

Untersuchungen zur Membranpermeabilität

von

***O*-acylierten Muraymycinen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

des Doktors der Naturwissenschaften

der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät

der Universität des Saarlandes

von

Marius Wirth, M.Sc.

Saarbrücken

2019

Tag des Kolloquiums: 25. Juli 2019

Dekan: Prof. Dr. Guido Kickelbick

Berichterstatter: Prof. Dr. Christian Ducho

Prof. Dr. Claus-Michael Lehr

Vorsitzender: Prof. Dr. Andriy Luzhetskyy

Akad. Mitarbeiter: Dr. Nina Hanke

Die praktische Teil der Arbeit wurde von November bis Dezember 2013 am Department Chemie der Universität Paderborn und vom Januar 2014 bis März 2018 im Fachbereich Pharmazie der Universität des Saarlandes im Arbeitskreis von Prof. Dr. Christian Ducho durchgeführt.

Erstgutachter: Prof. Dr. Christian Ducho

Zweitgutachter: Prof. Dr. Claus-Michael Lehr

Meiner Familie

Zusammenfassung

Die Muraymycine sind eine Klasse von Nucleosid-Lipopeptid-Naturstoffen und hemmen das Enzym *MraY*, welches einen essenziellen Schritt in der Peptidoglycan-Biosynthese katalysiert. Die lipophilen *O*-acylierten Muraymycine zeigen zudem antibakterielle Aktivität.

In der vorliegenden Dissertation wurde eine ausführliche Studie über die Rolle und Funktion der Fettsäure-Seitenkette in den Muraymycine durchgeführt.

Dazu wurden erstmals *O*-acylierte Muraymycin-Analoga synthetisiert, indem nach modularem Aufbau der Muraymycin-Grundstruktur eine Late-Stage-Derivatisierung mit Fettsäure-Seitenketten erfolgte. Für die lipophilen Derivate konnten gute inhibitorische Aktivitäten gegenüber *MraY* und exzellente, antibiotische Aktivitäten gegen *S. aureus* (Newman-Stamm, MRSA) ermittelt werden. Die leicht vereinfachten Strukturen zeigten damit antibiotische Aktivitäten im Bereich der natürlichen Muraymycine, wobei ein Derivat sogar höhere Aktivitäten erzielte.

In zwei unterschiedlichen Modellsystemen wurde zudem eine Membran-Interaktion und eine Membran-Permeation bei Vorhandensein einer lipophilen Fettsäure-Seitenketten nachgewiesen. Die erhaltenen Daten konnten mit den Aktivitätsdaten der Muraymycine korreliert werden, wobei ein Zusammenhang zwischen der Zellaufnahme bei erhöhter Lipophilie und dem Erhalt einer antibiotischen Aktivität nachgewiesen wurde. Die Fettsäure-Seitenkette ist damit ein wichtiges Strukturmotiv der Muraymycine und für den Erhalt einer guten antibiotischen Aktivität notwendig.

Abstract

Muraymycins are a class of nucleoside-lipopeptide natural products and inhibit *MraY*, a membrane enzyme that catalyses an essential step towards peptidoglycan-biosynthesis. In addition, lipophilic *O*-acylated muraymycin derivatives show antibacterial activity.

This thesis investigates in detail the role and function of the fatty acid side chain in muraymycins. This was the first time *O*-acylated muraymycin derivatives were synthesized. Their core structure was generated via a modular approach, followed by late-stage-derivatisation with fatty acid side chains. Lipophilic derivatives showed strong inhibitory potency against *MraY* and excellent antibiotic activity against *S. aureus* (Newman-Strain, MRSA). Thus, simplified *O*-acylated analogues showed comparable activities as natural muraymycins whereby one analogue showed even higher activities.

Two different modelsystems validated membrane interaction and permeation in presence of a lipophilic fatty acid side chain. The obtained results were correlated to antibiotic activities of muraymycins and its analogues. As a result, the connection between cellular uptake and antibacterial activity in case of increased lipophilicity was confirmed. The experiments showed the importance of the presence of the fatty acid side chain as a necessary structural moiety in muraymycins for maintaining a strong antibiotic activity.

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
Ala	Alanin
Alloc	Allyloxycarbonyl
Äq.	Äquivalent
Arib	Aminoribose
AS	Aminosäure
Asp	Asparaginsäure
ATR	Abgeschwächte Totalreflexion, <i>engl.</i> : attenuated total reflection
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
bzw.	beziehungsweise
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CMC	<i>engl.</i> : critical micelle concentration
COSY	correlated spectroscopy (NMR)
CSA	Camphersulfonsäure
δ	Chemische Verschiebung (NMR)
d	Dublett (NMR)
DAD	Dioden Array Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett (NMR)
DET	Diethyltartrat
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dt	Dublett vom Triplett (NMR)
EDC·HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid
EE	Ethylacetat
EEDQ	<i>N</i> -Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinolin
ESI	Elektrosprayionisation (MS)
Et	Ethyl
et al.	und andere
Glc	Glucose
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
GT _{PGP}	Glycosyltransferase-Peptidoglycan-Polymerisation
GUV	<i>Engl.</i> : giant unilamellare vesicles
h	Stunde
HIPS	Helmholtz-Institut für pharmazeutische Forschung Saarland
His	Histidin
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation (NMR)
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>engl.</i> : high performance liquid chromatography
HRMS	<i>engl.</i> : high-resolution mass spectrometry

HSQC	heteronuclear single quantum coherence (NMR)
Hz	Hertz
I	Intensität
IBX	2-Iodoxybenzoesäure
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante (NMR)
KHMDS	Kaliumhexamethyldisilazan
Konz.	Konzentration
LC	engl.: liquid chromatography
Lys	Lysin
M	Molar [mol/L]
m	Multiplett (NMR)
Me	Methyl
MIC	Minimal inhibitory concentration
min	Minute
MRSA	Methicillin-resistent <i>Staphylokokkus Aureus</i>
MS	Massenspektrometrie
Mur	Muraminsäure
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Nr.	Nummer
ORF	Open reading frame
P_{app}	apparenter Permeationskoeffizient [m/sec], oder Verteilungskoeffizient
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PBS	Phosphate buffered saline
PE	Petroleumbenzin
PEG	Polyethylenglycol
PG	engl.: protecting group
Ph	Phenyl
POPC	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
POPE	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidyl-ethanolamin
ppm	parts per million (NMR)
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
q	Quartett (NMR)
quant.	quantitativ
quin	Quintett (NMR)
R_f	Retentionsfaktor (Dünnschichtchromatographie)
RNA	Ribonukleinsäure
RP	reversed phase
Rt	Raumtemperatur
s	Singulett (NMR)
SAR	structure activity relation
SC	Säulenchromatographie
SPPS	engl.: solid phase peptide synthesis
t	Triplett (NMR)
t_R	Retentionszeit (LC)
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl
tt	Triplett vom Triplett (NMR)
T_M	Schmelzpunkt
Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl

TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
TOCSY	total correlation spectroscopy (NMR)
UDP	Uridindiphosphat
UMP	Uridinmonophosphat
UpM	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
vergl.	Vergleich
VIS	visible
VRE	Vancomycin-resistenter Enterococci

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Antibiotika	1
2.	Kenntnisstand	5
2.1	Antibiotika Grundlagen	5
2.2	Bakterielle Zellwand und Peptidoglycan-Biosynthese	7
2.3	Das bakterielle Enzym <i>MraY</i>	10
2.4	Muraymycine	15
2.5	Semisynthetische und synthetische Muraymycin-Analoga	21
2.6	Modelluntersuchungen zur Membrangängigkeit der Hydroxyguanidin-funktionalisierten Fettsäure-Seitenkette	30
3.	Aufgabenstellung und Planung der Arbeit	33
3.1	Aufgabenstellung	33
3.2	Planung und Retrosynthetische Betrachtungen	36
4.	Ergebnisse und Diskussion	46
4.1	Synthesen von Bausteinen zur Darstellung von <i>O</i> -acylierten Muraymycinen	46
4.1.1	Darstellung von (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyd 11	46
4.1.2	Darstellung von (6' <i>S</i>)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure 10	53
4.1.3	Darstellung des Epicapreomycinidin-haltigen Harnstoffdipeptids 12	56
4.1.4	Darstellung von funktionalisierten Fettsäure-Seitenketten	61
4.2	Darstellung von <i>O</i> -acylierten Muraymycinen	69
4.2.1	Darstellung des Amid-Bausteins 14	69
4.2.2	Darstellung der Lysin-haltigen Muraymycin-Analoga	78
4.2.3	Darstellung der Epicapreomycinidin-haltigen Muraymycin-Analoga	91
4.3	Biologische Evaluierung	110
4.3.1	Lysin-haltige Muraymycin-Analoga	111
4.3.2	Epicapreomycinidin-haltige Muraymycin-Analoga	112
4.4	Untersuchung von fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen auf ihre Membraninteraktion/-permeation	118
4.4.1	Darstellung von fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen	118
4.4.2	Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Membraninteraktion/-permeation an artifiziellen Membranvesikeln	119

4.4.3	Untersuchung der Membraninteraktion/-permeation an artifiziellen Membranmodellen	126
4.5	Arbeiten zur Darstellung des (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-Aminoleucin-Bausteins	131
5.	Zusammenfassung	147
6.	Ausblick	158
7.	Experimentalteil	163
7.1	Allgemeines	163
7.1.1	Allgemeine Methoden	163
7.1.2	Edukte und Reagenzien	163
7.1.3	Lösungsmittel	163
7.1.4	Absolute Lösungsmittel	164
7.1.5	Chromatographie	165
7.1.6	Spektroskopie und Spektrometrie	166
7.1.7	Geräte	169
7.2	Synthesen	170
7.2.1	Synthesen von Reagenzien	170
7.2.2	Synthese der AlexaFluor488 [®] -Fettsäure-Derivate	171
7.2.3	Synthese des Hydroxyleucin-Derivates	177
7.2.4	Synthese des Cbz-geschützten Phosphonats	183
7.2.5	Synthese des Nucleosid-Bausteins	186
7.2.6	Synthese des Epicapreomycin-Bausteins	190
7.2.7	Synthesen der Fettsäure-Seitenketten	197
7.2.8	Synthese von Muraymycin-Derivaten	201
7.2.9	Synthesen des 3-Aminoleucin-Bausteins	218
7.3	Biologische Studien	231
7.3.1	<i>In-vitro</i> -Messungen mit dem fluoreszenzbasierten MraY-Assay	231
7.3.2	Messung der antibakteriellen Aktivität	231
7.3.3	Fluoreszenzmikroskopische Experimente	232
7.3.4	Permeationsassay	232
8.	Literaturverzeichnis	233
9.	Anhang	250
9.1	HPLC-Methoden	250
9.1.1	Analytische HPLC-Methoden	250

9.1.2	Semipräparative HPLC-Methoden	251
9.2	Lebenslauf	255
9.3	Publikationen	257
	Danksagung	259

1 Einleitung

1.1 Antibiotika

Der Anfang der systematischen Entwicklung eines wirksamen und kommerziell erhältlichen Therapeutikums lässt sich auf Forschungen von *Paul Ehrlich* im späten 19. Jahrhundert zurückführen. Seine bekannteste Entdeckung war das gegen Syphilis wirkende Salvarsan (Abb. 1.1), welches im Jahr 1910 von der Firma Hoechst produziert und in Umlauf gebracht wurde. Die Nebenwirkungen von Salvarsan waren anfangs noch relativ hoch, weshalb in den folgenden Jahren weitere Derivate mit verbesserter Verträglichkeit entwickelt wurden. *Ehrlich* gilt aufgrund seiner Forschungen und der Verknüpfung von medizinischen, biologischen und chemischen Hintergründen als Begründer der Chemotherapie.^[1-6]

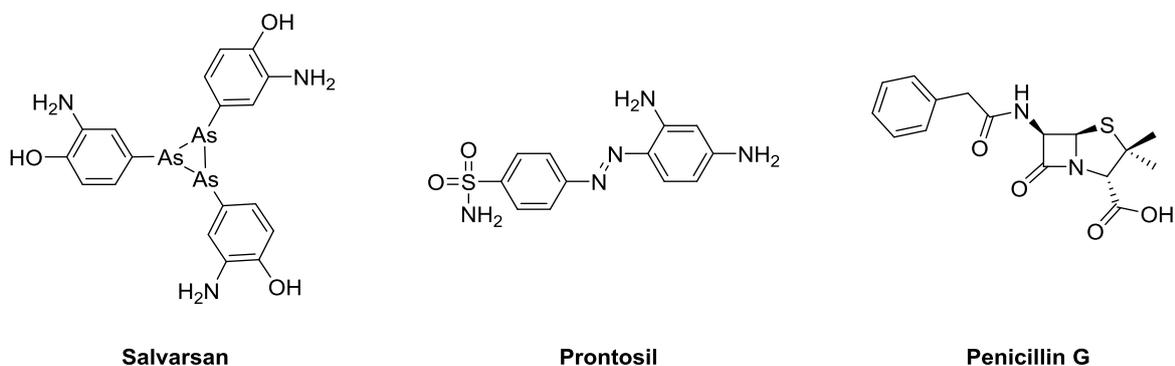


Abb. 1.1 Strukturen der frühen Wirkstoffe für die Behandlung bakterieller Infektionen.

Die systematische Vorgehensweise von *Ehrlich* wurde in den Folgejahren in der Entwicklung weiterer Antibiotika übernommen. So gelang es den Chemikern *Josef Klarer* und *Fritz Mietzsch* das Sulfonamid Prontosil (Abb. 1.1) vollsynthetisch darzustellen, welches im Jahr 1935 von *Gerhard Domagk* positiv auf die antibiotische Wirkung gegenüber Streptokokken getestet wurde. Ein fehlendes Patent auf die Entdeckung und die Tatsache, dass die Sulfonamid-Grundstruktur günstig und leicht zu modifizieren war, führte industriell zu großem Interesse. Zahlreiche neue Derivate wurden in Massenproduktion hergestellt, was die Geburtsstunde der ersten Klasse von Antibiotika, den Sulfonamiden war.^[6-8]

Bereits im Jahr 1928 wurde von *Alexander Fleming* das Absterben einer Staphylokokken-Kolonie beobachtet, welches durch einen Befall des Schimmelpilzes *Penicillium notatum* ausgelöst wurde. Diese Beobachtung von *Fleming* erhielt zunächst wenig Beachtung.^[9,10] Dass die Lyse der Staphylokokken durch das bekannte β-Lactam-Antibiotikum Penicillin (Abb. 1.1) hervorgerufen wurde, konnte erst nach der Isolierung und Fermentation des Penicillins durch

Chain und *Florey* in den frühen 1940er Jahren aufgeklärt werden. Durch die anschließende Übertragung ihrer Arbeiten auf den großtechnischen Maßstab wurde der Einsatz als Therapeutikum ermöglicht.^[11,12] Der eigentliche Begriff „Antibiotikum“ wurde von *Selman A. Waksman* eingeführt.^[12,13] Laut seiner damaligen Definition handelt es sich bei Antibiotika um Substanzen mit mikrobiellem Ursprung, die andere Mikroorganismen in ihrem Wachstum hemmen oder sie zum Absterben bringen. Im heutigen Sinne werden hierunter auch synthetische Derivate der natürlich vorkommenden Antibiotika, sowie vollsynthetisch dargestellte Wirkstoffe, die antibakterielle als auch antimykotische Wirkung zeigen, zu den Antibiotika gezählt.^[12,14]

Die Entdeckung des Penicillins in den 1940iger Jahren leitete die Entwicklung und Einführung weiterer Substanzklassen ein, wobei hier von der sogenannten „Goldenen Ära“ der Antibiotikaforschung gesprochen wird. Dabei wurden zunächst zwei Strategien zur Entwicklung neuer Wirkstoffe genutzt. Zum einen erfolgte die Isolierung von weiteren Naturstoffen und ihre Validierung zum Einsatz als antibiotisches Therapeutikum. Zum anderen wurden gezielt Substanzen vollsynthetisch dargestellt und diese auf ihre antibiotische Aktivität untersucht, was bereits im Fall der Sulfonamide zur Entdeckung einer gesamten Antibiotikaklasse führte. Die Kombination aus den genannten Strategien resultiert in einem semisynthetischen Ansatz, indem aktive Naturstoffe chemisch derivatisiert werden, um deren antibiotische Aktivität zu verbessern und die für den Einsatz als Arzneimittel erforderlichen Voraussetzungen zu erfüllen.^[15–17] Bis zum Ende der 1960iger Jahre konnten 20 Antibiotikaklassen entdeckt werden, die für die klinische Anwendung eingeführt wurden. Daraufhin stagnierte die Forschung an neuen Antibiotika, aufgrund der heute als fälschlich erwiesenen Annahme, dass eine ausreichende Anzahl an Substanzen zur Verfügung stände.^[18,19] Dabei war die Bildung von bakteriellen Resistenzen gegenüber antibiotischen Substanzen bereits früh bekannt. Penicillin galt zu der damaligen Zeit als „Wundermittel“ („wonder drug“) gegen bakterielle Infektionen und wurde deshalb auch als Alternative zu den Sulfonamiden, welche ihre anfängliche Wirkung durch die Bildung von Resistenzen schon verloren hatten, verabreicht.^[12,20,21] Auch eine Warnung von *Fleming* während seiner Rede zur Verleihung des Nobelpreises über die falsche Einnahme von Penicillin und der drohenden Ausbildung bakterieller Resistenzen erhielt zu Beginn wenig Beachtung.^[22] Bereits drei Jahre nach *Flemings* Rede wurden erste Resistenzen gegenüber dem bisherigen Wundermittel Penicillin bekannt.^[23]

Allgemein ist die Resistenzbildung von Bakterien ein natürlich erworbener Abwehrmechanismus, der sie vor toxischen Substanzen anderer (Mikro-)Organismen schützen

soll. Die Entwicklung der Resistenzmechanismen ist ein evolutionärer Prozess, der aus einem Selektionsdruck untereinander konkurrierender Mikroorganismen resultiert.^[14,24,25] Mechanismen zur Ausbildung von Resistenzen können auf unterschiedliche Art und Weise ablaufen.^[14,26,27] Dazu zählt eine Modifizierung des Targets,^[28] eine Inaktivierung oder Zerstörung des Wirkstoffes,^[29–31] eine verschlechterte Aufnahme des Wirkstoffes durch Veränderung der Bakterienmembran^[32–34] und ein aktiver Transport des Wirkstoffes aus der Bakterienzelle.^[35,36]

Die Ausbildung und das immer häufigere Auftreten von bakteriellen Resistenzen gegenüber Antibiotika kann auf unterschiedliche Ursachen zurückgeführt werden. Der übermäßige Gebrauch von Antibiotika sowie eine falsche Anwendung, wie Unterdosierung oder die falsche Wahl des Antibiotikums bei einer bestimmten Erkrankung erhöhen, den auf die Bakterien wirkenden Selektionsdruck und eine Ausbildung von Resistenzen wird beschleunigt. Im Besonderen ist auch der häufige Einsatz von Antibiotika in der Landwirtschaft differenziert zu betrachten. Hier wurden Antibiotika vermehrt als Futterzusätze eingesetzt, um das Wachstum der Tiere zu erhöhen und sie präventiv vor Krankheiten zu schützen. Ein allgemeines Problem sind aber vor allem fehlende Alternativen zu den verfügbaren Antibiotika.^[37,38]

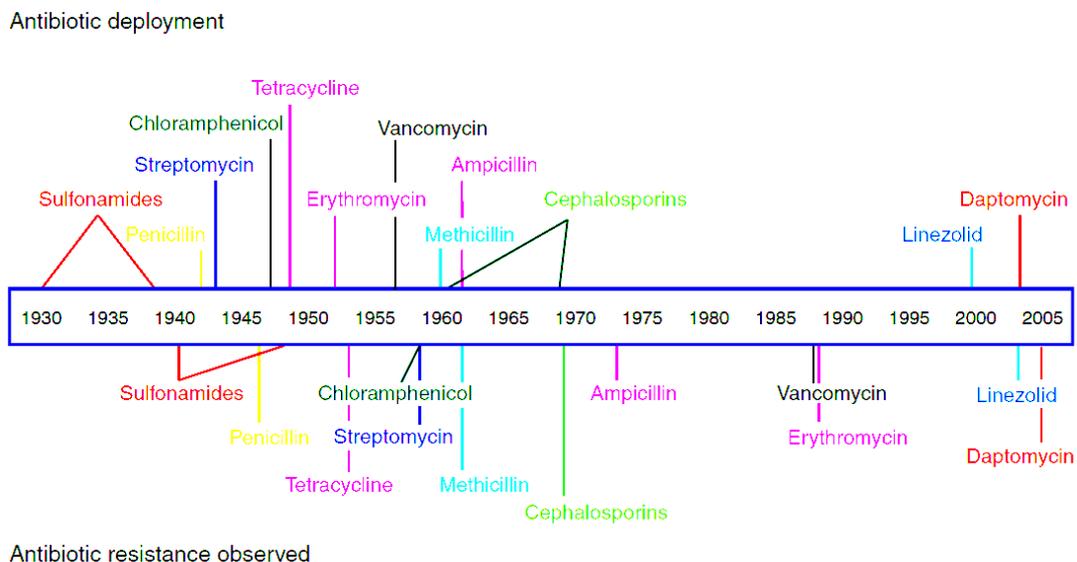


Abb. 1.2 Zeitstrahl zur Antibiotika-Entwicklung und Ausbildung erster Resistenzen (aus: Clatworthy et al., *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 541^[39]).

Die Innovationslücke auf dem Gebiet der Antibiotikaforschung wurde erst am Anfang dieses Jahrhunderts mit der Zulassung der Oxazolidinone^[40,41] und den cyclischen Lipopeptiden (Daptomycin^[42–44]) geschlossen. Die Zeit der „Goldenen Ära“ hat sich bis in die heutige Zeit in eine „Resistente Ära“ („resistance era“)^[45] oder „Post-Antibiotische Ära“ („post-antibiotic era“)^[37,46] gewandelt. Die Anzahl der Resistenzen ist seit den 1960iger Jahren stetig angestiegen (Abb. 1.2), wobei es außerdem zur Ausbildung von multiresistenten Keimen gekommen ist.

Diese sind gegenüber verschiedenen Antibiotika resistent, sodass eine Behandlung der Infektionen mit Antibiotika schwierig oder gar nicht mehr realisierbar ist. Die bekanntesten Vertreter sind der „Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*“ (MRSA)^[47–50] oder die „Vancomycin-resistenten Enterococci“ (VRE).^[51,52] In aktuelleren Studien wird auch von den sogenannten ESKAPE-Pathogenen (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Enterobacter cloacae*) gesprochen, zu denen weitere Bakterienstämme, die zu nosokomialen Infektionen führen, zählen.^[53–56]

Nachdem die Entdeckung und weitere Entwicklung von Antibiotika in ihren Anfangszeiten zu einem deutlichem Absinken der Zahl der Todesfälle aufgrund von bakteriellen Infektionen geführt hat,^[57] steigt die Rate an Todesfällen in der heutigen Zeit erneut an, was anhand von ausführlichen Studien verschiedener Institutionen und Forschungsgruppen belegt werden konnte.^[58–60] Strategien zur Bekämpfung multiresistenter Keime und für die Entwicklung neuartiger Antibiotika wurden auf nationalen und internationalen Ebenen entwickelt.^[60–63] Trotzdem sind derzeit nur wenige neue Antibiotika in der fortgeschrittenen Entwicklung.^[56,64] Es besteht also weiterhin die Aufgabe der Pharmaindustrie als auch der Forschung und Entwicklung in anderen Bereichen, neue Antibiotika, und neue Wirkmechanismen zu identifizieren, und diese für eine praktikable pharmazeutische Anwendung verfügbar zu machen.

2 Kenntnisstand

2.1 Antibiotika Grundlagen

Die Einteilung von Antibiotika kann nach unterschiedlichen Aspekten erfolgen. Dabei kann zwischen der Wirkungsweise, dem Angriffsziel oder nach der chemischen Substanzklasse unterschieden werden. Eine grobe Einteilung ergibt sich nach der Wirkungsweise in bakteriostatische, bakteriozide und bakteriolytische Substanzen. Bei Anwendung von bakteriostatischen Substanzen werden das Wachstum sowie die Vermehrung der Bakterien gehemmt. Bei bakterioziden Substanzen wird das Bakterium getötet, bleibt aber physisch präsent. Bakteriolytische Substanzen führen ebenso zum Absterben der Bakterien, wobei ihre Anwendung für die Zerstörung der Zellwand sorgt, was in einer Lyse der Bakterienzelle resultiert. Einige Antibiotika weisen allerdings eine Kombination der genannten Wirkungsweisen auf.^[14,65]

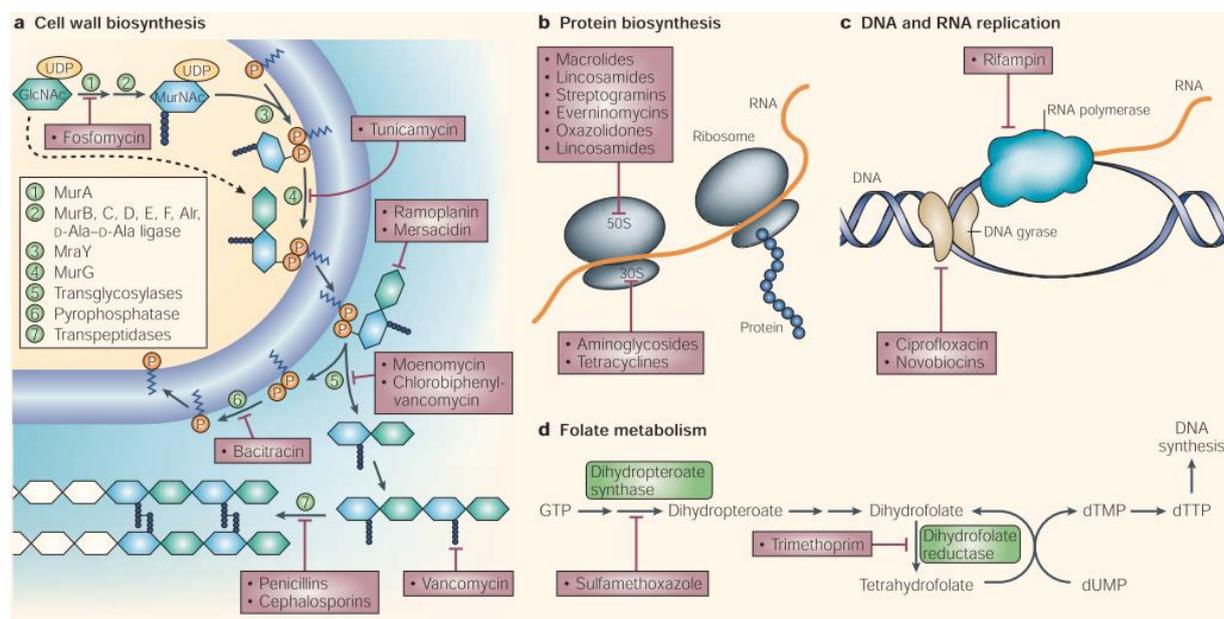


Abb. 2.1 Hauptangriffsziele von antibiotisch aktiven Substanzen. (aus: C. Walsh, *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, *1*, 65-70.^[18]).

Eine genauere Differenzierung kann nach dem Angriffsziel erfolgen, wobei verschiedene intra- und extrazelluläre Wirkorte adressiert werden. Hier sind die Proteinbiosynthese, die DNA- und RNA-Replikation, der Folsäure-Metabolismus und die Zellwandbiosynthese als die vier Hauptangriffsziele der Antibiotika zu nennen (Abb. 2.1).^[18,66,67] Vor allem der Folsäure-Metabolismus und die Zellwandbiosynthese besitzen in eukaryotischen Zellen keine

Entsprechung und bieten deshalb hervorragende Angriffspunkte für selektiv wirksame Antibiotika.

Tab. 2.1 Antibiotika-Klassen mit Jahr der Einführung, Herkunft, Substanzbeispiel und Wirkmechanismus (nach: Butler und Buss, *Biochem. Pharmacol.* **2006**, 71, 919-929.^[68]).

Klasse	Jahr der Einführung	Herkunft	Beispiel	Target-Prozess
Sulfonamide	1935	synthetisch	Sulfapyridin	Folat-Metabolismus
β -Lactame	1941	Naturstoff	Penicillin	Zellwand-Biosynthese
Bakterielle Peptide	1942	Naturstoff	Bacitracin	Zellwand-Biosynthese
Aminoglycoside	1944	Naturstoff	Streptomycin	Proteinbiosynthese
Cephalosporine	1945	Naturstoff	Cephalosporin	Zellwand-Biosynthese
Chloramphenicole	1949	Naturstoff	Chloramphenicol	Proteinbiosynthese
Tetracycline	1950	Naturstoff	Chlortetracyclin	Proteinbiosynthese
Viomycine	1951	Naturstoff	Viomycin	Proteinbiosynthese
Macrolide	1952	Naturstoff	Erythromycin	Proteinbiosynthese
Lincosamide	1952	Naturstoff	Lincomycin	Proteinbiosynthese
Streptogramin	1952	Naturstoff	Virginiamycin	Proteinbiosynthese
Cycloserine	1955	Naturstoff	Cycloserin	Zellwand-Biosynthese
Glycopeptide	1956	Naturstoff	Vancomycin	Zellwand-Biosynthese
Novobiocin	1956	Naturstoff	Novobiocin	DNA-Replikation
Ansamycin	1957	Naturstoff	Rifamycin	RNA-Replikation
Nitroimidazole	1959	synthetisch	Tinidazol	DNA-Replikation
Ethambutole	1962	synthetisch	Ethambutol	Zellwand-Biosynthese
Chinoline	1962	synthetisch	Ciprofloxacin	DNA-Replikation
Fusidane	1963	Naturstoff	Fusidinsäure	Proteinbiosynthese
Diaminopyrimidine	1968	synthetisch	Trimethoprim	Folat-Metabolismus
Phosphonate	1969	Naturstoff	Fosfomycin	Zellwand-Biosynthese
Pseudominsäuren	1985	Naturstoff	Mupirocin	Proteinbiosynthese
Oxazolidine	2000	synthetisch	Linezolid	Proteinbiosynthese
Lipopeptide	2003	Naturstoff	Daptomycin	Zellwand-Biosynthese

Die Proteinbiosynthese, die an den Ribosomen der Zelle abläuft, stellt ein wichtiges Hauptangriffsziel dar. Dabei werden die strukturellen Unterschiede der ribosomalen Untereinheiten von Bakterienzellen (30S und 50S) und der von Säugetierzellen (40S und 60S) ausgenutzt. Die Inhibition wird durch eine selektive Bindung von spezifischen Antibiotika an eine der beiden Untereinheiten hervorgerufen.^[69–72] Auch die Inhibierung der DNA- und RNA-Replikation bietet ein vielversprechendes Target, da das Bakterium auf diese Weise an seiner Vermehrung gehindert wird. Die bekanntesten Targets sind die DNA-Gyrase und die RNA-Polymerase.^[18] Weiterhin ist auch der Folsäure-Metabolismus ein geeignetes Angriffsziel. Im Gegensatz zu höheren Organismen, die die Folsäure über die Nahrung aufnehmen können, müssen die Bakterien die Folsäure selbst produzieren. Wird die Bildung der Folsäure und ihrer

Metabolite gehemmt, wird auch die Bildung der bakteriellen DNA unterbunden und die Zellteilung und die damit verbundene Fortpflanzung wird verhindert.^[18,73] Die Zellwandbiosynthese ist essenziell für das Überleben des Bakteriums und bietet aufgrund der Tatsache, dass höhere Organismen keine Zellwand aufweisen, ein weiteres günstiges Target für selektive Antibiotika. Der komplexe Prozess wird von einer Vielzahl an Enzymen katalysiert und läuft sowohl im cytosolischen Teil der Bakterienzelle, als auch auf der Außenseite der Bakterienmembran ab. Derzeit stehen jedoch überwiegend Antibiotika zur Verfügung, die die extrazellulären Schritte der Biosynthese beeinflussen.^[18,66] Für die intrazellulären Schritte sind bisher nur wenige Antibiotika etabliert, weshalb diese weiteres Potenzial für die Entwicklung neuer antibiotischer Substanzen bieten.^[74]

Eine andere Art der Einteilung der Antibiotika kann nach der chemischen Substanzklasse erfolgen. Diese sind in Tabelle 2.1 zusammen mit dem Jahr ihrer Einführung, ihrer Herkunft, einem jeweiligen Vertreter der Klasse sowie dem entsprechenden Target-Prozess aufgelistet.^[18,68]

2.2 Bakterielle Zellwand und Peptidoglycan-Biosynthese

Die Bakterienzellen werden von einer Zellwand umgeben, die für ihr Überleben essenziell ist. Zum einen gibt die Zellwand der Bakterienzelle ihre äußere Form und zum anderen bietet sie Schutz vor mechanischer Beschädigung durch äußere Einflüsse und der eigenen Lyse durch Ausgleich des osmotischen Druckes zwischen Zelle und dem äußeren Medium (Innendruck teilweise 500-2000 kPa).^[75] Der Aufbau der Zellwand unterscheidet sich stark zwischen verschiedenen Bakterien. Mit Hilfe der Gram-Färbung können die unterschiedlichen Bakterien anhand ihrer Färbung in Gram-positive und Gram-negative Bakterien eingeteilt werden.^[76] Die Zellwände aller Bakterien bestehen aus Peptidoglycan (Abb. 2.2), welches in Gram-positiven Bakterien eine Schichtdicke von 15 nm bis 80 nm aufweist und damit ein vielfaches dicker ist als die der Gram-negativen Bakterien mit einer Schichtdicke von 6 nm bis 9 nm. Gram-negative Bakterien besitzen eine zusätzliche äußere Lipidmembran, die für die erschwerte Aufnahme von hydrophilen Substanzen verantwortlich ist, was außerdem anteilig zu verstärkter Antibiotika-Resistenz führen kann.^[75-78] Angesichts der essenziellen Funktion des Peptidoglycans bietet sich die Peptidoglycan-Biosynthese als potentiellies Angriffsziel für Antibiotika an. Die polymere Struktur des Peptidoglycans resultiert aus der alternierenden Verknüpfung der Saccharideinheiten *N*-Acetylglycosamin (GlcNAc) und *N*-

Acetylmuraminsäure (MurNAc) über die β -1,4-Positionen (Abb. 2.2). Für die weitere Quervernetzung dieser Polymerketten sorgen Peptidseitenketten an der Muraminsäure. Die Abfolge der Aminosäuren kann je nach vorliegendem Mechanismus variieren, wobei am häufigsten eine Sequenz aus L-Alanyl- γ -D-glutamyl-X-D-alanyl-D-alanin in einer unverknüpften Monomereinheit vorzufinden ist. In Gram-positiven Bakterien steht das X überwiegend für L-Lysin und in Gram-negativen Bakterien befindet sich in dieser Position meist *meso*-Diaminopimelinsäure (Abb. 2.2). Die Quervernetzung zum vollständigen Peptidoglycan erfolgt zwischen der Carboxylgruppe von D-Alanin in der 4-Position und der Aminofunktion von der jeweiligen Aminosäure (X) in der 3-Position. Die Verknüpfung kann direkt, oder über eine kurze Peptidsequenz erfolgen, wobei die Abfolge und Anzahl der verbrückenden Aminosäuren je nach betrachtetem Organismus variieren kann. Zudem kommt es während der Verknüpfung zu einer Abspaltung der terminalen D-Alanin-Einheit.^[77,79–84]

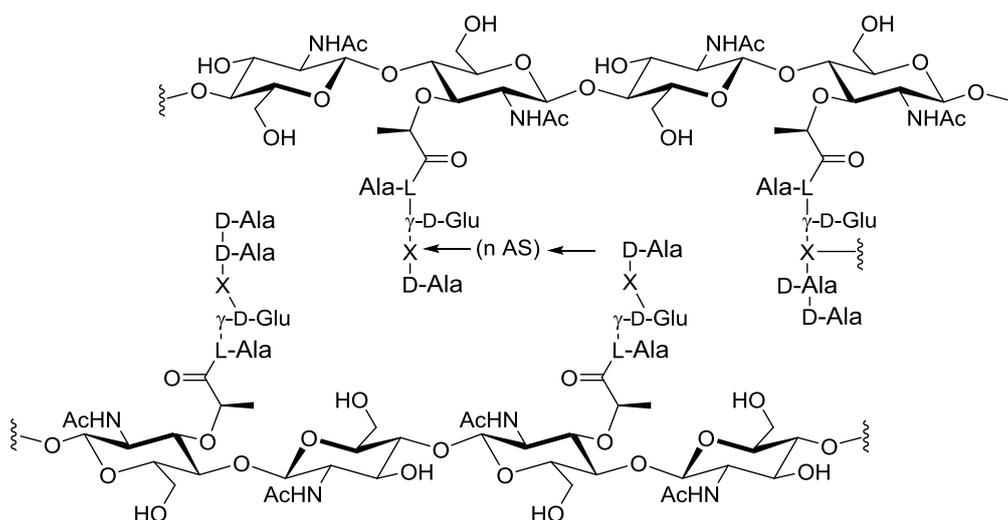


Abb. 2.2 Molekularer Aufbau des Peptidoglycans (Peptidseitenkette variabel, meist X: L-Lysin respektive *meso*-Diaminopimelinsäure, n AS: Anzahl der verbrückenden Aminosäuren).^[84,85]

Bei der Biosynthese des Peptidoglycans handelt es sich um einen mehrstufigen Prozess, welcher durch zahlreiche Enzyme (ca. 20) katalysiert wird. Der gesamte Ablauf der Biosynthese kann in drei Abschnitte eingeteilt werden: intrazellulär (Abb. 2.4 A), Membran-gebunden (Abb. 2.4 B-D) und extrazellulär (Abb. 2.4 D, F). Beginnend im Cytosol wird im ersten Abschnitt ausgehend von Fructose-6-phosphat das Uridindiphosphat-*N*-acetylglucosamin-Pentapeptid (UDP-MurNAc-Pentapeptid) gebildet (Abb. 2.4 A). Das Fructose-6-phosphat wird dabei zunächst durch die Enzyme GlmS, GlmM und GlmU über vier Schritte in das UDP-GlcNAc überführt (Abb. 2.3). Dieses wird dann in einer zweistufigen Reaktion durch die Enzyme MurA und MurB in das UDP-MurNAc überführt, wobei im ersten

Schritt die Addition eines Enolpyruvat-Restes an die 3-Hydroxyfunktion durch MurA und im zweiten Schritt die Reduktion zum Lactat-Rest durch MurB katalysiert wird. Der schrittweise Aufbau zum UDP-MurNAc-pentapeptid wird durch die Enzyme MurC bis MurF katalysiert (Abb. 2.4 A).

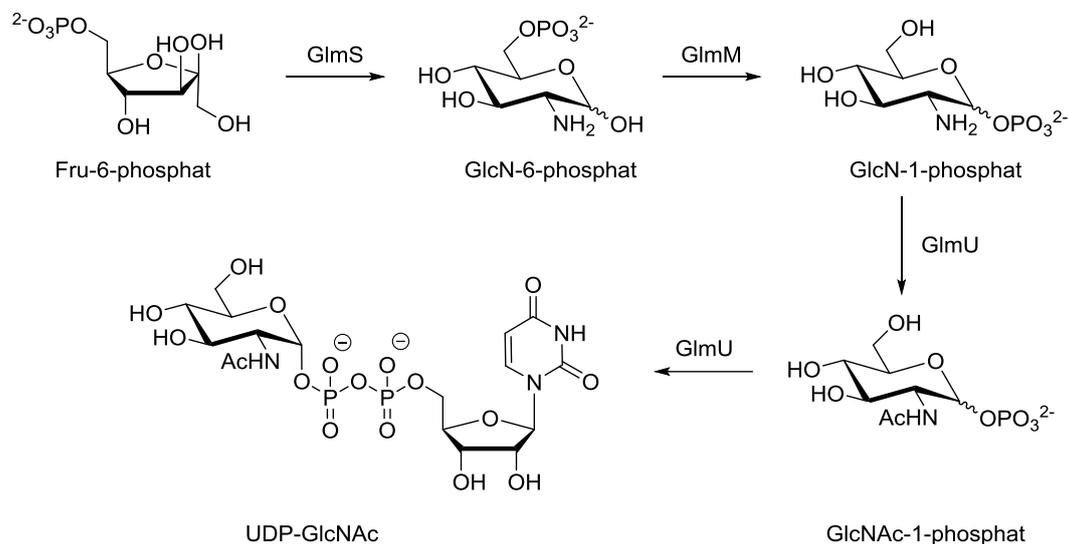


Abb. 2.3 Enzymatische Bildung von Uridindiphosphat-GlcNAc im Cytoplasma.^[84]

Im zweiten Abschnitt wird das gebildete Pentapeptid an einen membranständigen Akzeptor, das Undecaprenylphosphat, gebunden und im Anschluss mit einer GlcNAc-Einheit verknüpft (Abb. 2.4 B, C). Die Bindung an die Membran wird durch das Enzym *MraY* katalysiert und bringt dabei das sogenannte Lipid I (Undecaprenylpyrophosphoryl-MurNAc-Pentapeptid) hervor (Abb. 2.4 B). Dieses wird durch das Enzym *MurG* mit der GlcNAc-Einheit verbunden, wobei das Lipid II gebildet wird (Abb. 2.4 C). Nach dem Transport des membrangebundenen Monomers durch die Lipid-Doppelschicht zur Außenseite der Membran und der Abspaltung vom membranständigen Undecaprenyldiphosphat (Abb. 2.4 D), erfolgt der finale Abschnitt, indem die Polymerisationsreaktion der einzelnen Monomere und die Quervernetzung der Peptidseitenketten stattfindet (Abb. 2.4 F).^[80–83,86] Der Transport von Lipid II auf die Außenseite der Membran konnte noch nicht vollständig aufgeklärt werden. Es wird vermutet, dass dieser Schritt durch eine Flippase katalysiert werden könnte.^[81,87–89] Die auf der Außenseite der Membran ablaufende Polymerisationsreaktion der einzelnen Disaccharid-Bausteine findet mithilfe einer Glycosyltransferase (Glycosyltransferase-peptidoglycan-Polymerisation GT_{PGP}) statt. Dabei wird durch Einfluss von Pyrophosphatasen das membrangebundene Undecaprenyldiphosphat abgespalten. Die vollständige Bildung des Peptidoglycans resultiert aus der Verknüpfung der Peptidseitenketten durch eine

Transpeptidase. Die dritte Aminosäure der ersten Kette wird jeweils mit der vierten Aminosäure der zweiten Kette verbunden, wobei eine terminale D-Alanin-Einheit der zweiten Kette abgespalten wird.

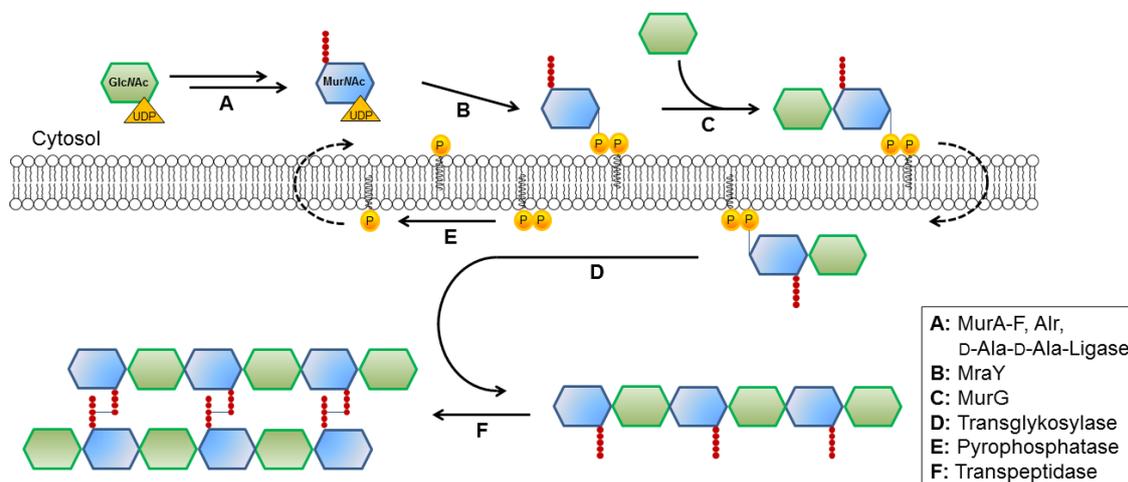
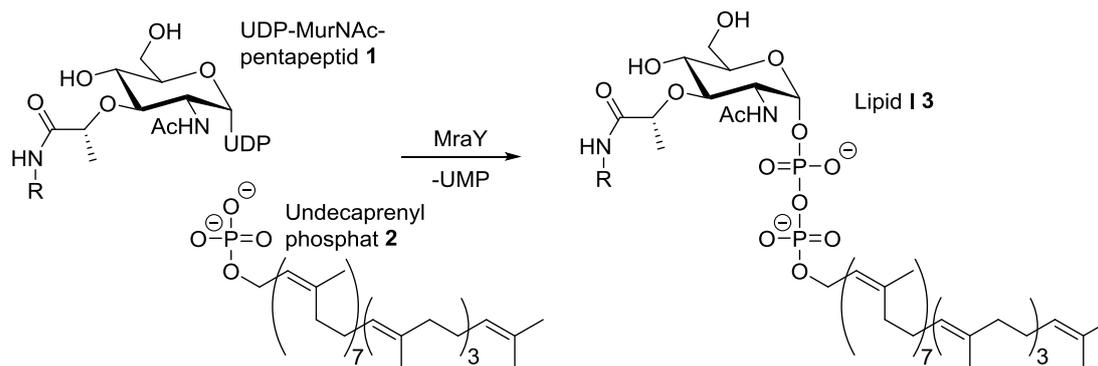


Abb. 2.4 Schematische Darstellung der Peptidoglycan-Biosynthese (nach: S. Koppermann, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 769-795.^[90]).

Eine Vielzahl von Antibiotika, darunter auch die bekannten Penicilline, wirken gegen die extrazellulären Schritte der Zellwandbiosynthese. Die intrazellulären Schritte wurden bislang wenig betrachtet, bieten aber somit großes Potenzial im Hinblick auf die Adressierung neuer Targets durch neue selektive Antibiotika.

2.3 Das bakterielle Enzym MraY

Die Translocase I (Uridindiphosphat-*N*-acetylmuramoyl-Pentapeptid:Undecaprenylphosphat Phospho-*N*-acetyl-muramoyl-Pentapeptid-Transferase, MraY) verankert den im Cytosol gebildeten Precursor UDP-MurNAc-Pentapeptid **1** mit dem membrangebundenen Undecaprenylphosphat **2** (C_{55} -Isoprenoid-Lipidcarrier) unter Freisetzung von Uridinmonophosphat (UMP).^[91] Als Produkt geht das Undecaprenylpyrophosphoryl-MurNAc-Pentapeptid **3** (Lipid I) aus der Reaktion hervor (Abb. 2.5).^[92,93]



R = L-Ala- γ -D-Glu-X-D-Ala-D-Ala-OH
 X = L-Lys oder *meso*-Diaminopimelinsäure

Abb. 2.5 MraY-katalysierte Reaktion zur Bildung von Lipid I 3 (nach: S. Koppermann, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 769-795.^[90]).

In den 1960er Jahren wurde von *Heydanek, Neuhaus* et al. ein möglicher zweistufiger Mechanismus zur beschriebenen Reaktion postuliert. Dabei wurde die Reaktion mit Isotopenmarkiertem UMP durchgeführt, wobei ein Austausch des markierten UMP mit dem natürlichen UMP des UDP-MurNAc-Pentapeptids in Abwesenheit des Undecaprenylphosphats beobachtet werden konnte. Der erste mechanistische Schritt sollte die Bildung eines Enzym-Substrat-Komplexes unter Abspaltung von UMP sein. Im zweiten Schritt erfolgt die Bildung des Lipids I durch Reaktion mit dem Undecaprenylphosphat, wobei es zur Freisetzung des Enzyms kommt (Abb. 2.6). In weiteren kinetischen Untersuchungen wurde zudem die Reversibilität der Reaktion ermittelt. Außerdem wurde auch die Notwendigkeit des Mg^{2+} -Cofaktors für den Ablauf der Reaktion bestätigt.^[91,94–96]

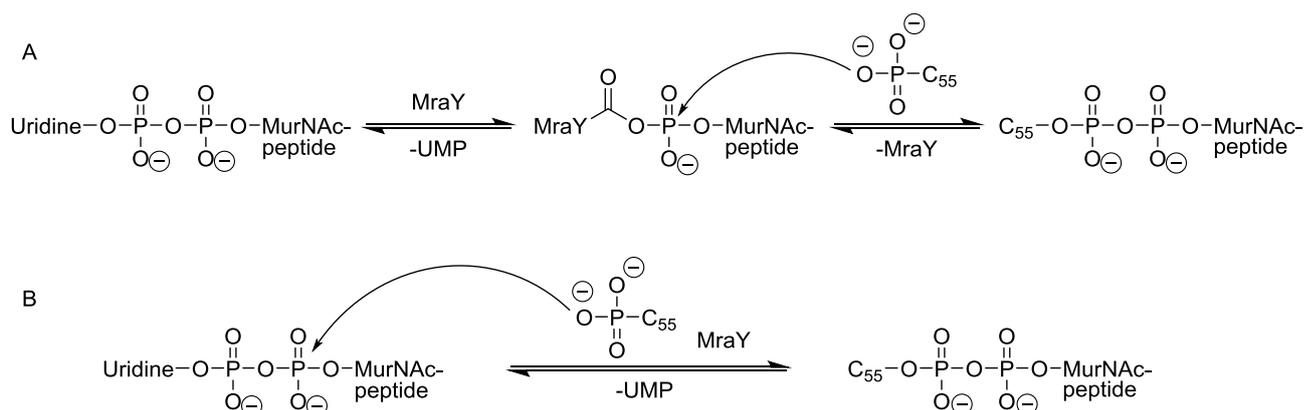


Abb. 2.6 Postulierte Mechanismen der durch MraY katalysierten Reaktion: A: zweistufiger Mechanismus nach Heydanek^[95] B: einstufiger Mechanismus nach Bouhss^[97] (nach: S. Koppermann, aus: Wiegmann et al., *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 769-795.^[90]).

In späteren Arbeiten von *Bouhss* und Mitarbeitern konnte die Interaktion des Mg^{2+} -Cofaktors mit dem Asp 265 beobachtet werden. Die Aminosäure Asp 117 sollte nach Deprotonierung die

Koordination des Undecaprenylphosphats übernehmen. Zudem konnte eine kovalente Bindung zu gereinigtem *MraY* ausgeschlossen werden, wodurch es zu der Annahme kam, dass es sich um einen einstufigen Mechanismus handeln muss (Abb. 2.6).^[97,98]

Das Gen *mraY* (in *E. coli*), welches für die Expression von *MraY* verantwortlich ist, wurde von *Ikeda* und Mitarbeitern im Jahr 1991 identifiziert. Die Überexpression des Genabschnitts führte zu einer erhöhten Aktivität von *MraY*.^[99] *Boyle* und *Donarchie* konnten durch Inaktivierung des Gens von *E. coli* die Expression des *MraY*-Enzyms herabsetzen, was das Anschwellen der Zelle und ihre Lyse zur Folge hatte. Damit konnte nachgewiesen werden, dass es sich bei *MraY* um ein essenzielles Enzym der Peptidoglycan-Biosynthese handelt.^[100] Die erste membranfreie Isolierung und die weitere Charakterisierung erfolgten durch *Bouhss* und Mitarbeiter im Jahr 2004.^[101] Im Jahr 2011 wurde die zellfreie Expression von *MraY* aus *E. coli* und *B. subtilis* von *Bernhard* und Mitarbeitern beschrieben.^[102] Weitere Arbeiten zur Expression von *MraY* erfolgten im Jahr 2016 von *Heinrich* und Mitarbeitern.^[103]

Das aktive Zentrum von *MraY* wurde erstmals von *Bugg* und Mitarbeitern genauer untersucht, wobei sie durch Vergleich von bereits bekannten transmembranen Translocase-Enzymen (Superfamilie der Polyisoprenylphosphat-*N*-acetyl-hexosamin-1-phosphattransferasen (PNPT)) drei konservierte Aminosäuren (Asp 115, Asp 116, Asp 267 in *E. coli*) identifizieren konnten, die für die Koordination der in der enzymatische Reaktion beteiligten Substrate verantwortlich gemacht werden könnten. Dabei sollten die Aminosäuren Asp 115 und Asp 116 für die Chelatisierung des Mg^{2+} -Cofaktors verantwortlich sein, welcher die Bindung des UDP-MurNAc-Pentapeptids über das Diphosphat ermöglichen sollte. Die dritte Aminosäure Asp 267 agiert als Nucleophil und greift das Pyrophosphat des chelatisierten Substrates an, wobei Uridinmonophosphat (UMP) abgespalten wird und es zu einer simultanen Übertragung des 1-phosphorylierten-MurNAc-Pentapeptids kommt.^[104] Im Gegensatz dazu wurde von *Bouhss* et al. beschrieben, dass die Aminosäure Asp 117 (Asp 115 in *E. coli*) für die Deprotonierung des Undecaprenylphosphates verantwortlich ist, wodurch im Anschluss ein direkter nucleophiler Angriff auf das UDP-MurNAc-pentapeptid stattfinden kann.^[97] In späteren Studien konnten diese Erkenntnisse bestätigt werden. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass die Aminosäure Asp 265 mit dem Mg^{2+} -Cofaktor interagiert und nicht, wie vorher angenommen, für die Koordination des UDP-MurNAc-Pentapeptids zuständig ist. Zusätzlich konnte eine weitere für die Aktivität essenzielle Aminosäure, His 324, identifiziert werden.^[105]

Von einem ersten zweidimensionalen Topologie-Modell von *MraY* wurde im Jahr 1999 von *van Heijenoort* und Mitarbeitern berichtet. Das Modell konnte aus der Primärstruktur von *MraY* aus *E. coli* und *S. aureus* abgeleitet werden. Demnach handelt es sich bei *MraY* um ein

Transmembranprotein, das aus insgesamt zehn Transmembran-Segmenten besteht. Die einzelnen Segmente sind dabei über fünf cytoplasmatische und sechs periplasmatische Loops verbunden, wobei *C*- und *N*-Terminus auf der periplasmatischen Seite zu finden sind.^[106] Eine Verfeinerung des Modells konnte nach dem Erhalt der ersten Kristallstruktur im Jahr 2013 von *Lee* und Mitarbeitern durchgeführt werden (Abb. 2.7). Demnach sind drei periplasmatische Domänen vorhanden, welche in Form einer periplasmatischen Grenzflächenhelix (IH), eines periplasmatischen β -Hairpins (PB) und einer periplasmatischen Helix (PH) beschrieben werden.^[105]

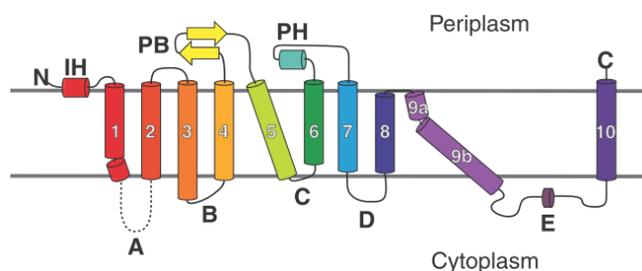


Abb. 2.7 Topologisches Modell für das MraY-Enzym aus *A. aeolicus* (aus: B. C. Chung, *Science* **2013**, *341*, 1012–1016.^[105]).

Die Kristallisation des Enzyms konnte mit MraY aus *Aquifex aeolicus* (MraY_{AA}), einem extremophilen marinen Bakterium, erreicht werden. Die erhaltene Kristallstruktur implizierte, dass das Enzym im Kristall als asymmetrisches Dimer vorliegt. Diese Symmetrie wurde zudem in Vernetzungsstudien an Detergenz-Mizellen und Lipidmembranen untersucht und auch in diesem Fall bestätigt, was für eine Interaktion der Enzyme untereinander sprechen könnte.^[105] Zudem wurden die Größe und der allgemeine strukturelle Aufbau beschrieben, wobei die Anwesenheit der bereits bekannten Strukturmerkmale von periplasmatischen und cytoplasmatischen Segmenten bestätigt werden konnte. Bei Betrachtung des Dimers von periplasmatischer bzw. cytoplasmatischer Seite wird ein Tunnel im Zentrum sichtbar. Im Inneren des Tunnels sind überwiegend hydrophobe Aminosäuren vorzufinden. Diese scheinen essenziell für die Aktivität des Enzyms zu sein, was aus früheren Mutationsstudien an einzelnen Membransegmenten von *Bouhss* und Mitarbeitern hervorging. Insgesamt wurden 14 essenzielle Aminosäuren entdeckt, wobei ein Großteil dieser Aminosäuren im beschriebenen Tunnel lokalisiert werden konnte. Die Form und Größe des Tunnels sollten für die Aufnahme von Lipiden geeignet sein, was für die Lage des aktiven Zentrums sprechen würde.^[97,105]

In weiterführenden Studien aus dem Jahr 2016 gelang es *Lee* und Mitarbeitern einen Cokristall aus MraY_{AA} und dem Nucleosid-Antibiotikum Muraymycin D2 (vergl. Abb. 2.8), welches gute inhibitorische Aktivitäten gegenüber aufgereinigtem MraY von *B. subtilis* zeigte,^[101] zu erhalten und röntgenkristallographisch zu vermessen.^[107–109] Auch im Cokristall konnte die

dimere Struktur des Enzyms, wie sie bereits für das Apoprotein beschrieben wurde, vorgefunden werden. Bei der Bindung des Liganden konnte die Bindungstasche des Inhibitors auf cytosolischer Seite lokalisiert werden, in der keine Wechselwirkung mit den als katalytisch wichtig angesehenen Aspartat-Resten beobachtet werden konnte. Vorherige Annahmen, die Aminoribose sei ein Mimetikum des Pyrophosphats und sollte deshalb an den als katalytisch wirksam identifizierten Aminosäure-Resten binden, konnten somit widerlegt werden. Ergänzend war auch der Mg^{2+} -Cofaktor nicht an der Bindung des Liganden beteiligt. Allerdings führte die Bindung zu einer erheblichen Konformationsänderung („Öffnung des Tunnelleingangs“), was vor allem durch die Bildung einer Bindungstasche aufgrund der Wechselwirkung der 5'-Aminoribose-Einheit sowie der Nucleobase des Uridins hervorgerufen wurde. Zusammenfassend lassen sich für die Substrate als auch für die Inhibitoren der Enzymreaktion unterschiedliche Bindungsstrategien aufstellen, welche sich aus der beschriebenen konformationellen Plastizität von *MraY* ergeben. Dies würde auch die inhibitorische Aktivität von einer Vielzahl strukturell unterschiedlicher Nucleosid-Antibiotika erklären.^[108,110,111]

In einer aktuellen Studie von *Ek* und *Johansson* wurde von einer weiteren Kristallstruktur von *MraY* aus dem Bakterium *Clostridium bolteae* (*MraY_{CB}*) im Komplex mit dem Nucleosid Antibiotikum Tunicamycin berichtet, wobei entsprechend zum *MraY_{AA}* eine dimere Struktur mit ähnlicher Faltung vorgefunden wurde. Dabei konnte eine weitere Helix identifiziert werden, die einen amphiphilen Charakter aufweist und zudem die cytoplasmatische Öffnung des bereits beschriebenen Tunnels formt.^[112,113] Auch bei der Bindung von Tunicamycin erfolgte eine erhebliche konformationelle Umlagerung der Enzymstruktur, wobei ein ähnlicher Bindungsmodus wie bei Muraymycin D2 beobachtet werden konnte.^[114]

Erste Studien über die Inhibition von *MraY* wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen mit nicht-klinischen Antibiotika durchgeführt, wobei in den verwendeten Assays ausschließlich Membranpräparationen von *MraY* genutzt wurden.^[99,110,115–117]

Aufgrund der essenziellen Funktion von *MraY* in der Peptidoglycan-Biosynthese zeichnet es sich als vielversprechendes Target für selektive Antibiotika aus. Die ersten Forschungen zur inhibitorischen Aktivität gegenüber *MraY* erfolgten an der Substanzklasse der Nucleosid-Lipopeptid-Antibiotika, zu denen neben den bereits genannten Muraymycinen^[90,116] und Tunicamycinen^[110,112,113,118], unter anderem auch die Mureidomycine,^[110,119] die Liposidomycine^[110,120] und die Capuramycine^[121,122] gehören. Eine weitere Erforschung dieser Substanzklassen sollte das Verständnis der Inhibition von *MraY* verbessern und im Anschluss die Entwicklung neuartiger Antibiotika unterstützen.

2.4 Muraymycine

Die Muraymycine, die der Klasse der Nucleosid-Lipopeptid-Antibiotika angehören, wurden 2002 von *McDonald* und Mitarbeitern aus dem *Streptomyces*-Stamm LL-AA869 isoliert.^[116]

Die Strukturen der 19 isolierten Verbindungen konnten mittels 1D- und 2D-NMR-Spektroskopie sowie FT-Massenspektrometrie vollständig aufgeklärt werden.

Die Kernstruktur der Muraymycine ist die (5'S,6'S)-Nucleosyl-Aminosäure, bestehend aus Uridin und der Aminosäure Glycin (Abb. 2.8). Die 5'-Position des Uridins ist zudem *O*-glycosidisch mit einer Aminoribose verknüpft. Ausnahmen sind hier die Muraymycine A5 und C4, welche eine freie Hydroxy-Funktion in der 5'-Position aufweisen. An der 6'-Position ist die Nucleosyl-Aminosäure über einen Propyl-Linker an die Aminosäure L-Leucin gebunden. Anhand der An- oder Abwesenheit einer Funktionalität in 3-Position des Leucins lassen sich die Muraymycine in vier Serien, A bis D, einteilen (Abb. 2.8). In den Serien A und B ist eine 3-Hydroxy-L-Leucin-Einheit vorhanden, wobei die Hydroxygruppe in der A-Serie mit Guanidin- oder Hydroxyguanidin-funktionalisierten Fettsäure-Seitenketten und in der B-Serie mit terminal verzweigten, unfunktionalisierten Fettsäure-Seitenketten verestert ist. In der C-Serie liegt eine freie Hydroxyfunktion in 3-Position vor und in der D-Serie ist keine Funktionalität vorhanden. Die L-Leucin-Einheit ist peptidisch mit der nicht-proteinogenen Aminosäure Epicapreomycinin, einem cyclischen Arginin-Derivat, verknüpft. Am terminalen Ende befindet sich L-Valin, das über eine Harnstoff-Einheit mit dem Epicapreomycinin verbunden ist (Abb. 2.8).^[116] In einer aktuellen Studie aus dem Jahr 2018 berichten *Van Lanen, Ducho* und Mitarbeiter von der Entdeckung von drei neuartigen Muraymycinen.^[123] In ihren Arbeiten konnten insgesamt neun Muraymycine isoliert werden. Darunter waren die bereits bekannten Muraymycine A1, B1, B2, B3, B6 und C1 (Abb. 2.8), aber auch die drei neuartigen Muraymycine B8, B9, und C6, welche auf Basis ihrer strukturellen Merkmale ihrer Serie zugeordnet wurden (Abb. 2.8). Dementsprechend besitzen die beiden neuen B-Serien-Muraymycine eine nicht-funktionalisierte, aber terminal verzweigte Seitenkette, wobei im Fall des Muraymycins B8 eine Alkylkette mit 15 und beim Muraymycin B9 eine Alkylkette mit 13 Kohlenstoffatomen vorgefunden wurde. Das Muraymycin C6 ähnelt dem Muraymycin C1, allerdings ist das primäre Amin der Aminoribose durch einen Acetyl-Rest maskiert.^[123]

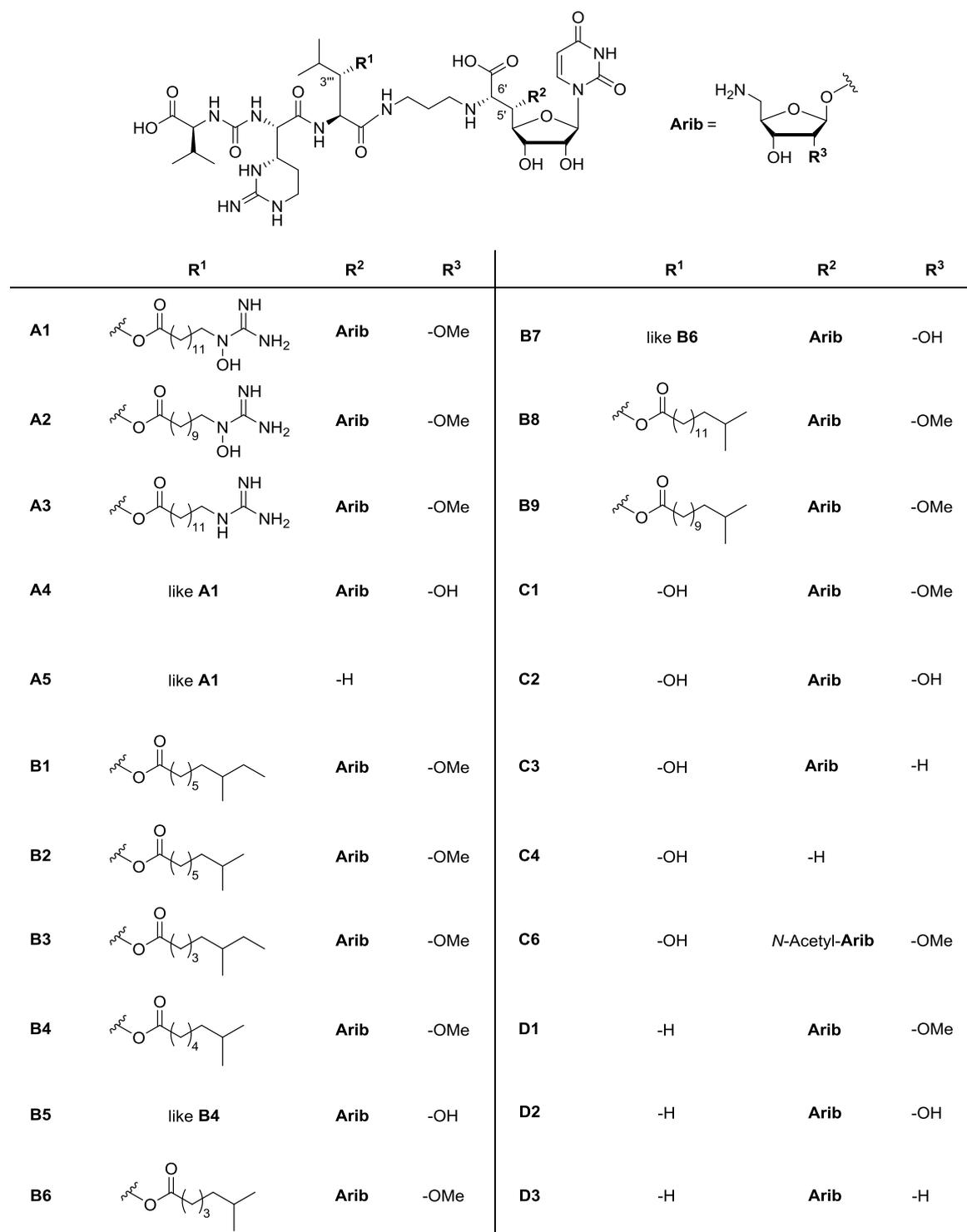


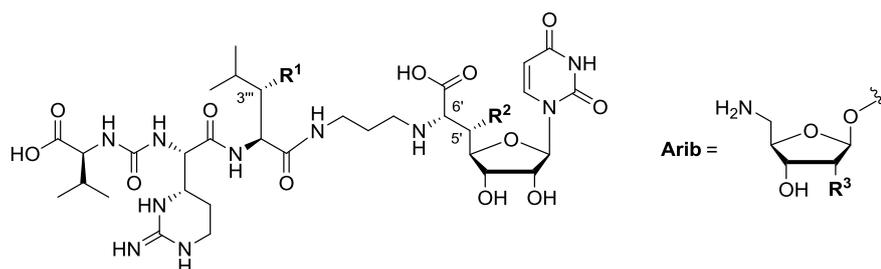
Abb. 2.8 Grundstruktur der natürlich vorkommenden Muraymycin-Derivate.^[116,90,123]

Neben der Entdeckung der Muraymycine konnten *McDonald* und Mitarbeiter inhibitorische und antibiotische Aktivität für die Muraymycine nachweisen. Dabei konnten fünf Muraymycine (A1, A5, B6, C2 und C3) die Bildung von Lipid II und Peptidoglycan in Konzentrationen von 0.027 µg/mL inhibieren. Weiterhin wurden antibiotische Aktivitäten gegenüber einigen Gram-positiven und Gram-negativen Bakterienstämmen nachgewiesen.

