

**Synthese neuer photolabiler Schutzgruppen und
deren Anwendung zur Darstellung photolabiler,
cyclischer Prätubulysin-Derivate**

Dissertation

zur Erlangung des Grades des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III
Chemie, Pharmazie, Bio- und Werkstoffwissenschaften
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von
Dipl. Chem. Judith Hoffmann

Saarbrücken
2014

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Juli 2010 bis Juni 2014 am Lehrstuhl für Organische Chemie an der Universität des Saarlandes in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Uli Kazmaier.

Tag des Kolloquiums:	14.10.2014
Dekan:	Prof. Dr. Volkhard Helms
Berichterstatter:	Prof. Dr. Uli Kazmaier Prof. Dr. Christian Ducho Prof. Dr. Hans-Günther Schmalz
Vorsitz:	Prof. Dr. Rolf Müller
Akademischer Mitarbeiter:	Dr. Josef Zapp

Abstract

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese neuer photolabiler Schutzgruppen, mit Hilfe derer zuvor photolabil geschützte Peptide cyclisiert werden können. Durch die Cyclisierung soll die Konformation eines biologisch aktiven Substrats so verändert werden, dass die Aktivität signifikant absinkt. Erst durch Belichtung und damit Abspaltung der Schutzgruppe soll die ursprüngliche Aktivität wiederhergestellt werden, und zwar optimalerweise am Wirkort des Moleküls.

Es konnten zwei neue photolabile Schutzgruppen entwickelt werden, die zur C- und N-terminalen Schützung von Peptiden und anderer funktioneller Gruppen dienen. Über die in der Schutzgruppe enthaltene Doppelbindung konnten die doppelt-photolabil geschützten Peptide *via* Ringschlussmetathese cyclisiert werden. Umfassende Untersuchungen zur Abspaltung der Schutzgruppen durch Belichtung mit verschiedenen Lichtquellen (Hg-Dampfampe mit verschiedenen Filtern, UV-LED) zeigten, dass die Schutzgruppen bei sehr milden Bedingungen abspaltbar sind.

Zur Anwendung des Konzepts der Aktivierung photolabiler Cyclopeptide durch Belichtung wurden photolabil geschützte Prä-tubulysin-Derivate in einer äußerst effizienten zweistufigen Synthese aus einer Ugi-Reaktion und anschließender Ringschlussmetathese hergestellt und auf ihre Cytotoxizität getestet (Arbeitsgruppe Rolf Müller, HIPS). Außerdem konnten erstmals Prä-tubulysin-Derivate mit freien funktionellen Gruppen in der Seitenkette auf ihre Cytotoxizität hin getestet werden.

This work is aimed at the synthesis of new photoactivatable protecting groups giving access to photolabile protected cyclic peptides. Cyclization induces a change in the conformation of the substrate, e. g. a biologically active drug molecule, and possibly reduces the activity. Restoration of the activity should be accomplished by irradiation and cleavage of the photolabile protecting group at its site of action.

Two different new photoactivatable protecting groups were synthesized and used for the protection of the C- and N-termini of peptides and other functional groups. Cyclization was realized *via* ring closing metathesis using the terminal double bonds of the protecting groups. Detailed investigation concerning the conditions for the photocleavage revealed the protecting groups being cleaved off under mild conditions.

To prove the concept of the activation of photoactivatable cyclic peptides *via* irradiation, several photolabile protected pretubulysin-derivatives were synthesized and tested for their cytotoxicity (working group of Rolf Müller, HIPS). The two-step-synthesis route was straightforward, an Ugi-reaction was followed by ring closing metathesis. Furthermore, the cytotoxicity of pretubulysin-derivates with free functional groups in the side chain could be tested for the first time.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Kenntnisstand	4
2.1 Einführung in die Schutzgruppenstrategie	4
2.2 Photolabile Schutzgruppen	7
2.2.1 <i>o</i> -Nitrobenzyl-basierte Schutzgruppen	7
2.2.2 Beispiele zur Anwendung <i>o</i> -Nitrobenzyl-basierter Schutzgruppen	17
2.2.3 Photolabile Schutzgruppen mit anderer Grundstruktur	21
2.3 Photolabile Wirkstoffe	23
2.4 Cyclopeptide	27
2.4.1 Eigenschaften und Anwendungen	27
2.4.2 Metathese	29
2.4.3 Photolabile Cyclopeptide	34
2.5 Prätubulysin	35
2.5.1 Hintergrund	35
2.5.2 Synthese des Prätubulysins	37
2.6 Ugi-Reaktion und Tubugis	39
3. Ergebnisse und Diskussion	43
3.1 Entwicklung neuer photolabiler Schutzgruppen – Synthese und Abspaltung	43
3.1.1 Allgemeine Einführung und Zielsetzung	43
3.1.2 Synthese der photolabilen Schutzgruppe AMNBol (1)	45
3.1.3 Synthese photolabil geschützter Aminosäuren und Peptide	47
3.1.4 Ringschlussmetathese	55
3.1.5 Untersuchungen zur Abspaltung der photolabilen Schutzgruppe AMNB durch Belichtung	58
3.1.6 UV-LED als Lichtquelle	71
3.1.7 Synthese und Abspaltung der alternativen Schutzgruppe AMNPP	71
3.1.8 Untersuchungen zur Abspaltung <i>N</i> - und <i>O</i> -geschützter Substrate	77
3.1.9 Einfluss der Ringgröße auf die Cyclisierung	79
3.2 Anwendung der photolabilen Schutzgruppe AMNB	81
3.2.1 Zielstruktur und Retrosynthese	81
3.2.2 Synthese der Bausteine	84
3.2.3 Ugi-Reaktion	92
3.2.4 Ringschlussmetathese	99
3.2.5 Referenzsubstanzen	102
3.2.6 Belichtung	105
3.2.7 Biologische Evaluierung	106

Inhaltsverzeichnis

4. Experimenteller Teil	111
4.1 Allgemeine Angaben	111
4.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften	112
4.3 Synthese der Verbindungen	114
5. Zusammenfassung	204
6. Spektrenanhang und Literatur	210
6.1 Anhang	210
6.1.1 Daten zu den Belichtungen	210
6.1.2 HPLC-Chromatogramme und MS-Spektren der Ugi-Reaktionen	237
6.2 Literatur	241

Abkürzungsverzeichnis

°	Grad	DC	Dünnschichtchromatographie
°C	Grad Celsius	DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
2PE	<i>two-photon excitation</i>	DCM	Dichlormethan
4-NO ₂ -Z	4-Nitrobenzyloxycarbonyl	DCU	Dicyclohexylharnstoff
5-FdU	5-Fluoro-2'-desoxyuridin	DECM	7- <i>N,N</i> -Diethylaminocumarin
5-FU	5-Fluorouracil	DibalH	Di- <i>iso</i> -butylaluminiumhydrid
8-MOP	8-Methoxypsoralen	DIPEA	Di- <i>iso</i> -propylethylamin
Å	Ångström	DMAP	4-(<i>N,N</i> -Dimethylamino)pyridin
AS	Aminosäure	DMATr	3-(dimethylamino)trityl
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift	DMF	Dimethylformamid
<i>abs.</i>	absolut	DMNB(OC)	4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl (oxycarbonyl)
Ac	Acetyl		
ACN	Acetonitril	DMP	Dess-Martin-Periodinan
ADC	<i>antibody-drug conjugate</i>	DMSO	Dimethylsulfoxid
AK	Arbeitskreis	DNA	Desoxyribonukleinsäure
Ala	Alanin	Dox	Doxorubicin
AMNB(OC)	4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl(oxycarbonyl)	dr	<i>diastereomeric ratio</i>
AMNPP(OC)	2-(4-Allyloxy-3-methoxy-5-nitrophenyl)propyl(oxycarbonyl)	ds	<i>diastereomeric selectivity</i>
APCI	<i>atmospheric pressure chemical ionization</i>	<i>dTuv</i>	<i>desacetoxy</i> -Tubuvalin
Äq	Äquivalent	<i>E</i>	entgegen (Doppelbindung)
Ar	aromatischer Rest	ε	Absorptionskoeffizient
ATP	Adenosintriphosphat	ee	<i>enantiomeric excess</i>
ax	axial	EE	Essigsäureethylester
BEP	2-Brom-1-ethyl-pyridinium-tetrafluoroborat	EGTA	Ethylenglycol-bis(aminoethyl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetraacetat
ber.	berechnet		
Bn	Benzyl	EI	Elektronenstoßionisation
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	eq	äquatorial
BOP	Benzotriazolylxytris-(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat	ESI	Elektrospray-Ionisation
(<i>n</i>)-BuLi	(<i>n</i>)-Butyllithium	Et	Ethyl
ca.	circa	<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
Cbz	Benzyloxycarbonyl	etc.	<i>et cetera</i>
CDI	Carbonyldiimidazol	Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
CHN	Elementaranalyse	FR	Folat-Rezeptor
Cl	chemische Ionisation	FRET	Förster-Resonanz-Energietransfer
cosy	<i>correlated spectroscopy</i>		
d	Tag	g	Gramm
δ	delta (chemische Verschiebung)	GABA	γ-Aminobuttersäure
		GC	Gaschromatographie
		gef.	gefunden
		ges.	gesucht
		Gew%	Gewichtsprozent
		GFP	<i>green fluorescent protein</i>

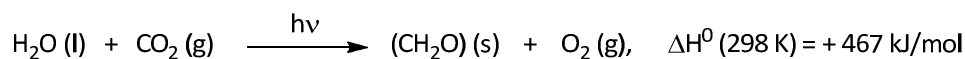
Abkürzungsverzeichnis

GH-2G	Grubbs-Hoveyda-Katalysator 2. Generation	MNI	4-Methoxy-7-nitroindolin
Gly	Glycin	mol	Mol
GSH	Glutathion	MOM	Methoxymethyl
GST	Glutathion S-Transferase	MOZ	<i>para</i> -Methoxybenzyl- oxycarbonyl
h	Stunde	MS	Massenspektroskopie
hAMNB	5-Methoxy-2-nitro-4- propyloxybenzyl (oxycarbonyl)	MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyl-tetrazolium- bromid
HIPS	Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland	m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>	n	nano-
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol	n. b.	nicht bestimmt
hpDNA	<i>hairpin</i> -DNA	NBA	Nitrobenzylamin
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>	NB(OC)	Nitrobenzyl(oxycarbonyl)
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>	NDBF	3-Nitrodibenzofuran-2-yl
HV	Hochvakuum	n. i.	nicht isoliert
Hz	Hertz	NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
IBCF	<i>iso</i> -Butylchloroformiat	NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
<i>i</i> Bu	<i>iso</i> -Butyl	NPE(OC)	(2-Nitrophenyl)ethyl(oxy- carbonyl)
IC ₅₀	<i>50 % inhibitory concentration</i>	NPP(OC)	2-(2-Nitrophenyl)propyl(oxy- carbonyl)
Ile	Isoleucin	NV(OC)	6-Nitroveratryl(oxycarbonyl)
<i>i</i> Pr	<i>iso</i> -Propyl	<i>o</i>	ortho
ISC	<i>inter-system-crossing</i>	<i>p</i>	<i>para</i>
<i>J</i>	Kopplungskonstante	Φ	Quantenausbeute
kcal	Kilokalorie	P-3CR	Passerini-Dreikomponenten- reaktion
konz.	konzentriert	PEA	Phenylethylamin
l	Liter	Ph	Phenyl
LDA	Lithium-di- <i>iso</i> -propylamid	Pip	Pipecolinsäure
LED	<i>light emitting diode</i>	pK _a	Säurekonstante
Leu	Leucin	Piv	Pivaloyl
LHMDS	Lithium-hexamethyldisilazan	ppm	<i>parts per million</i>
m	Meter / milli-	Pro	Prolin
<i>m</i>	meta	<i>p</i> TosOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
M	molar	PUVA	Psoralen plus UV-A
μ	mikro-	Py	Pyridin
MA	Methylamin	quant.	quantitativ
Me	Methyl	R	Rest
MEM	(2-Methoxyethoxy)methyl	R ²	Regressionskoeffizient
Mep	<i>N</i> -Methylpipecolinsäure	<i>rac</i>	racemisch
MHz	Megahertz	RCM	<i>ring closing metathesis</i>
min	Minute	R _f	Retentionsfaktor
		RNA	Ribonukleinsäure
		ROM(P)	<i>ring opening metathesis</i>

	<i>(polymerization)</i>
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
RT	Raumtemperatur
Rückfl.	Rückfluss
s	Sekunde
s.	siehe
Sdp.	Siedepunkt
Ser	Serin
SG	Schutzgruppe
Smp.	Schmelzpunkt
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBDMS/TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
<i>t</i> BuOK	Kalium- <i>tert</i> -butylat
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> - tetramethyluronium- tetrafluoroborat
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin Hydrochlorid
<i>tert</i>	tertiär
TES	Triethylsilyl
TFA	Trifluoracetyl
TFA ₂ O	Trifluoressigsäureanhydrid
TFAcOH	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran
TIPS	Tri- <i>iso</i> -propylsilyl
TMS	Trifluormethylsilyl
<i>t</i> _R	Retentionszeit
Tup	Tubuphenylalanin
Tut	Tubutyrosin
Tuv	Tubuvalin
Tyr	Tyrosin
Tz	Thiazol
U-4CR	Ugi-Vierkomponenten- reaktion
ü. N.	über Nacht
UV	Ultraviolett
Val	Valin
vgl.	vergleiche
Z	Benzyloxycarbonyl
Z	zusammen (Doppelbindung)

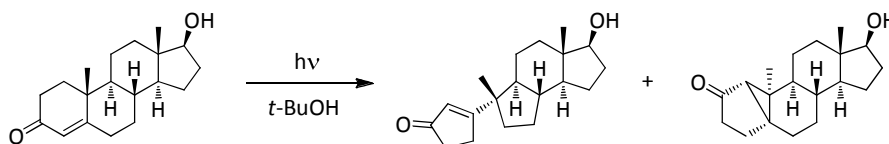
1. Einleitung

Die Nutzung von Licht als Energiequelle zur Initiierung chemischer Prozesse ist der Schlüssel zum Erfolg des in den letzten Jahrzehnten immer weiter aufstrebenden Bereichs der Photochemie. Durch die Absorption eines Photons wird ein Molekül in einen energiereicheren, angeregten Zustand versetzt. Die Rückkehr zum energieärmeren Grundzustand erfolgt entweder durch Abgabe eines Lichtquants aus dem Singulettzustand als Fluoreszenz, aus dem Triplettzustand (Phosphoreszenz) oder durch strahlungslose Relaxation.^[1] Alternativ kann die Energie des angeregten Zustands auch zur Initiierung einer chemischen Reaktion genutzt werden. Genau dieses Prinzips bedient sich die Photochemie. Aus Licht Energie für den Aufbau komplexer Moleküle zu gewinnen, ist jedoch keine Erfindung genialer Forscher. Die Natur verfolgt dieses Konzept bereits seit Jahrmillionen, und das extrem erfolgreich und effizient: die Photosynthese. Dabei werden aus Wasser und CO₂ Kohlenhydrate aufgebaut bei gleichzeitiger Freisetzung von Sauerstoff (Schema 1-1). Die Absorption eines Photons durch Chlorophyll, einem Porphyrinsystem, bewirkt eine Elektronenanregung, die in einer komplexen Kaskade von Photosystemen schließlich zur Erzeugung von Reduktionsäquivalenten wie NADPH und ATP genutzt wird. Diese werden schließlich zur Reduktion von CO₂ eingesetzt.^[2] Man schätzt, dass weltweit jährlich rund 2·10¹² t CO₂ durch Photosynthese in Biomasse umgewandelt werden. Für eine einzelne, große Buche heißt das an einem sonnigen Tag, dass sie bis zu 10 m³ CO₂ in das gleiche Volumen Sauerstoff und etwa 12 kg Kohlenhydrate umwandelt.^[1]



Schema 1-1 Bruttogleichung der Photosynthese.^[2]

Auch in der organischen Chemie gewinnen photochemische Reaktionen immer mehr an Bedeutung, denn im Zuge der „green chemistry“-Bewegung werden immer selektivere, mildere und weniger Abfall produzierende Reaktionen erforscht. Ein Photon als „Reagenz“ scheint nahezu ideal zu sein, denn es ist günstig zu erzeugen, produziert keinen Abfall und kann eine unglaubliche Bandbreite an Reaktionen initiieren. Doch genau hier liegt oft das Problem. Es ist selbst für einen sehr erfahrenen Photochemiker meist schwer vorherzusagen, ob eine Reaktion genau so gelingt, wie sie auf dem Papier erdacht war. Die Reaktivität photochemisch angeregter Moleküle ist meist gegensätzlich zur Reaktivität im Grundzustand, was wiederum ganz neue Möglichkeiten eröffnet. Um einen Eindruck von den vermeintlich unendlichen Möglichkeiten zu geben, ist in Schema 1-2 eines von vielen Beispielen aufgeführt, das illustriert, auf welch vielfältige Weise photochemisch angeregte Moleküle reagieren können.^[1]



Schema 1-2 Belichtung von Testosteron in einer Lösung aus *t*-BuOH.^[1]

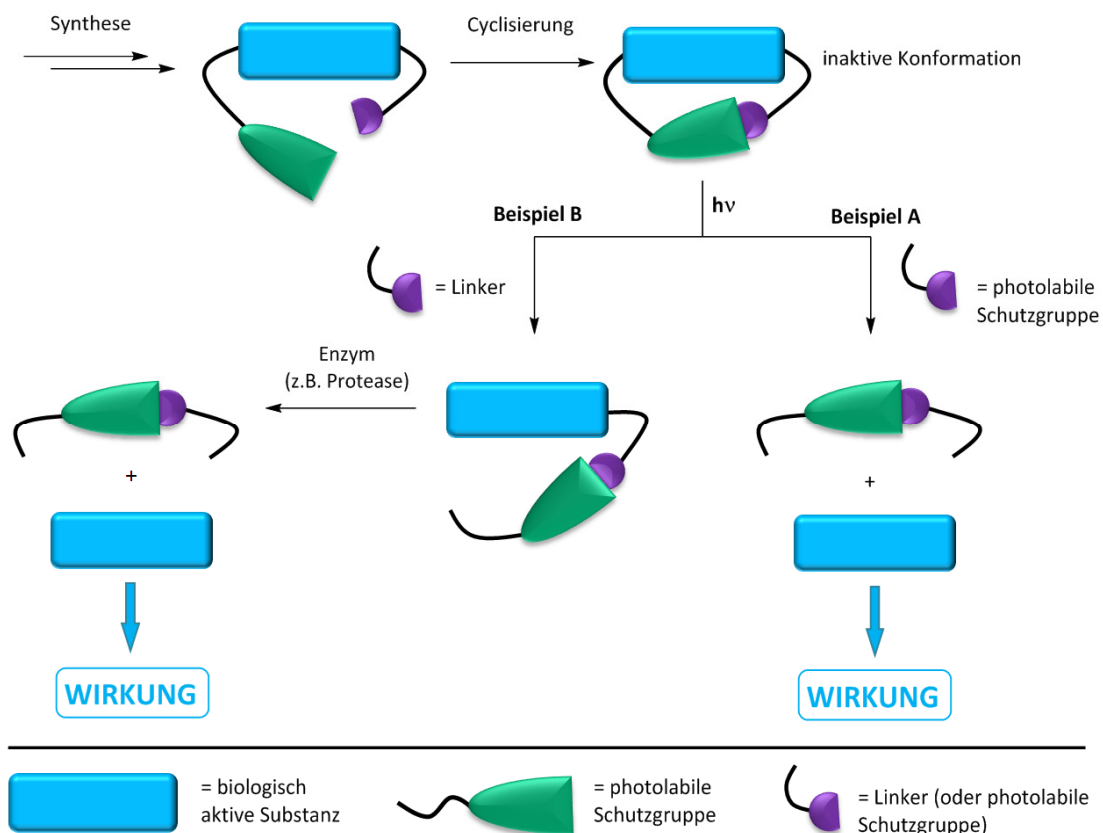
Ein sehr gut erforschtes Gebiet innerhalb der Photochemie sind photolabile Schutzgruppen. Auch hier wird Lichtenergie genutzt, um eine Reaktion zu induzieren, die nicht durch Zugabe von Reagenzien oder durch Erwärmung, also chemische Reaktionen im Grundzustand, ablaufen würden. Daher sind photolabile Schutzgruppen in der Regel orthogonal zu allen anderen Schutzgruppen, die

1. Einleitung

sich z. B. sauer, basisch, durch Hydrierung oder mit Hilfe von Fluorid abspalten lassen.^[3] Es gibt viele Arten von photolabilen Schutzgruppen, auf die im Kapitel 2 dieser Arbeit im Detail eingegangen wird. Die als erstes entdeckte und bekannteste photolabile Schutzgruppe ist die *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe (NB), die auch das Grundgerüst für viele andere Schutzgruppen bildet.^[4] Die Anwendung photolabiler Schutzgruppen ist extrem vielfältig und reicht von der Verwendung in der organischen Synthese^[5] über die Festphasensynthese^[6] und die Aufklärung biochemischer Prozesse^[7,8] bis hin zur photolabilen Modifizierung von Wirkstoffmolekülen^[9,10] (vgl. Kapitel 2.3).

Das Konzept, dass Wirkstoffmoleküle durch Abspaltung photolabiler Schutzgruppen aktiviert werden können, wurde bereits in den 1970er und -80er Jahren erdacht, hat sich allerdings erst in den letzten Jahren entscheidend weiterentwickelt.^[11] Es gibt bisher nur wenige Beispiele für eine solche Photoaktivierung biologisch aktiver Verbindungen. Der Vorteil und gleichzeitig auch der Sinn dieses Konzepts ist die Aktivierung des Wirkstoffs am Wirkort, z. B. im Tumorgewebe. Dadurch sollen unerwünschte Nebenwirkungen verhindert werden, denn der gewünschte Effekt des Wirkstoffs tritt nur dort ein, wo er gebraucht wird, nämlich dort, wo belichtet wird. Eine Anwendung ist beispielsweise in der Therapie gut erreichbarer Tumore, wie bei Magen-, Darm-, Speiseröhren- oder Blasen Tumoren, denkbar.^[12] Für eine Verwendung bei tiefer im Gewebe liegenden Tumoren könnten endoskopische Methoden die Lichtquelle an den Wirkort bringen.^[13]

Im Zuge der vorliegenden Arbeit sollte eine photolabile Schutzgruppe entwickelt werden, mit deren Hilfe ein peptidischer Wirkstoff (blau) dahingehend modifiziert werden kann, dass er über die photolabile Schutzgruppe (grün) und einen Linker (violett) cyclisierbar ist (vgl. Schema 1-3). Durch die Cyclisierung soll die vormals aktive Verbindung, bedingt durch eine Konformationsänderung, in eine



Schema 1-3 Konzept der photolabilen Cyclopeptide (photolabil geschützte, biologisch aktive Peptide).

inaktive Verbindung überführt werden. Als Linker kann eine weitere photolabile Schutzgruppe dienen, wie in Schema 1-3, Beispiel A gezeigt. Bei Belichtung könnten dann beide photolabilen Schutzgruppen simultan abgespalten werden, die aktive Substanz würde freigesetzt und könnte ihre Wirkung entfalten. Alternativ kann als Linker auch ein Allylester oder generell eine terminale Doppelbindung im Molekül dienen (Schema 1-3, Beispiel B). Die Doppelbindung würde eine Cyclisierung *via* Ringschlussmetathese erlauben. Bei Belichtung der cyclischen Substanz könnte die photolabile Schutzgruppe abgespalten werden, und eine Abspaltung des Linkers durch zelleigene Enzyme, vergleichbar mit dem *prodrug*-Konzept, könnte den Wirkstoff freisetzen. Die Anknüpfungspunkte für photolabile Schutzgruppe und Linker sollten hierbei so gewählt werden, dass die Cyclisierung eine starke Konformationsänderung bedingt, um die biologische Aktivität möglichst weit abzusenken.

2. Kenntnisstand

2.1 Einführung in die Schutzgruppenstrategie

Die Verwendung der richtigen Schutzgruppen ist oft ein entscheidender Aspekt in der organisch-chemischen Synthese. Eine unpassende Schutzgruppenstrategie kann ganze Totalsynthesen auf den letzten Metern scheitern lassen. Da es wichtig ist, auf eine große Auswahl an Schutzgruppen für verschiedenste Funktionalitäten zugreifen zu können, wurden in den letzten Jahrzehnten unzählige Schutzgruppen entwickelt.^[3] Um sie erfolgreich in Synthesen einsetzen zu können, müssen sie mehrere Voraussetzungen erfüllen:^[14] sie sollten unter milden Bedingungen, selektiv und mit hoher Ausbeute an die zu schützenden funktionellen Gruppen anknüpfbar sein. Sie sollten für die Dauer der Schützung stabil gegenüber allen Reaktionsbedingungen und Reinigungsschritten sein, das Molekül stabilisieren, Racemisierungen unterdrücken und schließlich selektiv und mit hoher Ausbeute wieder abspaltbar sein, ohne dass andere funktionelle Gruppen angegriffen werden.^[14] Abbildung 2-1 zeigt eine Auswahl der wichtigsten und gebräuchlichsten Schutzgruppen für verschiedene funktionelle Gruppen wie Amine, Alkohole und Carbonylverbindungen inklusive der entsprechenden Abspaltungsbedingungen.

Substrat	Schutzgruppe	Abkürzung	Abspaltung
R-NH ₂		Boc	sauer
R-NH ₂		R ¹ = H: Z, Cbz R ¹ = OMe: MOZ R ¹ = NO ₂ : 4-NO ₂ -Z	Hydrierung/sauer
R-NH ₂		Fmoc	basisch
R-NH ₂		TFA	basisch
R-OH		R ¹ , R ² , R ³ = Me: TMS R ¹ , R ² , R ³ = <i>i</i> Pr: TIPS R ¹ = <i>t</i> Bu, R ² , R ³ = Me: TBDMS R ¹ = <i>t</i> Bu, R ² , R ³ = Ph: TBDPS	Fluorid, schwach bis stark sauer
R-OH		Ac	basisch
R-OH		THP	schwach sauer
R-OH		MOM	sauer
R-OH		MEM	sauer
R ¹ R ²		1,3-Dioxan-	sauer
HO(CH ₂) _n OH		Isopropyliden-	sauer

Abbildung 2-1 Übersicht Schutzgruppen.^[3,14]

Ist eine längere Synthesesequenz geplant, so ist die richtige Schutzgruppenstrategie extrem wichtig. Meist ist es nötig, eine funktionelle Gruppe, beispielsweise einen Alkohol, in Gegenwart eines anderen Alkohols zu schützen oder zu entschützen, um einen der beiden selektiv umzusetzen, zum Beispiel in einer Oxidationsreaktion. Die verwendeten Schutzgruppen müssen demnach orthogonal zueinander sein. Der Begriff der Orthogonalität wurde 1977 von Barany und Merrifield in Bezug auf die Festphasensynthese eingeführt.^[15] Eine Schutzgruppe ist orthogonal zu einer anderen, wenn beide unter verschiedenen Bedingungen gespalten werden können und beide jeweils während der Abspaltung der anderen stabil sind. Eine orthogonale Schützung zweier Amine gelingt zum Beispiel durch die Schützung mit Boc und Fmoc. Die Boc-Schutzgruppe wird sauer abgespalten, sie ist unter basischen Bedingungen stabil, während Fmoc im schwach basischen abspaltbar ist und im Sauren stabil. Die orthogonale Schützung findet weit verbreitete Anwendung in der Totalsynthese, aber auch in der Festphasensynthese von Peptiden oder Oligonucleotiden.^[16] Hier werden beispielsweise säurelabile Linker und säurelabile Seitenkettenschutzgruppen verwendet (z.B. Boc). Orthogonal dazu werden die einzelnen Aminosäuren am Aminoterminus basenlabil geschützt (z.B. Fmoc).^[17]

Neben den in Abbildung 2-1 dargestellten gibt es auch Schutzgruppen, die unter anderen Bedingungen abspaltbar sind, diese sind aber eher exotisch und finden seltener Verwendung. Es gibt oxidationslabile, enzymlabile oder auch sogenannte *Safety-Catch*-Schutzgruppen. Diese sind stabil und müssen erst „aktiviert“ werden, zum Beispiel durch Oxidation oder Methylierung, bevor sie abgespalten werden können.^[14]

Einer Art Schutzgruppe bedient sich auch das Konzept der *Prodrugs*, welches in der Pharmazie breite Anwendung findet. *Prodrugs* sind Wirkstoffe, die so modifiziert wurden, dass sie erst nach enzymatischer oder chemischer Aktivierung *in vivo* den eigentlichen Wirkstoff freisetzen. Dies wird in der Regel angewendet, um den aktiven Wirkstoff so zu verändern, dass er beispielsweise wasserlöslicher, membrangängiger oder lipophiler wird. Seine biopharmazeutischen und pharmakokinetischen Eigenschaften sollen damit zu Gunsten der Bioverfügbarkeit beeinflusst werden, den *First-Pass-Effekt*¹ verringern oder den Wirkstoff befähigen, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden.^[18] In Abbildung 2-2 ist das *Prodrug*-Konzept schematisch dargestellt, die Barriere steht für eine tatsächliche Barriere, zum Beispiel in Form einer Membran, oder im übertragenen Sinne für eine schlechte Bioverfügbarkeit. Zusätzlich sind in Abbildung 2-3 einige Beispiele für *Prodrug*-Wirkstoffe und ihre Aktivierungsenzyme aufgeführt.

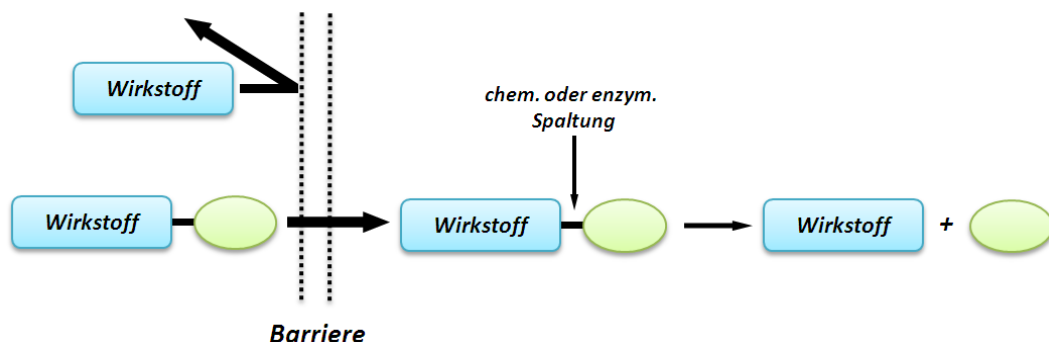


Abbildung 2-2 Konzept der *Prodrugs*.^[18]

¹ Bei peroraler Aufnahme von Arzneistoffen gelangen diese über den Darm in den Blutkreislauf und dann durch die Pfortader in die Leber, wo sie dem Metabolismus ausgesetzt sind, bevor sie weiter im Körper verteilt werden.

2. Kenntnisstand

Freisetzung durch:

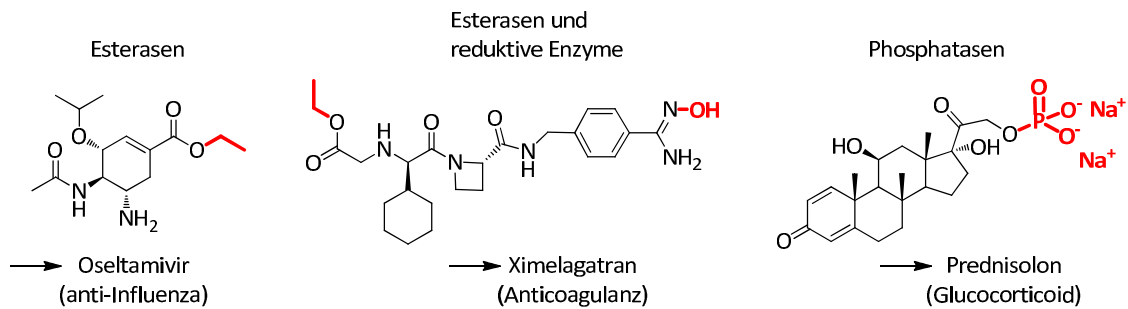


Abbildung 2-3 Beispiele für *Prodrug*-Arzneistoffe.^[18]

Eine weitere Möglichkeit, Wirkstoffe zu inaktivieren und sie erst *in vivo* in ihre aktive Form umzuwandeln, stellt die Anknüpfung einer photolabilen Schutzgruppe dar. Im Jahre 1966 entwickelten BARLTROP *et al.* eine Schutzgruppe, die sich durch Belichtung abspalten lässt.^[19] Dabei nimmt der photoaktive Teil der Schutzgruppe die Energie des eingestrahnten Photons auf und kann die Schutzgruppe nun auf verschiedenen Wegen, d.h. über verschiedene Mechanismen, abspalten.^[20] Die Photolabilität hat einige Vorteile, denn die photolabilen Schutzgruppen sind zu allen anderen Schutzgruppen, die sich durch chemische Reaktionen abspalten lassen, orthogonal. Außerdem ist die Verwendung einer photolabilen Schutzgruppe bei Abspaltung mit relativ energiearmer Wellenlänge sehr schonend für das Substratmolekül, sodass unerwünschte Nebenreaktionen verhindert werden können. Aus diesem Grund ist auch die Verwendung photolabiler Schutzgruppen unter *in vitro*- bzw. *in vivo*-Bedingungen möglich. Photonen sind das einzige „Abspaltungsreagenz“, das die Zellen durchdringen kann, ohne großen Schaden anzurichten.^[21] Eine *Prodrug* kann demnach nicht nur durch enzymatische Modifikation, sondern auch durch Licht in die aktive Verbindung umgewandelt werden.

Eines der prominentesten und ältesten Beispiele für die biologische Anwendung photolabiler Schutzgruppen ist *caged-ATP* (Abbildung 2-4). Bereits im Jahr 1978 beschrieben KAPLAN *et al.* die Synthese von photolabil geschütztem ATP (P^3 -1-(2-Nitro)phenylethyladenosin-5'-triphosphat),^[22] dessen Reaktionskinetik der Belichtung im Jahr 1980 von TRENTHAM *et al.* aufgeklärt wurde.^[23] Dies geschah über die Verfolgung der ATP-induzierten Dissoziation von Actomyosin, einer Reaktion, deren Kinetik bereits bekannt war. Doch nicht nur kleine Moleküle wie ATP, auch Peptide und andere Verbindungen können so modifiziert werden, dass sie bei Belichtung freigesetzt werden. Kapitel 2.3 (Photolabile Wirkstoffe) beschäftigt sich ausführlich mit dieser Thematik. Zunächst soll jedoch detailliert auf die verschiedenen photolabilen Schutzgruppen und ihre Abspaltungsmechanismen eingegangen werden.

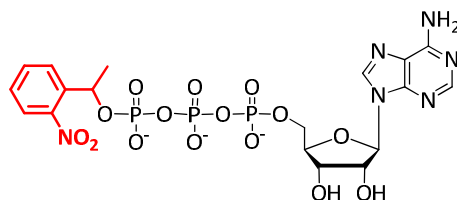
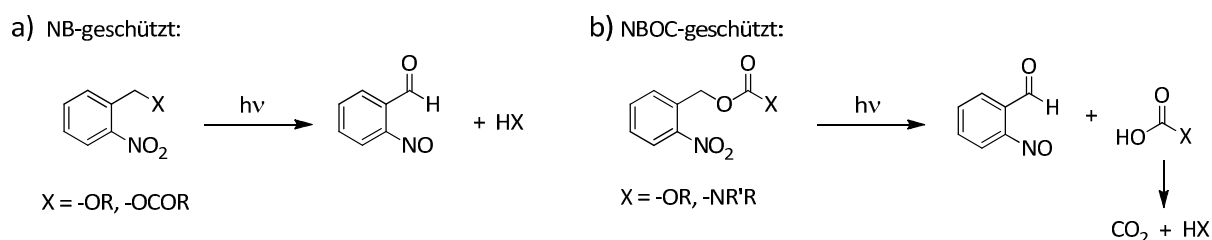


Abbildung 2-4 Struktur photolabil geschütztes ATP (*caged-ATP*, rot: photolabile Schutzgruppe).^[22]

2.2 Photolabile Schutzgruppen

2.2.1 *o*-Nitrobenzyl-basierte Schutzgruppen

Eine große Gruppe innerhalb der photolabilen Schutzgruppen setzt sich aus den *o*-Nitrobenzyl-(NB)-basierten Schutzgruppen zusammen. Mit deren Hilfe ist es möglich, viele verschiedene funktionelle Gruppen photolabil zu schützen. Säuren können als *o*-Nitrobenzylester (NB-Ester) geschützt werden, Alkohole als NB-Ether (Schema 2-1, a). Alkohole können aber auch als Carbonate mit der NB-Schutzgruppe verknüpft werden, Amine entsprechend als Carbamate (Schema 2-1, b). In dem Fall spricht man von NBOC-geschützten Alkoholen bzw. Aminen. Bei der Photolyse der NB-geschützten Verbindungen wird neben dem geschützten Substrat (HX) das Photoprodukt der Schutzgruppe frei, ein *o*-Nitrosobenzaldehyd. Im Fall der NBOC-geschützten Substrate entsteht zusätzlich ein Äquivalent CO₂, denn das Primärprodukt der Schutzgruppe nach Photolyse ist ein Kohlensäuremonoester bzw. -amid. Beide sind instabil und zerfallen spontan zu CO₂ und dem Alkohol bzw. dem Amin.^[4]



Schema 2-1 *o*-Nitrobenzyl-geschützte Substrate: a) Alkohol/Säure geschützt als Ether/Ester (NB-Schutzgruppe), b) Alkohol/Amin geschützt als Carbonat/Carbamat (NBOC-Schutzgruppe).^[4]

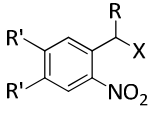
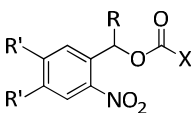
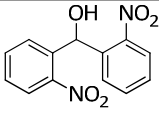
In der Literatur wurden die ersten *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen bereits in den 60er und 70er Jahren beschrieben.^[4,19,24] Mittlerweile sind eine ganze Reihe an NB(OC)-basierten Schutzgruppen bekannt, einige davon sind in Tabelle 2-1 aufgeführt. Sie unterscheiden sich in der Benzylposition, die entweder unsubstituiert oder methyliert ist (R), sowie in ihren aromatischen Substituenten (R'). Ist die Benzylposition methyliert, so entsteht als Nebenprodukt kein *o*-Nitrosobenzaldehyd-Derivat, sondern das entsprechende Keton.^[4]

Die Substituenten am Aromaten haben Einfluss auf die photochemischen Eigenschaften der Schutzgruppe. So kann zum Beispiel das Absorptionsmaximum der NB-Schutzgruppe zu längeren Wellenlängen hin verschoben werden, indem elektronenschiebende Substituenten an den Aromaten angebracht werden (vgl. Abbildung 2-5).^[20,25] Gleichzeitig erhöht sich der Absorptionskoeffizient der Schutzgruppe, während die Quantenausbeute sinkt, was eine Abspaltung der Schutzgruppe einerseits erleichtern und andererseits erschweren kann. Auf diese Aspekte soll später im Zusammenhang mit den mechanistischen Betrachtungen genauer eingegangen werden. Auch *meta*- und *para*-Nitro-substituierte photolabile Schutzgruppen wurden beschrieben (YATES *et al.*, 1986^[26]), reagieren allerdings nach einem anderen Mechanismus als *o*-Nitroverbindungen und finden präparativ fast keine Anwendung. Daher soll hier nicht näher darauf eingegangen werden.

Das Absorptionsmaximum einer Schutzgruppe entspricht der Wellenlänge, bei der diese später am effizientesten abgespalten werden kann. Daher ist ein Absorptionsmaximum im Bereich des nahen UV erstrebenswert, denn bei Anwendung der Schutzgruppe in einem biologischen System muss die eingestrahlte Wellenlänge so energiearm sein, dass sie keine Schäden in den Zellen anrichten kann. Mögliche DNA-Schäden können zum Beispiel durch strahlungsinduzierte Basendimerisierung erzeugt werden.^[27]

2. Kenntnisstand

Tabelle 2-1 Photolabile Schutzgruppen mit *o*-Nitrobenzyl-Grundstruktur.^[28]

Struktur	R	R'	Name	Abkürzung
	H	H	<i>o</i> -Nitrobenzyl	NB
	Me	H	<i>o</i> -Nitrophenylethyl	NPE
	H	H	<i>o</i> -Nitrobenzyloxycarbonyl	NBOC
	H	OMe	6-Nitroveratryloxycarbonyl	NVOC
	Me	OMe	4,5-Dimethoxy-2-nitrophenylethyloxycarbonyl	DMNPEOC
	Me	-OCH ₂ -	α -Methyl-6-nitropiperonyloxycarbonyl	MeNPOC
			2,2'-Dinitrobenzhydrol	DNB

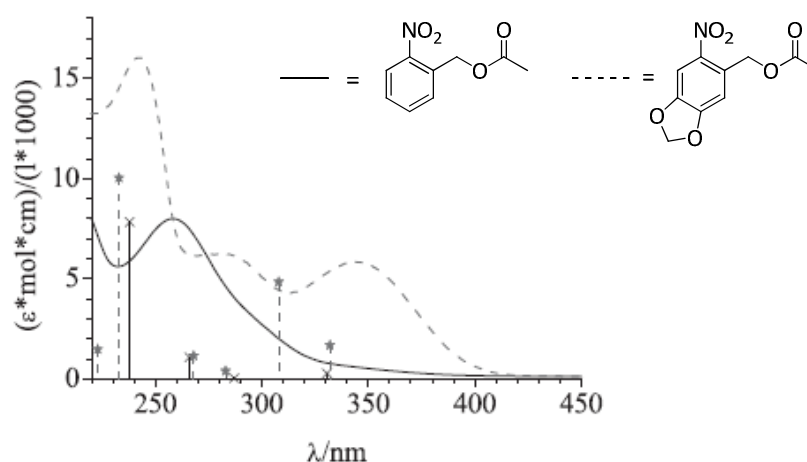
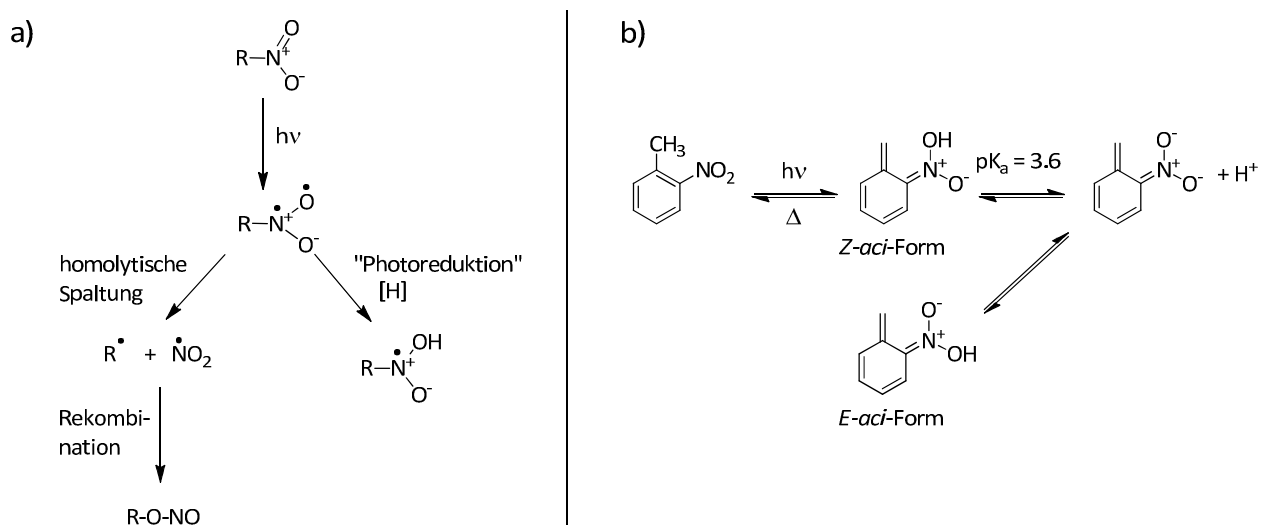


Abbildung 2-5 Absorptionsspektren von AcONB (—) und AcOMeNP (- - -).^[29]

a) Mechanismus der Photospaltung *o*-NB-basierter Schutzgruppen

Einfache Nitroalkane absorbieren in der Regel Licht im Bereich bis 350 nm und bilden ein Diradikal aus, wie in Schema 2-2 (a) dargestellt. Es gibt nun zwei mögliche Reaktionswege, wie diese Diradikale weiterreagieren können. Die *C-N*-Bindung kann homolytisch gespalten werden, was zur Bildung eines Alkylradikals führt. Dieses kann mit dem ebenfalls freigewordenen Nitrylradikal zu einem Nitrit rekombinieren.^[30] Ist ein Wasserstoffatom-Donor vorhanden, kann auch ein *H*-Atom abstrahiert werden (radikalisch), was zur Reduktion der Nitrogruppe führt (Schema 2-2, a).^[1] Aryl-Nitroverbindungen absorbieren ebenfalls im nahen UV und können auf dieselbe Art und Weise „photoreduziert“ werden.^[30] Es gibt Beispiele, bei denen die Abstraktion des Wasserstoffatoms intermolekular stattfindet, besonders günstig ist es jedoch, wenn das *H*-Atom in γ -Position zur Nitrogruppe steht, da in dem Fall ein sechsgliedriger Übergangszustand vorliegt.^[1]

Die intramolekulare Photoreduktion der Nitrogruppe in *o*-Nitrobenzylderivaten ist eine der meist untersuchten photochemischen Reaktionen.^[28] Die photochemische Anregung der einfachsten *o*-Nitrobenzylverbindung, *o*-Nitrotoluol, führt nach *H*-Atom-Transfer zu der *Z-aci*-Nitro-Form, wie in Schema 2-2 (b) gezeigt. Durch Deprotonierung entsteht das entsprechende Anion, welches nach Reprotonierung sowohl die *Z*- als auch die *E*-Form der *aci*-Nitro-Verbindung bilden kann.^[31] Die beiden Isomere stehen also im Gleichgewicht miteinander und die Isomerisierung ist pH-abhängig. Dieser Sachverhalt spielt beim Reaktionsmechanismus der NB-Schutzgruppenabspaltung später eine wichtige Rolle. Durch detaillierte Untersuchungen mit Hilfe von sogenannten „*pH-rate profiles*“ konnte die Säurekonstante der *E/Z*-Isomerenmischung ermittelt werden ($pK_a = 3.57 \pm 0.02$).^[8] Die Quantenausbeute² dieser Reaktion ist mit $\Phi = 0.01\text{--}0.08$, abhängig vom Lösungsmittel, sehr gering, das heißt die Reaktion ist ineffizient und das Gleichgewicht liegt auf der Seite der Ausgangsverbindung.^[8,32]

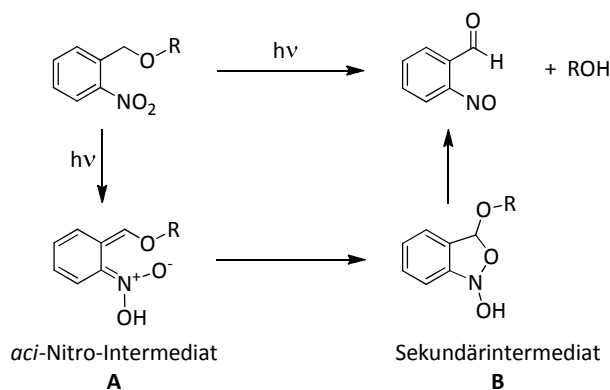


Schema 2-2 a) Mögliche Reaktionswege nach photochemischer Anregung einer Nitrogruppe,^[1]
 b) Bildung eines Isomeregemischs (*E/Z-aci*-Nitroderivat) aus *o*-Nitrotoluol durch photochemische Anregung.^[31]

Erste Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus der Photospaltung *o*-Nitrobenzyl-geschützter Verbindungen wurden bereits in den 70er Jahren angestellt.^[4] Mittlerweile ist der Mechanismus weitgehend aufgeklärt worden und alle wichtigen photochemischen Vorgänge sind detailliert beschrieben.^[8,31,32] Vereinfacht man die mechanistischen Betrachtungen auf wenige Zwischenstufen, so läuft die Reaktion wie in Schema 2-3 gezeigt ab. Aus dem *o*-Nitrobenzylderivat bildet sich nach Anregung durch Photonen ein *aci*-Nitro-Intermediat (**A**), welches zum cyclischen Sekundärintermediat **B** weiterreagiert. Die Öffnung des Rings setzt das vormals geschützte Substrat (ROH) frei und es bildet sich das Photospaltprodukt *o*-Nitrosobenzaldehyd.^[20] Formal wurde während der Reaktion die Nitrogruppe reduziert und die Benzylposition oxidiert. Es wurden aber auch andere Nebenprodukte, beispielsweise durch Dimerisierung zweier Nitroso-Funktionen, beobachtet.^[25]

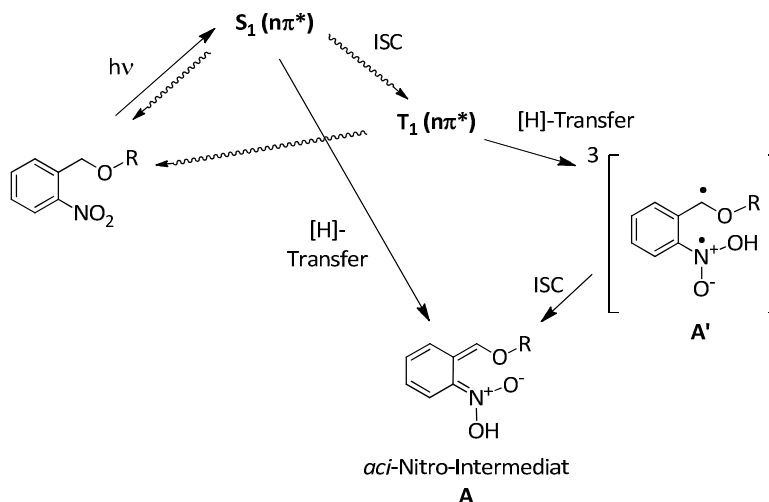
² Die Quantenausbeute Φ beschreibt den Quotienten aus absorbierten Photonen und der Zahl der umgesetzten Moleküle. Führen alle absorbierten Photonen zu einer Photoreaktion, ist die Quantenausbeute $\Phi = 1$, also 100 %, findet gar keine Reaktion statt, ist die Quantenausbeute $\Phi = 0$.

2. Kenntnisstand



Schema 2-3 Vereinfachter Reaktionsmechanismus der Photospaltung *o*-Nitrobenzyl-geschützter Substrate.^[20]

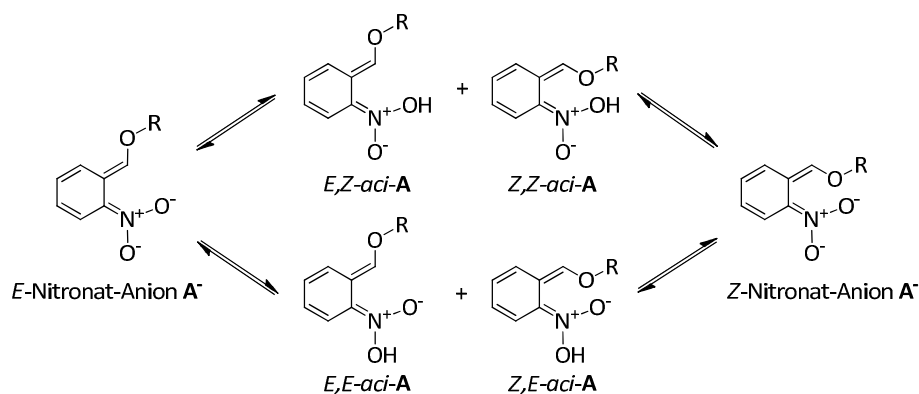
Um die photolabile NB-Schutzgruppe und ihre Derivate jedoch nicht nur in der organischen Synthese, sondern auch in physiologischen Experimenten anwenden zu können, bei denen beispielsweise zeitaufgelöste Studien betrieben werden, war es nötig, den Mechanismus genauer zu untersuchen und unter anderem den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Reaktion zu ermitteln. In Schema 2-4 ist die Anregung der *o*-Nitrobenzyl-Verbindung bis zur Bildung des *aci*-Nitro-Intermediats **A** dargestellt.^[33] Die Aufnahme eines Photons ($h\nu$) versetzt die Ausgangsverbindung zunächst in einen angeregten Singulettzustand (S_1), der sich durch *Inter-System-Crossing* (ISC) in den Triplettzustand T_1 umwandeln kann. Dieser setzt sich mittels *H*-Atom-Transfer in ein Diradikal **A'** um, welches dann nach Rekombination und weiterem ISC zum *aci*-Nitro-Intermediat (**A**) führt. Daneben ist es auch möglich, dass sich aus dem angeregten Singulettzustand S_1 auf direktem Weg, ohne den Umweg über den Triplettzustand, das *aci*-Nitro-Intermediat **A** bildet.^[1] Welcher der beiden Reaktionswege eingeschlagen wird, ist nicht eindeutig und konnte bislang nicht aufgeklärt werden.^[34,35]



Schema 2-4 Photochemische Anregung über Singulett- und Triplett-Zustand, Bildung des *aci*-Nitro-Intermediats **A**.^[31,33]

Ein für die Bildung des cyclischen Sekundärintermediats **B** (vgl. Schema 2-3) essentieller Aspekt ist die Isomerisierung der *aci*-Nitro-Verbindung **A**. Beide exocyclischen Doppelbindungen können prinzipiell in der *E*- und der *Z*-Form vorliegen. Bei der Übertragung des Wasserstoffatoms, was zur Bildung des *aci*-Nitro-Intermediats **A** führt, entsteht zunächst ausschließlich das *Z*-Isomere der Nitronsäure. Die exocyclische *C-C*-Doppelbindung kann sowohl in der *E*- als auch in der *Z*-Form vorliegen, sodass also *E,Z-aci-A* und *Z,Z-aci-A* vorliegen können (vgl. Schema 2-5). Bisher ist ungeklärt,

welches der beiden C-C-Doppelbindungsisomere bevorzugt gebildet wird. Obwohl zu vermuten ist, dass das *Z*-Isomere aufgrund der verdrehten Struktur reaktiver sein sollte, wurde für das *E*-Isomere eine geringere Energiebarriere für die folgende Cyclisierung berechnet (*E,E-aci-1* (8.4 kcal/mol) und *Z,E-aci-1* (10.3 kcal/mol)).^[31] Als gesichert gilt mittlerweile die Erkenntnis, dass sich die *Z*-Nitronsäure über das entsprechende Nitronat-Anion (vgl. Schema 2-5) in die *E*-Form umwandelt, und zwar im Nanosekundenbereich.^[8] Die Deprotonierung läuft mit einer Geschwindigkeit von $2.7 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ in Wasser ab, was einem pK_a -Wert ≈ 4.0 entspricht, ähnlich dem der *aci*-Nitro-Form des *o*-Nitrotoluols (pK_a -Wert ≈ 3.6). Die *E*-Form der Nitronsäure ist wenige kcal/mol energetisch günstiger, sodass davon ausgegangen werden kann, dass sich das Gleichgewicht sehr schnell einstellt, also nicht geschwindigkeitsbestimmend ist, und auf der Seite des *E*-Isomeren liegt.^[31] Die Verwendung von Puffersystemen oder die Zugabe einer Base beschleunigen außerdem die Einstellung des Gleichgewichts. Am Ende liegen also *E,E-aci-A* und *Z,E-aci-A* in der Reaktionsmischung vor. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Untersuchungen zur Isomerisierung der *aci*-Nitro-Formen von *o*-Nitrotoluol nach photochemischer Anregung (vgl. Schema 2-2, b).

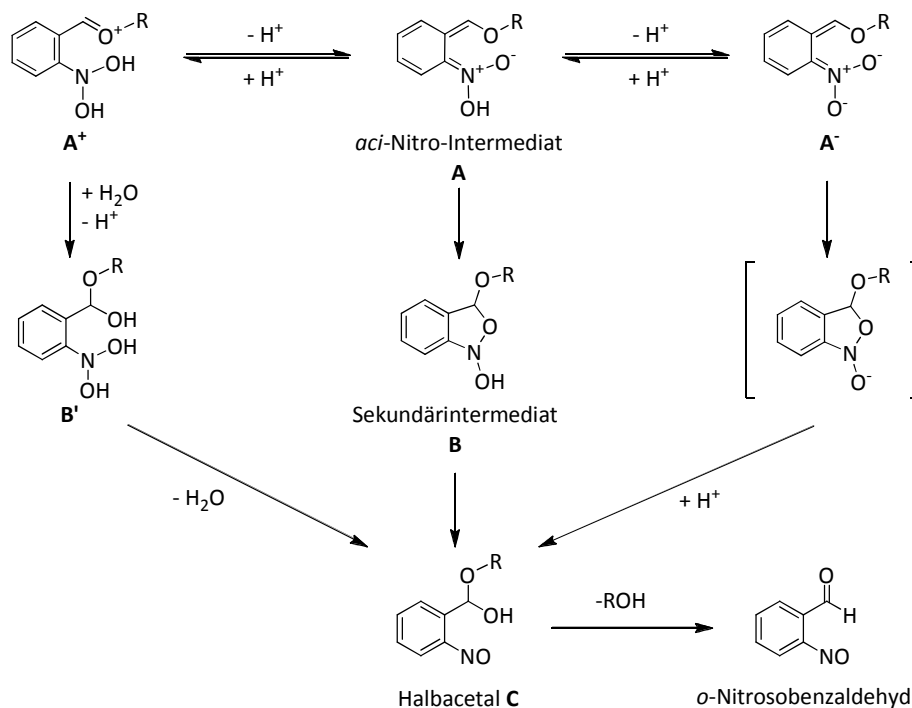


Schema 2-5 *E/Z*-Isomere des *aci*-Nitro-Intermediats **A**.^[31]

Nach Bildung des *aci*-Nitro-Intermediats **A** folgt die Cyclisierung zum Sekundärintermediat **B** und dessen Ringöffnung zum Halbacetal **C**. Dieses zerfällt schließlich in das vormals geschützte Substrat (ROH) und das Photospaltprodukt *o*-Nitrosobenzaldehyd. Schema 2-6 zeigt Intermediat **A** in der für die Bildung des Fünfrings nötigen *E*-Form, bezogen auf die Nitronsäure. Die Isomerisierung läuft, wie bereits im letzten Abschnitt beschrieben, über das Nitronat (\mathbf{A}^-) ab. Lange Zeit wurde vermutet, dass die anionische Form des *aci*-Nitro-Intermediats, \mathbf{A}^- , für die Bildung des Halbacetals verantwortlich ist. Diese würde ebenfalls über ein Fünfring-Intermediat analog zu **B** ablaufen, hier in eckigen Klammern dargestellt.^[31] Diese Annahme wurde eindeutig widerlegt, was im Einklang mit zuvor erzielten Ergebnissen steht, die aussagen, dass der Zerfall des *aci*-Nitro-Intermediats unter Säurekatalyse begünstigt wird.^[8] Stattdessen konnte gezeigt werden, dass die Zerfallsraten der *aci*-Nitro-Intermediate bei pH-Werten < 4 nicht konstant bleiben, wie bei dem errechneten pK_a -Wert erwartet, sondern weiter steigen. Dies war Anlass zu der Annahme, dass das *aci*-Nitro-Intermediat **A** nicht nur als Säure, sondern auch als Base fungieren kann und im Gleichgewicht mit der protonierten Form \mathbf{A}^+ vorliegt (pK_a -Wert < -3). Addition von einem Äquivalent Wasser führt zum Intermediat **B'**, einem Halbacetal, welches schließlich zum Halbacetal **C** dehydratisieren kann. Dies tritt allerdings nur bei extrem geringen pH-Werten auf und kann für die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten vernachlässigt werden.^[31] Eine zwischenzeitlich erstellte Theorie von CORRIE *et al.*,^[36] die besagte, dass das cyclische Intermediat **B** umgangen werden kann, wurde mittlerweile widerlegt. Für detailliertere Informationen sei auf die Arbeit von WIRZ *et al.* (JACS, 2004) und einen aktuellen Übersichtsartikel aus dem Jahr 2013 von denselben Autoren verwiesen.^[8,31]

2. Kenntnisstand

Es sollte noch angemerkt werden, dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt mit großer Wahrscheinlichkeit der Zerfall des Halbacetals **C** ist, wobei dies wiederum von der Qualität der Abgangsgruppe und dem pH-Wert des Reaktionsmediums abhängt. Außerdem ist zu erwähnen, dass Puffersysteme zur Kontrolle des pH-Werts einerseits günstig sind, jedoch unter Umständen die Isomerisierung der *aci*-Nitro-Verbindung **A** beeinflussen, was sich ebenfalls geschwindigkeitsbestimmend auswirken kann.^[31]



Schema 2-6 Reaktionswege des *aci*-Nitro-Intermediats **A** in Abhängigkeit vom pH-Wert.^[8,31,37]

b) NPE-basierte photolabile Schutzgruppen

Innerhalb der *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen gibt es eine strukturell verwandte Gruppe: die NPE-Schutzgruppe und deren Derivate. Ihre Grundstruktur sind in Abbildung 2-6 (links) dargestellt und unterscheidet sich von der Struktur der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen lediglich in der Verlängerung der Benzyl-Position um eine CH_2 -Einheit. Wird die Benzyl-Position zusätzlich um einen Methyl-Substituenten erweitert, so erhält man das NPP-Derivat (Abbildung 2-6, rechts). Beide Schutzgruppen können, ganz analog zu den *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen, sowohl als Ether/Ester mit dem zu schützenden Substrat (NPE/NPP, $\text{X} = -\text{OR}$, $-\text{OCOR}$) oder über ein Carbonat oder Carbamat (NPEOC/NPPOC, $\text{X} = -\text{OR}$, $-\text{NR}'\text{R}$) verknüpft sein.^[8] Zu erwähnen ist, dass es bei den Abkürzungen für die gängigsten Schutzgruppen zu Überschneidungen kommen kann, also nicht jede Abkürzung eindeutig sein muss (z.B. NPE: 2-(2-Nitrophenylethyl) oder *o*-Nitrophenylethyl, vgl. Tabelle 2-1).

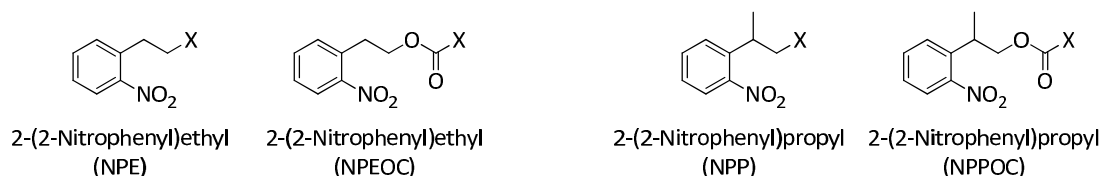


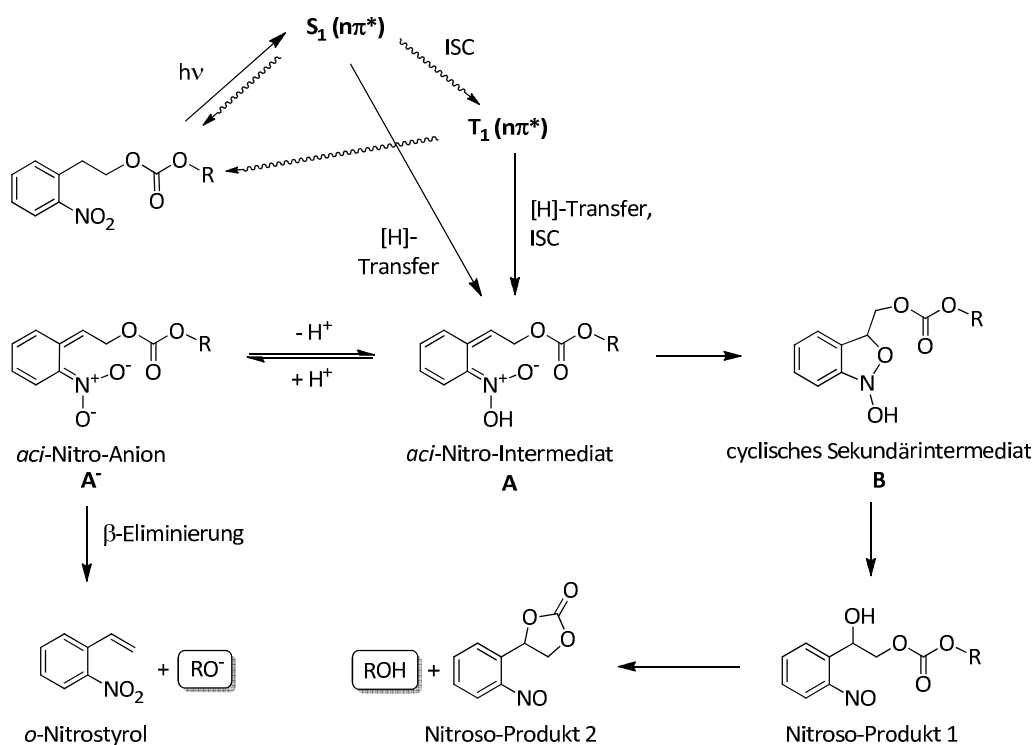
Abbildung 2-6 Strukturen der *o*-Nitrobenzyl-ähnlichen Schutzgruppen NPE(OC) und NPP(OC).^[8]

Ein entscheidender Unterschied im Vergleich zu den *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen liegt im Abspaltungsmechanismus. Während die NB-Derivate nach Belichtung zu einem *o*-Nitrosobenzaldehyd führen, besteht bei den NPE-Schutzgruppen die Möglichkeit der β -Eliminierung zu einem Styrol-Derivat. Schema 2-7 zeigt den Reaktionsmechanismus für die NPE-basierten Schutzgruppen am Beispiel eines geschützten Alkohols. Die photochemische Anregung über Singulett- oder Triplettzustand und die Bildung des *aci*-Nitro-Intermediats **A** verläuft analog zur Anregung der NB-Schutzgruppen (vgl. Schema 2-4). Die *aci*-Nitro-Verbindung **A** kann jedoch auf zwei Arten weiterreagieren. Bei niedrigem pH-Wert bildet sich in Analogie zum bereits erläuterten NB-Mechanismus das cyclische Sekundärintermediat **B**, welches sich durch anschließende Ringöffnung zum Nitroso-Produkt 1 umsetzt (Schema 2-7, rechter Reaktionspfad). Im hier dargestellten Fall handelt es sich dabei um ein α -Hydroxycarbonat, dieses kann unter Freisetzung des geschützten Alkohols (ROH) zu einem cyclischen Carbonat abreagieren, dem Nitroso-Produkt 2. Für NPE-geschützte Verbindungen bleibt dieser Reaktionsweg auf der Stufe der Nitroso-Verbindung 1 stehen, da kein cyclisches Carbonat gebildet werden kann und das geschützte Substrat, in der Regel eine Säure oder ein Alkohol, wird demnach nicht freigesetzt.^[33,38]

Der Unterschied zum Mechanismus der NB-Abspaltung findet sich in Schema 2-7 im links dargestellten Reaktionsweg wieder. Unter neutralen oder basischen Bedingungen wird das *aci*-Nitro-Intermediat **A** zum entsprechenden *aci*-Nitro-Anion **A**⁻ deprotoniert. Bei den NB-Schutzgruppen dient die Deprotonierung zu **A**⁻ lediglich der Isomerisierung der Doppelbindung der Nitronsäure (vgl. Schema 2-4 und Schema 2-6), das Anion selbst konnte allerdings nicht weiterreagieren. Dies gestaltet sich im Fall der NPE(OC)-Schutzgruppen etwas anders. Das *aci*-Nitro-Anion **A**⁻ kann in β -Position, bezogen auf den Aromaten, ein Proton eliminieren und es bildet sich somit ein *o*-Nitrostyrol. Die β -Eliminierung führt also zu einem alternativen Spaltprodukt, setzt aber ebenfalls das geschützte Substrat, hier RO⁻, frei.^[33]

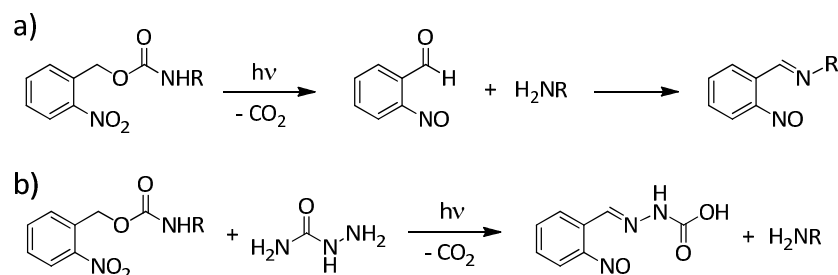
Die Steuerung β -Eliminierung/Nitroso-Produkt sollte demnach über die Einstellung des pH-Werts möglich sein. Niedrige pH-Werte führen zu den Nitroso-Verbindungen, wobei dies in der Regel die zu unterdrückende Reaktion ist, da nur NPEOC- und nicht NPE-geschützte Substrate freigesetzt werden können. Höhere pH-Werte, also neutrale oder leicht basische Bedingungen, führen zur β -Eliminierung und Freisetzung der Substrate. PFLEIDERER *et al.* beobachteten außerdem die Bildung unidentifizierter Nebenprodukte, wahrscheinlich durch alternative Reaktionen der *aci*-Nitro-Verbindung **A**.^[33]

2. Kenntnisstand



Schema 2-7 Reaktionsmechanismus der Abspaltung der NPEOC-Schutzgruppe.^[33,38]

Ein Vorteil der NPE-basierten Schutzgruppen ist neben einer höheren Quantenausbeute^[8] die geringere Toxizität des Photospaltprodukts (*o*-Nitrostyrol) im Vergleich zum Nitroso-Produkt, welches bei der Belichtung von NB-Schutzgruppen entsteht. Für den Einsatz in biologischen Systemen ist dies ein entscheidender Vorteil, da die extrem reaktive Nitroso-Verbindung in einer Zelle unter physiologischen Bedingungen großen Schaden anrichten kann und damit Messergebnisse erheblich beeinflusst.^[21] Ein weiterer Vorteil gegenüber den NB-Schutzgruppen zeigt sich bei der Entschützung von Aminen. Im Fall von α -unsubstituierten NB-Schutzgruppen kann ein freigesetztes Amin mit der Aldehydfunktion des *o*-Nitrosobenzaldehyds ein Imin bilden. Dieses ist sehr stabil und seine Bildung verringert die Ausbeute an Amin meist sehr stark. Dies kann unterdrückt werden, indem ein Scavenger wie beispielsweise Semicarbazid-Hydrochlorid zugegeben wird, der den Aldehyd abfängt und so die Iminbildung verhindert (vgl. Schema 2-8).^[20] Ein Beispiel hierfür ist die NVOC-Entschützung von (*L*)-Valin, die bei einer Wellenlänge von 320 nm ohne Zusatz eines Scavengers eine Ausbeute von 42 % lieferte. Wurde Semicarbazid-Hydrochlorid zugegeben, so konnte (*L*)-Valin quantitativ isoliert werden.^[24] Die Iminbildung als Nebenreaktion kann nur bei Abspaltung der NB-Schutzgruppen auftreten, da bei Photospaltung der NPE-basierten Schutzgruppen ein Styrolerivat entsteht.



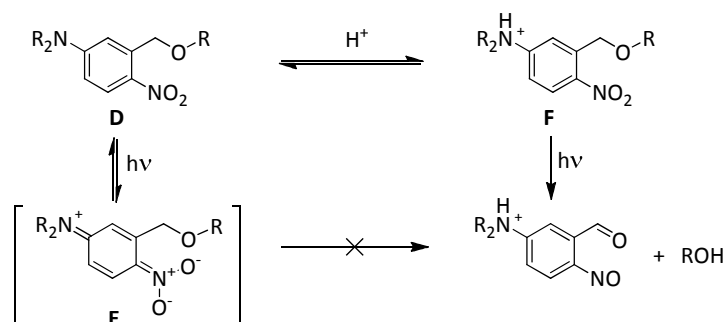
Schema 2-8 a) Iminbildung bei der NB-Entschützung von Aminen und b) Einsatz eines Scavengers.^[20]

c) Weiterführende Aspekte

Mit Blick auf die in den vorherigen Abschnitten vorgestellten Reaktionsmechanismen wird klar, dass eine erfolgreiche Abspaltung einer photolabilen Schutzgruppe grundsätzlich von mehreren Faktoren abhängt. Neben der Wahl des Lösungsmittels und der eventuellen Zugabe eines Puffersystems ist der Wahl der Lichtquelle (Quecksilberdampfampe, Xenon-Blitzlichtapparat, Laser ect.) wichtig. Einstrahlungsdauer und die Wahl der Wellenlänge, bei der belichtet wird, müssen auf die photochemischen Eigenschaften, wie beispielsweise das Absorptionsmaximum der Schutzgruppe, abgestimmt werden. Ein wichtiger Parameter, der die Lichtempfindlichkeit beschreibt, ist das Produkt aus ϵ und Φ , wobei ϵ den Absorptionskoeffizienten der Schutzgruppe und Φ die Quantenausbeute darstellt. Um die Lichtempfindlichkeit und somit die Effizienz einer photolabilen Schutzgruppe zu erhöhen, ist es also nötig, ϵ oder Φ zu erhöhen. Die Quantenausbeute konnte beispielsweise erhöht werden, indem eine weitere Nitrofunktionalität in der zweiten *o*-Position des Aromaten eingefügt wurde ($\Phi = 0.62$ statt $\Phi = 0.13$ für die Freisetzung von Amin).^[39]

Eine Erhöhung des Absorptionskoeffizienten und gleichzeitige bathochrome, also zu längeren Wellenlängen gerichtete, Verschiebung des Absorptionsmaximums kann durch die Substitution des Nitroaromaten mit elektronenschiebenden Gruppen erreicht werden.^[8] Dabei ist jedoch zu beachten, dass sich bei der Modifikation des Aromaten durch elektronenschiebende Substituenten auch der Reaktionsmechanismus leicht ändert. Dies wurde in den letzten Jahren von SCHAPER *et al.* untersucht.^[29,40] Sie konnten durch *transient*-UV/Vis-Spektroskopie und theoretische Studien belegen, dass sich bei Dimethoxy-substituierten NB-Schutzgruppen ein relativ stabiler Triplett-Zustand bildet, der nicht zur Produktbildung führt. Als Grund wird eine erhebliche Änderung der Oszillatorstärke der entsprechenden Zustandsübergänge angeführt. Im energetisch niedrigsten Triplettzustand liegt demnach ein *charge-transfer*-Zustand vor, der unreaktiv ist. Ihre Theorie besagt, dass es daher nicht möglich sein wird, neue *o*-Nitrobenzyl-basierte Schutzgruppen zu entwickeln, die ein Absorptionsmaximum bei noch höheren Wellenlängen besitzen.^[29]

Es gibt Versuche, den *charge-transfer*-Zustand auszunutzen, um eine Art „photolabile *safety-catch*-Schutzgruppe“ zu entwickeln. Eine solche Schutzgruppe wurde erstmals im Jahr 2007 von BOCHET *et al.* beschrieben.^[41] Sie basiert auf der Grundstruktur der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe, hat allerdings ein sekundäres Amin als aromatischen Substituenten (Schema 2-9). Bei photochemischer Anregung einer geschützten Substanz **D** geht die Verbindung in einen Triplettzustand (**E**) über, der so stabil ist, dass er nicht zur Produktbildung führt. Bedingt wird dies durch die Mesomeriestabilisierung desamins. Soll die Schutzgruppe dennoch abgespalten werden, so genügt es, Säure zuzugeben. Das Amin wird dadurch protoniert (**F**) und die Mesomeriestabilisierung wird verhindert. Photolyse führt in dem Fall zur Abspaltung des Produkts (ROH) und Bildung des Nebenprodukts, dem *o*-Nitrosobenzaldehyd-Derivat.^[41]



Schema 2-9 Prinzip einer photolabilen *safety-catch*-Schutzgruppe.^[41]

2. Kenntnisstand

Ein Aspekt, der hier erwähnt werden soll, auf den allerdings nicht näher eingegangen werden soll, ist die Anregung photolabiler Schutzgruppen durch *two-photon-excitation* (2PE, Zweiphotonenanregung).^[8,20,42,43] Statt der Anregung einer Schutzgruppe durch ein Photon gegebener Wellenlänge, meist im UV-Bereich, wird hier die benötigte Energie durch zwei Photonen halber Energie, das heißt doppelter Wellenlänge, übertragen. Dies hat den Vorteil, dass die Anregungswellenlänge im Bereich zwischen 650 und 950 nm liegt, einer optimale Wellenlänge für die Verwendung in biologischen Systemen. Fluoreszenzmessungen werden in der Regel durch diese Wellenlängen nicht beeinflusst. Das Licht dringt zwar noch in die Zellen ein, richtet aber keinen Schaden an, und Wasser absorbiert Licht erst ab einem Wellenlängenbereich von 950 nm. Allerdings sind hohe Dosen an Strahlung nötig, was nur mit dem Einsatz von speziellen Lasern möglich ist.^[8] Ein Vorteil besteht jedoch unter anderem darin, dass die Wahrscheinlichkeit einer *two-photon-excitation* proportional zum Quadrat der lokalen Intensität ist. Das heißt, die Bestrahlungsbedingungen können so gewählt werden, dass Anregung gezielt nur im Fokus des Laserstrahls erfolgt. Damit kann die Bestrahlung nicht nur zielgerichtet in zwei, sondern in drei Dimensionen erfolgen.^[21]

Eine andere Weiterentwicklung der photolablen Schutzgruppen stellt die Verwendung eines intramolekularen *Sensitizers* (Sensibilisators) zur Erhöhung der Quantenausbeute dar. Der Sensibilisator „fängt“ die Photonen ein und überträgt die Energie intramolekular auf die eigentlich anzuregende Molekülregion. Ein Beispiel hierfür lieferten WÖLL *et al.* (vgl. Abbildung 2-7).^[38,44,45,46] Mit Thioxanthon als Sensibilisator konnte beispielsweise eine Verbesserung der Lichtempfindlichkeit um den Faktor 20 bis 140, je nach eingestrahelter Wellenlänge, erreicht werden.

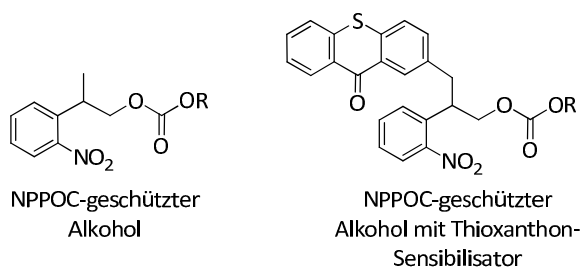
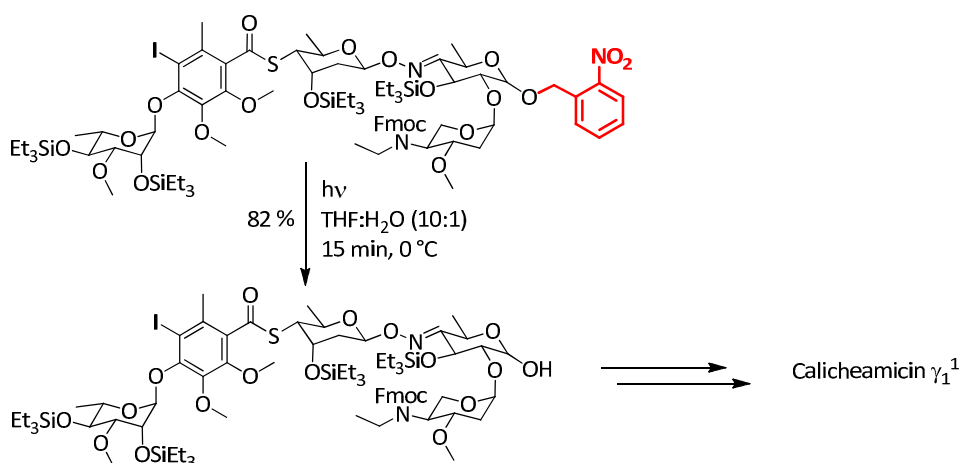


Abbildung 2-7 Thioxanthon als Sensibilisator für photolabile Schutzgruppen.^[44]

Weitere photolabile Schutzgruppen und Beispiele für die Anwendungen der bereits vorgestellten Schutzgruppen werden in den nächsten beiden Kapiteln aufgeführt. Aufgrund der großen Menge an publizierten Ergebnissen konnte in diesem Abschnitt nur auf einige wichtige Aspekte im Bereich der *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen eingegangen werden. Natürlich blieben viele andere Themen zu erwähnen, wie zum Beispiel die Schützung anderer funktioneller Gruppen wie Aldehyde, Ketone oder Silanole.^[47] Auch auf die Untersuchung der Quantenausbeuten und auf einen ausführlichen Vergleich der einzelnen Schutzgruppen wurde verzichtet. Es sei daher auf den aktuellsten Übersichtsartikel von WIRZ *et al.* verwiesen, der viele interessante Informationen und die wichtigsten Aspekte übersichtlich zusammenfasst.^[8]

2.2.2 Beispiele zur Anwendung *o*-Nitrobenzyl-basierter Schutzgruppen

Für die mittlerweile sehr große Zahl an verschiedenen *o*-Nitrobenzyl-basierten photolabilen Schutzgruppen gibt es ebenso viele verschiedene Anwendungen, sei es in der organischen Synthese, der Polymerchemie, der Biochemie, der Physiologie oder anderen Bereichen.^[7,8,48,49] Aus der Fülle an Anwendungsbeispielen seien an dieser Stelle nur einige wenige aufgeführt, die die Vielseitigkeit der *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen und deren Effizienz hervorheben. Ein erstes Beispiel stammt aus dem Bereich der Totalsynthese. NICOLAOU *et al.* entwickelten im Jahr 1993 eine enantioselektive Synthese für Calicheamicin γ_1^1 ,^[5] einem hochgradig toxischen Zellgift aus *Micromonospora echinospora*, welches sich als Bestandteil des ADC³ *Inotuzumab ozogamicin* in klinischen Studien, u.a. gegen Non-Hodgkin-Lymphome, befindet.^[50] NICOLAOU *et al.* suchten eine Schutzgruppe, die gegen Ende der Synthese orthogonal zu den schwach basisch bzw. schwach sauer abspaltbaren Schutzgruppen Fmoc bzw. Triethylsilyl entfernt werden konnte. Die Wahl fiel auf die Schutzgruppe NB, die den Alkohol am anomeren C-Atom einer Zuckereinheit während der gesamten Synthese effektiv schützte (Schema 2-10, Schutzgruppe rot hervorgehoben). Die Abspaltung gelang schließlich durch Belichtung in einem THF/Wasser-Gemisch bei 0 °C innerhalb 15 min und der freie Alkohol konnte mit einer Ausbeute von 82 % isoliert werden.^[5]

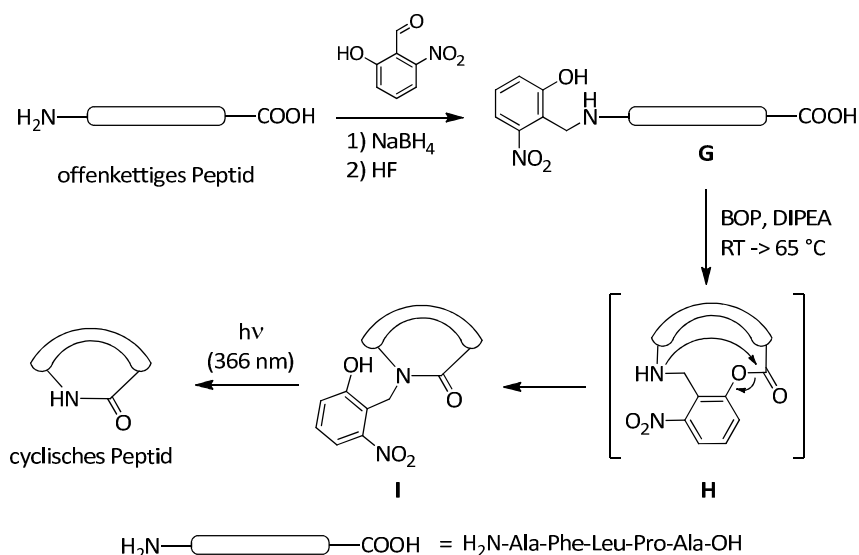


Schema 2-10 Orthogonale Entschützung des anomeren C-Atoms einer Zuckereinheit als Schlüsselschritt in der Totalsynthese von Calicheamicin γ_1^1 (rot: photolabile Schutzgruppe NB).^[5]

Eine weitere Anwendung aus dem Gebiet der organischen Synthese lieferten SMYTHE *et al.*^[51] Sie nutzten eine photolabile Schutzgruppe, um ein Pentapeptid mit Hilfe einer Art Schutzgruppenvermittelten nativen Ligation zu cyclisieren. Der Ringschluss des Pentapeptids mittels Standardbedingungen zur Amidbindungsknüpfung war bis dato nicht erfolgreich. Die Synthese, in Schema 2-11 dargestellt, startete mit dem offenkettigen Peptid H₂N-Ala-Phe-Leu-Pro-Ala-OH. Reduktive Aminierung mit 2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd lieferte das photolabil geschützte Peptid **G**. Unter optimierten Peptidknüpfungsbedingungen (1.0 Äq BOP, 2.0 Äq DIPEA, 3 h, RT, dann + 10.0 Äq DIPEA, 12 h, RT) wurde zunächst durch Bildung des Esters zwischen C-Terminus und Hydroxygruppe der Schutzgruppe der Ring geschlossen (**H**). Anschließend Ringkontraktion führte in einer Synthesestufe zum photolabil geschützten, ringgeschlossenen Peptid **I**. Durch Belichtung bei 366 nm konnte schließlich die photolabile Schutzgruppe abgespalten werden und das gewünschte cyclische Peptid wurde isoliert.^[51]

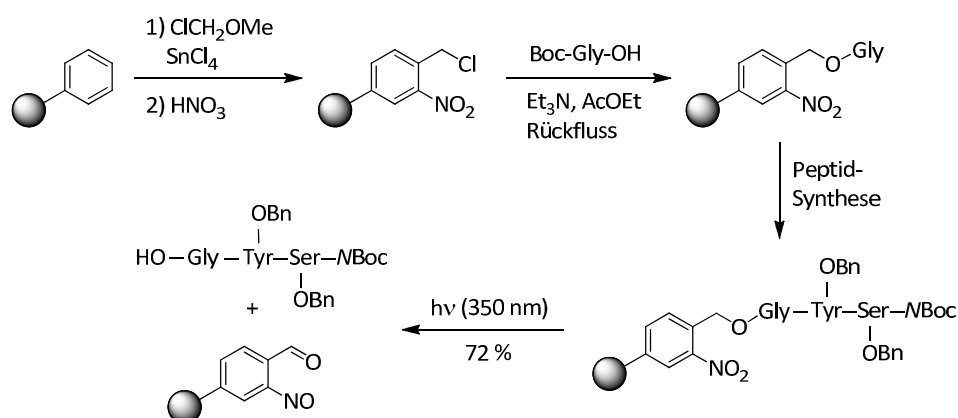
³ *Antibody-drug conjugate*, eine Wirkstoffklasse, die sich aus einem monoklonalen Antikörper und einem kovalent daran gebundenen Wirkstoff, hier Calicheamicin γ_1^1 , zusammensetzt.

2. Kenntnisstand



Schema 2-11 Peptidcyclisierung mittels eines photolabilen Auxiliars.^[51]

Auch im Bereich der kombinatorischen Chemie,^[52] der Synthese von Peptiden,^[53] Oligosacchariden^[8] und Oligonucleotiden^[44,54] und der Festphasensynthese^[6] gibt es unzählige Beispiele für den erfolgreichen Einsatz von *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen. Den ersten photolabilen Linker für den Einsatz in der Festphasensynthese entwickelten RICH und GURWARA im Jahr 1973.^[55] Als Festphasensupport diente ein Styrol-Divinylbenzol-Copolymer. In einer Friedel-Crafts-ähnlichen Chloromethylierung und anschließender Nitrierung des Aromaten wurde die photolabile Gruppe an das Harz angebracht (Schema 2-12). Dann folgten die Kupplungen mit Glycin und zwei weiteren Aminosäuren, bevor schließlich das Tripeptid Boc-Ser(OBn)-Tyr(OBn)-Gly-OH durch Photolyse bei 350 nm mit einer Ausbeute von 72 % vom Harz abgespalten wurde. Später stellte sich heraus, dass über diesen Linker nicht mehr als vier Aminosäuren angehängt werden konnten. Grund dafür war eine zu geringe Quellfähigkeit des Harzes in organischen Lösungsmitteln, da es während der Synthese zur Übernitrierung des Harzes kam. Abhilfe schaffte die Vorgehensweise, die bereits nitrierte photolabile Schutzgruppe über eine Amid-Bindung, *para* zur Benzylgruppe, an das Harz zu binden.^[6]



Schema 2-12 Erste Festphasensynthese mit photolabilem Linker.^[6]

Erste Verwendung für die Untersuchung biochemischer Prozesse fanden photolabile Schutzgruppen in Form von *caged ATP*, also photolabil geschütztem ATP (vgl. Abbildung 2-4).^[22] TRENTHAM *et al.* untersuchten die Kinetik der Freisetzung von ATP,^[23,56] sodass es möglich wurde, durch Photospaltung von *caged ATP* im Millisekundenbereich eine definierte, große Menge an ATP in einer

Zelle freizusetzen und somit die Kinetik ATP-induzierter Vorgänge, zum Beispiel Protein-Aktivitäten, zu ermitteln.^[8] Ein weiteres prominentes Beispiel aus dem Bereich der physiologischen Anwendung photolabiler Schutzgruppen sind Käfigverbindungen auf *o*-Nitrobenzylbasis.^[7] Ein photolabiler Käfig ist ein Molekül, das in der Regel ein Metallkation koordiniert und durch Bestrahlung seine Struktur bzw. seine Eigenschaften so stark ändert, dass es das Metallion freisetzt. Diese photoaktivierbaren Käfige können zum Beispiel von Nutzen sein, um intrazellulär eine definierte Menge an Metallionen freizusetzen. Auf diese Weise kann die Bioverfügbarkeit eines Metalls zur Aufklärung biochemischer Reaktionswege erhöht werden und auch therapeutische Zwecke sind denkbar. Abbildung 2-8 zeigt die Struktur der photolabilen Käfige Ca^{2+} -NV-EGTA und Ca^{2+} -NDBF-EGTA, die beide nach Belichtung Ca^{2+} mit Zerfallsraten von 10^4 – 10^5 s^{-1} freisetzen.^[8,57]

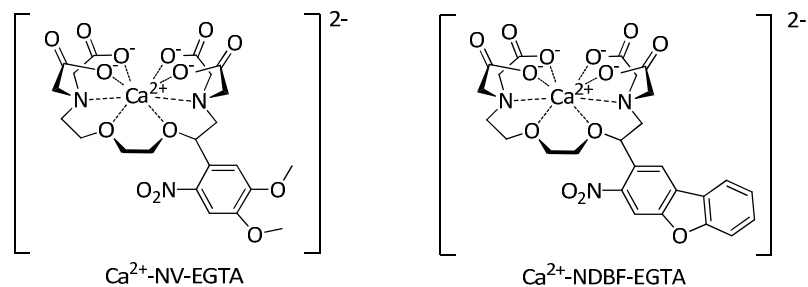


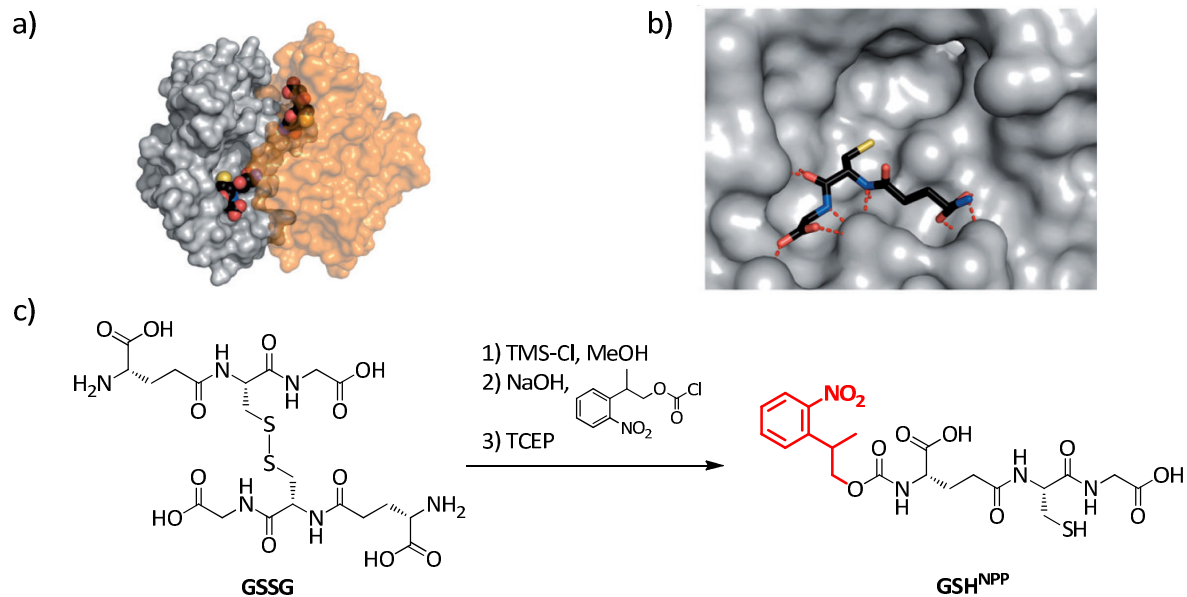
Abbildung 2-8 Struktur zweier photolabiler Käfige Ca^{2+} -NV-EGTA und Ca^{2+} -NDBF-EGTA (NDBF = 3-Nitrodibenzofuran-2-yl).^[8]

Ein aktuelles Beispiel aus dem Bereich der biochemisch-physiologischen Anwendungen lieferten TAMPÉ *et al.* im Jahr 2012.^[58] Ziel war es, die Interaktion zwischen Glutathion S-Transferase (GST) und dem Pseudotripeptid Glutathion (GSH) zu triggern, also durch ein entsprechendes Signal an- oder abstellen zu können. GSH trägt eine nukleophile Thiolgruppe, mit Hilfe derer Wirkstoffe, Toxine und ROS⁴ kovalent gebunden werden können, wenn GSH an sein Target-Protein GST gebunden ist. Schema 2-13 zeigt die Kristallstruktur der *humanGST* M2-2 mit gebundenem GSH (a), wobei die Bindungstasche des Homodimers zwischen den beiden Monomeren liegt (b). Hier wird deutlich, dass die freien Säuregruppen und das primäre Amin an der Koordination des GSH an das Protein beteiligt sind, während die Thiolgruppe aus der Bindetasche herausragt. Daher wurden sowohl Amino- als auch Carboxylgruppe des γ -(L)-Glutamins mit einer photolabilen Schutzgruppe modifiziert. Diese verhinderte die Bindung zum Protein, sodass durch Einstrahlung von Photonen und Abspaltung der Schutzgruppe die GSH-Protein-Interaktion „angeschaltet“ werden konnte. Indem an das Protein eine GFP-Einheit angebracht wurde und das Thiol mit einem Fluorophor (ATTO565) derivatisiert wurde, konnten umfassende Studien zur Bindung des GSH am Targetprotein GST durch FRET-Messungen⁵ durchgeführt werden. Als photolabile Schutzgruppe wurde NPP ausgewählt. In Schema 2-13 (c) ist die Synthese des *N*-NPPOC-geschützten GSH dargestellt. Ausgehend von der oxidierten Form GSSG wurden zunächst die Säuregruppen verestert, bevor analog zur von BHUSHAN *et al.* eingeführten Methode die Schutzgruppe über ihr Chloroformiat (NPPOCI) eingeführt wurde.^[53] Verseifung und Reduktion zum Thiol führten schließlich zur Zielverbindung GSH^{NPP} .

⁴ reactive oxygen species

⁵ Förster resonance energy transfer

2. Kenntnisstand



Schema 2-13 a) Kristallstruktur von *human*GST M2-2/GSH, b) Bindungstasche des GSH, rote Linien zeigen Wechselwirkungen zwischen GSH und Protein, c) Synthese von NPPOC-geschütztem GSH (GSH^{NPP}, TCEP = Tris(2-carboxyethyl)phosphin Hydrochlorid).^[58]

Neuere Entwicklungen in der Chemie der photolabilen Schutzgruppen beschäftigen sich mit Chromatischer Orthogonalität (Abbildung 2-9). Dies wird erreicht, indem durch die Wahl der eingestrahlten Wellenlänge eine Differenzierung zwischen zwei oder mehreren photolabilen Schutzgruppen erfolgt und demnach nur eine bestimmte Schutzgruppe abgespalten wird. Beispielsweise entwickelten BOCHET *et al.* ein System, bei dem eine Säuregruppe der 1,7-Heptandisäure mit einer 3,5-Dimethoxybenzoylgruppe geschützt ist, die bei Einstrahlung einer Wellenlänge von 254 nm abgespalten wird. Am anderen C-Terminus ist das Molekül mit einer NVOC-Schutzgruppe derivatisiert, abspaltbar bei einer Wellenlänge von 420 nm (Schema 2-14, Verbindung J).^[59,60] Die Ausbeuten liegen für beide photolytischen Entschützungen bei 92 % (K) bzw. 70 % (L). Dabei muss beachtet werden, dass die Bestrahlungsdauer bei 420 nm mehrere Stunden beträgt, bei 254 nm allerdings nur wenige Minuten dauern darf, denn auch die NVOC-Schutzgruppe absorbiert bei 254 nm und kann bei dieser Wellenlänge abgespalten werden. Das Absorptionsspektrum zeigt jedoch, dass die 3,5-Dimethoxybenzoylgruppe bei 254 nm eine höhere Absorption zeigt und die Schutzgruppe schneller abgespalten wird als die NVOC-Gruppe (vgl. Abbildung 2-9). Bei 420 nm absorbiert die NVOC-Gruppe nur noch sehr schwach, was die lange Bestrahlungsdauer erklärt, während die 3,5-Dimethoxybenzoylgruppe annähernd gar nicht mehr absorbiert.^[47,61,62]

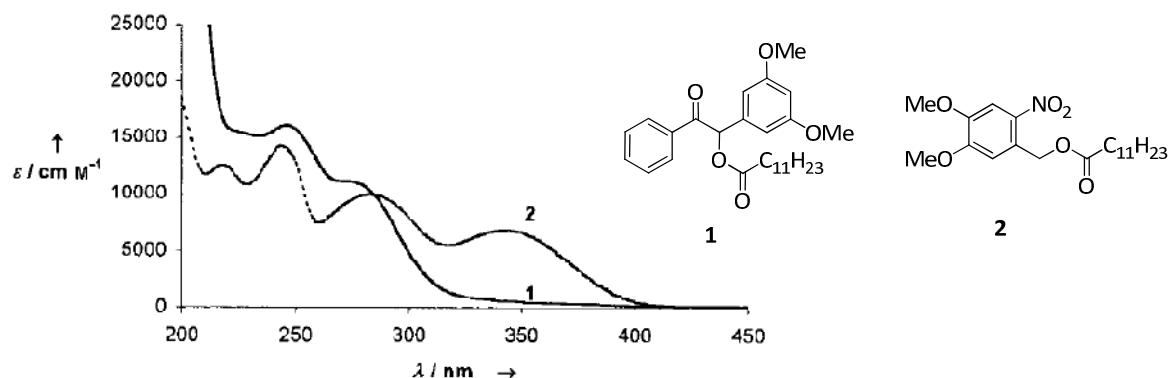
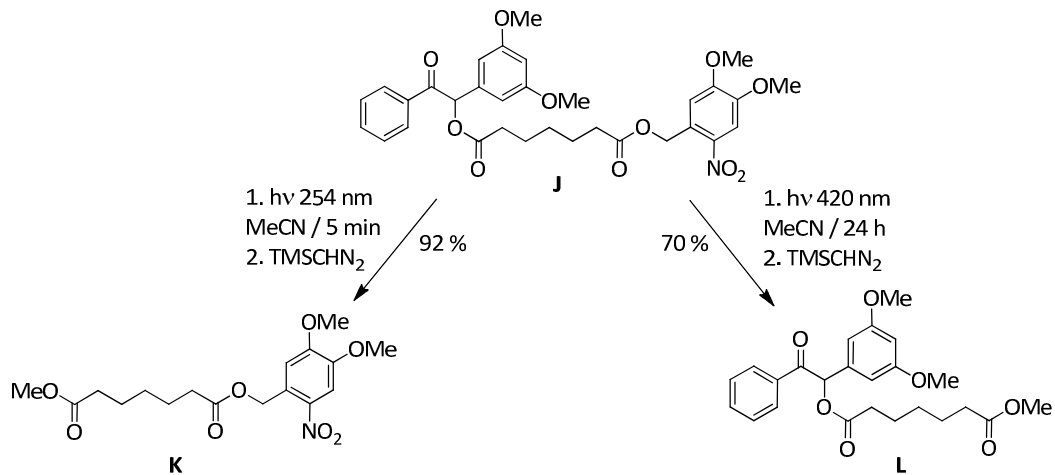
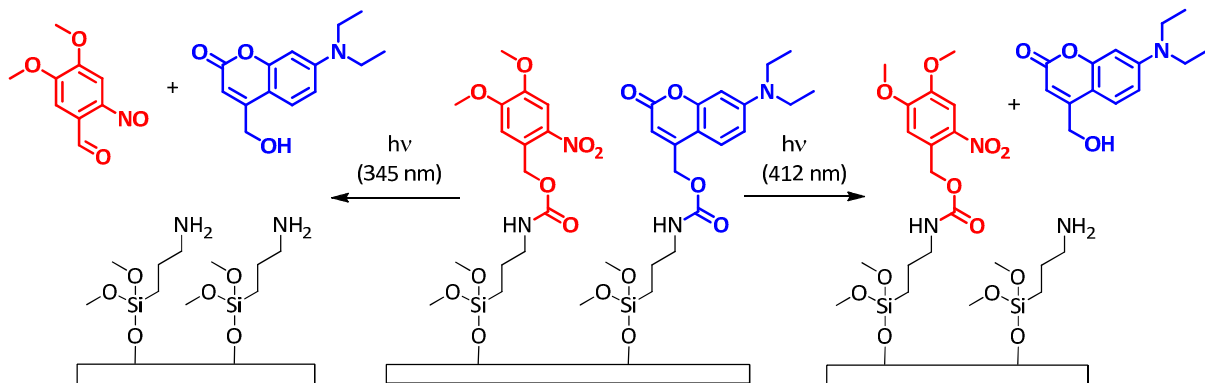


Abbildung 2-9 Absorptionsspektren des 3,5-Dimethoxybenzoinesters (1) und des NVOC-Esters (2).^[61]



Schema 2-14 Konzept der Chromatischen Orthogonalität.^[62]

Einen ähnlichen Ansatz verfolgten DEL CAMPO *et al.*^[63] Sie wählten zwei Schutzgruppen aus, die semi-orthogonal zueinander sind, das heißt, bei einer Wellenlänge von 412 nm wird nur eine von beiden abgespalten (hier: Cumarin-Derivat DECM, blau dargestellt), bei 345 nm werden beide Schutzgruppen abgespalten (DECM und NVOC, vgl. Schema 2-15). Die Tatsache, dass zwei Schutzgruppen nicht komplett orthogonal zueinander sind, sondern eine von beiden nur bei bestimmten Bedingungen in Gegenwart der anderen abgespalten werden kann, wird auch mit abgestufter Labilität bezeichnet.^[14] Vorteil der Kombination der beiden Schutzgruppen NVOC und DECM liegt darin, dass beide bei relativ energiearmen Wellenlängen abgespalten werden können, was für biologische Anwendungen wichtig ist. Genutzt wurde die wellenlängenabhängige Abspaltung der Schutzgruppen in diesem Fall zur Modifizierung der Amin-Funktion von Oberflächen-gebundenen Silanol-Derivaten mit verschiedenen Fluorophoren.^[63]



Schema 2-15 Abgestufte Labilität der photolablen Schutzgruppen NVOC (rot) und DECM (7-*N,N*-Diethylaminocumarin, blau).^[63]

2.2.3 Photolabile Schutzgruppen mit anderer Grundstruktur

Neben den *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen gibt es natürlich zahlreiche photolabile Schutzgruppen, die auf anderen Grundstrukturen beruhen.^[48] Eine kleine Auswahl ist in Abbildung 2-10 dargestellt. Die Unterschiede in den Grundstrukturen bedingen natürlich auch unterschiedliche physikalisch chemische Eigenschaften. So kann für jede Anwendung eine optimale Schutzgruppe gefunden werden, zum Beispiel bezüglich Abspaltungswellenlänge, Wasserlöslichkeit, Detektionsmethode, Quantenausbeute usw..

2. Kenntnisstand

Sehr oft werden Neurotransmitter photolabil geschützt, denn Neurotransmitter-Rezeptoren sitzen an der Oberfläche der Zellen und die Untersuchung ihrer Aktivierung oder Inhibierung verlangt die Freisetzung einer großen Menge an Neurotransmitter in ihrer unmittelbaren Nähe, was bei der Verwendung photolabil geschützter Neurotransmitter möglich ist.^[48] Andere Standardmethoden, Neurotransmitter in die Nähe der Rezeptoren zu bringen, sind in der Regel diffusionskontrolliert und daher nicht schnell genug.^[64] Ein oft für die photolabile Schützung verwendeter Neurotransmitter ist Glutamat. Hess *et al.* fanden die Möglichkeit, Glutamat mit DECM (7-*N,N*-Diethylaminocumarin) photolabil zu schützen, sodass der Neurotransmitter bei Wellenlängen > 400 nm freigesetzt werden konnte.^[64] Ein Vorteil, zum Beispiel gegenüber den *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen, ist neben der Anregungswellenlänge auch die gute Wasserlöslichkeit des DECM-Glutamats (vgl. Abbildung 2-10, a). Eine ähnliche Zielsetzung, nämlich eine Abspaltungswellenlänge im sichtbaren Bereich und gute Wasserlöslichkeit, verfolgten auch CORRIE *et al.*, sie schützten Glutamat photolabil, in dem sie es mit einem Nitroindolinyl-Derivat modifizierten (b).^[65]

Die photochemische Eigenschaft, dass Doppelbindungen durch Bestrahlung ihre *cis*- und *trans*-Isomere ineinander umwandeln können, machten sich JULLIEN *et al.* zu Nutzen.^[66] Während der α -Hydroxymizsäureester, in Abbildung 2-10 (c) dargestellt, unreaktiv ist, bildet sich nach Bestrahlung und dadurch induzierter Isomerisierung der Doppelbindung ein Cumarinderivat. Gleichzeitig wird der zuvor geschützte Alkohol (ROH) freigesetzt. Ein nützlicher Nebeneffekt ist hierbei, dass das Photospaltprodukt, also das Cumarinderivat, fluoresziert, während der α -Hydroxymizsäureester nicht fluoresziert. Diese Eigenschaft kann zur Quantifizierung der Belichtung herangezogen werden. Außerdem hat die Schutzgruppe eine gute *two-photon*-Absorption, das heißt, sie kann auch bei Wellenlängen von etwa 750 nm abgespalten werden, was sie besonders interessant für die biologische Anwendung macht.^[66] Abbildung 2-10, d) zeigt ein Beispiel dafür, wie die Hydrophilie einer photolabilen Schutzgruppe durch kleine Modifikationen der Substituenten erhöht werden konnte.^[67] Während die Abspaltung der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen unter basischen Bedingungen nicht effektiv verläuft (vgl. Kapitel 2.2.1), konnten in diesem Beispiel auch bei pH 12 sehr gute Ergebnisse bei der Photolyse der Schutzgruppe erzielt werden.

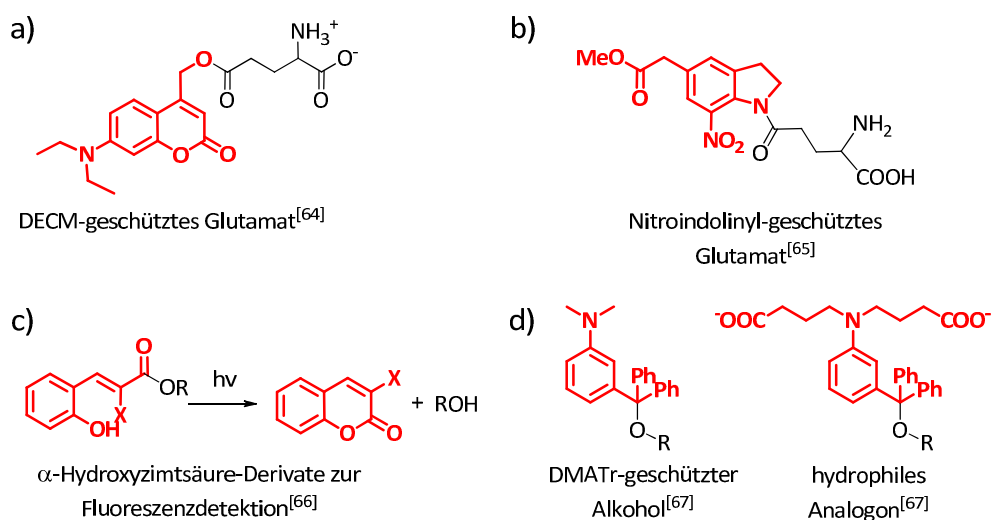


Abbildung 2-10 Photolabil geschützte Substrate (Schutzgruppe: rot) mit anderer Grundstruktur (DECM = 7-*N,N*-Diethylaminocumarin, DMATr = 3-(Dimethylamino)trityl)

Als letztes Beispiel für eine photolabile Schutzgruppe soll eine anorganische Schutzgruppe, entwickelt von ETCHENIQUE *et al.*, vorgestellt werden.^[65] Auch hier wurden physiologisch interessante Verbindungen geschützt, in Abbildung 2-11 ist die Struktur des photolabil geschützten Neurotransmitters γ -Aminobuttersäure (GABA) dargestellt. Es handelt sich hierbei um einen Ruthenium-bipyridyl-Komplex, der starke Fluoreszenz zeigt. Nach Belichtung und Freisetzung der geschützten Substanz kann keine Fluoreszenz mehr beobachtet werden, was eine Verfolgung der Entschützungsreaktion vereinfacht. Die Spaltung findet bei Wellenlängen im Bereich von 450 nm statt und die Spaltprodukte sind ersten Ergebnissen zufolge nicht cytotoxisch, was eine Anwendung in biologischen Systemen erlauben würde. Trotzdem sind bislang nur sehr wenige Beispiele für anorganische photolabile Schutzgruppen bekannt.^[65]

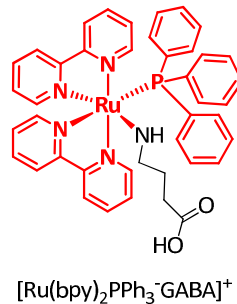


Abbildung 2-11 Beispiel für eine anorganische photolabile Schutzgruppe.^[68]

2.3 Photolabile Wirkstoffe

Bereits in Kapitel 2.2.2 wurden einige Beispiele für die Verwendung photolabiler Schutzgruppen aufgeführt. Neben der Anwendung in der Totalsynthese,^[5] als Auxiliar^[51] oder als Linker in der Festphasensynthese^[6] ist das *caging* von Biomolekülen eine zunehmend genutzte Strategie zur Untersuchung von biochemischen und physiologischen Prozessen. Durch die gezielte, also örtlich und zeitlich definierte Aktivierung photolabil geschützter Verbindungen durch die simple Einstahlung von Licht einer bestimmten Wellenlänge kann eine definierte, teils auch sehr große Menge an Substanz freigesetzt werden. Die Verwendung photolabiler Schutzgruppen erlaubt beispielsweise die Untersuchung der Regulation von biomolekularen Prozessen durch Photoaktivierung oder Photodeaktivierung von Effektormolekülen, eine gerade in der aktuellen Forschung häufig verwendete Strategie.^[21] Neben der Möglichkeit, durch reversibles Photoschalten die Eigenschaften des photoschaltbaren Moleküls zu verändern, zum Beispiel die Komplexbildungskonstante zu erhöhen oder erniedrigen, stehen auch Anwendungen wie die Optogenetik im Fokus aktueller Untersuchungen.^[21] Mittlerweile wurden unzählige Verbindungen photolabil geschützt, zum Beispiel solche, die die Genexpression regulieren,^[48] Neurotransmitter,^[1,28] Hormone,^[21] Peptide^[69,70] und Proteine,^[71] Nucleinsäuren,^[1,28,48] Oligonucleotide^[54] und viele mehr. Verschiedene photolabil geschützte Substrate sind sogar kommerziell erhältlich, wie beispielsweise *caged ATP* (NPE-ATP²⁻ Na²⁺, CAS-Nr. 171800-68-3) oder *caged Glutamat* (MNI-Glutamat-H₂O, CAS-Nr. 239135-34-3).

Für die Anwendung photolabiler Wirkstoffe in der medizinischen Therapie von Tumor- und anderen Erkrankungen sind bislang nur sehr wenige Beispiele bekannt. Eine Schwierigkeit besteht grundsätzlich darin, das Licht an die zu belichtende Stelle zu bringen. Da UV-Licht nur ca. 1 mm in Gewebe eindringen kann, sichtbares Licht abhängig von der Wellenlänge etwa 3–5 mm, ist das Konzept der photolabiler Wirkstoffe bisher nur für die Anwendung auf gut erreichbaren Oberflächen, zum Beispiel bei Speiseröhren- oder Blasenkrebs geeignet.^[12] Für eine Verwendung bei

2. Kenntnisstand

tiefer im Gewebe liegenden Tumoren könnten endoskopische Methoden die Lichtquelle an den Wirkort bringen.^[13] Muss der Wirkstoff durch Licht relativ kurzer Wellenlänge freigesetzt werden, kann dies außerdem zu ungewollten Zellschädigungen führen (z.B. DNA-Schäden durch lichtinduzierte Basendimerisierung^[27]). Daher liegt ein Hauptaugenmerk aktueller Forschungen auf der Entwicklung photolabiler Systeme, die durch *two-photon-excitation* angeregt werden können. Die Wellenlängen zur Freisetzung der geschützten Substrate liegen dann in der Regel zwischen 700 und 950 nm.^[1,21] Bedacht werden muss außerdem die passende Formulierung der Wirkstoffe, um ihre Stabilität zu gewährleisten.^[72]

Die Verwendung photolabil geschützter Wirkstoffe hat jedoch auch einige Vorteile: die Aktivierung des Wirkstoffs kann gezielt am Wirkort erfolgen, dadurch kann dort schlagartig eine hohe Wirkstoffkonzentration erreicht werden. Durch diese orts- und zeitgesteuerte Freisetzung der aktiven Substanz ist die Selektivität der Wirkung zwischen gesunden und kranken Zellen viel größer als bei Wirkstoffen, die durch Diffusion und *Carrierprotein*-Transport zu den Tumorzellen gelangen müssen. Es werden somit weniger gesunde Zellen geschädigt, da der Wirkstoff nur dort durch Belichtung freigesetzt wird, wo er gebraucht wird.^[21]

Bereits in den 1970er und -80er Jahren gab es erste Versuche, photolabile Wirkstoffe zu entwickeln und anzuwenden,^[11] doch erst in den letzten Jahren steht das Konzept der photoaktivierbaren Wirkstoffe wieder stark im Interesse der Forschung. Während photolabile Wirkstoffe bisher lediglich in der Therapie der Hauterkrankung Psoriasis⁶ und ähnlicher Krankheitsformen eingesetzt wurden,^[73,74] finden sich mittlerweile in der Literatur viele Beispiele für durch Licht aktivierbare Wirkstoffe, die sich allerdings meist in präklinischen oder klinischen Studien befinden und noch nicht zur Marktreife gelangt sind. Einige Beispiele sind in den nächsten Abschnitten aufgeführt. Außerdem rückt das Konzept auch immer mehr in den Fokus der Grundlagenforschung. Es sei hier auf die aktuelle Literatur verwiesen.^[75,76,77,78,79,80]

Psoralen und 8-Methoxypsoralen (8-MOP) bilden eine Wirkstoffklasse, die seit 1975/76 in der Photodynamischen Therapie eingesetzt wird (vgl. Abbildung 2-12).^[74,81] Die PUVA-Therapie, also „Psoralen plus UV-A“, wird sehr oft bei Psoriasis und ähnlichen Hauterkrankungen eingesetzt. Sie ist aber aufgrund der Nebenwirkungen, wie dem Auftreten von malignen Melanomen, verursacht durch die UV-Strahlung, nicht unumstritten.^[82] Abhilfe könnte hier die *two-photon-excitation* schaffen, denn Psoralen zeigt eine gute Anregbarkeit durch Licht der Wellenlänge 730 nm.^[83]

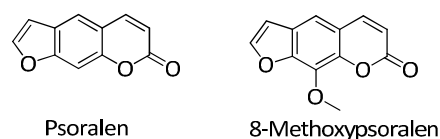


Abbildung 2-12 Struktur der Wirkstoffe Psoralen und 8-Methoxypsoralen (8-MOP).

Abbildung 2-13 zeigt einige photolabile Wirkstoffe, die kürzlich veröffentlicht wurden. Es handelt sich in der Regel um schon bekannte und für die Therapie zugelassene Wirkstoffe, die in der Art und Weise modifiziert wurden, dass sie unreaktiv sind und die aktive Form erst bei Bestrahlung freisetzen. DMNB-FdU, ein photolabiles Derivat des Chemotherapeutikums 5-Fluoruracil, kann bei Belichtung mit Wellenlängen $\lambda > 350$ nm die aktive Form 5-FdU (5-Fluoro-2'-desoxyuridin) freisetzen.^[84] Die Effizienz der Photospaltung war zwar zu gering, um das System in klinischen Studien zu testen, lieferte aber die Grundlage für weitere Entwicklungen, wie im übernächsten Abschnitt erläutert wird.^[13]

⁶ Schuppenflechte

2. Kenntnisstand

Eine andere Gruppe potentieller Photochemotherapeutika sind die photoaktivierbaren Cisplatin-Derivate.^[85] Abbildung 2-13 zeigt zwei der in den letzten Jahren entwickelten Platinkomplexe. Es handelt sich hierbei um Platin(IV)Komplexe, im Gegensatz zu Platin(II) bei Cisplatin, die hochpotent gegenüber einer ganzen Reihe von Krebszelllinien wirken.^[86] Die photochemischen Eigenschaften und die Reaktionen nach Anregung der Komplexe wurden umfassend untersucht, wahrscheinlich handelt es sich initial um eine photoinduzierte Abspaltung von Azidylradikalen.^[86] Einige der Verbindungen befinden sich in der präklinischen Phase.^[87] Im Jahr 2012 fanden SADLER *et al.* heraus, dass die Aminosäure *L*-Tryptophan schon in geringen Dosen die Azidylradikal-Abspaltung nach der Belichtung unterdrücken kann. Somit könnte die *L*-Tryptophan-Konzentration als eine Art „An-Aus-Schalter“ zur Steuerung der Aktivität photolabiler Platinkomplexe genutzt werden.^[86]

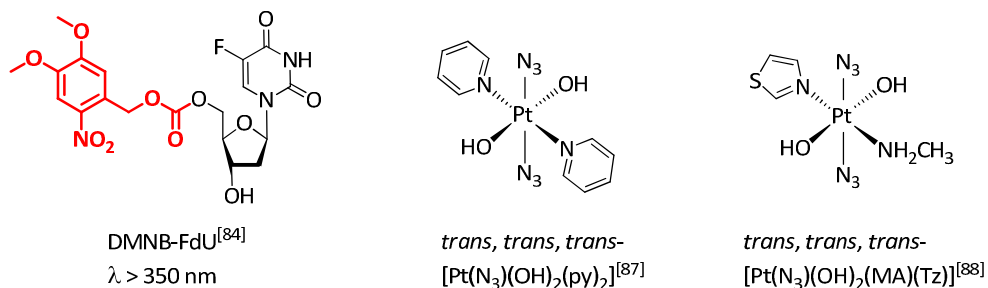


Abbildung 2-13 Beispiele für photolabile Wirkstoffe (py = Pyridin, MA = Methylamin, Tz = Thiazol).

Je höher die Wirkstoffkonzentration am Wirkort, zum Beispiel im Tumorgewebe, ist, desto größer ist auch der Effekt nach der Belichtung, also die Cytotoxizität. Je selektiver der photolabil geschützte Wirkstoff zum Wirkort gebracht werden kann, desto geringer ist der Schaden bei den umliegenden gesunden Zellen. Daher wurden Strategien entwickelt, mit denen der photolabile Wirkstoff seinen Wirkort „erkennt“ und sich dort anreichert (*targeted drug delivery*). Ein Beispiel dafür ist das in Abbildung 2-14 dargestellte 5-FU-Derivat, welches über die photolabile Schutzgruppe NB mit einem cyclischen Pentapeptid modifiziert ist. Dieses bindet an den Tumormarker *APN/CD13 Aminopeptidase N* und reichert somit das 5-FU-Derivat in unmittelbarer Nähe des Tumors an.^[13]

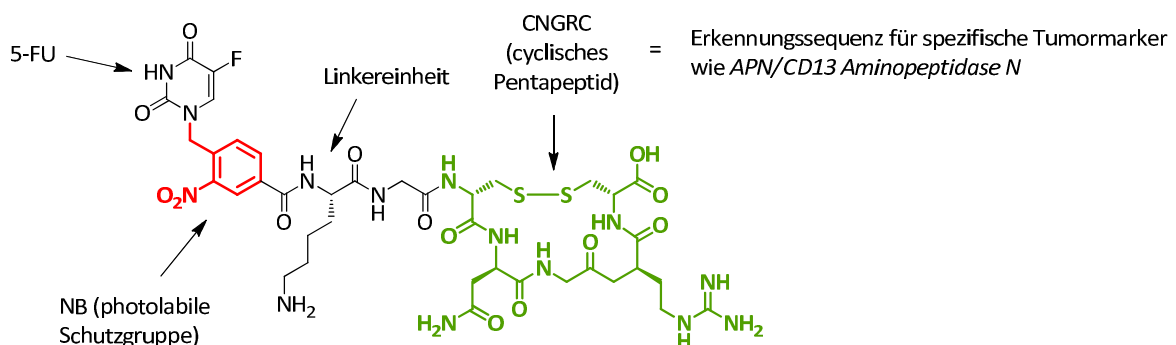


Abbildung 2-14 Targeted drug delivery am Beispiel des 5-FU-Derivats ((CNGRC)GL)NB-5-FU.^[13]

2. Kenntnisstand

Ein weiteres Beispiel für *targeted drug delivery* lieferten HUANG *et al.* im Jahr 2011.^[9] Sie entwickelten einen *Dox:apt/hp-Au-NP*-Nanokomplex, der an ein spezifisches Protein, die Protein-Tyrosin-Kinase 7, an der Oberfläche von CCRF-CEM-Zellen⁷ bindet. Die aktive Substanz ist in diesem Fall Doxorubicin (Abbildung 2-15, a), ein Antikrebswirkstoff, der in die DNA interkaliert. Der *Dox:apt/hp-Au-NP*-Komplex setzt sich zusammen aus einem Gold-Nanopartikel als Träger (*Au-NP*), einem Aptamer⁸ (*apt*) und DNA-gebundenem Doxorubicin (*Dox:hp*), wobei die kurze DNA-Sequenz eine Haarnadel-Struktur aufweist (*hairpin*, *hp*), wie in Abbildung 2-15 (b) dargestellt. Das Aptamer sorgt für die Erkennung des Targetproteins und induziert die Anreicherung des Komplexes auf der Oberfläche der Tumorzellen. Bei Belichtung (532 nm) löst sich der Wirkstoff Doxorubicin aus der komplexgebundenen DNA heraus und kann seine Wirkung entfalten.^[9]

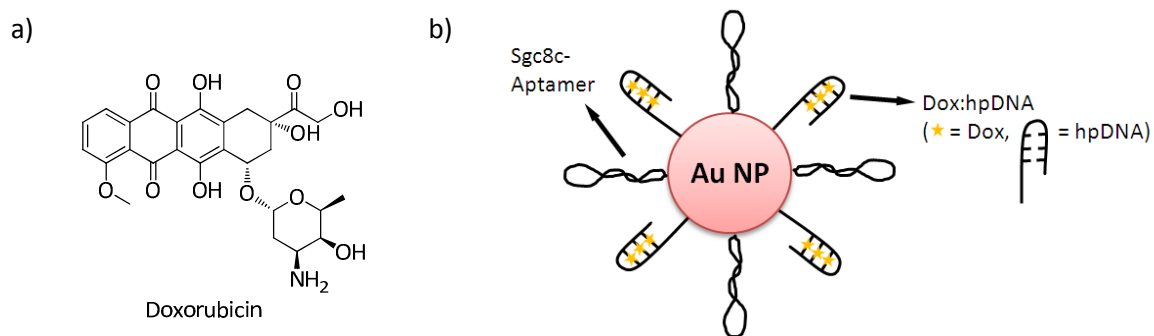


Abbildung 2-15 a) Struktur des Doxorubicins, b) *Dox:apt/hp-Au-NP*, ein photolabiler Doxorubicin-Komplex.^[9]

Als eine Art Aptamer kann auch Folsäure verwendet werden. Dieses Vitamin bindet an den Folsäurerezeptor, der in der Zellmembran verankert ist. Bindet Folsäure an das Protein, findet eine Rezeptor-vermittelte Endocytose statt, sodass auf diesem Weg Folsäure-gebundene Substrate, auch ganze Partikel, in die Zelle gelangen können. YEH *et al.* derivatisierten Folsäuremoleküle, die an Lipid-Nanopartikel gebunden waren, mit zwei photolabilen Schutzgruppen und unterdrückten somit die Folsäure-Rezeptor-Wechselwirkung (Abbildung 2-16). Erst nach Belichtung bei etwa 265 nm und Freisetzung der Carboxylgruppen der Folsäure kann diese an den Rezeptor binden und den Lipid-Nanopartikel in die Zellen schleusen. Dort kann dann der eigentliche Wirkstoff, in diesem Beispiel der die Mikrotubuli-Polymerisation beeinflussende Wirkstoff Taxol, freierwerden, mit dem die Lipid-Nanopartikel zuvor beladen wurden (Abbildung 2-16). Mit dieser Methode kann ein Wirkstoff effizient ins Zellinnere transportiert werden.^[10]

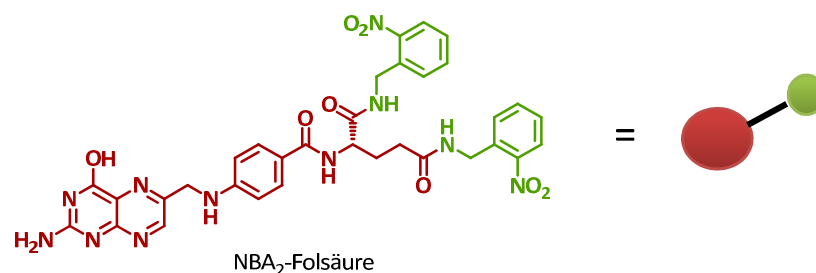


Abbildung 2-16 Photoaktivierbare Folsäure (rot: Folsäure, grün: NBA = Nitrobenzylamin).^[10]

⁷ *T-cell acute lymphoblastic leukemia cell line*, eine Krebszelllinie

⁸ ein Oligomer aus DNA/RNA oder ein kurzes Peptid, das als Erkennungssequenz für Targetproteine dient

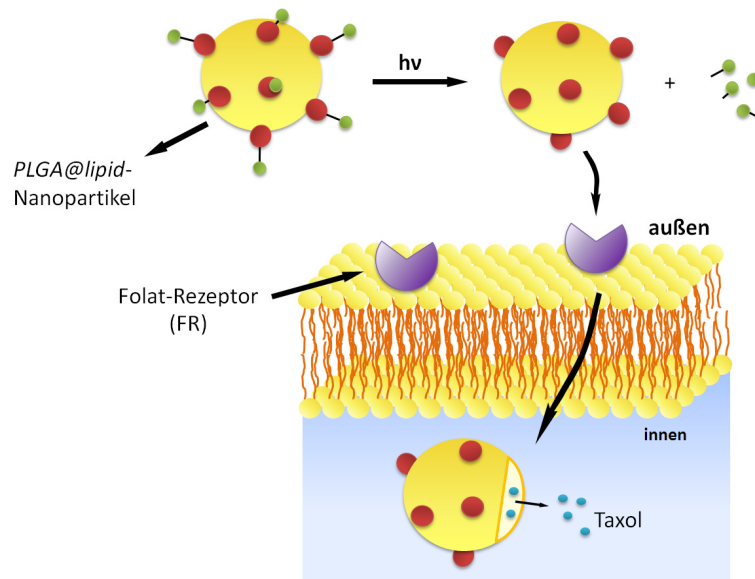


Abbildung 2-17 Wirkungsweise des photoaktivierbaren Folsäure-Nanopartikel-Kongugats (PLGA = Poly(*D,L*-lactid-*co*-glycolid)).^[10]

2.4 Cyclopeptide

2.4.1 Eigenschaften und Anwendungen

Peptide und Proteine übernehmen in den Zellen essentiell wichtige Funktionen: sie steuern Stoffwechsel- und viele andere Vorgänge in und außerhalb der Zellen. Sie bestehen meist aus natürlichen Aminosäuren, die zu linearen Oligo- bzw. Polymeren zusammengesetzt sind.^[89] Neben der Primärstruktur, der Aminosäuresequenz, bilden sie Sekundärstrukturen wie α -Helices oder β -Faltblätter aus. Die Sekundärstruktur ist in der Regel verantwortlich für die spezifische Funktion der Proteine und wird durch Erhitzen oder durch auf andere Weise induzierte Denaturierung zerstört.^[2]

Im Laufe der Evolution hat die Natur festgestellt, dass es von Vorteil sein kann, wenn die Peptide oder Proteine nicht linear, sondern als cyclisches Molekül vorliegen. In den 1990er Jahren wurden die ersten cyclischen Proteine entdeckt, unter anderem das kleine Protein Kalata B. Dieses wurde im Kongo aus einer einheimischen Pflanze⁹ isoliert, aus der die Eingeborenen traditionell einen wehenfördernden Tee zubereiten.^[90] Untersuchungen zeigten, dass Kalata B für diese Wirkung verantwortlich ist. Das Erstaunliche an diesem cyclischen Protein ist seine Stabilität, denn starkes Erhitzen oder extreme pH-Werte führen weder zu Denaturierung noch kann das Protein durch zelleigene Proteasen abgebaut werden. Die Cyclisierung scheint außerdem für eine Art „Vorfaltung“ verantwortlich zu sein, die die Ausbildung der Sekundärstruktur vereinfacht und diese sehr stark stabilisiert.^[91] Bisher ist noch nicht endgültig aufgeklärt, wie die cyclischen Proteine biosynthetisch gebildet werden. Bekannt ist, dass die Gene, die für die cyclischen Proteine pflanzlicher oder bakterieller Herkunft verantwortlich sind, lineare Proteine kodieren, die später cyclisiert werden. Abbildung 2-18 zeigt drei verschiedene Möglichkeiten für die genetische Kodierung cyclischer Proteine und deren Ringbildung. Die involvierten Enzyme und die genauen Vorgänge, zum Beispiel ob Spleißen und Cyclisierung simultan erfolgen, sind jedoch noch unbekannt.^[91]

⁹ *Oldenlandia affinis* DC („Kalata-Kalata“)

2. Kenntnisstand

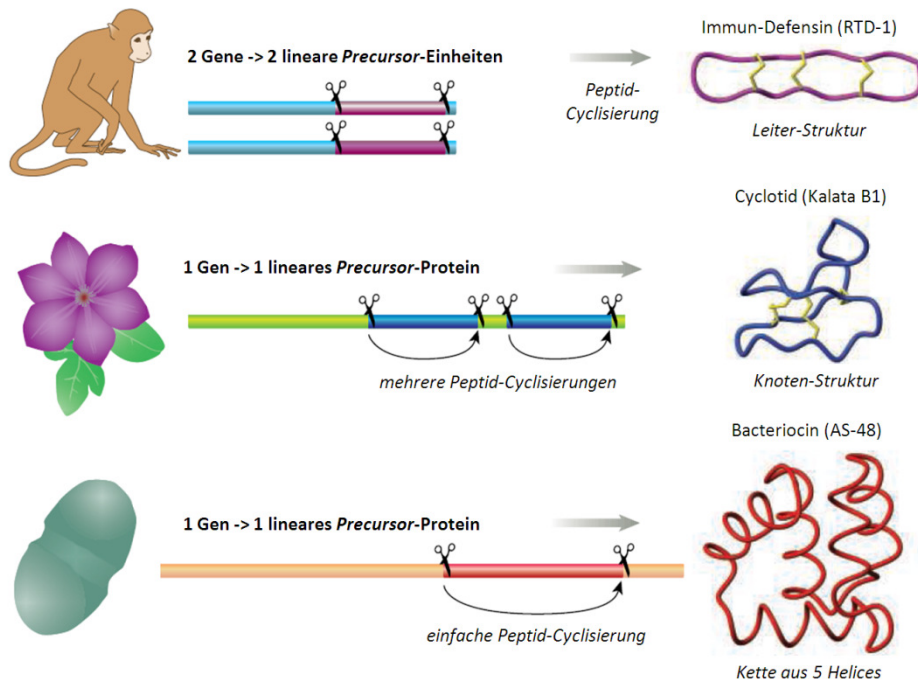


Abbildung 2-18 Genetische Kodierung verschiedener Cycloproteine und deren Sekundärstruktur.^[91]

Während cyclische Proteine noch weitgehend unerforscht sind, gibt es viele bekannte Beispiele für kleinere ringförmige Peptide, wie beispielsweise das Cyclopeptid Cyclosporin A.^[92] Auch die ringgeschlossenen Peptide sind extrem stabil gegenüber Abbau durch Proteasen, was sie zu interessanten Therapeutika macht. Ihre fixierte Konformation hat oft auch Einfluss auf die biologische Aktivität. Während lineare Moleküle eine hohe konformative Beweglichkeit besitzen, haben cyclische Moleküle mit ihrer dem Rezeptor perfekt angepassten fixierten Konformation entropische Vorteile.^[91] Abbildung 2-19 zeigt drei cyclische Peptide mit unterschiedlicher physiologischer Wirkung. Cyclosporin A wird seit den 1980er Jahren als Immunsuppressivum eingesetzt und ist ein homodet¹⁰ verknüpftes Peptid aus elf Aminosäuren.^[93] α -Amanitin, ein heterodetes¹⁰ Octapeptid, ist ein Gift des Knollenblätterpilzes und inhibiert die RNA-Polymerase II.^[2,94] Oxytocin ist ein peptidisches Hormon, welches im menschlichen Körper eine ganze Bandbreite wichtiger Funktionen übernimmt, die von der Steuerung neuroendokriner Reflexe bis hin zur Beeinflussung des Geburtsprozesses reichen.^[95]

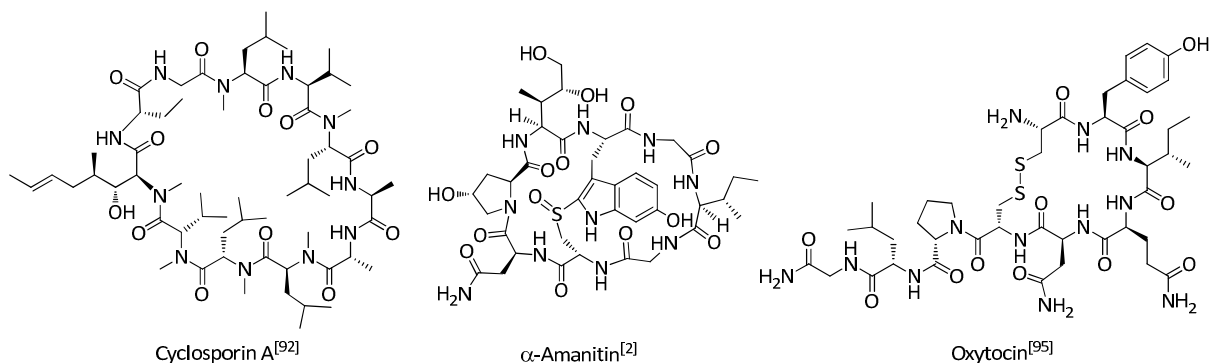


Abbildung 2-19 Struktur einiger bekannter cyclischer Peptide mit biochemischer Wirkung.

