Ich danke allen ehemaligen und neuen Kollegen des Arbeitskreises Kirschning, die mich die letzten Jahre begleitet haben. Die diversen Aktivitäten wie Paddeltouren, Doktorfeiern oder gemeinsame Grillabende werden lange in Erinnerung bleiben. Meinen Laborkollegen Samhita Banerjee, Dominik Werz und Pascal Lienig gilt ein besonderer Dank für die tolle Laboratmosphäre. Alexandra Seemann danke ich für die unterhaltsame Zeit im Großraumlabor. Neben meinen Laborkollegen danke ich vor allem der unteren Etage mit Mona Oltmanns und Sibel Türkkän für die gemeinsamen Aktivitäten und unterhaltsamen Pausen.

Zuallerletzt möchte ich mich bei meinen Freunden, Eltern, Brüdern Adrian und Max und meiner Oma bedanken. Sie haben mich immer unterstützt und mir einen Ausgleich zur Arbeit ermöglicht. Insbesondere bedanke ich mich bei Fabian Voigtländer, der mir in dieser Zeit Verständnis und den nötigen Rückhalt entgegengebracht hat.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Therese Maria Planke
 Geburtsdaten: 22.08.1989 in Rosenberg OS (Polen)
 Staatsangehörigkeit: Deutsch

Akademischer Werdegang

10/2015 – 11/2019 **Promotion** an der Leibniz Universität Hannover, Institut für Organische Chemie, Prof. Dr. A. Kirschning
 Thema: „Totalsynthesen von antibiotisch hoch potenten Cystobactamiden“
 04/2013 - 07/2015 **M. Sc. Wirk- und Naturstoffchemie** an der Leibniz Universität Hannover
 10/2009 - 03/2013 **B. Sc. Chemie** an der Leibniz Universität Hannover
 09/2002 - 06/2009 **Abitur**, Gymnasium Goetheschule in Hannover

Berufliche Tätigkeiten

10/2015 – 06/2019 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin**, Institut für Organische Chemie, Leibniz Universität Hannover
 04/2014 – 06/2014 **Studentische Hilfskraft**, Leibniz Universität Hannover
 • Studierendenbetreuung im Praktikum für fortgeschrittene Organik
 01/2012 – 06/2012 und **Studentische Hilfskraft**, Medizinische Hochschule Hannover
 01/2013 – 06/2013 • Studierendenbetreuung im chemischen Praktikum für Mediziner und Zahnmediziner

Wissenschaftliche Beiträge

Publikationen

- (1) Hüttel, S., Testolin, G., Herrmann, J., Planke, T., Gille, F., Moreno, M., Stadler, M., Brönstrup, M., Kirschning, A., Müller, R., Discovery and Total Synthesis of Natural Cystobactamid Derivatives with Superior Activity against Gram-Negative Pathogenes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12760 - 12764; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 12934 - 12938.
- (2) Planke, T., Moreno, M., Wang, L., Norris, M., Siebke, M., Fohrer, J., Hüttel, S., Müller, R., Kirschning, A., The cystobactamids 920-1/2: Assignment of the constitution and relative stereochemistry by total synthesis, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 1359 – 1363.

Präsentationen

“Towards the total synthesis of the highly potent cystobactamid antibiotics”, Polish-German-Conference, Warschau, **2016**.

Ausgewählte Poster

09/2018 *3rd European Conference on Natural Products*, Frankfurt a. M
 09/2017 *ISySyCat*, Evora, Portugal (**2. Posterpreis** in der Kategorie Total/Target based Synthesis)
 09/2016 *Orchem*, Weimar