Dabei wurden MIC-Werte (minimal inhibitory concentration) gegen Staphylokokken von 2 bis 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, bei Enterokokken von 16 bis $>64 \mu\text{g}/\text{mL}$ und bei Gram-negativen Bakterien zwischen 8 bis $>64 \mu\text{g}/\text{mL}$ nachgewiesen. Erste Erkenntnisse über die Funktion des Restes an der 3-Position der L-Leucin-Einheit konnten durch den Vergleich der antibiotischen Aktivitäten von vier Muraymycinen (A1, B6, C1 und D1) mit identischem Aminoribose-Rest gewonnen werden. Die MIC-Werte wurden in diesem Fall gegenüber einer *E. coli*-Mutante bestimmt, die eine verringerte Permeationsbarriere aufwies. Dabei zeigte das Muraymycin A1 mit ω -Hydroxyguanidin-funktionalisierter Seitenkette mit 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ den besten MIC-Wert. Das Muraymycin B6 mit unfunktionalisierter und leicht verkürzter Seitenkette wies mit einem MIC-Wert von 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ eine leicht geringere Aktivität auf. Bei Muraymycin C1 mit Hydroxygruppe und Muraymycin D1 ohne Funktionalisierung konnte ein deutlicher Verlust der antibiotischen Aktivität mit einem MIC-Wert von jeweils 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ verzeichnet werden. Diese Daten zeigten deutlich, dass die Seitenkette einen beachtlichen Einfluss auf die antibiotische Aktivität ausübt. Im Vergleich von Muraymycin A1 und B6 und unter Vernachlässigung der Kettenlänge scheint auch die Hydroxyguanidin-Funktionalität zur antibiotischen Aktivität beizutragen. Zudem zeigten die insgesamt geringeren MIC-Werte gegenüber der *E. coli*-Mutante deutlich an, dass die zelluläre Aufnahme für die antibiotische Aktivität notwendig war.^[116]

Erst im Jahr 2018 folgten weitere ausführliche SAR-Studien von *Ducho, Van Lanen* und Mitarbeitern, in denen die Muraymycine auf ihre inhibitorischen (gegenüber *MraY*) und antibiotischen Aktivitäten untersucht wurden.^[123,124] Dabei wurden die inhibitorischen Aktivitäten der Muraymycine mit einem fluoreszenzbasierten *MraY*-Assay bestimmt, in welchem überexprimiertes Enzym aus den Bakterienstämmen *S. aureus* (Membranpräparation), *A. aeolicus* und *C. bolteae* (gereinigt, solubilisiert) verwendet wurde. Die Resultate der durchgeführten Messungen sind für einige Vertreter der jeweiligen Klasse in Tabelle 2.2 zusammengefasst, wobei zur besseren Übersicht auf die Auflistung der Resultate mit *MraY* aus *C. bolteae* verzichtet wurde. Die Größenordnungen der erhaltenen IC_{50} -Werte variierten je nach verwendetem Enzym und lagen für die A-, B- und C-Serien-Muraymycine im ein- bis zweistelligen (MraY_{SA}) bzw. im zwei- bis dreistelligen (MraY_{AA}) picomolaren Bereich.

Tab. 2.2 Inhibitorische (gegenüber *MraY*) und antibiotische Aktivitäten einiger natürlicher Muraymycine (mit dem 5'-Desoxy-Analogon von Muraymycin C4 als synthetische Referenz, a: gegenüber *E. coli* ΔtolC und DH5 α).^[125,124,123]



	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ [pM] (MraY)		MIC [μg/mL]	
				<i>S. aureus</i>	<i>A. aeolicus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> ^a
A1		Arib	-OMe	27 ± 3	110 ± 20	18	2 / > 32
B2		Arib	-OMe	10 ± 2	110 ± 10	> 32	1 / > 32
B6		Arib	-OMe	21 ± 2	190 ± 20	> 32	1 / > 32
B8		Arib	-OMe	4.0 ± 0.7	68 ± 5	2	4 / 64
B9		Arib	-OMe	22.1 ± 3.2	320 ± 20	6	2 / 32
C1	-OH	Arib	-OMe	16 ± 2	350 ± 40	> 32	1 / > 32
D1	-H	Arib	-OMe	480 ± 130	99 ± 30 nM	> 80	1 / > 32
D2	-H	Arib	-OH	390 ± 110	46 ± 13 nM	> 32	1 / > 32
C6	-OH	N-Acetyl-Arib	-OMe	93 ± 8	1.8 ± 0.4 nM	> 32	16 / 256
5'-Desoxy C4	-OH	-H		95 ± 19 nM	50 % @ 100 μM	> 50	50 / 15

Die geringen Unterschiede der inhibitorischen Aktivitäten bei An- oder Abwesenheit der Fettsäure-Seitenkette weisen darauf hin, dass die Kette selbst vermutlich kaum an der Enzymbindung beteiligt ist. Allerdings wurden bei Abwesenheit der Hydroxygruppe (Muraymycin D1 und D2) deutlich geringere inhibitorische Aktivitäten beobachtet (10^2 bis 10^5 pM). Ein Substituent in 3-Position der Leucin-Einheit könnte somit für eine verbesserte Interaktion mit dem Enzym verantwortlich gemacht werden. Auch für das Vorhandensein eines unterschiedlichen Restes in der Aminoribose konnte beim direkten Vergleich von Muraymycin D1 und D2 kein signifikanter Einfluss auf die Enzyminteraktion festgestellt werden. In der Testung wurde auch das synthetische 5'-Desoxy-Analogon des Muraymycin C4 **9** eingesetzt, welches keine Aminoribose an der Nucleosideinheit aufwies.^[125] Im Vergleich zum

Muraymycin C1 kam es zu einer deutlichen Abnahme der inhibitorischen Aktivität. Dies bestätigte weiterhin die Resultate der bereits erwähnten röntgenkristallographischen Untersuchung, in der eine Schlüsselinteraktion der Aminoribose mit dem Enzym nachgewiesen werden konnte. Im Muraymycin C6 ist die Aminogruppe der Aminoribose durch einen Acetyl-Rest maskiert, wodurch die genannte Schlüsselinteraktion gestört sein könnte, womit auch die vergleichbar geringen inhibitorischen Aktivitäten erklärt werden könnten (Tab. 2.2). Zusammenfassend zeigten die acylierten Muraymycine B8 und B9 im Vergleich zu weiteren synthetischen und natürlichen Muraymycinen mit $IC_{50} = 4\text{-}22\text{ pM}$ (*S. aureus*) bzw. $IC_{50} = 68\text{-}350\text{ pM}$ (*A. aeolicus*) die bisher höchsten inhibitorischen Aktivitäten.

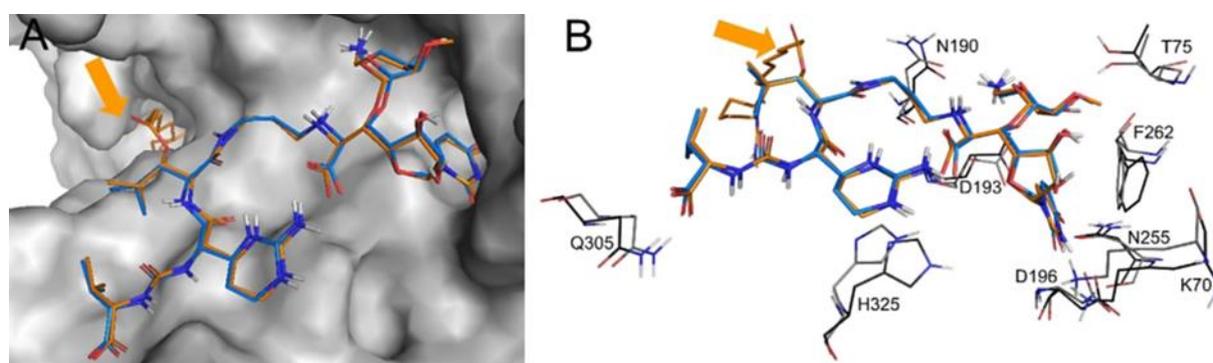


Abb. 2.9 Überlappung von Muraymycin A1 und D2 in Komplex mit MrayAA (D2: Position aus Cokristall, A1: Position nach *in silico* Modelling) (aus: Koppermann et al., *ChemMedChem* **2018**, *13*, 779-784.^[124]).

Im Anschluss wurde eine erste *in silico* Studie unter Verwendung des publizierten Cokristalls aus MrayAA und dem Muraymycin D2 durchgeführt, wobei der Einfluss auf die Enzyminteraktion unter Berücksichtigung der strukturellen Unterschiede der Muraymycine untersucht werden sollte.^[108,124] Ein klassisches Docking mit anderen Muraymycinen konnte nach Entfernung von Muraymycin D2 nicht erfolgreich durchgeführt werden. Aus diesem Grund wurde die Struktur des gebundenen Muraymycins D2 mit Strukturmerkmalen anderer Muraymycine erweitert. Als repräsentatives Beispiel wurde das Muraymycin A1 mit ω -funktionalisierter Fettsäure-Seitenkette gewählt. Nach Energieoptimierung und Überlappung der beiden Strukturen (A1 und D2) wurde eine ähnliche Orientierung der gemeinsamen Strukturmerkmale beobachtet (Abb. 2.9). Für die ω -funktionalisierte Seitenkette von Muraymycin A1 konnte eine Einlagerung in eine hydrophobe Tasche beobachtet werden, wobei jedoch keine ersichtliche Schlüsselinteraktion mit MrayY zu erkennen war.

Die Bestimmung der antibiotischen Aktivitäten durch Messung der minimalen inhibitorischen Konzentrationen wurde an unterschiedlichen Bakterienstämmen durchgeführt. Die Messungen

erfolgten zum einen an einem *S. aureus*-Stamm (Newman Strain), wobei die bereits publizierten Ergebnisse von *McDonald*^[116] tendenziell bestätigt werden konnten. Auffällig gute antibiotische Aktivitäten wurden ausschließlich von den acylierten Muraymycinen A1, B8 und B9 erzielt. Dabei waren die MIC-Werte der Muraymycine B8 und B9 mit 2 µg/mL bzw. 6 µg/mL um das 3- bis 9-fache besser als die des Muraymycins A1 (MIC = 18 µg/mL), welches in den Studien von *McDonald* die höchste Aktivität erreichte. Alle weiteren Verbindungen zeigten nur geringe Aktivitäten gegen *S. aureus* (> 32 µg/mL). Das Vorhandensein einer Fettsäure-Seitenkette mit ausreichender Länge (und ggf. einer terminalen Funktionalität) war somit für eine gute antibiotische Aktivität entscheidend. Da ein Einfluss der Seitenkette auf die Enzymbindung ausgeschlossen wurde, was aus der Analyse der inhibitorischen Aktivitäten gegenüber MraY hervorging, wurde stattdessen eine erleichterte Permeation durch die bakterielle Membran aufgrund der erhöhten Lipophilie der acylierten Muraymycine angenommen.

Weiterhin wurden die antibiotischen Aktivitäten gegenüber verschiedenen *E. coli*-Stämmen ($\Delta tolC$, DH5 α oder BL21(DE3)) untersucht, wobei ausschließlich gegenüber der $\Delta tolC$ -Mutante mit vermindertem Efflux gute antibiotische Aktivitäten für die getesteten Muraymycine nachgewiesen wurden. Anhand dieser Beobachtung wurde angenommen, dass neben einer hinreichenden Zellaufnahme auch der Efflux des Inhibitors einen wichtigen Einfluss auf die antibiotische Aktivität ausübt.

Eine erste Untersuchung zur Biosynthese der Muraymycine wurde durch *Chen, Deng* und Mitarbeiter im Jahr 2011 durchgeführt.^[90,126] Sie konnten den Gencluster zur Bildung der Muraymycine im Streptomyces-Stamm sp. NRRL 30471 identifizieren. Durch Sequenz-Analyse wurden 33 ORFs (*engl.*: open reading frame, *dt.*: Offener Leserahmen) lokalisiert, wobei 26 am Aufbau der Muraymycine beteiligt sind. Anhand dieser Erkenntnisse wurde ein erster Biosyntheseweg zur Darstellung des nicht-acylierten Muraymycins C2 postuliert, welches als Intermediat zum Aufbau von weiteren Muraymycinen angesehen wurde. Des Weiteren wurde auch ein möglicher Biosyntheseweg zum Aufbau des Harnstofftripeptids postuliert, wobei die exakte Biogenese des Epicapreomycidins nicht vollständig aufgeklärt werden konnte.^[126] Weitere Erkenntnisse zum Aufbau der Nucleosyl-Einheit der Muraymycine wurden an dem verwandten Nucleosid-Antibiotikum A-90289 von *Van Lanen* und Mitarbeitern erlangt.^[127] Ihre Ergebnisse führten zur Annahme, dass die frühen Stufen der Biosynthese von verwandten Strukturen ähnlich verlaufen sollten. Dabei konnten sie außerdem Unterschiede zum postulierten Modell von *Chen, Deng* und Mitarbeitern feststellen.^[128] *Van Lanen* und Mitarbeiter konnten in einer weiteren Studie im Jahr 2018 die Biosynthese der ribosylierten

Glycyl-Uridin-Disaccharid-Grundstruktur, welche nicht nur in den Muraymycinen, sondern in mehreren Nucleosid-Peptid-Antibiotika vorkommt, aufklären.^[129] Anhand der erhaltenen Ergebnisse konnte der enzymatische Syntheseweg entwickelt werden. Bei der mehrstufigen Synthese waren sechs Enzyme beteiligt, die vollständig charakterisiert und ihrer jeweiligen Funktion zugeordnet wurden.

2.5 Semisynthetische und synthetische Muraymycin-Analoga

Die ersten Struktur-Aktivität-Beziehungs-Studien (SAR-Studien) zu Muraymycinen wurden durch *Lin et al.* im Jahr 2002 durchgeführt.^[130] Dabei wurde ein semisynthetischer Ansatz verfolgt, indem 16 Analoga ausgehend von dem natürlich vorkommenden Muraymycin C1 synthetisiert wurden. Aus den Aktivitätswerten der natürlichen Muraymycine war bereits bekannt, dass die Fettsäure-Seitenkette an der 3-Hydroxy-Funktion einen gewinnbringenden Effekt auf die antibiotische Aktivität ausübt und aufgrund der erhöhten Lipophilie der gesamten Struktur für eine bessere Zellaufnahme sorgt.^[116,123,124] Ein ähnlicher Effekt wurde demnach durch lipophile Gruppen am primären Amin der Aminoribose in 6'-Position der Nucleosyl-Aminosäure-Einheit sowie am sekundären Amin des Propyl-Linkers angenommen. Unter dieser Annahme wurden in den Arbeiten von *Lin et al.* zum einen monosubstituierte Derivate, in denen ausschließlich die sekundäre Amino-Funktion mit einer Fettsäure-Seitenkette substituiert ist, und zum anderen disubstituierte Derivate, in denen sowohl die sekundäre Amino-Funktion als auch die primäre Amino-Funktion der Aminoribose mit Seitenketten derivatisiert wurden, dargestellt. Anhand der biologischen Daten konnten sie feststellen, dass die Derivatisierung der primären Amino-Funktion zum Verlust der inhibitorischen Aktivität führte und diese deshalb als essenziell für die Aktivität angesehen wurde. Des Weiteren variierten die inhibitorischen Aktivitäten der dargestellten Derivate abhängig vom gebundenen Rest. Dabei konnte die anfänglich gemachte Annahme von erhöhter Aktivität bei erhöhter Lipophilie nur für einige Derivate bestätigt werden. Im Vergleich zu den natürlichen Muraymycinen konnte hier jedoch keine signifikante Steigerung der Aktivität beobachtet werden. Zudem konnte die Vermutung, die Fettsäure-Seitenkette sei für die räumliche Nähe zum Enzym verantwortlich oder besäße sogar selbst antibiotische Eigenschaften, hier nicht weiter aufgeklärt werden.^[130]

Im Jahr 2003 folgte eine weitere SAR-Studie von *Yamashita et al.* anhand von vereinfachten aber totalsynthetisch dargestellten Muraymycin-Derivaten. Zur Vereinfachung wurde die

Epicapreomycin-Einheit durch eine offenkettige Arginin-Einheit ersetzt. In den biologischen Studien konnten antibiotische Aktivitäten für einige verkürzte geschützte Zwischenprodukte gegenüber einigen Gram-positiven Bakterien ermittelt werden. Gegenüber Gram-negativen Bakterien konnten keine Aktivitäten nachgewiesen werden. Ebenso zeigten vollständig geschützte und entschützte Analoga keine Aktivität.^[131] Die erhaltenen Resultate von Yamashita et al. müssen insgesamt kritisch betrachtet werden, da diese in noch unpublizierten Ergebnissen der Arbeitsgruppe Ducho widerlegt werden konnten.^[132]

Eine erste Totalsynthese des nicht-acylierten Muraymycins D2 und seines Epimers wurde im Jahr 2010 von Ichikawa, Matsuda und Mitarbeitern veröffentlicht.^[107,133] Dabei diente eine Vier-Komponenten-Ugi-Reaktion als Schlüsselschritt für die Darstellung von Muraymycin D2 **4a** und seines Epimers *epi-4a* (bezogen auf das Stereozentrum der Leucin-Einheit, Abb. 2.10). In Vorarbeiten zur geplanten Vier-Komponenten-Synthese wurde zunächst die Darstellung des Isonitrils **5** sowie des Epicapreomycin-Bausteins **6** entwickelt.^[107,133] Anschließende Umsetzung der beiden Verbindungen mit Dimethoxybenzylamin **7** und Isovaleraldehyd **8a** und folgende globale Entschützung führte zur Bildung beider Diastereomere. Diese wurden im Anschluss mittels HPLC voneinander getrennt.^[107] Der beschriebene Ansatz wurde später auch zur Synthese acylierter Analoga verwendet.^[134,135] Einziger Unterschied zur beschriebenen Reaktion war der Einsatz von verschiedenen Aldehyden **8b-e**, der auch hier zur Bildung der Diastereomerenpaare **4b-e** führte. Anstelle der *O*-acylierten Leucin-Einheit, wie sie in den natürlichen Muraymycinen zu finden ist, wurden auf diese Weise lipophile Alkyl- und Aryl-Aminosäuren in das Muraymycin-Grundgerüst eingefügt (Abb. 2.10). Die dargestellten Verbindungen wurden im Anschluss auf ihre inhibitorischen Aktivitäten gegenüber *MraY* aus *B. subtilis* und antibiotischen Aktivitäten gegenüber verschiedenen Gram-positiven Bakterien (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. faecium*) getestet. Dabei wurden für Muraymycin D2 und sein Leucin-Epimer gute inhibitorische Aktivitäten ($IC_{50} = 0.01 \mu\text{M}$ bzw. $IC_{50} = 0.09 \mu\text{M}$) festgestellt, die antibiotischen Aktivitäten ($MIC > 64 \mu\text{g/mL}$) hingegen waren gering. Die Derivate **4b** mit Pentadecyl-Seitenkette zeigten in den biologischen Untersuchungen die besten inhibitorischen Aktivitäten gegenüber *MraY* ($IC_{50} = 0.33 \mu\text{M}$ bzw. $IC_{50} = 0.74 \mu\text{M}$). Verglichen mit dem Muraymycin D2 und dem Epimer kam es hier zwar zu einer Abnahme der inhibitorischen Aktivität, die antibiotische Aktivität ($MIC = 2-4 \mu\text{g/mL}$ bzw. $MIC = 0.25-4 \mu\text{g/mL}$) wurde jedoch deutlich gesteigert.

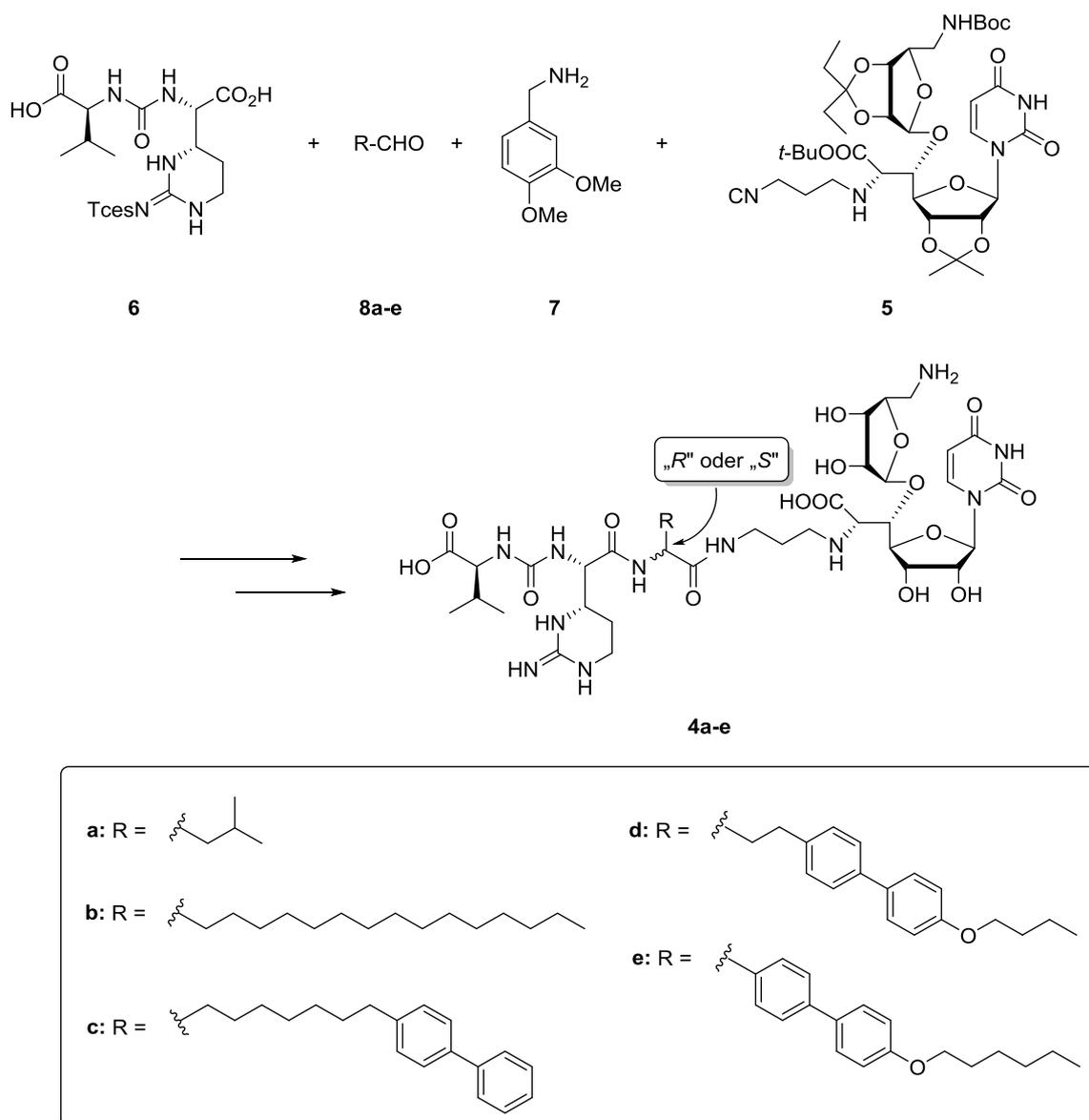


Abb. 2.10 Vier-Komponenten-Ugi-Reaktion als Schlüsselschritt zur Darstellung von Muraymycin D2 **4a** und verschiedener lipophiler Muraymycin-Derivate **4b-e**.^[107,133–135]

Der Einbau von Fettsäure-Seitenketten mit Biphenyl-Einheit in den Derivaten **4c-e** führte verglichen mit Verbindung **4b** eher zum Verlust der antibiotischen Aktivität. Ebenso konnte ein Verlust der Aktivität für die Verbindungen **4d** und **4e** mit der Biphenyl-Einheit am Anfang der Kette verzeichnet werden, was für die Notwendigkeit einer gewissen Flexibilität der Seitenkette sprechen könnte. Beim Vergleich der Diastereomere untereinander wurde zudem festgestellt, dass die natürlich vorkommende L-Konfiguration zu leicht besseren Aktivitäten führte.^[134,135] In derselben Studie wurden weitere Strukturmerkmale variiert. Zum einen wurde das Epicapreomycin durch verschiedene Aminosäuren (L-Capreomycin, L-Arginin, L-Ornithin) ersetzt, wodurch keine signifikante Änderung der antibiotischen Aktivität beobachtet werden konnte. Zum Anderen führte auch die Vernachlässigung der terminalen L-Valin-

Harnstoff-Einheit zu keiner signifikanten Veränderung der antibiotischen Aktivität (Abb. 2.11).^[135]

Zusammenfassend konnte durch die durchgeführte SAR-Studie, neben der Verkürzung der Peptidkette und dem Austausch des Epicapreomycidins, vor allem die Relevanz der Fettsäure-Seitenkette nachgewiesen werden. Ein genauer Mechanismus zur Inhibition von *MraY* und zur Rolle der Seitenkette, konnte noch nicht aufgeklärt werden. Die Seitenkette wurde entsprechend zu den Ergebnissen der natürlichen Muraymycine (Kapitel 2.4) für den Transport durch die Lipid-Doppelschicht der Bakterienzelle verantwortlich gemacht, was außerdem für die Annäherung zum Enzym sorgen sollte. Allgemein war also auch hier eine höhere Lipophilie der Muraymycin-Analoga für die Zellaufnahme vorteilhaft und führte zu besseren antibiotischen Aktivitäten (Abb. 2.11).^[109,134,135]

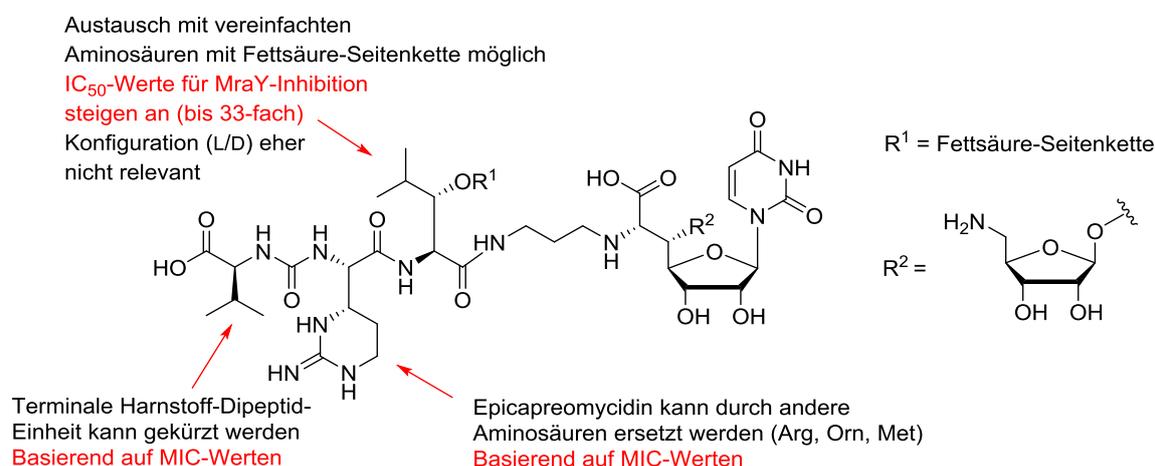


Abb. 2.11 Ergebnisse unterschiedlicher SAR-Studien durch Variation des Muraymycin-Grundgerüsts.^[109,134,135]

Im Jahr 2014 wurden von *Ichikawa*, *Matsuda* und Mitarbeitern Muraymycin-Analoga auf ihre Aktivität gegenüber Gram-negativen *Pseudomonas aeruginosa* untersucht. Dabei zeigten die bereits dargestellten Verbindungen (Abb. 2.10) keine nennenswerten Aktivitäten. Deshalb wurden weitere Muraymycin-Analoga synthetisiert, in denen die Peptidkette beinahe vollständig vernachlässigt wurde, aber verschiedene lipophile und teils funktionalisierte Seitenketten angeknüpft wurden. Als Funktionalität wurde die Guanidin-Gruppe gewählt, die auch in den aktiven Vertretern der natürlichen Muraymycinen der A-Serie zu finden ist. Bei der anschließenden Testung konnten für einige wenige Derivate gute antibiotische Aktivitäten beobachtet werden. Jedoch konnte auch gezeigt werden, dass sowohl die Anwesenheit einer

lipophilen Seitenkette als auch einer Guanidin-Funktionalität ausschlaggebend für die antibiotische Potenz der Verbindungen waren.^[136]

In einer aktuelleren Studie aus dem Jahr 2016 wurde von einer stereoselektiven Totalsynthese des Muraymycins D1 berichtet.^[137,138] Nach erfolgreicher Synthese wurde dieses auf antibiotische Aktivität gegenüber *Mycobacterium tuberculosis* getestet. Dabei konnte ein guter MIC-Wert von 1.56 µg/mL ermittelt werden. Auch die inhibitorischen Aktivitäten an den Enzymen MurX (homolog zu MraY) und WecA, die essenziell in der Biosynthese der Zellwand von *M. tuberculosis* sind, wurden bestimmt und zeigten mit Werten von IC₅₀ = 0.011 µM bzw. IC₅₀ = 0.69 µM ein vielversprechendes Ergebnis im Hinblick auf die Entwicklung neuer Antibiotika gegen *M. tuberculosis*.^[138]

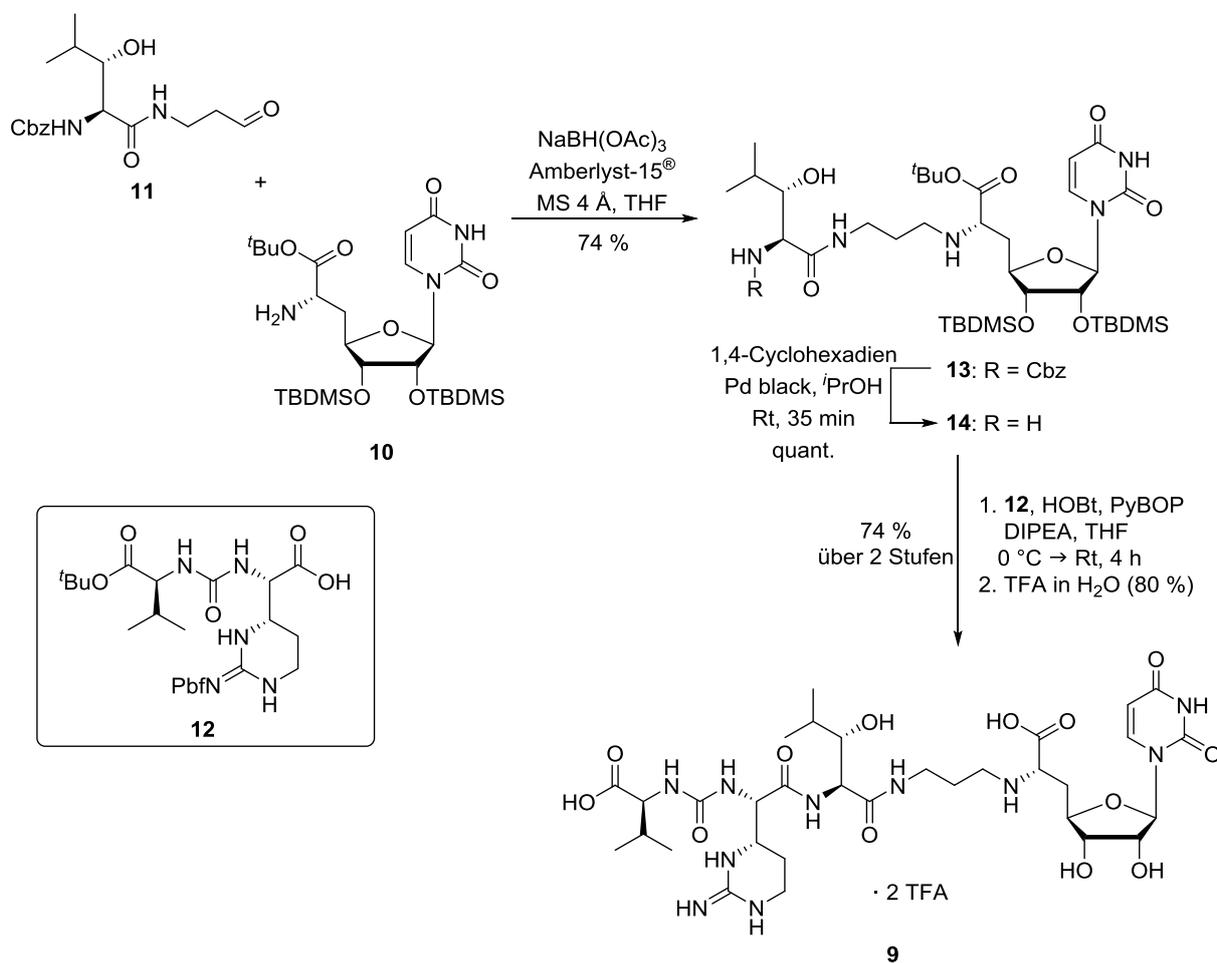


Abb. 2.12 Darstellung des 5'-Desoxy-Analogons **9** von Muraymycin C4.

In der Arbeitsgruppe *Ducho* konnte durch die Arbeiten von Dr. Anatol Spork, Dr. Martin Büschleb und Dr. Oliver Ries ein dreiteiliger Syntheseansatz zur stereokontrollierten Darstellung des Muraymycin-Grundgerüsts entwickelt werden. Dabei wurde das leicht vereinfachte 5'-Desoxy-Analogon **9** von Muraymycin C4 (Abb. 2.12) totalsynthetisch

dargestellt.^[125,139–141] Der dreiteilige Syntheseansatz beinhaltet dabei die Verknüpfung von drei Hauptbausteinen (**10-12**), deren mehrstufige Synthesen ebenfalls in der Arbeitsgruppe *Ducho* etabliert werden konnten. Dazu zählte der (6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure-Baustein **10**, welcher von Dr. Anatol Spork ausgehend von Uridin **15** in einer mehrstufigen Reaktionsequenz synthetisiert wurde. Schlüsselschritte zum Aufbau der Verbindung waren eine Wittig-Horner-Reaktion zwischen Aldehyd **16** und dem Phosphonat **17** und eine folgende asymmetrische Hydrierung von Intermediat **18**. Durch milde Cbz-Entschützung von Verbindung **19** wurde der (6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure-Baustein **10** erhalten (Abb. 2.13).^[140,141]

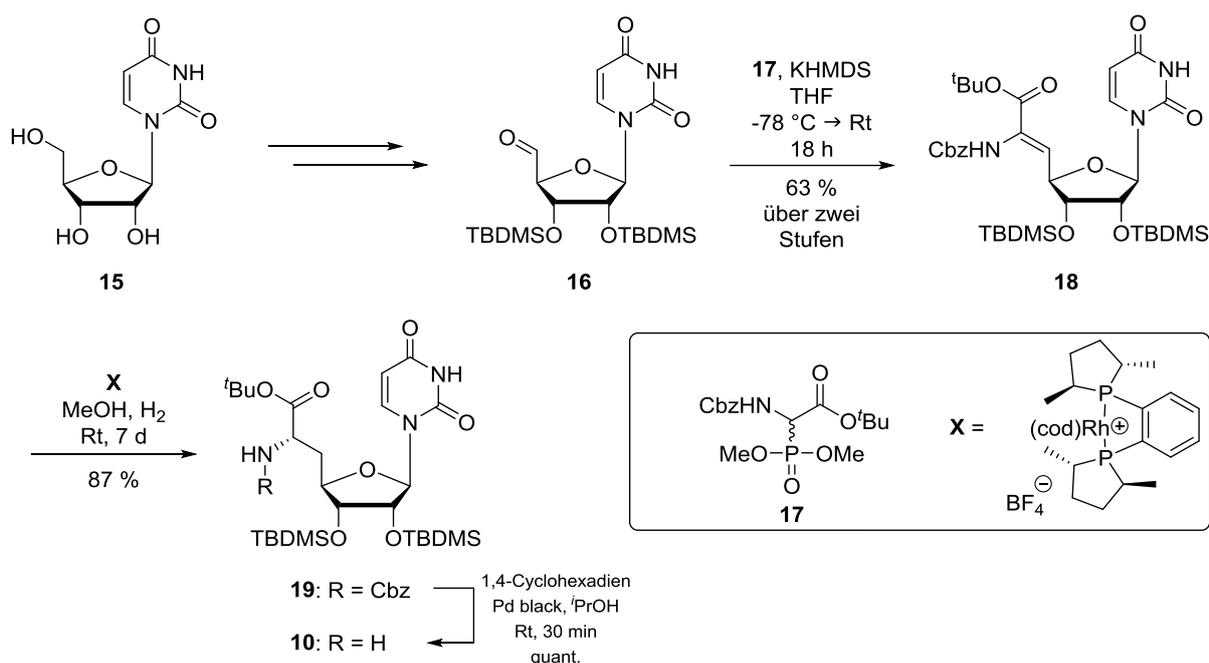


Abb. 2.13 Synthese der (6'*S*)-*N*-Cbz Nucleosylaminosäure **15**.

Die Syntheseroute zum (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** wurde im Arbeitskreis *Ducho* von Dr. Oliver Ries entwickelt.^[125,142,143] Ausgehend vom kommerziell erhältlichen D-Serin **20** konnte die Totalsynthese des Zielbausteins **11** über 13 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 7.5 % erfolgreich durchgeführt werden (Abb. 2.14). Dabei wurde eine stereokontrollierte Grignard-Reaktion mit dem Aldehyd **21** für die Generierung des zweiten Stereozentrums genutzt, in der das gewünschte *anti*-Produkt **22** in einem sehr guten Diastereomerenverhältnis gebildet wurde. Nach weiteren Schutzgruppenmodifikationen erfolgte eine Ruthenium-vermittelte Natriumperiodat-Oxidation des Alkohols **23** zur Carbonsäure **24**, über die der Propyl-Linker mittels Peptidknüpfung eingeführt wurde. Saure Entschützung der Verbindung **25** lieferte den gewünschten (2*S*,3*S*)-Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** (Abb. 2.14).

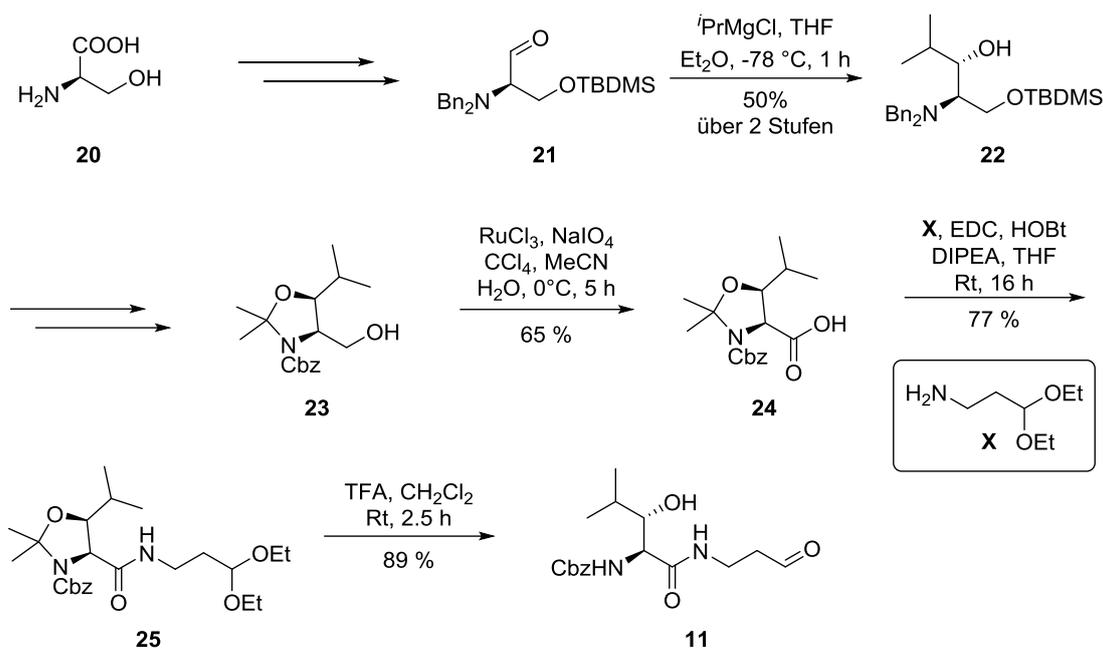


Abb. 2.14 Synthese des (2*S*,3*S*)-Hydroxyleucinamid-Aldehyds **11**.^[125,142,143]

Die Synthese des dritten Bausteins, des Epicapreomycinid-haltigen Harstoffdipeptids **12**, wurde in der Arbeitsgruppe *Ducho* von Dr. Martin Büschleb erfolgreich durchgeführt.^[125,144] Bei diesem Baustein handelt es sich um ein geschütztes Harnstoffdipeptid, welches aus der nicht-proteinogenen Aminosäure Epicapreomycinid, einer Harnstoff-Einheit und einem terminalen Valin-Rest besteht. Ausgehend von D-Serin **20** wurde zunächst der Garner-Aldehyd **26** in fünf Stufen synthetisiert (Abb. 2.15).^[145] In den Folgestufen diente eine Imino-Grignard-Reaktion zum Aufbau des Intermediats **27**, welches durch Ozonolyse und reduktive Aminierung in das Diamin **28** überführt wurde. Der Ringschluss zum cyclisierten Guanidin **29** wurde mit dem neuartigen Guanidinylierungsreagenz **30** durchgeführt. Nach saurer Spaltung des Acetonids von Intermediat **29** wurde die Harnstoff-Einheit durch Reaktion mit dem Thiocarbamat **31** aufgebaut, wodurch das Harnstoffdipeptid **32** erhalten wurde. Finale TEMPO-Oxidation lieferte den Harnstoffdipeptid-Baustein **12** (Abb. 2.15).

Die Verbindung der Bausteine wurde durch eine reduktive Aminierung zwischen der (6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure **10** und dem Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** eingeleitet (Abb. 2.12). Als Reduktionsmittel wurde Natriumtriacetoxyborhydrid eingesetzt.^[125] Die Aminogruppe des neu entstandenen Intermediats **13** wurde anschließend durch hydrogenolytische Spaltung Cbz-entschützt (Verbindung **14**) und mit dem Epicapreomycinid-Baustein **12** in einer Peptidkupplung unter Verwendung von HOBt und PyBOP verknüpft.

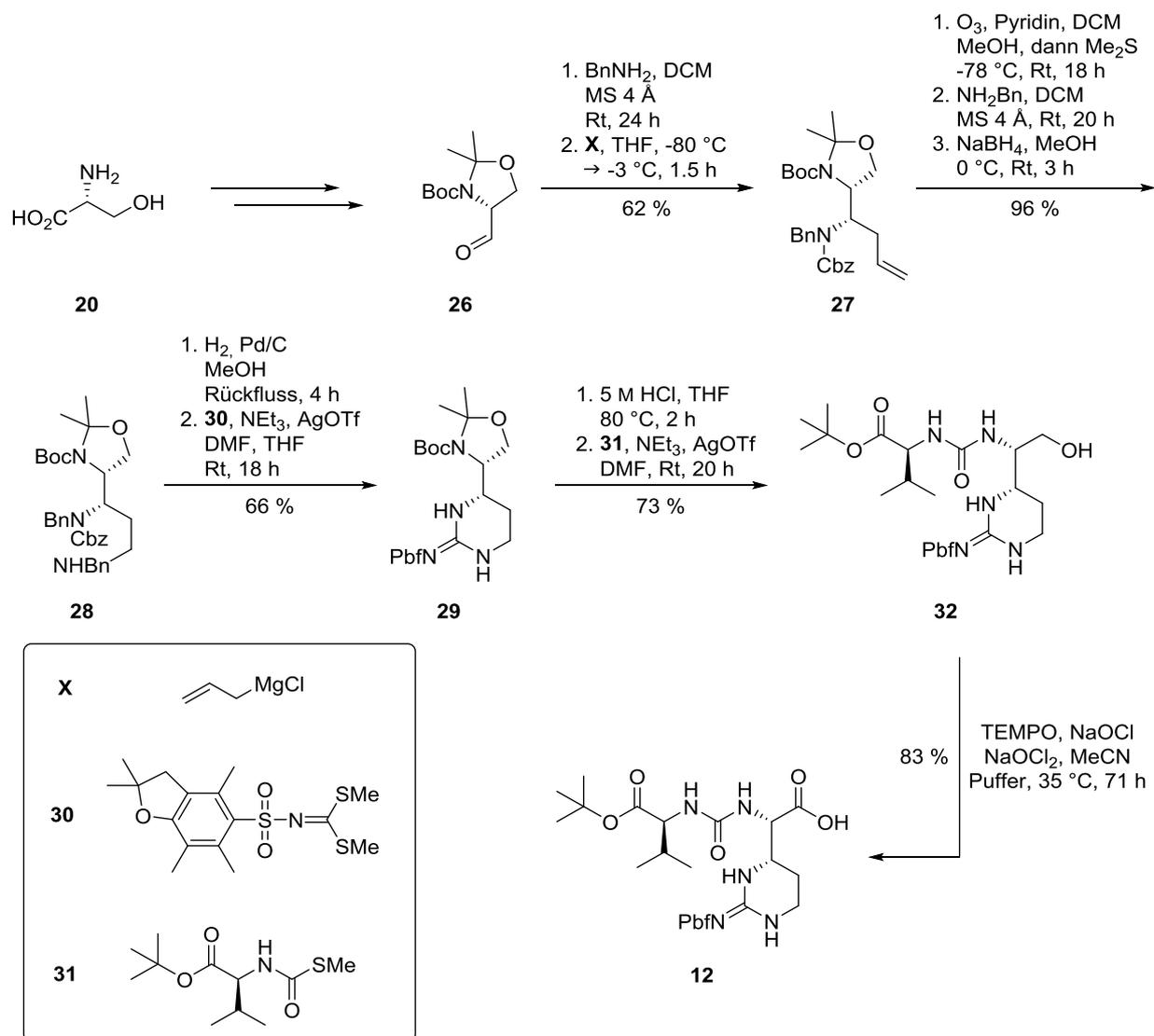


Abb. 2.15 Darstellung des Garner-Aldehyds **26** für die Synthese des Harnstoffdipeptid-Bausteins **12**.^[125,144]

Das 5'-Desoxy-Analogon **9** von Muraymycins C4 resultierte aus finaler saurer Entschützung mit 80 %-iger Trifluoressigsäure.^[125] Im Anschluss wurde die inhibitorische Aktivität gegenüber MraY_{SA} bestimmt, die mit einem Wert von $\text{IC}_{50} = 95 \pm 19 \text{ nM}$ ähnlich gut wie für das Nucleosid-Antibiotikum Tunicamycin ausfiel ($\text{IC}_{50} = 42 \pm 16 \text{ nM}$). Gegenüber dem *E. coli*-Stamm DH5 α konnte eine moderate antibiotische Aktivität mit $\text{MIC} = 15 \mu\text{g/mL}$ ermittelt werden. Die Entfernung der Aminoribose in der 5'-Position führte damit im Vergleich zu den natürlichen Muraymycinen zu einer deutlichen Verringerung der inhibitorischen Aktivität (pM zu nM). Die Bindung zu MraY im nanomolaren Bereich war jedoch weiterhin ausreichend, da für die Verbindung eine antibiotische Aktivität nachgewiesen wurde. Dass diese Verbindung überhaupt eine antibiotische Wirkung zeigte, war aufgrund der fehlenden Fettsäure-Seitenkette

beachtlich, da diese für die zelluläre Aufnahme verantwortlich gemacht wurde. Das Fehlen der Aminoribose schien sich ebenfalls positiv auf die zelluläre Aufnahme auszuwirken, die in diesem Fall vermutlich durch die verringerte Polarität der Verbindung begünstigt wurde. Des Weiteren zeigte die Verbindung eine gute Plasmastabilität, metabolische Stabilität und keine Cytotoxizität. Der synthetische Ansatz als auch das 5'-Desoxy-Muraymycin-Gerüst selbst bieten somit einen guten Ausgangspunkt im Hinblick auf die Entwicklung weiterer Muraymycin-Analoga.^[90,125]

Ein Teilprojekt der Promotionsarbeit von Dr. Stefanie Wohnig beinhaltete die Darstellung von verschiedenen (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren, die als Bausteine für den Aufbau weiterer Muraymycin-Analoga und ihrer biologischen Evaluierung eingesetzt werden sollten.^[146] Dabei war ein erster Syntheseansatz für ein (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33** untersucht worden (Abb. 2.16). Der Aufbau der Verbindung sollte ausgehend vom Alloc-geschützten Garner-Aldehyd **34** erfolgen. Dieser wurde zunächst aus D-Serin **20** in einer Synthesesequenz über fünf Stufen aufgebaut. Der *iso*-Propyl-Rest sollte durch Grignard-Reaktion mit *iso*-Propylmagnesiumchlorid stereoselektiv eingeführt werden. Das gewünschte (*R,R*)-Diastereomer **35** konnte in moderaten Ausbeuten erhalten werden. Die freie Hydroxygruppe sollte anschließend durch S_N2-Reaktion mit einem Azid als Nucleophil ersetzt werden. Jedoch konnte auch nach Mesylierung oder Tosylierung keine Reaktion zum Azid **36** beobachtet werden. Aus diesem Grund musste die konzipierte Syntheseroute überdacht und verfeinert werden.^[146]

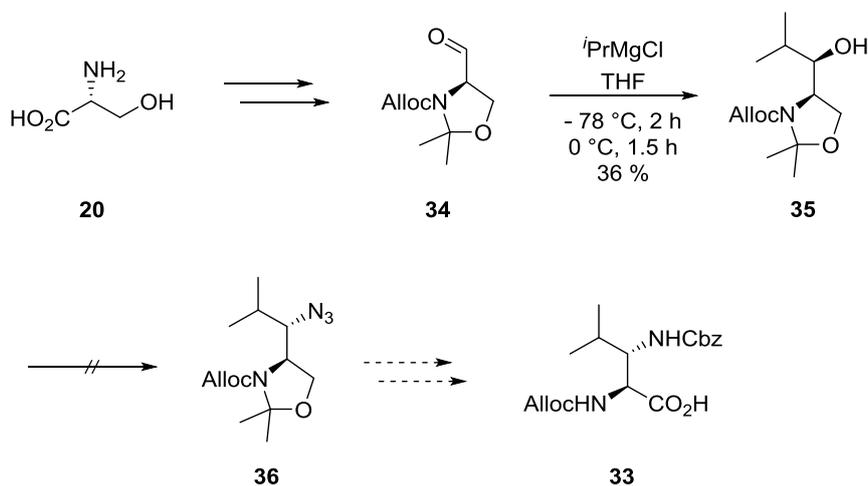


Abb. 2.16 Syntheseversuch von (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33**.^[146]

2.6 Modelluntersuchungen zur Membrangängigkeit der Hydroxyguanidin-funktionalisierten Fettsäure-Seitenkette

Im Rahmen einer Zusammenarbeit zwischen dem Arbeitskreis *Ducho* und dem Arbeitskreis *Steinem* (Georg-August-Universität Göttingen) konnte ein Modell entwickelt werden, womit die Membraninteraktion der Fettsäure-Seitenkette von Muraymycinen untersucht wurde.^[142,147] Durch Synthese der Guanidin-funktionalisierten Seitenkette **37** (Abb. 2.17), die im Muraymycin A1 vorzufinden ist, und ihrer Verknüpfung mit einem Fluoreszenzmarker (Abb. 2.17) konnte eine Membraneinlagerung und eine Membranpermeation mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie (konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie^[148,149]) nachgewiesen werden.^[142,147]

Nach mehrstufiger Synthese der Modellseitenkette **37** wurde die terminale Propargylfunktion zur Verknüpfung mit dem Azid-funktionalisierten Fluoreszenzmarker AlexaFluor488[®] mit Hilfe einer Kupfer-katalysierten Alkin-Azid-Cycloaddition (Click-Reaktion^[150–152]) genutzt (Abb. 2.17). Neben der Modellverbindung **38** wurde außerdem Propargylacetat **39** mit dem AlexaFluor488[®]-Marker zur Darstellung der Referenzverbindung **40** umgesetzt, die weder eine länger-kettige hydrophobe Einheit noch eine terminale Funktionalität aufweist.^[142,147]

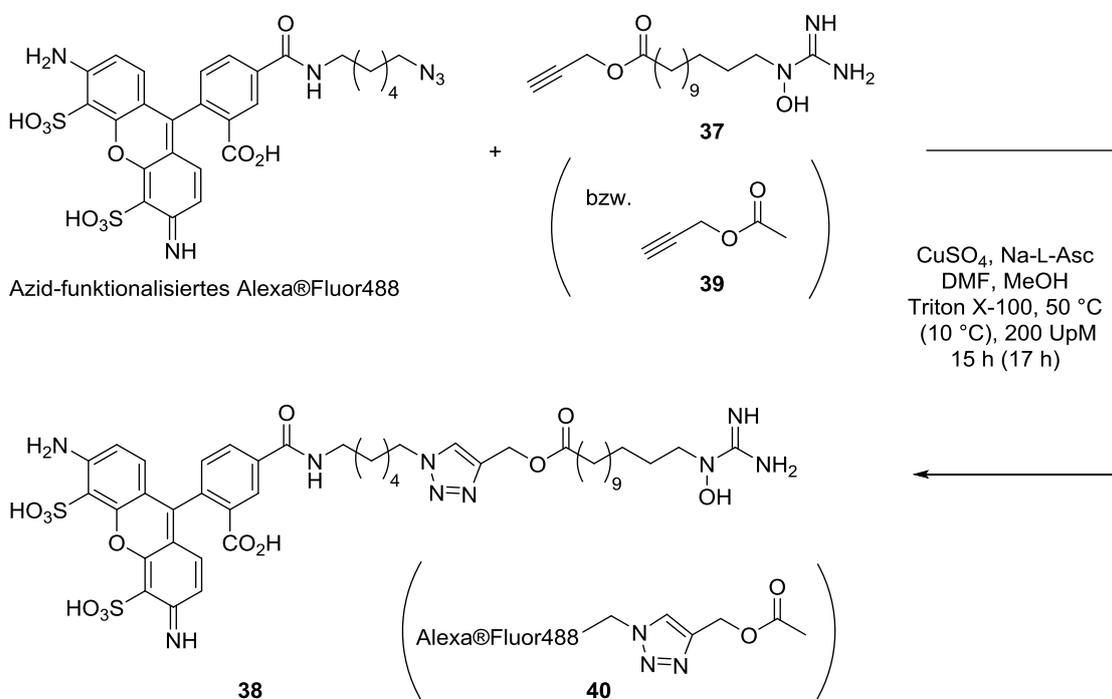


Abb. 2.17 Kupfer-katalysierte Alkin-Azid-Cycloaddition zur Darstellung der fluoreszenzmarkierten Modellverbindung **38** und der Referenzsubstanz **40**.^[142,147]

Die fluoreszenzmikroskopischen Experimente wurden nach der erfolgreichen Synthese der beschriebenen Modellverbindungen von der Arbeitsgruppe *Steinem* durchgeführt. Dafür wurden zunächst artifizielle Membranen in Form von unilamellaren Riesenvesikeln^[153] (GUV, giant unilamellar vesicles, Durchmesser: 1-100 μm) präpariert und mittels Avidin-Biotin-System^[154] an eine Siliciumoberfläche fixiert. Die Zusammensetzung der Vesikel bestand in einem ersten Versuch aus reinem 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (POPC)^[155]. Im zweiten Experiment wurde ein Gemisch aus den Phospholipiden 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (POPC)^[155] und 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamin (POPE)^[156] im Verhältnis 70:30 verwendet. Diese Zusammensetzung sollte der Bakterienmembran nachempfunden werden, welche selbst einen Anteil an POPE von bis zu 75 % besitzt.

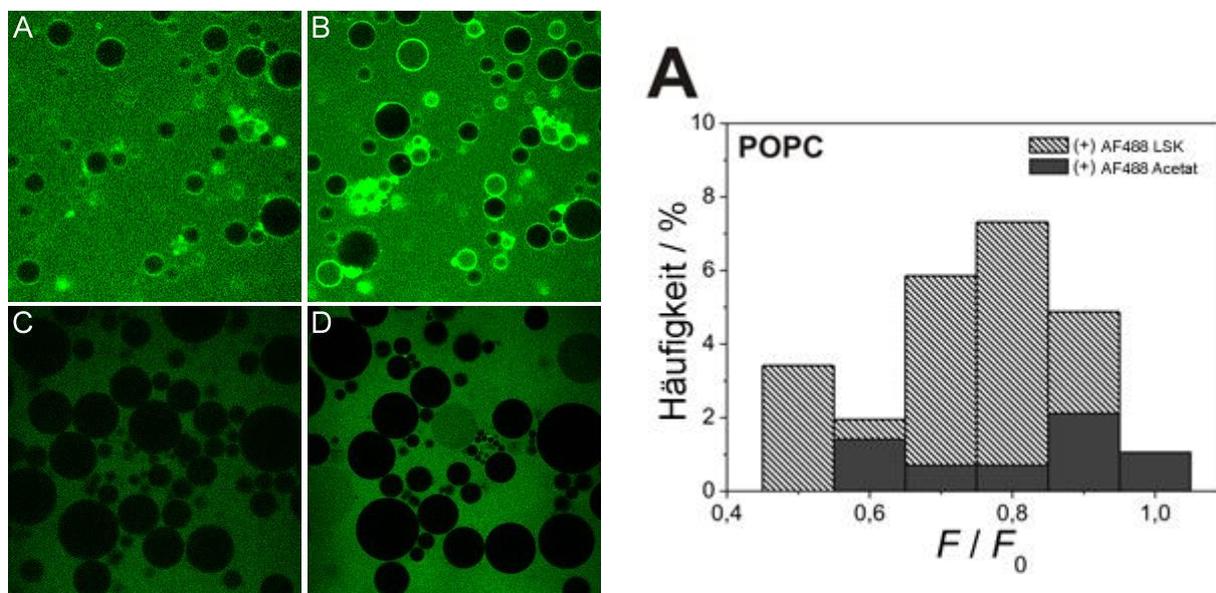


Abb. 2.18 POPC-Vesikel mit fluoreszenzmarkierter Modellverbindung **38** (A, B) und mit Referenzverbindung **40** (C, D) (A und C: zu Beginn der Messung; B und D: nach 40 min.) (aus: O. Ries, *Dissertation 2012*.^[142]).

In Abbildung 2.18 sind die Ergebnisse der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung und der statistischen Auswertung zur Membranpermeation an den POPC-Vesikeln exemplarisch abgebildet, da in beiden Experimenten ähnliche Ergebnisse erzielt wurden. Direkt nach der Inkubation mit der Modellverbindung konnte eine Anreicherung in die Membran der Vesikel beobachtet werden (Abb. 2.18 A). Diese konnte nach einer Inkubationszeit von 40 min. in gesteigerter Intensität beobachtet werden (Abb. 2.18 B). Des Weiteren konnten nach der Inkubationszeit auch fluoreszierende Bereiche im Inneren der Vesikel entdeckt werden, wodurch eine Permeation von Modellverbindung **38** durch die Membran nachgewiesen werden

konnte. Das nachfolgende Experiment wurde mit Referenzverbindung **40** unter identischen Bedingungen durchgeführt. Hier konnte sowohl direkt nach Inkubation als auch nach einer Inkubationszeit von 40 min. keine Einlagerung in die Membran und keine Permeation der Membran beobachtet werden (Abb. 2.18 C, D). Diese Resultate zeigten deutlich, dass die Anwesenheit der lipophilen Seitenkette in der Modellverbindung **38** für die Anlagerung in die Membran, als auch für die Permeation durch die Membran verantwortlich gemacht werden kann. Weiterhin konnten die Ergebnisse auch die Annahme unterstützen, dass die Fettsäure-Seitenkette in den Muraymycinen für eine erhöhte Lipophilie sorgt, die die Permeation des gesamten Moleküls durch die bakterielle Membran zulässt. Dies könnte insgesamt die erhöhte antibiotische Aktivität der A- und B-Serien-Muraymycine erklären. Der genaue Einfluss der Hydroxyguanidin-Kopfgruppe konnte noch nicht vollständig aufgeklärt werden.^[142,147]

Tab. 2.3 Dargestellte Modellseitenketten für die weitere Verwendung in fluoreszenz-mikroskopischen Experimenten zur Untersuchung der Membraninteraktion/-permeation (X: Synthese nicht erfolgreich).

R =	mit n = 10	mit n = 3
	37	X
	41	44
	42	45
	43	46

Um weitere Erkenntnisse über den Einfluss der Fettsäure-Seitenkette zu erlangen, wurden im Rahmen der eigenen Masterarbeit weitere Modellseitenketten **41-46** (Tab. 2.3) hergestellt. Diese sollen im Rahmen der vorliegenden Arbeit in fluoreszenzmikroskopischen Experimenten untersucht werden, weshalb sie detailliert in Kapitel 4.4.1 beschrieben werden.^[157]

3 Aufgabenstellung und Planung der Arbeit

3.1 Aufgabenstellung

Untersuchungen zur Membranpermeabilität von O-acylierten Muraymycinen

Zum derzeitigen Stand der Forschungen auf dem Gebiet der Muraymycine konnten zahlreiche Arbeiten die Relevanz einiger Strukturmerkmale der Muraymycine für die antibiotische Potenz aufklären. Darunter standen vor allem das Harnstoffpeptid- und das Nucleosylaminosäure-Motiv im Vordergrund. Im Gegensatz dazu gibt es bisher nur wenige Untersuchungen zur Rolle der an der zentralen Leucin-Einheit lokalisierten Fettsäure-Seitenkette. Bereits in Kapitel 2 wurde anhand der biologischen Daten von natürlichen und synthetischen Muraymycinen dargelegt, dass die Anwesenheit einer Fettsäure-Seitenkette in den Muraymycinen für einen positiven Einfluss auf die antibiotische Aktivität gegenüber verschiedenen Erregern sorgt. Weiterhin wurde eine direkte Wechselwirkung der Fettsäure-Seitenkette mit dem Target Enzym *MraY* anhand von geringen Unterschieden in den IC_{50} -Werten von natürlichen, acylierten und nicht-acylierten Muraymycinen für unwahrscheinlich erachtet. Trotzdem wurde bei fehlender Funktionalität in 3"-Position (Abb. 3.1) der Leucin-Einheit eine Abnahme der inhibitorischen Aktivität beobachtet, weshalb ein Substituent in dieser Position (Hydroxygruppe oder Acyl-Seitenkette) als profitabel für die Enzyminteraktion angesehen wurde. Aus diesem Grund sollte die Hauptaufgabe dieser Arbeit darin bestehen, neue Informationen über die Rolle und Funktion der Fettsäure-Seitenkette zu sammeln. Dazu sollten drei unterschiedliche Projekte verfolgt werden.

In einem ersten Projekt wurde die Synthese von vereinfachten, acylierten Muraymycin-Analoga angestrebt, wobei erstmals Naturstoff-analoge Derivate mit einer Esterbindung zwischen der Fettsäure-Seitenkette und der zentralen Hydroxyleinheit dargestellt werden sollten. Als Zielstrukturen der vorliegenden Arbeit wurden die in Abbildung 3.1 gezeigten Verbindungen angestrebt. Zu Beginn sollte die Synthese einer Serie von Lysin-haltigen Muraymycinen **47-51** erfolgen. Ein Austausch des natürlichen Epicapreomycidins zu anderen Aminosäuren hatte in früheren Studien zwar zu einer Verminderung der inhibitorischen Aktivitäten gegenüber *MraY* geführt, allerdings sollten die angestrebten Lysin-haltigen Verbindungen synthetisch deutlich leichter zugänglich sein. Die Einführung der Acyl-Einheit sollte durch Acylierung der freien Hydroxyfunktion an einer geschützten Vorstufe des Muraymycin-Grundgerüsts ermöglicht werden und an der Lysin-haltigen Grundstruktur erprobt und für zukünftige Synthesen optimiert werden. Außerdem sollten die benötigten globalen Entschützungsbedingungen in

Bezug auf die Stabilität der resultierenden Esterbindungen der Fettsäure-Seitenketten untersucht werden. Die globale Entschützung des Lysin-haltigen Muraymycin-Grundgerüsts sollte außerdem die Zielverbindung **51** hervorbringen, deren Synthese bereits über einen alternativen Weg mit einem zweiteiligen Syntheseansatz durchgeführt worden war, dort aber nur in einem Diastereomergemisch der Verbindung resultierte.^[141]

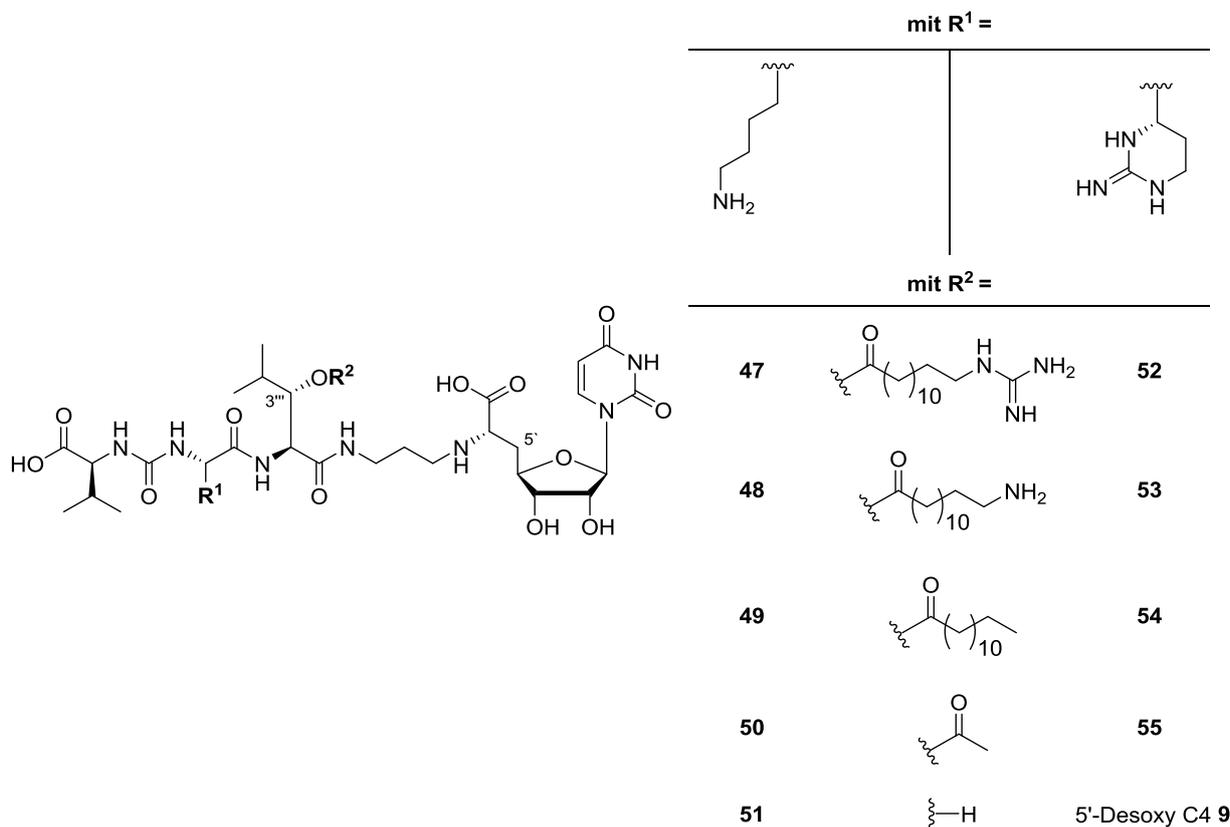


Abb. 3.1 Zielverbindungen: *O*-acylierte Muraymycin-Analoga.