¹⁰ homodet: Cyclopeptide, die ausschließlich aus Peptidbindungen aufgebaut sind; heterodete Cyclopeptide können auch andere Verknüpfungen enthalten wie Esterbindungen, Disulfidbrücken etc.^[96]

Aufgrund der hohen Relevanz cyclischer Peptidstrukturen in der biochemischen und medizinischen Forschung wurden zahlreiche Verfahren entwickelt, Cyclopeptide zu synthetisieren.^[96] Dabei wird in der Regel die Strategie verfolgt, zunächst das entsprechende lineare Peptid herzustellen und dann in einer Cyclisierungsreaktion den Ring zu schließen. Das Rückgrat cyclischer Peptide kann entweder aus lauter Peptidbindungen aufgebaut sein (homodet) oder es kann andere Verknüpfungen wie Esterbindungen oder Disulfidbrücken enthalten (heterodet). Für die Cyclisierung homodeter Peptide können prinzipiell alle gängigen Peptidknüpfungsreagenzien genutzt werden, wobei in den letzten Jahren immer speziellere Reagenzien entwickelt wurden.^[97] Mittlerweile gibt es viele Methoden, sowohl kleine Ringe, also Tri- oder Tetrapeptide,^[98] als auch große Makrocyclen zu schließen.^[96] Ob in Lösung oder an der Festphase, für jede Anwendung findet sich ein passendes Kupplungsreagenz. Auch enzymkatalysierte Amidbindungsknüpfungen sind beschrieben.^[97]

Um in einem heterodeten Peptid den Ring zu schließen, kann ebenfalls eine Peptidbindungsknüpfung erfolgen. Alternativ kann der Makrocyclus jedoch auch über eine andere funktionelle Gruppe geschlossen werden, im Fall von Cyclodepsipeptiden zum Beispiel über die Esterbindung. Solche Depsipeptide können interessant sein, wenn beispielsweise durch Ersetzen einer Amidbindung durch eine Esterbindung die Konformation eines Cyclopeptids so verändert wird, dass das erhaltene Depsipeptid besser an einen Rezeptor bindet als das Peptid (ALBERICIO *et al.*, 2010).^[99]

Abbildung 2-20 zeigt die in der Synthese von heterodeten Peptiden meistgenutzten Makrocyclisierungsmethoden.^[96] Neben den schon erwähnten Makrolactamierungen und Makrolactonierungen kann die Cyclisierung über eine Disulfidbrücke erfolgen. Dabei wird durch Oxidation zweier Thiole, meist aus zwei Cysteinresten stammend, eine Disulfidbindung geschlossen. Durch Kreuzkupplung zweier Aromaten lassen sich Biarylbindungen aufbauen, wie beispielsweise im Cyclisierungsschritt bei der Totalsynthese des Vancomycin-Aglycons von EVANS *et al.* geschehen.^[100] Eine weitere vielgenutzte Methode zur Bildung von Makrocyclen stellt die Ringschlussmetathese dar, auf die im nächsten Abschnitt näher eingegangen werden soll.

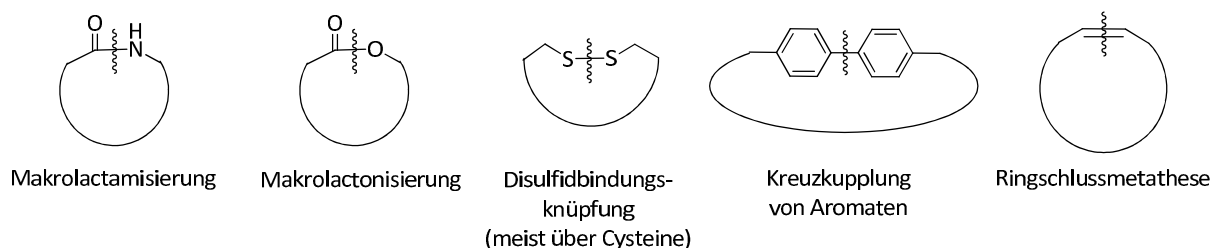


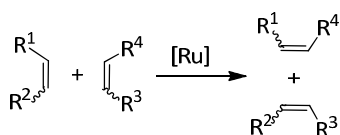
Abbildung 2-20 Verschiedene Möglichkeiten zur Makrocyclisierung von heterodeten Peptiden.^[96]

2.4.2 Metathese

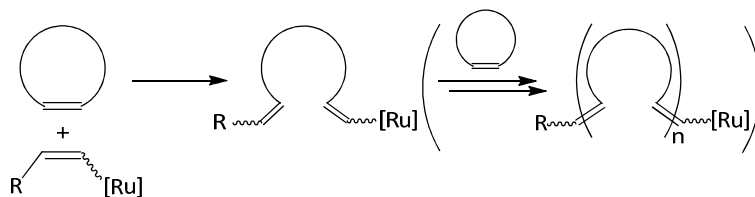
Die Ringschlussmetathese ist eine Variante der Ruthenium-katalysierten Olefinmetathese, einer sehr effizienten Methode, um C-C-Doppelbindungen zu knüpfen. Neben der Ringschlussmetathese (*Ring Closing Metathesis*, RCM) gibt es einige andere Anwendungen der Olefinmetathese, beispielsweise die Ringöffnungsmetathese (*Ring Opening Metathesis (polymerization)*, ROM(P)), die Kreuzmetathese (*Cross Metathesis*) oder die Enin-Metathese (*Enyne Metathesis*).^[101] Allgemeine Reaktionsgleichungen dieser Reaktionen sind in Schema 2-16 aufgeführt. Während die Kreuz- und die Kreuz-Enin-Metathesen noch weitgehend Gegenstand der Grundlagenforschung sind, finden die Ringschluss- und Ringöffnungsmetathesen bereits seit vielen Jahren Anwendung in der Totalsynthese und vereinzelt sogar in großtechnischen Prozessen.^[102]

2. Kenntnisstand

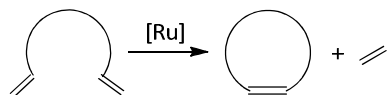
Cross Metathesis:



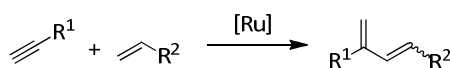
Ring Opening Metathesis (Polymerization):



Ring Closing Metathesis:



(Cross/Ring Closing) Enyne-Metathesis:



Schema 2-16 Ruthenium-katalysierte Olefinmetathesen.^[101]

Katalysiert werden die Olefinmetathesen von Ruthenium-Carbenkomplexen (Schrock-Carbene). Den ersten stabilen Ruthenium-Katalysator entwickelten GRUBBS¹¹ *et al.* im Jahr 1993 (vgl. Abbildung 2-21), dieser war weniger luft- und feuchtigkeitsempfindlich als seine Molybdän-Vorgänger.^[103] Diese Entdeckung legte den Grundstein für eine breite Anwendung der Olefinmetathese in der organischen Synthese. Im Laufe der Zeit wurde der Grubbs-Katalysator der 1. Generation weiterentwickelt und an die speziellen Bedürfnisse der immer spezifischer werdenden Anwendungen angepasst.^[104] Einige der heute meistverwendeten Katalysatoren sind in Abbildung 2-21 aufgeführt.^[102]

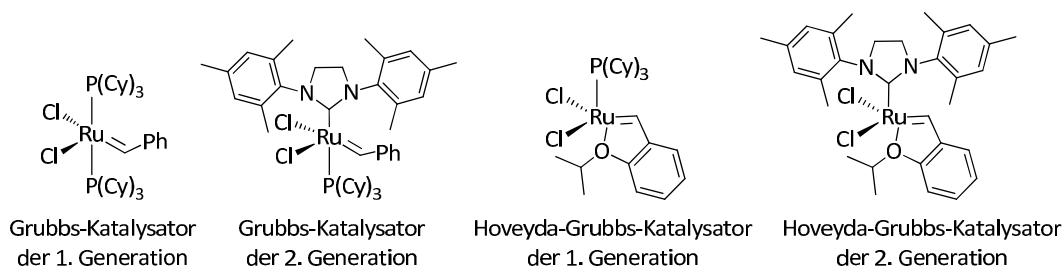


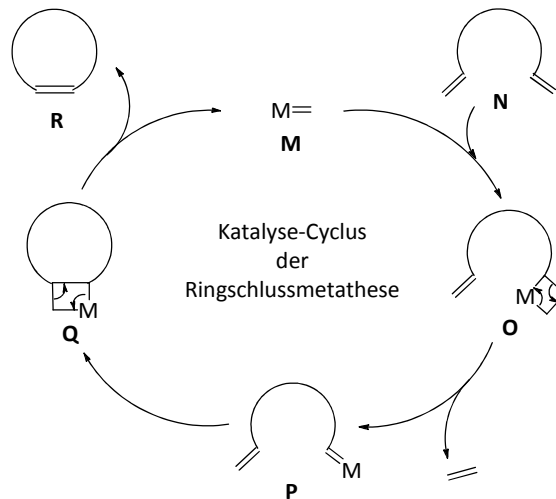
Abbildung 2-21 Grubbs- und Hoveyda-Grubbs-Katalysatoren.^[102]

Der Mechanismus ist für alle Olefinmetathesen im Prinzip gleich, in Schema 2-17 für die Ringschlussmetathese dargestellt. Aus dem Ruthenium-Carbenkomplex **M** und einem Olefin des Substrats **N** bildet sich über eine [2+2]-Cycloaddition ein Metalla-Cyclobutan (**O**), welches in einer Cycloreversion unter Abspaltung eines Olefins (z.B. Ethen) einen zweiten Ruthenium-Carbenkomplex bildet, bei dem das Ruthenium an das Substrat gebunden ist (**P**). Während einer zweiten [2+2]-Cycloaddition, dieses Mal intramolekular mit der zweiten Doppelbindung des Substrats, bildet sich ein nächstes Metalla-Cyclobutan aus (**Q**), welches nach Cycloreversion das ringgeschlossene Produkt **R** freisetzt und den Katalysator **M** rückbildet.^[101]

Für den Fall, dass während der Ringschlussmetathese kleine Ringe geschlossen werden (5-, 6-, 7-atomige Ringe), wird natürlicherweise immer die *cis*-Doppelbindung erhalten. Bei größeren Ringen entstehen in der Regel *E/Z*-Gemische, da die Metathese nicht unter Stereokontrolle abläuft.^[101] Außerdem handelt es sich bei dem gesamten Mechanismus um reversible Reaktionen, sodass die Reaktionsbedingungen wie Temperatur, Verdünnung, Stöchiometrie der Substrate etc. eine wichtige

¹¹ Yves Chauvin, Robert H. Grubbs, Richard R. Schrock, Chemie-Nobelpreis 2005 für „die Entwicklung der Metathese in der Organischen Chemie“

Rolle für die Produktbildung spielen. Da bei der Ringschlussmetathese nur die intramolekulare Reaktion ablaufen soll, muss in der Regel eine hohe Verdünnung vorliegen. Andernfalls kann auch eine Metathese zwischen zwei Substraten erfolgen, also eine Dimerisierung. Im Gegensatz dazu wählt man bei der ROMP eine niedrige Verdünnung, um genau das zu erreichen, nämlich die Reaktion zwischen zwei und mehr Molekülen zu Dimeren, Oligomeren und Polymeren.^[101]



Schema 2-17 Mechanismus der Ringschlussmetathese am Beispiel zweier terminaler Alkene.^[101]

Eine der ersten Anwendungen der Ringschlussmetathese zur Cyclisierung von Peptiden (vgl. Kapitel 2.4.1) war die Substitution von Disulfidbrücken in einem Protein durch eine C-C-Doppelbindung.^[105] Nachdem die Makrocyclisierung verschiedener Diallyl-Peptide nicht erfolgreich war, zeigten GRUBBS *et al.* im Jahr 1996, dass die Metathese eines Peptids gelingt, wenn das Peptid einem Disulfidbrücken-induzierten β -Turn nachempfunden ist. Abbildung 2-22 (a) zeigt die Aminosäuresequenz des aktiven Zentrums des Redoxenzym Glutaredoxin. Die β -Turn-Struktur wird durch die Disulfidbrücke und die Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert. Da letztere das Peptid auch vor der Disulfidverbrückung in eine β -Turn-artige Konformation bringt, konnte die Metathese des C-C-Doppelbindungsanalogons (b) gelingen (30 mol% Grubbs I, DCM, 0.004 M, 40 °C, 80 % Ausbeute).^[106] KAZMAIER *et al.* konnten später zeigen, dass nicht nur Peptide cyclisiert werden können, die Aminosäuren mit Allylseitenketten oder Allyletherseitenketten enthalten, sondern auch Allylester- und Allylcarbamat-haltige Peptide, also C- und N-terminal allylgeschützte Peptide. Dabei erzielten sie, wie erwartet, die besten Ergebnisse mit Prolin-haltigen Peptiden und isolierten nach eingehender Optimierung ausschließlich *trans*-Doppelbindungen.^[107]

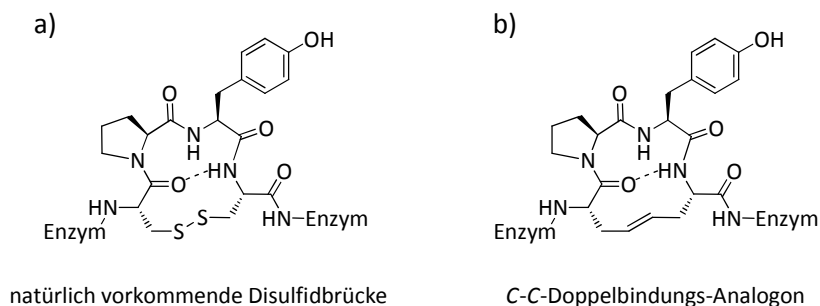


Abbildung 2-22 a) Eine Disulfidbrücke stabilisiert den β -Turn im Redoxenzym Glutaredoxin, b) C-C-Doppelbindungs-Analogon.^[106]

2. Kenntnisstand

Auch in der Totalsynthese von komplexen Naturstoffen wird die Ringschlussmetathese mittlerweile vielfach angewendet. Die zahlreichen Weiterentwicklungen bezüglich Selektivität, Toleranz funktioneller Gruppen und Reaktivität der Katalysatoren macht die Ringschlussmetathese zu einer aus der organischen Synthesechemie nicht mehr wegzudenkenden Methode, um kleine und große Ringe zu schließen. Ein beeindruckendes Beispiel liefert die Synthese von Ciguatoxin CTX3C, dessen Struktur in Abbildung 2-23 dargestellt ist. Gleich sechs Ringschlussmetathesen wurden durchgeführt, um sogar sehr ungünstige, mittelgroße Ringe (acht oder neun Atome) zu schließen.^[104]

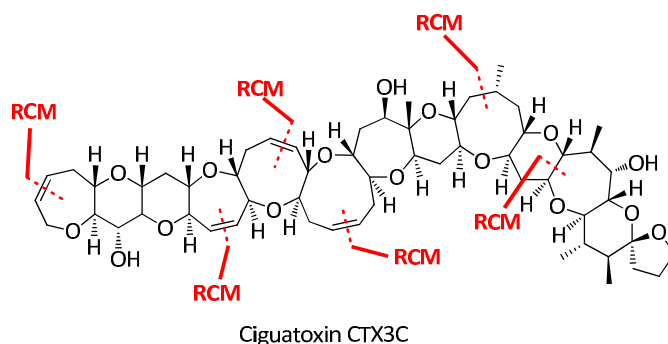
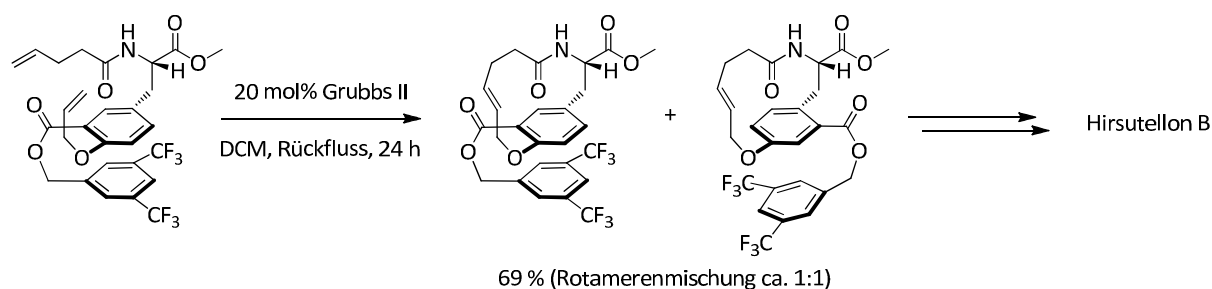


Abbildung 2-23 Sechs Ringschlussmetathesen als Schlüsselschritte in der Totalsynthese von Ciguatoxin CTX3C.^[104]

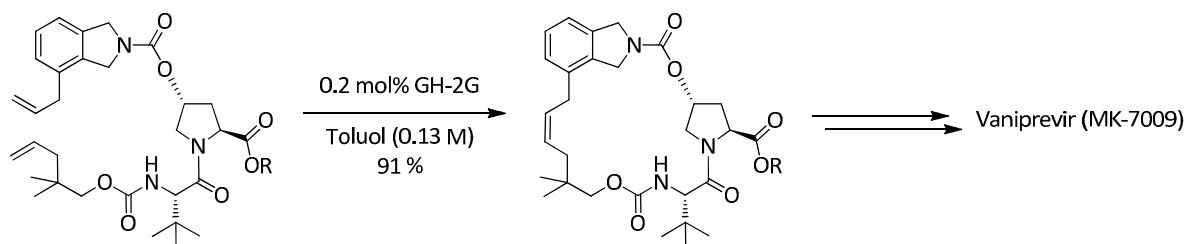
Ein Beispiel für die Cyclisierung eines mittelgroßen, sehr gespannten Ringsystems ist der Schlüsselschritt der Totalsynthese von Hirsutellon B. Wie Schema 2-18 zeigt, konnte hier ein 14-Ring geschlossen werden, der durch einen Aromaten einer großen Ringspannung ausgesetzt war. Die Ausbeute von 69 % ist die Gesamtausbeute für beide Rotamere, die aufgrund der eingeschränkten Drehbarkeit des aromatischen Systems im Ring im Verhältnis 1:1 auftraten. Die ausschließliche Bildung der *trans*-Doppelbindung, die durch die Kopplungskonstanten im ¹H-NMR-Spektrum verifiziert wurde, legte die Basis für die korrekte Stereochemie in der nachfolgenden intramolekularen Diels-Alder-Reaktion auf dem Weg zur Zielverbindung Hirsutellon B.^[108]



Schema 2-18 Ringschlussmetathese eines gespannten Ringsystems.^[108]

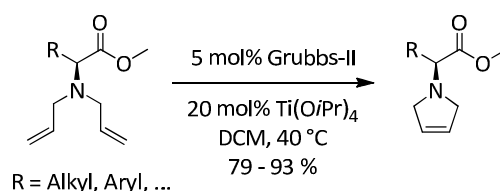
In der großtechnischen Synthese pharmazeutischer Wirkstoffe findet die Ringschlussmetathese bisher noch sehr wenig Anwendung.^[102] Das größte Problem stellt die Aufreinigung der Produkte dar, denn die Ruthenium-Katalysatoren lassen sich in den meisten Fällen nur sehr schwer vom Produkt der Metathese abtrennen, was vor allem bei der Herstellung von Wirkstoffen inakzeptabel ist. Eine neuere Forschungsrichtung beschäftigt sich daher mit der „Grünen Metathese“, also der nachhaltigen Verwendung von Katalysatoren und deren bestmöglicher Abtrennung von den Produkten der Metathesen.^[102] Mittlerweile sind viele Verfahren bekannt, um die Katalysatoren annähernd vollständig von den Produkten abtrennen zu können (bestenfalls max. 10 ppm Rest-Rutheniumgehalt). Auch die Immobilisierung, also die Verankerung des homogenen Ruthenium-

Katalysators auf einem Träger, stellt eine Möglichkeit zur optimalen Katalysatorabtrennung dar.^[102] Ein weiteres Problem beim Upscaling der Ringschlussmetathese ist die hohe Verdünnung, die in der Regel benötigt wird, um die Reaktion selektiv intramolekular ablaufen zu lassen. KONG *et al.* zeigten im Jahr 2012 in einem der wenigen Beispiele für die großtechnische Anwendung einer Ringschlussmetathese, dass dieses Problem durch langsames, simultanes Zutropfen von Substrat- und Katalysatorlösung umgangen werden kann. Dadurch konnte, wie in Schema 2-19 zu sehen, der 20-Ring des Wirkstoffs Vaniprevir (MK-7009), einem Hepatitis-C-Virus Protease Inhibitor, gebildet werden. Bemerkenswert sind dabei die sehr geringe Katalysatormenge (0.2 mol%) und die relativ hohe Konzentration der Reaktionslösung (0.13 M in Toluol).^[109]



Schema 2-19 Upscaling einer Ringschlussmetathese zur großtechnischen Herstellung des Wirkstoffs Vaniprevir (MK-7009), GH-2G = Grubbs-Hoveyda-Katalysator 2. Generation.^[109]

Ein weiterer Aspekt, der in diesem Zusammenhang angesprochen werden soll, ist die eingeschränkte Kompatibilität der Ringschlussmetathese mit einigen funktionellen Gruppen. Vor allem Lewis-Basen bereiten Probleme, da sie an den Katalysator koordinieren können und ihn damit inaktivieren. Metathesen mit Substraten, die wie die meisten Naturstoffe ein sterisch ungehindertes basisches Amin, ein Phosphin, ein Thiol, einen Pyridinrest, einen Harnstoff, ein Isonitril oder ähnliche funktionelle Gruppen enthalten, sind meist nicht erfolgreich.^[110] Diese müssen in der Regel geschützt (Amine z.B. als Carbamate) oder ganz vermieden werden. Es gibt auch Beispiele, bei denen die Schützung einesamins nicht notwendig ist, wenn beispielsweise dessen sterische Abschirmung so groß ist, dass das Amin dadurch nicht in die Koordinationssphäre des Rutheniums gelangt.^[111] Eine andere Möglichkeit, die Koordination einesamins an den Katalysator zu verhindern, ist die Zugabe von Säure, also die Bildung eines Ammoniumsalzes, welches mit den Reaktionsbedingungen der Metathese kompatibel ist.^[112] Da jedoch viele Naturstoffe säurelabil sind, wurde nach alternativen Methoden gesucht. Eine solche stellt die Zugabe der Lewis-Säure Titan-tetra-isopropoxid dar. Yu *et al.* gelang die Ringschlussmetathese von Diallylaminen mit dieser Methode epimerisierungsfrei mit Ausbeuten von 79–93 % (vgl. Schema 2-20).^[113]



Schema 2-20 Lewis-Säure vermittelte Ringschlussmetathese von Diallylaminen.^[113]

Aufgrund der großen Fülle an Beispielen für die teils sehr eindrucksvolle Anwendung der Ringschlussmetathese in der organischen Synthese von Naturstoffen konnten natürlich nicht alle Aspekte umfassend dargestellt werden. Daher sei an dieser Stelle auf aktuelle Übersichtsartikel verwiesen, die die neuesten Entwicklungen auf dem Gebiet der Metathese zusammenfassen,^[101,102,104] sowie eine Internetseite, die sich ausschließlich mit Fragen rund um die Olefinmetathese beschäftigt und ständig aktualisiert wird.^[110]

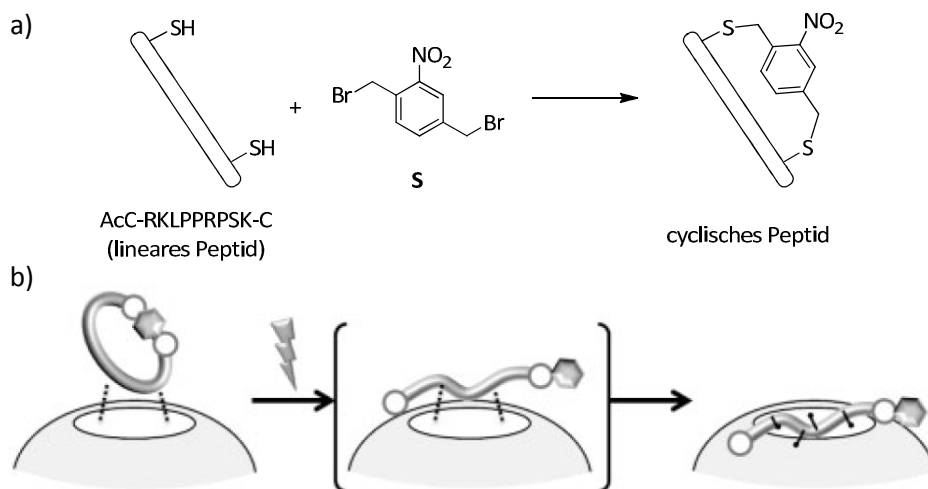
2. Kenntnisstand

2.4.3 Photolabile Cyclopeptide

Die Cyclisierung von Peptiden hat einige Vorteile, wie beispielsweise die erhöhte Stabilität gegenüber Proteasen (vgl. Kapitel 2.4.1).^[91] Soll ein Peptid mit biologischer Wirkung im Zellversuch verwendet werden, so sorgt die Cyclisierung dafür, dass es unbeschadet zum Rezeptor gelangt. Wird ein biologisch aktives, lineares Peptid cyclisiert, ändert sich seine Konformation jedoch meist so stark, dass sich die Aktivität drastisch verändert. Kann das Peptid, wenn es seinen Wirkort erreicht hat, wieder in seine offenkettige Form überführt werden, so kann es dort seine ursprüngliche Wirkung entfalten.

Eine Möglichkeit, ein Cyclopeptid innerhalb der Zelle von einer inaktiven in seine aktive Form zu überführen, besteht in der Verwendung einer photolabilen Schutzgruppe. Photolabile Schutzgruppen werden seit langer Zeit schon in biochemischen und physiologischen Versuchen erfolgreich verwendet. Vor allem die milden Abspaltungsbedingungen, einfache Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge, machen die Nutzung photolabiler Schutzgruppen für biochemische Zwecke so interessant (vgl. Kapitel 2.2.2 und 2.3).

Es gibt bisher noch sehr wenige Beispiele für die Verwendung einer photolabilen Schutzgruppe zur Cyclisierung eines Peptids. Ein solches stammt aus dem Jahr 2009 von TAKAHASHI *et al.*^[114] Diese untersuchten die Wechselwirkungen des linearen und des cyclischen Peptids AcC-RKLPPRPSK-C mit der Bindungsdomäne (SH3-Domäne) des Enzyms Phosphatidylinositol-3-Kinase (vgl. Schema 2-21). Die SH3-Domäne spielt eine wichtige Rolle bei Signalübertragungen und beim Cytoskelettaufbau. Peptide mit hohem Prolingehalt haben eine besonders hohe Bindungsaffinität zur SH3-Domäne, wie beispielsweise auch das Peptid RLP-1 (RKLPPRPSK). Um das Peptid cyclisieren zu können, wurden zwei Cysteineinheiten, jeweils C- und N-terminal, angehängt. Liegt das Peptid AcC-RKLPPRPSK-C cyclisiert vor, so ist die Bindungsaffinität zur SH3-Domäne durch die starke konformative Änderung schwächer als beim linearen Peptid. Durch Bestrahlung kann der photolabile Linker abgespalten werden, das lineare Peptid wird freigesetzt und die Bindungsaffinität erhöht sich wieder.^[114] Als Schutzgruppe wurde ein Derivat der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe verwendet. Die Cyclisierung über die Schutzgruppe erfolgte durch S_N -Reaktionen der beiden C- und N-terminalen Cysteinreste des Peptids mit dem Schutzgruppen-Precursor **S** (2,5-bis(Brommethyl)nitrobenzol).



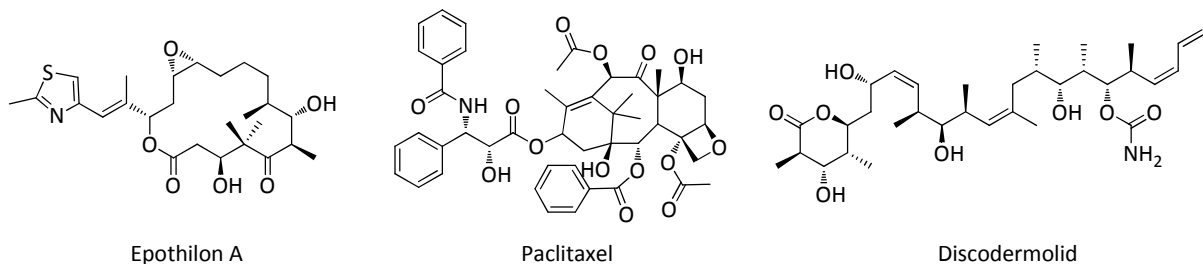
Schema 2-21 a) Cyclisierung eines linearen Peptids (AcC-RKLPPRPSK-C) über zwei Schutzgruppen-verknüpfte Cysteine, b) Aktivierung der Peptid-Protein-Wechselwirkung durch Belichtung.^[114]

2.5 Prätubulylin

2.5.1 Hintergrund

Schon seit vielen Jahren steht das Mikrotubuli-Netzwerk als Target für antimitotische Wirkstoffe im Fokus der Forschung.^[115] Während der Zellteilung, auch Mitose genannt, bildet sich ein Spindelapparat aus, der dafür sorgt, dass die Chromosomen geteilt und gleichmäßig auf die beiden neuen Zellen verteilt werden. Essentieller Bestandteil dieses Spindelapparats sind die Mikrotubuli, Polymere, die aus α - und β -Tubulin-Heterodimeren aufgebaut sind.^[116] Mikrotubuli weisen eine komplexe Polymerisationsdynamik auf, die durch antimitotische Wirkstoffe gestört wird. Die Wirkstoffe können an verschiedenen Domänen angreifen, wonach sie in zwei Gruppen eingeteilt werden können: Eine Gruppe stabilisiert die Mikrotubuli, wie beispielsweise Taxane, Discodermolid oder Etoposin, die anderen wirken destabilisierend auf die Mikrotubuli, wie zum Beispiel die Vinca-Alkaloide (Vinblastin, Vincristin etc.) oder Phomopsin (Abbildung 2-24).^[115] Die meisten dieser Wirkstoffe werden als *mono*-Therapeutika oder in Kombination mit anderen Chemotherapeutika verwendet und befinden sich größtenteils in klinischen Studien.^[117] Ein erheblicher Nachteil all dieser Verbindungen ist die eingeschränkte Verfügbarkeit aus natürlichen Quellen. Durch ihre sehr komplexen Strukturen ist auch die Totalsynthese meist nicht rentabel, sodass die für eine breit angelegte Krebstherapie benötigten Mengen nicht zur Verfügung stehen.^[117] Außerdem wird zunehmend von Resistenzen gegen diese Wirkstoffe berichtet^[118] und auch Neurotoxizitäten wurden bereits beobachtet.^[119]

Mikrotubuli-stabilisierende Wirkstoffe:



Mikrotubuli-destabilisierende Wirkstoffe:

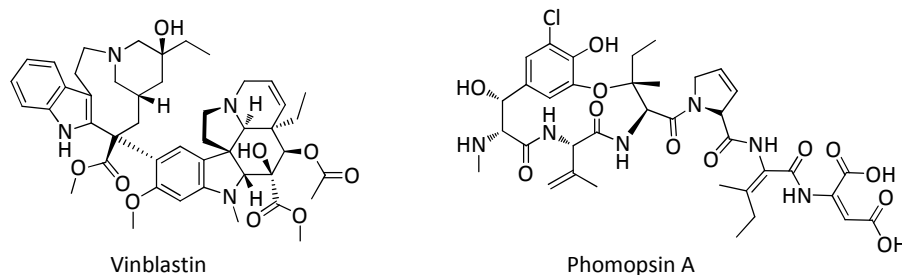


Abbildung 2-24 Mikrotubulistabilisierende und -destabilisierende Wirkstoffe.^[115]

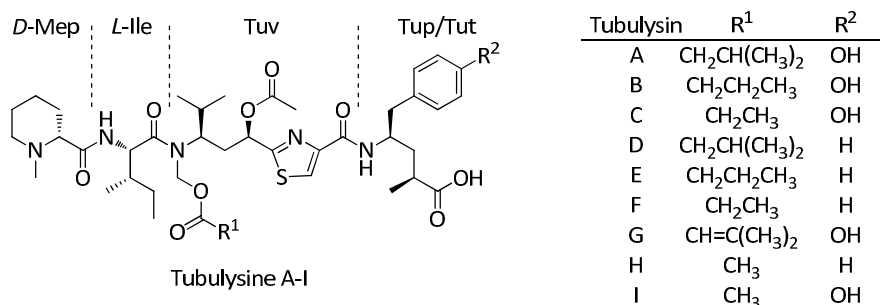
Sehr vielversprechend waren die Ergebnisse, die eine neue Substanzklasse erzielte: die Tubulysine. Sie zeigen hohe Antitumor-Aktivitäten,^[120] besonders auch gegen MDR-Tumore¹², inhibieren das Zellwachstum 20- bis 1000-fach stärker als Taxol oder Etoposin und zeigen anti-angiogenetische Wirkung.^[121] Tubulysine hemmen die Tubulin-Polymerisation, indem sie an die Vinca-Domäne des β -Tubulins binden und wirken somit destabilisierend auf die Mikrotubuli.^[122] Die Substanzklasse der

¹² *multi-drug resistant tumors* (Tumore, die gegen mehrere Wirkstoffe resistent sind)

2. Kenntnisstand

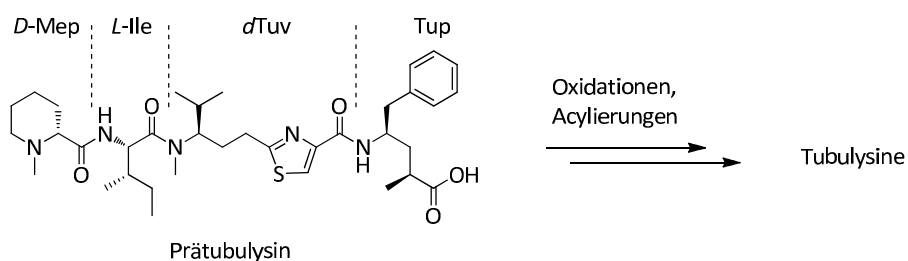
Tubulysine wurde erstmals im Jahr 2000 von SASSE *et al.* aus den Myxobakterienstämmen *Angiococcus disciformis* And48 und *Archangium gephyra* Ar315 isoliert.^[123] Bis zum Jahr 2009 waren neun Tubulysine (A–I) bekannt, 2010 entdeckten MÜLLER *et al.* in *Cystobacter SBCb 00423* und *Angiococcus Disciformis* 23 weitere Verbindungen, die der Tubulysin-Familie zugeordnet werden können.^[124,125]

Schema 2-22 zeigt die Struktur der Tubulysine A–I. Sie setzen sich zusammen aus vier Aminosäuren, nämlich *N*-(*D*)-Methylpipercolinsäure, der proteinogenen Aminosäure (*L*)-Isoleucin und den beiden unnatürlichen Aminosäuren Tubuvalin und Tubuphenylalanin bzw. -tyrosin. Die verschiedenen Tubulysine unterscheiden sich dabei lediglich in ihren Resten R¹ und R². Die *N,O*-Acetal-Seitenkette trägt einen Methyl- oder Alkylrest (R¹) und R² gibt an, ob Tubuphenylalanin oder Tubutyrosin in der Verbindung eingebaut ist. Auch wenn die Totalsynthese der Tubulysine auf den ersten Blick trivial erscheint, so birgt sie doch einige Herausforderungen. Das sehr labile *N,O*-Acetal stellt eine Schwierigkeit für die Synthese dar, ebenso wie die generell hohe Dichte an funktionellen Gruppen und Stereozentren. Die erste Totalsynthese von Tubulysin D wurde im Jahr 2006 von PELTIER *et al.* beschrieben.^[126] Mittlerweile sind einige Synthesen verschiedener Tubulysine und Tubulysin-Derivate bekannt.^[127]



Schema 2-22 Struktur der Tubulysine A–I.^[120]

Aufgrund der recht aufwändigen Synthese der Tubulysine wurde nach strukturell ähnlichen, aber einfacher zu synthetisierenden und gleichermaßen potenten Alternativen gesucht. Im Zusammenhang mit der Aufklärung der Biosynthese der Tubulysine wurde die Synthese des Prätubulysins von ULLRICH *et al.* entwickelt.^[120] Prätubulysin ist eine Biosynthesestufe der Tubulysine, die durch Oxidationen und Acylierungen in die Zielverbindungen überführt werden kann. Die Struktur des Prätubulysins, in Schema 2-23 dargestellt, weist daher einige Vereinfachungen im Vergleich zu der Struktur der Tubulysine auf. Hier ist *d*Tuv eingebaut, die *desacetoxy*-Form des Tubuvalins, und statt des *N,O*-Acetals liegt lediglich ein *N*-methyliertes Amid vor. Die Synthese, die ausführlich im nächsten Abschnitt beschrieben wird, ist somit relativ einfach und es stehen große Mengen an Substanz für umfangreiche Tests zur Verfügung. Die Schwierigkeit, dass nicht genug Material vorhanden ist, wie im Fall all der anderen antimittotischen Wirkstoffe, besteht damit nicht.



Schema 2-23 Prätubulysin, eine Biosynthesestufe der Tubulysine.^[120]

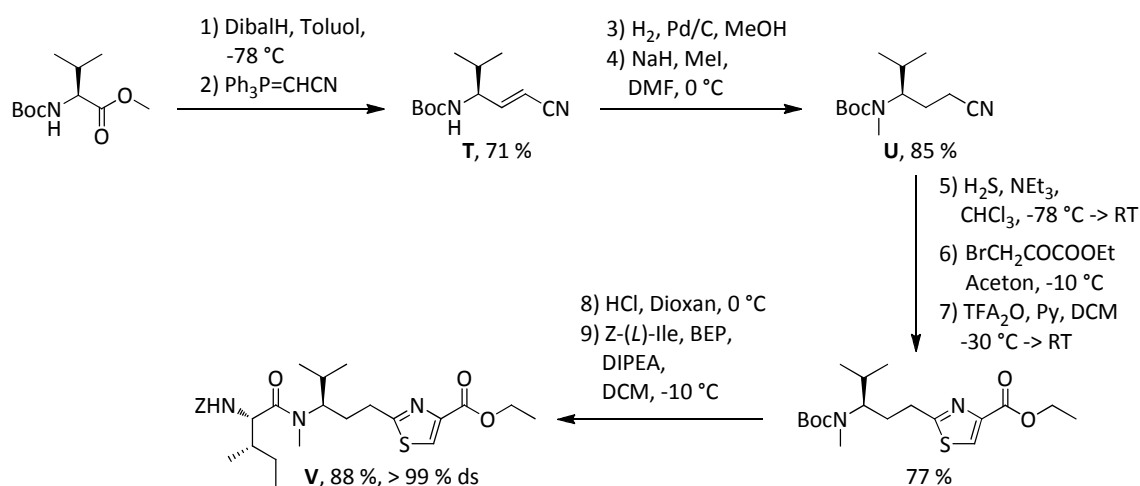
Zunächst wurde Prätubulysin in Bezug auf seine Cytotoxizität gegenüber verschiedenen Krebszelllinien getestet, um diese mit den Aktivitäten der Tubulysine zu vergleichen. Wie in Tabelle 2-2 gezeigt, waren die Werte für Prätubulysin um eine bis zwei Zehnerpotenzen geringer, lagen aber immer noch im nanomolaren Bereich.^[120] Mittlerweile wurden ausführliche Studien zur Wirkung des Prätubulysins betrieben. Neueste Untersuchungen zeigten, dass sowohl Prätubulysin als auch vereinfachte Derivate hochpotent gegenüber vielen Krebszelllinien sind^[128] und antiangiogene Wirkung besitzen.^[129,130] Nicht nur *in vitro*, sondern auch *in vivo* entfalten sie eine hohe Aktivität und hemmen die Metastasierung und das Tumorwachstum.^[115,131]

Tabelle 2-2 Aktivität des Prätubulysins und der Tubulysine A und D gegenüber verschiedenen Krebszelllinien, IC₅₀-Werte [ng/ml] aus MTT-Assay.^[120]

Zelllinie	Tubulysin A	Tubulysin D	Prätubulysin
HL-60 ¹³	0.01	0.006	0.03
L929 ¹⁴	0.19	0.015	6.5
U937 ¹⁵	0.003	0.0004	0.08

2.5.2 Synthese des Prätubulysins

Die Totalsynthese des Prätubulysins wurde von Angelika Ullrich (Arbeitskreis Kazmaier, Universität des Saarlandes) ausgearbeitet und im Jahr 2009 veröffentlicht.^[132,120] Zunächst wurden die Bausteine **V** und **Y** hergestellt und im Anschluss zum Prätubulysin gekuppelt. Die Synthese des geschützten Dipeptids „Isoleucin-*desacetoxy*Tubuvalin“ (**V**) ging von Boc-(L)-Valinmethylester aus (vgl. Schema 2-24). Auf eine DibalH-Reduktion mit anschließender Wittig-Olefinierung zu **T** folgten die Reduktion der Doppelbindung und *N*-Methylierung zum verlängerten Cyano-Valin-Derivat **U**. Nach Umsetzung zum Thioamid und einer abgewandelten Hantzsch-Thiazolsynthese wurde Boc-entschützt und mit *Z*-(L)-Isoleucin gekuppelt. Produkt **V** konnte mit einer guten Ausbeute von 41 % über neun Stufen und einer Diastereoselektivität von > 99 % erhalten werden.



Schema 2-24 Synthese des Isoleucin-*desacetoxy*Tubuvalin-Bausteins.^[132]

¹³ Humane akute myeloische Leukämie

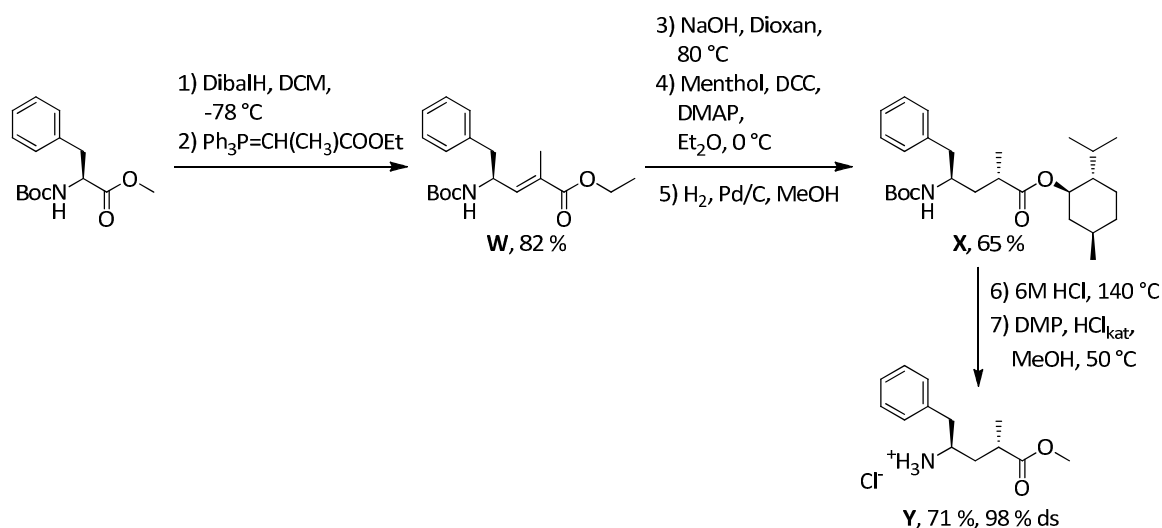
¹⁴ Bindegewebsfibroblasten der Maus

¹⁵ humanes histiozytisches Lymphom

2. Kenntnisstand

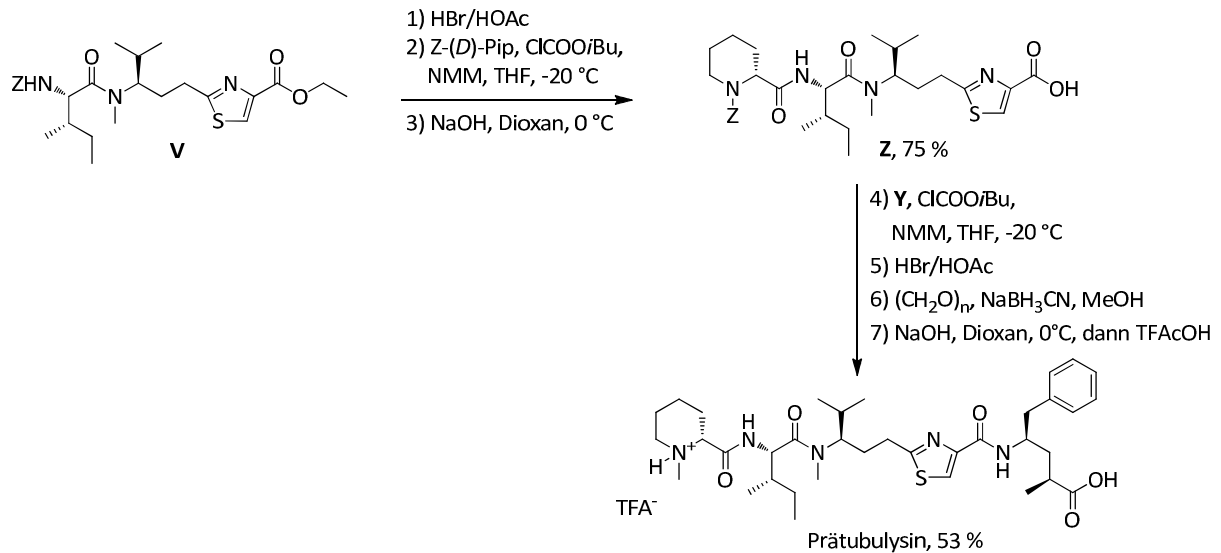
Bei der Synthese des Tubuphenylalanins ergaben sich mehrere Probleme.^[116] Zum einen zeigte Boc-(L)-Phenylalaninmethylester nach der Reduktion zum Aldehyd vollständige Racemisierung, was dadurch umgangen werden konnte, dass der Aldehyd nicht isoliert, sondern *in situ* in einer Wittig-Reaktion umgesetzt wurde (**W**, Schema 2-25). Zum anderen war es schwierig, bei der Hydrierung der Doppelbindung eine hohe Diastereoselektivität zu erreichen. Sowohl homogene als auch heterogene Katalyse lieferten keine befriedigenden Ergebnisse. Auch die Einführung der Methylgruppe durch Enolat-Alkylierung (*via* Evans-Auxiliar) führte nicht zum Erfolg. Umkristallisation der hydrierten und verseiften Verbindung **W** mit Phenylethylamin erzielte immerhin eine Anreicherung des (*R*)-Methylisomeren (dr 6:1). Erfolg brachte schließlich die Veresterung mit (–)-Menthol. Nach Hydrierung der Doppelbindung (**X**) konnten die Diastereomere säulenchromatographisch getrennt werden. Boc-Entschützung und Bildung des Methylesters führte schließlich zum Produkt **Y**.

In der Zwischenzeit wurde von Dominic Becker (Arbeitskreis Kazmaier, Universität des Saarlandes) eine alternative Synthesemethode entwickelt, die ebenfalls mit hervorragender Diastereoselektivität zum Tubuphenylalaninmethylester-Hydrochlorid führt. Schlüsselschritt ist hier eine Ireland-Claisen-Umlagerung, mit deren Hilfe das α -Stereozentrum aufgebaut wird. Decarboxylierung und Ozonolyse schließen sich an und man erhält das Produkt nach sieben Stufen mit einem Diastereomerenverhältnis von > 97:3.^[133]



Schema 2-25 Synthese des Tubuphenylalanins.^[132]

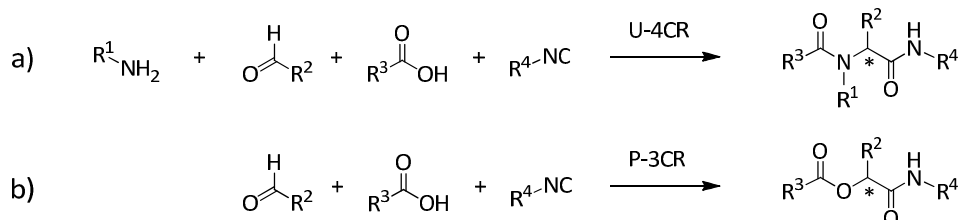
Ausgehend von Dipeptid **V** wurde nach Z-Entschützung mit HBr/Eisessig die *N*-terminale Aminosäure, Z-(*D*)-Pipicolinsäure, über die Methode des gemischten Anhydrids gekuppelt (vgl. Schema 2-26). Danach wurde der *C*-Terminus verseift (**Z**), ebenfalls als gemischtes Anhydrid aktiviert und mit Tubuphenylalaninmethylester-Hydrochlorid (**Y**) zum Tetrapeptid umgesetzt. Die Entschützung der Z-Schutzgruppe wurde wieder mit HBr/Eisessig durchgeführt und das entstandene sekundäre Amin der Pipicolinsäureeinheit wurde mittels reduktiver Aminierung mit Paraformaldehyd und Natriumcyanoborhydrid in die *N*-Methyl-Verbindung überführt. Verseifung des Methylesters und saure Aufarbeitung mit Trifluoressigsäure lieferte schließlich die Zielverbindung Prätubulysin als TFA-Salz.^[116,120,132]



Schema 2-26 Verknüpfung der zuvor hergestellten Aminosäuren zum Prätubulylin.^[132]

2.6 Ugi-Reaktion und Tubugis

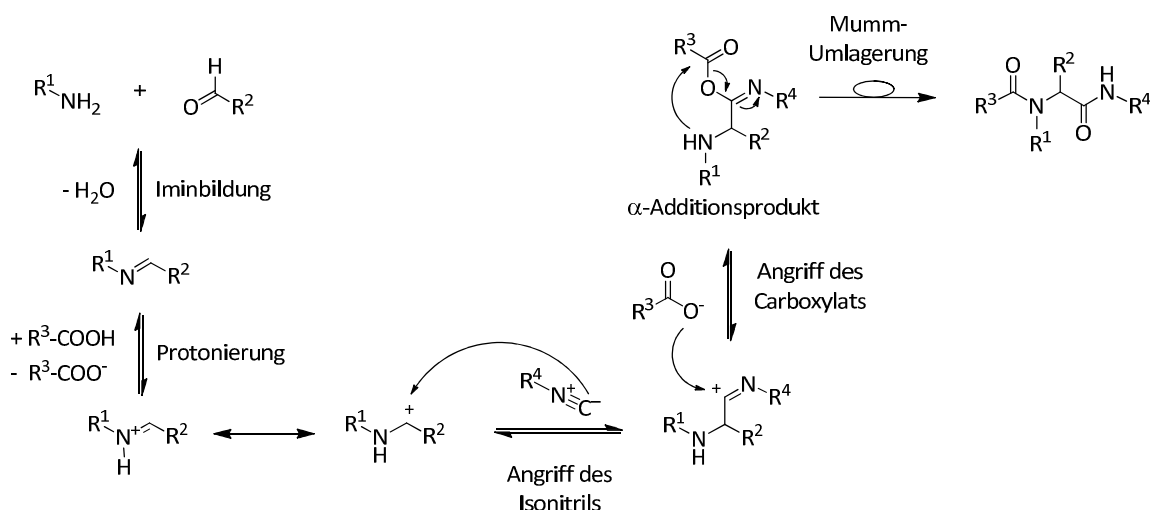
Viele Naturstoffe, die wie die Tubulyline als potenzielle Wirkstoffe für die Krebstherapie oder andere Anwendungen in Frage kommen, sind Peptide. Daher ist es unerlässlich, dass einfache und effiziente Darstellungsmethoden für peptidische Strukturen zur Verfügung stehen. Eine solche Gruppe von Reaktionen gehört zu den Isonitril-basierten Mehrkomponentenreaktionen, sehr bekannt sind hierbei die Ugi- und die Passerini-Reaktion.^[134] Die Ugi-Reaktion ist eine Vierkomponentenreaktion (U-4CR), bei der ein Amin, eine Carbonylverbindung (Aldehyd oder Keton), eine Säure und ein Isonitril in perfekter Atomökonomie und meist mit hervorragenden Ausbeuten zu einem Peptid reagieren (Schema 2-27, a). Es entsteht dabei ein Stereozentrum, welches aus der Reaktion prinzipiell racemisch hervorgeht.^[135] Neuere Forschungen beschäftigen sich jedoch mit der stereoselektiven Variante der Ugi-Reaktion.^[136] Der Unterschied zur Passerini-Reaktion, einer Dreikomponentenreaktion (P-3CR), liegt darin, dass dort kein Amin benötigt wird. Carbonylverbindung, Säure und Isonitril reagieren zu einer Peptoid-Struktur, bei der eine Amid- durch eine Esterbindung ersetzt wird (Schema 2-27, b). Auch hier entsteht ein Stereozentrum, welches durch asymmetrische Synthese beeinflusst werden kann.^[137]



Schema 2-27 Bruttoreaktionsgleichungen: a) Ugi-Reaktion (U-4CR), b) Passerini-Reaktion (P-3CR).^[134]

2. Kenntnisstand

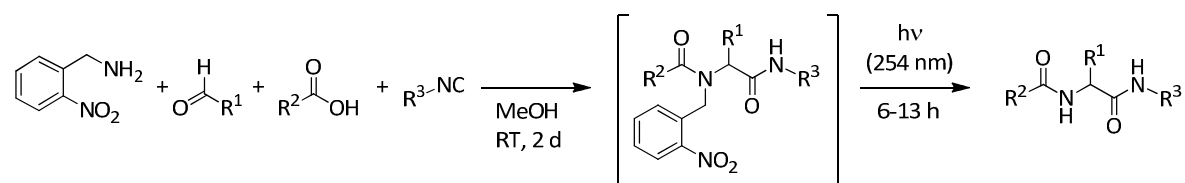
Der Reaktionsmechanismus der Ugi-Reaktion setzt sich aus einer Reihe von Gleichgewichtsreaktionen zusammen, die durch den letzten Schritt, einer irreversiblen Umlagerung, zur Produktseite hin verschoben werden. Zunächst bilden Amin und Carbonylverbindung, in Schema 2-28 für einen Aldehyd gezeigt, ein Imin, welches von der Säure protoniert wird. Das sehr reaktive Iminiumion wird vom carbenoiden Kohlenstoff des Isonitrils angegriffen, der dann wiederum mit dem Carboxylat zu einem sogenannten α -Additionsprodukt reagiert. Durch Angriff des Amin-Stickstoffs am Carboxyl-Kohlenstoff findet dann die irreversible Mumm-Umlagerung statt, die schließlich zum Ugi-Produkt, einem Dipeptid, führt.^[134]



Schema 2-28 Allgemeiner Reaktionsmechanismus der Ugi-Reaktion.^[134]

Besitzt mindestens eine der Komponenten ein Stereozentrum, so entstehen in der Regel Diastereomere, da der aus dem Aldehyd stammende Rest (R^2) racemisch vorliegt. Einen Sonderfall stellt die Verwendung von Formaldehyd als Carbonylkomponente dar. Hier ist der Rest R^2 ein Wasserstoffatom, daher entsteht kein neues Stereozentrum.^[138] Ein weiterer Aspekt der Reaktionsplanung liegt in der Verwendung desamins. Beim Einsatz einfach alkylsubstituierter Amine, was den Regelfall darstellt, gelangt man am Ende zu einem *N*-alkylierten Dipeptid. Soll ein *N*-unsubstituiertes Amid erhalten werden, so führt die Verwendung von Ammoniak als Aminkomponente zum Ziel, was sich präparativ oft nicht einfach gestaltet.^[139,140] Eine sehr elegante Methode, bei der kein gasförmiger oder flüssiger Ammoniak eingesetzt werden muss, ist die Verwendung des Ammoniumsalzes der Säurekomponente, zum Beispiel Ammoniumbenzoat anstelle von Ammoniak und Benzoesäure.^[141]

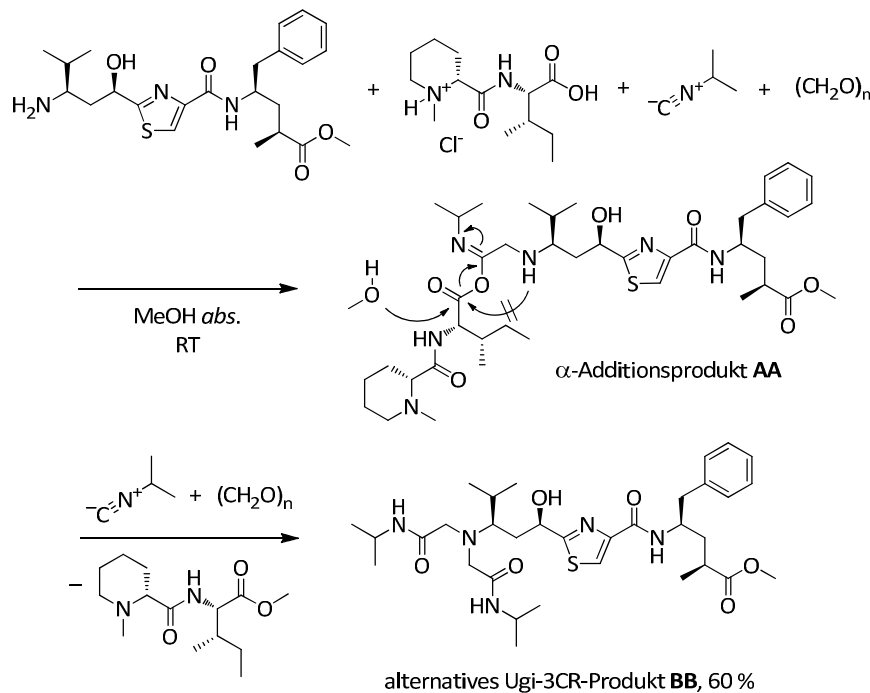
Eine weitere Möglichkeit, ein *N*-unsubstituiertes Dipeptid zu erhalten, ist die Verwendung von *o*-Nitrobenzylamin als Ammoniak-Äquivalent.^[142] Schema 2-29 zeigt die allgemeine Reaktionsgleichung dieses Konzepts. Als Aminkomponente wird *o*-Nitrobenzylamin verwendet, welches mit einem Aldehyd, einer Säure und einem Isonitril zum Ugi-Produkt abreagiert. Die photolabile Seitenkette des Amids kann dann durch Bestrahlung bei 254 nm abgespalten werden.



Schema 2-29 Ugi-Reaktion mit *o*-Nitrobenzylamin als photolabilem Ammoniak-Äquivalent.^[142]

Grundsätzlich können bei der Ugi-Reaktion zahlreiche Nebenreaktionen eine Rolle spielen.^[141] Ist die Iminbildung bei der Ugi-Reaktion nicht schnell genug, kann das entsprechende Passerini-Produkt entstehen. Auch die Reaktivitäten der Säure und des Isonitrils sind entscheidend für die Produktbildung. Großen Einfluss hat außerdem das Lösungsmittel, wobei in der Regel protische Lösungsmittel eingesetzt werden, die die ionischen Zwischenstufen stabilisieren können. Meist werden Methanol, Ethanol oder Trifluorethanol eingesetzt.^[134] Das Lösungsmittel kann allerdings auch durch Reaktion mit einer Zwischenstufe aktiv in den Reaktionsmechanismus eingreifen und zu einer Nebenproduktbildung führen, was in den nächsten Abschnitten an einem aktuellen Beispiel verdeutlicht wird.

Da Peptide also grundsätzlich Targetmoleküle für die Ugi-Reaktion sind, besonders, wenn sie *N*-alkyliert sind, lag es nahe, auch die Tubulysine mittels Ugi-Reaktion aufzubauen. Der erste und bisher einzige Versuch dazu wurde im Jahr 2011 von WESSJOHANN *et al.* beschrieben.^[143] Sie stellten zunächst zwei Dipeptide her, nämlich Tuv-Tup-OMe und (*D*)-Mep-(*L*)-Ile-OH. Letzteres wurde durch eine Mehrkomponentenreaktion, eine Ugi-Nenajdenko-3CR, als Hydrochlorid-Salz erhalten und wurde als Säurekomponente in der Ugi-Reaktion eingesetzt. Als Amin diente das Dipeptid Tuv-Tup-OMe, als Isonitril wurde Isopropylisocyanid und als Aldehyd wurde Paraformaldehyd verwendet.

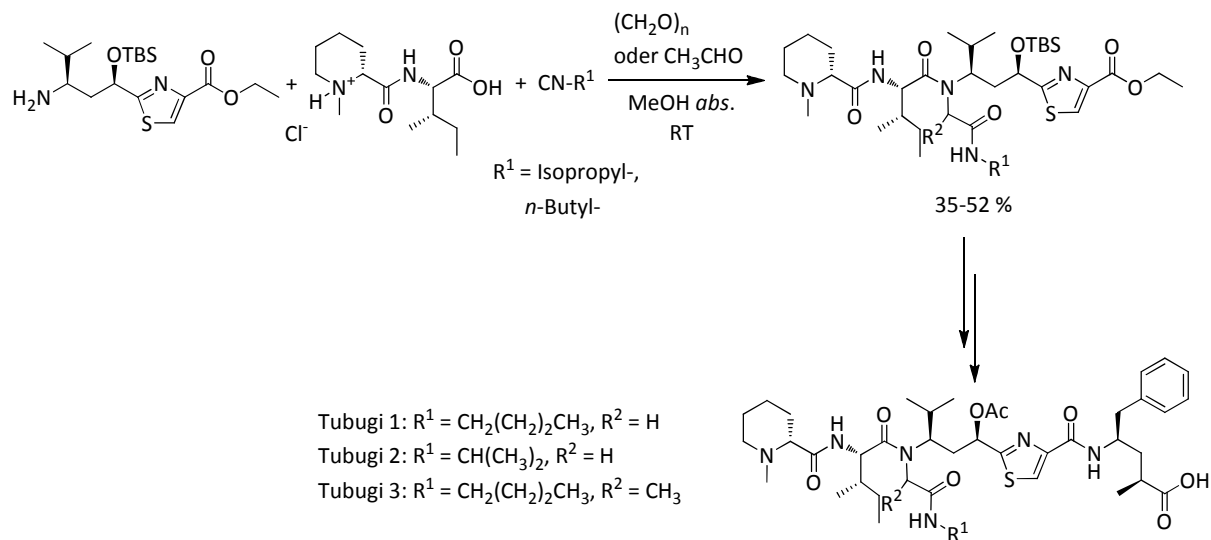


Schema 2-30 Ugi-Reaktion zum alternativen „Doppel-Isonitril-Additions-Produkt“ **BB**.^[143]

Schema 2-30 zeigt den ersten Versuch, bei dem die oben erwähnten Komponenten miteinander umgesetzt wurden. Es wurden sowohl die Imin-Bildung als auch der Angriff von Isonitril und Säure beobachtet, was zum α -Additionsprodukt **AA** führte. Die Mumm-Umlagerung war jedoch so langsam, dass Methanol, das Lösungsmittel der Reaktion, am C-Terminus der Säure angreifen konnte. Es wurden ein Amid und der Methylester (*D*)-Mep-(*L*)-Ile-OMe abgespalten. Nach einem weiteren Angriff von Aldehyd und Isonitril wurde das Produkt **BB**, ein „Doppel-Isonitril-Additions-Produkt“ als alternatives Ugi-Produkt mit einer Ausbeute von 60 % isoliert. Diese Nebenproduktbildung konnte nur unterdrückt werden, wenn statt des Dipeptids Tuv-Tup-OMe die Aminosäure Tuv-OMe als Amin eingesetzt wurde. Außerdem musste das Isonitril extrem langsam zu der Reaktionslösung getropft

2. Kenntnisstand

werden, sodass immer nur soviel α -Additionsprodukt **AA** vorlag, wie in der Mumm-Umlagerung abreagieren konnte. Damit sollte ein Überschuss an Isonitril vermieden werden, der unweigerlich zur Bildung des Nebenprodukts führen würde. Schema 2-31 zeigt, dass die Ugi-Produkte für zwei verschiedene Isonitrile und sowohl für Paraformaldehyd als auch Acetaldehyd mit mäßig guten Ausbeuten von 35–52 % isoliert werden konnten. Nachteil war jedoch, dass nach der Ugi-Reaktion weitere Syntheseschritte notwendig waren, um die Tubulyisin-Derivate, auch „Tubugi 1–3“ genannt, zu erhalten.



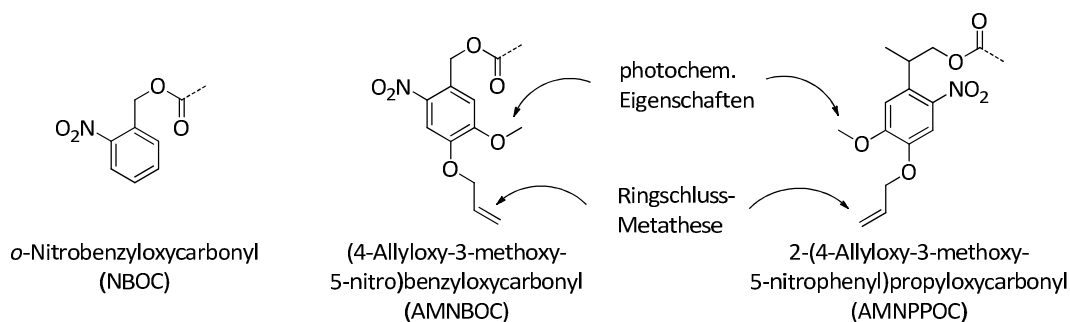
Schema 2-31 Synthese der „Tubugi 1–3“. ^[143]

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Entwicklung neuer photolabiler Schutzgruppen – Synthese und Abspaltung

3.1.1 Allgemeine Einführung und Zielsetzung

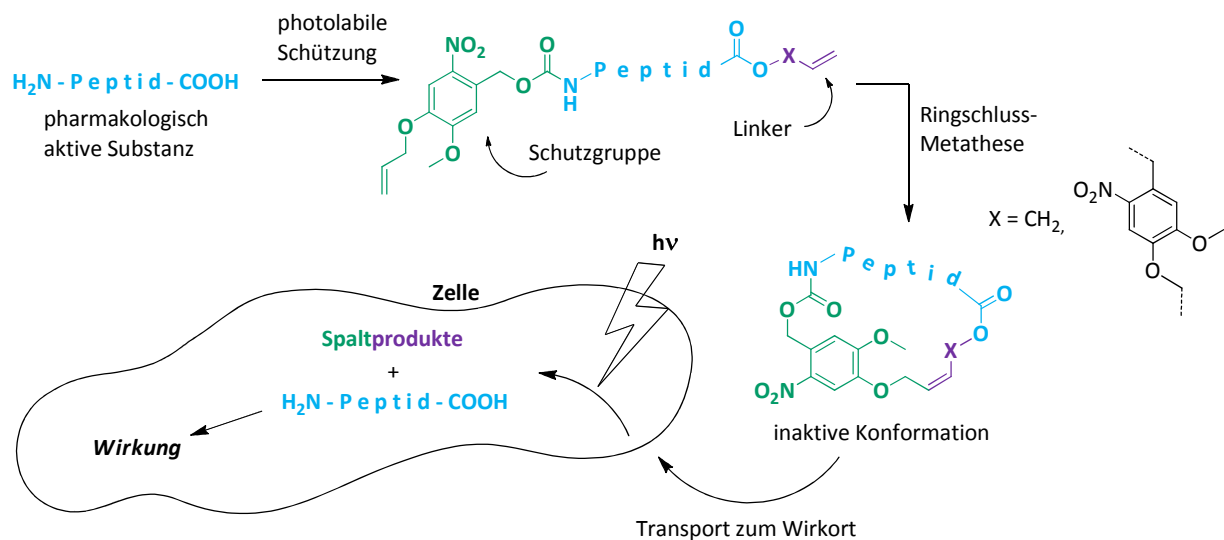
In der Einleitung (Kapitel 1) wurde bereits die Zielsetzung dieser Dissertation vorgestellt: Es soll ein System erarbeitet werden, mit dessen Hilfe pharmakologisch wirksame Substanzen in der Weise modifiziert werden können, dass sie inaktiv werden und ihre Wirkung erst entfalten, wenn sie mit Licht einer möglichst langen Wellenlänge bestrahlt werden. Im Zuge dieser Arbeit wurde der Ansatz verfolgt, das Pharmakon mit einer photolabilen Schutzgruppe zu schützen und über diese Schutzgruppe und einen Linker, der an anderer Stelle im Molekül angebracht werden sollte, zu cyclisieren. Die daraus resultierende Konformationsänderung sollte den Wirkstoff inaktivieren. Die Voraussetzung, die eine solche photolabile Schutzgruppe erfüllen muss, ist zum einen die Absorption bei möglichst langer Wellenlänge, also nahes UV oder noch energieärmer. Zum anderen muss die Schutzgruppe eine terminale Doppelbindung besitzen, damit später eine Ringschlussmetathese durchgeführt werden kann, die zur Cyclisierung führt. Schema 3-1 zeigt eine schon seit den 1960er Jahren bekannte und vielgenutzte photolabile Schutzgruppe,^[19] die einfachste aus der Gruppe der *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen (*o*-Nitrobenzyloxycarbonyl, NBOC). Da bekannt ist, dass Substituenten mit elektronenschiebenden Eigenschaften in *meta*- oder *para*-Position das Absorptionsmaximum zu längeren Wellenlängen verschieben,^[25] sollte für unsere Zwecke ein Methoxy-Substituent und ein Allyloxy-Substituent an der Schutzgruppe angebracht werden, wobei der Allyloxy-Substituent gleichzeitig die für die Metathese benötigte Doppelbindung liefert. Die so erhaltene Schutzgruppe „(4-Allyloxy-3-methoxy-5-nitro)benzyloxycarbonyl“ wurde mit dem Kürzel „AMNBOC“ versehen. Eine zweite, um eine CH_2 -Gruppe verlängerte und in Benzyl-Position Methylsubstituierte Schutzgruppe „2-(4-Allyloxy-3-methoxy-5-nitrophenyl)propyloxycarbonyl“, wird ab sofort mit „AMNPPOC“ abgekürzt. Diese alternative Schutzgruppe ist als „NPPOC“ (2-(2-Nitrophenyl)propyloxycarbonyl), also ohne die beiden elektronenschiebenden Substituenten, ebenfalls literaturbekannt und soll bessere photochemische Eigenschaften aufweisen und somit schneller abspaltbar sein. Außerdem unterscheiden sich die beiden Schutzgruppen in ihren Spaltprodukten (siehe Kapitel 2.2.1).



Schema 3-1 Bereits bekannte photolabile Schutzgruppe (NBOC)^[19] und neue photolabile Schutzgruppen (AMNBOC und AMNPPOC).

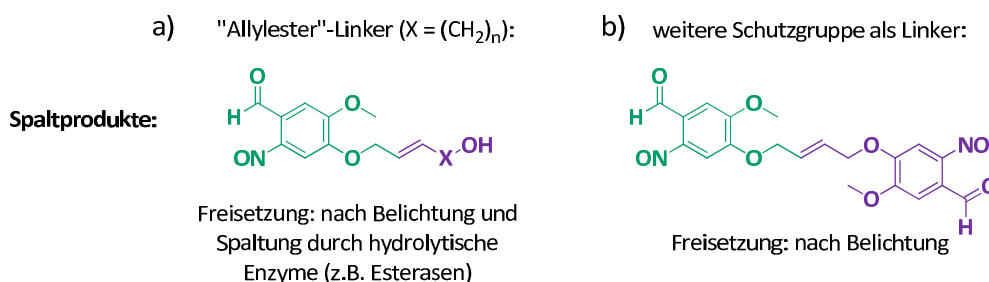
3. Ergebnisse und Diskussion

Wirft man nun noch einmal einen Blick auf das Konzept der photolabilen cyclisierten Wirkstoffe, so wird klar, dass deren Synthese grob in zwei Abschnitte unterteilt werden kann: die Synthese der photolabil geschützten, offenkettigen Substanz und die anschließende Ringschlussmetathese (Schema 3-2). Dabei eignen sich Peptide hervorragend für die Anwendung dieses Konzepts, denn die Derivatisierung des Wirkstoffs, sei es die Anbringung des Linkers oder der photolabilen Schutzgruppe, benötigt eine funktionelle Gruppe. Peptide können entweder über den C- und den N-Terminus oder aber über eine Funktionalität in einer Seitenkette derivatisiert werden. Wichtig ist, dass sich die Konformation nach der Cyclisierung über Linker und Schutzgruppe so stark ändert, dass das Molekül möglichst viel von seiner Aktivität einbüßt. Nach dem Transport in die Zelle wird dann, wie bereits erläutert, der aktive Wirkstoff durch Belichtung freigesetzt.



Schema 3-2 Konzept: Prinzipielle Synthese der cyclisierten Substanz und Aktivierung in der Zelle.

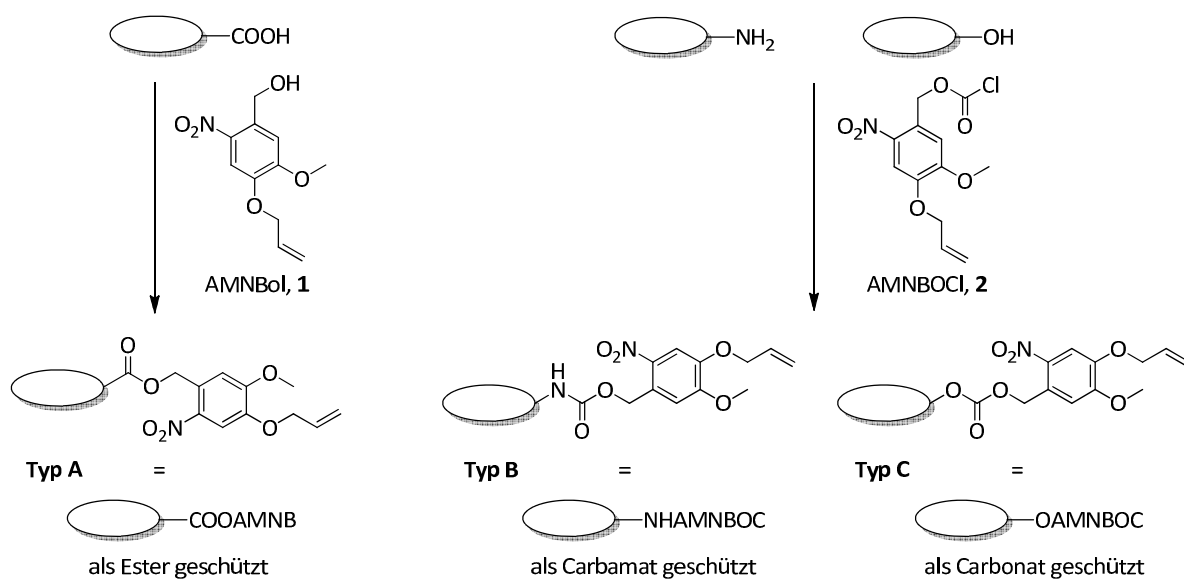
Der bereits erwähnte Linker kann entweder eine weitere photolabile Schutzgruppe sein oder aber ein Allyl-/Homoallyl- oder ein längerer ungesättigter Ester. Der Ester soll dann in der Zelle selbst von dort vorhandenen Esterasen gespalten werden, um den Wirkstoff freizusetzen. Das bei der Belichtung neben dem aktivierten Peptid freigesetzte Spaltprodukt setzt sich also zusammen aus dem Linker (als freiem Alkohol nach der Hydrolyse) und dem über die Doppelbindung daran gebundenen *o*-Nitrosobenzaldehyd-Derivat der Schutzgruppe (Schema 3-3, a). Wird als Linker eine zweite photolabile Schutzgruppe eingesetzt, besteht das Spaltprodukt aus zwei über eine Doppelbindung verbundenen *o*-Nitrosobenzaldehyd-Derivaten (Schema 3-3, b).



Schema 3-3 Spaltprodukte nach der Belichtung: a) Allylester als Linker, b) Schutzgruppe als Linker.

Im Zuge dieser Arbeit sollten drei verschiedene funktionelle Gruppen photolabil geschützt werden: Säuren (Typ A), Amine (Typ B) und Alkohole (Typ C), in Schema 3-4 dargestellt für die AMNB-Schutzgruppe. Während Säuren durch einfache Veresterung mit dem Schutzgruppen-Benzylalkohol AMNBol (**1**) als Ester geschützt werden können, sollten Amine und Alkohole durch Reaktion mit dem Chloroformiat der Schutzgruppe (AMNBOCI, **2**) als Carbamat bzw. Carbonat geschützt werden. Denkbar ist natürlich auch die Derivatisierung ähnlicher funktioneller Gruppen, wie bspw. die Schützung von Thiolen oder Silanolen. Diese würde analog zur Alkohol-Schützung erfolgen, aus diesem Grund wird darauf nicht näher eingegangen werden.

In den folgenden Abschnitten sollen also nun die Synthese der photolabilen Schutzgruppen selbst (Kapitel 3.1.2 und 3.1.6) sowie die Derivatisierung des C- und des N-Terminus einiger Modellpeptide vorgestellt werden (Kapitel 3.1.3). Es wurden umfassende Untersuchungen zur Optimierung der Schütungen sowie der Ringschlussmetathese angestellt (Kapitel 3.1.4). Mit den so erhaltenen photolabil geschützten Peptiden sollten im Anschluss Belichtungen durchgeführt werden, um nachzuweisen, dass die neu entwickelten Schutzgruppen tatsächlich photolabil sind. Dazu sollte eine analytische Methode etabliert werden, die es erlaubt, den Fortschritt der Belichtungen *on-line* zu verfolgen, ohne die Belichtungsreaktionen abubrechen (Kapitel 3.1.5). Den Abschluss des ersten Teils bilden Versuche zur Ermittlung der maximal möglichen Ringgröße der photolabil geschützten Cyclen (Kapitel 3.1.7).

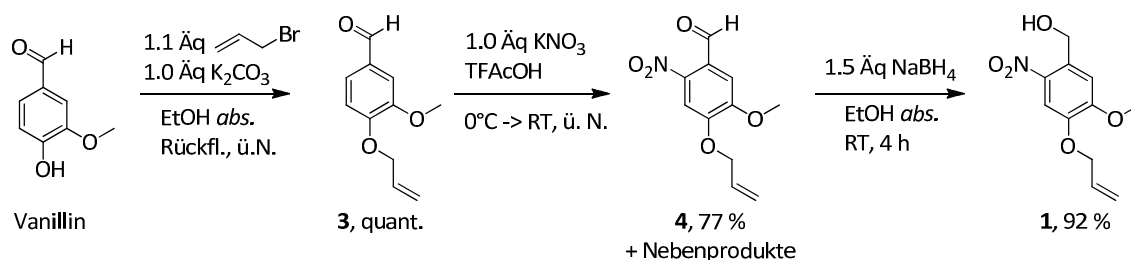


Schema 3-4 Photolabile Schützung einer Säure (als Ester), eines Amins (als Carbamat) und eines Alkohols (als Carbonat) mit AMNBol (**1**) oder dessen Chloroformiat **2**.

3.1.2 Synthese der photolabilen Schutzgruppe AMNBol (**1**)

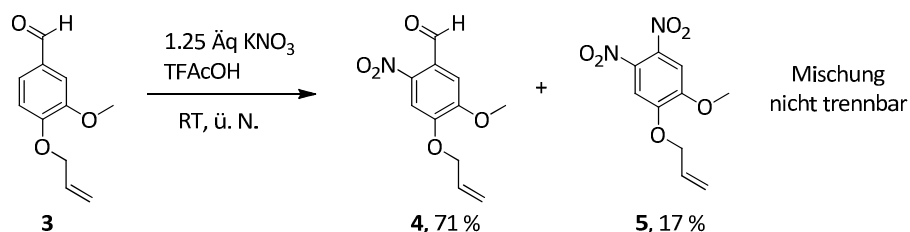
Die Synthese der Schutzgruppen AMNBol (**1**) und AMNBOCI (**2**) waren bereits aus meiner Diplomarbeit bekannt.^[144] Die Ausbeuten konnten durch Optimierung der Reaktionsbedingungen verbessert werden, sodass die Schutzgruppe **1** ausgehend von Vanillin in drei Stufen mit einer Gesamtausbeute von 71 % dargestellt werden konnte (Schema 3-5). Der erste und der letzte Schritt, die *O*-Allylierung von Vanillin sowie die Reduktion des Benzaldehyds zum Benzylalkohol mit Natriumborhydrid liefen wie erwartet völlig problemlos und lieferten die Produkte mit sehr guten Ausbeuten (**3**, quantitativ bzw. **1**, 92 %).

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-5 Dreistufige Synthese der neuen photolabilen Schutzgruppe AMNBol.

Eine interessante Beobachtung konnte bei der Nitrierung gemacht werden. Die relativ milden Reaktionsbedingungen (Kaliumnitrat/Trifluoressigsäure als Nitrylkation-Quelle) stellten sich im Zuge der Diplomarbeit als sehr gut geeignet heraus. Es zeigte sich nun, dass das *o*-nitrierte Produkt **4** bei Verwendung von 1.0 Äquivalenten KNO_3 mit einer Ausbeute von 77 % isoliert werden konnte, wobei sich wenige Prozent verschiedener mehrfach nitrierter Produkte bildeten (Schema 3-5). Wurden jedoch 1.25 Äquivalente KNO_3 eingesetzt, wurde eine nicht-trennbare Mischung erhalten, die sich aus 71 % des gewünschten *o*-Nitro-Produkts und 17 % eines dinitrierten Produkts zusammensetzte (Schema 3-6). Wie in Abbildung 3-1 zu erkennen ist, zeigt das 1H -NMR-Spektrum einen doppelten Signalsatz für alle Wasserstoffatome, mit Ausnahme der aromatischen (Integration = 0.83) und des Aldehyd-*H* (Integration = 0.77). Stattdessen befindet sich ein zusätzliches Signal mit einer Integration von 0.33 im aromatischen Bereich (7.33 ppm). Dieses Signal muss vom Nebenprodukt stammen, und die Integration deutet darauf hin, dass sich zwei Wasserstoffatome darunter verbergen. Beachtet man, dass der Aldehyd-Peak beim Nebenprodukt nicht mehr vorhanden ist und beide Aromaten-*H*-Signale unter einen Peak zusammenfallen, deutet alles auf ein (bezogen auf den Aromaten) symmetrisches Molekül hin, welches zweifach nitriert sein muss. Dabei muss das Nitrylkation in einer *ipso*-Substitution den Aldehyd ersetzt haben, was zum Nebenprodukt **5** führen würde (Schema 3-6). Die Vermutung konnte durch Analytik (hochaufgelöste Masse und CHN) sowie durch die Tatsache belegt werden, dass im nächsten Schritt, der Reduktion, das Nebenprodukt nicht umgesetzt wurde. Dies war die Bestätigung der Annahme, dass der Aldehyd substituiert worden ist. *ipso*-Substitutionen dieser Art wurden in der Literatur bisher nur sehr selten beobachtet, sind aber beschrieben für elektronenreiche Aromaten^[145] und Heteroaromaten.^[146] Generell sollte noch angemerkt werden, dass die Position der Nitrierung (*para* zum Methoxy-Substituenten) kongruent zu den Regeln für Dritt- und Viertschubstitution am Aromaten ist.^[147]



Schema 3-6 Nebenproduktbildung während der Nitrierung durch *ipso*-Substitution.

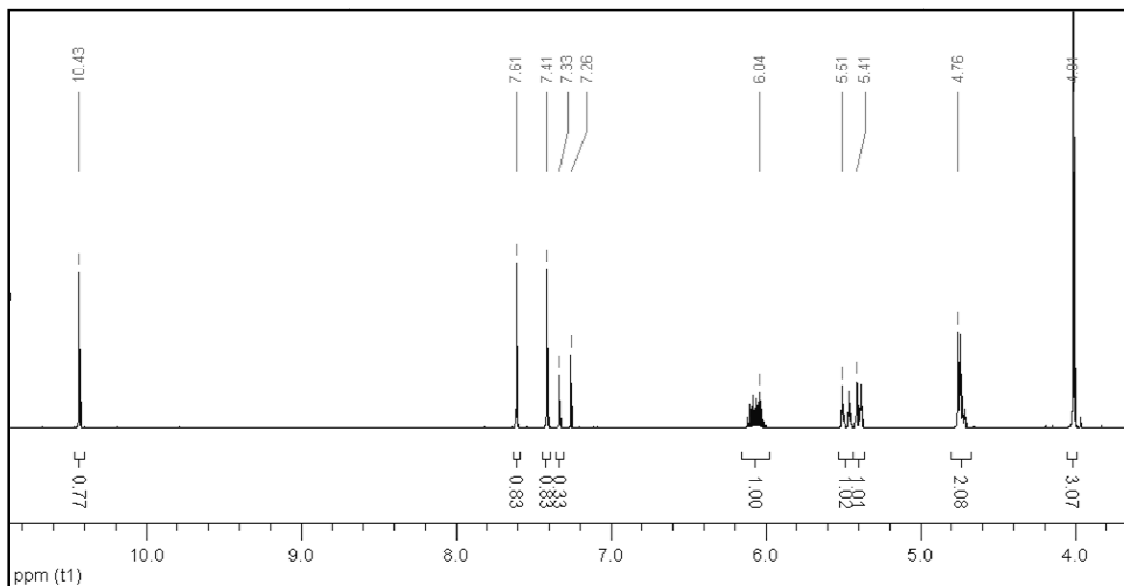


Abbildung 3-1 ^1H -NMR-Spektrum der Mischung aus Nitrierungs- (4) und *ipso*-Substitutions-Produkt (5).

3.1.3 Synthese photolabil geschützter Aminosäuren und Peptide

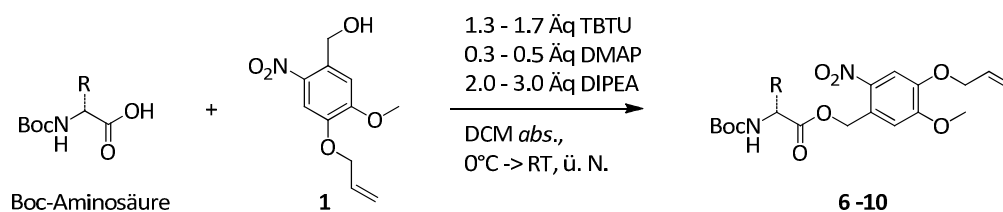
a) Schützung des C-Terminus

Nachdem die Schutzgruppe AMNBol in großer Menge hergestellt werden konnte, sollten verschiedene Aminosäuren und Modellpeptide photolabil geschützt werden. Wie bereits in Schema 3-4 dargestellt, ist die Schützung des C-Terminus sehr einfach über eine Veresterung möglich. Dazu wurden zunächst einige Aminosäuren (Tabelle 3-1) und später verschiedene Di- und Tripeptide (Tabelle 3-2) mit der Schutzgruppe AMNBol (1), TBTU, DMAP und DIPEA in *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Die Ausbeuten bei der Schützung der Aminosäuren lagen durchgängig in einem sehr guten Bereich (89–95 %) und es konnte keine Racemisierung der Aminosäuren festgestellt werden (Tabelle 3-1, Einträge 4/5 und 6/7), was durch HPLC-Analytik nachgewiesen wurde. DCC stellte sich wegen niedrigerer Ausbeuten und wegen des schlecht abzutrennenden Harnstoffderivats (Dicyclohexylharnstoff) als eher ungeeignet heraus. Das bei der Verwendung von TBTU entstehende Harnstoffderivat (Tetramethylharnstoff) konnte dagegen sehr gut von den Produkten abgetrennt werden.

Bei der Veresterung der Di- und Tripeptide konnten interessante Beobachtungen gemacht werden. Die Ausbeuten lagen auch hier bei guten 71–93 %. Es wurden zunächst zwei einfache Peptide, nämlich Boc-Gly-Gly-OH und Boc-(L)-Ala-(L)-Ala-(L)-Ala-OH verestert (Tabelle 3-2, Eintrag 1 und 2 (11 und 12)), um zu testen, ob die bei den Aminosäuren angewandten Reaktionsbedingungen übertragbar sind. Die Auswahl weiterer drei Tripeptide (Einträge 3–5) erfolgte nach den Kriterien, dass die Seitenketten neutral, aber möglichst sterisch anspruchsvoll sein sollten. Außerdem sollte jedes Tripeptid eine Prolin-Einheit besitzen, und zwar einmal *N*-terminal, einmal *C*-terminal und im dritten Fall als mittlere Aminosäure. Prolin wurde ausgewählt, da Prolin-haltige Peptide andere Sekundärstrukturen aufweisen als Peptide ohne Prolin. Häufig beobachtet werden sogenannte Turn-Strukturen.^[148] die in der Regel zwischen den β -Faltblatt-Strukturen in Proteinen auftreten. Diese „Biegung“ der Peptidstruktur könnte sich in unserem Fall günstig auf die später angestrebte Cyclisierung auswirken.^[149,150,151]

3. Ergebnisse und Diskussion

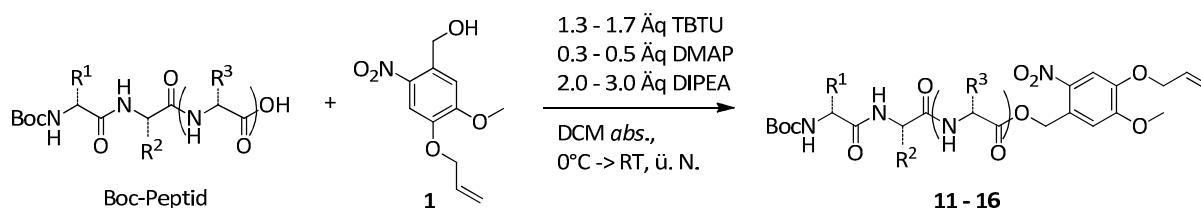
Tabelle 3-1 Darstellung C-terminal photolabil (AMNB-) geschützter Boc-Aminosäuren.



Eintrag	Aminosäure	Ausbeute	Produkt
1	Boc-Glycin	95 %	Boc-Gly-OAMNB, 6
2	Boc-(D/L)-Alanin	95 %	Boc-(D/L)-Ala-OAMNB, 7
3	Boc-(L)-Phenylalanin	89 %	Boc-(L)-Phe-OAMNB, 8
4	Boc-(L)-Leucin	94 %	Boc-(L)-Leu-OAMNB, 9a
5	Boc-(D)-Leucin	91 %	Boc-(D)-Leu-OAMNB, 9b
6	Boc-(L)-Valin	90 %	Boc-(L)-Val-OAMNB, 10a
7	Boc-(D)-Valin	90 %	Boc-(D)-Val-OAMNB, 10b

Die drei Prolin-haltigen Peptide (Tabelle 3-2, Einträge 3–5) lieferten die Produkte **13**, **14** und **15** mit guter Ausbeute, allerdings konnte in zwei Fällen, wie bereits zuvor bei **12**, eine vollständige Epimerisierung einer der drei Aminosäuren beobachtet werden. Um nachzuweisen, dass es sich hierbei um die C-terminale Aminosäure handelt, wurde das Tripeptid Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D)-Val-OH mit der Schutzgruppe AMNBol verestert (Eintrag 6). Ein direkter Vergleich des Produkts mit dem Produkt der Veresterung von Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(L)-Val-OH (Eintrag 5) zeigte, dass in beiden Fällen die gleiche Diastereomerenmischung erhalten wurde. Daher musste die C-terminale Aminosäure epimerisiert sein. Bei dem Tripeptid, bei welchem die Prolin-Einheit in der Mitte, also an vorletzter Position vom C-Terminus aus gesehen, steht, wurde keine Epimerisierung beobachtet (Eintrag 4). Daher wurde ein weiteres Dipeptid, bei dem Prolin als „vorletzte“ Aminosäure auftritt, verestert (Eintrag 7, Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OAMNB, **16**). Auch hier konnten nur wenige Prozent des Epimerisierungsprodukts isoliert werden, das Diastereomerenverhältnis betrug ca. 95:5.

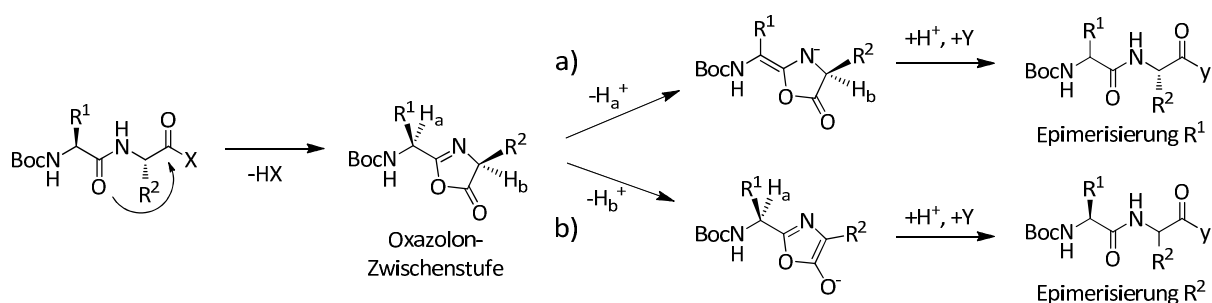
Tabelle 3-2 Darstellung C-terminal AMNB-geschützter Boc-Di- und Tripeptide (AS = Aminosäure).



Eintrag	AS 1	AS 2	AS 3	Ausbeute	Produkt
1	Gly	Gly	-	92 %	Boc-Gly-Gly-OAMNB, 11
2	L-Ala	L-Ala	L-Ala	86 %	Boc-(L)-Ala-(L)-Ala-(D/L-Ala)-OAMNB, 12
3	L-Ile	L-Leu	L-Pro	93 %	Boc-(L)-Ile-(L)-Leu-(D/L-Pro)-OAMNB, 13
4	L-Val	L-Pro	L-Leu	75 %	Boc-(L)-Val-(L)-Pro-(L-Leu)-OAMNB, 14
5	L-Pro	L-Leu	L-Val	76 %	Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D/L-Val)-OAMNB, 15
6	L-Pro	L-Leu	D-Val	71 %	Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D/L-Val)-OAMNB, 15
7	L-Pro	L-Leu	-	85 %	Boc-(L)-Pro-(L-Leu)-OAMNB, 16

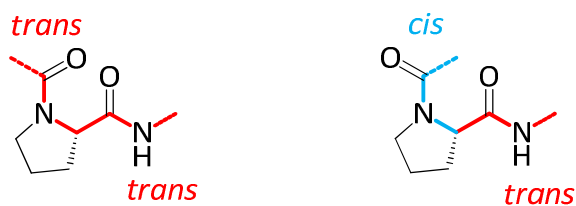
3. Ergebnisse und Diskussion

Generell sind bei der Peptidsynthese zwei verschiedene Epimerisierungen möglich.^[152] Wie in Schema 3-7 dargestellt, kann nach Aktivierung der Säure als Aktivester durch Angriff des Carbonyl-Sauerstoffs der vorletzten Aminosäure am aktivierten C-Terminus eine Oxazolone-Zwischenstufe gebildet werden, welche auf zwei Wegen weiterreagieren kann.^[153] Wird das α -Proton der vorletzten Aminosäure (R^1) abstrahiert, so entsteht nach Reprotonierung und Angriff eines Nucleophils Y ein Peptid, dessen Aminosäure R^1 epimerisiert ist (Schema 3-7, a). Wird das im Ring befindliche α -Proton, also das der letzten Aminosäure (R^2) deprotoniert, so entsteht ein Esterenolat-Analogon (Schema 3-7, b). Dadurch epimerisiert die letzte, also C-terminale Aminosäure. Genau diese Epimerisierung konnte bei den Peptiden aus Tabelle 3-2 beobachtet werden. Die Boc-Aminosäuren (Tabelle 3-1) racemisierten nicht, das heißt, der Sauerstoff der Boc-Carbonylgruppe greift nicht oder nur in sehr geringem Maße als Nucleophil am Aktivester der Säure an. Diese Beobachtung wurde bereits im Jahr 1966 von DETERMANN *et al.* allgemein für die Racemisierung bei Peptidsynthesen, abhängig vom Einfluss verschiedener *N*-Acylreste, beschrieben.^[154] Für die Beibehaltung der Konfiguration der Peptide (Tabelle 3-2) muss es jedoch eine andere Erklärung geben.



Schema 3-7 Epimerisierung der a) vorletzten ($=R^1$) oder b) letzten Aminosäure ($=R^2$) bei Aktivierung des C-Terminus während der Peptidbindungsknüpfung.

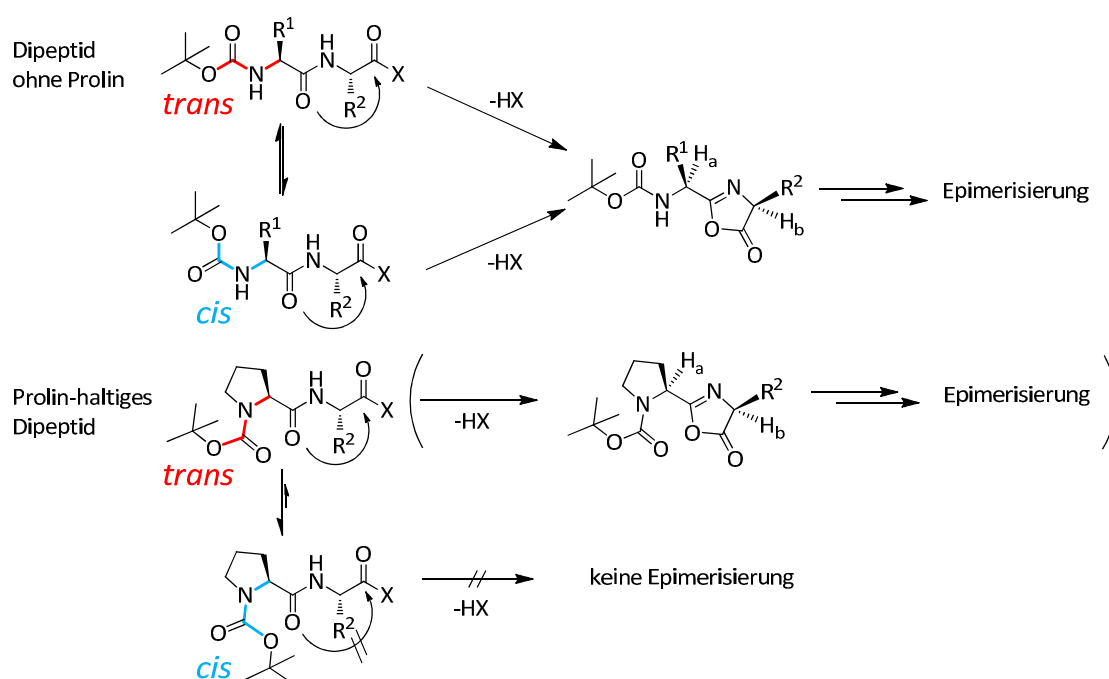
Eine mögliche Begründung für den Konfigurationserhalt stellt die Argumentation über die Geometrie der Prolin-Peptidbindung dar. Eine Peptidbindung ist grundsätzlich in ihrer Drehbarkeit eingeschränkt, da sie auf Grund der Resonanzstabilisierung partiellen Doppelbindungscharakter besitzt.^[155] Somit kann eine Peptidbindung in Form von zwei verschiedenen Rotationsisomeren auftreten, nämlich als *trans*- oder *cis*-konfigurierte Peptidbindung. Schema 3-8 zeigt einen Ausschnitt eines Prolin-haltigen Peptids, bei welchem die Prolin-Amidbindung einmal *trans*- und einmal *cis*-konfiguriert vorliegt. In diesem Fall ist die Differenz der freien Energie der Rotationsisomere deutlich geringer als die Energiedifferenz der *cis*- und *trans*-Isomere bei nicht-Prolin-haltigen Peptiden. Diese liegen fast ausschließlich in der *trans*-Form vor, während Prolin-Amidbindungen einen hohen Anteil der *cis*-konfigurierten Form aufweisen können.^[156]



Schema 3-8 *Cis*- und *trans*-Peptidbindung in Prolin-haltigen Peptiden.

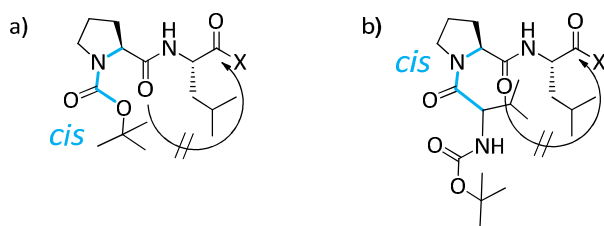
3. Ergebnisse und Diskussion

Einen Sonderfall stellt die Carbamat-Bindung der Boc-Schutzgruppe bei Peptiden dar. Umfassende Untersuchungen haben gezeigt, dass die Energiedifferenz der *cis*- und der *trans*-Form der Carbamat-Bindung bei Peptiden, deren *N*-terminale Aminosäure kein Prolin ist, fast gleich null ist.^[157] Somit liegen *cis*- und *trans*-Isomere in einem Gleichgewicht vor, im Gegensatz zur Bevorzugung der *trans*-Konfiguration bei Amid-Bindungen (siehe vorangegangener Abschnitt^[156]). Ist die *N*-terminale Aminosäure jedoch Prolin, so wird die *cis*-Konfiguration stark bevorzugt.^[157] Schema 3-9 zeigt zwei verschiedene Boc-geschützte Dipeptide. Im oberen Beispiel liegen *cis*- und *trans*-Form im Gleichgewicht vor und bei beiden ist ein Angriff des Carbonyl-Sauerstoffs am Aktivester möglich, was zur Bildung der Oxazolinon-Zwischenstufe und letztendlich zur Epimerisierung führt (vgl. Schema 3-7). Liegt wie im unteren Beispiel von Schema 3-9 ein Prolin-haltiges Boc-Dipeptid vor, so ist laut Literatur^[157] die *cis*-Form stark begünstigt. Da in unserem Fall genau dieses Dipeptid (Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH) im Aktivierungsschritt nicht epimerisierte, liegt die Vermutung nahe, dass auf Grund der *cis*-Form der Carbamat-Bindung die *tert*-Butylgruppe der Boc-Schutzgruppe den Carbonyl-Sauerstoff der benachbarten Amid-Bindung sterisch abschirmt und somit den Angriff am Aktivester verhindert bzw. einschränkt (siehe Schema 3-10, a). Ähnlich sollte es auch für das Tripeptid Boc-(L)-Val-(L)-Pro-(L)-Leu-OH ablaufen, allerdings kann hier nicht über die Geometrie der Carbamat-Bindung argumentiert werden, da die Prolin-Einheit nicht Boc-geschützt, sondern mit einer weiteren Aminosäure verknüpft ist (siehe Schema 3-10, b). Doch auch hier scheint die *cis*-Form der Amid-Bindung zu überwiegen und den Angriff am Aktivester somit aus sterischen Gründen einzuschränken. Denn auch in diesem Fall wird keine nennenswerte Epimerisierung beobachtet (Boc-(L)-Val-(L)-Pro-(L)-Leu-OAMNB, **14**), das zweite Diastereomer (Boc-(L)-Val-(L)-Pro-(D)-Leu-OAMNB) konnte nur in Spuren nachgewiesen werden.



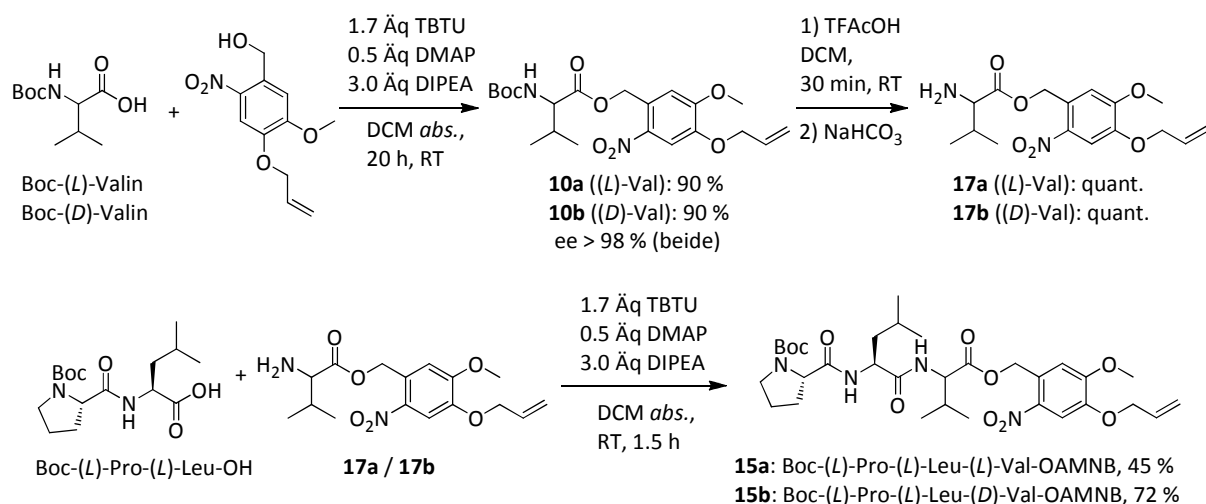
Schema 3-9 Einfluss der Peptidbindungsgeometrie auf die Epimerisierung im Aktivierungsschritt der Peptidsynthese.

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-10 Sterische Abschirmung des Carbonyl-Sauerstoffs und dadurch bedingte Verhinderung des Angriffs am Aktivester bei a) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH und b) Boc-(L)-Val-(L)-Pro-(L)-Leu-OH.

Um zuordnen zu können, welches der bei der C-terminalen Schützung entstandenen Diastereomere **15** die (L)-Valin- und welches die (D)-Valin-Verbindung ist, sollten beide auf anderem Wege dargestellt werden. Dies gelang, indem Boc-(L)-Valin und Boc-(D)-Valin, wie in Schema 3-11 gezeigt, mit AMNBol (**1**) verestert und anschließend die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure abgespalten wurde. Während der Veresterung konnte in beiden Fällen (**10a**, **10b**) keine Racemisierung nachgewiesen werden (HPLC-Analytik, ee > 98 %). Die freien Amine **17a** und **17b** wurden dann mit Hilfe von TBTU, DMAP und DIPEA mit dem Dipeptid Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH gekuppelt und es konnten die beiden diastereomeren Tripeptide Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(L)-Val-OAMNB (**15a**) und Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D)-Val-OAMNB (**15b**) isoliert werden. Die Ausbeute war für die Kupplung des Boc-(L)-Valin-AMNB-Esters mit 45 % viel geringer als bei der (D)-Valin-Verbindung (72 % Ausbeute) und deutet darauf hin, dass es deutliche Konformationsunterschiede zwischen den beiden Diastereomeren geben muss. Beide sollten getrennt voneinander in die nachfolgenden Syntheseschritte eingesetzt und später cyclisiert werden, da durch die unterschiedliche Konformation eventuell auch die Cyclisierung bei einem der beiden Diastereomere begünstigt sein könnte. Eine Epimerisierung der Verbindungen wurde in beiden Fällen nicht beobachtet.

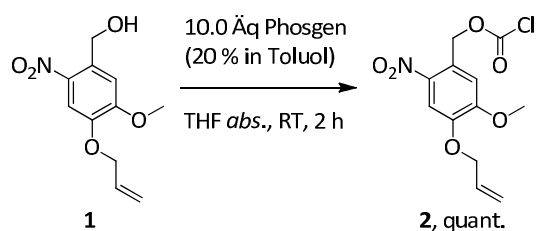


Schema 3-11 Synthese der enantiomerenreinen Tripeptide **15a** und **15b**.

3. Ergebnisse und Diskussion

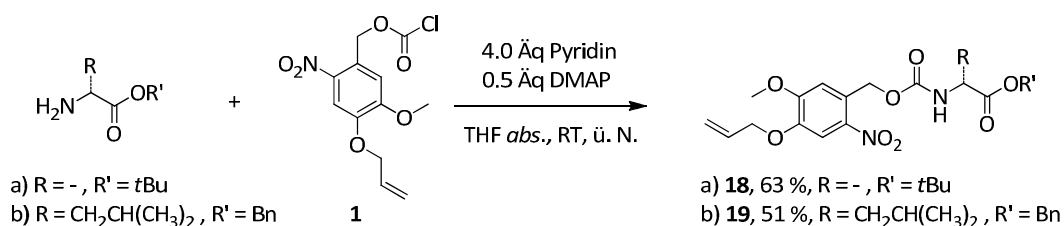
b) Schützung des *N*-Terminus

Die Schützung des Amins, also der *N*-terminalen Aminosäure, läuft nicht wie die *C*-Schützung über eine Veresterung ab. Das Amin muss als Carbamat mit Hilfe des Chloroformiats der Schutzgruppe AMNBol (1) in *abs.* THF mit Hilfe von 10.0 Äquivalenten Phosgen das entsprechende Chloroformiat gebildet. Nach zwei Stunden bei Raumtemperatur und Ausleiten des überschüssigen Phosgens konnte das Produkt AMNBOCl (2) in quantitativer Ausbeute erhalten werden (Schema 3-12). Dieses wurde dann in einer Art Acylierungsreaktion mit zwei verschiedenen Aminosäureestern umgesetzt, um die *N*-AMNBOC-geschützten Aminosäureester zu erzeugen.



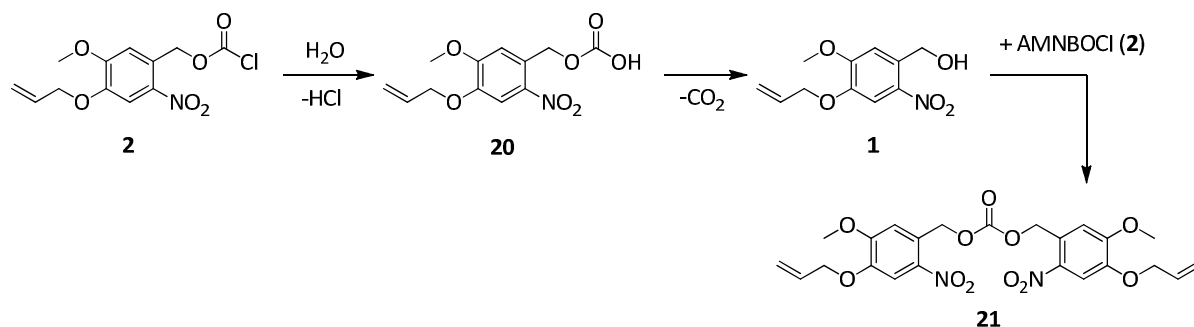
Schema 3-12 Darstellung des Chloroformiats 2 aus der Schutzgruppe AMNBol (1).

Die *N*-Schützung wurde in *abs.* THF und mit Pyridin als Base und DMAP als Acylierungskatalysator durchgeführt (Schema 3-13). Als limitierender Faktor für gute Ausbeuten, bei den beiden geschützten Aminosäuren **18** und **19** waren es 51 % bzw. 63 %, stellte sich die Feuchtigkeit des Lösungsmittels heraus. In der Literatur sind für ähnliche Reaktionen ebenfalls keine besseren Ausbeuten beschrieben.^[158] Es war sehr schwer, die Ausbeuten zu reproduzieren, da das Chloroformiat extrem reaktiv ist und mit Wasser sofort zum *mono*-Kohlensäureester **20** hydrolysierte, welcher nach CO₂-Abspaltung zum Benzylalkohol AMNBol (1) abreagiert hat (Schema 3-14). Außerdem bildete sich ein weiteres Nebenprodukt, welches ähnlich unpolar war wie das Chloroformiat (gleicher R_F-Wert) und dessen ¹H-NMR-Spektrum sich von dem des Chloroformiats nur in der Verschiebung der Wasserstoffe in Benzyl-Position unterschied. Daher wurde vermutet, dass es sich um den Kohlensäurediester **21** handeln könnte, was bedeuten würde, dass die Hydrolyse eines Äquivalents Chloroformiat zur Folge hat, dass noch ein weiteres Äquivalent abreagiert. Daher waren absolut wasserfreie Bedingungen unumgänglich. Die Reaktion wurde außer in THF auch in Dichlormethan getestet, was ebenfalls erfolgreich war, jedoch weniger gut reproduzierbar. Daher wurden alle folgenden *N*-Schützungen in THF durchgeführt, dessen Trockenheit man sehr gut mit einer kleinen Menge Natrium und Benzophenon überprüfen konnte. Das Chloroformiat wurde bei 2–4 °C im Kühlschrank unter Stickstoff gelagert und war unter diesen Bedingungen einige Monate verwendbar, zeigte jedoch schon nach wenigen Tagen erste Zersetzungsanzeichen. Da die Synthese des Chloroformiats mit Phosgen nicht vor jeder *N*-Schützung frisch durchgeführt werden sollte, wurden kleinere Ausbeuteverluste durch gelagertes, in geringen Mengen zersetztes Chloroformiat in Kauf genommen.



Schema 3-13 *N*-terminale Schützung zweier Aminosäureester.

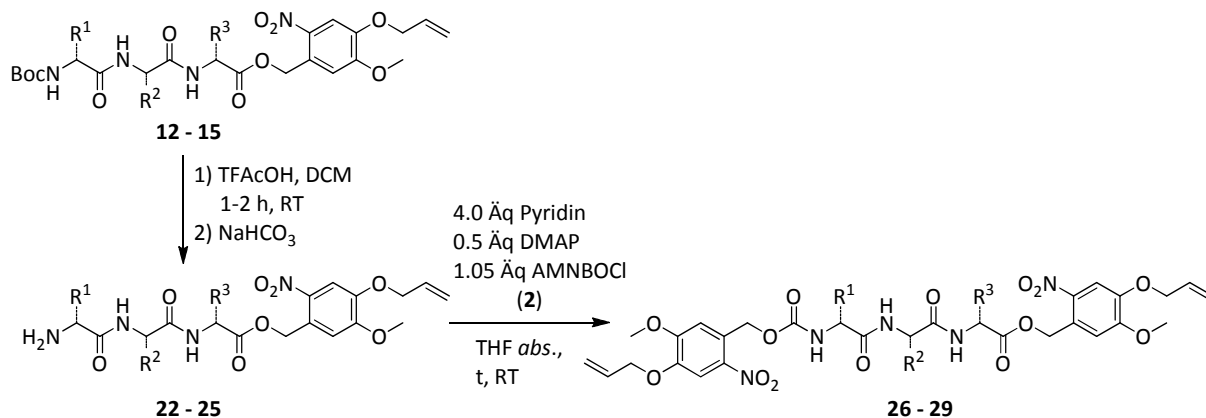
3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-14 Mögliche Nebenreaktion bei der *N*-Schützung (Hydrolyse des Chloroformats).

Die Tripeptid-AMNB-Ester **12–15** wurden zunächst Boc-entschützt, um sie danach mit dem Chloroformiat **2** in die *N*-terminal AMNBOC-geschützten Derivate zu überführen (Tabelle 3-3). Dazu wurden die Boc-Tripeptide zunächst mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan umgesetzt, anschließend wurden die freien Amine **22–25** mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung freigeschüttelt. Die Ausbeuten betragen 79 % bis quantitativ. Gemäß der in Schema 3-13 aufgeführten Bedingungen wurden die Amine schließlich zu den AMNBOC-geschützten Verbindungen **26–29** umgesetzt. Auch hier variierten die Ausbeuten, wie es auch schon bei der *N*-Schützung der Aminosäuren beobachtet werden konnte, lagen aber in der Regel im Bereich von 60–70 %. Die Reaktionsdauer betrug in allen Fällen mindestens drei Tage. Wurde die Reaktion früher abgebrochen, waren die Ausbeuten etwas schlechter. Es kann vermutet werden, dass im Falle der Bildung des Kohlensäurediesters **21** auch dieser mit dem Amin zum Carbamat reagieren kann, sodass eine lange Reaktionszeit die Ausbeute etwas begünstigt. Die so erhaltenen doppelt AMNB-geschützten Tripeptide standen nun zur Verfügung, um in der Ringschlussmetathese cyclisiert zu werden.

Tabelle 3-3 Boc-Abspaltung und *N*-terminale Schützung AMNB-geschützter Tripeptide (AS = Aminosäure).

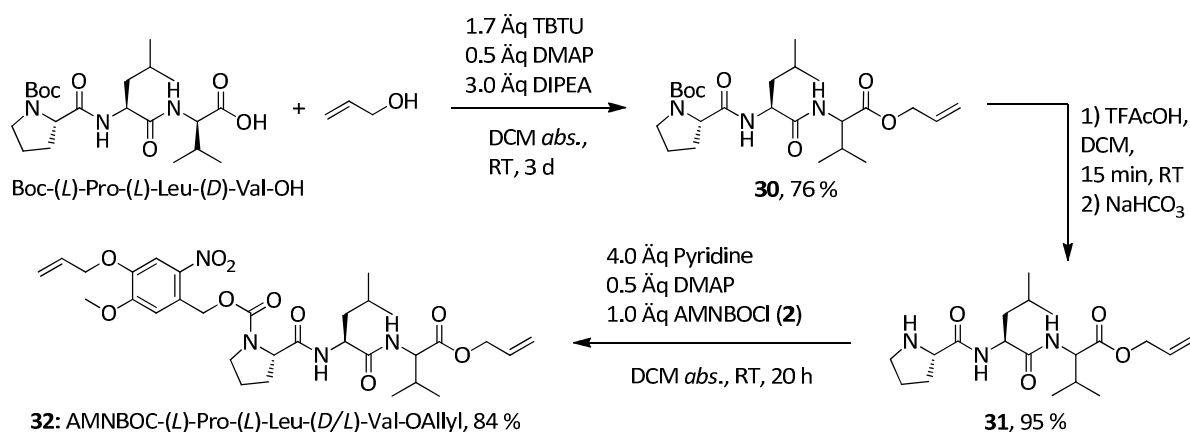


Eintrag	AS 1	AS 2	AS 3	t	Produkt Nr.	Ausbeute Boc-Abspaltung	Ausbeute <i>N</i> -Schützung
1	<i>L</i> -Ala	<i>L</i> -Ala	<i>D/L</i> -Ala	4 d	26	79 %	61 %
2	<i>L</i> -Ile	<i>L</i> -Leu	<i>D/L</i> -Pro	4 d	27	quant.	80 %
3	<i>L</i> -Val	<i>L</i> -Pro	<i>L</i> -Leu	3 d	28	quant.	59 %
4	<i>L</i> -Pro	<i>L</i> -Leu	<i>D/L</i> -Val	3 d	29	quant.	68 %
5	<i>L</i> -Pro	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Val	3 d	29a	97 %	63 %
6	<i>L</i> -Pro	<i>L</i> -Leu	<i>D</i> -Val	3 d	29b	99 %	68 %

3. Ergebnisse und Diskussion

c) Darstellung eines *N*-terminal AMNBOC-geschützten Tripeptid-Allylesters

Da neben den doppelt-AMNB-geschützten Tripeptiden auch die Cyclisierung eines *mono*-AMNB-geschützten Tripeptids in der Ringschlussmetathese getestet werden sollte, musste ein Substrat dargestellt werden, welches einen Linker mit einer Doppelbindung enthält (vgl. Schema 3-2). Dieses sollte erreicht werden, indem ein Tripeptid zum entsprechenden Allylester umgesetzt und anschließend *N*-terminal AMNBOC-geschützt werden sollte. Dazu wurde das Tripeptid Boc-(*L*)-Pro-(*L*)-Leu-(*D*)-Val-OH mit Allylalkohol und TBTU als Knüpfungsreagenz verestert, was das Produkt **30** als Gemisch der beiden (*D/L*)-Valin-Diastereomeren ergab, die *via* Säulenchromatographie nicht trennbar waren. Bei der Verwendung von DCC als Knüpfungsreagenz wurde hauptsächlich das Acyl-Umlagerungsprodukt isoliert, daher erwies sich diese Methode als ungeeignet. Die Boc-Entschützung wurde mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan durchgeführt und lieferte nach Ausschütteln mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung das freie Amin **31** mit einer Ausbeute von 95 %. Die anschließende *N*-Schützung brachte das gewünschte Produkt **32** mit einer Ausbeute von 84 % hervor. Auch dieses sollte mit Hilfe der Ringschlussmetathese cyclisiert werden, und zwar über die photolabile Schutzgruppe und den Allylester, nicht über zwei photolabile Schutzgruppen. Die größere sterische Hinderung durch den dem Allylester benachbarten *iso*-Propylrest könnte sich dabei negativ, die höhere Flexibilität durch das Fehlen eines zweiten, starren Schutzgruppen-Aromaten könnte sich positiv auf die Cyclisierung auswirken. Die Ergebnisse sollten im Anschluss mit denen der doppelt-AMNB-geschützten Verbindungen verglichen werden.



Schema 3-15 Synthese des AMNBOC-geschützten Tripeptid-Allylesters **32**.

3.1.4 Ringschlussmetathese

Bereits während der Diplomarbeit wurden erste Versuche angestellt, ein doppelt photolabil geschütztes Tripeptid mittels Ringschlussmetathese zu cyclisieren.^[144] Dabei wurde festgestellt, dass der „Grubbs I“-Katalysator für die Cyclisierung ungeeignet war, da kein Umsatz beobachtet werden konnte. Im Zuge dieser Dissertation sollten nun die Reaktionsbedingungen unter Verwendung des Grubbs-Katalysators der zweiten Generation so optimiert werden, dass sie für alle bisher dargestellten Tripeptide angewendet werden können, sowohl für die doppelt photolabil geschützten Tripeptide **26–29** als auch für die Cyclisierung des AMNBOC-geschützten Tripeptid-Allylesters **32**.

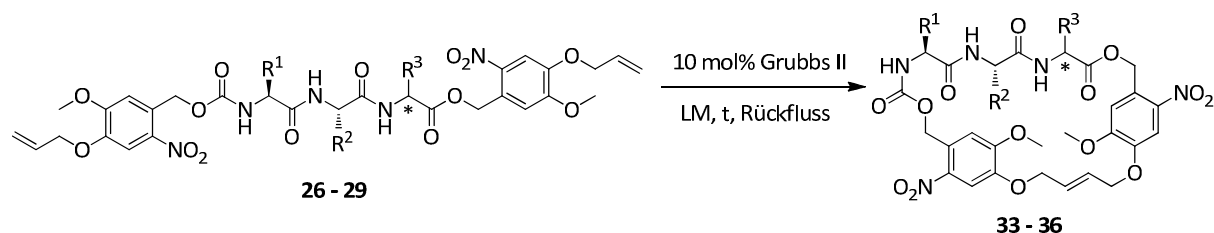
Zunächst wurde das doppelt-AMNB-geschützte Tripeptid **26** in die Ringschlussmetathese eingesetzt (Tabelle 3-4, Eintrag 1). Dazu wurden 10 mol% des Grubbs II-Katalysators in wenigen Millilitern *abs.* Dichlormethan bis zum Refluxieren erhitzt und anschließend wurde eine ca. 0.02 molare Lösung des Tripeptids **26** in *abs.* Dichlormethan über einen Zeitraum von 30 min zugetropft. Die Lösung wurde weitere 20 h refluxiert. DC-Reaktionskontrolle zeigte vollständigen Umsatz des Diallylsubstrats, doch auf Grund der extrem hohen Polarität des Produktes und der Unlöslichkeit in allen organischen Lösungsmitteln bis auf DMF und DMSO wurde lediglich ein Roh-¹H-NMR aufgenommen. Dieses zeigte, dass die terminalen Allylsignale fast komplett fehlten, was auf eine erfolgreiche Metathese schließen ließ. Das Produkt **33** konnte allerdings nicht sauber isoliert werden, daher wird in Tabelle 3-4 keine Ausbeute angegeben.

Ein besseres Ergebnis versprachen die anderen Tripeptide, die wegen ihrer lipophilen Seitenketten wesentlich unpolarer waren. Tatsächlich konnten bei der Cyclisierung des Tripeptids **27** bereits nach 60 min vollständiger Umsatz und ein neuer Spot auf der DC-Reaktionskontrolle beobachtet werden (Tabelle 3-4, Eintrag 2). Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurden 29 % des cyclischen Peptids **34** isoliert. Es ist zu erwähnen, dass die Abtrennung des Grubbs-Katalysators sich als schwierig erwies. Verschiedene in der Literatur beschriebene Methoden wie Rühren mit Palladium auf Kohle,^[159] oder Waschen mit H₂O₂^[160] oder mit basischer Cysteinlösung^[161] zeigten keinen merklichen Effekt. Scheinbar koordinieren die Peptide sehr stark an das Ruthenium, was eine vollständige Abtrennung des Katalysators sehr erschwerte. Die besten Ergebnisse wurden erzielt, wenn zunächst mit einem Gradienten aus Dichlormethan und Dichlormethan/Methanol (9/1) und anschließend mit einem Gradienten aus Petrolether und Essigsäureethylester gesäult wurde. Der Rest-Rutheniumgehalt wurde nicht quantifiziert, allerdings konnte anhand der Färbung des Produkts eine Aussage darüber gemacht werden, ob das Produkt stark verunreinigt war (braun bis dunkellila) oder nur noch Spuren des Katalysators darin vermutet wurden (beige bis gelb).

Bei der Verwendung von Essigsäureethylester als Lösungsmittel für die Metathese und sonst gleichen Reaktionsbedingungen wurden ein nur sehr geringer Umsatz und Spuren an Produkt nachgewiesen (Tabelle 3-4, Eintrag 3). Auch die Verwendung von Chloroform (Eintrag 6) erwies sich als ungeeignet. Während das Tripeptid **28** mit Hilfe der oben genannten Reaktionsbedingungen nach 17 h Refluxieren 50 % des Produkts **35** hervorbrachte (Eintrag 4), konnten nur Spuren des Produkts erhalten werden, wenn der Katalysator beim Zutropfen des Substrats nicht refluxierte und auch die Lösung später bei Raumtemperatur gerührt wurde (Eintrag 5). Daher wurden bei den letzten Cyclisierungen (Einträge 7–9) sowohl der Katalysator als auch später die Reaktionslösung bis zum vollständigen Umsatz refluxiert. Die Diastereomerenmischung **29** lieferte nach 17 h 65 % des photolabil geschützten Cyclopeptids **36**. Aus den enantiomerenreinen Tripeptiden **29a** und **29b** konnten 49 % bzw. 54 % der cyclisierten Produkte gewonnen werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 3-4 Optimierung der Reaktionsbedingungen für die Ringschlussmetathese (die Konfiguration aller Aminosäuren (AS) ist (L), falls nicht anders angegeben).



Eintrag	AS 1	AS 2	AS 3	LM (<i>abs.</i>) (0.02 M)	t	Rückfluss?	Edukt Nr./ Produkt Nr.	Ausbeute
1	Ala	Ala	D/L-Ala	DCM	20 h	ja	26/33	n. i.
2	Ile	Leu	D/L-Pro	DCM	60 min	ja	27/34	29 %
3	Ile	Leu	D/L-Pro	EtOAc	2 d	ja	27/34	Spuren
4	Val	Pro	Leu	DCM	17 h	ja	28/35	50 %
5	Val	Pro	Leu	DCM	20 h	nein	28/35	Spuren
6	Val	Pro	Leu	CHCl ₃	20 h	ja	28/35	Spuren
7	Pro	Leu	D/L-Val	DCM	17 h	ja	29/36	65 %
8	Pro	Leu	L-Val	DCM	15 h	ja	29a/36a	49 %
9	Pro	Leu	D-Val	DCM	40 min	ja	29b/36b	54 %

Bemerkenswert bei der Cyclisierung der beiden Diastereomere (Tabelle 3-4, Einträge 8 und 9) ist die Reaktionsdauer, denn das (L)-Valin-Substrat **29a** musste 15 h refluxiert werden, während bei dem (D)-Valin-Substrat **29b** bereits nach 40 min kein Edukt mehr zu detektieren war. Das lässt darauf schließen, dass die Konformation des (D)-Valin-Substrats günstiger für die Cyclisierung war als die Konformation des (L)-Valin-Substrats. Ein solcher Konformationsunterschied wurde bereits bei der C-terminalen Schützung vermutet (vgl. Kapitel 3.1.3, a). Tatsächlich konnte anhand eines Vergleichs der ¹H-NMR-Spektren der Diastereomerenmischung und der beiden enantiomerenreinen Produkte deutlich beobachtet werden, dass das (D)-Valin-Substrat scheinbar in einem „energetischen Loch“ liegt. Während das cyclisierte (L)-Valin-Substrat **36a** im ¹H-NMR nur unscharfe Signale (Hügel) erzeugt, erkennt man im Spektrum des cyclisierten (D)-Valin-Substrats **36b** sämtliche Signale und Kopplungen sehr deutlich. Dies ist nur dann der Fall, wenn es eine energetisch bevorzugte Konformation gibt und die Energiebarriere für die Überführung in andere Konformationen zu groß ist. Der Effekt lässt sich am deutlichsten im Bereich von 4.0 bis 7.6 ppm beobachten. Abbildung 3-2 zeigt die entsprechenden Ausschnitte aus den ¹H-NMR-Spektren. Das obere Spektrum bildet das ¹H-NMR des (D)-Valin-Substrats **36b** ab, das untere Spektrum das des (L)-Valin-Substrats **36a**. In der Mitte ist das Spektrum der Diastereomerenmischung zu sehen. Sehr deutlich wird der Effekt, wenn man die Signale für die benzylicchen Wasserstoffatome der Schutzgruppen vergleicht: während die Benzyl-Wasserstoffe im (D)-Valin-Substrat in vier Signale, jeweils zwei „diastereotope“ H's als Duplett-Paar mit leichtem Dacheffekt, aufspalten, verbergen sie sich im (L)-Valin-Substrat unter sehr breiten Signalhaufen. Die entsprechenden Signale wurden in den Spektren in Abbildung 3-2 mit Pfeilen gekennzeichnet. Die absolute Konfiguration des D-Isomeren konnte durch Aufnahme einer Kristallstruktur belegt werden (siehe Anhang, Kapitel 6.1.2).

3. Ergebnisse und Diskussion

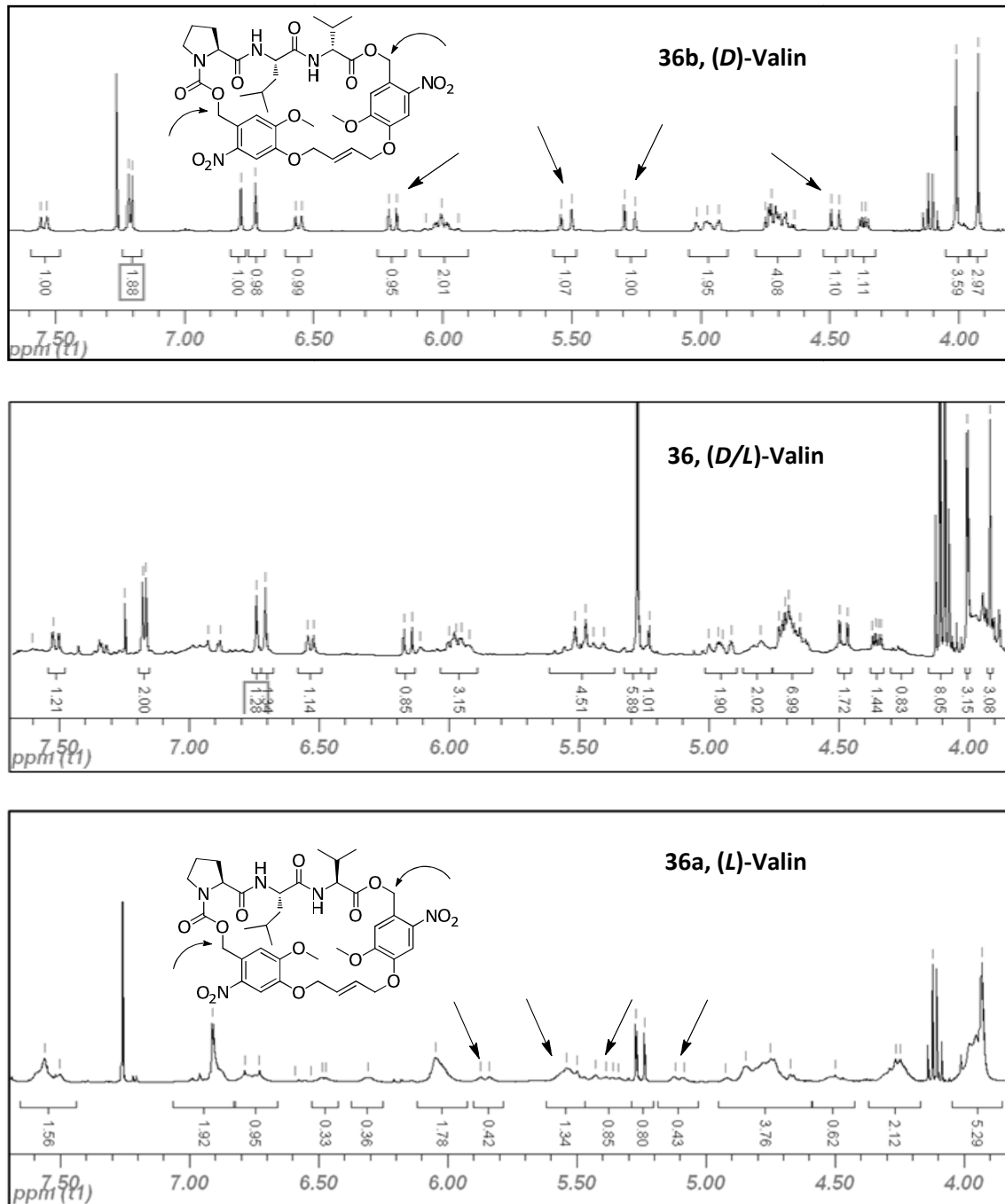
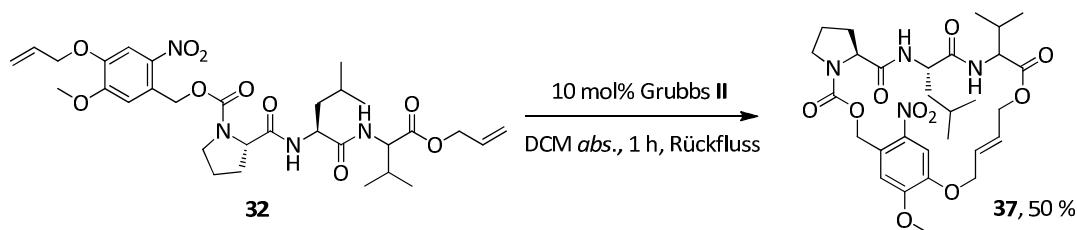


Abbildung 3-2 Auszug aus den ¹H-NMR-Spektren der cyclisierten Verbindungen **36b** (oben), **36** (Mitte) und **36a** (unten). Pfeile markieren die Benzyl-Positionen bzw. -Signale.

Neben den Cyclisierungen der doppelt photolabil-geschützten Tripeptide wurde auch der *mono*-AMNB-geschützte Tripeptidallylester **32** in die Ringschlussmetathese eingesetzt. Bei gleichen Reaktionsbedingungen, nämlich 10 mol% Grubbs II in *abs.* Dichlormethan refluxiert, 0.02 M Lösung aus **32** in *abs.* Dichlormethan langsam zugetropft, 1 h Rückfluss, Säulenchromatographie wie oben beschrieben, konnten 50 % des cyclisierten Produkts **37** isoliert werden (Schema 3-16). Es gab also keinen nennenswerten Unterschied bei der Metathese zwischen beiden Schützungs-/ Linkervarianten, sodass beide für die Anwendung in biologischen Systemen in Frage kommen, zumindest auf die Effizienz der Synthese bezogen.

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-16 Cyclisierung des *mono*-AMNB-geschützten Tripeptidallylesters **32**.

3.1.5 Untersuchungen zur Abspaltung der photolabilen Schutzgruppe AMNB durch Belichtung

a) Allgemeines

Neben der Synthese der photolabil geschützten Peptide und Cyclopeptide sollte auch die Abspaltung der Schutzgruppe untersucht werden. Ist die neue Schutzgruppe „AMNB“ überhaupt photolabil und unter welchen Bedingungen kann sie abgespalten werden? Dazu stand zunächst eine Apparatur mit einer Quecksilber-Mitteldruckdampfampe zur Verfügung, deren schematischer Aufbau in Abbildung 3-3 gezeigt ist. Die Quecksilberdampfampe wurde über einen Trafo betrieben und befand sich in einem Glasrohr aus Quarzglas, welches als Lichtfilter diente. Zwischen diesem und einem etwas größeren Quarz-Glasrohr wurde die Wasserkühlung angeschlossen, damit die Lampe im Inneren nicht überhitzt. In unmittelbarer Nähe der Lampe, etwa im Abstand von 10 cm, wurden die Proben über eine entsprechende Halterung befestigt. Die gesamte Apparatur wurde in eine mit reflektierender Aluminiumfolie ausgekleidete Halbkugel gestellt und mit Aluminiumfolie abgedichtet, sodass möglichst wenig Licht nach außen dringen konnte. Die Kolben oder Röhrchen, in denen die Proben bestrahlt wurden, waren ebenfalls aus Quarzglas. Dieses hat einen *UV-Cutoff* von ca. 190 nm, das heißt, es lässt Licht einer höheren Wellenlänge passieren, während energiereicheres Licht absorbiert wird.^[162] Die Emissionswellenlängen der Quecksilber-Mitteldruckdampfampe liegen bei ca. 320 und 365 nm, zwischen 200 nm und 300 nm entspricht das Emissionsspektrum einer breiten, intensiven Bande. Außerdem gibt es einige Emissionsmaxima im sichtbaren Bereich (vgl. Anhang 6.1.1).

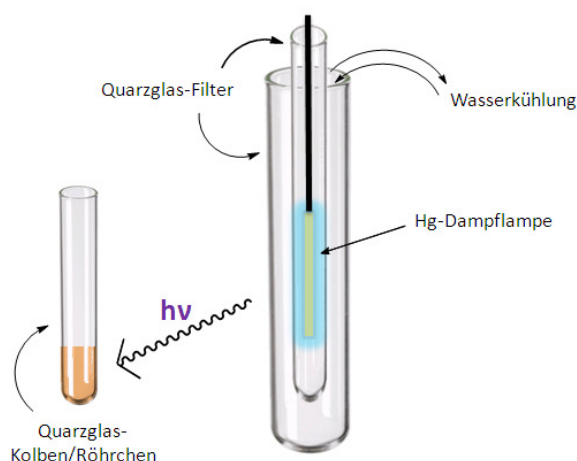
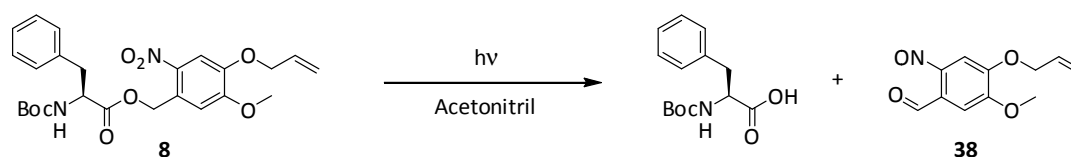


Abbildung 3-3 Schematischer Aufbau der Belichtungsapparatur mit Hg-Mitteldruckdampfampe.

b) Qualitative Analyse mittels Absorptionsspektroskopie

Ließe die Abspaltung der AMNB-Schutzgruppe analog zu dem in der Literatur für andere *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen beschriebenen Mechanismus ab, dann sähe die Reaktionsgleichung für die Photolyse des AMNB-geschützten Boc-Phenylalanins (**8**) wie in Schema 3-17 beschrieben aus.^[8] Die Abspaltungen der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppen laufen alle, wie bereits in Kapitel 2.2.1 erläutert, nach einem Norrish-Typ-II Mechanismus ab. Als Produkte sollten also in diesem Fall die Säure Boc-Phenylalanin und das Nitrosobenzaldehyd-Derivat **38** freiwerden. Eine Möglichkeit, die Umsetzung der AMNB-geschützten Aminosäure zu verfolgen, stellt die Aufnahme von Absorptionsspektren während der Belichtung dar. In der Literatur gibt es unzählige Referenzen für die Verschiebung des Absorptionsmaximums während der Belichtung verschiedenster *o*-Nitrobenzyl-geschützter Substrate.^[37,41,163] Daher sollte ein Vergleich mit ähnlichen Substraten Aufschluss darüber geben, ob eine Abspaltung der Schutzgruppe in unserem Fall erfolgt oder nicht.



Schema 3-17 Photolyse des AMNB-geschützten Boc-Phenylalanins (**8**).

Die Belichtung der AMNB-geschützten Aminosäure **8** erfolgte mit der oben beschriebenen Quecksilber-Mitteldruckdampfampe in der entsprechenden Apparatur. Die Probe wurde als 10.2 mM Lösung in Acetonitril (5.0 mg/ml) im Quarz-Reagenzglas vorgelegt, die Reaktionsverfolgung erfolgte mit Hilfe der Messung der Absorptionsspektren nach 30 min, 1 h, 2 h, 4 h und 8 h. Zur Messung der Spektren wurden zum jeweiligen Zeitpunkt Proben entnommen und 1:100 verdünnt, das heißt, die Konzentration bei der Messung betrug 0.102 mM. Wie in Abbildung 3-4 zu sehen ist, konnte tatsächlich eine Abnahme des Maximums bei 345 nm sowie eine Verschiebung des Maximums bei 300 nm zu kürzeren Wellenlängen beobachtet werden. Das Maximum bei 255 nm wurde durch die Absorption des Phenylalanin-Aromaten erzeugt und änderte sich nicht. Dies deckt sich mit den Literaturdaten,^[37,41,163] jedoch konnte kein Anstieg der Absorption bei etwa 420 nm detektiert werden, was für die Bildung des Nitroso-Produkts sprechen würde. Mit dieser Methode ist also weder eine Aussage über die Bildung von Nebenprodukten noch über die Ausbeute möglich.

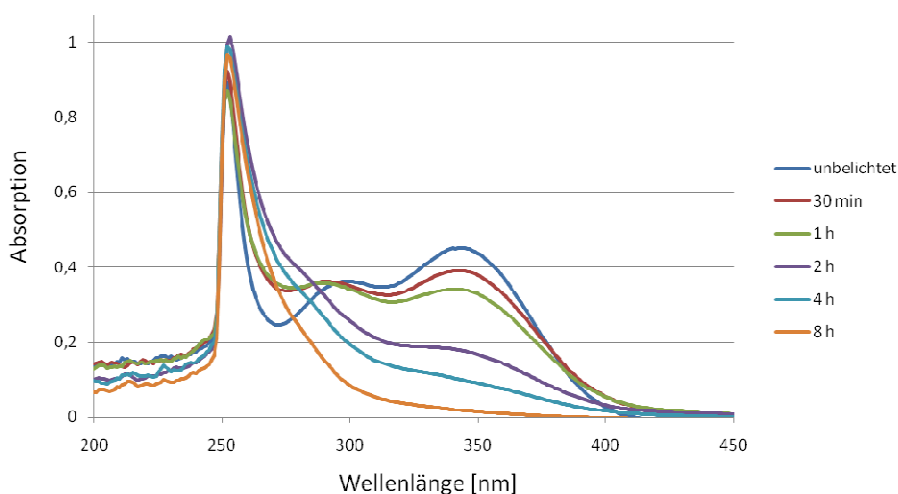


Abbildung 3-4 Absorptionsspektren von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**) in Acetonitril vor der Belichtung und nach 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, und 8 h.

3. Ergebnisse und Diskussion

c) Isolierung der Produkte

Die nächstliegende Methode, die Ausbeute der Produkte zu bestimmen, war ihre Isolierung nach der Belichtung. Dazu wurden verschiedene C-terminal AMNB-geschützte Boc-Aminosäuren in Acetonitril belichtet und der Fortschritt der Abspaltung *via* DC-Reaktionskontrolle verfolgt. Nach beendeter Reaktion sollten dann die freie Säure und das Nitrosobenzaldehyd-Derivat **38** mittels Säulenchromatographie getrennt und isoliert werden.

Zunächst wurde Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**) belichtet. 4 x 25 mg der Substanz in je 3 ml Acetonitril (26 mM) wurden fünf Stunden lang belichtet. Nach Säulenchromatographie sollte Boc-Phenylalanin sauber isoliert werden, was jedoch nicht gelang. Während der Reaktion zeigte sich bereits, dass nicht nur zwei, sondern eine ganze Reihe Produkte entstanden. Auf der DC waren sieben definierte Spots zu sehen, diese wurden zusätzlich überlagert von einer Schmierspür. Einige der Spots zeigten Fluoreszenz bei 366 nm. Auch die Isolierung von Boc-Glycin aus der Belichtung von Boc-Glycin-OAMNB (**6**) war nicht wesentlich erfolgreicher. Zwar konnte das Produkt nach Belichtung einer 84 mM Lösung (2 x 100 mg in je 3 ml Acetonitril) isoliert werden, allerdings nur sehr unsauber, sodass keine Angabe zur Ausbeute gemacht werden konnte. Der Versuch, eines der Nebenprodukte zu isolieren und zu identifizieren, blieb erfolglos, denn der Ansatz wurde in relativ kleinem Maßstab durchgeführt und jedes der sehr polaren Nebenprodukte schien nur zu wenigen Prozent entstanden zu sein, was eine Isolierung sehr erschwerte. Es konnte allerdings ein ¹H-NMR-Spektrum einer Mischung mehrerer Nebenprodukte aufgenommen werden, was die Vermutung einer komplizierten Mischung von Abspaltungsprodukten bestätigte (Abbildung 3-5). Die Tatsache, dass im Bereich zwischen 8.0 und 12.0 ppm lediglich H-Atome mit einer Gesamtintegration von 0.06 auftraten (statt 1.0 für Aldehyd-H), ließ darauf schließen, dass das primäre Spaltprodukt, sofern es entstanden ist, sofort weiterreagiert hat. Auch die aromatischen Wasserstoffatome lassen auf eine komplexe Mischung schließen (Abbildung 3-5, 6.4–7.8 ppm).

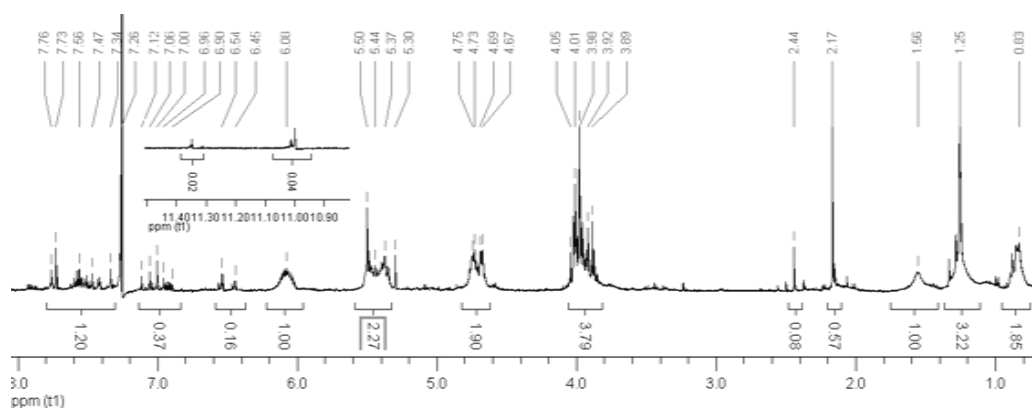
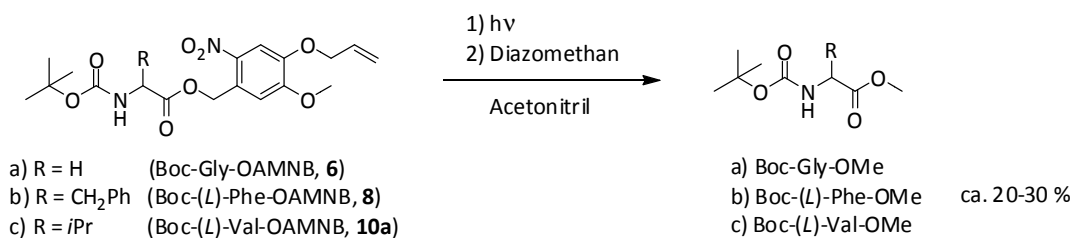


Abbildung 3-5 ¹H-NMR-Spektrum einer Mischung mehrerer Schutzgruppen-Spaltprodukte.

Die *in situ*-Veresterung der nach beendeter Photolyse freigesetzten Säure mit Hilfe von Diazomethan sollte Abhilfe schaffen. Die Methylester der entsprechenden Säuren waren viel unpolarer als die Säuren selbst und zeigten sich auf der DC als definierterer Spot, der viel besser säulenchromatographisch isoliert werden konnte. Es war zwar immer noch nicht möglich, eine Aussage über die Nebenprodukte zu machen, jedoch konnten die Methylester relativ sauber isoliert werden. Die Ausbeuten lagen im Bereich von 20–30 %. Schema 3-18 zeigt drei Beispiele, die Ansatzgröße betrug jeweils 100 mg in 3 ml Acetonitril, die Reaktionsdauer lag bei 4–16 Stunden, je nachdem, ob die Probe mit Wasser gekühlt wurde oder nicht. Es wurde immer bis zum vollständigen Umsatz belichtet.

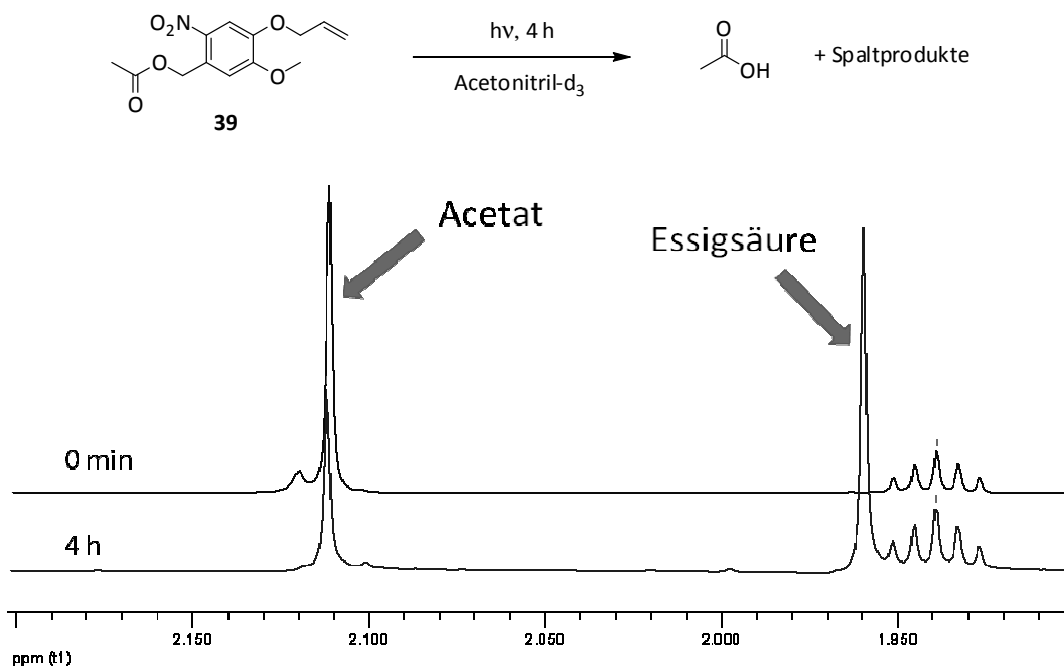


Schema 3-18 a)–c) Isolierung der Methylester Boc-geschützter Aminosäuren nach der Belichtung, a) ohne Kühlung: 5 h, 63 mM, mit Kühlung: 16 h, 50 mM b) 7 h, 69 mM, c) 4 h, 71 mM.

Durch die Isolierung des Produkts, also in diesem Fall des Methylesters der freien Säure, konnte die Photolabilität der AMNB-geschützten Verbindungen endgültig nachgewiesen werden. Allerdings konnte bisher keine klare Aussage über die anderen Spaltprodukte getroffen werden. Des Weiteren sollte untersucht werden, warum die Ausbeute an Produkt relativ gering war und die Frage geklärt werden, ob Nebenprodukte während der Photospaltung gebildet werden oder die Spaltprodukte der Schutzgruppe mit freigesetztem Produkt reagieren. Dazu musste eine Methode gefunden werden, die es erlaubte, die Reaktion während der Belichtung quantitativ zu verfolgen, ohne sie abbrechen zu müssen.

d) Quantifizierungsversuche mittels NMR

Die Messung von ¹H-NMR-Spektren während bzw. zwischen den Belichtungen sollte eine quantitative Aussage über die Bildung des Produkts und vielleicht auch einen Anhaltspunkt zur Identifizierung der Nebenprodukte geben. Ein erster Versuch wurde mit dem sehr einfachen Substrat **39**, also AMNB-geschützter Essigsäure, durchgeführt. Die Belichtung erfolgte in deuteriertem Acetonitril direkt in einem Quarz-NMR-Röhrchen. In regelmäßigen Abständen wurden ¹H-NMR-Spektren aufgenommen, nämlich zu Beginn, nach 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 1 h, 2 h und nach 4 h. Die vollständigen Spektren sind im Anhang in Abbildung 6-1 und 6-4 zu sehen.



Schema 3-19 Ausschnitte der ¹H-NMR-Spektren der Photolyse von **39** vor der Belichtung und nach 4 h.

3. Ergebnisse und Diskussion

Schema 3-19 zeigt Ausschnitte des Anfangsspektrums und des NMR-Spektrums nach vierstündiger Belichtung mit der Quecksilber-Mitteldruckdampfampe. Die Abnahme des Acetat-Peaks bei 2.11 ppm und die Bildung eines neuen Peaks bei 1.96 ppm ist deutlich erkennbar. Dieser Peak entspricht der CH₃-Gruppe der gebildeten Essigsäure. Werden die Integrationen dieser beiden Peaks in Abhängigkeit der Belichtungszeit aufgetragen, so ergeben sich die in Abbildung 3-6 (a) aufgetragenen Graphen. Da eine photochemische Reaktion bei konstanter Belichtungsstärke in der Regel eine Reaktion nullter Ordnung ist, also eine konstante Reaktionsgeschwindigkeit besitzt und unabhängig von der Konzentration der umgesetzten Substanz ist, wurde ein konstanter Abfall der Integration des Acetatpeaks erwartet.^[164] Dies war jedoch nicht der Fall, es konnte ein exponentieller Abfall der Kurve beobachtet werden. Dazu proportional stieg der Wert für die Integration der CH₃-Gruppe der Essigsäure an.

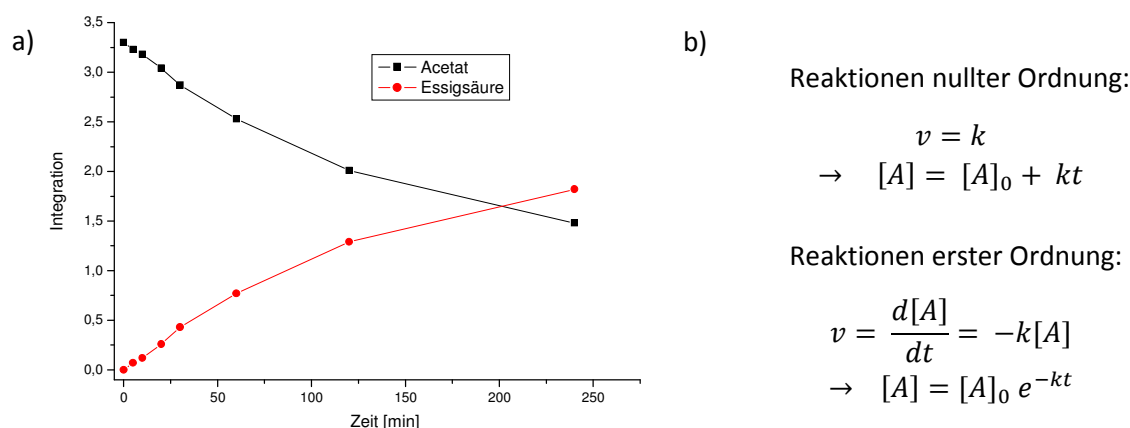


Abbildung 3-6 a) Auftragung der Integrationen des Acetat- und des Essigsäure-Peaks gegen die Belichtungszeit, b) Reaktionsgeschwindigkeiten für Reaktionen nullter und erster Ordnung.^[164]

Ein exponentieller Abfall deutet normalerweise auf eine Reaktion erster Ordnung hin, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration der umzusetzenden Substanz abhängig ist (vgl. Abbildung 3-6, b). Da das in diesem Fall eher unwahrscheinlich ist, wurde vermutet, dass andere Prozesse während der Reaktion eine Rolle spielen, wie beispielsweise die Absorption von Photonen durch die Nebenprodukte. Bei der Untersuchung der Reaktionskinetik des Zerfalls von *caged ATP* im Jahr 1988 stießen auch TRENTHAM *et al.* auf einen Zerfall erster Ordnung des *aci*-Nitro-Produkts.^[8,56] Auf eine umfassende Untersuchung der Kinetik der Reaktion wurde in unserem Fall jedoch verzichtet. Stattdessen wurde ein zweiter Versuch unternommen, die Belichtung mittels NMR-Spektroskopie zu verfolgen. Analog zum Ansatz mit AMNB-geschützter Essigsäure wurde Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**) in deuteriertem Acetonitril belichtet. Wie aus den Spektren im Anhang (siehe Abbildung 6-5) ersichtlich ist, kann hier aufgrund der Komplexität des Spektrums und der Fülle der Nebenprodukte keine Aussage mehr über den Umsatz der geschützten Substanz oder die Bildung des Boc-Phenylalanins getroffen werden. Die Belichtung wurde als Vergleich darüberhinaus in CDCl₃ durchgeführt, lieferte aber identische Spektren, die hier nicht aufgeführt werden sollen. Eine Belichtung in CDCl₃ sollte aber grundsätzlich möglich sein.

e) Quantifizierungsversuche mittels HPLC/MS

Zum Erfolg führte die Quantifizierung der Produkte mittels HPLC/MS-Messungen. Edukte, also AMNB-geschützte Aminosäuren und Peptide, Produkte und Nebenprodukte der Schutzgruppe konnten in Testmessungen auf der *Reversed-Phase* Säule aufgetrennt und die Edukte und Produkte konnten mittels Massenspektrometrie identifiziert werden. Als Laufmittel wurde ein Gradient aus Acetonitril und Wasser + 0.1 % Ameisensäure verwendet. Eine Identifizierung der Nebenprodukte war leider nicht möglich, da diese zwar in der UV-Spur deutlich zu erkennen waren, aber nicht ausreichend ionisierten, sodass kein definierter Massenpeak detektiert werden konnte. Auch die Schutzgruppe selbst (AMNBol, **1**) wurde in der HPLC/MS vermessen und zeigte ebenfalls fast keine Ionisierung. Sie konnte daher nur über die Retentionszeit und die Absorption im UV identifiziert werden. Da aber die AMNB-geschützten Aminosäuren und Peptide sowie die nach Belichtung freigesetzten Säuren gut detektierbar waren, sollten umfassende Quantifizierungsexperimente vorgenommen werden. Dabei sollten Vergleiche zwischen verschiedenen Aminosäuren und Peptiden sowie unterschiedlichen Konzentrationen angestellt und andere Einflüsse wie die An- und Abwesenheit von Sauerstoff während der Belichtung untersucht werden.

e.1) Kalibrationen

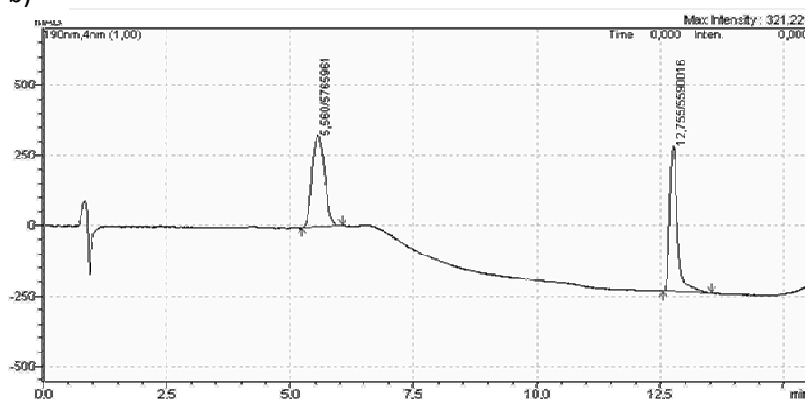
Um eine Quantifizierung vornehmen zu können, musste zunächst eine Kalibrationsmethode etabliert werden. Dabei sollte eine externe Kalibration die Methode der Wahl sein. Zunächst musste von jeder zu untersuchenden Substanz eine Stammlösung definierter Konzentration angesetzt werden, hier war es eine Lösung der Konzentration 1.0 mg/ml. Aus dieser wurden dann die Kalibrationslösungen (vgl. Tabelle 3-5, a) gemäß Tabelle 6-2 (siehe Kapitel 6.1.1) angesetzt und jeweils als äquimolare Mischung aus Boc-X-OH und Boc-X-OAMNB (X = Aminosäure oder Peptid) vermessen, das heißt, beide Substanzen lagen in der angegebenen Konzentration in der Lösung vor. Ein Beispielchromatogramm (UV-Spur bei 190 nm) ist im Zusammenhang mit Tabelle 3-5 gezeigt. Aus den Integrationen der beiden Peaks konnte nach Auftragung gegen die Konzentrationen mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogramms (Origin® 6.0) ein passender Kalibrationsfit erstellt werden. In der Regel genügt eine lineare Regression, um die Werte der Integrationen mit den Konzentrationen zu korrelieren. In den meisten Fällen mussten hier jedoch andere Regressionen angewendet werden, wie auch im Beispiel von Boc-(L)-Phe-OAMNB. In Tabelle 3-6 werden die entsprechenden Daten aufgeführt, ein sigmoider Fit erzeugte einen guten Regressionskoeffizienten ($R^2 = 0.99969$).

Tabelle 3-5 a) Konzentrationen der Kalibrationslösungen, b) UV-Spur des Chromatogramms für eine Messung des Probenpaares Boc-(L)-Phe-OH (Peak links) und Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**, Peak rechts).

a)

Lösung Nr.	Konzentration
1	1.0 mg/ml
2	0.75 mg/ml
3	0.50 mg/ml
4	0.25 mg/ml
5	0.15 mg/ml
6	0.10 mg/ml
7	0.05 mg/ml
8	0.025 mg/ml

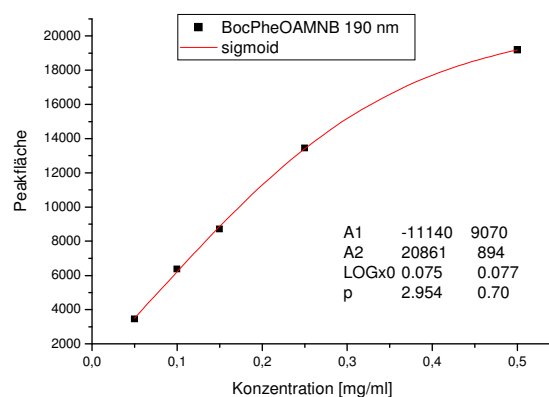
b)



3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 3-6 Externe Kalibration mit Hilfe der Integrationen der gemessenen Proben verschiedener Konzentrationen am Beispiel von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**).

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	19173
4	0.25	13445
5	0.15	8718
6	0.10	6372
7	0.05	3459



Die aus der Regression errechneten Parameter dienen nun dazu, aus der Integration einer später gemessenen Probe die entsprechende Konzentration zu errechnen. Die dazugehörigen Gleichungen sind in Tabelle 3-7 aufgeführt. Alternativ wurden auch polynomielle Regressionen zweiten Grades sowie lineare Regressionen durchgeführt. Die gesamten Daten (Messergebnisse, Graphen, Parameter, Gleichungen) für alle untersuchten Substanzen sind im Anhang (Kapitel 6.1.1) aufgeführt. Es muss erwähnt werden, dass für eine statistische Relevanz in der Regel alle Messungen dreifach durchgeführt werden müssten. Aufgrund zeitlicher und messkapazitiver Gründe wurde darauf verzichtet, alle Messungen sind Einzelmessungen. Daher können auch kein Fehler und keine Standardabweichung angegeben werden. Da es bei den durchgeführten Messungen in erster Linie nicht um die gemessenen Absolutwerte, sondern um Vergleichswerte mit anderen Substanzen geht, sollte die Aussagekraft der Messungen trotzdem hoch genug sein, um sie im Zuge dieser Dissertation aufzuführen zu können. Die Messungengenauigkeit dürfte im Rahmen von wenigen Prozent liegen.

Tabelle 3-7 Aus der Kalibration ermittelte Parameter und dazugehörige Gleichungen am Beispiel einer sigmoiden Regression.

Parameter	Wert
A ₁	-11140
A ₂	20861
log x ₀	0.075
p	2.954

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

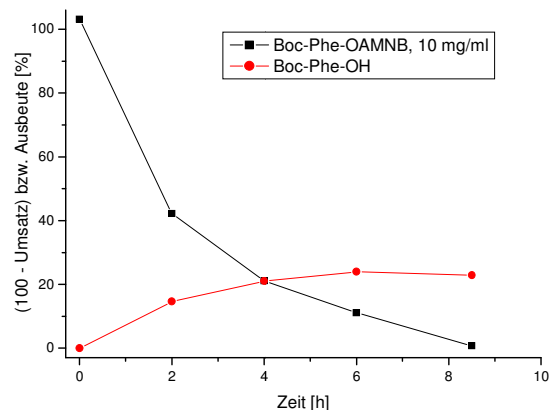
e.2) Ergebnisse

Wie bereits zuvor erwähnt, war das Ziel der durchgeführten Messungen, die Einflüsse verschiedener Bedingungen auf die Belichtung zu untersuchen. Tabelle 3-8 zeigt das Ergebnis der ersten Messung, der Belichtung von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**). Es wurde eine Lösung der Konzentration 10.0 mg/ml belichtet, die nach der jeweiligen Zeit gezogenen Proben wurden 1:20 verdünnt und in der HPLC/MS gemessen. Mit Hilfe der aus den Chromatogrammen abgelesenen Integrationen konnten die Konzentrationen zum jeweiligen Zeitpunkt errechnet werden. So ergab sich nach sechs Stunden eine maximale Ausbeute von 24 % Boc-Phe-OH, wobei noch 11 % der Ausgangssubstanz vorhanden waren. Nach 8.5 Stunden waren auch diese letzten 11 % umgesetzt, allerdings verringerte sich die Ausbeute auf ca. 23 %. Da der Unterschied innerhalb der Messungengenauigkeit lag, sollten weitere Messungen diesen Sachverhalt aufklären.

3. Ergebnisse und Diskussion

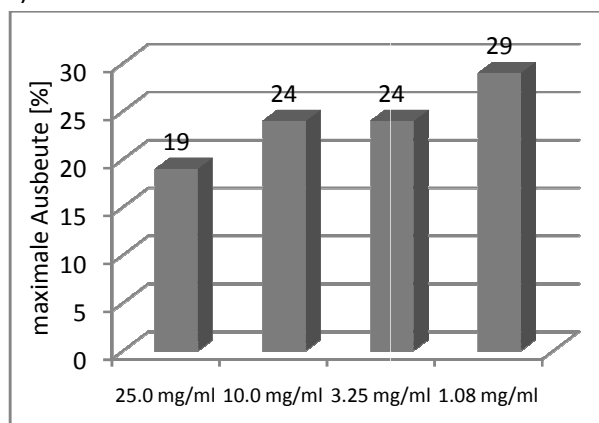
Tabelle 3-8 Belichtung von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Quarz, 10.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 24 %.

Zeit	Boc-Phe-OAMNB (8)			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	% ¹	Integr.	Konz. [mg/ml]	% ²
0 min	19339	0,5156	103,1			0,0
2 h	11767	0,2108	42,2	4635	0,0729	14,6
4 h	6520	0,1056	21,1	6222	0,1052	21,0
6 h	3316	0,0556	11,1	6905	0,1198	24,0
8.5 h	212	0,0036	0,7	6658	0,1145	22,9



Um den möglichen Einfluss der Konzentration der Ausgangssubstanz auf die Belichtung zu untersuchen, wurde die Testsubstanz Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**) bei verschiedenen Konzentrationen belichtet. Die maximalen Ausbeuten der vier verschiedenen Ansätze sind in Abbildung 3-7 (a) aufgeführt. Tatsächlich ist eine leichte Tendenz zu erkennen, dass eine höhere Konzentration die Ausbeute leicht verringert (19 % bei 25.0 mg/ml, 29 % bei 1.08 mg/ml). Dabei ist zu beachten, dass die Photolysedauer bei der niedrigen Konzentration nur eine Stunde betrug, bei den höheren Konzentrationen mehr als acht Stunden (vollständige Daten im Anhang, Kapitel 6.1.1). Des Weiteren war zu beobachten, dass bei sehr langer Belichtungsdauer des 3.25 mg/ml-Ansatzes die Konzentration des Produktes abnahm, was darauf hindeutete, dass auch das Produkt mit der Zeit zersetzt wurde (Abbildung 3-7, b). Entweder ist das Produkt selbst also photolabil oder es reagiert unter Photoneneinfluss mit den Nebenprodukten der Schutzgruppe. Dies könnte der Grund dafür sein, dass die Ausbeute bei höherer Konzentration sinkt, denn dann würden durch die lange Reaktionsdauer diese Nebenreaktionen begünstigt. Eine schwache Photolabilität der Produkte wurde durch ¹H-NMR-Messungen nachgewiesen, im Anhang (Abbildung 6-6) beispielhaft für Boc-Gly-OH dargestellt.

a)



b)

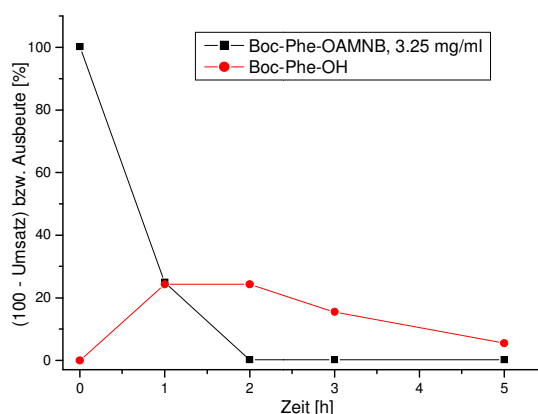


Abbildung 3-7 a) Vergleich der Maximalausbeuten der Belichtung von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**) bei verschiedenen Konzentrationen. b) Belichtung von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**), 3.25 mg/ml.

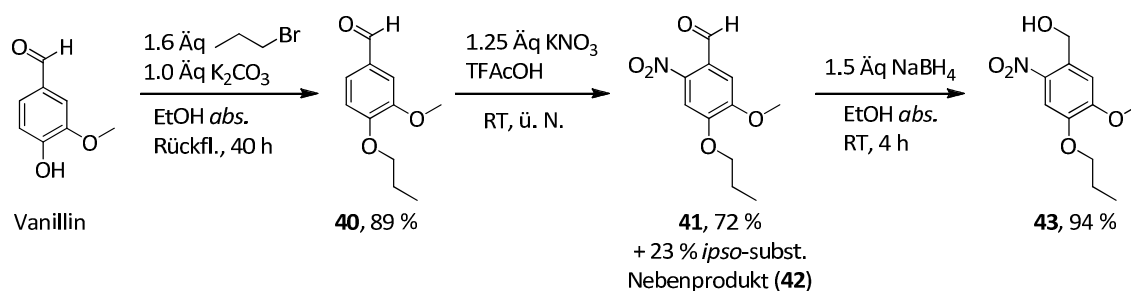
¹ Prozent der Anfangskonzentration (angegebene Konzentration bei der Belichtung = 100 %), Werte abweichend von 100 % liegen im Rahmen der Mess- bzw. Einwaageungenauigkeit.

² Ausbeute, bestimmt aus der Integration des Produktpeaks.

3. Ergebnisse und Diskussion

Ob die Art der Aminosäure Einfluss auf die Ausbeute der Photolyse hat, sollte im nächsten Versuch geklärt werden. Dazu sollte die Belichtung der nicht-aromatischen geschützten Aminosäure Boc-(L)-Leu-OAMNB (**9a**) mit den bisherigen Ergebnissen verglichen werden (siehe Abbildung 3-8). Außerdem wurde die Vermutung angestellt, dass die Doppelbindung der AMNB-Schutzgruppe für etwaige Nebenproduktbildung während der Belichtung verantwortlich sein könnte. Doppelbindungen können als π -System von Photonen angeregt werden und photochemische Reaktionen vielfältiger Art eingehen.^[1] Die Belichtung der sehr einfachen Verbindung *O*-Allylphenol ergab ein sehr unübersichtliches ¹H-NMR-Spektrum, die Produkte konnten allerdings nicht identifiziert werden. Da die Doppelbindung also möglicherweise für den Ausbeuteverlust verantwortlich sein könnte, sollte die Doppelbindung der AMNB-Schutzgruppe hydriert werden (-> „hAMNB“) bzw. die Schutzgruppe sollte *de novo* ohne Doppelbindung dargestellt werden. Die so zugängliche geschützte Aminosäure Boc-(L)-Phe-OhAMNB sollte im Anschluss belichtet werden.

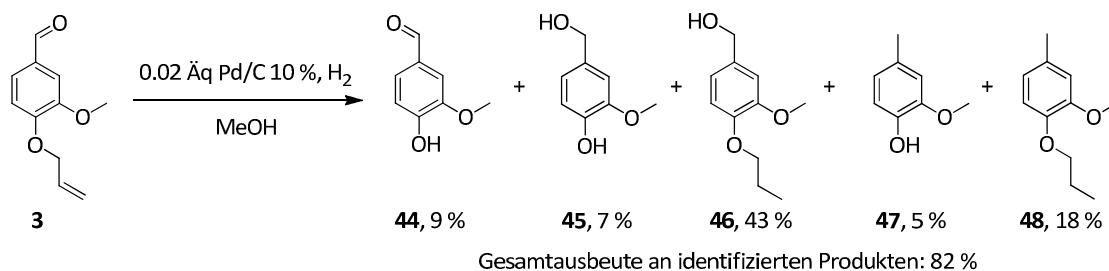
Die Synthese des Propyl-Analogons der AMNB-Schutzgruppe (hAMNBol, **43**) gelang auf dem gleichen Weg wie die Synthese von AMNBol selbst (Schema 3-20). Ausgehend von Vanillin wurde zunächst der Alkohol propyliert, bei der anschließenden Nitrierung konnte dasselbe *ipso*-substituierte Nebenprodukt identifiziert werden wie bei der Nitrierung zuvor (vgl. Kapitel 3.1.2). Reduktion mit Natriumborhydrid lieferte die gewünschte Schutzgruppe hAMNBol **43** mit einer Gesamtausbeute von 60 % über drei Stufen.



Schema 3-20 Synthese der Schutzgruppe „hAMNBol“ (**43**), dem Propyl-Analogon der AMNB-Schutzgruppe (**1**).

Parallel dazu sollte eine Hydriermethode gefunden werden, mit Hilfe derer die Doppelbindung bereits AMNB-geschützter Aminosäuren und Peptide hydriert werden konnte, ohne dass dabei die Benzylposition der Schutzgruppe mit reduziert wird. Dies könnte von Vorteil sein, wenn das Konzept später in die biologische Anwendung gehen soll. Dort wäre es sicherlich nützlich, wenn nach der Ringschlussmetathese, bei der immer geringe Mengen des Ruthenium-Katalysators zurückbleiben können, eine Hydrierung der gerade geknüpften Doppelbindung durchgeführt werden könnte. Es ist literaturbekannt, dass der Ruthenium-Katalysator unter Hydrierbedingungen (Wasserstoff, Palladium auf Kohle) an Palladium adsorbiert werden kann^[159] und das erhaltene Produkt in der Regel viel reiner ist als das Produkt nach der Metathese. Ein erster Versuch, die Doppelbindung zu reduzieren, wurde unter Standardbedingungen (10 % Palladium auf Kohle, H₂-Atmosphäre) durchgeführt. Die Schutzgruppe AMNBol lieferte in diesem Ansatz eine Mischung aus mindestens sechs Verbindungen, was nicht unerwartet war, da unter diesen Bedingungen auch die Benzylposition angegriffen werden kann. Die Umsetzung von *O*-Allylvanillin (**3**) wurde zum Vergleich herangezogen. Diese lieferte ebenfalls eine Reihe an Verbindungen, die zum Großteil isoliert und identifiziert werden konnten, wie in Schema 3-21 gezeigt ist. Der Aldehyd wurde sowohl zum Alkohol als auch zum Toluyl-Derivat reduziert und der Allylrest wurde entweder zum Propylrest hydriert oder komplett reduziert, was zum Phenol-Derivat führte. Die Methode mit Palladium auf Kohle sollte also nicht zum Ziel führen.

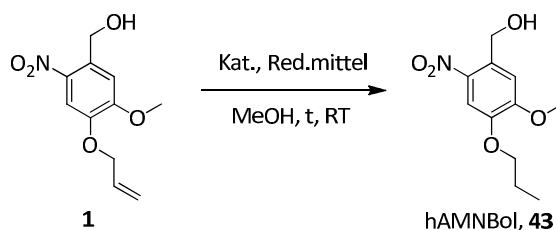
3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-21 Katalytische Hydrierung von *O*-Allylvanillin (**3**) mit 10 % Palladium auf Kohle.

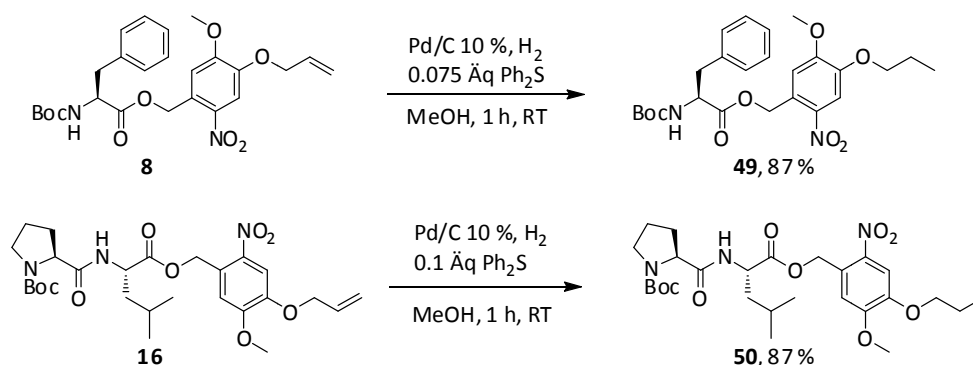
Stattdessen wurden andere Katalysatoren getestet, nämlich 5 % Rhodium auf Kohle und 5 % Platin auf Kohle. In beiden Fällen wurden als Wasserstoffquelle einmal Wasserstoffgas und zum anderen aus Ammoniumformiat *in situ* erzeugter Wasserstoff eingesetzt (Tabelle 3-9). Trotz teils sehr langer Reaktionsdauer (bis zu vier Tage) konnte kein Umsatz beobachtet werden. Es wurde immer die gesamte Menge an Edukt reisoliert. Deshalb wurde auf eine von Mori *et al.* im Jahr 2006 beschriebene Methode zurückgegriffen.^[165] Diese verwendeten wenige Molprozent Diphenylsulfid als Katalysatorgift und reduzierten Doppelbindungen in Gegenwart vieler funktioneller Gruppen, auch in Gegenwart von Benzylestern, mit Palladium auf Kohle als Katalysator. Die Kompatibilität mit Nitroverbindungen wurde bisher nicht getestet, Halogene waren stabil. Eintrag 5 (Tabelle 3-9) zeigt, dass bei Verwendung von fünf Molprozent Diphenylsulfid und Ammoniumformiat als Wasserstoffquelle bei der Reduktion von AMNBol keine Reaktion beobachtet wurde, mit Wasserstoffgas hingegen konnten 78 % des hydrierten Produkts **43** isoliert werden (Eintrag 6).

Tabelle 3-9 Reduktion der Doppelbindung der Schutzgruppe AMNBol.



Eintrag	Katalysator (0.02 Äq)	Reduktionsmittel	Additiv	t	Ausbeute
1	Rh/C (5 %)	2.0 Äq NH ₄ ⁺ HCOO ⁻	-	2 h	keine Reaktion
2	Rh/C (5 %)	H ₂ (atm)	-	24 h	keine Reaktion
3	Pt/C (5 %)	3.0 Äq NH ₄ ⁺ HCOO ⁻	-	3.5 h	keine Reaktion
4	Pt/C (5 %)	H ₂ (atm)	-	4 d	keine Reaktion
5	Pd/C (10 %)	3.0 Äq NH ₄ ⁺ HCOO ⁻	0.05 Äq Ph ₂ S	4 d	keine Reaktion
6	Pd/C (10 %)	H ₂ (atm)	0.05 Äq Ph ₂ S	18 h	78 %

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-22 Katalytische Hydrierung zweier AMNB-Verbindungen mit Diphenylsulfid-vergiftetem Palladium-Katalysator.

Die zuvor für die Hydrierung der AMNB-Doppelbindung gefundenen Reaktionsbedingungen mit Diphenylsulfid als Katalysatorgift wurden nun auch bei Boc-geschützten Aminosäuren und Peptiden angewendet, mit leicht erhöhter Menge an Diphenylsulfid. Schema 3-22 zeigt, dass sowohl Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**) als auch Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OAMNB (**16**) mit Ausbeuten von je 87 % als jeweilige hAMNB-Verbindungen **49** und **50** erhalten werden konnten. Somit wurde die Kompatibilität dieser Methode mit peptidischen Substraten gezeigt. Die Kupplung von Boc-(L)-Phe-OH und Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH mit der Schutzgruppe hAMNBol (**43**) lieferte die gleichen Verbindungen, soll aber hier nicht aufgeführt werden.

Die hAMNB-Verbindung **49** sollte nun belichtet werden, um einen Vergleich mit der „nicht-hydrierten“ Substanz anstellen zu können. Tatsächlich wurde für Boc-(L)-Phe-OhAMNB eine leicht höhere Ausbeute festgestellt als für Boc-(L)-Phe-OAMNB, allerdings nur wenige Prozent (vgl. Abbildung 3-8). Der Einfluss der Doppelbindung war also nur sehr gering und konnte nicht für die insgesamt sehr niedrige Ausbeute an Produkt verantwortlich sein. Auch der Austausch der Aminosäure Phenylalanin gegen Leucin hatte keinen Einfluss auf die Ausbeute bei der Photolyse (22 % statt 24 %, Abbildung 3-8).

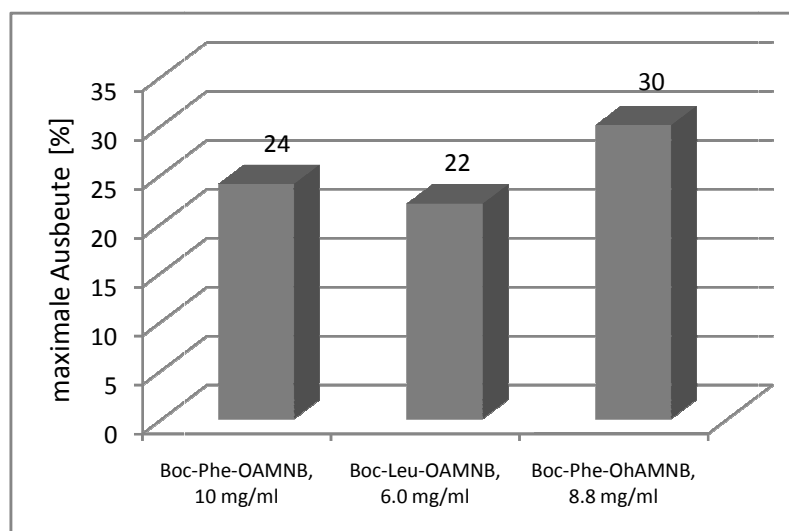
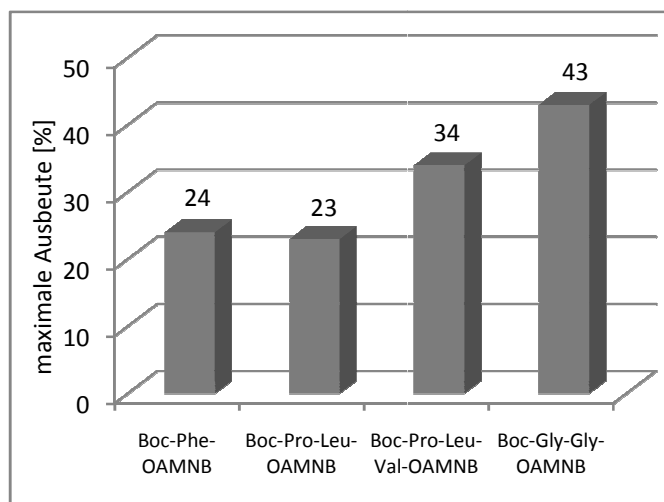


Abbildung 3-8 Einfluss der Aminosäure und der Doppelbindung der Schutzgruppe auf die maximale Ausbeute der Belichtung.

3. Ergebnisse und Diskussion

In einem nächsten Schritt sollte die Belichtung von AMNB-geschützten Peptiden getestet werden. Die Stabilität von Peptiden gegenüber den Photolysebedingungen wäre sehr wichtig, wenn das Konzept der photolabilen Cyclopeptide im Wirkstoffdesign Anwendung finden sollte. Daher wurden drei AMNB-geschützte Peptide unter den gleichen Bedingungen wie zuvor belichtet. Es wurden Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OAMNB (**16**), Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D/L)-Val-OAMNB (**15**) und Boc-Gly-Gly-OAMNB (**11**) ausgewählt. Abbildung 3-9 zeigt die Ergebnisse der Messungen. Es ist ein deutlicher Effekt erkennbar, die Ausbeuten der Peptide sind höher als der Referenzwert von Boc-(L)-Phe-OAMNB. Dabei liefert das α -unsubstituierte Peptid Boc-Gly-Gly-OAMNB das beste Ergebnis. Betrachtet man dessen Graph der Photolyse (siehe Kapitel 6.1.1, A.9), so ist eine fast lineare Entwicklung des Produkts zu erkennen, was auf eine relative Photostabilität des Produkts hindeutet, während die Ausbeute der α -substituierten Peptide mit zunehmender Belichtungszeit abnimmt. Die Beobachtung, dass die maximale Ausbeute bei der Belichtung höher konzentrierter Lösungen abnimmt, kann durch das Messergebnis des Dipeptids Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OAMNB bestätigt werden. Der Wert liegt mit 23 % deutlich niedriger als die Werte für die anderen Peptide (34 % bzw. 43 %), aber dennoch höher als die Ausbeute von Boc-(L)-Phe-OAMNB bei gleicher Konzentration (19 %, vgl. Abbildung 3-7).



Substanz (Boc-X-OAMNB)	Konzentration	Max. Ausbeute
X = Phe	10.0 mg/ml	24 %
X = Pro-Leu	20.0 mg/ml	23 %
X = Pro-Leu-Val	9.25 mg/ml	34 %
X = Gly-Gly	7.4 mg/ml	43 %

Abbildung 3-9 Vergleich der maximalen Ausbeuten der Belichtungen dreier AMNB-geschützter Peptide, Boc-(L)-Phe-OAMNB als Referenzwert.

Alle Ergebnisse deuteten darauf hin, dass ein Grund für die geringe Ausbeute an Produkt bei den Photolysen der C-terminal AMNB-geschützten Substanzen an der Photolabilität der Produkte liegen könnte. Dafür könnte das hochenergetische Licht des „fernen UV“ verantwortlich sein, also Licht der Wellenlänge zwischen 190 nm (*UV-Cutoff* von Quarzglas) und ca. 280 nm. Da ein lokales Absorptionsmaximum der Schutzgruppe bei 345 nm liegt, sollte eine Verschiebung der eingestrahlten Wellenlänge zu energetisch niedrigeren Wellenlängen kein Problem darstellen. Dies konnte ganz einfach erreicht werden, indem ein anderer Glasfilter in die Apparatur eingebaut wurde. Statt des Quarzfilters wurde das innere Glasrohr durch einen Duran®-Glasfilter ersetzt. Der *UV-Cutoff* von Duran liegt im Bereich von etwa 300 nm, Licht kürzerer Wellenlängen wird absorbiert. Mit diesem leicht variierten Versuchsaufbau und sonst gleichen Reaktionsbedingungen wurden die Aminosäuren und Peptide erneut vermessen und lieferten das in Abbildung 3-10 dargestellte Ergebnis. Tatsächlich konnte die Maximalausbeute durch die Verwendung des Duran-Filters für alle Substanzen beträchtlich gesteigert werden. Auch bei längerer Einstrahlungsdauer sind die Produkte stabil, was am Beispiel von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**, vgl. Abbildung 3-11) deutlich zu sehen war.

3. Ergebnisse und Diskussion

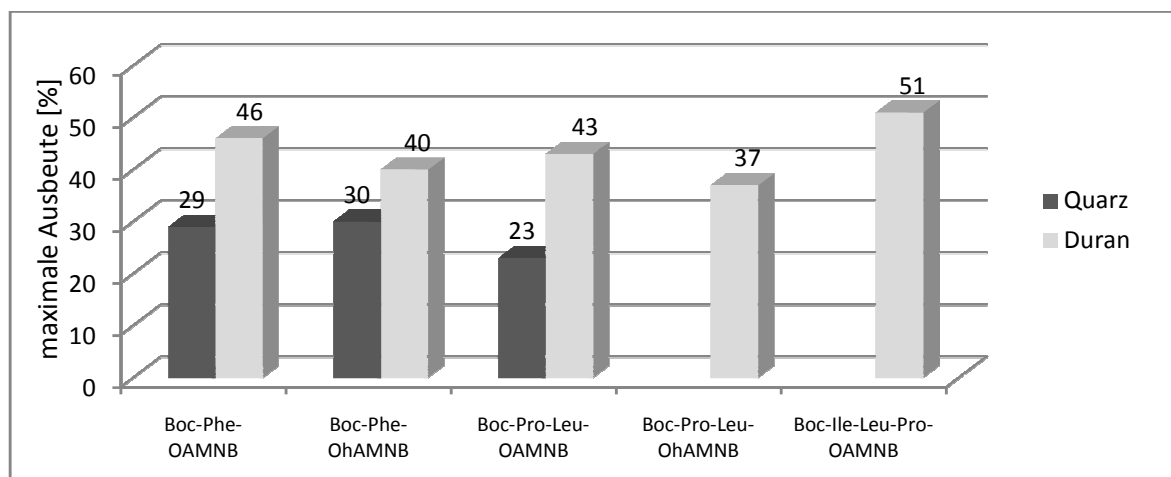
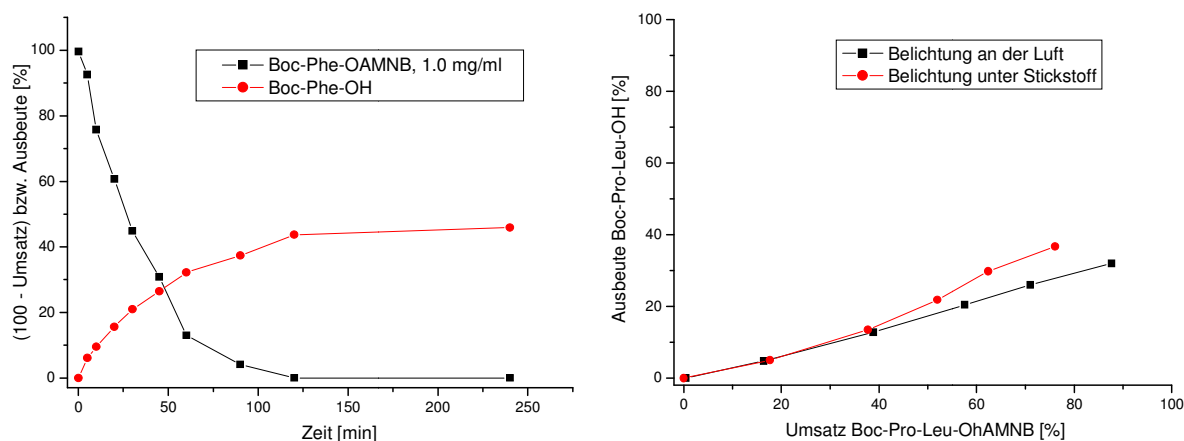


Abbildung 3-10 Vergleich der Belichtungen mit Quarzfilter (dunkelgrau) und Duran®-Filter (hellgrau).

Auch wenn in diesem Fall Messungen mit verschiedenen Konzentrationen verglichen wurden, ist das Ergebnis trotzdem eindeutig (vollständige Daten im Anhang, Kapitel 6.1.1, B.1–B.6). Nun sollte untersucht werden, ob die Anwesenheit von Sauerstoff einen Einfluss auf die Belichtung hat. Unter Einstrahlung von UV-Licht können reaktive Sauerstoffspezies (ROS) wie beispielsweise Singulett-Sauerstoff entstehen, die Nebenreaktionen mit Edukt und Produkten eingehen können.^[1] Als Testsubstrat wurde Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OhAMNB (**50**) einmal unter Stickstoff und zum anderen an der Luft photolysiert. Abbildung 3-12 zeigt die Auftragung der Ausbeute in Abhängigkeit des Umsatzes. Es ist tatsächlich ein schwacher Effekt zu erkennen, die Ausbeute bezogen auf den jeweiligen Umsatz ist für die Belichtung unter Sauerstoffausschluss um wenige Prozent höher als in Anwesenheit von Sauerstoff. Der Effekt wird umso stärker, je länger die Reaktion andauert. Allerdings kann auch die Bildung von Nebenprodukten durch die Reaktion mit ROS nicht die Ursache für die erhebliche Ausbeuteminderung sein. Außerdem ist in biologischen Systemen die Photolyse unter Sauerstoff nicht möglich, sodass die nächsten Versuche wie bisher „an der Luft“ durchgeführt wurden.



links: Abbildung 3-11 Belichtung von Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**), Duran®-Filter.

rechts: Abbildung 3-12 Vergleich: Belichtung des Dipeptids Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OhAMNB (**50**) mit und ohne Sauerstoffausschluss.

3.1.6 UV-LED als Lichtquelle

Da bei der Verwendung des Duran®-Filters in Zusammenhang mit der Quecksilber-Mitteldruckdampfampe die emittierten Wellenlängen etwa 320 und 365 nm betragen (weitere im längerwelligen Bereich), sollte getestet werden, ob auch eine LED-Lampe mit einem Emissionsmaximum von 365 nm zur Photolyse angewendet werden konnte. Die verwendete UV-LED-Lampe ist ein handelsübliches Modell im Taschenlampenformat der Firma MR Chemie Unna, genaue Daten zur Lampe können im Experimentellen Teil (Kapitel 4.1) nachgelesen werden. Die sehr kleine und handliche Lampe brauchte keine spezielle Apparatur und die Proben wurden einfach in einem 1.5 ml HPLC-Vial vor der Lampe befestigt, gerührt und beides mit reflektierender Aluminiumfolie ummantelt. Es war zu beobachten, dass die Reaktionsdauer etwas anstieg, da die Leistung der Taschenlampe geringer war als die Emissionsleistung der Quecksilberdampfampe. Die Ausbeuten lagen jedoch in einem ähnlichen Bereich, etwa zwischen 41 und 56 % (vgl. Abbildung 3-13), die Konzentrationen waren zur Reduzierung der Reaktionsdauer entsprechend gering (0.39–0.87 mg/ml). Dieses Ergebnis ist sehr positiv zu bewerten, da nachgewiesen werden konnte, dass relativ energiearmes Licht im UV-A-Bereich ausreicht, um die AMNB-Schutzgruppe abzuspalten. Diese Tatsache ist sehr wichtig im Zusammenhang mit biologischen Anwendungen. Sollen später Zellen belichtet werden, die mit photolabilen Wirkstoffen behandelt wurden, so sollte die Strahlung nur den Wirkstoff freisetzen und nicht die Zellen selbst schädigen.

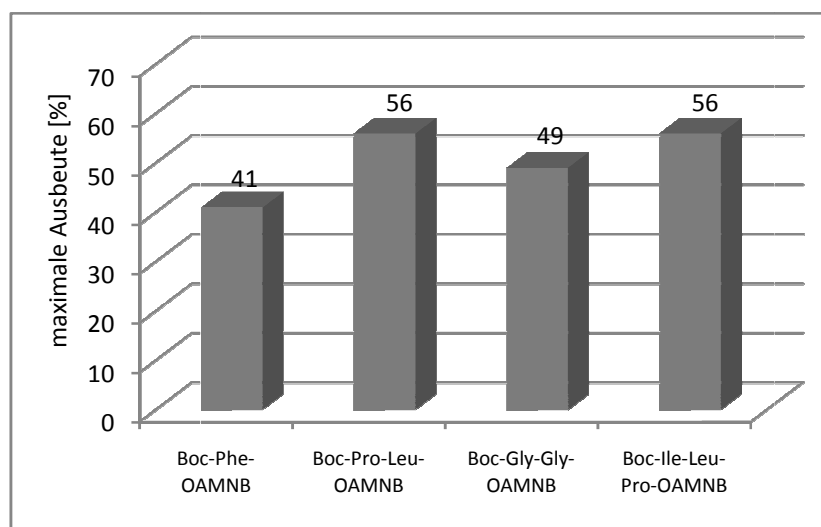


Abbildung 3-13 Photolyse mit einer UV-LED (365 nm).

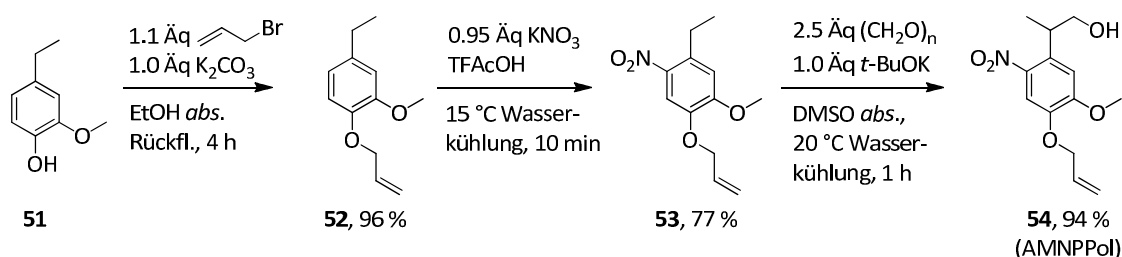
3.1.7 Synthese und Abspaltung der alternativen Schutzgruppe AMNPP

Eine Alternative zur AMNB-Schutzgruppe könnte die ebenfalls photolabile Schutzgruppe AMNPP(OC) (2-(4-Allyloxy-3-methoxy-5-nitrophenyl)propyloxycarbonyl) darstellen. Diese leitet sich von der von PFLIEDERER *et al.* beschriebenen photolabilen Schutzgruppe NPPOC (Nitrophenylpropyloxycarbonyl) ab, die bereits in Kapitel 2.2.1 vorgestellt wurde.^[38] Der Vorteil der NPPOC-Schutzgruppe liegt darin, dass sie einen höheren Absorptionskoeffizienten besitzt als die Schutzgruppen auf *o*-Nitrobenzylbasis und somit um vieles schneller abspaltbar ist. Außerdem ist das Belichtungsprodukt der Schutzgruppe kein *o*-Nitrosobenzaldehyd, sondern ein *o*-Nitrostyrolerivat,

3. Ergebnisse und Diskussion

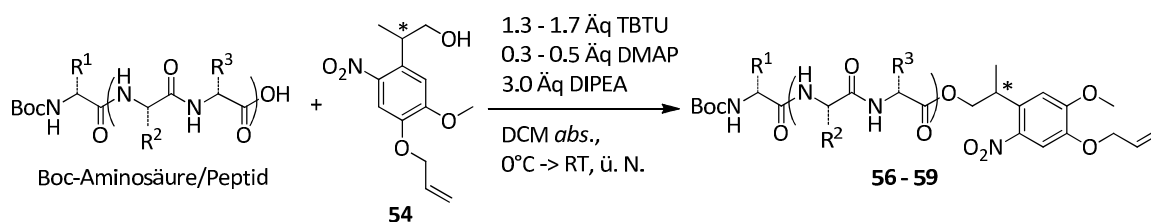
welches viel weniger cytotoxisch wirkt. Dies kann ein entscheidender Vorteil sein, wenn die Schutzgruppe in biologischen Systemen angewendet werden soll. Zudem schließt die allgemein geringere Reaktivität des Styrolderivats auch in chemischen Anwendungen Nebenreaktionen mit anderen Substanzen eher aus als die extrem reaktive Nitrosoverbindung (vgl. Kapitel 2.2.1).

Die Synthese der neuen Schutzgruppe AMNPPol (**54**) startete mit kommerziell erhältlichem 4-Ethylguajakol (**51**). *O*-Allylierung mit Allylbromid lieferte nach vierstündigem Refluxieren *O*-Allyl-4-Ethylguajakol **52**. Die Nitrierung dieser Verbindung stellte sich als sehr empfindlich gegenüber der Reaktionstemperatur heraus. Bei Raumtemperatur und leichtem Überschuss an Kaliumnitrat wurde eine Mischung aus vielen verschiedenen Produkten erhalten, neben dem gewünschten Produkt unter anderem mehrfach nitrierte Verbindungen. Wurde auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt, konnte vollständiger Umsatz beobachtet, aber in allen Fällen nur ca. 5 % Produkt isoliert werden. Kühlung mit einem Wasser-/Eisbad auf genau $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ und Verwendung eines leichten Unterschusses (0.95 Äq) an Kaliumnitrat führte schließlich zum Erfolg. Es konnten 77 % des *mono*-nitrierten Produkts **53** und 13 % eines dinitrierten Produkts erhalten werden. Wurde die Reaktionslösung auf $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt, sank die Ausbeute auf 43 %. Der letzte Schritt, die Deprotonierung in Benzylposition und Angriff an Formaldehyd gelang mit Kalium-*tert*-butylat als Base und Paraformaldehyd als Formaldehyd-Quelle in *abs.* DMSO. Diese Reaktion wurde an ähnlichen Substraten bereits von PFLEIDERER *et al.* beschrieben,^[166] jedoch musste auch hier die Reaktionstemperatur optimiert werden, da die Ausbeute bei leichten Abweichungen von der Idealtemperatur (hier: $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ Wasser-/Eisbadkühlung) einbrach. Die neue Schutzgruppe AMNPPol (**54**) konnte schließlich mit einer guten Ausbeute von 69 % über drei Stufen in großer Menge synthetisiert werden.



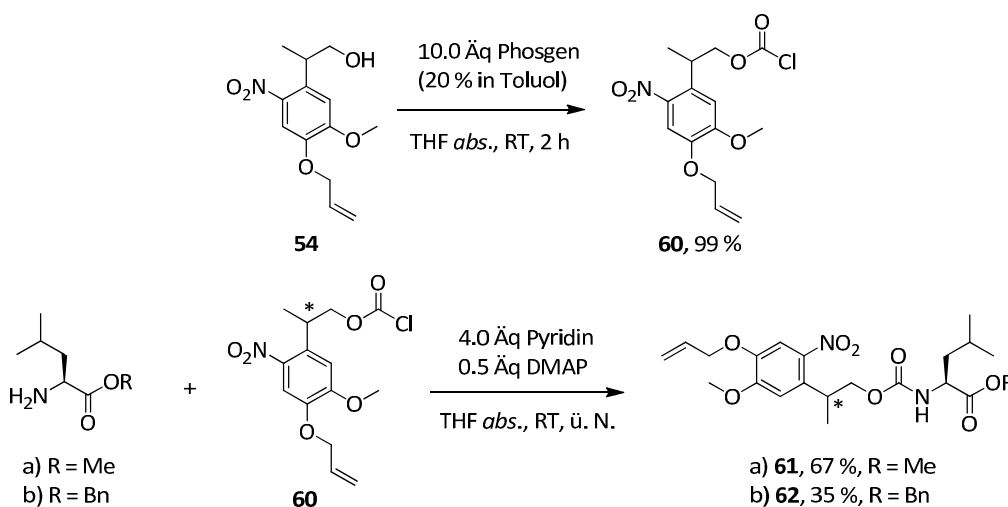
Schema 3-23 Synthese der Schutzgruppe AMNPPol **54**, ausgehend von 4-Ethylguajakol (**51**).

Die weiteren Syntheseschritte, die zu den entsprechenden *C*- und *N*-terminal-geschützten Aminosäuren und Peptiden führten, verliefen ganz analog zu den Synthesen der AMNB-geschützten Verbindungen. Kupplung des Alkohols AMNPPol (**54**) mit drei verschiedenen Aminosäuren (Tabelle 3-10, Einträge 1–3) und TBTU als Knüpfungsreagenz lieferte die Produkte **55**, **56** und **57** mit sehr guten Ausbeuten (85–96 %), wobei die Produkte als racemische bzw. Diastereomerenmischung vorlagen. *C*-Schützung des Dipeptids Boc-Gly-Gly-OH (Eintrag 4) ergab 94 % des racemischen AMNPP-Esters **58**, Tripeptid Boc-(*L*)-Pro-(*L*)-Leu-(*L*)-Val-OH (Eintrag 5) lieferte den AMNPP-Ester **59** mit einer Ausbeute von 70 % unter Epimerisierung der *C*-terminalen Aminosäure als Diastereomerenmischung.

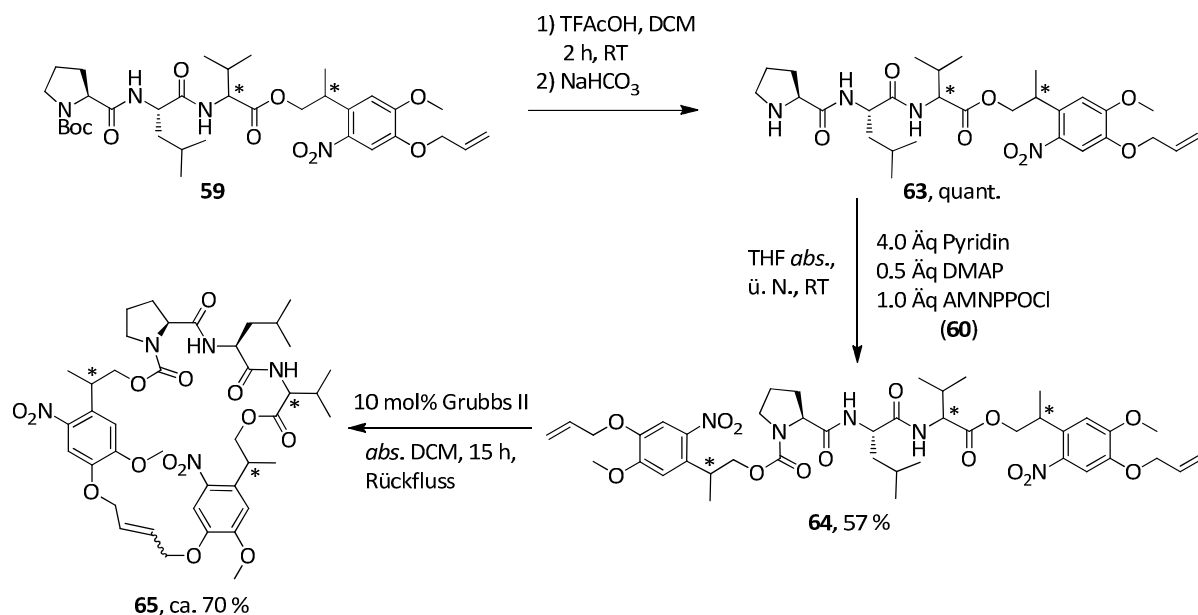
Tabelle 3-10 Darstellung C-terminal AMNPP-geschützter Boc-Aminosäuren.

Eintrag	Aminosäure/Peptid	Ausbeute	Produkt
1	Boc-Glycin	96 %	Boc-Gly-OAMNB, 55
2	Boc-(D/L)-Phenylalanin	85 %	Boc-(D/L)-Phe-OAMNB, 56
3	Boc-(L)-Valin	92 %	Boc-(L)-Val-OAMNB, 57
4	Boc-Gly-Gly-OH	94 %	Boc-Gly-Gly-OAMNPP, 58
5	Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(L)-Val-OH	70 %	Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D/L)-Val-OAMNPP, 59

Die Darstellung des Chloroformiats **60** (AMNPPOCI) verlief ebenfalls problemlos, es wurden 99 % des reinen Produkts erhalten (Schema 3-24). Dieses wurde eingesetzt, um zwei Leucinester analog zu den in Kapitel 3.1.3 vorgestellten AMNB-Schützungen *N*-terminal zu derivatisieren, wie in Schema 3-24 dargestellt. Mit Pyridin als Base und DMAP als Acylierungskatalysator wurden beide Produkte (**61**, **62**) als Diastereomerenmischungen erhalten. Zur Synthese eines C- und *N*-terminal AMNPP-geschützten Tripeptids wurde das *mono*-AMNPP-geschützte Tripeptid **59** zunächst Boc-entschützt und anschließend mit dem Chloroformiat **60** zum Produkt **64** umgesetzt, welches mit einer Ausbeute von 57 % als Mischung von 8 Diastereomeren (bzw. Enantiomeren) erhalten wurde (vgl. Schema 3-25). Ringschlussmetathese lieferte das cyclische Produkt **65** als tiefbraunes Öl und als komplexe Mischung, deren genaue Zusammensetzung nicht bestimmt werden konnte. Anhaltspunkt für die geglückte Metathese waren lediglich die fehlenden terminalen Allyl-Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum und die Übereinstimmung der hochaufgelösten Masse mit dem berechneten Wert. Die Ausbeute lag insgesamt bei etwa 70 %, konnte aber nicht genauer bestimmt werden.

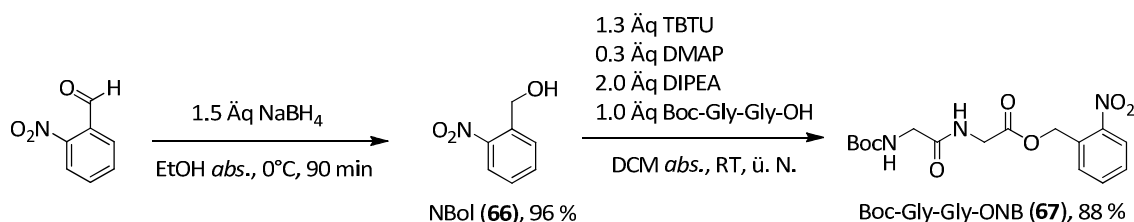
**Schema 3-24** Bildung des Chloroformiats **60** der Schutzgruppe AMNPPol (**54**) und anschließende *N*-terminale AMNPPOC-Schätzung zweier Leucinester.

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-25 Darstellung des doppelt-AMNPP-geschützten Tripeptids **65**.

Neben dem Vergleich der AMNB- mit der AMNPP-Schutzgruppe sollte auch ein Vergleich mit der bereits literaturbekannten NB- (*o*-Nitrobenzyl-) Schutzgruppe angestellt werden. Als Vergleichssubstrat wurde Boc-geschütztes Glyciny-Glycin ausgewählt, da dieses in der Synthese sehr gute Ausbeuten lieferte und im Kupplungsschritt keine Diastereomere erzeugte. Die Detektion während der späteren HPLC-Messung war somit auch bei geringen Konzentrationen einfach und genau. Zunächst wurde *o*-Nitrobenzaldehyd mit Natriumborhydrid reduziert, analog der Reduktion des Aldehyds **4** zum Alkohol AMNBol (**1**, vgl. Schema 3-5). Der so erhaltene Alkohol **66** (NBol) wurde gemäß Standardbedingungen mit dem Dipeptid Boc-Gly-Gly-OH zum NB-geschützten Dipeptid **67** umgesetzt. Die Ausbeute betrug 84 % über zwei Stufen (Schema 3-26).



Schema 3-26 Darstellung des Benzylalkohols **66** und C-terminale NB-Schätzung eines Dipeptids.

Mit den drei C-terminal photolabil geschützten Boc-Glyciny-glycinestern **11**, **58** und **67** wurden nun Belichtungsexperimente (UV-LED, vgl. Kapitel 3.1.6) durchgeführt. Abbildung 3-14 fasst die Ergebnisse zusammen. In allen drei Fällen wurde bis etwa zum gleichen Umsatz (ca. 85 %, 15 % Edukt waren verblieben) belichtet. Die Belichtungszeiten unterschieden sich relativ stark, das AMNB-geschützte Peptid wurde acht Stunden belichtet, das NB-geschützte Peptid drei Stunden und das AMNPP-geschützte eine Stunde. Die maximalen Ausbeuten waren für die AMNB- und die NB-Schutzgruppe fast gleich und lagen bei etwa 50 %. Dies entsprach nicht dem erwarteten Ergebnis, da aufgrund der Literaturdaten eine höhere Effizienz der NB-Schutzgruppe vermutet wurde. Der Grund für die geringere Ausbeute musste also entweder in den Reaktionsbedingungen (Lösungsmittel, pH-Wert etc.) oder in der Beschaffenheit der Substrate liegen. Ein weiteres Problem könnte die

3. Ergebnisse und Diskussion

Analysemethode sein. Die Analyse mittels HPLC ist allerdings ein durchaus gängiges Verfahren zur Quantifizierung von Belichtungsreaktionen und mehrfach in der Literatur beschrieben.^[41,163,166] Wo genau also die Ursache für die geringe Ausbeute lag, bleibt zu untersuchen. Es kann allerdings auch eine positive Schlussfolgerung aus diesen Messergebnissen gezogen werden. Die neue photolabile Schutzgruppe AMNB scheint demnach die gleiche Effizienz zu besitzen wie die literaturbekannte NB-Schutzgruppe. Wenn also die geringere Ausbeute der NB-Schutzgruppe an den vorher diskutierten Gesichtspunkten festgemacht werden kann, dann ist zu vermuten, dass die AMNB-Schutzgruppe unter günstigeren Bedingungen und bei anderen Substraten ebenfalls eine wesentlich bessere Effizienz zeigen könnte. Dies könnte ein Schwerpunkt weiterführender Forschungen sein, einschließlich der Messung der typischen physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Absorptionskoeffizient und Quantenausbeute. Diese Parameter ließen dann einen aussagekräftigen Vergleich mit den Literaturdaten anderer Schutzgruppen zu.

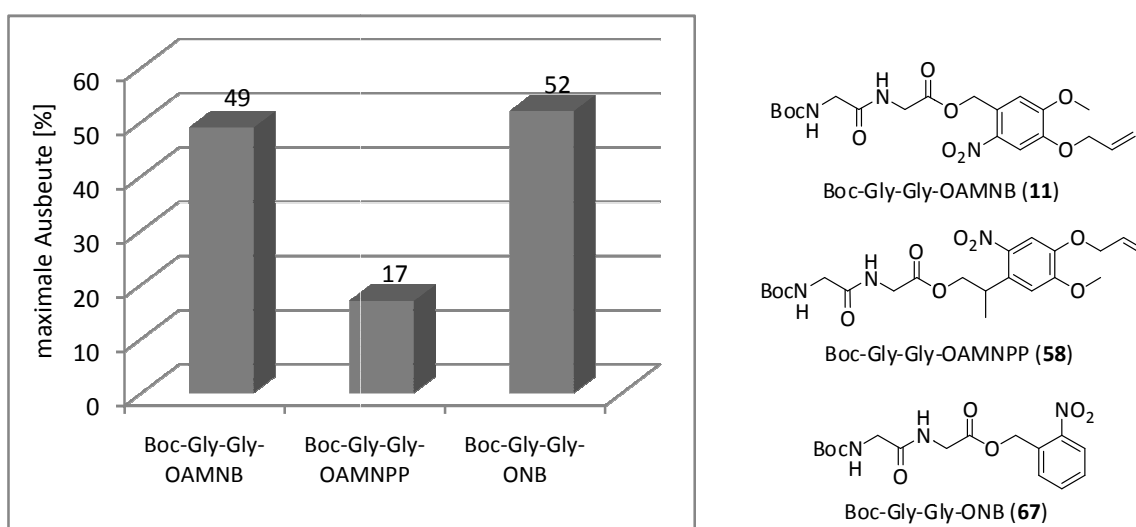
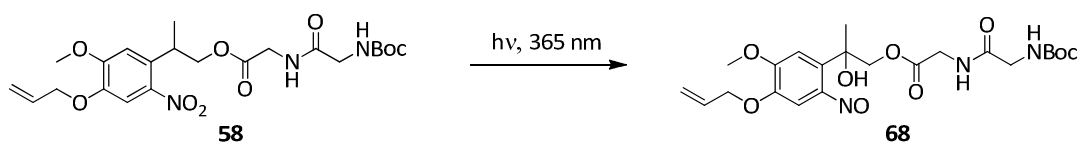


Abbildung 3-14 Vergleich der drei photolabilen Schutzgruppen AMNB, AMNPP und NB.

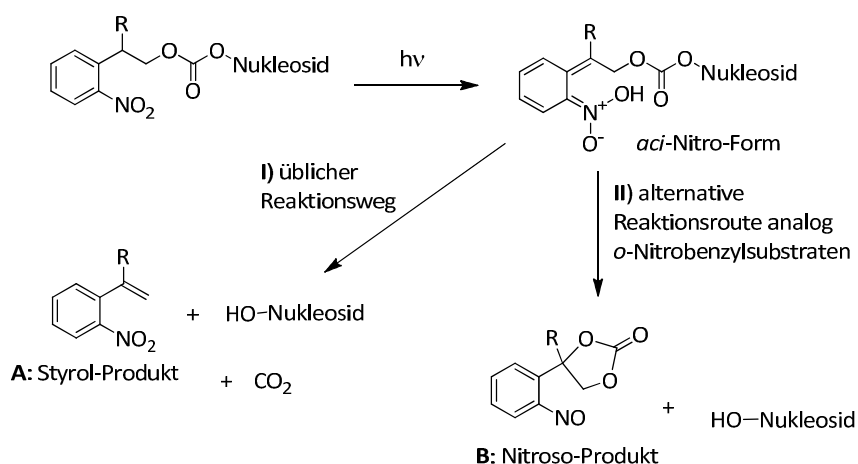
Auffällig und nicht mit den bisherigen Ergebnissen in Einklang zu bringen war der ermittelte Wert für die AMNPP-Schutzgruppe (Abbildung 3-14, Mitte). Mit 17 % wich er von den beiden anderen Messungen stark nach unten ab. Um eine zweite Vergleichsmessung zu haben, wurde Boc-Ala-OAMNPP photolysiert, auch hier war die maximale Ausbeute mit etwa 30 % nicht viel höher (alle Daten siehe Anhang, Kapitel 6.1.1), in jedem Fall aber deutlich geringer als bei den entsprechenden AMNB-geschützten Substraten. Sowohl bei der DC-Reaktionskontrolle als auch im HPLC-Chromatogramm konnte die Bildung eines neuen Spots bzw. Peaks beobachtet werden. Dieser besaß die gleiche Masse wie die Ausgangssubstanz, war aber nicht merklich photolabil und wuchs demnach während der Belichtung kontinuierlich. Um die Struktur dieses Nebenprodukts aufzuklären, wurde eine größere Menge der Verbindung **58** (Boc-Gly-Gly-OAMNPP, 56 mg) über sechs Tage belichtet. Nach anschließender säulenchromatographischer Aufreinigung konnten 22 mg eines dunkelroten Öls isoliert werden. Da dieses Nebenprodukt nicht mehr photolabil reagierte, war zu vermuten, dass die *o*-Nitrophenyleinheit nicht mehr vorhanden war. Messung der gängigen NMR-Spektren in Zusammenhang mit der Masse deutete auf die in Schema 3-27 gezeigte Struktur **68** hin.

3. Ergebnisse und Diskussion

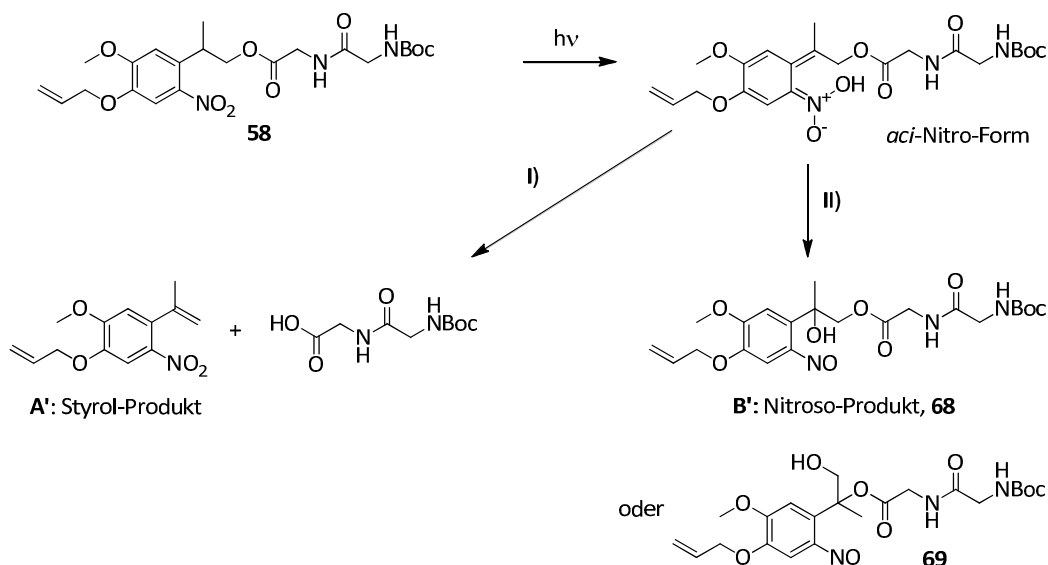


Schema 3-27 Postulierte Struktur des Nebenprodukts aus der Belichtung von Boc-Gly-Gly-OAMNPP (**58**).

WÖLL *et al.* beobachteten bei der Belichtung NPPOC-geschützter Substrate ein ähnliches Nebenprodukt, allerdings war die Schutzgruppe dort über ein Carbonat mit dem Substrat, einem Nukleosid, verknüpft (Schema 3-29, a).^[38] Die *aci*-Nitro-Form reagierte dort nicht zum *o*-Nitrostyrol-derivat **A** ab, wie im Reaktionsmechanismus (vgl Kapitel 2.2.1) ausführlich beschrieben, sondern schlug einen anderen Reaktionsweg ein. Analog dem Mechanismus der *o*-Nitrobenzyl-basierten Schutzgruppen bildete sich ein *o*-Nitrosoderivat (vgl. Schema 3-28, **B**). Auch hier wurde das eigentliche Substrat, ein Nukleosid, freigesetzt, der einzige Unterschied zum „normalen“ Reaktionsmechanismus lag in der Struktur des Spaltprodukts. Überträgt man diesen Reaktionsweg auf die Belichtung des AMNPP-Dipeptids **58**, so gelangt man zu der zuvor postulierten Verbindung **68**, wie in Schema 3-29 gezeigt ist. Da die Schutzgruppe über einen Ester und nicht über ein Carbonat oder Carbamat an das Peptid gebunden ist, kann hier die geschützte Substanz, das Peptid, nicht freigesetzt werden. Es ist maximal eine Umesterung zu Verbindung **69** denkbar, aber auf Grund der sterischen Hinderung des tertiären Alkohols sehr unwahrscheinlich. Die Bildung eines zu **68** analogen Nitrosoprodukts wurde auch von PFLEIDERER *et al.* beschrieben. Sie vermuteten, dass die β -Eliminierung über das *aci*-Nitro-Anion verläuft, die Bildung des Nitrosoderivats über die neutrale *aci*-Nitro-Form. Die Steuerung β -Eliminierung–Nitrosoprodukt könnte also pH-abhängig sein (vgl. Kapitel 2.2.1, b).^[33] Die Verwendung eines wässrigen Puffersystems wäre in unserem Fall zu testen. Auch GOELDNER *et al.* beobachteten sehr unterschiedliche Ausbeuten bei der Photolyse von NPP-Derivat-geschütztem Glutamat. Auch sie schlossen darauf, dass nach der photochemischen Anregung teilweise alternative Reaktionswege eingeschlagen wurden, die nicht zur Produktfreisetzung führten.^[167]



Schema 3-28 Reaktionsmechanismus der Bildung des Nebenprodukts bei der Belichtung NPPOC-geschützter Substrate.^[38]



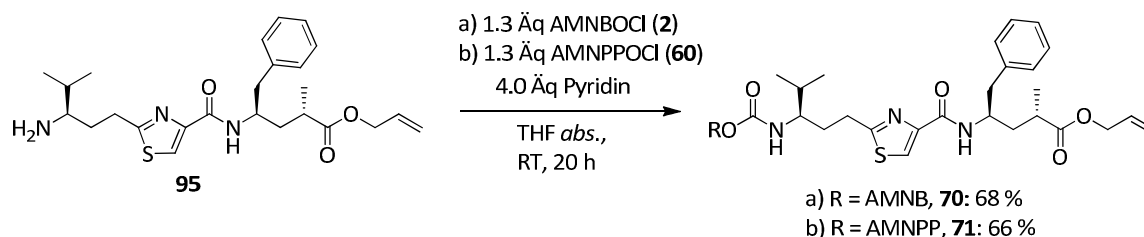
Schema 3-29 Übertragung des Reaktionsmechanismus auf AMNPP-geschützte Substrate.

3.1.8 Untersuchungen zur Abspaltung *N*- und *O*-geschützter Substrate

Neben der Abspaltung der neuen photolablen Schutzgruppen vom *C*-Terminus der Aminosäuren und Peptide sollte natürlich auch die Entschützung des *N*-Terminus untersucht werden. Dabei sollte zunächst nur nachgewiesen werden, dass die Schutzgruppe abgespalten werden kann und eine Quantifizierung vorgenommen werden. Bei der Photolyse von geschützten Aminen kann es generell zu Nebenreaktionen kommen. Die häufigste Bildung eines Nebenprodukts stammt aus der Reaktion des freigesetztenamins mit dem Spaltprodukt, also dem *o*-Nitrosobenzaldehyd, zu einem sehr stabilen Imin (vgl. Kapitel 2.2.1, b). Dies kann beispielsweise durch den Zusatz von Semicarbazid Hydrochlorid unterdrückt werden. In unserem Fall sollte darauf verzichtet und nur die Ausbeute an freiem Amin detektiert werden, da es in erster Linie darum ging, die Photolabilität an sich nachzuweisen. Außerdem sollte ein Substrat getestet werden, dessen Alkoholfunktion photolabil geschützt wurde, die Schutzgruppe also über ein Carbonat verknüpft war. Somit könnte ein Vergleich zwischen *N*- und *O*-Entschützung gezogen werden.

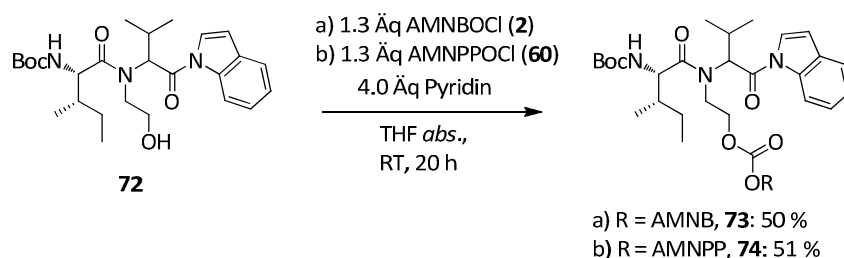
Zunächst wurde die schon vorhandene Verbindung **62**, AMNPPOC-(*L*)-Leu-OBn, belichtet. Hier ergab sich ein Problem: das entschützte Substrat, also (*L*)-Leucinbenzylester, wurde als freies Amin in die HPLC eingebracht und durch die Ameisensäure des Laufmittels protoniert. Als Hydrochlorid-Salz war es jedoch so polar, dass die Masse bereits im Injektionspeak auftauchte und auch eine Anpassung des Gradienten (Beginn mit 95 % Wasser + 0.1 % HCOOH/ 5 % Acetonitril) keinen positiven Effekt hatte. Damit war auch die Kalibration für das Produkt dieser Entschützung nicht möglich. Davon abgesehen konnte beobachtet werden, dass die Verbindung **62** gespalten wurde, die Integrationen des Eduktpeaks sanken. Die Daten hierzu sind im Anhang, Kapitel 6.1.1, Beispiel C.8 aufgeführt. Es wurden andere *N*-geschützte Substrate getestet, aber bei allen war die Quantifizierung der entschützten Verbindung ein Problem. Schließlich konnte ein Molekül gefunden werden, welches auch als Hydrochlorid-Salz unpolar genug war, um in der HPLC gut detektiert werden zu können. Schema 3-30 zeigt die *N*-terminale AMNB- und AMNPP-Schützung dieses Dipeptids **95**, dessen Synthese im zweiten Teil dieser Dissertation aufgeführt ist (siehe Kapitel 3.2.2.a).

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-30 Synthese zweier *N*-geschützter Verbindungen (**70** und **71**).

Als Testsubstanz für die Entschützung einer Alkoholfunktionalität wurde auf eine Verbindung (**72**) zurückgegriffen, die bei einem Nebenprojekt dieser Dissertation dargestellt wurde und ebenfalls optimale Eigenschaften für die HPLC-Analyse aufwies. Die gesamte Synthese kann in der Vertiefungsarbeit von Tanja Hauch nachgelesen werden, die diese Verbindung und alle Vorstufen ausführlich beschrieben und charakterisiert hat.^[168] Für die *O*-Schützung wurden die gleichen Reaktionsbedingungen angewendet wie für die *N*-terminale Knüpfung der Schutzgruppen, es wurden die beiden photolabil geschützten Produkte **73** und **74** mit Standardausbeuten von 50 % und 51 % isoliert (Schema 3-31).



Schema 3-31 Synthese zweier über ein Carbonat geschützter Verbindungen (**73** und **74**).

Mit den auf diese Weise ausgewählten Verbindungen **70**, **71** und **73**, **74** wurden anschließend Belichtungsexperimente durchgeführt. Abbildung 3-15 zeigt das Ergebnis der Messungen. Die Abspaltung beider Schutzgruppen verlief gleich effizient, zwischen AMNB- und AMNPP-Schutzgruppe konnte kein Unterschied festgestellt werden, was bei der Abspaltung vom C-Terminus noch der Fall gewesen war. Auch zwischen Amin und Alkohol lag in diesen Beispielen kein Unterschied. Ob durch Zusatz von Semicarbazid oder ähnlichen „Abfangreagenzien“ eine Ausbeutesteigerung erreicht werden kann, muss in zukünftigen Experimenten untersucht werden. Analog zu der Belichtung der C-terminal AMNPP-geschützten Aminosäuren konnten für die AMNPPOC-geschützten Verbindungen **71** und **74** auch hier Nebenprodukte detektiert werden, die gemäß dem *m/z*-Verhältnis den jeweiligen Nitrosoprodukten entsprechen könnten. Diese können auftreten, wenn das *aci*-Nitro-Intermediat nicht deprotoniert wird, sondern zum cyclischen Nitrosoderivat abreagiert (vgl. Schema 3-28 und Kapitel 2.2.1, b). Insgesamt kann festgestellt werden, dass beide neuen Schutzgruppen auch als Carbonat- oder Carbamat-gebundene Schutzgruppen verwendet werden können.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass das Hauptziel der Untersuchungen zur Abspaltung der Schutzgruppen, nämlich der Nachweis der Photolabilität, Quantifizierung und Anpassung auf die biologische Anwendung, voll erreicht worden ist. Darüberhinaus konnten viele Aspekte der Abspaltungsreaktionen im Zuge dieser Arbeit nicht untersucht werden und bieten somit Ansatzpunkte für zukünftige Forschungen, wie bereits in den letzten Abschnitten diskutiert wurde.

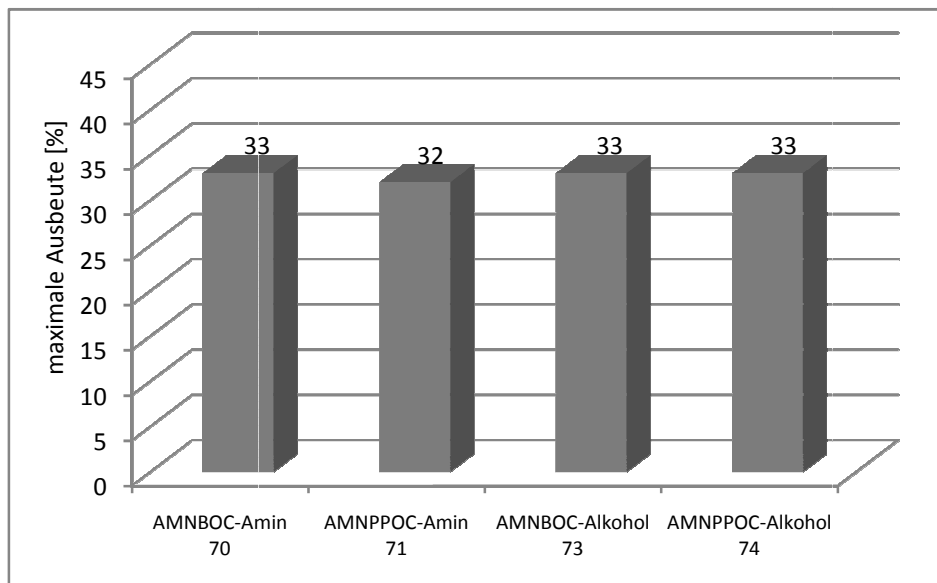
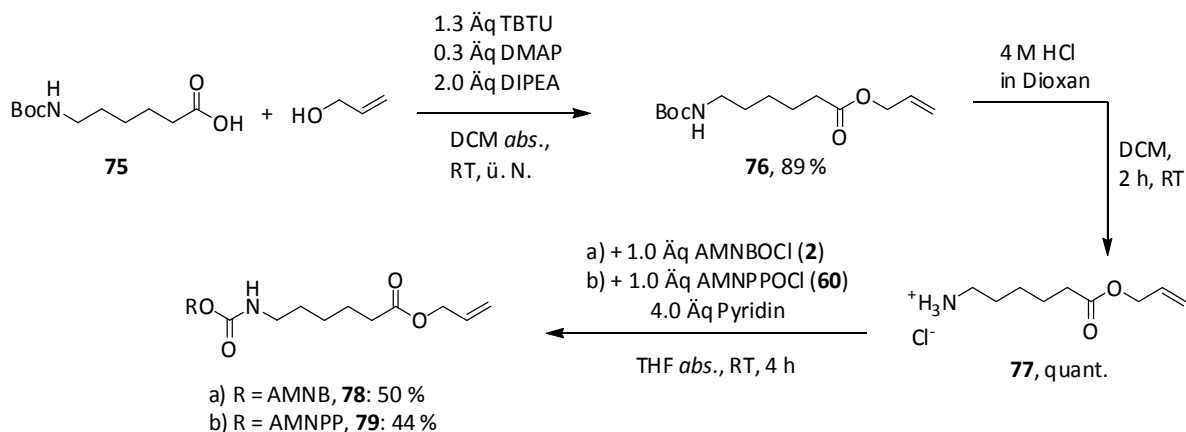


Abbildung 3-15 Belichtung AMNBOC- und AMNPPOC-geschützter Amine und Alkohole.

3.1.9 Einfluss der Ringgröße auf die Cyclisierung

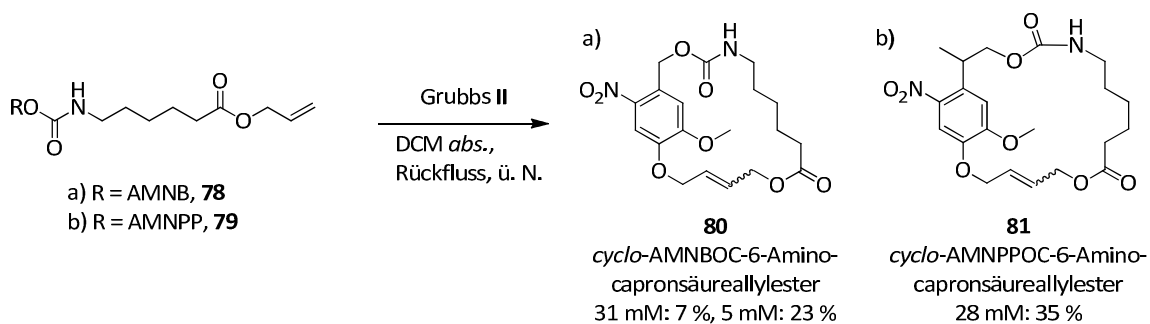
Einen wichtigen Einfluss auf die Cyclisierung der photolabil geschützten Substrate hat in der Regel die Ringgröße des Cyclus. Diese tritt umso mehr in den Vordergrund, wenn wie im Fall der photolabilen Schutzgruppen ein Aromat in den Cyclus integriert ist. Dieser macht die Struktur starr und begrenzt die kleinste zu schließende Ringgröße stark. Um herauszufinden, ob auch relativ kleine Ringe (hier: 20 bzw. 21 Atome) noch effizient mit Hilfe der Ringschlussmetathese geschlossen werden können, wurde je ein AMNB- bzw. AMNPP-geschütztes Substrat (**78** bzw. **79**) dargestellt, welches eine sechs C-Atome umfassende Alkylkette und einen Allylester als Linker enthielt (Schema 3-32). Veresterung von Boc-6-Aminohexansäure (**75**) mit Allylalkohol und TBTU als Kupplungsreagenz und anschließende Boc-Entschützung lieferten den 6-Aminohexansäureallylester als Hydrochlorid-Salz mit einer Ausbeute von 89 % über zwei Stufen. Die Reaktion mit den beiden Chloroformiaten AMNBOCI (**2**) und AMNPPOCI (**60**) brachte die beiden offenkettigen Substrate **78** und **79** mit Ausbeuten von 50 % und 44 % hervor.



Schema 3-32 Synthese zweier Substrate zur Testung der Cyclisierung mit kleiner Ringgröße.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die daran anschließende Ringschlussmetathese wurde nach den zuvor optimierten Standardbedingungen, einschließlich Verdünnung, durchgeführt. Im Fall der AMNPP-Schutzgruppe (**81**) lieferte die Metathese eine Ausbeute von 35 %, das AMNB-geschützte Substrat **80** konnte jedoch nur zu 7 % isoliert werden. Als Nebenprodukte wurden Dimerisierungsprodukte identifiziert, aufgrund der extrem hohen Polarität allerdings nicht quantifiziert. Eine Erhöhung der Verdünnung von 31 mM auf 5 mM konnte die Ausbeute des AMNB-geschützten Substrats **80** schließlich auf 23 % steigern (vgl. Schema 3-33). Dies zeigte, dass auch relativ kleine Ringe, die eine starre Phenyleinheit enthalten, mit Hilfe der Metathese geschlossen werden können und dass in diesem Fall die Ausbeute durch Erhöhung der Verdünnung erheblich gesteigert werden kann.



Schema 3-33 Cyclisierung der Verbindungen **78** und **79** und Einfluss der Verdünnung.

3.2 Anwendung der photolabilen Schutzgruppe AMNB

Im vorangegangenen Kapitel konnte umfassend gezeigt werden, dass die neuen photolabilen Schutzgruppen AMNBol (**1**) und AMNPPol (**54**) und deren Derivate mit guten Ausbeuten hergestellt werden können, sich die Synthese entsprechender photolabil geschützter Aminosäuren und Peptide mit Standardreaktionen bewerkstelligen lässt und auch die Abspaltung hinreichend untersucht und optimiert wurde. Hierbei spielte es keine Rolle, ob Carboxyl-, Amin- oder Alkoholfunktionalitäten geschützt wurden. Sowohl Synthese als auch photolytische Abspaltung beider Schutzgruppen verlief gleichermaßen effektiv. Einzige Ausnahme bildete die Abspaltung der AMNPP-Schutzgruppe von Carboxyl-Funktionen (vgl. Kapitel 3.1.6).

Nun sollte untersucht werden, ob sich die photolabilen Schutzgruppen auch zur Anwendung in der Wirkstoffsynthese eignen. Dazu ist es notwendig, eine geeignete Zielstruktur auszuwählen, anhand derer das Konzept der photolabilen Schützung mit anschließender Cyclisierung getestet werden soll. Diese Zielstruktur sollte möglichst komplex sein und viele verschiedene funktionelle Gruppen aufweisen, im Gegenzug aber in wenigen Stufen darstellbar sein. Außerdem ist es für ein erfolgreiches *proof-of-concept* unerlässlich, dass ein verlässliches biologisches Testsystem zur Verfügung steht. Denn nur so können genaue Aussagen über den Einfluss der photolabilen Schützung mit anschließender Cyclisierung getroffen und Vergleiche zwischen geschützter und ungeschützter Referenzsubstanz angestellt werden.

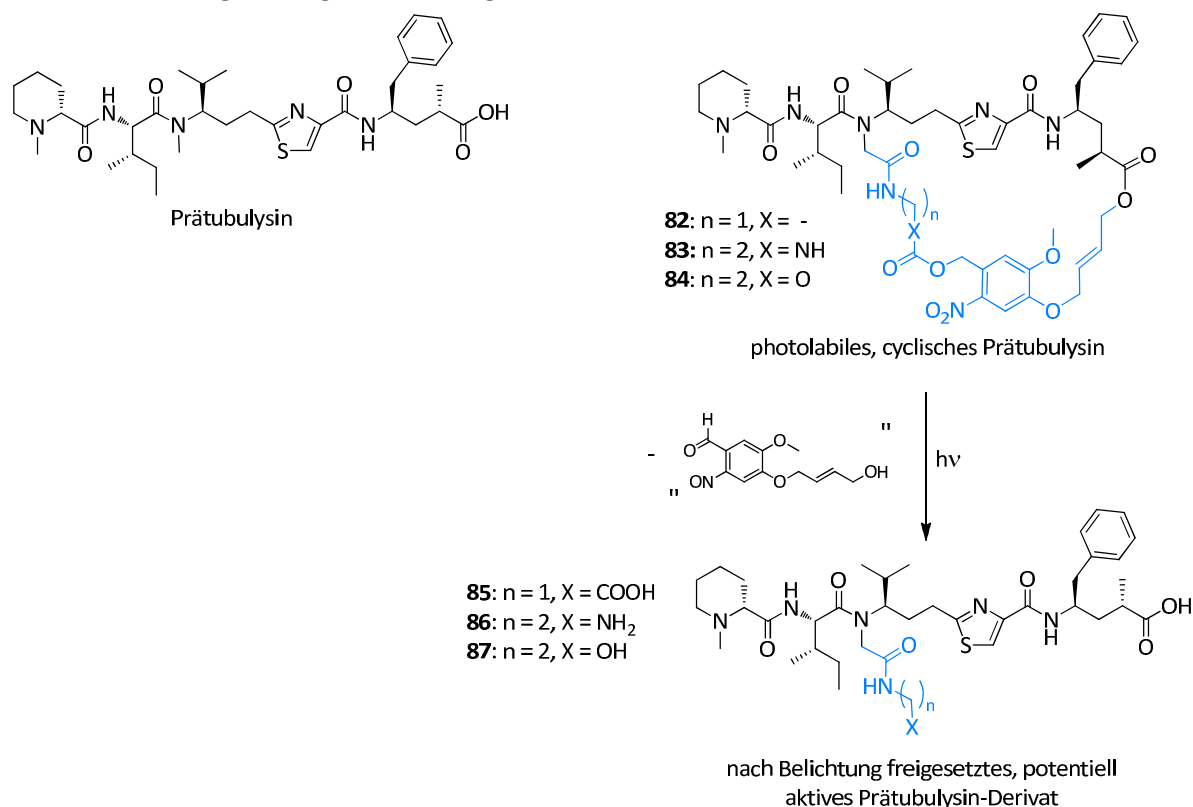
3.2.1 Zielstruktur und Retrosynthese

Da im Arbeitskreis Kazmaier bereits die Totalsynthese des Prä tubulysins ausgearbeitet wurde und viele Derivate dieses hoch wirksamen Inhibitors der Tubulin-Polymerisation hergestellt wurden,^[120,124,132] lag es nahe, Prä tubulysin zum *proof-of-concept* heranzuziehen. Die Prä tubulysin-Derivate können im Arbeitskreis von Prof. Rolf Müller am Institut für Pharmazeutische Biotechnologie der Universität des Saarlandes auf ihre Cytotoxizität getestet werden. Somit sollte es möglich sein, zu untersuchen, ob die Aktivität der Prä tubulysin-Derivate gegenüber bestimmter Krebszelllinien durch Anhängen einer photolabilen Schutzgruppe und anschließender Cyclisierung tatsächlich abnimmt. Außerdem sollte geprüft werden, ob die Cytotoxizität nach Belichtung der Zellen, die mit einem photolabilen, cyclisierten Prä tubulysin-Derivat behandelt worden sind, zunimmt.

Schema 3-34 zeigt sowohl die Struktur des Prä tubulysins als auch die der Zielstrukturen, für welche im Zuge dieser Arbeit eine Synthese ausgearbeitet werden sollte (**82**, **83**, **84**). Man erkennt, dass das photolabile, cyclische Prä tubulysin-Derivat dem Prä tubulysin sehr ähnlich ist. Einziger, großer Unterschied ist die Seitenkette am Stickstoff des *desacetoxy*-Tubulalins. Statt einer Methylgruppe befindet sich hier eine längere Seitenkette (blau gekennzeichnet), die einerseits eine zusätzliche Amid-Struktur und des weiteren eine funktionelle Gruppe am Ende trägt. Über diese funktionelle Gruppe, eine Carbonsäure, ein Amin oder ein Alkohol, wird die photolabile Schutzgruppe eingeführt, die wiederum über eine Doppelbindung mit dem Allylester des Tubuphenylalanins verbunden ist. So entsteht die cyclische Struktur, die dafür sorgen soll, dass das Peptid in eine weniger günstige und somit auch weniger aktive Konformation überführt wird. Wird das photolabile, cyclische Prä tubulysin-Derivat belichtet, so sollte die photolabile Schutzgruppe nach dem bekannten Mechanismus abgespalten werden. Dabei wird die funktionelle Gruppe **X** frei, sodass nach Verseifung des Allylesters, was mit Hilfe von Proteasen in den Zellen selbst geschehen soll, die aktiven Verbindungen **85**, **86** oder **87** freigesetzt werden. Diese unterscheiden sich vom ursprünglichen

3. Ergebnisse und Diskussion

Prätubulysin lediglich in der etwas verlängerten Seitenkette (blau, Schema 3-34). Neben den photolabilen, cyclischen Prätubulysinen **82**, **83** und **84** sollten auch die komplett entschützten Prätubulysine **85**, **86** und **87** als Referenzen synthetisiert werden, damit ein aussagekräftiger Aktivitätsvergleich bei den späteren biologischen Tests möglich ist. In Bezug auf die photolabile Schutzgruppe fiel die Wahl auf die Schutzgruppe AMNB, da hier auch die photolabile Schützung von Carbonsäuren mit guten Ergebnissen möglich ist.



Schema 3-34 Zielstrukturen.

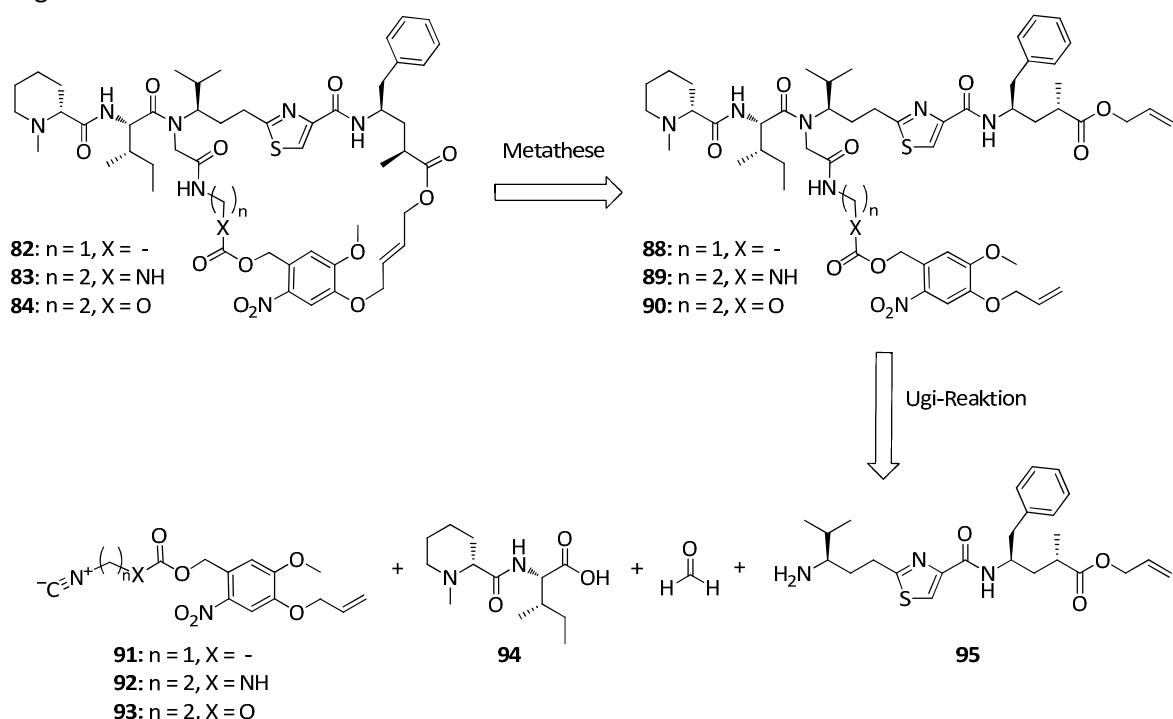
Zur Darstellung der photolabilen, cyclischen Prätubulysine **82**, **83** und **84** sollte ein gleichermaßen einfacher wie zielstrebigere Weg gewählt werden. Die komplexe Grundstruktur sollte mit Hilfe einer Ugi-4-Komponenten-Reaktion aufgebaut werden. Um den Ring über die beiden endständigen Doppelbindungen zu schließen, sollte als zweiter Schritt eine Metathese nach Grubbs durchgeführt werden. Mit diesem Ansatz wäre es möglich, die Prätubulysin-Derivate **82**, **83** und **84** in einer zweistufigen Synthese ausgehend von relativ einfachen, leicht zugänglichen Substanzen darzustellen. Schema 3-35 zeigt die Retrosynthese der Zielstruktur. Die Metathese an peptidischen Substraten ist in der Literatur vielfach beschrieben (vgl. Kapitel 2.5). Außerdem wurde in vorangegangenen eigenen Experimenten gezeigt, dass im Falle der Modellpeptide eine Ringschlussmetathese mit recht guten Ausbeuten möglich ist (vgl. Kapitel 3.1.4). Eine potentielle Schwierigkeit könnten allerdings das tertiäre Amin der Pipecolinsäureeinheit und der Thiazolring des *desacetoxy*-Tubualins darstellen, denn basische und koordinierende funktionelle Gruppen verschlechtern in aller Regel die Metathese oder lassen sie sogar komplett scheitern.^[110,111]

Die Ugi-Reaktion erlaubt es, in einem Schritt eine komplexe Peptidstruktur aufzubauen und gelingt oft mit sehr annehmbaren Ausbeuten. Die nahezu perfekte Atomökonomie macht die Ugi-Reaktion generell extrem interessant für die organische Synthese. Außerdem kann, wie in unserem Fall, zu einem sehr späten Zeitpunkt in der Totalsynthese eines Wirkstoffs eine hohe Diversität erreicht werden. Durch Variation einer oder mehrerer der vier eingesetzten Komponenten könnte ganz leicht

3. Ergebnisse und Diskussion

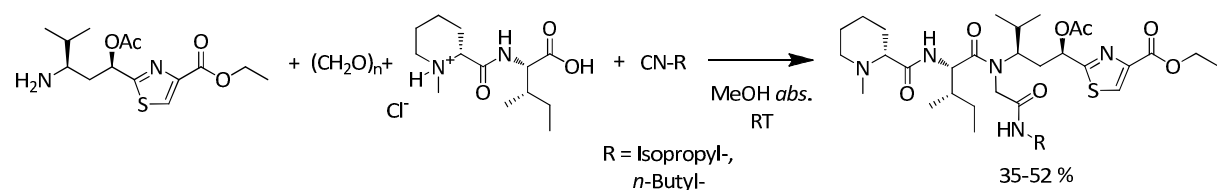
eine große Zahl verschiedenster Produkte erhalten werden. So sollte es z.B. gelingen, die funktionelle Gruppe der Seitenkette (**X**) über das entsprechende Isonitril einzuführen (siehe Schema 3-35). Da die Diversität somit erst in der vorletzten Synthesestufe eingeführt wird, ist es nicht notwendig, wie meist üblich, mit all den unterschiedlichen Derivaten eine ganze Reihe von Folgereaktionen durchzuführen. Dies spart viel Arbeit und bietet einen enormen zeitlichen Vorteil.

Die Idee, Tubulyisin-Derivate mit Hilfe der Ugi-Reaktion aufzubauen, hatten bereits WESSJOHANN *et al.* im Jahr 2011.^[143] Ihnen gelang es, mehrere verkürzte Tubulyisin-Derivate mittels Ugi-Reaktion herzustellen und nannte diese Derivate „*Tubugis*“³. Wie bereits in Kapitel 2.6 diskutiert, war es ihnen nicht möglich, als Amin-Komponente das komplette Dipeptid (Tuv-Tup-OMe) einzusetzen, sondern sie verwendeten lediglich den Ethylester der Aminosäure Tubuvalin. Problem war die Bildung eines Nebenprodukts, welches durch Angriff des Lösungsmittels (eines Alkohols) entstand. Wie sich später herausstellte, konnte auch in unserem Fall die Bildung dieses Nebenprodukts beobachtet werden, worauf aber später explizit und ausführlich eingegangen werden soll (siehe Kapitel 3.2.3: „Ugi-Reaktion“). Ziel unserer Synthese sollte es demnach sein, die Reaktionsbedingungen so anzupassen, dass das gewünschte Produkt mit hoher Ausbeute erhalten werden kann, wobei als Amin-Komponente das gesamte Dipeptid (*d*Tuv-Tup-OMe) und nicht nur die Aminosäure *desacetoxy*-Tubuvalin eingesetzt werden sollte. Andernfalls wären weitere Synthesestufen nach der Ugi-Reaktion nötig.



Schema 3-35 Retrosynthese der Zielstrukturen: Metathese und Ugi-Reaktion.

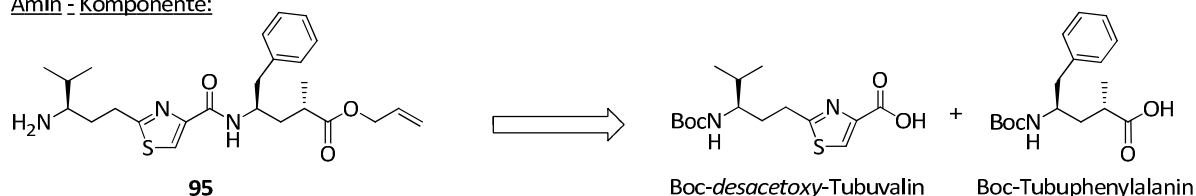
³ Synthese verkürzter Tubulyisin-Derivate *via* Ugi-Reaktion („*Tubugis*“), O. Pando, S. Stark, A. Denkert, A. Porzel, R. Preusentanz, L. A. Wessjohann, *Journal of the American Chemical Society*, **2011**, *133*, 7692–7695^[143]



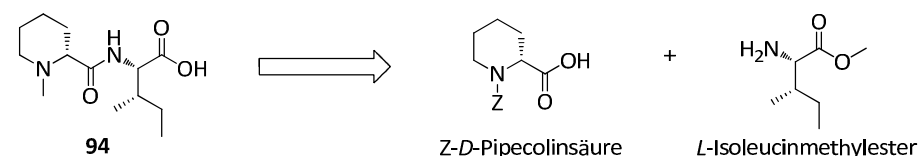
3. Ergebnisse und Diskussion

Die für die Ugi-Reaktion benötigten Bausteine sind ihrerseits leicht zugänglich und können in wenigen Stufen aus einfachen Substanzen dargestellt werden (Schema 3-36). Die Amin-Komponente **95** ist auf die beiden unnatürlichen Aminosäuren *desacetoxy*-Tubuvalin und Tubuphenylalanin zurückführbar und kann durch einfache Peptidkupplung und Entschützung synthetisiert werden. Die Synthesen der beiden Aminosäuren sind bekannt^[120,132,133] und in der Arbeitsgruppe Kazmaier in großen Mengen vorrätig. Die Säure-Komponente **94** ist durch Peptidkupplung der kommerziell erhältlichen Aminosäuren *Z*-(*D*)-Pipicolinsäure und (*L*)-Isoleucinmethylester zugänglich und erfordert anschließend eine *Z*-Entschützung, Verseifung und *N*-Methylierung. Die Isonitril-Komponenten **91**, **92** und **93** werden in mehreren Stufen aus der photolabilen Schutzgruppe **1** (bzw. deren Chloroformiat **2**) und, abhängig von **X**, aus Boc-Glycin, Boc-2-Aminoethanol oder *mono*-Boc-Ethylendiamin aufgebaut. Außerdem sollten zur Synthese der Referenzsubstanzen **85**, **86** und **87** weitere Isonitrile hergestellt werden, die keine photolabile, sondern andere Schutzgruppen enthalten, die quantitativ und sehr einfach wieder abgespalten werden können. Die Wahl fiel auf die geschützten Isonitrile **96**, **97** und **98**.

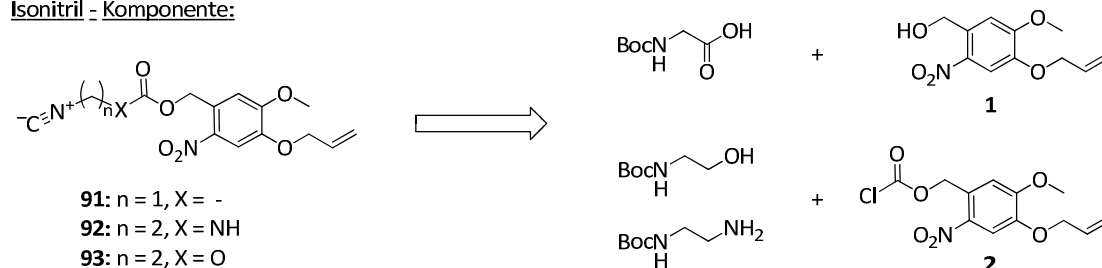
Amin - Komponente:



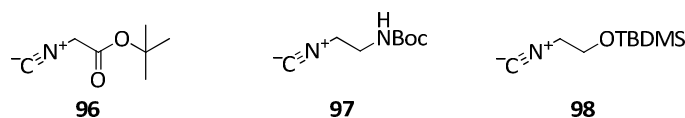
Säure - Komponente:



Isonitril - Komponente:



außerdem:



Schema 3-36 Retrosynthese der Bausteine für die Ugi-Reaktion.