Anschließend wurde die Synthese einer Serie von Epicapreomycinid-inhaltigen Muraymycin-Analoga **52-55** angestrebt (Abb. 3.1). Die Fettsäure-Seitenketten sollten entsprechend zu den natürlichen aktiven Muraymycinen A1 und B9 eine Kettenlänge von 13 Kohlenstoffatomen aufweisen. Die Derivate **49** und **54** ohne terminale Funktionalität in der Seitenkette sollten als Analoga der B-Serien-Muraymycine dargestellt werden, wobei die natürlich vorkommende terminale Verzweigung der Seitenkette im Rahmen dieser Arbeit vernachlässigt werden sollte. Dementsprechend waren auch die Guanidin-funktionalisierten Derivate **47** und **52** nach dem Vorbild der A-Serien-Muraymycine konzipiert. Hier wurde anstelle der Hydroxyguanidin-Funktion zunächst der Aufbau der synthetisch leichter zugänglichen Guanidin-Funktion, die in der Seitenkette des Naturstoffs Muraymycin A3 zu finden ist, angestrebt. Um den Einfluss der Kopfgruppe näher zu untersuchen, sollten die Amino-funktionalisierten Derivate **48** und **53**

dargestellt werden. Unter physiologischen Bedingungen sollten die basischen Kopfgruppen protoniert vorliegen, wobei die Ladung im Fall der Guanidin-Funktion durch Delokalisierung stabilisiert wird. Die Kopfgruppe könnte demnach für unterschiedliche Wechselwirkung mit der Bakterienmembran bzw. mit dem Target-Enzym *MraY* sorgen. Die Acetoxy-Verbindungen **50** und **55**, die zwar die Esterbindung besitzen, aber keinen lipophilen Charakter aufweisen, sollten als Referenzverbindungen zu den acylierten Derivaten dargestellt werden. Nach erfolgreicher Synthese sollte eine ausführliche Bestimmung biologischer Daten neue Informationen über Einfluss und Funktion der Fettsäure-Seitenkette liefern. Es wurde erwartet, dass die angestrebten Verbindungen im Vergleich zum 5'-Desoxy-Analogon **9** des Muraymycins C4 ähnliche inhibitorische, aber verbesserte antibiotische Aktivitäten aufweisen dürften. Im Vergleich zum Pentadecyl-Derivat **4b** sollten bessere inhibitorische Aktivitäten durch Anwesenheit der substituierten Leucin-Struktur erzielbar sein. Dabei sollte außerdem verifiziert werden, welche Auswirkung die Vernachlässigung der Aminoribose-Einheit in den angestrebten Verbindungen auf die inhibitorische und antibiotische Aktivität hat. Die aufgestellten Annahmen sollten in einer ausführlichen SAR-Studie durch Messung der inhibitorischen (gegenüber *MraY*) und antibiotischen Aktivitäten untersucht werden.

Der positive Einfluss der Fettsäure-Seitenkette auf die Membraninteraktion bzw. -permeation sollte in einem zweiten Projekt durch zwei unterschiedliche Modellsysteme analysiert werden. Darunter sollte zum einen der in Kapitel 2.6 beschriebene Vesikel-Assay mit weiteren Modellverbindungen durchgeführt werden. Neben der acetylierten Referenzsubstanz **40** und der Hydroxyguanidin-funktionalisierten Modellverbindung **38** sollten weitere Modellseitenketten **56-58** synthetisiert werden, die keine oder verschiedene Kopfgruppenfunktionalitäten aufweisen sollten (Abb. 3.2).

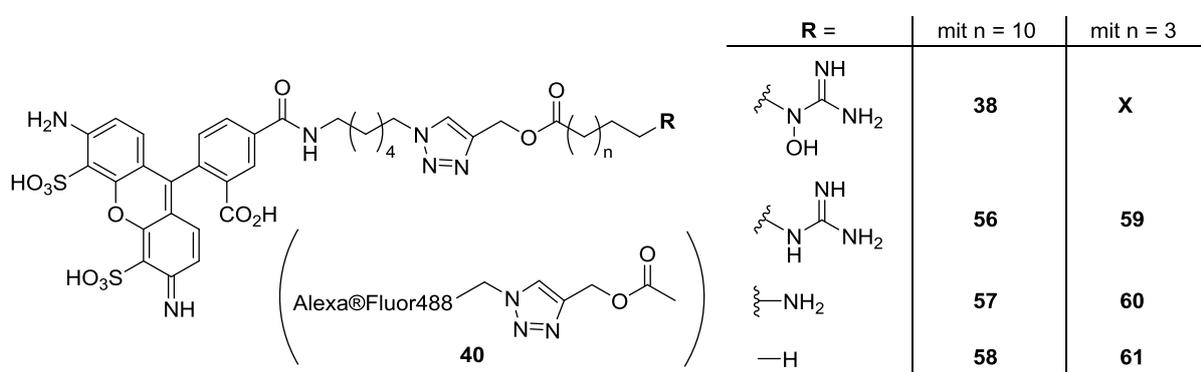


Abb. 3.2 Angestrebte Modellverbindungen für die Verwendung in unterschiedlichen Assays zur Membranpermeation (X: nicht synthetisiert).

Neben Derivaten **56-58** mit einer Kettenlänge von 13 Kohlenstoffatomen wurden auch die verkürzten Derivate **59-61** mit einer Kettenlänge von 6 Kohlenstoffatomen angestrebt. Der Einsatz im beschriebenen Assay sollte neue Informationen liefern, welcher Einfluss von einer Kopfgruppenfunktionalität bzw. von der vorhandenen Kettenlänge auf die Membraninteraktion bzw. -permeation ausgeht. Zum anderen wurde die Verwendung der Modellverbindungen in einem zweiten Assaysystem angestrebt, welches eine Untersuchung der passiven Diffusion durch ein geschichtetes Membranmodell zulässt.

In einem dritten Teilprojekt sollte die Synthese eines (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Bausteins **58** erfolgen, der für die zukünftige Darstellung weiterer Muraymycin-Analoga bereitgestellt werden sollte (Abb. 3.3). Nach erfolgreicher Synthese und anschließendem Einbau in das Muraymycin-Grundgerüst könnten neuartige Derivate mit Amino-Funktion in der 3-Position der zentralen Leucin-Einheit erhalten werden, wodurch der Aufbau von weiteren acylierten Muraymycinen ermöglicht werden könnte.

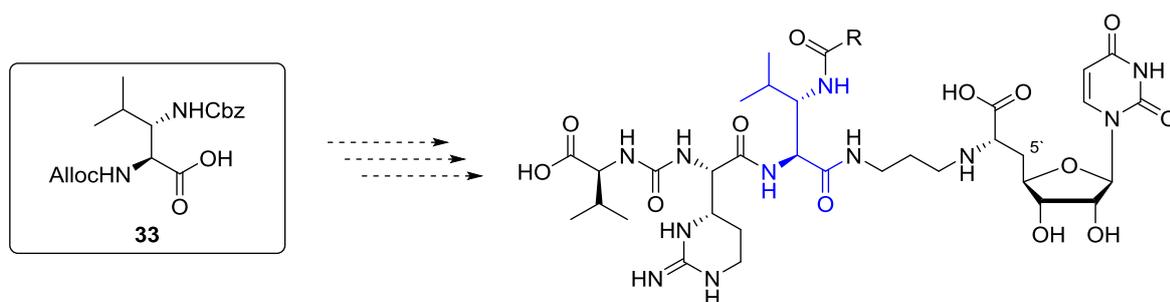


Abb. 3.3 (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33** als angestrebter Baustein für die zukünftige Synthese neuartiger Muraymycin-Analoga.

Die Verknüpfung der Fettsäure-Seitenketten mit dem Muraymycin-Grundgerüst würde dann anstatt über die natürliche Esterbindung über eine Amidbindung erfolgen, für die eine höhere Stabilität in biologischen Medien angenommen wird. Weiterhin soll dann untersucht werden, inwiefern sich ein Austausch des Substituenten in der 3-Position der Leucin-Einheit auf die inhibitorische Aktivität gegenüber dem Enzym *MraY* auswirkt. Nach erfolgreicher Synthese könnten so Verbindungen erhalten werden, die neue Informationen im Hinblick auf eine Optimierung von Muraymycin-Analoga zu Wirkstoff-Kandidaten liefern könnten.

3.2 Planung und retrosynthetische Betrachtungen

Für die Darstellung der angestrebten Muraymycin-Analoga sollte der etablierte dreiteilige Synthesansatz verwendet werden (vergl. Abb. 2.12).^[125,141] Dazu sollten zunächst die

benötigten Bausteine **10**, **11** und **12** synthetisiert werden. Der Lysin-haltige Harnstoffdipeptid-Baustein **62** wurde während der beschriebenen Arbeiten von Dr. Kristin Leyerer synthetisiert und stand im Arbeitskreis *Ducho* für die weitere Verwendung bereit.^[146,158,159]

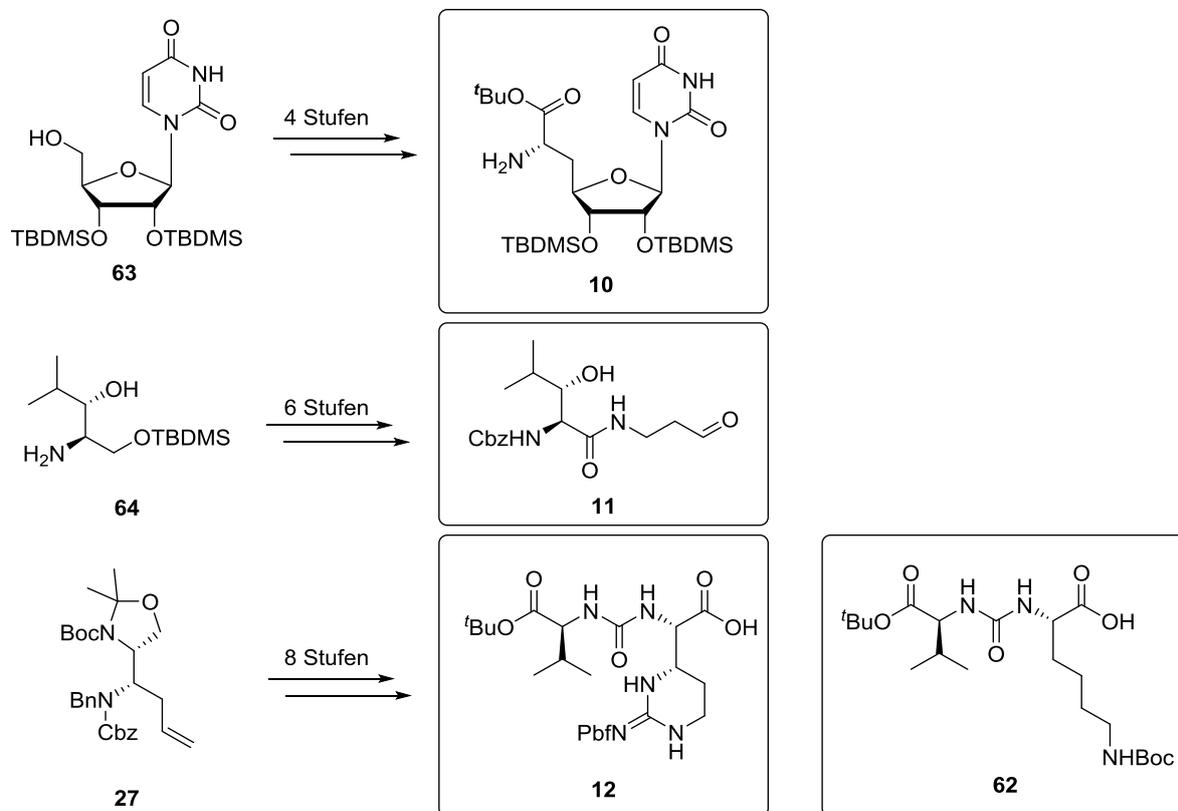


Abb. 3.4 Ausgangsverbindungen für die Synthesen der benötigten Bausteine.

Die Synthese des (6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure-Bausteins **10** sollte nach dem in der Arbeitsgruppe *Ducho* etablierten Protokoll durchgeführt werden.^[160,161] Aus Vorarbeiten stand die Vorläuferverbindung **63** in der Arbeitsgruppe zur Verfügung, weshalb im Rahmen dieser Arbeit vier weitere Synthesestufen zur Darstellung durchgeführt werden sollten (Abb. 3.4). Nach IBX-Oxidation sollte eine Wittig-Horner-Reaktion mit dem Phosphonat **17** durchgeführt werden, welches nach bekannter Synthese aus Glyoxalsäure hergestellt werden sollte.^[162–165] Für die Darstellung des (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucin-Derivats **11** waren in Vorarbeiten im Rahmen der eigenen Masterarbeit^[157] bereits sechs Stufen einer teilweise modifizierten Synthese von *Laib* und Mitarbeitern^[166–169,142,143] erfolgreich durchgeführt worden. Der dabei erhaltene Aminoalkohol **64** sollte durch sechs weitere Syntheseschritte in den (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** überführt werden (Abb. 3.4).^[125,142] Weiterhin sollte die Synthese des Epicapreomycin-haltigen Harnstoffdipeptids **12** nach einem Protokoll von Dr. Martin Büschleb durchgeführt werden.^[125,144] Auch in diesem Fall sollte die Synthesesequenz

ausgehend von einer noch im Arbeitskreis vorrätigen Vorstufe **27**, die in den Arbeiten von Dr. Kristin Leyerer synthetisiert worden war, begonnen werden. Acht weitere Reaktionsschritte waren zur Darstellung des benötigten Bausteins notwendig (Abb. 3.4). Neben einer Ozonolyse und einer Guanidinylierungsreaktion als Schlüsselschritte zum Aufbau der Epicapreomycin-Einheit sollte auch eine Reaktion mit *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butylester **31** für die Generierung der terminalen Valin-Harnstoff-Einheit durchgeführt werden. In der Vergangenheit war für den Aufbau des Harnstoffmotifs das *S*-Methylthiocarbamat verwendet worden, welches aus Reaktion von *L*-Valin-*tert*-butylester-hydrochlorid **65** und *S*-Methylchlorthioformiat erhalten werden konnte. Letzteres Reagenz war kommerziell nicht mehr zugänglich, weshalb auf das verfügbare *S*-Ethylchlorthioformiat **66** zur Darstellung des *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butyl-esters **67** ausgewichen werden sollte (Abb. 3.5).

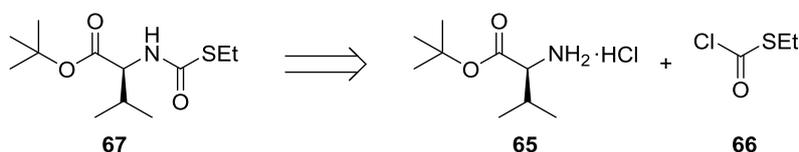


Abb. 3.5 Retrosynthese des *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butyl-ester **67**.

Im ersten Schritt des dreiteiligen Ansatzes sollte die Verknüpfung der ersten beiden Bausteine **10** und **11** durch reduktive Aminierung unter Verwendung von Natriumtriacetoxyborhydrid als Reduktionsmittel durchgeführt werden. Die Cbz-geschützte Aminogruppe des resultierenden Amins **13** sollte anschließend durch hydrogenolytische Spaltung mit Palladium black und 1,4-Cyclohexadien freigesetzt werden. Die geschützten Muraymycin-Grundgerüste **68** und **69** (Abb. 3.6 unten) sollten durch Peptidkupplung mit dem jeweiligen Harnstoffdipeptid-Baustein **62** bzw. **12** und dem freien Amin **14** erhalten werden, wobei gemäß dem etablierten Syntheseansatz HOBt und PyBOP verwendet werden sollten (vergl. Abb. 2.12).^[125,141] Die Synthese des Lysin-haltigen 5'-Desoxy-Muraymycins **51** war bereits unter der Verwendung eines zweiteiligen Syntheseansatzes durchgeführt worden, resultierte in diesem Fall jedoch in einem Diastereomeren-Gemisch.^[141] Deshalb sollte im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden, ob der dreiteilige Ansatz zur Generierung der diastereomerenreinen Verbindung **51** erfolgreich verwendet werden kann.

Eine globale saure Entschützung der Lysin-haltigen Grundstruktur **68** sollte unter Verwendung von 80%iger Trifluoressigsäure die gewünschte Zielverbindung **51** freisetzen (Abb. 3.6).

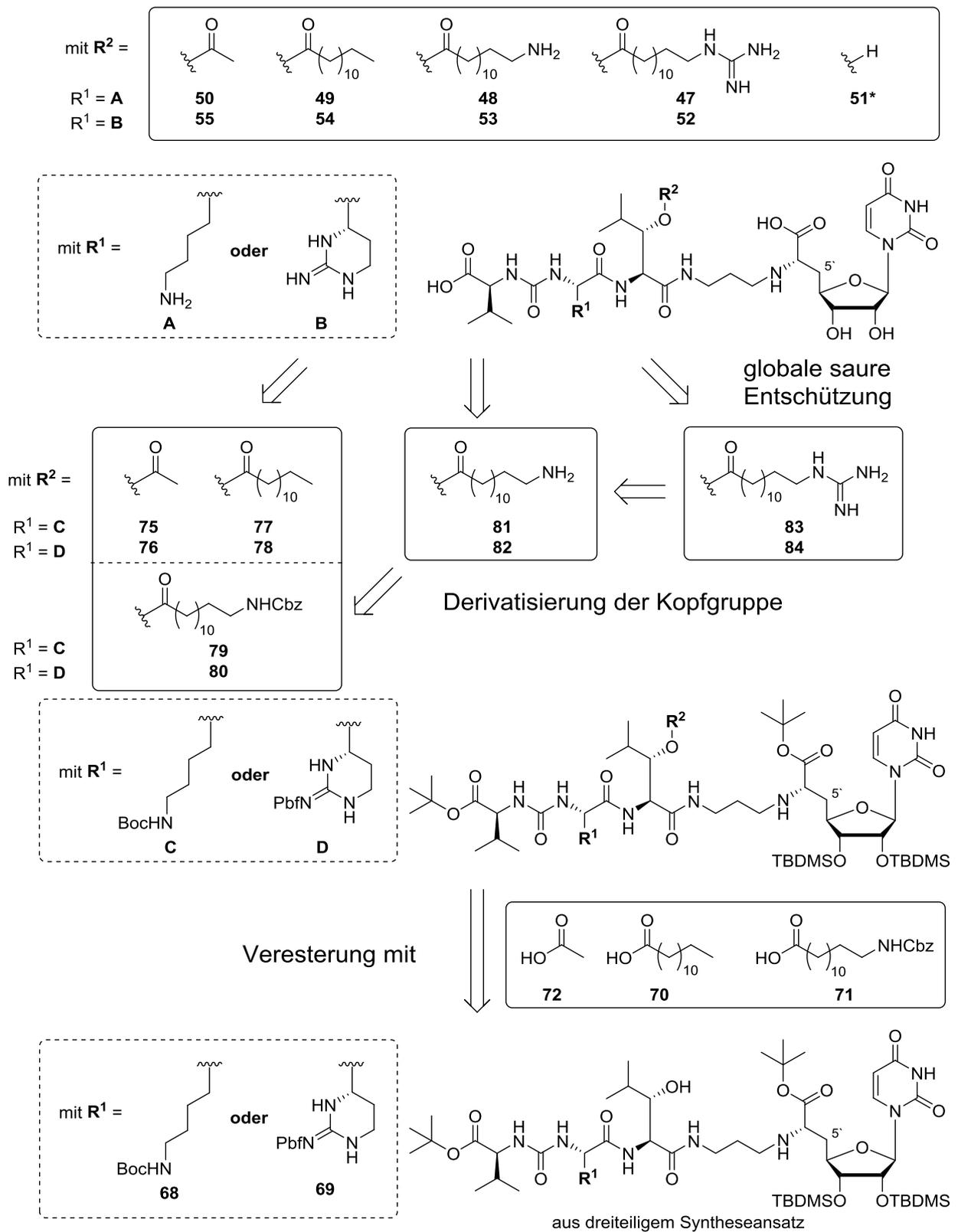


Abb. 3.6 Retrosynthese der in der Arbeit angestrebten *O*-acylierten Muraymycin-Analoga (* aus direkter globaler saurer Entschützung von Verbindung **68**).

Diese verhältnismäßig harschen Entschützungsbedingungen waren für die Darstellung des Epicapreomycidin-haltigen 5'-Desoxy-Analogons des Muraymycins C4 etabliert worden. Diese

Bedingungen sollten auch für die Generierung der Lysin-haltigen Muraymycine verwendet werden. Nach erfolgreicher Acylierungsreaktion müssen die angestrebten Derivate ebenfalls unter den angegebenen Bedingungen entschützt werden, weshalb anhand der Serie der vereinfachten Lysin-haltigen Muraymycin-Derivate zunächst die Stabilität der Esterbindung evaluiert werden sollte.

Für die Acylierungsreaktionen sollte eine leicht modifizierte Steglich-Veresterung verwendet werden. Diese eignet sich aufgrund milder Reaktionsbedingungen hervorragend für die Acylierung von höher funktionalisierten und säurelabilen Verbindungen. Im vorliegenden Fall sollte eine unerwünschte Abspaltung der säurelabilen Schutzgruppen vermieden werden, um eine weitere und selektive Kopfgruppenmodifizierung der Fettsäure-Seitenketten zu ermöglichen. In der klassischen Steglich-Veresterung wird DCC zur Aktivierung der Carbonsäure verwendet. Dieses vermittelt die Reaktion unter Bildung von *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff, welcher nur schwierig vom Reaktionsgemisch abgetrennt werden kann. Aus diesem Grund wurde die Verwendung von EDC·HCl angestrebt, dessen Harnstoff-Nebenprodukt durch wässrige Aufarbeitung vom Gemisch abtrennbar sein sollte. Die Veresterungen sollten mit der kommerziell erhältlichen unfunctionalisierten Tridecansäure **70**, der Amino-funktionalisierten Fettsäure-Seitenkette **71** und mit Essigsäure **72** durchgeführt werden. Für die Aminofunktion der Seitenkette **71** wurde eine Cbz-Schutzgruppe vorgesehen, damit nach hydrogenolytischer Spaltung weitere Modifikationen vor der globalen sauren Entschützung realisierbar waren.

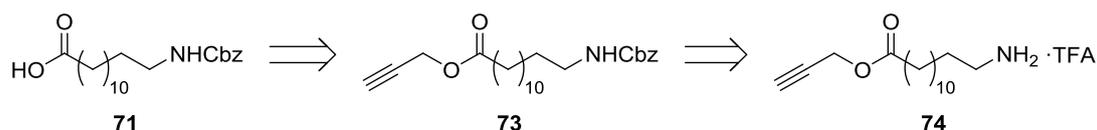


Abb. 3.7 Retrosynthese der *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71**.

Die angestrebte Cbz-geschützte Aminosäure **71** sollte aus Verseifung (mit LiOH oder NaOH) des Propargylesters **73** erhalten werden (Abb. 3.7). Dieser sollte durch Cbz-Schützung unter Verwendung von Chlorameisensäurebenzylester aus dem TFA-Salz **74**, welches bereits aus früheren Synthesen in der Arbeitsgruppe *Ducho* zur Verfügung stand, erhalten werden. Nach erfolgreicher Acylierungsreaktion sollten die Acetoxy-Verbindungen **75** und **76** und die Tridecansäure-Derivate **77** und **78** erhalten werden, die nach einer globalen sauren Entschützung die Zielverbindungen **50**, **55**, **49** und **54** freisetzen sollten (Abb. 3.6). Die Cbz-Schutzgruppe der Intermediate **79** und **80** sollte durch hydrogenolyse Spaltung unter Verwendung von Palladium black und 1,4-Cyclohexadien abspaltbar sein, wobei die

Verbindungen **81** und **82** generiert werden sollten. Eine finale saure Entschützung mit TFA sollte zu den angestrebten Amino-funktionalisierten Verbindungen **48** und **53** führen. Die noch global geschützten Vorläufermoleküle **81** und **82** sollten außerdem die Einführung der Guanidin-Gruppe durch Guanidinylierungsreaktion mit 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidinhydrochlorid und der freien Aminogruppe und auf diese Weise die Darstellung der Intermediate **83** und **84** erlauben. Die anschließende globale saure Entschützung sollte die Zielverbindungen **47** und **52** hervorbringen (Abb. 3.6).

Das in Kapitel 2.6 beschriebene Modellsystem zur Untersuchung der Membranpermeation von fluoreszenzmarkierten Fettsäure-Seitenketten sollte im Rahmen dieser Arbeit für weitere Erkenntnisse über die Funktion der Fettsäure-Seitenketten genutzt werden. Im Rahmen der im Arbeitskreis *Ducho* durchgeführten Masterarbeit wurden bereits unterschiedliche Modellseitenketten, die sich zum einen in ihrer Kettenlänge unterschieden und zum anderen verschiedene oder keine Funktionalitäten am terminalen Ende aufwiesen, dargestellt (Tab. 3.1).^[157] Die langkettigen Derivate wiesen analog zu den Seitenketten der natürlichen Muraymycine eine Kettenlänge von 13 Kohlenstoffatomen auf. Für kurzkettige Derivate wurde eine Kettenlänge von 6 Kohlenstoffatomen gewählt. Neben der von Dr. Oliver Ries dargestellten Hydroxyguanidin-funktionalisierten Seitenkette **37** wurde auch die Synthese eines entsprechenden kurzkettigen Derivates angestrebt, die allerdings nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte. Folgend wurde die leicht vereinfachte Guanidin-Funktionalität als Kopfgruppe in den Seitenketten vorgesehen, da diese auch in einem Vertreter der A-Serie, dem Muraymycin A3, vorzufinden ist und des weiteren leichter zu synthetisieren war. Zunächst wurden die Verbindungen **42** und **45** mit einer weniger basischen Aminogruppe dargestellt, die im Anschluss durch Guanidinylierungsreaktionen in die Seitenketten **41** und **44** überführt wurden (Tab. 3.1). Analog zu den Muraymycinen der B-Serie wurden die unfunktionalisierten Seitenketten **43** und **46** synthetisiert (Tab. 3.1). Durch anschließende Verknüpfung der beschriebenen Seitenketten mit einem Fluoreszenzmarker sollten weitere Modellverbindungen dargestellt werden. Hier sollte das bereits verwendete AlexaFluor488[®]-Azid eingesetzt werden, welches durch die beschriebene Kupfer-katalysierte Alkin-Azid-Cycloaddition (Click-Reaktion^[150–152]) mit den dargestellten Seitenketten verknüpft werden sollte. Bei Erfolg der angestrebten Synthesen wurde der Einsatz im beschriebenen Vesikel-Assay beabsichtigt. Dabei sollte zum einen der Einfluss unterschiedlicher Kettenlänge auf die Membranpermeation untersucht werden. Zum anderen sollte überprüft werden, ob das Vorhandensein einer Kopfgruppe einen Effekt auf die Einlagerung in die Membran zeigt. Für die funktionalisierten,

basischen Kopfgruppen könnte dabei eine Wechselwirkung mit den anionischen Kopfgruppen der Phospholipide angenommen werden.

Tab. 3.1 Synthetisierte Modellseitenketten für die Verknüpfung mit dem Azid-funktionalisierten Fluoreszenzmarker AlexaFluor488® (X: Synthese nicht erfolgreich).

R =	mit n = 10	mit n = 3
	37	X
	41	44
	42	45
	43	46

Eine weitere Kooperation zu dieser Thematik sollte mit der Arbeitsgruppe *Lehr* am Helmholtz-Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) etabliert werden. Die Arbeitsgruppe *Lehr* beschäftigt sich primär mit Fragestellungen zum Wirkstofftransport, und darunter auch mit dem Transport bzw. der Permeation von pharmazeutischen Wirkstoffen durch biologische Barrieren, darunter auch bakterielle Zellwand-Strukturen. Ein Erfolg ihrer Forschungen war die Entwicklung eines Permeationsassays, in dem potentielle Wirkstoffe auf die Permeation von geschichteten Membranmodellen untersucht werden konnten. Ein artifizielles Mimetikum für die innere Membran Gram-negativer Bakterien wurde durch ein spezielles Beschichtungsverfahren auf eine Filtermembran im Inneren eines Transwellinserts aufgetragen (Abb. 3.8). Die Applikation von potentiell membrangängigen Substanzen erfolgte schließlich in das apikale Kompartiment. Aus dem basolateralen Kompartiment wurden in zeitlichen Abständen Proben entnommen und auf ihren Gehalt überprüft. Unter Voraussetzung eines konstanten Substanzflusses konnte die Bestimmung des *apparent permeation coefficient* (P_{app} [m/sec]) ermöglicht werden. Der beschriebene Assay sollte in der vorliegenden Arbeit für die angestrebten fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen genutzt werden, um erneut ihr Permeationsverhalten zu untersuchen.

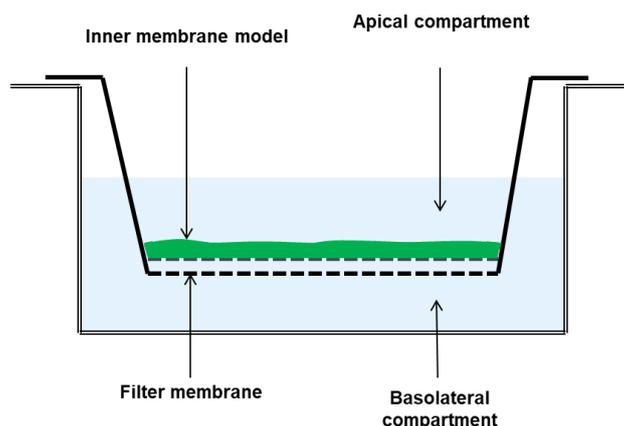


Abb. 3.8 Schematische Abbildung des angestrebten Assays zur Membranpermeation. (freundlicherweise zur Verfügung gestellt von: Dr. Florian Gräf, HIPS).

Die angestrebten Modellverbindungen für den Einsatz in den beschriebenen Permeationsassays sollten aus einer Kupfer-katalysierten Alkin-Azid-Cycloaddition zwischen dem AlexaFluor488[®]-Azid und den in Tabelle 3.1 aufgeführten Seitenketten **37** und **41-46** hervorgehen. Die von Dr. Oliver Ries dargestellten Verbindungen **38** und **40** sollten im Rahmen der geplanten Modellassays erneut eingesetzt und deshalb ebenfalls synthetisiert werden. Für die Click-Reaktionen sollten die etablierten Reaktionsbedingungen verwendet werden, die bereits zur Darstellung der Referenzverbindung **40** und der Hydroxygaunidin-funktionalisierten Modellverbindung **38** erfolgreich angewendet werden konnten (Abb. 3.9).^[142,147]

Hierzu sollte die Reaktion in einem Lösungsmittelgemisch aus Wasser, Methanol und Dimethylformamid durchgeführt werden, um potentielle Löslichkeitprobleme zu unterbinden. Das katalytisch aktive Kupfer(I) sollte über Reduktion von Kupfer(II)-sulfat in situ dargestellt werden, wozu Natrium-L-ascorbat als Reduktionsmittel dienen sollte. Weiterhin sollte auch Triton-X als Detergenz eingesetzt werden, um eine mögliche Mizellbildung der Fettsäure-Seitenketten zu vermeiden. Die Reaktionsansätze sollten im mikromolaren Bereich durchgeführt werden. Nach erfolgreicher Synthese sollten die Verbindungen für die beschriebenen Permeations-Assays bereitgestellt werden.

Im dritten Teilprojekt dieser Arbeit sollte der (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Baustein **33** dargestellt werden, der in Zukunft die Darstellung von neuartigen Muraymycin-Analoga ermöglichen sollte. Über die freie Carbonsäure-Funktion sollte die Verknüpfung mit einem entsprechend geschützten Nucleosid-Baustein ermöglicht werden. Die beiden Aminofunktionen des neuartigen Bausteins sollten mit orthogonalen Schutzgruppen maskiert werden, damit eine weitere Derivatisierung der beiden Funktionen unabhängig voneinander gewährleistet werden kann.

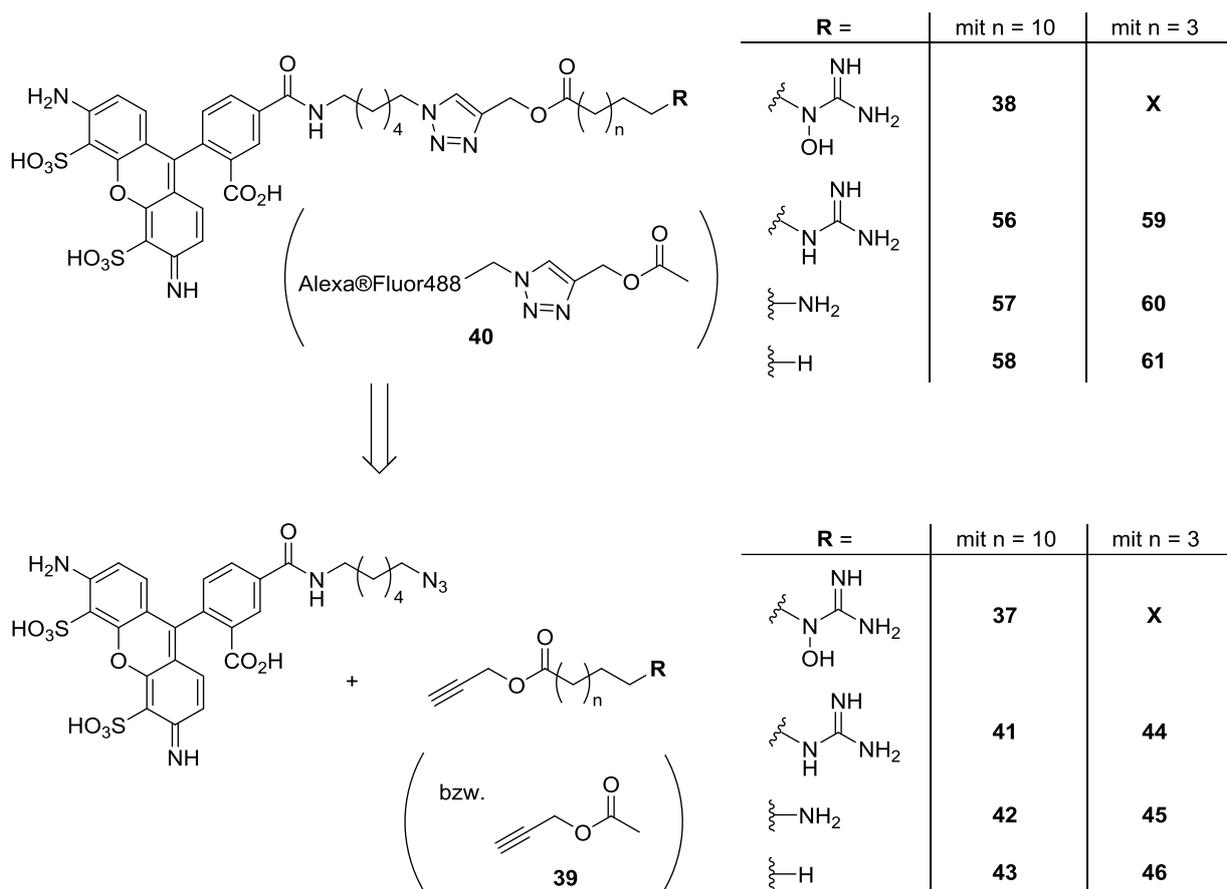


Abb. 3.9 Retrosynthese der angestrebten fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen **38**, **40** und **56-61** (X: Synthese nicht erfolgreich).

Als Schutzgruppe für die Amino-Funktion in der 2-Position wurde eine Allyloxycarbonyl-(Alloc)-Schutzgruppe gewählt. Nach Entfernung der Schutzgruppe (z.B. durch Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) sollte der weitere Aufbau des peptidischen Rückgrats des Muraymycin-Grundgerüsts über das freie Amin in der 2-Position ermöglicht werden. Die Amino-Gruppe in 3-Position sollte mit einer Cbz-Schutzgruppe versehen werden, über die nach Freisetzung (z.B. durch Hydrogenolyse) eine Verknüpfung mit Fettsäure-Seitenketten erfolgen könnte. Die Retrosynthese für den angestrebten Baustein wird im Folgenden näher erläutert (Abb. 3.10). Die finalen Syntheseschritte sollten analog zu einer literaturbekannten Synthese nach Ghosh und Wang erfolgen.^[170] Das Azid-funktionalisierte Diol **85** sollte nach oxidativer Diolsplaltung (z. B. RuCl_3 , NaIO_4)^[171], einer Reduktion des Azids (z.B. Staudinger-Reduktion)^[172] sowie einer Alloc-Schützung der generierten Aminofunktion den (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Baustein **33** hervorbringen. Das Azid-funktionalisierte Diol **85** sollte aus der stereokontrollierten Öffnung des Epoxids **86** durch ein geeignetes Azid-Nucleophil resultieren. Zur stereoselektiven Synthese des Epoxids **86** sollte eine Sharpless-Epoxidierung unter Verwendung von (*S,S*)-Diethyltartrat ((-)-DET) mit dem (*S*-

Aminoallylkohol **87** zur Bildung des erwünschten Diastereomers dienen. Eine Synthese des Allylkohols **87** war in der Literatur ausgehend von L-Valin **91** beschrieben worden.^[173] Demnach sollte der Allylkohol **87** aus reduktiver Esterspaltung des Ethylesters **88** erhalten werden. Dieser sollte aus einer Wittig-Horner-Olefinierung des Aldehyds **89** mit Triethylphosphonoacetat resultieren. Der Aldehyd **89** sollte aus DIBAL-Reduktion des *N*-Cbz-L-Valin-methylesters **90** hervorgehen. Dieser wiederum sollte ausgehend von L-Valin **91** durch Veresterung mit Methanol sowie anschließende Cbz-Schützung des freienamins erhalten werden.

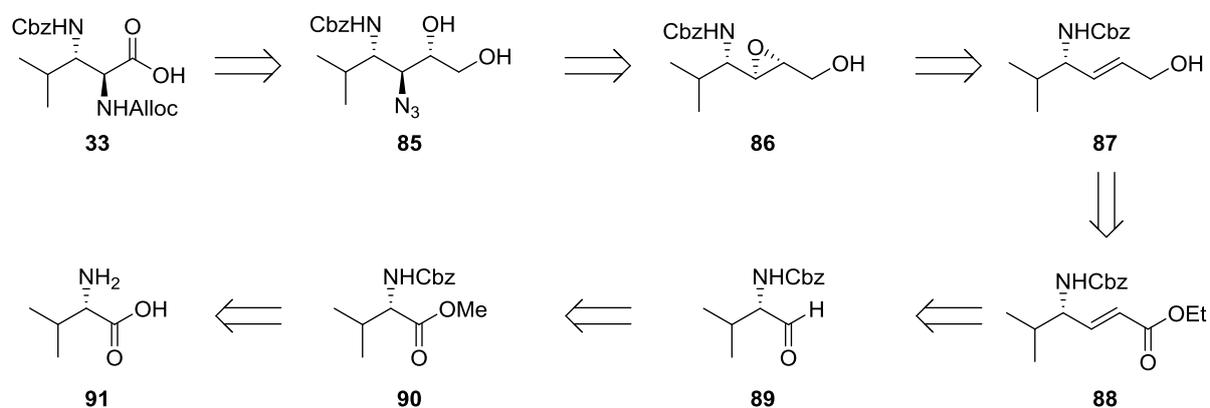


Abb. 3.10 Retrosynthese zur Darstellung des (2*S*,3*S*)-2*N*-Alloc-3*N*-Cbz-3-Aminoleucins **33**.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthesen von Bausteinen zur Darstellung von *O*-acylierten Muraymycinen

4.1.1 Darstellung von (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11**

Der (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** sollte im Rahmen dieser Arbeit als Baustein im dreiteiligen Syntheseansatz für die Synthese verschiedener Muraymycin-Grundgerüste dargestellt werden. In der vorausgegangenen Masterarbeit konnten hierzu die ersten Syntheseschritte der beschriebenen Totalsynthese durchgeführt werden.^[90,142,143] Die sieben durchgeführten Synthesestufen sind in Abbildung 4.1 aufgeführt. Ausgehend von kommerziell erhältlichem D-Serin **20** wurde der Aminoalkohol **64** über sieben Stufen in einer guten Gesamtausbeute von 24 % erhalten (Abb. 4.1).^[157]

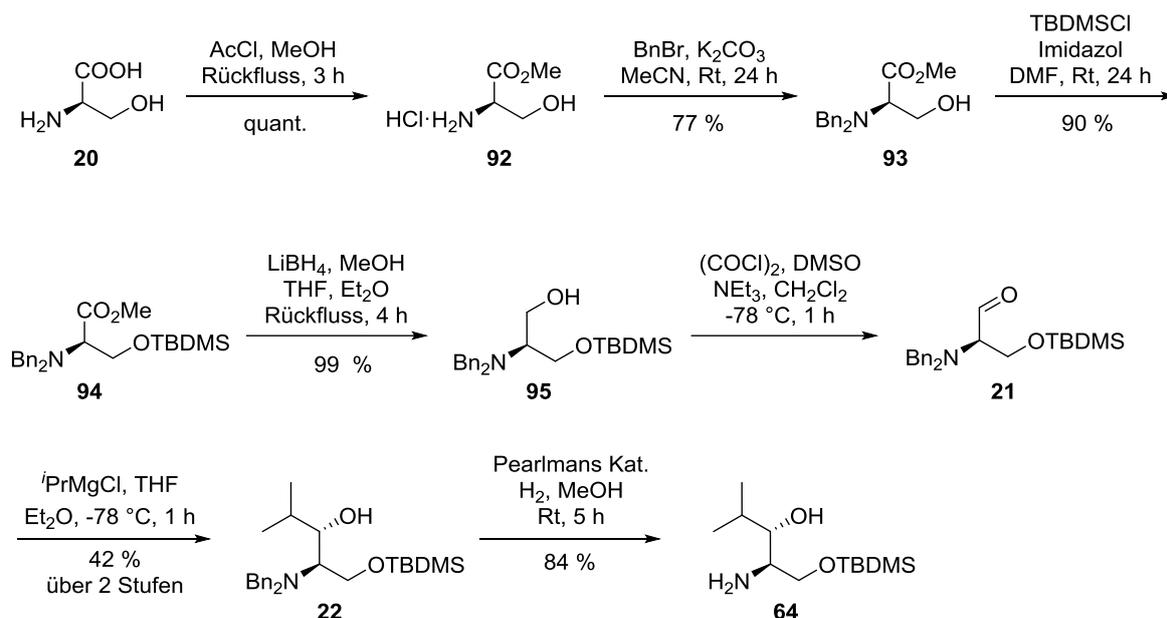


Abb. 4.1 In der Masterarbeit durchgeführte Synthesen zur Darstellung des Aminoalkohols **64**.^[157]

Die dargestellten Syntheseschritte wurden während dieser Arbeit zur Erhöhung der Substanzmengen wiederholt. Die Reaktionen konnten dabei mit nur leicht variierenden Ausbeuten durchgeführt werden und werden deshalb hier nicht erneut aufgeführt.

Anschließend folgte als erster Syntheseschritt dieser Arbeit die Cbz-Schützung des Aminoalkohols **64** (Abb. 4.2). Der Aminoalkohol **64** wurde dazu in einem Gemisch aus Wasser und 1,4-Dioxan gelöst, mit Natriumcarbonat (3.0 Äq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde Chlorameisensäurebenzylester (1.8 Äq.) zugetropft und über Nacht

gerührt, wobei das Gemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnte der Cbz-geschützte Alkohol **96** als klares Öl in einer guten Ausbeute von 90 % erhalten werden.

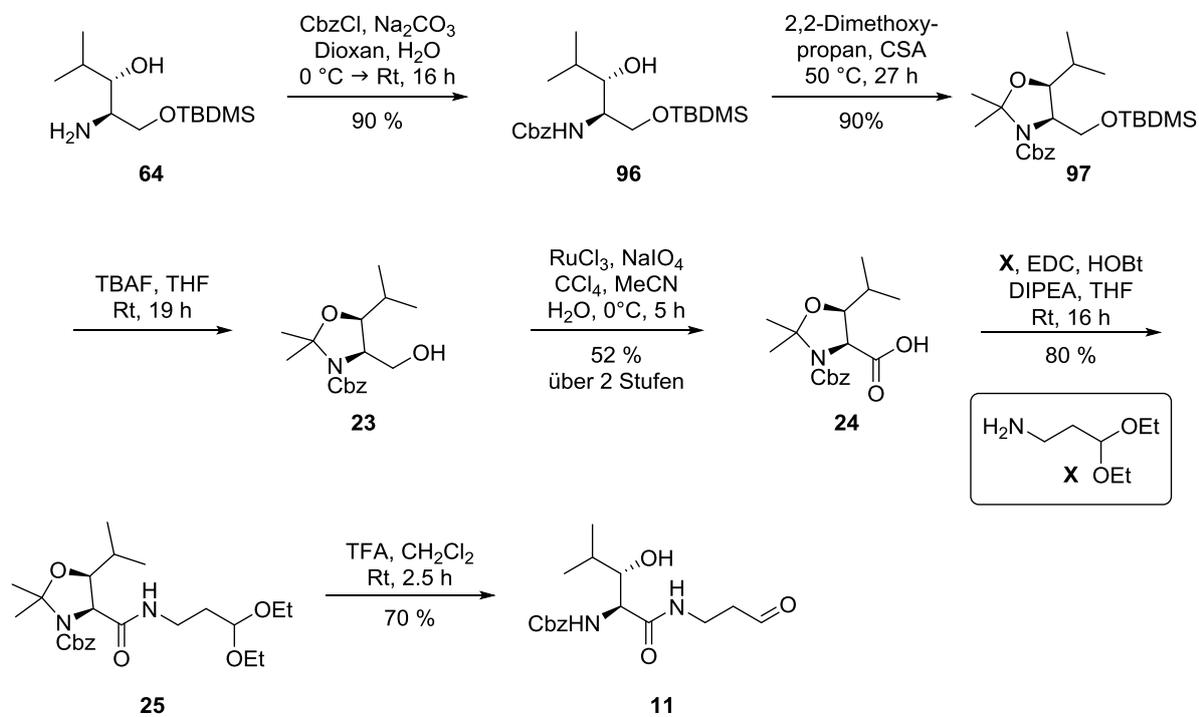


Abb. 4.2 Synthese von (2*S*,3*S*)-3-Hydroxy-leucinamid-Aldehyd **11**.

Im folgenden Schritt wurden die Funktionalitäten in der 4- und 5-Position durch Überführung in das Dimethyloxazolidin **97** geschützt (Abb. 4.2). Der Alkohol **96** wurde dazu in 2,2-Dimethoxypropan gelöst, welches ebenso als Reagenz zur Bildung des *N,O*-Acetals diente. Als Katalysator wurde (\pm)-Camphersulfonsäure (0.15 Äq.) verwendet. Zum Binden des während der Reaktion entstehenden Wassers wurde Magnesiumsulfat (3.3 Äq.) im Überschuss zugesetzt. Das Gemisch wurde bei 55°C für 27 h gerührt. Die wässrige Aufarbeitung erfolgte mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung, wobei das Rohprodukt durch Extraktion mit Ethylacetat erhalten wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnte das Produkt **97** als klares Öl in einer sehr guten Ausbeute von 90 % gewonnen werden (Abb. 4.2). Im nächsten Schritt sollte die Abspaltung der TBDMS-Gruppe mittels Tetrabutylammoniumfluorid-trihydrat analog zur Synthese von Dr. Oliver Ries durchgeführt werden (Abb. 4.2).^[142,143] Dazu wurde zunächst das Dimethyloxazolidin **97** in Tetrahydrofuran gelöst, mit Tetrabutylammoniumfluorid-trihydrat (1.5 Äq.) versetzt und für 19 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, wobei ein gelblicher Feststoff resultierte, der anschließend mittels säulenchromatographischer

Reinigung an Kieselgel gereinigt wurde. Während der Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie wurden nur geringe Verunreinigungen sichtbar, die bei der säulenchromatographischen Reinigung leicht abgetrennt werden konnten. Die anschließende Analyse mittels NMR-Spektroskopie (^1H , ^{13}C) wurde aufgrund von Rotamerenbildung bei erhöhter Temperatur von $100\text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt. Dabei konnte das Produkt **23** zweifelsfrei identifiziert werden. Jedoch konnte auch eine nicht vernachlässigbare Menge eines unbekanntes Nebenproduktes auffindig gemacht werden. Es wurde die Vermutung aufgestellt, dass das Entfernen des Lösungsmittels zur Aufkonzentration des basischen Reaktionsmilieus führte, wodurch eine Bildung des Nebenproduktes begünstigt werden könnte. In weiteren Reaktionsversuchen wurde nach vollständigem Umsatz des Eduktes Kieselgel zum Reaktionsgemisch zugesetzt, um die Aufkonzentration des basischen Milieus abzuf puffern. Dies führte jedoch nicht zur Unterdrückung der Bildung des Nebenproduktes, weshalb in einem weiteren Versuch das Reaktionsgemisch direkt auf die Säule aufgetragen wurde. Nachdem auch hier die Bildung des Nebenproduktes beobachtet werden konnte, erfolgte die Annahme, dass das verwendete Tetrabutylammoniumfluorid-trihydrat für die offensichtliche Nebenreaktion verantwortlich gemacht werden könnte. Neben dem gebundenen Kristallwasser zieht dieses Reagenz aufgrund einer starken Hygroskopie Luftfeuchtigkeit. Dies führte neben einer ungenauen Einwaage zu einer unbekanntes Menge an Wasser, die ebenso für die Bildung des Nebenproduktes verantwortlich gemacht werden könnte. Deshalb wurde anschließend eine kommerziell erhältliche Tetrabutyl-ammoniumfluoridlösung in Tetrahydrofuran für die Reaktion verwendet. Das Produkt konnte auch nach dem Wechsel des Reagenzes zweifelsfrei nachgewiesen werden. Die erhoffte Unterdrückung des Nebenproduktes konnte jedoch nicht beobachtet werden. Auch weitere Trennungsversuche bei der säulenchromatographischen Reinigung waren aufgrund sehr ähnlicher Polarität von Produkt und Nebenprodukt nicht erfolgreich. Aus diesem Grund wurde das an Nebenprodukt angereicherte Produkt **23** im nächsten Schritt der Syntheseroute weiter eingesetzt (Abb. 4.2). Der verunreinigte freie Alkohol **23** sollte anschließend durch Ruthenium-vermittelte Natriumperiodat-Oxidation in die Carbonsäure **24** überführt werden (Abb. 4.2). Der Alkohol **23** wurde dazu in einem Gemisch aus Acetonitril, Tetrachlormethan und Wasser im Verhältnis 2:1:1 gelöst und mit Natriumperiodat (3.6 Äq.) versetzt. Das Gemisch wurde auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt, mit Ruthenium(III)-chlorid in katalytischen Mengen (0.1 Äq.) versetzt und für 5 h bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde mit Salzsäure (1 M) verdünnt und mit Ethylacetat extrahiert. Hier kam es durch Rückstände des Oxidationsmittels/Katalysators zu erheblichen Problemen bei der Extraktion. Die Phasentrennung stellte sich nur sehr langsam ein und sowohl in der organischen

als auch in der wässrigen Phase waren Reste des Oxidationsmittels/Katalysators zu finden. Eine Filtration der Feststoffpartikel mit geringer Porengröße führte nicht zur vollständigen Abtrennung. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat erfolgte die weitere Reinigung mittels Säulenchromatographie, wobei das gewünschte Produkt **24** nur in Spuren nachgewiesen werden konnte. In einem weiteren Reaktionsversuch wurde das Gemisch nach Zugabe der Salzsäure über Celite[®] filtriert und dann erneut extrahiert. Dadurch konnten die Probleme bei der Phasentrennung umgangen werden, jedoch wurden nach der weiteren Aufarbeitung auch hier nur geringe Mengen von zudem noch verunreinigtem Produkt **24** erhalten. Ein vollständiger Umsatz des Eduktes konnte durch Dünnschichtchromatographie beobachtet werden, weshalb die schlechten Ausbeuten weiterhin auf Probleme bei der Aufarbeitung zurückgeführt wurden. Eventuelle Salzsäure-Reste könnten nach der Extraktion in der organischen Phase verblieben sein, welche durch Aufkonzentration bei der Entfernung des Lösungsmittels zur Zerstörung des säurelabilen *N,O*-Acetals oder der gesamten Struktur geführt haben könnten. Aus diesem Grund wurden die organischen Phasen nach Extraktion mit Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnte die gewünschte Carbonsäure **24** erfolgreich isoliert werden. Ausgehend vom TBDMS-geschützten Alkohol **97** konnte somit eine passable Ausbeute von 52 % über zwei Stufen erreicht werden (Abb. 4.2).

Die Einführung der späteren Linkereinheit konnte durch Amidkupplung mit 3,3-Diethoxyaminopropan durchgeführt werden (Abb. 4.2). Die Carbonsäure **24** wurde in Tetrahydrofuran aufgenommen, mit den Kupplungsreagenzien 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)-carbodiimid-hydrochlorid (EDC·HCl, 1.1 Äq.) und 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt, 1.1 Äq.) versetzt und es wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 3,3-Diethoxyaminopropan (1.3 Äq.) und Diisopropylethylamin (DIPEA, 1.5 Äq.) zugefügt und über Nacht (18 h) bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit Wasser, Salzsäure (1 M), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und erneut mit Wasser gewaschen. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Carbonsäureamid **25** in sehr guter Ausbeute von 80 % isoliert werden (Abb. 4.2).

Im letzten Schritt zur Darstellung des (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyds **11** sollte eine saure Entschützung mit 10 %iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan durchgeführt werden (Abb. 4.3).

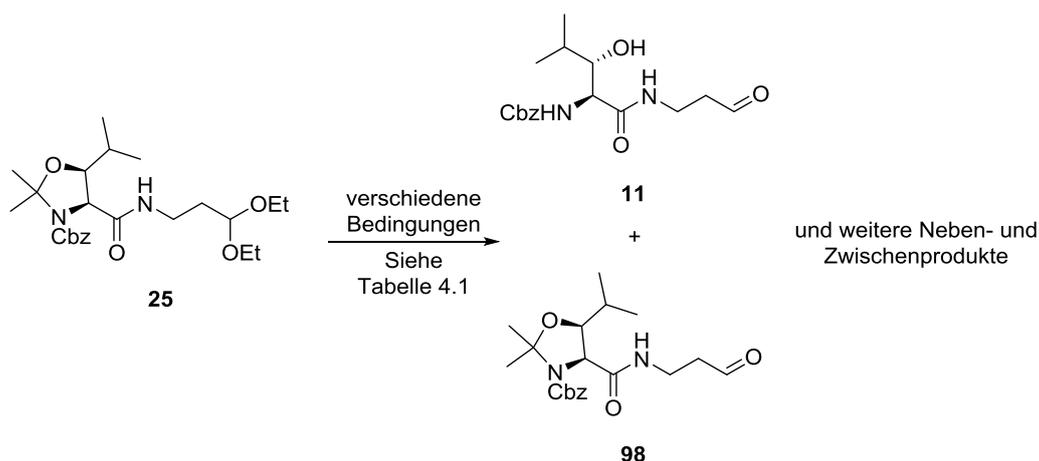


Abb. 4.3 Bildung verschiedener Neben-/Zwischenprodukte während der sauren Entschützensreaktion von Verbindung **25**.

Die Verbindung **25** wurde dazu in Dichlormethan gelöst und mit Trifluoressigsäure versetzt. Nach 2.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert und nach Trocknung der organischen Phase über Magnesiumsulfat und Entfernung des Lösungsmittels wurde eine säulenchromatographische Reinigung durchgeführt. Bereits bei der Analyse des Rohproduktes mittels Dünnschichtchromatographie konnten neben dem gewünschten Produkt weitere Nebenprodukte beobachtet werden. Da diese Verunreinigungen oder Neben- bzw. Zwischenprodukte in der DC-Analyse als gering angesehen wurden, erfolgte nur eine grobe Auftrennung der unterschiedlichen Verbindungen. Dabei wurden eine Mischfraktion aus verschiedenen Verbindungen und eine Hauptfraktion mit gewünschtem Produkt **11** erhalten.

In der Hauptfraktion konnte das Produkt durch NMR-Analyse nachgewiesen werden. Die Ausbeute war jedoch mit 46 % eher unbefriedigend (Tab. 4.1, Nr. 1). Die erneute DC-Analyse der Mischfraktion zeigte ein komplexes Gemisch, welches zunächst nicht weiter analysiert wurde. In einem weiteren Ansatz sollte die Reaktion durch DC überwacht werden. Dabei konnte nach 2 h bis 2.5 h ein nahezu vollständiger Umsatz des Eduktes beobachtet werden. In der DC-Analyse konnten neben dem Produkt **11** erneut weitere Nebenprodukte beobachtet werden. Trotzdem wurde die Reaktion aufgearbeitet und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt. Erneut konnte das Produkt nur in einer Ausbeute von 41 % isoliert werden (Tab. 4.1, Nr. 1). Als Nebenfraktion wurde ein komplexes Gemisch erhalten, in dem ein Nebenprodukt in erhöhter Menge nachgewiesen wurde. Zum einen konnte die Verbindung **98** als Zwischenprodukt in der NMR-Analyse identifiziert werden, was für einen unvollständigen Umsatz der Reaktion sprechen würde (Abb. 4.3). Zum anderen deutete die Anzahl an weiteren Nebenprodukten auf eine Zersetzung des

Reaktionsproduktes hin. In einem weiteren Ansatz wurde die Reaktionszeit auf drei Stunden erhöht. Dabei konnte einerseits ein weiterer Umsatz des zweiten Hauptspots beobachtet werden. Allerdings waren weiterhin mehrere Nebenprodukte zu erkennen. Die Reaktion wurde aufgearbeitet und das Produkt konnte in diesem Fall in einer erhöhten Ausbeute von 70 % gewonnen werden (Tab. 4., Nr. 2).

Tab. 4.1 Verschiedene Bedingungen zur sauren Entschützung von Verbindung **25** (SC: Säulenchromatographie).

Nr.	Lösungsmittel : Säure	Reaktionszeit	Aufarbeitung	Umsatz	Ausbeute [%]
1	DCM : TFA 90 : 10	2 h - 2.5 h	ges. NaHCO ₃ SC	25, 98 und weitere	41-46
2	DCM : TFA 90 : 10	3 h	ges. NaHCO ₃ SC	98 und weitere	70
3	DCM : TFA 80 : 20 → 60 : 40	3 h - 4 h	ges. NaHCO ₃ SC	98 und weitere	< 50
4	DCM : TFA 90 : 10	2 h - 3 h	ges. NaHCO ₃ SC	25, 98 und weitere: erneut umgesetzt	< 50 72
5	DCM : MeOH : TFA 45 : 45 : 10 → 37.5 : 37.5 : 25	3 h - 26 h			Zersetzung
6	DCM : TFA 90 : 10	2 h - 3 h	direkte SC	25, 98 und weitere	< 50
7	DCM : TFA 90 : 10	2 h - 3 h	Waschen mit H ₂ O, Zugabe von Toluol bei Evaporation	25, 98 und weitere	< 50

SC: Säulenchromatographie

Das Produkt sollte für den Einsatz in einer reduktiven Aminierung dargestellt werden, die im Rahmen dieser Arbeit mehrfach durchgeführt werden musste. Die Stabilität von aliphatischen Aldehyden wird in der Regel als eher gering angesehen, weshalb der Aldehyd immer frisch hergestellt wurde. Somit wurden weitere Entschützungsreaktionen durchgeführt. Bei den nächsten Reaktionen konnten die Ausbeuten trotz einer Erhöhung der Reaktionszeiten von 3 h bis 4 h, der erneuten Zugabe von weiterer TFA (20 %ige Lösung) und der Zugabe von Triethylamin bei der säulenchromatographischen Reinigung nicht verbessert werden (Tab. 4.1, Nr. 3). Als Gründe wurden hier weiterhin ein sehr schwankender Reaktionsumsatz sowie die

Zerstörung der Verbindung bei der Aufarbeitung bzw. der säulenchromatographischen Reinigung vermutet. Um den Umsatz des eingesetzten Eduktes zu erhöhen, wurde die Mischfraktion in einer Folgereaktion erneut eingesetzt. Dabei konnte erneut Produkt erhalten werden. Die Gesamtausbeute bezogen auf die Menge des insgesamt eingesetzten Eduktes konnte in zwei aufeinander folgenden Ansätzen auf insgesamt 72 % gesteigert werden (Tab. 4.1, Nr. 4). Die Menge des Produktes konnte so zwar gesteigert werden, aber der zusätzliche Arbeitsaufwand sollte durch die Veränderung der Reaktionsbedingungen verringert werden. Da bereits aus den Arbeiten von Dr. Oliver Ries bekannt war, dass die Entschützung mit Salzsäure nicht zum gewünschten Produkt führte, sondern das *N,O*-Acetal in der Verbindung **98** erhalten blieb (Abb. 4.3), sollte in einer weiteren Reaktion der Einsatz von TFA beibehalten werden. Bekannte Bedingungen unter Verwendung eines Lösungsmittelgemischs aus Dichlormethan, Methanol und TFA im Verhältnis 4.5 : 4.5: 1 sollten in einem weiteren Versuch verwendet werden (Abb. 4.3, Nr. 5). Da nach 3 h kein vollständiger Umsatz erreicht wurde, erfolgte die erneute Zugabe von TFA (2 x nach jeweils 3 h) und die Reaktionszeit wurde auf insgesamt 26 h erhöht. Die DC-Kontrolle zeigte weiterhin keinen vollständigen Umsatz und die Reaktion wurde aufgearbeitet. In der Analyse des Rohproduktes konnte die Zielverbindung nicht nachgewiesen werden. Es wurde vermutet, dass es durch die deutlich erhöhte Menge an TFA und die lange Reaktionszeit eher zur Zersetzung des Produktes gekommen war. In den folgenden Reaktionen wurden wieder die am Anfang genutzten Reaktionsbedingungen eingesetzt. Dabei wurden vor allem die Aufarbeitung und die säulenchromatographische Reinigung auf unterschiedliche Art und Weise durchgeführt. Darunter erfolgte die direkte säulenchromatographische Reinigung des Reaktionsgemischs, das weitere Waschen der organischen Phasen mit Wasser und die Zugabe von Toluol bei Entfernung des Lösungsmittels, um ein Aufkonzentrieren möglicher TFA-Reste durch Coevaporation zu umgehen (Tab. 4.1, Nr. 6, 7). Diese Maßnahmen führten leider nicht zum gewünschten Erfolg und eine weitere Optimierung der Reaktion wurde nicht weiter verfolgt. Zielführend konnte die Gesamtausbeute durch erneuten Einsatz der erhaltenen Mischfraktion in einer weiteren Entschützungsreaktion erhöht werden, sodass genügend Substanz für die Verwendung im angestrebten dreiteiligen Syntheseansatz zur Verfügung stand.

4.1.2 Darstellung von (6'S)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure 10

Die (6'*S*)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **10** sollte als weiterer Baustein für den dreiteiligen Syntheseansatz nach der literaturbeschriebenen Syntheseroute dargestellt werden.^[124, 140] In dieser Arbeit konnte auf den in der Arbeitsgruppe noch vorhandenen Uridin-5'-Alkohol **63** zurückgegriffen werden, der in den Arbeiten von Dr. Kristin Leyerer, Giuliana Niro und anderen synthetisiert worden war. Der erste Schritt der angestrebten Reaktionssequenz war die IBX-Oxidation zu Aldehyd **16**, welcher ohne weitere Reinigung in einer Wittig-Horner-Reaktion zur (*Z*)-Didehydro-Aminosäure **18** umgesetzt werden sollte (Abb. 4.5). Das für die Wittig-Horner-Reaktion benötigte Phosphonat **17** war nicht kommerziell erhältlich und musste deshalb zunächst dargestellt werden (Abb. 4.4).

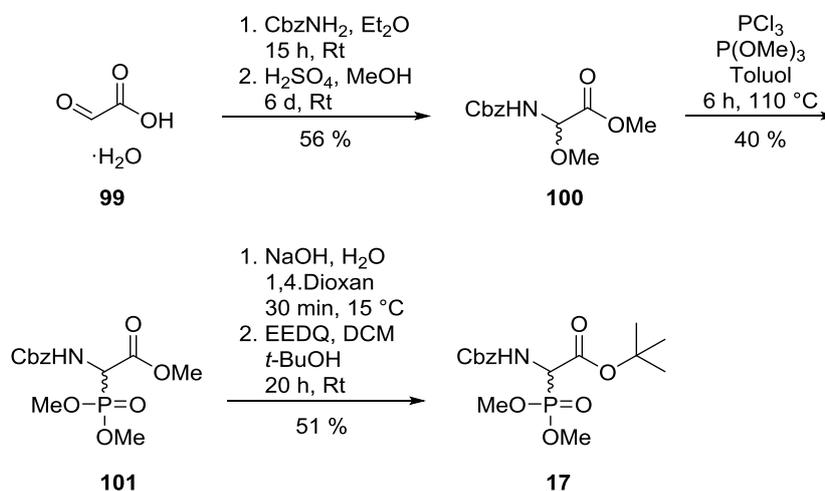


Abb. 4.4 Synthese von *tert*-Butylester-Phosphonat **17**.

Im ersten Schritt der angestrebten Synthesesequenz wurde Glyoxalsäure-Monohydrat **99** in einer Kondensationsreaktion mit Benzylcarbammat in Diethylether umgesetzt. Nach Filtration, Waschen mit gekühltem Diethylether und anschließender Trocknung im Hochvakuum konnte der erhaltene Feststoff in einer säurekatalysierten Reaktion (hier Schwefelsäure) mit Methanol zum Methyl ester **100** eingesetzt werden. Dabei diente der Methanol sowohl als Reagenz als auch als Lösungsmittel. Nach einer Reaktionszeit von 6 d erfolgte die wässrige Aufarbeitung mit Natriumhydrogensulfat-Lösung, die anschließend mit Ethylacetat extrahiert wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der erhaltene Feststoff wurde in Petrolether aufgenommen, filtriert und mit gekühltem Petrolether gewaschen. Das gewonnene Produkt **100** wurde für mehrere Tage am Hochvakuum getrocknet. Die erhaltene Ausbeute von 56 % ist im Vergleich zur von Dr. Anatol Spork durchgeführten Reaktion mit einer Ausbeute von 75 % nicht ganz zufriedenstellend (Abb. 4.4). Da die erhaltene Menge des Methyl ester **100**

ausreichend war, um ihn in der folgenden Michaelis-Arbuzov-ähnlichen Reaktion einzusetzen, wurde auf eine Optimierung der Ausbeute verzichtet. Der Methylester **100** wurde dazu erst mit Phosphor(III)-chlorid aktiviert und im Folgenden mit Trimethylphosphit zum Phosphonat **101** umgesetzt (Abb. 4.4). Die Aktivierung erfolgte durch Erhitzen des Methylesters **100** in Toluol unter Rückfluss und langsame Zugabe des Phosphor(III)-chlorids. Nach 4 h erfolgte die Zugabe von Trimethylphosphit. Dabei kam es aufgrund einer Fehlfunktion der Röhreinheit zu einem Siedeverzug, wodurch ein Teil der Reaktionslösung verloren ging. Nach weiterem Erhitzen unter Rückfluss für 2 h wurde das Lösungsmittel entfernt, der erhaltene Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Das erneut eingegangene Gemisch wurde dann in Petrolether aufgenommen und für 30 min gerührt, wobei eine Suspension erhalten wurde. Diese wurde filtriert und der Filterkuchen wurde mit Petrolether gewaschen. Nach gründlicher Trocknung konnte das Phosphonat **101** als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 40 % erhalten werden, was in etwa der halben Literatursausbeute (81 %) entsprach und auf den Substanzverlust während der Reaktion zurückgeführt wurde (Abb. 4.4). Die Umschüttung zum gewünschten *tert*-Butylester-Phosphonat **17** wurde durch Generierung der freien Säure durch Verseifung des Methylester **101** gewonnen. Dazu wurde der Methylester **101** in 1,4-Dioxan gelöst, auf 15 °C gekühlt und mit Natronlauge hydrolysiert. Das Ansäuern des Reaktionsgemisches mit Salzsäure auf einen pH-Wert von ungefähr 2 ermöglichte die Extraktion der Säure unter Verwendung von Ethylacetat. Nach Trocknung am Hochvakuum erfolgte die Umsetzung dieses Zwischenproduktes ohne weitere Aufarbeitung. Dazu wurde die erhaltene farblose Flüssigkeit in einem Gemisch aus Dichlormethan und *tert*-Butanol gelöst und über zuvor aktiviertem Molekularsieb (3 Å und 4 Å) für 4 h gerührt. Zur Aktivierung der Säure wurde anschließend *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin (EEDQ) zugegeben und für weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen, auf 0 °C gekühlt und mit gekühlter Salzsäure und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach erneuter Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel, wobei das *tert*-Butylester-Phosphonat **17** in einer Ausbeute von 51 % über zwei Stufen erhalten wurde (Abb. 4.4).