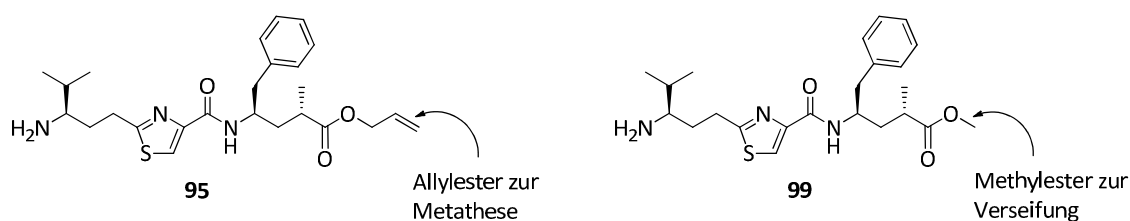
3.2.2 Synthese der Bausteine

In den folgenden Abschnitten werden die Syntheserouten der drei in der Ugi-Reaktion benötigten Komponenten (Säure, Amin und Isonitril), wie bereits in Schema 3-36 dargestellt, ausführlich beschrieben. Als vierte Komponente, dem Aldehyd, dient in unserem Fall ein C1-Baustein, nämlich Formaldehyd. Dieser kann entweder als wässrige Formaldehyd-Lösung oder in fester Form als

Polymer, dem Paraformaldehyd, eingesetzt werden. Paraformaldehyd wird meistens dann eingesetzt, wenn die Reaktionsbedingungen wasserfrei sein müssen, Formaldehyd-Lösung hingegen ist um ein vielfaches reaktiver.^[169] Beide Aldehyde sollten während der Optimierung der Reaktionsbedingungen der Ugi-Reaktion getestet werden (siehe Kapitel 3.2.3).

a) Synthese der Amine

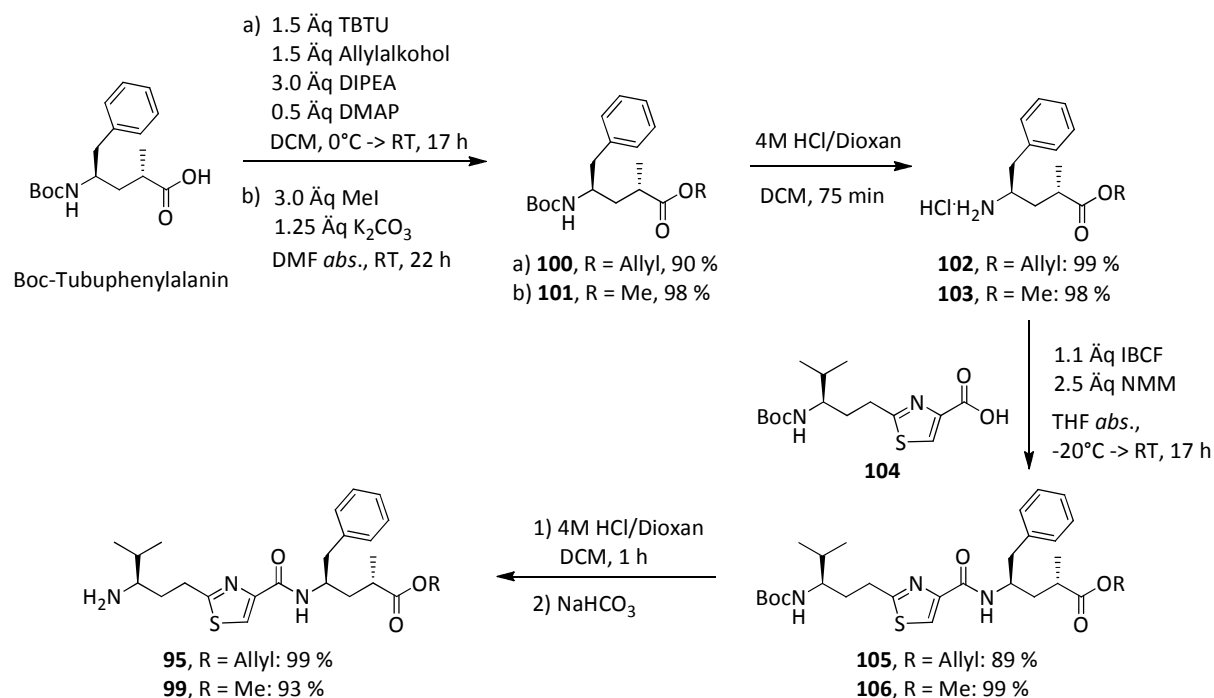
Neben der Synthese des Amins als Allylester **95** sollte auch der entsprechende Methylester **99** dargestellt werden (Schema 3-37). Denn um die Referenzsubstanzen **85**, **86** und **87** zu erhalten, wird es notwendig sein, die Tubuphenylalanin-Einheit als Säure freizusetzen. Es wird davon ausgegangen, dass der Allylester möglicherweise nicht so einfach verseift werden kann. Eine Abspaltung des Allylesters mit Hilfe der üblichen Bedingungen (homogener Pd-Katalysator, Morpholin^[3]) könnte in unserem Fall Probleme bereiten, da die im Molekül enthaltene Thiazoleinheit an Übergangsmetalle koordinieren kann und den Pd-Katalysator somit inaktiviert.^[170] Um diese potentiellen Schwierigkeiten zu umgehen, soll also zusätzlich zum für die spätere Metathese gebrauchten Allylester auch der Methylester hergestellt werden.



Schema 3-37 Amin-Komponente als Methylester und Allylester.

Die beiden Syntheserouten verliefen gleich, den einzigen Unterschied stellte die jeweils erste Stufe dar (vgl. Schema 3-38). In beiden Fällen wurde ausgehend von Boc-Tubuphenylalanin, welches in großen Mengen im Arbeitskreis zu Verfügung stand, der entsprechende Ester gebildet. Die Bildung des Allylesters **100** lief über eine Variante der Steglich-Veresterung mit TBTU als Kupplungsreagenz und Allylalkohol als Nukleophil ab. Die klassischen Steglich-Bedingungen (DCC, DMAP) führten in erheblichem Maße zum Acyl-Umlagerungsprodukt^[171] (ca. 60 %) und erwiesen sich somit als ungeeignet. Der Methylester **101** konnte mit Hilfe der Standardmethode, nämlich Kaliumcarbonat als Base und Methyljodid als Methylierungsreagenz, mit hervorragender Ausbeute erhalten werden. Die nächsten Schritte liefen für beide Tubuphenylalaninester analog ab. Zunächst wurde die Boc-Schutzgruppe mit 4-molarer HCl-Lösung in Dioxan abgespalten, danach folgte die Kupplung der Hydrochlorid-Salze **102** und **103** mit Boc-*desacetoxy*-Tubuvalin (**104**), welches ebenfalls aus dem Bestand des Arbeitskreises entnommen werden konnte. Auch hier waren die Standardbedingungen über das gemischte Anhydrid (IBCF/NMM^[124]) erfolgreich und lieferten die beiden Dipeptide **105** und **106** mit sehr guter Ausbeute. Nach einer weiteren Boc-Entschützung, diesmal allerdings mit anschließender Freisetzung der Amine mittels Natriumhydrogencarbonat-Lösung, konnten die beiden gewünschten Amine **95** und **99** mit einer Gesamtausbeute von 79 % über vier Stufen für den Allylester **95** bzw. 88 % für den Methylester **99** isoliert werden.

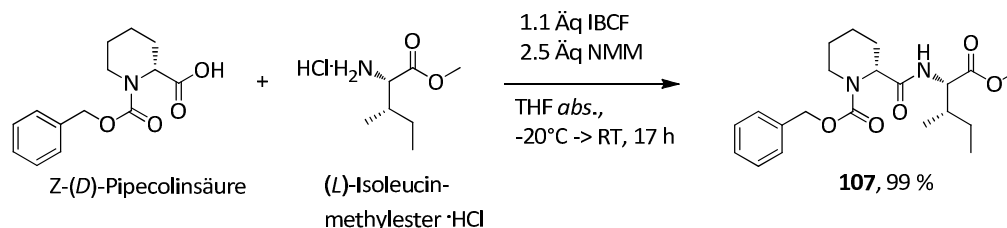
3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-38 Synthese der Amine **95** und **99** ausgehend von Boc-Tubuphenylalanin.

b) Synthese der Säure

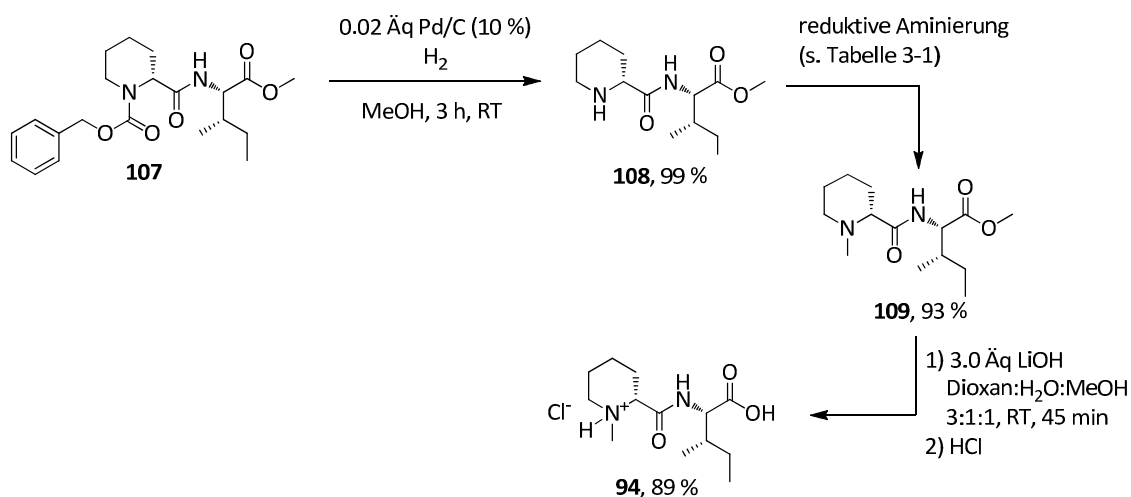
Eine Möglichkeit, die Säure-Komponente **94** für die Ugi-Reaktion darzustellen, wurde von WESSJOHANN *et al.* beschrieben.^[143] Via Ugi-Nenajdenko-Reaktion gelangten sie zur Säure **94**, die dann als Hydrochlorid-Salz in die nachfolgende Ugi-Reaktion eingesetzt wurde. Da also bereits nachgewiesen wurde, dass das Hydrochlorid-Salz in der Ugi-Reaktion eingesetzt werden kann, sollte auch unsere Syntheseroute zum selbigen führen. Den ersten Schritt stellte eine Peptidkupplung über die Methode des gemischten Anhydrids (IBCF/NMM) dar, ausgehend von den kommerziell erhältlichen Verbindungen Z-(D)-Pipicolinsäure und (L)-Isoleucinmethylester. Wie in Schema 3-39 gezeigt, konnte das geschützte Dipeptid **107** mit einer hervorragenden Ausbeute von 99 % erhalten werden.



Schema 3-39 Kupplung der beiden Aminosäuren Z-(D)-Pipicolinsäure und (L)-Isoleucin zum Dipeptid.

Ausgehend von Dipeptid **107** wurde zunächst die Z-Schutzgruppe mit Hilfe von Palladium auf Kohle (10 %) in einer Hydrierapparatur abgespalten (vgl. Schema 3-40). Die Reaktion verlief innerhalb von drei Stunden mit annähernd quantitativer Ausbeute und das so erhaltene Amin **108** wurde ohne weitere Aufreinigung in der folgenden reduktiven Aminierung eingesetzt. Lukas Junk hatte bereits in seiner Bachelorarbeit (Arbeitskreis Kazmaier, 2012^[172]) die N-Methylierung des Amins **108** via reduktiver Aminierung durchgeführt und erhielt keine gute Ausbeute (23 %). Die Reaktion wurde im Zuge dieser Arbeit mit gleichen Reaktionsbedingungen wiederholt und die Ausbeute konnte reproduziert werden (19 %, Tabelle 3-11, Eintrag 1).

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-40 Synthese der Säure-Komponente **94** als Hydrochlorid-Salz.

Eine Vermutung, warum die Reaktion keine bessere Ausbeute lieferte, bestand darin, dass bei der reduktiven Aminierung mit Paraformaldehyd und Natriumcyanoborhydrid der pH-Wert nicht kontrolliert worden war. Dieser sollte im leicht sauren Bereich liegen.^[173] In einem zweiten Versuch (Tabelle 3-11, Eintrag 2), wurde also während des Vorrührens mit Paraformaldehyd der pH-Wert mit 2.0 Äquivalenten Ameisensäure kontrolliert und nach drei Stunden wurden 1.1 Äquivalente Natriumcyanoborhydrid zugegeben. DC-Kontrolle ergab keinen nennenswerten Umsatz, sodass 2.0 Äquivalente wässrige Formaldehyd-Lösung und weiteres Natriumcyanoborhydrid zugegeben wurden. In diesem Fall konnten bereits 44 % des gewünschten *N*-Methyl-Dipeptids **109** isoliert werden. Im nächsten Versuch (Eintrag 3) wurde von Beginn an Formaldehyd-Lösung verwendet, und nach Zugabe von insgesamt 1.45 Äquivalenten Natriumcyanoborhydrid wurden 53 % des Produkts erhalten. Zum Erfolg führte schließlich der Ansatz, als Reduktionsmittel statt Natriumcyanoborhydrid Wasserstoff und Palladium auf Kohle einzusetzen. Nach fünf Stunden konnten 93 % des *N*-methylierten Dipeptids **109** isoliert werden (Eintrag 4).

Der letzte Syntheseschritt hin zur Säure-Komponente **94** für die Ugi-Reaktion, die Verseifung mit Lithiumhydroxid, verlief mit 89 % Ausbeute und lieferte nach saurer Aufarbeitung das Hydrochlorid-Salz des tertiären Amins. Dieses konnte mit *tert*-Butanol in die organische Phase extrahiert werden (Schema 3-40). Die Säure-Komponente stand also nach vier Stufen mit einer Gesamtausbeute von 81 % als Hydrochlorid-Salz für die Ugi-Reaktion zur Verfügung.

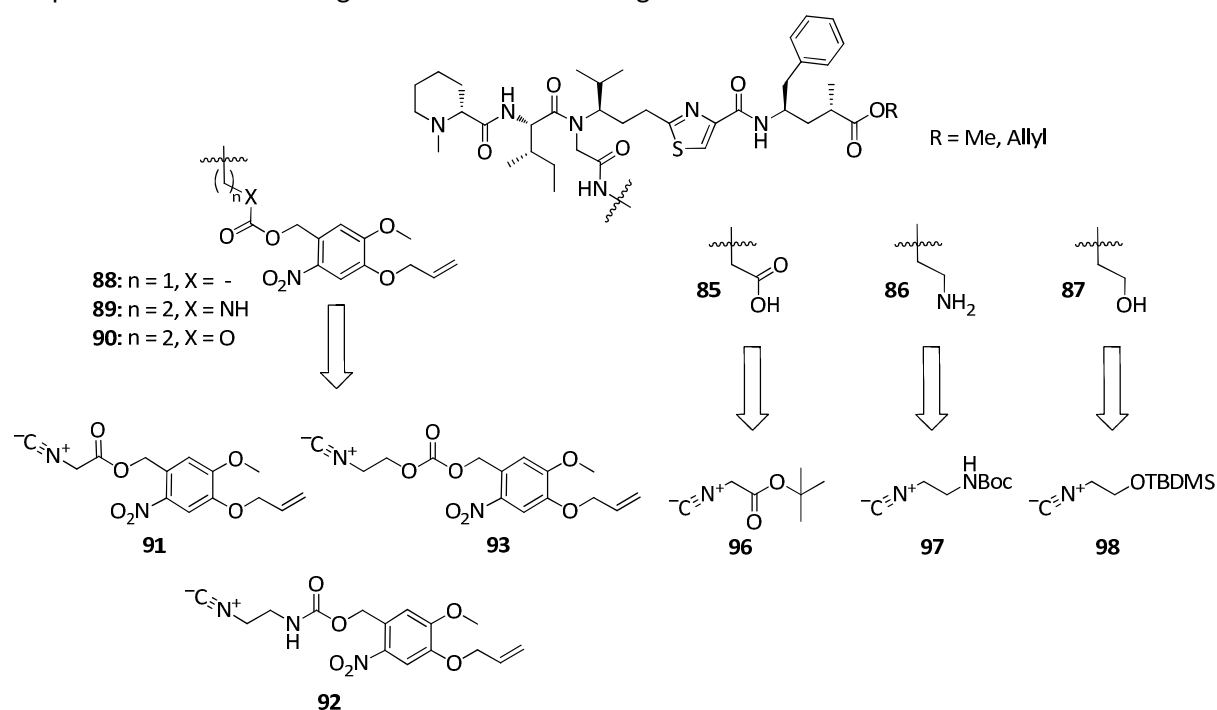
3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 3-11 Reduktive Aminierung zum tertiären Amin **109**.

Eintrag	Reagenzien	Bedingungen [t, MeOH, RT]	Ausbeute
1	1) 1.0 Äq Paraformaldehyd 2) 1.05 Äq NaBH ₃ CN	1) 4 h 2) 23 h	19 %
2	1) 1.0 Äq Paraformaldehyd, 2.0 Äq HCOOH 2) 1.1 Äq NaBH ₃ CN 3) 2.0 Äq Formaldehyd-Lsg. (37 %) 1.1 Äq NaBH ₃ CN	1) 3 h 2) 24 h 3) 20 h	44 %
3	1) 2.0 Äq Formaldehyd-Lsg. (37 %) 2) 1.1 Äq NaBH ₃ CN 3) + 0.35 Äq NaBH ₃ CN	1) 5 min 2) 19 h 3) 24 h	53 %
4	0.02 Äq Pd/C (10 %), H ₂ 2.0 Äq Formaldehyd-Lsg. (37 %)	5 h	93 %

c) Synthese der Isonitrile

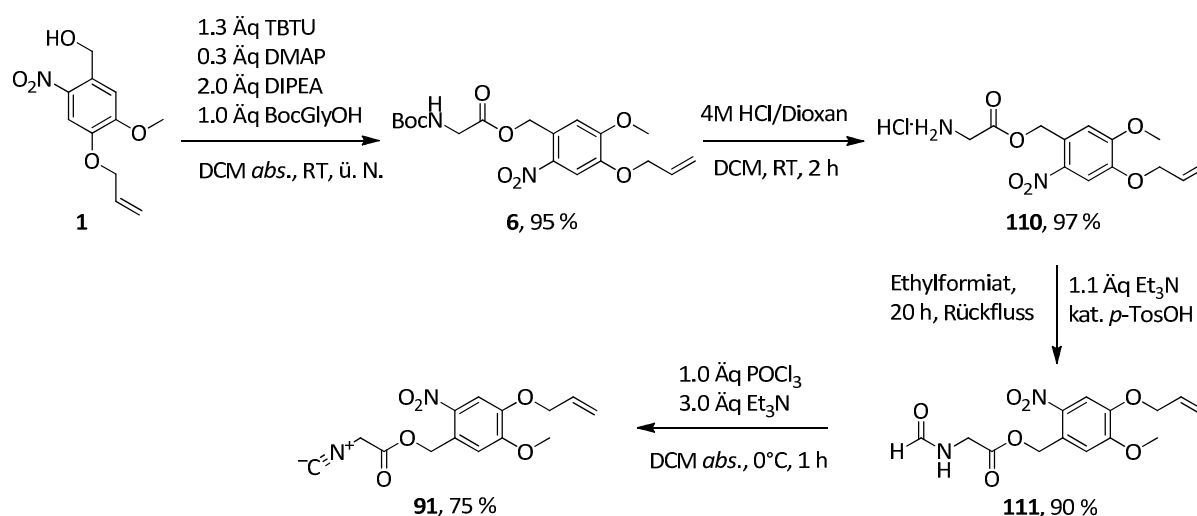
Da die zu testenden Prätubulysin-Derivate in der Seitenkette verschiedene funktionelle Gruppen tragen sollen, müssen die zu synthetisierenden Isonitrile genau diese funktionellen Gruppen tragen. Die Prätubulysin-Derivate **88**, **89** und **90** enthalten in ihrer Seitenkette die photolabile Schutzgruppe AMNB(OC), demnach leiten sie sich von den Isonitrilen **91**, **92** und **93** ab (vgl. Schema 3-41). Ein zweiter Satz an Isonitrilen ohne photolabile Schutzgruppe wird benötigt, um die Referenzsubstanzen herzustellen. Isonitril **96** liefert nach Ugi-Reaktion und Abspaltung des *tert*-Butylesters die freie Säure (Referenz **85**), Isonitril **97** setzt nach Boc-Abspaltung das Referenz-Amin **86** frei und aus dem Isonitril **98** wird durch TBDMS-Entschützung der Alkohol **87** erhalten. Alle drei Schutzgruppen sind sauer abspaltbar und somit orthogonal zur Ester-Verseifung.



Schema 3-41 Übersicht über die zu synthetisierenden Isonitrile.

c.1) Isonitrile mit photolabiler Schutzgruppe

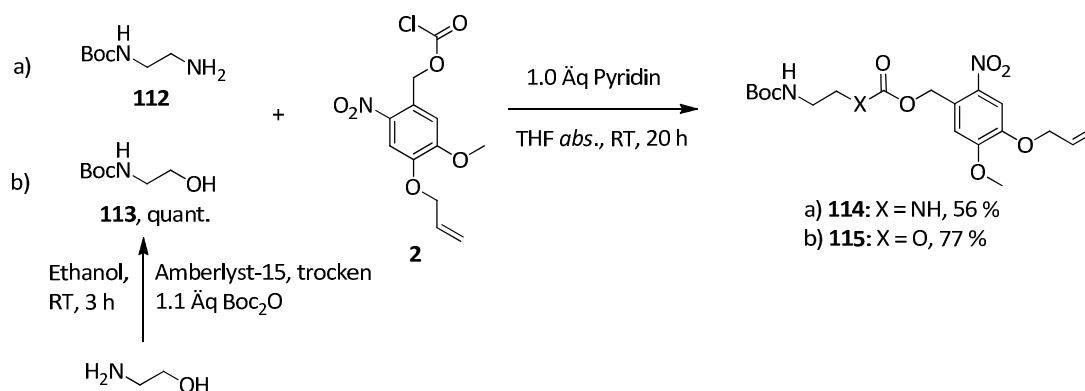
Schema 3-42 zeigt die Synthese des Isonitrils **91** ausgehend von der Schutzgruppe AMNBol (**1**). Im ersten Schritt wurde die Schutzgruppe analog zu den in Kapitel 3.1.3 optimierten Reaktionsbedingungen mit Boc-Glycin verknüpft. Boc-Abspaltung lieferte das Hydrochlorid-Salz **110**, welches in einer Formylierungsreaktion mit Triethylamin und katalytischen Mengen *para*-Toluolsulfonsäure in Ethylformiat zum *N*-Formyl-Glycinderivat **111** umgesetzt wurde. Anschließende Dehydratisierung mit Hilfe der Standardbedingungen (Phosphorylchlorid/ Triethylamin) führte zum gewünschten Isonitril **91** (75 % Ausbeute). Der Umsatz dieser letzten Stufe war nicht vollständig, es konnten 17 % der *N*-Formyl-Verbindung reisoliert werden. Eine Erhöhung der Reaktionszeit hatte allerdings ebenso wie die Erhöhung der Temperatur eine niedrigere Ausbeute zu Folge. Die Gesamtausbeute über vier Stufen betrug demnach 62 %.



Schema 3-42 Darstellung des Isonitrils **91**.

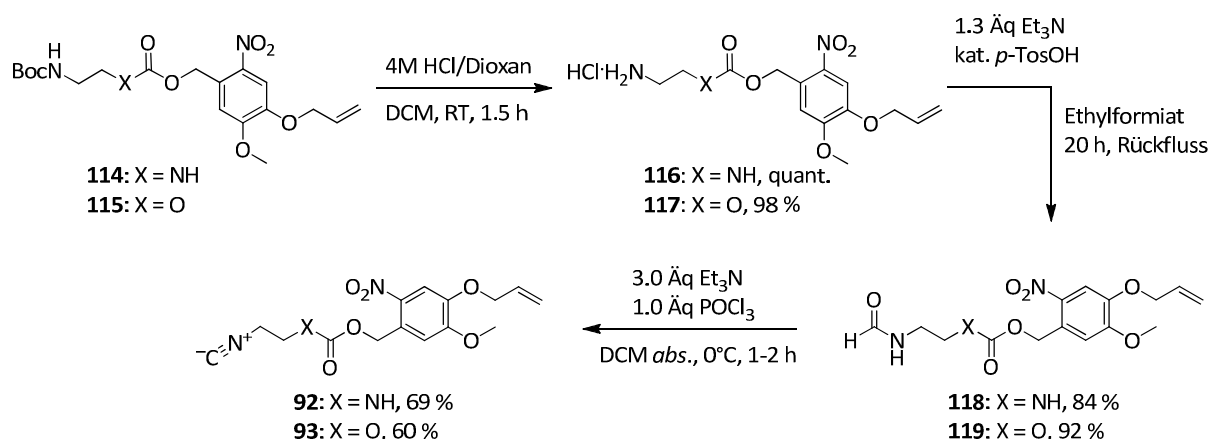
Isonitrile **92** und **93** konnten auf analoge Art und Weise dargestellt werden. Sie unterscheiden sich lediglich in der funktionellen Gruppe, die mit der photolabilen Schutzgruppe verknüpft ist. Es handelt sich hierbei zum einen um eine Carbamat-, zum anderen um eine Carbonat-Verknüpfung. Sowohl Carbamat **114** als auch Carbonat **115** konnten aus Amin **112** und Alkohol **113** durch Reaktion mit dem Chloroformiat **2** in mäßiger bis guter Ausbeute erhalten werden (Schema 3-43). Als Nebenprodukte konnten, wie schon in Kap 3.1.3 diskutiert, der Alkohol AMNBol (**1**) sowie das mutmaßliche Carbonat AMNBOCOAMNB (**21**) isoliert werden, was die mäßige Ausbeute erklärt. Bereits sehr kleine Mengen Wasser (z.B. aus nicht komplett trockenem THF) können zur Zersetzung des Chloroformiats führen. Alkohol **113** wurde zuvor aus Ethanolamin durch Boc-Schätzung mit Boc₂O und dem Kationenaustauscher Amberlyst-15 in Ethanol mit quantitativer Ausbeute hergestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-43 Darstellung des Carbamats **114** und des Carbonats **115**.

Wie in Schema 3-44 beschrieben, konnten Carbamat **114** und Carbonat **115** analog zur Umsetzung des photolabil geschützten Glycin-Derivats **6** zu den entsprechenden Isonitrilen umgesetzt werden. Auch hier folgten der Boc-Entschützung die Formylierung desamins und schließlich die Dehydratisierung zu den Isonitrilen **92** und **93**. Die Ausbeuten lagen durchweg in einem guten bis sehr guten Bereich, aber auch hier war, wie bereits zuvor beobachtet, der letzte Syntheseschritt nur mit 60–69 % Ausbeute möglich. Es konnte wie im vorherigen Fall Edukt reisoliert werden, welches wieder in eine nächste Dehydratisierung eingesetzt werden konnte, was den Verlust an Material minimierte.

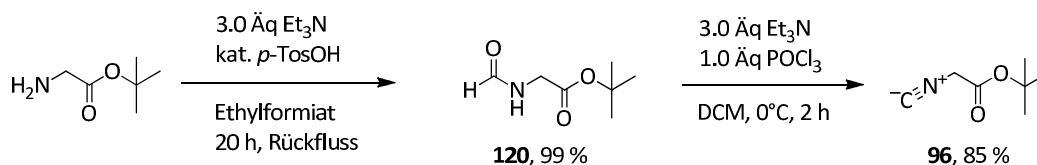


Schema 3-44 Synthese der entsprechenden Isonitrile.

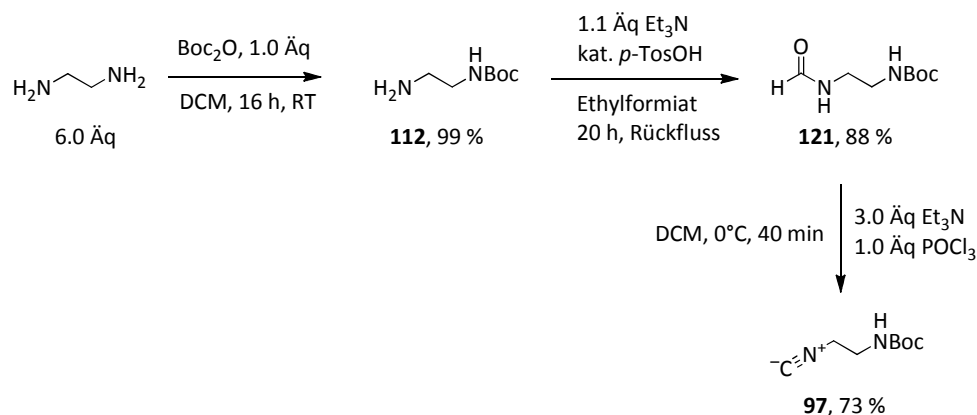
c.2) Isonitrile ohne photolabile Schutzgruppe

Die Synthese der Isonitrile ohne photolabile Schutzgruppe verlief ebenfalls unproblematisch und stellte sich teils aus eigenen, teils aus Vorschriften aus der Literatur zusammen. Schema 3-45 zeigt die Darstellung des *tert*-Butylester-haltigen Isonitrils **96**, welches über zwei Stufen mit Hilfe der zuvor beschriebenen Standardverfahren mit einer Gesamtausbeute von 84 % gewonnen werden konnte. Die Aufreinigung des Isonitrils erfolgte durch Kugelrohrdestillation, was eine sehr gute Reinheit gewährleistete. Analog dazu wurde, wie in Schema 3-46 beschrieben, das Amin-haltige Isonitril **97** dargestellt. Die *N*-Formylierung des zuvor Boc-geschützten Ethylendiamins^[174] verlief mit sehr guter Ausbeute, lediglich die Dehydratisierung mit Phosphorylchlorid begrenzte die Gesamtausbeute merklich auf 64 % über drei Stufen.

3. Ergebnisse und Diskussion

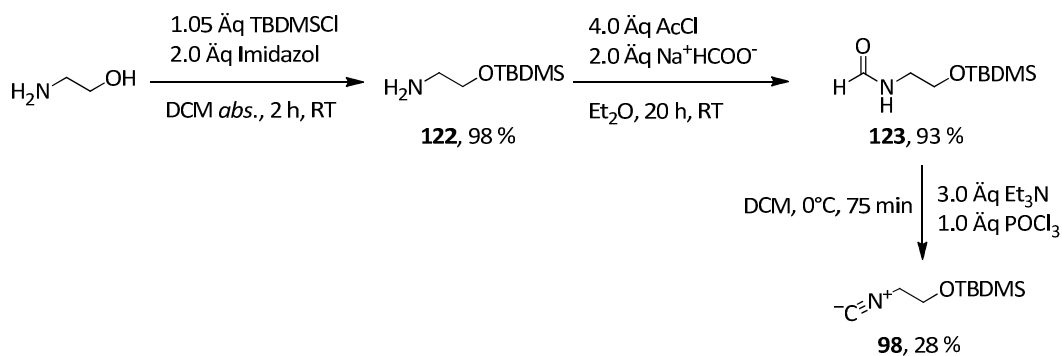


Schema 3-45 Darstellung des *tert*-Butylester-haltigen Isonitrils **96**.



Schema 3-46 Darstellung des Amin-haltigen Isonitrils **97**.

Der erste Schritt der Synthese des Isonitrils **98**, welches einen Silyl-geschützten Alkohol enthält, wurde der Literatur entnommen^[175] und lieferte das *O*-silylierte Produkt **122** ausgehend von Ethanolamin mit hervorragender Ausbeute (siehe Schema 3-47). Die Formylierung desamins wurde zunächst mit den bereits zuvor beschriebenen Standardbedingungen durchgeführt (Triethylamin, kat. *para*-Toluolsulfonsäure, Ethylformiat), führte aber nicht zum Erfolg. Es wurde ein alternativer Ansatz gefunden, indem zunächst aus Acetylchlorid und Natriumformiat das gemischte Anhydrid gebildet wurde, welches anschließend zu dem Amin **122** getropft wurde.^[176] Das mit einer Ausbeute von 93 % isolierte *N*-Formyl-Produkt **123** wurde danach mit Phosphorylchlorid und Triethylamin zum Isonitril **98** dehydratisiert. Die aus dem ¹H-NMR-Spektrum ermittelte Roh-Ausbeute betrug nur etwa 60 %, da die Reaktion sehr empfindlich gegenüber Feuchtigkeit und bezüglich Reaktionstemperatur und -dauer war. Zusätzlich stellte die Aufreinigung des Produkts eine Herausforderung dar. Die Reaktion verlief nie mit vollständigem Umsatz, sodass Edukt und Produkt voneinander getrennt werden mussten. Säulenchromatographie war wegen der Instabilität des Isonitrils nicht möglich. Kugelrohrdestillation lieferte schließlich sehr sauberes Produkt, allerdings betrug die Ausbeute nicht mehr als 28 %.

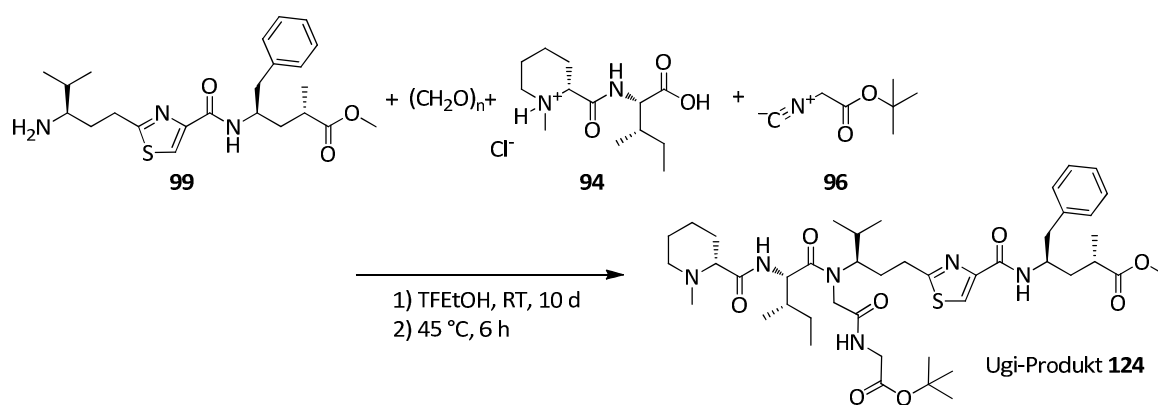


Schema 3-47 Synthese des Isonitrils **98**.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.2.3 Ugi-Reaktion

Die Optimierung der Ugi-Reaktion sollte mit dem Amin *d*TuvTupOMe (**99**) durchgeführt werden. Aus dem Satz der sechs zur Verfügung stehenden Isonitrile wurde das *tert*-Butylester-haltige Isonitril **96** ausgewählt. Durch die Versuche von WESSJOHANN *et al.* war bekannt, dass das Lösungsmittel, in diesem Fall Methanol, als Nukleophil angreifen und Nebenprodukte bilden kann.^[143] Daher wurde in einem ersten Versuch Trifluorethanol verwendet, ein viel weniger nukleophiles Lösungsmittel, von dem bekannt ist, dass es für Ugi-Reaktionen genutzt werden kann.^[134] Schema 3-48 zeigt die erste Ugi-Reaktion, in der alle Komponenten im Verhältnis 1:1:1:1 eingesetzt wurden. Als Aldehyd wurde Paraformaldehyd und als Säure die protonierte Spezies des Dipeptids **94** verwendet. Amin und Aldehyd wurden fünf Minuten vorgerührt, danach wurde die Säure zugegeben und schließlich wurde das Isonitril in Trifluorethanol gelöst und über 100 min langsam zugetropft, analog zur Vorschrift von WESSJOHANN *et al.*



Schema 3-48 Erste Ugi-Reaktion.

Nach 19 Stunden wurde eine erste Reaktionskontrolle durchgeführt (DC und HPLC/MS). Diese ergab, dass sich noch fast nichts der Edukte umgesetzt hatte (Spektren und Chromatogramme siehe Spektrenanhang, Kapitel 6.1.2). Auch nach zehn Tagen war der Umsatz sehr gering. Es konnten jedoch bereits ein kleiner Produkt-Peak und die Masse eines Nebenprodukts gefunden werden. Daher wurde die Reaktionsmischung für sechs Stunden auf 45 °C erwärmt. Da sich die Produktmenge anschließend auch nach mehreren Tagen nicht mehr erhöhte, wurde versucht, das Produkt zu isolieren, was auf Grund der geringen Menge nur in Spuren in einer verunreinigten Fraktion möglich war. Abbildung 3-16 zeigt das Chromatogramm nach sechs Stunden bei 45 °C. Die *m/z*-Verhältnisse sind farblich gekennzeichnet, die Produktmasse ist grün, die Edukte sind gelb und die Massen der Nebenprodukte sind rot hinterlegt. Es ist deutlich erkennbar, dass Produkt entstanden sein musste (*m/z* = 841.55). Allerdings waren noch große Mengen an Edukten vorhanden. Paraformaldehyd und das Isonitril **96** waren nicht detektierbar, die Säure **94** absorbierte nicht bei 254 nm, war aber im Massenspektrum eindeutig zu erkennen (*m/z* = 257.25, $t_R \approx 1$ min, Injektionspeak). Das *m/z*-Verhältnis von 432.30 desamins **99** ist damit der beste Anhaltspunkt, um den Umsatz zu verfolgen. Um herauszufinden, welchen Verbindungen die anderen Massen zugeordnet werden können, ist es notwendig, einen Blick auf den Mechanismus der Ugi-Reaktion zu werfen (siehe Schema 3-49). Auf die Bildung des Iminiumions **A** durch Angriff desamins am Aldehyd und Protonierung durch die Säure folgt der Angriff des Isonitrils (Isonitril-Addukt **B**). Anschließend greift die Säure am Isonitril-Addukt **B** an und bildet das Säure-Addukt **C**. Nach der folgenden Mumm-Umlagerung, dem Angriff des sekundärenamins am Ester der Säure, entsteht das Ugi-Produkt.

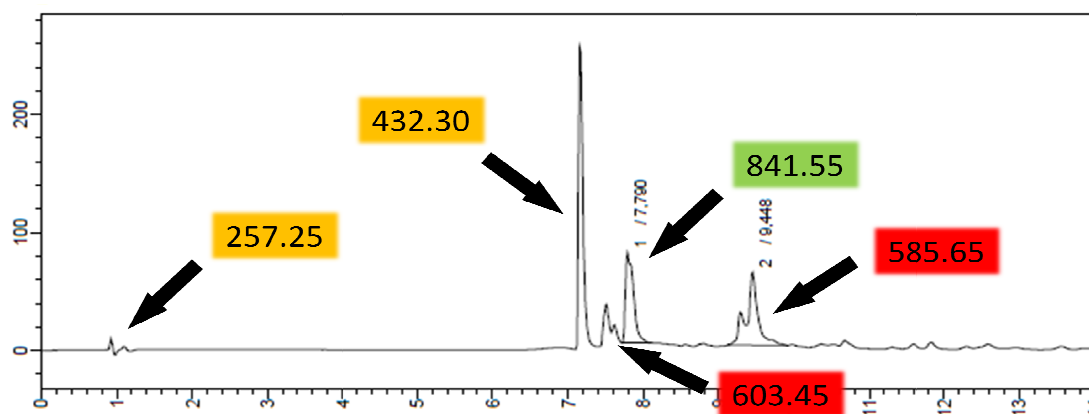
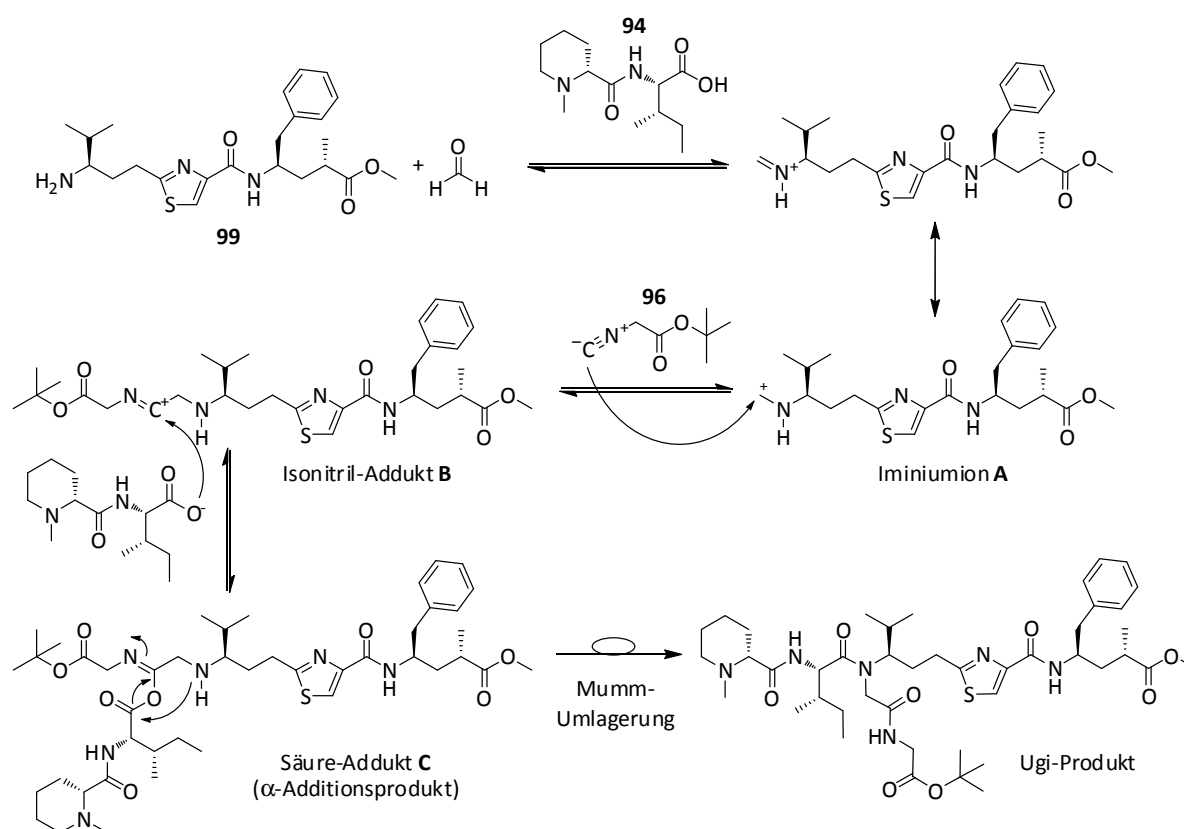


Abbildung 3-16 HPLC/MS-Chromatogramm der Ugi-Reaktion nach 10 d bei RT und 6 h bei 45 °C (bunt hinterlegte Zahlen = m/z-Verhältnisse, grün: Produkt, gelb: Edukte, rot: Nebenprodukte).

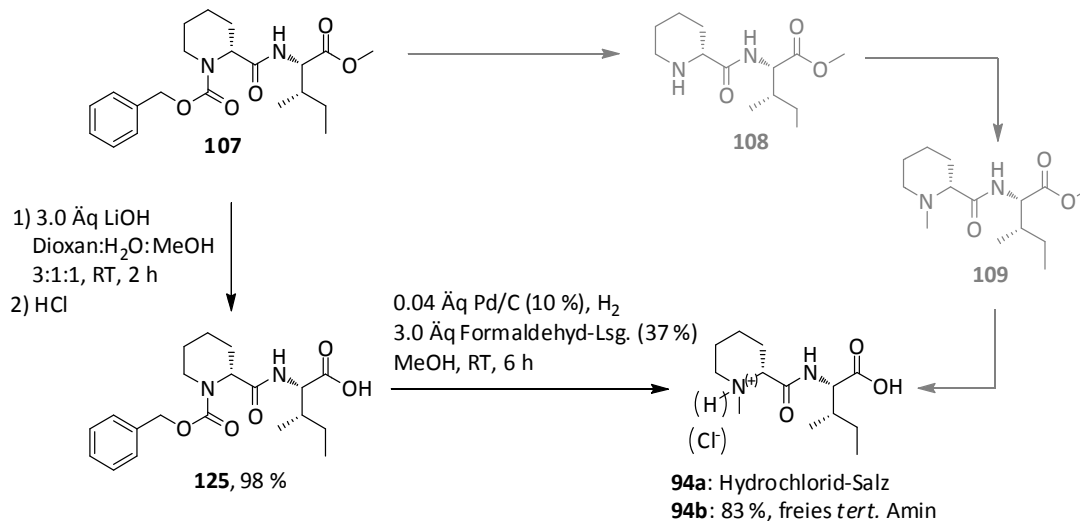


Schema 3-49 Mechanismus der Ugi-Reaktion anhand der konkreten Verbindungen.

Da die Reaktion nur unvollständigen Umsatz zeigte, indem ein Großteil des Amins nicht abreagiert hatte, und die Reaktionsdauer extrem lang war, wurden zwei Vermutungen angestellt. Zum einen könnte der Paraformaldehyd zu unreaktiv sein, sodass das Imin gar nicht erst gebildet wird. Zum anderen könnte das protonierte tertiäre Amin der Säure-Komponente ein Problem darstellen. Um als Carboxylat analog zum Mechanismus (siehe Schema 3-49) am Isonitril-Addukt **B** angreifen zu können, müsste die als Hydrochlorid-Salz vorliegende Säure-Komponente nämlich zweimal deprotoniert werden. Dieser Protonen-Überschuss in der Reaktionsmischung kann umgangen werden, wenn die Säure als Neutralkomponente eingesetzt wird. Dazu ist ein alternativer Syntheseweg für die Säurekomponente **94** notwendig. Dieser ist in Schema 3-50 aufgeführt. Hier wurde die Verseifung des Methylesters vorgezogen und erst anschließend wurde die Z-Schutzgruppe durch katalytische

3. Ergebnisse und Diskussion

Hydrierung abgespalten. Gleichzeitig wurden 3.0 Äquivalente Formaldehyd-Lösung zugegeben, die in Kombination mit Wasserstoff/Palladium auf Kohle in einer Art reduktiven Aminierung die *N*-methylierte Verbindung **94b** bildeten. Der Vorteil dieser Methode lag darin, dass keine saure Aufarbeitung notwendig war, sodass nicht das Hydrochlorid-Salz **94a** (vgl. Schema 3-40), sondern die neutrale Verbindung **94b** isoliert werden konnte.



Schema 3-50 Alternative Synthese der Säure, die zur Neutralkomponente führt (**94b**).

In einem zweiten Ansatz der Ugi-Reaktion sollten die beiden zuvor aufgeführten Probleme umgangen werden, indem die neutrale Säurekomponente **94b** und statt Paraformaldehyd eine wässrige Formaldehyd-Lösung (37 %) eingesetzt wurden. Somit sollte die Bildung des Imins sehr schnell erfolgen und der Angriff der Säure am Isonitril-Addukt **B** ebenfalls begünstigt werden. Bei sonst gleichen Reaktionsbedingungen (siehe Tabelle 3-12, Eintrag 2) fiel bereits nach 30 min auf, dass die Reaktionsgeschwindigkeit enorm zugenommen hatte. Nach 72 h waren nur noch Spuren desamins zu detektieren (Abbildung 3-17), allerdings war auch die Palette an Nebenprodukten deutlich gestiegen. Für die rot hinterlegten *m/z*-Verhältnisse konnten Mutmaßungen über die Strukturen der Nebenprodukte angestellt werden.

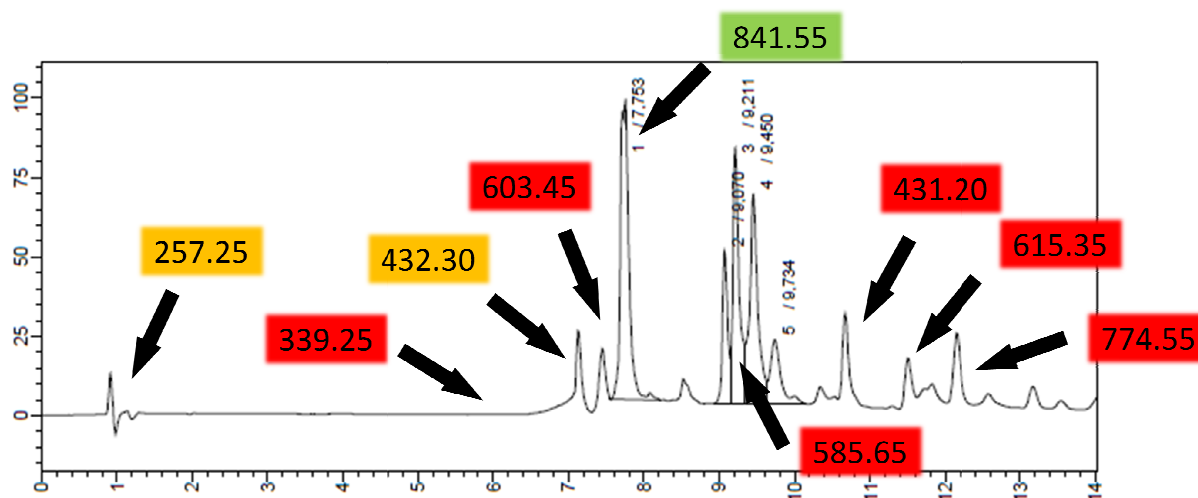
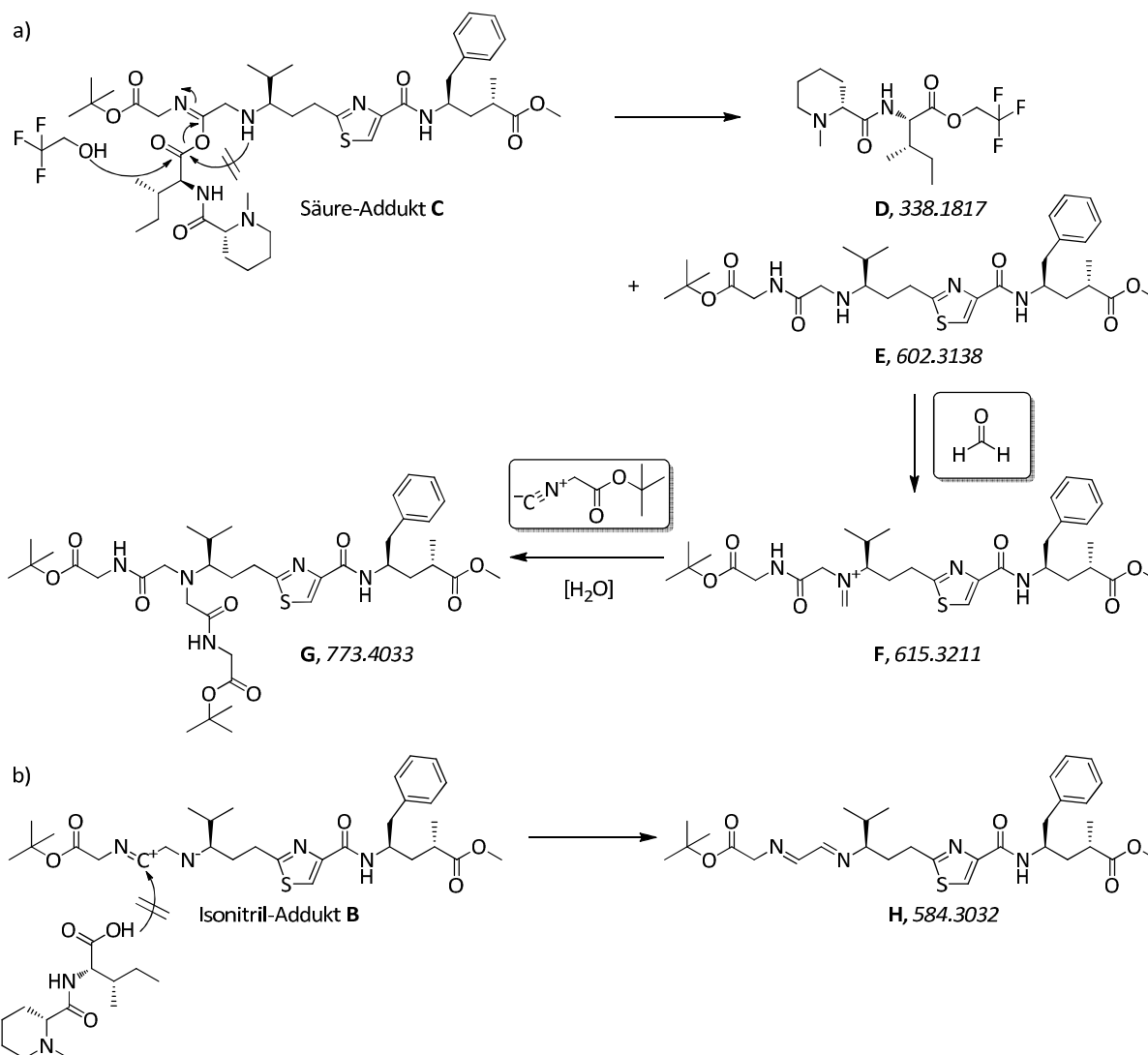


Abbildung 3-17 HPLC/MS-Chromatogramm der Ugi-Reaktion (Eintrag 2, Tabelle 3-12) nach 72 h bei RT (*m/z*-Verhältnisse = bunt hinterlegte Zahlen, grün: Produkt, gelb: Edukte, rot: Nebenprodukte).

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-51 Mögliche Nebenreaktionen der Ugi-Reaktion und die entsprechenden molaren Massen [g/mol] (*kursiv geschriebene Zahlen*), a) bei Angriff des Lösungsmittels, b) bei fehlendem Angriff der Säure.

Schema 3-51 zeigt zwei mögliche Nebenreaktionen, die in Konkurrenz zur eigentlichen Ugi-Reaktion ablaufen könnten. Im ersten Fall (Schema 3-51, a) greift das Lösungsmittel, hier Trifluorethanol, am Ester des Säure-Addukts **C** an und spaltet den Trifluorethylester **D** ($m/z = 339.25$) und das Zwischenprodukt **E** ($m/z = 603.45$) ab. Dies kann ablaufen, wenn der nukleophile Angriff „von außen“ schneller ist als die Mumm-Umlagerung. Zwischenprodukt **E** seinerseits kann als sekundäres Amin mit einem weiteren Molekül Formaldehyd zum Iminiumion **F** ($m/z = 615.35$) weiterreagieren. Iminiumion **F** kann danach wiederum vom Isonitril angegriffen werden. So entsteht das „Doppel-Isonitril-Produkt“ **G** ($m/z = 774.55$), welches in Einklang steht mit den Beobachtungen von WESSJOHANN *et al.*, die während ihrer Ugi-Reaktion das analoge Produkt mit einer Ausbeute von 60 % isolieren konnten.^[143] Ein weiteres Nebenprodukt mit einem m/z -Verhältnis von 585.65 könnte sich daraus ableiten, dass bei fehlendem Angriff der Säure am Isonitril-Addukt **B** entweder dieses selbst so stabil ist, dass es in der Masse detektiert werden kann, oder dass es zum Diiminium **H** umlagern kann. Dieses sollte stabil sein und würde ebenfalls einem m/z -Verhältnis von 585.65 entsprechen (Schema 3-51, b).

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Spektren und Chromatogramme für die nachfolgend aufgeführten Optimierungsschritte sind alle im Spektrenanhang, Kapitel 6.1.2, aufgeführt. Um die Nebenproduktbildung zu unterdrücken, wurde in einem dritten Versuch (Tabelle 3-12, Eintrag 3) das Isonitril sehr langsam über einen Zeitraum von 100 min in Trifluorethanol gelöst zugetropft. Somit sollten während der Reaktion nur geringe Mengen an Isonitril-Addukt **B** vorliegen, sodass die Säure, die nun in leichtem Überschuss vorliegt, genug Zeit zum Angriff hat, bevor das Intermediat auf anderem Wege abreagiert. Dies gelang zwar teilweise, da die Bildung des Nebenprodukts **H** ($m/z = 585.65$) besser unterdrückt werden konnte als zuvor, jedoch konnte der Angriff des Lösungsmittels vor der Mumm-Umlagerung nicht unterbunden werden. Es konnte allerdings erstmals Produkt, wenn auch verunreinigt, isoliert werden (18 % Ausbeute).

Der Angriff des Lösungsmittels kann wahrscheinlich nur unterdrückt werden, wenn ein nicht-nukleophiles Lösungsmittel verwendet wird. Wie in Tabelle 3-12, Eintrag 4 zu sehen ist, wurde daher die Ugi-Reaktion in *abs.* Dichlormethan getestet. Auch hier war die Reaktionsgeschwindigkeit sehr schnell, außerdem wurden keine Nebenprodukte detektiert, die auf den in den vorangegangenen Beispielen beobachteten Mechanismen beruhen (mit Ausnahme des „Doppel-Isonitril-Produkts“ **G**, $m/z = 774.55$). Stattdessen entstanden einige andere, nicht-identifizierte Nebenprodukte (siehe Spektrenanhang, $t_R \approx 8.0$ bis $t_R \approx 9.5$). Ein Problem könnte sein, dass die wässrige Formaldehyd-Lösung mit ca. 10 % Methanol stabilisiert ist. Sowohl Wasser als auch Methanol können analog zu Trifluorethanol am Säure-Addukt **C** angreifen. Tatsächlich konnte das Nebenprodukt **G** mit einer Ausbeute von ca. 10 % isoliert werden. Die Ausbeute an Produkt lag bei 15 %.

Da sowohl die hohe Reaktivität des Aldehyds als auch die wässrige Lösung problematisch zu sein schienen, wurde im nächsten Versuch Paraformaldehyd verwendet (Tabelle 3-12, Eintrag 5). Die Reaktion wurde in Trifluorethanol durchgeführt, da die Nebenproduktbildung in Dichlormethan zu hoch war. Das Isonitril wurde schneller als zuvor (innerhalb 30 min) zugetropft, denn die Reaktionsgeschwindigkeit schien unabhängig von der Konzentration des Isonitrils sehr langsam zu sein. Um den Angriff der Säure zu begünstigen, wurden 1.5 Äquivalente Säure eingesetzt. Reaktionskontrolle nach fünf Tagen zeigte, dass noch Amin vorhanden war, sodass jeweils ein weiteres Äquivalent Paraformaldehyd und Isonitril zugegeben wurden. Nach weiteren 20 h zeigte sich vollständiger Umsatz bezüglich desamins, jedoch wurden neben Produkt auch Nebenprodukte detektiert (siehe Spektrenanhang). Säulenchromatographie lieferte das Produkt mit einer Ausbeute von 35 %, aber auch diesmal leicht verunreinigt. Es sollte erwähnt werden, dass die Ansätze in sehr kleinem Maßstab durchgeführt wurden und die Einwaage von ca. 1 mg Paraformaldehyd eine große Fehlerquelle sein kann. Die Notwendigkeit, Aldehyd nachzulegen, könnte daraus resultieren.

Da sich die Verwendung von Paraformaldehyd durch die geringere Reaktivität als ausbeutesteigernd erwiesen hatte und der Angriff des Lösungsmittels in Dichlormethan weitestgehend unterdrückt wurde, wurde der nächste Versuch mit 1.15 Äquivalenten Säure und 1.0 Äquivalenten Paraformaldehyd in *abs.* Dichlormethan gestartet (Tabelle 3-12, Eintrag 6). Das Isonitril wurde in kleinen Portionen, aber relativ zügig (über 30 min) in *abs.* Dichlormethan gelöst zugegeben. Bei der Reaktionskontrolle nach 19 h zeigte sich tatsächlich Produktbildung und es konnten keine nennenswerten Mengen an Nebenprodukten festgestellt werden. Nach 48 h wurden nur noch geringe Mengen Amin **99** detektiert (Abbildung 3-18) und die Reaktionsmischung wurde säulenchromatographisch gereinigt. Es konnten 60 % des sauberen Produkts isoliert werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

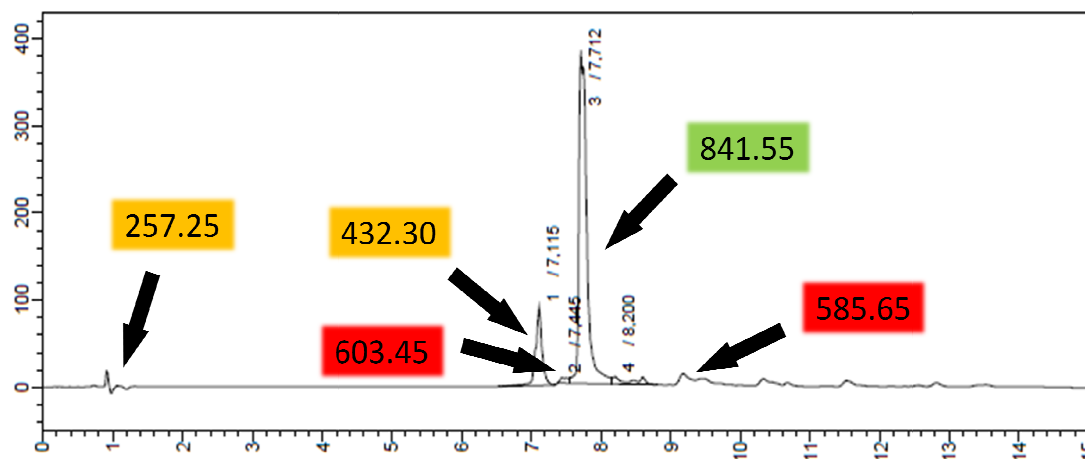
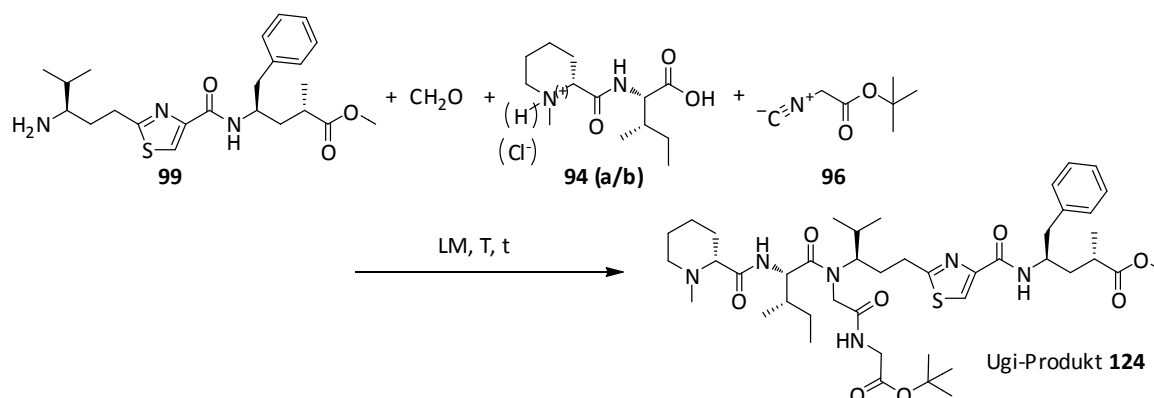


Abbildung 3-18 HPLC/MS-Chromatogramm der Ugi-Reaktion (Eintrag 6, Tabelle 3-12) nach 48 h bei RT (bunt hinterlegte Zahlen = m/z-Verhältnisse, grün: Produkt, gelb: Edukte, rot: Nebenprodukte).

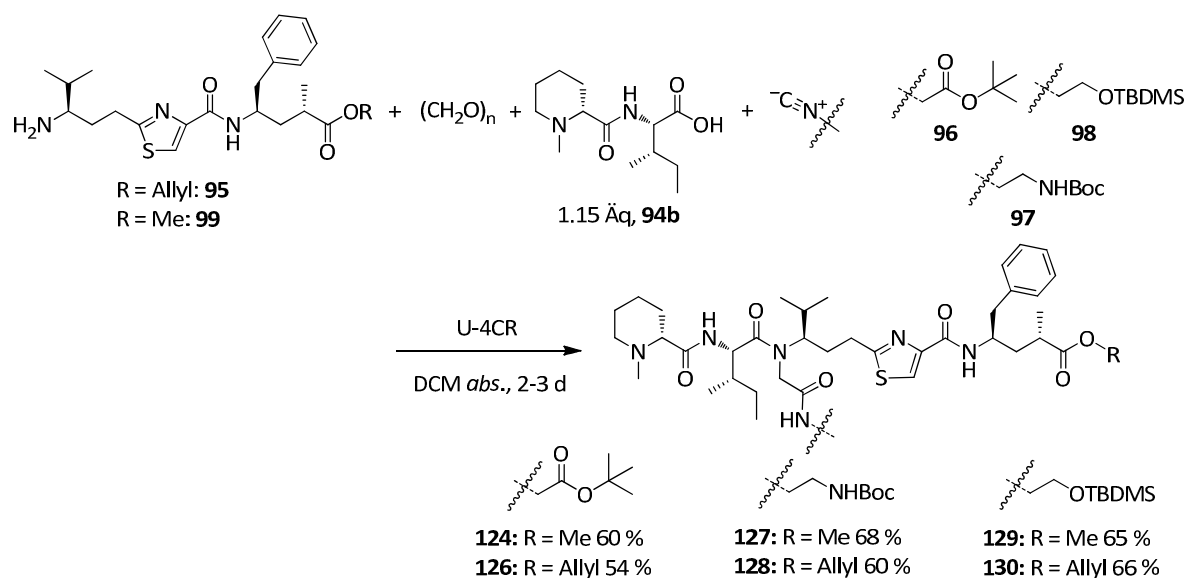
Tabelle 3-12 Optimierung der Ugi-Reaktion.



Eintrag	Amin Äq	Aldehyd Äq	Säure Äq	Isonitril Äq (t)	Lösungs- mittel	t	Ausbeute	Bemerkung
1	1.0	1.0 (CH ₂ O) _n	1.0 ·HCl	1.0 (100 min)	TFEtOH	10 d	Spuren	+ 6 h bei 45 °C
2	1.0	1.0 aq. CH ₂ O	1.0	1.0	TFEtOH	72 h	Spuren	
3	1.0	1.0 aq. CH ₂ O	1.0	1.0 (100 min)	TFEtOH	19 h	18 %	
4	1.0	1.0 aq. CH ₂ O	1.0	1.0 (100 min)	DCM abs.	22 h	15 %	Nebenprodukt isoliert
5	1.0	1.0 (CH ₂ O) _n + 1.0 (CH ₂ O) _n	1.5	1.0 (30 min) + 1.0	TFEtOH	5 d + 1 d	35 %	Produkt nicht sauber
6	1.0	1.0 (CH ₂ O) _n	1.15	1.0 (30 min)	DCM abs.	48 h	60 %	sauber!

3. Ergebnisse und Diskussion

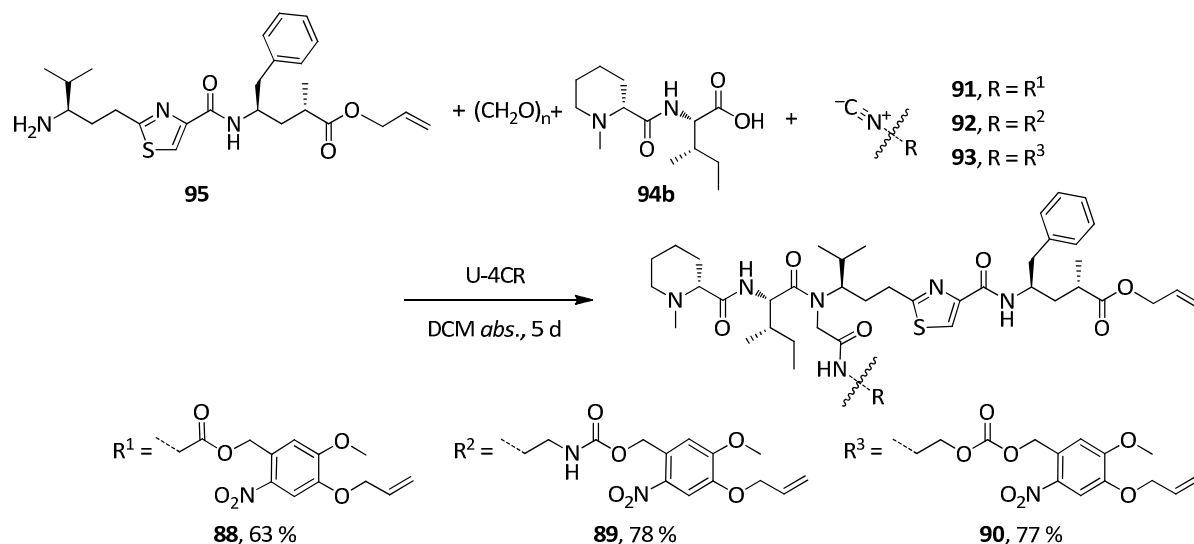
Nachdem die Optimierung der Ugi-Reaktion so gute Ergebnisse lieferte, wurden nun auch die anderen Isonitrile sowie das Allylester-Amin **95** in die Ugi-Reaktion eingesetzt. Jedes der Isonitrile **96**, **97** und **98** wurde mit beiden Aminen (**95** und **99**) zur Reaktion gebracht (Schema 3-52). Daraus resultierte ein Satz von sechs Ugi-Produkten (**124**, **126–130**), die mit sehr guten Ausbeuten von 54–68 % isoliert werden konnten. Dabei machte es keinen nennenswerten Unterschied, welches Amin und welches der drei Isonitrile eingesetzt wurden. Es ist wichtig zu erwähnen, dass die Ausbeute im Zuge der Experimente in einigen Fällen einbrach. Untersuchungen ergaben, dass die beiden Amine **95** und **99** bereits nach einigen Tagen begannen, sich zu zersetzen. Wurden die Verbindungen über mehrere Wochen als freie Amine gelagert und dann in die Ugi-Reaktionen eingesetzt, so lagen die Ausbeuten nur noch bei 28–40 %. Daher musste die Boc-Entschützung der Amine (vgl. Schema 3-38) stets unmittelbar vor der Ugi-Reaktion erfolgen.



Schema 3-52 Zusammenfassung der Ergebnisse der Ugi-Reaktionen mit den Isonitrilen **96**, **97** und **98** (ohne photolabile Schutzgruppe) sowie den Aminen **95** und **99**.

Im Anschluss an die Synthese der Prätubugi-Produkte, die keine photolabile Schutzgruppe enthielten, sollten nun auch mit Hilfe der photolabil geschützten Isonitrile **91**, **92** und **93** die entsprechenden photolabilen Prätubugi-Produkte dargestellt werden (vgl. Schema 3-53). Dazu wurden analog zu den vorangegangenen Experimenten 1.0 Äquivalente Allylester-Amin **95**, 1.0 Äquivalente Paraformaldehyd, 1.15 Äquivalente Säure **94b** und 1.0 Äquivalente Isonitril eingesetzt. Als Lösungsmittel diente auch hier Dichlormethan. Erfreulicherweise waren die Ausbeuten der drei Ugi-Reaktionen mit 63 %, 77 % und 78 % sogar besser als die Ausbeuten der Ugi-Reaktionen mit den nicht photolabil geschützten Isonitrilen. Vermutlich sind diese Isonitrile nicht mehr so reaktiv, begünstigen durch ihre anspruchsvollere Sterik die Mumm-Umlagerung und unterdrücken so die Nebenreaktionen. Dafür spricht auch die längere Reaktionsdauer von 5 Tagen.

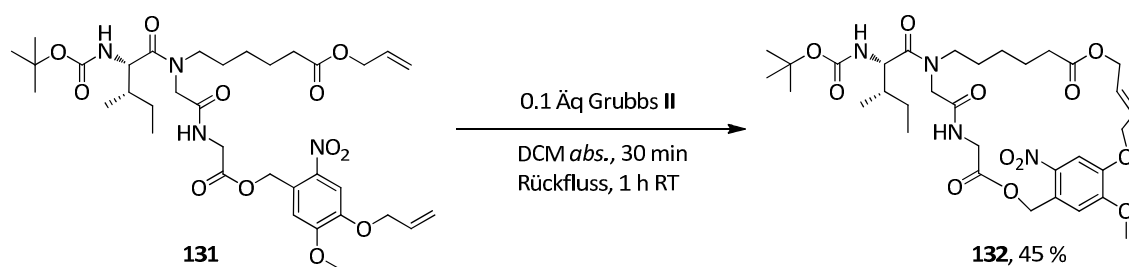
Somit konnten die gewünschten photolabil geschützten Prätubulysin-Derivate **88**, **89** und **90** in einer Stufe aus relativ einfachen und leicht zugänglichen Bausteinen mit sehr guten Ausbeuten erhalten werden. Da alle Ugi-Produkte zur biologischen Testung gehen sollten, war es notwendig, sie mit einer Reinheit möglichst > 95 % in Händen zu halten. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Normalphase) waren immer noch Spuren von Nebenprodukten per HPLC/MS-Analyse zu detektieren. Daher wurden alle Ugi-Produkte mit Hilfe einer präparativen *Reversed-Phase* Chromatographie zusätzlich aufgereinigt.



Schema 3-53 Ugi-Reaktionen mit den photolabil geschützten Isonitrilen **91**, **92** und **93**.

3.2.4 Ringschlussmetathese

Nachdem die Ugi-Reaktionen erfolgreich waren, sollten die photolabil geschützten Prä tubugi-Produkte über die beiden Allyl-Gruppen cyclisiert werden. Die Bedingungen für die Ringschlussmetathese wurden bereits in vorherigen Beispielen an cyclischen, photolabil geschützten Peptiden getestet (siehe Kapitel 3.1.4). Die optimierten Bedingungen sollten nun auf die Prä tubugi-Cyclisierungen übertragen werden. Ein erster Testansatz wurde mit einer von Sebastian Motsch^[177] dargestellten Substanz (**131**) durchgeführt, die *via* Ugi-Reaktion aus Boc-Isoleucin, Paraformaldehyd, dem Isonitril **91** und dem Amin **113** erhalten wurde. Nach Cyclisierung sollte das Produkt **132** eine ähnliche Ringgröße wie die Zielsubstrate aufweisen und einen ersten Hinweis darauf geben, ob die photolabilen Prä tubugis gut cyclisieren und ob die Reaktionsbedingungen aus den vorherigen Experimenten übertragbar sind.

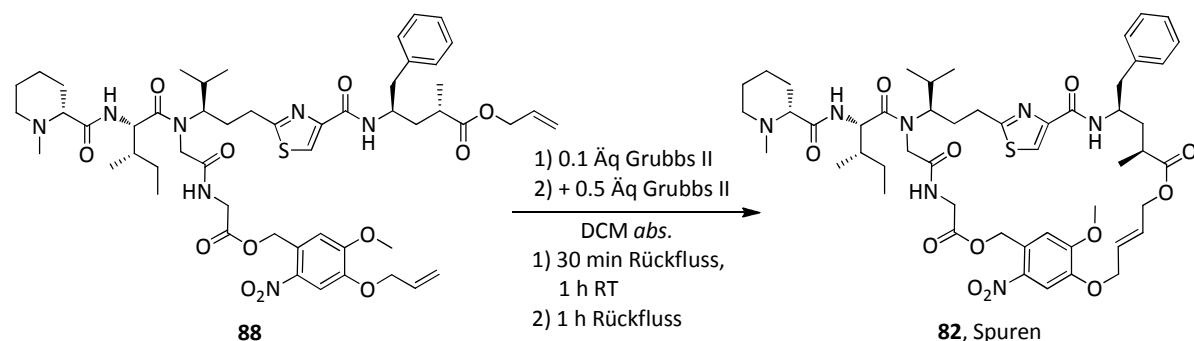


Schema 3-54 Ringschlussmetathese eines Testsubstrats.

Schema 3-54 zeigt die Ringschlussmetathese des Testsubstrats **131**. Der Grubbs-Katalysator wurde in *abs.* Dichlormethan gelöst und das Substrat wurde, ebenfalls gelöst in *abs.* Dichlormethan, langsam zur refluxierenden Katalysator-Lösung getropft. Bereits nach 30 min war kein Edukt mehr detektierbar und die Lösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Das für eine Peptid-ähnliche Substanz relativ unpolare Produkt **132** konnte mittels zweimaliger Normalphasen-Chromatographie (DCM:DCM/MeOH 95:5, danach PE:EE) mit einer Ausbeute von 45 % sauber isoliert werden. Dies deutete darauf hin, dass die Ringgröße kein Problem darstellen sollte und die Reaktionsbedingungen auf die Cyclisierung dieser Substanzklasse übertragen werden können. Daher wurde unter analogen Bedingungen das erste photolabil geschützte Prä tubugi-Produkt (**88**, Schema 3-55) in der Ringschlussmetathese eingesetzt.

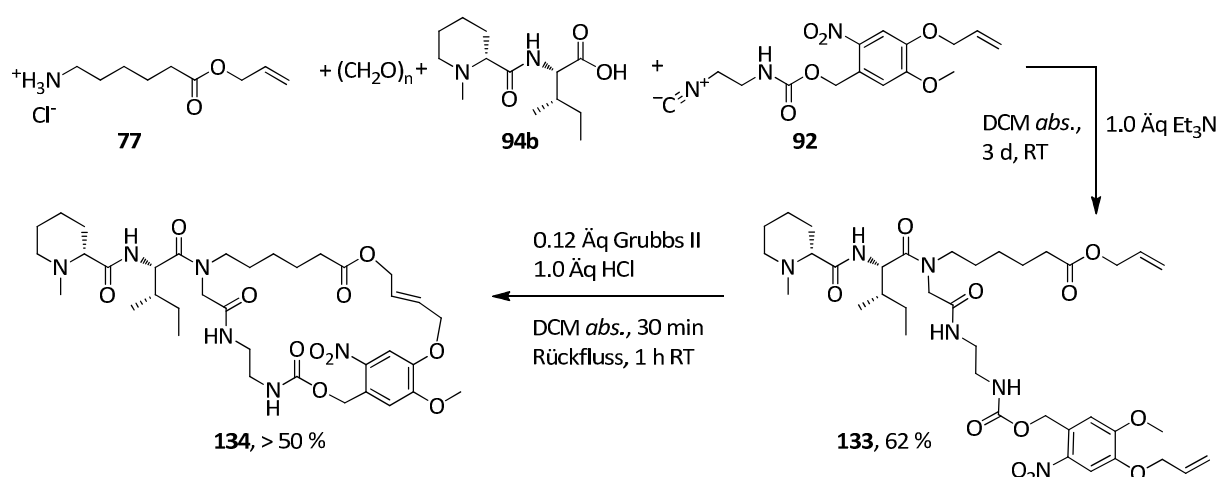
3. Ergebnisse und Diskussion

Nach 30 Minuten Erhitzen unter Rückfluss und einer Stunde bei Raumtemperatur konnten mittels HPLC/MS-Analyse Spuren der Produktmasse nachgewiesen werden. Zugabe von weiteren 0.5 Äquivalenten Grubbs-Katalysator II zeigten, dass zwar Spuren von Produkt gebildet wurden, der Katalysator aber vermutlich vom tertiären Amin der Methylpipercolinsäure-Einheit (Mep-Einheit) komplexiert und damit inaktiviert wurde. Der Umsatz lag bei etwas mehr als 50 %. Sowohl auf der DC als auch in der HPLC/MS unterschieden sich Produkt und Edukt so wenig in ihren R_f -Werten bzw. Retentionszeiten, dass es beinahe unmöglich schien, die Substanzen zu trennen. Daher war klar, dass die Reaktion auf jeden Fall kompletten Umsatz liefern musste, wenn das Produkt sauber isoliert werden sollte.



Schema 3-55 Erster Cyclisierungsversuch des Prä tubugi-Produkts **88**.

In der Literatur ist bekannt, dass Metathesen mit tertiären Aminen grundsätzlich problematisch sind, da, wie bereits vermutet, ein tertiäres Amin an das Ruthenium koordinieren kann und den Katalysator damit inaktiviert.^[111] Mögliche Additive, die den Effekt unterdrücken sollen, sind zum Beispiel $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ ^[113] oder im einfachsten Fall H^+ .^[112] Um zu testen, ob die Protonierung desamins tatsächlich einen positiven Effekt auf die Metathese hat, wurde ein Testsubstrat *via* Ugi-Reaktion hergestellt, welches dem bereits cyclisierten Pseudopeptid **131** sehr ähnelt und lediglich um die Mep-Einheit verlängert wurde (**133**, Schema 3-56). Dieses sollte im Anschluss unter Zugabe von 1.0 Äquivalenten HCl in einer Ringschlussmetathese cyclisiert werden.



Schema 3-56 Synthese und Cyclisierung des um eine Mep-Einheit verlängerten Testsubstrats **133**.

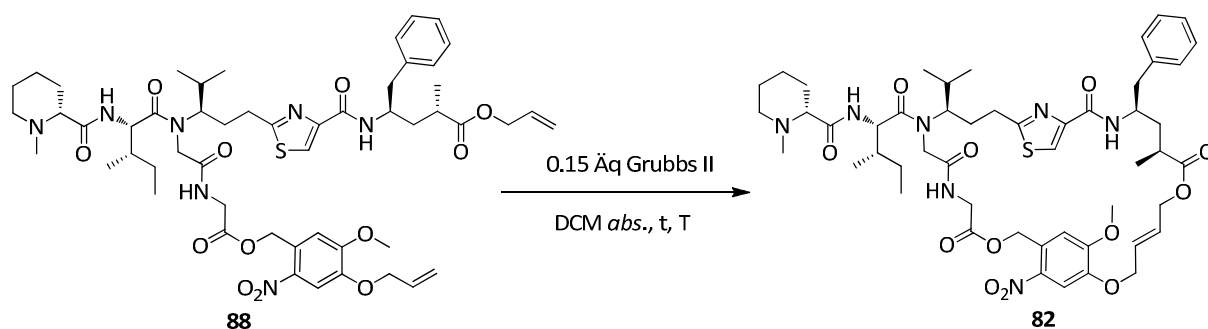
Die Ugi-Reaktion wurde analog zu den vorher optimierten Bedingungen durchgeführt und lieferte das gewünschte Produkt **133** mit einer Ausbeute von 62 %. Da das Amin **77** als Hydrochlorid-Salz eingesetzt wurde, musste eine äquimolare Menge Triethylamin zugegeben werden, um das Amin

3. Ergebnisse und Diskussion

freizusetzen. Im Anschluss wurde das neue Testsubstrat der Ringschlussmetathese unterzogen. Der Unterschied zu den vorherigen Reaktionsbedingungen lag darin, dass zu dem Substrat **133** 1.0 Äquivalente einer 4M HCl-Lösung in Dioxan gegeben wurden, bevor die Substratlösung zum refluxierenden Grubbs-Katalysator getropft wurde. Da die Metathese in sehr kleinem Maßstab durchgeführt wurde, der Umsatz etwa bei 90 % lag und Edukt und Produkt nicht getrennt werden konnten, kann die Ausbeute nicht genau angegeben werden. Sie lag aber im Bereich von 50–60 %. Darüberhinaus konnten geringe Mengen an unidentifizierten Nebenprodukten detektiert werden.

Trotz des unvollständigen Umsatzes war dieses Ergebnis durchaus vielversprechend. Übertragen auf die Cyclisierung des Prätubugi-Produkts **88** sollte diese Methode zum Erfolg führen. Wie in Tabelle 3-13, Eintrag 1 beschrieben, wurde der Ansatz wie im Falle des Testsubstrats durchgeführt. Das mit 1.05 Äq HCl (4M in Dioxan) versetzte Prätubugi-Produkt **88**, gelöst in Dichlormethan, wurde über einen Zeitraum von 30 min zu einer refluxierenden Lösung des Grubbs II-Katalysators in Dichlormethan getropft, 30 min refluxiert und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Verdünnung lag bei ca. 3 µmol/ml. HPLC/MS-Analyse zeigte Produktbildung, allerdings nur marginal mehr als im Versuch ohne HCl-Zugabe. Daher wurden weitere 1.05 Äquivalente HCl zugegeben, was die Produktbildung aber nur wenig beeinflusste. Wahrscheinlich muss die Protonierung des tertiärenamins erfolgen, bevor dieses den Ruthenium-Katalysator komplexieren kann. Da zusätzlich auch der Thiazolring potentiell an den Katalysator koordinieren kann, wurde der nächste Ansatz mit einem Überschuss, nämlich mit 5.0 Äquivalenten HCl durchgeführt (Tabelle 3-13, Eintrag 2), ansonsten wurden die Reaktionsbedingungen nicht verändert. Tatsächlich war der Umsatz nach 90 min Rückfluss und einer Stunde bei Raumtemperatur annähernd vollständig und nach *Reversed-Phase* Säulenchromatographie konnten 72 % sauberes cyclisiertes Produkt (**82**) erhalten werden. HPLC/MS-Analyse ergab eine Reinheit von > 95 %.

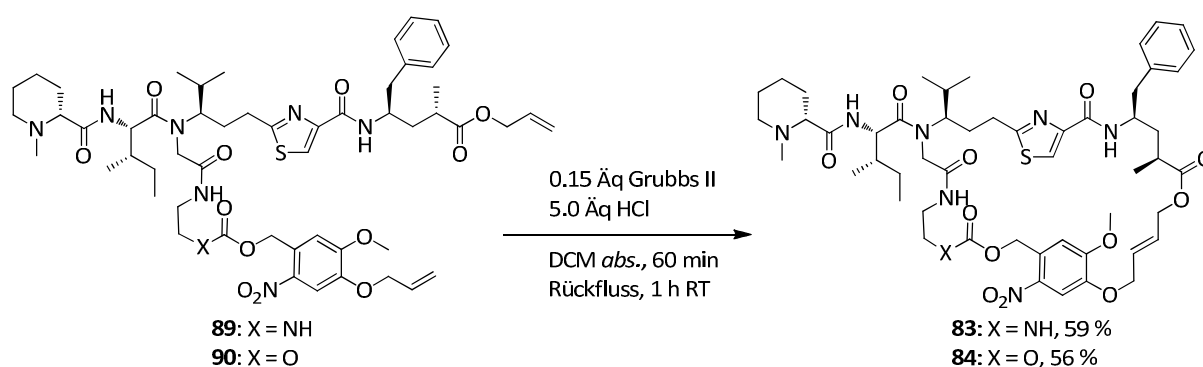
Tabelle 3-13 Cyclisierung des Prätubugi-Produkts **88** via Ringschlussmetathese.



Eintrag	Reaktionsbedingungen	Ausbeute, Bemerkung
1	1) 0.15 Äq Grubbs II, refluxiert 1.0 Äq 88 + 1.05 Äq HCl in DCM zugetropft 30 min Rückfluss, 1 h RT 2) + 1.05 Äq HCl, 30 min Rückfluss	1) HPLC/MS-Analyse: Produkt-Spuren, Edukt 2) etwas größere Menge Produkt, aber kein vollständiger Umsatz
2	0.15 Äq Grubbs II, refluxiert 1.0 Äq 88 + 5.0 Äq HCl in DCM zugetropft 30 min Rückfluss, 1 h RT	vollst. Umsatz, 72 % Produkt nach <i>Reversed-Phase</i> Chromatographie, Reinheit > 95 %

3. Ergebnisse und Diskussion

Im Anschluss an die Cyclisierung des ersten Prätubugi-Produkts konnten auch die beiden anderen photolabil geschützten Prätubugi-Derivate **89** und **90** unter Verwendung der gleichen Reaktionsbedingungen cyclisiert werden. Schema 3-57 zeigt die Ringschlussmetathese der Carbamat- bzw. Carbonat-verknüpften, photolabil geschützten Prätubugi-Derivate. Zwar lagen die Ausbeuten mit 56 % bzw. 59 % etwas niedriger als im Fall des Ester-verknüpften, photolabil geschützten Prätubugi-Derivats **82**, aber immer noch in einem guten Bereich, wenn man beachtet, dass die Produkte **82**, **83** und **84** extrem polar waren und nur durch *Reversed-Phase* Säulenchromatographie aufgereinigt werden konnten. Außerdem ist die HPLC/MS-Reinheit mit >95 % auch hier hervorragend. In allen drei Fällen konnte kein *E/Z*-Verhältnis ermittelt werden, da aus den NMR-Spektren keine aussagekräftigen Kopplungskonstanten herausgelesen werden konnten.



Schema 3-57 Ringschlussmetathese der beiden Carbonat- bzw. Carbamat-verknüpften, photolabil geschützten Prätubugi-Derivate **89** und **90**.

Zusatz-Bemerkung:

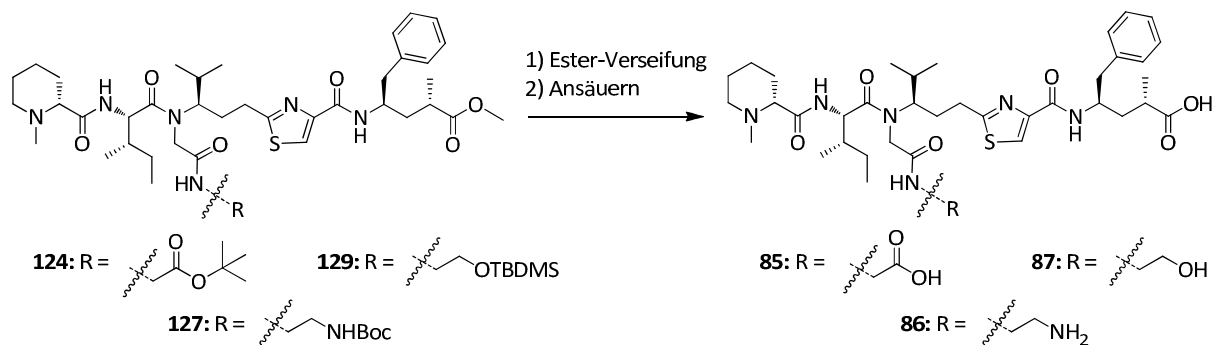
Alle Ugi-Produkte sowie die cyclisierten Verbindungen erscheinen in der HPLC/MS-Analyse als Doppelpeak. Die Bildung von Diastereomeren während der Synthese kann zwar nicht gänzlich ausgeschlossen werden, denn die Messung von Hochtemperatur-NMRs ließ keinen Aufschluss darüber zu, ob Diastereomere oder Rotamere vorlagen. Dennoch ist die Bildung von Diastereomeren aber sehr unwahrscheinlich. Alle Edukte, die in die Ugi-Reaktion eingesetzt wurden, wurden im Rahmen der Möglichkeiten auf Enantiomerenreinheit untersucht und es gab in keinem der Syntheseschritte der Bausteine Anzeichen auf eine Epimerisierung. Daher kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem doppelten Signalsatz der Ugi-Produkte und der cyclisierten Prätubugis um einen Rotamerensatz im Verhältnis 40:60 bis 50:50 handelt. Da die Seitenketten der Ugi-Produkte sehr groß und sterisch anspruchsvoll sind, ist es plausibel, dass die Rotationsbarriere der Verbindungen so hoch ist und die daraus resultierenden Rotamere konformativ so verschieden sind, dass sie sogar in der HPLC/MS und auf der DC mit leicht unterschiedlichen Retentionszeiten bzw. R_f -Werten detektiert werden können. Im Fall der cyclisierten Verbindungen könnten die Doppelpeaks aber auch auf das Vorliegen von *E/Z*-Doppelbindungsisomeren hindeuten.

3.2.5 Referenzsubstanzen

Wie in Schema 3-34 bereits deutlich gemacht wurde, setzen die drei cyclischen Verbindungen **82**, **83** und **84** nach Belichtung die drei photolabil entschützten und verseiften Prätubulylin-Derivate **85**, **86** und **87** frei (vgl. Schema 3-34). Um die Werte der durchzuführenden Cytotoxizitätstests der cyclisierten Verbindungen mit einem Referenzwert der komplett entschützten Verbindungen vergleichen zu können, mussten die entschützten Verbindungen synthetisiert werden. Dazu wurden die Prätubugi-Produkte **124**, **127** und **129** herangezogen (Schema 3-58). In allen drei Fällen sollte

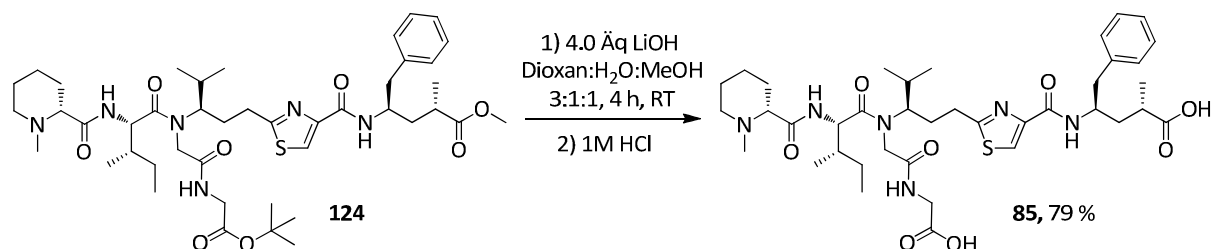
3. Ergebnisse und Diskussion

zunächst der Methylester verseift werden, von dem bekannt war, dass er teils nur unter recht harschen Bedingungen abgespalten wird.^[124] In diesem Fall sollte die Verwendung von Lithiumhydroxid in einem Lösungsmittelgemisch aus Dioxan/Wasser/Methanol (3:1:1) getestet werden. Lithium sollte hierbei als Lewis-Säure an den Sauerstoff des Esters koordinieren, diesen damit aktivieren und so die Verseifung beschleunigen. Anschließend sollte die Reaktionsmischung angesäuert werden, um das entstandene Carboxylat zu protonieren und gleichzeitig entweder den *tert*-Butylester, die Boc-Schutzgruppe oder die TBDMS-Schutzgruppe abzuspalten. Nach *Reversed-Phase* Chromatographie sollten die Referenzsubstanzen in der Form ihres Formiat-Salzes isoliert werden, da dem Lösungsmittelgemisch aus Acetonitril und Wasser Ameisensäure zugesetzt wurde.



Schema 3-58 Ester-Verseifung und Abspaltung der Seitenketten-Schutzgruppen (*t*Bu, Boc bzw. TBDMS) zur Synthese der Referenzsubstanzen.

Als erste der drei Referenzsubstanzen wurde Verbindung **85** dargestellt. Wie in Schema 3-59 gezeigt, wurde Prä tubugi-Produkt **124** zunächst in einem Dioxan/Wasser/Methanol-Gemisch mit 2.0 Äquivalenten Lithiumhydroxid versetzt. Nach einer Stunde ergab die Reaktionskontrolle, dass der *tert*-Butylester bereits vollständig verseift war, der Methylester aber noch nicht. Daher wurden 2.0 Äquivalente Lithiumhydroxid nachgelegt und die Reaktionsmischung wurde weitere drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach insgesamt vier Stunden zeigte die Reaktionskontrolle vollständigen Umsatz und es wurde mit 1M HCl angesäuert, um das Carboxylat zu protonieren. Nach *Reversed-Phase* Chromatographie konnte die Referenzsubstanz **85** in Form ihres Formiat-Salzes mit einer Ausbeute von 79 % isoliert werden.

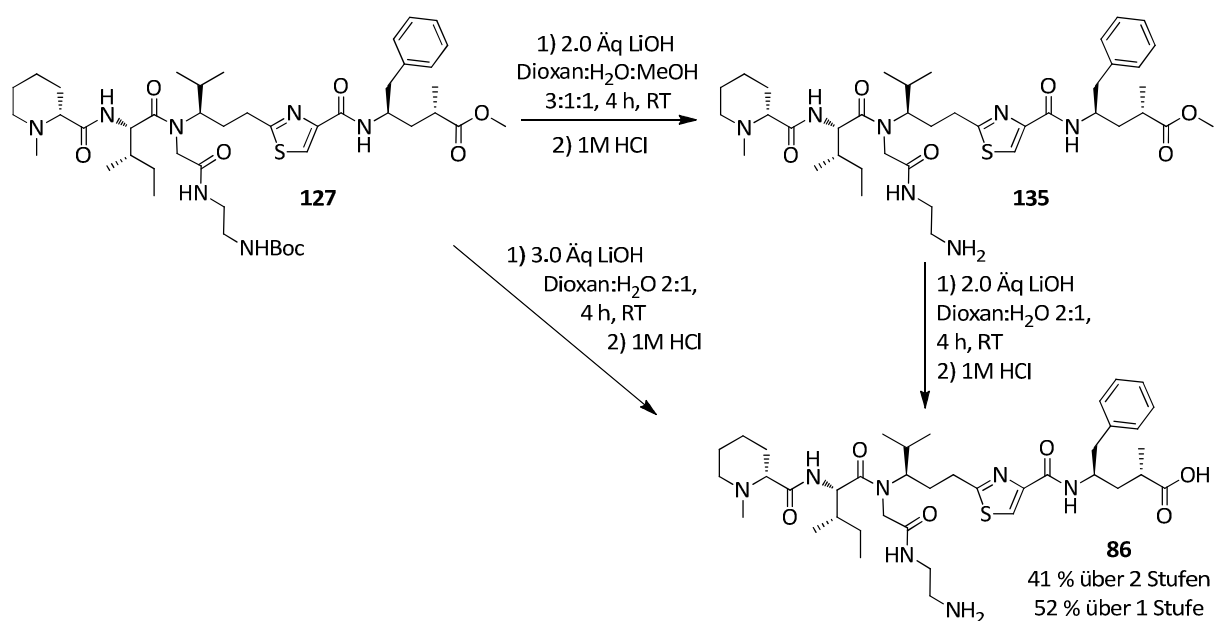


Schema 3-59 Ester-Verseifung und *tert*-Butylester-Abspaltung zu Referenzsubstanz **85**.

Analog dazu wurde im zweiten Fall das Prä tubugi-Produkt **127** mit 2.0 Äquivalenten Lithiumhydroxid versetzt, auch hier wurde Dioxan/Wasser/Methanol als Lösungsmittel-Gemisch verwendet (Schema 3-60). Nach vier Stunden zeigte HPLC/MS-Analyse, dass der Methylester vollständig verseift worden war. Daher wurde mit 1M HCl angesäuert und das Produkt *Reversed-*

3. Ergebnisse und Diskussion

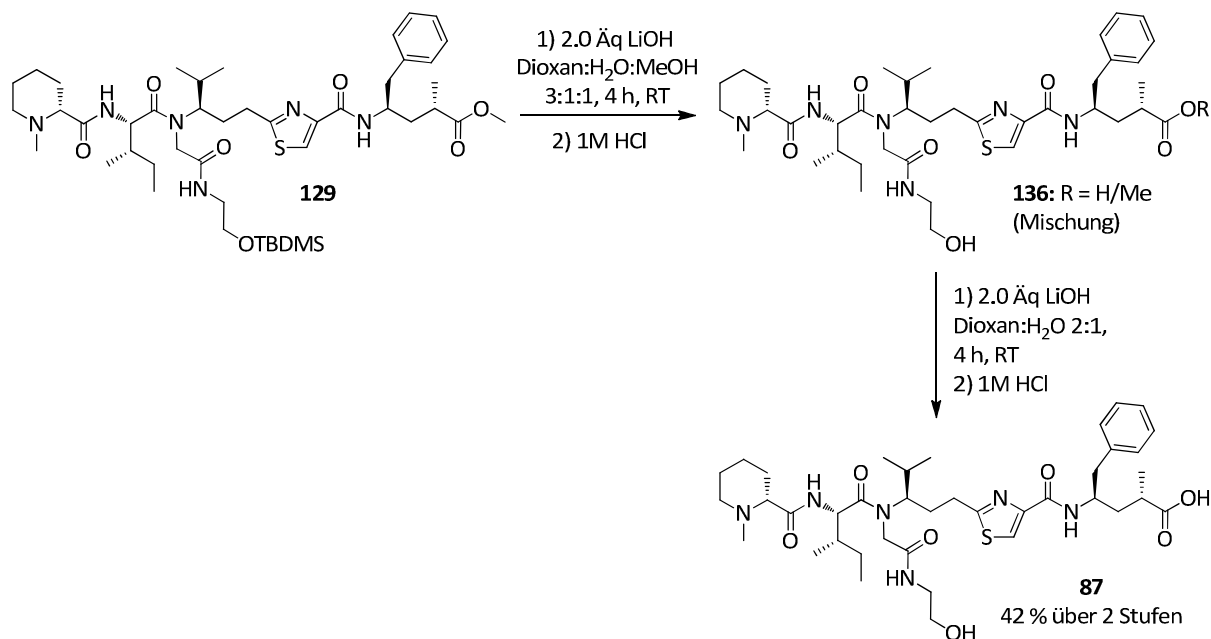
Phase säulenchromatographisch gereinigt. Zunächst war es verwunderlich, dass sowohl NMR als auch erneute HPLC/MS-Analyse deutlich zeigten, dass der Methylester noch bzw. wieder detektierbar war. Dies konnte nur bedeuten, dass beim Ansäuern der Reaktionsmischung die entstandene Säure mit Methanol, welcher in großem Überschuss vorlag, unter Protonen-Katalyse den Methylester rückgebildet hatte. Daher wurde der Methylester **135** einer weiteren Verseifung unterworfen, diesmal ohne Methanol als Lösungsmittel. Nach vier Stunden bei Raumtemperatur, Ansäuern und Chromatographie konnte diesmal die gewünschte, vollständig entschützte Referenzsubstanz **86** isoliert werden. Auch der Versuch, das Prätubugi-Produkt **127** in Dioxan/Wasser direkt zur Verbindung **86** umzusetzen, war erfolgreich. Die isolierte Ausbeute nach der Chromatographie betrug 52 %, über die „zweistufige“ Route wurden 41 % erhalten.



Schema 3-60 Ester-Verseifung und Boc-Abspaltung zu Referenzsubstanz **86**.

Das Problem, dass sich unter Säure-Katalyse der Methylester rückbildete, trat auch im Fall des Prätubugi-Derivats **129** auf, wie in Schema 3-61 zu sehen ist. Obwohl dies bereits vermutet werden konnte, wurde die Verseifung zunächst trotzdem in Anwesenheit von Methanol durchgeführt. Im vorangegangenen Beispiel konnte der Methylester **135** (siehe Schema 3-60) recht sauber isoliert werden und sollte zusätzlich zu den vollständig entschützten Prätubugis in den biologischen Tests auf Cytotoxizität getestet werden. Aus bisherigen Messungen, die im Arbeitskreis Müller (Universität des Saarlandes, HIPS) durchgeführt wurden, lässt sich ableiten, dass die Methylester gegenüber den entsprechenden freien Säuren etwa um den Faktor zwei inaktiver sind.^[178] Dies könnte durch den Vergleich des Methylesters **135** mit der freien Säure **86** in einem weiteren Beispiel bestätigt werden. Im Fall der Verseifung und TBDMS-Entschützung der Verbindung **129** (Schema 3-61) verlief die Reaktion zunächst analog, die Verseifung lief vollständig ab und durch Ansäuern konnte die TBDMS-Schutzgruppe des Alkohols abgespalten werden. Die säurekatalysierte Rückbildung des Methylesters war jedoch nicht vollständig, sodass lediglich eine Mischung aus Methylester und Säure (**136**) isoliert werden konnte. Diese Mischung wurde daher einer weiteren Verseifung unterzogen und lieferte schließlich die Referenzsubstanz **87** mit einer Ausbeute von 42 % über zwei Stufen in Form ihres Formiat-Salzes.

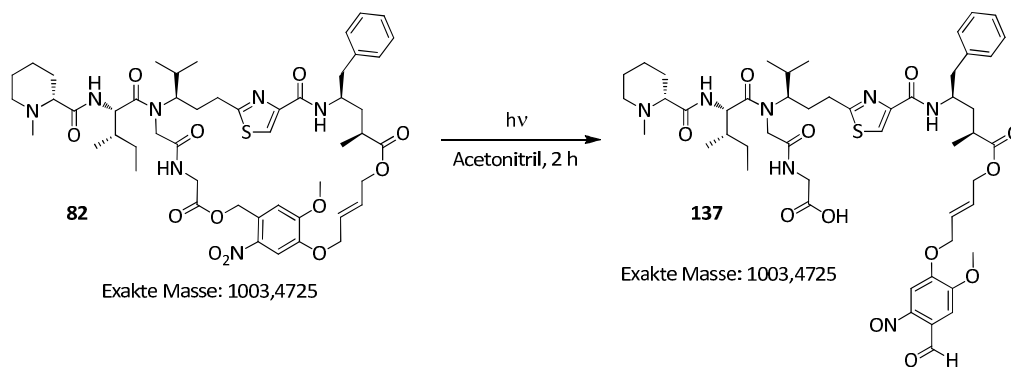
3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 3-61 Ester-Verseifung und TBDMS-Entschützung zu Referenzsubstanz **87**.

3.2.6 Belichtung

Zum Abschluss sollte nachgewiesen werden, dass die cyclisierten, photolabil geschützten Prätabugi-Derivate wirklich photolabil sind. Dazu wurde das Ester-gebundene Derivat **82** ausgewählt, in Acetonitril gelöst (ca. 0.5 mg/ml) und zwei Stunden mit der bereits zuvor verwendeten UV-LED (vgl. Kapitel 3.1.6) belichtet. Die Reaktionslösung wurde mittels HPLC/MS vermessen. Erwartet wurden zwei Peaks, ein Edukt-Peak der Masse 1003.47 und ein Produkt-Peak derselben Masse. Schema 3-62 zeigt den Fall, wenn die Belichtung nach dem literaturbekannten Mechanismus (vgl. Kapitel 2.2.1) abläuft und keine anderen Nebenreaktionen eingeht. Tatsächlich waren neben Spuren von Edukt mehrere Produkt-Peaks detektierbar, von denen der intensivste das in Abbildung 3-19 abgebildete Spektrum aufwies. Neben der Masse des Produkts (m/z 503, $[MH_2]^{2+}$) wurden auch andere Massen gefunden. Das m/z -Verhältnis von 496 entspricht der Reduktion der Nitroso-Gruppe zum Amin, also $[MH_2-14]^{2+}$. Dies steht im Einklang mit dem typischen Ionisierungsmuster für aromatische Nitrosoverbindungen, welches von SHANNON *et al.* bereits 1979 beschrieben wurde.^[179] Weitere m/z -Verhältnisse konnten ebenfalls zugeordnet werden: m/z 974 entspricht $[MH-NO]^+$, 488 entspricht $[MH_2-NO]^{2+}$, m/z 511 entspricht $[MH_2+O]^{2+}$ und m/z 519 entspricht $[MH_2+2O]^{2+}$. Die Abspaltung der Schutzgruppe konnte demnach eindeutig nachgewiesen werden.



Schema 3-62 Ringöffnung des cyclischen Prätabulysins **82** durch Belichtung.

3. Ergebnisse und Diskussion

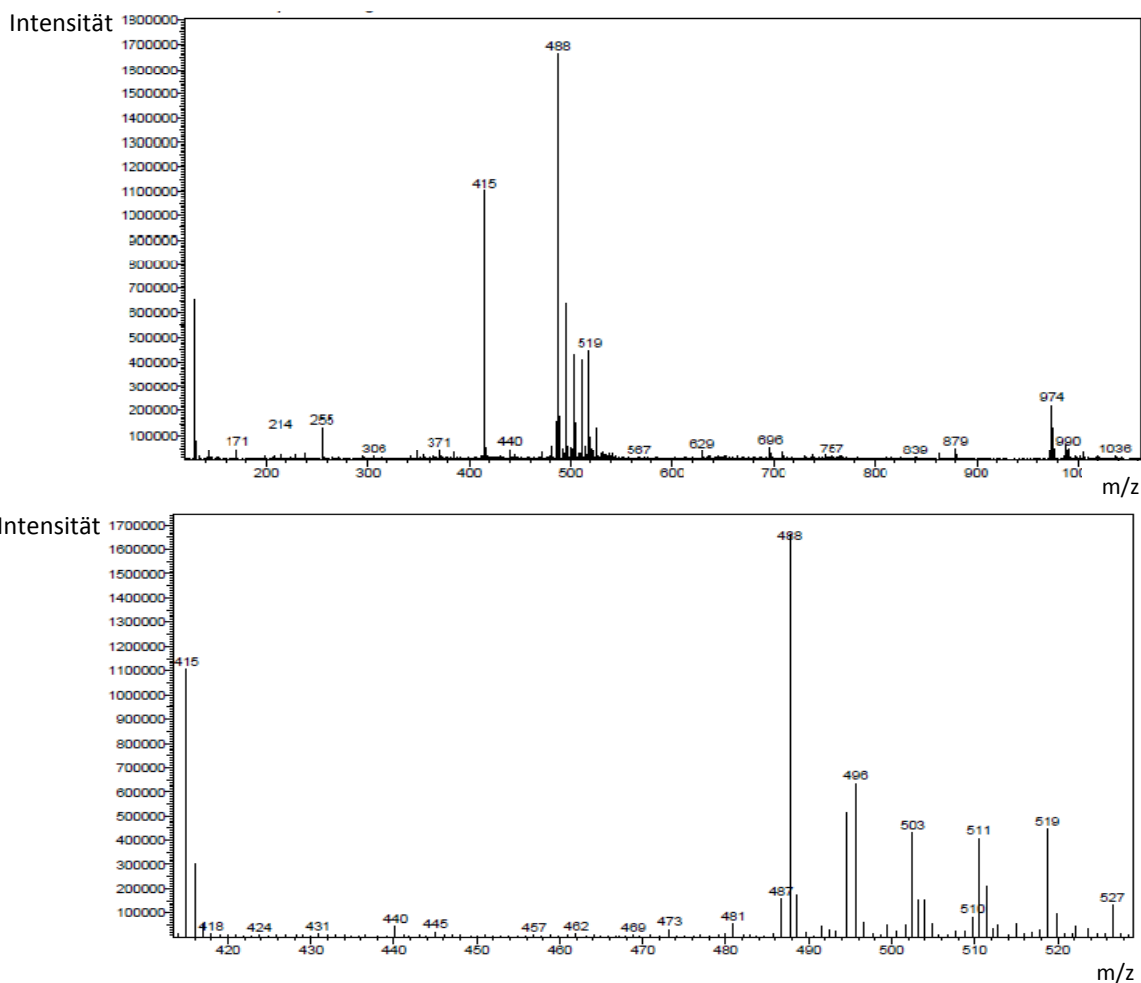


Abbildung 3-19 Belichtung von **82**: Massenspektrum bei $t = 5.4$ min (oben), interessanter Massenbereich vergrößert (unten).

3.2.7 Biologische Evaluierung

Die zuvor synthetisierten Prätubulysin-Derivate („Prätubugis“) sollten nun also auf ihre Cytotoxizität getestet werden. Dafür wurden zwei Zelllinien herangezogen: die humane Kolonkarzinom Zelllinie HCT-116 und die Ovarzelllinie CHO-K1. Mit den in Abbildung 3-20 gezeigten Verbindungen wurde ein MTT-Assay durchgeführt, mit dessen Hilfe durch einfache Absorptionsmessung des Zelllysats die Stoffwechselaktivität einer Zelle gemessen werden kann.^[180,181] Dabei wird die Zelle mit dem Wirkstoff und MTT (gelb, wasserlöslich) inkubiert. MTT wird von der Zelle NADH-abhängig zu Formazan reduziert, welches violett und wasserunlöslich ist. Nach Lyse der Zelle und Zugabe von *iso*-Propanol wird die Absorption bei 570 nm photometrisch gemessen. Diese ist direkt proportional zur Stoffwechselaktivität und damit zur Zahl der noch lebenden Zellen. Die Bestimmung der biologischen Aktivitäten wurde von Viktoria Schmitt und Jennifer Herrmann am Institut für Pharmazeutische Biotechnologie der Universität des Saarlandes bzw. am Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) durchgeführt.

Von Interesse sollte unter anderem der Vergleich der Aktivitäten der cyclischen Derivate (**82**, **83** und **84**) mit den Aktivitäten der vollständig entschützten Referenzsubstanzen (**85**, **86** und **87**) sein, da die Paarungen cyclisches Derivat – entschützte Referenzsubstanz mögliche Kandidaten für eine photoinduzierte Aktivierung der Prätubulysin-Derivate in den Zellen sind. Außerdem sollten zum ersten Mal Aktivitäten von Prätubulysin-Derivaten mit funktionalisierten Seitenketten gemessen werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

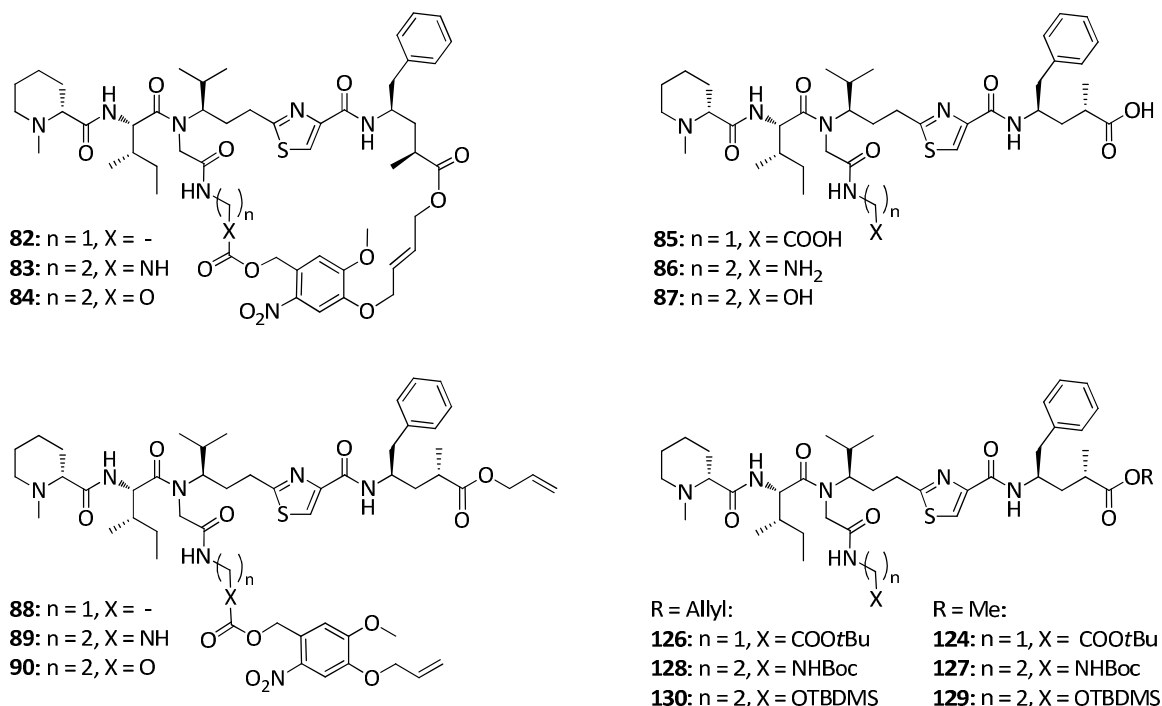
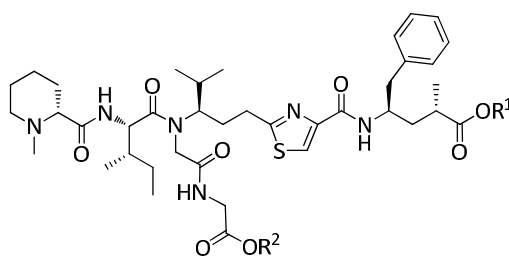


Abbildung 3-20 Übersicht über die zu testenden Verbindungen, alle liegen als Formiat-Salze vor.

Die Ergebnisse der MTT-Assays wurden zur besseren Übersicht in drei Blöcke geteilt. Testreihe A fasst die Ergebnisse der Messungen aller eine Carboxylat-Seitenkette enthaltenden Verbindungen zusammen, Testreihe B die Amin-haltigen und Testreihe C die Alkohol-Derivate. Die Werte, die aus der Messung der HCT-Zelllinie stammen, sind jeweils schwarz, die Ergebnisse der CHO-K1-Zelllinie rot dargestellt. Die Verbindungen lagen in den meisten Fällen als Formiat-Salze vor, da sie zuvor *Reversed-Phase* säulenchromatographisch aufgereinigt wurden (siehe Kapitel 3.2.3–3.2.5).

a) Testreihe A: Carboxylat als Seitenkette

Tabelle 3-14 IC₅₀-Werte [µg/ml] aus MTT-Assay, HCT-116 Zelllinie (schwarz) und CHO-K1 Zelllinie (rot).



R ¹ \ R ²	H	tBu	AMNB	cyclo-AMNB
Allyl	–	0.091 (126)	0.69 (88)	0.063 (82)
Me	–	0.058 (124)	–	–
H	0.58 / 0.64 (85)	–	–	–

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Aktivitäten der Carboxylat-basierten Prä-tubulysin-Derivate liegen, wie aus Tabelle 3-14 ersichtlich ist, im nanomolaren Bereich (0.058–0.69 $\mu\text{g/ml}$). Allylester **126** ist etwa um den Faktor zwei inaktiver als der Methylester **124**, was sich mit bisherigen Messergebnissen deckt.^[178] Interessant und gleichermaßen verwunderlich ist die Beobachtung, dass durch Anfügen eines sehr großen Rests an die Seitenkette, wie bei AMNB-Verbindung **88**, die Aktivität zwar um den Faktor 10 sinkt, aber trotzdem noch recht hoch ist. Noch erstaunlicher ist jedoch, dass die Aktivität nach Cyclisierung dieser Verbindung wieder um den Faktor 10 auf 0.063 $\mu\text{g/ml}$ steigt (**82**). Dies kann nur bedeuten, dass die cyclische Verbindung **82** durch den Ringschluss in einer Konformation fixiert wird, die ideal für die Bindung an den Rezeptor zu sein scheint. CARLOMAGNO *et al.* beschrieben im Jahr 2010 die Struktur von Tubulin-gebundenem Tubulysin (vgl. Abbildung 3-21).^[182] Hierbei ist deutlich zu erkennen, dass sich sowohl bei der Konformation des freien Tubulysins (B) als auch bei der Tubulin-gebundenen Verbindung (A) die Seitenkette und der C-Terminus sehr nahe kommen (gestrichelt umkreist). Dazu passt nun unsere Beobachtung, dass die cyclisierte Verbindung **82** nichts an Aktivität einbüßt, da sie durch die Cyclisierung in einer Konformation gehalten wird, bei der Seitenkette und C-Terminus in die gleiche Richtung weisen und sich nahe stehen.

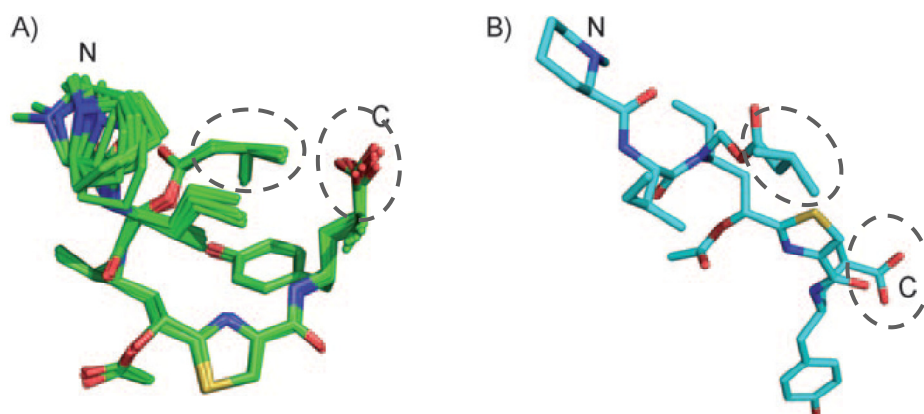
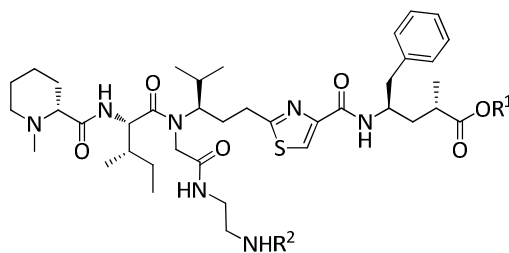


Abbildung 3-21 Konformation von A) Tubulin-gebundenem Tubulysin A (Überblendung der zwölf besten NMR-Strukturen) und B) freiem Tubulysin A (Farbcode: blau = N, rot = O, gelb = S und grün/cyan = C).^[182]

Weiterhin kann aus den Messergebnissen in Tabelle 3-14 herausgelesen werden, dass sich eine freie Säuregruppe in der Seitenkette ungünstig auf die Aktivität auswirkt und daher nicht die funktionelle Gruppe der Wahl ist, wenn es darum geht, eine photolabile Schutzgruppe anzuhängen (vgl. vollständig entschützte Verbindung **85**, 0.58 $\mu\text{g/ml}$). Ziel des Konzepts ist es, dass die Verbindung nach Cyclisierung deutlich inaktiver ist und erst durch Belichtung und dadurch induzierter Ringöffnung in die aktive Form überführt wird. Im Fall der Carboxylat-basierten Derivate ist die cyclische Verbindung **82** um den Faktor 10 aktiver als die Referenzsubstanz **85**, daher eignet sich dieses Verbindungspaar nicht als *proof-of-concept* für die Aktivierung der cyclischen Verbindung durch Belichtung in den Zellen.

In den nächsten beiden Testreihen sollten nun die Amin- und Alkohol-basierten Prä-tubulysin-Derivate untersucht werden. Sollte auch hier die Cyclisierung eine Steigerung der Aktivität bewirken, würde dies die These stützen, dass die ringgeschlossenen Verbindungen in einer für die Rezeptorbindung günstigen Konformation vorliegen. Außerdem sollte ersichtlich werden, ob freies Amin und freier Alkohol in der Seitenkette besser toleriert werden als eine Säuregruppe.

b) Testreihe B: Amin als Seitenkette

Tabelle 3-15 IC₅₀-Werte [$\mu\text{g/ml}$] aus MTT-Assay, HCT-116 Zelllinie (schwarz) und CHO-K1 Zelllinie (rot).

R ¹ \ R ²	H	Boc	AMNB	cyclo-AMNB
Allyl	–	1.66 (128)	1.49 (89)	0.57 / 4.54 (83)
Me	0.40 / 3.33 (135)	0.64 (127)	–	–
H	2.12 / 6.34 (86)	1.06 / 5.43 (138)	–	–

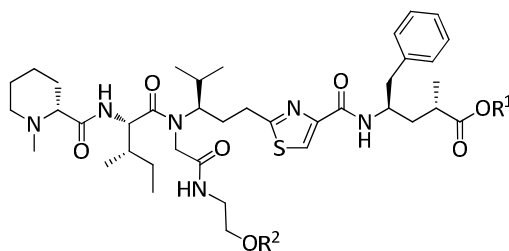
Die in Tabelle 3-15 aufgeführten Messwerte für die Amin-haltigen Prätabulysin-Derivate lassen bereits auf den ersten Blick erkennen, dass die Aktivitäten insgesamt etwa um den Faktor 5–10 schlechter sind als die Aktivitäten der Carboxylat-basierten Derivate (vgl. Tabelle 3-15). Die relativen Verhältnisse der Aktivitäten der Verbindungen untereinander sind jedoch etwa gleich. Auch hier ist der Allylester (**128**) um den Faktor 2 weniger aktiv als der Methylester (**127**). Die Cyclisierung der AMNB-Verbindung **89** (1.49 $\mu\text{g/ml}$) bringt wie bereits zuvor beschrieben einen Aktivitätsgewinn mit sich (**83**, 0.57 $\mu\text{g/ml}$). Dies bestätigt die Annahme, dass durch die Schließung des Rings eine Vorzugskonformation eingenommen wird, die eine Rezeptorbindung begünstigt.

Weiterhin fällt auf, dass die Werte für die Derivate mit freiem Amin ($R^2 = \text{H}$, **135** und **86**) recht hoch sind. Eine Seitenkette mit Protonen-Akzeptor scheint sich also ebenso wie eine Seitenkette mit Protonen-Donor ungünstig auf die Aktivität auszuwirken. Auch ist die vollständig entschützte Referenzsubstanz **86** inaktiver als die cyclische Verbindung **83**, sodass auch diese Paarung nicht zum *proof-of-concept* herangezogen werden kann. Interessant ist jedoch die Tatsache, dass beim Vergleich der freien Säuren ($R^1 = \text{H}$) mit den Methylestern ($R^1 = \text{Me}$) sowohl für die freie Amine (**135** und **86**) als auch für die Boc-geschützten Verbindungen (**127** und **138**) die Methylester jeweils aktiver sind. Dies steht im Gegensatz zu bisherigen Messergebnissen, da die freien Säuren immer etwa um den Faktor 2 aktiver waren als die Methylester.^[178] Für die Carboxylat-basierten Verbindungen (Testreihe A) wurden keine solchen Paare synthetisiert, sodass keine entsprechenden Messwerte vorliegen. Bei den Alkohol-Derivaten (Testreihe C) gibt es jedoch ein solches Paar aus freier Säure und Methylester, deren Vergleich die eben beschriebene Beobachtung bestätigen könnte.

3. Ergebnisse und Diskussion

c) Testreihe C: Alkohol als Seitenkette

Tabelle 3-16 IC₅₀-Werte [µg/ml] aus MTT-Assay, HCT-116 Zelllinie (schwarz) und CHO-K1 Zelllinie (rot).



R ¹ \ R ²	H	TBDMS	AMNB	cyclo-AMNB
Allyl	–	0.43 (130)	0.53 (90)	0.12 / 0.35 (84)
Me	< 0.001 / 0.06 (R ¹ = H/Me, 136)	0.22 (129)	–	–
H	0.02 / 0.10 (87)	–	–	–

Die höchsten Aktivitäten und damit besten Ergebnisse lieferten die in Tabelle 3-16 beschriebenen Alkohol-haltigen Prätubulysin-Derivate. Auch hier sind die Aktivitätstendenzen wie bereits oben beschrieben zu erkennen: Allylester **130** ist um den Faktor 2 inaktiver als Methylester **129** und die AMNB-geschützte Verbindung **90** ist inaktiver als das cyclisierte Derivat **84**, was die Annahme nun endgültig bestätigen dürfte, dass die Cyclisierung eine für die Rezeptorbindung günstige Konformation stabilisiert. Ein Unterschied liegt jedoch in der Aktivität der vollständig entschützten Referenzsubstanz **87**. Diese ist mit 0.02 µg/ml deutlich aktiver als die cyclische Verbindung **84** (0.12 µg/ml), sodass dieses Verbindungspaar zum *proof-of-concept*, der Aktivierung der cyclischen Verbindung durch Belichtung in den Zellen, herangezogen werden könnte.

Bei den Amin-haltigen Derivaten (Testreihe B) wurde die ungewöhnliche Beobachtung gemacht, dass die Methylester (R¹ = Me) aktiver sind als die freien Säuren (R¹ = H). Dies konnte sich hier anhand eines Verbindungspaares (**136/87**) ebenfalls bestätigen. Aufgrund der in Kapitel 3.2.5 beschriebenen Umstände konnte Verbindung **136** nur als Gemisch aus freier Säure und Methylester isoliert werden. Trotzdem ist der Effekt sehr deutlich sichtbar. Die Säure **87** ist mit einer Aktivität von 0.02 µg/ml weniger aktiv als die Mischung **136** (< 0.001 µg/ml). Der Wert liegt am Rand des Messbereichs und muss durch weitere Tests bestätigt werden. Er gibt aber in Verbindung mit den Ergebnissen der Amin-Testreihe einen klaren Hinweis darauf, dass sich bei Vorhandensein einer längeren Seitenkette mit funktioneller Gruppe möglicherweise der Methylester am C-Terminus positiv auf die Aktivität auswirkt. Die Gründe dafür sind noch völlig unklar und müssen durch weitere Untersuchungen ermittelt werden.

4. Experimenteller Teil

4.1 Allgemeine Angaben

HPLC (High Performance Liquid Chromatography):

Die HPLC-Experimente wurden auf den folgenden HPLC-Systemen durchgeführt:

a) *Reversed Phase*: Shimadzu System, Pumpe LC-10AT, Controller SCL-10A, Diodenarray Detektor SPD-M10A, Auswertung mit Shimadzu ClassVP 6.14SP2A

Säule: Phenomenex Luna 3 μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm.

b) *Normalphase*: Merck Hitachi La Chrome Model D-7000, Pump L7100, Autosampler L-7200, Diodenarray Detektor L-7455, Auswertung mit Merck-Hitachi Chromatography Data Station Software
Säulen: Kieselgelsäulen, LiChrosorb Si 60-5 μ , 250 x 4 mm; Reprosil 100 Chiral-NR 8 μ m, 250 x 4.6 mm; Chiralcel OD-H.

Dünnschichtchromatographie:

Zur Reaktionsverfolgung wurden folgende Dünnschichtchromatographie-Platten verwendet: Silica gel TLC-PET foils (mit Fluoreszenz-Indikator 254 nm), Schichtdicke: 0.25 mm, 60 Å, 4 x 8 cm von Sigma Aldrich. Zur Anfärbung der DC-Platten wurden Kaliumpermanganatlösung, Ninhydrin-Anfärbereagenz oder Ioddampf verwendet.

Zur *Säulenchromatographie* wurden mit Kieselgel 60 (35-70 μ m) des Zentralen Chemikalienlagers gepackte Säulen verwendet.

Alternativ wurde ein *Flash*-Chromatographie-System der Firma Grace Discovery (Reveleris™) verwendet. Die Säulen waren trocken mit Kieselgel gepackt (4 g, 12 g, 24 g SiO₂) und wurden nach jedem Säulvorgang gespült und getrocknet. Die zu reinigenden Produkte/Produktmischungen wurden zuvor im Vakuum auf Isolute (Kieselgur, HM-N1000, Biotage®) aufgezogen.

Belichtung

a) *mittels Quecksilberdampfampe:*

Die Belichtungen mit der Quecksilberdampfampe (Heraeus Noblelight Hg medium pressure lamp DAP-PL-3150.00, 2.20 A, 87.6 V, 166.5 W) wurden mit einer Belichtungsapparatur des Arbeitskreises Kazmaier, Modell „Made in Uni Saarbrügge“, mit integrierter Wasserkühlung bei 31–37 °C, durchgeführt.

b) *mittels UV-LED:*

UV-LED Lampe der Firma MR Chemie Unna (MR365PL), 9 x 365 nm, ca. 50 W/m².

NMR (Nuclear Magnetic Resonance):

Die ¹H-NMR-Spektren wurden mit einem Kernresonanzspektrometer der Firma Bruker, Modell AV 400 UltraShield Plus, 400 MHz, aufgenommen. Zur Auswertung der Spektren wurde die Software MestReC, Version 4.9.9.6 herangezogen. Die Abkürzungen bedeuten: s = Singulett, d = Duplett, t = Triplett, q = Quartett, dd = Duplett von Dupletts, dt = Duplett von Triplets, ddt = Duplett von Dupletts von Triplets etc., bs = breites Singulett, m = Multiplett, sh = Signalhaufen, dm = Duplettkopplung im Multiplett erkennbar etc. *c* = *cis*, *t* = *trans*. Die chemischen Verschiebungen (δ -Werte) sind in ppm angegeben.

4. Experimenteller Teil

Die ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem Kernresonanzspektrometer der Firma Bruker, Modell AV 400 UltraShield Plus, 100 MHz, aufgenommen. Zur Auswertung der Spektren wurde die Software MestReC, Version 4.9.9.6 herangezogen. Die Abkürzungen bedeuten: s = Singulett (quartäres C), d = Duplett (CH-Gruppe), t = Triplett (CH₂-Gruppe), q = Quartett (CH₃-Gruppe).

Elementaranalyse (CHN-Messungen):

Elementaranalysen wurden an der Fakultät 8.1, Fachbereich Chemie der Universität des Saarlandes von Frau Susanne Harling auf der Anlage CHN-900 der Firma Leco durchgeführt.

Massenspektrometrie (High Resolution Mass Spectrometry, HRMS):

Die Massenspektren wurden am Institut für organische Chemie der Universität des Saarlandes von Herrn Rudi Thomes auf dem Massenspektrometer MAT 90 der Firma Finnigan aufgenommen. Die Fragmentierung erfolgte über chemische Ionisation (CI) oder durch Elektronenstoßionisation (EI).

Gefriertrocknung:

Zur Gefriertrocknung wurde ein System der Firma Christ verwendet (α 1-2 LD+) in Kombination mit einer Vakuumpumpe der Firma Vakubrand.

Lösungsmittel wurden aus dem Zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen und ggf. destilliert.

Wasserfreie Lösungsmittel wurden aus den ungetrockneten Lösungsmitteln nach üblichen Verfahren hergestellt und unter Stickstoff gelagert oder aus dem Zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen.

Reagenzien stammen aus dem Bestand des Arbeitskreises Kazmaier oder wurden vom Zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen und ggf. destillativ aufgereinigt.

4.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

Anmerkung: Wurden bei einer Reaktion absolute Lösungsmittel verwendet, so wurde die Reaktionsapparatur zuvor im Hochvakuum ausgeheizt und die Reaktion wurde bis zur Aufarbeitung unter Stickstoff durchgeführt.

AAV1: TBTU-Peptidknüpfung

1.0 Äq der Säure, 1.0 Äq des Nucleophils (Alkohol, freies Amin oder Amin als Hydrochlorid-Salz), 0.3–0.5 Äq DMAP und 2.0–3.0 Äq DIPEA wurden in *abs.* Dichlormethan (x ml) gelöst. Bei 0 °C wurden 1.3–1.7 Äq TBTU zugegeben und die Lösung wurde bis zum vollständigen Umsatz (DC-Reaktionskontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde bis zum vollständigen Ausfällen des Feststoffs (DIPEA·HCl) 1M HCl zugegeben, dreimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Rohprodukt auf *Isolute* aufgezogen und säulenchromatographisch (PE:EE) aufgereinigt.

AAV2: Boc-Entschützung

Eine Lösung aus 1.0 Äq der Boc-geschützten Substanz in Dichlormethan (x ml) wurde versetzt mit

a) 0.5x ml/12.0 Äq Trifluoressigsäure oder

b) 10.0 Äq HCl (4M in Dioxan).

Nach beendeter Reaktion (DC-Reaktionskontrolle) wurde die Lösung eingeeengt und das erhaltene TFA- oder HCl-Salz wurde ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Sollte das freie Amin isoliert werden, wurde alternativ dazu die Reaktionsmischung mit ges. NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels konnte das gewünschte freie Amin erhalten werden.

AAV3: Acylierung

Zu einer Lösung aus 1.0 Äq des Amins (oder Amin-Hydrochlorids) in x ml *abs.* THF wurden bei Raumtemperatur 1.0–4.0 Äq *abs.* Pyridin und 0.0–0.5 Äq DMAP gegeben. Eine Lösung aus 1.0–1.3 Äq Chloroformiat **2** in x ml *abs.* THF wurde langsam zugetropft und die Reaktionsmischung wurde bis zum vollständigen Umsatz (DC-Reaktionskontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde mit 1M HCl gequench und dreimal mit Dichlormethan oder Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Rohprodukt auf *Isolute* aufgezogen und säulenchromatographisch (PE:EE) aufgereinigt.

AAV4: Metathese

Zu einer refluxierenden Lösung aus 0.1 Äq Grubbs II in *abs.* Dichlormethan (x–2x ml) wurde eine Lösung aus 1.0 Äq des Diallylsubstrats in *abs.* Dichlormethan (10x ml) sehr langsam zugetropft. Im Fall der Cyclisierung der Prätubugis wurden zur Diallylsubstratlösung 5.0 Äq HCl (4M in Dioxan) in einer Portion zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde bis zum vollständigen Umsatz refluxiert (DC- oder HPLC/MS-Reaktionskontrolle). Die Lösung wurde eingeeengt und auf *Isolute* aufgezogen. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte entweder *via* Normalphase (zuerst PE:EE, danach DCM:DCM/MeOH (9/1)) oder *via* Umkehrphase (ACN:H₂O+0.1%HCOOH).

AAV5: Katalytische Hydrierung

1.0 Äq des zu hydrierenden Substrats wurden in x ml Methanol gelöst und unter Stickstoffatmosphäre mit 0.02 Äq Pd/C (10%) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Hilfe einer Hydrierapparatur oder mit einem mit Wasserstoffgas gefüllten Ballon bis zum vollständigen Umsatz hydriert. Der Katalysator wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat wurde eingeeengt. Das Rohprodukt wurde entweder sofort in die nächste Synthesestufe eingesetzt oder säulenchromatographisch (PE:EE oder DCM:DCM/MeOH (9/1)) aufgereinigt.

AAV6: Ugi-Reaktion

Zu einer Lösung aus 1.0 Äq Amin und 1.0 Äq Aldehyd in *abs.* Dichlormethan (x ml) wurden 1.15 Äq Säure zugegeben und anschließend 1.0 Äq Isonitril in *abs.* Dichlormethan (x ml) zugetropft. Nachdem DC- oder HPLC/MS-Reaktionskontrolle vollständigen Umsatz zeigte, wurde die Reaktionslösung eingeeengt und auf *Isolute* aufgezogen. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte entweder *via* Normalphase (PE:EE oder DCM:DCM/MeOH (9/1)) oder *via* Umkehrphase (ACN:H₂O +0.1%HCOOH).

4. Experimenteller Teil

AAV7: Verseifung

1.0 Äq des Esters wurden in einem Lösungsmittelgemisch aus 3x ml Dioxan/x ml Wasser/x ml Methanol mit 3.0 Äq Lithiumhydroxid (56 %) bei Raumtemperatur verseift. Sobald DC-Reaktionskontrolle vollständigen Umsatz zeigte, wurde mit 1M HCl angesäuert, bis der sich bildende Niederschlag sich nicht mehr auflöste und die Reaktionsmischung milchig trüb blieb. Waschen der organischen Phase mit ges. NaHCO₃-Lösung, ges. NaCl-Lösung, Trocknen über Na₂SO₄ und Abrotieren des Lösungsmittels lieferten die gewünschte Säure, die in der Regel als Rohprodukt weiter umgesetzt wurde.

AAV8: Isonitril-Synthese

1.0 Äq der *N*-Formyl-Komponente wurden in *abs.* Dichlormethan (x ml) gelöst und es wurden 3.0 Äq Triethylamin bei Raumtemperatur zugegeben. Nach Kühlen auf 0 °C wurden 1.0 Äq POCl₃ langsam zugetropft und die Reaktionsmischung wurde bis zum vollständigen Umsatz bei 0 °C gerührt. Es wurde mit halbgesättigter Na₂CO₃-Lösung (ca. 5 ml/mmol) gequenchet und jeweils 10 min bei 0 °C und Raumtemperatur nachgerührt. Es wurde mehrmals mit Dichlormethan extrahiert und über Na₂SO₄ getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte entweder *via* Säulenchromatographie (PE:EE oder DCM:DCM/MeOH (9/1)) oder *via* Kugelrohrdestillation.

AAV9: Peptidknüpfung *via* gemischtes Anhydrid

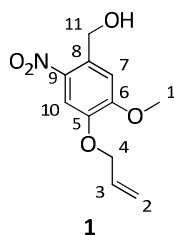
Zu einer 0.1 molaren Lösung aus 1.0 Äq der Säurekomponente in *abs.* THF wurden 1.1 Äq *N*-Methylmorpholin (NMM) getropft. Die Reaktionsmischung wurde auf -20 °C gekühlt und mit 1.1 Äq Chlorameisensäure-*iso*-butylester versetzt. Nach 20 min Rühren bei -20 °C wurden weitere 1.4 Äq NMM und anschließend 1.0 Äq des Amin-Hydrochlorids zugegeben. Die entstandene Suspension wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach beendeter Reaktion (DC-Reaktionskontrolle) mit Wasser gequenchet und Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde nacheinander mit 1M HCl, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde säulenchromatographisch (PE:EE) aufgereinigt.

4.3 Synthese der Verbindungen

4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzylalkohol (AMNBol, **1**)

5.21 g (1.0 Äq, 18.7 mmol) 4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzaldehyd (**4**) wurden in 50 ml Ethanol suspendiert und 1.06 g (1.5 Äq, 28.0 mmol) NaBH₄ wurden bei 0 °C portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Diethylether verdünnt und vorsichtig mit ges. NH₄Cl-Lösung gequenchet. Nach zweimaliger Extraktion mit Diethylether wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (SiO₂, PE:EE 7:3) gereinigt und es konnten 4.09 g (17.1 mmol, 92 %) des Alkohols **1** als gelber Feststoff erhalten werden. Umkristallisation aus Ethanol/Diethylether lieferte gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 112–113 °C.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**1**) = 0.25]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.67 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 4.95 (s, 2H, 11-H), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.17 (s, 1H, 7-H), 7.71 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 56.4 (q, C-1), 62.9 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 110.0 (d, C-10), 111.3 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 132.0 (d, C-3), 132.3 (s, C-8), 139.7 (s, C-9), 146.8 (s, C-5), 154.3 (s, C-6).

HRMS (CI): $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_5$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 239.0794 M_{gef} : 239.0780

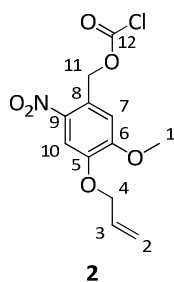
Elementaranalyse:

$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_5$	berechnet	C 55.23	H 5.48	N 5.86
(239.23)	gefunden	C 55.07	H 5.19	N 5.72

4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzylchloroformiat (AMNBOCI, 2)

Zu einer Lösung aus Phosgen (20 % in Toluol, 15.9 ml, 10.0 Äq, 30.1 mmol) wurden 722 mg des Alkohols **1** (1.0 Äq, 3.02 mmol) in *abs.* THF (6.0 ml) getropft und die Reaktionslösung wurde bis zum vollständigen Umsatz (2 h, DC-Reaktionskontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Das überschüssige Phosgen wurde mit Hilfe eines Stickstoffstroms durch die Lösung und anschließend durch zwei Waschflaschen geleitet. Der Stickstoffstrom wurde so lange aufrecht erhalten, bis auch das Lösungsmittel komplett entfernt und die Lösung bis zur Trockne eingedampft war. Das erhaltene Chloroformiat **2** wurde mit quantitativer Ausbeute (908 mg, 3.01 mmol) und mit sehr hoher Reinheit isoliert.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**2**) = 0.55]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.69 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.37 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_t), 5.47 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.72 (s, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.01 (s, 1H, 7-H), 7.76 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 56.5 (q, C-1), 69.8 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 110.1 (d, C-10), 110.7 (d, C-7), 119.3 (t, C-2), 124.3 (s, C-8), 131.7 (d, C-3), 139.7 (s, C-9), 147.8 (s, C-6), 150.3 (s, C-12), 154.1 (s, C-5).

4. Experimenteller Teil

HRMS (CI): C₁₂H₁₂ClNO₆, [M]⁺ M_{ber.}: 301.0353 M_{gef.}: 301.0332

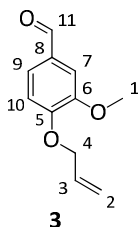
Elementaranalyse:

C ₁₂ H ₁₂ ClNO ₆	berechnet	C 47.78	H 4.01	N 4.64
(301.68)	gefunden	C 48.28	H 3.75	N 4.67

O-Allylvanillin (**3**)

15.2 g (1.0 Äq, 100 mmol) Vanillin, 13.8 g (1.0 Äq, 100 mmol) Kaliumcarbonat und 13.3 g (1.1 Äq, 110 mmol) Allylbromid wurden nacheinander in 50 ml *abs.* Ethanol gelöst bzw. suspendiert und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde über Nacht bei RT gerührt. Die Lösung färbte sich gelblich. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, das Filtrat eingengt, ges. NaCl-Lösung zugegeben und die wässrige Phase viermal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und bei vermindertem Druck eingengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, PE:EE 8:2) wurden 18.84 g (98.0 mmol, 98 %) eines leicht gelblichen Öls (**3**) erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**3**) = 0.45]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.92 (s, 3H, 1-H), 4.69 (ddd, ³J_{4,3} = 5.4 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 5.32 (ddt, ²J_{2t,3} = 10.5 Hz, ³J_{2t,2c} = 1.2 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.42 (ddt, ²J_{2c,3} = 17.3 Hz, ³J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.7 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.96 (m, 1H, 9-H), 7.40–7.42 (sh, 2H, 10-H, 7-H), 9.83 (s, 1H, 11-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.0 (q, C-1), 69.7 (t, C-4), 111.9 (d, C-9), 118.7 (t, C-2), 119.3 (d, C-10), 126.5 (d, C-7), 130.2 (s, C-8), 132.2 (d, C-3), 149.9 (s, C-6), 153.4 (s, C-5), 190.8 (d, C-11).

HRMS (CI): C₁₁H₁₂O₃, [M]⁺ M_{ber.}: 192.0786 M_{gef.}: 192.0796

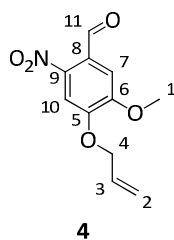
Elementaranalyse:

C ₁₁ H ₁₂ O ₃	berechnet	C 68.74	H 6.29	N -
(192.21)	gefunden	C 68.60	H 6.05	N -

4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzaldehyd (**4**)

Zu einer Lösung aus 253 mg (1.25 Äq, 2.50 mmol) Kaliumnitrat in 3.0 ml Trifluoressigsäure wurden 284 mg (1.0 Äq, 2.00 mmol) O-Allylvanillin (**3**) in 3.0 ml Trifluoressigsäure bei 0 °C langsam zugetropft und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert (200 mbar, 120 °C), der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend eingengt. Das dunkelbraune, ölige Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (SiO₂, Chloroform) aufgereinigt und lieferte 335 mg (1.41 mmol, 71 %) des Produkts **4** als gelben Feststoff sowie 86.4 mg (0.340 mmol, 17 %) des *ipso*-Substitutionsprodukts **5**, ebenfalls als gelben Feststoff, wobei beide Produkte als nicht-trennbare Mischung vorlagen.

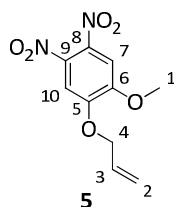
[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**4**) = 0.45, R_f (**5**) = 0.51]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.75 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.43 (ddt, ²J_{2t,3} = 10.5 Hz, ³J_{2t,2c} = 1.2 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.2 Hz, 1H, 2-H_t), 5.54 (ddt, ²J_{2c,3} = 17.3 Hz, ³J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.5 Hz, 1H, 2-H_c), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.7 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.41 (s, 1H, 7-H), 7.61 (s, 1H, 10-H), 10.43 (s, 1H, 11-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.7 (q, C-1), 70.4 (t, C-4), 108.6 (d, C-10), 109.9 (d, C-7), 119.7 (t, C-2), 125.6 (s, C-8), 131.2 (d, C-3), 143.7 (s, C-9), 151.3 (s, C-5), 153.5 (s, C-6), 187.7 (d, C-11).

HRMS (CI): C₁₁H₁₁NO₅, [M]⁺ M_{ber}: 237.0637 M_{gef}: 237.0667



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.63 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.42 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.48 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.04 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.2 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.34 (s, 2H, 7-H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 57.0 (q, C-1), 70.7 (t, C-4), 107.1 (d, C-10), 108.4 (d, C-7), 120.0 (t, C-2), 130.8 (d, C-3), 150.8, 152.2 (2s, C-5, C-6). C-8, C-9 nicht detektierbar

HRMS (CI): C₁₀H₁₁N₂O₆, [M+H]⁺ M_{ber}: 255.0617 M_{gef}: 255.0578

Elementaranalyse (**5**):

C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₆	berechnet	C 47.25	H 3.97	N 11.02
(254.20)	gefunden	C 47.27	H 3.91	N 10.53

Elementaranalyse für die Mischung **4:5** = 81:19

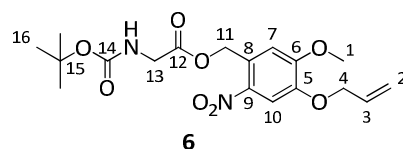
C ₁₁ H ₁₁ NO ₅ / C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₆	berechnet	C 53.91	H 4.52	N 6.99
(237.21/254.20)	gefunden	C 54.19	H 4.40	N 6.68

4. Experimenteller Teil

Boc-Glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**6**)

Gemäß AAV1 wurden 350 mg (1.0 Äq, 2.00 mmol) Boc-Glycin, 478 mg (1.0 Äq, 2.00 mmol) AMNBol (**1**), 73.3 mg (0.3 Äq, 0.600 mmol) DMAP, 0.699 ml (2.0 Äq, 4.00 mmol) DIPEA und 835 mg (1.3 Äq, 2.60 mmol) TBTU in 4.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 755 mg (1.91 mmol, 95 %) des Esters **6** als farbloser Feststoff isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**6**) = 0.44]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H, 16-H), 4.00–4.03 (sh, 5H, 1-H, 13-H), 4.68 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.06 (bs, 1H, NH), 5.36 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.59 (s, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.2 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.02 (s, 1H, 7-H), 7.73 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.3 (q, C-16), 42.5 (t, C-13), 56.6 (q, C-1), 63.9 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.2 (s, C-15), 109.9 (d, C-10), 110.3 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 126.8 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 139.5 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 155.8 (s, C-14), 170.0 (s, C-12).

HRMS (CI): C₁₈H₂₄N₂O₈, [M]⁺ M_{ber.}: 396.1533 M_{gef.}: 396.1528

Elementaranalyse:

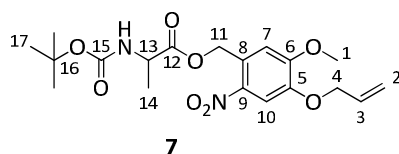
C ₁₈ H ₂₄ N ₂ O ₈	berechnet	C 54.54	H 6.10	N 7.07
(396.39)	gefunden	C 54.94	H 5.83	N 7.09

Boc-(D/L)-Alanin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**7**)

Gemäß AAV1 wurden 189 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Boc-(D/L)-Alanin mit 239 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) AMNBol (**1**), 401 mg (1.25 Äq, 1.25 mmol) TBTU, 67.6 mg (0.5 Äq, 0.500 mmol) DMAP und 0.511 ml (3.0 Äq, 3.00 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, PE:EE 7:3) wurden 379 mg (0.920 mmol, 92 %) eines gelben Feststoffs (**7**) mit einem Schmelzpunkt von 94–95 °C als Racemat erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**7**) = 0.49]

HPLC: Shimadzu, Reprosil, isokratische Trennung, Hex:*i*PrOH = 95:5, 1 ml/min, 5 µl Inj.vol., Detektion bei 243 nm: t_{rE1} = 14.63', t_{rE2} = 15.63'.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9H, 17-H), 1.45 (d, ³J_{14,13} = 7.3 Hz, 3H, 14-H), 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.41 (m, 1H, 13-H), 4.68 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.00 (d, ³J_{NH,13} = 7.0 Hz, 1H, NH), 5.36 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz,

$^2J_{2c,2t} = 1.4$ Hz, $^4J_{2c,4} = 1.4$ Hz, 1H, 2-H_c), 5.59 (m, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.3$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.7$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 7.04 (s, 1H, 7-H), 7.74 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.3$ (q, C-14), 28.3 (q, C-17), 49.4 (d, C-13), 56.6 (q, C-1), 64.0 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.2 (s, C-16), 109.9 (d, C-10), 110.1 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.2 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 155.2 (s, C-15), 171.1 (s, C-12).

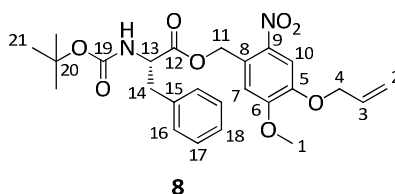
HRMS (CI): $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 410.1689 M_{gef} : 410.1659

Boc-(L)-Phenylalanin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**8**)

Gemäß AAV1 wurden 265 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Boc-(L)-Phenylalanin, 239 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) AMNBol (**1**), 61.1 mg (0.5 Äq, 0.500 mmol) DMAP, 0.349 ml (2.0 Äq, 2.00 mmol) DIPEA und 482 mg (1.5 Äq, 1.50 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) konnten 432 mg (0.890 mmol, 89 %) des Produkts **8** als gelblicher Feststoff vom Schmelzpunkt 104–105 °C erhalten werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**8**) = 0.58]

Opt. Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +17.7$ ($c = 1.0$, CHCl_3).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.39$ (s, 9H, 21-H), 3.12 (m, 2H, 14-H), 3.97 (s, 3H, 1-H), 4.62–4.68 (sh, 3H, 4-H, 13-H), 4.95 (d, $^3J_{\text{NH},13} = 8.1$ Hz, 1H, NH), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.2$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.2$ Hz, 1H, 2-H_t), 5.44–5.63 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.2$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.7$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 6.98 (s, 1H, 7-H), 7.14 (m, 2H, 17-H), 7.21–7.30 (sh, 3H, 16-H, 18-H), 7.73 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.2$ (q, C-21), 38.2 (t, C-14), 54.7 (d, C-13), 56.6 (q, C-1), 63.9 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.2 (s, C-20), 109.8 (d, C-10), 110.6 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.0 (s, C-8), 127.2, 128.7 (2d, C-16, C-18), 129.2 (d, C-17), 131.8 (d, C-3), 135.7 (s, C-15), 147.0 (s, C-9), 154.6 (s, C-6), 171.8 (s, C-12). C-5 und C-19 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 486.2002 M_{gef} : 486.1988

Elementaranalyse:

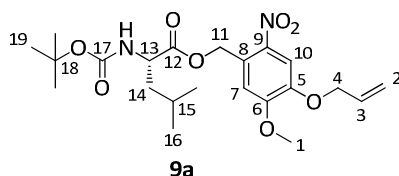
$\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$	berechnet	C 61.72	H 6.22	N 5.76
(486.52)	gefunden	C 61.37	H 6.09	N 5.96

Boc-(L)-Leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**9a**)

Gemäß AAV1 wurden 249 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Boc-(L)-Leucin· H_2O , 239 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) AMNBol (**1**), 61.1 mg (0.5 Äq, 0.500 mmol) DMAP, 0.349 ml (2.0 Äq, 2.00 mmol) DIPEA und 482 mg (1.5 Äq, 1.50 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) konnten 432 mg (0.940 mmol, 94 %) eines orangefarbenen Öls (**9a**) erhalten werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**9a**) = 0.62]

4. Experimenteller Teil



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.96 (d, $^3J_{16,15}$ = 6.4 Hz, 6H, 16-H), 1.41 (s, 9H, 19-H), 1.56–1.76 (sh, 3H, 14-H, 15-H), 4.02 (s, 3H, 1-H), 4.40 (dt, $^3J_{13,\text{NH}}$ = 8.8 Hz, $^3J_{13,14}$ = 5.2 Hz, 1H, 13-H), 4.68 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 4.88 (d, $^3J_{\text{NH},13}$ = 8.4 Hz, 1H, NH), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.68 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.07 (s, 1H, 7-H), 7.73 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 21.8 (q, C-16_a), 22.8 (q, C-16_b), 24.8 (d, C-15), 28.3 (q, C-19), 41.4 (t, C-14), 52.3 (d, C-13), 56.6 (q, C-1), 63.8 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.0 (s, C-18), 109.8 (d, C-10), 109.9 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.4 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.3 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 155.5 (s, C-17), 173.2 (s, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 452.2159 M_{gef} : 452.2160

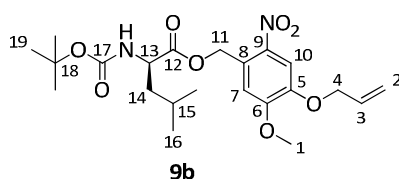
Elementaranalyse:

$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$	berechnet	C 58.39	H 7.13	N 6.19
(452.52)	gefunden	C 58.45	H 7.08	N 6.19

Boc-(D)-Leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (9b)

Gemäß AAV1 wurden 249 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Boc-(D)-Leucin·H₂O, 239 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) AMNBol (**1**), 61.1 mg (0.5 Äq, 0.500 mmol) DMAP, 0.349 ml (2.0 Äq, 2.00 mmol) DIPEA und 482 mg (1.5 Äq, 1.50 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 432 mg (0.910 mmol, 91 %) eines gelben Öls (**9b**) isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**9b**) = 0.60]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.97 (d, $^3J_{16,15}$ = 6.4 Hz, 6H, 16-H), 1.42 (s, 9H, 19-H), 1.52–1.74 (sh, 3H, 14-H, 15-H), 4.02 (s, 3H, 1-H), 4.40 (dt, $^3J_{13,\text{NH}}$ = 8.8 Hz, $^3J_{13,14}$ = 5.2 Hz, 1H, 13-H), 4.68 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 4.88 (d, $^3J_{\text{NH},13}$ = 8.4 Hz, 1H, NH), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.68 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.07 (s, 1H, 7-H), 7.74 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 21.8 (q, C-16_a), 22.8 (q, C-16_b), 24.8 (d, C-15), 28.3 (q, C-19), 41.4 (t, C-14), 52.3 (d, C-13), 56.6 (q, C-1), 63.8 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.0 (s, C-18), 109.8 (d, C-10), 109.9 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.4 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.3 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 155.5 (s, C-17), 173.2 (s, C-12).

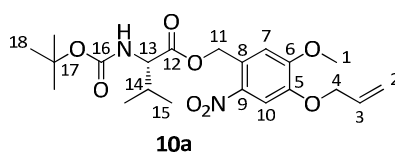
Elementaranalyse:

C ₂₂ H ₃₂ N ₂ O ₈	berechnet	C 58.39	H 7.13	N 6.19
(452.52)	gefunden	C 58.43	H 7.02	N 6.89

Boc-(L)-Valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (10a)

Gemäß AAV1 wurden 326 mg (1.0 Äq, 1.50 mmol) Boc-(L)-Valin mit 359 mg (1.0 Äq, 1.50 mmol) 4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzylalkohol (**1**), 819 mg (1.7 Äq, 2.55 mmol) TBTU, 92.0 mg (0.5 Äq, 0.750 mmol) DMAP und 0.786 ml (3.0 Äq, 4.50 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 593 mg (1.35 mmol, 90 %) des AMNB-Esters **10a** als gelbes Öl erhalten werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**10a**) = 0.58]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.94 (d, ³J_{15a,14} = 6.8 Hz, 3H, 15-H_a), 1.00 (d, ³J_{15b,14} = 6.8 Hz, 3H, 15-H_b), 1.42 (s, 9H, 18-H), 2.17 (m, 1H, 14-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.30 (dd, ³J_{13,NH} = 8.8 Hz, ³J_{13,14} = 5.1 Hz, 1H, 13-H), 4.67 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.00 (d, ³J_{NH,13} = 8.8 Hz, 1H, NH), 5.36 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.58 (m, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.2 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.05 (s, 1H, 7-H), 7.73 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.7 (q, C-15_a), 19.1 (q, C-15_b), 28.3 (q, C-18), 31.0 (d, C-14), 56.6 (q, C-1), 58.9 (d, C-13), 63.7 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.0 (s, C-17), 109.9 (d, C-10), 110.4 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.1 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.5 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 155.8 (s, C-16), 172.1 (s, C-12).

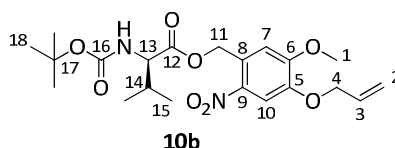
HRMS (CI): C₂₁H₃₀N₂O₈, [M]⁺ M_{ber}: 438.2002 M_{gef}: 438.2003

Boc-(D)-Valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (10b)

Gemäß AAV1 wurden 326 mg (1.0 Äq, 1.50 mmol) Boc-(D)-Valin mit 359 mg (1.0 Äq, 1.50 mmol) des Alkohols **1**, 819 mg (1.7 Äq, 2.55 mmol) TBTU, 92.0 mg (0.5 Äq, 0.750 mmol) DMAP und 0.786 ml (3.0 Äq, 4.50 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 595 mg (1.36 mmol, 90 %) des AMNB-Esters **10b** als gelbes Öl isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**10b**) = 0.57]

HPLC: Merck-Hitachi, OD-H, isokratische Trennung, Hex:*i*PrOH 90:10, 1 ml/min, 5 µl Inj.vol., Detektion bei 243 nm: t_r(**10a**) = 7.55', t_r(**10b**) = 6.95'.



4. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.94$ (d, $^3J_{15a,14} = 6.8$ Hz, 3H, 15- H_a), 1.01 (d, $^3J_{15b,14} = 6.8$ Hz, 3H, 15- H_b), 1.42 (s, 9H, 18-H), 2.18 (m, 1H, 14-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.30 (dd, $^3J_{13,\text{NH}} = 8.8$ Hz, $^3J_{13,14} = 5.1$ Hz, 1H, 13-H), 4.68 (ddd, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, $^4J_{4,2c} = 1.4$ Hz, $^4J_{4,2t} = 1.4$ Hz, 2H, 4-H), 4.99 (d, $^3J_{\text{NH},13} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.3$ Hz, 1H, 2- H_t), 5.46 (ddt, $^3J_{2c,3} = 17.3$ Hz, $^2J_{2c,2t} = 1.4$ Hz, $^4J_{2c,4} = 1.4$ Hz, 1H, 2- H_c), 5.58 (m, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.2$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 7.05 (s, 1H, 7-H), 7.74 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.8$ (q, C-15 $_a$), 19.1 (q, C-15 $_b$), 28.3 (q, C-18), 31.0 (d, C-14), 56.6 (q, C-1), 58.9 (d, C-13), 63.7 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 80.0 (s, C-17), 109.9 (d, C-10), 110.4 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.1 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.6 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 155.8 (s, C-16), 172.1 (s, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 438.2002 M_{gef} : 438.2002

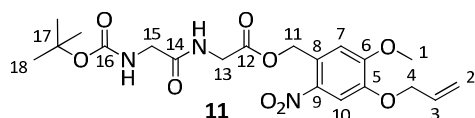
Elementaranalyse:

$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$	berechnet	C 57.52	H 6.90	N 6.39
(438.48)	gefunden	C 57.21	H 6.79	N 6.86

Boc-Glycinyl-glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**11**)

Gemäß AAV1 wurden 464 mg (1.0 Äq, 2.00 mmol) Boc-Glycinyl-glycin mit 478 mg (1.0 Äq, 2.00 mmol) des Alkohols **1**, 835 mg (1.3 Äq, 2.60 mmol) TBTU, 73.3 mg (0.3 Äq, 0.600 mmol) DMAP und 0.699 ml (2.0 Äq, 4.00 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) konnten 834 mg (1.84 mmol, 92 %) des AMNB-Esters **11** als gelbes, kristallisierendes Öl isoliert werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**11**) = 0.12]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.45$ (s, 9H, 18-H), 3.86 (d, $^3J_{15,\text{NH}} = 5.9$ Hz, 2H, 15-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.16 (d, $^3J_{13,\text{NH}} = 5.5$ Hz, 2H, 13-H), 4.68 (ddd, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, $^4J_{4,2c} = 1.4$ Hz, $^4J_{4,2t} = 1.4$ Hz, 2H, 4-H), 5.14 (bs, 1H, NH), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.3$ Hz, 1H, 2- H_t), 5.46 (ddt, $^3J_{2c,3} = 17.3$ Hz, $^2J_{2c,2t} = 1.4$ Hz, $^4J_{2c,4} = 1.4$ Hz, 1H, 2- H_c), 5.58 (s, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.2$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 6.73 (bs, 1H, NH), 7.00 (s, 1H, 7-H), 7.72 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.3$ (q, C-18), 41.3 (t, C-13), 44.2 (t, C-15), 56.6 (q, C-1), 64.1 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 77.2 (s, C-17), 109.9 (d, C-10), 110.5 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 126.4 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 139.6 (s, C-9), 147.2 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 169.2, 170.0 (2s, C-12, C-14). C-16 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_9$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 454.1826 M_{gef} : 454.1840

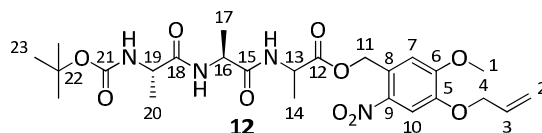
Elementaranalyse:

$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_9$	berechnet	C 52.98	H 6.00	N 9.27
(453.44)	gefunden	C 52.79	H 5.84	N 9.33

Boc-(L)-Alaninyl-(L)-alaninyl-(D/L)-alanin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (12)

Gemäß AAV1 wurden 735 mg (1.0 Äq, 2.22 mmol) Boc-(L)-Ala-(L)-Ala-(L)-Ala-OH, 690 mg (1.3 Äq, 2.88 mmol) AMNBol (1), 135 mg (0.5 Äq, 1.11 mmol) DMAP, 1.16 ml (3.0 Äq, 6.65 mmol) DIPEA und 1.21 g (1.7 Äq, 3.77 mmol) TBTU in 5.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO₂, PE:EE 7:3 -> EE) wurden 1.05 g (1.91 mmol, 86 %) eines gelben, im Hochvakuum schäumenden Harzes (12) als Diastereomerengemisch isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (12) = 0.05]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.34–1.37 (sh, 6H, 14-H/17-H/20-H), 1.40 (s, 9H, 23-H), 1.50 (m, 3H, 14-H/17-H/20-H), 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.10 (m, 1H, 13-H/16-H/19-H), 4.45–4.62 (sh, 2H, 13-H/16-H/19-H), 4.67 (m, 2H, 4-H), 4.06 (m, 1H, NH), 5.35 (m, 1H, 2-H_t), 5.45 (m, 1H, 2-H_c), 5.55 (m, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.3 Hz, 1H, 3-H), 6.71 (m, 1H, NH), 7.00–7.17 (sh, 2H, 7-H, NH), 7.72 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 17.7, 17.7, 17.8 (3q, C-14, C-17, C-20), 48.3, 48.4, 48.4 (3d, C-13, C-16, C-19), 56.6 (q, C-1), 64.1 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 80.1 (s, C-22), 109.9 (d, C-10), 110.4 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 126.6 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.5 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 155.6 (s, C-21), 172.1, 172.7, 172.7 (3s, C-12, C-15, C-18).

HRMS (CI): C₂₅H₃₆N₄O₁₀, [M]⁺ M_{ber}: 552.2431 M_{gef}: 552.2434

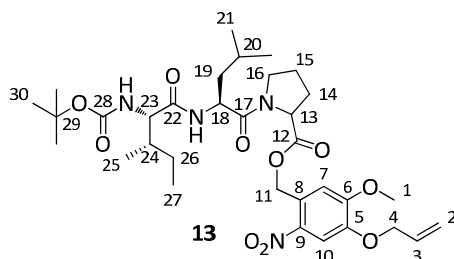
Elementaranalyse:

C ₂₅ H ₃₆ N ₄ O ₁₀	berechnet	C 59.24	H 7.46	N 8.64
(552.57)	gefunden	C 58.49	H 7.22	N 8.12

Boc-(L)-Isoleucinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-prolin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (13)

Gemäß AAV1 wurden 1.31 g (1.0 Äq, 2.96 mmol) Boc-(L)-Ile-(L)-Leu-(L)-Pro-OH, 919 mg (1.3 Äq, 3.84 mmol) AMNBol (1), 181 mg (0.5 Äq, 1.48 mmol) DMAP, 1.55 ml (3.0 Äq, 8.87 mmol) DIPEA und 1.61 g (1.7 Äq, 5.02 mmol) TBTU in 10.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO₂, PE:EE 7:3 -> EE) wurden 1.82 g (2.75 mmol, 93 %) eines gelben, im Hochvakuum schäumenden Harzes (13) als Diastereomerengemisch isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (13) = 0.25]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.88–0.94 (sh, 12H, 21-H, 25-H, 27-H), 1.12 (m, 1H, 26-H_a), 1.43 (s, 9H, 30-H), 1.44–1.49 (sh, 3H, 19-H, 26-H_b), 1.65 (m, 1H, 20-H), 1.84 (m, 1H, 24-H), 2.03–2.14 (sh, 3H, 14-H_a, 15-H), 2.27 (m, 1H, 14-H_b), 3.63 (m, 1H, 16-H_a), 3.81 (m, 1H, 16-H_b), 3.93 (m, 1H, 23-H), 4.05 (s,

4. Experimenteller Teil

3H, 1-H), 4.61 (m, 1H, 13-H), 4.67 (ddd, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, $^4J_{4,2c} = 1.4$ Hz, $^4J_{4,2t} = 1.4$ Hz, 2H, 4-H), 4.79 (td, $^3J_{18,19} = 8.6$ Hz, $^3J_{18,NH} = 5.2$ Hz, 1H, 18-H), 4.99 (d, $^3J_{NH,23} = 8.9$ Hz, 1H, NH_{lle}), 5.35 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.3$ Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.64 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.3$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.3$ Hz, 1H, 3-H), 6.40 (d, $^3J_{NH,18} = 8.4$ Hz, 1H, NH_{leu}), 7.08 (s, 1H, 7-H), 7.72 (s, 1H, 10-H).
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 11.4, 15.5$ (2q, C-25, C-27), 21.7 (q, C-21_b), 23.3 (q, C-21_a), 24.5 (d, C-20), 24.8 (t, C-26), 25.0 (t, C-15), 28.3 (q, C-30), 29.1 (t, C-14), 37.2 (d, C-24), 41.6 (t, C-19), 46.9 (t, C-16), 48.9 (d, C-18), 56.8 (q, C-1), 58.9 (d, C-13), 59.3 (d, C-23), 64.0 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 79.9 (s, C-29), 109.9 (d, C-10), 110.6 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.2 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 154.3 (s, C-6), 155.7 (s, C-28), 170.9, 171.4, 171.7 (3s, C-12, C-17, C-22).

HRMS (CI): C₃₃H₅₁N₄O₁₀, [M+H]⁺ M_{ber}: 663.3605 M_{gef}: 663.3615

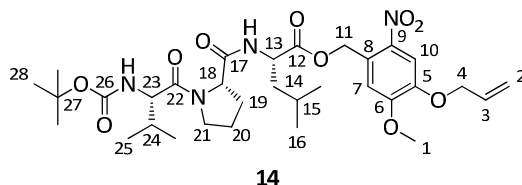
Elementaranalyse:

C ₃₃ H ₅₀ N ₄ O ₁₀	berechnet	C 59.80	H 7.60	N 8.45
(662.78)	gefunden	C 59.82	H 7.43	N 8.70

Boc-(L)-Valinyl-(L)-prolinyl-(L)-leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**14**)

Gemäß AAV1 wurden 1.00 g (1.0 Äq, 2.34 mmol) Boc-(L)-Val-(L)-Pro-(L)-Leu-OH, 727 mg (1.3 Äq, 3.04 mmol) AMNBol (**1**), 143 mg (0.5 Äq, 1.17 mmol) DMAP, 1.23 ml (3.0 Äq, 7.02 mmol) DIPEA und 1.28 g (1.7 Äq, 3.98 mmol) TBTU in 5.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO₂, PE:EE 7:3 -> EE) konnten 1.13 g (1.75 mmol, 75 %) eines gelben, im Hochvakuum schäumenden Harzes (**14**) erhalten werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**14**) = 0.20]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.90\text{--}0.99$ (m, 12H, 16-H, 25-H), 1.43 (s, 9H, 28-H), 1.58 (m, 1H, 14-H_a), 1.64–1.73 (sh, 2H, 14-H_b, 15-H), 1.88 (m, 1H, 19-H_a), 1.93–2.01 (sh, 2H, 20-H_a, 24-H), 2.07 (m, 1H, 20-H_b), 2.35 (m, 1H, 19-H_b), 3.57 (m, 1H, 21-H_a), 3.71 (m, 1H, 21-H_b), 4.02 (s, 3H, 1-H), 4.28 (dd, $^3J_{23,NH} = 9.0$ Hz, $^3J_{23,24} = 6.7$ Hz, 1H, 23-H), 4.55 (m, 1H, 13-H), 4.60 (m, 1H, 18-H), 4.67 (ddd, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, $^4J_{4,2c} = 1.4$ Hz, $^4J_{4,2t} = 1.4$ Hz, 2H, 4-H), 5.19 (d, $^3J_{NH,23} = 9.2$ Hz, 1H, NH_{Val}), 5.35 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.3$ Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.65 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.3$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.3$ Hz, 1H, 3-H), 7.08 (s, 1H, 7-H), 7.24 (d, $^3J_{NH,13} = 7.2$ Hz, 1H, NH_{Leu}), 7.73 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 17.4$ (q, C-25_a), 19.4 (q, C-25_b), 21.9 (q, C-16_a), 22.8 (q, C-16_b), 24.8 (d, C-15), 25.2 (t, C-20), 26.8 (t, C-19), 28.3 (q, C-28), 31.5 (d, C-24), 41.1 (t, C-14), 47.1 (t, C-21), 51.3 (d, C-13), 56.7 (q, C-1), 56.8 (d, C-23), 59.6 (d, C-18), 63.9 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 79.7 (s, C-27), 109.9 (d, C-10), 110.2 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.3 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 155.8 (s, C-26), 171.1, 172.4, 172.8 (3s, C-12, C-17, C-22).

HRMS (CI): C₃₂H₄₉N₄O₁₀, [M+H]⁺ M_{ber}: 649.3449 M_{gef}: 649.3449

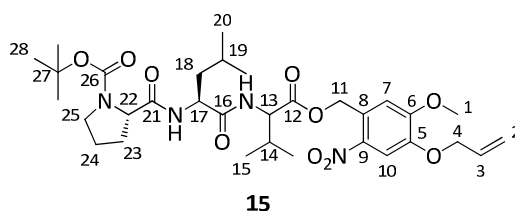
Elementaranalyse:

C ₃₂ H ₄₈ N ₄ O ₁₀	berechnet	C 58.28	H 7.74	N 11.33
(648.74)	gefunden	C 57.70	H 7.54	N 11.40

Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leuciny-(D/L)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (15)

Gemäß AAV1 wurden 400 mg (1.0 Äq, 0.840 mmol) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(L)-Val-OH, 201 mg (1.0 Äq, 0.840 mmol) AMNBol (**1**), 51.4 mg (0.5 Äq, 0.420 mmol) DMAP, 0.441 ml (3.0 Äq, 2.53 mmol) DIPEA und 460 mg (1.7 Äq, 1.43 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnte eine Diastereomeregemisch isoliert werden, wobei 205 mg (0.316 mmol, 38 %) des ersten Diastereomers (**15**, D1) und 210 mg (0.323 mmol, 38 %) des zweiten Diastereomers (**15**, D2), beide als gelbe, im Hochvakuum schäumende Harze, erhalten wurden.

[DC: SiO₂, EE, R_f (**15**, D1) = 0.60, R_f (**15**, D2) = 0.55]



Diastereomer 1:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.87–1.00 (sh, 12H, 15-H, 20-H), 1.45 (s, 9H, 28-H), 1.52–1.75 (sh, 3H, 18-H, 19-H), 1.88–2.05 (sh, 3H, 23-H_a, 24-H), 2.18–2.24 (sh, 2H, 14-H, 23-H_b), 3.38 (m, 2H, 25-H), 4.02 (s, 3H, 1-H), 4.25 (m, 1H, 22-H), 4.37–4.48 (sh, 2H, 13-H, 17-H), 4.66 (m, 2H, 4-H), 5.34 (m, 1H, 2-H_t), 5.42–5.63 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.2 Hz, ³J_{3,2t} = 10.7 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.88 (m, 1H, NH_{Leu}), 7.04–7.08 (sh, 2H, 7-H, NH_{Val}), 7.71 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 18.2, 19.2 (2q, C-15), 21.5, 23.0 (2q, C-20), 24.7 (t, C-24), 24.8 (d, C-19), 28.3 (q, C-28), 28.5 (t, C-23), 30.5 (d, C-14), 39.9 (t, C-18), 47.2 (t, C-25), 51.8 (d, C-17), 56.7 (q, C-1), 58.0 (d, C-13), 60.4 (d, C-22), 63.6 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.9 (s, C-27), 109.9 (d, C-10), 110.3 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 131.9 (d, C-3), 139.3 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 154.3, 155.9 (2s, C-6, C-26), 171.5, 172.2, 172.3 (3s, C-12, C-16, C-21). C-8 nicht detektierbar

Diastereomer 2 (ausgewählte Signale):

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.39 (m, 1H, 17-H), 4.52 (dd, ³J_{13,NH} = 8.2 Hz, ³J_{13,14} = 5.4 Hz, 1H, 13-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 57.5 (d, C-13), 60.3 (d, C-22).

HRMS (CI): C₃₂H₄₈N₄O₁₀, [M]⁺ M_{ber}: 648.3370 M_{gef}: 648.3365

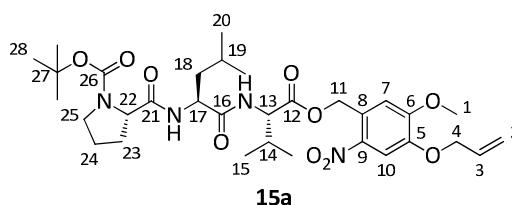
Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leuciny-(L)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (15a)

Zu einer Lösung aus 200 mg (1.0 Äq, 0.456 mmol) des Boc-(L)-Valin-AMNB-Esters **10a** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan wurden 0.430 ml (12.0 Äq, 5.58 mmol) Trifluoressigsäure gegeben und die Reaktionslösung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde mit ges. NaHCO₃-Lösung gequench und mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand (**17a**) in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan gelöst. Gemäß AAV1 wurden 149 mg (1.0 Äq, 0.455 mmol) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH, 27.8 mg (0.5 Äq, 0.228 mmol) DMAP, 0.238 ml (3.0 Äq, 1.365 mmol) DIPEA und 248 mg (1.7 Äq, 0.774 mmol) TBTU zugegeben. Nach 1.5 h wurde aufgearbeitet und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (4g NP, SiO₂, PE:EE,

4. Experimenteller Teil

Gradient) gereinigt. Es wurden 134 mg (0.207 mmol, 45 %) des AMNB-Tripeptidesters **15a** als gelbes, im Hochvakuum schäumendes Harz isoliert. Es wurde keine Epimerisierung beobachtet.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**15a**) = 0.15]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.85–0.91 (sh, 6H, 20-H_a, 20-H_b), 0.94–0.97 (sh, 6H, 15-H_a, 15-H_b), 1.45 (s, 9H, 28-H), 1.53–1.72 (sh, 3H, 18-H, 19-H), 1.77–1.98 (sh, 3H, 23-H_a, 24-H), 2.16–2.33 (sh, 2H, 14-H, 23-H_b), 3.40 (m, 2H, 25-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.24 (m, 1H, 22-H), 4.41 (m, 1H, 17-H), 4.52 (dd, ³J_{13,NH} = 8.3 Hz, ³J_{13,14} = 5.3 Hz, 1H, 13-H), 4.66 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.3 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 5.34 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.2 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.2 Hz, 1H, 2-H_t), 5.44 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.56 (m, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.2 Hz, ³J_{3,2c} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.91 (m, 1H, NH_{Val}), 7.04 (s, 1H, 7-H), 7.71 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.9, 19.1 (2q, C-15), 21.0, 23.0 (2q, C-20), 24.7 (t, C-24), 24.8 (d, C-19), 28.3 (q, C-28), 28.4 (t, C-23), 30.8 (d, C-14), 39.9 (t, C-18), 47.1 (t, C-25), 51.9 (d, C-17), 56.6 (q, C-1), 57.5 (d, C-13), 60.3 (d, C-22), 63.8 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.7 (s, C-27), 109.9 (d, C-10), 110.5 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 131.9 (d, C-3), 139.5 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 171.1, 171.2, 172.3 (3s, C-12, C-16, C-21). C-8 und C-26 nicht detektierbar

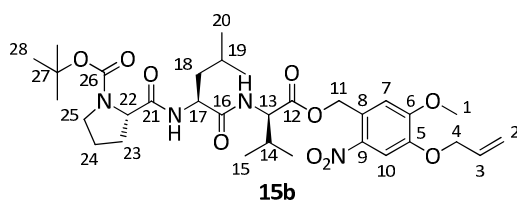
Elementaranalyse:

C ₃₂ H ₄₈ N ₄ O ₁₀	berechnet	C 59.24	H 7.46	N 8.64
(648.75)	gefunden	C 58.96	H 7.25	N 8.11

Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leucinyl-(D)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**15b**)

Zu einer Lösung aus 200 mg (1.0 Äq, 0.456 mmol) des Boc-(D)-Valin-AMNB-Esters **10b** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan wurden 0.422 ml (12.0 Äq, 5.47 mmol) Trifluoressigsäure gegeben und die Reaktionslösung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde mit ges. NaHCO₃-Lösung gequench und mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand (**17b**) in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan gelöst. Gemäß AAV1 wurden 149 mg (1.0 Äq, 0.455 mmol) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH, 27.8 mg (0.5 Äq, 0.228 mmol) DMAP, 0.238 ml (3.0 Äq, 1.365 mmol) DIPEA und 248 mg (1.7 Äq, 0.774 mmol) TBTU zugegeben. Nach 1.5 h wurde aufgearbeitet und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (4g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) gereinigt. Es wurden 213 mg (0.328 mmol, 72 %) des AMNB-Tripeptidesters **15b** als gelbes, im Hochvakuum schäumendes Harz isoliert. Auch hier konnte keine Epimerisierung beobachtet werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**15b**) = 0.25]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.88–0.91 (sh, 6H, 20- H_a , 20- H_b), 0.96 (m, 6H, 15-H), 1.45 (s, 9H, 28-H), 1.52–1.71 (sh, 3H, 18-H, 19-H), 1.88 (m, 2H, 24-H), 2.02 (m, 1H, 23- H_a), 2.19–2.24 (sh, 2H, 14-H, 23- H_b), 3.41 (m, 2H, 25-H), 4.02 (s, 3H, 1-H), 4.26 (m, 1H, 22-H), 4.40–4.48 (sh, 2H, 13-H, 17-H), 4.66 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.34 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2- H_t), 5.42–5.63 (sh, 3H, 2- H_c , 11-H), 6.05 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.92 (bs, 1H, NH_{Leu}), 7.08–7.11 (sh, 2H, 7-H, NH_{Val}), 7.71 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 18.2 (q, C-15 $_a$), 19.2 (q, C-15 $_b$), 21.5 (q, C-20 $_a$), 23.0 (q, C-20 $_b$), 24.7 (t, C-24), 24.8 (d, C-19), 28.3 (q, C-28), 28.5 (t, C-23), 30.4 (d, C-14), 39.9 (t, C-18), 47.3 (t, C-25), 51.8 (d, C-17), 56.7 (q, C-1), 58.0 (d, C-13), 60.4 (d, C-22), 63.6 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 80.9 (s, C-27), 109.8 (d, C-10), 110.2 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.5 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.9 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 154.2, 156.0 (2s, C-6, C-26), 171.5, 172.2, 172.4 (3s, C-12, C-16, C-21).

Elementaranalyse:

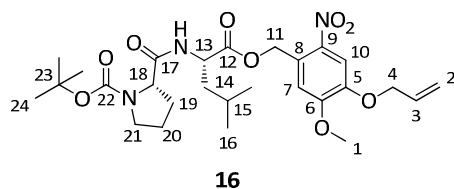
$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{10}$	berechnet	C 59.24	H 7.46	N 8.64
(648.75)	gefunden	C 59.48	H 7.24	N 8.39

Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**16**)

Gemäß AAV1 wurden 328 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OH, 239 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) AMNBol (**1**), 61.1 mg (0.5 Äq, 0.500 mmol) DMAP, 0.524 ml (3.0 Äq, 3.00 mmol) DIPEA und 546 mg (1.7 Äq, 1.70 mmol) TBTU in 3.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 466 mg (0.85 mmol, 85 %) eines gelben Feststoffs (**16**) vom Schmelzpunkt 108–109 °C erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**16**) = 0.27]

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -48.1$ ($c = 1.0$, CHCl_3).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.93 (m, 6H, 16-H), 1.44 (s, 9H, 24-H), 1.59–1.77 (sh, 3H, 14-H, 15-H), 1.81–1.93 (sh, 3H, 19- H_a , 20-H), 2.22 (m, 1H, 19- H_b), 3.40 (m, 2H, 21-H), 4.02 (s, 3H, 1-H), 4.26 (m, 1H, 18-H), 4.58–4.67 (sh, 3H, 4-H, 13-H), 5.34 (m, 1H, 2- H_t), 5.44 (m, 1H, 2- H_c), 5.57 (m, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.7 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.38 (m, 1H, NH) 7.08 (s, 1H, 7-H), 7.72 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 21.7 (q, C-16 $_a$), 22.8 (q, C-16 $_b$), 24.8 (t, C-20), 24.9 (d, C-15), 27.4 (t, C-19), 28.4 (q, C-24), 41.0 (t, C-14), 47.0 (t, C-21), 51.1 (d, C-13), 56.7 (q, C-1), 59.7 (d, C-18), 63.8 (t, C-

4. Experimenteller Teil

11), 70.1 (t, C-4), 80.6 (s, C-23), 109.9 (d, C-10), 110.1 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.5 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.3 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 154.3 (s, C-6), 156.0 (s, C-22), 172.3, 172.4 (2s, C-12, C-17).

HRMS (CI): C₂₇H₄₀N₃O₉, [M+H]⁺ M_{ber.}: 550.2764 M_{gef.}: 550.2781

Elementaranalyse:

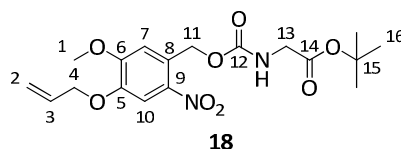
C ₂₇ H ₃₉ N ₃ O ₉	berechnet	C 59.00	H 7.15	N 7.65
(549.62)	gefunden	C 59.56	H 6.93	N 7.79

***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)glycin-*tert*-butylester (18)**

Gemäß AAV3 wurden 183 mg (1.0 Äq, 1.40 mmol) Glycin-*tert*-butylester mit 422 mg (1.0 Äq, 1.40 mmol) des Chloroformiats **2** und 0.453 ml (4.0 Äq, 5.60 mmol) *abs.* Pyridin umgesetzt. Zusätzlich wurden 85.8 mg (0.5 Äq, 0.70 mmol) DMAP zugegeben. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, PE:EE 9:1) wurden 357 mg (0.90 mmol, 63 %) eines gelben Feststoffs (**18**) vom Schmelzpunkt 102 °C erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f(**18**) = 0.37]

HPLC: Merck Hitachi, Reprosil, isokratische Trennung, Hex:*i*PrOH = 90:10, 1 ml/min, 20 µl Inj.vol., Detektion bei 243 nm: t_r = 39.57'.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H, 16-H), 3.89 (d, ³J_{13,NH} = 5.6 Hz, 2H, 13-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.67 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.29–5.36 (sh, 2H, 2-H_t, NH), 5.45 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.55 (s, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.7 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.04 (s, 1H, 7-H), 7.72 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.0 (q, C-16), 43.4 (t, C-13), 56.5 (q, C-1), 63.9 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 82.4 (s, C-15), 109.7 (d, C-10), 109.8 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 128.5 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.3 (s, C-9), 146.8 (s, C-5), 154.1, 155.8 (2s, C-6, C-12), 169.1 (s, C-14).

HRMS (CI): C₁₈H₂₄N₂O₈, [M]⁺ M_{ber.}: 396.1533 M_{gef.}: 396.1561

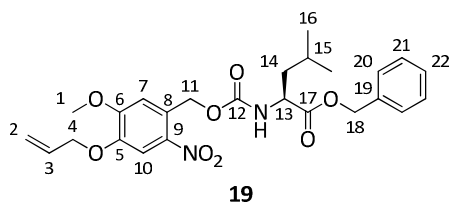
***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-leucinbenzylester (19)**

Gemäß AAV3 wurden 258 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Leucinbenzylester-Hydrochlorid mit 301 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) des Chloroformiats **2**, 0.324 ml (4.0 Äq, 4.00 mmol) *abs.* Pyridin und 61.2 mg (0.5 Äq, 0.500 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (SiO₂, PE:EE 7:3) wurden 247 mg (0.508 mmol, 51 %) eines orangefarbenen Feststoffs (**19**) vom Schmelzpunkt 115 °C erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f(**19**) = 0.53]

Opt. Drehwert: [α]_D²⁰ = -0.7° (c = 1.0, CHCl₃)

HPLC: Shimadzu, Reprosil, isokratische Trennung, Hex:*i*PrOH = 90:10, 1 ml/min, 5 µl Inj.vol., Detektion bei 243 nm: t_r = 14.71'.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.94 (m, 6H, 16-H), 1.57 (m, 1H, 14- H_a), 1.64–1.75 (sh, 2H, 14- H_b , 15-H), 3.96 (s, 3H, 1-H), 4.45 (m, 1H, 13-H), 4.67 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.16 (m, 2H, 18-H), 5.28 (d, $^3J_{\text{NH},13}$ = 8.8 Hz, 1H, NH), 5.35 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.2 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.2 Hz, 1H, 2- H_t), 5.45 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2- H_c), 5.54 (m, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.7 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.00 (s, 1H, 7-H), 7.32–7.38 (sh, 5H, 20-H, 21-H, 22-H), 7.72 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 21.7 (q, C-16_a), 22.8 (q, C-16_b), 24.8 (d, C-15), 41.5 (t, C-14), 52.7 (d, C-13), 56.4 (q, C-1), 63.8 (t, C-11), 67.2 (t, C-18), 70.1 (t, C-4), 109.8 (d, C-10), 109.9 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.0 (s, C-8), 128.2, 128.4, 128.6 (3d, C-20, C-21, C-22), 131.9 (d, C-3), 135.3 (s, C-19), 139.4 (s, C-9), 146.8 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 155.5 (s, C-12), 173.0 (s, C-17).

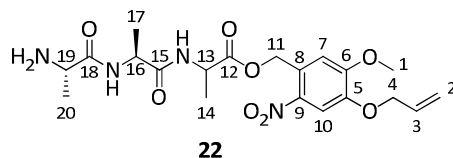
HRMS (CI): $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$

M_{ber} : 486.2002

M_{gef} : 486.198

(L)-Alaninyl-(L)-alaninyl-(D/L)-alanin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (22)

Gemäß AAV2 (a) wurden 1.09 g (1.0 Äq, 1.84 mmol) des Boc-geschützten Peptids **12** in 4.0 ml Dichlormethan mit 1.70 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach Aufarbeitung und Freischütteln des Amins mit ges. NaHCO_3 -Lösung wurden 656 mg (1.45 mmol, 79 %) des Amins **22** als gelbes Harz erhalten.



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.32 (m, 3H, 20-H) 1.36 (m, 3H, 14-H/17-H), 1.46 (m, 3H, 14-H/17-H), 1.61 (bs, 2H, NH_2), 3.51 (m, 1H, 19-H), 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.47 (m, 1H, 13-H/16-H), 4.58 (m, 1H, 13-H/16-H), 4.67 (m, 2H, 4-H), 5.35 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2- H_t), 5.45 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2- H_c), 5.55 (m, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.97–7.14 (sh, 2H, 7-H, NH), 7.68–7.75 (sh, 2H, 10-H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.4, 17.7, 17.8 (3q, C-14, C-17, C-20), 48.2, 48.3, 48.3 (3d, C-13, C-16, C-19), 56.6 (q, C-1), 64.1 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 109.9 (d, C-10), 110.4 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 126.9 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.5 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 172.1, 172.3, 172.3 (3s, C-12, C-15, C-18).

HRMS (CI): $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_8$, $[\text{M}+\text{H}]^+$

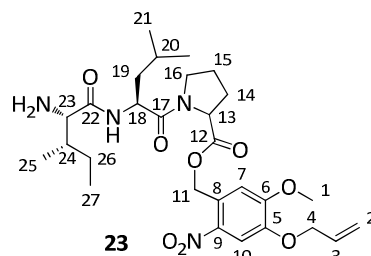
M_{ber} : 453.1985

M_{gef} : 453.1966

4. Experimenteller Teil

(L)-Isoleucinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-prolin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**23**)

Gemäß AAV2 (a) wurden 1.85 g (1.0 Äq, 2.65 mmol) des Boc-geschützten Peptids **13** in 6.0 ml Dichlormethan mit 2.45 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach Aufarbeitung und Freischütteln des Amins mit ges. NaHCO₃-Lösung konnten 1.49 g (2.65 mmol, quant.) des Amins **23** als gelbes Harz erhalten werden.



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1

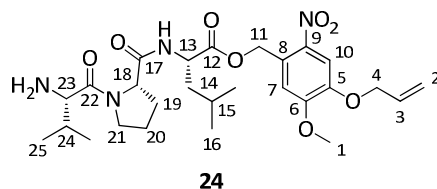
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.89–0.96 (sh, 12H, 21-H, 25-H, 27-H), 1.12 (m, 1H, 26-H_a), 1.38–1.47 (sh, 3H, 19-H, 26-H_b), 1.56–1.68 (sh, 3H, 20-H, NH₂), 1.94 (m, 1H, 24-H), 2.01–2.16 (sh, 3H, 14-H_a, 15-H), 2.27 (m, 1H, 14-H_b), 3.26 (m, 1H, 23-H), 3.65 (m, 1H, 16-H_a), 3.89 (m, 1H, 16-H_b), 4.06 (s, 3H, 1-H), 4.60 (m, 1H, 13-H), 4.67 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 4.78 (m, 1H, 18-H), 5.35 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.65 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.07 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.7 Hz, ³J_{3,4} = 5.3 Hz, 1H, 3-H), 7.12 (s, 1H, 7-H), 7.70–7.74 (sh, 2H, 10-H, NH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 11.9 (q, C-27), 16.0 (q, C-25), 21.7 (q, C-21_a), 23.3 (q, C-21_b), 23.9 (d, C-20), 24.7 (t, C-26), 25.1 (t, C-15), 29.1 (t, C-14), 36.0 (d, C-24), 41.4 (t, C-19), 46.9 (t, C-16), 48.5 (d, C-18), 56.8 (q, C-1), 58.9 (d, C-13), 59.8 (d, C-23), 64.0 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 109.9 (d, C-10), 110.6 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.4 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 154.3 (s, C-6), 171.5, 171.9, 174.1 (3s, C-12, C-17, C-22).

HRMS (CI): C₂₈H₄₃N₄O₈, [M+H]⁺ M_{ber}: 563.3081 M_{gef}: 563.3081

(L)-Valinyl-(L)-prolinyl-(L)-leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (**24**)

Gemäß AAV2 (a) wurden 1.09 g (1.0 Äq, 1.60 mmol) des Boc-geschützten Peptids **14** in 4.0 ml Dichlormethan mit 1.48 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach Aufarbeitung und Freischütteln des Amins mit ges. NaHCO₃-Lösung konnten 918 mg (1.59 mmol, 99 %) des Amins **24** als gelbes Harz erhalten werden.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.90–1.05 (sh, 12H, 16-H, 25-H), 1.63–1.77 (sh, 3H, 14-H, 15-H), 1.98–2.16 (sh, 5H, 19-H, 20-H, 24-H), 3.52 (m, 1H, 21-H_a), 3.64–3.88 (sh, 2H, 21-H_b, 23-H), 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.53 (m, 1H, 13-H), 4.66–4.68 (sh, 3H, 4-H, 18-H), 5.35 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.62 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.05 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.3 Hz, 1H, 3-H), 7.08 (m, 1H, 7-H), 7.24 (d, ³J_{NH,13} = 7.0 Hz, 1H, NH), 7.72 (s, 1H, 10-H).

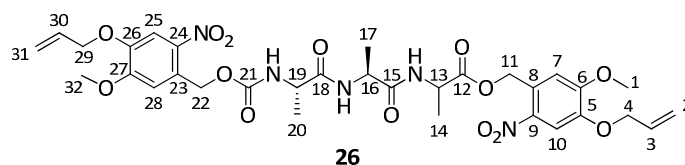
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.3 (q, C-25_a), 19.0 (q, C-25_b), 21.9 (q, C-16_a), 22.7 (q, C-16_b), 24.8 (d, C-15), 25.1 (t, C-20), 27.6 (t, C-19), 30.9 (d, C-24), 40.8 (t, C-14), 47.9 (t, C-21), 51.4 (d, C-13), 56.6 (q, C-1), 56.6 (d, C-23), 59.8 (d, C-18), 63.9 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 109.9 (d, C-10), 110.2 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 127.3 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 154.2 (s, C-6), 171.5, 172.6, 173.9 (3s, C-12, C-17, C-22).

HRMS (CI): $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_8$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 549.2924 M_{gef} : 549.2927

***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-alaninyl-(L)-alaninyl-(D/L)-alanin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (26)**

Gemäß AAV3 wurden unter Stickstoff 416 mg (1.0 Äq, 0.919 mmol) des Amins **22** mit 0.297 ml (4.0 Äq, 3.68 mmol) *abs.* Pyridin, 56.2 mg (0.5 Äq, 0.460 mmol) DMAP und 291 mg (1.05 Äq, 0.965 mmol) des Chloroformiats **2** in 4.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung wurden 400 mg (0.557 mmol, 61 %) des doppelt AMNB-geschützten Tripeptids **26** als gelbes, hygroskopisches Harz erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**26**) = 0.05]



Auswertung für Diastereomeregemisch 1:1

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.37–1.43 (sh, 9H, 14-H, 17-H, 20-H), 3.97–4.01 (sh, 6H, 1-H, 32-H), 4.23 (m, 1H, 13-H/16-H/19-H), 4.48–4.61 (sh, 2H, 13-H/16-H/19-H), 4.65–4.67 (sh, 4H, 4-H, 29-H), 5.34–5.36 (sh, 2H, 2-H_t, 31-H_t), 5.43–5.61 (sh, 7H, 2-H_c, 31-H_c, 11-H, 22-H, NH), 6.01–6.10 (sh, 2H, 3-H, 30-H), 6.72 (d, $^3J_{\text{NH},13/16/19} = 7.1$ Hz, 1H, NH), 6.83 (d, $^3J_{\text{NH},13/16/19} = 7.4$ Hz, 1H, NH), 6.98–7.01 (sh, 2H, 7-H, 28-H), 7.68–7.71 (sh, 2H, 10-H, 25-H).

^{13}C -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 17.5, 17.8, 18.0 (3q, C-14, C-17, C-20), 48.3, 48.6, 48.9 (3d, C-13, C-16, C-19), 56.5, 56.6 (2q, C-1, C-32), 64.1, 64.2 (2t, C-11, C-22), 70.2 (2t, C-4, C-29), 109.9 (2d, C-10, C-25), 110.6, 110.9 (2d, C-7, C-28), 119.1 (2t, C-2, C-31), 126.6, 126.7 (2s, C-8, C-23), 131.9 (2d, C-3, C-30), 139.5, 139.6 (2s, C-9, C-24), 147.2 (s, C-5, C-26), 154.0, 154.1 (2s, C-6, C-27), 155.7 (s, C-21), 171.6, 171.7, 172.1 (3s, C-12, C-15, C-18).

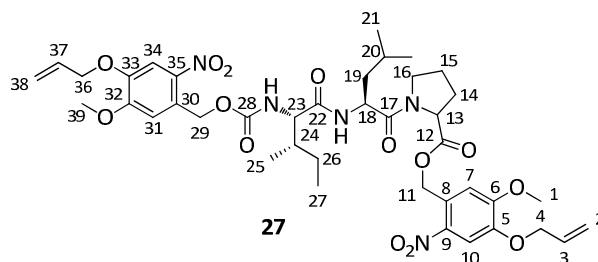
HRMS (CI): $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_{14}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 718.2572 M_{gef} : 718.2589

***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-isoleucinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-prolin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (27)**

Gemäß AAV3 wurden unter Stickstoff 535 mg (1.0 Äq, 0.951 mmol) des Amins **23** mit 0.308 ml (4.0 Äq, 3.80 mmol) *abs.* Pyridin, 58.1 mg (0.5 Äq, 0.475 mmol) DMAP und 301 mg (1.05 Äq, 0.999 mmol) des Chloroformiats **2** in 4.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Aufarbeitung und Säulenchromatographie lieferte das doppelt AMNB-geschützte Tripeptid **27** als Diastereomeregemisch mit einer Ausbeute von 80 % (633 mg, 0.765 mmol) als gelbes, hygroskopisches Harz.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**27**) = 0.11]

4. Experimenteller Teil



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.86–0.93 (sh, 12H, 21-H, 25-H, 27-H), 1.16 (m, 1H, 26- H_a), 1.44–1.53 (sh, 3H, 19-H, 26- H_b), 1.62 (m, 1H, 20-H), 1.84 (m, 1H, 24-H), 2.05–2.14 (sh, 3H, 14- H_a , 15-H), 2.28 (m, 1H, 14- H_b), 3.63 (m, 1H, 16- H_a), 3.78 (m, 1H, 16- H_b), 3.97–4.07 (sh, 7H, 1-H, 23-H, 39-H), 4.62 (m, 1H, 13-H), 4.66–4.67 (sh, 4H, 4-H, 36-H), 4.75 (m, 1H, 18-H), 5.33–5.36 (sh, 2H, 2- H_t , 38- H_t), 5.43–5.61 (sh, 7H, 2- H_c , 38- H_c , 11-H, 29-H, NH_{Leu}), 6.01–6.11 (sh, 2H, 3-H, 37-H), 6.31 (d, $^3J_{\text{NH},18}$ = 7.9 Hz, 1H, NH_{Leu}), 6.99, 7.05 (2s, 2H, 7-H, 31-H), 7.70–7.71 (sh, 2H, 10-H, 34-H).

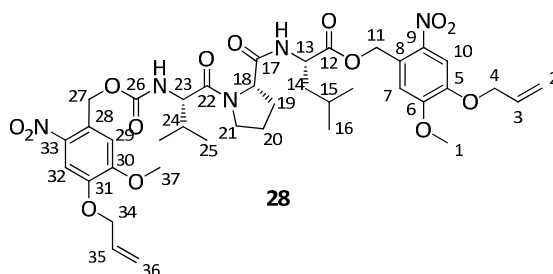
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.4 (q, C-27), 15.4 (q, C-25), 21.7, 23.2 (2q, C-21 $_a$, C-21 $_b$), 24.6 (d, C-20), 24.9 (t, C-26), 25.0 (t, C-15), 29.1 (t, C-14), 37.8 (d, C-24), 41.6 (t, C-19), 46.9 (t, C-16), 49.1 (d, C-18), 56.4, 56.7 (2q, C-1, C-39), 58.9 (d, C-13), 59.6 (d, C-23), 63.9, 64.0 (2t, C-11, C-29), 70.1, 70.1 (2t, C-4, C-36), 109.9, 109.9 (2d, C-10, C-34), 110.8, 110.8 (2d, C-7, C-31), 119.1, 119.1 (2t, C-2, C-38), 127.0, 127.0 (2s, C-8, C-30), 131.9, 131.9 (2d, C-3, C-37), 139.5, 139.5 (2s, C-9, C-35), 146.9, 147.1 (2s, C-5, C-33), 154.0, 154.2 (2s, C-6, C-32), 156.6 (s, C-28), 170.8, 170.8, 171.5 (3s, C-12, C-17, C-22).

HRMS (CI): $\text{C}_{40}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_{14}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 828.3667 M_{gef} : 828.3678

***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-valinyl-(L)-prolinyl-(L)-leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (28)**

Gemäß AAV3 wurden unter Stickstoff 600 mg (1.0 Äq, 1.09 mmol) des Amins **24** mit 0.354 ml (4.0 Äq, 4.37 mmol) *abs.* Pyridin, 66.8 mg (0.5 Äq, 0.547 mmol) DMAP und 345 mg (1.05 Äq, 1.14 mmol) des Chloroformiats **2** in 4.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung konnten 525 mg (0.645 mmol, 59 %) des doppelt AMNB-geschützten Tripeptids **28** als gelbes, hygroskopisches Harz erhalten werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**28**) = 0.15]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.91–1.02 (sh, 12H, 16-H, 25-H), 1.59 (m, 1H, 14- H_a), 1.67–1.76 (sh, 2H, 14- H_b , 15-H), 1.86–2.01 (sh, 3H, 19- H_a , 20- H_a , 24-H), 2.09 (m, 1H, 20- H_b), 2.34 (m, 1H, 19- H_b), 3.59 (m, 1H, 21- H_a), 3.72 (m, 1H, 21- H_b), 3.98–4.02 (sh, 6H, 1-H, 37-H), 4.35 (dd, $^3J_{23,\text{NHVal}}$ = 9.1 Hz, $^3J_{23,24}$ = 6.3 Hz, 1H, 23-H), 4.54–4.59 (sh, 2H, 13-H, 18-H), 4.66–4.68 (sh, 4H, 4-H, 34-H), 5.34–5.36 (sh, 2H, 2- H_t ,

4. Experimenteller Teil

HRMS (CI): C₃₉H₅₃N₅O₁₄, [M+2H]⁺ M_{ber.}: 815.3589 M_{gef.}: 815.3587

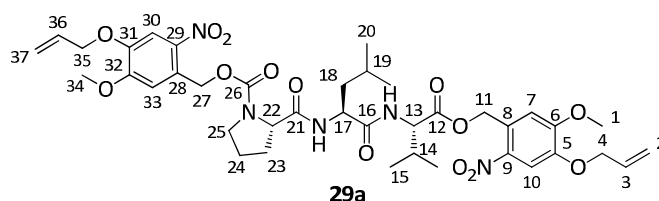
Elementaranalyse:

C ₃₉ H ₅₃ N ₅ O ₁₄	berechnet	C 57.56	H 6.32	N 8.61
(813.86)	gefunden	C 56.97	H 6.33	N 8.45

***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinyll-(L)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (29a)**

Gemäß AAV2 (a) wurden 175 mg (1.0 Äq, 0.270 mmol) des Boc-geschützten Peptids **15a** in 1.0 ml Dichlormethan mit 0.26 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach Aufarbeitung und Freischütteln des Amins mit ges. NaHCO₃-Lösung wurden 148 mg (0.270 mmol, quant.) des Amins **25a** als gelbes Harz erhalten. Dieses wurde gemäß AAV3 unter Stickstoff mit 0.088 ml (4.0 Äq, 1.09 mmol) *abs.* Pyridin, 16.5 mg (0.5 Äq, 0.135 mmol) DMAP und 85.8 mg (1.05 Äq, 0.284 mmol) des Chloroformiats **2** in 1.5 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie konnte das doppelt AMNB-geschützte Tripeptid **29a** mit einer Ausbeute von 63 % (138 mg, 0.170 mmol) isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**29a**) = 0.11]



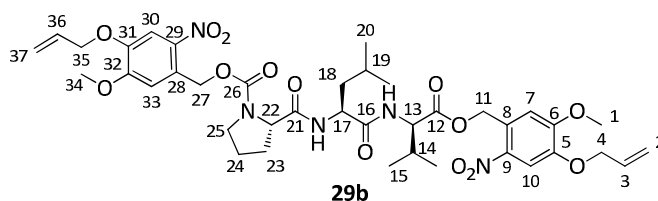
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.86–0.96 (sh, 12H, 15-H, 20-H), 1.58–1.94 (sh, 5H, 18-H, 19-H, 24-H), 2.11–2.23 (sh, 3H, 14-H, 23-H), 3.45 (m, 2H, 25-H), 3.99, 4.01 (2s, 6H, 1-H, 34-H), 4.31 (m, 1H, 22-H), 4.39 (m, 1H, 17-H), 4.54 (m, 1H, 13-H), 4.65–4.67 (sh, 4H, 4-H, 35-H), 5.34–5.68 (sh, 8H, 2-H, 11-H, 27-H, 37-H), 6.01–6.10 (sh, 2H, 3-H, 36-H), 6.77 (m, 0.5H, NH_{Leu}), 6.91 (m, 0.5H, NH_{Val}), 6.99–7.05 (sh, 3H, 7-H, 33-H, NH_{Val}), 7.69, 7.72 (2s, 2H, 10-H, 30-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 18.3, 19.0 (2q, C-15_a, C-15_b), 21.6, 23.0 (2q, C-20_a, C-20_b), 24.7 (t, C-24), 24.9 (d, C-19), 29.6 (t, C-23), 30.4 (d, C-14), 39.8 (t, C-18), 47.0 (t, C-25), 51.6 (d, C-17), 56.4, 56.7 (2q, C-1, C-34), 58.1 (d, C-13), 61.3 (d, C-22), 63.5, 64.7 (2t, C-11, C-27), 70.1, 70.1 (2t, C-4, C-35), 109.8, 109.9 (2d, C-10, C-30), 110.5, 111.6 (2d, C-7, C-33), 119.1, 119.1 (2t, C-2, C-37), 126.8, 127.1 (2s, C-8, C-28), 131.9, 131.9 (2d, C-3, C-36), 139.2, 139.3 (2s, C-9, C-29), 146.9, 147.0 (2s, C-5, C-31), 154.1, 154.2 (2s, C-6, C-32), 155.6 (s, C-26), 171.2, 171.7, 172.1 (3s, C-12, C-16, C-21).

***N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinyll-(D)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (29b)**

Gemäß AAV2 (a) wurden 200 mg (1.0 Äq, 0.308 mmol) des Boc-geschützten Peptids **15b** in 1.0 ml Dichlormethan mit 0.30 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach Aufarbeitung und Freischütteln des Amins mit ges. NaHCO₃-Lösung wurden 169 mg (0.308 mmol, quant.) des Amins **25b** als gelbes Harz erhalten. Dieses wurde gemäß AAV3 unter Stickstoff mit 0.100 ml (4.0 Äq, 1.24 mmol) *abs.* Pyridin, 19.4 mg (0.5 Äq, 0.159 mmol) DMAP und 98.0 mg (1.05 Äq, 0.325 mmol) des Chloroformiats **2** in 1.5 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung konnten 170 mg (0.209 mmol, 68 %) des doppelt AMNB-geschützten Tripeptids **29b** isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**29b**) = 0.11]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.81–0.96 (sh, 12H, 15-H, 20-H), 1.59–1.73 (sh, 3H, 18-H, 19-H), 1.90–1.98 (sh, 2H, 24-H), 2.08–2.23 (sh, 3H, 14-H, 23-H), 3.45 (m, 2H, 25-H), 3.98, 4.01 (2s, 6H, 1-H, 34-H), 4.29 (m, 1H, 22-H), 4.38 (m, 1H, 17-H), 4.53 (m, 1H, 13-H), 4.65–4.67 (sh, 4H, 4-H, 35-H), 5.29–5.71 (m, 8H, 2-H, 11-H, 27-H, 37-H), 6.01–6.11 (sh, 2H, 3-H, 36-H), 6.77 (d, ³J_{NH,17} = 6.9 Hz, 1H, NH_{Leu}), 6.92 (d, ³J_{NH,13} = 7.9 Hz, 1H, NH_{Val}), 7.98–7.04 (sh, 2H, 7-H, 33-H), 7.69, 7.71 (2s, 2H, 10-H, 30-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 18.2, 19.2 (2q, C-15_a, C-15_b), 21.3, 22.9 (2q, C-20_a, C-20_b), 24.6 (t, C-24), 25.0 (d, C-19), 28.9 (t, C-23), 30.3 (d, C-14), 39.8 (t, C-18), 47.0 (t, C-25), 51.6 (d, C-17), 56.4, 56.7 (2q, C-1, C-34), 58.1 (d, C-13), 60.3 (d, C-22), 62.6, 63.5 (2t, C-11, C-27), 68.1, 70.1 (2t, C-4, C-35), 109.8, 110.1, 110.3, 110.9 (4d, C-7, C-10, C-30, C-33), 119.0, 119.1 (2t, C-2, C-37), 126.8, 127.3 (2s, C-8, C-28), 130.8, 131.9 (2d, C-3, C-36), 139.2, 140.0 (2s, C-9, C-29), 146.9, 147.3 (2s, C-5, C-31), 153.7, 154.2 (2s, C-6, C-32), 155.6 (s, C-26), 171.6, 171.7, 172.2 (3s, C-12, C-16, C-21).

HRMS (CI): C₃₉H₅₃N₅O₁₄, [M+2H]⁺

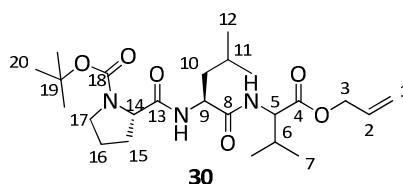
M_{ber}: 815.3589

M_{gef}: 815.3561

Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leucinylnyl-(D/L)-valinalylester (**30**)

Gemäß AAV1 wurden 292 mg (1.0 Äq, 0.683 mmol) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(L)-Val-OH, 0.093 ml (2.0 Äq, 1.37 mmol) Allylalkohol, 41.7 mg (0.5 Äq, 0.341 mmol) DMAP, 0.358 ml (3.0 Äq, 2.05 mmol) DIPEA und 373 mg (1.7 Äq, 1.16 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (12 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 242 mg (0.518 mmol, 76 %) eines farblosen, im Hochvakuum schäumenden Harzes (**30**) als Diastereomerenmischung (1:1) isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**30**, D1) = 0.31, R_f (**30**, D2) = 0.33]



Auswertung für Diastereomerenmischung 1:1

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.88–0.91 (sh, 12H, 7-H, 12-H), 1.43 (s, 9H, 20-H), 1.51–1.67 (sh, 3H, 10-H, 11-H), 1.85 (m, 2H, 16-H), 2.07–2.28 (sh, 3H, 6-H, 15-H), 3.37 (m, 2H, 17-H), 4.27 (m, 1H, 14-H), 4.41–4.49 (sh, 2H, 5-H, 9-H), 4.60 (m, 2H, 3-H), 5.23 (m, 1H, 1-H_t), 5.31 (m, 1H, 1-H_c), 5.87 (m, 1H, 2-H), 6.52–7.06 (sh, 2H, NH_{Val}, NH_{Leu}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.6, 19.0 (2q, C-7_a, C-7_b), 21.8, 22.9 (2q, C-12_a, C-12_b), 24.5 (t, C-16), 24.6 (d, C-11), 28.2, 28.2 (t, q, C-15, C-20), 31.0 (d, C-6), 40.2 (t, C-10), 47.1 (t, C-17), 51.9 (d, C-9), 57.1 (d, C-5), 60.1 (d, C-14), 65.7 (t, C-3), 80.7 (s, C-19), 118.8 (t, C-1), 131.6 (d, C-2), 171.2, 171.7, 172.2 (3s, C-4, C-8, C-13). C-18 nicht detektierbar

4. Experimenteller Teil

HRMS (CI): C₂₄H₄₁N₃O₆, [M]⁺ M_{ber.}: 467.2995 M_{gef.}: 467.2996

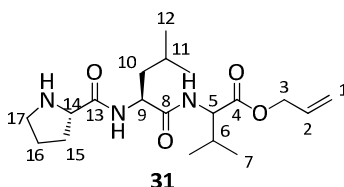
Elementaranalyse:

C ₂₄ H ₄₁ N ₃ O ₆	berechnet	C 61.65	H 8.84	N 8.99
(467.60)	gefunden	C 61.19	H 8.50	N 8.98

(L)-Prolinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-valinallylester (**31**)

Gemäß AAV2 (a) wurden zu einer Lösung aus 166 mg (1.0 Äq, 0.355 mmol) des Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(D/L)-Val-allylesters **30** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan 0.328 ml (12.0 Äq, 4.26 mmol) Trifluoressigsäure gegeben und die Reaktionslösung wurde 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Quenchen und Aufarbeitung wurden 124 mg (0.337 mmol, 95 %) des freien Amins **31** als gelbes Öl isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**31**) = 0.01]



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1

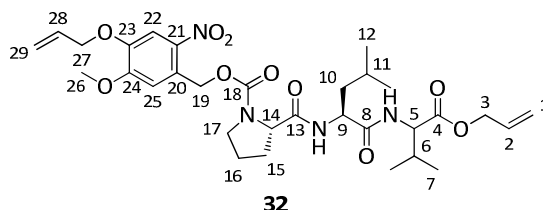
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.84–0.90 (sh, 12H, 7-H, 12-H), 1.46–1.90 (sh, 5H, 10-H, 11-H, 16-H), 2.04–2.22 (sh, 3H, 6-H, 15-H), 2.89 (m, 2H, 17-H), 3.71 (m, 1H, 14-H), 4.40–4.58 (sh, 4H, 3-H, 5-H, 9-H), 5.17 (m, 1H, 1-H_f), 5.27 (m, 1H, 1-H_c), 5.83 (m, 1H, 2-H), 7.04 (m, 1H, NH), 7.93 (m, 1H, NH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.5, 18.9 (2q, C-7_a, C-7_b), 21.8, 22.8 (2q, C-12_a, C-12_b), 24.8, 26.0 (d, t, C-11, C-16), 30.6, 30.8 (d, t, C-6, C-15), 40.0 (t, C-10), 47.1 (t, C-17), 51.1 (d, C-9), 57.1 (d, C-5), 60.2 (d, C-14), 65.5 (t, C-3), 118.6 (t, C-1), 131.5 (d, C-2), 171.1, 172.1, 175.6 (3s, C-4, C-8, C-13).

N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-valinallylester (**32**)

Gemäß AAV3 wurden 124 mg (1.0 Äq, 0.337 mmol) des Amins **31** in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 132 mg (1.3 Äq, 0.439 mmol) AMNBOCI (**2**) in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan, 0.109 ml (4.0 Äq, 1.35 mmol) *abs.* Pyridin und 20.6 mg (0.5 Äq, 0.169 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenschromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 180 mg (0.284 mmol, 84 %) des AMNB-geschützten Tripeptids **32** als gelbes Harz isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**32**) = 0.08–0.14]



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.75–0.88 (sh, 12H, 7-H, 12-H), 1.52–1.73 (sh, 3H, 10-H, 11-H), 1.90 (m, 2H, 16-H), 2.00–2.21 (sh, 3H, 6-H, 15-H), 3.51 (m, 2H, 17-H), 3.96 (s, 3H, 26-H), 4.31 (m, 1H, 14-H), 4.39–4.55 (sh, 4H, 3-H, 5-H, 9-H), 4.63 (m, 2H, 27-H), 5.19–5.69 (sh, 6H, 1-H, 19-H, 29-H), 5.83 (m, 1H, 2-H), 6.02 (ddt, $^3J_{28,29c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{28,29t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{28,27}$ = 5.5 Hz, 1H, 28-H), 6.55–7.03 (sh, 3H, NH_{Val} , NH_{Leu} , 25-H), 7.66 (s, 0.5H, 22-H), 7.68 (s, 0.5H, 22'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.6, 18.8 (2q, C-7_a, C-7_b), 21.4, 22.8 (2q, C-12_a, C-12_b), 24.5 (t, C-11), 24.9 (t, C-16), 29.1–31.5 (sh, C-15, C-6), 40.1 (t, C-10), 46.9 (t, C-17), 51.7 (d, C-9), 56.3 (q, C-26), 57.1 (d, C-5), 60.6 (d, C-14), 64.4 (t, C-19), 65.7 (t, C-3), 70.0 (t, C-27), 109.7 (d, C-22), 111.0 (d, C-25), 118.5 (t, C-1), 119.0 (t, C-29), 127.6 (s, C-20), 131.6 (d, C-2), 131.8 (d, C-28), 139.8 (s, C-21), 146.8 (s, C-23), 153.7 (s, C-24), 155.3 (s, C-18), 171.1, 171.7, 171.9 (3s, C-4, C-8, C-13).

HRMS (CI): $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{10}$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 632.3057 $M_{\text{gef.}}$: 632.3022

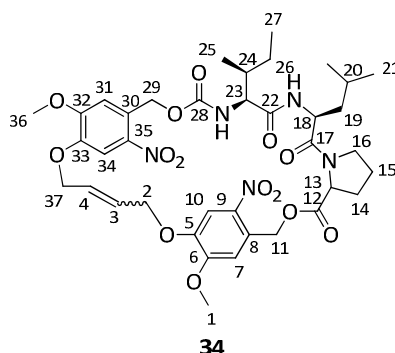
Elementaranalyse:

$\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{10}$ (632.70)	berechnet	C 58.85	H 7.01	N 8.86
	gefunden	C 58.15	H 6.78	N 8.96

cyclo-(N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-isoleucinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-prolin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester) (34)

Gemäß AAV4 wurden 150 mg (1.0 Äq, 0.181 mmol) des Diallylsubstrats **27** in 20.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 15.4 mg (0.1 Äq, 0.018 mmol) Grubbs II-Katalysator in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , $\text{DCM}:\text{DCM}:\text{MeOH}$ (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) wurden 42.1 mg (0.052 mmol, 29 %) des cyclischen Produkts **34** als Isomerenmischung in Form eines leicht bräunlichen Harzes erhalten.

[DC: SiO_2 , EE, R_f (**34**) = 0.42]



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1, evtl. *cis-trans* Isomere, Rotamere

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.62 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.3 Hz, 1.5H, 21-H_a), 0.78–0.93 (sh, 10.5 H, 21'-H_a, 21-H_b, 21'-H_b, 25-H, 27-H), 1.04–1.19 (sh, 2H, 19-H_a, 26-H_a), 1.29 (m, 1H, 19-H_b), 1.38–1.48 (sh, 2H, 20-H, 26-H_b), 1.96–2.15 (sh, 4H, 14-H_a, 15-H, 24-H), 2.30 (m, 1H, 14-H_b), 3.54 (m, 1H, 16-H_a), 3.68 (m, 1H, 16-H_b), 3.87 (s, 3H, 1-H/36-H), 3.92 (s, 3H, 1-H/36-H), 4.02 (m, 1H, 23-H), 4.54 (m, 1H, 13-H), 4.60–4.79 (sh, 5H, 2-H, 18-H, 37-H), 5.11 (d, $^3J_{\text{NH}||e,23}$ = 8.7 Hz, 1H, $\text{NH}_{||e}$), 5.18–5.82 (sh, 4H, 11-H, 29-H), 5.92–6.08 (sh, 2H, 3-H, 4-H), 6.75 (d, $^3J_{\text{NH}||e,18}$ = 8.6 Hz, 1H, $\text{NH}_{||e}$), 6.98–7.00 (sh, 2H, 7-H, 31-H), 7.64–7.65 (sh, 2H, 10-H, 34-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.3 (q, C-27), 15.7 (q, C-25), 21.5, 23.2 (2q, 21-H_a, 21-H_b), 24.5, 24.8 (d, t, C-20, C-26), 25.0 (t, C-15), 29.1 (t, C-14), 36.3 (d, C-24), 42.1 (t, C-19), 46.8 (t, C-16), 48.8 (d, C-

4. Experimenteller Teil

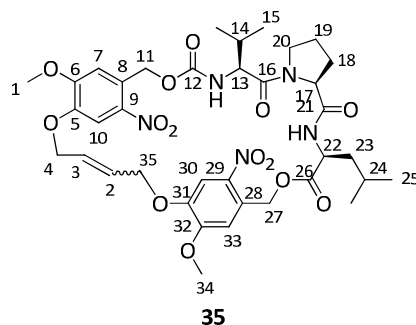
18), 56.5, 56.5 (2q, C-1, C-36), 59.0 (d, C-13), 60.6 (d, C-23), 64.0, 64.1 (2t, C-11, C-29), 68.8, 69.2 (2t, C-2, C-37), 111.1, 111.3, 111.5, 111.7 (4d, C-7, C-10, C-31, C-34), 126.7, 127.1 (2s, C-8, C-30), 128.2, 128.8 (2d, C-3, C-4), 139.7, 139.8 (2s, C-9, C-35), 146.1, 146.8 (2s, C-5, C-33), 154.3, 154.7, 155.9 (3s, C-6, C-32, C-28), 170.6, 170.7, 171.6 (3s, C-12, C-17, C-22).

HRMS (CI): C₃₈H₅₀N₅O₁₄, [M+H]⁺ M_{ber}: 800.3354 M_{gef}: 800.3365

cyclo-(N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-valinyl-(L)-prolinyl-(L)-leucin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester) (35)

Gemäß AAV4 wurden 60.0 mg (1.0 Äq, 0.074 mmol) des Diallylsubstrats **28** in 8.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 6.3 mg (0.1 Äq, 7.37 µmol) Grubbs II-Katalysator in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) konnten 28.9 mg (0.037 mmol, 50 %) des cyclischen Produkts **35** als Isomerenmischung in Form eines gelben Harzes isoliert werden.

[DC: SiO₂, EE, R_f (**35**) = 0.34]



evtl. Isomeregemisch (*cis/trans*, Rotamere)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.71–1.02 (sh, 12H, 15-H, 25-H), 1.35–1.50 (sh, 3H, 23-H, 24-H), 1.78–2.01 (sh, 4H, 14-H, 18-H_a, 19-H), 2.35 (m, 1H, 18-H_b), 3.65 (m, 2H, 20-H), 3.89–4.02 (sh, 6H, 1-H, 34-H), 4.18 (m, 0.5H, 13-H_a), 4.33–4.38 (sh, 1H, 13-H_b, 17-H_a), 4.55–4.82 (sh, 5.5H, 4-H, 17-H_b, 22-H, 35-H), 5.12–5.85 (sh, 5H, 11-H, 27-H, NH_{Val}), 5.90–6.23 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.81–7.06 (sh, 2H, 7-H, 33-H), 7.34–7.73 (sh, 3H, 10-H, 33-H, NH_{Leu}).

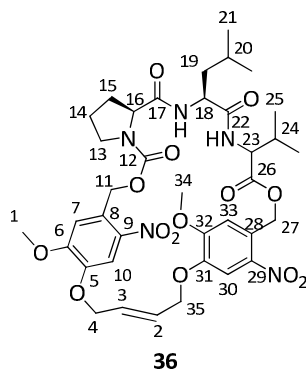
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.4, 19.5 (2q, C-15_a, C-15_b), 21.8, 22.8 (2q, 25-H_a, 25-H_b), 24.7–25.3 (sh, C-19, C-24), 26.1–27.0 (sh, C-18), 30.3–31.4 (sh, C-14), 40.5–41.2 (sh, C-23), 47.8 (t, C-20), 51.3–51.6 (sh, C-22), 56.3–56.8 (sh, C-1, C-34), 57.6–58.5 (sh, C-13), 59.6–61.6 (sh, C-17), 63.8–64.3 (sh, C-11, C-27), 67.8–70.1 (sh, C-4, C-35), 107.8–111.8 (sh, C-7, C-10, C-30, C-33), 127.6–131.9 (sh, C-2, C-3, C-8, C-28), 139.3, 139.4 (2s, C-9, C-29), 146.6, 147.0 (2s, C-5, C-31), 153.6, 154.1, 154.3 (2s, C-6, C-12, C-32), 170.3–171.6 (sh, C-16, C-21, C-26).

HRMS (CI): C₃₇H₄₈N₅O₁₄, [M+H]⁺ M_{ber}: 786.3198 M_{gef}: 786.3218

cyclo-(N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leuciny-(D/L)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester) (36)

Gemäß AAV4 wurden 45.0 mg (1.0 Äq, 0.055 mmol) des Diallylsubstrats **29** in 5.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 4.7 mg (0.1 Äq, 5.53 µmol) Grubbs II-Katalysator in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) wurden 28.3 mg (0.036 mmol, 65 %) des cyclischen Produkts **36** als leicht bräunliches Harz erhalten.

[DC: SiO₂, EE, R_f (**36**) = 0.42]



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1, evtl. *cis-trans* Isomere, Rotamere

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.94–1.05 (sh, 12H, 21-H, 25-H), 1.61–2.38 (sh, 8H, 14-H, 15-H, 19-H, 20-H, 24-H), 3.18–3.58 (sh, 2H, 13-H), 3.94–4.03 (sh, 6H, 1-H, 34-H), 4.26–4.75 (sh, 6H, 16-H, 18-H, 23-H, 4-H/35-H, 11-H/27-H), 4.83–5.03 (sh, 2H, 4-H/35-H), 5.27–5.55 (sh, 2H, 11-H/27-H), 5.96–6.02 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.19 (m, 1H, 11-H/27-H), 6.57–7.05 (sh, 3H, 7-H, 33-H, NH_{Leu}), 7.22–7.70 (sh, 3H, 10-H, 30-H, NH_{Val}).

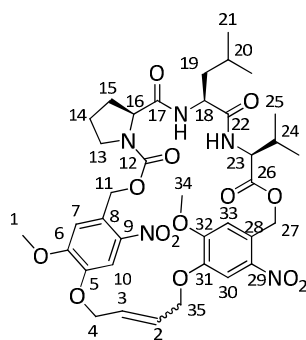
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.9, 19.3 (2q, C-25_a, C-25_b), 20.7, 23.4 (2q, C-21_a, C-21_b), 24.4 (t, C-14), 25.3 (d, C-20), 30.2 (t, C-15), 30.4 (d, C-24), 39.5 (t, C-19), 46.9 (t, C-13), 51.5 (d, C-18), 56.8, 56.8 (2q, C-1, C-34), 57.6 (d, C-23), 61.4 (d, C-16), 62.6, 66.5 (2t, C-11, C-27), 67.7, 68.1 (2t, C-4, C-35), 109.0 (d, C-7/33), 109.7, 110.6 (2d, C-10, C-30), 113.7 (d, C-7/33), 125.7, 127.2 (2s, C-8, C-28), 131.3, 131.8 (2d, C-2, C-3), 137.5, 138.8 (2s, C-9, C-29), 144.7, 146.4 (2s, C-5, C-31), 154.0, 154.4 (2s, C-6, C-32), 155.6 (s, C-12), 171.0, 171.4, 172.0 (3s, C-17, C-22, C-26).

cyclo-(N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leuciny-(L)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester) (36a)

Gemäß AAV4 wurden 66.0 mg (1.0 Äq, 0.073 mmol) des Diallylsubstrats **29a** in 5.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 6.9 mg (0.1 Äq, 8.11 µmol) Grubbs II-Katalysator in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) wurden 28.4 mg (0.036 mmol, 49 %) des cyclischen Produkts **36a** als leicht bräunliches Harz erhalten.

[DC: SiO₂, EE, R_f (**36a**) = 0.42]

4. Experimenteller Teil



36a

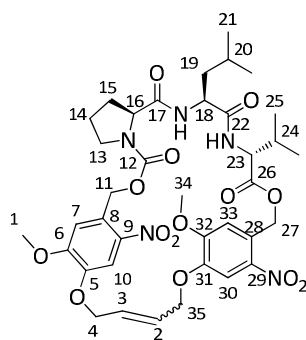
evtl. Isomerengemisch (*cis/trans*, Rotamere)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.63–0.99 (sh, 12H, 21-H, 25-H), 1.34–2.32 (sh, 8H, 14-H, 15-H, 19-H, 20-H, 24-H), 3.54 (m, 2H, 13-H), 3.93–3.98 (sh, 6H, 1-H, 34-H), 4.26–4.92 (sh, 6H, 16-H, 18-H, 23-H, 4-H/35-H, 11-H/27-H), 5.09–5.54 (sh, 4H, 4-H/35-H, 11-H/27-H), 5.84–6.05 (sh, 3H, 2-H, 3-H, 11-H/27-H), 6.31–6.79 (sh, 2H, NH_{Leu} , NH_{Val}), 6.87–6.91 (sh, 2H, 7-H, 33-H), 7.50–7.70 (sh, 2H, 10-H, 30-H).

cyclo-(N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinylnyl-(D)-valin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester) (36b)

Gemäß AAV4 wurden 50.0 mg (1.0 Äq, 0.061 mmol) des Diallylsubstrats **29b** in 3.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 5.0 mg (0.1 Äq, 5.84 μmol) Grubbs II-Katalysator in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) wurden 25.0 mg (0.032 mmol, 54 %) des cyclischen Produkts **36b** als gelbes Harz erhalten. Umkristallisation aus Ethanol/Dichlormethan ergab gelbe Kristalle vom Schmelzpunkt 165–167 °C.

[DC: SiO_2 , EE, R_f (**36b**) = 0.44]



36b

evtl. Isomerengemisch (*cis/trans*, Rotamere)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.92 (d, $^3J_{21a,20} = 6.6$ Hz, 3H, 21- H_a), 0.97 (d, $^3J_{21b,20} = 6.6$ Hz, 3H, 21- H_b), 1.03 (d, $^3J_{25a,24} = 7.2$ Hz, 3H, 25- H_a), 1.05 (d, $^3J_{25b,24} = 7.2$ Hz, 3H, 25- H_b), 1.58 (m, 1H, 20-H), 1.72–1.90 (sh, 3H, 19- H_a , 14-H), 1.98 (m, 1H, 19- H_b), 2.09 (m, 1H, 15- H_a), 2.22–2.40 (sh, 2H, 24-H, 15- H_b), 3.15 (m, 1H, 13- H_a), 3.30 (m, 1H, 13- H_b), 3.93, 4.01 (2s, 6H, 1-H, 34-H), 4.37 (dd, $^3J_{16,15a} = 8.9$ Hz, $^3J_{16,15b} = 4.2$ Hz, 1H, 16-H), 4.68 (d, $^2J_{11a,27a/27b,11b} = 12.2$ Hz, 1H, 11- $\text{H}_a/27\text{-H}_a$), 4.64–4.75 (sh, 4H, 4-H/35-H, 23-H, 18-H), 4.99 (m, 2H, 4-H/35-H), 5.27 (d, $^2J_{11b,27b/27a,11a} = 16.2$ Hz, 1H, 11- $\text{H}_b/27\text{-H}_b$), 5.52 (d, $^2J_{11b,27b/27a,11a} = 16.3$ Hz, 1H, 11- $\text{H}_b/27\text{-H}_b$), 5.97–6.03 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.19 (d, $^2J_{11a,27a/27b,11b} = 12.3$ Hz, 1H, 11- $\text{H}_a/27\text{-H}_a$), 6.55 (d, $^3J_{\text{NH},18} = 9.2$ Hz, 1H, NH_{Leu}), 6.73, 6.78 (2s, 2H, 7-H, 33-H), 7.20, 7.22 (2s, 2H, 10-H, 30-H), 7.54 (d, $^3J_{\text{NH},23} = 9.5$ Hz, 1H, NH_{Val}).

4. Experimenteller Teil

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.9, 19.3 (2q, C-25_a, C-25_b), 20.8, 23.4 (2q, C-21_a, C-21_b), 24.4 (t, C-14), 25.4 (d, C-20), 30.2 (t, C-15), 30.5 (d, C-24), 39.6 (t, C-19), 46.9 (t, C-13), 51.5 (d, C-18), 56.8, 56.9 (2q, C-1, C-34), 57.6 (d, C-23), 61.5 (d, C-16), 62.6, 66.6 (2t, C-11, C-27), 67.8, 68.1 (2t, C-4, C-35), 109.0 (d, C-7/33), 109.7, 110.6 (2d, C-10, C-30), 113.8 (d, C-7/33), 125.8, 127.3 (2s, C-8, C-28), 131.3, 131.9 (2d, C-2, C-3), 137.5, 138.9 (2s, C-9, C-29), 144.8, 146.5 (2s, C-5, C-31), 154.1, 154.5 (2s, C-6, C-32), 155.6 (s, C-12), 171.0, 171.4, 172.1 (3s, C-17, C-22, C-26).

HRMS (CI): $\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_{14}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 786.3198 M_{gef} : 786.3214

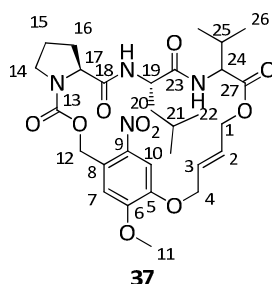
Elementaranalyse:

$\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_{14}$ (785.81)	berechnet	C 56.55	H 6.03	N 8.91
	gefunden	C 56.81	H 5.74	N 8.49

cyclo-(*N*-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-valinalylester) (**37**)

Gemäß AAV4 wurden 100 mg (1.0 Äq, 0.158 mmol) des Diallylsubstrats **32** in 6.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 13.4 mg (0.1 Äq, 0.016 mmol) Grubbs II-Katalysator in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) wurden 48.0 mg (0.079 mmol, 50 %) des cyclischen Produkts **37** als braunes Öl erhalten.

[DC: SiO_2 , EE, R_f (**37**) = 0.51]



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1, evtl. *cis-trans* Isomere, Rotamere

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.56–0.91 (sh, 12H, 22-H, 26-H), 1.44–1.65 (sh, 3H, 20-H, 21-H), 1.84–2.31 (sh, 5H, 15-H, 16-H, 25-H), 3.59 (m, 2H, 14-H), 3.92–4.27 (sh, 4H, 11-H, 24-H), 4.27–6.39 (sh, 11H, 1-H, 2-H, 3-H, 4-H, 12-H, 17-H, 19-H, NH), 6.64–7.02 (sh, 2H, 7-H, NH), 7.73 (m, 1H, 10-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.2–21.6 (sh, C-22, C-26), 23.8, 25.0 (t, d, C-15, C-21), 29.8, 31.4 (t, d, C-16, C-25), 39.5, 42.2 (2t, C-20, C-20'), 51.3 (d, C-19), 56.4, 56.7 (2q, C-11, C-11'), 58.5 (d, C-24), 61.1 (d, C-17), 64.3–72.2 (sh, C-1, C-4, C-12), 108.9, 110.2 (2d, C-10, C-10'), 113.8, 116.4 (2d, C-7, C-7'), 124.4 (s, C-8), 128.2–131.8 (sh, C-2, C-3), 138.9 (s, C-9), 145.1 (s, C-5), 154.5 (s, C-6), 155.2 (s, C-13), 170.7–172.5 (sh, C-18, C-23, C-27).

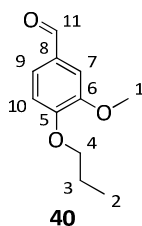
HRMS (CI): $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_{10}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 605.2823 M_{gef} : 605.2817

4. Experimenteller Teil

O-Propylvanillin (40)

3.04 g (1.0 Äq, 20.0 mmol) Vanillin, 2.76 g (1.0 Äq, 20.0 mmol) Kaliumcarbonat und 2.91 ml (1.6 Äq, 32.0 mmol) 1-Brompropan wurden nacheinander in 10 ml *abs.* Ethanol gelöst bzw. suspendiert und 48 h unter Rückfluss erhitzt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, das Filtrat eingengt, mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und die wässrige Phase viermal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und bei vermindertem Druck eingengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (24 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 3.47 g (17.9 mmol, 89 %) eines gelblichen Öls (**40**) erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**40**) = 0.51]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.04 (t, ³J_{2,3} = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.89 (tq, ³J_{3,4} ≈ ³J_{3,2} ≈ 7.2 Hz, 2H, 3-H), 3.91 (s, 3H, 1-H), 4.05 (t, ³J_{4,3} = 6.8 Hz, 2H, 4-H), 6.95 (d, ³J_{10,9} = 8.1 Hz, 1H, 10-H), 7.39–7.43 (sh, 2H, 7-H, 9-H), 9.82 (s, 1H, 11-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.3 (q, C-2), 22.2 (t, C-3), 56.0 (q, C-1), 70.5 (t, C-4), 109.2 (d, C-7/9), 111.3 (d, C-10), 126.7 (d, C-7/9), 129.8 (s, C-8), 149.8 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 190.8 (d, C-11).

HRMS (CI): C₁₁H₁₅O₃, [M+H]⁺ M_{ber.}: 195.1021 M_{gef.}: 195.1011

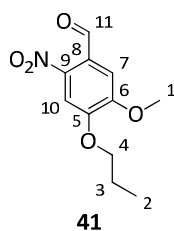
Elementaranalyse:

C ₁₁ H ₁₄ O ₃	berechnet	C 68.02	H 7.27	N -
(194.23)	gefunden	C 67.79	H 7.42	N -

5-Methoxy-2-nitro-4-propoxybenzaldehyd (41)

Zu einer Lösung aus 2.16 g (1.25 Äq, 21.4 mmol) Kaliumnitrat in 17 ml Trifluoressigsäure wurden 3.32 g (1.0 Äq, 17.1 mmol) O-Propylvanillin (**40**) in 17 ml Trifluoressigsäure bei 0 °C langsam zugetropft und 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert (200 mbar, 120 °C), der Rückstand in Essigsäureethylester aufgenommen und dreimal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend eingengt. Das ausgefallene Rohprodukt wurde mit Diethylether und *n*-Pentan gewaschen. Es wurden 3.94 g einer Mischung aus Nitro-Produkt **41** (12.4 mmol, 72 %) und *ipso*-Substitutionsprodukt **42** (3.84 mmol, 25 %) isoliert, beide als gelbe Feststoffe, wobei die Produkte als nicht-trennbare Mischung vorlagen.

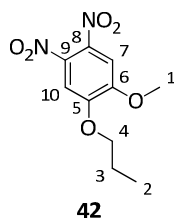
[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**41**) = 0.54, R_f (**42**) = 0.54]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.08 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.93 (tq, $^3J_{3,4} \approx ^3J_{3,2} \approx 7.2$ Hz, 2H, 3-H), 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.12 (t, $^3J_{4,3}$ = 6.8 Hz, 2H, 4-H), 7.41 (s, 1H, 7-H), 7.59 (s, 1H, 10-H), 10.44 (s, 1H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.3 (q, C-2), 22.1 (t, C-3), 56.7 (q, C-1), 71.3 (t, C-4), 107.9 (d, C-10), 109.8 (d, C-7), 125.2 (s, C-8), 143.9 (s, C-9), 152.0 (s, C-5), 153.4 (s, C-6), 187.8 (d, C-11).

HRMS (CI): $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_5$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 239.0794 M_{gef} : 239.0797



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.08 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.92 (tq, $^3J_{3,4} \approx ^3J_{3,2} \approx 7.2$ Hz, 2H, 3-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.09 (t, $^3J_{4,3}$ = 6.7 Hz, 2H, 4-H), 7.30 (s, 1H, 7-H), 7.33 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.3 (q, C-2), 22.1 (t, C-3), 57.0 (q, C-1), 71.7 (t, C-4), 107.0, 107.7 (2d, C-7, C-10), 136.3, 136.8 (2s, C-8, C-9), 151.6, 152.0 (2s, C-5, C-6).

HRMS (CI): $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_6$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 257.0774 M_{gef} : 257.0773

Elementaranalyse (42):

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$	berechnet	C 46.88	H 4.72	N 10.93
(256.21)	gefunden	C 47.30	H 4.51	N 10.87

Elementaranalyse für die Mischung 41:42 = 3:1

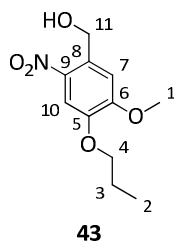
$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_5 / \text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$	berechnet	C 53.03	H 5.28	N 7.19
(239.23/256.21)	gefunden	C 52.84	H 4.99	N 7.01

5-Methoxy-2-nitro-4-propoxybenzylalkohol (hAMNBol, 43)

718 mg (1.0 Äq, 3.00 mmol) 5-Methoxy-2-nitro-4-propoxybenzaldehyd (**41**) wurden in 10 ml Ethanol suspendiert und es wurden 170 mg (1.5 Äq, 4.50 mmol) NaBH_4 bei 0 °C portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Diethylether verdünnt und vorsichtig mit ges. NH_4Cl -Lösung gequenchet. Nach zweimaliger Extraktion mit Diethylether wurde mit ges. NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (24 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) gereinigt und es konnten 679 mg (2.81 mmol, 94 %) des Alkohols **43** als gelber Feststoff erhalten werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**43**) = 0.32]

4. Experimenteller Teil



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.06 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.90 (tq, $^3J_{3,4} \approx ^3J_{3,2} \approx 7.2$ Hz, 2H, 3-H), 2.65 (t, $^3J_{\text{OH},11}$ = 6.6 Hz, 1H, OH), 3.99 (s, 3H, 1-H), 4.04 (t, $^3J_{4,3}$ = 6.8 Hz, 2H, 4-H), 4.95 (d, $^3J_{11,\text{OH}}$ = 6.5 Hz, 2H, 11-H), 7.15 (s, 1H, 7-H), 7.70 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.4 (q, C-2), 22.2 (t, C-3), 56.4 (q, C-1), 62.9 (t, C-11), 70.9 (t, C-4), 109.3 (d, C-10), 111.2 (d, C-7), 131.9 (s, C-8), 139.7 (s, C-9), 147.5 (s, C-5), 154.2 (s, C-6).

HRMS (CI): $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_5$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 241.0950 M_{gef} : 241.0955

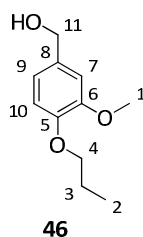
Elementaranalyse:

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_5$	berechnet	C 54.77	H 6.27	N 5.81
(241.24)	gefunden	C 54.96	H 6.07	N 5.80

3-Methoxy-4-propoxybenzylalkohol (**46**), 2-Methoxy-4-methyl-1-propoxybenzol (**48**)

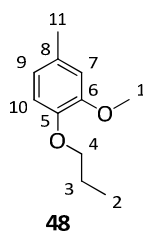
Gemäß AAV5 wurden 100 mg (1.0 Äq, 0.520 mmol) *O*-Allylvanillin (**3**) in 0.5 ml Methanol gelöst, mit 11.1 mg Pd/C (10 %) versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre hydriert. Nach einer Reaktionszeit von 6 h wurde aufgearbeitet und die Produkte wurden säulenchromatographisch getrennt. Es wurde eine Mischung isoliert, deren Hauptprodukte 3-Methoxy-4-propoxybenzylalkohol (**46**, 43.9 mg, 0.224 mmol, 43 %) und 2-Methoxy-4-methyl-1-propoxybenzol (**48**, 16.9 mg, 0.094 mmol, 18 %) in reiner Form isoliert werden konnten.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**46**) = 0.27, R_f (**48**) = 0.62]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.04 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.86 (tq, $^3J_{3,4} \approx ^3J_{3,2} \approx 7.2$ Hz, 2H, 3-H), 2.43 (s, 1H, OH), 3.86 (s, 3H, 1-H), 3.97 (t, $^3J_{4,3}$ = 6.9 Hz, 2H, 4-H), 4.59 (s, 2H, 11-H), 6.82–6.87 (sh, 2H, 7-H, 9-H), 6.92 (m, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.2 (q, C-2), 22.3 (t, C-3), 55.7 (q, C-1), 64.9 (t, C-11), 70.5 (t, C-4), 110.8 (d, C-7), 112.7 (d, C-10), 119.2 (d, C-9), 133.7 (s, C-8), 147.9 (s, C-5), 149.4 (s, C-6).



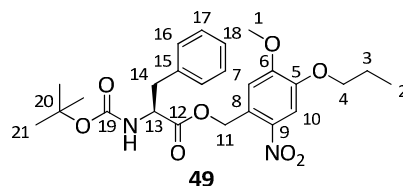
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.03 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.85 (tq, $^3J_{3,4} \approx ^3J_{3,2} \approx 7.2$ Hz, 2H, 3-H), 2.30 (s, 3H, 11-H), 3.85 (s, 3H, 1-H), 3.95 (t, $^3J_{4,3}$ = 6.9 Hz, 2H, 4-H), 6.67–6.70 (sh, 2H, 7-H, 9-H), 6.84 (m, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.4 (q, C-2), 20.9 (q, C-11), 22.5 (t, C-3), 55.9 (q, C-1), 70.7 (t, C-4), 112.9 (d, C-7), 113.3 (d, C-10), 120.8 (d, C-9), 130.4 (s, C-8), 146.3 (s, C-5), 149.2 (s, C-6).

Boc-(L)-Phenylalanin-(5-methoxy-2-nitro-4-propoxybenzyl)ester (49)

Gemäß AAV5 wurden 100 mg (1.0 Äq, 0.206 mmol) des AMNB-geschützten Boc-(L)-Phenylalanins **8** in 1.0 ml Methanol mit 4.4 mg (0.02 Äq, 4.11 μmol) Pd/C (10 %) und 2.6 μl (0.075 Äq, 0.015 mmol) Diphenylsulfid unter Wasserstoffatmosphäre zur Reaktion gebracht. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 87.0 mg (0.178 mmol, 87 %) des hydrierten Produkts Boc-(L)-Phe-OhAMNB (**49**) als gelber Feststoff erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE, R_f (**49**) = 0.55]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.07 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.39 (s, 9H, 21-H), 1.90 (qt, $^3J_{3,2}$ = 7.3 Hz, $^3J_{3,4}$ = 6.9 Hz, 2H, 3-H), 3.13 (m, 2H, 14-H), 3.95 (s, 3H, 1-H), 4.04 (t, $^3J_{4,3}$ = 6.7 Hz, 2H, 4-H), 4.65 (m, 1H, 13-H), 4.95 (d, $^3J_{\text{NH},13}$ = 7.9 Hz, 1H, NH), 5.44 (m, 2H, 11-H), 6.96 (s, 1H, 7-H), 7.14 (m, 2H, 16-H/17-H), 7.23–7.28 (sh, 3H, 16-H/17-H, 18-H), 7.71 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.4 (q, C-2), 22.2 (t, C-3), 28.3 (q, C-21), 38.2 (t, C-14), 54.7 (d, C-13), 56.6 (q, C-1), 63.9 (t, C-11), 70.9 (t, C-4), 80.1 (s, C-20), 109.2 (d, C-10), 110.3 (d, C-7), 126.5 (s, C-8), 127.2 (d, C-18), 128.7, 129.2 (2d, C-16, C-17), 135.7 (s, C-15), 139.6 (s, C-9), 146.7 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 155.2 (s, C-19), 171.8 (s, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 488.2159 M_{gef} : 488.2149

Elementaranalyse:

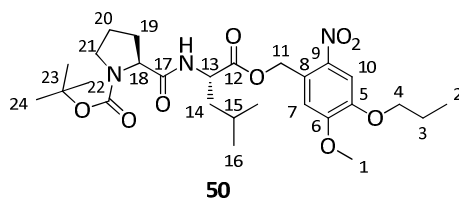
$\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$ (488.53)	berechnet	C 61.46	H 6.60	N 5.73
	gefunden	C 61.33	H 6.52	N 5.70

Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leucin-(5-methoxy-2-nitro-4-propoxybenzyl)ester (50)

Gemäß AAV5 wurden 80.0 mg (1.0 Äq, 0.146 mmol) des AMNB-geschützten Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leucins **16** in 1.0 ml Methanol mit 3.1 mg (0.02 Äq, 2.91 μmol) Pd/C (10 %) und 2.4 μl (0.1 Äq, 0.015 mmol) Diphenylsulfid unter Wasserstoffatmosphäre zur Reaktion gebracht. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 69.9 mg (0.127 mmol, 87 %) des hydrierten Produkts Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-OhAMNB (**50**) als gelber Feststoff erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE, R_f (**50**) = 0.33]

4. Experimenteller Teil

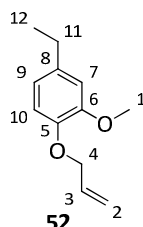


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.93 (m, 6H, 16-H), 1.05 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.4 Hz, 3H, 2-H), 1.45 (s, 9H, 24-H), 1.62–1.94 (sh, 8H, 3-H, 14-H, 15-H, 19-H_a, 20-H), 2.35 (m, 1H, 19-H_b), 3.39 (m, 2H, 21-H), 3.99–4.05 (sh, 5H, 1-H, 4-H), 4.28 (m, 1H, 18-H), 4.62 (m, 1H, 13-H), 5.57 (m, 2H, 11-H), 6.37 (bs, 1H, NH), 7.06 (s, 1H, 7-H), 7.71 (s, 1H, 10-H).

O-Allyl-4-ethylguajakol (**52**)

924 mg (1.0 Äq, 6.07 mmol) 4-Ethylguajakol wurden in 5.0 ml *abs.* Ethanol gelöst und es wurden 839 mg (1.0 Äq, 6.07 mmol) Kaliumcarbonat zugegeben. Die Suspension färbte sich leicht bläulich und es wurden 0.578 ml (1.1 Äq, 6.68 mmol) Allylbromid zugegeben. Während die dunkelgrüne Reaktionsmischung 4 h refluxiert wurde, färbte sie sich beige und wurde anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat wurde eingeeengt. Das Konzentrat wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , PE:EE 9:1) gereinigt. Es wurden 1.12 g (5.81 mmol, 96 %) des allylierten Produkts **52** als farbloses Öl isoliert.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**52**) = 0.58]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.23 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.6 Hz, 3H, 12-H), 2.60 (q, $^3J_{11,12}$ = 7.6 Hz, 2H, 11-H), 3.87 (s, 3H, 1-H), 4.59 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 5.27 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.39 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_c), 6.09 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.69–6.74 (sh, 2H, 7-H, 9-H), 6.81 (d, $^3J_{10,9}$ = 8.1 Hz, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 15.7 (q, C-12), 28.4 (t, C-11), 55.9 (q, C-1), 70.1 (t, C-4), 111.8 (d, C-7), 113.7 (d, C-10), 117.7 (d, C-2), 119.4 (d, C-9), 133.7 (d, C-3), 137.4 (s, C-8), 146.0 (s, C-5), 149.3 (s, C-5).

HRMS (CI): $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 192.1150 $M_{\text{gef.}}$: 192.1175

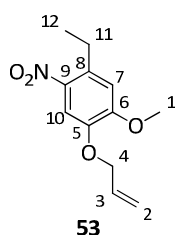
Elementaranalyse:

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2$	berechnet	C 74.97	H 8.39	N -
(192.25)	gefunden	C 74.59	H 8.38	N -

1-Allyloxy-4-ethyl-2-nitrobenzol (53)

Zu einer Lösung aus 481 mg (0.90 Äq, 4.76 mmol) Kaliumnitrat in 5.0 ml Trifluoressigsäure wurden 1.02 g (1.0 Äq, 5.29 mmol) *O*-Allyl-4-ethylguajakol (**52**) in 5.0 ml Trifluoressigsäure bei 15 °C (Badtemperatur, Eis/Wasser-Kühlung) langsam zugetropft und 10 min bei dieser Temperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert (200 mbar, 120 °C), der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend eingeeengt. Das schwarze, ölige Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (SiO₂, PE:EE 9:1) aufgereinigt und lieferte 872 mg (3.68 mmol, 77 %) des Produkts **53** als gelben Feststoff sowie 107 mg (0.380 mmol, 8 %) des Dinitroprodukts **53b** als orangefarbenen Feststoff.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**53**) = 0.57, R_f (**53b**) = 0.38]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.28 (t, ³J_{12,11} = 7.4 Hz, 3H, 12-H), 2.96 (q, ³J_{11,12} = 7.4 Hz, 2H, 11-H), 3.96 (s, 3H, 1-H), 4.65 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.34 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.45 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.73 (s, 1H, 7-H), 7.60 (s, 1H, 10-H).

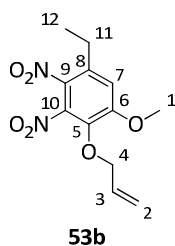
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 15.0 (q, C-12), 27.0 (t, C-11), 56.3 (q, C-1), 70.1 (t, C-4), 110.0 (d, C-10), 112.7 (d, C-7), 118.9 (t, C-2), 132.2 (d, C-3), 134.8 (s, C-8), 140.9 (s, C-9), 145.8 (s, C-5), 153.5 (s, C-6).

HRMS (CI): C₁₂H₁₅NO₄, [M]⁺ M_{ber}: 237.1001 M_{gef}: 237.1000

Elementaranalyse:

C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	berechnet	C 60.75	H 6.37	N 5.90
(237.25)	gefunden	C 61.15	H 6.01	N 5.60

Nebenprodukt:



4. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.29 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.5 Hz, 3H, 12-H), 2.78 (q, $^3J_{11,12}$ = 7.5 Hz, 2H, 11-H), 3.98 (s, 3H, 1-H), 4.65 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 6.2 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 5.27 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.3 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.34 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.1 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.99 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.1 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.3 Hz, $^3J_{3,4}$ = 6.2 Hz, 1H, 3-H), 6.86 (s, 1H, 7-H).

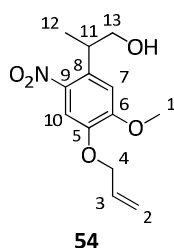
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 14.9 (q, C-12), 25.8 (t, C-11), 56.7 (q, C-1), 75.7 (t, C-4), 113.7 (d, C-7), 119.6 (t, C-2), 132.3 (d, C-3), 135.3, 135.6 (2s, C-8, C-9/C-10), 135.6 (s, C-8), 138.9, 155.9 (2s, C-5, C-6). C-9/C-10 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 282.0852 $M_{\text{gef.}}$: 282.0851

2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propanol (AMNPPol, 54)

Zu einer Lösung aus 258 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) 1-(Allyloxy)-4-ethyl-2-methoxy-5-nitrobenzol (**53**) in 0.7 ml *abs.* DMSO wurden 75.0 mg (2.5 Äq, 2.50 mmol) Paraformaldehyd gegeben. Anschließend wurden unter Wasserkühlung (20 °C) portionsweise 112 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Kalium-*tert*-butanolat zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 20 °C (Wasserkühlung) gerührt, bevor sie in eine ges. NaCl-Lösung geschüttet und mit Essigsäureethylester extrahiert wurde. Nach Waschen mit ges. NaCl-Lösung und Trocknen über Na_2SO_4 wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und das ölige Rohprodukt anschließend säulenchromatographisch (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) gereinigt. Es konnten 251 mg (0.939 mmol, 94 %) des Produkts **54** als dunkel-orangefarbenes Öl isoliert werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**54**) = 0.30]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.32 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.5 Hz, 3H, 12-H), 1.67 (bs, 1H, OH), 3.74–3.81 (sh, 3H, 11-H, 13-H), 3.95 (s, 3H, 1-H), 4.64 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 5.34 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.44 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.89 (s, 1H, 7-H), 7.44 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.6 (q, C-12), 36.1 (d, C-11), 56.2 (q, C-1), 67.9 (t, C-13), 70.1 (t, C-4), 109.6 (d, C-7), 109.7 (d, C-10), 118.9 (t, C-2), 132.1 (d, C-3), 133.5 (s, C-8), 142.5 (s, C-9), 146.1 (s, C-5), 153.3 (s, C-6).

HRMS (CI): $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_5$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 267.1107 $M_{\text{gef.}}$: 267.1099

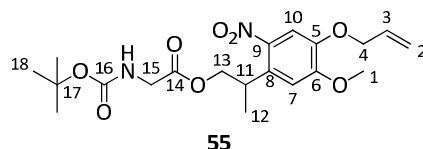
Elementaranalyse:

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_5$	berechnet	C 58.47	H 6.41	N 5.24
(267.28)	gefunden	C 58.24	H 6.50	N 5.59

Boc-Glycin-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester (55)

Gemäß AAV1 wurden 131 mg (1.0 Äq, 0.748 mmol) Boc-Glycin, 200 mg (1.0 Äq, 0.748 mmol) AMNPPol (**54**), 45.7 mg (0.5 Äq, 0.374 mmol) DMAP, 0.196 ml (1.5 Äq, 1.12 mmol) DIPEA und 408 mg (1.7 Äq, 1.27 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 304 mg (0.716 mmol, 96 %) eines orangefarbenen Öls (**55**) isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**55**) = 0.43]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.33 (d, ³J_{12,11} = 7.0 Hz, 3H, 12-H), 1.41 (s, 9H, 18-H), 3.80 (m, 2H, 13-H), 3.91–3.94 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.29 (d, ³J_{15,NH} = 6.6 Hz, 2H, 15-H), 4.63 (ddd, ³J_{4,3} = 5.6 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 4.98 (bs, 1H, NH), 5.33 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.44 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.05 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.81 (s, 1H, 7-H), 7.44 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.6 (q, C-12), 28.2 (q, C-18), 32.9 (d, C-11), 42.3 (t, C-15), 56.3 (q, C-1), 68.8 (t, C-13), 70.0 (t, C-4), 79.9 (s, C-17), 109.5 (d, C-7), 109.7 (d, C-10), 119.0 (t, C-2), 131.9 (s, C-8), 132.0 (d, C-3), 142.1 (s, C-9), 146.2 (s, C-5), 153.2 (s, C-6), 155.6 (s, C-16), 170.2 (s, C-14).

HRMS (CI): C₂₀H₂₈N₂O₈, [M]⁺ M_{ber.}: 424.1846 M_{gef.}: 424.1846

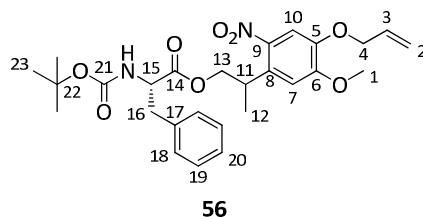
Elementaranalyse:

C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₈ (424.45)	berechnet	C 56.59	H 6.65	N 6.60
	gefunden	C 56.52	H 6.56	N 6.67

Boc-(L)-Phenylalanin-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester (56)

Gemäß AAV1 wurden 99.0 mg (1.0 Äq, 0.374 mmol) Boc-(L)-Phenylalanin, 100 mg (1.0 Äq, 0.374 mmol) AMNPPol (**54**), 22.9 mg (0.5 Äq, 0.187 mmol) DMAP, 0.196 ml (3.0 Äq, 1.12 mmol) DIPEA und 204 mg (1.7 Äq, 0.636 mmol) TBTU in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 164 mg (0.318 mmol, 85 %) eines gelblichen Öls (**56**) als Diastereomeregemisch (1:1) erhalten werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**56**) = 0.55]



4. Experimenteller Teil

Auswertung für Diastereomerenmischung 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.28 (d, $^3J_{12,11}$ = 4.6 Hz, 1.5H, 12-H), 1.30 (d, $^3J_{12,11}$ = 4.6 Hz, 1.5H, 12'-H), 1.40 (s, 9H, 23-H), 2.98 (m, 2H, 16-H), 3.87–3.94 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.20 (m, 1H, 13-H), 4.31 (m, 1H, 13'-H), 4.51 (m, 1H, 15-H), 4.62 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.6 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 1H, 4-H), 4.64 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.6 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 1H, 4'-H), 4.89 (bs, 1H, NH), 5.31 (m, 0.5H, 2-H_t), 5.34 (m, 0.5H, 2'-H_t), 5.42 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 0.5H, 2-H_c), 5.44 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 0.5H, 2'-H_c), 6.04 (m, 1H, 3-H), 6.79 (s, 0.5H, 7-H), 6.81 (s, 0.5H, 7'-H), 7.03 (m, 2H, 18-H), 7.20–7.27 (sh, 3H, 19-H, 20-H), 7.45 (s, 0.5H, 10-H), 7.47 (s, 0.5H, 10'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.7 (q, C-12), 28.3 (q, C-23), 32.9 (d, C-11), 38.2 (t, C-16), 54.5 (d, C-15), 56.3 (q, C-1), 69.1 (t, C-13), 70.1 (t, C-4), 79.9 (s, C-22), 109.6 (d, C-7), 109.8 (d, C-10), 119.0 (t, C-2), 127.0, 128.5, 129.2 (3d, C-18, C-19, C-20), 132.0, 132.0 (d, s, C-3, C-8), 135.8 (s, C-17), 142.1 (s, C-9), 146.3 (s, C-5), 153.3 (s, C-6), 154.3 (s, C-21), 171.1 (s, C-14).

HRMS (CI): $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 514.2315 M_{gef} : 514.2329

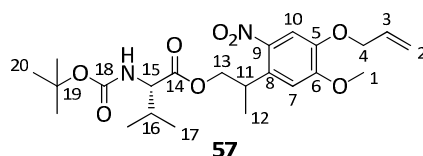
Elementaranalyse:

$\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$	berechnet	C 63.02	H 6.66	N 5.44
(514.57)	gefunden	C 63.27	H 6.39	N 5.42

Boc-(L)-Valin-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester (57)

Gemäß AAV1 wurden 163 mg (1.0 Äq, 0.748 mmol) Boc-(L)-Valin, 200 mg (1.0 Äq, 0.748 mmol) AMNPPol (**54**), 45.7 mg (0.5 Äq, 0.374 mmol) DMAP, 0.196 ml (1.5 Äq, 1.12 mmol) DIPEA und 360 mg (1.5 Äq, 1.12 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) konnten 321 mg (0.688 mmol, 92 %) eines orangefarbenen Öls (**57**) als Diastereomerenmischung (1:1) erhalten werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**57**) = 0.60]



Auswertung für Diastereomerenmischung 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.75 (d, $^3J_{17a,16}$ = 6.9 Hz, 1.5H, 17-H_a), 0.78 (d, $^3J_{17a,16}$ = 6.9 Hz, 1.5H, 17'-H_a), 0.87 (d, $^3J_{17b,16}$ = 6.7 Hz, 1.5H, 17-H_b), 0.89 (d, $^3J_{17b,16}$ = 6.7 Hz, 1.5H, 17'-H_b), 1.35 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.9 Hz, 1.5H, 12-H), 1.36 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.9 Hz, 1.5H, 12'-H), 1.42 (s, 4.5H, 20-H), 1.43 (s, 4.5H, 20'-H), 2.00 (m, 1H, 16-H), 3.93–3.98 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.14–4.41 (sh, 3H, 13-H, 15-H), 4.64 (m, 2H, 4-H), 4.93 (d, $^3J_{\text{NH},15}$ = 8.2 Hz, 1H, NH), 5.34 (m, 1H, 2-H_t), 5.44 (m, 1H, 2-H_c), 6.05 (m, 1H, 3-H), 6.83 (s, 0.5H, 7-H), 6.84 (s, 0.5H, 7'-H), 7.46 (s, 0.5H, 10-H), 7.46 (s, 0.5H, 10'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.4 (q, C-12), 17.9, 18.0 (2q, C-17_a, C-17'_a), 18.9, 19.0 (2q, C-17_b, C-17'_b), 28.3 (q, C-20), 31.1, 31.2 (2d, C-11, C-11'), 33.0, 33.1 (2d, C-16, C-16'), 56.3, 56.3 (2q, C-1, C-1'), 58.5, 58.6 (2d, C-15, C-15'), 68.7 (t, C-13), 70.1 (t, C-4), 79.8 (s, C-19), 109.5 (d, C-7), 109.8 (d, C-10), 119.0 (t, C-2), 132.0 (d, C-3), 132.2 (s, C-8), 142.2 (s, C-9), 146.3 (s, C-5), 153.3 (s, C-6), 155.6 (s, C-18), 172.2 (s, C-14).