Somit konnte mit der Synthese der (6'*S*)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **10** begonnen werden (Abb. 4.5). Für die IBX-Oxidation zum Uridin-5'-Aldehyd **16** wurde der Uridin-5'-Alkohol **63** in Acetonitril gelöst und mit IBX versetzt. Nach 1 h bei 80 °C wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und daraufhin auf 0 °C gekühlt, um teilweise gelöstes IBX auszufällen. Nach Filtration und Trocknung am Hochvakuum wurde der Aldehyd

16 ohne weitere Reinigung direkt in der Wittig-Horner-Reaktion mit dem zuvor dargestellten *tert*-Butylester-Phosphonat **17** umgesetzt. Das Phosphonat **17** wurde zunächst in Tetrahydrofuran gelöst und anschließend bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit Kaliumhexamethyldisilazan versetzt. Im Anschluss wurde eine Lösung des Uridin-5'-Aldehyds **16** in Tetrahydrofuran zugetropft. Das resultierende Reaktionsgemisch wurde 18 h gerührt, wobei langsam auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnte die (*Z*)-Didehydro-Aminosäure **18** mit einer guten Ausbeute von 63 % über zwei Stufen isoliert werden (Abb. 4.5).

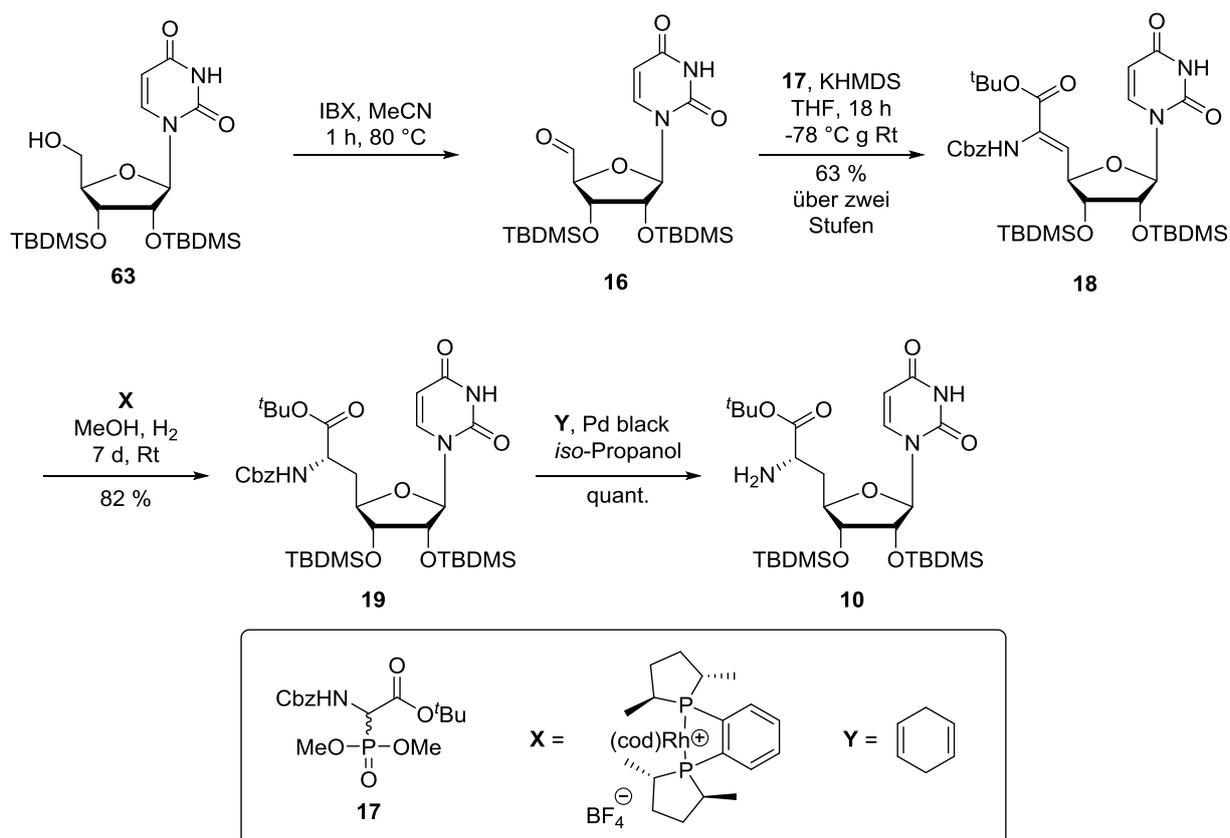


Abb. 4.5 Synthese von (6'*S*)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **10**.

Die (*Z*)-Didehydro-Aminosäure **18** wurde im Folgenden durch asymmetrische Hydrierung in die (6'*S*)-*N*-Cbz-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **19** überführt (Abb. 4.5). Als Katalysator wurde (*S,S*)-Me-DUPHOS-Rh eingesetzt, wodurch die ausschließliche Bildung der gewünschten L-Aminosäure erwartet wurde. Die Reaktion war in der Arbeitsgruppe *Ducho* zuvor ausgiebig untersucht worden. Bei Verwendung des enantiomeren Katalysators wurde die entsprechende D-Aminosäure gebildet. Ein zweifelsfreier Beleg zur Bildung des richtigen Stereozentrums konnte durch eine röntgenkristallographische Untersuchung erbracht werden.^[141] Das *Z*-Olefin **18** wurde in Methanol aufgenommen und das Gemisch wurde

anschließend entgast, um mögliche Sauerstoffreste zu entfernen, die zur Desaktivierung des Katalysators führen könnten. Anschließend wurden katalytische Mengen des (*S,S*)-Me-DUPHOS-Rh-Katalysators zugegeben und unter Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) bei Raumtemperatur für 6 d gerührt. Die gewünschte (6'*S*)-*N*-Cbz-geschützte Nucleosyl-Aminosäure **19** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer hervorragenden Ausbeute von 92 % isoliert werden (Abb. 4.5). Die finale Entschützung der Cbz-Schutzgruppe zur Bildung der (6'*S*)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **19** wurde unter den in der Arbeitsgruppe etablierten Bedingungen durchgeführt.^[160] Die geschützte Aminosäure **19** wurde in *iso*-Propanol gelöst, mit katalytischen Mengen Pd black und zehn Äquivalenten 1,4-Cyclohexadien versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie überwacht. Nach vollständigem Umsatz konnte die gewünschte Zielverbindung **10** durch Filtration der Reaktionslösung durch einen Spritzenfilter und Entfernung des Lösungsmittels in einer quantitativen Ausbeute erhalten werden. Trotz der einfachen Durchführung und der hervorragenden Ausbeute kam es in einigen Reaktionsansätzen zu Problemen. Zum einen waren unterschiedliche Reaktionszeiten (10 min bis 2 h) notwendig, um einen vollständigen Umsatz zu erreichen, wobei höhere Reaktionszeiten bei steigender Ansatzgröße benötigt wurden. Zum anderen war eine erneute Zugabe der Reagenzien erforderlich, um den Start der Reaktion hervorzurufen bzw. den vollständigen Umsatz der Reaktion zu erreichen. Die (6'*S*)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **10** wurde in einer Gesamtausbeute von 52 % über vier Stufen erfolgreich dargestellt und stand somit für den Einsatz im geplanten dreiteiligen Syntheseansatz für die Darstellung von neuartigen Muraymycin-Derivaten bereit.

4.1.3 Darstellung des Epicapreomycin-haltigen Harnstoffdipeptids **12**

Die Synthese des Epicapreomycin-haltigen Harnstoffdipeptids **12** war ebenfalls für den dreiteiligen Syntheseansatz benötigt. Die stereoselektive Synthese war in der Arbeitsgruppe *Ducho* von Dr. Martin Büschleb im Rahmen seiner Doktorarbeit entwickelt worden.^[125,144] Durch weitere Arbeiten von Kristin Leyerer standen noch Reste des Bausteins zur Verfügung und konnten im Rahmen dieser Arbeit verwendet werden.^[161] Da diese Menge allerdings nicht ausreichend für die in dieser Arbeit angestrebte Synthese von acylierten Muraymycin-Derivaten war, musste der Baustein erneut synthetisiert werden (Abb. 4.6). Auch hier konnte

auf eine Vorstufe, die ebenfalls in großem Maßstab von Kristin Leyerer synthetisiert worden war, zurückgegriffen werden.

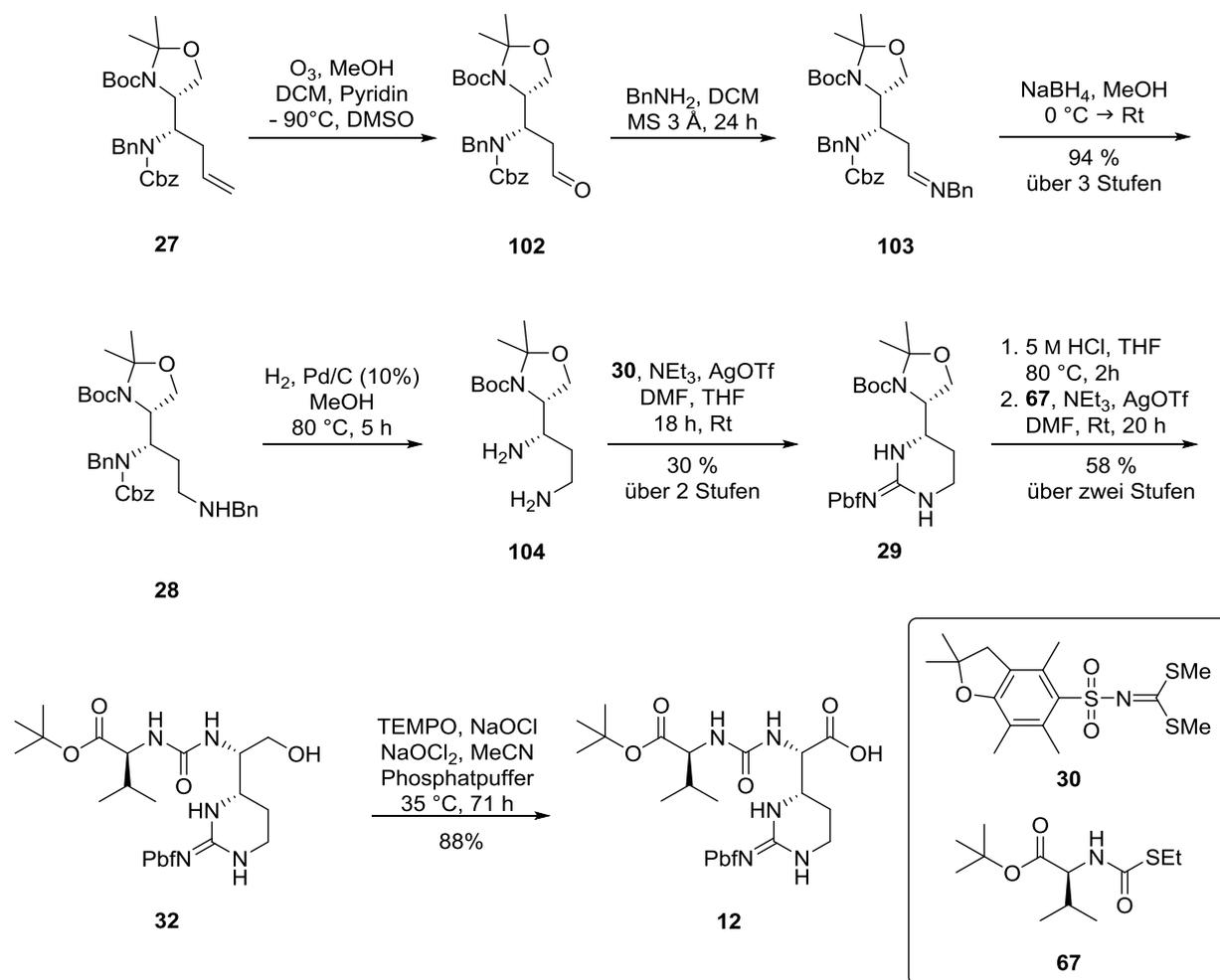


Abb. 4.6 Synthese des Epicapreomycinidinhaltigen Harnstoffdipeptids **12**.

Dabei handelte es sich um die Verbindung **27** (Abb. 4.6), deren terminale Allyl-Funktion in einem ersten Syntheseschritt durch eine Ozonolyse gespalten wurde. Das Edukt wurde dazu in einem Gemisch aus Methanol, Dichlormethan und Pyridin gelöst, die Lösung wurde entgast und Ozon wurde bei $-90^\circ C$ für etwa 5 min in die Lösung geleitet, bis eine tiefblaue Färbung die Sättigung der Lösung anzeigte. Es wurde für weitere 5 min bei $-90^\circ C$ gerührt, bevor Stickstoff durch die Lösung geleitet wurde. Nach vollständiger Entfärbung der Lösung wurde Dimethylsulfid zugegeben und das Gemisch wurde über Nacht gerührt, wobei langsam auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt **102** als farblose Flüssigkeit erhalten, die im nächsten Syntheseschritt nach ausgiebiger Trocknung im Hochvakuum durch Reaktion mit Benzylamin in das Benzylimin **103** umgesetzt

wurde (Abb. 4.6). Als Lösungsmittel wurde Dichlormethan verwendet, welches mit zuvor aktiviertem Molekularsieb (3 Å) versetzt wurde, um das in der Reaktion freiwerdende Wasser abzufangen. Nach einer Reaktionszeit von 18 h wurde über Celite[®] filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, wobei das Benzylimin **103** als gelbliches Öl erhalten wurde. Dieses sollte im nächsten Schritt der Reaktionssequenz durch Reduktion mit Natriumborhydrid in das Benzylamin **28** überführt werden. Dazu wurde der Rückstand in absolutem Methanol aufgenommen und die erhaltene Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von Natriumborhydrid wurde für 1 h bei 0 °C und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung, Wasser und Diethylether desaktiviert. Nach Phasentrennung erfolgte das Waschen der organischen Phase mit Wasser. Das Benzylamin **28** konnte ohne weitere Reinigung nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum in einer exzellenten Ausbeute von 95 % erhalten werden (Abb. 4.6).

In der nächsten Reaktion sollte die Abspaltung der Benzyl- und Cbz-Schutzgruppen durch Hydrogenolyse Spaltung durchgeführt werden (Abb. 4.6). In den früheren Arbeiten zu dieser Reaktion konnte gezeigt werden, dass eine erfolgreiche Darstellung des Produktes in relativ geringen Ansatzgrößen (bis etwa 600 mg) erreicht werden konnte. In größeren Ansätzen kam es zur Bildung von Nebenprodukten oder zur Zersetzung des Produktes.^[144] Das zuvor dargestellte Benzylamin **28** wurde in absolutem Methanol gelöst und mit Palladium auf Kohle (10 %) versetzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch unter Wasserstoffatmosphäre (1 bar) bei 80 °C gerührt. Der Umsatz der Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie überwacht. Ein vollständiger Umsatz konnte nach 5 h bis 6 h beobachtet werden. Zur Abtrennung des Katalysators wurde über Celite[®] filtriert und das angestrebte freie Diamin **104** konnte nach Entfernung des Lösungsmittels erhalten werden. Dieses wurde im nächsten Reaktionsschritt direkt weiter umgesetzt. Dabei handelte es sich um eine Guanidinylierungs-Reaktion mit dem speziell für die Reaktion entwickelten Pbf-geschützten Reagenz **30**.^[144] Die Synthese des Reagenzes **30** war im Arbeitskreis im großen Maßstab erfolgreich durchgeführt worden und es stand daher zur weiteren Verwendung bereit. Das freie Diamin **104** wurde zunächst in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Das Guanidinylierungsreagenz **30** und Triethylamin wurden dem Gemisch zugefügt und unter Rühren gelöst. Nach Zugabe von Silbertrifluormethansulfonat wurde über eine Reaktionszeit von 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde über Celite[®] filtriert und die dabei erhaltene Lösung mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Das Rohprodukt konnte nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum erhalten werden und wurde säulenchromatographisch gereinigt. Dabei wurde in einem ersten Versuch neben der

Produktfraktion auch eine Mischfraktion erhalten, die erneut aufgetrennt wurde. Die Ausbeute konnte durch die weitere Reinigung von 11 % auf 16 % gesteigert werden. Eine Rückgewinnung des nicht umgesetzten Eduktes konnte aufgrund der hohen Polarität des eingesetzten Eduktes nicht erreicht werden. Die geringe Ausbeute wurde anfangs auf einen schlechten Umsatz zurückgeführt, da das Edukt bei der Dünnschichtchromatographie noch nachgewiesen werden konnte. In einem erneuten Reaktionsansatz wurde nach einer Reaktionszeit von 6 h eine weitere Zugabe der Reagenzien durchgeführt. In der dünnschichtchromatographischen Analyse konnte auch nach der weiteren Reaktionszeit und der zusätzlichen Zugabe der Reagenzien kein weiterer Umsatz des Eduktes beobachtet werden, weshalb die Reaktion abgebrochen wurde. Nach der Aufarbeitung und der säulenchromatographischen Reinigung konnte das cyclisierte Produkt **29** in einer verdoppelten Ausbeute von 30 % isoliert werden (Abb. 4.6). Die Ausbeute konnte im Vergleich zur ersten Reaktion somit deutlich gesteigert werden. Die erneute Zugabe der Reagenzien schien zur Verbesserung der Ausbeute beizutragen. Jedoch wurde vermutet, dass die Reagenzien nicht die benötigte Qualität besaßen. Das Guanidinylierungsreagenz **30** wurde erneut mittels LC/MS- und NMR-Analyse untersucht und konnte in guter Qualität nachgewiesen werden. Das verwendete Silbertriflat wurde frisch verwendet, könnte allerdings aufgrund des hygroskopischen Verhaltens zum Einschleppen von unbestimmten Mengen Wasser geführt haben, die die Reaktion beeinflussen könnten. In der Analyse des verwendeten Diamins **104** konnte das Produkt zwar nachgewiesen werden, es wurden jedoch auch erhebliche Verunreinigungen entdeckt. Diese könnten zum einen aus Problemen in der vorherigen hydrogenolytischen Spaltung stammen. Zum anderen könnte aber auch das Edukt selbst zur Zersetzung neigen, wodurch die geringen Ausbeuten resultieren könnten. Auf eine weitere Analyse der Reaktion wurde im Rahmen dieser Arbeit aber verzichtet, da genügend Substanz für die weiteren Reaktionsschritte zur Verfügung stand.

Zum Aufbau des gewünschten Harnstoffdipeptids musste im Folgenden das Oxazolidin gespalten, die Boc-Gruppe entfernt und die Harnstoffeinheit generiert werden (Abb. 4.6). Die Spaltung des Oxazolidins sowie die Abspaltung der Boc-Gruppe erfolgten unter saurer Hydrolyse der Schutzgruppen mit Salzsäure (5 M). Das Intermediat **29** wurde dazu in Tetrahydrofuran gelöst und mit Salzsäure versetzt. Das Gemisch wurde im Anschluss für 2 h unter Rückfluss bei 80 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, wobei das Rohprodukt als bräunlicher Schaum erhalten wurde. Die freie Aminofunktion des Produktes sollte in einer Kupplungsreaktion unter Einsatz

des (*S*)-*N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-valin-*tert*-butylesters **67** umgesetzt werden (Abb 4.6 und Abb. 4.7).

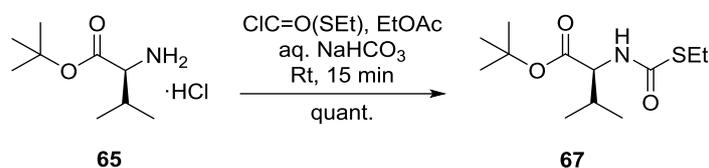


Abb. 4.7 Synthese von (*S*)-*N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-valin-*tert*-butylesters **67**.

Dieser sollte durch Reaktion zwischen dem Valin-*tert*-butylester **65** und dem *S*-Ethylchlorthioformiat **66** dargestellt werden (Abb 4.7). Der Valin-*tert*-butylester **65** wurde in einem Gemisch aus Ethylacetat und ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung aufgenommen, mit dem *S*-Ethylchlorthioformiat **66** versetzt und für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol beendet und es erfolgte das Waschen der organischen Phase mit Wasser. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte der gewünschte (*S*)-*N*-(*S*-ethylthiocarbonyl)-Valin-*tert*-butylester **67** in quantitativer Ausbeute erhalten werden (Abb 4.7). Im Folgenden wurde das Reagenz **67** unter Einfluss von Triethylamin und Silbertrifluormethansulfonat mit dem zuvor dargestellten Amin **104** umgesetzt (Abb. 4.6). Das resultierende Gemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend über Celite[®] filtriert, wobei mit Ethylacetat nachgespült wurde. Die erhaltene organische Phase wurde mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die weitere Reinigung des Produktes wurde säulenchromatographisch durchgeführt, wobei das Produkt **32** je nach durchgeführtem Ansatz in Ausbeuten von 49 % bis 75 % (über 2 Stufen) erhalten werden konnte. Ein genauer Grund für die schwankende Ausbeute konnte nicht aufgeklärt werden. Der finale Schritt zur Darstellung des Epicapreomycin-haltigen Harnstoffdipeptids **12** war die Oxidation der primären Hydroxyfunktion des α -Aminoalkohols **32** unter TEMPO-Pinnick-Bedingungen. Das Edukt **32** wurde dazu in einem Gemisch aus Acetonitril und Phosphatpuffer (0.67 M, pH = 7) gelöst und mit TEMPO und Natriumchlorit versetzt. Anschließend wurde auf 35 °C erhitzt und Natriumhypochlorit wurde langsam zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurden identische Mengen an Reagenzien zugegeben und für weitere 24 h bei 35 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit Natriumthiosulfatlösung und Natriumchloridlösung gewaschen. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde das Epicapreomycin-haltige Harnstoffdipeptid **12** in einer hervorragenden Ausbeute von 88 %

erhalten (Abb. 4.6) und konnte im Folgenden für den Aufbau von verschiedenen Muraymycin-Derivaten verwendet werden.

4.1.4 Darstellung von funktionalisierten Fettsäure-Seitenketten

Neben der Darstellung der benötigten Bausteine für den dreiteiligen Syntheseansatz zum Aufbau des Muraymycin-Grundgerüsts war ein weiteres Ziel dieser Arbeit die Darstellung von unterschiedlich funktionalisierten Fettsäure-Seitenketten, um diese für eine Derivatisierung durch Acylierung am vollständigen Muraymycin-Grundgerüst auf später Stufe der Synthesesequenz bereitzustellen. Die angestrebten Verbindungen sollten dazu eine freie Carbonsäure-Funktion besitzen. Zudem wurde eine Kettenlänge von 13 C-Atomen gewählt, wie sie auch in Vertretern der natürlichen Muraymycine, die die besten Aktivitäten zeigten, vorzufinden ist. Des Weiteren sind neben unfunktionalisierten verzweigten Seitenketten auch terminal funktionalisierte Fettsäure-Seitenketten in den natürlichen Muraymycinen vorzufinden. Dabei treten ausschließlich Hydroxyguanidin- und Guanidin-Gruppen auf. Um einen genaueren Einblick über die Funktion bei An- bzw. Abwesenheit einer bestimmten Kopfgruppe an den Fettsäure-Seitenketten der Muraymycine zu erlangen, sollten Fettsäure-Seitenketten ohne Funktionalität, mit Amino- sowie mit Guanidin-Gruppe, wie sie auch bei den biologisch aktiven, natürlichen Muraymycinen der A-Serie vorzufinden sind, für die Darstellung von acylierten Muraymycinen synthetisiert werden. Für die Darstellung des acylierten Muraymycin-Derivates ohne funktionalisierte Seitenkette sollte die kommerziell erhältliche Tridecansäure eingesetzt werden. Außerdem sollte die 3'''-Position der Leucin-Einheit im Muraymycin acetyliert werden, um auch eine Referenzsubstanz vorliegen zu haben, die zwar die Esterfunktion in der Position aufweist, aber durch das Fehlen einer Alkylkette keinen lipophilen Charakter besitzt. Diese sollte durch Acetylierungsreaktion mit Essigsäure zugänglich sein. Amino- und Guanidin-funktionalisierte Seitenketten wurden bereits in Vorarbeiten für das Projekt zur Membranpermeation von fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen synthetisiert und sollten nun für den weiteren Einsatz modifiziert werden. Dazu sollten zum einen die Kopfgruppe der Amino-funktionalisierten Fettsäure-Seitenkette **74** für zukünftige Syntheseschritte geschützt werden und zum anderen sollte der Propargylester gespalten werden, um eine freie Carbonsäure-Funktion zu generieren, die für die geplante Acetylierungsreaktion benötigt wurde. Die Guanidin-funktionalisierte Fettsäure-Seitenkette **105** musste als alternativer Baustein zur Generierung der Guanidin-funktionalisierten

Muraymycin-Analoga dargestellt werden, da eine Modifizierung der Aminofunktion am Muraymycin-Grundgerüst nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte (vergl. Kapitel 4.2.3.3).

4.1.4.1 Darstellung von 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71**

Das TFA-Salz der Amino-funktionalisierten Seitenkette **74** war in der Arbeitsgruppe *Ducho* aus früheren Arbeiten vorhanden und konnte für den weiteren Einsatz wie folgt umgesetzt werden.

In einem ersten Schritt erfolgte die Schützung der Amino-Funktion durch Reaktion mit Chlorameisensäurebenzylester. Das Edukt **74** wurde dazu in einem Gemisch aus Wasser und 1,4-Dioxan gelöst und mit Natriumcarbonat versetzt. Daraufhin wurde auf 0 °C gekühlt und der Chlorameisensäurebenzylester wurde zugetropft. In einer Reaktionszeit von 18 h wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt, bevor die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet wurde. Nach Extraktion mit Ethylacetat und weiterer Reinigung mittels Säulenchromatographie konnte das Cbz-geschützte Produkt **73** in einer guten Ausbeute von 75 % erhalten werden (Abb. 4.8).

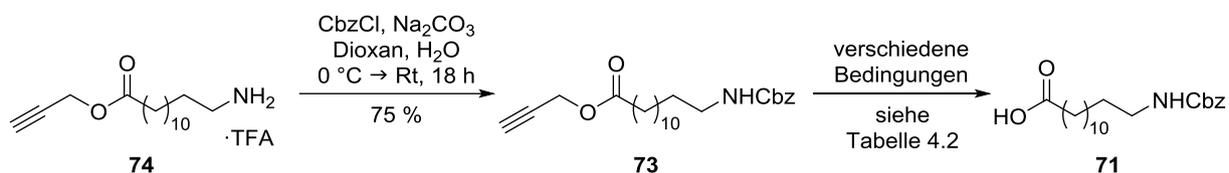


Abb. 4.8 Synthese von 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71**.

Die Verseifung des Propargylesters sollte unter Einsatz von Natriumhydroxid-Lösung durchgeführt werden. Das Edukt **73** wurde in dazu in einem ersten Ansatz in 1,4-Dioxan gelöst und mit 1.2 Äquivalenten einer Natriumhydroxid-Lösung (1 M) versetzt. Das resultierende Gemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, wobei eine Suspension resultierte. Diese wurde mit Dichlormethan verdünnt und durch Zugabe von Salzsäure (1 M) auf einen pH-Wert von 2 eingestellt. Ein weißer Feststoff konnte bei der anschließenden Extraktion unter Einsatz von Dichlormethan, Petrolether, Ether und Ethylacetat nicht in Lösung gebracht werden. Dieser wurde deshalb nach Trennung der Phasen abfiltriert und nicht weiter analysiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum konnte ein leicht gelblicher Feststoff erhalten

werden, der anschließend mittels Säulenchromatographie gereinigt wurde. Dabei konnte die gewünschte 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71** in einer Ausbeute von 47 % isoliert werden (Tab. 4.2, Nr. 1). Zudem konnte auch nicht umgesetztes Edukt zurückgewonnen werden, welches jedoch aufgrund einer Verunreinigung nicht weiter verwendet wurde. Die sehr moderate Ausbeute von 47 % konnte auf einen schlechten Umsatz während der Reaktion zurückgeführt werden.

Tab. 4.2 Synthese von 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71**.

Nr.	Base (Konz.)	Äq. Base	Reaktionszeit	Lösungsmittel	Ausbeute
1	NaOH (1 M)	1.2	16-18 h	1,4-Dioxan	47
2	LiOH (0.1 M)	2 - 10	9 h – 5 d	THF	50
3	NaOH (2 M)	2	16 h	THF	32
4	NaOH (2 M)	6	18 h dann 2.5 h bei 35 °C dann 30 min bei 40 °C		93

In einem zweiten Versuch wurde anstelle von Natriumhydroxid Lithiumhydroxid-Lösung (0.1 M, 2 Äq.) verwendet, die im Arbeitskreis für ähnliche Verseifungsreaktionen eingesetzt worden war. Zudem wurde nach diesem bekannten Protokoll Tetrahydrofuran als Lösungsmittel eingesetzt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie überwacht. Da der Umsatz nach 9 h stagnierte, erfolgte die erneute Zugabe von 2 Äquivalenten der Lithiumhydroxid-Lösung. Auch nach weiteren 24 h Reaktionszeit konnte kein vollständiger Umsatz beobachtet werden, weshalb eine weitere Zugabe von 4 Äquivalenten erfolgte. Das Gemisch wurde dann für weitere 72 h gerührt. Der Umsatz konnte nur im geringen Maße gesteigert werden, weshalb 2 weitere Äquivalente der Lithiumhydroxid-Lösung zugegeben wurde. Die Reaktion wurde nach weiteren 24 h aufgearbeitet. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt trotz der drastisch gesteigerten Zugabe an Reagenz und der verlängerten Reaktionszeit nur in moderater Ausbeute von 50 % isoliert werden (Tab. 4.2, Nr. 2). Zudem wurde auch hier wieder leicht verunreinigtes Edukt zurückgewonnen. Die Ausbeute bzw. der Umsatz der Reaktion konnte durch den Einsatz von Lithiumhydroxid-Lösung nicht gesteigert werden. Auch die drastisch erhöhte Zugabe von insgesamt zehn Äquivalenten der Lithiumhydroxid-Lösung und Verlängerung der Reaktionszeit auf etwa 5 d

führte nicht zu Verbesserung des Umsatzes. Aus diesem Grund wurde in einem erneuten Reaktionsansatz wieder Natriumhydroxid-Lösung verwendet, durch die im ersten Versuch eine ähnliche Ausbeute bei geringerer Reaktionszeit erhalten worden war. Zur Optimierung der Reaktion wurden im nächsten Versuch direkt 2 Äquivalente eingesetzt. Zusätzlich wurde eine 2 M Lösung verwendet, wodurch die Konzentration der Base gesteigert wurde. Als Lösungsmittel diente in diesem Fall analog zur Reaktion mit Lithiumhydroxid Tetrahydrofuran. Nach erfolgter Reaktionszeit von 16 h wurde das Gemisch wässrig aufgearbeitet und säulenchromatographisch gereinigt. In diesem Fall konnten nur 32 % des Produktes isoliert werden (Tab. 4.2, Nr. 3). Im Vergleich zur ersten Reaktion könnte der Wechsel des Lösungsmittels von 1,4-Dioxan zu Tetrahydrofuran ein Grund für das Absinken des Umsatzes sein. In einem nächsten Versuch wurde erst die Menge der eingesetzten Natriumhydroxid-Lösung auf 6 Äquivalente erhöht. Nach einer Reaktionszeit von 18 h konnte bei der Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie ein gesteigerter Umsatz beobachtet werden, jedoch war weiterhin Edukt vorhanden. Daraufhin wurde entschieden die Reaktion zu erwärmen, wobei die Reaktionskontrolle mittels DC fortgeführt wurde. Nach 2.5 h bei 35 °C konnte bereits ein erhöhter Umsatz beobachtet werden. Nach weiterem Erhitzen auf 40 °C für 30 min konnte das Edukt nur noch in geringen Mengen nachgewiesen werden und die Reaktion wurde durch Zugabe von Salzsäure (2 M) beendet. Nach Extraktion mit Ethylacetat und säulenchromatographischer Reinigung wurde das gewünschte Produkt **71** in einer sehr guten Ausbeute von 93 % isoliert (Tab. 4.2, Nr. 4). Auf eine weitere Optimierung der Reaktion konnte aufgrund der exzellenten Ausbeute der zuletzt beschriebenen Reaktion und einer ausreichenden Menge für die weitere Verwendung der 13-N-Cbz-Aminotridecansäure **71** verzichtet werden.

4.1.4.2 Darstellung von 13-N-Pbf-Guanidinotridecansäure 105

Eine Guanidin-funktionalisierte Fettsäure-Seitenkette **41** war ebenfalls im Rahmen der Masterarbeit für die Darstellung der fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen für die beschriebenen Experimente zur Membranpermeation von Fettsäure-Seitenketten synthetisiert worden und sollte hier für den Gebrauch in der geplanten Acylierungsreaktion weiter derivatisiert werden. Die noch vorhandene Menge reichte jedoch für eine weitere Derivatisierung nicht aus. Das synthetische Vorläufermolekül, der bereits im letzten Kapitel verwendete ω -Aminotridecansäurepropargylester **74**, war in ausreichender Menge in Form eines TFA-Salzes vorhanden und sollte die Nachsynthese der Guanidin-funktionalisierten

Seitenkette **41** ermöglichen. Bereits in der Masterarbeit war das TFA-Salz in der Guanidinylierungsreaktion mit dem schutzgruppenfreien Guanidinylierungsreagenz 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid verwendet worden. Nach Aufarbeitung der Reaktion und weiterer Reinigung des Rohproduktes mittels Säulenchromatographie konnte das Produkt nicht isoliert werden, was vor allem auf den Einsatz unterschiedlicher Salze (TFA-Salz als Edukt und Hydrochlorid als Reagenz) zurückgeführt wurde. Obwohl eine wässrige Aufarbeitung durch Waschen mit Ammoniumchlorid-Lösung durchgeführt wurde, könnte ein Mischsalz entstanden sein. Die einzelnen Salze dieser Verbindung sollten unterschiedliche Eigenschaften besitzen, was folglich zu Problemen bei der Extraktion als auch bei der anschließenden Säulenchromatographie geführt haben könnte (Abb. 4.9).^[157]

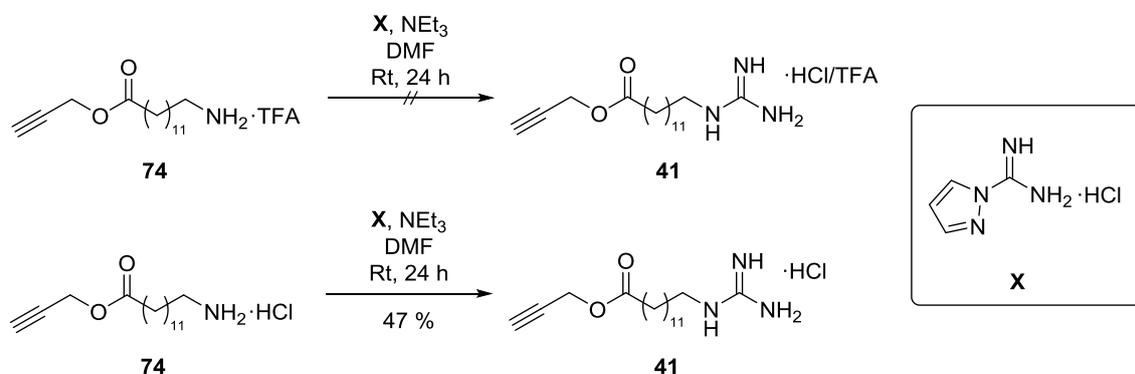


Abb. 4.9 Während der Masterarbeit durchgeführte Guanidinylierungsreaktionen zur Darstellung von 13-Guanidinotridecansäurepropargylester **41**.^[157]

Beim Einsatz des Hydrochlorids der 13-Aminotridecansäure **74** in der Guanidinylierungsreaktion war das gewünschte Produkt **41** in einer Ausbeute von 47 % erhalten worden. Die sehr geringe Ausbeute wurde dabei auf die Art und Weise der Aufarbeitung zurückgeführt. Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurde das Gemisch mit Ammoniumchlorid-Lösung versetzt, wobei ein weißer Feststoff ausfiel, der bei weiteren Extraktionsversuchen nicht gelöst werden konnte und deshalb abfiltriert wurde. Bei der NMR-spektroskopischen Untersuchung des Feststoffes konnte das Produkt zweifelsfrei nachgewiesen werden. Dieses musste erneut mit Wasser gewaschen werden, da im Signalbereich der Guanidinygruppe weitere Signale zu erkennen waren, die wahrscheinlich aus der Anwesenheit von Triethylammoniumchlorid sowie des Guanidinylierungsreagenzes resultierten. Das erneute Waschen, als auch die nicht vollständige Fällung des Produktes bei der Zugabe der Ammoniumchlorid-Lösung könnten somit zur geringen Ausbeute beigetragen haben. Weiterer Produktverlust könnte durch die Filtration des feinen Feststoffes über die P4-Fritte zu Stande gekommen sein. Aus diesem Grund wurde eine Optimierung der Reaktion unter Einsatz des

TFA-Salzes angestrebt. Dazu wurde das noch vorrätige TFA-Salz der 13-Aminotridecansäure **74** analog zur Synthese im Rahmen der eigenen Masterarbeit in Dimethylformamid gelöst und mit dem 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid und Triethylamin versetzt, und es wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei der wässrigen Aufarbeitung wurde in diesem Fall statt Ammoniumchlorid-Lösung, Salzsäure (1 M) verwendet, wobei in diesem Fall eine klare Lösung erhalten wurde. Nach anschließender Extraktion mit Dichlormethan wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verwendete DMF konnte nicht vollständig evaporiert werden, weshalb das Produkt in verdünnter Salzsäure aufgenommen und dann gefriergetrocknet wurde. Die weitere Reinigung erfolgte durch Waschen mit Diethylether und Wasser. Nach erneuter Gefrier Trocknung wurde das Produkt in einer Ausbeute von 53 % erhalten. In einem weiteren Reaktionsversuch wurde das Rohprodukt nach der wässrigen Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie gereinigt, wobei ebenfalls DMF im Produkt vorzufinden war. Deshalb wurde auch in diesem Fall mit wässriger Salzsäure verdünnt und eine Gefrier Trocknung durchgeführt. Die erzielte Ausbeute verminderte sich in diesem Reaktionsansatz auf 37 %, was verglichen mit dem ersten Ansatz vermutlich auf die säulenchromatographische Reinigung zurückgeführt werden konnte. Trotz der geringen Ausbeuten konnte das gewünschte 13-Guanidintridecansäure-propargylester-hydrochlorid **41** erfolgreich nachsynthetisiert werden. Zudem konnte deutlich gezeigt werden, dass auch der Einsatz des TFA-Salzes der Ausgangsverbindung **74** in der Guanidinylierungsreaktion die erfolgreiche Synthese ermöglichen konnte. Die Aufarbeitung der Reaktion konnte zudem optimiert werden (Abb. 4.10).

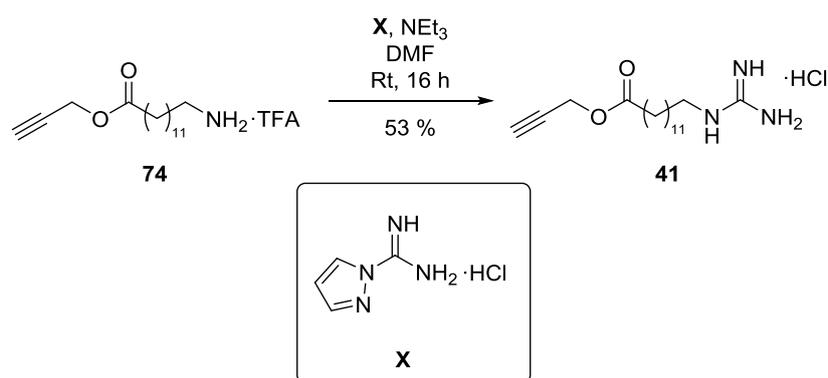


Abb. 4.10 Synthese von 13-Guanidinotridecansäurepropargylester-hydrochlorid **41**.

Für die weitere Verwendung in der geplanten Acylierungsreaktion sollte anschließend der Propargylester durch Verseifung gespalten werden, um die Carbonsäure freizusetzen. Danach sollte die Guanidingruppe mit einer Pbf-Schutzgruppe versehen werden. Zur Verseifung sollten die im letzten Kapitel genutzten Bedingungen genutzt werden. Dazu wurde das 13-

Guandinotridecansäurepropargylester-hydrochlorid **41** in THF aufgenommen und mit Natronlauge (2 M, 6 Äq.) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 16 h wurde das Reaktionsgemisch mit Salzsäure (1 M) angesäuert und mit Dichlormethan extrahiert. Dabei kam es durch den amphiphilen Charakter der gewünschten Zielverbindung **106** zu deutlichen Problemen bei der Phasentrennung (Abb. 4.11). Neben der Bildung eines Schaumes zwischen den Phasen, der sich erst nach geraumer Zeit löste, konnte das Produkt nicht vollständig extrahiert werden. Bei der Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie konnten vermeintliche Produktpots sowohl in der wässrigen als auch in der organischen Phase nachgewiesen werden. Aufgrund dieser Probleme wurde auf die weitere Reinigung und ebenso die weitere Verwendung der amphiphilen zwitterionischen Substanz **106** verzichtet.

In einer neuen Synthesestrategie sollte zunächst die Pbf-Schutzgruppe am Guanidin durch Reaktion mit Pbf-Chlorid eingeführt werden. In der Reaktion wird ein stark alkalisches Milieu benötigt^[174], welches ebenso die Verseifung des Propargylesters ermöglichen könnte. Ein Risiko der angestrebten Synthese könnte allerdings auch die Bildung eines recht komplexen Produktgemisches sein, weshalb zunächst eine erste Testreaktion im kleinen Maßstab durchgeführt werden sollte.

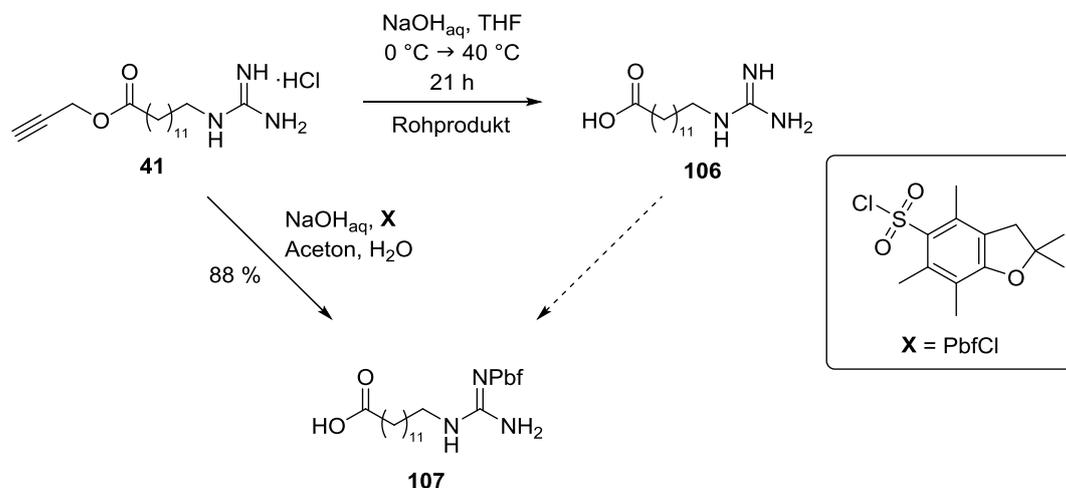


Abb. 4.11 Synthese von 13-N-Pbf-Guandinotridecansäure **107**.

Dazu wurde die Ausgangsverbindung **41** in einem Gemisch aus Aceton und Wasser (4:1) aufgenommen und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde Natronlauge (4 M, 4.9 Äq.) bis zu einem konstanten pH-Wert von etwa 13 bis 14 zugetropft. Die weitere Zugabe des Pbf-Chlorids, gelöst in Aceton, erfolgte ebenso bei 0 °C, bevor auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach einer Reaktionszeit von etwa 3 h konnte bei der Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie die Bildung eines unerwünschten Produktgemisches beobachtet

werden. Daraufhin wurde die Reaktion durch Zugabe von Salzsäure (1 M) beendet und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden anschließend mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Bei der Reinigung des Rohproduktes mittels Säulenchromatographie wurde ein Gemisch aus Dichlormethan, Methanol und Ameisensäure verwendet, um sowohl eine bessere Trennung des Gemisches als auch eine bessere Elution der freien Carbonsäure zu gewährleisten. Neben verschiedenen Mischfraktionen konnte auch eine saubere Produktfraktion mit der gewünschten Zielverbindung **107** isoliert werden. Die erzielte Ausbeute wurde aufgrund von nicht entfernten Lösungsmittelresten aus dem NMR-Spektrum berechnet. Dabei konnte eine Produktausbeute von etwa 50 % bestimmt werden, die für eine zweistufige Reaktion durchaus zufriedenstellend war. Allerdings war die erhaltene Produktmenge nicht ausreichend, sodass ein zweiter größerer Reaktionsansatz unter ähnlichen Bedingungen durchgeführt wurde. Zum einen musste die doppelte Menge an Natronlauge (4 M, 11 Äq.) zugefügt werden, um das benötigte alkalische Milieu mit einem konstanten pH-Wert von etwa 13 bis 14 zu erreichen. Zum anderen wurde die Reaktionszeit um eine weitere Stunde erhöht, in der bei der Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie kein weiterer Umsatz zur Zielverbindung beobachtet werden konnte. Aus diesem Grund erfolgte die Zugabe eines weiteren Äquivalentes des Pbf-Chlorids. Da nach weiteren 15 min dünnschichtchromatographisch keine Änderung zu erkennen war, wurde die Reaktion durch Zugabe von Salzsäure beendet. Nach erfolgter wässriger Aufarbeitung und Reinigung mittels Säulenchromatographie konnte die gewünschte Zielverbindung **107** in einer sehr guten Ausbeute von 88 % isoliert werden (Abb. 4.11). Ob die verlängerte Reaktionszeit oder die weitere Zugabe der Reagenzien zur deutlichen Steigerung der Ausbeute geführt haben, wurde im Rahmen der Arbeit nicht weiter aufgeklärt, da genügend Substanz zur weiteren Verwendung zur Verfügung stand.

4.2 Darstellung von *O*-acylierten Muraymycinen

Das Hauptziel dieser Arbeit sollte die Synthese von *O*-acylierten Muraymycin-Analoga sein, um nach erfolgreicher Synthese zu untersuchen, welchen Einfluss die Fettsäure-Seitenketten an der zentralen Leucin-Einheit auf die inhibitorische (gegenüber *MraY*) sowie antibiotische Aktivität ausüben. Dabei sollte der in der Arbeitsgruppe *Ducho* entwickelte dreiteilige Ansatz zum Aufbau des Muraymycin-Grundgerüsts angewendet werden. Die weitere Derivatisierung durch eine Acylierungsreaktion an der freien Hydroxygruppe der zentralen Leucin-Einheit sollte erst nach vollständiger Synthese des Grundgerüsts, aber noch vor der globalen sauren Entschützung und somit auf später Stufe (*late stage derivatisation*) der gesamten Synthesesequenz erfolgen. Für die Darstellung einer ersten vereinfachten Verbindungsserie sollte zunächst das Lysin-haltige Harnstoffdipeptid **62** verwendet werden (Abb. 4.19), welches einerseits deutlich leichter synthetisch zugänglich ist und andererseits noch in der Arbeitsgruppe zur Verfügung stand. Dabei sollte zunächst untersucht werden, ob die Derivatisierung auf später Stufe überhaupt möglich ist und ob die dargestellte Esterverbindung hinreichende Stabilität für die finale globale saure Entschützung besitzt. Im Anschluss sollte auch das Epicapreomycidin-haltige Harnstoffdipeptid **12** für die Darstellung einer zweiten Serie von acylierten Derivaten verwendet werden (Abb. 4.25). Diese sollten sich dann nur noch durch die Abwesenheit der Aminoribose in der 5'-Position und durch Anwesenheit von unterschiedlichen Fettsäure-Seitenketten von den natürlichen Muraymycinen unterscheiden. Die durchgeführten Synthesen werden im Folgenden näher beschrieben.

4.2.1 Darstellung des Amid-Bausteins **14**

Die Synthesen der einzelnen Bausteine für die Darstellung des Muraymycin-Grundgerüsts für den angestrebten dreiteiligen Syntheseansatz wurden bereits in den vorherigen Kapiteln ausführlich beschrieben. Im ersten Schritt sollte nun die (6'*S*)-5'-Desoxy-Nucleosyl-Aminosäure **10** durch eine reduktive Aminierung mit dem (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** verknüpft werden. Dabei sollten die etablierten Reaktionsbedingungen, wie sie bereits zur Darstellung des 5'-Desoxy-Muraymycins C4 angewendet worden war, genutzt werden (Abb. 4.12).

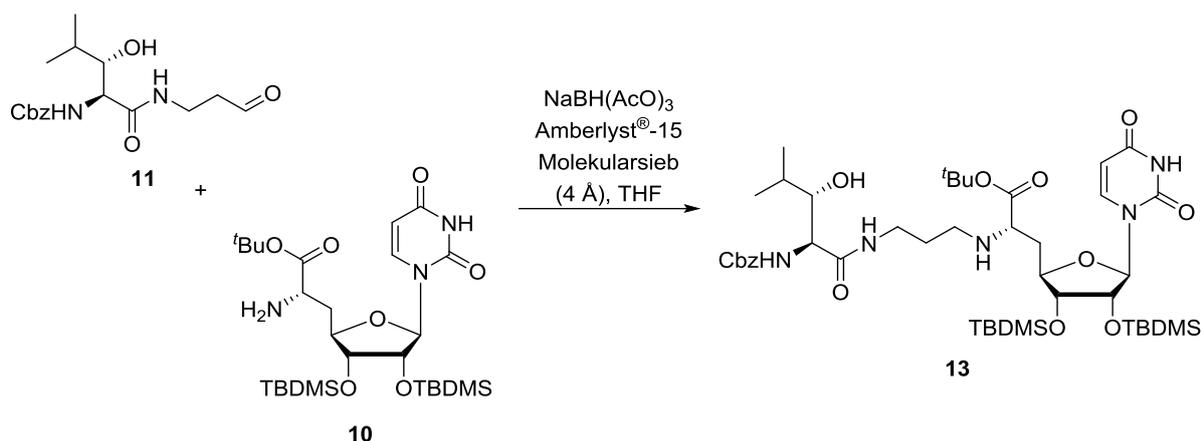


Abb. 4.12 Darstellung von Amid **13** mittels reduktiver Aminierung.

Die Nucleosylaminosäure **10** wurde zunächst in Tetrahydrofuran gelöst und für etwa 5 min über frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) gerührt. Anschließend wurde der Aldehyd **11**, ebenfalls in Tetrahydrofuran gelöst, zugefügt und das Gemisch wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Amberlyst®-15 und Natriumtriacetoxyborhydrid wurde für weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Natriumcarbonat beendet. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit Ethylacetat und anschließender säulenchromatographischer Reinigung konnte die Zielverbindung in einer moderaten Ausbeute von 42 % isoliert werden (Tab. 4.4, Nr. 1). Der Nachweis der Verbindung erfolgte in diesem ersten Versuch zunächst nur durch Vergleich der vorliegenden NMR-Daten. Ein genauer Grund für die eher geringe Ausbeute konnte zunächst nicht ausgemacht werden. Allerdings deutete sich bereits bei Reaktionsverfolgung mithilfe von Dünnschicht-chromatographie durch das Auftreten mehrerer Spots an, dass es zur Bildung von Zersetzungs- oder Nebenprodukten gekommen war. Diese wurden zunächst nicht genauer untersucht und die Reaktion wurde mit identischen Reaktionsbedingungen erneut durchgeführt. Nach Abschluss der Reaktion erfolgte eine Analyse des Reaktionsgemisches mittels LC/MS. Dabei konnte das Produkt nur in geringen Mengen nachgewiesen werden. Neben der eingesetzten Nucleosylaminosäure **10** konnte zudem eine Vielzahl an verschiedenen Nebenprodukten, deren Identität nicht aufgeklärt werden konnte, nachgewiesen werden. Die Anwesenheit des Eduktes im Reaktionsgemisch deutete auf einen geringen Umsatz der Reaktion hin. Weitere Reaktionsansätze zeigten ähnliche Ergebnisse, wobei vor allem ein Nebenprodukt mit der Produktmasse $m/z +16$ immer nachgewiesen werden konnte. Zunächst wurde angenommen, dass es sich dabei um einen massenspektrometrischen Artefakt handelte, was aufgrund des insgesamt geringen Umsatzes der Reaktion nicht weiter verfolgt wurde. Als weitere mögliche Erklärung für das Nebenprodukt

wurde die nicht erfolgte Reduktion des während der Reaktion als Zwischenstufe entstehenden Imins **108** angenommen (Abb. 4.13).

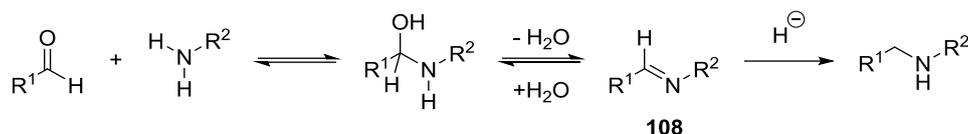


Abb. 4.13 Reaktionsablauf der reduktiven Aminierung.

Aus diesem Grund wurde für die weiteren Reaktionsansätze eine neue Charge des Reduktionsmittels verwendet. In diesen Ansätzen konnte das gewünschte Produkt zwar nachgewiesen werden, allerdings war auch weiterhin das Nebenprodukt im Reaktionsgemisch enthalten. Die unterschiedlichen Retentionszeiten der beiden Verbindungen zeigten nun deutlich, dass die Annahme eines massenspektrometrischen Artefaktes ausgeschlossen werden konnte. Das gewünschte Produkt konnte nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel in Ausbeuten von etwa 35 % bis 54 % erhalten werden. Weiterhin stellte sich die Frage, ob es sich bei dem Nebenprodukt um das Imin **108** oder um eine andere Verbindung handelte.

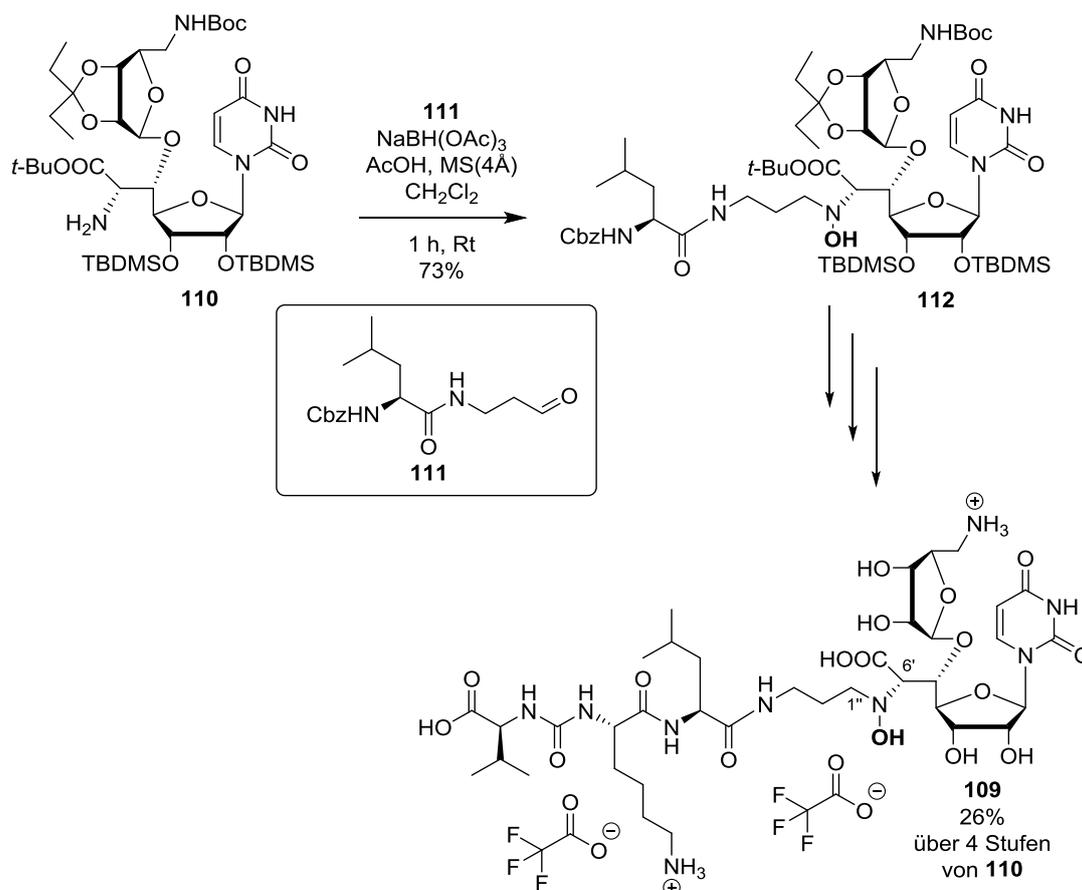


Abb. 4.14 Darstellung des Muraymycin-Analogons **109** (durchgeführt von Dr. D. Wiegmann^[160]).

Zu diesem Zeitpunkt trat das genannte Problem der vorliegenden reduktiven Aminierung auch in Reaktionen anderer Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe *Ducho* auf. Hier sind vor allem die Arbeiten von Dr. Daniel Wiegmann zu nennen, der sich unter Anderem mit der Synthese eines in 5'-Position aminoglycosylierten Muraymycin-Analogons **109** beschäftigte.^[160] Dabei wurde ebenfalls der dreiteilige Syntheseansatz zur Darstellung von Muraymycin-Analoga verwendet (Abb. 4.14). In der reduktiven Aminierung mit der aminoribosylierter Nucleosylaminosäure **110** und dem Leucinamidaldehyd **111**, welcher sich zum in dieser Arbeit verwendeten Aldehyd **11** durch Abwesenheit einer Hydroxygruppe in der 3-Position unterschied, wurde als Hauptprodukt ebenfalls eine Verbindung mit +16 erhöhter Masse erhalten. Da eine NMR-Analyse aufgrund von Rotamerenbildung auf dieser Stufe zu nicht auswertbaren Spektren führte, wurde das erhaltene Produkt **112** in den weiteren Reaktionen zur Darstellung der Zielverbindung **109** verwendet. Dabei konnte die erhöhte Masse auch in den Folgeverbindungen sowie der Zielverbindung **109** vorgefunden werden. Die NMR-spektroskopische Untersuchung führte schließlich zur Aufklärung der Struktur. Anstelle der gewünschten Zielverbindung hatte sich während der reduktiven Aminierung das Hydroxylamin **109** gebildet. Zur Aufklärung diente dabei der Vergleich der ¹³C-Spektren von Zielverbindung **109** und des 5'-Desoxy-Muraymycin-Analogons **9**. Die Verschiebungen des 1'-Kohlenstoffatoms, sowie des 6'-Kohlenstoffatoms zeigten im Fall des Hydroxylamins **109** eine deutliche Tieffeldverschiebung im Bereich von 10 bis 12 ppm. Alle anderen Signale zeigten ähnliche Verschiebungen, weshalb die zusätzliche Hydroxygruppe am 6'-Stickstoffs gebunden sein musste. Als finaler Nachweis diente eine hochaufgelöste Messung der Molekülmasse, welche mit der berechneten Masse übereinstimmte. Wie es unter den reduktiven Bedingungen der durchgeführten Aminierung zum Einbau der Hydroxygruppe kommen konnte, konnte nicht weiter belegt werden. Jedoch wurde die folgende Hypothese aufgestellt. Die Nucleosylaminosäure **10** resultierte aus der hydrogenolytischen Spaltung der Cbz-Schutzgruppe unter Verwendung von Palladium Black und 1,4-Cyclohexadien. Dabei könnten nach der Filtration des Reaktionsgemisches Katalysatorreste des Palladiums (evtl. mit Wasserstoff belegt) in die reduktive Aminierung eingeschleppt worden sein. Dadurch könnten die durch das Palladium Black geschaffenen radikalischen Bedingungen zur Übertragung der Hydroxygruppe auf das sekundäre Amin geführt haben (Abb. 4.15). Das entstehende Kohlenstoffradikal, welches durch Hyperkonjugation mit dem freien Elektronenpaar des Amins stabilisiert ist, könnte dann ein Wasserstoffradikal vom Palladium abstrahiert haben, wobei schließlich das Hydroxylamin gebildet werden könnte. Eine Reduktion durch das zugefügte Natriumtriacetoxyborhydrid sollte demnach nicht abgelaufen sein (Abb. 4.15).

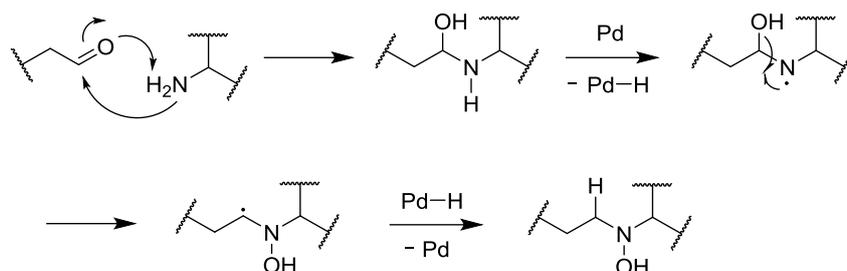


Abb. 4.15 Postulierter Mechanismus zur Bildung des Hydroxylamins **112** und weiteren.^[160]

Um die aufgestellte Hypothese zu überprüfen, wurden im Rahmen dieser Arbeit verschiedene Testreaktionen unter Zugabe von Palladium Black durchgeführt. Als Edukte dienten erneut die Nucleosylaminosäure **10** und in diesem Fall der synthetisch deutlich leichter zugängliche Leucinamid-Baustein **111** (Abb. 4.16, Tab. 4.3).

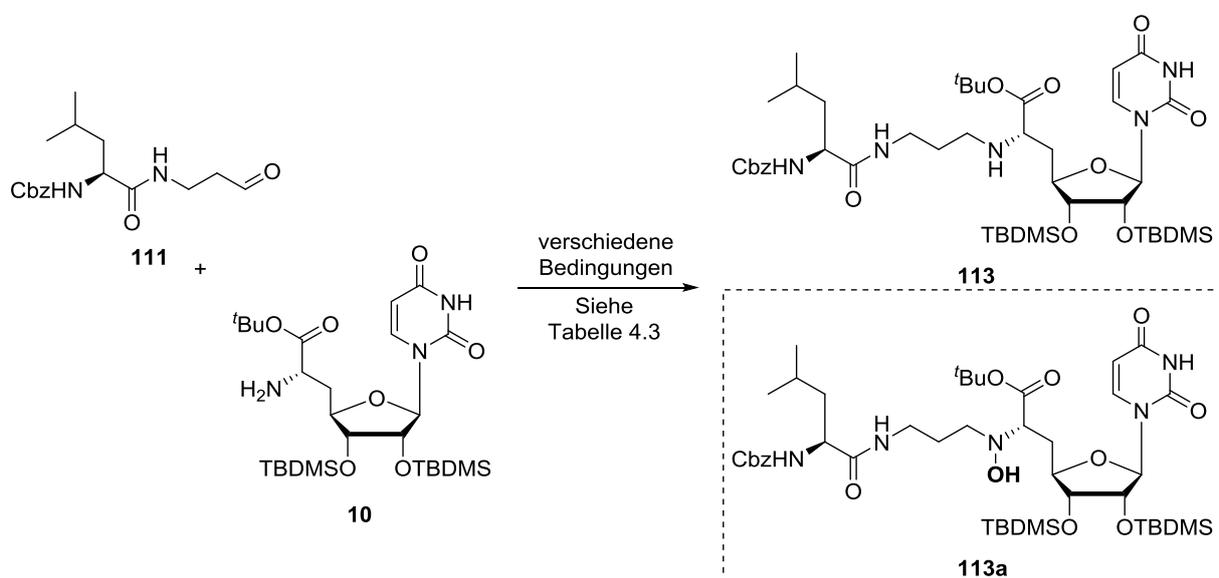


Abb. 4.16 Testreaktionen zur Darstellung von Amid **113**.

Im ersten Ansatz erfolgte die Zugabe von Palladium Black bereits beim Vorrühren der Nucleosylaminosäure **10**. Nach anschließender Zugabe des Aldehyds **111** wurde für eine weitere Stunde gerührt, bevor die Zugabe von Amberlyst und Natriumtriacetoxyborhydrid erfolgte (Tab. 4.3, Nr. 1). Nach weiterer Reaktion über Nacht und wässriger Aufarbeitung wurden in der LC/MS-Analyse weiterhin Haupt- und Nebenprodukt in ungefähr gleichem Verhältnis nachgewiesen. Die Bildung des Hydroxylamins wurde also durch die Zugabe nicht begünstigt. In einem zweiten Ansatz wurden beide Edukte mit Palladium Black versetzt über einen Zeitraum von 22 h vorgerührt. Erst dann erfolgten die Zugabe der Reagenzien und das weitere Rühren über Nacht. In der LC/MS-Analyse konnte das gewünschte Produkt **113** als

Hauptprodukt nachgewiesen werden. Das Hydroxylamin-Nebenprodukt **113a** konnte weiterhin detektiert werden (Tab. 4.3, Nr. 2). Das Vorrühren mit Palladium schien die Bildung des Nebenproduktes aber eher zu unterdrücken.

Tab. 4.3 Unterschiedliche Reaktionsbedingungen der reduktiven Aminierung.

Nr.	Zusatz	Änderung von Standardbedingungen	Verhältnis 113 : 113a
1	Pd Black	mit 10 1 h vorgerührt	≈
2	Pd Black	mit 10 + 11 22 h vorgerührt	>
3	Pd Black + Cyclohexadien	mit 10 + 11 1 h vorgerührt	>>
4	Radikalinhibitor	mit 10 + 11 1 h vorgerührt	+
5	NaBH ₃ (CN)	statt NaBH(OAc) ₃	>>
6		Molekularsieb 3 Å	+
7		Molekularsieb 4 Å	+
8		Amberlyst 0.1 Äq.	<<
9		Amberlyst 0.4 Äq.	<<
10		dest. THF statt SPS	+
Standard- bedingungen	1.) 10 (1 Äq.) 5-10 min über Molekularsieb (4 Å) vorgerührt 2.) Zugabe 11 (1. Äq.) 1 h vorgerührt 3.) Zugabe Amberlyst®-15 (0.25 Äq.) 4.) Zugabe NaBH(OAc) ₃ (2 Äq.) 5.) wässrige Aufarbeitung und Säulenchromatographie		

+: **113a** vorhanden, Verhältnis zu **113** nicht bestimmt

In einem weiteren Versuch wurde das Palladium vor Zugabe über 1,4-Cyclohexadien gerührt, um eine Beladung mit Wasserstoff zu gewährleisten (Tab. 4.3, Nr. 3). Nach nachfolgender Testreaktion konnte das Nebenprodukt **13a** nur noch in geringen Mengen nachgewiesen werden. Weiterhin schien die Zugabe von Palladium eher zu besseren Ergebnissen der reduktiven Aminierung zu führen. Dabei wurde vermutet, dass das Palladium vielleicht eher als Radikalinhibitor diente und andere Radikale aus der Reaktionsmischung entfernte. Um auch diese Vermutung genauer zu untersuchen, wurde 2,4,6-Tri-*tert*-butylphenol als

Radikalinhibitor zugefügt (Tab. 4.3, Nr. 4). Dabei erfolgte ein Ansatz mit einer Vorrührzeit der Edukte **10** und **111** von einer Stunde vor Zugabe der weiteren Reagenzien, und ein weiterer unter verkürzter Vorrührzeit von etwa 10 min. In beiden Ansätzen konnten wiederum beide Verbindungen **13** und **13a** nachgewiesen werden. Die Zugabe von Palladium Black übte keinen erkennbaren Einfluss auf die Reaktion aus. Auch die Annahme über den Ablauf einer möglichen radikalischen Reaktion konnte nicht nachgewiesen werden, da auch bei Zugabe des Radikalinhibitors ein Gemisch aus gewolltem Produkt **13** und dem Hydroxylamin **13a** erhalten wurde.