HRMS (CI): C₂₃H₃₅N₂O₈, [M+H]⁺ M_{ber.}: 467.2393 M_{gef.}: 467.2388

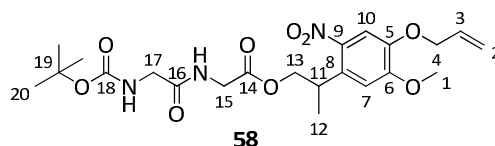
Elementaranalyse:

C ₂₃ H ₃₄ N ₂ O ₈	berechnet	C 59.21	H 7.35	N 6.00
(466.53)	gefunden	C 58.95	H 7.45	N 6.00

Boc-Glycinyl-glycin-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester (58)

Gemäß AAV1 wurden 279 mg (1.0 Äq, 1.20 mmol) Boc-Gly-Gly-OH, 321 mg (1.0 Äq, 1.20 mmol) AMNPPol (**54**), 44.0 mg (0.3 Äq, 0.360 mmol) DMAP, 0.419 ml (2.0 Äq, 2.40 mmol) DIPEA und 501 mg (1.3 Äq, 1.56 mmol) TBTU in 2.5 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 543 mg (1.13 mmol, 94 %) eines gelben, harzigen Feststoffs (**58**) isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**58**) = 0.10]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.35 (d, ³J_{12,11} = 7.0 Hz, 3H, 12-H), 1.46 (s, 9H, 20-H), 3.83 (d, ³J_{17,NH} = 5.9 Hz, 2H, 17-H), 3.93–3.97 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.00 (m, 2H, 15-H), 4.30 (m, 2H, 13-H), 4.65 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 5.10 (bs, 1H, NH), 5.35 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.45 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 6.07 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.51 (bs, 1H, NH), 6.82 (s, 1H, 7-H), 7.45 (s, 1H, 10-H).
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.6 (q, C-12), 28.3 (q, C-20), 32.8 (d, C-11), 41.1 (t, C-17), 44.2 (t, C-15), 56.4 (q, C-1), 69.3 (t, C-13), 70.1 (t, C-4), 77.2 (s, C-19), 109.5 (d, C-7), 109.7 (d, C-10), 119.1 (t, C-2), 131.8 (s, C-8), 132.0 (d, C-3), 142.3 (s, C-9), 146.4 (s, C-5), 153.2 (s, C-6), 169.4, 169.7 (2s, C-14, C-16). C-18 nicht detektierbar

HRMS (CI): C₂₂H₃₁N₃O₉, [M]⁺ M_{ber.}: 481.2060 M_{gef.}: 481.2052

Elementaranalyse:

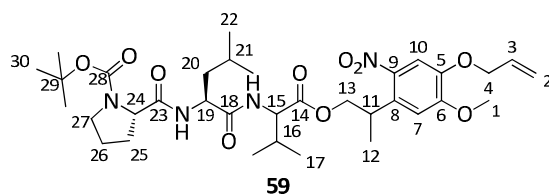
C ₂₂ H ₃₁ N ₃ O ₉	berechnet	C 54.88	H 6.49	N 8.73
(481.50)	gefunden	C 55.27	H 6.60	N 8.95

Boc-(L)-Prolinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-valin-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester (59)

Gemäß AAV1 wurden 212 mg (1.0 Äq, 0.496 mmol) Boc-(L)-Pro-(L)-Leu-(L)-Val-OH, 133 mg (1.0 Äq, 0.496 mmol) AMNPPol (**54**), 30.3 mg (0.5 Äq, 0.248 mmol) DMAP, 0.260 ml (3.0 Äq, 1.49 mmol) DIPEA und 271 mg (1.7 Äq, 0.843 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 235 mg (0.347 mmol, 70 %) eines gelben, harzigen Feststoffs (**59**) als Mischung aus vier Enantio- bzw. Diastereomeren isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**59**) = 0.15]

4. Experimenteller Teil



Auswertung für Enantio-/Diastereomergemisch (1:1:1:1)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.77–0.92 (sh, 12H, 17-H, 22-H), 1.34 (m, 3H, 12-H), 1.44 (s, 9H, 30-H), 1.50–1.68 (sh, 3H, 20-H, 21-H), 1.87 (m, 2H, 26-H), 2.01–2.26 (sh, 3H, 16-H, 25-H), 3.41 (m, 2H, 27-H), 3.90–3.95 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.14–4.41 (sh, 5H, 13-H, 15-H, 19-H, 24-H), 4.64 (m, 2H, 4-H), 5.34 (m, 1H, 2-H_t), 5.43 (m, 1H, 2-H_c), 6.04 (m, 1H, 3-H), 6.73 (bs, 1H, NH_{Val}), 6.83–6.85 (sh, 2H, 7-H, NH_{Leu}), 7.45 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.5 (q, C-17_a), 17.8 (q, C-12), 18.9 (q, C-17_b), 21.8 (q, C-22_a), 23.0 (q, C-22_b), 24.7 (t, C-26), 24.8 (d, C-21), 28.2 (t, C-25), 28.3 (q, C-30), 31.0 (d, C-16), 33.1 (d, C-11), 40.2 (t, C-20), 47.2 (t, C-27), 51.9 (d, C-19), 56.3 (q, C-1), 57.2 (d, C-15), 60.3 (d, C-24), 68.7 (t, C-13), 70.1 (t, C-4), 80.7 (s, C-29), 109.8, 109.8 (2d, C-7, C-10), 119.0 (t, C-2), 132.0 (d, C-3), 132.1 (s, C-8), 142.2 (s, C-9), 146.3 (s, C-5), 153.3 (s, C-6), 155.9 (s, C-28), 171.4 (3s, C-14, C-18, C-23).

HRMS (CI): $\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{N}_4\text{O}_{10}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber}}:$ 677.3762 $M_{\text{gef}}:$ 677.3717

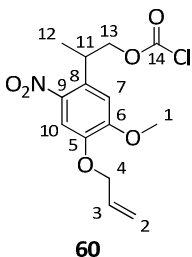
Elementaranalyse:

$\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{10}$ (676.80)	berechnet	C 60.34	H 7.74	N 8.28
	gefunden	C 60.29	H 7.55	N 7.70

2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propylchloroformiat (AMNPPOCI, 60)

Zu einer Lösung aus Phosgen (20 % in Toluol, 12.4 ml, 10.0 Äq, 23.6 mmol) wurden 631 mg des Alkohols **54** (1.0 Äq, 2.36 mmol) in *abs.* THF (10.0 ml) getropft und die Reaktionslösung wurde bis zum vollständigen Umsatz (2 h, DC-Reaktionskontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Das überschüssige Phosgen wurde mit Hilfe eines Stickstoffstroms durch die Lösung und anschließend durch zwei Waschflaschen geleitet. Der Stickstoffstrom wurde so lange aufrecht erhalten, bis auch das Lösungsmittel komplett entfernt und die Lösung bis zur Trockne eingedampft war. Das erhaltene Chloroformiat **60** wurde mit einer Ausbeute von 99 % (791 mg, 2.33 mmol) und mit sehr hoher Reinheit als dunkelgrünes Öl isoliert.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**60**) = 0.57]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.40 (d, $^3J_{12,11} = 7.0$ Hz, 3H, 12-H), 3.96 (s, 3H, 1-H), 4.00 (qt, $^3J_{11,12} = 7.0$ Hz, $^3J_{11,13} = 5.8$ Hz, 1H, 11-H), 4.51 (d, $^3J_{13,11} = 5.8$ Hz, 2H, 13-H), 4.64 (ddd, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, $^4J_{4,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{4,2t} = 1.3$ Hz, 2H, 4-H), 5.34 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.3$ Hz, 1H, 2-H_t), 5.45 (ddt, $^3J_{2c,3} = 17.3$ Hz, $^2J_{2c,2t} = 1.4$ Hz, $^4J_{2c,4} = 1.4$ Hz, 1H, 2-H_c), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.3$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 6.84 (s, 1H, 7-H), 7.50 (s, 1H, 10-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.4 (q, C-12), 33.1 (d, C-11), 56.3 (q, C-1), 70.1 (t, C-4), 75.3 (t, C-13), 109.9, 109.9 (2d, C-7, C-10), 119.1 (t, C-2), 130.9 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 141.9 (s, C-9), 146.4 (s, C-5), 150.5 (s, C-14), 153.3 (s, C-6).

HRMS (CI): $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClNO}_6$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 329.0666 $M_{\text{gef.}}$: 329.0655

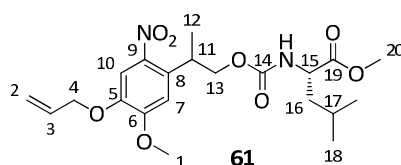
Elementaranalyse:

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClNO}_6$ (329.73)	berechnet	C 51.00	H 4.89	N 4.24
	gefunden	C 51.39	H 4.91	N 4.38

***N*-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-(L)-leucinmethylester (61)**

Gemäß AAV3 wurden 54.5 mg (1.0 Äq, 0.300 mmol) Leucinmethylester-Hydrochlorid mit 99.0 mg (1.0 Äq, 0.300 mmol) des AMNPP-Chloroformiats **60**, 0.097 ml (4.0 Äq, 1.20 mmol) *abs.* Pyridin und 18.3 mg (0.5 Äq, 0.150 mmol) DMAP umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 88.1 mg (0.201 mmol, 67 %) eines gelben Öls (**61**) erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**61**) = 0.42]



Auswertung für Diastereomeregemisch 1:1

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.89–0.93 (sh, 6H, 18- H_a , 18- H_b), 1.32 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.9 Hz, 3H, 12-H), 1.46–1.66 (sh, 3H, 16-H, 17-H), 3.70 (s, 3H, 20-H), 3.87–3.94 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.19–4.32 (sh, 3H, 13-H, 15-H), 4.64 (m, 2H, 4-H), 4.99 (m, 1H, NH), 5.34 (m, 1H, 2- H_i), 5.44 (m, 1H, 2- H_c), 6.05 (m, 1H, 3-H), 6.82 (s, 1H, 7-H), 7.45 (s, 1H, 10-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.8 (q, C-12), 21.7 (q, C-18 $_a$), 22.8 (q, C-18 $_b$), 24.6 (d, C-17), 33.4 (d, C-11), 41.7 (t, C-16), 52.2 (q, C-20), 52.3 (d, C-15), 56.3 (q, C-1), 68.6 (t, C-13), 70.0 (t, C-4), 109.3 (d, C-7), 109.7 (d, C-10), 119.0 (t, C-2), 132.1 (d, C-3), 132.5 (s, C-8), 142.3 (s, C-9), 146.1 (s, C-5), 153.2 (s, C-6), 155.8 (s, C-14), 173.5 (s, C-19).

HRMS (CI): $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 438.2002 $M_{\text{gef.}}$: 438.1983

Elementaranalyse:

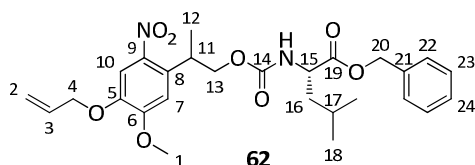
$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$ (438.47)	berechnet	C 57.52	H 6.90	N 6.39
	gefunden	C 57.36	H 6.90	N 6.19

***N*-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-(L)-leucinbenzylester (62)**

Gemäß AAV3 wurden 129 mg (1.0 Äq, 0.500 mmol) Leucinbenzylester-Hydrochlorid mit 214 mg (1.3 Äq, 0.650 mmol) des AMNPP-Chloroformiats **60** und 0.162 ml (4.0 Äq, 2.00 mmol) *abs.* Pyridin umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) konnten 91.2 mg (0.177 mmol, 35 %) eines gelben Harzes (**62**) isoliert werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**62**) = 0.27]

4. Experimenteller Teil



Auswertung für Diastereomerengemisch 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.83–0.89 (sh, 6H, 18- H_a , 18- H_b), 1.32 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.9 Hz, 3H, 12-H), 1.45–1.68 (sh, 3H, 16-H, 17-H), 3.87–3.93 (sh, 4H, 1-H, 11-H), 4.17–4.30 (sh, 2H, 13- H_a , 13- H_b), 4.36 (m, 1H, 15-H), 4.63 (m, 2H, 4-H), 5.00 (d, $^3J_{\text{NH},15}$ = 7.8 Hz, 1H, NH), 5.15 (m, 2H, 20-H), 5.34 (m, 1H, 2- H_t), 5.44 (m, 1H, 2- H_c), 6.06 (m, 1H, 3-H), 6.81 (s, 0.5H, 7-H), 6.82 (s, 0.5H, 7'-H), 7.31–7.36 (sh, 5H, 22-H, 23-H, 24-H), 7.44 (s, 0.5H, 10-H), 7.45 (s, 0.5H, 10'-H).

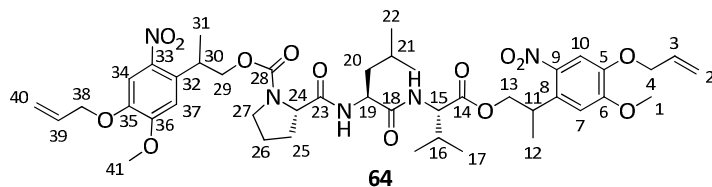
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.8 (q, C-12), 21.7, 21.7 (2q, C-18 $_a$, C-18' $_a$), 22.8 (q, C-18 $_b$), 24.6 (d, C-17), 33.3, 33.4 (2d, C-11, C-11'), 41.6 (t, C-16), 52.5 (d, C-15), 56.3 (q, C-1), 67.0, 67.0 (2t, C-20, C-20'), 68.6, 68.6 (2t, C-13, C-13'), 70.0 (t, C-4), 109.4 (d, C-10), 109.7 (d, C-7), 119.0 (t, C-2), 128.1, 128.2 (2d, C-22, C-22'), 128.4 (d, C-24), 128.6 (d, C-23), 132.1 (d, C-3), 132.5 (s, C-8), 135.3 (s, C-21), 142.3 (s, C-9), 146.1 (s, C-5), 153.2 (s, C-6), 155.8 (s, C-14), 172.8 (s, C-19).

HRMS (CI): $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 514.2315 M_{gef} : 514.2313

***N*-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-valinyl-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester (64)**

Gemäß AAV2 (a) wurden 240 mg (1.0 Äq, 0.355 mmol) des Boc-geschützten Peptids **59** in 1.0 ml Dichlormethan mit 0.33 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach Aufarbeitung und Freischütteln des Amins mit ges. NaHCO_3 -Lösung wurden 202 mg (0.351 mmol, 99 %) des Amins **63** als gelbes Harz erhalten. Dieses wurde gemäß AAV3 unter Stickstoff mit 0.114 ml (4.0 Äq, 1.40 mmol) *abs.* Pyridin, 21.4 mg (0.5 Äq, 0.176 mmol) DMAP und 122 mg (1.05 Äq, 0.369 mmol) des Chloroformiats **60** in 2.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Aufarbeitung und Säulenchromatographie lieferte das doppelt AMNPP-geschützte Tripeptid **64** als Enantio- bzw. Diastereomerengemisch mit einer Ausbeute von 57 % (174 mg, 0.200 mmol).

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**64**) = 0.09]



Auswertung für Enantio-/Diastereomerengemisch

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.73–0.90 (sh, 12H, 17-H, 22-H), 1.31–1.33 (sh, 6H, 12-H, 31-H), 1.48–1.72 (sh, 3H, 20-H, 21-H), 1.82–2.23 (sh, 5H, 16-H, 25-H, 26-H), 3.33 (m, 2H, 27-H), 3.79–3.94 (sh, 8H, 1-H, 11-H, 30-H, 41-H), 4.03–4.45 (sh, 7H, 13-H, 15-H, 19-H, 24-H, 29-H), 4.61–4.62 (sh, 4H, 4-H, 38-H), 5.30–5.32 (sh, 2H, 2- H_v , 40- H_t), 5.39–5.44 (sh, 2H, 2- H_c , 40- H_c), 5.99–6.07 (sh, 2H, 3-H, 39-H), 6.98 (m, 1H, NH_{Leu}), 6.81–6.82 (sh, 2H, 7-H, 37-H), 7.42–7.43 (sh, 2H, 10-H, 34-H).

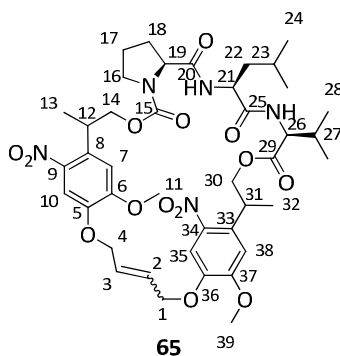
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 16.8 (q, C-12/C-31), 17.4–17.9 (sh, C-17, C-12, C-31), 18.7–18.9 (sh, C-17), 21.6, 21.8 (2q, C-22_a, C-22'_a), 22.8, 23.0 (q, C-22_b, C-22'_b), 24.5–24.9 (sh, C-21, C-26), 28.6–29.0 (t, C-25), 30.8, 30.9 (2d, C-16, C-16'), 32.9–33.1 (sh, C-11, C-30), 39.7–40.1 (t, C-20), 46.8–47.1 (t, C-27), 51.5–51.9 (d, C-19), 56.2, 56.2 (2q, C-1, C-41), 57.1–57.3 (d, C-15), 60.4–61.4 (d, C-24), 68.4–68.7 (sh, C-13, C-29), 69.8–70.0 (sh, C-4, C-38), 109.1–109.8 (sh, C-7, C-10, C-34, C-37), 118.9, 118.9 (2t, C-2, C-40), 132.0, 132.0 (2d, C-3, C-39), 132.3–132.5 (sh, C-8, C-32), 142.0–142.3 (sh, C-9, C-33), 146.1–146.2 (sh, C-5, C-35), 153.2, 153.2 (2s, C-6, C-36), 153.6 (s, C-28), 171.3–172.2 (sh, C-14, C-18, C-23).

HRMS (CI): $\text{C}_{43}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{O}_{14}$, $[\text{M}+2\text{H}]^+$ $M_{\text{ber}}:$ 871.4215 $M_{\text{gef}}:$ 871.4207

cyclo-(N-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-(L)-prolinyl-(L)-leucinyl-(D/L)-valin-(2-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)ester) (65)

Gemäß AAV4 wurden 90.1 mg (1.0 Äq, 0.103 mmol) des Diallylsubstrats **64** in 3.5 ml *abs.* Dichlormethan mit 8.8 mg (0.1 Äq, 10.4 μmol) Grubbs II-Katalysator in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) wurden 68.7 mg (0.082 mmol, 79 %) des cyclischen Produkts **65** als bräunliches Öl erhalten.

[DC: SiO_2 , EE, R_f (**65**) = 0.43]



Auswertung für Enantio-/Diastereomergemisch, evtl. *cis*-/*trans*-Isomere

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.73–0.87 (sh, 12H, 24-H, 28-H), 1.13–1.30 (sh, 6H, 13-H, 32-H), 1.46–1.63 (sh, 3H, 22-H, 23-H), 1.80 (m, 2H, 17-H), 2.08–2.23 (sh, 3H, 18-H, 27-H), 3.33 (m, 2H, 16-H), 3.77–3.90 (sh, 8H, 11-H, 12-H, 31-H, 39-H), 4.15–4.52 (sh, 7H, 14-H, 19-H, 21-H, 26-H, 30-H), 4.60–4.76 (sh, 4H, 1-H, 4-H), 5.96–6.13 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.64–6.84 (sh, 4H, 7-H, 38-H, NH_{Leu} , NH_{Val}), 7.31–7.45 (sh, 2H, 10-H, 35-H).

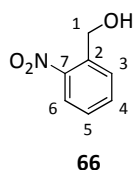
HRMS (CI): $\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{N}_5\text{O}_{14}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber}}:$ 842.3824 $M_{\text{gef}}:$ 842.3767

***o*-Nitrobenzylalkohol (NBol, 66)**

756 mg (1.0 Äq, 5.00 mmol) *o*-Nitrobenzaldehyd wurden in 10 ml Ethanol suspendiert und 284 mg (1.5 Äq, 7.50 mmol) NaBH_4 bei 0 °C portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 90 min bei Raumtemperatur gerührt, mit Diethylether verdünnt und vorsichtig mit ges. NH_4Cl -Lösung gequenchet. Nach zweimaliger Extraktion mit Diethylether wurde mit ges. NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (12 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) gereinigt und es konnten 733 mg (4.79 mmol, 96 %) des Alkohols **66** als gelber Feststoff erhalten werden.

4. Experimenteller Teil

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**66**) = 0.45]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.55 (m, 1H, OH), 4.98 (m, 2H, 1-H), 7.48 (dd, ³J_{5,4} ≈ ³J_{5,6} ≈ 8.3 Hz, 1H, 5-H), 7.67 (dd, ³J_{4,5} ≈ ³J_{4,3} ≈ 7.6 Hz, 1H, 4-H), 7.74 (d, ³J_{3,4} = 7.6 Hz, 1H, 3-H), 8.10 (d, ³J_{6,5} = 8.2 Hz, 1H, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 62.6 (t, C-1), 125.0 (d, C-6), 128.5 (d, C-5), 130.0 (d, C-3), 134.1 (d, C-4), 136.7 (s, C-2). C-7 nicht detektierbar

HRMS (CI): C₇H₇NO₃, [M+H]⁺ M_{ber.}: 154.0504 M_{gef.}: 154.0525

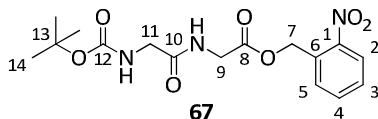
Elementaranalyse:

C ₇ H ₇ NO ₃	berechnet	C 54.90	H 4.61	N 9.15
(153.14)	gefunden	C 55.42	H 4.55	N 9.19

Boc-Glycinyl-glycin-(*o*-nitrobenzyl)ester (**67**)

Gemäß AAV1 wurden 232 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Boc-Gly-Gly-OH mit 153 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) NBol (**66**), 36.7 mg (0.3 Äq, 0.300 mmol) DMAP, 0.349 ml (2.0 Äq, 2.00 mmol) DIPEA und 417 mg (1.3 Äq, 1.30 mmol) TBTU in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 323 mg (0.879 mmol, 88 %) des *o*-Nitrobenzylesters **67** als gelber Feststoff erhalten werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**67**) = 0.12]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H, 14-H), 3.86 (m, 2H, 11-H), 4.16 (m, 2H, 9-H), 5.26 (bs, 1H, NH), 5.58 (s, 2H, 7-H), 6.81 (bs, 1H, NH), 7.50 (dd, ³J_{3,4} ≈ ³J_{3,2} ≈ 8.2 Hz, 1H, 3-H), 7.59 (d, ³J_{5,4} = 7.6 Hz, 1H, 5-H), 7.67 (dd, ³J_{4,3} ≈ ³J_{4,5} ≈ 7.7 Hz, 1H, 4-H), 8.11 (d, ³J_{2,3} = 8.2 Hz, 1H, 2-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.2 (q, C-14), 41.1 (t, C-9), 44.2 (t, C-11), 63.8 (t, C-7), 80.4 (s, C-13), 125.1 (d, C-2), 129.0, 129.0 (2d, C-3, C-5), 131.3 (s, C-6), 133.9 (d, C-4), 147.4 (s, C-1), 156.1 (s, C-12), 169.2, 170.0 (2s, C-8, C-10).

HRMS (CI): C₁₆H₂₂N₃O₇, [M+H]⁺ M_{ber.}: 368.1458 M_{gef.}: 368.1451

Elementaranalyse:

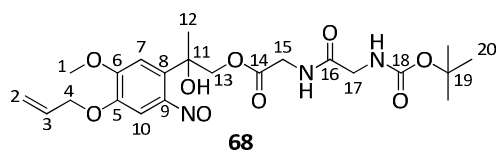
C ₁₆ H ₂₁ N ₃ O ₇	berechnet	C 52.31	H 5.76	N 11.44
(367.35)	gefunden	C 52.40	H 5.92	N 11.65

2-(4-(Allyloxy)-5-methoxy-2-nitrosophenyl)-2-hydroxypropyl-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)acetamido)acetate (68)

56.0 mg (1.0 Äq, 0.116 mmol) Boc-Gly-Gly-OAMNPP (**58**) wurden in 3.5 ml Acetonitril gelöst und 6 d bei Raumtemperatur (ohne Kühlung) mit einer UV-LED (365 nm) unter Rühren belichtet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 22.2 mg (0.046 mmol, 39 %) eines dunkelroten Öls isoliert werden.

[DC: SiO₂, EE, R_f (**68**) = 0.22]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 40:60, 2 min -> 70:30, 8 min, 0.6 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_r = 7.51'.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H, 20-H), 1.94 (s, 3H, 12-H), 3.80 (d, ³J_{15/17,NH} = 5.9 Hz, 2H, 15-H/17-H), 3.97 (d, ³J_{15/17,NH} = 5.5 Hz, 2H, 15-H/17-H), 4.06 (s, 3H, 1-H), 4.53 (dm, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, 2H, 4-H), 4.78 (m, 2H, 13-H), 5.19 (bs, 1H, NH), 5.31 (dm, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, 1H, 2-H_t), 5.40 (dm, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, 1H, 2-H_c), 5.95–6.05 (sh, 2H, 3-H, 10-H), 6.68 (m, 1H, NH), 7.37 (s, 1H, 7-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.2 (q, C-20), 28.6 (q, C-12), 41.3, 44.2 (2t, C-15, C-17), 56.5 (q, C-1), 69.6 (t, C-4), 74.4 (t, C-13), 75.3 (s, C-11), 80.5 (s, C-19), 92.1 (d, C-10), 109.2 (d, C-7), 119.0 (t, C-2), 131.9 (d, C-3), 144.1 (s, C-8), 147.5 (s, C-5), 156.1 (s, C-18), 156.9 (s, C-6), 160.9 (s, C-9), 169.5, 170.1 (2s, C-14, C-16).

MS (ESI/APCI): C₂₂H₃₂N₃O₉, [M+H]⁺

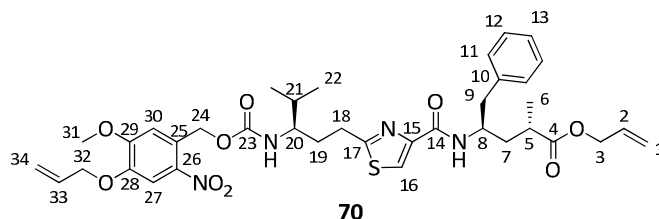
M_{ber}: 482.21

M_{gef}: 482.25

N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-desacetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester (70)

Gemäß AAV3 wurden 150 mg (1.0 Äq, 0.328 mmol) *desacetoxy*-Tubuvalinyl-Tubuphenylalaninallylester (**95**) mit 129 mg (1.3 Äq, 0.426 mmol) des AMNB-Chloroformiats **2** und 0.106 ml (4.0 Äq, 1.31 mmol) *abs.* Pyridin in 2.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 160 mg (0.221 mmol, 68 %) eines gelben Öls (**70**) erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**70**) = 0.24]



4. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.94 (d, $^3J_{22a,21}$ = 9.6 Hz, 3H, 22- H_a), 0.95 (d, $^3J_{22b,21}$ = 9.6 Hz, 3H, 22- H_b), 1.15 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.1 Hz, 3H, 6-H), 1.59 (ddd, $^3J_{7a,7b}$ = 14.3 Hz, $^3J_{7a,8/5}$ = 9.8 Hz, $^3J_{7a,8/5}$ = 4.5 Hz, 1H, 7- H_a), 1.75–1.85 (sh, 2H, 19- H_a , 21-H), 1.96–2.06 (sh, 2H, 7- H_b , 19- H_b), 2.62 (m, 1H, 5-H), 2.80 (dd, $^3J_{9a,9b}$ = 13.7 Hz, $^3J_{9a,8}$ = 6.9 Hz, 1H, 9- H_a), 2.92 (dd, $^3J_{9b,9a}$ = 13.7 Hz, $^3J_{9b,8}$ = 6.0 Hz, 1H, 9- H_b), 3.03 (m, 2H, 18-H), 3.70 (m, 1H, 20-H), 3.91 (s, 3H, 31-H), 4.37 (m, 1H, 8-H), 4.52 (dm, $^3J_{3,2}$ = 5.7 Hz, 2H, 3-H), 4.65 (dm, $^3J_{32,33}$ = 5.4 Hz, 2H, 32-H), 4.78 (d, $^3J_{\text{NH},20}$ = 10.0 Hz, 1H, NH_{TUV}), 5.18 (dm, $^3J_{1t,2}$ = 10.4 Hz, 1H, 1- H_t), 5.25 (dm, $^3J_{1c,2}$ = 17.2 Hz, 1H, 1- H_c), 5.34 (dm, $^3J_{34t,33}$ = 10.5 Hz, 1H, 34- H_t), 5.44 (dm, $^3J_{34c,33}$ = 17.3 Hz, 1H, 34- H_c), 5.50 (m, 2H, 24-H), 5.84 (ddt, $^3J_{2,1c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{2,1t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.5 Hz, 1H, 2-H), 6.04 (ddt, $^3J_{33,34c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{33,34t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{33,32}$ = 5.5 Hz, 1H, 33-H), 6.98 (s, 1H, 30-H), 7.16–7.20 (sh, 3H, 11-H, 13-H), 7.25 (m, 2H, 12-H), 7.31 (d, $^3J_{\text{NH},8}$ = 9.2 Hz, 1H, NH_{TUP}), 7.70 (s, 1H, 27-H), 7.90 (s, 1H, 16-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.6 (q, C-22 $_a$), 17.8 (q, C-6), 19.3 (q, C-22 $_b$), 30.0 (t, C-18), 32.4 (d, C-21), 32.5 (t, C-19), 36.6 (d, C-5), 37.6 (t, C-7), 41.3 (t, C-9), 48.6 (d, C-8), 55.7 (d, C-20), 56.3 (q, C-31), 63.7 (t, C-24), 65.1 (t, C-3), 70.1 (t, C-32), 109.9 (d, C-27), 110.4 (d, C-30), 117.9 (t, C-1), 119.1 (t, C-34), 122.4 (d, C-16), 126.4 (d, C-13), 128.2 (s, C-25), 128.3 (d, C-12), 129.4 (d, C-11), 131.8 (d, C-33), 132.3 (d, C-2), 137.7 (s, C-10), 139.7 (s, C-26), 147.0 (s, C-28), 149.9 (s, C-15), 153.8 (s, C-29), 156.0 (s, C-23), 160.6 (s, C-17), 169.7 (s, C-14), 175.7 (s, C-4).

HRMS (CI): $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 723.3064 M_{gef} : 723.3069

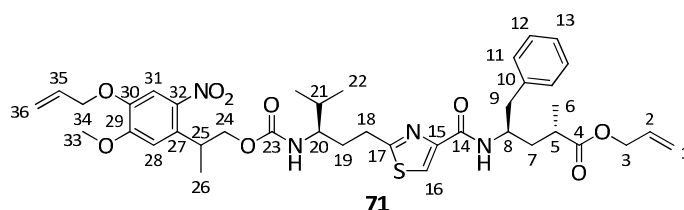
Elementaranalyse:

$\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ (722.85)	berechnet	C 61.48	H 6.41	N 7.75
	gefunden	C 61.71	H 6.33	N 7.64

N-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninylester (**71**)

Gemäß AAV3 wurden 150 mg (1.0 Äq, 0.328 mmol) *des*acetoxy-Tubuvalinyl-Tubuphenylalaninylester (**95**) mit 141 mg (1.3 Äq, 0.426 mmol) des AMNPP-Chloroformiats **60** und 0.106 ml (4.0 Äq, 1.31 mmol) *abs.* Pyridin in 2.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) konnten 162 mg (0.216 mmol, 66 %) eines gelben Öls (**71**) isoliert werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**71**) = 0.29]



Auswertung für Diastereomergemisch 1:1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.83–0.93 (sh, 6H, 22- H_a , 22- H_b), 1.17 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.1 Hz, 3H, 6-H), 1.33 (d, $^3J_{26,25}$ = 6.9 Hz, 3H, 26-H), 1.58 (m, 1H, 7- H_a), 1.68–1.78 (sh, 2H, 19- H_a , 21-H), 1.91–2.06 (sh, 2H, 7- H_b , 19- H_b), 2.63 (m, 1H, 5-H), 2.84–3.06 (sh, 4H, 9-H, 18-H), 3.58 (m, 1H, 20-H), 3.91–3.98 (sh, 4H, 25-H, 33-H), 4.17–4.27 (m, 2H, 24-H), 4.35–4.47 (sh, 2H, 8-H, NH_{TUV}), 4.53 (dm, $^3J_{3,2}$ = 5.7 Hz, 2H, 3-H), 4.56 (dm, $^3J_{34a,35}$ = 5.4 Hz, 1H, 34- H_a), 4.63 (dm, $^3J_{34b,35}$ = 5.4 Hz, 1H, 34- H_b), 5.18 (dm, $^3J_{1t,2}$ = 10.4 Hz, 1H, 1- H_t), 5.26 (dm, $^3J_{1c,2}$ = 17.2 Hz, 1H, 1- H_c), 5.34 (dm, $^3J_{36t,35}$ = 10.5 Hz, 1H, 36- H_t), 5.40 (dm, $^3J_{36c,35}$ = 17.2 Hz, 0.5H, 36- $\text{H}_{a,c}$), 5.43 (dm, $^3J_{36c,35}$ = 17.2 Hz, 0.5H, 36- $\text{H}_{b,c}$), 5.85 (ddt, $^3J_{2,1c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{2,1t}$ = 10.5

Hz, $^3J_{2,3} = 5.5$ Hz, 1H, 2-H), 6.03 (ddt, $^3J_{35a,36c} = 17.3$ Hz, $^3J_{35a,36t} = 10.5$ Hz, $^3J_{35a,34} = 5.5$ Hz, 0.5H, 35-H_a), 6.04 (ddt, $^3J_{35b,36c} = 17.3$ Hz, $^3J_{35b,36t} = 10.5$ Hz, $^3J_{35b,34} = 5.5$ Hz, 0.5H, 35-H_b), 6.83 (s, 1H, 28-H), 7.18–7.21 (sh, 3H, 11-H, 13-H), 7.25–7.28 (sh, 3H, 12-H, NH_{rup}), 7.40 (s, 0.5H, 31-H_a), 7.41 (s, 0.5H, 31-H_b), 7.89 (s, 1H, 16-H_a), 7.90 (s, 1H, 16-H_b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.5, 17.5$ (2q, C-22_{ar}, C-22_b), 17.6 (q, C-26), 17.8 (q, C-6), 19.1 (q, C-22_b), 30.1 (t, C-18), 32.3, 32.4 (2d, C-21, C-21'), 32.6 (t, C-19), 33.2, 33.3 (2d, C-25, C-25'), 36.6 (d, C-5), 37.7 (t, C-7), 41.3 (t, C-9), 48.5 (d, C-8), 55.6 (d, C-20), 56.3 (q, C-33), 65.1 (t, C-3), 68.5 (t, C-24), 70.0, 70.1 (2t, C-34, C-34'), 109.2 (d, C-31), 109.6, 109.6 (2d, C-28, C-28'), 118.0 (t, C-1), 119.0 (t, C-36), 122.4 (d, C-16), 126.4 (d, C-13), 128.4 (d, C-12), 129.5 (d, C-11), 132.0 (s, C-27), 132.1 (d, C-35), 132.3 (d, C-2), 137.7 (s, C-10), 142.6, 142.8 (2s, C-32, C-32'), 146.1 (s, C-30), 149.8 (s, C-15), 153.1 (s, C-29), 156.2 (s, C-23), 160.7 (s, C-17), 170.1 (s, C-14), 175.7 (s, C-4).

HRMS (CI): $\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 751.3377 $M_{\text{gef.}}$: 751.3360

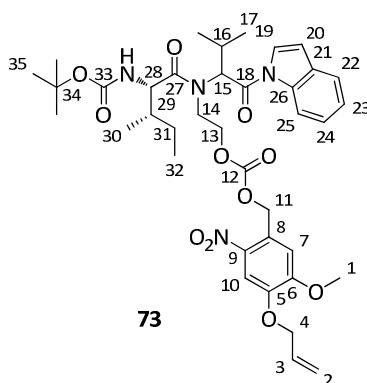
Elementaranalyse:

$\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ (750.90)	berechnet	C 62.38	H 6.71	N 7.46
	gefunden	C 62.23	H 6.81	N 7.25

***tert*-Butyl((2*S*,3*S*)-1-((1-(1*H*-indol-1-yl)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)(2-(((4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxy)carbonyl)oxy)ethyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbamate (**73**)**

Gemäß AAV3 wurden 95.0 mg (1.0 Äq, 0.200 mmol) *tert*-Butyl ((2*S*,3*S*)-1-((1-(1*H*-indol-1-yl)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)(2-hydroxyethyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbamate (**72**) mit 78.1 mg (1.3 Äq, 0.260 mmol) des AMNB-Chloroformiats **2** und 0.065 ml (4.0 Äq, 0.800 mmol) *abs.* Pyridin in 2.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 73.9 mg (0.100 mmol, 50 %) eines gelben Harzes (**73**) erhalten (verunreinigt mit einer geringen Menge nicht umgesetztem Alkohol **72**).

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**73**) = 0.63]



Auswertung für Diastereomergemisch (1:1) + Rotamergemisch (ca. 1:1)

Hauptdiastereomer/-rotamer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.74$ – 1.03 (sh, 12H, 17-H, 30-H, 32-H), 1.13 (m, 1H, 31-H_a), 1.43 (s, 9H, 35-H), 1.60– 1.81 (sh, 2H, 29-H, 31-H_b), 2.58 (m, 1H, 16-H), 3.59– 4.36 (sh, 4H, 13-H, 14-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.38– 4.74 (sh, 1H, 28-H, 28'-H), 4.67 (dm, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, 2H, 4-H), 5.01 (m, 1H, NH_{le}), 5.37– 5.60 (sh, 4H, 2-H_c, 2-H_t, 11-H), 5.65 (m, 1H, 15-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.3$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 6.59 (d, $^3J_{20,19} = 3.8$ Hz, 1H, 20-H), 6.89 (s, 1H, 7-H), 7.21– 7.38 (sh, 2H, 23-H, 24-H), 7.49 (m, 1H, 22-H), 7.72 (s, 1H, 10-H), 7.77 (m, 1H, 19-H), 8.49 (m, 1H, 25-H).

4. Experimenteller Teil

Nebendiastereomer/-rotamer (ausgewählte Signale):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.42 (s, 9H, 35-H), 4.01 (s, 3H, 1-H), 6.98 (s, 1H, 7-H), 7.54 (m, 1H, 22-H), 7.73 (s, 1H, 10-H).

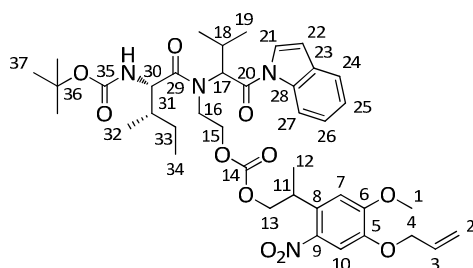
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.0 (q, C-32), 15.6, 15.7 (2q, C-30, C-30'), 16.2, 17.9, 20.0, 20.1 (4q, C-17_a, C-17'_a, C-17_b, C-17'_b), 23.3, 24.4 (2t, C-31, C-31'), 27.2–27.7 (sh, C-16), 28.2, 28.2 (C-35, C-35'), 37.4 (d, C-29), 46.2, 46.6 (t, C-14), 54.9–55.8 (sh, C-28), 56.5 (q, C-1), 60.7, 61.0 (d, C-15), 62.0 (t, C-13), 66.4 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 79.8–80.3 (sh, C-34), 109.7–110.0 (sh, C-7, C-7', C-10, C-10', C-20), 116.8 (d, C-25), 119.2 (t, C-2), 120.8, 120.9 (2d, C-22, C-22'), 124.2–125.5 (sh, C-19, C-19', C-23, C-23', C-24, C-24'), 126.9 (s, C-8), 130.9 (s, C-21), 131.9 (d, C-3), 135.6 (s, C-26), 140.9 (s, C-9), 154.1, 154.1 (2s, C-6, C-6'), 155.7, 156.3 (2s, C-33, C-33'), 169.1–174.5 (sh, C-12, C-18, C-27). C-5 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{11}$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 738.3476 M_{gef} : 738.3493

***tert*-Butyl((2*S*,3*S*)-1-((1-(1*H*-indol-1-yl)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)(2-(((2-(4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrophenyl)propoxy)carbonyl)oxy)ethyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbamate (74)**

Gemäß AAV3 wurden 95.0 mg (1.0 Äq, 0.200 mmol) *tert*-Butyl ((2*S*,3*S*)-1-((1-(1*H*-indol-1-yl)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)(2-hydroxyethyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbamate (**72**) mit 85.7 mg (1.3 Äq, 0.260 mmol) des AMNB-Chloroformiats **60** und 0.065 ml (4.0 Äq, 0.800 mmol) *abs.* Pyridin in 2.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 78.2 mg (0.102 mmol, 51 %) eines gelben Harzes (**74**) erhalten (verunreinigt mit einer geringen Menge nicht umgesetztem Alkohol **72**).

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**74**) = 0.57]



74

Auswertung für Enantio-/Diastereomergemisch 1:1:1:1 + Rotamerengemisch (ca. 1:1)

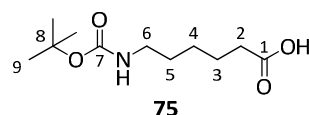
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.74–1.02 (sh, 12H, 19-H, 32-H, 34-H), 1.11 (m, 1H, 33-H_a), 1.32 (m, 3H, 12-H), 1.41–1.42 (m, 9H, 37-H), 1.60–1.77 (sh, 2H, 31-H, 33-H_b), 2.57 (m, 1H, 18-H), 3.34–4.01 (sh, 5H, 11-H, 15-H, 16-H), 3.92 (m, 3H, 1-H), 4.26 (m, 2H, 13-H), 4.35–4.76 (sh, 1H, 30-H, 30'-H), 4.64 (dm, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, 2H, 4-H), 4.99 (m, 1H, NH_{lle}), 5.34 (dm, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, 1H, 2-H_t), 5.44 (dm, $^3J_{2c,3} = 17.3$ Hz, 1H, 2-H_c), 5.65 (m, 1H, 17-H), 6.05 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.3$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 6.58 (m, 1H, 22-H), 6.74–6.80 (sh, 1H, 7-H, 7'-H), 7.27–7.38 (sh, 2H, 25-H, 26-H), 7.54 (m, 1H, 24-H), 7.70–7.78 (sh, 2H, 10-H, 21-H), 8.49 (m, 1H, 27-H).

HRMS (CI): $\text{C}_{40}\text{H}_{55}\text{N}_4\text{O}_{11}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 767.3867 M_{gef} : 767.3887

Boc-6-Aminohexansäure (75)

10.5 g (2.5 Äq, 125 mmol) NaHCO₃ wurden in 100 ml Wasser suspendiert und 6.56 g (1.0 Äq, 50.0 mmol) 6-Aminohexansäure wurden zugegeben. Die Suspension wurde auf 0 °C gekühlt und 12.8 ml (1.1 Äq, 55.0 mmol) Boc₂O in 75 ml Dioxan wurden langsam zugetropft. Nach Rühren der Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur wurde das organische Lösungsmittel bei vermindertem Druck abgezogen, der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1M HCl auf 1–2 eingestellt und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Trocknen über Na₂SO₄ lieferte das Boc-geschützte Produkt **75** als leicht gelbliches Öl mit einer Ausbeute von 91 % (10.5 g, 45.4 mmol).

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**75**) = 0.02]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.36 (m, 2H, 4-H), 1.44–1.51 (sh, 11H, 5-H, 9-H), 1.65 (m, 2H, 3-H), 2.34 (t, ³J_{2,3} = 7.4 Hz, 2H, 2-H), 3.10 (m, 2H, 6-H), 4.56 (bs, 1H, NH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 24.3 (t, C-3), 26.2 (t, C-4), 28.4 (q, C-9), 29.7 (t, C-5), 33.9 (t, C-2), 40.3 (t, C-6), 79.2 (s, C-8), 156.0 (s, C-7), 179.0 (s, C-1).

HRMS (CI): C₁₁H₂₂NO₄, [M+H]⁺ M_{ber}: 232.1549 M_{gef}: 232.1543

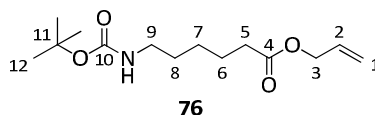
Elementaranalyse:

C ₁₁ H ₂₁ NO ₄	berechnet	C 57.12	H 9.15	N 6.06
(231.29)	gefunden	C 57.27	H 8.92	N 5.96

Boc-6-Aminohexansäureallylester (76)

Gemäß AAV1 wurden 463 mg (1.0 Äq, 2.00 mmol) Boc-Aminohexansäure, 0.136 ml (1.0 Äq, 2.00 mmol) Allylalkohol, 73.3 mg (0.3 Äq, 0.600 mmol) DMAP, 0.699 ml (2.0 Äq, 4.00 mmol) DIPEA und 835 mg (1.3 Äq, 2.60 mmol) TBTU in 4.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 482 mg (1.78 mmol, 89 %) eines farblosen Öls (**76**) isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**76**) = 0.53]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.33 (m, 2H, 7-H), 1.42 (s, 9H, 12-H), 1.47 (m, 2H, 8-H), 1.64 (m, 2H, 6-H), 2.32 (t, ³J_{5,6} = 7.4 Hz, 2H, 5-H), 3.10 (dt, ³J_{9,NH} = ³J_{9,8} = 6.4 Hz, 2H, 9-H), 4.50–4.56 (sh, 3H, 3-H, NH), 5.22 (m, 1H, 1-H_t), 5.30 (m, 1H, 1-H_c), 5.90 (m, 1H, 2-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 24.5 (t, C-6), 26.2 (t, C-7), 28.4 (q, C-12), 29.7 (t, C-8), 34.1 (t, C-5), 40.3 (t, C-9), 65.0 (t, C-3), 79.0 (s, C-11), 118.1 (t, C-1), 132.2 (d, C-2), 155.9 (s, C-10), 173.2 (s, C-4).

HRMS (CI): C₁₄H₂₆NO₄, [M+H]⁺ M_{ber}: 272.1863 M_{gef}: 272.1872

4. Experimenteller Teil

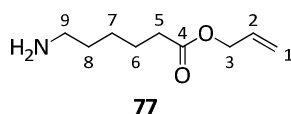
Elementaranalyse:

C ₁₄ H ₂₅ NO ₄ (271.35)	berechnet	C 61.97	H 9.29	N 5.16
	gefunden	C 61.94	H 9.14	N 5.29

6-Aminohexansäureallylester Hydrochlorid (**77**)

Gemäß AAV2 (b) wurden zu einer Lösung aus 463 mg (1.0 Äq, 1.71 mmol) des Boc-Aminohexansäureallylesters **76** in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan 2.56 ml (6.0 Äq, 10.2 mmol) HCl (4M in Dioxan) gegeben und die Reaktionslösung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufarbeitung wurden 353 mg (1.71 mmol, quant.) des Amins **77** als Hydrochlorid-Salz erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**77**) = 0.01]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (m, 2H, 7-H), 1.68–1.74 (sh, 4H, 6-H, 8-H), 2.49 (t, ³J_{5,6} = 7.4 Hz, 2H, 5-H), 3.04 (t, ³J_{9,8} = 7.4 Hz, 2H, 9-H), 4.66 (m, 2H, 3-H), 5.33 (m, 1H, 1-H_t), 5.39 (m, 1H, 1-H_c), 6.00 (m, 1H, 2-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 23.7 (t, C-6), 25.1 (t, C-7), 26.4 (t, C-8), 33.6 (t, C-5), 39.3 (t, C-9), 65.8 (t, C-3), 118.4 (t, C-1), 131.9 (d, C-2), 176.3 (s, C-4).

HRMS (CI): C₉H₁₇NO₂, [M]⁺ M_{ber}: 171.1259 M_{gef}: 171.1233

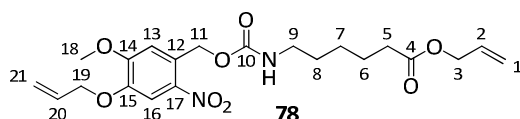
Elementaranalyse:

C ₉ H ₁₈ ClNO ₂ (207.70)	berechnet	C 52.02	H 8.74	N 6.74
	gefunden	C 51.34	H 8.41	N 6.62

N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-6-aminohexansäureallylester (**78**)

Gemäß AAV3 wurden 170 mg (1.0 Äq, 0.819 mmol) des Amin-Hydrochlorids **77** in 2.0 ml *abs.* THF mit 247 mg (1.0 Äq, 0.819 mmol) AMNBOCI (**2**) in 2.0 ml *abs.* THF und 0.265 ml (4.0 Äq, 3.27 mmol) *abs.* Pyridin umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 179 mg (0.206 mmol, 50 %) des AMNB-geschützten 6-Aminohexansäureallylesters **78** als gelbes, kristallisierendes Öl isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**78**) = 0.33]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.33 (m, 2H, 7-H), 1.50 (m, 2H, 8-H), 1.59 (m, 2H, 6-H), 2.29 (t, ³J_{5,6} = 7.4 Hz, 2H, 5-H), 3.16 (dt, ³J_{9,NH} = 6.9 Hz, ³J_{9,8} = 6.7 Hz, 2H, 9-H), 3.91 (s, 3H, 18-H), 4.52 (ddd, ³J_{3,2} = 5.7 Hz, ⁴J_{3,1c} = 1.4 Hz, ⁴J_{3,1t} = 1.4 Hz, 2H, 3-H), 4.61 (m, 2H, 19-H), 5.11 (t, ³J_{NH,9} = 5.5 Hz, 1H, NH), 5.17 (ddt, ³J_{1t,2} = 10.4 Hz, ²J_{1t,1c} = 1.3 Hz, ⁴J_{1t,3} = 1.3 Hz, 1H, 1-H_t), 5.23–5.30 (sh, 2H, 1-H_c, 21-H_t), 5.38–5.42 (sh, 3H, 11-H, 21-H_c), 5.96 (ddt, ³J_{2,1c} = 17.2 Hz, ³J_{2,1t} = 10.4 Hz, ³J_{2,3} = 5.7 Hz, 1H, 2-H), 6.01 (ddt, ³J_{20,21c} = 17.2 Hz, ³J_{20,21t} = 10.5 Hz, ³J_{20,19} = 5.5 Hz, 1H, 20-H), 6.96 (s, 1H, 13-H), 7.64 (s, 1H, 16-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 24.3 (t, C-6), 26.0 (t, C-7), 29.4 (t, C-8), 33.8 (t, C-5), 40.7 (t, C-9), 56.2 (q, C-18), 63.2 (t, C-11), 64.8 (t, C-3), 69.9 (t, C-19), 109.7 (d, C-16), 110.2 (d, C-13), 118.0 (t, C-1), 118.9 (t, C-21), 128.3 (s, C-12), 131.8, 132.1 (2d, C-2, C-20), 139.4 (s, C-17), 146.7 (s, C-15), 153.7, 155.7 (2s, C-10, C-14), 173.0 (s, C-4).

HRMS (CI): $\text{C}_{12}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 437.1924 $M_{\text{gef.}}$: 437.1926

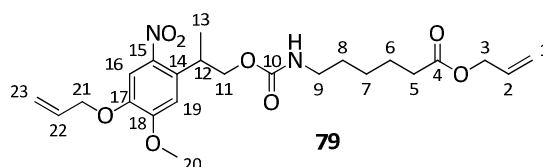
Elementaranalyse:

$\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$	berechnet	C 57.79	H 6.47	N 6.42
(436.46)	gefunden	C 58.14	H 6.31	N 6.14

***N*-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-6-aminohexansäureallylester (79)**

Gemäß AAV3 wurden 208 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) des Amin-Hydrochlorids **77** in 2.0 ml *abs.* THF mit 267 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) AMNPPOCl (**60**) in 2.0 ml *abs.* THF und 0.324 ml (4.0 Äq, 4.00 mmol) *abs.* Pyridin umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (12 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 205 mg (0.444 mmol, 44 %) des AMNPP-geschützten 6-Aminohexansäureallylesters **79** als gelbes Öl erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**79**) = 0.35]



^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.24–1.32 (sh, 5H, 7-H, 13-H), 1.47 (m, 2H, 8-H), 1.63 (m, 2H, 6-H), 2.32 (t, $^3J_{5,6}$ = 7.4 Hz, 2H, 5-H), 3.11 (m, 2H, 9-H), 3.89–3.91 (sh, 4H, 12-H, 20-H), 4.18 (m, 2H, 11-H), 4.56 (ddd, $^3J_{3,2}$ = 5.7 Hz, $^4J_{3,1c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{3,1t}$ = 1.4 Hz, 2H, 3-H), 4.63 (ddd, $^3J_{21,22}$ = 5.5 Hz, $^4J_{21,23c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{21,23t}$ = 1.3 Hz, 2H, 21-H), 5.17 (ddt, $^3J_{1t,2}$ = 10.4 Hz, $^2J_{1t,1c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{1t,3}$ = 1.3 Hz, 1H, 1-H_t), 5.27–5.35 (sh, 2H, 1-H_c, 23-H_t), 5.44 (ddt, $^3J_{23c,22}$ = 10.4 Hz, $^2J_{23c,23t}$ = 1.3 Hz, $^4J_{23c,21}$ = 1.3 Hz, 1H, 23-H_c), 5.91 (ddt, $^3J_{2,1c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{2,1t}$ = 10.4 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.7 Hz, 1H, 2-H), 6.05 (ddt, $^3J_{22,23c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{22,23t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{22,21}$ = 5.5 Hz, 1H, 22-H), 6.82 (s, 1H, 19-H), 7.42 (s, 1H, 16-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.6 (q, C-13), 24.4 (t, C-6), 26.1 (t, C-7), 29.5 (t, C-8), 33.2 (d, C-12), 34.0 (t, C-5), 40.7 (t, C-9), 56.3 (q, C-20), 65.0 (t, C-3), 68.3 (t, C-11), 70.0 (t, C-21), 109.3 (d, C-19), 109.6 (d, C-16), 118.1 (t, C-1), 118.9 (t, C-23), 132.1 (d, C-22), 132.2 (d, C-2), 132.6 (s, C-14), 142.5 (s, C-15), 146.1 (s, C-17), 153.1 (s, C-18), 156.2 (s, C-10), 173.1 (s, C-4).

HRMS (CI): $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 465.2237 $M_{\text{gef.}}$: 465.2250

Elementaranalyse:

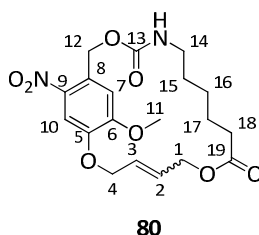
$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$	berechnet	C 59.47	H 6.94	N 6.03
(464.51)	gefunden	C 59.61	H 6.66	N 5.37

4. Experimenteller Teil

cyclo-(N-((4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxycarbonyl)-6-aminohexansäureallylester) (80)

Gemäß AAV4 wurden 70.0 mg (1.0 Äq, 0.160 mmol) Diallylsubstrat **78** in 30 ml *abs.* Dichlormethan gelöst, zu 13.6 mg (0.1 Äq, 0.016 mmol) Grubbs II-Katalysator in 3.0 ml *abs.* Dichlormethan getropft, nach beendeter Zugabe weitere 2 h refluxiert und 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) und Gefriertrocknung konnten 15.1 mg (0.037 mmol, 23 %) des cyclisierten Produkts **80** als leicht bräunlicher Feststoff erhalten werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**80**) = 0.15]



evtl. Isomerenmisch (cis/trans)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.21 (m, 2H, 16-H), 1.38–1.43 (sh, 4H, 15-H, 17-H), 2.22 (m, 2H, 18-H), 3.10 (m, 2H, 14-H), 3.99 (m, 3H, 11-H), 4.37–4.97 (sh, 6H, 1-H, 4-H, 12-H), 5.83 (sh, 3H, 2-H, 3-H, NH), 6.97 (m, 1H, 7-H), 7.62 (m, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 24.1 (t, C-17), 25.5 (t, C-16), 30.2 (t, C-15), 33.6, 34.9 (2t, C-18, C-18'), 40.2, 41.1 (2t, C-14, C-14'), 56.4 (q, C-11), 63.6 (t, C-1/4), 64.8 (t, C-12), 68.3 (t, C-1/4), 112.5, 113.1 (2d, C-10, C-10'), 113.5, 114.5 (2d, C-7, C-7'), 125.7 (s, C-8), 128.0, 128.1, 129.2, 129.5 (4d, C-2, C-2', C-3, C-3'), 140.7 (s, C-9), 146.1 (s, C-5), 153.4 (s, C-6), 156.1 (s, C-13), 172.8 (s, C-19).

HRMS (CI): C₁₉H₂₅N₂O₈, [M+H]⁺ M_{ber.}: 409.1611 M_{gef.}: 409.1610

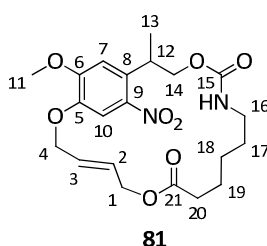
Elementaranalyse:

C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₈	berechnet	C 55.88	H 5.92	N 6.86
(408.40)	gefunden	C 54.47	H 5.70	N 6.32

cyclo-(N-((2-(4-Allyloxy-5-methoxy-2-nitrophenyl)propyl)oxycarbonyl)-6-aminohexansäureallylester) (81)

Gemäß AAV4 wurden 100 mg (1.0 Äq, 0.215 mmol) Diallylsubstrat **79** in 7.0 ml *abs.* Dichlormethan gelöst, zu 18.3 mg (0.1 Äq, 0.022 mmol) Grubbs II-Katalysator in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan getropft und nach beendeter Zugabe weitere 30 min refluxiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) konnten 33.0 mg (0.076 mmol, 35 %) des cyclisierten Produkts **81** als leicht bräunliches Öl isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**81**) = 0.18]



evtl. Isomerengemisch (*cis/trans*)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.17–1.69 (sh, 9H, 13-H, 17-H, 18-H, 19-H), 2.30 (m, 2H, 20-H), 2.94 (m, 2H, 16-H), 3.95 (s, 3H, 11-H), 4.03–4.39 (sh, 3H, 12-H, 14-H), 4.57–4.90 (sh, 5H, 1-H, 4-H, NH), 5.90 (m, 2H, 2-H, 3-H), 6.85 (m, 1H, 7-H), 7.37 (m, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 16.4, 17.7 (2q, C-13, C-13'), 24.1 (t, C-19), 25.7 (t, C-18), 28.2 (t, C-17), 32.4 (d, C-12), 33.9 (t, C-20), 40.2 (t, C-16), 56.2 (q, C-11), 63.4 (t, C-1/4), 68.6, 69.3 (2t, C-1/4, C-14), 108.8 (d, C-7), 109.8 (d, C-10), 127.8, 128.9 (2d, C-2, C-3), 132.9 (s, C-8), 143.6 (s, C-9), 145.3 (s, C-5), 153.2 (s, C-6), 156.1 (s, C-15), 173.1 (s, C-21).

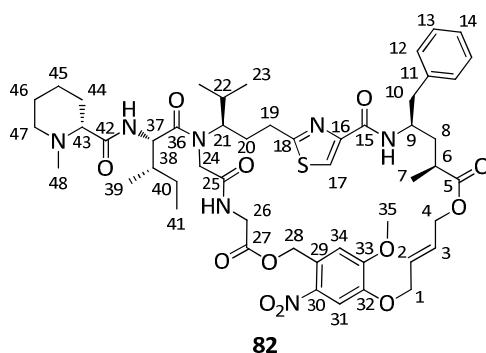
HRMS (CI): $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 436.1846 M_{gef} : 436.1845

***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucanyl-cyclo-(*N*-((glycinylyl-glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester) (**82**) (cyclo-(2*S*,4*R*)-allyl 4-(2-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*-(2-((4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxy)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate)**

Gemäß AAV4 wurden 40.0 mg (1.0 Äq, 0.039 mmol) Diallylsubstrat **88** in 10 ml *abs.* Dichlormethan gelöst, 0.048 ml (5.0 Äq, 0.194 mmol) HCl (4M in Dioxan) zugegeben, zu 4.9 mg (0.15 Äq, 0.006 mmol) Grubbs II-Katalysator in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan getropft und nach beendeter Zugabe weitere 90 min refluxiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4.3 g RP, ACN:H₂O+0.1% HCOOH, Gradient) und Gefriertrocknung konnten 28.1 mg (0.028 mmol, 72 %) des cyclisierten Produkts **82** als leicht bräunlicher Feststoff erhalten werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**82**) = 0.31]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3 μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.40', t_{r2} = 5.46'.



Rotamerenverhältnis \approx 6:4 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 19-H bis 23-H)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.71 (d, $^3J_{23a,22}$ = 6.5 Hz, 1.5H, 23-H_{a,R1}), 0.82–0.93 (sh, 7.5H, 23-H_{a,R2}, 39-H, 41-H), 0.97 (d, $^3J_{23b,22}$ = 6.4 Hz, 1.5H, 23-H_{b,R1}), 1.08 (d, $^3J_{23b,22}$ = 7.2 Hz, 1.5H, 23-H_{b,R2}), 1.10 (d, $^3J_{7,6}$ = 6.8 Hz, 1.5H, 7-H_R), 1.12 (d, $^3J_{7,6}$ = 6.9 Hz, 1.5H, 7-H_{R'}}), 1.15–1.24 (sh, 2H, 40-H_a, 45-H_a), 1.36 (m, 1H, 44-H_a), 1.47–1.70 (sh, 6H, 8-H_a, 20-H_{a,R2}, 22-H_{R1}, 40-H_b, 45-H_b, 46-H), 1.80 (m, 1H, 44-H_b), 1.84–1.99 (sh, 3H, 8-H_b, 20-H_{a,R1}, 22-H_{R2}, 38-H), 2.02–2.09 (sh, 1.5H, 20-H_{b,R2}, 47-H_a), 2.15–2.29 (sh, 3.5H, 20-H_{b,R2}, 48-H), 2.40–2.68 (sh, 2H, 6-H, 43-H), 2.78–3.00 (sh, 4.5H, 10-H, 19-H_{a,R1}, 19-H_{a,R2}, 19-H_{b,R1}, 47-H_b), 3.10 (m, 0.5H, 19-H_{b,R2}), 3.48 (d, $^2J_{24a,24b}$ = 15.1 Hz, 0.5H, 24-H_{a,R}), 3.60–3.69 (sh, 1H, 21-H_{R1}, 26-H_{a,R}), 3.80–3.87 (sh, 1H, 24-H_{a,R'}, 26-H_{a,R'}), 3.96 (s, 1.5H, 35-H_R), 3.98 (s, 1.5H, 35-H_{R'}), 4.20 (dd, $^3J_{26b,NH}$

4. Experimenteller Teil

= 6.6 Hz, $^2J_{26b,26a} = 17.6$ Hz, 0.5H, 26-H_{b,R'}), 4.32–4.45 (sh, 4H, 4-H_a, 9-H, 24-H_{b,R}, 24-H_{b,R'}, 26-H_{b,R}, 37-H_a), 4.53–4.77 (sh, 3.5H, 1-H, 4-H_b, 37-H_b), 5.26 (d, $^2J_{28a,28b} = 14.1$ Hz, 0.5H, 28-H_{a,R}), 5.36 (d, $^2J_{28b,28a} = 14.5$ Hz, 0.5H, 28-H_{b,R}), 5.39 (d, $^2J_{28a,28b} = 14.3$ Hz, 0.5H, 28-H_{a,R'}), 5.73 (d, $^2J_{28b,28a} = 14.2$ Hz, 0.5H, 28-H_{b,R'}), 5.77–5.90 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.90 (s, 0.5H, 34-H_R), 6.98 (s, 0.5H, 34-H_{R'}), 7.10 (dm, $^3J_{NH,9} = 9.3$ Hz, 0.5H, NH_{Tup,R}), 7.15–7.26 (sh, 5.5H, 12-H, 13-H, 14-H, NH_{Tup,R'}), 7.37 (m, 1H, NH_{lle}), 7.62 (s, 0.5H, 31-H_R), 7.65 (s, 0.5H, 31-H_{R'}), 7.68–7.73 (sh, 1.5H, 17-H_R, NH_{Gly}), 7.82 (s, 0.5H, 17-H_{R'}). 21-H_{R2} (0.5H) nicht detektierbar.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 10.4, 11.4$ (2q, C-41_R, C-41_{R'}), 15.6, 16.4 (2q, C-39_R, C-39_{R'}), 17.3, 17.6 (2q, C-7_R, C-7_{R'}), 19.5 (q, C-23_{a,R1}), 20.4, 20.4 (2q, C-23_{a,R2}, C-23_{b,R1}), 20.6 (q, C-23_{b,R2}), 23.1 (t, C-45), 24.6 (t, C-40), 24.8 (t, C-46), 29.6 (t, C-19_{R1}), 30.0, 30.1, 30.4 (3t, C-19_{R2}, C-20_{R1}, C-20_{R2}), 30.5, 30.6 (d, t, C-22_{R1}, C-44), 31.1 (d, C-22_{R2}), 36.3, 36.4 (2d, C-6, C-38), 37.7 (t, C-8), 41.0 (t, C-10), 41.4, 41.5 (2t, C-26_R, C-26_{R'}), 44.7 (q, C-48), 46.8 (t, C-24), 47.7, 48.0 (2d, C-9_R, C-9_{R'}), 53.2, 53.8 (2d, C-37_R, C-37_{R'}), 55.2 (t, C-47), 56.4, 56.5 (2q, C-35_R, C-35_{R'}), 63.6, 63.7, 63.8, 63.9 (4t, C-4_R, C-4_{R'}, C-28_R, C-28_{R'}), 64.2 (d, C-21), 68.9 (t, C-1), 69.4 (d, C-43), 110.3, 112.3 (2d, C-31_R, C-31_{R'}), 110.8, 111.3 (2d, C-34_R, C-34_{R'}), 122.2, 122.9 (2d, C-17_R, C-17_{R'}), 125.4 (d, C-14), 127.0 (s, C-29), 127.4, 127.7, 128.6, 128.7 (4d, C-2_R, C-2_{R'}, C-3_R, C-3_{R'}), 128.3, 128.3 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 129.4, 129.4 (2d, C-12_R, C-12_{R'}), 137.6, 137.6 (2s, C-11_R, C-11_{R'}), 139.7, 139.8 (2s, C-30_R, C-30_{R'}), 146.4, 146.8 (2s, C-32_R, C-32_{R'}), 149.2, 149.5 (2s, C-16_R, C-16_{R'}), 154.1, 154.6 (2s, C-33_R, C-33_{R'}), 160.5, 160.6 (2s, C-18_R, C-18_{R'}), 169.2, 169.7, 169.8, 170.9, 173.6, 174.1, 175.6, 175.8 (sh, C-5, C-15, C-25, C-27, C-36, C-42).

MS (ESI/APCI): C₅₁H₇₀N₇O₁₂S, [M+H]⁺ M_{ber}: 1004.48 M_{gef}: 1004.40
C₅₁H₇₁N₇O₁₂S, [M+2H]²⁺ M_{ber}: 502.74 M_{gef}: 502.85

Elementaranalyse:

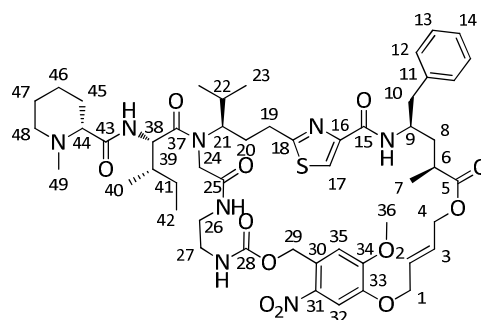
C ₅₁ H ₆₉ N ₇ O ₁₂ S	berechnet	C 61.00	H 6.93	N 9.76
(1004.20)	gefunden	C 59.69	H 6.62	N 8.86

***N*-Methyl-(*D*)-pipecolinyl-(*L*)-isoleucinyl-cyclo-(*N*-((glycinyl-ethylendiamin)-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbamat)-desacetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester) (**83**)
(cyclo-(2*S*,4*R*)-allyl 4-(2-((*R*)-1-(4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrophenyl)-11-isopropyl-10-((2*S*,3*S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-3,8-dioxo-2-oxa-4,7,10-triazatridecan-13-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate)**

Gemäß AAV4 wurden 40.0 mg (1.0 Äq, 0.038 mmol) Diallylsubstrat **89** in 10 ml *abs.* Dichlormethan gelöst, 0.047 ml (5.0 Äq, 0.188 mmol) HCl (4M in Dioxan) zugegeben, zu 4.8 mg (0.15 Äq, 0.006 mmol) Grubbs II-Katalysator in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan getropft und nach beendeter Zugabe weitere 60 min refluxiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4.3 g RP, ACN:H₂O+0.1% HCOOH, Gradient) und Gefriertrocknung konnten 23.0 mg (0.022 mmol, 59 %) des cyclisierten Produkts **83** als leicht bräunlicher Feststoff isoliert werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**83**) = 0.14]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3 μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.34', t_{r2} = 5.41'.



83

Rotamerenverhältnis \approx 6:4 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 19-H/20H, 22H/23-H und 38-H bis 40-H)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.72–0.75 (sh, 3H, 23-H_{a,R1}, C-40_{R1}), 0.81 (d, ³J_{23a,22} = 6.7 Hz, 1.5H, 23-H_{a,R2}), 0.80–0.94 (sh, 6H, 23-H_{b,R1}, 40-H_{R2}, 42-H), 1.04 (d, ³J_{23b,22} = 6.3 Hz, 1.5H, 23-H_{b,R2}), 1.14 (d, ³J_{7,6} = 6.7 Hz, 1.5H, 7-H_R), 1.15 (d, ³J_{7,6} = 6.7 Hz, 1.5H, 7-H_{R'}), 1.19–1.26 (sh, 2H, 41-H_a, 46-H_a), 1.37 (m, 1H, 45-H_a), 1.45–1.81 (sh, 8H, 8-H_a, 20-H_{a,R1}, 20-H_{a,R2}, 22-H_{R1}, 39-H_{R1}, 41-H_b, 45-H_b, 46-H_b, 47-H), 1.85 (m, 0.5H, 22-H_{R2}), 1.89–1.97 (sh, 1.5H, 8-H_b, 39-H_{R2}), 2.02–2.12 (sh, 1.5H, 20-H_{b,R1}, 48-H_a), 2.23 (s, 3H, 49-H), 2.37–2.52 (sh, 1.5H, 20-H_{b,R2}, 44-H), 2.61 (m, 1H, 6-H), 2.79–2.98 (sh, 4H, 10-H, 19-H_{a,R1}, 19-H_{a,R2}, 48-H_b), 3.09–3.66 (sh, 7H, 19-H_{b,R1}, 19-H_{b,R2}, 21-H, 24-H_{a,R}, 24-H_{a,R'}, 26-H, 27-H), 3.92 (s, 3H, 36-H), 4.02 (m, 0.5H, 38-H_{R1}), 4.33–4.73 (sh, 6.5H, 1-H_a, 1-H_b, 4-H_a, 4-H_b, 9-H, 24-H_{b,R}, 24-H_{b,R'}, 38-H_{R2}), 5.30 (d, ²J_{29a,29b} = 13.0 Hz, 0.5H, 29-H_{a,R1}), 5.36 (d, ²J_{29a,29b} = 13.7 Hz, 0.5H, 29-H_{a,R2}), 5.44 (d, ²J_{29b,29a} = 13.7 Hz, 0.5H, 29-H_{b,R2}), 5.50 (d, ²J_{29b,29a} = 13.0 Hz, 0.5H, 29-H_{b,R1}), 5.80–5.92 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.90–7.00 (sh, 3H, 35-H_R, NH_{Boc}, NH_{Tup,R}, NH_{Amid}), 7.02 (s, 0.5H, 35-H_{R'}), 7.09 (bs, 0.5H, NH_{lle,R2}), 7.16–7.19 (sh, 3.5H, 12-H, 14-H, NH_{Tup,R'}), 7.22–7.27 (sh, 2.5H, 13-H, NH_{lle,R1}), 7.55 (s, 0.5H, 32-H_R), 7.63 (s, 0.5H, 32-H_{R'}), 7.64 (s, 0.5H, 17-H_R), 7.74 (s, 0.5H, 17-H_{R'}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.5, 11.7 (2q, C-42_R, C-42_{R'}), 15.9, 16.4 (2q, C-40_R, C-40_{R'}), 17.3 (q, C-7), 19.6, 19.9 (2q, C-23_{a,R1}, C-23_{a,R2}), 20.3 (q, C-23_{b,R1}), 20.8 (q, C-23_{b,R2}), 22.9, 23.1 (2t, C-41, C-46), 24.5, 24.9 (2t, C-47_R, C-47_{R'}), 28.8 (t, C-19_{R2}), 29.5, 30.2, 30.5 (3t, C-19_{R1}, C-20_{R1}, C-20_{R2}), 30.5 (t, C-45), 31.3 (d, C-22), 35.3, 36.2 (2d, C-39_R, C-39_{R'}), 36.4 (d, C-6), 37.6, 37.9 (2t, C-8_R, C-8_{R'}), 40.0, 40.2, 40.9, 41.9 (4t, C-26_R, C-26_{R'}, C-27_R, C-27_{R'}), 40.9, 41.5 (2t, C-10_R, C-10_{R'}), 44.6, 44.8 (2q, C-49_R, C-49_{R'}), 46.4 (t, C-24), 47.5, 48.0 (2d, C-9_R, C-9_{R'}), 54.1, 55.9 (2d, C-38_R, C-38_{R'}), 55.1, 55.2 (2t, C-48_R, C-48_{R'}), 56.5 (q, C-36), 62.7 (d, C-21), 63.4, 63.5, 63.6, 63.7 (4t, C-4_R, C-4_{R'}, C-29_R, C-29_{R'}), 68.6 (t, C-1_R), 68.9, 69.4 (t, d, C-1_{R'}, C-44), 110.0, 110.7 (2d, C-32_R, C-32_{R'}), 112.0, 113.3 (2d, C-35_R, C-35_{R'}), 122.4, 122.6 (2d, C-17_R, C-17_{R'}), 126.4, 126.4 (2d, C-14_R, C-14_{R'}), 127.1 (s, C-30), 127.4, 127.7, 128.7, 129.0 (4d, C-2_R, C-2_{R'}, C-3_R, C-3_{R'}), 128.4 (d, C-13), 129.3, 129.4 (2d, C-12_R, C-12_{R'}), 137.5, 137.7 (2s, C-11_R, C-11_{R'}), 140.2, 140.5 (2s, C-31_R, C-31_{R'}), 146.9 (s, C-33), 149.5, 149.5 (2s, C-16_R, C-16_{R'}), 153.8, 156.4 (2s, C-28, C-34), 160.3, 160.5 (2s, C-18_R, C-18_{R'}), 169.8, 170.0, 170.4, 170.7, 172.5, 175.7, 175.7 (sh, C-5, C-15, C-25, C-37, C-43).

MS (ESI/APCI): C ₅₂ H ₇₃ N ₈ O ₁₂ S, [M+H] ⁺	M _{ber} : 1033.51	M _{gef} : 1033.45
C ₅₂ H ₇₄ N ₈ O ₁₂ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber} : 517.26	M _{gef} : 517.25

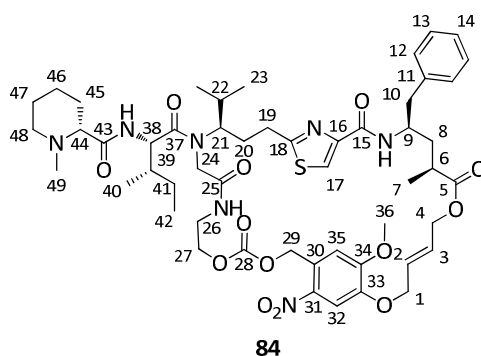
4. Experimenteller Teil

***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinyl-cyclo-(*N*-((glycinyl-ethanolamin)-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbonat)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester) (**84**)
cyclo-(*2S,4R*)-allyl 4-(2-((*R*)-1-(4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrophenyl)-11-isopropyl-10-((*2S,3S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-3,8-dioxo-2,4-dioxo-7,10-diazatridecan-13-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV4 wurden 40.0 mg (1.0 Äq, 0.038 mmol) Diallylsubstrat **90** in 10 ml *abs.* Dichlormethan gelöst, 0.047 ml (5.0 Äq, 0.188 mmol) HCl (4M in Dioxan) zugegeben, zu 4.8 mg (0.15 Äq, 0.006 mmol) Grubbs II-Katalysator in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan getropft und nach beendeter Zugabe weitere 60 min refluxiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4.3 g RP, ACN:H₂O+0.1% HCOOH, Gradient) und Gefriertrocknung wurden 22.2 mg (0.021 mmol, 56 %) des cyclisierten Produkts **84** als leicht bräunlicher Feststoff erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**84**) = 0.24]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.40', t_{r2} = 5.47'.



Rotamerenverhältnis ≈ 6:4 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 19-H/20H, 22H/23-H, 39-H/40-H und 26-H/NH_{Gly})

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.75 (d, ³J_{23a,22} = 6.5 Hz, 1.5H, 23-H_{a,R1}), 0.82 (m, 1.5H, 40-H_{R1}), 0.85–0.90 (sh, 4.5H, 23-H_{a,R2}, 42-H), 0.95 (d, ³J_{23b,22} = 6.5 Hz, 1.5H, 23-H_{b,R1}), 0.95 (d, ³J_{40,39} = 6.5 Hz, 1.5H, 40-H_{R2}), 1.04 (d, ³J_{23b,22} = 6.4 Hz, 1.5H, 23-H_{b,R2}), 1.14 (d, ³J_{7,6} = 7.0 Hz, 1.5H, 7-H_R), 1.15 (d, ³J_{7,6} = 7.0 Hz, 1.5H, 7-H_{R'}), 1.18–1.26 (sh, 2H, 41-H_a, 46-H_a), 1.38 (m, 1H, 45-H_a), 1.45–1.68 (sh, 5.5H, 8-H_a, 22-H_{R1}, 41-H_b, 46-H_b, 47-H), 1.72–1.81 (sh, 2H, 20-H_{a,R1}, 39-H_{R1}, 45-H_b), 1.85 (m, 0.5H, 22-H_{R2}), 1.91–2.08 (sh, 3H, 8-H_b, 20-H_{a,R2}, 39-H_{R2}, 48-H_a), 2.22 (s, 3H, 49-H), 2.29–2.36 (sh, 1H, 20-H_{b,R1}, 20-H_{b,R2}), 2.50 (m, 1H, 44-H), 2.62 (m, 1H, 6-H), 2.77–2.93 (sh, 4H, 10-H, 19-H_{a,R1}, 19-H_{a,R2}, 48-H_b), 3.11–3.18 (sh, 1H, 19-H_{b,R2}, 24-H_{a,R}), 3.29–3.47 (sh, 2.5H, 19-H_{b,R1}, 21-H, 26-H_{a,R1}, 26-H_{a,R2}), 3.59 (d, ²J_{24a,24b} = 15.7 Hz, 0.5H, 24-H_{a,R'}), 3.69 (m, 0.5H, 26-H_{b,R1}), 3.85 (m, 0.5H, 26-H_{b,R2}), 3.94 (s, 1.5H, 36-H_R), 3.95 (s, 1.5H, 36-H_{R'}), 4.06 (d, ²J_{24b,24a} = 15.7 Hz, 0.5H, 24-H_{b,R'}), 4.25–4.50 (sh, 5.5H, 4-H_a, 9-H, 24-H_{b,R}, 27-H, 38-H), 4.56–4.76 (sh, 3H, 1-H, 4-H_b), 5.39–5.63 (sh, 2H, 29-H_{a,R}, 29-H_{a,R'}, 29-H_{b,R}, 29-H_{b,R'}), 5.77–5.89 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.89–7.03 (sh, 2.5H, 35-H_R, 35-H_{R'}, NH_{Amid,R1}, NH_{Ile}), 7.10 (d, ³J_{NH,9} = 9.6 Hz, 0.5H, NH_{Tup,R}), 7.16–7.19 (sh, 4H, 12-H, 14-H, NH_{Amid,R2}, NH_{Tup,R'}), 7.24 (m, 2H, 13-H), 7.61 (s, 0.5H, 32-H_R), 7.65 (s, 0.5H, 32-H_{R'}), 7.69 (s, 0.5H, 17-H_R), 7.75 (s, 0.5H, 17-H_{R'}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.5, 11.6 (2q, C-42_R, C-42_{R'}), 15.9, 16.4 (2q, C-40_R, C-40_{R'}), 17.4, 17.4 (2q, C-7_R, C-7_{R'}), 19.8 (q, C-23_{a,R1}), 20.3, 20.3 (2q, C-23_{a,R2}, C-23_{b,R1}), 20.5 (q, C-23_{b,R2}), 23.2, 23.4 (2t, C-46_R, C-46_{R'}), 24.5, 25.0 (2t, C-41, C-47), 29.2 (t, C-19_{R1}), 29.7, 30.1, 30.3, 30.4, 30.5 (3t, d, t, C-19_{R2}, C-20_{R1}, C-20_{R2}, C-22_{R1}, C-45), 31.5 (d, C-22_{R2}), 36.4, 36.4 (2d, C-39_R, C-39_{R'}), 36.5, 36.7 (2d, C-6_R, C-6_{R'}), 37.6, 37.8 (2t, C-8_R, C-8_{R'}), 38.8, 39.1 (2t, C-26_R, C-26_{R'}), 41.0, 41.2 (2t, C-10_R, C-10_{R'}), 44.9 (q, C-49),

46.3 (t, C-24), 47.9, 48.0 (2d, C-9_R, C-9_{R'}), 53.9, 54.0 (2d, C-38_R, C-38_{R'}), 55.3 (t, C-48), 56.5 (q, C-36), 63.3 (d, C-21), 63.5 (t, C-4), 66.4, 66.6, 66.7, 66.9 (4t, C-27_R, C-27_{R'}, C-29_R, C-29_{R'}), 69.0 (t, C-1_R), 69.4, 69.5 (t, d, C-1_{R'}, C-44), 110.4, 111.0 (2d, C-32_R, C-32_{R'}), 111.3, 112.3 (2d, C-35_R, C-35_{R'}), 122.3, 122.4 (2d, C-17_R, C-17_{R'}), 125.8 (s, C-30), 126.4, 126.4 (2d, C-14_R, C-14_{R'}), 127.3, 127.8, 128.9, 129.1 (4d, C-2_R, C-2_{R'}, C-3_R, C-3_{R'}), 128.3, 128.3 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 129.4, 129.5 (2d, C-12_R, C-12_{R'}), 137.5, 137.6 (2s, C-11_R, C-11_{R'}), 139.9, 140.2 (2s, C-31_R, C-31_{R'}), 147.1, 147.2 (2s, C-33_R, C-33_{R'}), 149.5, 149.7 (2s, C-16_R, C-16_{R'}), 153.9 (s, C-28_R), 154.0 (s, C-34_R), 154.6 (s, C-28_{R'}), 154.7 (s, C-34_{R'}), 160.4, 160.6 (2s, C-18_R, C-18_{R'}), 169.1, 169.4, 169.9, 170.7, 173.4, 174.9, 175.2, 175.6, 175.7 (sh, C-5, C-15, C-25, C-37, C-43).

MS (ESI/APCI): C₅₂H₇₂N₇O₁₃S, [M+H]⁺ M_{ber}: 1034.49 M_{gef}: 1034.45
 C₅₂H₇₃N₇O₁₃S, [M+2H]²⁺ M_{ber}: 517.75 M_{gef}: 517.75

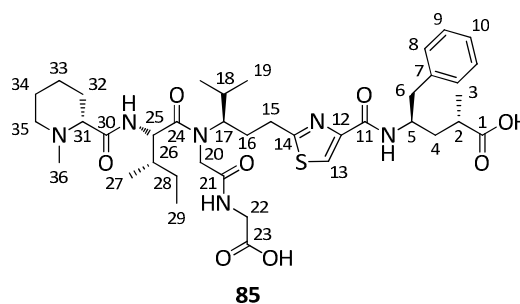
***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinyl-*N*-(glycinyl-glycin)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester (**85**)**

***(2S,4R)*-4-(2-((*R*)-3-((*2S,3S*)-*N*-(2-((*carboxymethyl*)amino)-2-oxoethyl)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoic acid**

Zu einer Lösung aus 30.0 mg (1.0 Äq, 0.036 mmol) des Esters **124** in 0.24 ml Dioxan wurden 0.08 ml Wasser, 0.08 ml Methanol und 6.1 mg (4.0 Äq, 0.143 mmol) LiOH zugegeben und die Reaktionslösung wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 0.089 ml (10.0 Äq, 0.357 mmol) HCl (4M in Dioxan) angesäuert, 5 min nachgerührt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (4.3 g RP, ACN:H₂O+0.1%HCOOH, Gradient) aufgereinigt. Gefrierd Trocknung ergab 23.1 mg (0.028 mmol, 79 %) des vollständig entschützten Produkts **85** als Formiat-Salz.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**85**) = 0.06]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_r = 1.96'–4.74'.



Rotamerenverhältnis ≈ 1:1 (R, R' = Rotamere)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.82–0.96 (sh, 9H, 19-H_a, 27-H, 29-H_R, 29-H_{R'}), 1.06 (d, ³J_{3,2} = 7.0 Hz, 3H, 3-H), 1.10 (d, ³J_{19,18} = 6.1 Hz, 3H, 19-H_b), 1.14–1.19 (sh, 2H, 28-H_a, 33-H_a), 1.49–1.60 (sh, 2H, 28-H_b, 33-H_b), 1.70–2.22 (sh, 10H, 4-H, 16-H, 18-H, 26-H, 32-H, 34-H), 2.38, 2.49 (2s, 3H, 36-H_R, 36-H_{R'}), 2.54–2.70 (sh, 3H, 2-H, 31-H, 15-H_{a/R}), 2.77–3.00 (sh, 3H, 6-H_a, 15-H_{b/R'}, 35-H_a), 3.07 (dd, ³J_{6b,6a} = 13.4 Hz, ³J_{6b,5} = 6.1 Hz, 1H, 6-H_b), 3.39 (d, ³J_{20a,20b} = 14.4 Hz, 1H, 20-H_a), 3.53–3.63 (sh, 3H, 17-H, 22-H_a, 35-H_b), 4.36 (m, 1H, 22-H_b), 4.46 (m, 1H, 5-H), 2.79–2.88 (sh, 2H, 20-H_b, 25-H), 7.15 (m, 1H, 10-H), 7.19–7.24 (sh, 4H, 8-H, 9-H), 7.87 (s, 0.5H, 13-H_R), 7.89 (s, 0.5H, 13-H_{R'}), 8.10 (m, 0.5H, NH_{Tup,R}), 8.19 (m, 0.5H, NH_{Tup,R'}).

4. Experimenteller Teil

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 11.3$ (q, C-29), 16.1 (q, C-27), 17.0 (q, C-3), 20.6, 20.7 (2q, C-19_a, C-19_b), 23.2 (t, C-34), 24.7, 24.8 (2t, C-28, C-33), 28.5, 29.4 (2t, C-16, C-32), 30.5 (t, C-15), 30.7 (d, C-18), 36.6 (d, C-2), 39.0 (d, C-26), 40.6, 40.7 (t, q, C-6, C-36), 41.6 (t, C-22), 46.5 (, C-20), 49.1 (d, C-5), 50.2* (t, C-35), 53.5 (d, C-25), 65.7 (d, C-17), 71.8* (d, C-31), 122.6 (d, C-13), 126.1 (d, C-10), 128.3 (d, C-9), 129.4 (d, C-8), 138.9 (s, C-7), 149.7, 149.9 (2s, C-12_R, C-12_{R'}), 160.8 (s, C-14), 169.3–173.7 (sh, C-1, C-11, C-21, C-23, C-24, C-30).

*: Werte aus 2D-Spektren ermittelt.

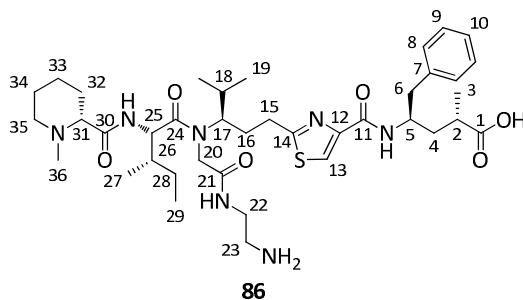
MS (ESI/APCI): $\text{C}_{39}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 771.41 M_{gef} : 771.25
 $\text{C}_{39}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$, $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ M_{ber} : 386.21 M_{gef} : 386.10

***N*-Methyl-*(D)*-pipecolinyl-*(L)*-isoleucanyl-*N*-(glyciny-2-aminoethylamid)-desacetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninylester (**86**) *(2S,4R)*-4-(2-*((R)*-3-*((2S,3S)*-*N*-(2-*((2-aminoethyl)amino)*-2-oxoethyl)-3-methyl-2-*((R)*-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoic acid**

Zu einer Lösung aus 42.0 mg (1.0 Äq, 0.048 mmol) des Esters **127** in 0.24 ml Dioxan wurden 0.12 ml Wasser und 6.2 mg (3.0 Äq, 0.145 mmol) LiOH zugegeben und die Reaktionslösung wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 0.121 ml (10.0 Äq, 0.483 mmol) HCl (4M in Dioxan) angesäuert, 5 min nachgerührt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (4.3 g RP, ACN:H₂O+0.1%HCOOH, Gradient) aufgereinigt. Gefriertrocknung ergab 19.9 mg (0.025 mmol, 52 %) des vollständig entschützten Produkts **86** als Formiat-Salz.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**86**) = 0.29]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3 μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: $t_r = 0.70'$ – $0.78'$.



Rotamerenverhältnis $\approx 1:1$ (R, R' = Rotamere)

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.82$ – 0.90 (sh, 4.5H, 19-H_{a,R}, 29-H), 0.93–1.01 (sh, 7.5H, 3-H_R, 19-H_{a,R'}, 19-H_{b,R}, 27-H), 1.06–1.15 (sh, 4H, 3-H_{R'}, 19-H_{b,R'}, 28-H_a), 1.26 (m, 1H, 33-H_a), 1.52 (m, 1H, 28-H_b), 1.64–1.75 (3H, 33-H_b, 34-H), 1.80–2.00 (sh, 6H, 4-H, 16-H_a, 18-H, 26-H, 32-H_a), 2.07–2.47 (sh, 6H, 16-H_b, 32-H_b, 35-H_a, 36-H_R, 36-H_{R'}), 2.54–2.64 (sh, 2H, 2-H, 31-H), 2.76–3.33 (sh, 8H, 6-H, 15-H_{a,R}, 15-H_{a,R'}, 15-H_{b,R}, 15-H_{b,R'}, 22-H_a, 23-H, 35-H_b), 3.46–3.71 (sh, 2H, 17-H, 20-H_a), 4.14 (m, 1H, 20-H_b), 4.31–4.44 (sh, 2H, 5-H, 22-H_b), 4.58 (m, 0.5H, 25-H_R), 4.80 (m, 0.5H, 25-H_{R'}), 7.17–7.27 (sh, 5H, 8-H, 9-H, 10-H), 7.31–7.66 (sh, 1H, NH_{Amid,R}, NH_{Amid,R'}), 7.82–7.95 (sh, 1H, 13-H_R, 13-H_{R'}), 8.41 (d, $^3J_{\text{NH},5} = 8.1$ Hz, 1H, NH_{Tup}).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 11.1$ (q, C-29), 16.2 (q, C-27_R), 16.7 (q, C-3_R), 17.5 (q, C-27_{R'}), 18.1 (q, C-3_{R'}), 20.2, 20.3, 20.5, 20.6 (4q, C-19_{a,R}, C-19_{a,R'}, C-19_{b,R}, C-19_{b,R'}), 22.3 (t, C-33), 23.8 (t, C-34), 24.4 (t, C-28), 28.4 (t, C-16_R), 28.9 (t, C-15_R), 29.4 (t, C-16_{R'}), 30.0, 30.3 (2t, C-15_{R'}, C-32), 30.9, 31.0 (2d, C-18_R, C-

18_{R'}), 34.9, 36.1 (2t, C-4_R, C-4_{R'}), 36.3 (d, C-2), 37.4, 38.9 (t, d, C-22/C-23, C-26), 40.7 (t, C-6), 41.5 (t, C-22/C-23), 42.4*, 43.3* (2q, C-36_R, C-36_{R'}), 46.2* (t, C-20), 48.8 (d, C-5), 53.5*, 54.3 (2d, C-25_R, C-25_{R'}), 55.4 (t, C-35), 64.0* (d, C-17), 122.5, 123.2 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 126.3, 126.5 (2d, C-10_R, C-10_{R'}), 128.4, 128.5 (2d, C-9_R, C-9_{R'}), 129.4, 129.4 (2d, C-8_R, C-8_{R'}), 138.1, 138.6 (2s, C-7_R, C-7_{R'}), 149.6, 150.2 (2s, C-12_R, C-12_{R'}), 160.5, 161.3 (2s, C-14_R, C-14_{R'}), 168.4–173.9 (sh, C-1, C-11, C-21, C-24, C-30).

*: Werte aus 2D-Spektren ermittelt.

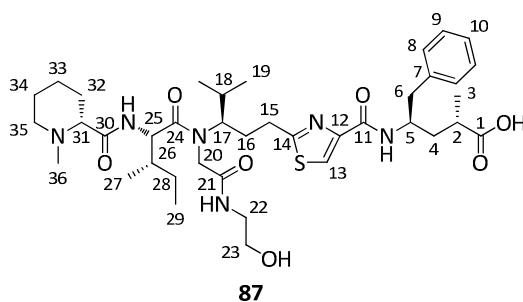
HRMS (CI):	C ₃₉ H ₆₁ N ₇ O ₆ S, [M] ⁺	M _{ber} :	755.4404	M _{gef} :	755.4459
MS (ESI/APCI):	C ₃₉ H ₆₂ N ₇ O ₆ S, [M+H] ⁺	M _{ber} :	756.45	M _{gef} :	756.25
	C ₃₉ H ₆₃ N ₇ O ₆ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber} :	378.73	M _{gef} :	378.65

***N*-Methyl-(*D*)-pipecolinyl-(*L*)-isoleucanyl-*N*-(glyciny-2-hydroxyethylamid)-desacetoxy-tubovalinyl-tubuphenylalaninylester (**87**)
 (2*S*,4*R*)-4-(2-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*-(2-((2-hydroxyethyl)amino)-2-oxoethyl)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoic acid**

Zu einer Lösung aus 42.1 mg (1.0 Äq, 0.047 mmol) des Esters **129** in 0.3 ml Dioxan wurden 0.15 ml Wasser und 4.1 mg (2.0 Äq, 0.095 mmol) LiOH zugegeben und die Reaktionslösung wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 0.237 ml (20.0 Äq, 0.949 mmol) HCl (4M in Dioxan) angesäuert, 5 min nachgerührt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (4.3 g RP, ACN:H₂O+0.1%HCOOH, Gradient) aufgereinigt. Gefriertrocknung ergab 16.1 mg (0.020 mmol, 42 %) des vollständig entschützten Produkts **87** als Formiat-Salz.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**87**) = 0.33]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_r = 1.99'–4.69'.



Rotamerenverhältnis ≈ 1:1 (R, R' = Rotamere)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.83 (d, ³J_{29,28} = 6.8 Hz, 1.5H, 29-H_R), 0.90–0.93 (sh, 4.5H, 19-H_a, 29-H_{R'}), 0.97 (m, 3H, 27-H), 1.09–1.15 (sh, 6H, 3-H, 19-H_b), 1.18–1.34 (2H, 28-H_a, 33-H_a), 1.52–1.66 (sh, 4H, 28-H_b, 33-H_b, 34-H), 1.71–2.02 (sh, 7H, 4-H, 16-H_a, 18-H, 26-H, 32-H), 2.20–2.44 (sh, 5H, 16-H_b, 35-H_a, 36-H), 2.49–2.65 (sh, 2H, 2-H, 31-H), 2.82–3.15 (sh, 5H, 6-H, 15-H, 22-H_a), 3.39–3.61 (sh, 5H, 17-H, 20-H_a, 22-H_b, 23-H_a, 35-H_b), 3.73 (m, 1H, 23-H_b), 4.32 (m, 0.5H, 5-H_R), 4.38–4.52 (sh, 2H, 5-H_{R'}, 20-H_b, 25-H_R), 4.74 (dd, ³J_{25,26} ≈ ³J_{25,NH} ≈ 7.2 Hz, 0.5H, 25-H_{R'}), 7.19 (m, 1H, 10-H), 7.21–7.29 (sh, 4H, 8-H, 9-H), 7.53 (bs, 1H, NH_{Amid}), 7.65 (bs, 1H, NH_{Ile}), 7.89 (s, 0.5H, 13-H_R), 7.93 (s, 0.5H, 13-H_{R'}), 7.96 (m, 0.5H, NH_{Tup,R}), 8.11 (m, 0.5H, NH_{Tup,R'}).

4. Experimenteller Teil

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.9, 11.4 (2q, C-29_R, C-29_{R'}), 16.0, 16.1 (2q, C-27_R, C-27_{R'}), 16.4 (q, C-3), 20.3, 20.8 (2q, C-19_a, C-19_b), 23.9, 24.1, 24.5 (3t, C-28, C-33, C-34), 29.3 (t, C-32), 29.9, 30.0, 30.3, 30.7 (4t, C-15_R, C-15_{R'}, C-16_R, C-16_{R'}), 31.0 (d, C-18), 36.0 (t, C-4), 36.1 (d, C-2), 36.7, 37.2 (2d, C-26_R, C-26_{R'}), 40.8, 41.1 (2t, C-6_R, C-6_{R'}), 42.4, 43.2 (t, q, C-22, C-36), 46.9 (t, C-20), 48.8 (d, C-5), 54.3 (d, C-25_R), 55.0, 55.1 (d, t, C-25_{R'}, C-35), 60.9, 61.4 (t, C-23_R, C-23_{R'}), 64.8 (d, C-17), 122.6, 122.8 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 126.4, 126.5 (2d, C-10_R, C-10_{R'}), 128.4, 128.5 (2d, C-9_R, C-9_{R'}), 129.3, 129.4 (2d, C-8_R, C-8_{R'}), 138.2 (s, C-7), 149.4, 149.5 (2s, C-12_R, C-12_{R'}), 161.1, 161.6 (2s, C-14_R, C-14_{R'}), 169.6–173.4 (sh, C-1, C-11, C-21, C-24, C-30).

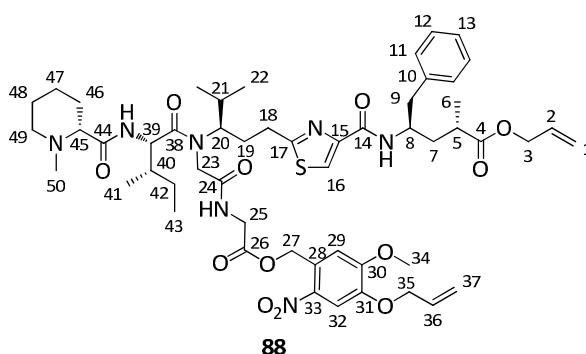
HRMS (CI): C ₃₉ H ₆₁ N ₆ O ₇ S, [M+H] ⁺	M _{ber} : 757.4322	M _{gef} : 757.4326
MS (ESI/APCI): C ₃₉ H ₆₁ N ₆ O ₇ S, [M+H] ⁺	M _{ber} : 757.43	M _{gef} : 757.30
C ₃₉ H ₆₂ N ₆ O ₇ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber} : 379.22	M _{gef} : 379.05

***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinyl-*N*-(glycinyl-glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester (**88**)
(*2S,4R*)-allyl 4-(2-((*R*)-3-((*2S,3S*)-*N*-(2-((2-((4-allyloxy)-5-methoxy-2-nitrobenzyl)oxy)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV6 wurden 461 mg (1.0 Äq, 1.01 mmol) Amin **95**, 30.2 mg (1.0 Äq, 1.01 mmol) Paraformaldehyd, 297 mg (1.15 Äq, 1.16 mmol) der Säure **94b** und 308 mg (1.0 Äq, 1.01 mmol) des Isonitrils **91** in 7.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 654 mg (0.634 mmol, 63 %) des Prä tubugi-Produkts **88** als gelblicher Feststoff erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**88**) = 0.15]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3 μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.65', t_{r2} = 5.71'.



Rotamerenverhältnis \approx 1:1 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 18-H/19-H und 21 H/22-H)

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.75 (d, $^3J_{22a,21}$ = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{a,R1}), 0.83 (d, $^3J_{43,42}$ = 7.3 Hz, 1.5H, 43-H_R), 0.89–0.94 (sh, 7.5H, 22-H_{a,R2}, 22-H_{b,R1}, 41-H, 43-H_{R'}), 1.05 (d, $^3J_{22b,21}$ = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R2}), 1.10–1.19 (sh, 5H, 6-H, 42-H_a, 47-H_a), 1.31–1.45 (sh, 2H, 46-H_a, 48-H_a), 1.52–1.68 (sh, 4.5H, 7-H_a, 21-H_{R1}, 42-H_b, 47-H_b, 48-H_b), 1.77–2.04 (sh, 6H, 7-H_b, 19-H_{a,R1}, 19-H_{a,R2}, 21-H_{R2}, 40-H, 46-H_b, 49-H_a), 2.12 (m, 0.5H, 19-H_{b,R2}), 2.19–2.22 (sh, 3.5H, 19-H_{b,R1}, 50-H), 2.47 (m, 1H, 45-H), 2.62 (m, 1H, 5-H), 2.82–2.96 (sh, 4H, 9-H, 18-H_{a,R1}, 18-H_{a,R2}, 49-H_b), 3.14 (sh, 1H, 18-H_{b,R1}, 18-H_{b,R2}), 3.61 (m, 0.5H, 20-H_R), 3.71–3.83 (sh, 1H, 23-H_{a,R}, 23-H_{a,R'}), 3.96 (s, 1.5H, 34-H_R), 3.98–4.03 (sh, 2H, 25-H_{a,R}, 34-H_{R'}), 4.09–4.19 (sh, 2H, 23-H_{b,R},

25-H_{a,R'}, 25-H_{b,R'}, 25-H_{b,R'}), 4.37–4.43 (sh, 2H, 8-H, 39-H_R), 4.51–4.55 (sh, 2.5H, 3-H, 23-H_{b,R'}), 4.65 (m, 2H, 35-H), 4.71 (dd, ³J_{39,NH} = 8.3 Hz, ³J_{39,40} = 5.5 Hz, 1H, 39-H_{R'}), 5.16 (dm, ³J_{1t,2} = 10.5 Hz, 1H, 1-H_t), 5.24 (dm, ³J_{1c,2} = 17.3 Hz, 1H, 1-H_c), 5.34 (dm, ³J_{37t,36} = 10.5 Hz, 1H, 37-H_t), 5.44 (dm, ³J_{37c,36} = 17.3 Hz, 1H, 37-H_c), 5.54 (m, 2H, 27-H), 5.85 (m, 1H, 2-H), 6.04 (m, 1H, 36-H), 6.98–6.99 (sh, 1.5H, 29-H, NH_{lle,R}), 7.14–7.25 (sh, 6H, 11-H, 12-H, 13-H, NH_{lle,R'}, NH_{Tup,R}), 7.31 (m, 0.5H, NH_{Tup,R'}), 7.63 (dd, ³J_{NH,25a} = ³J_{NH,25b} = 5.5 Hz, 0.5H, NH_{Gly,R}) 7.70 (s, 1H, 32-H), 7.85 (s, 1H, 16-H). 20-H_{R'} (0.5H) und NH_{Gly,R'} (0.5H) nicht detektierbar

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.4, 11.4 (2q, C-43_R, C-43_{R'}), 15.8, 16.4 (2q, C-41_R, C-41_{R'}), 17.8, 17.8 (2q, C-6_R, C-6_{R'}), 19.8 (q, C-22_{a,R1}), 20.3 (q, C-22_{a,R2}), 20.4 (q, C-22_{b,R1}), 20.5 (q, C-22_{b,R2}), 23.2 (t, C-47), 24.4 (t, C-42), 24.9, 24.9 (2t, C-48_R, C-48_{R'}), 29.5 (t, C-18_{R1}), 30.2 (t, C-19_{R2}), 30.3, 30.4 (2t, C-18_{R2}, C-19_{R1}), 30.5, 30.5 (d, t, C-21_{R1}, C-46), 31.4 (d, C-21_{R2}), 36.5, 36.5 (2d, C-5, C-40_R), 37.3 (d, C-40_{R'}), 37.7, 37.8 (2t, C-7_R, C-7_{R'}), 41.2, 41.3, 41.3, 41.4 (4t, C-9_R, C-9_{R'}, C-25_R, C-25_{R'}), 44.8, 44.9 (2q, C-50_R, C-50_{R'}), 46.4 (t, C-23), 48.5 (d, C-8), 53.5, 54.3 (2d, C-39_R, C-39_{R'}), 55.2 (t, C-49), 56.4, 56.6 (2q, C-34_R, C-34_{R'}), 63.8, 63.8 (2d, C-20_R, C-20_{R'}), 63.9 (t, C-27), 65.0 (t, C-3), 69.3 (d, C-45), 70.1 (t, C-35), 109.8 (d, C-32), 110.1, 110.3 (2d, C-29_R, C-29_{R'}), 117.9 (t, C-1), 119.1 (t, C-37), 122.3, 122.5 (2d, C-16_R, C-16_{R'}), 126.3 (d, C-13), 126.6, 126.8 (2s, C-28_R, C-28_{R'}), 128.3 (d, C-12), 129.3, 129.4 (2d, C-11_R, C-11_{R'}), 131.8 (d, C-36), 132.2, 132.3 (2d, C-2_R, C-2_{R'}), 137.7 (s, C-10), 139.4, 139.5 (2s, C-33_R, C-33_{R'}), 147.0, 147.1 (2s, C-31_R, C-31_{R'}), 149.5, 149.6 (2s, C-15_R, C-15_{R'}), 154.0, 154.1 (2s, C-30_R, C-30_{R'}), 160.5, 160.7 (2s, C-17_R, C-17_{R'}), 168.9, 169.5, 169.8, 169.8, 170.5, 174.0, 174.9, 175.1, 175.6, 175.7 (sh, C-4, C-14, C-24, C-26, C-38, C-44).

MS (ESI/APCI): C₅₃H₇₄N₇O₁₂S, [M+H]⁺ M_{ber}: 1032.51 M_{gef}: 1032.55
 C₅₃H₇₅N₇O₁₂S, [M+2H]²⁺ M_{ber}: 516.76 M_{gef}: 516.90

Elementaranalyse:

C ₅₂ H ₇₃ N ₇ O ₁₂ S	berechnet	C 61.67	H 7.13	N 9.50
(1032.25)	gefunden	C 61.89	H 7.41	N 8.97

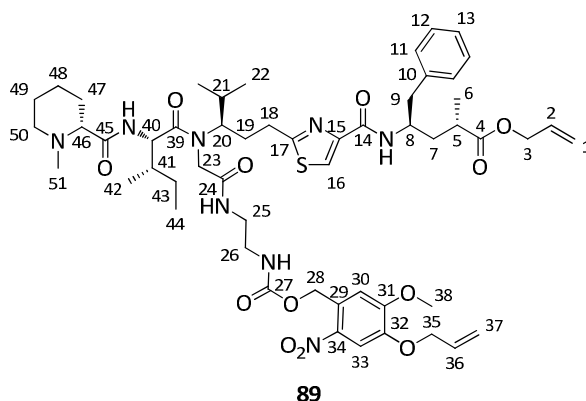
***N*-Methyl-*(D)*-pipecolinyl-*(L)*-isoleucinyl-*N*-((glycinyl-ethylendiamin)-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbam)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester (**89**)
 (2*S*,4*R*)-allyl 4-(2-((*R*)-1-(4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrophenyl)-11-isopropyl-10-((2*S*,3*S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-3,8-dioxo-2-oxa-4,7,10-triazatridecan-13-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV6 wurden 114 mg (1.0 Äq, 0.249 mmol) Amin **95**, 8.2 mg (1.1 Äq, 0.274 mmol) Paraformaldehyd, 73.4 mg (1.15 Äq, 0.286 mmol) der Säure **94b** und 84.1 mg (1.0 Äq, 0.249 mmol) des Isonitrils **92** in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 205 mg (0.193 mmol, 78 %) des Prätubugi-Produkts **89** als gelblicher Feststoff erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**89**) = 0.18]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.61', t_{r2} = 5.70'.

4. Experimenteller Teil



Rotamerenverhältnis \approx 6:4 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 18-H/19-H und 21-H/22-H)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.78 (d, ³J_{22a,21} = 6.5 Hz, 1.5H, 22-H_{a,R1}), 0.85–0.90 (sh, 6H, 22-H_{a,R2}, 42-H_R, 44-H), 0.93 (d, ³J_{22b,21} = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R1}), 0.98 (d, ³J_{42,41} = 6.8 Hz, 1.5H, 42-H_R), 1.05 (d, ³J_{22b,21} = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R2}), 1.16 (d, ³J_{6,5} = 7.0 Hz, 1.5H, 6-H_R), 1.17 (d, ³J_{6,5} = 7.0 Hz, 1.5H, 6-H_{R'}), 1.09–1.20 (sh, 2H, 43-H_a, 48-H_a), 1.37–1.51 (sh, 2H, 47-H_a, 49-H_a), 1.56–1.67 (sh, 4.5H, 7-H_a, 21-H_{R1}, 43-H_b, 48-H_b, 49-H_b), 1.77–1.83 (sh, 1.5H, 41-H_R, 47-H_b), 1.87–1.93 (sh, 1.5H, 19-H_{a,R2}, 21-H_{R2}, 41-H_{R'}), 1.98–2.06 (sh, 3H, 7-H_b, 19-H_{a,R1}, 19-H_{b,R1}, 50-H_a), 2.19 (s, 3H, 51-H), 2.32 (m, 0.5H, 19-H_{b,R2}), 2.48 (m, 1H, 46-H), 2.63 (m, 1H, 5-H), 2.82–2.97 (sh, 4H, 9-H, 18-H_{a,R1}, 18-H_{a,R2}, 50-H_b), 3.09 (m, 0.5H, 18-H_{b,R1}), 3.26–3.48 (sh, 5.5H, 18-H_{b,R2}, 20-H, 25-H_a, 25-H_b, 26-H_a, 26-H_b), 3.53 (d, ²J_{23a,23b} = 15.6 Hz, 0.5H, 23-H_{a,R}), 3.86–3.96 (sh, 3.5H, 23-H_{a,R'}, 38-H), 4.11 (m, 0.5H, 23-H_{b,R'}), 4.31 (d, ²J_{23b,23a} = 15.6 Hz, 0.5H, 23-H_{b,R}), 4.34–4.42 (sh, 2H, 8-H, 40-H), 4.52 (dm, ³J_{3,2} = 5.5 Hz, 2H, 3-H), 4.65 (dm, ³J_{35,36} = 5.3 Hz, 2H, 35-H), 5.17 (dm, ³J_{1t,2} = 10.5 Hz, 1H, 1-H_t), 5.24 (dm, ³J_{1c,2} = 17.2 Hz, 1H, 1-H_c), 5.34 (dm, ³J_{37t,36} = 10.5 Hz, 1H, 37-H_t), 5.41–5.50 (sh, 3H, 28-H, 37-H_c), 5.84 (ddt, ³J_{2,1c} = 17.3 Hz, ³J_{2,1t} = 10.5 Hz, ³J_{2,3} = 5.5 Hz, 1H, 2-H), 6.04 (ddt, ³J_{36,37c} = 17.3 Hz, ³J_{36,37t} = 10.5 Hz, ³J_{36,35} = 5.5 Hz, 1H, 36-H), 6.12 (bs, 0.5H, NH_{Boc,R}), 6.51 (bs, 0.5H, NH_{Boc,R'}), 6.99 (s, 0.5H, 30-H_R), 7.01 (s, 0.5H, 30-H_{R'}), 7.09–7.12 (sh, 2H, NH_{Amid}, NH_{Ile}), 7.16–7.21 (sh, 3.5H, 11-H, 13-H, NH_{Tup,R}), 7.24 (m, 2H, 12-H), 7.36 (d, ³J_{NH,8} = 9.2 Hz, NH_{Tup,R'}), 7.68 (m, 1H, 33-H), 7.87 (s, 0.5H, 16-H_R), 7.89 (s, 0.5H, 16-H_{R'}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.8, 11.6 (2q, C-44_R, C-44_{R'}), 16.0 (q, C-42_{R'}), 16.4 (q, C-42_R), 17.8, 17.8 (2q, C-6_R, C-6_{R'}), 19.9 (q, C-22_{a,R2}), 20.1 (q, C-22_{a,R1}), 20.3 (q, C-22_{b,R1}), 20.7 (q, C-22_{b,R2}), 23.1 (t, C-48), 24.5 (t, C-43), 24.9 (t, C-49), 29.4 (t, C-18_{R2}), 29.7 (t, C-19_{R1}), 30.1 (t, C-18_{R1}), 30.3 (t, C-19_{R2}), 30.4 (t, C-47), 30.6 (d, C-21_{R1}), 31.3 (d, C-21_{R2}), 36.0 (d, C-41_R), 36.6 (2d, C-5, C-41_{R'}), 37.7 (t, C-7_R), 37.9 (t, C-7_{R'}), 40.0, 40.1 (2t, C-25_R, C-25_{R'}), 40.9, 41.2 (2t, C-26_R, C-26_{R'}), 41.3, 41.3 (2t, C-9_R, C-9_{R'}), 44.7, 44.8 (2q, C-51_R, C-51_{R'}), 46.5 (t, C-23), 48.4, 48.5 (2d, C-8_R, C-8_{R'}), 54.4 (d, C-40), 55.1, 55.2 (2t, C-50_R, C-50_{R'}), 56.4 (q, C-38), 63.2 (d, C-20), 63.4, 63.6 (2t, C-28_R, C-28_{R'}), 65.1, 65.1 (2t, C-3_R, C-3_{R'}), 69.0 (d, C-46), 70.1 (t, C-35), 109.8, 109.9 (2d, C-33_R, C-33_{R'}), 110.7, 110.9 (2d, C-30_R, C-30_{R'}), 117.9, 118.0 (2t, C-1_R, C-1_{R'}), 119.1 (t, C-37), 122.4, 122.8 (2d, C-16_R, C-16_{R'}), 126.4, 126.4 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 128.0 (s, C-29), 128.3 (d, C-12), 129.3, 129.4 (2d, C-11_R, C-11_{R'}), 131.9, 131.9 (2d, C-36_R, C-36_{R'}), 132.3 (d, C-2), 137.7, 137.8 (2s, C-10_R, C-10_{R'}), 139.6, 139.8 (2s, C-34_R, C-34_{R'}), 146.9, 147.0 (2s, C-32_R, C-32_{R'}), 149.5, 149.6 (2s, C-15_R, C-15_{R'}), 153.8, 153.8 (2s, C-31_R, C-31_{R'}), 160.5, 160.7 (2s, C-17_R, C-17_{R'}), 169.5, 169.8, 169.9, 170.3, 173.0, 175.6, 175.7 (sh, C-4, C-14, C-24, C-27, C-39, C-45).

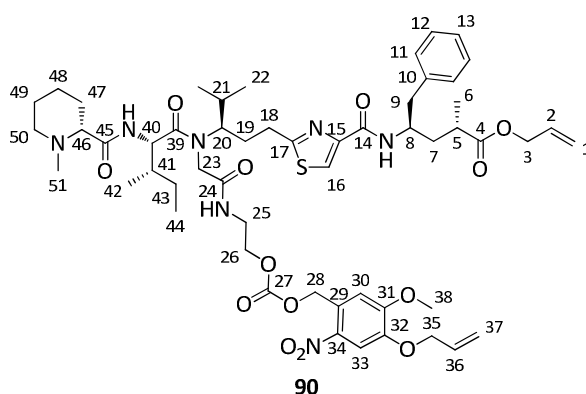
MS (ESI/APCI): C ₅₄ H ₇₇ N ₈ O ₁₂ S, [M+H] ⁺	M _{ber} : 1061.54	M _{gef} : 1061.50
C ₅₄ H ₇₈ N ₈ O ₁₂ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber} : 531.28	M _{gef} : 531.40

***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucanyl-*N*-((glycinyloxy-ethanolamin)-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbonat)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester (**90**)
 (*2S,4R*)-allyl 4-(2-((*R*)-1-(4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrophenyl)-11-isopropyl-10-((*2S,3S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-3,8-dioxo-2,4-dioxa-7,10-diazatridecan-13-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV6 wurden 114 mg (1.0 Äq, 0.249 mmol) Amin **95**, 8.2 mg (1.1 Äq, 0.274 mmol) Paraformaldehyd, 73.4 mg (1.15 Äq, 0.286 mmol) der Säure **94b** und 84.0 mg (1.0 Äq, 0.249 mmol) des Isonitrils **93** in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 203 mg (0.191 mmol, 77 %) des Prätubugi-Produkts **90** als gelblicher Feststoff erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**90**) = 0.15]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%*HCOOH* = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.70', t_{r2} = 5.78'.



Rotamerenverhältnis ≈ 6:4 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 18-H/19-H und 21-H/22-H)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.75 (d, ³J_{22a,21} = 6.5 Hz, 1.5H, 22-H_{a,R1}), 0.83–0.90 (sh, 6H, 22-H_{a,R2}, 42-H_R, 44-H), 0.94 (d, ³J_{22b,21} = 6.5 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R1}), 0.96 (d, ³J_{42,41} = 7.0 Hz, 1.5H, 42-H_R), 1.05 (d, ³J_{22b,21} = 6.5 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R2}), 1.16 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 1.5H, 6-H_R), 1.17 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 1.5H, 6-H_{R'}), 1.11–1.24 (sh, 2H, 43-H_a, 48-H_a), 1.36 (m, 1H, 47-H_a), 1.47 (m, 1H, 49-H_a), 1.54–1.67 (sh, 4.5H, 7-H_a, 21-H_{R1}, 43-H_b, 48-H_b, 49-H_b), 1.75–1.82 (sh, 2H, 19-H_{a,R2}, 41-H_R, 47-H_b), 1.88–2.05 (sh, 3.5H, 7-H_b, 19-H_{a,R1}, 21-H_{R2}, 41-H_{R'}, 50-H_a), 2.14 (m, 0.5H, 19-H_{b,R2}), 2.18 (s, 1.5H, 51-H_R), 2.21 (s, 1.5H, 51-H_{R'}), 2.31 (m, 0.5H, 19-H_{b,R1}), 2.47 (m, 1H, 46-H), 2.62 (m, 1H, 5-H), 2.82–3.00 (sh, 4H, 9-H, 18-H_{a,R1}, 18-H_{a,R2}, 50-H_b), 3.18 (m, 1H, 18-H_{b,R1}, 18-H_{b,R2}), 3.50–3.78 (sh, 4H, 20-H, 23-H_{a,R}, 23-H_{a,R'}, 25-H_R, 25-H_{R'}), 3.97 (s, 3H, 38-H), 4.06 (d, ²J_{23b,23a} = 15.0 Hz, 0.5H, 23-H_{b,R'}), 4.23 (t, ³J_{26,25} = 5.3 Hz, 1H, 26-H_R), 4.30 (d, ³J_{26,25} = 5.0 Hz, 1H, 26-H_{R'}), 4.33–4.42 (sh, 2H, 8-H, 23-H_{b,R}, 40-H_R), 4.52 (dm, ³J_{3,2} = 5.0 Hz, 2H, 3-H), 4.65–4.67 (sh, 2.5H, 35-H, 40-H_{R'}), 5.17 (dm, ³J_{1t,2} = 10.4 Hz, 1H, 1-H_t), 5.24 (dm, ³J_{1c,2} = 17.2 Hz, 1H, 1-H_c), 5.35 (dm, ³J_{37t,36} = 10.5 Hz, 1H, 37-H_t), 5.44 (dm, ³J_{37c,36} = 17.2 Hz, 1H, 37-H_c), 5.55 (m, 2H, 28-H), 5.84 (ddt, ³J_{2,1c} = 17.3 Hz, ³J_{2,1t} = 10.5 Hz, ³J_{2,3} = 5.5 Hz, 1H, 2-H), 6.04 (ddt, ³J_{36,37c} = 17.3 Hz, ³J_{36,37t} = 10.5 Hz, ³J_{36,35} = 5.5 Hz, 1H, 36-H), 6.99 (d, ³J_{NH,40} = 9.3 Hz, 0.5H, NH_{le,R}), 7.04 (s, 0.5H, 30-H_R), 7.05 (s, 0.5H, 30-H_{R'}), 7.11 (d, ³J_{NH,40} = 8.5 Hz, 0.5H, NH_{le,R'}), 7.16–7.21 (sh, 4.5H, 11-H, 13-H, NH_{Amid}, NH_{Tup,R}), 7.24 (m, 2H, 12-H), 7.34 (d, ³J_{NH,8} = 9.2 Hz, 0.5H, NH_{Tup,R'}), 7.71 (s, 0.5H, 33-H_R), 7.72 (s, 0.5H, 33-H_{R'}), 7.87 (s, 0.5H, 16-H_R), 7.88 (s, 0.5H, 16-H_{R'}).

4. Experimenteller Teil

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.5, 11.4 (2q, C-44_R, C-44_{R'}), 15.8 (q, C-42_{R'}), 16.4 (q, C-42_R), 17.8 (q, C-6), 19.8 (q, C-22_{a,R1}), 20.4 (q, C-22_{b,R1}), 20.4 (q, C-22_{b,R2}), 20.5 (q, C-22_{a,R2}), 23.1 (t, C-48), 24.5 (t, C-43), 24.9 (t, C-49), 29.5 (t, C-18_{R1}), 30.0 (t, C-19_{R2}), 30.3 (t, C-18_{R2}), 30.5, 30.5 (2t, C-19_{R1}, C-47), 30.5 (d, C-21_{R1}), 31.5 (d, C-21_{R2}), 36.4 (d, C-41_R), 36.6 (d, C-5), 37.2 (d, C-41_{R'}), 37.7, 37.8 (2t, C-7_R, C-7_{R'}), 38.4, 38.8 (2t, C-25_R, C-25_{R'}), 41.2, 41.3 (2t, C-9_R, C-9_{R'}), 44.8 (q, C-51), 46.6 (t, C-23), 48.5 (d, C-8), 53.6, 54.0 (2d, C-40_R, C-40_{R'}), 55.2 (t, C-50), 56.5 (q, C-38), 63.7 (d, C-20), 65.0 (t, C-3), 66.4, 66.6, 66.6, 66.7 (4t, C-26_R, C-26_{R'}, C-28_R, C-28_{R'}), 69.3 (d, C-46), 70.1 (t, C-35), 109.9 (d, C-33), 110.3, 110.4 (2d, C-30_R, C-30_{R'}), 117.9, 117.9 (2t, C-1_R, C-1_{R'}), 119.2 (t, C-37), 122.4, 122.7 (2d, C-16_R, C-16_{R'}), 126.3, 126.4 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 126.5 (s, C-29), 128.3 (d, C-12), 129.4, 129.4 (2d, C-11_R, C-11_{R'}), 131.8 (d, C-36), 132.2, 132.3 (2d, C-2_R, C-2_{R'}), 137.7, 137.7 (2s, C-10_R, C-10_{R'}), 139.5 (s, C-34), 147.2, 147.2 (2s, C-32_R, C-32_{R'}), 149.5, 149.6 (2s, C-15_R, C-15_{R'}), 154.0, 154.6 (2s, C-31_R, C-31_{R'}), 160.6, 160.8 (2s, C-17_R, C-17_{R'}), 169.5, 169.7, 169.9, 170.6, 173.8, 174.8, 175.1, 175.6, 175.7 (sh, C-4, C-14, C-24, C-27, C-39, C-45).

MS (ESI/APCI): $\text{C}_{54}\text{H}_{76}\text{N}_7\text{O}_{13}\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 1062.52 M_{gef} : 1062.50
 $\text{C}_{54}\text{H}_{77}\text{N}_7\text{O}_{13}\text{S}$, $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ M_{ber} : 531.77 M_{gef} : 531.90

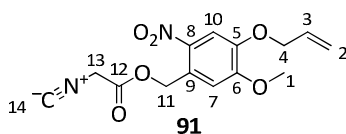
Elementaranalyse:

$\text{C}_{54}\text{H}_{75}\text{N}_7\text{O}_{13}\text{S}$	berechnet	C 61.06	H 7.12	N 9.23
(1062.28)	gefunden	C 60.10	H 7.07	N 8.78

2-Isocyanoessigsäure-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (91)

Gemäß AAV8 wurden 845 mg (1.0 Äq, 2.16 mmol) der Formyl-Komponente **111**, 0.904 ml (3.0 Äq, 6.49 mmol) Triethylamin und 0.212 ml (1.05 Äq, 2.27 mmol) POCl_3 in 5.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) wurden 498 mg (1.63 mmol, 75 %) des Isonitrils **91** in Form eines gelblichen Feststoffs isoliert. Lagerung bei 0 °C.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**91**) = 0.45]



^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.35 (s, 2H, 13-H), 4.69 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.37 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.47 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.65 (s, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.15 (s, 1H, 7-H), 7.76 (s, 1H, 10-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 43.6 (t, C-13), 56.7 (q, C-1), 65.2 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 110.0 (d, C-10), 110.7 (d, C-7), 119.3 (t, C-2), 125.4 (s, C-8), 131.7 (d, C-3), 139.6 (s, C-9), 147.5 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 162.1, 163.1 (2s, C-12, C-14).

HRMS (CI): $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 306.0852 M_{gef} : 306.0849

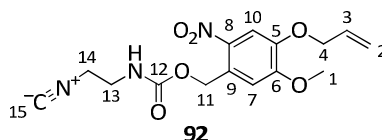
Elementaranalyse:

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$	berechnet	C 54.90	H 4.61	N 9.15
(306.27)	gefunden	C 55.07	H 4.61	N 9.16

2-Isocyanoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbamate (92)

Gemäß AAV8 wurden 113 mg (1.0 Äq, 0.320 mmol) der Formyl-Komponente **118**, 0.134 ml (3.0 Äq, 0.959 mmol) Triethylamin und 0.031 ml (1.05 Äq, 0.336 mmol) POCl₃ in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 74.2 mg (0.221 mmol, 69 %) des Isonitrils **92** als gelblicher Feststoff erhalten. Lagerung bei 0 °C.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**92**) = 0.16]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.49 (m, 2H, 13-H), 3.59 (m, 2H, 14-H), 3.98 (s, 3H, 1-H), 4.67 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.34–5.37 (sh, 2H, 2-H_t, NH), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.53 (s, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.99 (s, 1H, 7-H), 7.72 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 40.3 (t, C-13), 41.9 (t, C-14), 56.5 (q, C-1), 64.0 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 109.9 (d, C-10), 110.1 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 127.7 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 139.5 (s, C-9), 147.0 (s, C-5), 153.9, 155.7 (2s, C-6, C-12), 160.5 (s, C-15).

HRMS (CI): C₁₅H₁₇N₃O₆, [M]⁺ M_{ber.}: 335.1117 M_{gef.}: 335.1141

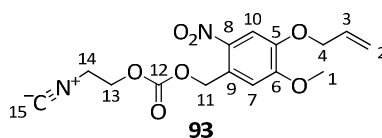
Elementaranalyse:

C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₆	berechnet	C 53.73	H 5.11	N 12.53
(335.31)	gefunden	C 53.66	H 4.99	N 12.44

2-Isocyanoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbonate (93)

Gemäß AAV8 wurden 136 mg (1.0 Äq, 0.384 mmol) der Formyl-Komponente **119**, 0.161 ml (3.0 Äq, 1.15 mmol) Triethylamin und 0.038 ml (1.05 Äq, 0.403 mmol) POCl₃ in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) konnten 76.9 mg (0.229 mmol, 60 %) des Isonitrils **93** als gelblicher Feststoff erhalten werden. Lagerung bei 0 °C.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**93**) = 0.34]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.74 (t, ³J_{14,13} = 5.3 Hz, 2H, 14-H), 4.00 (s, 3H, 1-H), 4.38 (t, ³J_{13,14} = 5.3 Hz, 2H, 13-H), 4.69 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.37 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.62 (s, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.06 (s, 1H, 7-H), 7.75 (s, 1H, 10-H).

4. Experimenteller Teil

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 40.7 (t, C-14) 56.6 (q, C-1), 64.7 (t, C-11), 66.9 (t, C-13), 70.1 (t, C-4), 109.8 (d, C-10), 109.9 (d, C-7), 119.3 (t, C-2), 126.3 (s, C-8), 131.7 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.2 (s, C-5), 154.1, 154.2 (2s, C-6, C-12), 159.1 (s, C-15).

HRMS (CI): $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 336.0958 M_{gef} : 336.0914

Elementaranalyse:

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7$	berechnet	C 53.57	H 4.80	N 8.33
(336.30)	gefunden	C 53.53	H 4.73	N 8.33

N-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucin Hydrochlorid (**94a**)

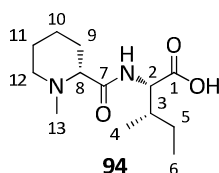
Gemäß AAV7 wurden 87.0 mg (1.0 Äq, 0.322 mmol) *N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinmethylester (**109**) mit 41.3 mg (3.0 Äq, 0.956 mmol) Lithiumhydroxid (56 %) in Dioxan:Wasser:Methanol (0.6 ml:0.2 ml:0.2 ml) verseift. Nach Ansäuern mit 1M HCl wurde fünfmal mit *n*-Butanol extrahiert und über Na_2SO_4 getrocknet. Es wurden 84 mg (0.287 mmol, 89 %) des Produkts **94a** in Form seines Hydrochlorid-Salzes isoliert.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 95:5, R_f (**94a**) = 0.04]

alternativ: *N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucin (**94b**)

Zu einer Lösung aus 113 mg (1.0 Äq, 0.237 mmol) des *Z*-geschützten Dipeptids *Z*-(*D*)-Pip-(*L*)-Ile-OH (**125**) in 2.0 ml Methanol wurden unter Stickstoffatmosphäre 10.1 mg (0.02 Äq, 0.009 mmol) Palladium auf Kohle (10 %) gegeben und 0.053 ml (3.0 Äq, 0.711 mmol) wässrige Formaldehyd-Lösung zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 6 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt, anschließend wurde der Katalysator abfiltriert. Nach Einengen des Filtrats konnten 50.5 mg (0.196 mmol, 83 %) des *N*-methylierten Dipeptids **94b** in Form eines farblosen Öls erhalten werden. Rühren mit *n*-Hexan fällt das Produkt als farbloses Pulver aus.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 95:5, R_f (**94b**) = 0.01]



^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.89 (d, $^3J_{4,3}$ = 6.9 Hz, 3H, 4-H), 0.95 (t, $^3J_{6,5}$ = 7.4 Hz, 3H, 6-H), 1.32 (m, 1H, 5- H_a), 1.46 (m, 1H, 10- H_a), 1.65 (m, 1H, 5- H_b), 1.80 (m, 1H, 9- H_a), 1.89–2.02 (sh, 4H, 3-H, 9- H_b , 10- H_b , 11- H_a), 2.15 (m, 1H, 11- H_b), 2.51 (m, 1H, 12- H_a), 2.67 (s, 3H, 13-H), 3.22 (m, 1H, 12- H_b), 3.79 (d, $^3J_{8,9}$ = 11.5 Hz, 1H, 8-H), 4.42 (dd, $^3J_{2,\text{NH}}$ = 6.4 Hz, $^3J_{2,3}$ = 3.2 Hz, 1H, 2-H), 8.56 (bs, 1H, NH).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 12.1 (q, C-6), 15.5 (q, C-4), 23.0, 23.2 (2t, C-9, C-10), 26.2 (t, C-5), 28.5 (t, C-11), 38.6 (d, C-3), 41.1 (q, C-13), 55.6, 55.7 (d, t, C-8, C-12), 59.1 (d, C-2), 166.9 (s, C-1), 174.0 (s, C-7).