In einem erneuten Reaktionsansatz der reduktiven Aminierung wurde anstelle von Natriumtriacetoxyborhydrid Natriumcyanoborhydrid verwendet (Tab. 4.3, Nr. 5). In dieser Reaktion wurde das gewünschte Produkt zwar als Hauptprodukt gebildet, jedoch konnte weiterhin das Nebenprodukt in der LC/MS-Analyse nachgewiesen werden. Das Reduktionsmittel wurde demnach zunächst nicht für die Bildung des Nebenproduktes verantwortlich gemacht und alle übrigen Reagenzien sollten auf ihren Einfluss auf die Reaktion untersucht werden. Zur Bindung des freiwerdenden Wassers bei der Bildung des Imins diente frisch aktiviertes Molekularsieb, welches in zwei weiteren Reaktionen mit Porengrößen von 3 Å und 4 Å eingesetzt wurde (Tab. 4.3, Nr. 6 und Nr. 7). Das Resultat beider Reaktionen war auch weiterhin ein Gemisch aus beiden Verbindungen. Als nächstes wurde der Einfluss des zugesetzten Amberlyst[®]-15 in Bezug auf die zugesetzten Äquivalente untersucht. Im ersten Versuch wurden 0.1 Äq. und in einem zweiten 0.4 Äq. verwendet (Tab. 4.3, Nr. 8 und Nr. 9). In beiden Experimenten wurde überwiegend das Nebenprodukt gebildet. Zuletzt erfolgte ein Wechsel des verwendeten Tetrahydrofurans. Dieses wurde in den vorherigen Versuchen aus der Lösungsmitteltrocknungsanlage entnommen und frisch verwendet. Um mögliche Qualitätsunterschiede auszuschließen, wurde frisch destilliertes Tetrahydrofuran in einer weiteren Reaktion eingesetzt, was ebenfalls nicht zur Unterdrückung der Nebenproduktbildung führte (Tab. 4.3, Nr. 10). Nachdem nach dem Austausch aller Reagenzien keine erkennbare Änderung der Reaktion eingetreten war, wurde die Bildung des Nebenproduktes nicht weiter untersucht.

In den weiteren Ansätzen wurden erneut der Hydroxyleucinamid-Aldehyd **11** und der Nucleosylaminosäure-Baustein **10** in der Reaktion eingesetzt. Das primäre Ziel in den weiteren Versuchen sollte schließlich die saubere Isolierung des gewünschten Produktes **13** (Abb. 4.17) für den weiteren Fortschritt in der vorliegenden Arbeit sein.

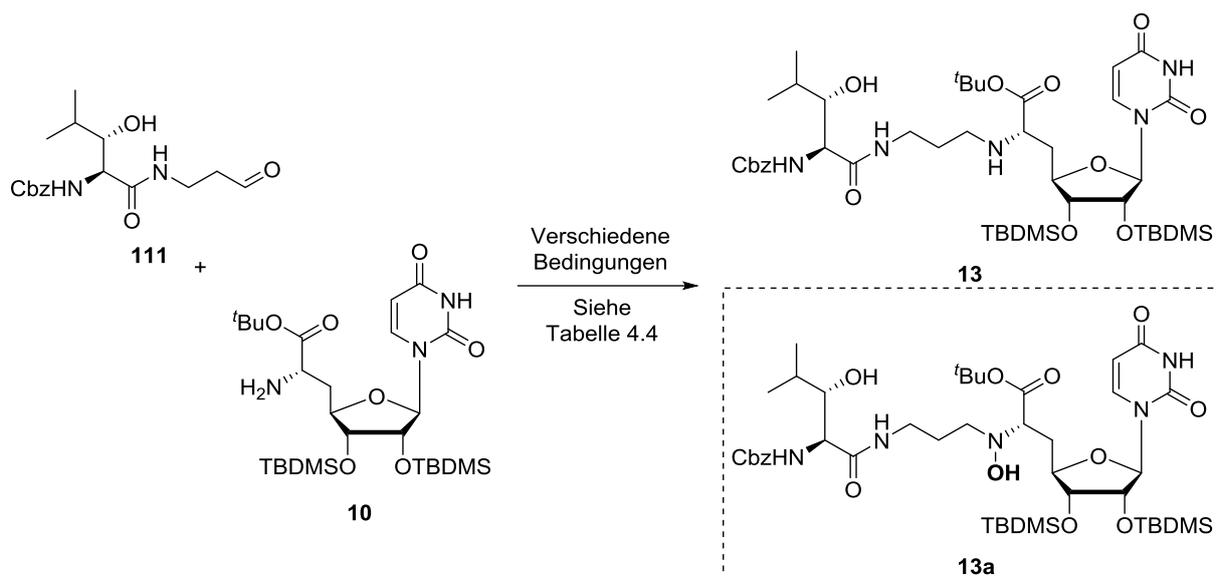


Abb. 4.17 Reaktionen zur Darstellung von Amid **13**.

In den ersten zwei Versuchen sollte trotzdem die Reaktionsführung weiter untersucht werden. Dazu wurde im ersten Ansatz nach einer Vorrührzeit der Edukte **10** und **11** von einer Stunde zunächst Amberlyst[®]-15 zugefügt und vor Zugabe des Natriumtriacetoxyborhydrids für weitere 30 min gerührt. Nachdem das Gemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde, erfolgte die gewohnte Aufarbeitung der Reaktion. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt im UV-Chromatogramm ($\lambda = 254$ nm) der LC/MS-Analyse nachgewiesen werden und es konnte eine Ausbeute von 34 % erhalten werden (Tab. 4.4, Nr. 2). Ebenfalls wurde auch weiterhin eine Nebenproduktfraktion erhalten. Im nächsten Versuch wurde die Vorrührzeit auf 2 h erhöht, bevor die Zugabe der Reagenzien und das weitere Rühren über Nacht erfolgten. Die säulenchromatographische Reinigung führte zur Isolierung des Produktes. Aufgrund geringer Verunreinigungen wurde eine Ausbeute von 37 % aus dem UV-Chromatogramm abgeschätzt (Tab. 4.4, Nr. 3). Da in den Reaktionen nur moderate Ausbeuten erzielt werden konnten, wurde ein weiterer Chargenwechsel des Reduktionsmittels Natriumtriacetoxyborhydrid vorgenommen. Dieses wurde direkt in einen Schlenk-Kolben überführt und über Schutzgas gelagert. Vor der Verwendung wurde das Reagenz mindestens eine Stunde im Hochvakuum getrocknet. In den nächsten drei Versuchen wurde eine leicht erhöhte Menge des Reduktionsmittels (2.2 Äq. statt 2 Äq.) eingesetzt. Ebenfalls wurden unterschiedliche Mengen (1.1 Äq. bis 1.3 Äq.) des Aldehyds **11** eingesetzt. Die Bildung des Hydroxylamin-Nebenproduktes konnte in diesen Versuchen nicht mehr beobachtet werden. Zudem konnten im Vergleich zu vorherigen Versuchen sehr gute Ausbeuten von 65 % bis 77 % erzielt werden (Tab. 4.4, Nr. 4).

Tab. 4.4 Unterschiedliche Reaktionsbedingungen der reduktiven Aminierung.

Nr.	Änderung von Standardbedingungen	Ausbeute von Amid 13 [%]
1	Standard	47
2	Zugabe Amberlyst 30 min erst dann Zugabe NaBH(OAc) ₃	~34
3	10 + 11 22 h vorgerührt	~37
4	Chargenwechsel NaBH(OAc) ₃ (2.2 Äq.) 11 (1.1-1.3 Äq.)	65-77
Standard- bedingungen	1.) 10 (1 Äq.) 5-10 min. über Molekularsieb (4 Å) vorgerührt 2.) Zugabe 11 (1. Äq.) 1 h vorgerührt 3.) Zugabe Amberlyst®-15 (0.25 Äq.) 4.) Zugabe NaBH(OAc) ₃ (2 Äq.) 5.) wässrige Aufarbeitung und Säulenchromatographie	

In der letzten durchgeführten Reaktion sank die Ausbeute auf 55 %. Der leichte Überschuss an Aldehyd und die erhöhte Zugabe an Reduktionsmittel schien somit einen großen Einfluss auf die Bildung des Produktes auszuüben. Dabei spielte vor allem die Qualität des Reduktionsmittels eine entscheidene Rolle. Letztgenanntes könnte vor allem die erneut eher moderate Ausbeute des letzten Versuches erklären. Ein Grund für die Bildung des Nebenproduktes konnte nicht gefunden werden. Allerdings deuteten gerade die Resultate der letzten Reaktionen darauf hin, dass vermutliche Verunreinigungen in den älteren Chargen des Reduktionsmittels für die Entstehung des Nebenproduktes verantwortlich gemacht werden könnten. Sollten also erneut schlechte Ausbeuten erzielt oder die Bildung eines Nebenproduktes beobachtet werden, sollte zunächst die Qualität des Reduktionsmittels überprüft werden.

Zur weiteren Verwendung in der Peptidkupplungsreaktion musste die Cbz-Schutzgruppe des primären Amins in Verbindung **13** entfernt werden (Abb. 4.18). Dazu sollten dieselben milden Bedingungen, wie sie bereits für die Darstellung der (6'S)-5'-Desoxy-Nucleosyl-aminosäure **10** (vergl. Kapitel 4.1.2) genutzt wurden, verwendet werden. Der Baustein **13** wurde dazu in trockenem *iso*-Propanol gelöst, 1,4-Cyclohexadien und Palladium Black wurden hinzugefügt und es wurde bei Raumtemperatur gerührt. Der Umsatz der Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Die Reaktionszeiten variierten dabei zwischen einem

Zeitraum von zehn Minuten bis zu einer Stunde, abhängig von der jeweils gewählten Ansatzgröße.

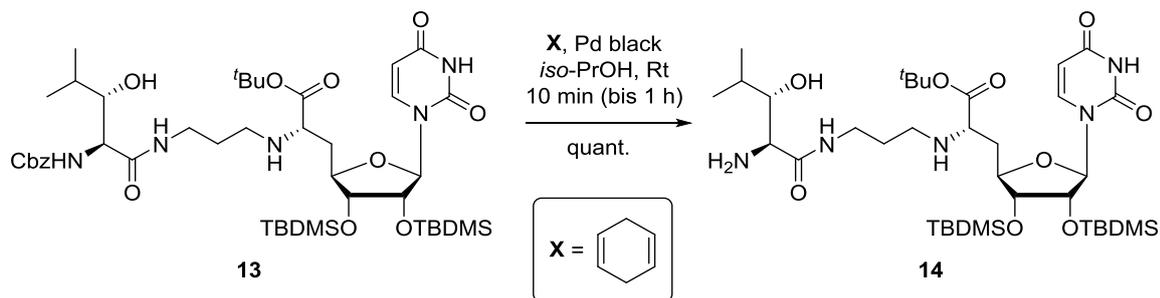


Abb. 4.18 Synthese des Amino-Bausteins **14**.

Nach vollständiger Reaktion wurde das Reaktionsgemisch auch in diesem Fall analog zur Darstellung der Nucleosylaminosäure **10** durch einen Spritzenfilter filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der freie Amino-Baustein **14** wurde in einer sehr guten quantitativen Ausbeute erhalten und ohne weitere Reinigung in den folgenden Reaktionen verwendet.

4.2.2 Darstellung von Lysin-haltigen Muraymycin-Derivaten

4.2.2.1 Darstellung des Lysin-haltigen Muraymycin-Derivates **51**

Zur Synthese des vollständigen Muraymycin-Grundgerüsts sollte der im letzten Kapitel beschriebene Amino-Baustein **14** durch Peptidkupplung zunächst mit dem Lysin-haltigen Harnstoffdipeptid-Baustein **62** verbunden werden (Abb. 4.19). Dabei sollten die Kupplungsbedingungen, die für die Synthese des 5'-Desoxy-Analogons **9** von Muraymycin C4 etabliert worden waren, verwendet werden. Eine mögliche Epimerisierung während der Reaktion war zuvor bei Verwendung des Epicapreomycidin-haltigen Harnstoffdipeptid-Bausteins nicht beobachtet worden.

Der Harnstoffdipeptid-Baustein **62** wurde in Tetrahydrofuran gelöst, mit 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), (Benzotriazol-1-yloxy)-tripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP) und *N,N*-Di-*iso*-propylethylamin (DIPEA) versetzt und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Amino-Baustein **14** wurde anschließend in Tetrahydrofuran gelöst und bei 0 °C zugegeben. Nach weiterem Rühren bei 0 °C für 1 h wurde für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das geschützte Muraymycin-Grundgerüst **68** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung

an Kieselgel erhalten werden (Abb. 4.19). Geringe Verunreinigungen konnten nicht vollständig abgetrennt werden, weshalb eine erzielte Ausbeute von ca. 80 % aus dem UV-Chromatogramm der LC/MS-Messung bestimmt wurde. Auf eine NMR-Analyse wurde auf dieser Stufe der Reaktionssequenz verzichtet, da aufgrund der Vielzahl an Schutzgruppen komplexe Spektren zu erwarten waren.

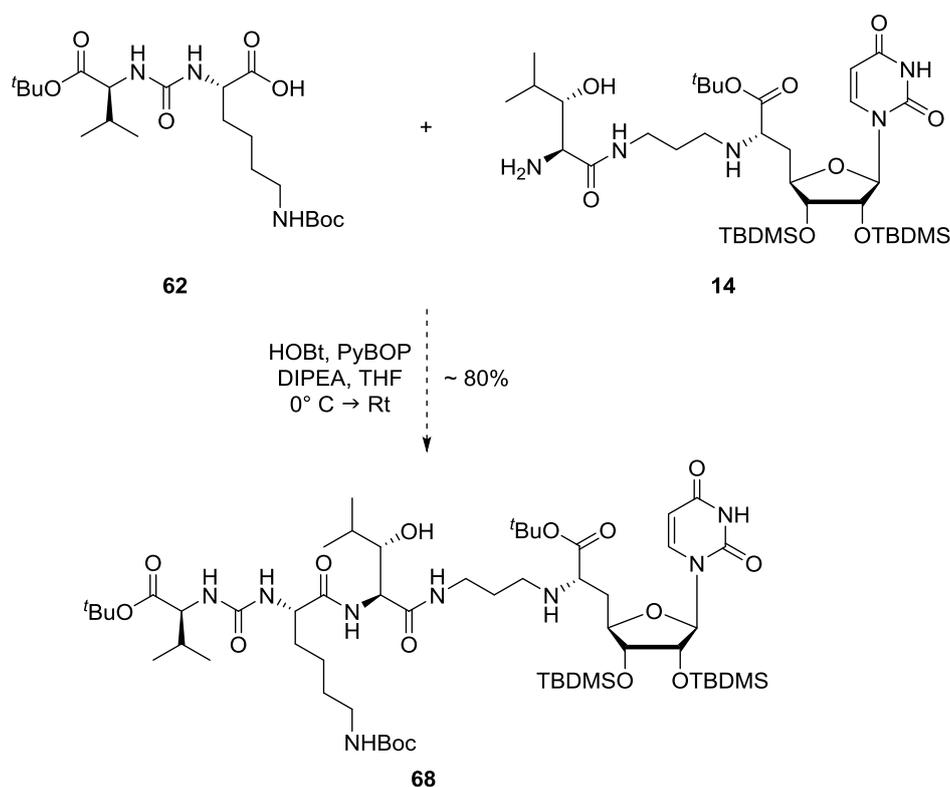


Abb. 4.19 Peptidkupplung zur Darstellung des Lysin-haltigen Muraymycin-Grundgerüsts **68**.

Um in den späteren SAR-Studien auch den Einfluss der Hydroxyfunktion in der 3-Position der Leucin-Einheit untersuchen zu können und ebenfalls eine direkte Vergleichsverbindung zum 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **9** zur Verfügung zu stellen, sollte auch das nicht acylierte, aber Lysin-haltige Muraymycin-Derivat **51** dargestellt werden. Eine alternative Syntheseroute zum gewünschten Produkt war bereits in den Arbeiten von Dr. Anatol Spork etabliert worden, führte allerdings zur Bildung von zwei epimeren Verbindungen.^[141]

Die globale saure Entschützung des Muraymycin-Grundgerüsts **68** sollte schließlich mit 80%iger Trifluoressigsäure erzielt werden. Diese harschen sauren Bedingungen wurden auch für die späteren Epicapreomydin-haltigen Derivate zur Entfernung einer oder mehrerer Pbf-Schutzgruppen benötigt und sollten an den Derivaten der Lysin-haltigen Serie im Hinblick auf die Stabilität der Esterbindung durch die im späteren Verlauf der angestrebten Reaktionssequenz eingeführten Fettsäure-Seitenketten untersucht und erprobt werden. Das

geschützte Lysin-haltige Muraymycin-Grundgerüst **68** wurde zur globalen sauren Entschützung in 80 %iger wässriger TFA aufgenommen, für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Während der anschließenden LC/MS-Analyse konnte die zutreffende Produktmasse in drei unterschiedlichen Peaks im UV-Chromatogramm vorgefunden werden. Da in der Analyse des geschützten Vorläufermoleküls nur ein Hauptpeak mit der zugehörigen Produktmasse gefunden worden war, wurde hier zunächst angenommen, dass das entschützte Molekül aufgrund der anwesenden Carbonsäure- und Aminofunktionen in unterschiedlichen Protonierungsstufen vorlag, was während der Chromatographie zu den unterschiedlichen Retentionszeiten der Verbindung geführt haben könnte. Zudem konnte eine Epimerisierung während der Peptidkupplung nicht ausgeschlossen werden. Das Rohprodukt wurde anschließend erneut in wässriger Trifluoressigsäure aufgenommen und gefriergetrocknet. Damit sollte gewährleistet werden, dass alle Gruppen protoniert vorlagen. Zudem wurde dem Eluenten bei der anschließenden Reinigung mittels präparativer HPLC TFA (0.1 %) zugesetzt, um der Bildung von unterschiedlich protonierten Verbindungen entgegen zu wirken. Während der Reinigung mittels präparativer HPLC wurden zwei Hauptfraktionen sowie eine Mischfraktion erhalten, die angesichts der geringen Substanzmenge nicht erneut gereinigt wurde. In der Analyse mittels LC/MS konnte die gewünschte Produktmasse in beiden Fraktionen nachgewiesen werden. Allerdings wurden analog zur Analyse des Rohproduktes unterschiedliche Retentionszeiten beobachtet, was darauf schließen ließ, dass es während der Peptidkupplung tatsächlich zur Epimerisierung gekommen sein könnte. Diese Hypothese sollte schließlich durch eine ausführliche NMR-Analyse näher untersucht werden. Durch die NMR-Experimente (^1H , ^{13}C , H,H-COSY, HSQC und HMBC) konnten die einzelnen Struktureinheiten des Muraymycin-Grundgerüsts für beide Fraktionen erfolgreich zugeordnet werden. Zudem führte ein Vergleich der aufgenommenen Spektren mit den NMR-Daten der von Dr. Anatol Spork synthetisierten Verbindung zu dem Ergebnis, dass es sich bei der Verbindung mit höherer Retentionszeit um die gewünschte Zielverbindung **51** handelte. Beim weiteren direkten Vergleich der ^1H -NMR-Spektren der unterschiedlichen Fraktionen fiel jedoch deutlich auf, dass die Signale der zentralen Leucin-Einheit in der Verbindung mit kürzerer Retention unterschiedliche Verschiebungen aufwiesen. Vor allem das Proton in der 3"-Position, welches im Normalfall bei etwa 3.6 ppm resoniert, war im Spektrum der ersten Fraktion bei ca. 5.1 ppm zu finden und somit deutlich tieffeldverschoben. Auch im Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren konnte eine deutliche Verschiebung des Carbonyl-Kohlenstoffatoms der Leucin-Einheit von etwa 173 ppm zu 167 ppm beobachtet werden. Diese Beobachtungen wiesen darauf hin, dass die Verbindung der ersten Fraktion zwar aus denselben Bausteinen

bestand, diese jedoch in einer unterschiedlichen Konnektivität miteinander verknüpft sein mussten.

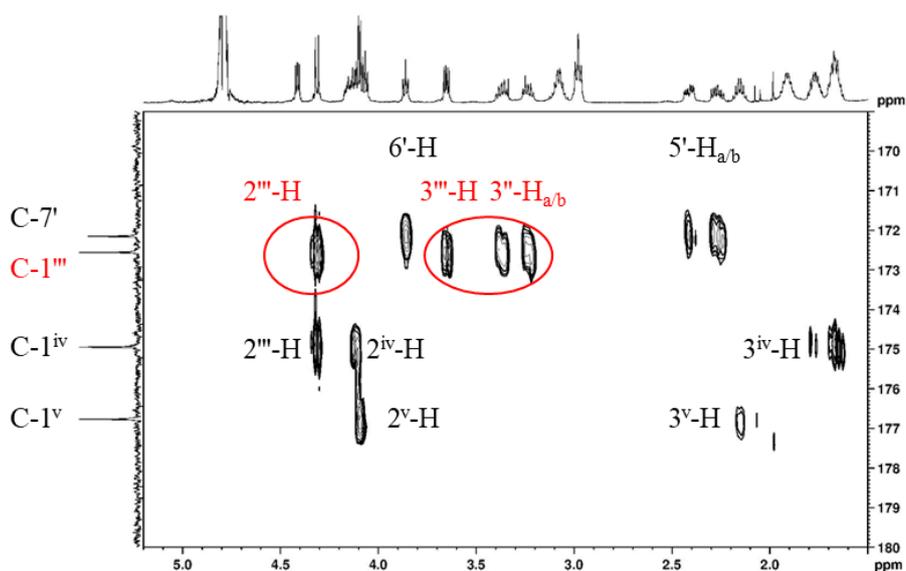
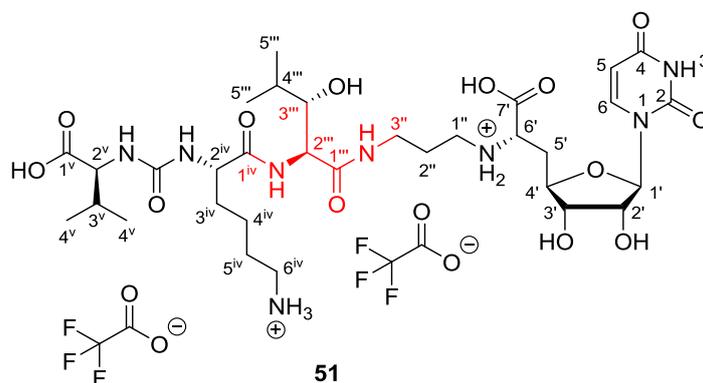


Abb. 4.20 Aufklärung der Konnektivität in Zielverbindung **51** mit Hilfe des HMBC-NMR-Spektrums.

Ein präziser Vergleich der HMBC-NMR-Spektren resultierte schließlich in der zweifelsfreien Aufklärung der Strukturen und wird im Folgenden detailliert beschrieben (Abb. 4.20 und 4.21). Um die Verknüpfung zwischen den einzelnen Spinsystemen, in diesem Fall zwischen dem Propyllinker, der zentralen Leucin-Einheit und der Lysin-Einheit, aufzuklären, wurden vor allem die Kopplungen zwischen den Carbonyl-Kohlenstoffatomen und den Protonen in der α -Position genauer untersucht. In der gewünschten Zielverbindung **51** ist das Carbonyl-Kohlenstoffatom C-1''' (Leucin) über eine $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung mit dem 3'''-Proton (Leucin) und den beiden 3''-Protonen der CH_2 -Gruppe (Aminopropyllinker) verbunden (vergl. Abb. 4.20). Zum

anderen ist auch die $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplung zum α -Proton $2'''$ -H vorzufinden. Die Verknüpfung zur Lysin-Einheit ergibt sich über die weitere Kopplung des α -Protons $2'''$ -H mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom C-1^{iv} der Lysin-Einheit ($^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung).

Im Fall der in der ersten Fraktion isolierten Verbindung waren ebenfalls die beschriebenen Kopplungen von $\text{C-1}'''$ zu $3'''$ -H und $3'''$ -H₂ ($^3J_{\text{CH}}$) und $\text{C-1}'''$ zu $2'''$ -H ($^2J_{\text{CH}}$) zu erkennen. Die weitere Verknüpfung des $2'''$ -H zum Carbonyl-Kohlenstoffatom C-1^{iv} der Lysin-Einheit konnte jedoch nicht beobachtet werden. Stattdessen wurde eine weitere Kopplung des $3'''$ -H mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom C-1^{iv} der Lysin-Einheit entdeckt. Diese Beobachtungen, ebenso wie die bereits oben erwähnten Verschiebungen der Signale von $3'''$ -H (Tieffeld) und C-1^{iv} (Hochfeld), führten zu dem Ergebnis, dass in der Verbindung anstelle der gewünschten Amidbindung eine Esterbindung entstanden sein musste (Abb. 4.21).

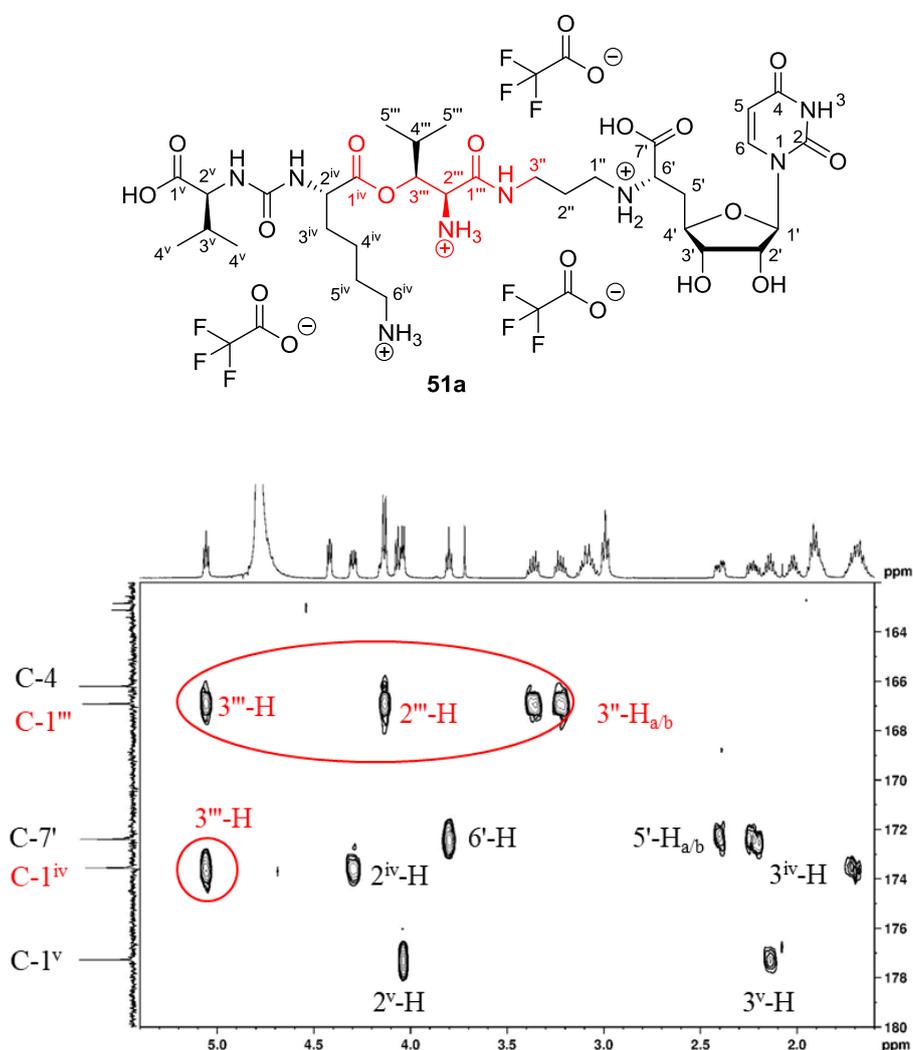


Abb. 4.21 Aufklärung der Konnektivität im Nebenprodukt **51a** mit Hilfe des HMBC-NMR-Spektrums.

Die verwendeten Peptidkupplungsbedingungen adressierten somit nicht ausschließlich die freie Aminogruppe des Bausteins **14**, sondern es kam auch zur Reaktion mit der Hydroxyfunktion in der 3'''-Position der Leucin-Einheit (Abb. 4.21 und 4.22). Eine zusätzliche Epimerisierung während der Peptidknüpfung konnte in der NMR-spektroskopischen Analyse entgegen der initialen Hypothese nicht nachgewiesen werden. Die Gesamtausbeute für die beiden erhaltenen Verbindungen lag bei etwa 17 % (über zwei Stufen). Hier muss jedoch erneut auf den Erhalt einer Mischfraktion hingewiesen werden, die aufgrund einer geringen Substanzmenge nicht erneut gereinigt wurde. Die angestrebte Verbindung **51** konnte in einer Ausbeute von 6 % (über zwei Stufen) erhalten werden. Die Ausbeute des Nebenproduktes **51a** lag bei 11 % (über zwei Stufen).

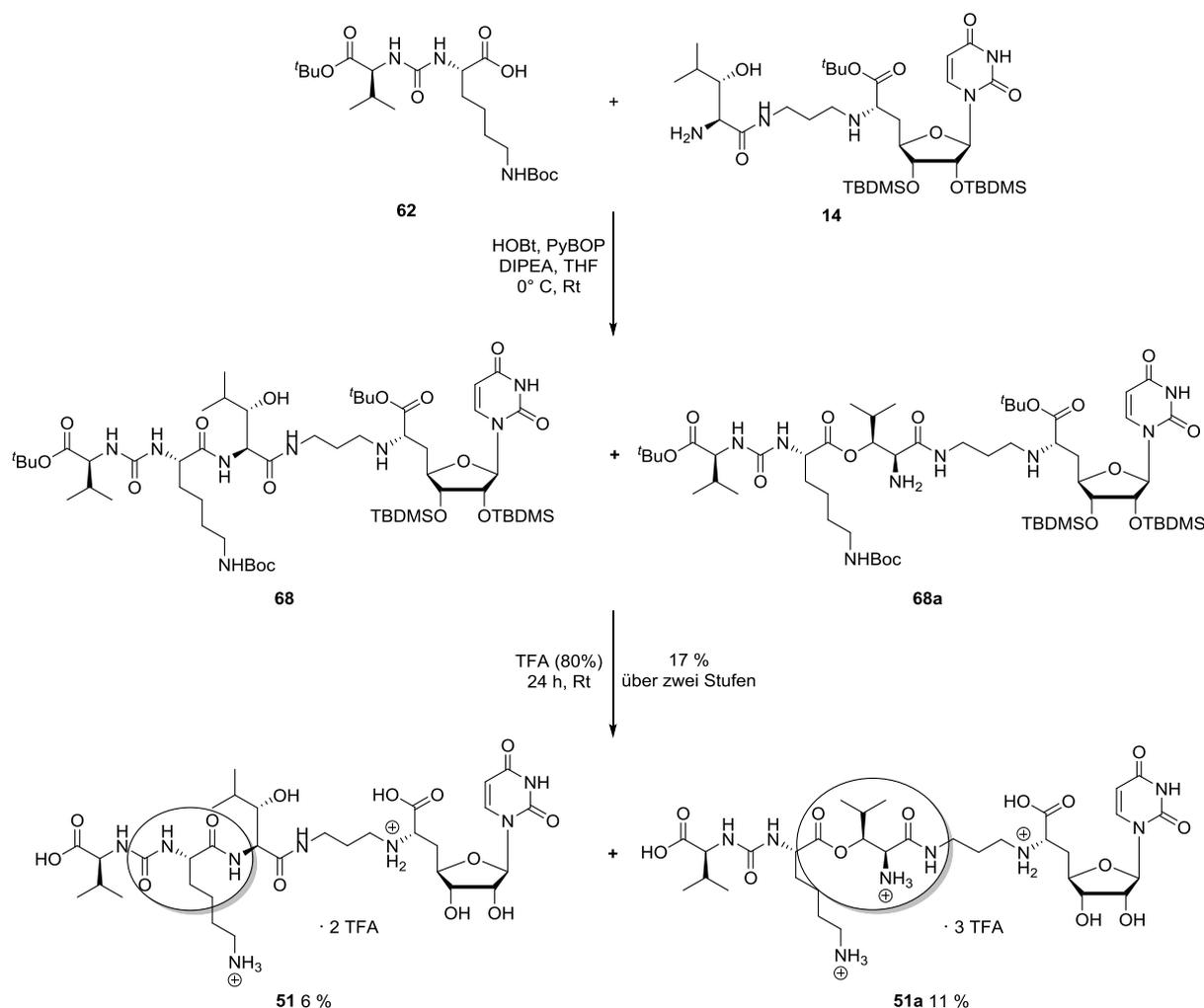


Abb. 4.22 Synthese des Lysin-haltigen Muraymycin-Grundgerüsts **51** und des isolierten Nebenproduktes **51a**.

In Betrachtung der im weiteren Verlauf der Arbeit geplanten Acylierungsreaktionen der Hydroxyfunktion des Leucins mit unterschiedlichen Fettsäure-Seitenketten auf später Stufe der Synthesesequenz wurde die unerwartete Bildung des Nebenproduktes **51a** als durchaus vorteilhaft eingeschätzt. Einerseits überstand die Esterverbindung **51a** die globale saure Entschützung, wodurch die Vermutung aufgestellt wurde, dass auch die Bindungen der später eingeführten Fettsäure-Seitenketten die globale saure Entschützung tolerieren sollten. Andererseits könnten weitere neue Muraymycin-Analoga mit der Esterbindung in der Grundstruktur und einer Amidbindung mit den Fettsäure-Seitenketten bei Erfolg der Acylierungsreaktion hervorgehen, die ebenfalls in SAR-Studien untersucht werden könnten. Die durchgeführten Acylierungsreaktionen wurden im Anschluss mit dem Substanzgemisch (Abb. 4.22) aus den geschützten Grundstrukturen **68** und **68a** durchgeführt und werden im nächsten Kapitel detailliert beschrieben.

4.2.2.2 Darstellung von *O*-acylierten Lysin-haltigen Muraymycinen

Damit für die späteren angestrebten SAR-Studien auch eine veresterte Verbindung, die keinen lipophilen Charakter aufweist, zur Verfügung stand, sollte auch eine Acetyl-Gruppe eingeführt werden. Als Acetylierungsmethode wurde die Steglich-Veresterung, die vor allem für sterisch anspruchsvolle und säurelabile Substrate verwendet wird, gewählt. Dabei wurde anstelle von DCC EDC·HCl verwendet, welches bei anschließender wässriger Aufarbeitung leichter aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden kann.

Das Gemisch aus den geschützten Muraymycinen **68** und **68a** wurde in Tetrahydrofuran gelöst, mit DMAP (2.5 Äq.), EDC·HCl (2.5 Äq.) und Essigsäure **72** (2 Äq.) versetzt und für 22 bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung beendet und es erfolgte die Extraktion mit Ethylacetat. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde anschließend mittels LC/MS analysiert, wobei neben geringen Mengen an Edukt ein Hauptpeak mit der gewünschten Masse gefunden wurde. Auf eine weitere Reinigung wurde aufgrund von geringen Mengen an Verunreinigungen verzichtet. Anschließend wurde das Rohprodukt zur globalen sauren Entschützung in 80 %iger Trifluoressigsäure gelöst und bei Raumtemperatur für 24 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. In der weiteren LC/MS-Analyse konnte neben dem nicht umgesetzten Edukt aus der vorherigen Reaktion auch die Masse der angestrebten

Zielverbindungen nachgewiesen werden. Erwartungsgemäß sollten im UV-Chromatogramm zwei Peaks mit der gewünschten Masse erscheinen. Allerdings wurden vier UV-Peaks mit der gewünschten Masse gefunden, weshalb auch hier vermutet wurde, dass die Zielverbindungen in unterschiedlichen Protonierungsstufen vorlagen. Deshalb wurde das Rohprodukt erneut in wässriger TFA aufgenommen und gefriergetrocknet.

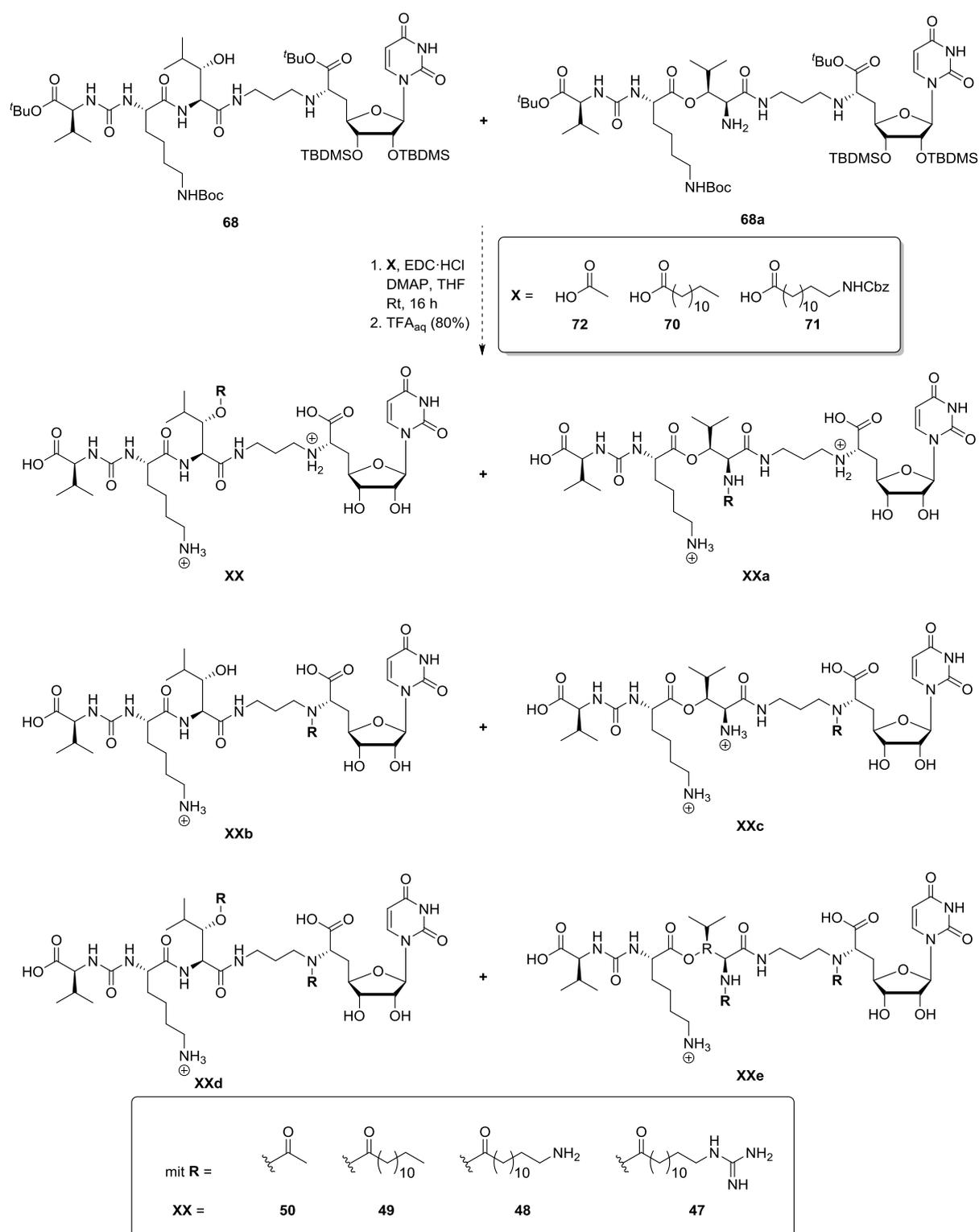


Abb. 4.23 Schematische Abbildung für Bildung möglicher Regioisomere bei den Acylierungsreaktionen an den Lysin-haltigen Muraymycin-Grundgerüsten **68** und **68a**. Im Anschluss erfolgte dann die Reinigung mittels präparativer HPLC. Dabei konnten insgesamt vier Hauptfraktionen erhalten werden, die im Anschluss mittels LC/MS untersucht wurden. Bei der ersten Fraktion handelte es sich um nicht-acetyliertes Grundgerüst. Ob es sich dabei um die Amid-Verbindung **51** oder die Ester-Verbindung **51a** handelte, wurde aufgrund von einer sehr geringen Substanzmenge nicht weiter aufgeklärt. Zudem wurden zwei Fraktionen mit der gewünschten Masse erhalten, was dafür sprechen könnte, dass die Acetylierung sowohl mit der Hydroxygruppe der Amidverbindung **68** als auch mit dem freien Amin der Esterverbindung **68a** möglich war. Dementsprechend könnte die Synthese zur Bildung der Zielverbindungen **50** und **50a** geführt haben (Abb. 4.23). Die LC/MS-Analyse der vierten Fraktion deutete auf eine zweifache Acetylierung hin, weshalb auch eine Bildung von Verbindung **50d** bzw. **50e** vermutet wurde (Abb. 4.23). Daraus resultierend zeigte die Bildung einer zweifach acetylierten Verbindung, dass auch ein Umsatz mit dem sekundären Amin der Linkereinheit möglich zu sein schien. Ein möglicher Angriff des zwar nucleophileren, aber sterisch stärker gehinderten sekundärenamins konnte deshalb nicht vollständig ausgeschlossen werden, sodass eine Bildung von zwei weiteren Regioisomeren **50b** und **50c** als möglich angesehen wurde (Abb. 4.23). Auf eine ausführliche NMR-spektroskopische Untersuchung wurde hier aufgrund von sehr geringen Substanzmengen verzichtet. Vor einer weiteren Optimierung der Reaktion mit Essigsäure sollte zunächst die Durchführbarkeit mit einer längeren Fettsäure-Seitenkette untersucht werden. Durch die längere Kette sollten weitere sterische Effekte die beobachtete zweifache Acylierung unterdrücken.

Nach dem Vorbild der aktiven natürlichen Muraymycine A1 und B9 sollten Derivate mit einer Kettenlänge von 13 C-Atomen dargestellt werden. Das Derivat ohne Funktionalität am Ende der Fettsäure-Seitenkette sollte unter Verwendung von Tridecansäure **70** dargestellt werden. Das Gemisch der Grundstrukturen **68** und **68a** wurde analog zur ersten Reaktion in Tetrahydrofuran gelöst und mit DMAP (2.5 Äq.), EDC·HCl (2.5 Äq.) und Tridecansäure **70** (1.8 Äq.) versetzt. Es wurde über 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der wässrigen Aufarbeitung erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel. Bei der Analyse mittels LC/MS konnte die Masse der gewünschten acylierten Produkte **77** und **77a** nachgewiesen werden. Außerdem konnte nicht umgesetztes Edukt (**68** oder/und **68a**) nachgewiesen werden. Daraus resultierte eine Ausbeute von 55 % basierend auf zurückgewonnenem Startmaterial. Auch hier wurde auf eine NMR-spektroskopische Untersuchung aufgrund des vermuteten Produktgemisches verzichtet. Weiterhin erfolgte die globale saure Entschützung mit 80 %iger Trifluoressigsäure. Nach einer Reaktionszeit von 24 h

bei Raumtemperatur wurde mit Wasser verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt in wässriger TFA aufgenommen und gefriergetrocknet. Das UV-Spektrum der anschließenden LC/MS-Analyse zeigte ein aufwändiges Gemisch aus den Massen der gewünschten Produkte **49** und **49a** (bzw. **49b** und **49c**), der teils nicht entschützten Vorläuferverbindungen und der nicht-acylierten Verbindungen **51** und **51a**. Letztgenanntes deutete darauf hin, dass es während der Entschützung auch zur Abspaltung der Fettsäure-Seitenkette gekommen war. In der Reinigung mittels präparativer HPLC konnte eine Abtrennung der nicht-acylierten Verbindungen **51** und **51a** erfolgreich durchgeführt werden. Die Trennung der teilweise noch geschützten Verbindung und der unterschiedlichen Produkte war allerdings nicht möglich.

Obwohl eine Reingung der erhaltenen Produktgemische in den zuletzt genannten Reaktionen und somit die Generierung der gewünschten Zielstrukturen nicht erfolgreich war, sollten die Acylierungsstudien an den Lysin-haltigen Muraymycin-Analoga auch mit weiteren funktionalisierten Fettsäure-Seitenketten fortgeführt und für die Anwendung am Grundgerüst des 5'-Desoxy-Muraymycins optimiert werden. Dabei war vorgesehen eine Amino- und eine Guanidino-funktionalisierte Fettsäure-Seitenkette einzufügen. Dazu wurde zunächst eine weitere Steglich-Veresterung mit der 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71**, deren Synthese bereits in Kapitel 4.1.4.1 beschrieben worden war, durchgeführt. Das Eduktgemisch aus **68** und **68a** wurde in Tetrahydrofuran gelöst und mit DMAP und EDC·HCl versetzt und nach der Zugabe von 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71** über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnten die gewünschten Produktmassen von **79** und **79a** (bzw. **79b** und **79c**) in der LC/MS-Analyse nachgewiesen werden (Abb. 4.23 und 4.24). Neben der Masse der einfach acylierten konnte auch eine geringe Menge an doppelt acylierten Nebenprodukten **79d** bzw. **79e** nachgewiesen werden. Die Ausbeuten der mehrfach getesteten Reaktion bezogen auf die einfach acylierten Produkte lagen bei etwa 45 bis 55 %.

Im Anschluss sollte die Cbz-Entschützung über das bekannte und in dieser Arbeit bereits mehrfach beschriebene Protokoll erfolgen. Dazu wurde das Eduktgemisch der einfach acylierten Verbindungen **79** und **79a** (Bzw. **79b** und **79c**) in *iso*-Propanol aufgenommen und mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Palladium Black versetzt (Abb. 4.23 und 4.24). Die Reaktion wurde mittels DC-Kontrolle verfolgt. In einem ersten Reaktionsansatz konnte ein Umsatz der Reaktion erst durch die weitere Zugabe von 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) beobachtet werden. Ein vollständiger Umsatz wurde erst nach erneuter Zugabe von 1,4-Cyclohexadien (35 Äq.) und einer Reaktionszeit von insgesamt 4 h beobachtet werden. Das Reaktionsgemisch

wurde dann über einen Spritzenfilter filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Trocknung erfolgte im Hochvakuum. In der anschließenden LC/MS-Analyse konnten die entschützten Produkte **81**, **81a**, **81b**, bzw. **81c** nachgewiesen werden, jedoch konnte auch die Bildung von einigen Neben- oder Zersetzungsprodukten beobachtet werden, die auf die drastisch erhöhte Zugabe von Cyclohexadien zurückgeführt wurde.

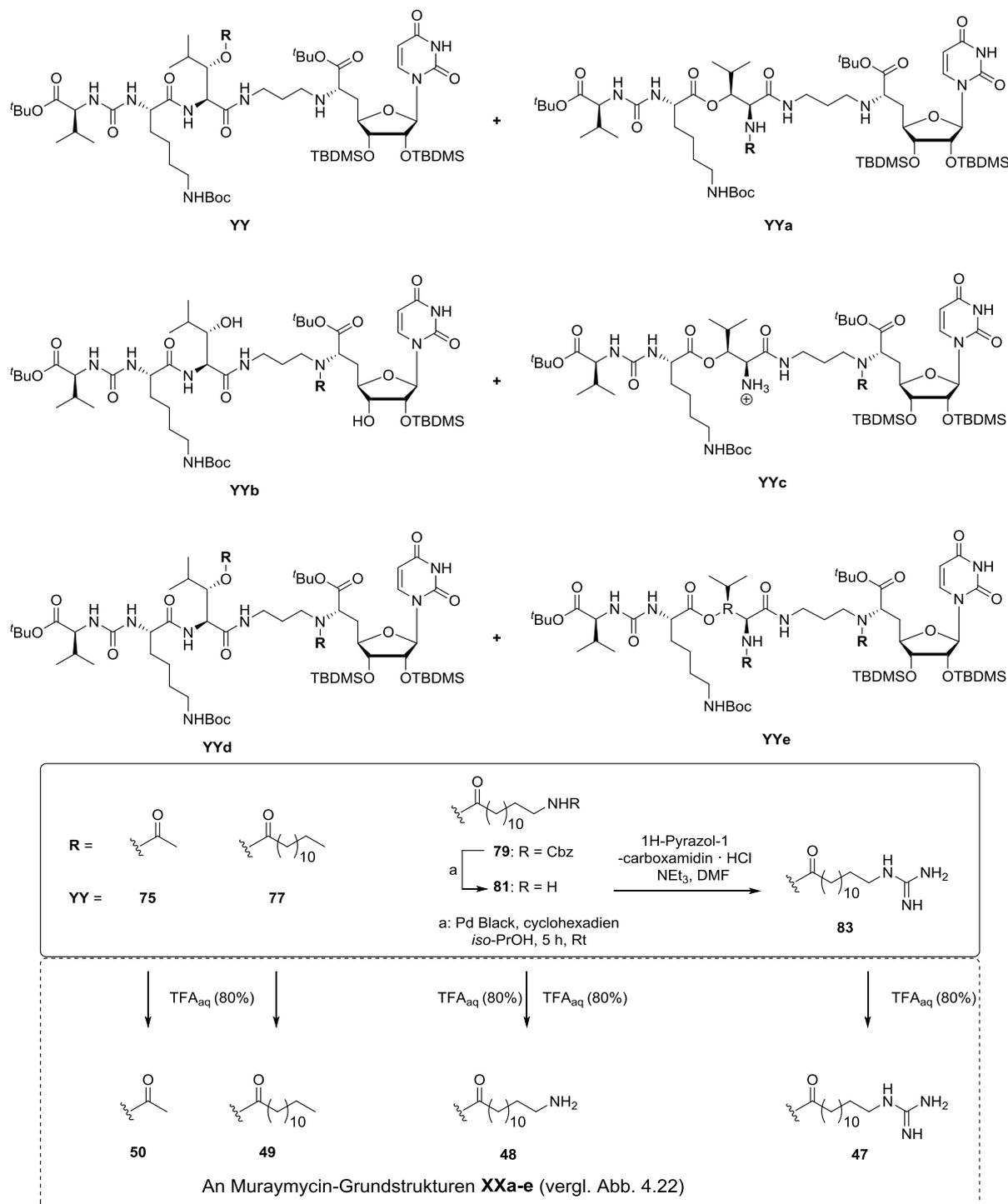


Abb. 4.24 Postulierte Produktgemische (aus **YY** und **YYa-e**) der Acylierungsreaktion und weitere Kopfgruppenmodifikation an Amino-funktionalisierter Seitenkette.

In zwei weiteren Ansätzen konnte ein vollständiger Umsatz der Reaktion nach 1 h bis 2 h beobachtet werden und es konnten sehr gute Ausbeuten von über 95 % erzielt werden. Die Entschützung unter Freisetzung der terminalen Aminofunktion war somit erfolgreich. Die weitere globale saure Entschützung des Gemisches erfolgte im Anschluss auch hier mit 80 %iger Trifluoressigsäure über einen Zeitraum von 24 h. In der anschließenden LC/MS-Analyse konnten die Massen der nicht-acylierten Grundgerüste **51** und **51a**, aber auch die der gewünschten acylierten Zielverbindungen **48** und **48a** (bzw. **48b** und **48c**) nachgewiesen werden (Abb. 4.23 und Abb. 4.24). Eine Trennung des Gemisches mittels präparativer HPLC war nur bedingt möglich. Die nicht-acetylierten Verbindungen **51** bzw. **51a** konnten abgetrennt werden. Eine vollständige Trennung der unterschiedlichen Regioisomere **48**, **48a**, **48b** bzw. **48c** war nicht erfolgreich (Abb. 4.23 und 4.24). Obwohl es in der Entschützung teilweise zur Abspaltung der Seitenkette gekommen war, schien somit auch die Einführung einer Aminofunktionalisierten Fettsäure-Seitenkette möglich zu sein. Eventuelle Ausbeuteverluste der gewünschten Zielverbindungen während der sauren Entschützung wurden deshalb zunächst in Kauf genommen.

Neben der Amino-Funktion sollte auch eine Seitenkette mit Guanidin-Funktion, wie sie auch in Vertretern der natürlichen Muraymycine zu finden ist, eingeführt werden. Dazu sollte eine weitere Modifizierung auf später Stufe an der bereits entschützten Amino-Funktion der Seitenkette an den noch geschützten Grundstrukturen **81**, **81a**, **81b**, bzw. **81c** vorgenommen werden. Das Verbindungsgemisch wurde in DMF gelöst und mit Triethylamin (3 Äq.) und dem Guanidinylierungsreagenz 1H-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid (1.7 Äq.) versetzt. Nach Rühren über Nacht (16 h) erfolgte die wässrige Aufarbeitung durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung und Extraktion mit Ethylacetat. In der LC/MS-Analyse konnte die Masse der vermeintlichen Produkte und der nicht umgesetzten Edukte **81**, **81a**, **81b**, bzw. **81c**. Aus dem UV-Chromatogramm konnte ein noch optimierbarer Umsatz von ~40 % bestimmt werden. Das erhaltene Reaktionsgemisch wurde in einem Folgeansatz unter Verwendung leicht modifizierter Reaktionsbedingungen eingesetzt. Die verwendete Lösungsmittelmenge wurde halbiert und anstatt von 1.7 Äq. des Guanidinylierungsreagenzes 1H-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid wurden 3.3 Äq. eingesetzt. Nach Rühren bei Raumtemperatur über Nacht (16 h) und anschließender wässriger Aufarbeitung erfolgte eine weitere Analyse mittels LC/MS, in der neben geringeren Verunreinigungen hauptsächlich die Produktmasse der Verbindungen **83** und **83a** (bzw. **83b** und **83c**) nachgewiesen werden konnte. Das Rohgemisch wurde anschließend in der globalen sauren Entschützung mit 80 %iger Trifluoressigsäure eingesetzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 h konnten die Massen der Produkte **47** und **47a** (bzw. **47b** und

47c) erfolgreich nachgewiesen werden. Auch in diesem Fall kam es zusätzlich zu einer Abspaltung der Fettsäure-Seitenkette, da die Masse der nicht-acetylierten Verbindungen **51** und **51a** ebenfalls nachgewiesen werden konnte. Auf eine Reinigung des recht komplexen Gemisches mittels präparativer HPLC wurde aufgrund von einer sehr geringen Substanzmenge (bei erfolgreicher Reaktion max. 6 mg der gewünschten Zielverbindung **47**) verzichtet. Um den Erfolg der Guanidinylierungsreaktion zu bestätigen, wurde diese erneut und unter direkter Zugabe von insgesamt 3 Äq. des Guanidinylierungsreagenzes durchgeführt. Nach einer Reaktionszeit von 16 h bei Raumtemperatur erfolgte die wässrige Aufarbeitung der Reaktion. Die Eduktmassen konnte während der anschließenden LC/MS-Analyse nur noch in Spuren nachgewiesen werden. Analog zur ersten Reaktion konnte somit ausschließlich die Produktmasse **83** und **83a** (bzw. **83b** und **83c**) neben kleineren Verunreinigungen nachgewiesen werden. Das Rohgemisch wurde mit 80 %iger Trifluoressigsäure über eine Reaktionszeit von 24 h entschützt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurden die gewünschten Massen von **47** und **47a** (bzw. **47b** und **47c**) in der LC/MS-Analyse nachgewiesen. Weiterhin war auch die Masse der freien Grundstrukturen **51** und **51a**, als auch die der zwar acylierten, aber nur Amino-funktionalisierten Verbindungen **48** und **48a** (bzw. **48b** und **48c**) zu beobachten. In der anschließenden Reinigung mittels präparativer HPLC konnten vier Hauptfraktionen erhalten werden, von denen drei die gewünschte Produktmasse **47** und **47a** (bzw. **47b** und **47c**) enthielten. Bei der vierten Fraktion handelte es sich um die Amino-funktionalisierten Strukturen **48** und **48a** (bzw. **48b** und **48c**). Auf eine weitere Reinigung wurde verzichtet.

Die beschriebenen Studien zur Derivatisierung des Lysin-haltigen Muraymycin-Grundgerüsts auf später Stufe der Synthesesequenz konnten im Hinblick auf die Einführung einer Fettsäure-Seitenkette und der weiteren Modifizierung als erfolgreich angesehen werden. Die unerwartete Bildung der Esterverbindung **51a** führte in den Acylierungsreaktionen zu der Generierung eines komplexes Substanzgemisches, welches nicht erfolgreich getrennt werden konnte. Eine Produktausbeute konnte nur für einige wenige Reaktionen angegeben werden und beziehen sich dabei auf das Substanzgemisch mit entsprechender Produktmasse. Da eine vollständige Reinigung, bzw. Trennung der unterschiedlichen Verbindungen nicht erfolgreich war, musste auf die Angabe einer Produktausbeute verzichtet werden. Zudem wurde auf eine detaillierte Auswertung der komplexen Substanzgemische durch NMR-Spektroskopie für die Aufklärung des Verhältnisses der unterschiedlichen Regioisomere verzichtet, da einerseits sehr unübersichtliche Spektren durch vielfache Überlagerung von Signalen zu erwarten waren und andererseits die isolierten Substanzmengen sehr gering waren, was eine erhebliche Messzeit in

Anspruch genommen hätte. Es erfolgte die Aufnahme der Protonenspektren, die allerdings nur eine sehr grobe Abschätzung der gebildeten Produkte zuließ und deshalb hier nicht weiter beschrieben werden sollen. An diesem Punkt der Arbeit rückte die Synthese der Epicapreomycin-haltigen Muraymycine in den Vordergrund. Durch Anwesenheit des natürlichen Epicapreomycidins in der Harnstoffdipeptid-Einheit sollten bei erfolgreicher Synthese vermutlich aktivere Derivate erhalten werden.

4.2.3 Darstellung der Epicapreomycin-haltigen Muraymycin-Analoga

Im Fall der angestrebten Derivate mit der Grundstruktur des 5'-Desoxy-Analogons **9** von Muraymycin C4 sollten die im letzten Kapitel beschriebenen Probleme nicht auftreten, da eine Bildung eines Ester-verbundenen Regioisomers in vorherigen Synthesen nicht beobachtet worden war.^[141] Das 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **9** konnte in früheren Arbeiten der Arbeitsgruppe erfolgreich durch Peptidknüpfung des Epicapreomycin-haltigen Harnstoffdipeptids **12** mit dem Nucleosyl-Aminosäure-Baustein **14** und anschließende globale saure Entschützung der resultierenden Grundstruktur in einer Ausbeute von 74 % über zwei Stufen synthetisiert werden (Abb. 4.25).

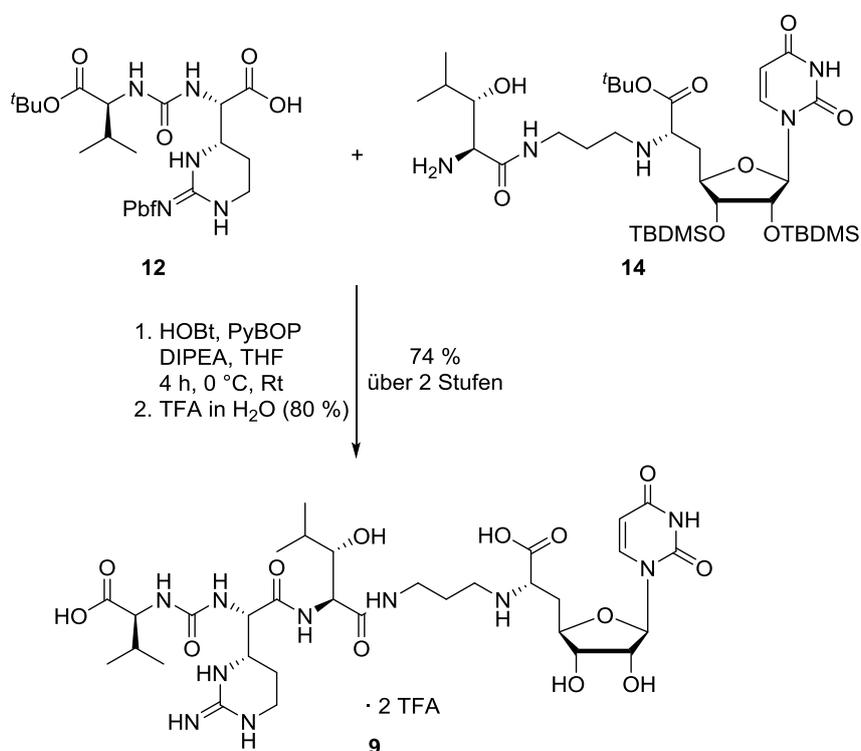


Abb. 4.25 Etablierte Synthese des 5'-Desoxy-Analogons **9** von Muraymycin C4.^[141]

Die benötigte geschützte 5'-Desoxy-Muraymycin-Grundstruktur **69** wurde im Rahmen dieser Arbeit für die angestrebten Acylierungsreaktionen mit Fettsäure-Seitenketten nachsynthetisiert (Abb. 4.26).

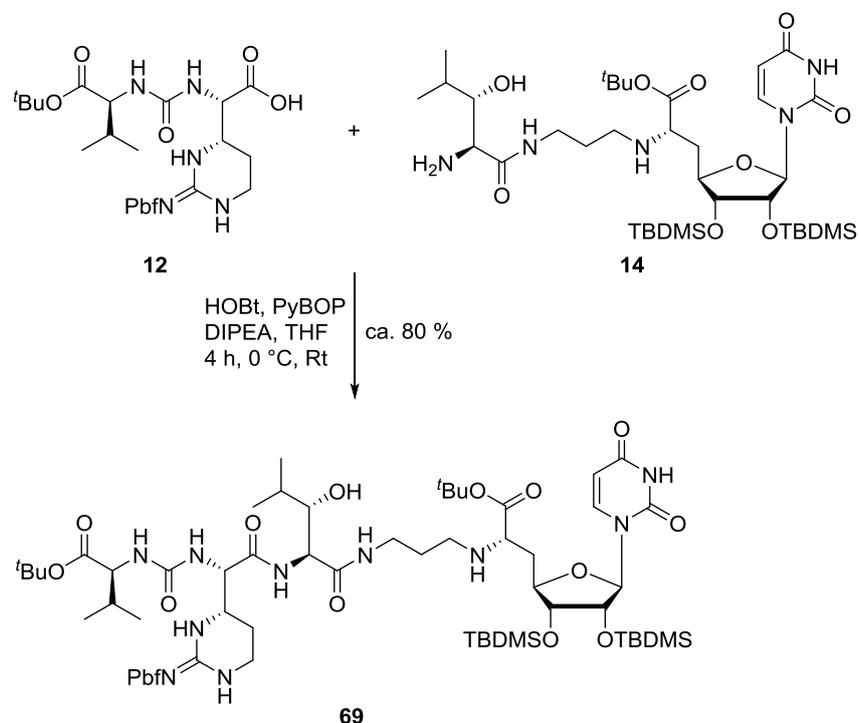


Abb. 4.26 Synthese der geschützten Grundstruktur **69** des 5'-Desoxy-Analogons **9** von Muraymycin C4.

Die Synthesen der benötigten Bausteine **12** und **14** waren bereits in den Kapiteln 4.1.3 und 4.2.1 ausführlich beschrieben worden. Das von Dr. Anatol Spork etablierte Protokoll für die Peptidkupplung konnte auch in dieser Arbeit erfolgreich angewendet werden. Hierzu wurde zunächst das Epicapreomycidin-haltige Harnstoffdipeptid **12** in absolutem Tetrahydrofuran gelöst und mit HOBT (1.0 Äq.), PyBOP (1.0 Äq.) und DIPEA (2.0 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde dann für 30 min bei Raumtemperatur gerührt, bevor der Nucleosyl-Aminosäure-Baustein **14**, gelöst in absolutem Tetrahydrofuran, bei 0 °C zugegeben wurde. Nach einer Reaktionszeit von 1 h bei 0 °C und weiterem Rühren über 3 h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Die Zielverbindung **69** konnte dabei erfolgreich isoliert werden, was durch die Analyse mittels LC/MS bestätigt werden konnte. Dabei konnte auch eine geringe unbekannte Verunreinigung im Produkt nachgewiesen werden, weshalb die Ausbeute von ~80% basierend auf dem UV-Chromatogramm der LC/MS-Messung abgeschätzt wurde. Auf eine NMR-spektroskopische Analyse wurde verzichtet, da durch die Anwesenheit der zahlreichen Schutzgruppen ein komplexes Spektrum zu erwarten war. Die beschriebene Peptidkupplung wurde im Rahmen der Arbeit mehrfach durchgeführt, wobei

schwankende Ausbeuten zu beobachten waren. Ein genauer Grund für die Schwankungen konnte nicht aufgeklärt werden.

Die anschließenden Acylierungsreaktionen am synthetisierten Grundgerüst **69** wurden analog zu den im letzten Kapitel beschriebenen Reaktionen durchgeführt. Die modifizierte Steglich-Veresterung unter Verwendung von EDC·HCl, DMAP, der jeweiligen Säure (Tridecansäure **70**, 13-*N*-Cbz-Aminotridecansäure **71**, Essigsäure **72** und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel führte hier zwar zur Bildung der gewünschten Produkte, allerdings waren die Umsätze der Reaktionen nicht zufriedenstellend. Neben dem eingesetzten Edukt **69** konnte die Bildung von verschiedenen Neben- und Zerfallsprodukten in der LC/MS-Analyse beobachtet werden. Diese konnten in der anschließenden säulenchromatographischen Reinigung nicht getrennt werden. Eine genaue Ursache für das weniger gute Gelingen der durchgeführten Reaktionen konnte nicht aufgeklärt werden. Nach erfolgter Reaktion über Nacht konnte das Ausfallen eines Feststoffes in der Reaktionslösung beobachtet werden, was zu der Vermutung führte, dass die Verwendung von Tetrahydrofuran zu Löslichkeitsproblemen geführt haben könnte und somit der weitere Umsatz der Reaktion gehindert wurde. Aus diesem Grund wurde in einer weiteren Serie von Reaktionen Dichlormethan als Lösungsmittel verwendet. Die entsprechenden Ergebnisse werden im Folgenden detailliert beschrieben.

4.2.3.1 Darstellung des 3'''-Acetoxy-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **55**

Das geschützte Grundgerüst **69** wurde in Dichlormethan gelöst und mit den Aktivierungsreagenzien EDC·HCl (2.5 Äq.) und DMAP (2.5 Äq.), gefolgt von Essigsäure **72** (1.9 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei Raumtemperatur über Nacht (16 h) erfolgte die wässrige Aufarbeitung durch Zugabe von Salzsäure (1 M) und anschließende Extraktion mit Dichlormethan. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. In der Hauptfraktion konnte das Produkt **76** mittels LC/MS-Analyse neben geringen Anteilen der zweifach acetylierten Verbindung **76a** und weiteren unbekanntem Verunreinigungen nachgewiesen werden. Auf eine weitere Reinigung wurde verzichtet und die Produktfraktion wurde direkt in 80 %iger wässriger TFA aufgenommen und über einen Zeitraum von 24 h entschützt (Abb. 4.27).

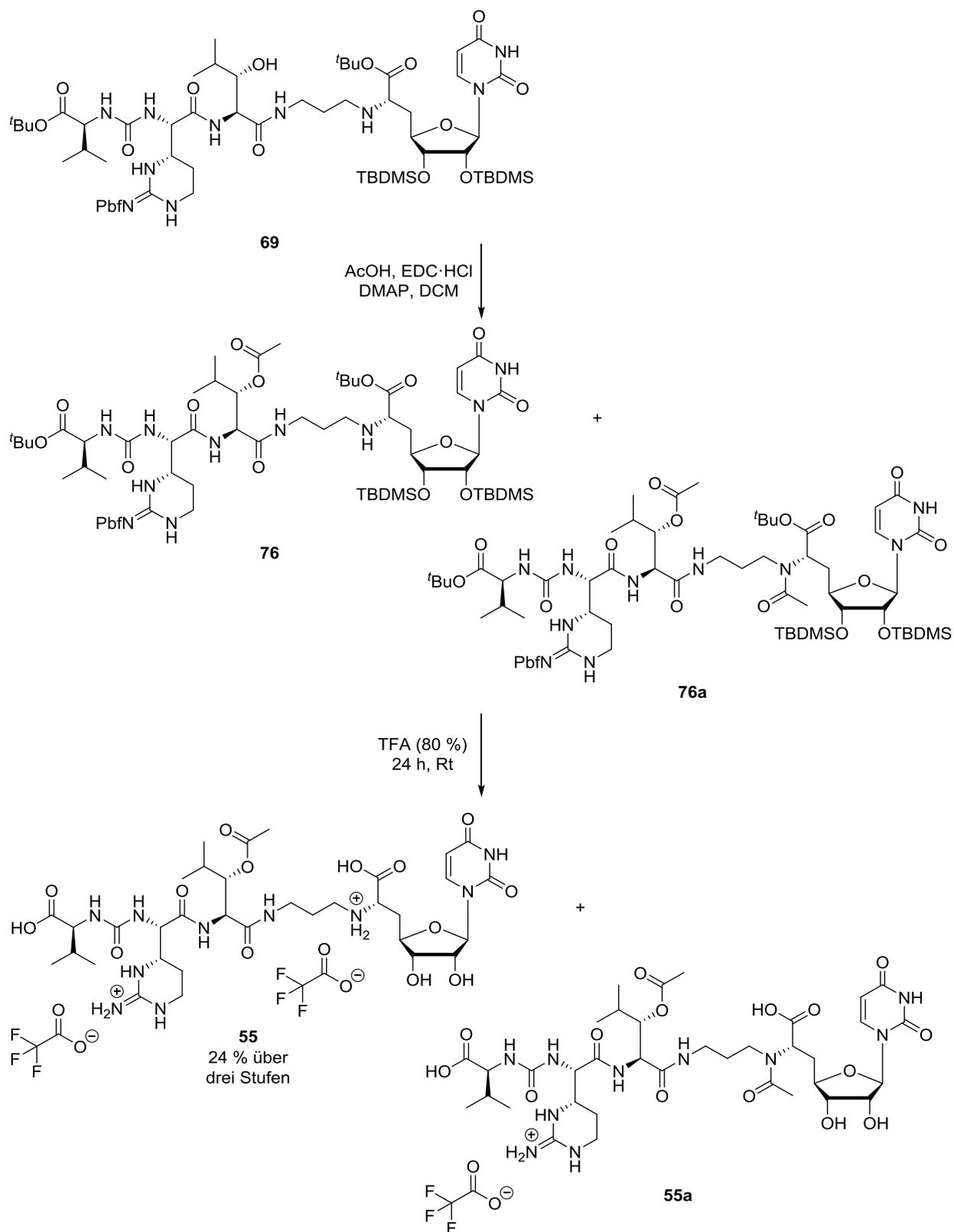


Abb. 4.27 Synthese des 3'''-Acetoxy-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **55**.

In der LC/MS-Analyse konnte das vollständig entschützte, acetylierte Produkt **55** nachgewiesen werden. Zudem konnten noch geringe Mengen an nur teilweise entschütztem Produkt, sowie der zweifach acetylierten Verbindung **55a** detektiert werden. Bei der chromatographischen Reinigung mittels präparativer HPLC konnten zwei Hauptfraktionen erhalten werden, die zunächst mittels LC/MS untersucht wurden. Dabei konnte eine Fraktion dem zweifach acetylierten Produkt **55a** zugeordnet werden und die zweite Fraktion der gewünschten Zielverbindung **55**.

Die Strukturen der postulierten Verbindungen sollten anschließend durch eine ausführliche NMR-Analyse bestätigt werden. Durch einen Fehler in der Handhabung kam es zum Verlust der vermuteten zweifach acetylierten Verbindung **55a**, sodass auf eine Analyse verzichtet werden musste.

Das gewünschte 3'''-Acetoxy-5'-Desoxy-Muraymycin-Analogon **55** konnte in der durchgeführten Analyse unter Zuhilfenahme der 1D-Experimente (^1H , ^{13}C) sowie der 2D-Experimente (H,H-COSY, HSQC, HMBC sowie TOCSY) zweifelsfrei nachgewiesen werden. Die zusätzlichen Signale, sowohl im ^1H - als auch im ^{13}C -NMR-Spektrum, konnten erfolgreich der Acetylgruppe zugeordnet werden. Zudem konnte auch die richtige Verknüpfung mit der 3'''-Position der Leucin-Einheit bestätigt werden. Das 3'''-Proton, welches im 5'-Desoxy-Muraymycin bei etwa 3.8 ppm resoniert, findet sich im ^1H -NMR-Spektrum der acetylierten Verbindung bei etwa 5.0 ppm. Die Acetylierung führte dementsprechend zu einer deutlichen Tieffeldverschiebung. Weiterhin zeigte auch das HMBC-NMR-Spektrum die zu erwartenden Kopplungen (Abb. 4.28). Neben der $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zwischen dem Leucin-Proton in der 3'''-Position und dem Carbonyl-Kohlenstoffatom des Acetylrestes (C-1^{vi}) konnte auch eine $^4J_{\text{CH}}$ -Kopplung zwischen den Protonen der Methylgruppe (2^{vi}-H_3) mit dem 3'''-Kohlenstoffatom des Leucins beobachtet werden (Abb. 4.28). Die mögliche Acetylierung am sekundären Amin der Linkereinheit konnte ausgeschlossen werden, da sowohl zwischen den Signalen der Acetylgruppe und den Signalen der 6'-Position der Nucleosylaminosäure sowie den Signalen der 1''-Position der Linkereinheit keine Kopplung beobachtet werden konnte. Das gewünschte 3'''-Acetoxy-5'-desoxy-Muraymycin-Analogon **55** konnte somit erfolgreich in einer Ausbeute von 21 % über drei Stufen ausgehend vom Harnstoffdipeptid **23** dargestellt werden. Aufgrund der fehlenden NMR-Analyse der vermuteten zweifach acetylierten Verbindung **55a** bezieht sich die Ausbeute ausschließlich auf die Zielverbindung **55**.

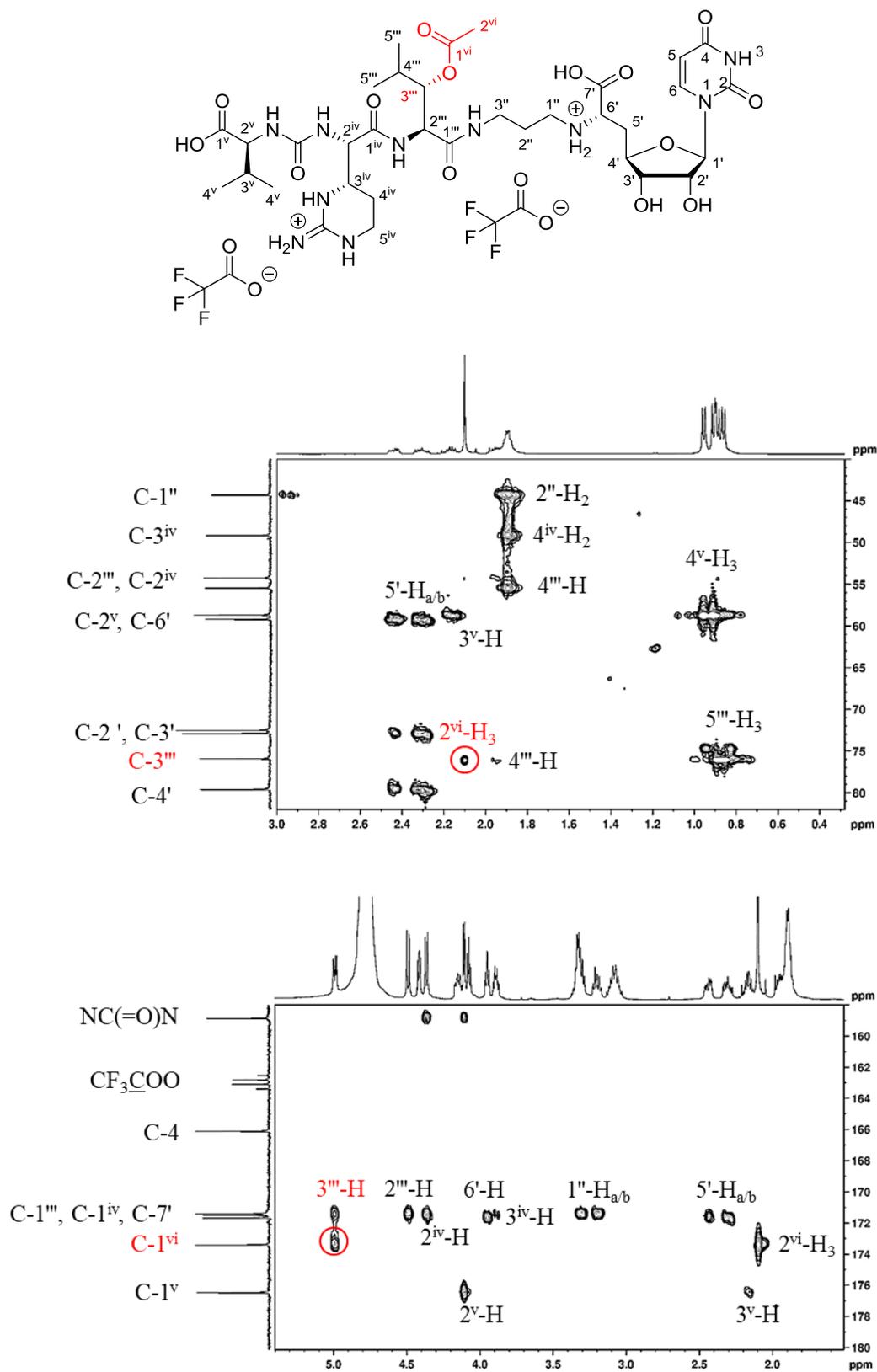


Abb. 4.28 Nachweis der gewünschten Verknüpfung des Acetoxy-Restes im 3'''-Acetoxy-5'-desoxy-Muraymycin-Derivat **55** anhand des HMBC-Spektrums.

4.2.3.2 Darstellung des 3'''-Tridecanoyl-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **54**

Die Einführung einer unfunktionalisierten Seitenkette sollte auch für das Epicapreomycinidin-haltige Muraymycin-Grundgerüst durch Steglich-Veresterung mit Tridecansäure **70** erfolgen (Abb. 4.29).

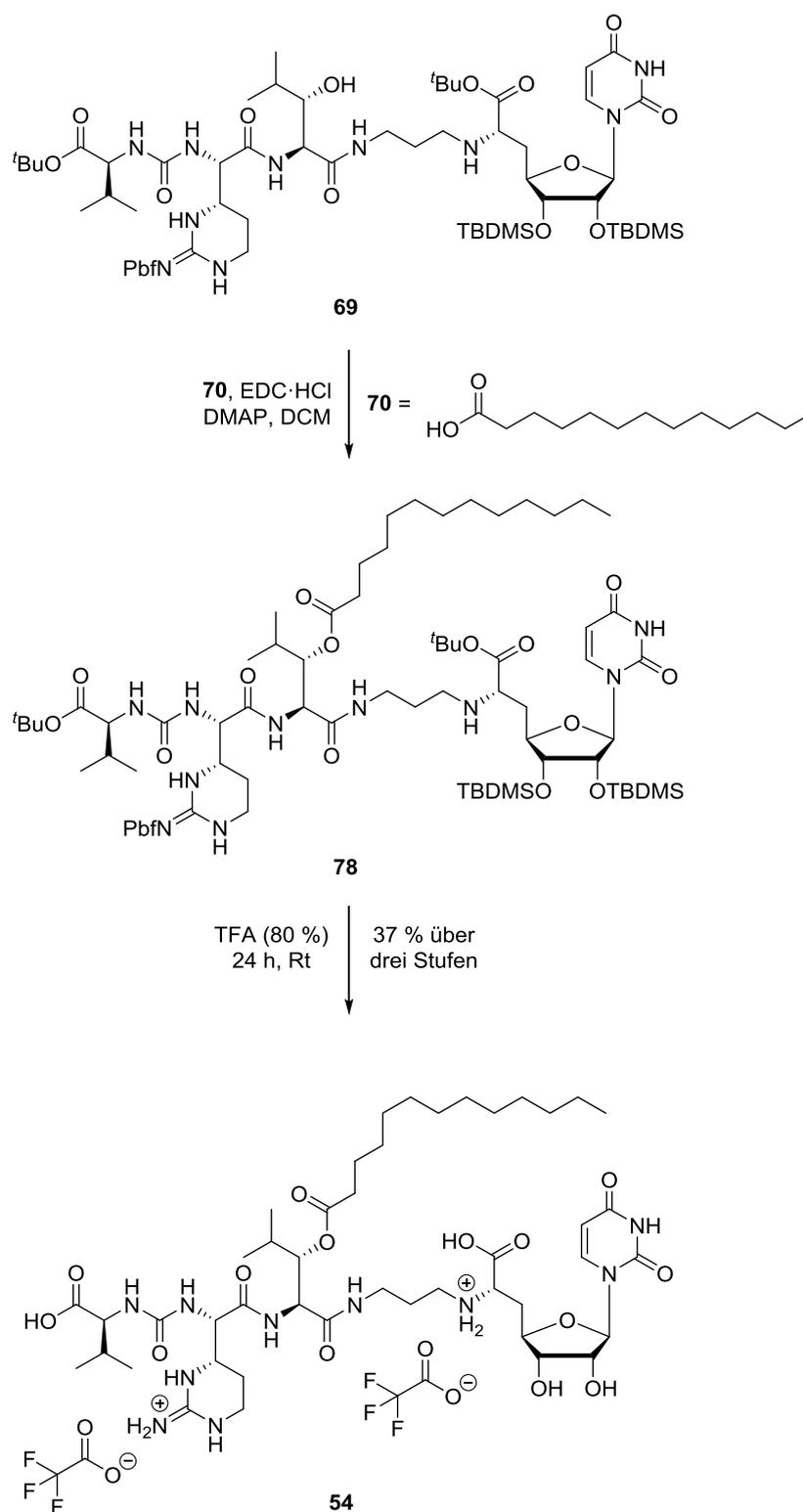


Abb. 4.29 Synthese des 3'''-Tridecanoyl-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **54**. Das geschützte Muraymycin-Grundgerüst **69** wurde in Dichlormethan gelöst und anschließend erfolgte die Zugabe der Kupplungsreagenzien DMAP (2.5 Äq.) und EDC·HCl (2.5 Äq.) sowie der Tridecansäure **70** (1.9 Äq.) (Abb. 4.28). Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht (17 h) bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Aufarbeitung erfolgte durch Zugabe von wässriger Salzsäure (1 M) und Extraktion mit Dichlormethan. In der anschließenden LC/MS-Analytik konnte die Masse der gewünschten Zielverbindung **78** nachgewiesen werden (Abb. 4.29).

Das UV-Chromatogramm deutete dabei auf eine reine Verbindung hin. Bei der DC-Untersuchung des Rohproduktes wurden Verunreinigungen detektiert, weshalb eine säulenchromatographische Reinigung durchgeführt wurde. Dabei wurde neben einer Mischfraktion eine saubere Produktfraktion erhalten, die im Anschluss für die globale saure Entschützung in 80%iger wässriger TFA gelöst wurde. Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurde mit Wasser verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die finale Reinigung erfolgte mittels präparativer HPLC. Die gewünschte Zielverbindung **54** konnte in der LC/MS-Analyse erfolgreich und in guter Reinheit nachgewiesen werden (Abb. 4.29). Die weitere Strukturaufklärung sollte durch eine ausführliche NMR-Analyse erfolgen. Als NMR-Lösungsmittel sollte deuteriertes Wasser (D₂O) verwendet werden, welches ebenfalls für alle vorherigen Muraymycin-Derivate genutzt worden war. Dabei konnte das erhaltene Produkt aufgrund des lipophilen Restes nicht gelöst werden, weshalb daraufhin DMSO-*d*₆ verwendet wurde. Nach erfolgter NMR-Messung wurden komplexe Spektren erhalten, deren Auswertung durch die Anwesenheit der Heteroatom-Protonen deutlich erschwert wurde. Deshalb erfolgte eine weitere Messung in einem Gemisch aus D₂O und DMSO-*d*₆. Dadurch wurde ein Austausch der Heteroatom-Protonen gewährleistet und die anschließende Auswertung wurde deutlich erleichtert.

Das Muraymycin-Grundgerüst konnte auch hier durch Zuhilfenahme der 1D-Experimente (¹H, ¹³C) sowie der 2D-Experimente (H,H-COSY, HSQC, HMBC und TOCSY) aufgeklärt werden. Die richtige Verknüpfung der Tridecanoyl-Einheit an der 3'''-Position der Leucin-Struktur konnte auch in diesem Fall durch die Tieffeldverschiebung des 3'''-Protons bei etwa 5 ppm im Vergleich zu 3.8 ppm im freien 5'-Desoxy-Muraymycin im ¹H-NMR-Spektrum sowie durch die Kopplungen im HMBC-NMR-Spektrum bestätigt werden (Abb. 4.30).

In der Auswertung des HMBC-NMR-Spektrums konnte die ⁴J_{CH}-Kopplung zwischen dem 3'''-Kohlenstoffatom der Leucineinheit und den Protonen der 2^{vi}-CH₂-Gruppe der Alkylkette jedoch nicht beobachtet werden. Die ³J_{CH}-Kopplung zwischen dem Carbonyl-Kohlenstoffatom C-1^{vi} und dem 3'''-Proton der Leucineinheit konnte jedoch zweifelsfrei nachgewiesen werden. Ebenfalls konnte auch für die vorliegende Verbindung eine falsche Verknüpfung am

4.2.3.3 Darstellung des 3'''-(ω -Aminotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **53** und Versuch der Darstellung des 3'''-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **52**

Weiterhin wurde auch eine Verbindung angestrebt, in der die Fettsäure-Seitenkette mit einer Aminofunktionalität versehen sein sollte. Dazu wurde die *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71** in der Steglich-Veresterung eingesetzt (Abb. 4.31).

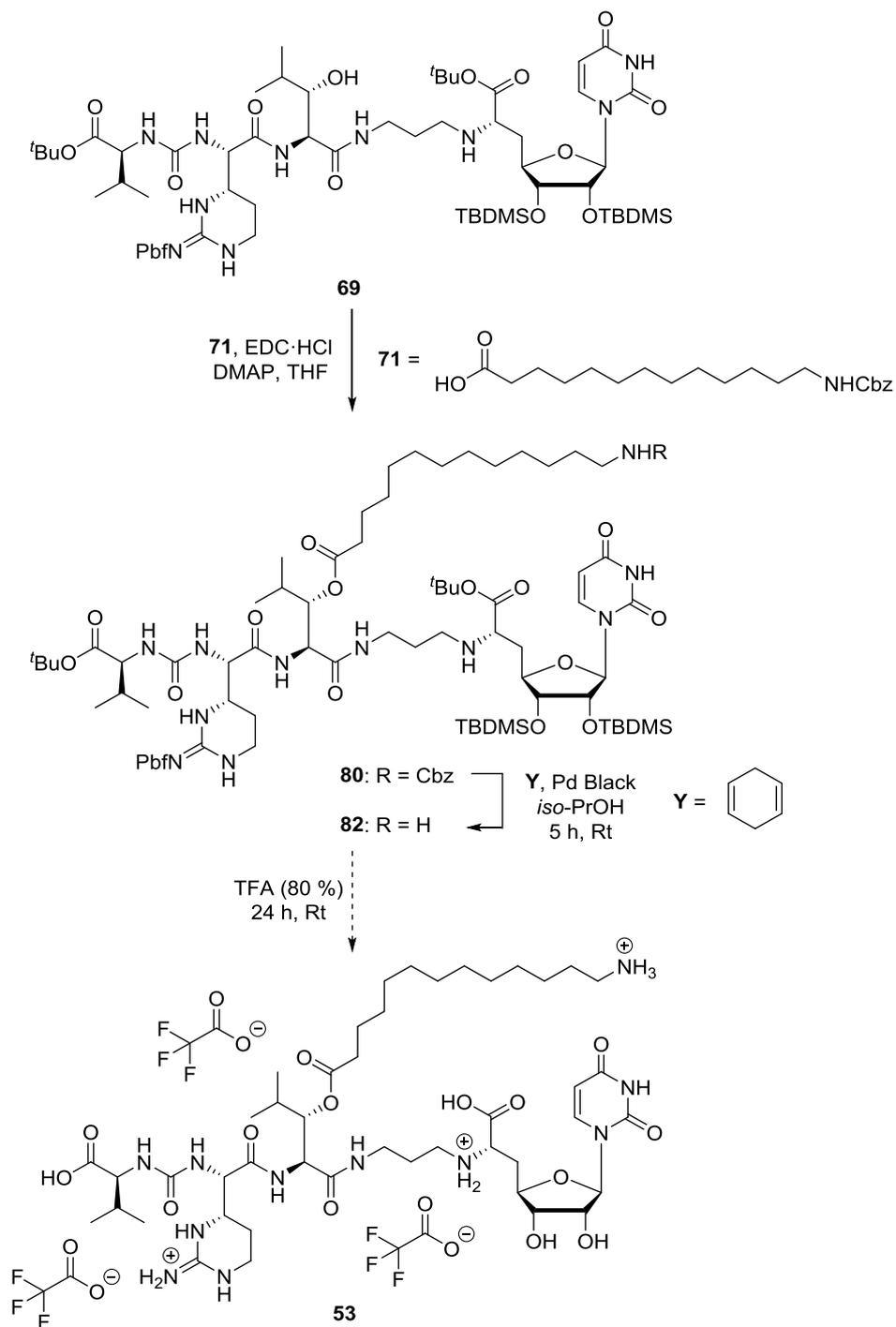


Abb. 4.31 Schematische Darstellung zur Synthese des angestrebten 3'''-(ω -Aminotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **53**.

Wie eingangs erwähnt wurde in einer ersten Reaktion Tetrahydrofuran als Lösungsmittel verwendet. Das Produkt konnte nach abgeschlossener Reaktion erfolgreich in der LC/MS-Analyse nachgewiesen werden. Die folgende Reinigung des Produktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel, wobei eine vollständige Abtrennung unbekannter Verunreinigungen nicht erzielt werden konnte. Auch die moderate Ausbeute von ungefähr 26 %, welche über das UV-Chromatogramm bestimmt wurde, war nicht zufriedenstellend. Trotzdem wurde eine ausreichende Reinheit für den Einsatz der Produktfraktion im nächsten Schritt der angestrebten Synthesesequenz angenommen und die angestrebte Cbz-Entschützung wurde auf ihre Durchführbarkeit untersucht.

Die Produktfraktion wurde dazu in *iso*-Propanol gelöst und mit 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und Palladium Black versetzt. Bei der Verfolgung durch Dünnschichtchromatographie konnte nach einer Reaktionszeit von 1 h kein Umsatz beobachtet werden, weshalb erneut Palladium Black und 1,4-Cyclohexadien zugegeben wurden. Die weitere Verfolgung der Reaktion erfolgte über einen Zeitraum von insgesamt 5 h, in denen insgesamt 30 Äq. Cyclohexadien hinzugefügt wurden. Die Aufarbeitung wurde durch Filtration des Reaktionsgemisches durch einen Spritzenfilter realisiert. Vermutlich wurde der Katalysator Pd Black durch die anwesenden Verunreinigungen aus dem letzten Reaktionsschritt inaktiviert, wodurch kaum Umsatz erzielt werden konnte. Dennoch konnte die angestrebte Zielverbindung **82** in der LC/MS-Analytik erfolgreich nachgewiesen werden (Abb. 4.31).

Auf die finale globale saure Entschützung zur Generierung eines an der Fersäure-Seitenkette Amino-funktionalisierten Muraymycin-Derivates wurde hier zunächst verzichtet, da auch die angestrebte Guanidinylierungsreaktion auf ihre Durchführbarkeit untersucht werden sollte (Abb. 4.32). Das erhaltene Produkt **82** wurde deshalb in absolutem Dimethylformamid aufgenommen und mit Triethylamin (3 Äq.) und 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid (3 Äq.) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 20 h bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung beendet. Das Rohprodukt konnte durch Extraktion mit Ethylacetat aufgearbeitet werden. Auch hier deutete die anschließende LC/MS-Analyse auf eine erfolgreiche Durchführung der Reaktion hin, da die gewünschte Zielverbindung **84** erfolgreich nachgewiesen werden konnte. Auf eine weitere Reinigung wurde in diesem Schritt verzichtet und das Rohprodukt wurde zur finalen globalen sauren Entschützung in 80 %iger TFA aufgenommen. Das Gemisch wurde über 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor Wasser zugefügt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Erneut wurde eine LC/MS-Analyse durchgeführt, in der auch in diesem Fall die gewünschte Produktmasse als Hauptprodukt **52** nachgewiesen werden konnte. Nach Reinigung

mittels präparativer HPLC konnte eine Hauptfraktion mit der entsprechenden Produktmasse isoliert werden.

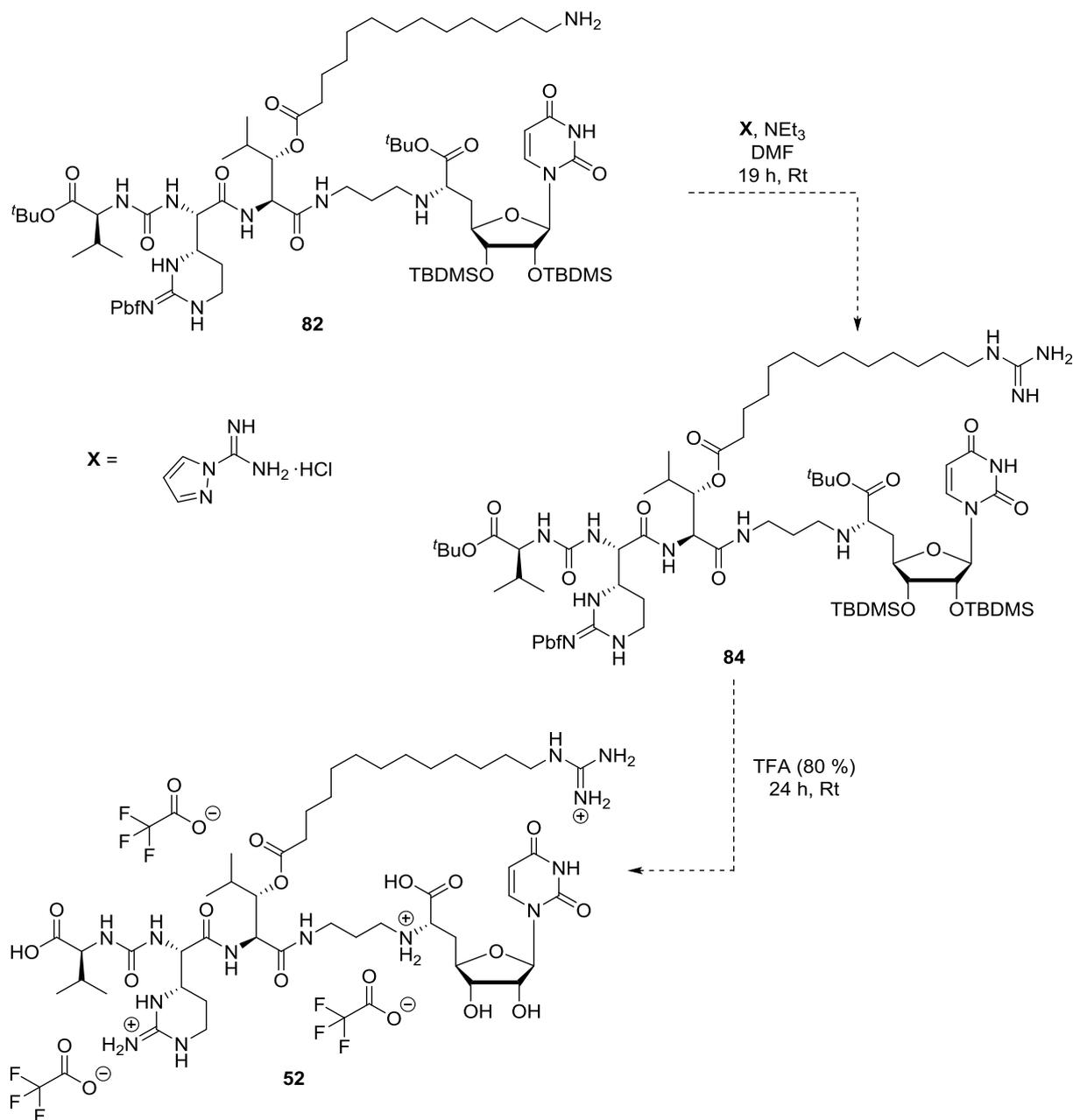


Abb. 4.32 Schematische Darstellung zur Synthese des gewünschten 3'''-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **52**.

Diese wurde schließlich ausführlich mittels NMR-Analytik untersucht. Dabei fiel bereits bei der Auswertung des ¹H-NMR-Spektrums auf, dass das 3'''-Proton der Leucin-Einheit nicht im Verschiebungsbereich-Bereich von etwa 5 ppm, sondern analog zum 5'-Desoxy-Analogon **9** von Muraymycin C4 bei etwa 3.8 ppm resonierte. Diese Beobachtung deutete bereits darauf hin, dass die Hydroxygruppe in der 3'''-Position nicht mit der Fettsäure-Seitenkette verestert

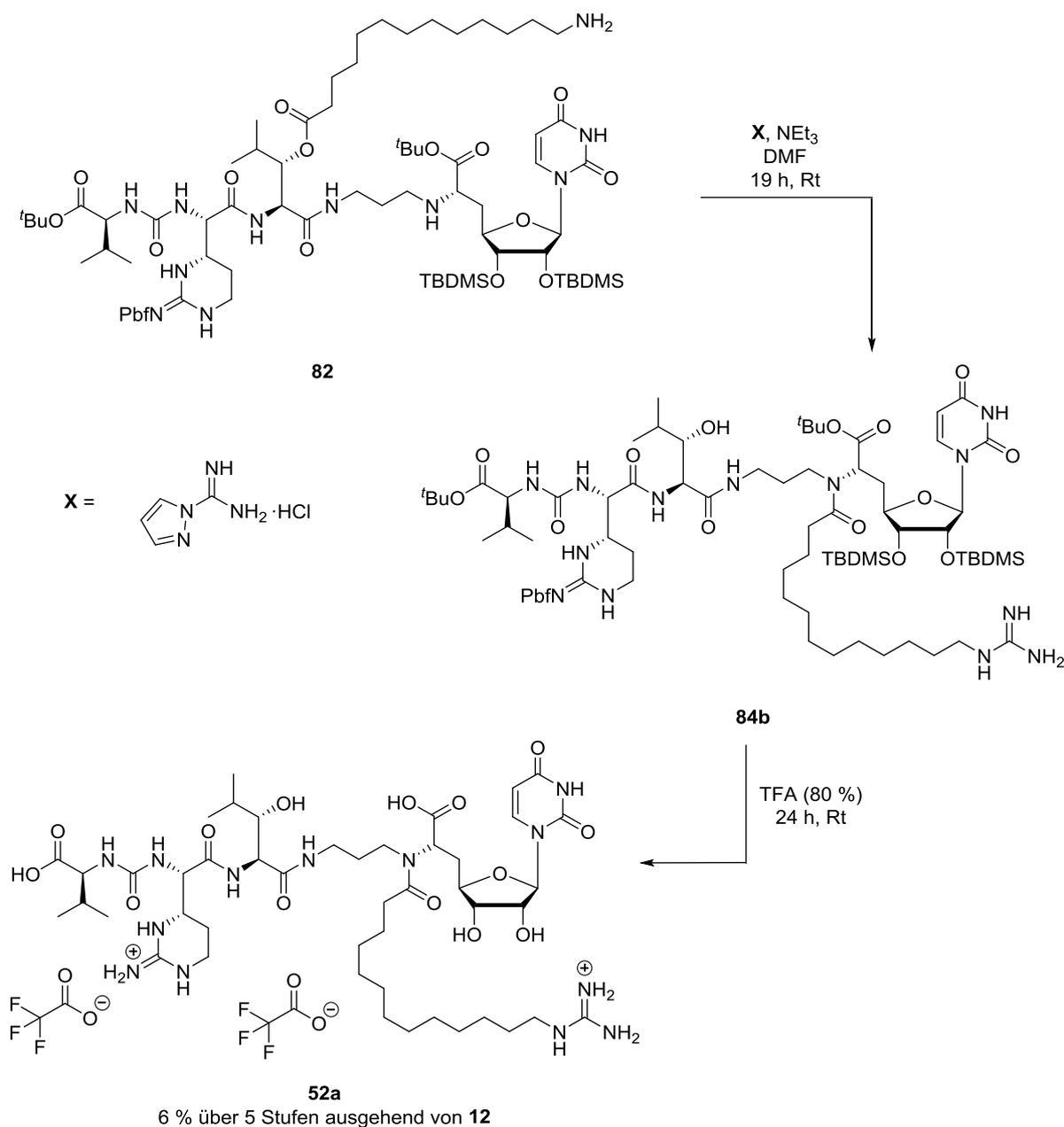


Abb. 4.34 Synthese des 6'-N-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **52a**.

Zunächst wurde die Vermutung aufgestellt, dass die sehr basischen Bedingungen der Guanidinylierungsreaktion zur Verseifung der vorliegenden Esterbindung und anschließender Migration der Seitenkette an das sekundäre Amin gekommen war (Abb. 4.34). Eine falsche Verknüpfung während der Acylierungsreaktion wurde nicht prognostiziert. Die Synthese zum Amino-funktionalisierten Derivat wurde wiederholt und in diesem Zuge der oben beschriebene Sachverhalt weiter untersucht.

Die Acylierungsreaktion mit der *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71** wurde somit ein weiteres Mal durchgeführt. In diesem Fall diente Dichlormethan als Lösungsmittel, da bereits bekannt

war, dass die Bildung eines unbekanntes Nebenproduktes in diesem Lösungsmittel unterdrückt werden konnte (Abb. 4.35).

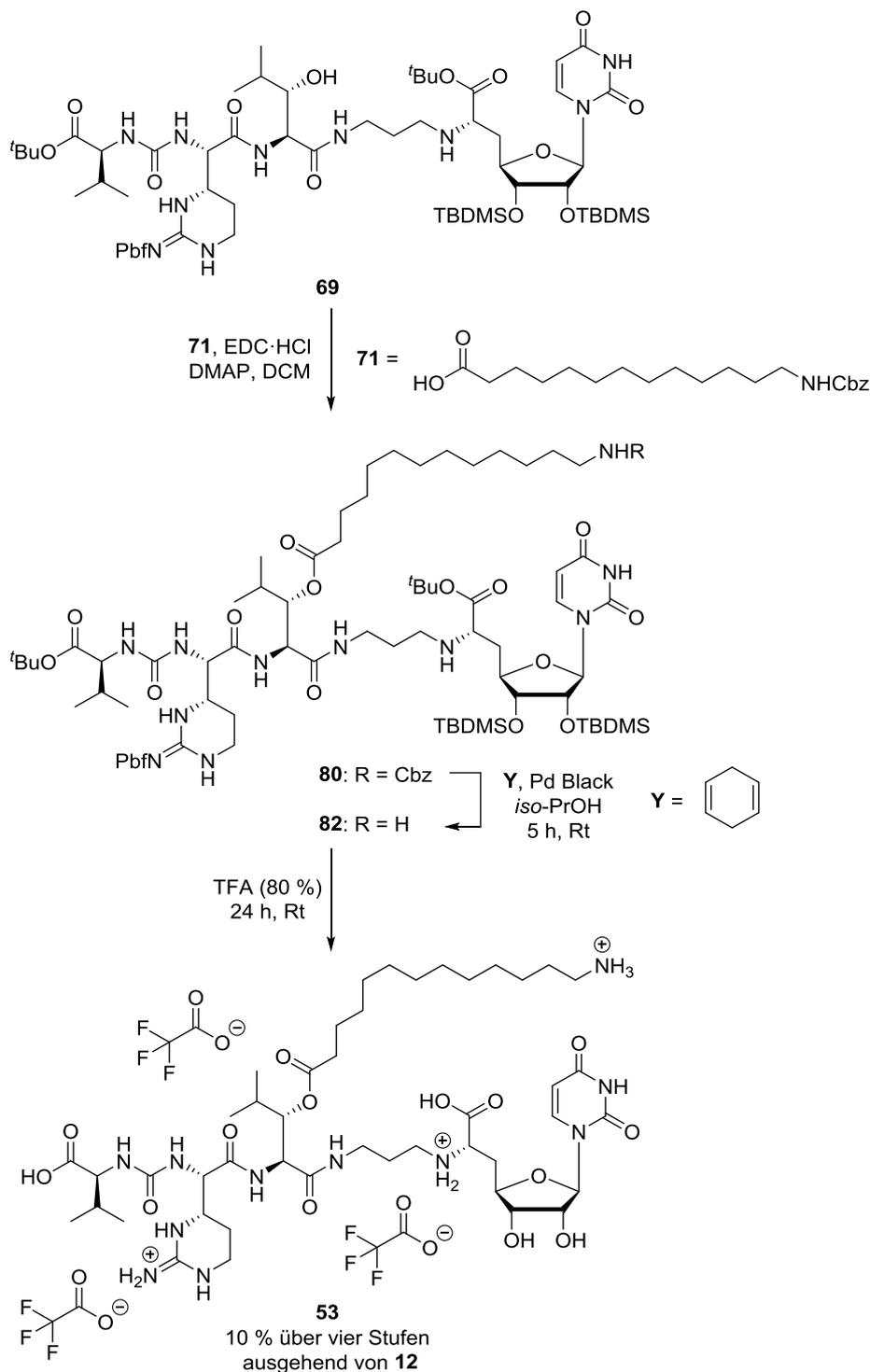


Abb. 4.35 Synthese des 3'''-(ω -Aminotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **53**.

Nach Lösen des Grundgerüsts **69** und Zugabe von DMAP (2.5 Äq.), EDC·HCl (2.5 Äq.) und der *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71** (1.9 Äq.) wurde über Nacht bei Raumtemperatur (19 h) gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von wässriger Salzsäure (1 M) beendet und es wurde mit Ethylacetat extrahiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel wurde eine

LC/MS-Analyse der Hauptfraktion durchgeführt, bei der ausschließlich die gewünschte Produktmasse nachgewiesen werden konnte. Die erzielte Ausbeute von 56 % konnte im Vergleich zur ersten Reaktion deutlich gesteigert werden. Zudem konnte das Produkt **80** in einer deutlich höheren Reinheit (>98 % laut UV-Chromatogramm der LC/MS-Analyse) isoliert werden (Abb. 4.35).

Im Anschluss musste die Cbz-Gruppe abgespalten werden, wozu auch hier die bekannten Bedingungen unter Einsatz von Palladium Black, 1,4-Cyclohexadien (10 Äq.) und *iso*-Propanol als Lösungsmittel eingesetzt wurden. Ein vollständiger Umsatz der Reaktion konnte erst nach wiederholter Zugabe der Reagenzien (insgesamt ~65 Äq. Cyclohexadien) und einer Reaktionszeit von 6 h unter Erhitzen auf 35 °C mittels Verfolgung durch Dünnschichtchromatographie beobachtet werden. Die Aufarbeitung erfolgte durch Filtration durch einen Spritzenfilter. Eine Inaktivierung des Katalysators wurde in diesem Fall durch die Verwendung des sehr reinen Eduktes ausgeschlossen. Weitere Gründe für den erschwerten Umsatz wurden nicht weiter aufgeklärt. In der LC/MS-Analyse wurde die Produktmasse als Hauptbestandteil neben geringen Mengen von Nebenprodukten nachgewiesen. Das erhaltene Produkt **82** wurde schließlich in 80 %iger TFA aufgenommen und bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 24 h global sauer entschützt. Bereits bei der LC/MS-Analyse des Rohproduktes wurde die gewünschte Produktmasse nachgewiesen. Bei der anschließenden Reinigung mittels präparativer HPLC konnte eine saubere Produktfraktion isoliert werden. Die detaillierte NMR-Analyse führte zu folgendem Ergebnis: Das 3"-Proton der Leucin-Einheit war im erwarteten Bereich um ca. 5 ppm zu finden, was auf die gewünschte Esterbindung hinwies. Die $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zwischen dem Carbonyl-Kohlenstoffatom C-1^{vi} und dem 3"-Proton der Leucin-Einheit war ebenfalls deutlich zu erkennen (Abb. 4.36). Somit konnte die Zielverbindung **53** erfolgreich und in einer Ausbeute von 10 % über vier Stufen erhalten werden (Abb. 4.35). An diesem Punkt erhärtete sich der Verdacht, dass die ungewünschte Konnektivität in Verbindung **52a** aufgrund der basischen Bedingungen in der Guanidinylierungsreaktion durch Migration des Acylrestes entstanden sein musste.

Die beschriebene Synthesesequenz sollte als elegante Methode verwendet werden, um sowohl die Amino- als auch die Guanidin-funktionalisierten Verbindungen **53** und **52** aufzubauen. Für das angestrebte Guanidin-funktionalisierte Derivat **52** musste an diesem Punkt eine neue Synthesestrategie entwickelt werden, in der eine Migration der Fettsäure-Seitenkette auf das 6'-Amin der Nucleosyl-Aminosäure verhindert werden musste.

wird häufig zur Schützung von Guanidin-Gruppen eingesetzt und ihre Verwendung bot sich hier vor allem aufgrund ihrer Spaltbarkeit unter sauren Bedingungen an.

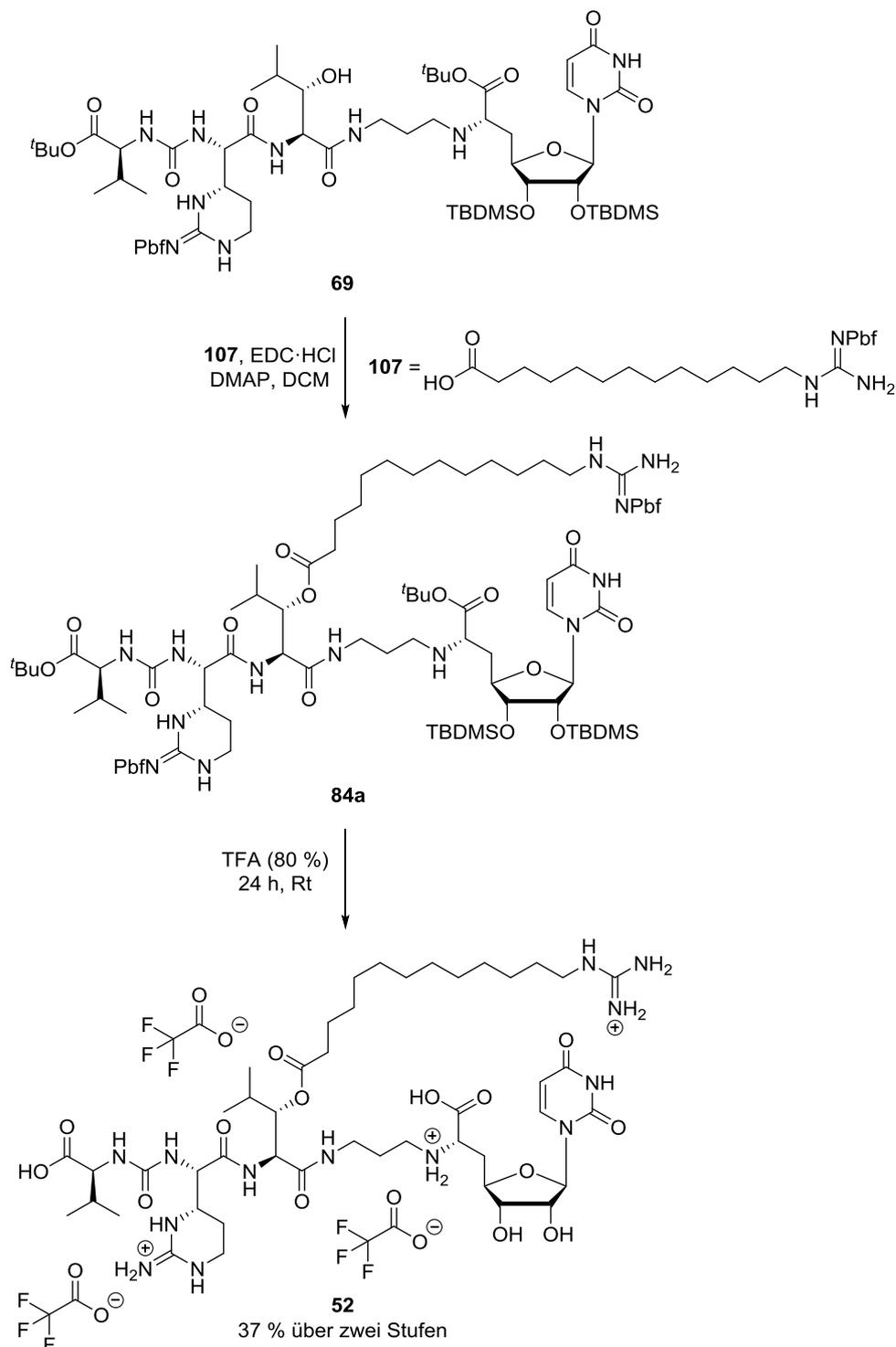


Abb. 4.37 Synthese des 3'''-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **52**.

Die Acylierungsreaktion wurde schließlich unter den erprobten Bedingungen durchgeführt. Das Muraymycin-Grundgerüst **69** wurde in Dichlormethan gelöst und mit den Kupplungsreagenzien DMAP (2.5 Äq.) und EDC · HCl (2.5 Äq.) sowie der

13-(NPbf)-Guanidintridecansäure **107** (1.9 Äq.) versetzt (Abb. 4.37). Nach Rühren bei Raumtemperatur über Nacht (16 h) wurde die Reaktion durch Zugabe von Ammoniumchlorid-Lösung beendet und die Extraktion wurde mit Dichlormethan durchgeführt. Bei der anschließenden säulenchromatographischen Reinigung des erhaltenen Rohproduktes konnte das Produkt **84a** nahezu rein (Reinheit ~ 95 % anhand des LC/MS-UV-Chromatogramms) erhalten werden (Abb. 4.37).

Dieses wurde in 80 %iger wässriger TFA über 24 h gerührt (Abb. 4.37). Nach Zugabe von Wasser wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Reinigung des Produktes wurde mittels präparativer HPLC durchgeführt. Dabei konnte eine saubere Produktfraktion gewonnen werden, was zunächst durch LC/MS-Analyse bestätigt wurde. Bei der anschließenden Analyse der aufgenommenen NMR-Daten konnte das gewünschte Produkt **52** mit der angestrebten Verknüpfung der Fettsäure-Seitenkette nachgewiesen werden. Das Signal des 3'''-Protons der Leucin-Einheit befand sich im erwarteten Bereich bei etwa 5 ppm (Abb. 4.38). Es zeigte außerdem die erforderliche $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zum Carbonylkohlenstoffatom C-1^{vi}. Im abgebildeten HMBC—NMR-Spektrum ist zudem ein zusätzliches Signal von Essigsäure zu erkennen, dessen Ursprung nicht aufgeklärt werden konnte. Durch wiederholtes Lösen in wässriger Trifluoressigsäure und anschließende Gefriertrocknung konnte diese Kontamination wieder entfernt werden. Dies konnte durch eine erneute NMR-Messung bestätigt werden. Weiterhin war auch das quartäre Kohlenstoffatom C-14^{vi} der Guanidingruppe deutlich zu erkennen. Die Acylierungsreaktion unter Verwendung der geschützten Fettsäure-Seitenkette **107** führte schließlich zur gewünschten Verknüpfung und das gewünschte 3'''-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivat **52** konnte erfolgreich in einer guten Ausbeute von 37 % über 3 Stufen dargestellt werden (Abb. 4.37).

Zusammenfassend konnten die angestrebten Epicapreomycidin-haltigen Muraymycin-Analoga erfolgreich dargestellt werden. Die geplante Kopfgruppenderivatisierung der Amino-Fettsäure war nicht erfolgreich. Durch die Änderung der Synthesesequenz konnte aber auch das angestrebte Guanidin-funktionalisierte Derivat **52** dargestellt werden. Ein Vorteil im Vergleich zu den Lysin-haltigen Derivaten ergab sich vor allem aus dem Umstand, dass keine Konkurrenzreaktion während der Peptidkupplung, die in der Ester-verknüpften Grundstruktur **68a** resultierte, auftrat. Die dargestellten Verbindungen standen im Anschluss für eine ausführliche Bestimmung der biologischen Aktivitäten bereit. Die entsprechenden Ergebnisse werden im nächsten Kapitel dargestellt und diskutiert.

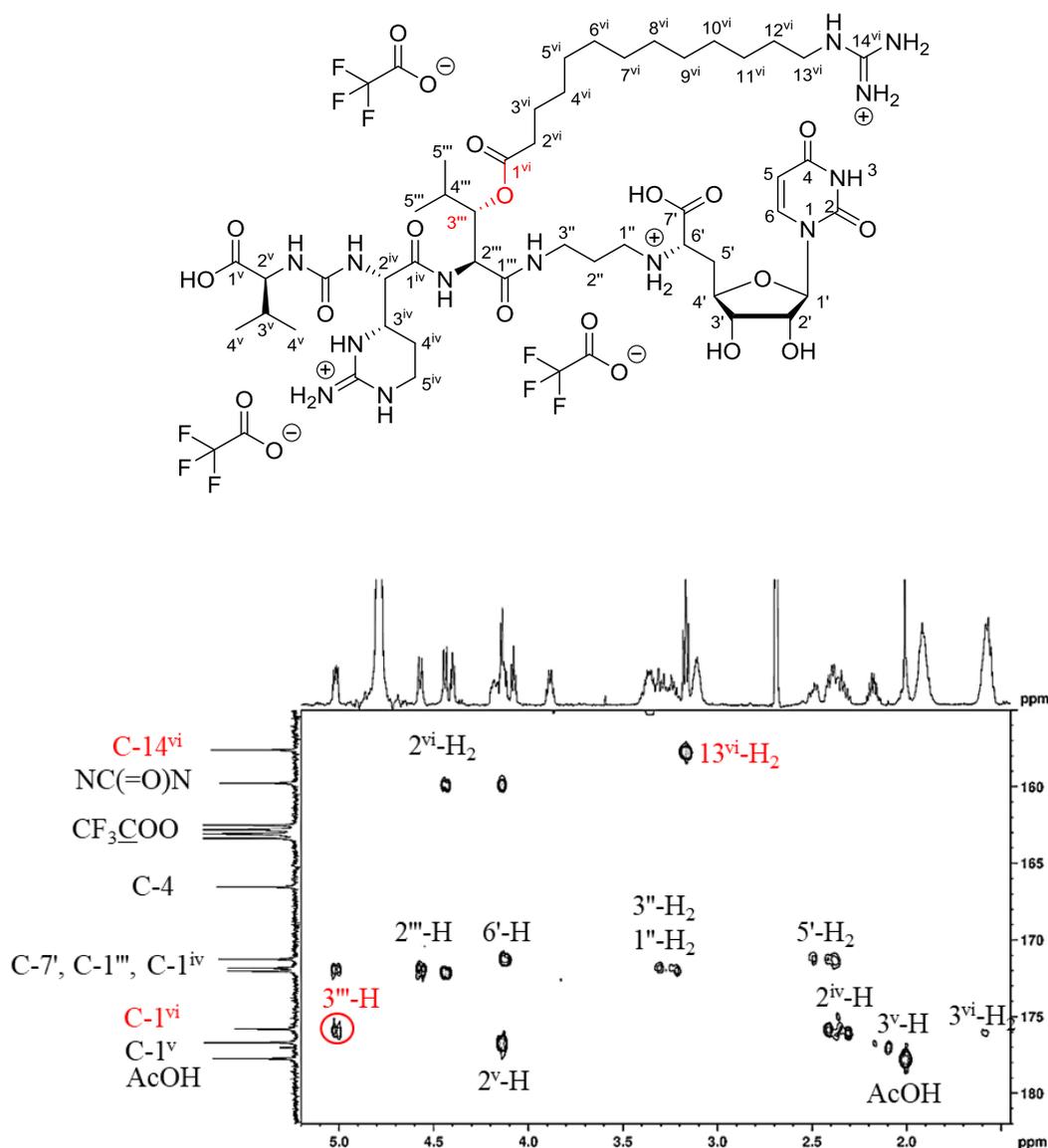


Abb. 4.38 Nachweis der richtigen Verknüpfung des ω -Guanidinotridecanoyl-Restes im 3ⁱⁱⁱ-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivat **52** anhand des HMBC-NMR-Spektrums.

4.3 Biologische Evaluierung

Die Testung der biologischen Aktivität der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurde von Stefan Koppermann und Jannine Ludwig durchgeführt. Es wurden die inhibitorischen Aktivitäten gegen das Target-Enzym MraY aus *S. aureus* in einem fluoreszenzbasierten *in-vitro*-Assay bestimmt (IC₅₀-Werte). Die antibiotische Aktivität gegen verschiedene Bakterienstämme wurde über die minimale inhibitorische Konzentration (MIC) bestimmt. Als Gram-negative Stämme wurden *E. coli* Δ tolC als Efflux defizienter Stamm und *Pseudomonas*

aeruginosa (PAO1) getestet. Als Gram-positive Stämme wurde gegen *S. aureus* (Newman-Stamm, wt) und Methicillin resistenten *S. aureus* (MRSA) getestet.

4.3.1 Lysin-haltige Muraymycin-Analoga

Die inhibitorischen (gegen *MraY*) und antibiotischen Aktivitäten der Lysin-haltigen Muraymycine sind in Abbildung 4.39 zusammengefasst. Die beiden getesteten Verbindungen **51** und **51a** zeigten keine signifikanten antibiotischen Aktivitäten gegenüber *S. aureus* und *E. coli* (MIC > 100 µg/mL), und nur mäßige inhibitorische Aktivitäten gegen das Enzym *MraY* (IC₅₀ = 10-22 µM).

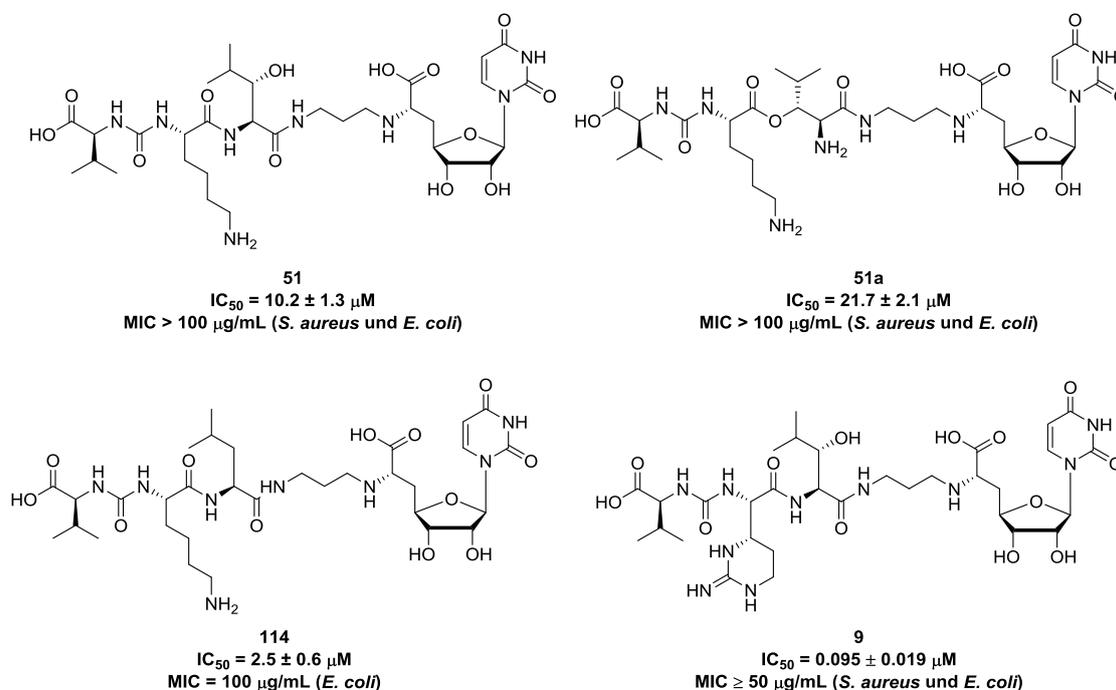


Abb. 4.39 Inhibitorische (gegen *MraY*) und antibiotische Aktivitäten der Lysin-haltigen Muraymycin-Analoga **51** und **51a** sowie der Vergleichsverbindungen **114** und **9**.

Im Vergleich zu Verbindung **114**, die zwar die natürliche Konnektivität aufweist, aber keine Hydroxygruppe in der zentralen Leucin-Einheit besitzt^[141,160], wurden inhibitorische Aktivitäten im ähnlichen micromolaren Bereich erzielt (Abb. 4.39). Die von *Ducho* und Mitarbeitern gemachte Beobachtung, dass ein β -Hydroxysubstituent an der Leucin-Einheit für die Inhibition günstig ist, konnte für die Lysin-haltigen Analoga nicht bestätigt werden. Das Derivat **51a** mit der Ester-verknüpften Konnektivität der Peptideinheit war schwächer aktiv (IC₅₀ = 21.7 ± 2.1 µM) als die beiden Lysin-haltigen Muraymycine **51** (IC₅₀ = 10.2 ± 1.3 µM)

und **114** ($IC_{50} = 2.5 \pm 0.6 \mu M$). Dass die Verbindung **51a** dennoch *MraY* inhibierte, konnte auf die hohe strukturelle Ähnlichkeit der Verbindung zu Verbindung **51** zurückgeführt werden. Bei der Bindung eines Muraymycins an *MraY* kommt es zu einer Konformationsänderung des Enzyms.^[108,111] Aufgrund dieser konformationellen Plastizität des Enzyms *MraY* scheint es daher plausibel, dass die Verbindung **51a** trotz der strukturellen Diskrepanz zu Verbindung **51** eine Enzymbindung eingehen konnte. Die Vorteilhaftigkeit von Epicapreomycin gegenüber vereinfachten Aminosäuren war bereits in früheren Studien gezeigt worden.^[135,175] Dies konnte ebenfalls durch die erhöhte inhibitorische Aktivität des 5'-Desoxy-Analogons **9** von Muraymycin C4 ($IC_{50} = 95 \pm 19 \text{ nM}$, 100-fach) verdeutlicht werden.

Die natürlich vorkommenden Muraymycine zeigten sowohl *in vitro* als auch *in cellulo* bessere Aktivitäten.^[124] Dies ist plausibel, da die synthetisierten Analoga strukturell vereinfacht waren: es fehlen die für die Targetinteraktion wichtige Aminoribose-Einheit sowie die Fettsäure-Seitenkette, die vor allem für die Zellaufnahme wichtig ist.^[124]

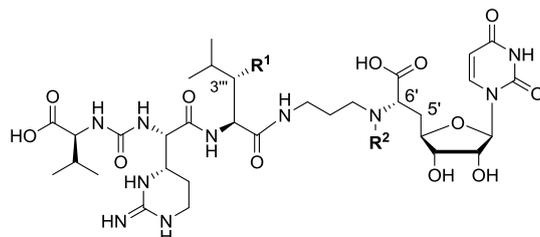
4.3.2 Epicapreomycin-haltige Muraymycin-Analoga

Die inhibitorischen (gegen *MraY*) und antibiotischen Aktivitäten der Epicapreomycin-haltigen und *O*-acylierten Muraymycin-Derivate **52** bis **55** sind in Tabelle 4.5 aufgelistet. Alle getesteten Muraymycin-Analoga waren inhibitorisch (gegen *MraY*) und antibiotisch aktiv. Dabei zeigten vor allem die Derivate **52**, **53** und **54** mit langer Fettsäure-Seitenkette (13-C) in der 3-Position der Leucin-Einheit sehr gute inhibitorische Aktivitäten mit $IC_{50} = 4\text{-}6 \text{ nM}$. Das Acetyl-Derivat **55** war mit einem $IC_{50} = 82 \pm 12 \text{ nM}$ um das 10- bis 20-fache weniger aktiv. Die geringste inhibitorische Aktivität ($IC_{50} = 970 \pm 110 \text{ nM}$) wurde für die Verbindung **52a** ermittelt, in der die Hydroxyguanidin-funktionalisierte Seitenkette mit dem sekundären Amin der Nucleosyl-Aminosäure verbunden war.

Der Trend der inhibitorischen Aktivitäten spiegelte sich auch bei den antibiotischen Aktivitäten wider. Gegenüber der Efflux defizienten *E. coli*- $\Delta tolC$ -Mutante konnten zunächst keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, da für alle getesteten Verbindungen ähnliche MIC-Werte von $< 1 \mu g/mL$ ermittelt wurden. Ähnliche Resultate waren bei der Testung von anderen natürlichen Muraymycine erhalten worden, wobei ab einem gewissen Schwellenwert der *MraY*-Inhibition bei *E. coli* $\Delta tolC$ keine Unterschiede mehr festzustellen waren.^[124] Gegenüber *S. aureus* (Newman-Stamm) erzielten die Derivate **52-54** die besten inhibitorischen

Aktivitäten, wobei deutliche Unterschiede bei An- oder Abwesenheit einer Kopfgruppe beobachtet werden konnten.

Tab. 4.5 Inhibitorische (gegen *MraY*) und antibiotische Aktivitäten der in der Arbeit synthetisierten acylierten Muraymycine sowie der Vergleichsverbindungen **114** und **9**^[24] (keine Aktivität gegen *Pseudomonas aeruginosa*, n.d. = not determined).



Verbindung	R ¹	R ²	IC ₅₀ [nM] <i>S. aureus</i>	MIC [μg/mL]		
				<i>E. coli</i> <i>ΔtolC</i>	<i>S. aureus</i> Newman	MRSA
52		-H	4.0 ± 0.7	< 1	11.4	24
53		-H	4.5 ± 0.3	< 1	40	> 100
54		-H	5.8 ± 0.5	< 1	0.32	5.5
55		-H	82 ± 12	< 1	> 100	n.d.
52a	-OH		970 ± 110		> 100	n.d.
5'-Desoxy C4	-OH	-H	95 ± 19	50	> 50	n.d.
114	-H	-H	670 ± 120	48	n.d.	n.d.

Für das unfunktionalisierte Tridecansäure-Derivat **54** konnte ein MIC = 0.32 μg/mL und damit die höchste antibiotische Aktivität unter den getesteten Verbindungen nachgewiesen werden. Auch das Guanidin-funktionalisierte Derivat **52** konnte eine sehr gute antibiotische Aktivität von MIC = 11.4 μg/mL erzielen. Im Vergleich zum unfunktionierten Derivat **54** kam es bei Anwesenheit einer Guanidin-Kopfgruppe in der Fettsäure-Seitenkette jedoch eher zu einem Verlust (~35-fach zu **54**) der antibiotischen Aktivität. Diese Beobachtung wurde auch im Fall des Amino-funktionalisierten Derivates **53** erhalten, welches einen moderaten MIC = 40 μg/mL aufweisen konnte. Das Acetyl-Derivat **55** und das **52a** Derivat mit nicht-natürlicher Konnektivität der Seitenkette **52a** zeigten hingegen keine Aktivität (MIC > 100 μg/mL).

Nachdem für die drei lipophilisierten Derivate **52-54** gute antibiotische Aktivitäten gegen *S. aureus* ermittelt werden konnten, wurden die Verbindungen ebenfalls gegen einen multiresistenten *S. aureus*-Stamm (MRSA) getestet. Dabei konnte für das Amino-funktionalisierte Derivat **53** keine Aktivität ($\text{MIC} > 100 \mu\text{g/mL}$) nachgewiesen werden. Analog zur Testung gegenüber *S. aureus* Newman wurde für das Guanidin-funktionalisierte Derivat **52** eine deutlich gesteigerte antibiotische Aktivität von $\text{MIC} = 24 \mu\text{g/mL}$ gegen MRSA ermittelt. Die höchste antibiotische Aktivität gegen MRSA zeigte das unfunktionalisierte Tridecanoyl-Derivat **54** mit $\text{MIC} = 5.5 \mu\text{g/mL}$, und dies war damit insgesamt die aktivste Verbindung der in dieser Arbeit getesteten Verbindungen. Darüber hinaus war die Verbindung **54** sogar potenter als der beste Muraymycin-Naturstoff (B8, vergl. Tab. 2.2). Durch die Vereinfachung der Muraymycin-Grundstruktur in Form der Vernachlässigung der Aminoribose-Einheit und des natürlich verknüpften, terminal unverzweigten Tridecanoyl-Restes konnte erstmals eine Verbesserung der antibiotischen Aktivität von Verbindung **54** im Vergleich zu den natürlich vorkommenden Muraymycinen erzielt werden.

Die deutlich besseren inhibitorischen Aktivitäten der lipophilisierten Derivate **52-54** belegten eindeutig, dass die Fettsäure-Seitenkette auch einen positiven Einfluss auf die Enzymbindung hatte. Die exzellenten antibiotischen Aktivitäten der lipophilisierten Derivate (**52-54**) konnten in der vorliegenden Arbeit auf die Anwesenheit der Fettsäure-Seitenkette zurückgeführt werden. Weiterhin wurde vermutet, dass durch die erhöhte Lipophile der lipidierten Derivate (**52-54**) im Vergleich zu Acetyl-Verbindung **55** die zelluläre Aufnahme verbessert sein sollte. Die Kopfgruppe am terminalen Ende der Fettsäure-Seitenkette hatte eher einen negativen Einfluss auf die antibiotische Aktivität. Dabei wurde deutlich, dass die Abwesenheit einer Funktionalität bzw. die native Guanidin-Funktion bevorzugt gegenüber der nicht natürlich-vorkommenden Amino-Funktion waren.

Durch den Vergleich der erhaltenen Aktivitätsdaten mit jenen der synthetischen Derivate 5'-Desoxy C4 **9**^[125] und dem Muraymycin-Analogon **114**^[176] konnten weitere Informationen über die zentrale Leucin-Einheit gewonnen werden. Das 5'-Desoxy-Derivat **9** mit Hydroxygruppe am Leucin und die Acetyl-Verbindung **55** zeigten vergleichbare Aktivitäten ($\text{IC}_{50} = 95 \pm 19 \text{ nM}$ bzw. $\text{IC}_{50} = 82 \pm 12 \text{ nM}$) und damit im Vergleich zum unfunktionalisierten Derivat **114** ($\text{IC}_{50} = 670 \pm 120 \text{ nM}$) eine 7- bis 8-fach gesteigerte Aktivität. Bei Anwesenheit einer Fettsäure-Seitenkette (**52-54**) konnte die inhibitorische Aktivität zusätzlich um das 10- bis 20-fache gesteigert werden. Diese Resultate unterstützen die von *Ducho* und Mitarbeitern gemachte Beobachtung, dass sich eine Funktionalisierung an der 3-Position der Leucin-Einheit (β -Position) positiv auf die Bindung am Enzym auswirkt.^[124] Insgesamt waren die inhibitorischen

Aktivitäten der natürlichen Muraymycine deutlich besser (pM zu nM), wobei die lipophilen Verbindungen (A- und B-Serie) und die Hydroxy-funktionalisierten Verbindungen (C-Serie) vergleichbare inhibitorische Aktivitäten zeigten (vergl. Tab. 2.2). Daraus wurde gefolgert, dass die Seitenkette selbst keinen Beitrag zur Targetbindung leisten sollte. Die deutlich gesteigerte inhibitorische Aktivität der lipophilen Derivate **52-54** im Vergleich zum 5'-Desoxy-Derivat **9** und Acetyl-Derivat **55** widersprachen dem. Eine Wechselwirkung zwischen der Fettsäure-Seitenkette und der Bindungstasche des Enzyms MraY konnte bisher nicht eindeutig nachgewiesen werden. Die neuen Ergebnisse könnten aber auf eine Einlagerung der Fettsäure-Seitenkette in einen hydrophoben Tunnel im Inneren der Enzymstruktur hinweisen. Die insgesamt höheren inhibitorischen Aktivitäten der natürlichen Muraymycine wurden auf die dort anwesende Aminoribose-Einheit, deren positiver Effekt auf die Enzymbindung in früheren Arbeiten bereits dargelegt worden war, zurückgeführt. Der hier beobachtete begünstigende Einfluss der Fettsäure-Seitenkette auf die Targetbindung könnte somit erst durch die Abwesenheit der Aminoribose-Struktur in den hier untersuchten Verbindungen sichtbar werden, da er ansonsten durch den Einfluss der Aminoribose überkompensiert wird.