HRMS (CI): $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 257.1865 M_{gef} : 257.1880

Elementaranalyse:

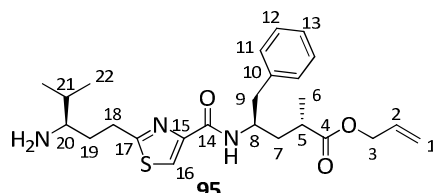
$\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$	berechnet	C 60.91	H 9.44	N 10.93
(256.34)	gefunden	C 60.06	H 9.07	N 10.21

desacetoxy-Tubuvalinyl-tubuphenylalaninylester (95)

Gemäß AAV2 (b) wurden 158 mg (1.0 Äq, 0.275 mmol) des Boc-geschützten Amins **105** 1.5 ml Dichlormethan mit 0.687 ml (10.0 Äq, 2.75 mmol) HCl (4M in Dioxan) versetzt. Aufarbeitung mit ges. NaHCO₃-Lösung brachte das Produkt **95** mit einer Ausbeute von 99 % (124 mg, 0.272 mmol) hervor.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**95**) = 0.01]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3µ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 20:80, 2 min -> 70:30, 10 min, 0.6 ml/min, 5 µl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_r = 10.27'.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.89 (d, ³J_{22a,21} = 6.8 Hz, 3H, 22-H_a), 0.93 (d, ³J_{22b,21} = 6.8 Hz, 3H, 22-H_b), 1.18 (d, ³J_{6,5} = 7.0 Hz, 3H, 6-H), 1.35 (bs, 2H, NH₂), 1.56–1.70 (sh, 3H, 7-H_a, 19-H_a, 21-H), 1.92 (m, 1H, 19-H_b), 2.02 (ddd, ²J_{7b,7a} = 13.7 Hz, ³J_{7b,8/5} = 9.1 Hz, ³J_{7b,8/5} = 4.5 Hz, 1H, 7-H_b), 2.55 (ddd, ³J_{20,21} = 8.8 Hz, ³J_{20,19a} = 4.7 Hz, ³J_{20,19b} = 4.7 Hz, 1H, 20-H), 2.63 (m, 1H, 5-H), 2.88 (dd, ²J_{9a,9b} = 13.7 Hz, ³J_{9a,8} = 6.6 Hz, 1H, 9-H_a), 2.94 (dd, ²J_{9b,9a} = 13.7 Hz, ³J_{9b,8} = 6.1 Hz, 1H, 9-H_b), 3.03 (m, 1H, 18-H_a), 3.15 (ddd, ²J_{18b,18a} = 15.0 Hz, ³J_{18b,19a/b} = 9.8 Hz, ³J_{18b,19a/b} = 5.4 Hz, 1H, 18-H_b), 4.41 (m, 1H, 8-H), 4.54 (m, 2H, 3-H), 5.19 (m, 1H, 1-H_t), 5.26 (m, 1H, 1-H_c), 5.87 (ddt, ³J_{2,1c} = 16.7 Hz, ³J_{2,1t} = 10.8 Hz, ³J_{2,3} = 5.4 Hz, 1H, 2-H), 7.15–7.29 (sh, 6H, 11-H, 12-H, 13-H, NH), 7.91 (s, 1H, 16-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.1, 17.7, 19.1 (3q, C-6, C-22_a, C-22_b), 30.6 (t, C-18), 33.7 (d, C-21), 34.7 (t, C-19), 36.6 (d, C-5), 37.7 (t, C-7), 41.2 (t, C-9), 48.4 (d, C-8), 55.9 (d, C-20), 65.1 (t, C-3), 118.0 (t, C-1), 122.4 (d, C-16), 126.4 (d, C-13), 128.4, 129.5 (2d, C-11, C-12), 132.3 (d, C-2), 137.6 (s, C-10), 149.6 (s, C-15), 160.7 (s, C-17), 171.2, 175.7 (2s, C-4, C-14).

HRMS (CI): C₂₅H₃₆N₃O₃S, [M+H]⁺ M_{ber}: 458.2477 M_{gef}: 458.2459

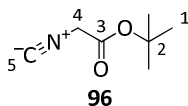
MS (ESI/APCI): C₂₅H₃₆N₃O₃S, [M+H]⁺ M_{ber}: 458.25 M_{gef}: 458.30

Elementaranalyse:

C ₂₅ H ₃₅ N ₃ O ₃ S	berechnet	C 65.50	H 7.71	N 9.18
(457.63)	gefunden	C 65.83	H 7.67	N 9.60

tert-Butyl-2-isocynoacetat (96)

Gemäß AAV8 wurden 1.55 g (1.0 Äq, 9.54 mmol) *N*-Formyl-Glycin-*tert*-butylester (**120**) in 8.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 3.99 ml (3.0 Äq, 28.6 mmol) Triethylamin und 0.889 ml (1.0 Äq, 9.54 mmol) POCl₃ zu dem entsprechenden Isonitril umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Kugelrohrdestillation (0.1 mbar, 125 °C) wurden 1.146 g (8.12 mmol, 85 %) des Isonitrils **96** als farblose, unangenehm riechende Flüssigkeit erhalten. Lagerung bei 0 °C.



4. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.50$ (s, 9H, 1-H), 4.11 (s, 2H, 4-H).

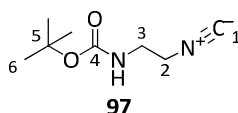
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 27.8$ (q, C-1), 44.2 (t, C-4), 84.1 (s, C-2), 160.6 (s, C-5), 162.8 (s, C-3).

HRMS (CI): $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NO}_2$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 142.0868 $M_{\text{gef.}}$: 142.0841

tert-Butyl-(2-isocyanoethyl)carbamate (97)

Gemäß AAV8 wurden 251 mg (1.0 Äq, 1.20 mmol) *N*-Formyl-*N'*-Boc-Ethylendiamin (**121**) in 3.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 0.502 ml (3.0 Äq, 3.60 mmol) Triethylamin und 0.112 ml (1.0 Äq, 1.20 mmol) POCl_3 zum entsprechenden Isonitril umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Kugelrohrdestillation (0.08 mbar, 150 °C) wurden 186 mg (0.876 mmol, 73 %) des Isonitrils **97** als farbloses, bei 0 °C kristallisierendes Öl erhalten. Lagerung bei 0 °C.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 9:1, R_f (**97**) = 0.10–0.27]



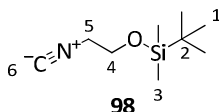
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.44$ (s, 9H, 6-H), 3.37–3.52 (sh, 4H, 2-H, 3-H), 4.99 (bs, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.3$ (q, C-6), 39.8, 42.1 (2t, C-2, C-3), 80.2 (s, C-5), 155.7 (s, C-4), 161.7 (s, C-1).

tert-Butyl-(2-isocyanoethoxy)dimethylsilan (98)

Gemäß AAV8 wurden 610 mg (1.0 Äq, 3.00 mmol) *N*-Formyl-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)ethanolamin (**123**) in 5.0 ml *abs.* Dichlormethan mit 1.25 ml (3.0 Äq, 9.00 mmol) Triethylamin und 0.280 ml (1.0 Äq, 3.00 mmol) POCl_3 zu dem entsprechenden Isonitril umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Kugelrohrdestillation (1.0 mbar, 140 °C) wurden 153 mg (0.826 mmol, 28 %) des Isonitrils **98** als farblose, stark riechende Flüssigkeit erhalten. Lagerung bei 0 °C.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 9:1, R_f (**98**) = 0.25–0.42]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.09$ (s, 6H, 3-H), 0.09 (s, 9H, 1-H), 3.47 (m, 2H, 5-H), 3.80 (m, 2H, 4-H).

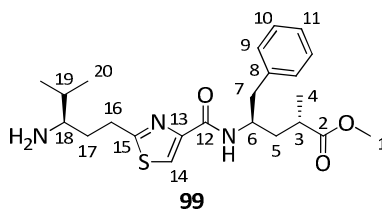
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = -5.4$ (q, C-3), 18.2 (s, C-2), 25.7 (q, C-1), 44.2 (t, C-5), 61.0 (t, C-4), 157.0 (s, C-6).

desacetoxy-Tubuvalinyl-tubuphenylalaninmethylester (99)

Gemäß AAV2 (b) wurden 470 mg (1.0 Äq, 0.796 mmol) des Boc-geschützten Amins **106** in 2.0 ml Dichlormethan mit 1.99 ml (10.0 Äq, 7.96 mmol) HCl (4M in Dioxan) versetzt. Aufarbeitung mit ges. NaHCO_3 -Lösung brachte das Produkt **99** mit einer Ausbeute von 93 % (319 mg, 0.739 mmol) hervor.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**99**) = 0.01]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3 μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 20:80, 2 min -> 70:30, 10 min, 0.6 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: $t_r = 7.20'$.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.90 (d, $^3J_{20a,19}$ = 6.8 Hz, 3H, 20- H_a), 0.93 (d, $^3J_{20b,19}$ = 6.8 Hz, 3H, 20- H_b), 1.15 (d, $^3J_{4,3}$ = 7.1 Hz, 3H, 4-H), 1.45 (s, 2H, NH_2), 1.54–1.71 (sh, 3H, 5- H_a , 17- H_a , 19-H), 1.92 (m, 1H, 17- H_b), 2.01 (ddd, $^2J_{5b,5a}$ = 13.8 Hz, $^3J_{5b,6/3}$ = 9.8 Hz, $^3J_{5b,6/3}$ = 4.5 Hz, 1H, 5- H_b), 2.54–2.63 (sh, 2H, 3-H, 18-H), 2.86 (dd, $^2J_{7a,7b}$ = 13.7 Hz, $^3J_{7a,6}$ = 6.6 Hz, 1H, 7- H_a), 2.94 (dd, $^2J_{7b,7a}$ = 13.7 Hz, $^3J_{7b,6}$ = 6.0 Hz, 1H, 7- H_b), 3.02 (m, 1H, 16- H_a), 3.16 (ddd, $^2J_{16b,16a}$ = 15.1 Hz, $^3J_{16b,17a/b}$ = 9.8 Hz, $^3J_{16b,17a/b}$ = 5.3 Hz, 1H, 16- H_b), 3.63 (s, 3H, 1-H), 4.39 (m, 1H, 6-H), 7.18–7.29 (sh, 6H, 9-H, 10-H, 11-H, NH), 7.92 (s, 1H, 14-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.1, 17.7, 19.1 (3q, C-4, C-20 $_a$, C-20 $_b$), 30.6 (t, C-16), 33.7 (d, C-19), 34.7 (t, C-17), 36.4 (d, C-3), 37.8 (t, C-5), 41.2 (t, C-7), 48.4 (d, C-6), 51.7 (q, C-1), 55.9 (d, C-18), 122.4 (d, C-14), 126.4 (d, C-11), 128.3, 129.5 (2d, C-9, C-10), 137.6 (s, C-8), 149.6 (s, C-13), 160.7 (s, C-15), 171.2, 176.5 (2s, C-2, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 431.2243 M_{gef} : 431.2229

MS (ESI/APCI): $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 432.23 M_{gef} : 432.25

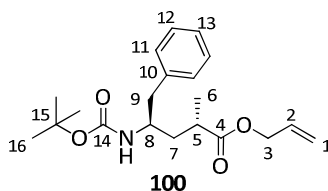
Elementaranalyse:

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	berechnet	C 64.01	H 7.71	N 9.74
(431.59)	gefunden	C 63.83	H 7.81	N 8.96

Boc-Tubuphenylalaninallylester (100)

Gemäß AAV1 wurden 154 mg (1.0 Äq, 0.500 mmol) Boc-Tubuphenylalanin, 51.2 μl (1.5 Äq, 0.750 mmol) Allylalkohol, 0.262 ml (3.0 Äq, 1.50 mmol) DIPEA und 30.5 mg (0.5 Äq, 0.250 mmol) DMAP in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan gelöst. Bei 0 °C wurden 241 mg (1.5 Äq, 0.750 mmol) TBTU zugegeben und nach 5 min bei 0 °C wurde die Reaktionslösung 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufarbeitung wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (4 g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) und es wurden 156 mg (0.449 mmol, 90 %) des Allylesters **100** in Form eines farblosen Öls erhalten.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**100**) = 0.59]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.19 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.1 Hz, 3H, 6-H), 1.41–1.51 (sh, 10H, 7- H_a , 16-H), 1.92 (m, 1H, 7- H_b), 2.65–2.81 (sh, 3H, 5-H, 9-H), 3.91 (m, 1H, 8-H), 4.33 (d, $^3J_{\text{NH},8}$ = 7.8 Hz, 1H, NH), 4.59 (m, 2H, 3-H), 5.24 (m, 1H, 1- H_i), 5.32 (ddt, $^3J_{1c,2}$ = 17.2 Hz, $^4J_{1c,3}$ = 1.5 Hz, $^2J_{1c,1t}$ = 1.5 Hz, 1H, 1- H_c), 5.93 (ddt, $^3J_{2,1c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{2,1t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.6 Hz, 1H, 2-H), 7.18–7.32 (sh, 5H, 11-H, 12-H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.6 (q, C-6), 28.3 (q, C-16), 36.4 (d, C-5), 37.9 (t, C-7), 41.4 (t, C-9), 49.7 (d, C-8), 65.1 (t, C-3), 79.1 (s, C-15), 118.1 (t, C-1), 126.3 (d, C-13), 128.3 (d, C-12), 129.5 (d, C-11), 132.3 (d, C-2), 137.8 (s, C-10), 155.2 (s, C-14), 175.8 (s, C-4).

4. Experimenteller Teil

HRMS (CI): C₂₀H₃₀NO₄, [M+H]⁺ M_{ber.}: 348.2161 M_{gef.}: 348.2175

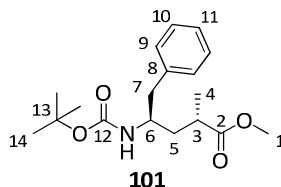
Elementaranalyse:

C ₂₀ H ₂₉ NO ₄ (347.45)	berechnet	C 69.14	H 8.41	N 4.03
	gefunden	C 68.58	H 8.46	N 4.44

Boc-Tubuphenylalaninmethylester (**101**)

Zu einer Lösung aus 300 mg (1.0 Äq, 0.976 mmol) Boc-(S)-Tubuphenylalanin und 0.183 ml (3.0 Äq, 2.93 mmol) Methyljodid in 2.0 ml *abs.* DMF wurden bei Raumtemperatur 169 mg (1.25 Äq, 1.22 mmol) Kaliumcarbonat gegeben. Nach einer Reaktionszeit von 22 h bei Raumtemperatur wurde die Suspension mit Wasser gequench und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander dreimal mit Wasser, mit 5 %-iger Na₂SO₃-Lösung, Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde die organische Phase eingeeengt und auf *Isolute* aufgezogen. Säulenchromatographische Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) lieferte 308 mg (0.957 mmol, 98 %) des Methylesters **101** als farbloses Öl.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**101**) = 0.56]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.15 (d, ³J_{4,3} = 7.1 Hz, 3H, 4-H), 1.38–1.48 (sh, 10H, 5-H_a, 14-H), 1.89 (m, 1H, 5-H_b), 2.60–2.78 (sh, 3H, 3-H, 7-H), 3.66 (s, 3H, 1-H), 3.87 (m, 1H, 6-H), 4.30 (d, ³J_{NH,6} = 8.3 Hz, 1H, NH), 7.15–7.30 (sh, 5H, 9-H, 10-H, 11-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.6 (q, C-4), 28.3 (q, C-14), 36.3 (d, C-3), 38.0 (t, C-5), 41.4 (t, C-7), 49.7 (d, C-6), 51.7 (q, C-1), 79.0 (s, C-13), 126.3 (d, C-11), 128.3 (d, C-10), 129.4 (d, C-9), 137.8 (s, C-8), 155.2 (s, C-12), 176.7 (s, C-2).

HRMS (CI): C₁₈H₂₈NO₄, [M+H]⁺ M_{ber.}: 322.2018 M_{gef.}: 322.2010

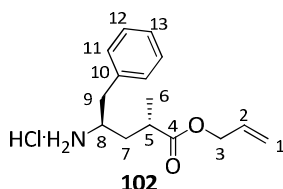
Elementaranalyse:

C ₁₈ H ₂₇ NO ₄ (321.41)	berechnet	C 67.26	H 8.47	N 4.36
	gefunden	C 67.49	H 8.34	N 4.39

Tubuphenylalaninallylester Hydrochlorid (**102**)

Gemäß AAV2 wurden 413 mg (1.0 Äq, 1.19 mmol) Boc-Tup-OAllyl (**100**) in 1.5 ml Dichlormethan gelöst und es wurden 2.97 ml (10.0 Äq, 11.9 mmol) HCl (4M in Dioxan) zugegeben. Nach Aufarbeitung konnten 334 mg (1.186 mmol, 99 %) des entsprechenden Hydrochlorid-Salzes **102** isoliert werden.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**102**) = 0.01]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.21 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.0 Hz, 3H, 6-H), 1.77 (m, 1H, 7- H_a), 2.07 (ddd, $^2J_{7b,7a}$ = 14.7 Hz, $^3J_{7b,5/8}$ = 8.9 Hz, $^3J_{7b,5/8}$ = 5.7 Hz, 1H, 7- H_b), 2.77 (m, 1H, 5-H), 2.95 (dd, $^2J_{9a,9b}$ = 14.0 Hz, $^3J_{9a,8}$ = 7.0 Hz, 1H, 9- H_a), 3.02 (dd, $^2J_{9b,9a}$ = 14.0 Hz, $^3J_{9b,8}$ = 7.0 Hz, 1H, 9- H_b), 3.58 (dddd, $^3J_{8,9a} \approx ^3J_{8,9b} \approx ^3J_{8,7a} \approx ^3J_{8,7b} \approx 6.8$ Hz, 1H, 8-H), 4.61 (m, 2H, 3-H), 5.29–5.36 (sh, 2H, 1- H_c , 1- H_t), 5.94 (ddt, $^3J_{2,1c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{2,1t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.6 Hz, 1H, 2-H), 7.31–7.46 (sh, 5H, 11-H, 12-H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 16.6 (q, C-6), 35.5 (t, C-7), 36.0 (d, C-5), 38.4 (t, C-9), 51.3 (d, C-8), 66.1 (t, C-3), 118.8 (t, C-1), 127.6 (d, C-13), 129.1 (d, C-12), 129.4 (d, C-11), 131.7 (d, C-2), 135.4 (s, C-10), 177.5 (s, C-4).

HRMS (CI): $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_2$, $[\text{M}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 247.1572 $M_{\text{gef.}}$: 247.1572

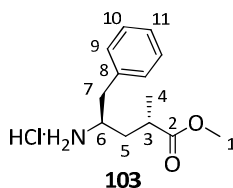
Elementaranalyse:

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{ClNO}_2$ (283.79)	berechnet	C 63.48	H 7.81	N 4.94
	gefunden	C 63.30	H 7.63	N 4.84

Tubuphenylalaninmethylester Hydrochlorid (103)

Gemäß AAV2 wurden 263 mg (1.0 Äq, 0.818 mmol) Boc-Tup-OMe (**101**) in 1.0 ml Dichlormethan gelöst und es wurden 2.05 ml (10.0 Äq, 8.18 mmol) HCl (4M in Dioxan) zugegeben. Nach Aufarbeitung konnte das entsprechende Hydrochlorid-Salz **103** mit einer Ausbeute von 98 % (206 mg, 0.799 mmol) isoliert werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**103**) = 0.01]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.20 (d, $^3J_{4,3}$ = 7.0 Hz, 3H, 4-H), 1.75 (m, 1H, 5- H_a), 2.05 (ddd, $^2J_{5b,5a}$ = 14.6 Hz, $^3J_{5b,3}$ = 8.9 Hz, $^3J_{5b,6}$ = 5.7 Hz, 1H, 5- H_b), 2.76 (m, 1H, 3-H), 2.94 (dd, $^2J_{7a,7b}$ = 14.1 Hz, $^3J_{7a,6}$ = 7.4 Hz, 1H, 7- H_a), 3.03 (dd, $^2J_{7b,7a}$ = 14.1 Hz, $^3J_{7b,6}$ = 6.9 Hz, 1H, 7- H_b), 3.59 (m, 1H, 6-H), 3.69 (s, 3H, 1-H), 7.33 (m, 2H, 10-H), 7.37–7.47 (sh, 3H, 9-H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 16.5 (q, C-4), 35.5 (d, C-5), 35.8 (t, C-3), 38.3 (t, C-7), 51.3 (d, C-6), 52.5 (q, C-1), 127.6 (d, C-11), 129.1 (d, C-10), 129.4 (d, C-9), 135.4 (s, C-8), 178.4 (s, C-2).

HRMS (CI): $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_2$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 222.1494 $M_{\text{gef.}}$: 222.1493

Elementaranalyse:

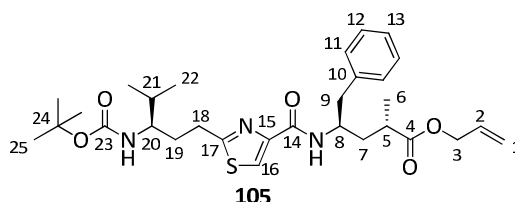
$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{ClNO}_2$ (257.76)	berechnet	C 60.58	H 7.82	N 5.43
	gefunden	C 60.78 <td>H 7.75 <td>N 5.37</td> </td>	H 7.75 <td>N 5.37</td>	N 5.37

4. Experimenteller Teil

Boc-desacetoxy-Tubuvalinyl-tubuphenylalaninallylester (105)

Gemäß AAV9 wurden 104 mg (1.0 Äq, 0.317 mmol) der Säurekomponente Boc-*d*Tuv-OH (**104**), 90.0 mg (1.0 Äq, 0.317 mmol) des Amin-Hydrochlorids **102**, 0.087 ml (2.5 Äq, 0.793 mmol) NMM und 0.046 ml (1.1 Äq, 0.349 mmol) IBCF in 3.5 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 167 mg (0.282 mmol, 89 %) des Produkts **105** als farbloses Öl erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**105**) = 0.38]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.89 (d, ³J_{22a,21} = 6.8 Hz, 3H, 22-H_a), 0.92 (d, ³J_{22b,21} = 6.8 Hz, 3H, 22-H_b), 1.16 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 3H, 6-H), 1.43 (s, 9H, 25-H), 1.57–1.77 (sh, 3H, 7-H_a, 19-H_a, 21-H), 1.92–2.04 (sh, 2H, 7-H_b, 19-H_b), 2.61 (m, 1H, 5-H), 2.84 (dd, ²J_{9a,9b} = 13.7 Hz, ³J_{9a,8} = 6.8 Hz, 1H, 9-H_a), 2.92–3.03 (sh, 3H, 9-H_b, 18-H), 3.58 (m, 1H, 20-H), 4.35–4.44 (sh, 2H, 8-H, NH), 4.52 (m, 2H, 3-H), 5.17 (m, 1H, 1-H_t), 5.24 (m, 1H, 1-H_c), 5.85 (ddt, ³J_{2,1c} = 17.1 Hz, ³J_{2,1f} = 10.7 Hz, ³J_{2,3} = 5.4 Hz, 1H, 2-H), 7.19–7.29 (sh, 6H, 11-H, 12-H, 13-H, NH), 7.89 (s, 1H, 16-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 17.6, 17.7, 19.1 (3q, C-6, C-22_a, C-22_b), 28.3 (q, C-25), 30.8 (t, C-18), 32.4 (d, C-21), 32.6 (t, C-19), 36.5 (d, C-5), 37.5 (t, C-7), 41.2 (t, C-9), 48.5 (d, C-8), 54.9 (d, C-20), 65.0 (t, C-3), 79.0 (s, C-24), 117.9 (t, C-1), 122.3 (d, C-16), 126.4 (d, C-13), 128.3, 129.4 (2d, C-11, C-12), 132.2 (d, C-2), 137.6 (s, C-10), 149.7 (s, C-15), 155.9 (s, C-23), 160.6 (s, C-17), 170.3, 175.7 (2s, C-4, C-14).

HRMS (CI): C₃₀H₄₄N₃O₅S, [M+H]⁺ M_{ber.}: 558.3002 M_{gef.}: 558.2993

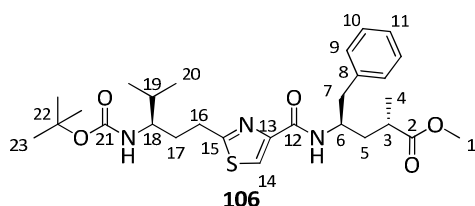
Elementaranalyse:

C ₃₀ H ₄₃ N ₃ O ₅ S	berechnet	C 64.40	H 7.77	N 7.53
(557.75)	gefunden	C 63.57	H 7.70	N 8.05

Boc-desacetoxy-Tubuvalinyl-tubuphenylalaninmethylester (106)

Gemäß AAV9 wurden 328 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) der Säurekomponente Boc-*d*Tuv-OH (**104**), 257 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) des Amin-Hydrochlorids **103**, 0.275 ml (2.5 Äq, 2.50 mmol) NMM und 0.144 ml (1.1 Äq, 1.10 mmol) IBCF in 7.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 526 mg (0.989 mmol, 99 %) des Produkts **106** als farbloses Öl erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**106**) = 0.28]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.91 (d, $^3J_{20a,19}$ = 6.8 Hz, 3H, 20- H_a), 0.94 (d, $^3J_{20b,19}$ = 6.8 Hz, 3H, 20- H_b), 1.15 (d, $^3J_{4,3}$ = 7.2 Hz, 3H, 4-H), 1.45 (s, 9H, 23-H), 1.58–1.78 (sh, 3H, 5- H_a , 17- H_a , 19-H), 1.92–2.04 (sh, 2H, 5- H_b , 17- H_b), 2.62 (m, 1H, 3-H), 2.86 (dd, $^2J_{7a,7b}$ = 13.6 Hz, $^3J_{7a,6}$ = 6.8 Hz, 1H, 7- H_a), 2.93–3.03 (sh, 3H, 7- H_b , 16-H), 3.57–3.63 (sh, 4H, 1-H, 18-H), 4.36–4.39 (sh, 2H, 6-H, NH), 7.21–7.30 (sh, 5H, 9-H, 10-H, 11-H), 7.91 (s, 1H, 14-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 17.6, 17.8, 19.2 (3q, C-4, C-20 $_a$, C-20 $_b$), 28.4 (q, C-23), 30.3 (t, C-16), 32.5 (d, C-19), 32.7 (t, C-17), 36.4 (d, C-3), 37.7 (t, C-5), 41.3 (t, C-7), 48.5 (d, C-6), 51.7 (q, C-1), 55.0 (d, C-18), 79.2 (s, C-22), 122.3 (d, C-14), 126.4 (d, C-11), 128.4, 129.5 (2d, C-9, C-10), 137.7 (s, C-8), 149.7 (s, C-13), 155.9 (s, C-21), 170.4, 176.6 (2s, C-2, C-12). C-15 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 532.2845 M_{gef} : 532.2833

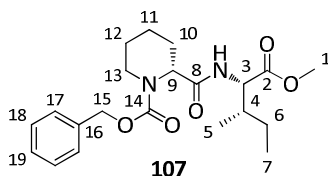
Elementaranalyse:

$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (531.28)	berechnet	C 63.25	H 7.77	N 7.90
	gefunden	C 63.37	H 7.90	N 8.01

Z-(D)-Pipicolinyl-(L)-isoleucinmethylester (107)

Gemäß AAV9 wurden 263 mg (1.0 Äq, 1.00 mmol) Z-(D)-Pipicolinsäure, 218 mg (1.2 Äq, 1.20 mmol) (L)-Isoleucinmethylester Hydrochlorid, 0.276 ml (2.5 Äq, 2.50 mmol) NMM und 0.144 ml (1.1 Äq, 1.10 mmol) *iso*-Butylchloroformiat in 3.0 ml *abs.* THF umgesetzt und 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Aufarbeitung und säulenchromatographische Aufreinigung (4g NP, SiO_2 , PE:EE, Gradient) ergaben 386 mg (0.989 mmol, 99 %) des Kupplungsprodukts **107** als farbloses Öl.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**107**) = 0.46]



Rotamerengemisch, Hauptrotamer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.79–1.00 (sh, 7H, 5-H, 7-H, 6- H_a), 1.25–1.71 (sh, 6H, 6- H_b , 10- H_a , 11-H, 12-H), 1.87 (m, 1H, 10- H_b), 2.30 (m, 1H, 4-H), 2.97 (m, 1H, 13- H_a), 3.71 (s, 3H, 1-H), 4.12 (m, 1H, 13- H_b), 4.56 (dd, $^3J_{3,\text{NH}}$ = 8.8 Hz, $^3J_{3,4}$ = 4.7 Hz, 1H, 3-H), 4.87 (m, 1H, 9-H), 5.18 (m, 2H, 15-H), 6.53 (bs, 1H, NH), 7.31–7.35 (sh, 5H, Ar-H).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 6.36 (bs, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.5 (q, C-7), 15.6 (q, C-5), 20.4 (t, C-11), 24.7, 24.9, 25.9 (3t, C-6, C-10, C-12), 37.4 (d, C-4), 42.2 (t, C-13), 52.1 (q, C-1), 54.6 (d, C-9), 56.4 (d, C-3), 127.8, 128.1, 128.5 (3d, C-Ar), 170.7, 172.3 (2s, C-2, C-8). C-14 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 390.2155 M_{gef} : 390.2160

Elementaranalyse:

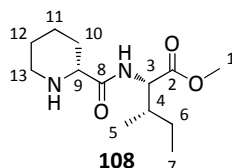
$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$ (390.47)	berechnet	C 64.59	H 7.74	N 7.17
	gefunden	C 64.68	H 7.82	N 7.10

4. Experimenteller Teil

(D)-Pipicolinyl-(L)-isoleucinmethylester (108)

242 mg (1.0 Äq, 0.576 mmol) des Z-geschützten Dipeptids Z-(D)-Pip-(L)-Ile-OMe (**107**) wurden in 2.0 ml Methanol unter Stickstoffatmosphäre mit 12.3 mg (0.02 Äq, 0.012 mmol) Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat wurde eingengt. Es konnten 147 mg (0.573 mmol, 99 %) des Z-entschützten Dipeptids **108** isoliert werden. Dieses wurde ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Synthesestufe umgesetzt.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**108**) = 0.03]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.89–0.95 (sh, 6H, 5-H, 7-H), 1.17 (m, 1H, 6-H_a), 1.42–1.54 (sh, 5H, 6-H_b, 10-H_a, 11-H_a, 12-H), 1.77 (m, 1H, 11-H_b), 1.87–1.94 (sh, 2H, 4-H, 10-H_b), 2.69 (m, 1H, 13-H_a), 3.04 (dt, ³J_{13,NH} = 11.5 Hz, ³J_{13,12} = 3.4 Hz, 1H, 13-H_b), 3.26 (dd, ³J_{9,10a} = 9.7 Hz, ³J_{9,10b} = 3.2 Hz, 1H, 9-H), 3.72 (s, 3H, 1-H), 4.55 (dd, ³J_{3,NH} = 9.1 Hz, ³J_{3,4} = 5.0 Hz, 1H, 3-H), 7.30 (d, ³J_{NH,3} = 8.8 Hz, 1H, NH_{Ile}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 11.5 (q, C-7), 15.6 (q, C-5), 23.8 (t, C-11), 25.1 (t, C-6), 26.0 (t, C-12), 29.6 (t, C-10), 37.6 (d, C-4), 45.6 (t, C-13), 52.0 (q, C-1), 56.0 (d, C-3), 59.8 (d, C-9), 172.4, 173.9 (2s, C-2, C-8).

HRMS (CI): C₁₃H₂₄N₂O₃, [M]⁺ M_{ber}: 256.1787 M_{gef}: 256.1775

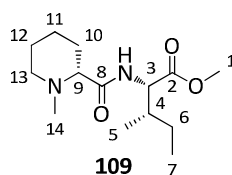
Elementaranalyse:

C ₁₃ H ₂₄ N ₂ O ₃	berechnet	C 60.91	H 9.44	N 10.93
(256.34)	gefunden	C 60.89	H 9.23	N 10.71

N-Methyl-(D)-pipicolinyl-(L)-isoleucinmethylester (109)

Zu einer Lösung aus 95.0 mg (1.0 Äq, 0.371 mmol) (D)-Pipicolinyl-(L)-isoleucinmethylester (**108**) in 2.0 ml Methanol wurden unter Stickstoffatmosphäre 7.8 mg (0.02 Äq, 0.007 mmol) Palladium auf Kohle (10 %) gegeben und 0.055 ml (2.0 Äq, 0.741 mmol) wässrige Formaldehyd-Lösung zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 5 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt, anschließend wurde der Katalysator abfiltriert. Nach Einengen des Filtrats konnten 93.1 mg (0.344 mmol, 93 %) des N-methylierten Dipeptids **109** in Form eines farblosen Öls erhalten werden, welches ohne Aufreinigung weiter umgesetzt werden konnte.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**109**) = 0.49]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.89–0.94 (sh, 6H, 5-H, 7-H), 1.13–1.26 (sh, 2H, 6- H_a , 11- H_a), 1.42–1.60 (sh, 4H, 6- H_b , 10- H_a , 12-H), 1.71 (m, 1H, 11- H_b), 1.88–1.95 (sh, 2H, 4-H, 10- H_b), 2.02 (ddd, $^2J_{13ax,13eq} \approx ^3J_{13ax,12ax} \approx 11.7$ Hz, $^3J_{13ax,12eq} = 3.0$ Hz, 1H, 13- H_{ax}), 2.21 (s, 3H, 14-H), 2.49 (dd, $^3J_{9,10ax} = 11.2$ Hz, $^3J_{9,10eq} = 3.4$ Hz, 1H, 9-H), 2.91 (ddd, $^2J_{13eq,13ax} = 11.6$ Hz, $^3J_{13eq,12ax} \approx ^3J_{13eq,12eq} \approx 2.8$ Hz, 1H, 13- H_{eq}), 3.71 (s, 3H, 1-H), 4.57 (dd, $^3J_{3,NH} = 9.1$ Hz, $^3J_{3,4} = 4.8$ Hz, 1H, 3-H), 7.04 (d, $^3J_{NH,3} = 8.7$ Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.5 (q, C-7), 15.8 (q, C-5), 23.2 (t, C-11), 25.1 (t, C-12), 25.2 (t, C-6), 30.6 (t, C-10), 37.6 (d, C-4), 44.9 (q, C-14), 52.0 (q, C-1), 55.3 (t, C-13), 55.8 (d, C-3), 69.6 (d, C-9), 172.4, 174.4 (2s, C-2, C-8).

HRMS (CI): $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$, $[\text{M}]^+$ M_{ber} : 270.1943 M_{gef} : 270.1937

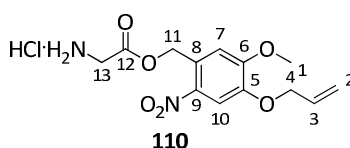
Elementaranalyse:

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ (270.37)	berechnet	C 62.19	H 9.69	N 10.36
	gefunden	C 62.81	H 9.25	N 10.10

Glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester Hydrochlorid (110)

Gemäß AAV2 (b) wurden 1.03 g (1.0 Äq, 2.60 mmol) Boc-Gly-OAMNB (**6**) in 5.0 ml Dichlormethan gelöst und 6.50 ml (10.0 Äq, 26.0 mmol) HCl (4M in Dioxan) zugegeben. Nach Entfernen des Lösungsmittels konnten 840 mg (2.52 mmol, 97 %) des Amins **110** als Hydrochlorid-Salz erhalten werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**110**) = 0.01]



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.63 (bs, 2H, NH_2), 3.54 (s, 2H, 13-H), 3.99 (s, 3H, 1-H), 4.68 (ddd, $^3J_{4,3} = 5.5$ Hz, $^4J_{4,2c} = 1.4$ Hz, $^4J_{4,2t} = 1.4$ Hz, 2H, 4-H), 5.35 (ddt, $^3J_{2t,3} = 10.5$ Hz, $^2J_{2t,2c} = 1.3$ Hz, $^4J_{2t,4} = 1.3$ Hz, 1H, 2- H_t), 5.46 (ddt, $^3J_{2c,3} = 17.3$ Hz, $^2J_{2c,2t} = 1.4$ Hz, $^4J_{2c,4} = 1.4$ Hz, 1H, 2- H_c), 5.54 (s, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c} = 17.2$ Hz, $^3J_{3,2t} = 10.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.5$ Hz, 1H, 3-H), 6.99 (s, 1H, 7-H), 7.71 (s, 1H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 43.9 (t, C-13), 56.4 (q, C-1), 63.6 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 110.0 (d, C-10), 111.0 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 126.5 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 140.0 (s, C-9), 147.3 (s, C-5), 153.8 (s, C-6), 173.7 (s, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 297.1087 M_{gef} : 297.1098

Elementaranalyse:

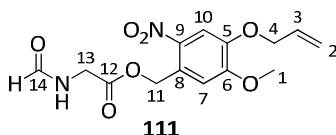
$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6$ (332.74)	berechnet	C 52.70	H 5.44	N 9.46
	gefunden	C 52.62 <td>H 5.42 <td>N 8.97</td> </td>	H 5.42 <td>N 8.97</td>	N 8.97

4. Experimenteller Teil

N-Formyl-glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester (111)

Zu einer Lösung aus 808 mg (1.0 Äq, 2.43 mmol) Gly-OAMNB Hydrochlorid **110** und 0.372 ml (1.1 Äq, 2.67 mmol) Triethylamin in 15.0 ml Ethylformiat wurden 9.2 mg *p*-Toluolsulfonsäure (0.02 Äq, 0.049 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung wurde 20 h refluxiert. Nach Abfiltrieren des Feststoffs wurde das Filtrat eingeeengt und der gelbliche Rückstand mit Petrolether gewaschen. Es konnten 716 mg (2.19 mmol, 90 %) der Formyl-Verbindung **111** isoliert werden.

[DC: SiO₂, EE, R_f (**111**) = 0.33 / PE:EE, R_f (**111**) = 0.06]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.01 (s, 3H, 1-H), 4.20 (d, ³J_{13,NH} = 5.5 Hz, 2H, 13-H), 4.68 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.37 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.47 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.60 (s, 2H, 11-H), 6.02–6.14 (sh, 2H, 3-H, NH), 7.00 (s, 1H, 7-H), 7.74 (s, 1H, 10-H), 8.29 (s, 1H, 14-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 40.0 (t, C-13), 56.6 (q, C-1), 64.3 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 110.0 (d, C-10), 110.6 (d, C-7), 119.3 (t, C-2), 126.2 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 139.7 (s, C-9), 147.3 (s, C-5), 154.1 (s, C-6), 161.1 (s, C-14), 168.9 (s, C-12).

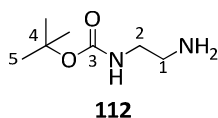
Elementaranalyse:

C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₇	berechnet	C 51.85	H 4.97	N 8.64
(324.29)	gefunden	C 51.68	H 4.86	N 8.56

mono-Boc-Ethylendiamin (112)

Unter starkem Rühren wurden zu einer Lösung aus 10.0 ml (6.0 Äq, 150 mmol) Ethylendiamin in 100 ml Dichlormethan 5.80 ml (1.0 Äq, 25.0 mmol) Boc₂O in 100 ml Dichlormethan über einen Zeitraum von 2 h zugetropft und anschließend 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde eingeeengt und in 30 ml einer 20 %-igen Na₂CO₃-Lösung gegossen. Nach dreimaligem Extrahieren mit Dichlormethan und Trocknen über Na₂SO₄ konnten 3.97 g (24.8 mmol, 99 %) des *mono*-Boc-geschützten Produkts **112** als farbloses Öl isoliert werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**112**) = 0.06]



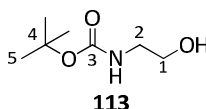
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.18 (bs, 2H, NH₂), 1.41 (s, 9H, 5-H), 2.76 (t, ³J_{1,2} = 5.8 Hz, 2H, 1-H), 3.14 (dt, ³J_{2,NH} = 5.3 Hz, ³J_{2,1} = 5.8 Hz, 2H, 2-H), 4.98 (bs, 1H, NH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.3 (q, C-5), 41.8 (t, C-2), 43.4 (t, C-1), 79.1 (s, C-4), 156.2 (C-3).

N-Boc-Ethanolamin (113)

Zu einer Mischung aus 2.37 ml (1.02 Äq, 10.2 mmol) Boc₂O und 230 mg Amberlyst-15 in 10.0 ml Ethanol wurden 611 mg (1.0 Äq, 10.0 mmol) Ethanolamin getropft und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde abfiltriert und die Lösung eingengt. Der ölig-harzige Rückstand wurde mit *n*-Pentan gewaschen, um den Überschuss an Boc₂O auszuwaschen. Es konnten 1.61 g (9.99 mmol, quant.) des Boc-geschützten Ethanolamins **113** isoliert werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**113**) = 0.27–0.50]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H, 5-H), 2.64 (bs, 1H, OH), 3.28 (m, 2H, 2-H), 3.70 (m, 2H, 1-H), 4.99 (bs, 1H, NH).

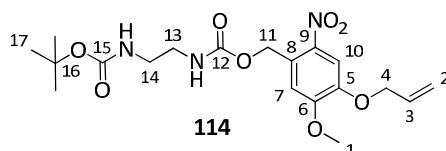
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.3 (q, C-5), 43.1 (t, C-2), 62.6 (t, C-1), 79.7 (s, C-4), 156.8 (s, C-3).

HRMS (CI): C₇H₁₆NO₃, [M+H]⁺ M_{ber.}: 162.1130 M_{gef.}: 162.1107

N-Boc-2-Aminoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbamate (114)

Gemäß AAV3 wurden 119 mg (1.0 Äq, 0.746 mmol) Boc-Ethylendiamin **112**, 225 mg (1.0 Äq, 0.746 mmol) AMNBOCI (**2**) und 0.060 ml (1.0 Äq, 0.746 mmol) *abs.* Pyridin in 4.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 177 mg (0.416 mmol, 56 %) des Produkts **114** als gelblicher Feststoff erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**114**) = 0.21]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H, 17-H), 3.28–3.34 (sh, 4H, 13-H, 14-H), 3.97 (s, 3H, 1-H), 4.67 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.4 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 4.85 (bs, 1H, NH), 5.34–5.39 (sh, 2H, 2-H_t, NH), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.49 (s, 2H, 11-H), 6.06 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.01 (s, 1H, 7-H), 7.71 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.3 (q, C-17), 40.5 (t, C-13), 41.9 (t, C-14), 56.4 (q, C-1), 63.6 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 79.7 (s, C-16), 109.9 (d, C-10), 110.3 (d, C-7), 119.1 (t, C-2), 128.2 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.6 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 153.9, 156.2 (2s, C-6, C-12/C-15). C12/C15 nicht detektierbar

HRMS (CI): C₁₉H₂₈N₃O₈, [M+H]⁺ M_{ber.}: 426.1876 M_{gef.}: 426.1849

Elementaranalyse:

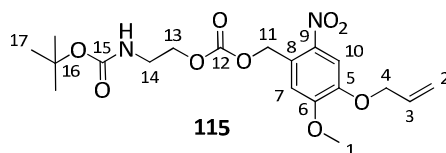
	berechnet	C 53.64	H 6.40	N 9.88
C ₁₉ H ₂₇ N ₃ O ₈ (425.43)	gefunden	C 53.91	H 6.15	N 9.79

4. Experimenteller Teil

***N*-Boc-2-Aminoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbonat (**115**)**

Gemäß AAV3 wurden 160 mg (1.0 Äq, 0.994 mmol) *N*-Boc-Ethanolamin **113**, 300 mg (1.0 Äq, 0.994 mmol) AMNBOCl (**2**), 0.322 ml (4.0 Äq, 3.98 mmol) *abs.* Pyridin und 60.7 mg (0.5 Äq, 0.497 mmol) DMAP in 4.0 ml *abs.* THF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie (4 g NP, SiO₂, PE:EE, Gradient) wurden 326 mg (0.765 mmol, 77 %) des Produkts **115** als gelblicher Feststoff erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**115**) = 0.36]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H, 17-H), 3.45 (td, ³J_{14,13} ≈ ³J_{14,NH} ≈ 5.2 Hz, 2H, 14-H), 3.99 (s, 3H, 1-H), 4.25 (t, ³J_{13,14} = 5.2 Hz, 2H, 13-H), 4.68 (ddd, ³J_{4,3} = 5.5 Hz, ⁴J_{4,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{4,2t} = 1.3 Hz, 2H, 4-H), 4.84 (bs, 1H, NH), 5.36 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, ³J_{2c,3} = 17.3 Hz, ²J_{2c,2t} = 1.4 Hz, ⁴J_{2c,4} = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.57 (s, 2H, 11-H), 6.07 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.05 (s, 1H, 7-H), 7.74 (s, 1H, 10-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.2 (q, C-17), 39.4 (t, C-14), 56.3 (q, C-1), 66.3 (t, C-11), 67.4 (t, C-13), 70.0 (t, C-4), 79.4 (s, C-16), 109.7 (d, C-10), 110.2 (d, C-7), 119.0 (t, C-2), 126.3 (s, C-8), 131.7 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.1 (s, C-5), 153.9, 154.4 (2s, C-6, C-15), 155.6 (s, C-12).

HRMS (CI): C₁₉H₂₆N₂O₉, [M]⁺ M_{ber}: 426.1638 M_{gef}: 426.1640

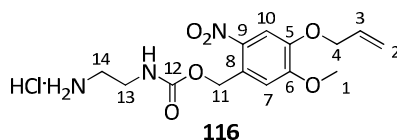
Elementaranalyse:

C ₁₉ H ₂₆ N ₂ O ₉	berechnet	C 53.52	H 6.15	N 6.57
(426.42)	gefunden	C 53.47	H 6.05	N 6.50

2-Aminoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbamat Hydrochlorid (116**)**

Gemäß AAV2 (b) wurden zu 195 mg (1.0 Äq, 0.458 mmol) der Boc-geschützten Verbindung **114** in 1.0 ml Dichlormethan 1.15 ml (10.0 Äq, 4.58 mmol) HCl (4M in Dioxan) gegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen der Lösung wurden 163 mg (0.451 mmol, 98 %) des Amin-Hydrochlorids **116** erhalten.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**116**) = 0.01]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.17 (t, ³J_{14,13} = 5.8 Hz, 2H, 14-H), 3.49 (t, ³J_{13,14} = 5.8 Hz, 2H, 13-H), 3.98 (s, 3H, 1-H), 4.72 (m, 2H, 4-H), 5.39 (ddt, ³J_{2t,3} = 10.5 Hz, ²J_{2t,2c} = 1.3 Hz, ⁴J_{2t,4} = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.48 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.10 (ddt, ³J_{3,2c} = 17.3 Hz, ³J_{3,2t} = 10.5 Hz, ³J_{3,4} = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.15 (s, 1H, 7-H), 7.78 (s, 1H, 10-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 41.6, 43.7 (2t, C-13, C-14), 56.4 (q, C-1), 63.6 (t, C-11), 70.2 (t, C-4), 109.9 (d, C-10), 110.5 (d, C-7), 119.2 (t, C-2), 128.2 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.7 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 153.8, 156.1 (2s, C-6, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_6$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 326.1352 $M_{\text{gef.}}$: 326.1348

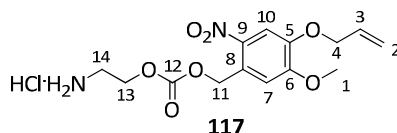
Elementaranalyse:

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6$	berechnet	C 51.69	H 5.89	N 12.92
(325.32)	gefunden	C 51.60	H 5.97	N 12.31

2-Aminoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbonat Hydrochlorid (117)

Gemäß AAV2 (b) wurden zu 233 mg (1.0 Äq, 0.547 mmol) der Boc-geschützten Verbindung **115** in 1.0 ml Dichlormethan 1.37 ml (10.0 Äq, 5.47 mmol) HCl (4M in Dioxan) gegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen der Lösung konnten 199 mg (0.547 mmol, quant.) des Amin-Hydrochlorids **117** isoliert werden.

[DC: SiO_2 , PE:EE 1:1, R_f (**117**) = 0.01]



^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.41 (t, $^3J_{14,13}$ = 5.0 Hz, 2H, 14-H), 3.97 (s, 3H, 1-H), 4.51 (t, $^3J_{13,14}$ = 5.0 Hz, 2H, 13-H), 4.65 (m, 2H, 4-H), 5.39 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.43–5.48 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.10 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.14 (s, 1H, 7-H), 7.68 (s, 1H, 10-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 38.3 (t, C-14), 56.5 (q, C-1), 64.6 (t, C-11), 67.3 (t, C-13), 70.2 (t, C-4), 110.2 (d, C-10), 111.9 (d, C-7), 119.3 (t, C-2), 125.8 (s, C-8), 131.9 (d, C-3), 139.7 (s, C-9), 146.8 (s, C-5), 153.6, 154.8 (2s, C-6, C-12).

HRMS (CI): $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_7$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 327.1192 $M_{\text{gef.}}$: 327.1154

Elementaranalyse:

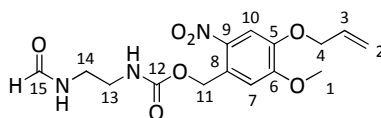
$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_7$	berechnet	C 46.35	H 5.28	N 7.72
(362.76)	gefunden	C 46.01	H 5.11	N 7.66

N-Formyl-2-aminoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbamat (118)

Zu einer Lösung aus 160 mg (1.0 Äq, 0.442 mmol) des Amin-Hydrochlorids **116** und 0.080 ml (1.3 Äq, 0.575 mmol) Triethylamin in 4.0 ml Ethylformiat wurden 1.7 mg (0.02 Äq, 0.008 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure gegeben und die Reaktionsmischung wurde 20 h refluxiert. Nach Abfiltrieren des Feststoffs wurde das Filtrat eingengt und auf *Isolute* aufgezogen. Nach Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) konnten 132 mg (0.374 mmol, 84 %) der formylierten Verbindung **118** isoliert werden.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 95:5, R_f (**118**) = 0.11]

4. Experimenteller Teil



118

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.28–3.35 (sh, 4H, 13-H, 14-H), 3.94 (s, 3H, 1-H), 4.63 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.31 (m, 1H, 2-H_t), 5.39–5.44 (sh, 3H, 2-H_c, 11-H), 6.02 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 6.12 (bs, 1H, NH), 7.00 (s, 1H, 7-H), 7.67 (s, 1H, 10-H), 8.07 (s, 1H, 15-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 38.2 (t, C-14), 40.4 (t, C-13), 56.3 (q, C-1), 63.7 (t, C-11), 70.1 (t, C-4), 109.8 (d, C-10), 110.3 (d, C-7), 119.0 (t, C-2), 128.0 (s, C-8), 131.8 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 146.9 (s, C-5), 153.9 (s, C-6/C-12), 162.4 (d, C-15). C-6/C-12 nicht detektierbar

HRMS (CI): $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_7$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 354.1301 $M_{\text{gef.}}$: 354.1306

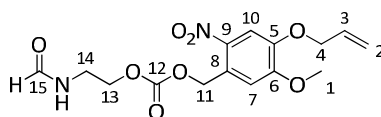
Elementaranalyse:

$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7$ (353.33)	berechnet	C 50.85	H 5.12	N 7.91
	gefunden	C 50.29	H 4.87	N 7.84

N-Formyl-2-aminoethyl-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)carbonat (**119**)

Zu einer Lösung aus 182 mg (1.0 Äq, 0.502 mmol) des Amin-Hydrochlorids **117** und 0.091 ml (1.3 Äq, 0.652 mmol) Triethylamin in 4.0 ml Ethylformiat wurden 1.9 mg (0.02 Äq, 0.010 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure gegeben und die Reaktionsmischung wurde 20 h refluxiert. Nach Abfiltrieren des Feststoffs wurde das Filtrat eingengt und auf *Isolute* aufgezogen. Nach Säulenchromatographie (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) konnten 163 mg (0.460 mmol, 92 %) der Formyl-Verbindung **119** isoliert werden.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 95:5, R_f (**119**) = 0.29]



119

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.64 (td, $^3J_{14,13} \approx ^3J_{14,\text{NH}} \approx 5.3$ Hz, 2H, 14-H), 3.99 (s, 3H, 1-H), 4.30 (t, $^3J_{13,14}$ = 5.3 Hz, 2H, 13-H), 4.68 (ddd, $^3J_{4,3}$ = 5.5 Hz, $^4J_{4,2c}$ = 1.4 Hz, $^4J_{4,2t}$ = 1.4 Hz, 2H, 4-H), 5.36 (ddt, $^3J_{2t,3}$ = 10.5 Hz, $^2J_{2t,2c}$ = 1.3 Hz, $^4J_{2t,4}$ = 1.3 Hz, 1H, 2-H_t), 5.46 (ddt, $^3J_{2c,3}$ = 17.3 Hz, $^2J_{2c,2t}$ = 1.4 Hz, $^4J_{2c,4}$ = 1.4 Hz, 1H, 2-H_c), 5.62 (s, 2H, 11-H), 5.97 (bs, 1H, NH), 6.06 (ddt, $^3J_{3,2c}$ = 17.3 Hz, $^3J_{3,2t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 5.5 Hz, 1H, 3-H), 7.04 (s, 1H, 7-H), 7.73 (s, 1H, 10-H), 8.21 (s, 1H, 15-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 37.2 (t, C-14) 56.5 (q, C-1), 64.7 (t, C-11), 66.7, 66.8 (2t, C-4, C-13), 109.9 (d, C-10), 110.7 (d, C-7), 119.3 (t, C-2), 126.0 (s, C-8), 131.7 (d, C-3), 139.4 (s, C-9), 147.3 (s, C-5), 154.0, 154.6 (2s, C-6, C-12), 161.3 (s, C-15).

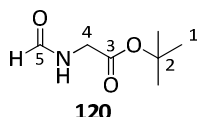
HRMS (CI): $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_8$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ $M_{\text{ber.}}$: 355.1141 $M_{\text{gef.}}$: 355.1171

Elementaranalyse:

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_8$ (354.31)	berechnet	C 50.99	H 5.42	N 11.89
	gefunden	C 50.92 <td>H 5.19 <td>N 11.80</td> </td>	H 5.19 <td>N 11.80</td>	N 11.80

N-Formyl-glycin-tert-butylester (120)

Zu einer Lösung aus 1.36 ml (1.0 Äq, 10.0 mmol) Glycin-*tert*-butylester und 1.53 ml (1.1 Äq, 11.0 mmol) Triethylamin in 5.0 ml Ethylformiat wurden 38.1 mg (0.02 Äq, 0.20 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure gegeben und die Reaktionsmischung wurde 20 h refluxiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels konnten 1.58 g (9.90 mmol, 99 %) der Formyl-Komponente **120** isoliert und ohne weitere Aufreinigung in die nächste Synthesestufe eingesetzt werden.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.48 (s, 9H, 1-H), 3.98 (dd, ³J_{4,NH} = 5.1 Hz, ⁴J_{4,5} = 0.7 Hz, 2H, 4-H), 6.14 (bs, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, 5-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.0 (q, C-1), 40.6 (t, C-4), 82.7 (s, C-2), 160.9 (s, C-5), 168.6 (s, C-3).

HRMS (CI): C₇H₁₄NO₃, [M+H]⁺ M_{ber.}: 160.0974 M_{gef.}: 160.0946

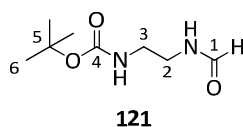
Elementaranalyse:

C ₇ H ₁₃ NO ₃ (159.18)	berechnet	C 52.82	H 8.23	N 8.80
	gefunden	C 52.37	H 8.06	N 8.83

N-Formyl-N'-Boc-ethylendiamin (121)

Zu einer Lösung aus 1.24 g (1.0 Äq, 7.75 mmol) *mono*-Boc-Ethylendiamin **112** und 1.19 ml (1.1 Äq, 8.53 mmol) Triethylamin in 4.0 ml Ethylformiat wurden 29.0 mg (0.02 Äq, 0.155 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure gegeben und die Reaktionsmischung wurde 20 h refluxiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels und säulenchromatographischer Aufreinigung (3x 4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1)) konnten 1.28 g (6.82 mmol, 88 %) der Formyl-Komponente **121** als leicht gelbliches Harz isoliert werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**121**) = 0.22]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.39 (s, 9H, 6-H), 3.23 (m, 2H, 2/3-H), 3.37 (m, 2H, 2/3-H), 5.25 (bs, 1H, NH), 6.83 (bs, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, 1-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 28.3 (q, C-6), 39.1, 40.0 (2t, C-2, C-3), 79.7 (s, C-5), 156.9 (s, C-4), 162.1 (s, C-1).

HRMS (CI): C₈H₁₇N₂O₃, [M+H]⁺ M_{ber.}: 189.1239 M_{gef.}: 189.1238

Elementaranalyse:

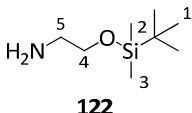
C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₃ (188.22)	berechnet	C 51.05	H 8.57	N 14.88
	gefunden	C 50.63	H 8.33	N 14.61

4. Experimenteller Teil

O-(tert-Butyldimethylsilyl)ethanolamin (122)

Zu einer Lösung aus 0.180 ml (1.0 Äq, 3.00 mmol) Ethanolamin und 408 mg (2.0 Äq, 6.00 mmol) Imidazol in 3.0 ml *abs.* Dichlormethan wurden bei Raumtemperatur 475 mg (1.05 Äq, 3.15 mmol) TBDMSCl, gelöst in 3.0 ml *abs.* Dichlormethan, getropft und 2 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser gequench, 10 min nachgerührt und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknen über MgSO₄ wurden 515 mg (2.94 mmol, 98 %) eines gelblichen Öls, des TBDMS-geschützten Ethanolamins **122**, erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**122**) = 0.23–0.46]



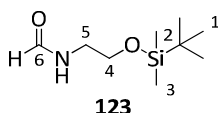
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.06 (s, 6H, 3-H), 0.89 (s, 9H, 1-H), 2.05 (bs, 2H, NH₂), 2.76 (t, ³J_{5,4} = 5.3 Hz, 2H, 5-H), 3.61 (t, ³J_{4,5} = 5.3 Hz, 2H, 4-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = -5.3 (q, C-3), 18.3 (s, C-2), 25.9 (q, C-1), 44.3 (t, C-5), 65.2 (t, C-4).

N-Formyl-O-(tert-butyl(dimethyl)silyl)ethanolamin (123)

6.61 g (4.0 Äq, 97.2 mmol) Natriumformiat wurden im Hochvakuum 6 h bei 60 °C ausgeheizt und nach kurzem Abkühlen in 50 ml *abs.* Diethylether suspendiert. 3.46 ml (2.0 Äq, 48.6 mmol) Acetylchlorid wurden zugegeben und die Suspension wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Absetzen des Bodensatzes wurde der Überstand zu einer Lösung des Amins **122** (4.26 g, 1.0 Äq, 24.3 mmol) in 50 ml *abs.* Diethylether getropft. Nach 7-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde der Feststoff abfiltriert und das Filtrat wurde eingeeengt. Es wurden 4.59 g (22.6 mmol, 93 %) des formylierten Produkts **123** als orangefarbenes Öl erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 9:1, R_f (**123**) = 0.22]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.05 (s, 6H, 3-H), 0.88 (s, 9H, 1-H), 3.41 (dt, ³J_{5,NH} = 5.3 Hz, ³J_{5,4} = 5.3 Hz, 2H, 5-H), 3.68 (t, ³J_{4,5} = 5.3 Hz, 2H, 4-H), 6.17 (bs, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = -5.5 (q, C-3), 18.2 (s, C-2), 25.7 (q, C-1), 40.3 (t, C-5), 61.6 (t, C-4), 161.6 (d, C-6).

N-Methyl-(D)-pipercolinyl-(L)-isoleucinyl-N-(glycinyglycin-tert-butylester)-desacetoxy-tubovalinyl-tubuphenylalaninmethylester (124)

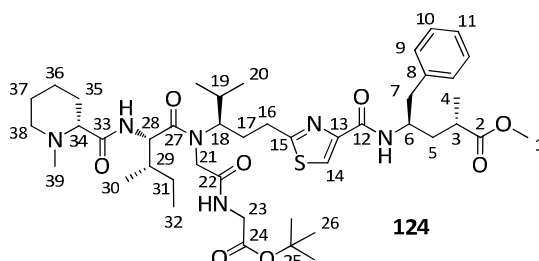
(2S,4R)-methyl 4-(2-((R)-3-((2S,3S)-N-(2-((2-tert-butoxy)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)-3-methyl-2-((R)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate

Gemäß AAV6 wurden 88.0 mg (1.0 Äq, 0.204 mmol) Amin **99**, 6.1 mg (1.0 Äq, 0.203 mmol) Paraformaldehyd, 60.1 mg (1.15 Äq, 0.234 mmol) der Säure **94b** und 28.8 mg (1.0 Äq, 0.204 mmol) des Isonitrils **96** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach

säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 103 mg (0.112 mmol, 60 %) des Prä tubugi-Produkts **124** als gelbliches Harz erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**124**) = 0.17]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1.0 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_r = 5.43'.



Rotamerenverhältnis ≈ 55:45, Hauptrotamer:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.74 (d, ³J_{20a,19} = 6.6 Hz, 3H, 20-H_a), 0.86 (t, ³J_{32,31} = 7.4 Hz, 3H, 32-H), 0.93–0.97 (sh, 6H, 20-H_b, 30-H), 1.13–1.20 (sh, 5H, 4-H, 31-H_a, 36-H_a), 1.32–1.46 (sh, 11H, 26-H, 35-H_a, 37-H_a), 1.56–1.68 (sh, 5H, 5-H_a, 19-H, 31-H_b, 36-H_b, 37-H_b), 1.78–2.12 (sh, 6H, 5-H_b, 17-H, 29-H, 35-H_b, 38-H_a), 2.20 (s, 3H, 39-H), 2.49 (m, 1H, 34-H), 2.60 (m, 1H, 3-H), 2.81–3.02 (sh, 4H, 7-H, 16-H_a, 38-H_b), 3.24 (m, 1H, 16-H_b), 3.61 (s, 3H, 1-H), 3.69 (m, 1H, 18-H), 3.72–4.13 (sh, 2H, 21-H_a, 23-H_a), 4.01 (dd, ²J_{23b,23a} = 18.2 Hz, ³J_{23b,NH} = 5.6 Hz, 1H, 23-H_b), 4.35–4.44 (sh, 2H, 6-H, 28-H), 4.64 (d, ²J_{21b,21a} = 16.8 Hz, 1H, 21-H_b), 6.95 (d, ³J_{NH,28} = 9.3 Hz, 1H, NH_{le}), 7.18–7.28 (sh, 5H, 9-H, 10-H, 11-H), 7.31 (m, 1H, NH_{Tup}), 7.43 (dd, ³J_{NH,23a} = 5.1 Hz, ³J_{NH,23b} = 5.1 Hz, 1H, NH_{Gly}), 7.86 (s, 1H, 14-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.5 (q, C-32), 15.7 (q, C-30), 17.8 (q, C-4), 19.7 (q, C-20_a), 20.4 (q, C-20_b), 23.2 (t, C-36), 24.5 (t, C-31), 25.0 (t, C-37), 28.0 (q, C-26), 30.1 (t, C-17), 30.4 (t, C-16), 30.5 (d, t, C-19, C-35), 36.4 (d, C-3), 36.6 (d, C-29), 37.8 (t, C-5), 41.3 (t, C-7), 42.0 (t, C-23), 44.9 (q, C-39), 46.7 (t, C-21), 48.4 (d, C-6), 51.6 (q, C-1), 53.9 (d, C-28), 55.2 (t, C-38), 64.1 (d, C-18), 69.4 (d, C-34), 82.1 (s, C-25), 122.3 (d, C-14), 126.4 (d, C-11), 128.3 (d, C-10), 129.4 (d, C-9), 137.7 (s, C-8), 149.4 (s, C-13), 160.7 (s, C-15), 168.4, 169.3, 170.9, 174.3, 174.4, 176.6 (6s, C-2, C-12, C-22, C-24, C-27, C-33).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale):

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.89 (t, ³J_{32,31} = 7.4 Hz, 3H, 32-H), 1.06 (d, ³J_{20b,19} = 6.5 Hz, 3H, 20-H_b), 1.15 (d, ³J_{4,3} = 7.1 Hz, 3H, 4-H), 1.95 (m, 1H, 19-H), 2.23 (s, 3H, 39-H), 4.83 (dd, ³J_{28,NH} = 9.3 Hz, ³J_{28,29} = 6.0 Hz, 1H, 28-H), 7.16 (m, 1H, NH_{le}), 7.85 (s, 1H, 14-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 11.4 (q, C-32), 16.5 (q, C-30), 17.9 (q, C-4), 20.3 (q, C-20_b), 20.7 (q, C-20_a), 23.2 (t, C-36), 27.9 (q, C-26), 29.6 (t, C-16), 30.9 (t, C-17), 31.3 (d, C-19), 36.4 (d, C-3), 38.0 (d, C-29), 38.0 (d, C-5), 41.4 (t, C-7), 41.9 (t, C-23), 45.0 (q, C-39), 48.5 (d, C-6), 52.7 (d, C-28), 55.4 (t, C-38), 69.5 (d, C-18), 81.8 (s, C-25), 122.4 (d, C-14), 129.4 (d, C-9), 137.8 (s, C-8), 149.6 (s, C-13), 160.9 (s, C-15), 168.4, 169.2, 169.7, 173.8, 174.9, 176.5 (6s, C-2, C-12, C-22, C-24, C-27, C-33).

HRMS (CI): C ₃₇ H ₆₁ N ₆ O ₈ S, [M-CH ₂ -Ph] ⁺	M _{ber} :	749.4272	M _{gef} :	749.4278
MS (ESI/APCI): C ₄₄ H ₆₉ N ₆ O ₈ S, [M+H] ⁺	M _{ber} :	841.49	M _{gef} :	841.60
C ₄₄ H ₇₀ N ₆ O ₈ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber} :	421.25	M _{gef} :	421.45

Elementaranalyse:

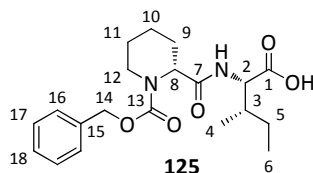
C ₄₄ H ₆₈ N ₆ O ₈ S	berechnet	C 62.83	H 8.15	N 9.99
(841.11)	gefunden	C 62.41	H 7.93	N 9.87

4. Experimenteller Teil

Z-(D)-Pipicolinyl-(L)-isoleucin (125)

Gemäß AAV7 wurden 258 mg (1.0 Äq, 0.661 mmol) Z-(D)-Pip-(L)-Ile-OMe (**107**) mit 85.1 mg (3.0 Äq, 1.982 mmol) Lithiumhydroxid (56 %) in Dioxan/Wasser/Methanol (1.2 ml/0.4 ml/0.4 ml) verseift. Nach Ansäuern mit 1M HCl und Aufarbeitung wurden 244 mg (0.648 mmol, 98 %) des Produkts **125** als farbloses Öl isoliert.

[DC: SiO₂, PE:EE 1:1, R_f (**125**) = 0.01]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.82–1.10 (sh, 7H, 4-H, 5-H_a, 6-H), 1.35–1.66 (sh, 6H, 5-H_b, 9-H_a, 10-H, 11-H), 1.92 (m, 1H, 3-H), 2.31 (m, 1H, 9-H_b), 3.00 (m, 1H, 12-H_a), 4.13 (m, 1H, 12-H_b), 4.60 (m, 1H, 2-H), 4.90 (m, 1H, 8-H), 5.17 (m, 2H, 14-H), 6.65 (m, 1H, NH), 7.31–7.34 (sh, 5H, 16-H, 17-H, 18-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 11.6 (q, C-6), 15.5 (q, C-4), 20.0 (t, C-10), 24.8 (2t, C-5, C-11), 25.9 (t, C-9), 37.3 (d, C-3), 42.2 (t, C-12), 55.6 (d, C-8), 56.2 (d, C-2), 67.8 (t, C-14), 127.8, 128.2, 128.5 (3d, C-16, C-17, C-18), 136.2 (s, C-15), 156.8 (s, C-13), 171.3, 175.0 (2s, C-1, C-7).

HRMS (CI): C₂₀H₂₈N₂O₅, [M]⁺ M_{ber}: 377.2062 M_{gef}: 377.2076

Elementaranalyse:

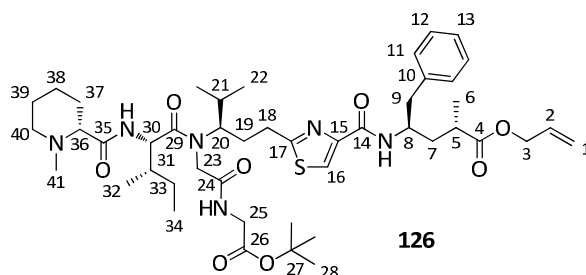
C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₅	berechnet	C 63.81	H 7.50	N 7.44
(376.45)	gefunden	C 63.75	H 7.31	N 7.48

***N*-Methyl-(D)-pipercolinyl-(L)-isoleucinyl-*N*-(glycinyglycin-*tert*-butylester)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninylester (126)** ***(2S,4R)*-allyl 4-(2-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*-(2-((2-*tert*-butoxy)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV6 wurden 85.0 mg (1.0 Äq, 0.186 mmol) Amin **95**, 5.6 mg (1.0 Äq, 0.186 mmol) Paraformaldehyd, 54.8 mg (1.15 Äq, 0.214 mmol) der Säure **94b** und 26.2 mg (1.0 Äq, 0.186 mmol) des Isonitrils **96** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 86.9 mg (0.100 mmol, 54 %) des Prä tubugi-Produkts **126** als gelbliches Harz erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**126**) = 0.08–0.22]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 10 min, 0.6 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_r = 7.74'.



Rotamerenverhältnis \approx 1:1 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 18-H bis 22-H und 25-H/NH_{Gly})

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.73 (d, ³J_{22a,21} = 6.6 Hz, 1.5H, 22-H_{a,R1}), 0.85 (d, ³J_{34,33} = 7.5 Hz, 1.5H, 34-H_R), 0.89 (d, ³J_{34,33} = 7.5 Hz, 1.5H, 34-H_{R'}), 0.92–0.96 (sh, 6H, 22-H_{b,R1}, 22-H_{a,R2}, 32-H), 1.05 (d, ³J_{22b,21} = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R2}), 1.15 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 1.5H, 6-H_R), 1.16 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 1.5H, 6-H_{R'}), 1.19–1.23 (sh, 2H, 33-H_a, 38-H_a), 1.36 (s, 4.5H, 28-H_R), 1.41–1.46 (sh, 6.5H, 28-H_{R'}, 37-H_a, 39-H_a), 1.55–1.67 (sh, 4.5H, 7-H_a, 21-H_{R1}, 33-H_b, 38-H_b, 39-H_b), 1.77–1.84 (sh, 1.5H, 19-H_{a,R1}, 37-H_b), 1.87–2.08 (sh, 4.5H, 7-H_b, 19-H_{a,R2}, 19-H_{b,R1}, 21-H_{R2}, 31-H, 40-H_a), 2.15–2.24 (sh, 3.5H, 19-H_{b,R2}, 41-H), 2.50 (m, 1H, 36-H), 2.62 (m, 1H, 5-H), 2.81–2.99 (sh, 4H, 9-H, 18-H_{a,R1}, 18-H_{a,R2}, 40-H_b), 3.02 (m, 0.5H, 18-H_{b,R2}), 3.24 (m, 0.5H, 18-H_{b,R1}), 3.60 (m, 0.5H, 20-H_{R2}), 3.70–3.80 (sh, 1.5H, 23-H_{a,R}, 23-H_{a,R'}, 25-H_{a,R1}), 3.87–3.94 (sh, 1H, 25-H_{a,R2}, 25-H_{b,R1}), 4.00 (dd, ²J_{25b,25a} = 17.6 Hz, ³J_{25b,NH} = 5.7 Hz, 0.5H, 25-H_{b,R2}), 4.12 (d, ²J_{23b,23a} = 14.9 Hz, 0.5H, 23-H_{b,R'}), 4.35–4.43 (sh, 2H, 8-H, 30-H_R), 4.52 (m, 2H, 3-H), 4.64 (d, ²J_{23b,23a} = 17.4 Hz, 0.5H, 23-H_{b,R}), 4.89 (dd, ³J_{30,NH} = 9.0 Hz, ³J_{30,31} = 5.9 Hz, 1H, 30-H_{R'}), 5.17 (dm, ³J_{1f,2} = 10.5 Hz, 1H, 1-H_f), 5.24 (dm, ³J_{1c,2} = 17.2 Hz, 1H, 1-H_c), 5.85 (ddt, ³J_{2,1c} = 17.3 Hz, ³J_{2,1f} = 10.5 Hz, ³J_{2,3} = 5.5 Hz, 1H, 2-H), 7.00 (d, ³J_{NH,8} = 5.9 Hz, 0.5H, NH_{Tup,R}), 7.15–7.27 (sh, 6H, 11-H, 12-H, 13-H, NH_{Gly,R2}, NH_{Ile,R}), 7.30–7.35 (sh, 1H, NH_{Tup,R'}, NH_{Ile,R'}), 7.43 (dd, ³J_{NH,25a} = ³J_{NH,25b} = 5.1 Hz, 0.5H, NH_{Gly,R1}), 7.84 (s, 0.5H, 16-H_R), 7.86 (s, 0.5H, 16-H_{R'}). 20-H_{R1} (0.5H) nicht detektierbar

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.5, 11.3 (2q, C-34_R, C-34_{R'}), 15.7, 16.4 (2q, C-32_R, C-32_{R'}), 17.8, 17.9 (2q, C-6_R, C-6_{R'}), 19.6 (q, C-22_{a,R1}), 20.3, 20.4 (2q, C-22_{a,R2}, C-22_{b,R1}), 20.6 (q, C-22_{b,R2}), 23.1 (t, C-38), 23.9 (t, C-33), 24.5, 24.9 (2t, C-39_R, C-39_{R'}), 28.0 (q, C-28), 29.6 (t, C-18_{R2}), 30.1, 30.3, 30.5, 30.9 (2t, d, t, C-18_{R1}, C-19_{R1}, C-21, C-37), 31.2 (t, C-19_{R2}), 36.5, 36.6 (2d, C-5, C-31_R), 37.7 (t, C-7_R), 37.9, 38.0 (t, d, C-7_{R'}, C-31_{R'}), 41.3, 41.4 (2t, C-9_R, C-9_{R'}), 41.9, 42.0 (2t, C-25_R, C-25_{R'}), 44.8 (q, C-41), 46.7 (t, C-23), 48.5, 48.5 (2d, C-8_R, C-8_{R'}), 52.8, 53.9 (2d, C-30_R, C-30_{R'}), 55.2, 55.3 (2t, C-40_R, C-40_{R'}), 64.1 (d, C-20), 65.0 (t, C-3), 69.3 (d, C-36), 81.8, 82.1 (2s, C-27_R, C-27_{R'}), 117.9 (t, C-1), 122.3, 122.4 (2d, C-16_R, C-16_{R'}), 126.3 (d, C-13), 128.3 (d, C-12), 129.4, 129.4 (2d, C-11_R, C-11_{R'}), 132.3 (d, C-2), 137.7, 137.8 (2s, C-10_R, C-10_{R'}), 149.4, 149.6 (2s, C-15_R, C-15_{R'}), 160.6, 160.8 (2s, C-17_R, C-17_{R'}), 168.4, 168.4, 169.2, 169.3, 169.7, 170.9, 173.8, 174.2, 175.6, 175.7 (6s, C-4, C-14, C-24, C-26, C-29, C-35).

HRMS (CI):	C ₄₆ H ₇₀ N ₆ O ₈ S, [M] ⁺	M _{ber} :	866.4976	M _{gef} :	866.4959
MS (ESI/APCI):	C ₄₆ H ₇₁ N ₆ O ₈ S, [M+H] ⁺	M _{ber} :	867.51	M _{gef} :	867.40
	C ₄₆ H ₇₂ N ₆ O ₈ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber} :	434.26	M _{gef} :	434.15

4. Experimenteller Teil

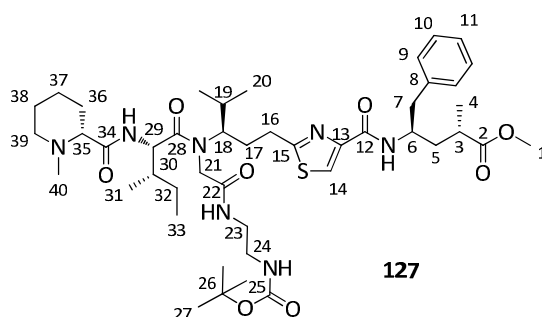
***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinyl-*N*-(glyciny-Boc-ethylendiamin)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninmethylester (**127**)**

(2*S*,4*R*)-methyl 4-(2-((*R*)-12-isopropyl-2,2-dimethyl-11-((2*S*,3*S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-4,9-dioxo-3-oxa-5,8,11-triazatetradecan-14-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate

Gemäß AAV6 wurden 88.0 mg (1.0 Äq, 0.204 mmol) Amin **99**, 6.1 mg (1.0 Äq, 0.203 mmol) Paraformaldehyd, 60.1 mg (1.15 Äq, 0.234 mmol) der Säure **94b** und 34.7 mg (1.0 Äq, 0.204 mmol) des Isonitrils **97** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung konnten 121 mg (0.139 mmol, 68 %) des Prä tubugi-Produkts **127** als gelbliches Harz isoliert werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**127**) = 0.04–0.10]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%*HCOOH* = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1.0 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.36', t_{r1} = 5.43'.



Rotamerenverhältnis ≈ 1:1 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 16-H bis 20-H)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.78 (d, ³J_{20a,19} = 6.5 Hz, 1.5H, 20-H_{a,R1}), 0.86–0.90 (sh, 6H, 20-H_{a,R2}, 31-H_R, 33-H), 0.94 (d, ³J_{20b,19} = 6.4 Hz, 1.5H, 20-H_{b,R1}), 0.98 (d, ³J_{31,30} = 6.8 Hz, 1.5H, 31-H_R), 1.05 (d, ³J_{20b,19} = 6.4 Hz, 1.5H, 20-H_{b,R2}), 1.16 (d, ³J_{4,3} = 7.1 Hz, 1.5H, 4-H_R), 1.17 (d, ³J_{4,3} = 7.1 Hz, 1.5H, 4-H_{R'}), 1.18–1.24 (sh, 2H, 32-H_a, 37-H_a), 1.35–1.49 (sh, 11H, 27-H, 36-H_a, 38-H_a), 1.54–1.69 (sh, 4.5H, 5-H_a, 19-H_{R1}, 32-H_b, 37-H_b, 38-H_b), 1.75–1.83 (sh, 2H, 17-H_{a,R1}, 30-H_R, 36-H_b), 1.88–1.95 (sh, 1.5H, 17-H_{a,R2}, 19-H_{R2}, 30-H_{R'}), 1.98–2.06 (sh, 2.5H, 5-H_b, 17-H_{b,R2}, 39-H_a), 2.22 (s, 3H, 40-H), 2.31 (m, 0.5H, 17-H_{b,R1}), 2.52 (m, 1H, 35-H), 2.61 (m, 1H, 3-H), 2.83–3.05 (sh, 4H, 7-H, 16-H_{a,R1}, 16-H_{a,R2}, 39-H_b), 3.15 (m, 0.5H, 16-H_{b,R2}), 3.20–3.35 (sh, 3.5H, 16-H_{b,R1}, 23-H_a, 24-H_a, 24-H_b), 3.41 (m, 1H, 23-H_b), 3.50 (m, 1H, 18-H), 3.61–3.64 (sh, 3.5H, 1-H, 21-H_{a,R}), 3.81 (m, 0.5H, 21-H_{a,R'}), 4.10–4.23 (sh, 1H, 21-H_{b,R}, 21-H_{b,R'}), 4.36–4.48 (sh, 2H, 6-H, 29-H_R, 29-H_{R'}), 5.55 (bs, 0.5H, NH_{Boc,R}), 5.72 (bs, 0.5H, NH_{Boc,R'}), 7.05–7.08 (sh, 1.5H, NH_{Amid}, NH_{lle,R}), 7.14 (m, 0.5H, NH_{lle,R'}), 7.17–7.21 (sh, 3.5H, 9-H, 11-H, NH_{Tup,R}), 7.26 (m, 2H, 10-H), 7.35 (d, ³J_{NH,6} = 8.9 Hz, NH_{Tup,R'}), 7.88 (s, 0.5H, 14-H_R), 7.91 (s, 0.5H, 14-H_{R'}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 10.8, 11.6 (2q, C-33_R, C-33_{R'}), 16.0 (q, C-31_{R'}), 16.5 (q, C-31_R), 17.8, 17.8 (2q, C-4_R, C-4_{R'}), 20.0 (q, C-20_{a,R1}), 20.2 (q, C-20_{b,R1}), 20.3 (q, C-20_{a,R2}), 20.5 (q, C-20_{b,R2}), 23.1 (t, C-37), 24.6 (t, C-32), 24.9 (t, C-38), 28.4 (q, C-27), 29.4 (t, C-16_{R1}), 29.8 (t, C-17_{R2}), 30.2 (t, C-16_{R2}), 30.3 (t, C-17_{R1}), 30.4 (t, C-36), 30.6 (d, C-19_{R1}), 31.4 (d, C-19_{R2}), 36.5, 36.6 (2d, C-3, C-30), 37.8, 37.9 (t, C-5_R, C-5_{R'}), 40.0, 40.4, 40.4, 40.5 (4t, C-23_R, C-23_{R'}, C-24_R, C-24_{R'}), 41.3, 41.4 (2t, C-7_R, C-7_{R'}), 44.9 (q, C-40), 46.6 (t, C-21), 48.5 (d, C-6), 51.7 (q, C-1), 54.4 (d, C-29), 55.2 (t, C-39), 63.4 (d, C-18), 69.1 (d, C-35), 79.4 (s, C-26), 122.4 (d, C-14), 126.4, 126.4 (2d, C-11_R, C-11_{R'}), 128.3 (d, C-10), 129.3, 129.4 (2d, C-9_R, C-9_{R'}), 137.7, 137.8 (2s, C-8_R, C-8_{R'}), 149.6, 149.6 (2s, C-13_R, C-13_{R'}), 156.2 (s, C-25), 160.7, 160.8 (2s, C-15_R, C-15_{R'}), 169.7–176.6 (sh, C-2, C-12, C-22, C-28, C-34).

HRMS (CI): C ₄₅ H ₇₁ N ₇ O ₈ S, [M] ⁺	M _{ber.} : 869.5085	M _{gef.} : 869.5034
MS (ESI/APCI): C ₄₅ H ₇₂ N ₇ O ₈ S, [M+H] ⁺	M _{ber.} : 870.52	M _{gef.} : 870.60
C ₄₅ H ₇₃ N ₇ O ₈ S, [M+2H] ²⁺	M _{ber.} : 435.76	M _{gef.} : 436.05

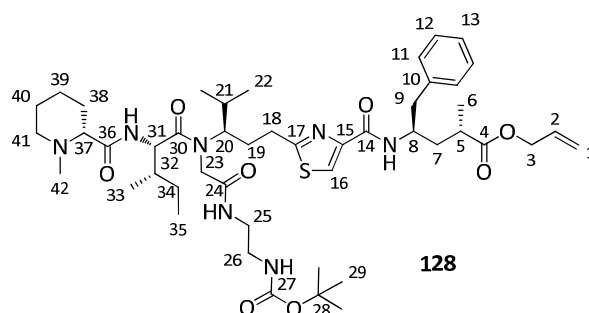
***N*-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinyl-*N*-(glyciny-Boc-ethylendiamin)-*des*acetoxy-tubuvalinyl-tubuphenylalaninylester (**128**)**

***(2S,4R)*-allyl 4-(2-((*R*)-12-isopropyl-2,2-dimethyl-11-((*2S,3S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-4,9-dioxo-3-oxa-5,8,11-triazatetradecan-14-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV6 wurden 58.2 mg (1.0 Äq, 0.127 mmol) Amin **95**, 3.8 mg (1.0 Äq, 0.127 mmol) Paraformaldehyd, 37.5 mg (1.15 Äq, 0.146 mmol) der Säure **94b** und 21.7 mg (1.0 Äq, 0.127 mmol) des Isonitrils **97** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 68.2 mg (0.076 mmol, 60 %) des Prätubugi-Produkts **128** als leicht gelbliches Harz erhalten.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**128**) = 0.15]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ, C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 10 min, 0.6 ml/min, 5 μl Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 7.73', t_{r1} = 7.84'.



Rotamerenverhältnis ≈ 6:4 (R, R' = Rotamere; R₁, R₂ = Rotamere mit relativer Zuordnung für 18-H bis 22-H)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.76 (d, ³J_{22a,21} = 6.6 Hz, 1.5H, 22-H_{a,R1}), 0.85–0.89 (sh, 6H, 22-H_{a,R2}, 33-H_R, 35-H), 0.94 (d, ³J_{22b,21} = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R1}), 0.98 (d, ³J_{33,32} = 6.7 Hz, 1.5H, 33-H_R), 1.05 (d, ³J_{22b,21} = 6.4 Hz, 1.5H, 22-H_{b,R2}), 1.16 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 1.5H, 6-H_R), 1.17 (d, ³J_{6,5} = 7.1 Hz, 1.5H, 6-H_R), 1.21–1.24 (sh, 2H, 34-H_a, 39-H_a), 1.37–1.49 (sh, 11H, 29-H, 38-H_a, 40-H_a), 1.55–1.69 (sh, 4.5H, 7-H_a, 21-H_{R1}, 34-H_b, 39-H_b, 40-H_b), 1.79–1.83 (sh, 1.5H, 19-H_{a,R1}, 38-H_b), 1.88–1.94 (sh, 2H, 19-H_{a,R2}, 21-H_{R2}, 32-H), 1.99–2.07 (sh, 2.5H, 7-H_b, 19-H_{b,R2}, 41-H_a), 2.22 (s, 3H, 42-H), 2.29 (m, 0.5H, 19-H_{b,R1}), 2.51 (m, 1H, 37-H), 2.63 (m, 1H, 5-H), 2.82–2.97 (sh, 4H, 9-H, 18-H_{a,R1}, 18-H_{a,R2}, 41-H_b), 3.13–3.19 (sh, 1.5H, 18-H_{b,R2}, 26-H_a), 3.24–3.29 (sh, 2.5H, 18-H_{b,R1}, 25-H_a, 26-H_b), 3.40–3.49 (sh, 2H, 20-H, 25-H_b), 3.61 (d, ²J_{23a,23b} = 15.6 Hz, 0.5H, 23-H_{a,R}), 3.82 (m, 0.5H, 23-H_{a,R}), 4.19–4.25 (sh, 1H, 23-H_{b,R}, 23-H_{b,R}), 4.35–4.45 (sh, 2H, 8-H, 31-H_R, 31-H_R), 4.53 (dm, ³J_{3,2} = 5.5 Hz, 2H, 3-H), 5.17 (dm, ³J_{1t,2} = 10.5 Hz, 1H, 1-H_t), 5.25 (dm, ³J_{1c,2} = 17.2 Hz, 1H, 1-H_c), 5.56 (bs, 0.5H, NH_{Boc,R}), 5.75 (bs, 0.5H, NH_{Boc,R}), 5.85 (ddt, ³J_{2,1c} = 17.3 Hz, ³J_{2,1t} = 10.5 Hz, ³J_{2,3} = 5.5 Hz, 1H, 2-H), 7.06–7.08 (sh, 1.5H, NH_{Amid}, NH_{Ile,R}), 7.14 (m, 0.5H, NH_{Ile,R}), 7.19–7.21 (sh, 3.5H, 11-H, 13-H, NH_{Tup,R}), 7.26 (m, 2H, 12-H), 7.37 (d, ³J_{NH,8} = 8.7 Hz, NH_{Tup,R}), 7.88 (s, 0.5H, 16-H_R), 7.91 (s, 0.5H, 16-H_R).

4. Experimenteller Teil

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.7, 11.6 (2q, C-35_R, C-35_{R'}), 16.0 (q, C-33_{R'}), 16.5 (q, C-33_R), 17.8, 17.8 (2q, C-6_R, C-6_{R'}), 20.0 (q, C-22_{a,R1}), 20.2 (q, C-22_{a,R2}), 20.3 (q, C-22_{b,R1}), 20.6 (q, C-22_{b,R2}), 23.1 (t, C-39), 24.6 (t, C-34), 24.9 (t, C-40), 28.4, 28.4 (2q, C-29_R, C-29_{R'}), 29.4 (t, C-18_{R1}), 29.9 (t, C-19_{R2}), 30.2 (t, C-18_{R2}), 30.3 (t, C-19_{R1}), 30.4 (t, C-38), 30.6 (d, C-21_{R1}), 31.4 (d, C-21_{R2}), 36.5, 36.6 (2d, C-5, C-32), 37.7 (t, C-7_R), 37.9 (t, C-7_{R'}), 40.1, 40.3, 40.4, 40.5 (4t, C-25_R, C-25_{R'}, C-26_R, C-26_{R'}), 41.3, 41.4 (2t, C-9_R, C-9_{R'}), 44.9 (q, C-42), 46.5 (t, C-23), 48.4, 48.5 (2d, C-8_R, C-8_{R'}), 54.3 (d, C-31), 55.2, 55.2 (2t, C-41_R, C-41_{R'}), 63.4 (d, C-20), 65.1, 65.1 (2t, C-3_R, C-3_{R'}), 69.2 (d, C-37), 79.2 (s, C-28), 117.9, 118.0 (2t, C-1_R, C-1_{R'}), 122.4, 122.8 (2d, C-16_R, C-16_{R'}), 126.4, 126.4 (2d, C-13_R, C-13_{R'}), 128.3 (d, C-12), 129.3, 129.4 (2d, C-11_R, C-11_{R'}), 132.2, 132.3 (2d, C-2_R, C-2_{R'}), 137.7, 137.8 (2s, C-10_R, C-10_{R'}), 149.6 (s, C-15), 156.3 (s, C-27), 160.6, 160.8 (2s, C-17_R, C-17_{R'}), 169.4, 169.7, 170.5, 173.2, 173.3, 175.4, 175.7, 175.8 (sh, C-4, C-14, C-24, C-30, C-36).

HRMS (CI):	$\text{C}_{47}\text{H}_{74}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$	M_{ber} : 896.5320	M_{gef} : 896.5341
MS (ESI/APCI):	$\text{C}_{47}\text{H}_{74}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$	M_{ber} : 896.53	M_{gef} : 896.40
	$\text{C}_{47}\text{H}_{75}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$, $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$	M_{ber} : 448.77	M_{gef} : 448.75

Elementaranalyse:

$\text{C}_{47}\text{H}_{73}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}$	berechnet	C 62.99	H 8.21	N 10.94
(896.19)	gefunden	C 61.69	H 7.69	N 10.16

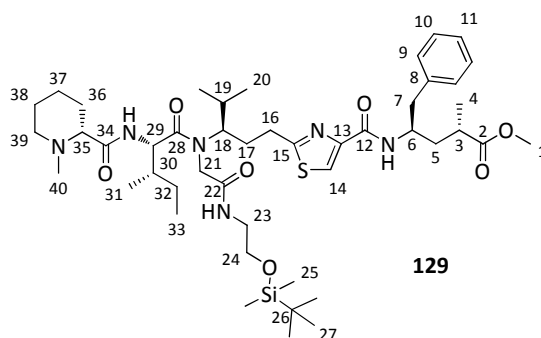
N-Methyl-(*D*)-pipercolinyl-(*L*)-isoleucinyl-*N*-(glycinyl-(*tert*-butyldimethylsilyl)ethanolamin)-*des*acetoxy-tubovalinyl-tubuphenylalaninmethylester (**129**)

(2*S*,4*R*)-methyl 4-(2-((*R*)-11-isopropyl-2,2,3,3-tetramethyl-10-((2*S*,3*S*)-3-methyl-2-((*R*)-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-8-oxo-4-oxa-7,10-diaza-3-silatridecan-13-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate

Gemäß AAV6 wurden 88.0 mg (1.0 Äq, 0.204 mmol) Amin **99**, 6.1 mg (1.0 Äq, 0.203 mmol) Paraformaldehyd, 60.1 mg (1.15 Äq, 0.234 mmol) der Säure **94b** und 37.8 mg (1.0 Äq, 0.204 mmol) des Isonitrils **98** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung konnten 118 mg (0.133 mmol, 65 %) des Prä tubugi-Produkts **129** in Form eines gelblichen Harzes isoliert werden.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 95:5, R_f (**129**) = 0.15–0.24]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 8 min, 1.0 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: t_{r1} = 5.75', t_{r1} = 5.85'.



Rotamerenverhältnis \approx 2:1, Hauptrotamer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.05 (s, 6H, 25-H), 0.73 (d, $^3J_{20a,19} = 6.6$ Hz, 3H, 20- H_a), 0.85–0.92 (sh, 12H, 27-H, 33-H), 0.93–0.96 (sh, 6H, 20- H_b , 31-H), 1.14–1.25 (sh, 5H, 4-H, 32- H_a , 37- H_a), 1.33–1.48 (sh, 2H, 36- H_a , 38- H_a), 1.55–1.69 (sh, 5H, 5- H_a , 19-H, 32- H_b , 37- H_b , 38- H_b), 1.77–2.10 (sh, 6H, 5- H_b , 17-H, 30-H, 36- H_b , 39- H_a), 2.20 (s, 3H, 40-H), 2.48 (m, 1H, 35-H), 2.61 (m, 1H, 3-H), 2.72–3.04 (sh, 2H, 16- H_a , 39- H_b), 2.88 (m, 2H, 7-H), 3.27–3.53 (sh, 3H, 16- H_b , 23-H), 3.58–3.70 (sh, 7H, 1-H, 18-H, 21- H_a , 24-H), 4.35–4.39 (sh, 2H, 6-H, 29-H), 4.63 (d, $^2J_{21b,21a} = 17.2$ Hz, 1H, 21- H_b), 6.94 (bs, 1H, NH_{Ile}), 7.12 (m, 1H, NH_{Amid}), 7.17–7.29 (sh, 5H, 9-H, 10-H, 11-H), 7.32 (d, $^3J_{\text{NH},6} = 9.2$ Hz, 1H, NH_{Tup}), 7.88 (s, 1H, 14-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = –5.3 (q, C-25), 10.4 (q, C-33), 15.8 (q, C-31), 17.9 (q, C-4), 19.7 (q, C-20_a), 20.5 (q, C-20_b), 23.2 (t, C-37), 23.9 (s, C-26), 24.8 (t, C-32), 25.3 (t, C-38), 25.9 (q, C-27), 30.3 (t, C-17), 30.4 (t, C-16), 30.5 (d, C-19), 30.6 (t, C-36), 36.5 (d, C-3), 36.6 (d, C-30), 37.8 (t, C-5), 41.4 (t, C-7), 42.1 (t, C-23), 44.9 (q, C-40), 46.7 (t, C-21), 48.5 (d, C-6), 51.7 (q, C-1), 53.4 (d, C-29), 55.3 (t, C-39), 61.6 (t, C-24), 63.9 (d, C-18), 69.5 (d, C-35), 122.4 (d, C-14), 126.4 (d, C-11), 128.4 (d, C-10), 129.5 (d, C-9), 137.7 (s, C-8), 149.4 (s, C-13), 161.0 (s, C-15), 166.9, 169.2, 171.0, 174.0, 176.6 (5s, C-2, C-12, C-22, C-28, C-34).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.06 (s, 6H, 25-H), 1.05 (d, $^3J_{20b,19} = 6.5$ Hz, 3H, 20- H_b), 1.15 (d, $^3J_{4,3} = 7.1$ Hz, 3H, 4-H), 1.94 (m, 1H, 19-H), 2.23 (s, 3H, 40-H), 2.79–3.08 (sh, 2H, 16- H_a , 16- H_b), 3.90 (s, 2H, 21-H), 4.85 (dd, $^3J_{29,\text{NH}} = 9.2$ Hz, $^3J_{29,30} = 5.8$ Hz, 1H, 29-H), 6.81 (bs, 1H, NH_{Amid}), 7.14 (m, 1H, NH_{Ile}), 7.27 (m, 1H, NH_{Tup}), 7.89 (s, 1H, 14-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.2 (q, C-33), 16.5 (q, C-31), 18.3 (q, C-4), 20.3 (q, C-20_b), 20.8 (q, C-20_a), 29.7 (t, C-16), 30.8 (t, C-17), 31.6 (d, C-19), 37.9 (d, C-30), 41.4 (t, C-7), 41.8 (t, C-23), 48.5 (d, C-6), 53.8 (d, C-29), 122.7 (d, C-14), 126.4 (d, C-11), 129.4 (d, C-9), 149.6 (s, C-13), 160.7 (s, C-15).

HRMS (CI): $\text{C}_{46}\text{H}_{77}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 885.5344 M_{gef} : 885.5326

MS (ESI/APCI): $\text{C}_{46}\text{H}_{77}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ M_{ber} : 885.53 M_{gef} : 885.60

$\text{C}_{46}\text{H}_{78}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$, $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ M_{ber} : 443.27 M_{gef} : 443.55

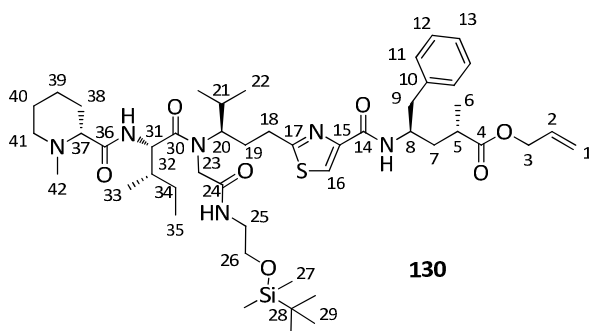
***N*-Methyl-*(D)*-pipecolinyl-*(L)*-isoleucinyln-*(N)*-(glycinyln-*(tert)*-butyldimethylsilyl)ethanolamin)-*des*acetoxy-tubovalinyl-tubuphenylalaninallylester (**130**)
(2S,4R)-allyl 4-(2-*((R)*-11-isopropyl-2,2,3,3-tetramethyl-10-*((2S,3S)*-3-methyl-2-*((R)*-1-methylpiperidine-2-carboxamido)pentanoyl)-8-oxo-4-oxa-7,10-diaza-3-silatridecan-13-yl)thiazole-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentanoate**

Gemäß AAV6 wurden 85.0 mg (1.0 Äq, 0.186 mmol) Amin **95**, 5.6 mg (1.0 Äq, 0.186 mmol) Paraformaldehyd, 54.8 mg (1.15 Äq, 0.214 mmol) der Säure **94b** und 34.4 mg (1.0 Äq, 0.186 mmol) des Isonitrils **98** in 1.0 ml *abs.* Dichlormethan zur Reaktion gebracht. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO_2 , DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient) und Gefriertrocknung wurden 112 mg (0.123 mmol, 66 %) des Prätubugi-Produkts **130** als leicht gelbliches Harz erhalten.

[DC: SiO_2 , DCM:MeOH 95:5, R_f (**130**) = 0.19]

HPLC: Shimadzu, Phenomenex (Luna 3μ , C18 (2), 50 x 4.60 mm), ACN:H₂O+0.1%HCOOH = 30:70, 2 min -> 70:30, 10 min, 0.6 ml/min, 5 μ l Inj.vol., Detektion bei 254 nm: $t_{r1} = 8.41'$, $t_{r1} = 8.57'$.

4. Experimenteller Teil



Rotamerenverhältnis \approx 2:1, Hauptrotamer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.03 (s, 6H, 27-H), 0.71 (d, $^3J_{22a,21}$ = 6.6 Hz, 3H, 22- H_a), 0.80–0.89 (sh, 12H, 29-H, 35-H), 0.91–0.95 (sh, 6H, 22- H_b , 33-H), 1.14–1.22 (sh, 5H, 6-H, 34- H_a , 39- H_a), 1.33–1.48 (sh, 2H, 38- H_a , 40- H_a), 1.53–1.67 (sh, 5H, 7- H_a , 21-H, 34- H_b , 39- H_b , 40- H_b), 1.76–2.07 (sh, 6H, 7- H_b , 19-H, 32-H, 38- H_b , 41- H_a), 2.20 (s, 3H, 42-H), 2.49 (m, 1H, 37-H), 2.63 (m, 1H, 5-H), 2.81–3.03 (sh, 4H, 9-H, 18- H_a , 41- H_b), 3.23–3.47 (sh, 3H, 18- H_b , 25-H), 3.57–3.68 (sh, 4H, 20-H, 23- H_a , 26-H), 4.33–4.40 (sh, 2H, 8-H, 31-H), 4.51 (m, 2H, 3-H), 4.60 (d, $^2J_{23b,23a}$ = 17.0 Hz, 1H, 23- H_b), 5.16 (m, 1H, 1- H_t), 5.23 (m, 1H, 1- H_c), 5.84 (ddt, $^3J_{2,1c}$ = 17.2 Hz, $^3J_{2,1t}$ = 10.5 Hz, $^3J_{2,3}$ = 5.5 Hz, 1H, 2-H), 6.84 (bs, 1H, NH_{Amid}), 7.00 (bs, 1H, NH_{Ile}), 7.14–7.24 (sh, 5H, 11-H, 12-H, 13-H), 7.31 (d, $^3J_{\text{NH},8}$ = 9.2 Hz, 1H, NH_{Tup}), 7.85 (s, 1H, 16-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = –5.4 (q, C-27), 10.4 (q, C-35), 15.7 (q, C-33), 17.7 (q, C-6), 19.6 (q, C-22 $_a$), 20.4 (q, C-22 $_b$), 23.0 (t, C-39), 23.8 (s, C-28), 24.7 (t, C-34), 24.8 (t, C-40), 25.8 (q, C-29), 30.2 (t, C-18), 30.3, 30.3 (2t, C-19, C-38), 30.5 (d, C-21), 36.4 (d, C-32), 36.5 (d, C-5), 37.7 (t, C-7), 41.3 (t, C-9), 42.0 (t, C-25), 44.6 (q, C-42), 46.6 (t, C-23), 48.4 (d, C-8), 53.7 (d, C-31), 55.2 (t, C-41), 61.5 (t, C-26), 63.8 (d, C-20), 65.0 (t, C-3), 69.3 (d, C-37), 117.8 (t, C-1), 122.3 (d, C-16), 126.3 (d, C-13), 128.3 (d, C-12), 129.4 (d, C-11), 132.2 (d, C-2), 137.7 (s, C-10), 149–3 (s, C-15), 160.8 (s, C-17), 169.1, 169.6, 170.9, 173.8, 175.7 (5s, C-4, C-14, C-24, C-30, C-36).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.04 (s, 6H, 27-H), 1.03 (d, $^3J_{22b,21}$ = 6.5 Hz, 3H, 22- H_b), 1.15 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.1 Hz, 3H, 6-H), 1.95 (m, 1H, 21-H), 2.24 (s, 3H, 42-H), 2.73–3.00 (sh, 2H, 18- H_a , 18- H_b), 3.88 (s, 2H, 23-H), 3.61 (m, 2H, 26-H), 4.83 (dd, $^3J_{31,32}$ = $^3J_{31,\text{NH}}$ = 6.8 Hz, 1H, 31-H), 7.14 (m, 1H, NH_{Ile}), 7.24 (m, 1H, NH_{Tup}), 7.87 (s, 1H, 16-H).

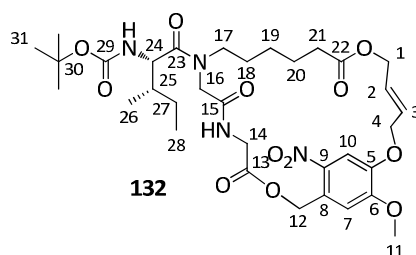
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 11.3 (q, C-35), 16.4 (q, C-33), 18.2 (q, C-6), 20.2 (q, C-22 $_b$), 20.7 (q, C-22 $_a$), 29.6 (t, C-18), 30.7 (t, C-19), 31.5 (d, C-21), 37.8 (d, C-32), 41.7 (t, C-25), 53.0 (d, C-31), 122.6 (d, C-16), 126.3 (d, C-13), 129.3 (d, C-11), 149–6 (s, C-15), 160.6 (s, C-17).

HRMS (CI):	$\text{C}_{44}\text{H}_{69}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$, $[\text{M}-t\text{Bu}]^+$	M_{ber} : 853.4718	M_{gef} : 853.4666
MS (ESI/APCI):	$\text{C}_{48}\text{H}_{79}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$, $[\text{M}+\text{H}]^+$	M_{ber} : 911.55	M_{gef} : 911.45
	$\text{C}_{48}\text{H}_{80}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$, $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$	M_{ber} : 456.28	M_{gef} : 456.25

Boc-(L)-Isoleucinyl-cyclo-(N-(glyciny-glycin-(4-allyloxy-5-methoxy-2-nitrobenzyl)ester)-6-aminohexansäureallylester) (132)
cyclo-(S)-4-(allyloxy)-5-methoxy-2-nitrobenzyl 8-(6-(allyloxy)-6-oxohexyl)-6-((S)-sec-butyl)-2,2-dimethyl-4,7,10-trioxo-3-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-oate

Gemäß AAV4 wurden 33.1 mg (1.0 Äq, 0.046 mmol) Diallylsubstrat **131** in 15 ml *abs.* Dichlormethan gelöst, zu 3.9 mg (0.1 Äq, 0.005 mmol) Grubbs II-Katalysator in 2.0 ml *abs.* Dichlormethan getropft und nach beendeter Zugabe weitere 30 min refluxiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (4 g NP, SiO₂, DCM:DCM/MeOH (9/1), Gradient, dann PE:EE, Gradient) konnten 14.3 mg (0.021 mmol, 45 %) des cyclisierten Produkts **132** als gelb-braunes Öl erhalten werden.

[DC: SiO₂, DCM:MeOH 95:5, R_f (**132**) = 0.45]



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.87–0.93 (sh, 6H, 26-H, 28-H), 1.06–1.20 (sh, 3H, 19-H_a, 27-H), 1.38–1.46 (sh, 11H, 20-H, 31-H), 1.51–1.73 (sh, 4H, 18-H, 19-H_b, 25-H), 2.20 (t, ³J_{21,20} = 7.3 Hz, 2H, 21-H), 3.36 (t, ³J_{17,18} = 8.3 Hz, 2H, 17-H), 3.79–3.88 (sh, 2H, 14-H_a, 16-H_a), 4.04 (s, 3H, 11-H), 4.24–4.30 (sh, 2H, 14-H_b, 16-H_b), 4.54 (m, 2H, 1-H), 4.82 (m, 2H, 4-H), 5.05 (m, 1H, NH_{lle}), 5.53 (d, ²J_{12a,12b} = 14.9 Hz, 1H, 12-H_a), 5.59 (d, ²J_{12b,12a} = 14.9 Hz, 1H, 12-H_b), 5.78–5.88 (sh, 2H, 2-H, 3-H), 6.99 (s, 1H, 7-H), 7.25 (m, 0.5H, NH_{Gly,a}), 7.68 (s, 1H, 10-H), 7.96 (m, 0.5H, NH_{Gly,b}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 11.1 (q, C-28), 15.8 (q, C-26), 24.4, 24.5 (2t, C-19, C-20), 26.2 (t, C-27), 28.3 (q, C-31), 28.4 (t, C-18), 34.1 (t, C-21), 37.5 (d, C-25), 41.5 (t, C-14), 50.1 (t, C-17), 51.2 (t, C-16), 54.8 (d, C-24), 56.9 (q, C-11), 63.3 (t, C-1), 63.5 (t, C-12), 68.8 (t, C-4), 80.1 (s, C-30), 110.5 (d, C-7), 112.2 (d, C-10), 127.4 (s, C-8), 128.1 (d, C-2), 129.1, 129.3 (2d, C-3_R, C-3_{R'}), 139.5 (s, C-9), 145.9 (s, C-5), 154.8 (s, C-6), 156.2 (s, C-29), 169.0, 169.8, 172.6, 173.6 (4s, C-13, C-15, C-22, C-23).

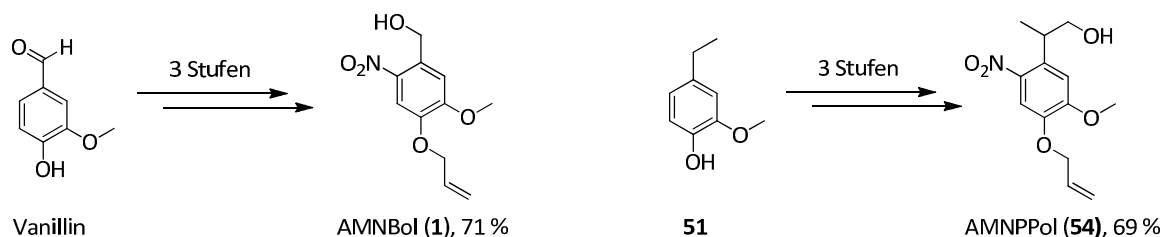
HRMS (CI): C₃₃H₄₈N₄O₁₂, [M]⁺ M_{ber}: 692.3269 M_{gef}: 692.3280

5. Zusammenfassung

Ziel der Arbeiten im Zuge dieser Dissertation war die Entwicklung und Anwendung neuer photolabiler Schutzgruppen. Dabei sollten die Schutzgruppen so aufgebaut sein, dass eine Cyclisierung der geschützten Verbindung über die Schutzgruppe möglich ist. Damit sollte erreicht werden, dass sich die Konformation des geschützten Substrats so stark verändert, dass eine zuvor vorhandene biologische Aktivität signifikant abgeschwächt wird. Ein weiterer Effekt der Cyclisierung sollte eine erhöhte Stabilität der ringgeschlossenen Verbindungen gegenüber zelleigenen Proteasen sein, für den Fall, dass die Verbindungen in Zellkultur getestet werden sollten.

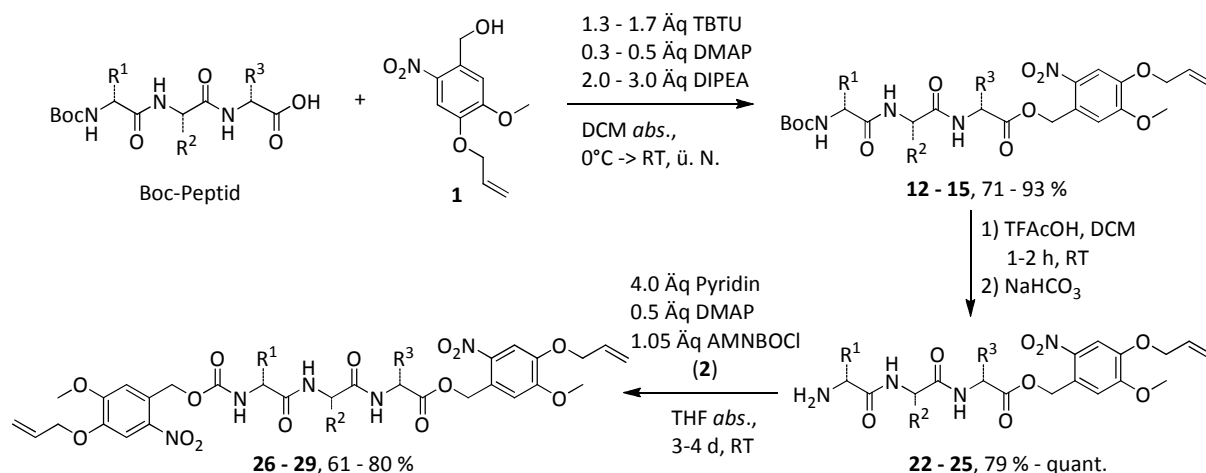
Die Dissertation kann in zwei Abschnitte geteilt werden. Im ersten Abschnitt (Kapitel 3.1) wurde die Synthese der neuen photolabilen Schutzgruppen und die Schützung und Cyclisierung von Testsubstraten beschrieben. Außerdem wurde mittels zahlreicher Belichtungsversuche die Photolabilität der Schutzgruppen nachgewiesen und die entschützten Substrate wurden quantifiziert. Im zweiten Abschnitt (Kapitel 3.2) konnte schließlich anhand einer biologisch aktiven Verbindung, dem Prätubulylin, die Anwendung einer neuen photolabilen Schutzgruppe beschrieben werden. Dabei wurden Prätubulylin-Derivate hergestellt, die in ihrer Seitenkette eine photolabil modifizierte funktionelle Gruppe enthielten und über diese und einen Allylester cyclisiert werden konnten. Diese cyclischen Prätubulylin-Derivate sollten aus relativ einfach zugänglichen Bausteinen in einer zweistufigen Synthese, Ugi-Reaktion und Metathese, erhalten werden. Schließlich konnten alle Verbindungen auf ihre biologische Aktivität getestet werden.

Die Synthese der photolabilen Schutzgruppen verlief problemlos, sodass die beiden neuen photolabilen Schutzgruppen AMNBol (**1**) und AMNPPol (**54**) in jeweils drei Stufen, ausgehend von Vanillin bzw. 4-Ethylguajakol, mit sehr guten Gesamtausbeuten erhalten wurden (Schema 5-1). Diese konnten direkt zur Schützung von Säuren durch einfache Veresterung eingesetzt werden. Zur Schützung von Aminen und Alkoholen wurden die jeweiligen Chloroformiate **2** und **60** benötigt, die aus den Alkoholen **1** und **54** durch Reaktion mit Phosgen quantitativ erhalten werden konnten.



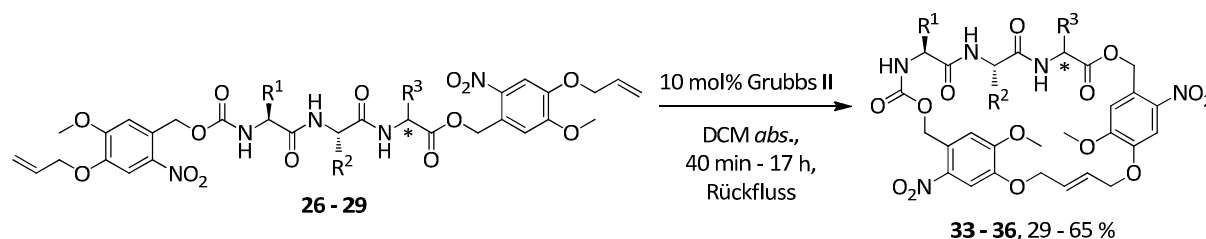
Schema 5-1 Synthese der Schutzgruppen AMNBol (**1**) und AMNPPol (**54**).

Die Schützungen am C- und N-Terminus von Aminosäuren und Peptiden wurden anhand verschiedener Testsubstrate durchgeführt. Da die Testpeptide später cyclisiert werden sollten, wurden hauptsächlich Peptide ausgewählt, die eine Prolineinheit enthielten, da bekannt ist, dass Proline die β -Turn-Struktur von Peptiden und Proteinen stabilisieren, indem sie durch die *cis*-Konformation ihrer Doppelbindung die Aminosäurekette „verbiegen“ (vgl. Kapitel 3.1.3, a). Es wurde vermutet, dass diese Biegung die spätere Cyclisierung begünstigen könnte. Schema 5-2 zeigt die Synthesen der doppelt AMNB-geschützten Tripeptide, die mit Hilfe der zuvor an Aminosäuren optimierten Bedingungen mit guter Ausbeute gelangen (vgl. Kapitel 3.1.3, b). Darüberhinaus wurde auch ein Tripeptidallylester hergestellt, der N-terminal photolabil geschützt wurde, um auch an diesem die Cyclisierung *via* Ringschlussmetathese zu testen (vgl. Kapitel 3.1.3 c).



Schema 5-2 Synthese doppelt AMNB-geschützter Tripeptide (**26–29**, $R^1/R^2/R^3 = Ala/Ile/Leu/Pro/Val$).

Die Ringschlussmetathesen gelangen mit 10 mol% Grubbs II-Katalysator in *abs.* Dichlormethan als Lösungsmittel und lieferten nach 40 min bis 17 h die cyclisierten Peptide mit mäßigen bis guten Ausbeuten von 29–65 %, wie in Schema 5-3 gezeigt. Eine interessante Beobachtung konnte bei der Cyclisierung des Tripeptids AMNBOC-(*L*)-Pro-(*L*)-Leu-(*D/L*)-Val-OAMNB (**29**) gemacht werden: die Diastereomerenmischung aus (*L*)-Val und (*D*)-Val enthaltendem cyclischen Tripeptid **36** lieferte ein NMR-Spektrum, welches darauf schließen ließ, dass die beiden Epimere unterschiedlich gut metathesiert werden konnten. Tatsächlich lieferte die getrennte Metathese beider Diastereomere zwei ganz unterschiedliche NMR-Spektren. Nach Zuordnung der Diastereomere konnte gezeigt werden, dass das (*D*)-Val-Epimer **29b** ein Spektrum mit definierten, gut zuordenbaren Peaks lieferte, was auf das Vorliegen einer günstigen, energiearmen Konformation hindeutete, während das (*L*)-Val-Epimer **29a** ein sehr unscharfes NMR-Spektrum zeigte und außerdem mit 17 h eine erheblich längere Reaktionszeit (gegenüber 40 min für (*D*)-Val-Epimer **29b**) benötigte (vgl. Kapitel 3.1.4).



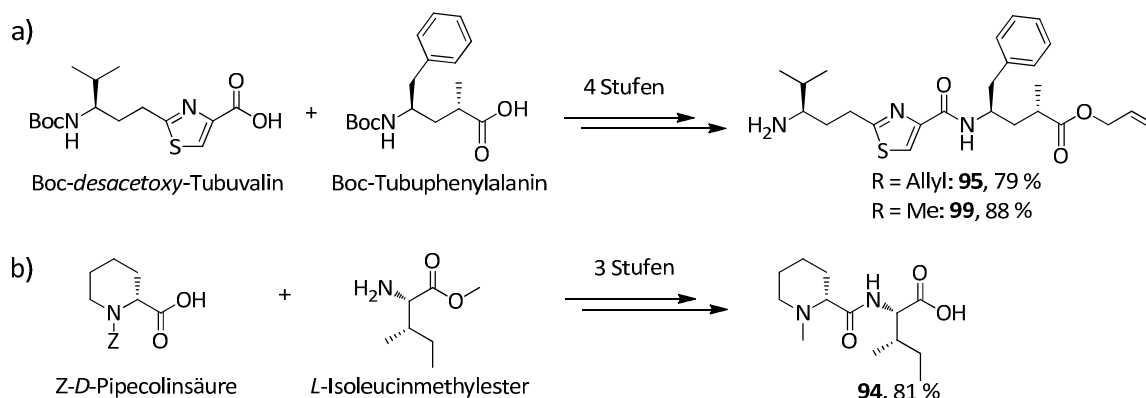
Schema 5-3 Cyclisierung doppelt AMNB-geschützter Tripeptide (**33–36**, $R^1/R^2/R^3 = Ile/Leu/Pro/Val$).

Um die Photolabilität der neuen Schutzgruppen nachzuweisen, wurden verschiedene Methoden getestet. Als Testsubstrat diente zunächst Boc-(*L*)-Phe-OAMNB (**8**), welches nach photochemischer Abspaltung der Schutzgruppe Boc-(*L*)-Phe-OH freisetzen sollte. Sowohl Messung der UV-Absorptionsspektren während der Belichtung als auch Isolierung des Methylesters nach Veresterung der Säure zeigten, dass die Schutzgruppe tatsächlich abgespalten wird, ließen jedoch keine Quantifizierung zu. Auch die Messung von 1H -NMR-Spektren während der Belichtung ließ nicht die erwünschten Rückschlüsse zu. Zum Erfolg führte schließlich die Verfolgung der Belichtungsreaktionen mittels HPLC/MS. Es konnte eine Methodik entwickelt werden, mit deren Hilfe die Abnahme des photolabil geschützten Substrats (Aminosäure oder Peptid) sowie die Zunahme der Produkte detektiert und quantifiziert werden konnte. Mit Hilfe einer externen Kalibration war es möglich, die

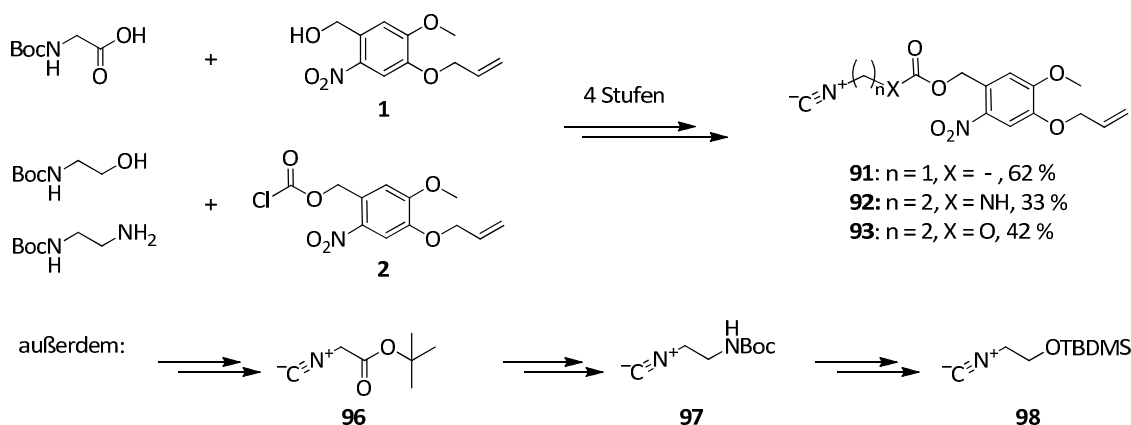
Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die neuen photolabilen Schutzgruppen AMNB(OC) und AMNPP(OC) bei sehr milden Bedingungen (365 nm) und unter Anwesenheit von Sauerstoff abgespalten werden können, was sie kompatibel mit biologischen Anwendungen macht. Außerdem konnte eine Methode zur Quantifizierung der geschützten und entschützten Aminosäuren und Peptide entwickelt und angewendet werden.

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit (Kapitel 3.2) wurde eine Synthese entwickelt, mit der photolabil geschützte Prä-tubulysin-Derivate sehr effizient hergestellt und anschließend *via* Ringschlussmetathese cyclisiert werden konnten. Zur Synthese des Grundgerüsts wurde eine Ugi-Reaktion durchgeführt, wobei die photolabile Schutzgruppe AMNB über das Isonitril eingeführt werden konnte. Die Schutzgruppe wurde an drei verschiedene funktionelle Gruppen angehängt, sodass nach Belichtung der Prä-tubulysin-Derivate eine Säuregruppe, ein Amin oder ein Alkohol freigesetzt werden sollten.

Die Säure **94** und die Amine **95** und **99**, die als Bausteine für die Ugi-Reaktion nötig waren, konnten in kurzen Syntheserouten aus den entsprechenden Aminosäuren mittels Kupplung und entsprechender Schutzgruppenmodifizierung erhalten werden (Schema 5-5). Die benötigten Isonitrile **91–93** konnten ausgehend von AMNBol (**1**) und Boc-Glycin, *mono*-Boc-Ethylendiamin oder TBDMS-geschütztem Ethanolamin in wenigen Stufen mit guten Ausbeuten erhalten werden, wie in Schema 5-6 dargestellt ist. Der einzige signifikante Ausbeuteverlust entstand bei der Kupplung desamins bzw. Alkohols mit dem Chloroformiat **2**, da dort eine Zersetzung des Chloroformiats zu beobachten war. Außerdem wurden zur Synthese der Referenzsubstanzen, die zum Vergleich der biologischen Aktivitäten herangezogen werden sollten, drei weitere funktionalisierte Isonitrile (**96–98**) hergestellt.



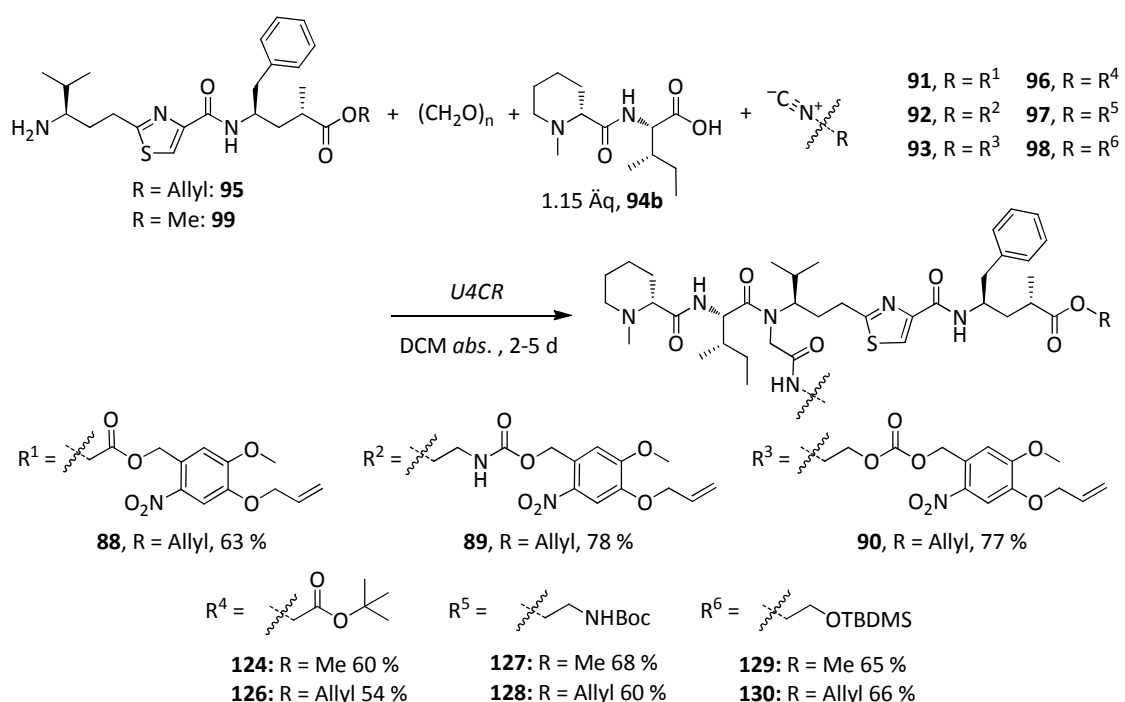
Schema 5-5 a) Synthese der Amine **95** und **99**, b) Synthese der Säure **94** als Bausteine für die Ugi-Reaktionen.



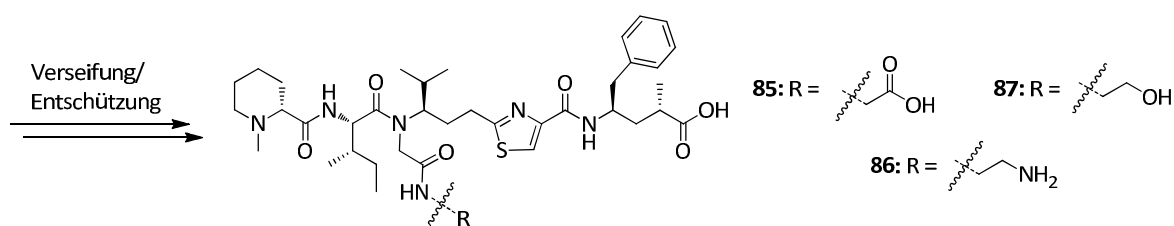
Schema 5-6 Synthese der Isonitrile **91–93** und **96–98**.

5. Zusammenfassung

Im Anschluss an die Synthesen der Bausteine wurde die zum Aufbau des Prä tubulysin-Grundgerüsts dienende Ugi-Reaktion durchgeführt (vgl. Kapitel 3.2.3). Durch ausführliche Analyse der zunächst entstandenen Nebenprodukte konnte der Reaktionsmechanismus, der zur Bildung der Nebenprodukte führte, aufgeklärt werden und die Reaktionsbedingungen konnten angepasst werden. Schlüssel zum Erfolg waren vor allem die Wahl des Lösungsmittels (Dichlormethan statt eines üblichen protischen Lösungsmittel) und die Verwendung von Paraformaldehyd und der Neutralform der Säure **94b**. Wie in Schema 5-7 gezeigt, konnten die Ugi-Produkte mit guten bis sehr guten Ausbeuten isoliert werden. Neben den AMNB-geschützten Prä tubulysinallylestern **88–90** konnten auch die einfach funktionalisierten Methyl- und Allylester (**124, 126–130**) hergestellt werden, die zur Synthese der vollständig entschützten Referenzsubstanzen (vgl. Schema 5-8) dienen.

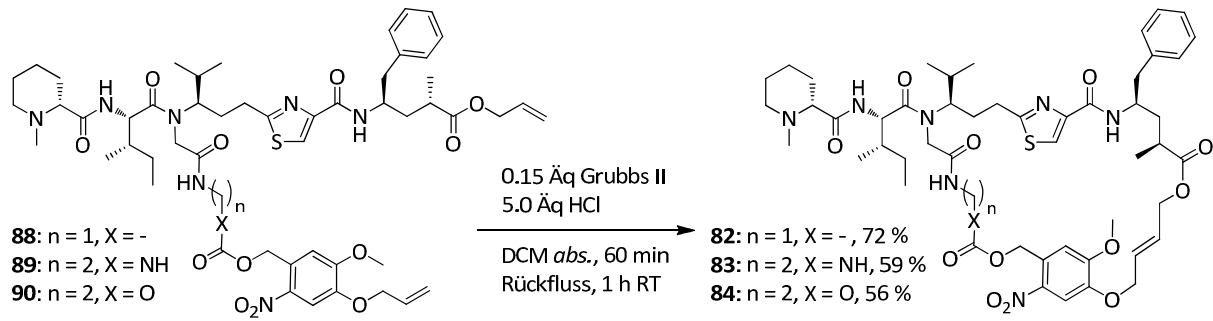


Schema 5-7 Ugi-Reaktionen.



Schema 5-8 Synthese der vollständig entschützten Referenzsubstanzen.

Um die AMNB-geschützten Prä tubulysin-Derivate **88 – 90** zu cyclisieren, wurde die Ringschlussmetathese nach Grubbs angewendet (vgl. Kapitel 3.2.4). Die im ersten Abschnitt der Arbeit optimierten Reaktionsbedingungen lieferten zunächst nur Spuren an Produkt. Die für den unvollständigen Umsatz verantwortliche Koordination des tertiären Amins der Pipecolinsäureeinheit an den Ruthenium-Katalysator konnte schließlich durch Zugabe von 5.0 Äquivalenten HCl zur Substratlösung unterbunden werden. Die ringgeschlossenen Produkte konnten schließlich mit guten Ausbeuten von 56–72 % nach *Reversed-Phase* Säulenchromatographie isoliert werden (Schema 5-9). Die Abspaltung der photolabilen Schutzgruppe konnte mittels HPLC/MS-Analyse nach Belichtung des cyclischen Derivats **88** (UV-LED, 365 nm) nachgewiesen werden (vgl. Kapitel 3.2.6).