In der Messung gegen den *E. coli*- $\Delta tolC$ -Stamm mit vermindertem Efflux wurden für die Derivate **52-54**, und ebenfalls für die Acetyl-Verbindung **55**, exzellente MIC-Werte von $< 1 \mu\text{g/mL}$ ermittelt. Die erhaltenen antibiotischen Aktivitäten der vereinfachten Derivate waren nahezu identisch mit denen der natürlichen Muraymycine, die unabhängig vom gebundenen Rest an der Leucin-Einheit MIC-Werte im Bereich von $\text{MIC} = 1-4 \mu\text{g/mL}$ gegen *E. coli* $\Delta tolC$ zeigten. Im Vergleich zum nicht-acylierten Derivat **114** ($\text{MIC} = 48 \mu\text{g/mL}$) und der 5'-Desoxy-Verbindung **9** ($\text{MIC} = 50 \mu\text{g/mL}$) wurden für die acylierten Verbindungen **52-55** somit deutlich gesteigerte antibiotische Aktivitäten (~ 50 -fach) ermittelt. Diese Ergebnisse könnten ebenfalls auf eine erhöhte Zellaufnahme durch die Anwesenheit einer Fettsäure-Seitenkette zurückgeführt werden. Auffällig war allerdings die hohe Aktivität der Acetyl-Verbindung **55**, die zwar die Esterbindung aufwies, aber keinen lipophilen Rest besaß. Hier könnten die insgesamt sehr ähnlichen antibiotischen Aktivitäten durch das Erreichen eines Schwellenwertes für die MraY-Inhibition, der für das Abtöten der Bakterien benötigt wird, resultieren. Für die Messung gegenüber *E. coli* $\Delta tolC$ sollte allgemein bedacht werden, dass auch die Verminderung des Efflux für eine insgesamt höhere intrazelluläre Wirkstoffkonzentration sorgen könnte.

Der Vergleich der Aktivitätsdaten gegen *S. aureus* lieferte weitere interessante Erkenntnisse. Die Amino-funktionalisierte Verbindung **53** erzielte einen MIC-Wert von $40 \mu\text{g/mL}$ und zeigte damit vergleichbare Werte wie die natürlichen Muraymycine B2, B6 und C1

(MIC = > 32 µg/mL). Die Guanidin-funktionalisierte Verbindung **52** konnte sogar einen MIC-Wert von 11.4 µg/mL erzielen und war damit geringfügig aktiver als das Muraymycin A1 (MIC = 18 µg/mL). Dies ist vor dem Hintergrund der deutlich komplexeren Struktur von A1 und der nachgewiesenen und damit verbundenen besseren Targetinteraktion erstaunlich. Ursächlich für diese gute antibakterielle Aktivität ist nicht die basische Funktionalität. Fehlt diese nämlich, wie bei Verbindung **54**, so konnte eine exzellente Aktivität (MIC = 0.32 µg/mL) erreicht werden. Die zuletztgenannte Verbindung ist damit aktiver als alle natürlich vorkommenden Muraymycine.

Die hier gewählte Kettenlänge von 13 Kohlenstoffatomen in Kombination mit dem Auslassen der Aminoribose hatte einen positiven Einfluss auf die antibiotische Aktivität. Im Vergleich konnten von den B-Serien-Muraymycine B2 und B6 mit Kettenlängen von 9 bzw. 7 Kohlenstoffatomen deutlich geringere antibiotische Aktivitäten erzielt werden. Auch für die Muraymycine B8 und B9 mit 15 bzw. ebenfalls 13 Kohlenstoffatomen wurden im direkten Vergleich mit der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindung **54** geringere Aktivitäten ermittelt. Allerdings suggerierte vor allem die gesteigerte Aktivität des Muraymycins B8 mit einer Kettenlänge von 15-C-Atomen, dass sich eine weitere Verlängerung der Kette positiv auf die antibiotische Aktivität auswirken könnte. Aus diesem Grund ist es von großem Interesse, weitere *O*-acylierte Analoga mit variierenden Kettenlängen darzustellen. Diese könnten dann für die Ermittlung einer für die antibiotische Aktivität optimalen Kettenlänge verwendet werden. Der Effekt der Auslassung einer terminalen Verzweigung in den unfunktionalisierten Fettsäure-Seitenketten konnte mit den vorliegenden Verbindungen nicht geklärt werden.

Die hier gemachten Beobachtungen und der Vergleich mit den natürlichen aminoribosylierten Muraymycinen ließen den Schluss zu, dass zum einen die Anwesenheit einer Fettsäure-Seitenkette für eine deutlich höhere antibiotische Aktivität, vermutlich durch die erhöhte Lipophilie und die damit erleichterte Zellaufnahme, verantwortlich war. Ferner konnten trotz geringerer inhibitorischer Aktivitäten gegenüber MraY, aufgrund der nicht vorhandenen Aminoribose-Einheit, teilweise bessere antibiotische Aktivitäten erzielt werden. Ursächlich könnte durch die Abwesenheit der polaren Aminoribose-Struktur zusätzlich gesteigerte Lipophilie und die damit verbundene verbesserte Membranpermeation sein.

Zusammenfassend konnten in dieser Arbeit somit Verbindungen mit außergewöhnlichen Aktivitäten gegen *S. aureus* (Newman) und auch gegen den resistenten *S. aureus* MRSA dargestellt werden. Dabei wurde deutlich, dass die Fettsäure-Seitenkette sowohl einen positiven Einfluss auf die inhibitorische als auch auf die antibiotische Aktivität ausübt. Vor allem die exzellenten Aktivitäten des vereinfachten Tridecanoyl-Derivates **54** zeigten, dass ein Entfernen

der Aminoribose und der terminalen Funktionalität in der Fettsäure-Seitenkette sogar zu einer Steigerung der antibiotischen Aktivität führen kann. Das Tridecansäure-Derivat **54** stellt als bisher aktivstes Muraymycin-Analogon eine außerordentlich vielversprechende Leitstruktur für zukünftige Optimierungen und die medizinalchemische Entwicklung dar.

4.4 Untersuchung von fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen auf ihre Membraninteraktion/-permeation

4.4.1 Darstellung von fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen

Um weitere fluoreszenzmarkierte Modellverbindungen für die in Kapitel 2.6 und Kapitel 3.2 beschriebenen Assays zur Untersuchung der Membraninteraktion bereit zu stellen, wurden die in der Masterarbeit synthetisierten Fettsäure-Seitenketten **41-46** (**37**^[142,147] und **39**) mittels Click-Reaktion (1,3-dipolare Alkin-Azid-Cycloaddition) an den AlexaFluor488[®]-Marker gekuppelt. Die Reaktionen wurden im mikromolaren Maßstab durchgeführt, wobei die von Dr. Oliver Ries optimierten Reaktionsbedingungen verwendet wurden.^[142] Dazu wurde ein Gemisch aus dem Azid-funktionalisierten Alexa-Fluor488[®]-Marker (in DMF), der jeweiligen Propargyl-veresterten Fettsäure-Seitenkette (in MeOH) (**37**, **39**, **41-46**), Natrium-L-ascorbat (in H₂O), Kupfer-(II)-sulfat (in H₂O) und Triton X-100 (in H₂O) in ein Eppendorfgefäß pipettiert und mit dem Thermomixer bei 50 °C über Nacht geschüttelt (Abb. 4.40).

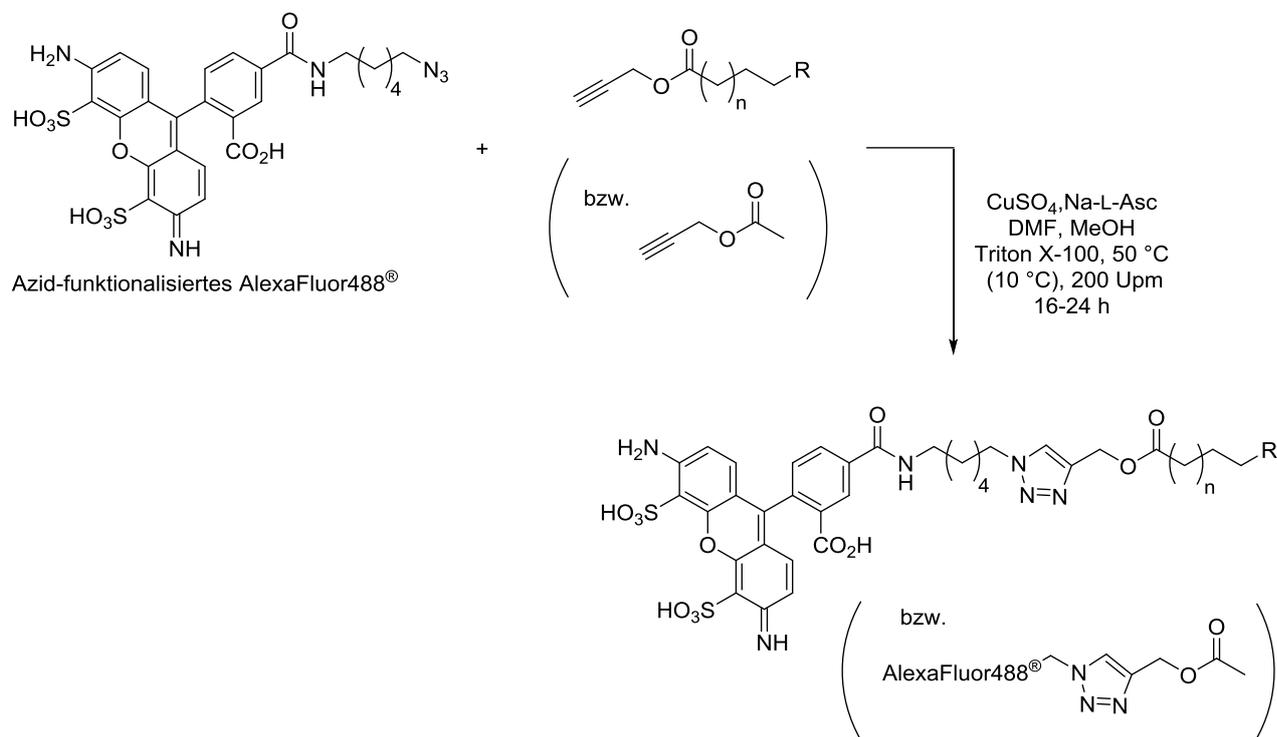
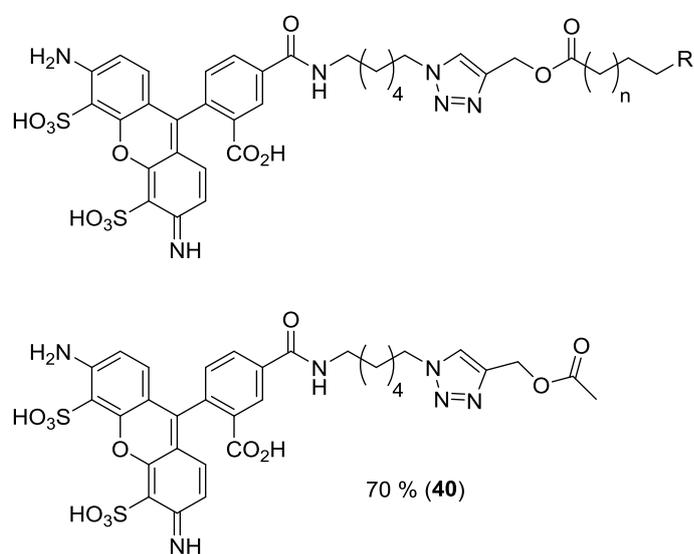


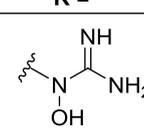
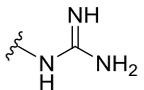
Abb. 4.40 Synthese der fluoreszenzmarkierten Modellverbindungen.

Das resultierende rötliche Gemisch wurde zentrifugiert, um ausgefallene Kupfersalze aus der Lösung zu entfernen. Die überstehende Lösung wurde aufgenommen und mittels präparativer HPLC an einer RP₁₈-Phase aufgereinigt. Für das Tridecanoyl-Derivat **58** wurde eine Phenyl-

Hexyl-Phase verwendet, wodurch die Abtrennung einer unbekanntenen Verunreinigung erreicht werden konnte. Die Ausbeuten der Verbindungen wurden über das Lambert-Beersche Gesetz berechnet. Die Bestimmung der UV-Absorption erfolgte bei einer Wellenlänge $\lambda_{\max} = 495 \text{ nm}$. Zur Berechnung der Konzentration wurde der Extinktionskoeffizient eines Alexa-Fluor488®-1,5-diaminopentyl-Derivates verwendet, welcher von Dr. Oliver Ries während seiner Dissertationsarbeit experimentell bestimmt worden war. Dabei wurde angenommen, dass die dargestellten Derivate einen ähnlichen Extinktionskoeffizienten aufweisen sollten. Die dargestellten Modellverbindungen **38**, **40** und **56-61** sind in der folgenden Tabelle 4.6 mit den ermittelten Ausbeuten abgebildet.

Tab. 4.6: Ausbeuten der synthetisierten Modellverbindungen (X: Synthese nicht erfolgreich).



R =	Ausbeute [%] (Verbindung)	
	mit n = 10	mit n = 3
	8 (38)	X
	10 (56)	24 (59)
	22 (57)	28 (60)
	34 (58)	54 (61)

4.4.2 Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Membraninteraktion/-permeation an artifiziellen Membranvesikeln

Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden in der Arbeitsgruppe *Steinem* an der Georg-August-Universität Göttingen von Johannes Schumacher durchgeführt. Grundlage der Experimente war der in Kapitel 2.6 beschriebene Vesikel-Assay. Für die Fixierung der verwendeten unilamellaren Riesenvesikel (GUV, giant unilamellar vesicles) sollte eine Avidin-Biotin-Reaktion an einer Avidin-funktionalisierten Siliciumoberfläche genutzt werden. Da die Vesikel in den ersten Experimenten zu Undichtigkeiten neigten, erfolgte die Fixierung über

eine zusätzliche PEG-Funktionalisierung der Siliciumoberfläche (10 % Biotin-funktionalisiertes PEG, Neutravidin, 0.1 % Biotin-funktionalisierte Lipide, Abb. 4.41 A).

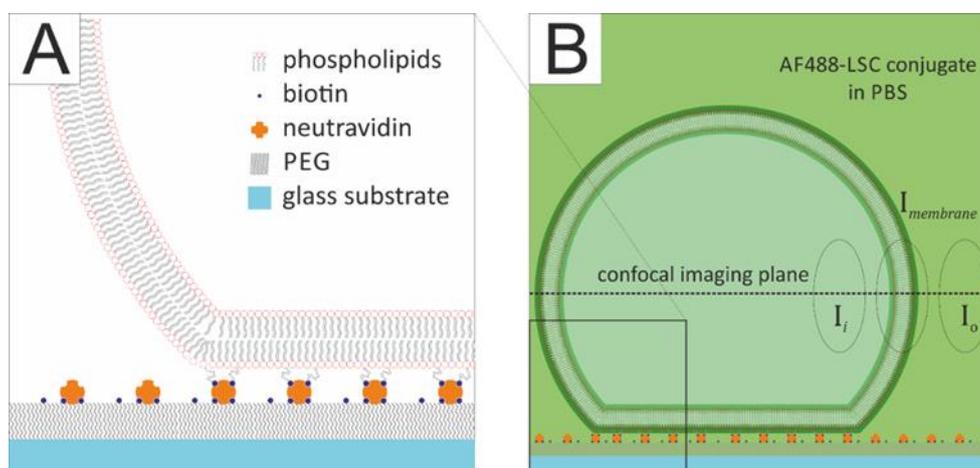


Abb. 4.41 Schematische Abbildung zur Fixierung der GUV an einer PEG-funktionalisierten Siliciumoberfläche mittels Neutravidin-Biotin-Reaktion (A). Schematische Abbildung der Verteilungsexperimente: Inkubation für 10 min mit Modellverbindung (0.8 μM) und Bildaufzeichnung mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie (B) (freundlicherweise zur Verfügung gestellt von: Johannes Schumacher, Georg-August-Universität Göttingen).

Bei der Aufnahme der Bilder mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie wurde fokussiert die Anreicherung der jeweiligen Modellverbindung in der Vesikel-Membran betrachtet. Die konfokalen Bilder wurden nach Inkubation (10 min) der jeweiligen Modellverbindung (in PBS-Puffer, 0.8 μM) in äquatorialer xy-Ebene der Vesikel aufgezeichnet (Abb. 4.41 B). Anschließend wurde die Fluoreszenzintensität in der Membran mit der Fluoreszenzintensität des umgebenden wässrigen Mediums ins Verhältnis gesetzt. Nach Korrektur der Membranintensität ergab sich für den apparenten Verteilungskoeffizienten P_{app} die folgende Gleichung 1:

$$P_{app} = \frac{I_{membran} - I_{Hintergrund}}{I_{Hintergrund}} \quad (1)$$

Die erste Messreihe wurde an Vesikeln aus 1-Palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholin (POPC) durchgeführt. Nach Bestimmung der Verteilungskoeffizienten konnte für das Hydroxyguanidin-funktionalisierte Derivat **38** die höchste Anreicherung in der Membran ($P_{app} = 4.5$, $n = 54$, n : Anzahl der Messwerte) nachgewiesen werden. Die Einlagerung der leicht vereinfachten Guanidin-funktionalisierten Verbindung **56** war signifikant geringer ($P_{app} = 1.9$,

n = 118) und die Amino-funktionalisierte Verbindung **57** zeigte die geringste Einlagerung ($P_{app} = 1.0$, n = 98) (Abb. 4.42).

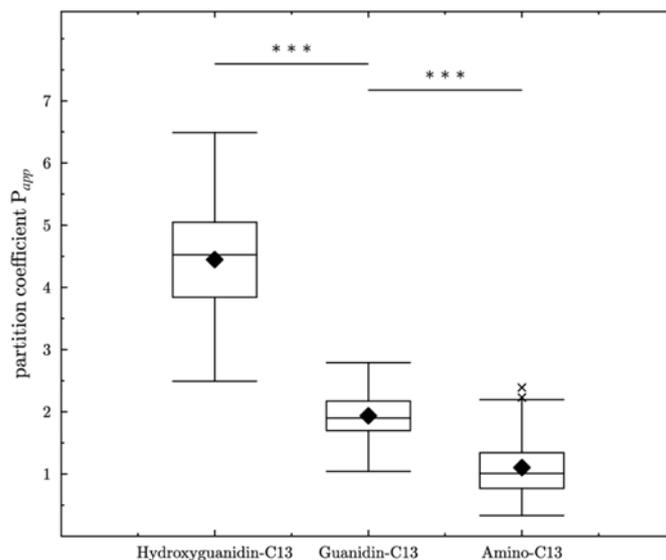


Abb. 4.42 Box-Plot der apparenten Verteilungskoeffizienten der unterschiedlich funktionalisierten Modellseitenketten an Vesikeln aus POPC (zur Verfügung gestellt von: Johannes Schumacher, Georg-August-Universität Göttingen).

In entsprechenden Experimenten mit dem Tridecanoyl-Derivat **58** waren die Fluoreszenzintensitäten deutlich abgeschwächt. Dieses Quenchen wurde auf eine Mizellbildung der gelösten Substanz zurückgeführt. Ein direkter Vergleich der Membranintensitäten der funktionalisierten Verbindungen **38**, **56** und **57** mit den Werten für das Tridecanoyl-Derivat **58** war durch unterschiedliche Laserintensitäten und Detektorverstärkungen nicht möglich. Trotzdem wurde ein genereller Trend beobachtet, in welchem das Tridecanoyl-Derivat **58** im Vergleich zu den funktionalisierten Verbindungen deutlich höhere Membranintensitäten zeigte. Im Folgenden wurde der Einfluss der Mizellbildung auf den Verteilungskoeffizienten genauer betrachtet.

Bei idealer Lösung des Derivates ergibt sich der Verteilungskoeffizient unter Annahme einer direkten Proportionalität zwischen der Konzentrationen und der Fluoreszenzintensität aus:

$$P_{app} = \frac{I_{Membran}}{I_{Hintergrund}} \sim \frac{c_{Membran}}{c_{Lösung}} \quad (2)$$

Unter der Annahme, dass die Mizellen selbst keinen Einfluss auf die Membraneinlagerung haben, ist die Membranintensität $I_{Membran}$ ausschließlich von der Konzentration der frei gelösten Moleküle $c_{Molekül}$ abhängig. Diese Konzentration ist durch die kritische Mizellbildungskonzentration (critical micelle concentration, CMC) limitiert. Die Intensität des Hintergrundes

besteht aus der Summe der Intensität der freien Moleküle I_{CMC} und der gequenchten Restintensität der Mizellen $I_{Mizellen} (\geq 0)$.

$$I_{Hintergrund} = I_{CMC} + I_{Mizellen} \quad (3)$$

$$\rightarrow I_{Hintergrund} \geq I_{CMC} \sim c_{Molekül}$$

Demnach führt die Mizellbildung zu einer Verminderung des eigentlichen Verteilungskoeffizienten, gemäß:

$$P_{app} = \frac{I_{Membran}}{I_{Hintergrund}} \leq \frac{I_{Membran}}{I_{CMC}} \quad (4)$$

Weitere Experimente mit unterschiedlichen Konzentrationen (2 μM , 4 μM , 8 μM) konnten erste Hinweise auf die Restintensität der Mizellen $I_{Mizellen}$ und die CMC liefern. Die Membranintensitäten waren teilweise gesättigt. Die Hintergrundintensitäten nahmen allerdings mit steigender Konzentration zu, was auf die Mizellbildung hindeuten könnte. Die CMC wurde im Bereich $< 0.8 \mu\text{M}$ vermutet.

Dass der gemessene Verteilungskoeffizient bei Mizellbildung eher eine untere Grenze der insgesamt möglichen Membraninteraktion anzeigt, kann auch unter Betrachtung der vorliegenden Verteilungsgleichgewichte erklärt werden. Im Fall einer ideal gelösten Substanz stellt sich ein Gleichgewicht zwischen der Substanz in Lösung und der Substanz in der Membran ein. Der Verteilungskoeffizient ist damit nur von einem einzigen Gleichgewicht abhängig. Dieses Gleichgewicht wird durch die Mizellbildung gestört. Dem Verteilungsgleichgewicht zwischen Lösung und Membran wird frei gelöste Substanz entzogen. Dadurch wird auch die Menge an membrangebundener Substanz verringert (Abb. 4.43). Trotz weiterer Schwankungen in den Experimenten konnte für das Tridecanoyl-Derivat **58** letztlich der höchste Verteilungskoeffizient ($P_{app} = 152$, $n = 56$) ermittelt werden.

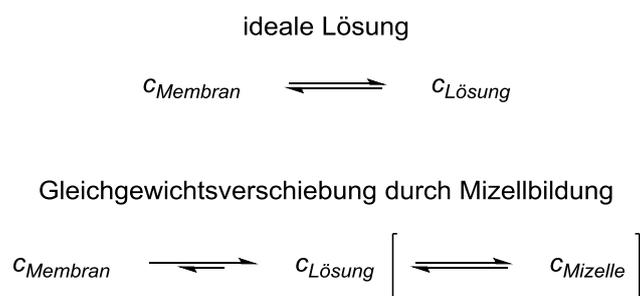


Abb. 4.43 Verteilungsgleichgewichte in idealer Lösung und bei Mizellbildung.

In den Messungen der kurzkettingen Derivate **59-61** konnte keine signifikante Einlagerung in die Membran beobachtet werden. Für das entsprechende Guanidin-Derivat **59** und das Amino-Derivat **60** wurden Verteilungskoeffizienten von $P_{app} < 0.1$ ermittelt. Eine sehr geringe Einlagerung wurde nur für das unfunktionalisierte Hexanoyl-Derivat **61** beobachtet. Der ermittelte Verteilungskoeffizient lag in diesem Fall bei $P_{app} \approx 0.1$. Damit konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass eine Membraninteraktion erst bei Vorhandensein einer hinreichend langen lipophilen Fettsäure-Seitenkette stattfinden kann. Durch eine Kopfgruppenfunktionalität wurde die Membraninteraktion allerdings geschwächt, was aus ionischen Wechselwirkungen mit den ebenfalls geladenen Kopfgruppen der Phospholipide resultieren könnte. Welche genaue Funktion von einer Kopfgruppenfunktionalität ausgeht, konnte nicht aufgeklärt werden.

In einer weiteren Messreihe wurden die langkettigen Derivate an Vesikeln mit unterschiedlichen Zusammensetzungen vermessen. Als zweites Phospholipid wurde dem POPC 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamin (POPE) in Anteilen von 30 % und von 60 % (zu POPC) zugesetzt. Für die funktionalisierten Derivate konnte eine verringerte Einlagerung in die Membran mit steigendem POPE-Anteil beobachtet werden. Die Reihenfolge Hydroxyguanidin > Guanidin > Amin in Bezug auf die ermittelten Verteilungskoeffizienten blieb erhalten (Abb. 4.44).

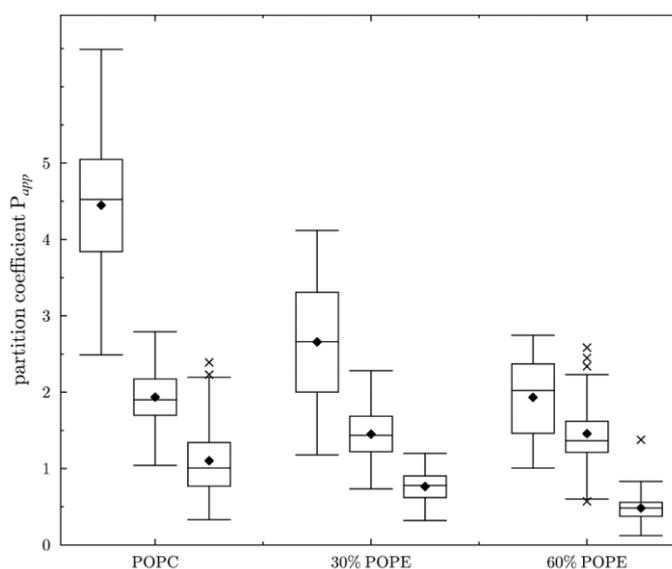


Abb. 4.44 Box-Plot der ermittelten Verteilungskoeffizienten von Hydroxyguanidin-Derivat **38** (links), Guanidin-Derivat **56** (Mitte) und Amino-Derivat **57** (rechts) an den Vesikeln aus POPC und POPC/POPE (70:30, 40:60) (zur Verfügung gestellt von: Johannes Schumacher, Georg-August-Universität Göttingen).

Die geringeren Verteilungskoeffizienten bei einem höheren POPE-Anteil könnten durch die Bildung einer dichteren Packung der Lipiddoppelschicht resultieren. Die Einlagerung in die

Membran könnte dabei durch zwei Faktoren gestört werden. Zum einen könnte aus der dichteren Packung ein Platzmangel resultieren, womit die Einlagerung sterisch deutlich erschwert sein sollte. Zum anderen sollte eine erhöhte Anzahl von geladenen Kopfgruppen an der Oberfläche der Lipiddoppelschicht vorliegen, die zwar eine Anlagerung durch ionische Wechselwirkungen erleichtern, eine Einlagerung in die Membran jedoch erschweren könnte. Für das Tridecanoyl-Derivat **58** erfolgte die Bestimmung der Verteilungskoeffizienten nur an den Vesikeln aus POPC/POPE 70:30 (Abb. 4.45). Dabei konnte eine leicht gesteigerte Membraninteraktion bei erhöhtem POPE-Anteil nachgewiesen werden. Eine Wechselwirkung mit den geladenen Kopfgruppen konnte in diesem Fall ausgeschlossen werden. Die angenommene dichtere Packung sollte eine Einlagerung ebenfalls eher behindern. Ein genauer Grund für die leicht gesteigerte Einlagerung des Tridecanoyl-Derivates **58** konnte somit nicht ausgemacht werden.

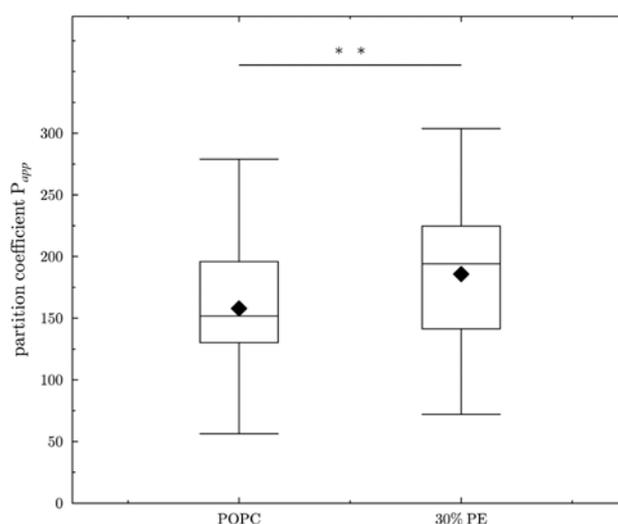


Abb. 4.45 Box-Plot der ermittelten Verteilungskoeffizienten für das Tridecanoyl-Derivat **58** an Vesikeln aus POPC und POPC/POPE (70:30) (zur Verfügung gestellt von: Johannes Schumacher, Georg-August-Universität Göttingen).

Zusammenfassend konnte durch die beschriebenen Experimente deutlich nachweisen werden, dass die Fettsäure-Seitenketten eine Einlagerung in die Membran eingehen. Die Hexanoyl-Derivate zeigten im Vergleich zu den Tridecanoyl-Derivaten keine detektierbare Membraninteraktion. Für die Einlagerung in die Membran wurde somit eine ausreichend lange Kette, die für eine ausreichend hohe Lipophilie der gesamten Verbindung sorgte, benötigt. Im Vergleich der verschiedenen Tridecanoyl-Derivate konnte zudem ein deutlicher Einfluss der Kopfgruppenfunktionalität nachgewiesen werden (Abb. 4.46). Im Vergleich zum unfunktionalisierten Tridecanoyl-Derivat **58** war die Einlagerung jedoch deutlich verringert.

oder sogar Permeation) und antibiotischer Aktivität konnte eindeutig auf die Fettsäure-Seitenkette zurückgeführt werden und lieferte damit einen weiteren Beleg zur Funktion der Fettsäure-Seitenketten in den Muraymycinen.

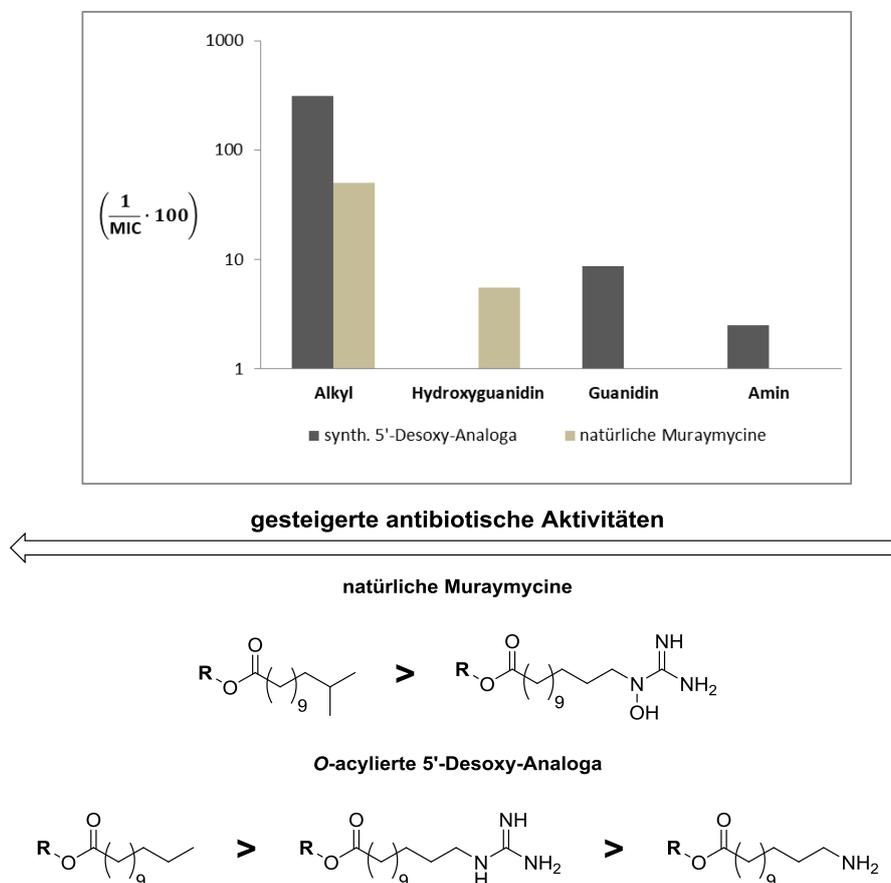


Abb. 4.47 Logarithmierte Darstellung der Kehrwerte der antibiotischen Aktivitäten in Abhängigkeit von an- oder abwesender Kopfgruppenfunktionalität.

4.4.3 Untersuchung der Membraninteraktion/-permeation an artifiziellen Membranmodellen

Der Assay an artifiziellen Membranen wurde in der Arbeitsgruppe *Lehr* des Helmholtz-Instituts für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) von Florian Gräf durchgeführt. Nach Generierung des artifiziellen Membran-Mimetikums aus POPE, POPG und CL (70:20:10) erfolgte die Inkubation mit der jeweiligen Modellverbindung über einen Zeitraum von 3.5 h. Eine Probennahme aus dem basolateralen Kompartiment erfolgte in zeitlichen Abständen von 30 min (bis 2.5 h) bzw. 1 h (bis 3.5 h). Die erste Messreihe erfolgte zunächst mit der fluoreszenzmarkierten Modellverbindung **38** sowie der nicht-lipidierten Modellverbindung **40**.

Dies sollte einen direkten Vergleich zu den erhaltenen Daten des bereits in Kapitel 2.6 beschriebenen Vesikel-Assays erlauben.

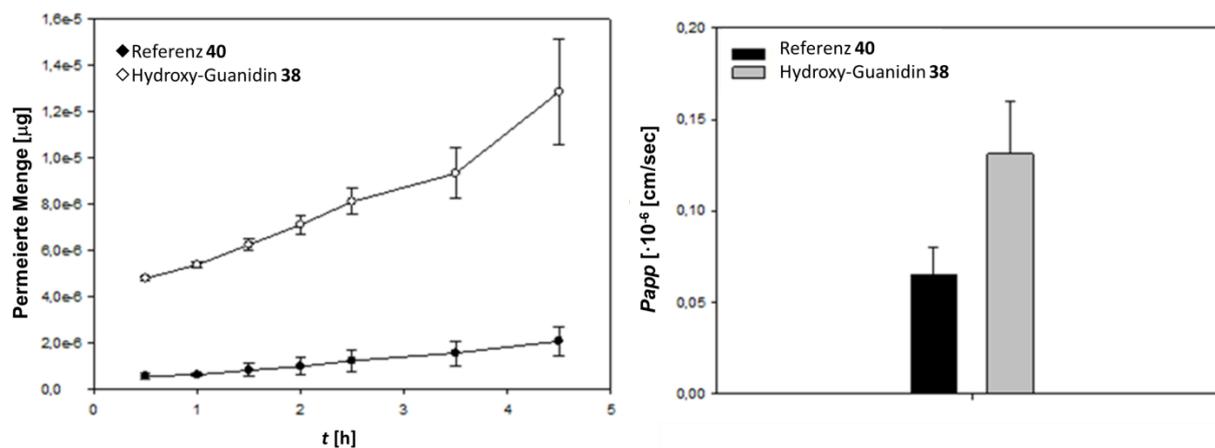


Abb. 4.48 Untersuchung der Membranpermeation von Hydroxyguanidin-Derivat **38** und Acetyl-Derivat **40**, Auftragung der permeierten Substanzmenge gegen die Zeit und apparente Permeationskoeffizienten im Vergleich (zur Verfügung gestellt von: Dr. Florian Gräf, HIPS, grafisch bearbeitet).

Die erhaltenen Daten werden in Abbildung 4.48 zusammengefasst dargestellt. Bereits bei der Auftragung der permeierten Menge der jeweiligen Verbindung gegen die Zeit konnte eine deutlich geringere Permeation der Referenzverbindung **40** ohne lipophilen Rest im Vergleich zur langkettigen Hydroxyguanidin-funktionalisierten Verbindung **38** beobachtet werden (Abb. 4.48, links). Dieser Sachverhalt wurde durch die Auftragung des jeweils bestimmten P_{app} -Wertes (hier apparenter Permeationskoeffizient, [cm/sec]) bestätigt und verdeutlicht (Abb. 4.48, rechts). Zudem waren die erhaltenen Befunde deckungsgleich mit den Ergebnissen des Vesikel-Assays. Es konnte deutlich gezeigt werden, dass die Anwesenheit einer längeren Fettsäure-Seitenkette die Permeation der Membran erleichtert. Weiterhin stellte sich die Frage, welchen Einfluss die Kopfgruppe auf die Membranpermeation ausübt und ob eine entsprechende Funktionalität überhaupt für eine Permeation der Membran benötigt wird. Aus diesem Grund erfolgte anschließend die Untersuchung der Guanidin-funktionalisierten Modellverbindung **56**, der Amin-funktionalisierten Modellverbindung **57**, sowie der unfunktionalisierten Verbindung **58** im Assay. Die erhaltenen Daten sind in Abbildung 4.49 zusammengefasst dargestellt.

Insgesamt konnte eine deutlich gesteigerte Permeation der lipidierten Verbindungen im Vergleich zur Acetyl-Verbindung **40** beobachtet werden. Dabei wurde für die Aminofunktionalisierte Verbindung **57** die höchste Permeation ermittelt, gefolgt von der Guanidin-funktionalisierten Verbindung **56**. Die Hydroxyguanidin-Verbindung **38** und die

unfunktionalisierte Verbindung **58** zeigten ein ähnliches, aber deutlich verringertes Permeationsverhalten. Auffällig beim Vergleich der lipophilen Substanzen mit der Referenzsubstanz **40** ist die bereits deutlich erhöhte permeierte Menge nach einer Inkubationszeit von 30 min. Der im letzten Kapitel beschriebene Vesikel-Assays konnte deutlich zeigen, dass die lipophilen Verbindungen für eine Akkumulation in die Membran verantwortlich sind. Diese schnelle Akkumulation könnte hier für die anfängliche Permeation verantwortlich gemacht werden. Daraus folgend würde der kinetische Permeationsprozess erst nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichts ablaufen.

Die Resultate wurden anschließend mit den Aktivitätsdaten von natürlichen Muraymycinen und synthetischen Muraymycin-Analoga verglichen. Insgesamt konnten die acylierten Muraymycine und Analoga deutlich bessere antibiotische Aktivitäten als ihre verwandten nicht-lipophilen Derivate erzielen. Somit wurde angenommen, dass die Anwesenheit einer Fettsäure-Seitenkette für eine erhöhte Lipophilie sorgt, was die Permeation über die Membran erleichtern sollte. Diese Annahme konnte durch die erhöhte Permeation der lipidierten Modellverbindungen im Prinzip bestätigt werden.

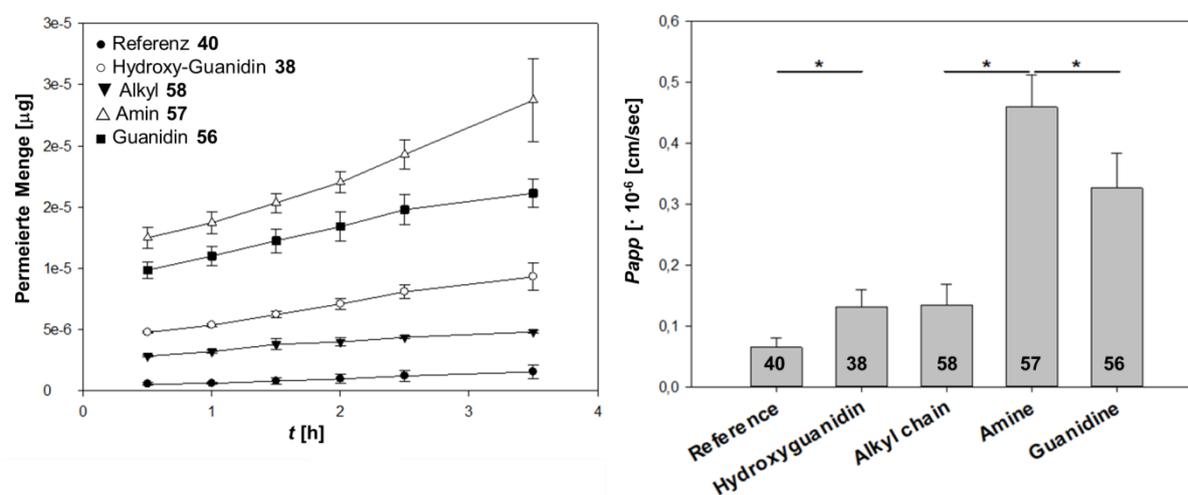


Abb. 4.49 Untersuchung der Membranpermeation der langkettigen Derivate **38**, **56-58** und des Acetyl-Derivats **40**, Auftragung der permeierten Substanzmenge gegen die Zeit und apparente Permeationskoeffizienten im Vergleich (zur Verfügung gestellt von: Dr. Florian Gräf, HIPS, grafisch bearbeitet).

Bei Betrachtung der Kopfgruppenfunktionalitäten wurden allerdings deutliche Unterschiede beobachtet (Abb. 4.50). Bei den natürlichen Muraymycinen konnte eine Abnahme der antibiotischen Aktivität in der Reihe von Alkyl über Hydroxyguanidin zu Guanidin beobachtet werden (Abb. 4.50). Unabhängig von den Absolutwerten der Aktivitätsdaten konnte eine identische Reihenfolge bei den *O*-acylierten 5'-Desoxy-Analoga vorgefunden werden: Alkyl

vor Guanidin, gefolgt vom den nicht natürlich vorkommenden Derivaten mit Amino-funktionalisierter Seitenkette und einem Acetyl-Rest. Eine Korrelation zum Permeationsverhalten der Modellverbindungen war aufgrund einer komplett unterschiedlichen Reihung nicht möglich (Abb. 4.50). Dass die Kopfgruppe einen Einfluss auf die Membranpermeation ausübt, konnte durch die deutlichen Unterschiede zwar nachgewiesen werden. Trotzdem blieb weiterhin unklar, welche Funktion von einer Kopfgruppenfunktionalität vermittelt wird.

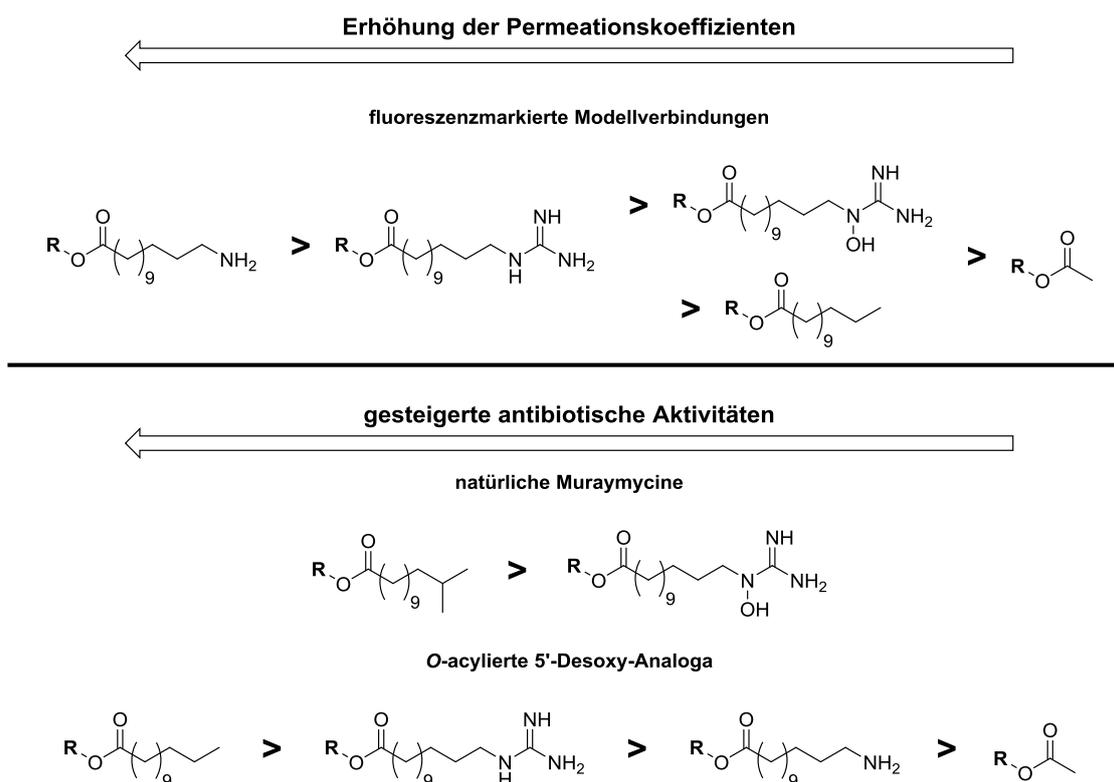


Abb. 4.50 Beobachteter Trend der Modellverbindungen in Abhängigkeit des Permeationskoeffizienten, beobachteter Trend der antibiotischen Aktivitäten in Abhängigkeit von vorhandener Fettsäure-Seitenkette in den Muraymycinen.

Auch im direkten Vergleich mit dem Vesikel-Assay wurde eine unterschiedliche Reihung der Verbindungen in Bezug auf ihr Permeations- bzw. Akkumulationsverhalten erhalten. Unterschiede zum im letzten Kapitel beschriebenen Vesikel-Assays ergaben sich zum einen in der Verwendung einer ungeordneten Membran, die zudem eine deutlich höhere Schichtdicke aufwies. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten somit auf die erhöhte Barriere der ungeordneten Membran zurückgeführt werden. Zum anderen wurde im vorliegenden Assay die Permeation einer Substanz in Form eines apparanten Permeationskoeffizienten (P_{app} [cm/sec]) ermittelt. Somit wurde im vorliegenden Assaysystem ein kinetischer Diffusionsprozess betrachtet. Im Gegensatz dazu erfolgte im Vesikel-Assay die Bestimmung eines apparanten

Verteilungskoeffizienten (P_{app} , einheitenlos), durch den die in die Membran akkumulierte Menge an Substanz beschrieben wird (Verteilungsgleichgewicht zwischen Medium und Membran). Eine Korrelation mit den Aktivitätsdaten der Muraymycine und ihrer Analoga war in diesem Fall möglich, weshalb eine Akkumulation in die Membran als besserer Prediktor für die antibiotische Aktivität angesehen werden könnte. Zusätzlich könnte durch die Einlagerung in die Membran ein günstiger Effekt für die Interaktion mit dem transmembranen Enzym MraY resultieren.

Weiterhin wurden einige Annahmen für die erhaltenen Ergebnisse aufgestellt. Im vorliegenden Assay wurde nicht untersucht, ob evtl. ein Anteil der eingesetzten Substanzmenge auf der Oberfläche bzw. in der artifiziellen Membran zurückblieb. Dafür könnten verschiedene starke Wechselwirkungen zwischen den unterschiedlichen Kopfgruppen der Modellverbindung und der artifiziellen Membran verantwortlich gemacht werden. Aufgrund von geringen Restmengen der einzelnen Verbindungen wurde auf eine zweite Messreihe verzichtet. Auch die Analyse der kurzkettigen Derivate wurde mit dem vorliegenden Assay-System nicht durchgeführt, da diese nach Erfahrungswerten keine Permeation im vorliegenden System zeigen sollten.

Zusammenfassend konnte durch das vorliegende Assay-System deutlich nachgewiesen werden, dass eine Permeation der Membran bei erhöhter Lipophilie möglich ist und damit auf die vorhandene Fettsäure-Seitenkette zurückgeführt werden kann. Auch der prinzipielle Einfluss einer Kopfgruppenfunktionalität konnte erfolgreich nachgewiesen werden. Eine direkte Korrelation zwischen den antibiotischen Aktivitäten der Muraymycine und ihrer Analoga mit den ermittelten Permeationskoeffizienten in Abhängigkeit einer bestimmten Kopfgruppenfunktionalität war jedoch nicht möglich.

4.5 Arbeiten zur Darstellung des (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Bausteins

Ein weiteres Teilprojekt dieser Arbeit war die Synthese des (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Bausteins **33**, um diesen als alternativen Baustein für den Aufbau des Muraymycin-Grundgerüsts bereitzustellen (Abb. 4.51).

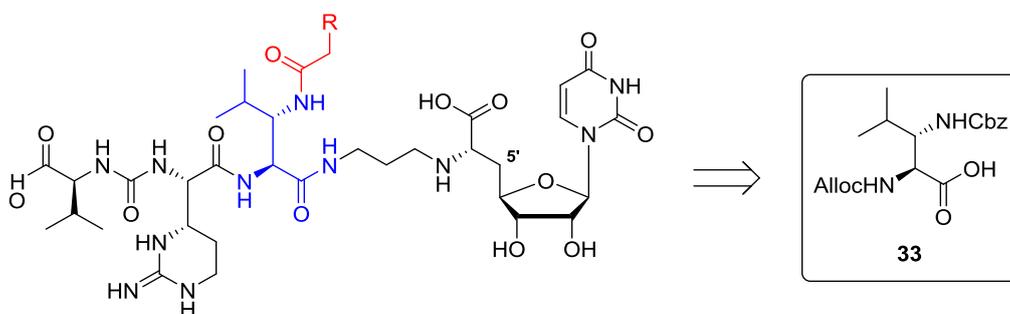


Abb. 4.51 Angestrebter (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Baustein **33** für den späteren Einbau in das Muraymycin-Gerüst.

Analog zur Hydroxygruppe der zentralen Leucin-Einheit sollte die Aminofunktion in der 3-Position des Leucins ebenfalls die Acylierung mit einer Fettsäure-Seitenkette ermöglichen, wobei im Vergleich zur Esterbindung eine stabilere Amidbindung resultieren sollte (Abb. 4.51). Nach erfolgreicher Synthese der Diaminosäure und ihrem Einbau in das Muraymycin-Grundgerüst sollen zukünftige SAR- und Stabilitätsstudien dazu genutzt werden, neue Informationen über die zentrale Leucin-Einheit zu sammeln. Neben der bereits erwarteten höheren Stabilität der angestrebten Amidbindung könnte auch der Wechsel des Substituenten von Hydroxy- zu Amino- in der 3-Position der Leucin-Einheit interessante Ergebnisse in Bezug auf die inhibitorischen und antibiotischen Aktivitäten liefern.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten die ersten 6 Stufen der geplanten Totalsynthese von **33** erfolgreich durchgeführt werden. Die ersten Stufen der geplanten Reaktionssequenz sollten aufgrund einer möglichen Epimerisierung des Aldehyds **59** sowohl mit L-Valin als auch mit D-Valin durchgeführt werden, um eine Referenz für eine benötigte Aufklärung des Enantiomerenverhältnisses von Ethylester **88** bereit zu stellen. An der Entwicklung der folgenden Synthesen waren Yvonne Kaiser und Tobias Jung während ihrer Arbeiten in der Arbeitsgruppe beteiligt.

Der Beginn der angestrebten Totalsynthese war eine Veresterung von Valin unter der Verwendung von Methanol und Acetylchlorid. Der Methanol wurde für die Reaktion auf 0 °C abgekühlt und innerhalb von 20 min vorsichtig mit Acetylchlorid versetzt. Anschließend wurde für weitere 30 min bei 0 °C gerührt und das jeweilige Valin-Enantiomer wurde portionsweise

hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde für 16 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlung erfolgte die Entfernung des Lösungsmittels am Vakuum, wobei die jeweiligen Methylvalinat-hydrochloride (*R*)-**115** und (*S*)-**115** in beiden Reaktionen in quantitativer Ausbeute erhalten wurden (Abb. 4.52).

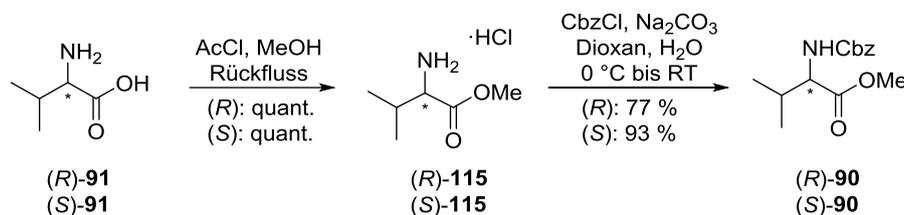


Abb. 4.52 Synthese der geschützten Valine (*S*)-**90** und (*R*)-**90**.

Im Anschluss erfolgte eine Cbz-Schützung, wozu das entsprechende Methyl-L-valinat-hydrochlorid (*S*)-**115** bzw. Methyl-D-valinat-hydrochlorid (*R*)-**115** mit Natriumcarbonat in einem Gemisch aus 1,4-Dioxan und Wasser (62.5:37.5) aufgeschlemmt wurde. Die resultierende Suspension wurde auf 0 °C gekühlt, bevor Chlorameisensäurebenzylester zugegeben wurde. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h gerührt, wobei die Erwärmung der Reaktion auf Raumtemperatur erfolgte. Anschließend wurde Wasser hinzugefügt und mit Ethylacetat extrahiert. Die Reinigung des Rohproduktes wurde säulenchromatographisch an Kieselgel durchgeführt, wobei die gewünschten Produkte in guter Ausbeute für das (*R*)-Enantiomer (*R*)-**90** (77 %) und in sehr guter Ausbeute für das (*S*)-Enantiomer (*S*)-**90** (93 %) erhalten werden konnten.

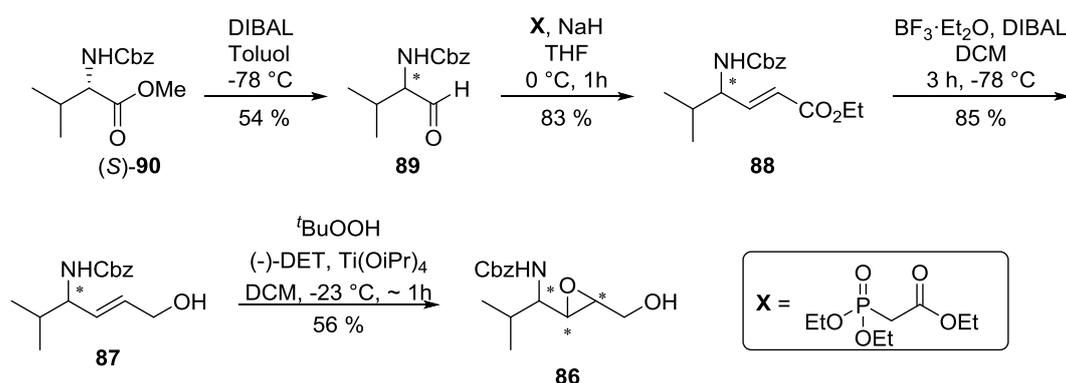


Abb. 4.53 Synthese des α,β -ungesättigten Ethylesters **88** durch Wittig-Horner-Reaktion und Folgereaktionen zum Epoxid **86** durch stereoselektive Sharpless-Epoxidierung.

Für die angestrebte Darstellung des α,β -ungesättigten Aminoalkohols **87** sollte eine literaturbekannte Synthese von Tsubaki und Mitarbeitern verwendet werden.^[173] Die Reaktionssequenz wurde während der Bachelorarbeit von Yvonne Kaiser zunächst auf ihre Durchführbarkeit

überprüft und deshalb ausschließlich mit dem (*S*)-Enantiomer (*S*)-**90** durchgeführt (Abb 4.53). Im ersten Schritt der Synthesesequenz sollte der (*S*)-Methylester (*S*)-**90** durch Reduktion in den Aldehyd **89** überführt werden. Dazu wurde der Methylester (*S*)-**90** in Toluol gelöst und bei -78 °C tropfenweise mit DIBAL-H versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 10 min erfolgte der Abbruch der Reaktion durch Zugabe von Aceton und Wasser. Das Reaktionsgemisch wurde nach Erwärmung auf Raumtemperatur über Celite filtriert und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt. Bei der anschließenden Reinigung mittels Säulenchromatographie an Kieselgel konnte der Aldehyd **89** in moderater Ausbeute von 54 % erhalten werden. Dieser sollte im nächsten Schritt in einer Wittig-Horner-Olefinierung mit Triethylphosphonoacetat den α,β -ungesättigten Ethylester **88** in *E*-Konfiguration liefern. Triethylphosphonoacetat wurde unter Eiskühlung zu einer Suspension aus Natriumhydrid (60 % in Mineralöl) in Tetrahydrofuran getropft und für 1 h gerührt, bevor eine Lösung des Aldehyds **89** in Tetrahydrofuran zugetropft wurde. Nach weiterer Reaktionszeit von 1 h wurde auf Raumtemperatur erwärmt und das Lösungsmittel entfernt. Durch wässrige Aufarbeitung der Reaktion und anschließende säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel konnte das Produkt in 83 % Ausbeute erhalten werden. Die NMR-Analytik führte unter Betrachtung der Kopplungskonstante der olefinischen Protonen zur Identifikation des gewünschten *E*-konfigurierten Produktes **88**. Entsprechend der Karplus-Beziehung sollte im Fall der *E*-Konfiguration mit einem Diederwinkel von 180 ° eine Kopplungskonstante von etwa 15 Hz erhalten werden, die im ¹H-NMR-Spektrum des Produktes vorgefunden wurde. Folgend sollte der Ethylester **88** durch erneute DIBAL-H-Reduktion in den Allylalkohol **87** überführt werden, wobei Bortrifluoridetherat für eine Aktivierung der Esterfunktionalität über Koordination der Carbonyl-Funktion eingesetzt wurde. Damit sollte eine Überreduktion der ungesättigten Verbindung vermieden werden. Der Ethylester **88** wurde in Dichlormethan gelöst, auf -78 °C abgekühlt und Bortrifluoridetherat wurde zugetropft. Nach Rühren über einen Zeitraum von 30 min wurde DIBAL-H tropfenweise zugefügt. Die Reaktionslösung wurde für weitere 1.5 h bei -78 °C gerührt und die Reaktion durch die Zugabe von Salzsäure (1 M) abgebrochen. Durch Extraktion mit Ethylacetat und anschließende säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel konnte der Allylalkohol **87** in sehr guter Ausbeute von 85 % erhalten werden (Abb 4.53).

In der geplanten Synthesesequenz sollte die Doppelbindung des Allylalkohols **87** stereoselektiv in das Epoxid **86** überführt werden. Im Fall einer vorherigen Epimerisierung des Aldehyds **89** sollte eine Katalysator-kontrollierte Epoxidierung zwei Diastereomere hervorbringen. Ein Vergleich der NMR-Spektren beider Verbindungen sollte dann zur Bestimmung der relativen

Konfiguration genutzt werden. Die Sharpless-Epoxidierung mit dem Allylkohol **87** sollte nach einem literaturbekannten Protokoll von *Ghosh* und *Wang* durchgeführt werden.^[170] Dazu wurde eine Suspension aus Molekularsieb (pulverisiert, 4 Å) und Dichlormethan hergestellt und auf -23 °C gekühlt. Anschließend wurden Titan-*iso*-propoxid und (-)-Diethyltartrat zugetropft. Nach 15 min Rühren bei -23 °C wurde der Allylkohol **87** als Lösung in Dichlormethan zugegeben und für weitere 15 min gerührt, bevor *tert*-Butylhydroperoxid (Lösung in *n*-Decan) hinzugefügt wurde. Nach weiterem Rühren für 30 min wurde das Reaktionsgemisch für 24 h bei -20 °C gelagert. Die Reaktion wurde nach Erwärmung auf Raumtemperatur durch Zugabe von Natriumchlorid- und Natriumhydroxid-Lösung (4 M) beendet. Nach Extraktion mit Ethylacetat wurde das Rohprodukt erhalten und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Dabei konnte eine saubere Hauptfraktion isoliert werden, wobei nach NMR- und LC/MS-Analyse die Grundstruktur des gewünschten Epoxids **86** nachgewiesen werden konnte (Abb. 4.53). Die Bildung eines Diastereomers konnte nicht beobachtet werden, weshalb auf eine Untersuchung der relativen Konfiguration verzichtet werden musste. Die Ausbeute der Reaktion lag bei 56 %. Da die Aufklärung der absoluten Konfiguration der Verbindung an diesem Punkt der Arbeit nicht möglich war, wurden die weiteren Schritte der angestrebten Totalsynthese des (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Bausteins **33** zunächst nicht durchgeführt. Im Folgenden sollten erst die Generierung des Aldehyds **89** und die im Anschluss durchgeführte Wittig-Horner-Reaktion für die Darstellung des Ethylesters **88** optimiert werden, wobei beide Enantiomere des Ausgangsmaterials genutzt wurden. Die Synthese des Aldehyds **89** wurde weiterhin durch Reduktion mit DIBAL-H durchgeführt, wobei der Umsatz der Reaktion mit Dünnschichtchromatographie überwacht wurde. Nach Zugabe von 1.2 Äq. bis 2 Äq. von DIBAL-H wurde ein vollständiger Umsatz beobachtet und es folgte die wässrige Aufarbeitung der Reaktion. Das erhaltene Rohprodukt wurde im Anschluss ohne weitere Reinigung in der beschriebenen Wittig-Horner-Reaktion eingesetzt. Dabei konnten nur moderate Ausbeuten zwischen ca. 45 % ((*R*)-**88**) und ca. 55 % ((*S*)-**88**) erzielt werden. Darüber hinaus war die Reinheit der Produkte nicht zufriedenstellend, was anhand der NMR-Spektren festgestellt wurde. Die Verunreinigungen konnten auf die Verwendung des in Mineraöl gelagerten Natriumhydrids zurückgeführt werden. Diese konnten auch nach wiederholter säulenchromatographischer Reinigung nicht abgetrennt werden. Aus diesem Grund sollte die Base zur Deprotonierung des Phosphonats in der Wittig-Horner-Reaktion ausgetauscht werden. Dabei sollte simultan überprüft werden, ob auch eine Erhöhung der Ausbeute realisierbar war. Weiterhin sollte eine vermutete Epimerisierung oder Zersetzung des Aldehyds **89** umgangen werden, indem die Reduktion zum Aldehyd und die Wittig-Horner-

Reaktion in einer Eintopfreaktion durchgeführt werden sollten. Nach Optimierung eines literaturbekannten Protokolls^[177] konnte der Aldehyd **89** unter Einfluss von 2 Äq. DIBAL-H nach einer Reaktionszeit von 2 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhalten werden. Anschließend wurden Triethylphosphonoacetat (1.1 Äq.) und Kalium-*tert*-butanolat (1.1 Äq.) zur Reaktionsmischung hinzugefügt. Die resultierende Suspension wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt, mit Weinsäure-Lösung versetzt und für 10 min gerührt. Der nach der wässrigen Aufarbeitung erhaltene Rückstand wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Die maximalen Ausbeuten der durchgeführten Reaktionsansätze lagen für das (*S*)-Enantiomer bei 68 % und für das (*R*)-Enantiomer bei 73 %. Für beide Enantiomere konnte das jeweilige (*E*)-konfigurierte Produkt nachgewiesen werden (Abb 4.54).

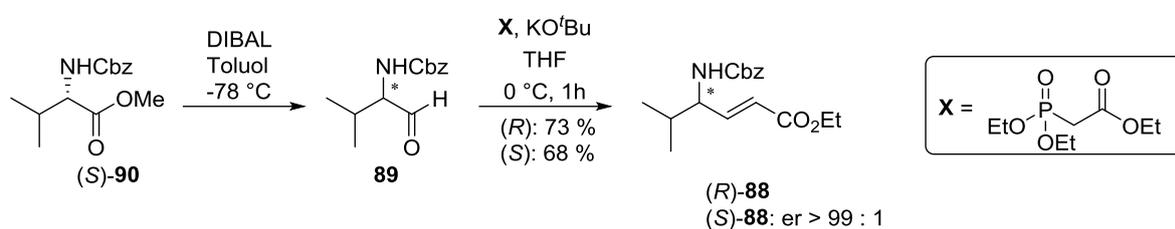


Abb. 4.54 Optimierte Bedingungen der DIBAL-H-Wittig-Horner-Eintopfreaktion zur Synthese des Ethylesters **88**.

Zudem konnte durch HPLC-Analyse an chiraler stationärer Phase (Eluent *n*-Hexan : *iso*-Propanol 98:2) ein sehr gutes Enantiomerenverhältnis von > 99 : 1 für das gewünschte (*S*)-Enantiomer ermittelt werden (Abb. 4.55).

Auch die Reduktion des terminalen Ethylesters **88** für die Generierung des α,β -ungesättigten Alkohols **87** wurde wiederholt. Bei Verwendung der anfangs eingesetzten 4 Äq. an DIBAL-H konnten nur mäßige Ausbeuten zwischen 24 % und 35 % erzielt werden. Unter Verfolgung der Reaktion mit Dünnschichtchromatographie konnte ein vollständiger Umsatz bereits nach Zugabe von 3 bis 3.3 Äq. DIBAL-H beobachtet werden. Nach wässriger Aufarbeitung des Reaktionsgemisches konnte ein gelbes Öl erhalten werden, welches mittels Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt wurde. Während der Verfolgung der Reinigung mittels Dünnschichtchromatographie konnte ein Nebenprodukt beobachtet werden, das ein sehr ähnliches Retentionsverhalten zum gewünschten Produkt zeigte und deshalb nicht vollständig entfernt werden konnte. Für die Bildung des Nebenproduktes wurde eine mögliche Überreduktion der Doppelbindung angenommen. Das überreduzierte Produkt konnte in der NMR-Analyse neben weiteren Verunreinigungen nachgewiesen werden. Eine Analyse mittels LC/MS führte zur Zersetzung der Produkte, sodass die Ausbeute von 65 % anhand des NMR-Spektrums abgeschätzt wurde (Abb. 4.56). Auf eine weitere Optimierung der Reaktion wurde

verzichtet. Das überreduzierte Nebenprodukt sollte keinen Einfluss auf die im Folgenden geplante Epoxidierungsreaktion ausüben und unverändert aus dieser Reaktion hervorgehen.

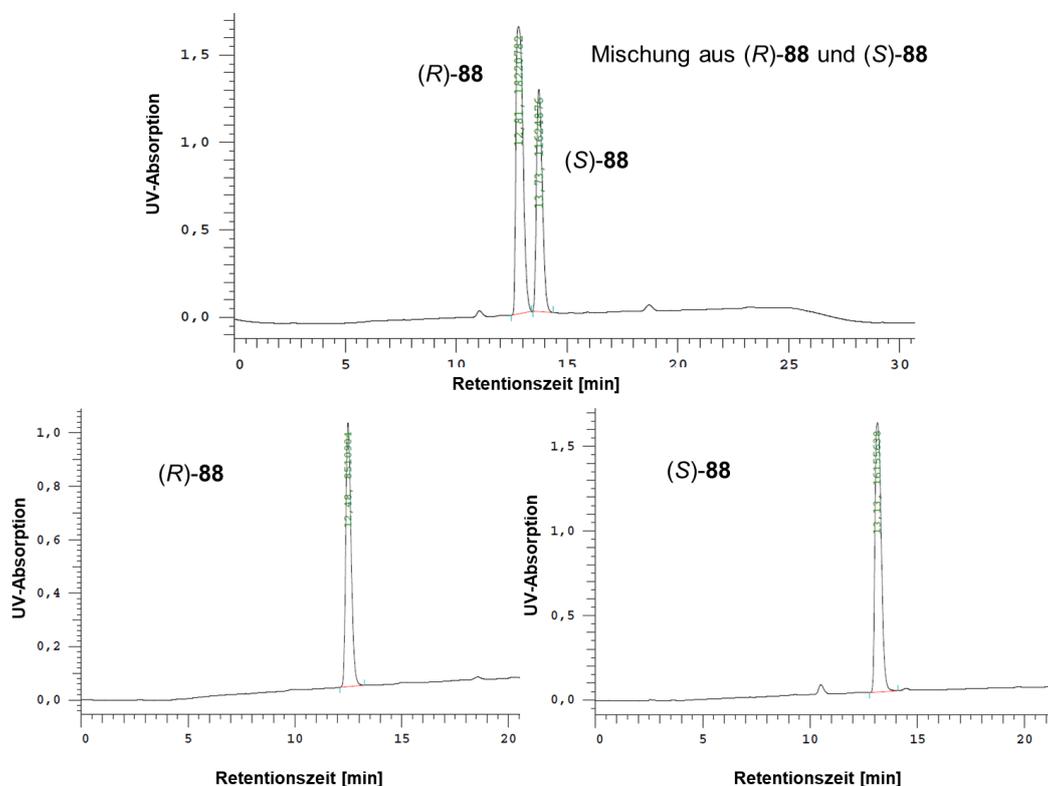


Abb. 4.55 Chromatogramme aus der HPLC-Analyse an chiraler stationärer Phase zur Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses von Ethylester (S)-88.