Schema 5-9 Ringschlussmetathesen.

Sämtliche Prätubulysin-Derivate wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Rolf Müller (UdS/HIPS) auf ihre Cytotoxizität getestet (vgl. Kapitel 3.2.7). In diesem Zusammenhang konnten erstmals Aussagen über den Einfluss freier funktioneller Gruppen auf die Aktivität der Prätubulysin-Derivate getroffen werden. Es konnte gezeigt werden, dass sich sowohl eine freie Säure- als auch eine Aminogruppe in der Seitenkette ungünstig auf die Aktivitäten auswirken, während ein Alkohol problemlos toleriert wird. Ebenso wurde erstmals beobachtet, dass die Methylester der C-terminalen Säure aktiver sind als die Säuren selbst, was im Gegensatz zu bisherigen Ergebnissen steht.

Um das dieser Arbeit zu Grunde liegende Konzept, die Photoaktivierung eines zuvor cyclisierten, photolabilen Wirkstoffmoleküls, nachzuweisen, können die beiden Verbindungen **84** und **87**, also das cyclische und das vollständig entschützte Derivat der Alkohol-Reihe, herangezogen werden, da das cyclische Derivat **84** etwa um den Faktor 6 inaktiver ist als die Referenzsubstanz **87**. Bei den Carboxylat- und Amin-basierten Derivaten sind die Referenzsubstanzen weniger aktiv als die cyclischen Verbindungen und eignen sich damit nicht zum *proof-of-concept*.

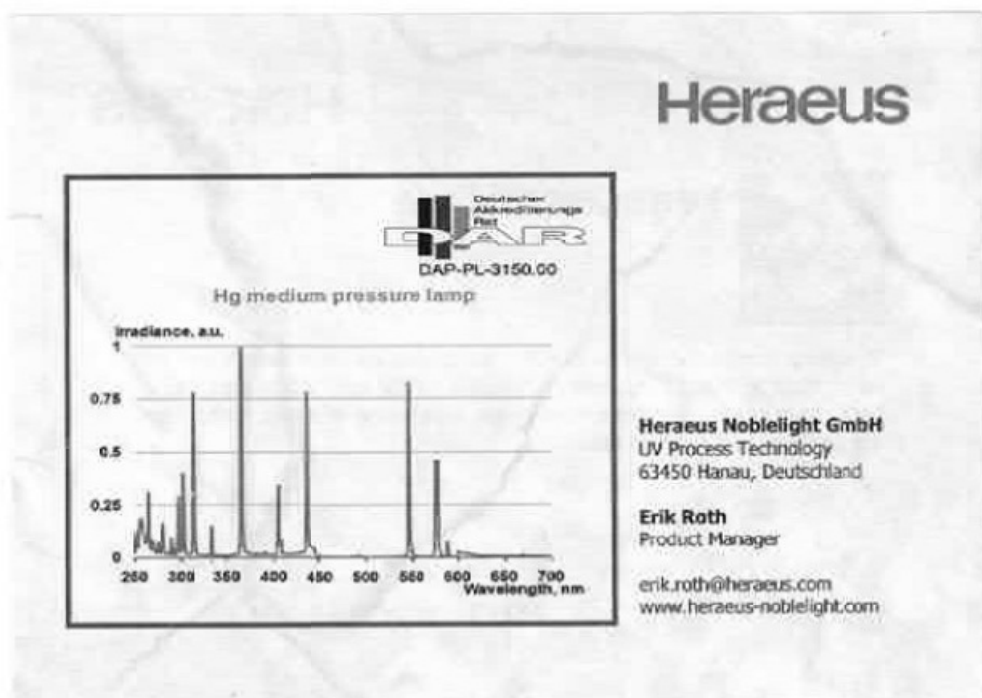
Zuletzt konnte eine weitere interessante Beobachtung gemacht werden: die cyclischen Derivate **82–84** waren allesamt aktiver als ihre offenen Analoga **88–90**. Dies war Grund zu der Annahme, dass die Cyclisierung der Prätubulysin-Derivate diese in einer für die Rezeptorbindung günstigen Konformation fixiert. Dies deckt sich mit Daten aus der Literatur, die die Konformation von Tubulysin A während der Bindung an Tubulin beschreiben (vgl. Kapitel 3.2.7).

6. Spektrenanhang und Literatur

6.1 Anhang

6.1.1 Daten zu den Belichtungen

zu 3.1.5 a): Emissionsspektrum und Daten der Quecksilber-Mitteldruckdampfampe



Heraeus

Test Certificate

UV PROCESS TECHNOLOGY

This lamp is manufactured under ISO 9001 certified environment and is fully traceable throughout every single step of the production process. Test procedure is established and under supervision of an accredited and independent test laboratorium.

I_B	2,20 A	Serial No.	76
U_B	87,6 V	Ident No.	56001725 (50043)
P_B	166,5 W	Date / Tested by	9.11.2010 / K.

6. Spektrenanhang und Literatur

zu 3.1.5 d): Vollständige NMR-Daten für die Belichtung von AcOAMNB (**39**) und Boc-(L)-Phe-OAMNB (**8**).

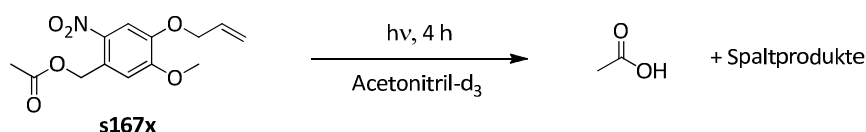


Tabelle zu Abbildung 6-1: Integrationen der einzelnen H-Atome. Der Korrekturfaktor errechnet sich aus dem Anfangswert für die Integration (Acetat + Essigsäure) durch den jeweils zur Zeit t gemessenen Wert für die Integration (Acetat + Essigsäure). Jeweils erste Spalte: aus den Spektren abgelesene Integrationen. Zweite Spalte, grau unterlegte Werte: korrigierte Integrationen. Auftragungen siehe Abbildung 6-2 und 6-3.

Zeit Integrationen

	1-H	Int.	2-Ht	Int.	2-Hc	Int.	3-H	Int.	4-H	Int.
0 min	3,04	3,04	1,00	1,00	1,05	1,05	0,97	0,97	2,04	2,04
5 min	3,10	3,02	1,00	0,97	1,05	1,02	0,94	0,92	2,06	2,01
10 min	3,10	2,97	1,00	0,96	1,06	1,01	0,95	0,91	2,05	1,96
20 min	3,05	3,19	1,00	1,04	1,08	1,13	0,94	0,98	2,01	2,10
30 min	3,20	3,09	1,00	0,96	1,12	1,08	0,97	0,94	2,03	1,96
60 min	2,74	2,55	1,00	0,93	*	*	0,99	0,92	1,96	1,82
2 h	2,73	2,17	1,00	0,79			1,05	0,83	1,84	1,46
4 h	2,33	1,28	1,00	0,55			1,17	0,64	1,65	0,91

Zeit Integrationen

	7-H	Int.	10-H	Int.	11-H	Int.	12-H	Int.	Essigs.	Int.	12+Essigsäure	Korrekturfaktor
0 min	0,99	0,99	0,97	0,97	2,02	2,02	3,30	3,30	0,00	0,00	3,30	1
5 min	1,00	0,97	0,98	0,95	2,01	1,96	3,32	3,23	0,07	0,07	3,39	0,973451327
10 min	0,99	0,95	0,97	0,93	2,02	1,93	3,32	3,18	0,13	0,12	3,45	0,956521739
20 min	0,96	1,00	0,94	0,98	1,94	2,03	2,91	3,04	0,25	0,26	3,16	1,044303797
30 min	0,96	0,93	0,94	0,91	1,93	1,86	2,97	2,87	0,45	0,43	3,42	0,964912281
60 min	0,92	0,86	0,91	0,85	*	*	2,72	2,53	0,83	0,77	3,55	0,929577465
2 h	0,88	0,70	0,83	0,66			2,54	2,01	1,62	1,29	4,16	0,793269231
4 h	0,81	0,45	0,85	0,47			2,68	1,48	3,31	1,82	5,99	0,550918197

* Die Werte für 2-H_c und 11-H konnten nur bis einschließlich zur Messung bei t = 30 min ermittelt werden.

6. Spektrenanhang und Literatur

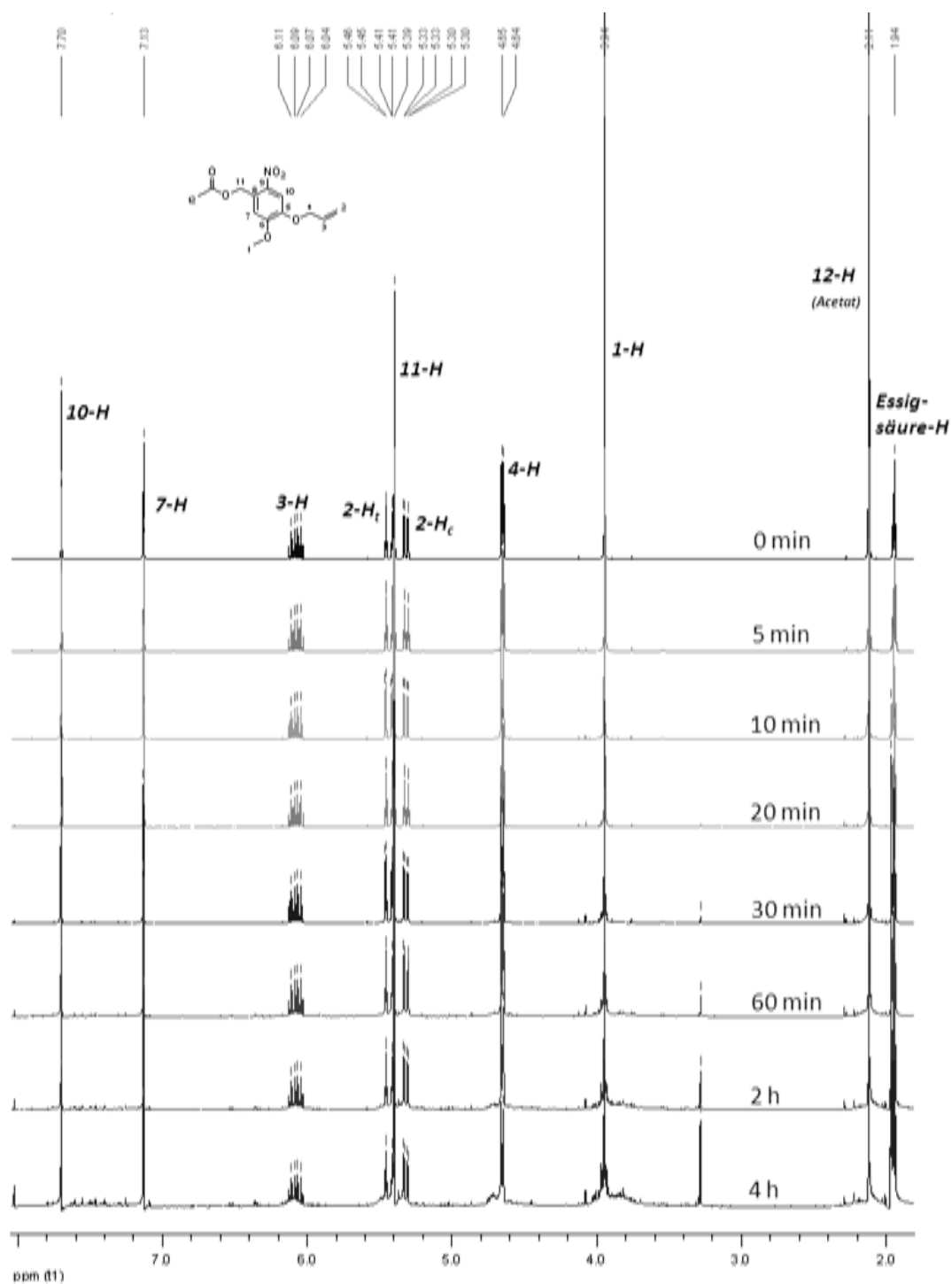


Abbildung 6-1: Belichtung der Verbindung 39 (AMNBOAc), NMR-Spektren nach 0, 5, 10, 20, 30, 60 min und nach 2 h und 4 h.

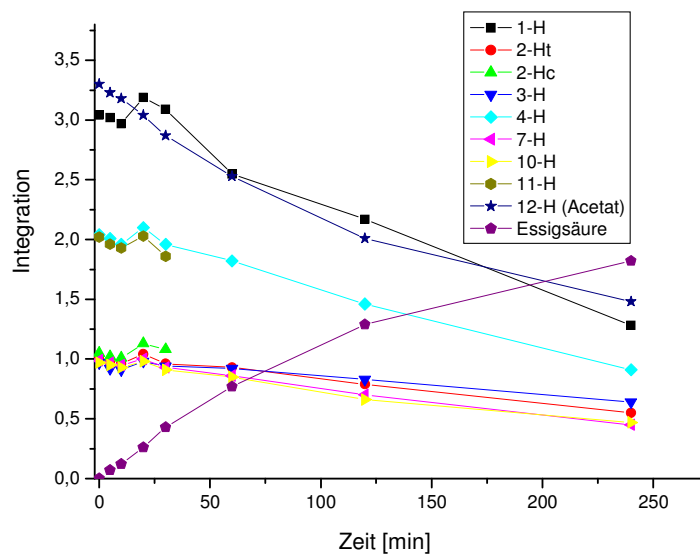


Abbildung 6-2: Auftragung der korrigierten Integrationen für alle H-Atome.

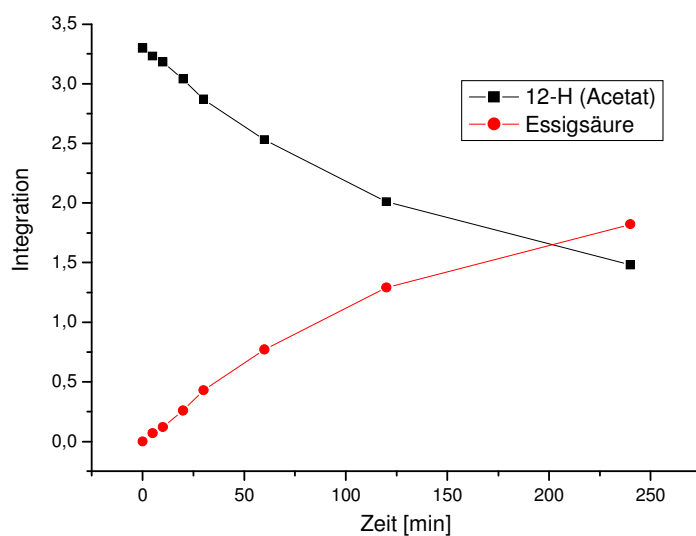


Abbildung 6-3: Auftragung der korrigierten Integrationen für die H-Atome des Acetats und der Essigsäure.

6. Spektrenanhang und Literatur

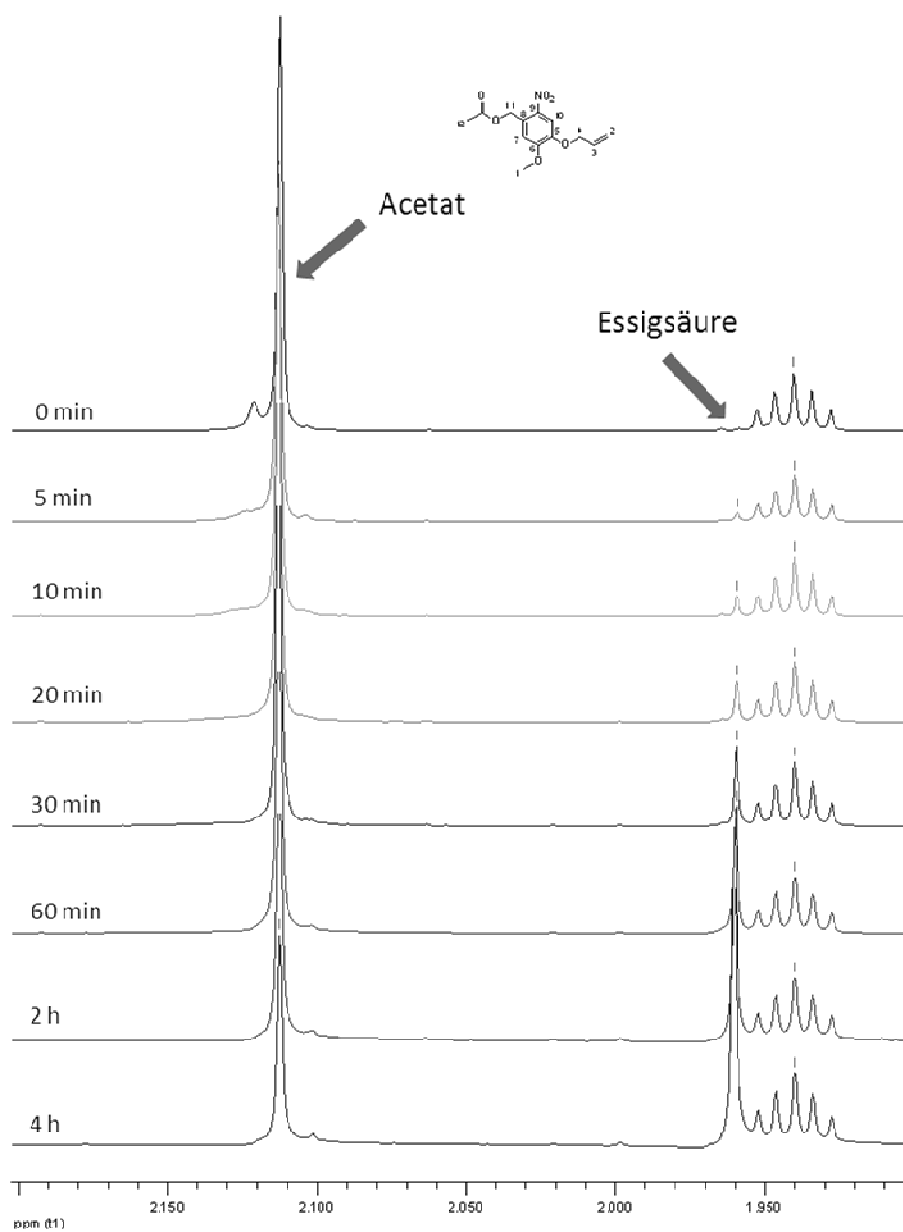


Abbildung 6-4: Belichtung der Verbindung **39** (AMNBOAc), Auszug der NMR-Spektren nach 0, 5, 10, 20, 30, 60 min und nach 2 h und 4 h.

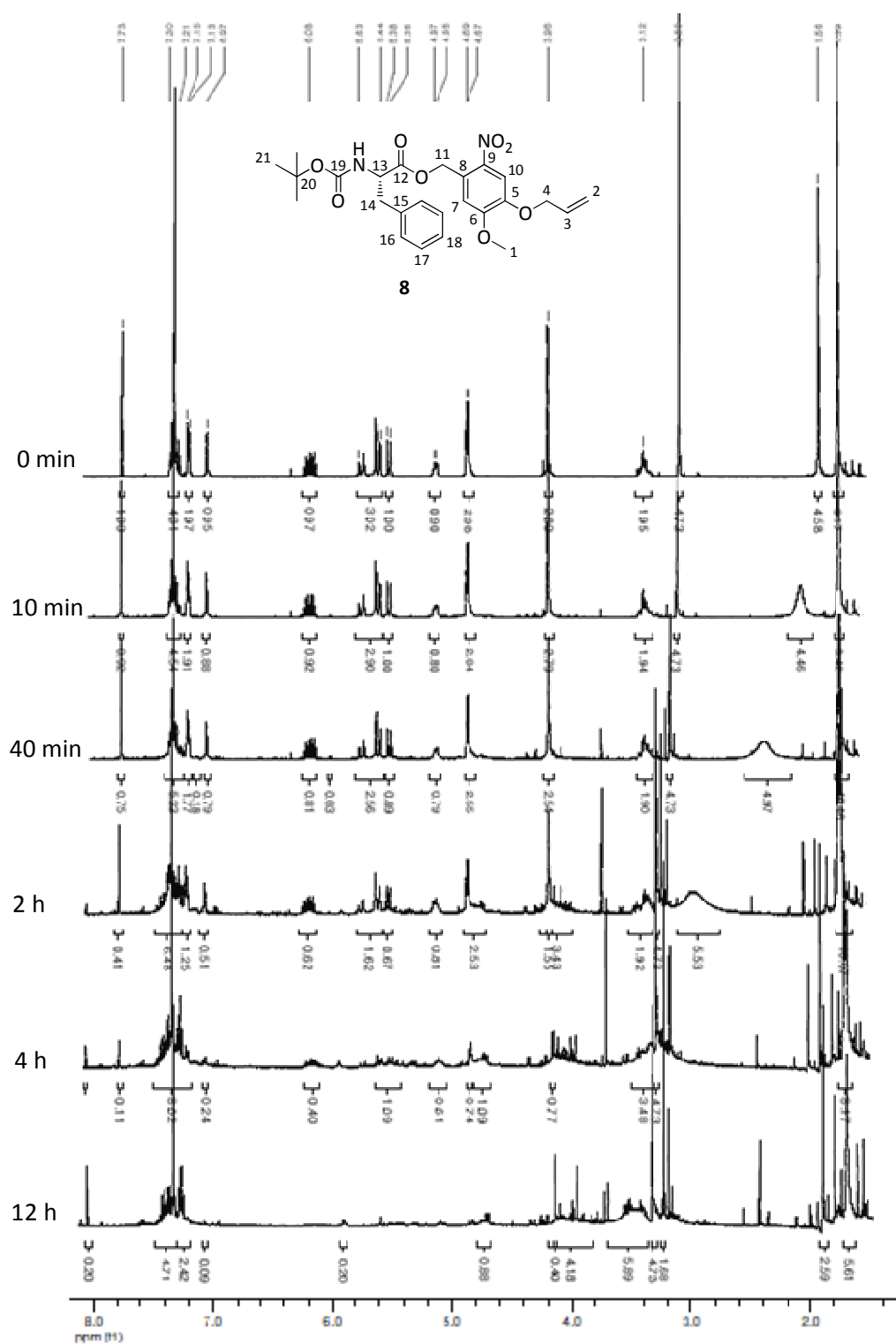


Abbildung 6-5: Belichtung der Verbindung 8 (Boc-(L)-Phe-OAMNB), Auszug der NMR-Spektren nach 0 min, 10 min, 40 min, 2 h, 4 h und 12 h (von oben nach unten).

6. Spektrenanhang und Literatur

zu 3.1.5.e):

Tabelle 6-2: Herstellung der Kalibrationslösungen aus einer 1.0 molaren Stammlösung (Lösungsmittel: Acetonitril).

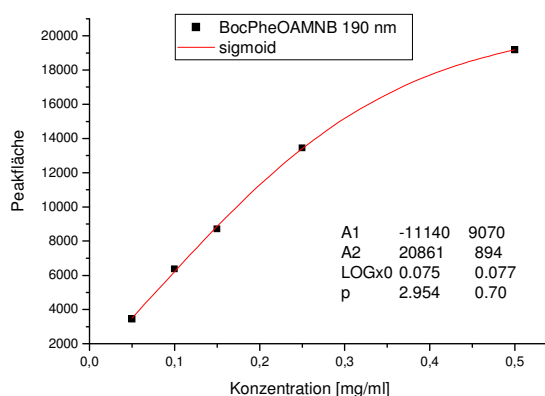
Lösung Nr.	Konzentration	Volumen Stammlösung	Volumen Lösungsmittel
1	1.0 mg/ml	1.0 ml	-
2	0.75 mg/ml	0.75 ml	0.25 ml
3	0.50 mg/ml	0.50 ml	0.50 ml
4	0.25 mg/ml	0.25 ml	0.75 ml
5	0.15 mg/ml	0.15 ml	0.85 ml
6	0.10 mg/ml	0.10 ml	0.90 ml
7	0.05 mg/ml	0.05 ml	0.95 ml
8	0.025 mg/ml	0.025 ml	0.975 ml

zu 3.1.5.e.1): Kalibrationen

Nachfolgend sind sämtliche Daten zu den durchgeführten Kalibrationen aufgeführt. Es sind jeweils die aus den Spektren abgelesenen Integrationen, die dazugehörigen Graphen und die entsprechenden Fits mit Gleichungen dargestellt.

Boc-Phe-OAMNB (8):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	19173
4	0.25	13445
5	0.15	8718
6	0.10	6372
7	0.05	3459



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99969$

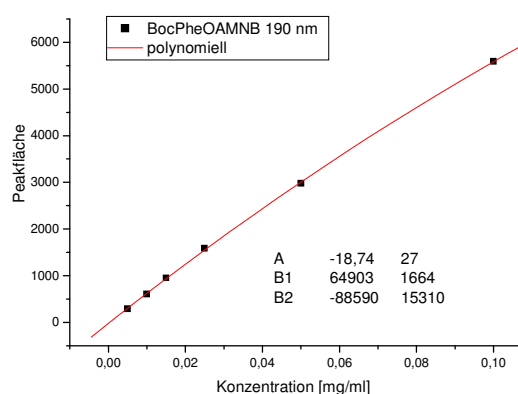
$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Parameter	Wert
A ₁	-11140
A ₂	20861
log x ₀	0.075
p	2.954

Boc-Phe-OAMNB (8): niedrige Konzentrationen

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
Lös1b	0.1	5590
Lös2b	0.05	2978
Lös3b	0.025	1585
Lös4b	0.015	951
Lös5b	0.01	604
Lös6b	0.005	291



6. Spektrenanhang und Literatur

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99986$

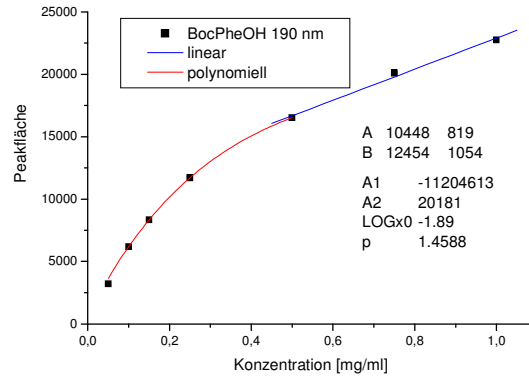
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = -\sqrt{\frac{y-A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Boc-Phe-OH:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	22750
2	0.75	20093
3	0.50	16523
4	0.25	11713
5	0.15	8336
6	0.10	6201
7	0.05	3217

Parameter	Wert
A	-18.74
B ₁	64903
B ₂	-88590



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: linear für Lös 1–Lös3, $R^2=0.99644$, sigmoidal für Lös 3–Lös 7, $R^2=1.0000$

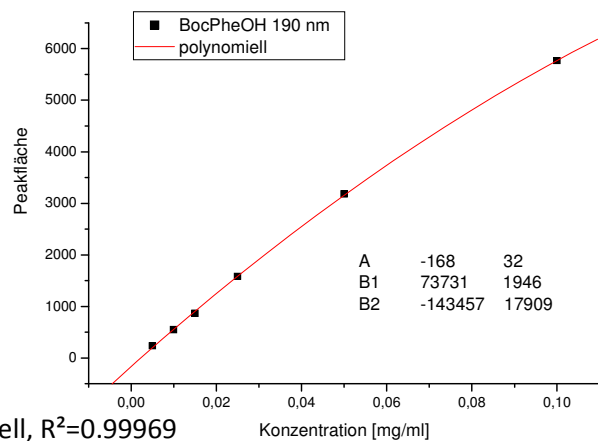
$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y-A}{B}$$

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

Parameter	Wert
A	10448
B	12454
Parameter	Wert
A ₁	-11204613
A ₂	20181
log x ₀	-1.89
p	1.4588

Boc-Phe-OH: niedrige Konzentrationen

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
Lös1b	0.1	5766
Lös2b	0.05	3181
Lös3b	0.025	1579
Lös4b	0.015	863
Lös5b	0.01	547
Lös6b	0.005	235



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99969$

$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

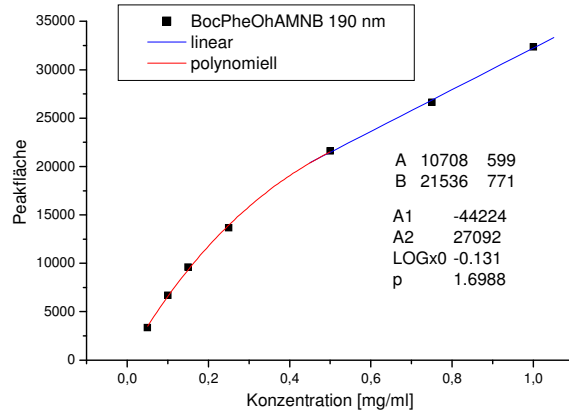
$$\rightarrow x = -\sqrt{\frac{y-A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-168
B ₁	73731
B ₂	-143457

6. Spektrenanhang und Literatur

Boc-Phe-OhAMNB (49):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	32356
2	0.75	26638
3	0.50	21588
4	0.25	13674
5	0.15	9598
6	0.10	6691
7	0.05	3359



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: linear für Lös 1–Lös3, $R^2=0.99936$, sigmoidal für Lös 3–Lös 7, $R^2=0.99909$

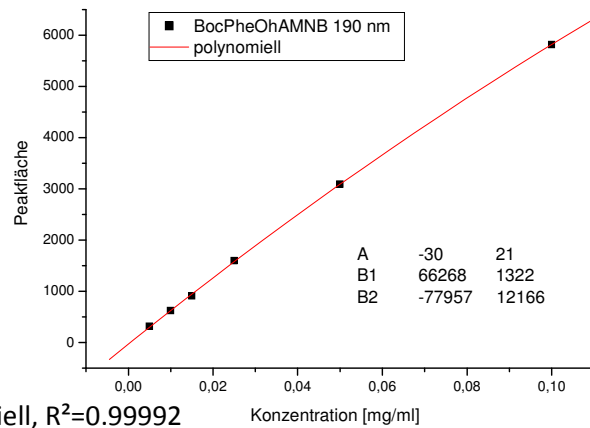
$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y - A}{B}$$

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

Parameter	Wert
A	10708
B	21536
Parameter	Wert
A ₁	-44224
A ₂	27092
log x ₀	-0.131
p	1.6988

Boc-Phe-OhAMNB (49): niedrige Konzentrationen

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
Lös1b	0.1	5816
Lös2b	0.05	3088
Lös3b	0.025	1596
Lös4b	0.015	911
Lös5b	0.01	626
Lös6b	0.005	313



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99992$

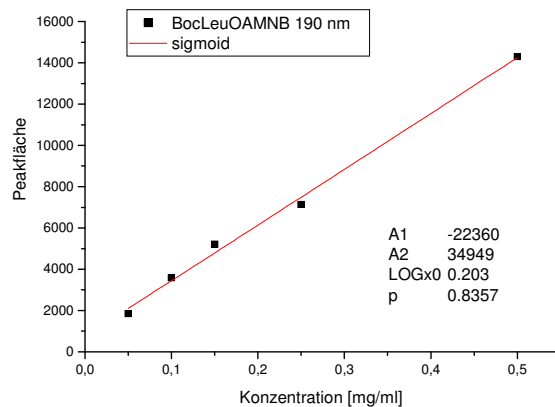
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = -\sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-30
B ₁	66268
B ₂	-77957

Boc-Leu-OAMNB (9a):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	14302
4	0.25	7142
5	0.15	5213
6	0.10	3582
7	0.05	1851



6. Spektrenanhang und Literatur

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99584$

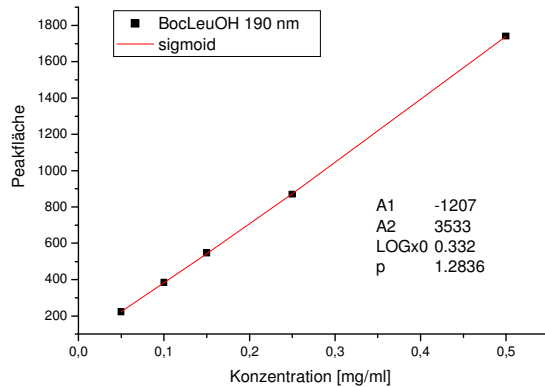
$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Boc-Leu-OH:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	1740
4	0.25	870
5	0.15	546
6	0.10	384
7	0.05	222

Parameter	Wert
A_1	-22360
A_2	34949
$\log x_0$	0.203
p	0.8357



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99999$

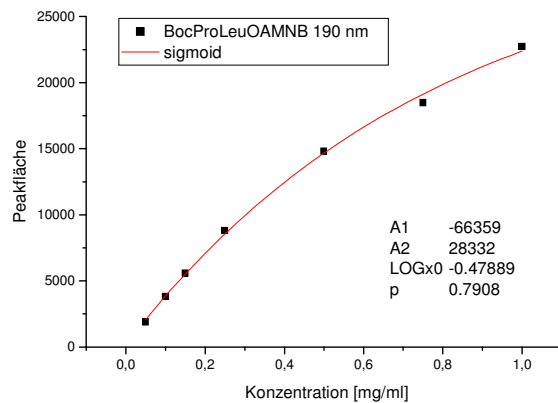
$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Boc-Pro-Leu-OAMNB (16):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	22733
2	0.75	18490
3	0.50	14820
4	0.25	8828
5	0.15	5596
6	0.10	3835
7	0.05	1907

Parameter	Wert
A_1	-1207
A_2	3533
$\log x_0$	0.332
p	1.2836



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99823$

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Parameter	Wert
A_1	-66359
A_2	28332
$\log x_0$	-0,47889
p	0,7908

6. Spektrenanhang und Literatur

Boc-Pro-Leu-OH:

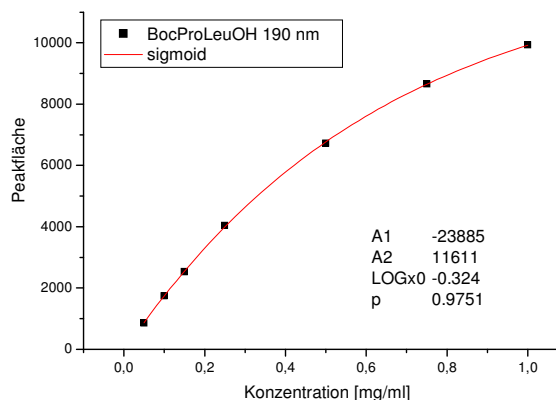
Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	9923
2	0.75	8659
3	0.50	6722
4	0.25	4041
5	0.15	2526
6	0.10	1736
7	0.05	856

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:

sigmoidal, $R^2=0.99993$

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$



Parameter	Wert
A_1	-23885
A_2	11611
$\log x_0$	-0,324
p	0,9751

Boc-Pro-Leu-OH-AMNB (50):

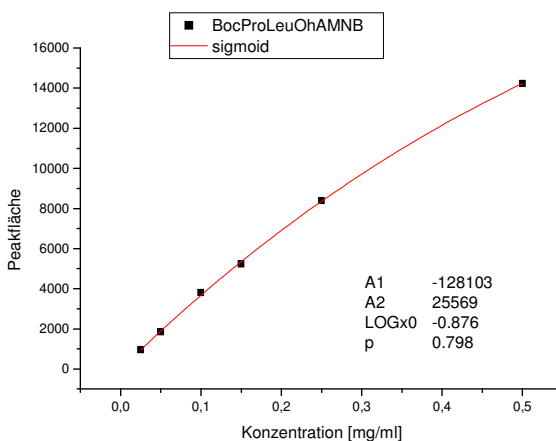
Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	14236
4	0.25	8389
5	0.15	5230
6	0.10	3817
7	0.05	1850
8	0.025	956

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:

sigmoidal, $R^2=0.99970$

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

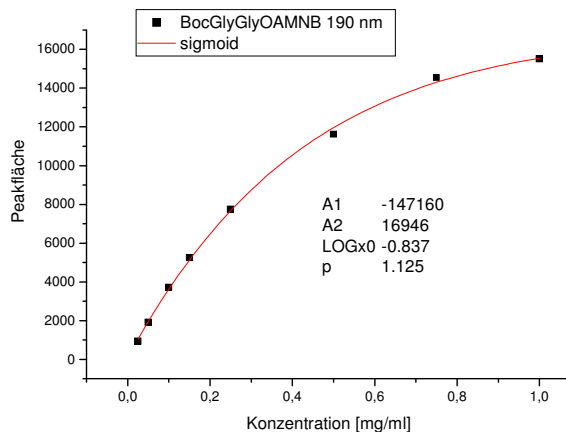
$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$



Parameter	Wert
A_1	-128103
A_2	25569
$\log x_0$	-0,876
p	0,798

Boc-Gly-Gly-OAMNB (11):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	15507
2	0.75	14538
3	0.50	11618
4	0.25	7741
5	0.15	5257
6	0.10	3714
7	0.05	1915
8	0.025	938



6. Spektrenanhang und Literatur

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99903$

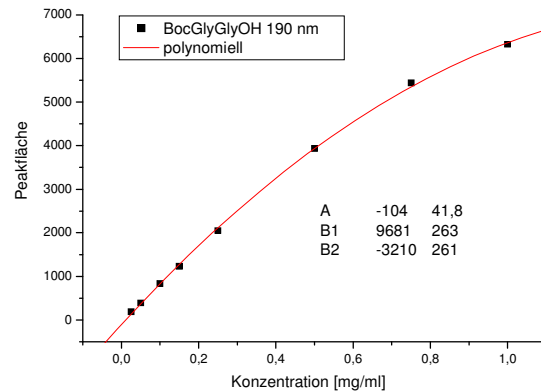
$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Parameter	Wert
A_1	-147160
A_2	16946
$\log x_0$	-0,837
p	1,125

Boc-Gly-Gly-OH:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	6323
2	0.75	5436
3	0.50	3934
4	0.25	2048
5	0.15	1228
6	0.10	834
7	0.05	390
8	0.025	185



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99953$

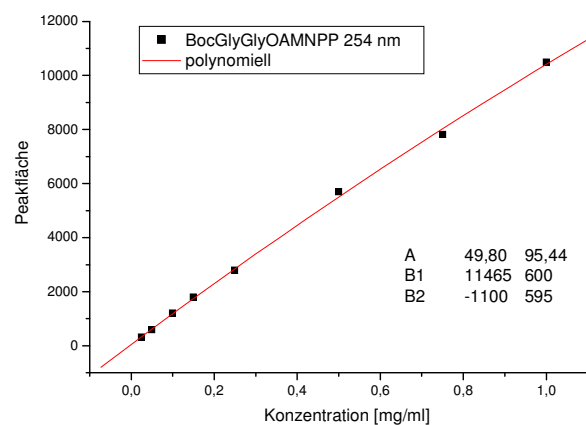
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = - \sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-104
B_1	9681
B_2	-3210

Boc-Gly-Gly-OAMNPP (58):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	10495
2	0.75	7811
3	0.50	5695
4	0.25	2786
5	0.15	1797
6	0.10	1199
7	0.05	589
8	0.025	316



Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99901$

$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

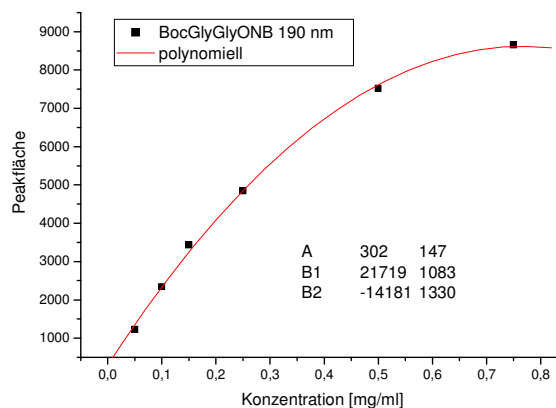
$$\rightarrow x = - \sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	49,8
B_1	11465
B_2	-1100

6. Spektrenanhang und Literatur

Boc-Gly-Gly-ONB (67):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
2	0.75	8653
3	0.50	7519
4	0.25	4843
5	0.15	3429
6	0.10	2339
7	0.05	1225
8	0.025	8653



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99854$

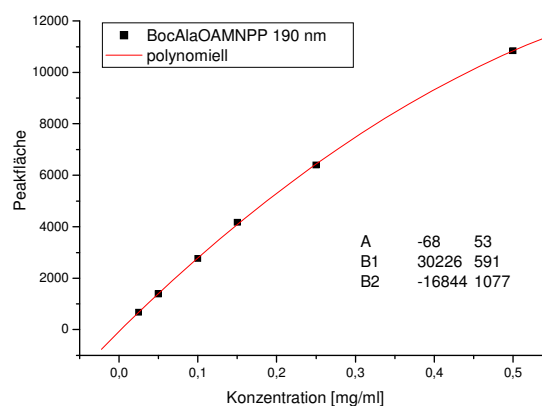
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = - \sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	302
B ₁	21719
B ₂	-14181

Boc-Ala-OAMNPP:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	10840
4	0.25	6388
5	0.15	4168
6	0.10	2763
7	0.05	1386
8	0.025	676



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99986$

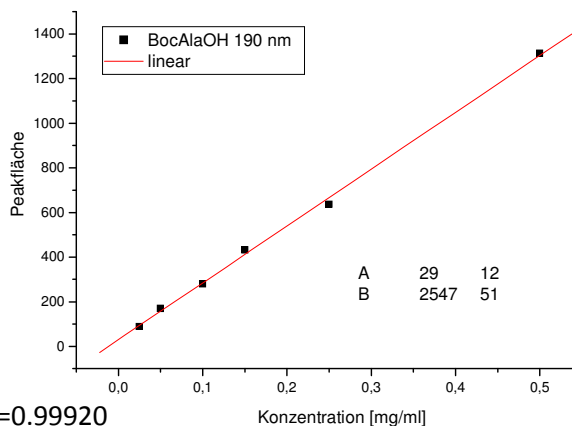
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = - \sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-68
B ₁	30226
B ₂	-16844

Boc-Ala-OH:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	1313
4	0.25	636
5	0.15	432
6	0.10	280
7	0.05	169
8	0.025	88



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit: linear, $R^2=0.99920$

6. Spektrenanhang und Literatur

$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y - A}{B}$$

Boc-Ile-Leu-Pro-OAMNB (13):

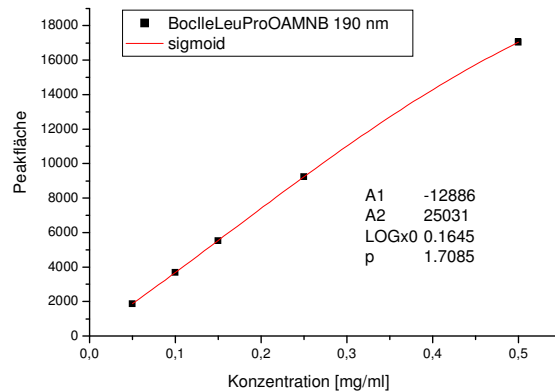
Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	17038
4	0.25	9235
5	0.15	5526
6	0.10	3691
7	0.05	1872

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, R²=1.0000

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Parameter	Wert
A	29
B	2547



Parameter	Wert
A ₁	-12886
A ₂	25031
log x ₀	0.1645
p	1.7085

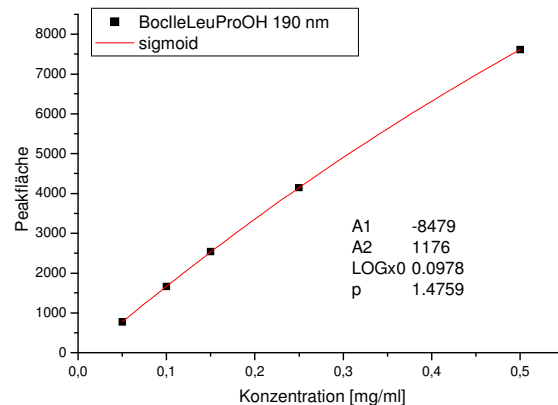
Boc-Ile-Leu-Pro-OH:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	7610
4	0.25	4143
5	0.15	2536
6	0.10	1663
7	0.05	774

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, R²=1.0000

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

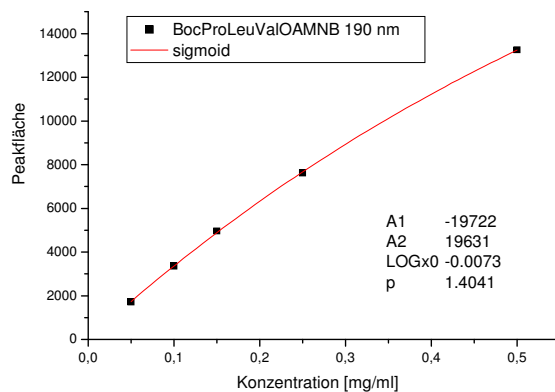
$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$



Parameter	Wert
A ₁	-8479
A ₂	11706
log x ₀	0.0978
p	1.4759

Boc-Pro-Leu-Val-OAMNB (15):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	13251
4	0.25	7615
5	0.15	4959
6	0.10	3355
7	0.05	1715



6. Spektrenanhang und Literatur

Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99990$

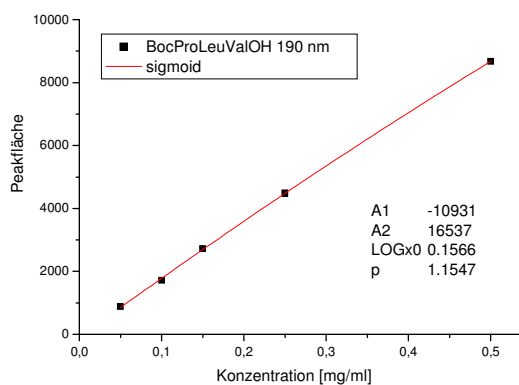
$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Parameter	Wert
A_1	-19722
A_2	19631
$\log x_0$	-0.0073
p	1.4041

Boc-Pro-Leu-Val-OH:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
3	0.50	8671
4	0.25	4489
5	0.15	2725
6	0.10	1721
7	0.05	886



Auswertung bei 190 nm, Kalibrations-Fit:
sigmoidal, $R^2=0.99985$

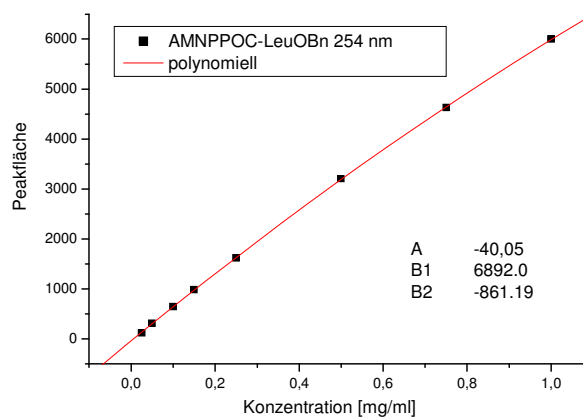
$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\log x_0 - x)p}}$$

$$\rightarrow x = \log x_0 - \left(\frac{\log \left(\frac{A_2 - A_1}{y - A_1} - 1 \right)}{p} \right)$$

Parameter	Wert
A_1	-10931
A_2	16537
$\log x_0$	0.1566
p	1.1547

AMNPPOCLeuOBn (62):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	5996
2	0.75	4630
3	0.50	3204
4	0.25	1618
5	0.15	983
6	0.10	644
7	0.05	310
8	0.025	119



Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99997$

$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

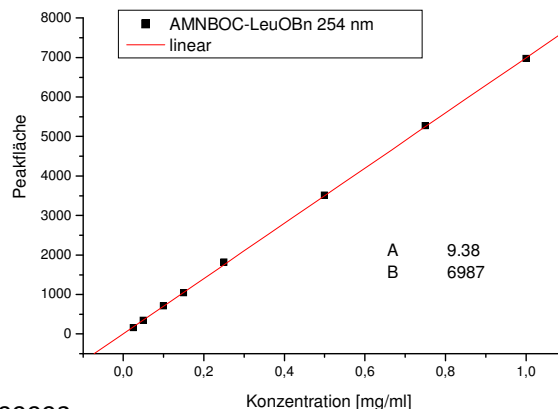
$$\rightarrow x = - \frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2} \right)^2} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-40.05
B_1	6892
B_2	-861.19

6. Spektrenanhang und Literatur

AMNBOCLEuOBn (19):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	5996
2	0.75	4630
3	0.50	1313
4	0.25	636
5	0.15	432
6	0.10	280
7	0.05	169
8	0.025	88



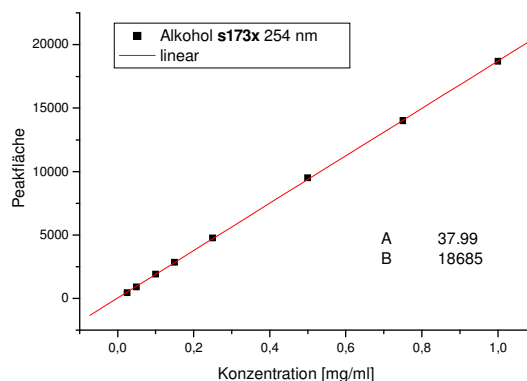
Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: linear, $R^2=0.99993$

$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y - A}{B}$$

Parameter	Wert
A	9.38
B	6987

Alkohol 72:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	18687
2	0.75	14005
3	0.50	9500
4	0.25	4761
5	0.15	2847
6	0.10	1923
7	0.05	913
8	0.025	453



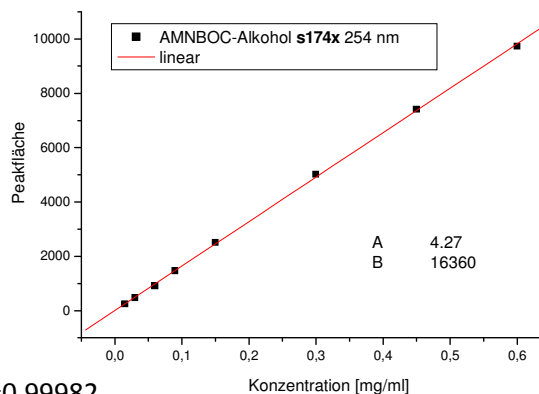
Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: linear, $R^2=0.99996$

$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y - A}{B}$$

Parameter	Wert
A	37.99
B	18685

AMNBOC-Alkohol 73:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	0.6	9730
2	0.45	7411
3	0.3	5023
4	0.15	2510
5	0.09	1466
6	0.06	910
7	0.03	473
8	0.015	243



Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: linear, $R^2=0.99982$

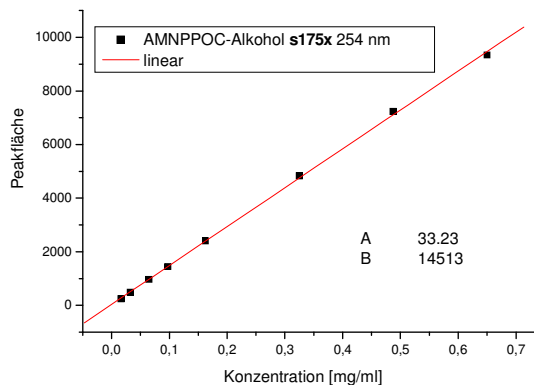
$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y - A}{B}$$

Parameter	Wert
A	4.27
B	16360

6. Spektrenanhang und Literatur

AMNPPOC-Alkohol 74:

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	0.65	9338
2	0.49	7231
3	0.325	4829
4	0.163	2405
5	0.098	1439
6	0.065	961
7	0.033	479
8	0.0163	235



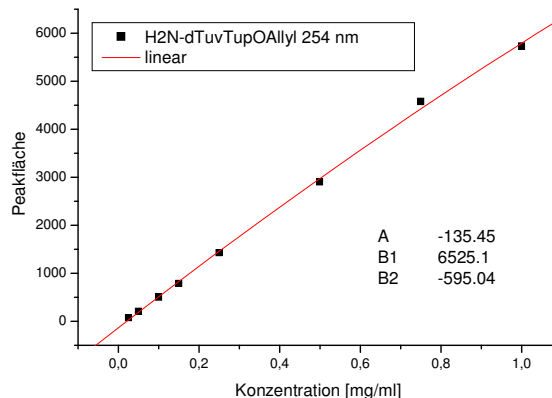
Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: linear, $R^2=0.99975$

$$y = A + Bx \rightarrow x = \frac{y - A}{B}$$

Parameter	Wert
A	33.23
B	14513

H₂NdTuvTupOAllyl (95):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	5730
2	0.75	4578
3	0.50	2901
4	0.25	1429
5	0.15	787
6	0.10	503
7	0.05	211
8	0.025	74



Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99878$

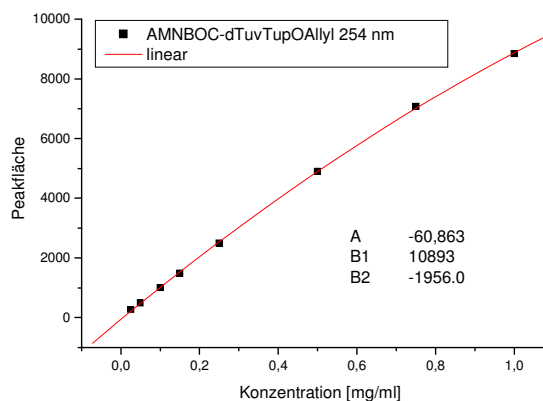
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = - \frac{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2} - \frac{B_1}{2B_2}}{1}$$

Parameter	Wert
A	-135.45
B ₁	6525.1
B ₂	-595.04

AMNBOCdTuvTupOAllyl (70):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	8844
2	0.75	7071
3	0.50	4900
4	0.25	2499
5	0.15	1485
6	0.10	1001
7	0.05	483
8	0.025	266



6. Spektrenanhang und Literatur

Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99984$

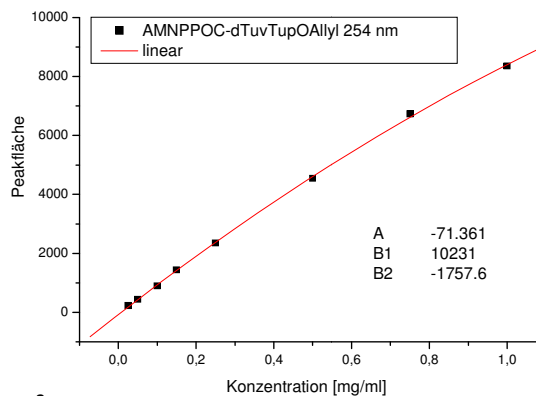
$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = - \sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-60.863
B ₁	10893
B ₂	-1956

AMNPPOCdTuvTupOAllyl (71):

Lös. Nr.	Konz. [mg/ml]	Integration
1	1.0	8355
2	0.75	6729
3	0.50	4543
4	0.25	2349
5	0.15	1432
6	0.10	897
7	0.05	441
8	0.025	229



Auswertung bei 254 nm, Kalibrations-Fit: polynomiell, $R^2=0.99964$

$$y = A + B_1x + B_2x^2$$

$$\rightarrow x = - \sqrt{\frac{y - A}{B_2 + \left(\frac{B_1}{2B_2}\right)^2}} - \frac{B_1}{2B_2}$$

Parameter	Wert
A	-71.361
B ₁	10231
B ₂	-1757.6

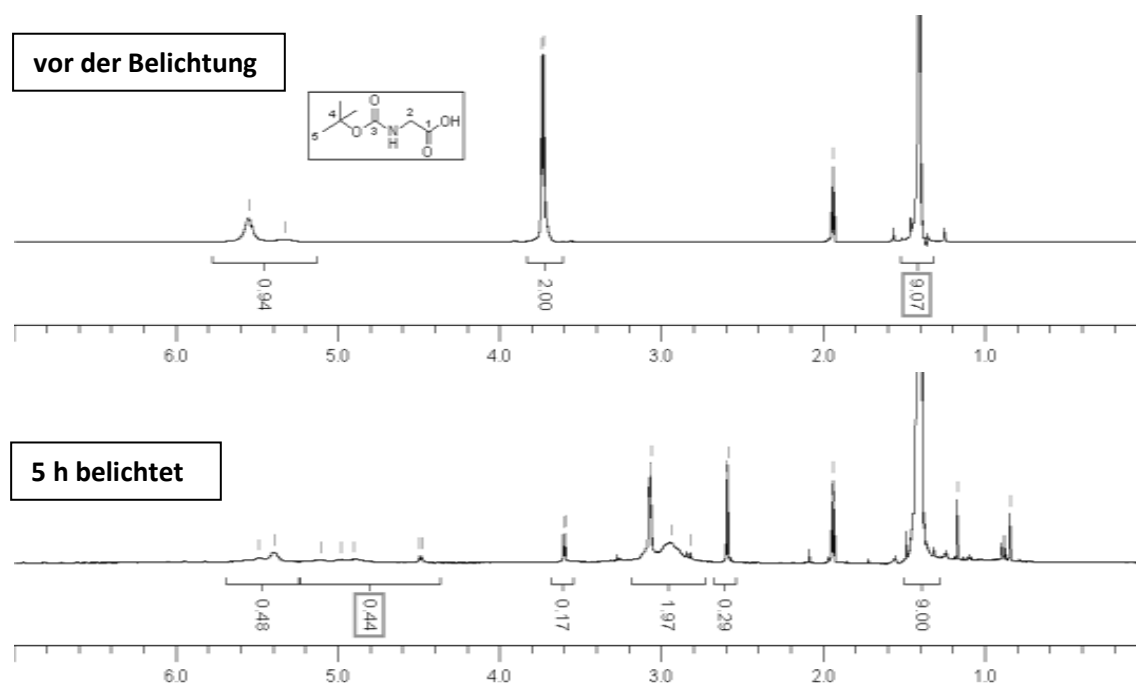


Abbildung 6-6 $^1\text{H-NMR}$ von Boc-Gly-OH vor und nach fünfstündiger Belichtung (Hg-Dampflampe).

6. Spektrenanhang und Literatur

zu 3.1.5.e.2) Belichtungen (Messungen)

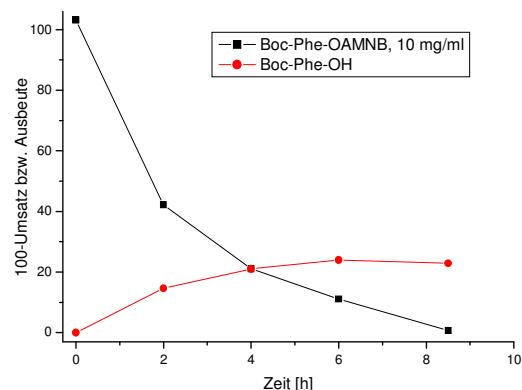
%*: Prozent der Anfangskonzentration (angegebene Konzentration bei der Belichtung = 100 %),
Werte über 100 % liegen im Rahmen der Mess- bzw. Einwaageungenauigkeit.

%**: Ausbeute, bestimmt aus der Integration des Produktpeaks.

A) Belichtungen mit der Hg-Mitteldruckdampf- / Quarzfilter

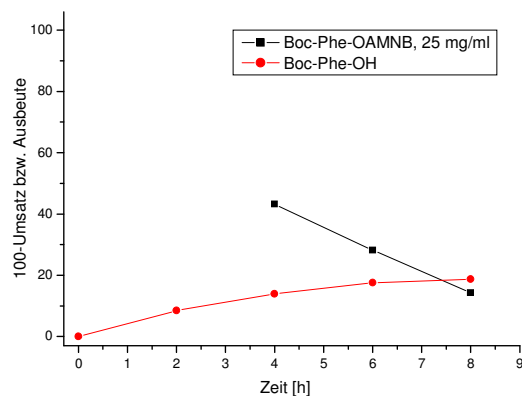
A.1) Belichtung von Boc-Phe-OAMNB (8), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 10.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung
1:20, maximale Ausbeute: 24 %

Zeit	Boc-Phe-OAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	19339	0,5156	103,1			0,0
2 h	11767	0,2108	42,2	4635	0,0729	14,6
4 h	6520	0,1056	21,1	6222	0,1052	21,0
6 h	3316	0,0556	11,1	6905	0,1198	24,0
8.5 h	212	0,0036	0,7	6658	0,1145	22,9



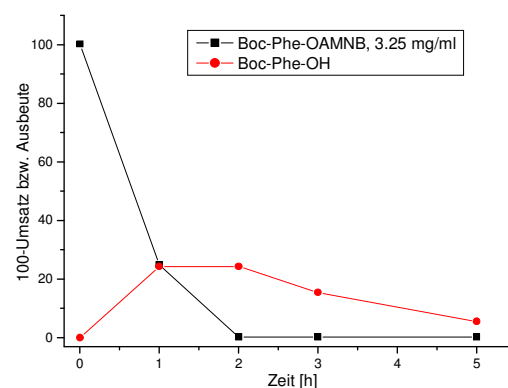
A.2) Belichtung von Boc-Phe-OAMNB (8), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 25.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung
1:20, maximale Ausbeute: 19 %

Zeit	Boc-Phe-OAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	26304	-	-			0,0
2 h	23272	-	-	6296	0,1068	8,5
4 h	19557	0,5394	43,2	9203	0,1735	13,9
6 h	16644	0,3522	28,2	10900	0,2194	17,6
8 h	10260	0,1783	14,3	11374	0,2336	18,7



A.3) Belichtung von Boc-Phe-OAMNB (8), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 3.25 mg/ml, Messung mit Verdünnung
1:20, maximale Ausbeute: 24 %

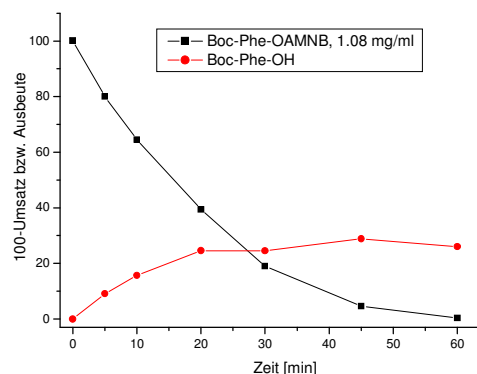
Zeit	Boc-Phe-OAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	9529	0,1634	100,2			0,0
1 h	2471	0,0406	24,9	2523	0,0395	24,3
2 h	0	0,0003	0,2	2528	0,0396	24,3
3 h	0	0,0003	0,2	1605	0,0253	15,5
5 h	0	0,0003	0,2	480	0,0089	5,5



6. Spektrenanhang und Literatur

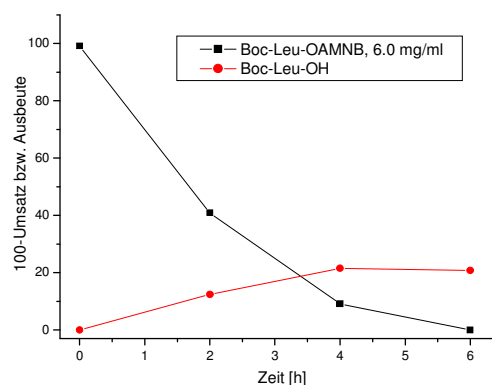
A.4) Belichtung von Boc-Phe-OAMNB (**8**), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 1.08 mg/ml,
Messung mit Verdünnung 1:10, maximale Ausbeute: 29 %

Zeit	Boc-Phe-OAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	6656	0,1081	100,1			0,0
5 min	5483	0,0864	80,0	545	0,0099	9,1
10 min	4569	0,0696	64,5	1041	0,0170	15,7
20 min	2585	0,0426	39,4	1692	0,0266	24,6
30 min	1279	0,0206	19,0	1685	0,0265	24,5
45 min	301	0,0050	4,6	1987	0,0311	28,8
1 h	0	0,0003	0,3	1787	0,0280	26,0



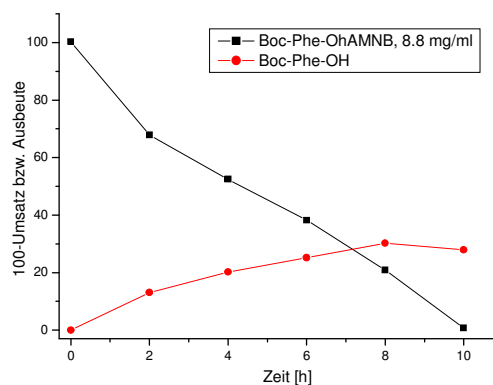
A.5) Belichtung von Boc-Leu-OAMNB (**9a**), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 6.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung
1:20, maximale Ausbeute: 22 %

Zeit	Boc-Leu-OAMNB			Boc-Leu-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	8888	0,2973	99,1			0,0
2 h	4085	0,1227	40,9	191	0,0371	12,4
4 h	1499	0,0274	9,1	272	0,0645	21,5
6 h	229	-0,0204	0	266	0,0625	20,8



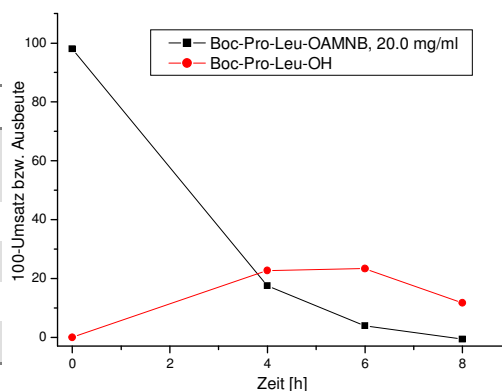
A.6) Belichtung von Boc-Phe-OHAMNB (**49**), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 8.8 mg/ml,
Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 30 %

Zeit	Boc-Phe-OHAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	20223	0,4414	100,3			0,0
2 h	15889	0,2985	67,8	3323	0,0579	13,1
4 h	13168	0,2311	52,5	4877	0,0890	20,2
6 h	10209	0,1683	38,2	5847	0,1111	25,2
8 h	5412	0,0921	20,9	6705	0,1330	30,2
10 h	175	0,0031	0,7	6322	0,12287	27,9



A.7) Belichtung von Boc-Pro-Leu-OAMNB (**16**), Hg-Mitteldruckdampf-
lampe, Filter: Quarz, 20.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung
1:20, maximale Ausbeute: 23 %

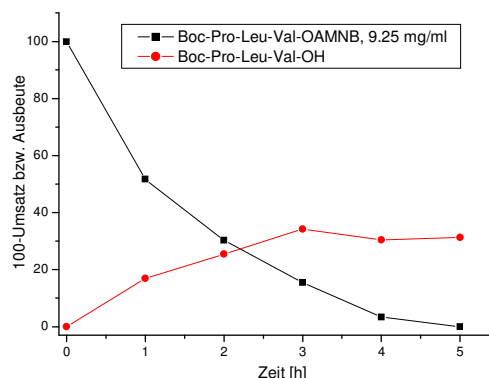
Zeit	Boc-Pro-Leu-OAMNB			Boc-Pro-Leu-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	22120	0,9799	98,0			0,0
4 h	7576	0,2188	17,5	3625	0,2269	22,7
6 h	2111	0,0482	3,9	3712	0,2332	23,3
8 h	140	-0,0076	-0,6	2003	0,1175	11,7



6. Spektrenanhang und Literatur

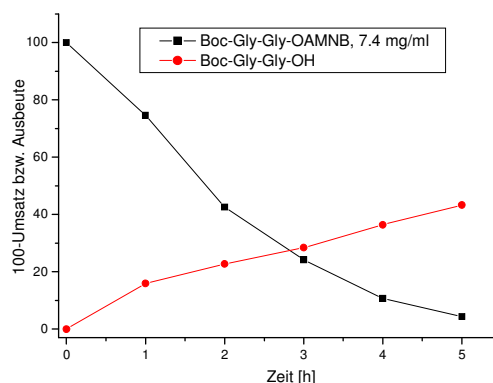
A.8) Belichtung von Boc-Pro-Leu-Val-OAMNB (**15**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Quarz, 9.25 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 34 %

Zeit	Boc-Pro-Leu-Val-OAMNB			Boc-Pro-Leu-Val-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	12580	0,4634	99,9			0,0
1 h	7418	0,2397	51,7	1377	0,0782	16,9
2 h	4574	0,1407	30,3	2100	0,1181	25,4
3 h	2456	0,0718	15,5	2840	0,1586	34,2
4 h	693	0,0159	3,4	2519	0,1410	30,4
5 h	141	-0,0014	0	2595	0,1452	31,3



A.9) Belichtung von Boc-Gly-Gly-OAMNB (**11**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Quarz, 7.4 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 43 %

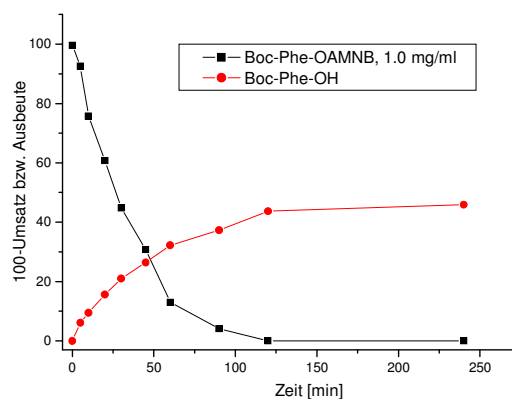
Zeit	Boc-Gly-Gly-OAMNB			Boc-Gly-Gly-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	10681	0,3710	100,0			0,0
1 h	8691	0,2766	74,6	519	0,0588	15,9
2 h	5365	0,1580	42,6	728	0,0841	22,7
3 h	3135	0,0899	24,2	912	0,1053	28,4
4 h	1426	0,0399	10,7	1186	0,1352	36,4
5 h	615	0,0162	4,4	1429	0,1605	43,3



B) Belichtungen mit der Hg-Mitteldruckdampfampe / Duranfilter

B.1) Belichtung von Boc-Phe-OAMNB (**8**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Duran, 1.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:10, maximale Ausbeute: 46 %

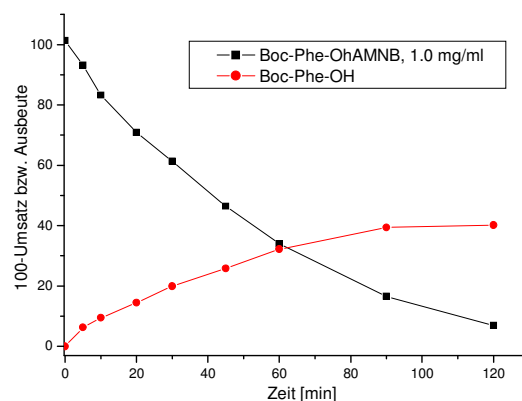
Zeit	Boc-Phe-OAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	5567	0,0996	99,6			0,0
5 min	5229	0,0925	92,5	277	0,0061	6,1
10 min	4388	0,0757	75,7	519	0,0095	9,5
20 min	3592	0,0607	60,7	945	0,0156	15,6
30 min	2713	0,0448	44,8	1314	0,0210	21,0
45 min	1897	0,0308	30,8	1678	0,0264	26,4
1 h	809	0,0130	13,0	2057	0,0322	32,2
1.5 h	246	0,0041	4,1	2383	0,0373	37,3
2 h	0	0	0	2778	0,0437	43,7
4 h	0	0	0	2916	0,0459	45,9



6. Spektrenanhang und Literatur

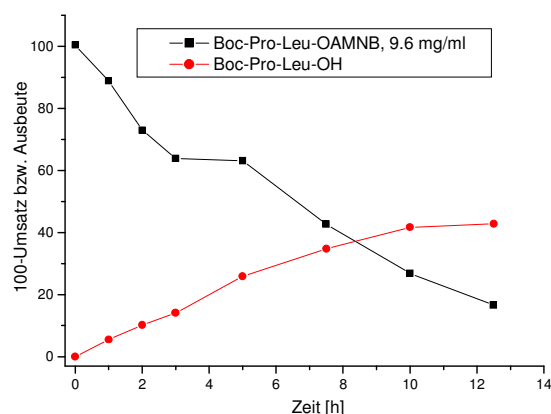
B.2) Belichtung von Boc-Phe-OhAMNB (**49**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Duran, 1.0 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 40 %

Zeit	Boc-Phe-OhAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	3127	0,0507	101,3			0,0
5 min	2886	0,0466	93,1	71	0,0031	6,3
10 min	2591	0,0416	83,2	177	0,0048	9,5
20 min	2222	0,0355	70,9	338	0,0072	14,5
30 min	1927	0,0306	61,3	512	0,0099	19,9
45 min	1465	0,0232	46,4	701	0,0129	25,8
1 h	1075	0,0170	34,0	901	0,0161	32,2
1.5 h	511	0,0082	16,5	1127	0,0197	39,4
2 h	197	0,0034	6,9	1152	0,0201	40,2



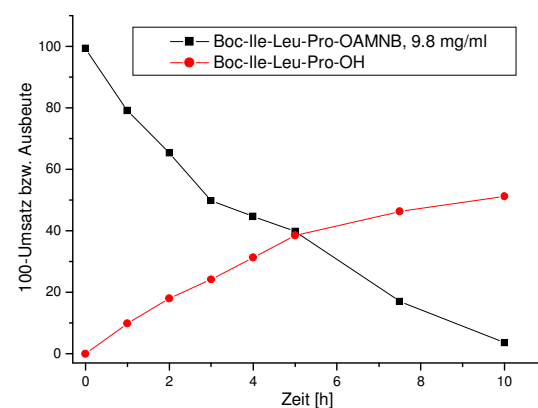
B.3) Belichtung von Boc-Pro-Leu-OAMNB (**16**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Duran, 9.6 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 43 %

Zeit	Boc-Pro-Leu-OAMNB			Boc-Pro-Leu-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	14310	0,4820	100,4			0,0
1 h	13058	0,4265	88,8	502	0,0262	5,5
2 h	11186	0,3499	72,9	887	0,0489	10,2
3 h	10060	0,3069	63,9	1198	0,0676	14,1
5 h	9945	0,3026	63,1	2108	0,1242	25,9
7.5 h	7167	0,2050	42,7	2754	0,1664	34,7
10 h	4790	0,1285	26,8	3249	0,2003	41,7
12.5 h	3175	0,0795	16,6	3321	0,2053	42,8



B.4) Belichtung von Boc-Ile-Leu-Pro-OAMNB (**13**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Duran, 9.8 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 51 %

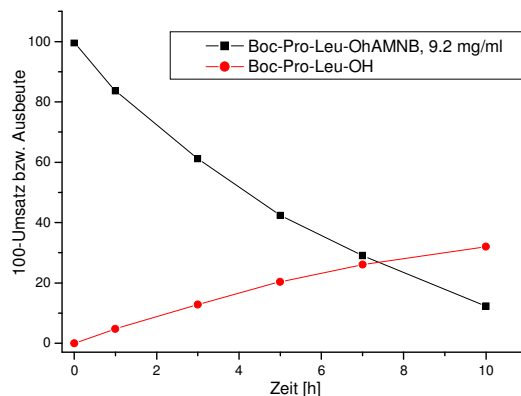
Zeit	Boc-Ile-Leu-Pro-OAMNB			Boc-Ile-Leu-Pro-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	16701	0,4867	99,3			0,0
1 h	13894	0,3875	79,1	764	0,0481	9,8
2 h	11697	0,3200	65,3	1450	0,0883	18,0
3 h	9015	0,2440	49,8	1970	0,1186	24,2
4 h	8080	0,2185	44,6	2567	0,1536	31,3
5 h	7206	0,1949	39,8	3158	0,1886	38,5
7.5 h	3068	0,0832	17,0	3791	0,2268	46,3
10 h	750	0,0178	3,6	4180	0,2508	51,2



6. Spektrenanhang und Literatur

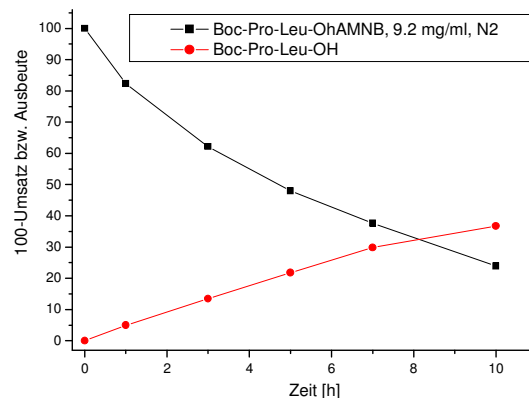
B.5) Belichtung von Boc-Pro-Leu-OhAMNB (**50**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Duran, 9.2 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, maximale Ausbeute: 32 %

Zeit	Boc-Pro-Leu-OhAMNB			Boc-Pro-Leu-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	13368	0,4577	99,5			0,0
1 h	11775	0,3847	83,6	432	0,0221	4,8
3 h	9195	0,2813	61,1	1052	0,0588	12,8
5 h	6732	0,1952	42,4	1626	0,0938	20,4
7 h	4772	0,1333	29,0	2040	0,1198	26,0
10 h	2101	0,0565	12,3	2465	0,1473	32,0



B.6) Belichtung von Boc-Pro-Leu-OhAMNB (**50**), Hg-Mitteldruckdampfampe, Filter: Duran, 9.2 mg/ml, Messung mit Verdünnung 1:20, Belichtung unter Stickstoff, maximale Ausbeute 37 %

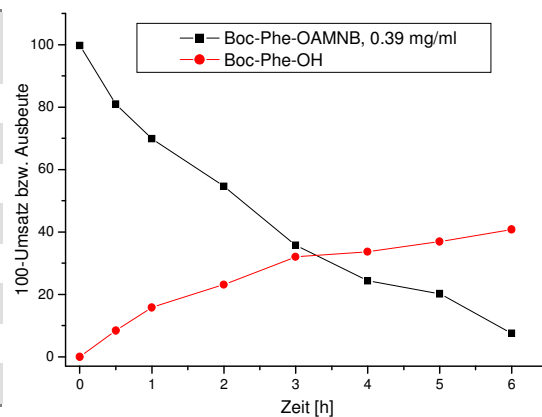
Zeit	Boc-Pro-Leu-OhAMNB			Boc-Pro-Leu-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	13413	0,4599	100,0			0,0
1 h	11631	0,3785	82,3	449	0,0231	5,0
3 h	9328	0,2862	62,2	1111	0,0623	13,5
5 h	7491	0,2206	48,0	1730	0,1003	21,8
7 h	6048	0,1730	37,6	2311	0,1372	29,8
10 h	3982	0,1098	23,9	2789	0,1688	36,7



C) Belichtungen mit der UV-LED bei 365 nm

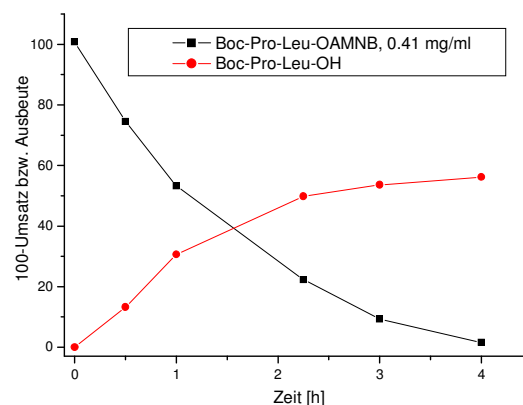
C.1) Belichtung von Boc-Phe-OAMNB (**8**), UV-LED (365 nm), 0.39 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 41 %

Zeit	Boc-Phe-OAMNB			Boc-Phe-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	17479	0,3890	99,7			0,0
30 min	15642	0,3154	80,9	2101	0,0329	8,4
1 h	14224	0,2721	69,8	4057	0,0616	15,8
2 h	11869	0,2131	54,6	5499	0,0902	23,1
3 h	8292	0,1391	35,7	7135	0,1249	32,0
4 h	5956	0,0952	24,4	7437	0,1316	33,7
5 h	5071	0,0789	20,2	7971	0,1438	36,9
6 h	2399	0,0294	7,5	8622	0,1592	40,8



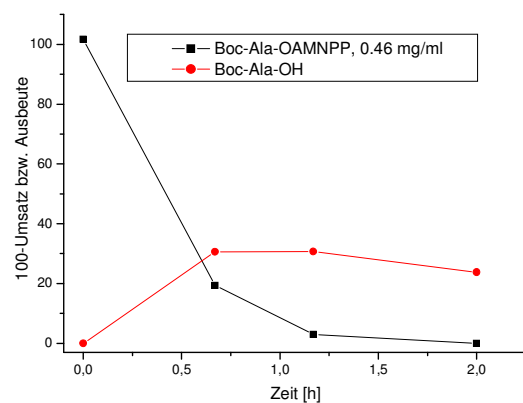
C.2) Belichtung von Boc-Pro-Leu-OAMNB (**16**), UV-LED (365 nm), 0.41 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 56 %

Zeit	Boc-Pro-Leu-OAMNB			Boc-Pro-Leu-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*
0 min	12748	0,4133	100,8			0,0
30 min	10024	0,3056	74,5	975	0,0541	13,2
1 h	7571	0,2186	53,3	2129	0,1255	30,6
2,25 h	3573	0,0913	22,3	3306	0,2042	49,8
3 h	1761	0,0381	9,3	3527	0,2199	53,6
4 h	640	0,0063	1,5	3674	0,23041	56,2



C.3) Belichtung von Boc-Ala-OAMNPP, UV-LED (365 nm), 0.46 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 31 %

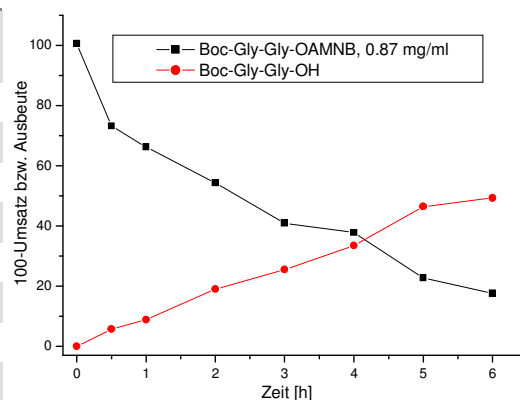
Zeit	Boc-Ala-OAMNPP			Boc-Ala-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	10377	0,4672	101,6	0	0	0,0
40 min	2123	0,0757	19,4	388	0,1410	30,6
70 min	289	0,0119	3,0	389	0,1413	30,7
2 h	0	0	0,0	308	0,1095	23,8



6. Spektrenanhang und Literatur

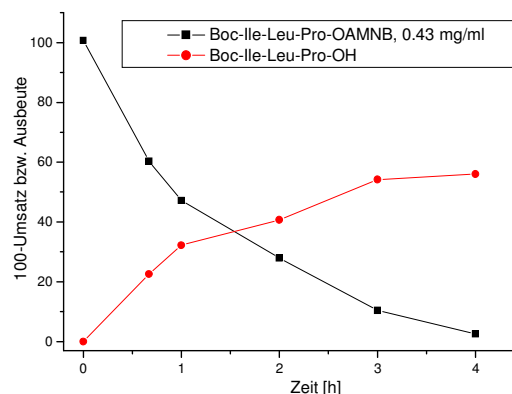
C.4) Belichtung von Boc-Gly-Gly-OAMNB (**11**), UV-LED (365 nm), 0.87 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 49 %

Zeit	Boc-Gly-Gly-OAMNB			Boc-Gly-Gly-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	15023	0,8750	100,6	0	0	0,0
30 min	13416	0,6367	73,2	366	0,0494	5,7
1 h	12827	0,5757	66,2	619	0,0766	8,8
2 h	11607	0,4726	54,3	1409	0,1654	19,0
3 h	9801	0,3557	40,9	1883	0,2215	25,5
4 h	9313	0,3290	37,8	2443	0,2912	33,5
6 h	6406	0,1972	22,7	3281	0,4037	46,4
8 h	5225	0,1532	17,6	3457	0,4288	49,3



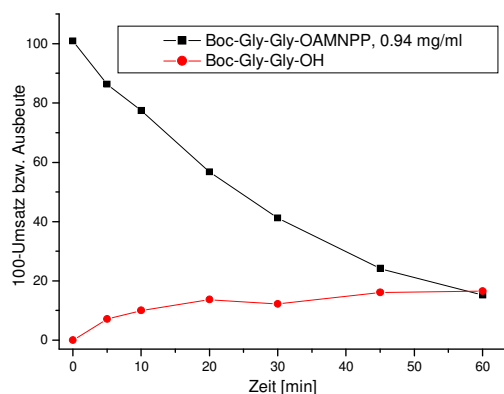
C.5) Belichtung von Boc-Ile-Leu-Pro-OAMNB (**13**), UV-LED (365 nm), 0.43 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 56 %

Zeit	Boc-Ile-Leu-Pro-OAMNB			Boc-Ile-Leu-Pro-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	15251	0,4331	100,7			0,0
40 min	9560	0,2591	60,3	1604	0,0972	22,6
1 h	7511	0,2031	47,2	2311	0,1385	32,2
2 h	4414	0,1199	27,9	2929	0,1749	40,7
3 h	1686	0,0447	10,4	3896	0,2332	54,2
4 h	526	0,0113	2,6	4018	0,24076	56,0



C.6) Belichtung von Boc-Gly-Gly-OAMNPP (**58**), UV-LED (365 nm), 0.894mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 17 %

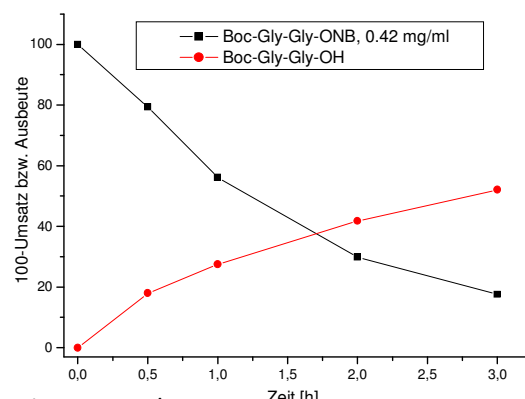
Zeit	Boc-Gly-Gly-OAMNPP			Boc-Gly-Gly-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	9932	0,9482	100,9	0	0	0,0
5 min	8629	0,8115	86,3	529	0,0669	7,1
10 min	7809	0,7276	77,4	778	0,0940	10,0
20 min	5849	0,5331	56,7	1087	0,1285	13,7
30 min	4328	0,3876	41,2	1049	0,1242	13,2
45 min	2604	0,2278	24,2	1288	0,1514	16,1
60 min	1667	0,1430	15,2	1323	0,1554	16,5



6. Spektrenanhang und Literatur

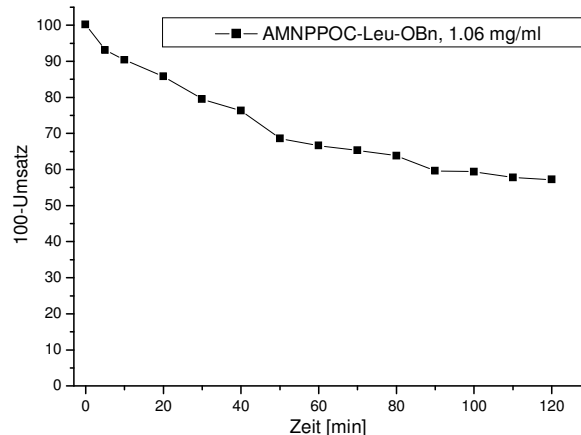
C.7) Belichtung von Boc-Gly-Gly-ONB (**67**), UV-LED (365 nm), 0.42 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 52 %

Zeit	Boc-Gly-Gly-ONB			Boc-Gly-Gly-OH		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	6924	0,4202	100,0	0	0	0,0
30 min	5968	0,3335	79,4	610	0,0757	18,0
1 h	4631	0,2355	56,1	971	0,1155	27,5
2 h	2803	0,1254	29,9	1498	0,1757	41,8
3 h	1831	0,0740	17,6	1859	0,2186	52,1



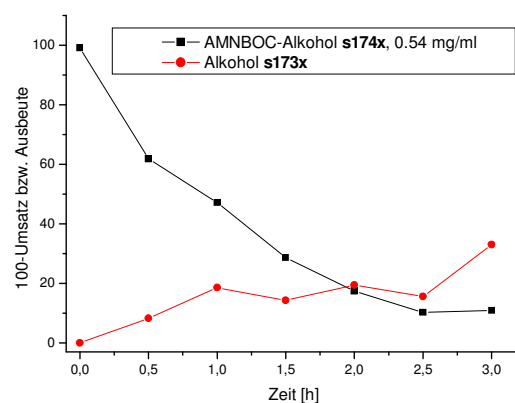
C.8) Belichtung von AMNPPOC-Leu-OBn (**62**), UV-LED (365 nm), 1.06 mg/ml, Messung ohne Verdünnung

AMNPPOC-LeuOBn			
Zeit	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*
0 min	6309	1,0622	100,2
5 min	5922	0,9867	93,1
10 min	5772	0,9580	90,4
20 min	5516	0,9095	85,8
30 min	5158	0,8430	79,5
40 min	4972	0,8090	76,3
50 min	4518	0,7275	68,6
60 min	4398	0,7063	66,6
70 min	4315	0,6917	65,3
80 min	4229	0,6766	63,8
90 min	3972	0,6320	59,6
100 min	3959	0,6298	59,4
110 min	3860	0,6128	57,8
120 min	3824	0,6066	57,2



C.9) Belichtung von AMNBOC-Alkohol **73**, UV-LED (365 nm), 0.54 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 33 %

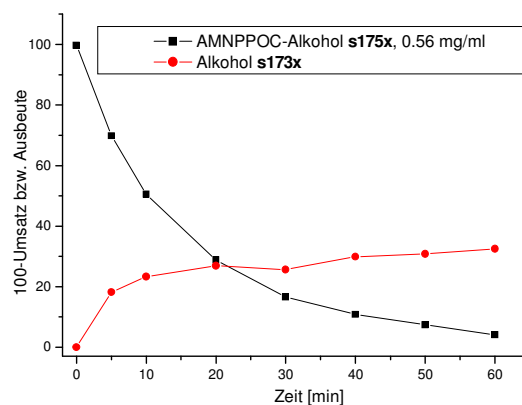
Zeit	AMNBOC-Alkohol 73			Alkohol 72		
	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	8763	0,5354	99,1	6670	0,3549	0,0
30 min	5461	0,3335	61,8	7498	0,3993	8,2
1 h	4167	0,2544	47,1	8537	0,4549	18,5
1.5 h	2527	0,1542	28,6	8117	0,4324	14,3
2 h	1544	0,0941	17,4	8623	0,4595	19,4
2.5 h	906	0,0551	10,2	8249	0,4394	15,6
3 h	967	0,0588	10,9	9998	0,5330	33,0



6. Spektrenanhang und Literatur

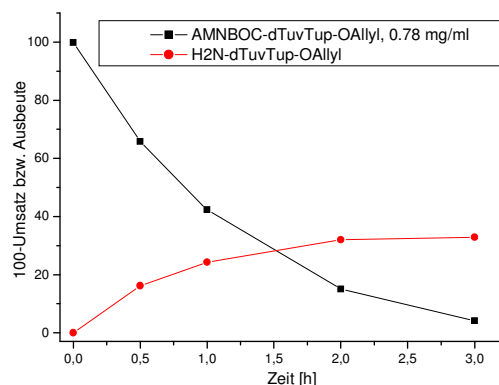
C.10) Belichtung von AMNPPOC-Alkohol **74**, UV-LED (365 nm), 0.56 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 33 %

AMNPPOC-Alkohol 74				Alkohol 72		
Zeit	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	8139	0,5585	99,7	6027	0,3205	0,0
5 min	5708	0,3910	69,8	7936	0,4227	18,2
10 min	4137	0,2828	50,5	8466	0,4511	23,3
20 min	2373	0,1612	28,8	8843	0,4712	26,9
30 min	1384	0,0931	16,6	8706	0,4639	25,6
40 min	909	0,0603	10,8	9151	0,4877	29,9
50 min	638	0,0417	7,4	9247	0,4929	30,8
60 min	366	0,0229	4,1	9430	0,5026	32,5



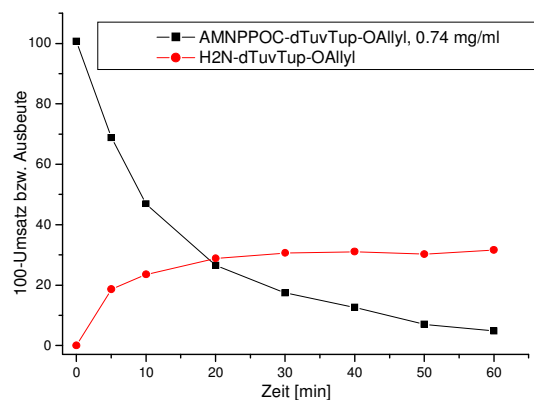
C.11) Belichtung von AMNBOC-dTuvTup-OAllyl (**70**), UV-LED (365 nm), 0.78 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 33 %

AMNBOC-dTuvTup-OAllyl				dTuvTup-OAllyl		
Zeit	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	7236	0,7788	99,8			0,0
30 min	5017	0,5135	65,8	680	0,1264	16,2
1 h	3320	0,3299	42,3	1079	0,1894	24,3
2 h	1199	0,1182	15,1	1457	0,2497	32,0
3 h	296	0,0330	4,2	1498	0,2563	32,9



C.12) Belichtung von AMNPPOC-dTuvTup-OAllyl (**71**), UV-LED (365 nm), 0.74 mg/ml, Messung ohne Verdünnung, maximale Ausbeute: 32 %

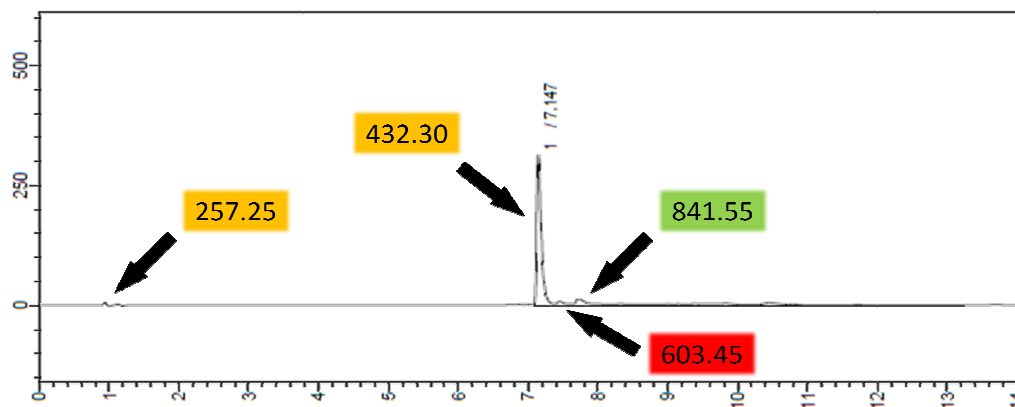
AMNPPOC-dTuvTup-OAllyl				dTuvTup-OAllyl		
Zeit	Integr.	Konz. [mg/ml]	%*	Integr.	Konz. [mg/ml]	%**
0 min	6571	0,7444	100,6	0		0,0
5 min	4682	0,5091	68,8	752	0,1377	18,6
10 min	3270	0,3473	46,9	980	0,1737	23,5
20 min	1870	0,1964	26,5	1229	0,2133	28,8
30 min	1218	0,1289	17,4	1312	0,2265	30,6
40 min	865	0,0930	12,6	1335	0,2302	31,1
50 min	453	0,0517	7,0	1293	0,2235	30,2
60 min	293	0,0358	4,8	1359	0,2340	31,6



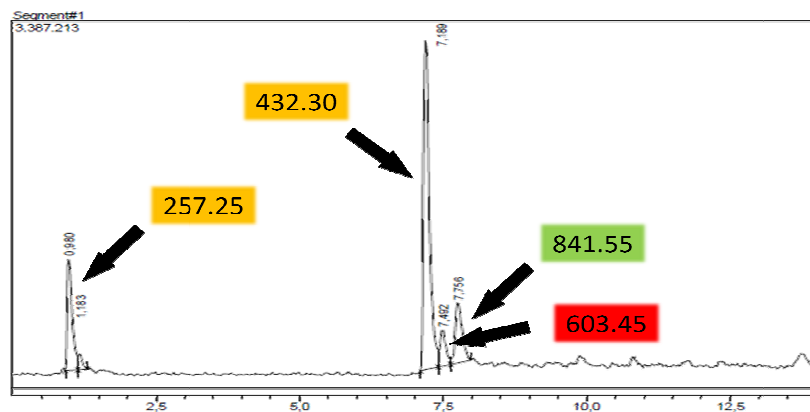
6.1.2 HPLC-Chromatogramme und MS-Spektren der Ugi-Reaktionen

Ugi-Reaktion: (vgl. Tabelle 3-12)

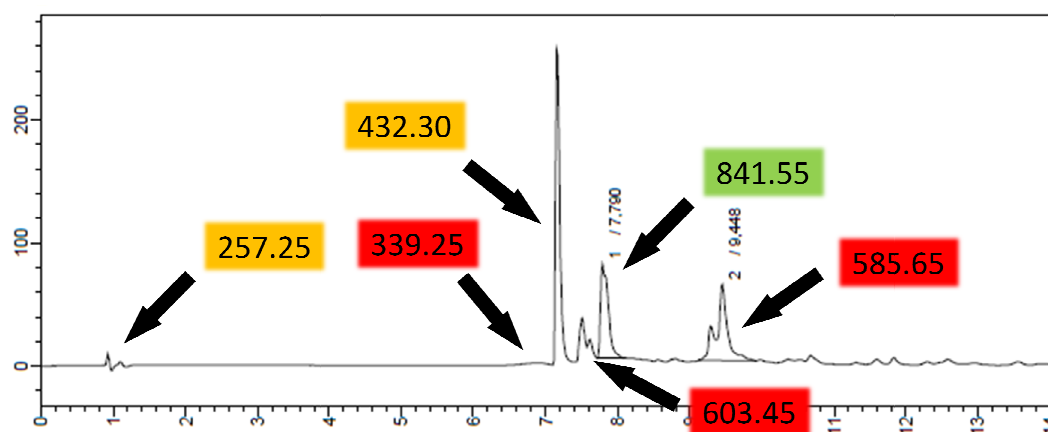
zu Eintrag 1: RT, 19 h, Chromatogramm, $\lambda = 254$ nm:



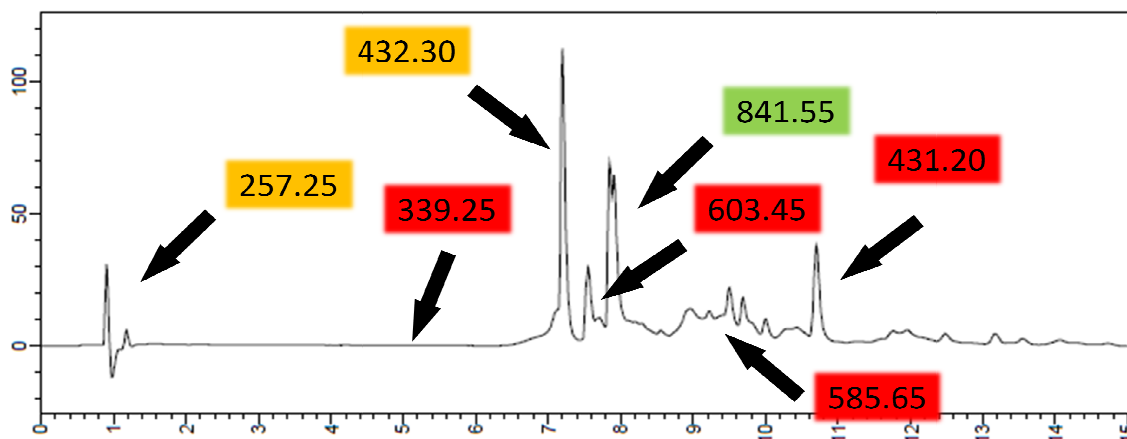
TIC:



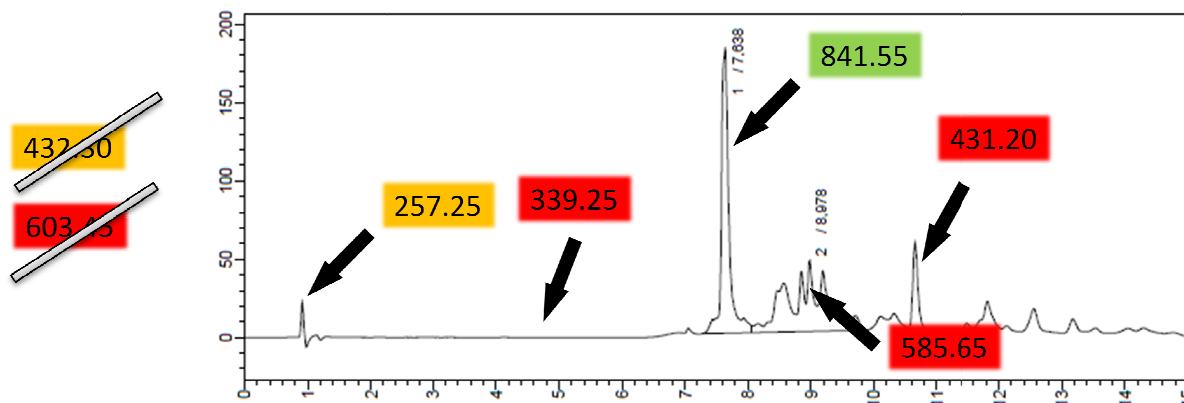
zu Eintrag 1: RT, 10 d + 45 °C, 6 h, Chromatogramm, $\lambda = 254$ nm:



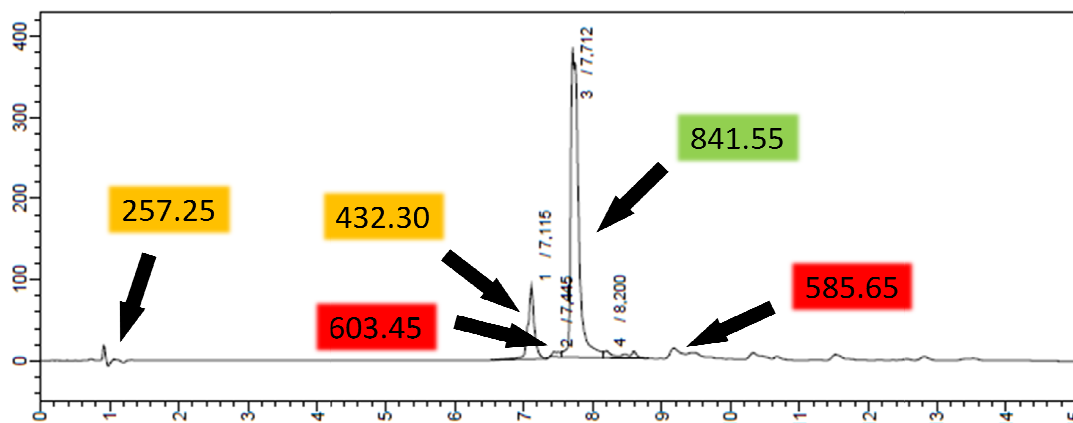
zu Eintrag 5: RT, 5 d, Chromatogramm, $\lambda = 254$ nm:



zu Eintrag 5: RT, 5 d, dann Zugabe Aldehyd + Isonitril, RT, 20 h Chromatogramm, $\lambda = 254$ nm:

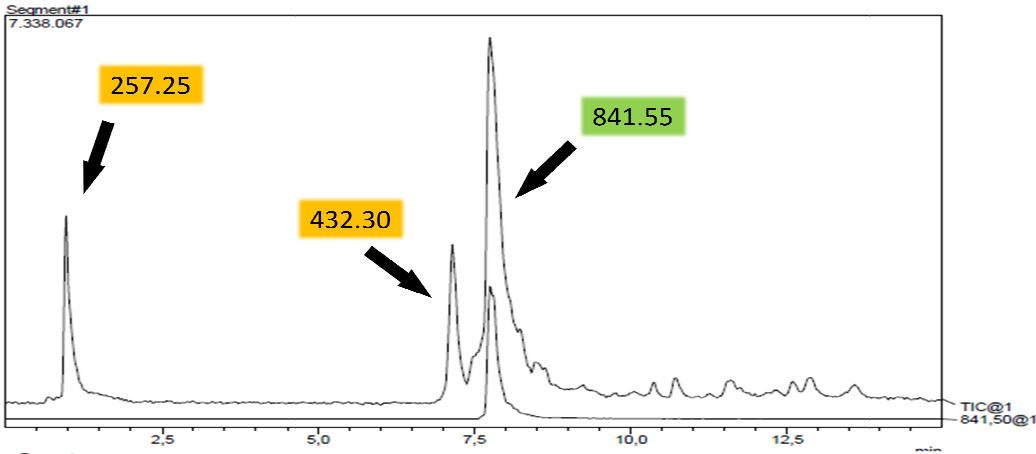


zu Eintrag 6: RT, 48 h, Chromatogramm, $\lambda = 254$ nm:



6. Spektrenanhang und Literatur

TIC:



6.2 Literatur

- [1] P. Klán, J. Wirz, *Photochemistry of Organic Compounds*, Wiley, **2009**, 362–363.
- [2] Lubert Stryer, „Biochemie“, *Spektrum Akademischer Verlag*, **1996**, 4. Auflage.
- [3] T. Greene, P. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, Wiley-Interscience.
- [4] V. N. R. Pillai, *Synthesis*, **1980**, 1–26.
- [5] K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, M. Nakada, K. Shibayama, E. N. Pitsinos, H. Saimoto, Y. Mizuno, K. U. Baldenius, A. L. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 7625–7635.
- [6] C. Bochet, S. Mercier, *Linker Strategies in Solid-Phase Organic Synthesis*, **2009**, Edited by Peter Scott, John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-51116-9.
- [7] K. L. Ciesiński und K. J. Franz, *Angew. Chem.*, **2011**, *123*, 840–850.
- [8] P. Klán, T. Šolomek, C. G. Bochet, A. Blanc, R. Givens, M. Rubina, V. Popik, A. Kostikov, J. Wirz, *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 119–191.
- [9] Y.-L. Luo, Y.-S. Shiao, Y.-Fen Huang, *ACS Nano*, **2011**, *5*, 7796–7804.
- [10] N.-C. Fan, F.-Y. Cheng, J. A. Ho, C.-S. Yeh, *Angew. Chem.*, **2012**, *124*, 8936–8940.
- [11] H. Bayley, F. Gasparro, R. Edelson, *Trends in Pharmacological Sciences*, **1987**, *8*, 138–143.
- [12] S. S. Agasti, A. Chompoosor, C.-C. You, P. Ghosh, C. K. Kim, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 5728–5729.
- [13] T. Ito, K. Tanabe, H. Yamada, H. Hatta, S. Nishimoto, *Molecules*, **2008**, *13*, 2370–2384.
- [14] M. Schelhaas, H. Waldmann, *Angew. Chem.*, **1996**, *108*, 2192–2219.
- [15] R. B. Merrifield, G. Barany, W. L. Cosand, M. Engelhard, S. Mojsov, *Peptides: Proceedings of the 5th American Peptide Symposium*, Wiley **1977**, 488–502.
- [16] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149–2154.
- [17] C.-D. Chang, J. Meienhofer, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1978**, *11*, 246–249.
- [18] J. Rautio, H. Kumpulainen, T. Heimbach, R. Oliyai, D. Oh, T. Järvinen, J. Savolainen, *Nature Reviews*, **2008**, *7*, 255–270.
- [19] J. A. Barltrop, P. J. Plant, P. Schofield, *Chem. Commun.*, **1966**, 822–823.
- [20] C. G. Bochet, *J. Chem. Soc., Perk. Trans. 1*, **2002**, 125–142.
- [21] C. Brieke, F. Rohrbach, A. Gottschalk, G. Mayer, A. Heckel, *Angew. Chem.*, **2012**, *124*, 8572–8604.
- [22] J. H. Kaplan, B. Forbush, J. F. Hoffman, *Biochemistry*, **1978**, *17*, 1929–1935.
- [23] J. A. McCray, L. Herbette, T. Kihara, D. R. Trentham, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **1980**, *77*, 7237–7241.
- [24] A. Patchornik, B. Amit, R. B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 6333–6335.
- [25] H. Görner, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2005**, *4*, 822–828.

6. Spektrenanhang und Literatur

- [26] P. Wan, K. Yates, *Can. J. Chem.*, **1986**, *64*, 2076–2086.
- [27] D. S. Goodsell, *The Oncologist*, **2001**, *6*, 298–299.
- [28] A. P. Pelliccioli, J. Wirz, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2002**, *1*, 441–458.
- [29] K. Schaper, M. Etinski, T. Fleig, *Photochem. Photobiol.*, **2009**, *85*, 1075–1081.
- [30] D. Döpp, *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, CRC Press, Boca-Raton, **1995**, 1019–1062.
- [31] Y. V. Il'ichev, M. A. Schwörer, J. Wirz, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 4581–4595.
- [32] M. A. Schwörer, Dissertation („Mechanismen der lichtinduzierten Freisetzung von Abgangsgruppen aus 2-Nitrobenzylverbindungen“), *Universität Basel*, **2004**.
- [33] S. Walbert, W. Pfeleiderer, U. E. Steiner, *Helv. Chim. Acta*, **2001**, *6*, 1601–1611.
- [34] R. W. Yip, D. K. Sharma, *Res. Chem. Int.*, **1989**, *11*, 109–116.
- [35] I. R. Dunkin, J. Gebicki, M. Kiszka, D. Sanin-Leira, *J. Chem. Soc., Perk. Trans.*, **2001**, *2*, 1414–1425.
- [36] J. E. T. Corrie, A. Barth, V. R. N. Munasinghe, D. R. Trentham, M.C. Hutter, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 8546–8554.
- [37] I. Aujard, C. Benbrahim, M. Gouget, O. Ruel, J.-B. Baudin, P. Neveu, L. Jullien, *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 6865–6879.
- [38] D. Wöll, J. Smirnova, M. Galetskaya, T. Prykota, J. Bühler, K.-P. Stengele, W. Pfeleiderer, U. E. Steiner, *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 6490–6497.
- [39] J. F. Cameron, J.-M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 4303–4313.
- [40] F. Bley, K. Schaper H. Görner, *Photochem. Photobiol.*, **2008**, *84*, 162–171.
- [41] E. Riguet, C. Bochet, *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 5453–5456.
- [42] S. Gug, F. Bolze, A. Specht, C. Bourgogne, M. Goeldner, J.-F. Nicoud, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 9525–9529.
- [43] S. Gug, S. Charon, A. Specht, K. Alarcon, D. Ogden, B. Zietz, J. Leonard, S. Haacke, F. Bolze, J.-F. Nicoud, M. Goeldner, *ChemBioChem*, **2008**, *9*, 1303–1307.
- [44] D. F. Wöll, Dissertation („Neue photolabile Schutzgruppen mit intramolekularer Sensibilisierung“), *Universität Konstanz*, **2006**.
- [45] J. Smirnova, D. Wöll, W. Pfeleiderer, U. E. Steiner, *Helv. Chim. Acta*, **2005**, *88*, 891–904.
- [46] D. Wöll, S. Laimgruber, M. Galetskaya, J. Smirnova, W. Pfeleiderer, B. Heinz, P. Gilch, U. E. Steiner, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 12148–12158.
- [47] C. G. Bochet, *Pure Appl. Chem.*, **2006**, *78*, 241–247.
- [48] H. Yu, J. Li, D. Wu, Z. Qiu, Y. Zhang, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 464–473.
- [49] J. A. McCray, D. R. Trentham, *Ann. Rev. Biophys. Chem.*, **1989**, *18*, 239–270.
- [50] *U.S. National Institutes of Health*, Stand: 04. April 2014
<http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Inotuzumab+ozogamicin>.

- [51] W. D. F. Meutermans, S. W. Golding, G. T. Bourne, L. P. Miranda, M. J. Dooley, P. F. Alewood, M. L. Smythe, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 9790–9796.
- [52] R. W. Armstrong, A. P. Combs, P. A. Tempest, S. D. Brown, T. A. Keating, *Acc. Chem. Res.*, **1996**, *29*, 123.
- [53] K. R. Bhushan, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 1857–1859.
- [54] K. Alvarez, J.-J. Vasseur, T. Beltran, J.-L. Imbach, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 6319–6328.
- [55] D. H. Rich, S. K. Gurwara, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1973**, 610.
- [56] J. W. Walker, G. P. Reid, J. A. McCray, D. R. Trentham, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 7170–7177.
- [57] A. Momotake, N. Lindegger, E. Niggli, R. J. Barsotti, G. Ellis-Davies, *Nature Methods*, **2006**, *3*, 35–40.
- [58] V. Gattermann, T. Stoess, C. Menge, A. Heckel, R. Tampé, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 3960–3963.
- [59] C. G. Bochet, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 6341–6346.
- [60] A. Blanc, C. G. Bochet, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 5567–5577.
- [61] C. G. Bochet, *Angew. Chemie Int. Edition*, **2001**, *11*, 2071–2073.
- [62] C. G. Bochet, *Synlett*, **2004**, *13*, 2268–2274.
- [63] P. Stegmaier, J. M. Alonso, A. del Campo, *Langmuir*, **2008**, *24*, 11872–11879.
- [64] V. R. Shembekar, Y. Chen, B. K. Carpenter, G.P. Hess, *Biochemistry*, **2005**, *44*, 7107–7114.
- [65] G. Papageorgiou, J. E. T. Corrie, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 8197–8205.
- [66] N. Gagey, P. Neveu, C. Benbrahim, B. Goetz, I. Aujard, J.-B. Baudin, L. Jullien, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 9986–9998.
- [67] H. Yang, L. Zhou, P. Wang, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, *11*, 514–517.
- [68] L. Zayat, M. Salierno, R. Etchenique, *Inorg. Chem.*, **2006**, *45*, 1728–1731.
- [69] M. J. Tucker, J. R. Courter, J. Chen, O. Atasoylu, A. B. Smith, R. M. Hochstrasser, *Angew. Chem.*, **2010**, *122*, 3694–3698.
- [70] K. Nakayama, I. Heise, H. Görner, W. Gärtner, *Photochem. Photobiol.*, **2011**, *87*, 1031–1035.
- [71] M. Ghosh, X. Y. Song, G. Mouneimne, M. Sidani, D. S. Lawrence, J. S. Condeelis, *Science*, **2004**, *304*, 743–746.
- [72] H. H. Tønnesen, *Int. J. Pharm.*, **2001**, *225*, 1–14.
- [73] Empfehlungen der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG), *AWMF-Leitlinien-Register*, **2009**, Nr. 013/029, Entwicklungsstufe 1.
- [74] M. Brenner, T. Herzinger, C. Berking, G. Plewig, K. Degitz, *Photoderm., Photoimmun. Photomed.*, **2005**, *21*, 157–165.
- [75] S. S. Agasti, A. M. Laughney, R. H. Kohler, R. Weissleder, *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 11050–11052.

6. Spektrenanhang und Literatur

- [76] L. A. Lee und Q. Wang, *Angew. Chem.*, **2012**, *124*, 4076–4078.
- [77] W. F. Veldhuyzen, Q. Nguyen, G. McMaster, D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13358–13359.
- [78] S. Härtner, H.-C. Kim, N. Hampp, *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, **2007**, *45*, 2443–2452.
- [79] G. Ragazzon, I. Bratsos, E. Alessio, L. Salassa, A. Habtemariam, R. J. McQuitty, G. J. Clarkson, P. J. Sadler, *Inorg. Chim. Acta*, **2012**, *393*, 230–238.
- [80] J. Gastaldo, Z. Bencokova, C. Massart, A. Joubert, J. Balosso, A.-M. Charvet, N. Foray, *J. Synchr. Rad.*, **2011**, *18*, 456–463.
- [81] J. A. Parrish, T. B. Fitzpatrick, L. Tanenbaum, M. A. Pathak, *New Engl. J. Med.*, **1974**, *291*, 1207–1211.
- [82] R. S. Stern, K. T. Nichols, L. H. Väkevä, *New Engl. J. Med.*, **1997**, *336*, 1041–1045.
- [83] W. G. Fisher, W. P. Partridge, C. Dees, E. A. Wachter, *Photochem. Photobiol.*, **1997**, *66*, 141–155.
- [84] Y. Wei, Y. Y. D. Pei, B. Gong, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 2419–2422.
- [85] S. J. Berners-Price, *Angew. Chem.*, **2011**, *123*, 830–831.
- [86] J. S. Butler, J. A. Woods, N. J. Farrer, M. E. Newton, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 16508–16511.
- [87] N. J. Farrer, J. A. Woods, L. Salassa, Y. Zhao, K. S. Robinson, G. Clarkson, F. S. Mackay, P. J. Sadler, *Angew. Chem.*, **2010**, *122*, 9089–9092.
- [88] Y. Zhao, J. A. Woods, N. J. Farrer, K. S. Robinson, J. Pracharova, J. Kasparkova, O. Novakova, H. Li, L. Salassa, A. M. Pizarro, G. J. Clarkson, L. Song, V. Brabec, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.*, **2013**, *19*, 9578–9591.
- [89] K. Altmann, M. Mutter, *Chemie in unserer Zeit*, **1993**, *6*, 274–286.
- [90] L. Gran, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **1973**, *33*, 400–408.
- [91] David J. Craik, *Science*, **2006**, *311*, 1563–1564.
- [92] A. Laupacis, P. A. Keown, R. A. Ulan, N. McKenzie, C. R. Stiller, *Can. Med. Assoc. J.*, **1982**, *126*, 1041–1046.
- [93] D. J. G. White, *Drugs*, **1982**, *24*, 322–334.
- [94] B. Meinecke, S. Meinecke-Tillmann, *J. Reprod. Fert.*, **1993**, *98*, 195–201.
- [95] G. Gimpl, F. Fahrenholz, *Physiol. Rev.*, **2001**, *81*, 629–683.
- [96] J. S. Davies, *J. Pept. Sci.*, **2003**, *9*, 471–501.
- [97] A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 6557–6602.
- [98] C. Ramakrishnan, P. K. C. Paul, K. Ramnarayan, *Proc. Int. Symp. Biomol. Struct. Interact., Suppl. J. Biosci.*, **1985**, *8*, 239–251.
- [99] T. Cupido, J. Spengler, J. Ruiz-Rodriguez, J. Adan, F. Mitjans, J. Piulats, F. Albericio, *Angew. Chem.*, **2010**, *122*, 2792–2797.

- [100] D. A. Evans, M. R. Wood, B. W. Trotter, T. I. Richardson, J. C. Barrow, J. L. Katz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, *37*, 2700–2704.
- [101] M. Schuster, S. Blechert, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1997**, *36*, 2036–2056.
- [102] H. Clavier, K. Grela, A. Kirschning, M. Mauduit, S. P. Nolan, *Angew. Chem.*, **2007**, *119*, 6906–6922.
- [103] G. C. Fu, S. T. Nguyen, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 9856–9857.
- [104] A. Fürstner, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 6505–6511.
- [105] H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.*, **1998**, *110*, 3469–3472.
- [106] S. J. Miller, H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 9606–9614.
- [107] U. Kazmaier, C. Hebach, A. Watzke, S. Maier, H. Mues, V. Huch, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 136–145.
- [108] M. Huang, L. Song, B. Liu, *Org. Lett.*, **2010**, *12*, 2504–2507.
- [109] J. Kong, C. Chen, J. Balsells-Padros, Y. Cao, R. F. Dunn, S. J. Dolman, J. Janey, H. Li, M. J. Zacuto, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 3820–3828.
- [110] www.allthingsmethathesis.com.
- [111] P. Compain, *Adv. Synth. Catal.*, **2007**, *349*, 1829–1846.
- [112] C. P. Woodward, N. D. Spiccia, W. R. Jackson, A. J. Robinson, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 779–781.
- [113] Q. Yang, W.-J. Xiao, Z. Yu, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 871–874.
- [114] I. Takahashi, S. Kuroiwa, H. E. Lindfors, L. A. Ndamba, Y. Hiruma, T. Yajima, N. Okishio, M. Ubbink, S. Hirota, *J. Pept. Sci.*, **2009**, *15*, 411–416.
- [115] S. Braig, R. M. Wiedmann, J. Liebl, M. Singer, R. Kubisch, L. Schreiner, B. A. Abhari, E. Wagner, U. Kazmaier, S. Fulda, A. M. Vollmar, *Cell Death and Disease*, **2014**, *5*, e1001.
- [116] A. Ullrich, Dissertation („Synthese von Prätubulylin und weiteren Biosynthese-Intermediaten von Tubulylin D“), *Universität des Saarlandes, Arbeitskreis Kazmaier*, **2008**.
- [117] C. Dumontet, M. A. Jordan, *Nat. Rev. Drug Disc.*, **2010**, *9*, 790–803.
- [118] M. Kavallaris, *Nat. Rev. Cancer*, **2010**, *10*, 194–204.
- [119] J. R. Jackson, D. R. Patrick, M. M. Dar, P. S. Huang, *Nat. Rev. Cancer*, **2007**, *7*, 107–117.
- [120] A. Ullrich, Y. Chai, D. Pistorius, Y. A. Elnakady, J. E. Herrmann, K. J. Weissmann, U. Kazmaier, R. Müller, *Angew. Chem.*, **2009**, *121*, 4486–4489.
- [121] H. Steinmetz, N. Glaser, E. Herdtweck, F. Sasse, H. Reichenbach, G. Höfle, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 4888–4892.
- [122] M. W. Khalil, F. Sasse, H. Lünsdorf, Y. A. Elnakady, H. Reichenbach, *ChemBioChem*, **2006**, *7*, 678–683.
- [123] F. Sasse, H. Steinmetz, J. Heil, G. Höfle, H. Reichenbach, *J. Antibiotics (Tokyo)*, **2000**, *53*, 879–885.

6. Spektrenanhang und Literatur

- [124] J. Burkhart, Dissertation („Synthese und biologische Evaluation von Prätubulysin-Derivaten“), *Universität des Saarlandes, Arbeitskreis Kazmaier*, **2011**.
- [125] Y. Chai, D. Pistorius, A. Ullrich, K. J. Weissman, U. Kazmaier, R. Müller, *Chem. Biol.*, **2010**, *17*, 296–309.
- [126] H. M. Peltier, J. P. McMahon, A. W. Patterson, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 16018–16019.
- [127] U. Kazmaier, A. Ullrich, J. Hoffmann, *Open Nat. Prod. J.*, **2013**, *6*, 12–30.
- [128] R. Kubisch, M. von Gamm, S. Braig, A. Ullrich, J. L. Burkhart, L. Colling, J. Hermann, O.-Scherer, R. Müller, O. Werz, U. Kazmaier, A. M. Vollmar, *J. Nat. Prod.*, **2014**, ASAP.
- [129] S. Rath, J. Liebl, R. Fürst, A. Ullrich, J. L. Burkhart, U. Kazmaier, J. Herrmann, R. Müller, M. Günther, L. Schreiner, E. Wagner, A. M. Vollmar, S. Zahler, *Brit. J. Pharmacol.*, **2012**, *167*, 1048–1061.
- [130] V. K. Kretschmann, D. Gellrich, A. Ullrich, S. Zahler, A. M. Vollmar, U. Kazmaier, R. Fürst, *Arterioscl., Thromb. Vasc. Biol.*, **2014**, *34*, 294–303.
- [131] J. Herrmann, Y. A. Elnakady, R. M. Wiedmann, A. Ullrich, M. Rohde, U. Kazmaier, A. M. Vollmar, R. Müller, *PLoS One*, **2012**, *7*, e37416, 1–12.
- [132] A. Ullrich, J. Herrmann, R. Müller, U. Kazmaier, *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 6367–6378.
- [133] D. Becker, U. Kazmaier, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 59–65.
- [134] A. Dömling, I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, 3168–3210.
- [135] R. M. Wilson, J. L. Stockdill, X. Wu, X. Li, P. A. Vadola, P. K. Park, P. Wang, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.*, **2012**, *124*, 2888–2902.
- [136] I. Ugi, B. Werner, A. Dömling, *Molecules*, **2003**, *8*, 53–66.
- [137] P. R. Andreana, C. C. Liu, S. L. Schreiber, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 4231–4233.
- [138] O. E. Vercillo, C. K. Z. Andrade, L. A. Wessjohann, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 205–208.
- [139] U. Kazmaier, C. Hebach, *Synlett*, **2003**, 1591–1594.
- [140] M. J. Thompson, B. Chen, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 7084–7093.
- [141] R. Pick, M. Bauer, U. Kazmaier, C. Hebach, *Synlett*, **2005**, 757–760.
- [142] K. Sung, F.-L. Chen, P.-C. Huang, *Synlett*, **2006**, 2667–2669.
- [143] O. Pando, S. Stark, A. Denkert, A. Porzel, R. Preusentanz, L. A. Wessjohann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 7692–7695.
- [144] J. Peter, Diplomarbeit („Peptide und Cyclopeptide mit photolabilen Schutzgruppen“), *Universität des Saarlandes, Arbeitskreis Kazmaier*, **2009**.
- [145] P. Cotelle, J. P- Cateau, *Synth. Commun.*, **1996**, *26*, 4105–4112.
- [146] P. Cogolli, F. Maiolo, L. Testaferri, M. Tiecco, M. Tingoli, *J. Heterocycl. Chem.*, **1979**, *16*, 1495–1496.
- [147] R. J. Sundberg, F. A. Carey, *Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms*, **2007**, *5th Edition*, Springer.

- [148] K. Guruprasad, M. N. Pavan, S. Rajkumar, S. Swaminathan, *Curr. Sci.*, **2000**, 79, 992–994.
- [149] J. Klose, A. Ehrlich, M. Bienert, *Let. Pept. Sci.*, **1998**, 5, 129–131.
- [150] R. B. M, M. Bhattacharya, B. Banerji J. Iqbal, *Arkivoc*, **2004**, 8, 111–120.
- [151] S. J. Miller, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 5855–5856.
- [152] M. Goodman, A. Felix, L. Moroder, C. Tonido, *Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl): Synthesis of Peptides and Peptidomimetics, Workbench Edition*, **2004**, Volume E22a, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York.
- [153] W. J. McGahren, M. Goodman, *Tetrahedron*, **1967**, 23, 2017–2030.
- [154] H. Determann, J. Heuer, P. Pfaender, M.-L. Reinartz, *Liebigs Ann. Chem.*, **1966**, 694, 190–199.
- [155] L. Pauling, R. B. Corey, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1951**, 37, 729–740.
- [156] D. E. Stewart, A. Sarkar, J. E. Wampler, *J. Mol. Biol.*, **1990**, 214, 253–260.
- [157] E. Benedetti, C. Pedone, C. Toniolo, G. Némethy, M. S. Pottle, H. A. Scheraga, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1980**, 16, 156–172.
- [158] R. T. Cummings G. A. Krafft, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 65–68.
- [159] J. H. Cho, B. M. Kim, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 531–533.
- [160] D. W. Knight, I. R. Morgan, A. J. Proctor, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 638–640.
- [161] H. Wang, H. Matsushashi, B. D. Doan, S. N. Goodman, X. Ouyang, W. M. Clark, *Tetrahedron*, **2009**, 65, 6291–6303.
- [162] Sigma-Aldrich, UV-quartz-cuvettes.
- [163] L. Donato, A. Mourrot, C. M. Davenport, C. Herbivo, D. Warther, J. Léonard, F. Bolze, J.-F. Nicoud, R. H. Kramer, M. Goeldner, A. Specht, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 1840–1843.
- [164] Peter W. Atkins, *Physikalische Chemie, Wiley-VCH*, ISBN 3-527-30236-0.
- [165] A. Mori, Y. Miyakawa, E. Ohashi, T. Haga, T. Maegawa, H. Sajiki, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 3279–3281.
- [166] S. Bühler, I. Lagoja, H. Giegrich, K.-P. Stengele, W. Pfeleiderer, *Helv. Chim. Acta*, **2004**, 87, 620–659.
- [167] A. Specht, J.-S. Thomann, K. Alarcon, W. Wittayanan, D. Ogden, T. Furuta, Y. Kurakawa, M. Goeldner, *ChemBioChem*, **2006**, 7, 1690–1695.
- [168] T. Hauch, Vertiefungsarbeit („Untersuchungen zur Synthese eines verkürzten Prätubulysin-Derivates via Ugi-Reaktion: Synthese und Reduktion eines Indolylamids“), *Universität des Saarlandes, Arbeitskreis Kazmaier*, **2013**.
- [169] J. A. Kiernan, *Microscopy Today*, **2000**, 00-1, 8–12.
- [170] P. Jutzi, H. Heusler, *J. Organomet. Chem.*, **1975**, 102, 145–152.
- [171] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen, Spektrum Akademischer Verlag, 3. Aufl.*, **2004**, 281.
- [172] L. Junk, Bachelorarbeit („Synthese der Vorstufe eines photolabilen Prätubulysin-derivates“), *Universität des Saarlandes, Arbeitskreis Kazmaier*, **2012**.

6. Spektrenanhang und Literatur

- [173] A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 3849–3862.
- [174] P. Xu, T. Zhang, W. Wang, X. Zou, X. Zhang, Y. Fu, *Synthesis*, **2003**, *8*, 1171–1176.
- [175] M. Inman, C. J. Moody, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 6023–6026.
- [176] F. E. Hahn, C. G. Plumed, M. Münder, T. Lügger, *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 6285–6293.
- [177] S. Motsch, Vertiefungsarbeit („Synthese prä-tubulysinartiger Verbindungen mit Hilfe der Ugi-Vierkomponentenreaktion“), *Universität des Saarlandes, Arbeitskreis Kazmaier*, **2013**.
- [178] unveröffentlichte Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe, Cytotoxizitätsmessungen durch AK Müller (UdS/HIPS)
- [179] J. J. Brophy, V. Diakiw, R. J. Goldsack, D. Nelson, J. S. Shannon, *Org. Mass Spectr.*, **1979**, *14*, 201–203.
- [180] T. Mosmann, *J. Immunol. Meth.*, **1983**, *65*, 55–63;
- [181] M. V. Berridge, A. S. Tan, K. D. McCoy, R. Wang, *Biochemica*, **1996**, *4*, 14–19.
- [182] K. Kubicek, S. K. Grimm, J. Orts, F. Sasse, T. Carlomagno, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 4809–4812.

Ich möchte ganz herzlich **DANKE** sagen...

... meinem Doktorvater Prof. Uli Kazmaier für die hervorragende Betreuung, die Freiheit, die du mir bei der Gestaltung meines Themas gelassen hast und die vielen guten Ideen und Anregungen, die mich immer wieder motiviert und angetrieben haben!

... Herrn Prof. Christian Ducho für die spontane Bereitschaft, das Zweitgutachten zu übernehmen.

... allen aktuellen und ehemaligen Arbeitskollegen für die schöne Zeit, die ich mit euch verbringen durfte, die vielen fachlichen Diskussionen, die entspannte Zusammenarbeit und die Unterstützung in allen Lebenslagen. Besonders möchte ich meinen Laborkolleginnen Sarah, Lisa und Rupsha danken für die vielen schönen Stunden und die netten Gespräche, wenn's auch mal nicht um Chemie ging.

... allen Studenten und jetzigen Arbeitskreismitgliedern, mit denen ich im Laufe meiner Arbeit eng zusammenarbeiten durfte und die mich in besonderer Weise unterstützt haben, als Vertiefer, Bachelor oder Hiwi (Jessica, Oli, Lukas, Phil, Tanja und Sebastian). Ich wünsche euch für eure Masterarbeit und Dissertation viel Erfolg und ganz besonders viel Durchhaltevermögen.

... allen Mitarbeitern unserer Fachrichtung, die mich durch ihre Arbeit immer so unkompliziert und schnell unterstützt haben: Rudi Thomes für die Messungen der hochaufgelösten Massen, Susanne Harling für die extrem schnellen CHNs, Rigo für seine Riesenansätze und die guten Tipps und Joachim Kriesamer für die Hilfe bei allem, was handwerklich angefallen ist. Außerdem ein Dankeschön an Viktoria und Jennifer (AK Müller) für die vielen biologischen Messungen.

... der Studienstiftung des Deutschen Volkes für die finanzielle Unterstützung.

... Angelika, Karin und meinem Papa Roman für's tapfere Korrekturlesen ☺

... und nicht zuletzt möchte ich mich bedanken bei meiner Familie, ganz besonders bei Mathias, für eure Unterstützung, ohne die das alles nicht möglich gewesen wäre. Ihr habt mich immer wieder aufgebaut, auch wenn's mal nicht so gelaufen ist und euch mit mir gefreut, wenn die Chemie gestimmt hat ☺