Die im nächsten Schritt geplante Sharpless-Epoxidierung wurde nach der bereits beschriebenen Methode wiederholt. Dabei wurde neben (-)-DET, welches nach den Regeln der Sharpless-Epoxidierung für primäre Allylalkohole das gewünschte Diastereomer **86** hervorbringen sollte (Abb. 4.56), auch (+)-DET eingesetzt. Letztgenanntes sollte bei Katalysator-Kontrolle das entsprechende Diastereomer **86a** zu Verbindung **86** liefern. Ein Vergleich beider Verbindungen sollte eine Abschätzung über die Diastereoselektivität der Sharpless-Epoxidierung bei Verwendung von Verbindung **87** als Substrat liefern (Abb. 4.56).

Nach erfolgter Reaktion unter Einsatz von (-)-DET wurde ausschließlich ein Produkt in 27 % (über 2 Stufen) erhalten (Abb. 4.56, Tab. 4.7, Nr. 1). Die niedrige Ausbeute konnte auf eine geringe Produktausbeute des verwendeten Allylalkohols **87** zurückgeführt werden. Bezogen auf die eingesetzte Einwaage einer nicht-reinen Ausgangsverbindung wurde für die Epoxidierungsreaktion eine Ausbeute von ca. 70 % abgeschätzt.

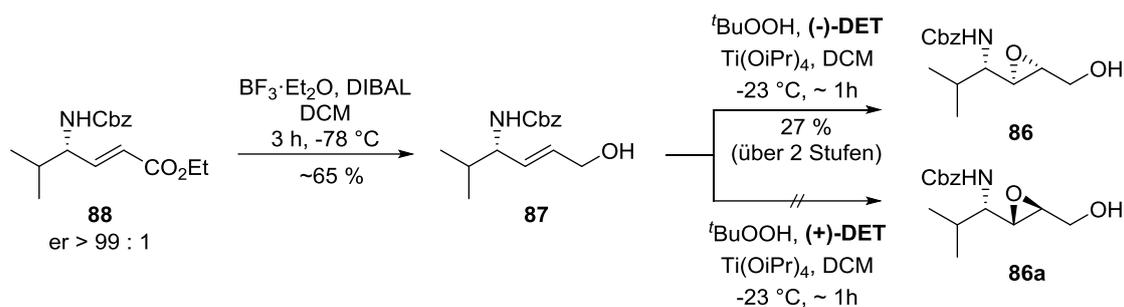


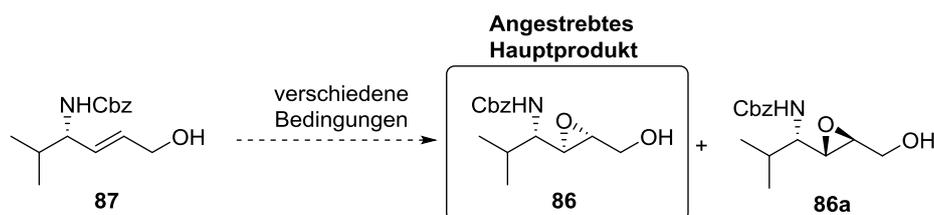
Abb. 4.56 Synthese von Allylalkohol **87** und im Anschluss durchgeführte Sharpless-Epoxidierung.

Bei der Verwendung von (+)-DET konnte nur ein minimaler Umsatz des Eduktes beobachtet werden (Tab. 4.7, Nr. 2). Eine Auswertung des NMR-Spektrums des Rohproduktes bzw. die Isolierung eines Produktes konnten nicht erfolgreich durchgeführt werden. In einem weiteren Ansatz sollte die Katalysatorkontrolle der Reaktion durch Verwendung eines achiralen Liganden in Form von Ethylenglycol unterbunden werden, um den Einfluss des chiralen Substrates auf den stereochemischen Verlauf der Reaktion zu untersuchen. In diesem Ansatz konnte kein Umsatz der Reaktion beobachtet werden (Tab. 4.7, Nr. 3). Zuletzt wurde *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*CPBA) eingesetzt, um die Reaktion ebenfalls ohne Reagenzkontrolle durchzuführen und dabei einen möglichen Einfluss des chiralen Substrates **87** (Substratkontrolle) zu untersuchen (Tab. 4.7, Nr. 4).

Bereits in der Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie konnte neben dem Edukt und geringen Mengen an Zersetzungsprodukten auch das vermeintliche Produkt **86** nachgewiesen werden. Dieses konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel in einer Ausbeute von etwa 10 % isoliert werden. Bei Analyse der NMR-Spektren konnte das Vorliegen beider Diastereomere (dr: 45:55) in der erhaltenen Fraktion nachgewiesen werden. Dementsprechend schien die asymmetrische Sharpless-Epoxidierung mit dem chiralen, primären Allylalkohol **87** in einer Weise verlaufen zu sein, in der die Katalysatorkontrolle einer Substratkontrolle überlegen war. Im Fall der Reaktion mit (-)-DET wurde damit der Matched-Fall der doppelten Stereodifferenzierung erhalten. Der geringe Umsatz unter Verwendung von (+)-DET deutete auf den Mismatched-Fall hin.

Für die zweifelsfreie Aufklärung über die Bildung des gewünschten Diastereomers sollte im Anschluss eine röntgenkristallographische Untersuchung durchgeführt werden. Das Epoxid wurde erst nach gründlicher Trocknung als Feststoff erhalten. Die Züchtung eines für die Messung benötigten Einkristalls war nicht erfolgreich, weshalb das Epoxid **86** mit einem geeigneten Derivatierungsreagenz umgesetzt werden sollte, welches die Kristallisation und somit die Züchtung eines Einkristalls erleichtern sollte.

Tab. 4.7 Epoxidierungsreaktionen mit dem Allylalkohol **87**.



Nr.	Bedingungen	Edukt	Produkt
1	^t BuOOH, (-)-DET, Ti(OiPr) ₄ DCM -23 °C, ~ 1h	Spuren Edukt	27 %* eines Produktes
2	^t BuOOH, (+)-DET, Ti(OiPr) ₄ DCM -23 °C, ~ 1h	kaum Umsatz	Produktspuren
3	^t BuOOH, Ethylenglycol, Ti(OiPr) ₄ DCM -23 °C, ~ 1h	kaum Umsatz	kein Produkt
4	<i>m</i> CPBA, NaHCO ₃ DCM Rt, 17 h	Umsatz < 80 %	~10 % dr: 45 : 55

*über zwei Stufen, über eine Stufe ~70 %

Als Derivatisierungsreagenz sollte Camphersulfonsäurechlorid eingesetzt werden, welches unter Einfluss von 4-Dimethylaminopyridin mit der terminalen Hydroxyfunktion von Verbindung **86** reagieren sollte. Das Epoxid wurde in Dichlormethan gelöst und bei 0 °C mit DMAP und dem Camphersulfonsäurechlorid versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 2 h wurde Salzsäure hinzugefügt und es wurde mit Dichlormethan extrahiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt **116** in einer guten Ausbeute von 68 % isoliert werden (Abb. 4.57). Das Camphersulfonsäure-Derivat **116** wurde in Form eines zähen Öls bzw. Harzes erhalten, welches auch nach erneuter Trocknung, gefolgt von einer weiteren säulenchromatographischen Reinigung, sowie Filtration der Produktlösung durch einen Spritzenfilter nicht in fester Form erhalten werden konnte. Weitere Fällungs- und Kristallisationsversuche der Verbindung in verschiedenen Lösungsmitteln waren ebenfalls nicht erfolgreich. Aus diesem Grund erfolgte eine Derivatisierung mit Ferrocenylcarbonsäure. Das Epoxid wurde in Dichlormethan gelöst und mit EDC·HCl und Ferrocenylcarbonsäure versetzt und für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte die Zielverbindung **117** erfolgreich und in guter Ausbeute von 80 % isoliert werden (Abb. 4.57). Allerdings konnte das Produkt erneut nur in

Form eines zähen Öls bzw. Harzes erhalten werden und die erhoffte Kristallisation war ebenfalls nicht zu erzielen.

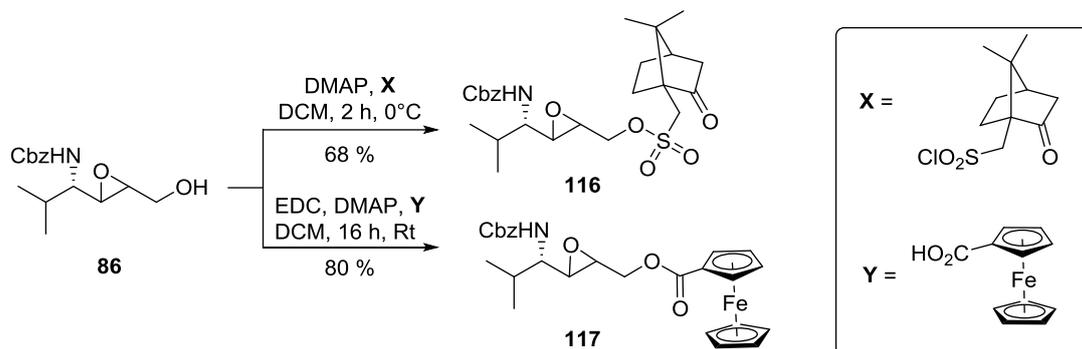


Abb. 4.57 Synthese des Camphersulfonsäure-Derivats **116** und des Ferrocenyl-Derivats **117**.

Auf die eindeutige Aufklärung der vorliegenden Stereochemie im Epoxid **86** durch eine röntgenkristallographische Analyse wurde an diesem Punkt der Arbeit daher verzichtet. In der beschriebenen Analyse zur Epoxidierungsreaktion wurde jedoch deutlich, dass die Sharpless-Epoxidierung bei Verwendung von (-)-DET unter doppelter Stereodifferenzierung als Matched-Fall verlaufen war, weshalb eine Bildung des nach den Regeln der Sharpless-Epoxidierung erwarteten Produktes **86** für sehr wahrscheinlich erachtet wurde. Im Anschluss sollte die geplante Synthesesequenz fortgesetzt werden, wobei im nächsten Schritt eine regioselektive Öffnung des Epoxids durch ein Azid-Nucleophil durchgeführt werden sollte. Dabei wurde eine regioselektive Epoxidöffnung angestrebt, die vorzugsweise unter Angriff des Kohlenstoffatoms in 3-Position verlaufen sollte. Unter der Voraussetzung, dass das Epoxid **86** mit der gewünschten Stereochemie vorlag, sollten literaturbekannte Bedingungen unter der Verwendung von Trimethylsilylazid und Titan-*iso*-propoxid dazu verwendet werden, das gewünschte (2*S*,3*S*)-3-Azido-2-Hydroxy-Produkt **118** zu generieren (Abb. 4.58).^[178,179] Eine Bildung des (2*S*,3*R*)-2-Azido-3-Hydroxy-Produktes **118a** unter Angriff des C-2-Kohlenstoffatoms konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden.

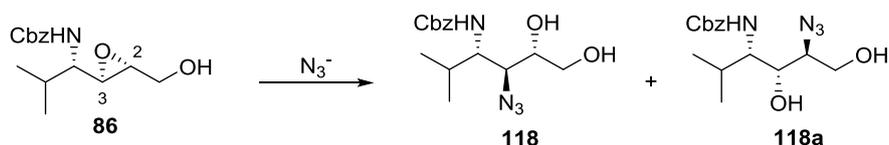


Abb. 4.58 Versuch der Epoxidöffnung unter Einfluss eines entsprechenden Azid-Nucleophils.

Entsprechend der literaturbeschriebenen Prozedur wurde zunächst der für die regioselektive Öffnung benötigte Komplex $[\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_2(\text{N}_3)_2]$ in einer Eintopfreaktion hergestellt. Dazu wurden 2 Äq. Trimethylsilylazid und 4 Äq. Titan-*iso*-propoxid in Toluol, welches an Stelle von Benzol

als Lösungsmittel diente, gelöst und für 5 h auf 90 °C erhitzt. Zu der entstandenen gelblichen Lösung wurde das in Toluol gelöste Epoxid gegeben und für weitere 15 min bei 90 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend in Tetrahydrofuran gelöst, mit einer Natrium-Kaliumtartrat-Lösung vermischt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die resultierende Suspension wurde über Celite filtriert. Nach Extraktion der wässrigen Phase wurden die vereinigten organischen Phasen mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde anschließend NMR-spektroskopisch untersucht, wobei bereits bei Betrachtung des ¹H-NMR-Spektrums auffiel, dass die Signale der Cbz-Gruppe nicht mehr vorhanden waren und eine komplette Zersetzung des Eduktes bei der hohen Reaktionstemperatur von 90 °C vermutet wurde (Abb. 4.59). Aus diesem Grund erfolgte eine Wiederholung des Reaktionsansatzes unter leicht veränderten Bedingungen. Dabei wurde das Edukt erst nach Abkühlung der Reagenzlösung auf eine Temperatur von 30 °C zugegeben. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnte eine Hauptfraktion isoliert werden. In den aufgenommenen ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren der Verbindung waren die entsprechenden Signale der Cbz-Gruppe erneut nicht vorhanden. Alle weiteren Signale konnten der intakten Alkylkette des eingesetzten Eduktes zugeordnet werden. Im ¹³C-NMR-Spektrum war zudem ein deutliches Signal bei 162 ppm zu finden, wobei es sich um ein Carbonylkohlenstoffatom handeln musste. Im HMBC-NMR-Spektrum war für dieses Kohlenstoffatom nur eine Kopplung mit dem Signal des 4-Protons zu erkennen. In der GC/MS-Analyse der klaren Flüssigkeit wurde im Vergleich zur erwarteten Produktmasse, bzw. der Masse des eingesetzten Eduktes, eine deutlich verringerte Molekülmasse von $m/z = 191$ ermittelt. Weiterhin konnte auch die erwartete Azid-Schwingungsbande im IR-Spektrum bei etwa 2100 cm^{-1} nicht nachgewiesen werden. Dies führte zu der Annahme, dass die regioselektive Öffnung des Epoxids **86** mit dem Azid-Nucleophil nicht erfolgreich abgelaufen war. Stattdessen wurde eine Cyclisierung der Verbindung angenommen, in der Benzylalkohol, vermutlich unter Katalyse durch die Anwesenheit von Titanisopropoxid abgespalten worden war. Dies führte zu dem in Abbildung 4.59 postulierten Mechanismus, der für die Bildung von Verbindung **119** vermutet wurde. Unter der Voraussetzung, dass das Epoxid **86** durch Rückseitenangriff auf das Kohlenstoffatom in der 3-Position geöffnet wurde, wurde die Bildung des *trans*-Produktes erwartet. Eine Verifizierung der Struktur sollte durch Analyse der Kopplungskonstanten zwischen dem Proton in 2- und dem Proton in 3-Position erfolgen. Laut Literatur sollte ein entsprechendes *trans*-Oxazolidinon eine Kopplungskonstante im Bereich von ca. 5 Hz und ein

entsprechendes *cis*-Oxazolidinon eine Kopplungskonstante im Bereich von ca. 9 Hz aufweisen.^[180] Im vorliegenden Molekül konnte eine Kopplungskonstante von $^3J_{2,3} = 7.3$ Hz (in CD₃OD) ermittelt werden. Um mögliche Lösungsmittelleffekte auszuschließen, erfolgte die Messung in weiteren deuterierten Lösungsmitteln (Aceton-d₆ und DMSO-d₆). Die ermittelte Kopplungskonstante lag in allen Messungen im Bereich von ca. 7 Hz. Eine zweifelsfreie Aufklärung der Struktur **119**, wodurch rückwirkend auch eine Aussage über die Stereochemie des Vorläufermoleküls **86** getroffen werden könnte, konnte somit nicht erzielt werden.

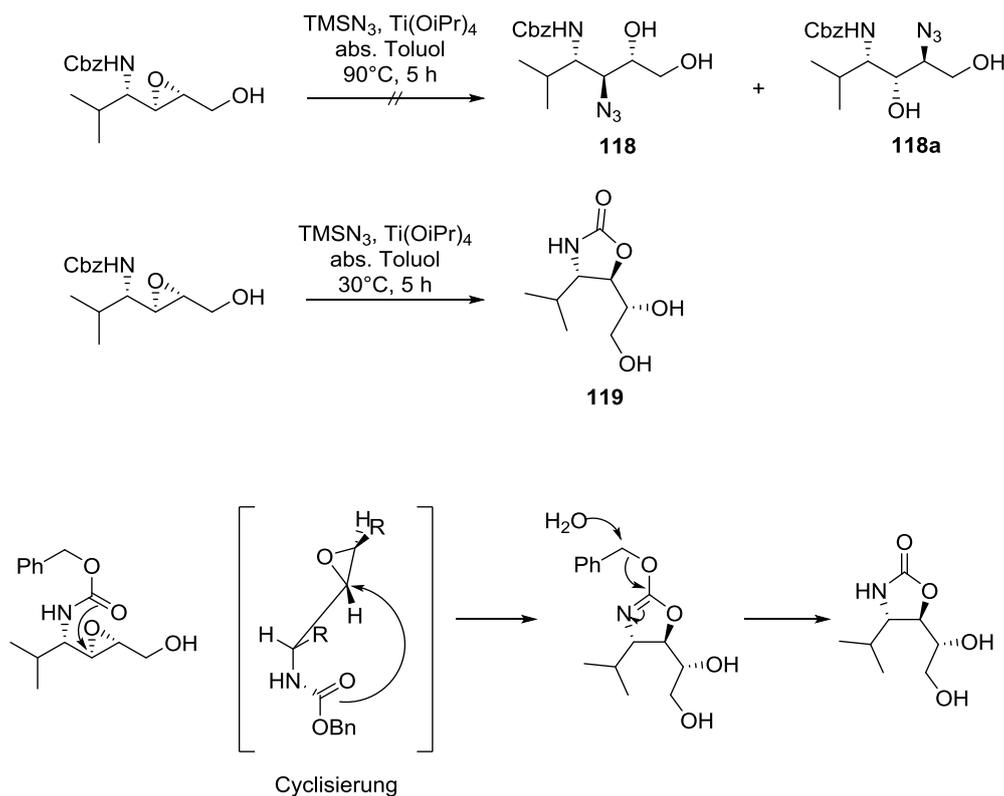


Abb. 4.59 Durchgeführte Epoxidöffnungen und vermuteter Mechanismus für die Bildung von **120** (Stereochemie postuliert).

Auf das Screening von anderen Reaktionsbedingungen für die regioselektive Epoxidöffnung wurde an diesem Punkt der Arbeit verzichtet. Im Folgenden sollte untersucht werden, ob die Öffnung des Epoxids überhaupt ermöglicht werden konnte. Für die Reaktion sollten literaturbekannte Bedingungen unter dem Einsatz von Natriumazid und Ammoniumchlorid verwendet werden (Abb. 4.60).^[178,181]

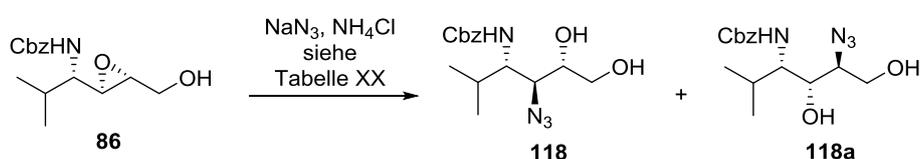


Abb. 4.60 Epoxidöffnung von Verbindung **86** unter Verwendung von Natriumazid.

Tab. 4.8 Unterschiedliche Reaktionsbedingungen für die Epoxidöffnung unter Einfluss von Natriumazid.

Nr.	Lösungsmittel	NaN ₃ [Äq.]	NH ₄ Cl [Äq.]	Temperatur [°C]	Reaktionszeit [h]	Ausbeute (118 + 118a)
1	MeOH : H ₂ O (80:20)	5	2.2	75	3	< 35 %
		5		100	6	verunreinigt
		5	2.2	100	18	
2	DMF	10	2.2	100	24	31 %
3	DMF : H ₂ O (80:20)	10	3	100	18	78 %

In einem ersten Reaktionsversuch diente ein Gemisch aus Methanol und Wasser als Lösungsmittel (Tab. 4.8, Nr. 1). Nach Lösung des Eduktes und der Zugabe der Reagenzien wurde das Reaktionsgemisch auf 75 °C erhitzt. Nachdem in der Reaktionskontrolle (3 h) mittels Dünnschichtchromatographie kein vollständiger Umsatz des Eduktes nachgewiesen wurde, folgte die Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 100 °C. Desweiteren wurden weitere 5 Äq. NaN₃ hinzugefügt. Das Gemisch wurde für weitere 6 h gerührt, bevor eine erneute Zugabe der Reagenzien erfolgte. Anschließend wurde über Nacht gerührt und nach erneuter DC-Kontrolle konnte weiterhin das Edukt nachgewiesen werden. Aufgrund der Bildung von zwei Neben- oder Zersetzungsprodukten wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser abgebrochen und das Rohprodukt wurde durch Extraktion isoliert. Während der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel wurde ein nicht-trennbares Gemisch der erwarteten Regioisomere **118** und **118a** erhalten, was in der NMR- und LC/MS-Analytik bestätigt werden konnte. Zudem war die Schwingungsbande des Azids ($\nu = 2104 \text{ cm}^{-1}$) im IR-Spektrum deutlich zu erkennen. Die erhaltene Ausbeute (< 35 %) und die Reinheit des erhaltenen Gemisches waren gering. Aus diesem Grund wurde eine weitere Reaktion unter der Verwendung von DMF als Lösungsmittel durchgeführt (Tab. 4.8, Nr. 2). Desweiteren wurden direkt 10 Äq. Natriumazid eingesetzt und die Reaktionszeit wurde auf 24 h bei einer Temperatur von 100 °C erhöht. Nach Optimierung des Laufmittelgemischs zeigte die Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie einen vollständigen Umsatz des Eduktes an. Die anschließende säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel musste für die Abtrennung eines Neben- oder Zersetzungsproduktes wiederholt werden. Die erhaltene Gesamtausbeute für das Produktgemisch beider Verbindungen **118** und **118a** lag bei moderaten 31 %. Die Bestimmung eines Produktverhältnisses aus dem ¹H-NMR-Spektrum konnte aufgrund der Überlagerung der Signale beider Verbindungen nicht erfolgen. In einer finalen Reaktion wurde Wasser (20 %)

120a konnte allerdings in erhöhter Menge isoliert werden (Abb. 4.61). Dementsprechend war in der vorherigen Epoxidöffnung ohne Regiokontrolle überwiegend das unerwünschte (2*S*,3*R*)-2-Azido-3-Hydroxy-Produkt **118a** gebildet worden.

Vor der weiteren Auswertung der NMR-spektroskopischen Befunde wurde die durchgeführte Synthese zunächst auf eine Bildung der potenziell möglichen Isomere bezogen auf die Sechsring-Struktur untersucht. Ausgehend vom Epoxid **86** sollte eine S_N2-artige Epoxidöffnung zu der bereits gezeigten (2*S*,3*R*)-Verbindung **118a** führen. S_N1-artige Bedingungen sollten zur zusätzlichen Bildung der diastereomeren (2*R*,3*R*)-Verbindung **118b** führen. Prinzipiell war somit eine Bildung der Verbindungen **120a**, **120b** und **120c** zu erwarten (Abb. 4.62). Nach der Cyclisierungsreaktion sollten die sterisch anspruchsvollen Reste (Phenyl und R) in der Sesselkonformation die thermodynamisch begünstigte äquatoriale Stellung einnehmen. Deshalb wurde die Bildung von Verbindung **120a** als bevorzugt gegenüber der Bildung von Verbindung **120b** angesehen. In der Analyse des ¹H-NMR-Spektrums diente ein Vergleich der Signale des 2-Protons und des 1-H_b-Protons für die Aufklärung der Struktur. Bei dem Signal des 1-H_b-Protons handelte es sich um ein Dublett vom Dublett mit Kopplungskonstanten von $J = 11.0$ Hz und $J = 5.4$ Hz. Für die geminale Kopplung zum diastereotopen 1-H_a-Proton wurde eine große Kopplungskonstante (im Bereich von 10 bis 13 Hz) erwartet. Dementsprechend wurde die kleine Kopplungskonstante der ³J_{HH}-Kopplung zum Proton in der 2-Position zugeordnet, woraus eine axial-äquatoriale oder eine äquatorial-äquatoriale Stellung zwischen dem 1-H_b-Proton und dem Proton in der 2-Stellung resultieren würde. Bei der Analyse des für das 2-Proton erhaltenen ddd-Signals wurden neben der kleinen Kopplungskonstante von 5.4 Hz (zu 1-H_b) zwei weitere Kopplungskonstanten von $J = 9.8$ Hz und $J = 10.9$ Hz ermittelt, die beide im Bereich einer axial-axialen Kopplung einzuordnen waren. Daraus folgend wurde eine axial-axiale ³J_{HH}-Kopplung zwischen dem Proton in der 2-Position und dem 1-H_a-Proton sowie zu dem Proton in der 3-Position nachgewiesen. Aus der nun bekannten axialen Stellung des 2-Protons ergibt sich dann eine äquatoriale Stellung des 1-H_b-Protons (Abb. 4.62). Eine analoge Betrachtung erfolgte auch ausgehend von einer S_N1-artigen Öffnung des Epoxid und anschließender Cyclisierung zum entsprechenden (2*R*,3*R*)-Produkt **120c**, in welchem anstelle der axial-axialen Stellung ausschließlich eine axial-äquatoriale Stellung (zwischen 2-H und 3-H) zu erwarten war. Somit konnte die Zuordnung der Struktur **120c** ausgeschlossen werden.

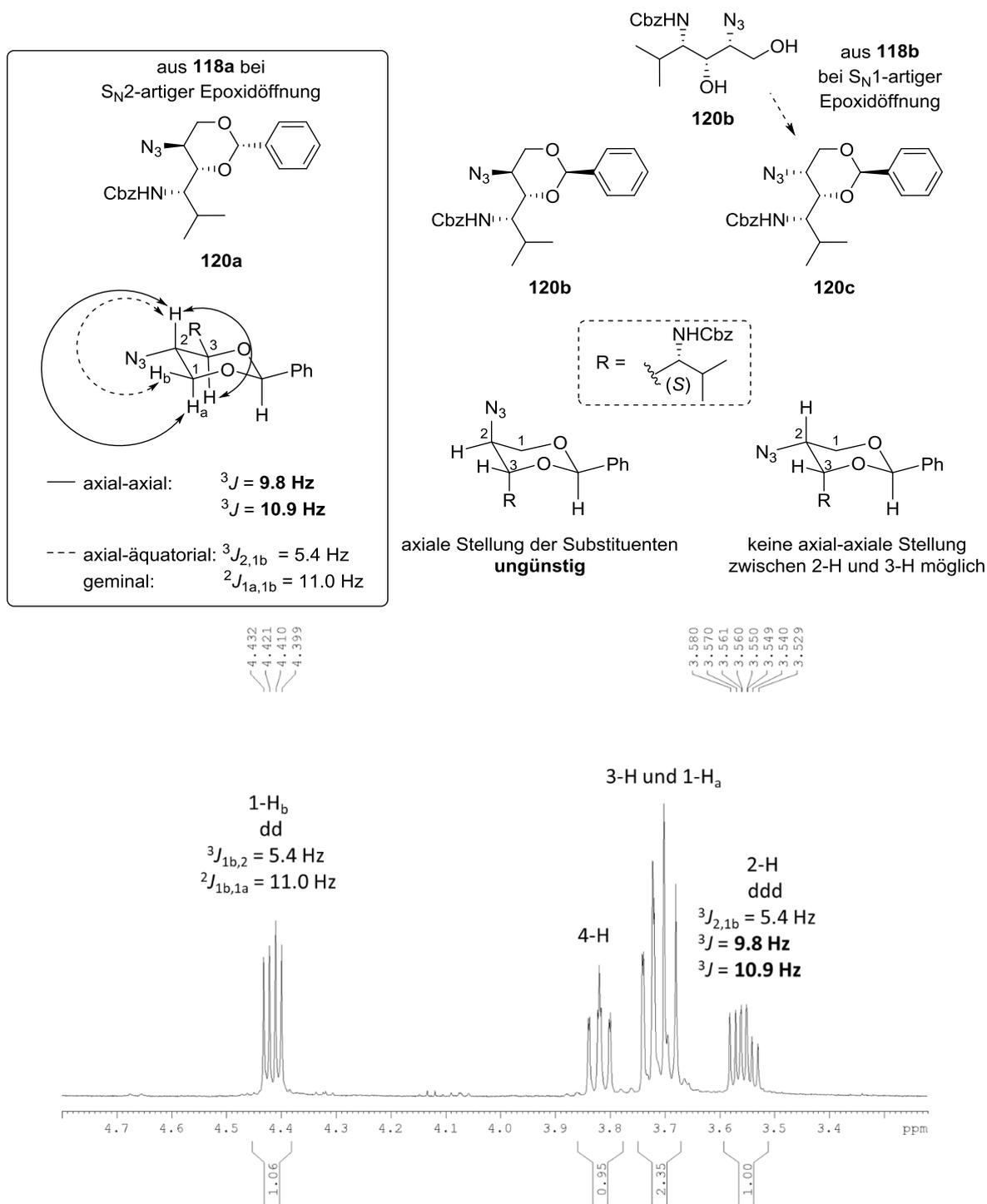


Abb. 4.62 Aufklärung der Stereochemie von Verbindung **120a** mit Hilfe des ^1H -NMR-Spektrums.

Für die weiteren geplanten Synthesestufen zur Darstellung des (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin-Bausteins **33** war die korrekte Stereochemie des Epoxids **86** von besonderer Bedeutung, da dieses ein Schlüsselintermediat zur Generierung des zweiten Stereozentrums darstellte. Ein weiterer Nachweis der korrekten Konfiguration soll in zukünftigen Synthesen durch weitere Derivatisierung der Verbindung **86** durchgeführt werden, was in Kapitel 6 näher erläutert wird.

Die Öffnung des erwarteten Epoxids **86** führte allerdings bisher überwiegend zum nicht angestrebten (2*S*,3*R*)-2-Azido-3-Hydroxy-Produkt **118a**. Aus diesem Grund wäre eine Optimierung der Epoxidöffnung für eine regio- und stereokontrollierte Bildung des terminalen Diols **118** erforderlich gewesen, die im zeitlichen Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht mehr abgeschlossen werden konnte. Zusammenfassend wurden 6 Stufen der geplanten Synthesesequenz erfolgreich durchgeführt, in der das Epoxid **86** in einer Gesamtausbeute von 17 % erhalten wurde.

5. Zusammenfassung

Das Hauptziel dieser Arbeit war die Darstellung und die biologische Evaluierung von strukturell vereinfachten *O*-acylierten Muraymycin-Analoga. Dabei wurden zwei Serien von Verbindungen angestrebt, in denen neben dem natürlichen Epicapreomycinidin auch Derivate mit L-Lysin in der Harnstoffdipeptid-Einheit, synthetisiert werden sollten. Die Einführung von verschiedenen Fettsäure-Seitenketten sollte erst nach Aufbau an einer geschützten Vorstufe des Muraymycin-Grundgerüsts und damit auf später Stufe der Totalsynthese erfolgen. Vorrangig war die Synthese der Epicapreomycinidin-haltigen Muraymycin-Derivate **52-54** angestrebt. Die geplante Derivatisierung der Muraymycin-Grundstruktur sollte jedoch zunächst an der synthetisch leichter zugänglichen Lysin-haltigen Grundstruktur **68** erprobt werden.

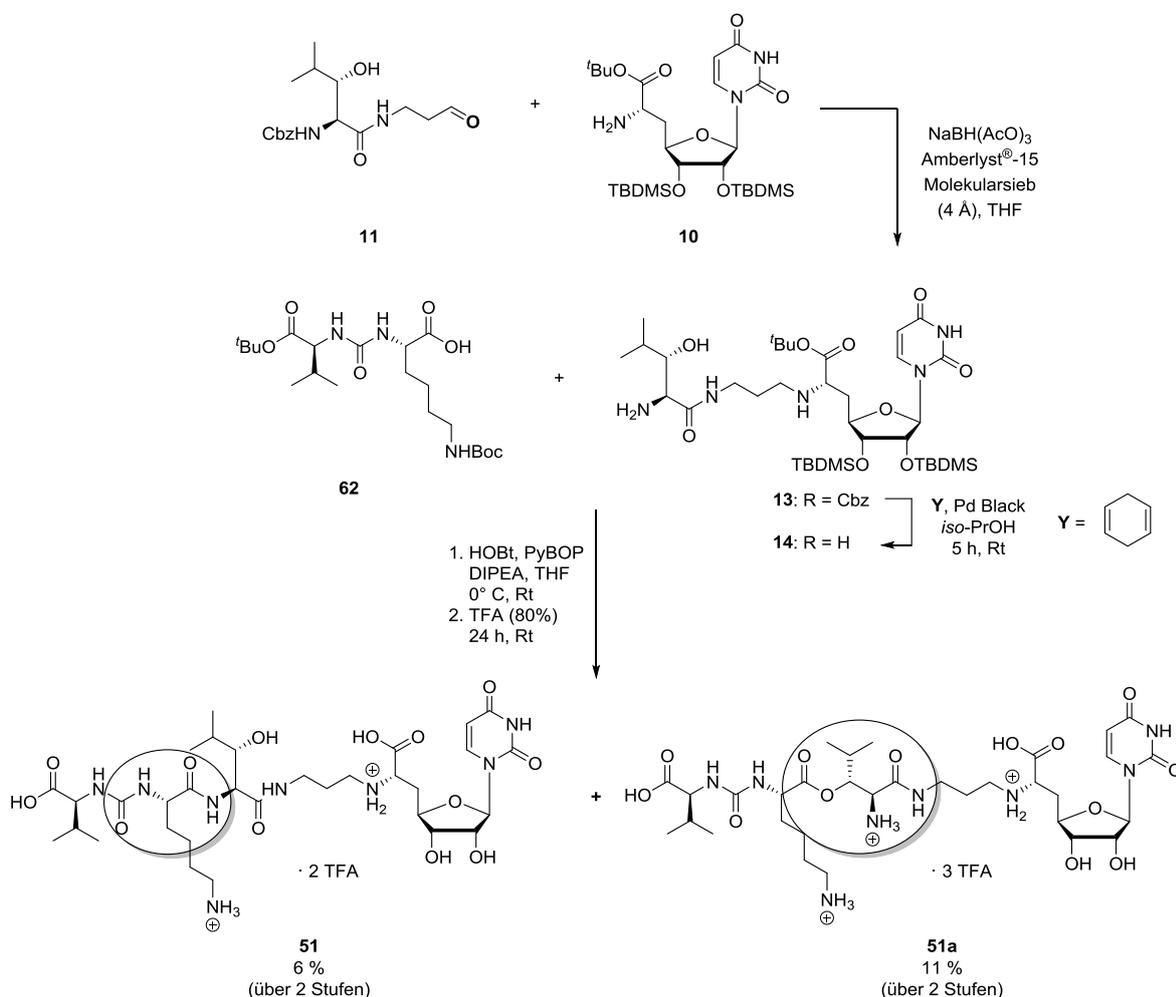


Abb. 5.1 Dreiteiliger Ansatz zur Synthese der Lysin-haltigen Muraymycin-Derivate **51** und **51a**.

Bereits in der Synthese der Verbindung **51**, die analog zum dreiteiligen Syntheseansatz für die Darstellung des 5'-Desoxy-Analogons von Muraymycin C4 erfolgte, konnte die Bildung des regioisomeren Nebenproduktes **51a** nachgewiesen werden.

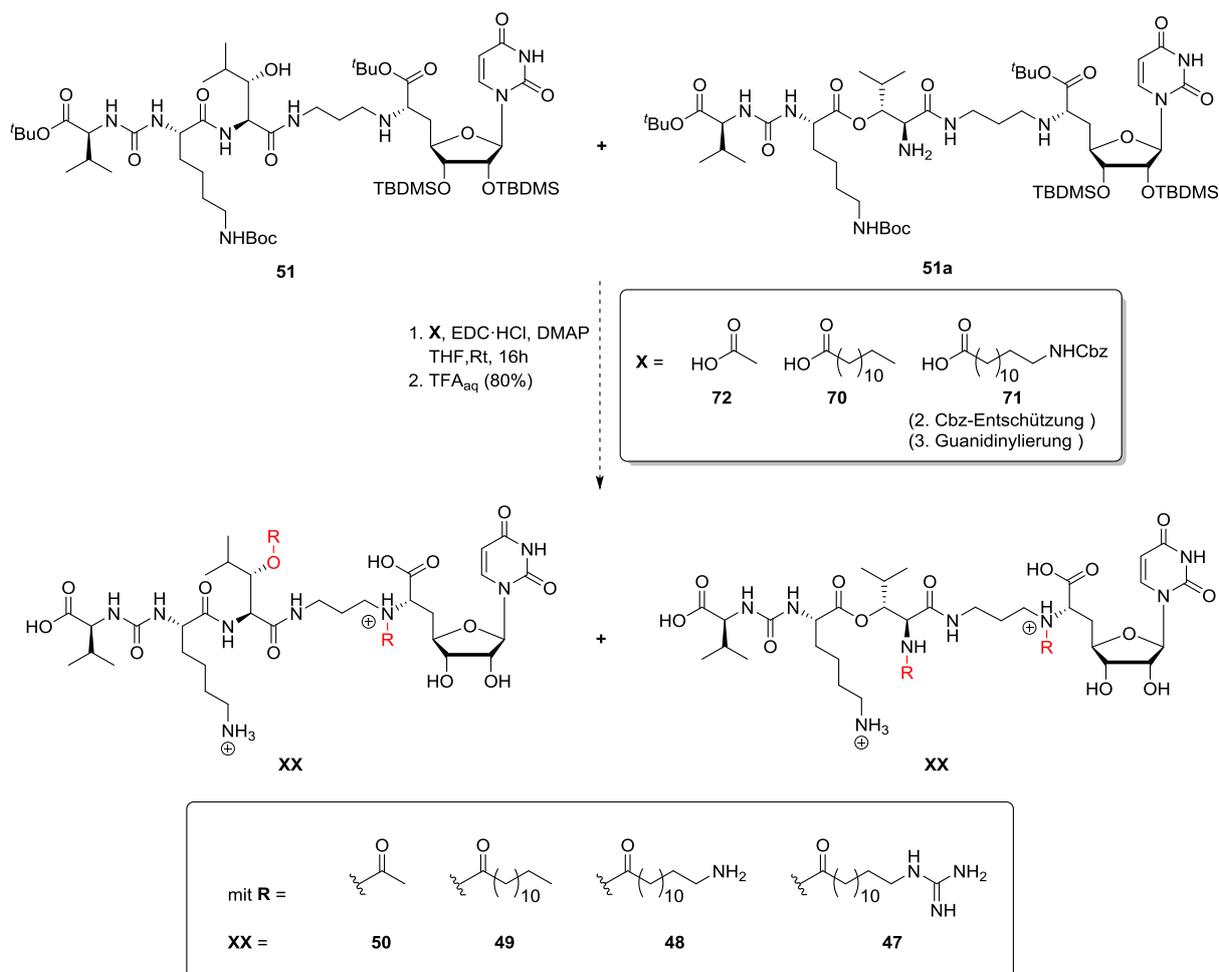


Abb. 5.2 Syntheseversuche zur Darstellung *O*-acylierter Lysin-haltiger Muraymycin-Derivate, mit Bildung komplexer Substanzgemische aus einfach und zweifach acylierten Verbindungen (mögliche Verknüpfungspunkte der Fettsäure-Seitenketten rötlich eingefärbt, zweifache Acylierung wurde auch beobachtet).

Die geschützten Vorläufermoleküle konnten auf der Stufe der durchgeführten Peptidkupplung nicht voneinander getrennt werden (Abb. 5.1) und wurden deshalb in den Folgereaktionen als Gemisch weiter umgesetzt. Dadurch wurde die Generierung einer weiteren Serie an regioisomeren Verbindungen angestrebt, die nach der globalen sauren Entschützung mittels präparativer HPLC voneinander getrennt werden sollten. Nach Durchführung der Acylierungsreaktionen mit den Fettsäure-Seitenketten, folgte von der weiteren Modifizierung ihrer Kopfgruppen und der finalen globalen sauren Entschützung, wurden komplexe Gemische aus verschiedenen Regioisomeren und teilweise mehrfach acylierten Verbindungen vorgefunden (Abb. 5.2). Die angestrebte Reinigung der Verbindungen war jedoch nicht erfolgreich. Somit konnte die Synthese der Lysin-haltigen Muraymycine nur zum Teil als erfolgreich angesehen werden. Unter Vernachlässigung der gebildeten Nebenprodukte war die Derivatisierung der geschützten Grundstruktur möglich und führte zur Darstellung von ersten

synthetischen *O*-acylierten Muraymycin-Derivaten, was im Hinblick auf die im Anschluss geplanten Synthesen der Epicapreomycidin-haltigen Derivate **52-55** ein positives Ergebnis darstellte.

Die Bildung eines Nebenproduktes in der Peptidkupplung wurde im Fall der Epicapreomycidin-haltigen Derivate nicht beobachtet, sodass die Acylierungsreaktionen am reinen Grundgerüst problemlos durchgeführt werden konnten. Die Steglich-Veresterung resultierte mit allen Fettsäure-Seitenketten in den erwarteten *O*-acylierten Verbindungen. Lediglich im Fall des Acetyl-Derivates **55** konnte eine zweifache Acylierung beobachtet werden. Eine Reinigung zur Isolierung der gewünschten einfach acylierten Verbindung **55** war erfolgreich (Abb. 5.3). Die weitere Kopfgruppenmodifizierung bestand einerseits in einer Cbz-Entschützung der terminalen Aminofunktion unter Bildung des Intermediats **82**. In der anschließenden globalen sauren Entschützung konnte die gewünschte Zielverbindung **53** generiert werden (Abb. 5.3). Andererseits wurde ein weiterer Derivatisierungsschritt in Form einer Guanidinylierungsreaktion an der Aminofunktion der anderweitig geschützten Grundstruktur **82** durchgeführt. Diese war im Sinne der Kopfgruppenmodifikation ebenfalls erfolgreich. Nach globaler saurer Entschützung und Reinigung des Rohproduktes erfolgte eine ausführliche Strukturanalyse, wobei die Bildung von Verbindung **52a** nachgewiesen wurde (vergl. Kapitel 4.2.3.3, Abb. 4.33 und 4.34). Die basischen Bedingungen in der Guanidinylierungsreaktion wurden für die beobachtete Migration der Fettsäure-Seitenkette verantwortlich gemacht. Eine Kopfgruppenmodifikation führte somit nicht zur Synthese der Zielverbindung **52**. In dieser Arbeit wurde auf eine Optimierung der Reaktion verzichtet, um das weitere Risiko von potentiellen Nebenreaktionen zu vermeiden. Deshalb wurde die Pbf-geschützte ω -Guanidinotridecansäure **107** für die Verwendung in der Steglich-Veresterung dargestellt und erfolgreich eingesetzt. Die Synthese der Zielverbindung **52** konnte nach globaler saurer Entschützung erfolgreich abgeschlossen werden (Abb. 5.3). Im Gegensatz zur Serie der Lysin-haltigen Muraymycin-Derivate konnte eine Spaltung der Esterbindung unter den recht harschen globalen Entschützungsbedingungen nicht beobachtet werden. Zusammenfassend wurde durch Verknüpfung des dreiteiligen Syntheseansatzes und der weiteren Derivatisierung auf später Stufe eine elegante Syntheseroute für die Darstellung von *O*-acylierten Muraymycin-Derivaten entwickelt. Vor allem die erfolgreiche Durchführung der Late-Stage-Derivatisierung war in Bezug auf die Generierung strukturell verschiedener *O*-acylierter Derivate ein großer Erfolg und bietet damit erhebliches Potenzial im Hinblick auf zukünftige Synthesen weiterer *O*-acylierter Muraymycin-Derivate.

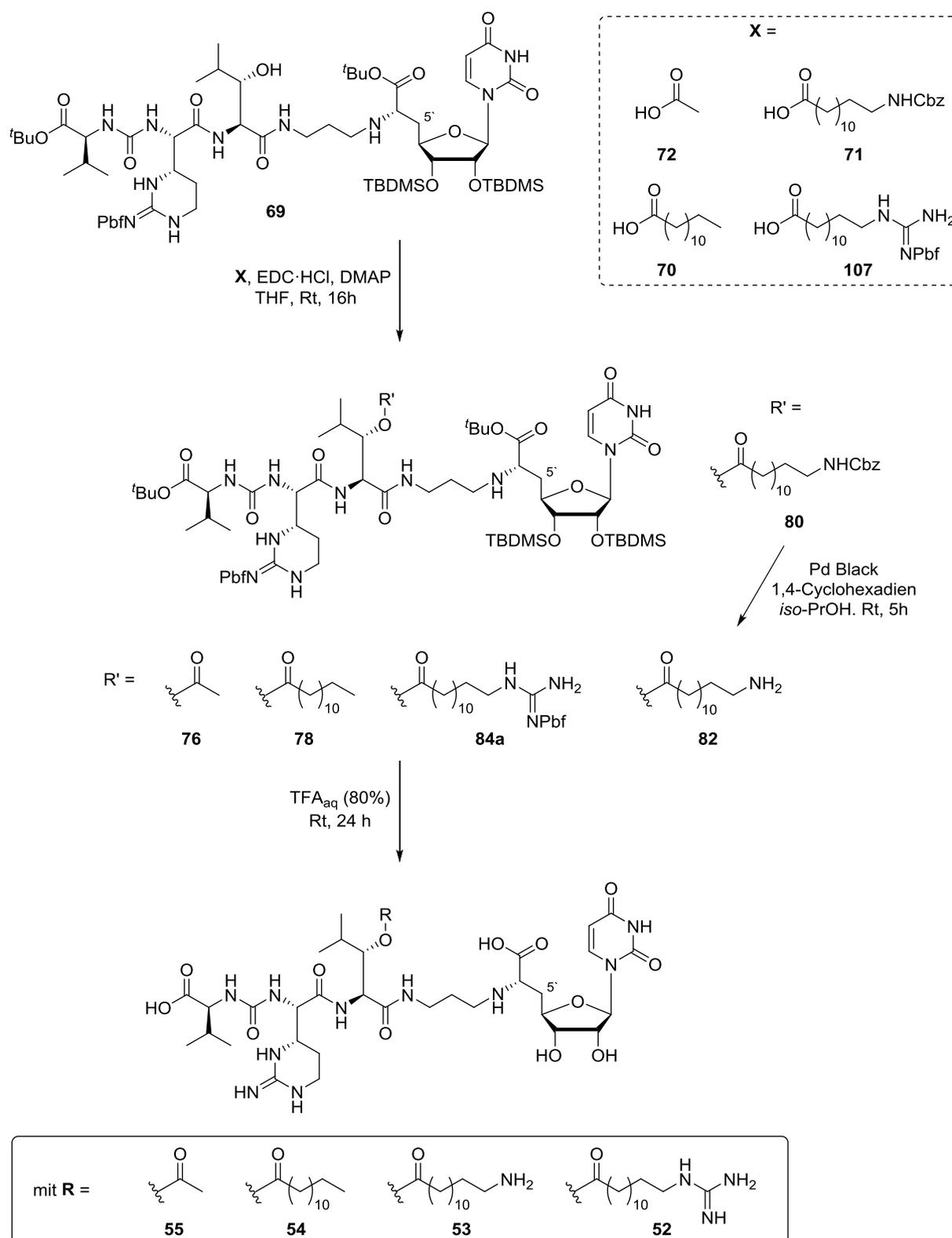
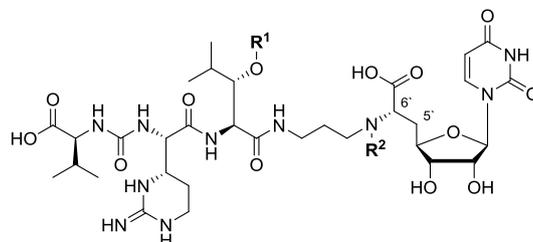


Abb. 5.3 Synthese von verschiedenen *O*-acylierten Muramycin-Derivaten.

Die erfolgreich synthetisierten Zielverbindungen wurden im Anschluss auf ihre biologische Aktivität *in vitro* an einer Membranpräparation von *MraY* (aus *S. aureus*) und *in cellulo* an verschiedenen Bakterienstämmen untersucht. Für die Lysin-haltigen Derivate **51** und **51a**

konnte weder *in-vitro*-Aktivität am Enzym *MraY* noch antibakterielle Aktivität nachgewiesen werden (Abb. 5.1).

Tab. 5.1 Ermittelte inhibitorische (gegen *MraY*) und antibiotische Aktivitäten der Epicapreomycin-haltigen Muraymycin-Derivate.



Verbindung	R ¹	R ²	IC ₅₀ [nM] <i>S. aureus</i>	MIC [µg/mL]		
				<i>E. coli</i> <i>ΔtolC</i>	<i>S. aureus</i> Newman	MRSA
52		-H	4.0 ± 0.7	< 1	11.4	24
53		-H	4.5 ± 0.3	< 1	40	> 100
54		-H	5.8 ± 0.5	< 1	0.32	5.5
55		-H	82 ± 12	< 1	> 100	n.d
52a	-H		970 ± 110	> 100		n.d

Auch im Fall der Epicapreomycin-haltigen Derivate **55** und **52a** wurden gute inhibitorische Aktivitäten (gegen *MraY*), aber keine antibiotischen Aktivitäten ermittelt (Tab. 5.1). Im Gegensatz dazu erzielten alle acylierten Derivate mit der natürlichen Konnektivität der Fettsäure-Seitenkette gute inhibitorische Aktivitäten (gegen *MraY*). Bemerkenswert waren die sehr guten antibiotischen Aktivitäten der Derivate gegenüber *S. aureus*, die im Bereich der natürlichen Muraymycine lagen. Dabei wurde eine herausragende antibiotische Aktivität für das 5'-Desoxy-3''-tridecanoyl-Derivat **54** mit MIC = 0.32 µg/mL ermittelt (Tab. 5.1). Die natürlichen Muraymycine zeigten geringere Aktivitäten, wodurch die Verbindung nach dem derzeitigen Stand der Forschung als vermutlich aktivstes Muraymycin-Derivat angesehen werden kann. In Folge dieser vielversprechenden Ergebnisse wurden die acylierten Derivate **52-54** gegen den multiresistenten Bakterienstamm MRSA getestet. Dabei wurden für das 5'-Desoxy-3''-tridecanoyl-Derivat **54** und für das 5'-Desoxy-ω-guanidinotrizecanoyl-Derivat **52** ebenfalls exzellente antibiotische Aktivitäten (MIC = 5.5 µg/mL bzw. MIC = 24 µg/mL)

ermittelt. Die strukturellen Vereinfachungen im Vergleich zu den natürlichen Muraymycinen in Form der formalen Entfernung der Aminoribose-Einheit (bezogen auf alle Derivate) und der Entfernung einer Kopfgruppenfunktionalität bzw. einer terminalen Verzweigung in der Fettsäure-Seitenkette (5'-Desoxy-3'''-tridecanoyl-Derivat **54**), führten zur Synthese von hoch wirksamen Muraymycin-Derivaten (Tab. 5.1). Durch den im Anschluss beschriebenen Vergleich der Aktivitätsdaten mit jenen weiterer Derivate und denen der natürlichen Muraymycine wurden interessante Informationen über einige Strukturmerkmale der Muraymycine erhalten (Abb. 5.4).

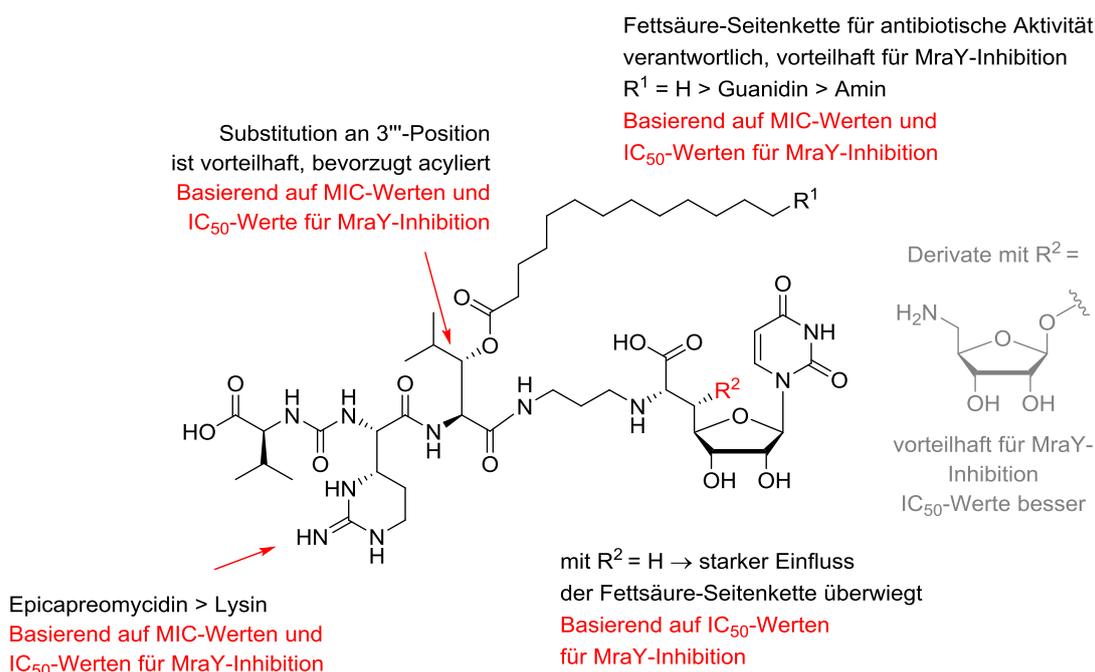


Abb. 5.4 Ergebnisse der durchgeführten SAR-Studie an *O*-acylierten Muraymycin-Derivaten.

Der Austausch von Epicapreomycidin gegen Lysin führte zur deutlichen Senkung der inhibitorischen Aktivität gegenüber MraY und zu einem kompletten Verlust der antibiotischen Wirkung. Im Gegenteil dazu zeigten die Epicapreomycidin-haltigen Derivate sowohl höhere inhibitorische Aktivitäten gegenüber MraY als auch eine drastisch gesteigerte antibiotische Potenz. Auffällig bei diesen Derivaten war der generell positive Einfluss eines Substituenten in der 3'''-Position, wobei im Fall einer Hydroxy- oder einer Acetoxygruppe ein fast 10-facher Anstieg der inhibitorischen Aktivität gegenüber MraY ermittelt wurde. Eine antibiotische Wirkung konnte für die Verbindungen zwar nachgewiesen werden, diese war aber sehr gering. Der positive Einfluss der beschriebenen Substitution war bereits beim Vergleich der Aktivitätsdaten der natürlichen Muraymycine beobachtet worden und konnte in dieser Arbeit bestätigt werden. Eine Entfernung der Aminoribose-Einheit resultierte in einer deutlichen Verminderung der inhibitorischen Aktivitäten gegenüber MraY. Dies war aufgrund der

Tatsache, dass für die Aminoribose-Einheit eine Schlüsselinteraktion bei der Enzymbindung nachgewiesen worden war, nicht überraschend. Auch eine gute antibiotische Aktivität wurde für die natürlichen Muraymycine erst bei hinreichend langer Fettsäure-Seitenkette nachgewiesen. Die erhöhte Lipophilie der Verbindungen wurde für eine verbesserte zelluläre Aufnahme verantwortlich gemacht, wodurch eine Target-Interaktion mit der auf cytosolischer Seite liegenden Bindungstasche von MraY erst ermöglicht wird. Diese Annahme wurde durch die hohe antibiotische Wirksamkeit der in dieser Arbeit getesteten Verbindungen unterstützt und weiter bewiesen. Interessanterweise konnte erstmals auch ein positiver Effekt auf die inhibitorische Aktivität gegenüber MraY durch Anwesenheit einer Fettsäure-Seitenkette nachgewiesen werden. Dementsprechend sollte auch die Fettsäure-Seitenkette mit dem Enzym interagieren. Dabei wird eine Einlagerung in einen hydrophoben Tunnel im Enzym vermutet. In den natürlichen Muraymycinen konnte eine entsprechende Aktivitäts-Erhöhung in der Vergangenheit nicht beobachtet werden. Als Grund dafür wurde die Schlüsselinteraktion der Aminoribose-Einheit vermutet, die den Einfluss der Fettsäure-Seitenkette höchstwahrscheinlich überlagerte. Zuletzt wurde auch der Einfluss einer terminalen Kopfgruppe in den Fettsäure-Seitenketten untersucht. Unterschiede in den inhibitorischen Aktivitäten wurden bei An- oder Abwesenheit einer Kopfgruppe nicht beobachtet. Bei Anwesenheit einer Kopfgruppenfunktionalität sanken die antibiotischen Aktivitäten. Diese Ergebnisse waren mit dem erhaltenen Trend der Aktivitätsdaten der natürlichen Muraymycine übereinstimmend. Der positive Einfluss der Fettsäure-Seitenketten auf die antibiotische Aktivität konnte in der durchgeführten SAR-Studie somit deutlich nachgewiesen werden.

Um weitere Informationen über die erwartete Funktion der Fettsäure-Seitenkette zu sammeln, sollten im zweiten Teil dieser Arbeit unterscheidliche Modellsysteme an artifiziellen Lipidmembranen bzw. Membran-Mimetika durchgeführt werden. Dazu wurden verschiedene Modellseitenketten hergestellt, die einerseits unterschiedliche Kettenlängen aufwiesen. Andererseits sollte auch der Einfluss der Kopfgruppenfunktionalität studiert werden, weshalb analog zu den synthetisierten *O*-acylierten Muraymycin-Derivaten unterschiedliche terminal funktionalisierte Seitenketten dargestellt wurden. Anschließend wurden die Derivate über eine Click-Reaktion mit einer Fluoreszenzmarkierung versehen. Diese wurde für eine fluoreszenzmikroskopische Untersuchung an artifiziellen Vesikeln benötigt. Die Durchführung des Vesikel-Assays wurde in der Arbeitsgruppe *Steinem* an der Georg-August-Universität Göttingen durchgeführt. In den Experimenten wurden die zuvor präparierten Vesikel an eine Glasoberfläche fixiert und anschließend mit der jeweiligen Modellverbindung inkubiert. Die Aufnahme der Bilder erfolgte nach einer Inkubationszeit von 10 min. Bei der Auswertung der

konfokalen Bilder wurde fokussiert eine Einlagerung der Verbindungen in die Membran betrachtet. Anhand des Verhältnisses zwischen der Fluoreszenzintensität in der Membran und der des umgebenden Mediums konnte die Bestimmung eines Verteilungskoeffizienten erfolgen. Für alle Derivate mit langer Fettsäure-Seitenkette konnte eine Einlagerung in die Membran nachgewiesen werden, wobei anhand der bestimmten Verteilungskoeffizienten deutliche Unterschiede in Abhängigkeit von der vorhandenen Kopfgruppenfunktionalität ermittelt wurden. Für das unfunctionalisierte Tridecansäure-Derivat **58** wurde der höchste Verteilungskoeffizient erzielt. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Verbindung in Lösung zur Mizellbildung neigte, war der deutlich höhere Verteilungskoeffizient im Vergleich mit allen weiteren Derivaten außergewöhnlich. Das Verteilungsgleichgewicht zwischen Membran und den freien Molekülen in Lösung wurde durch die Mizellbildung gestört, wodurch eine insgesamt geringere Konzentration der Verbindung für eine Membraninteraktion zu Verfügung stand. Für das Hydroxyguanidin-Derivat **38**, das Guanidin-Derivat **56** und das Amin-Derivat **57** wurden geringere Werte ermittelt, wobei die natürlich vorkommenden Kopfgruppen für eine Membraninteraktion bevorzugt waren. Diese Reihenfolge der Kopfgruppenfunktionalität blieb auch bei Veränderung der Vesikelzusammensetzung (POPC, POPC/POPE 70:30, 60:40) erhalten. In der Serie der kurzkettigen Hexansäure-Derivate konnte hingegen keine signifikante Einlagerung in die Membran beobachtet werden.

Bei Gegenüberstellung der Daten der Membraninteraktion mit den Aktivitätsdaten der Muraymycine und ihrer Derivate konnten einige Übereinstimmungen festgestellt werden. Die Muraymycine B2 und B9 mit vergleichsweise kurzer Fettsäure-Seitenkette (C-7, C-9) zeigten eher geringe antibiotische Aktivitäten, was mit den hier erhaltenen Daten der Hexansäure-Derivate auf eine geringe Membraninteraktion zurückgeführt werden könnte. Interessanterweise war auch die Reihung der an- oder abwesenden Kopfgruppenfunktionalität in den Aktivitätsdaten wiederzuerkennen. Mithilfe des durchgeführten Assays konnte somit ein direkter Zusammenhang zwischen Membraninteraktion und antibiotischer Aktivität belegt werden (Abb. 5.5). Wozu die terminalen Kopfgruppenfunktionalitäten in den Fettsäure-Seitenketten dienen, blieb an dieser Stelle ungewiss.

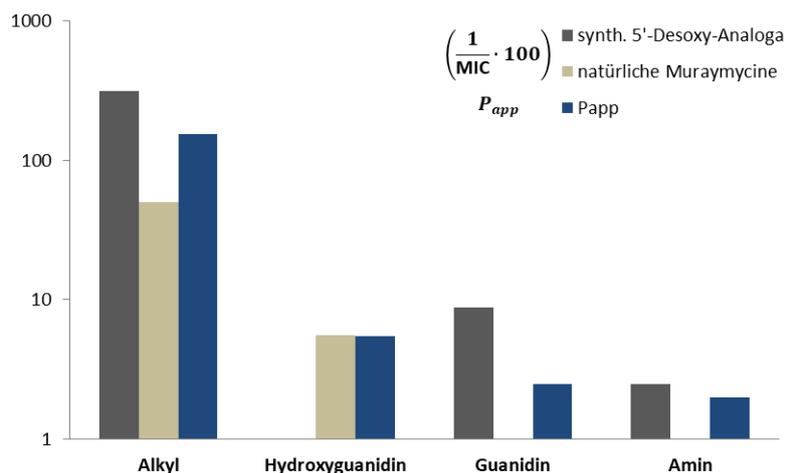


Abb. 5.5 Erkennbarer Zusammenhang zwischen steigender antibiotischer Aktivität und Membraninteraktion in Abhängigkeit der vorhandenen Fettsäure-Seitenkette (logarithmische Auftragung der $1/\text{MIC}$ -Werte und der Verteilungskoeffizienten).

Die dargestellten Modellverbindungen wurden in einem zweiten Modellsystem in der Arbeitsgruppe *Lehr* am Helmholtz Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) auf ihre Fähigkeit zur Membranpermeation untersucht. Anstelle der zuvor genutzten Vesikel wurden geschichtete Membran-Mimetika verwendet, die durch ein spezielles Beschichtungsverfahren auf Transwell® Membran-Inlets aufgetragen wurden. Anschließend erfolgte die Zugabe der jeweiligen Modellverbindung in das apicale Kompartiment. In zeitlichen Abständen wurden Proben aus dem basolateralen Kompartiment entnommen. Die permeierte Menge der Substanz wurde ermittelt und gegen die Zeit aufgetragen. Bei einem konstanten Substanzfluss wurde eine Linearität erhalten, die für die Berechnung eines apparenten Permeationskoeffizienten genutzt wurde. Auch in diesem Fall konnte ein unterschiedliches Permeationsverhalten der Verbindungen nachgewiesen werden, wobei jedoch kein genereller Trend in Abhängigkeit der Kopfgruppe ermittelt werden konnte (Abb. 5.5). Hier wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Kopfgruppen unterschiedlich starke ionische Wechselwirkungen mit den Kopfgruppen der Phospholipide eingehen könnten, woraus die zufällige Reihenfolge im unterschiedlichen Permeationsverhalten erklärt werden könnte. Ein weiterer Grund könnte aus der höheren Schichtdicke der artifiziellen Membranen, die aus ungeordneten Membranfragmenten bestehen, resultieren, wodurch die Permeation der Verbindungen insgesamt erschwert sein könnte. Dass die Verbindungen trotzdem Permeation zeigten, konnte auf die anwesende Fettsäure-Seitenkette zurückgeführt werden.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die Durchführung erster Untersuchungen zur Synthese von (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33**, welches als alternativer Baustein für die Synthese von weiteren

Muraymycin-Derivaten bereitgestellt werden sollte. Die ersten 6 Stufen der konzipierten Synthesesequenz konnten erfolgreich durchgeführt werden (Abb. 5.6).

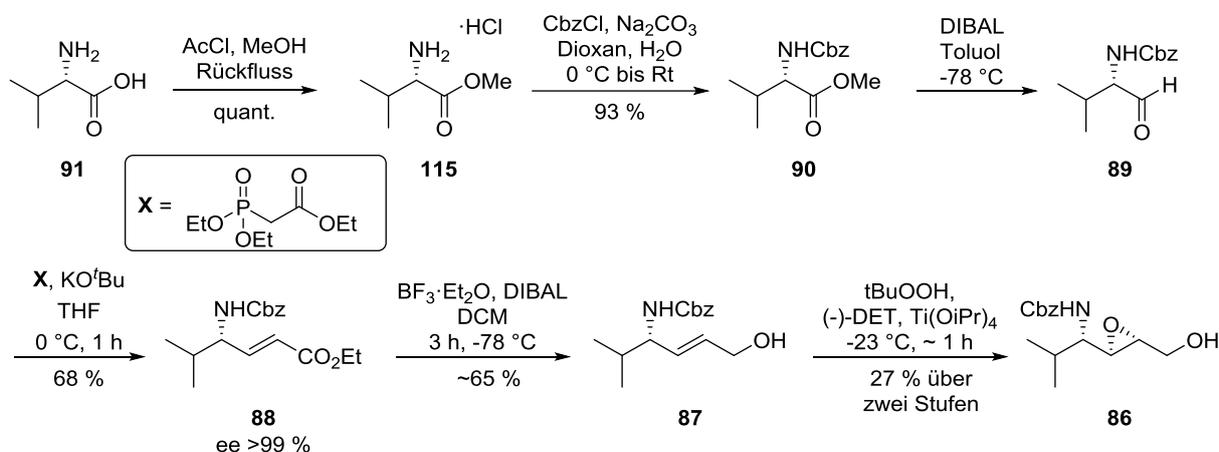


Abb. 5.6 Durchgeführte Synthesesequenz zur Darstellung des Epoxids **86**.

In den beiden ersten Reaktionen erfolgte die Schützung von L-Valin **90** zum Methyl-(N-Cbz)-L-Valinat **115**. Eine Verlängerung um zwei Kohlenstoffatome wurde über eine Eintopfreaktion realisiert, in der zunächst der Aldehyd **89** generiert wurde, der anschließend mittels Wittig-Horner-Reaktion in den α,β -ungesättigten Ethylester **88** überführt wurde. Das Produkt konnte in sehr guter Enantiomerenreinheit in der gewünschten (*E*)-Konfiguration erhalten werden. Der Ethylester **88** wurde unter reduktiven Bedingungen gespalten, bevor eine anschließende diastereoselektive Sharpless-Epoxidierung für die Darstellung des Epoxids **86** verwendet wurde. Dieser Reaktionsschritt konnte als Schlüsselschritt angesehen werden, da hier letztlich das zweite Stereozentrum der angestrebten Diaminosäure aufgebaut werden sollte.

Die im nächsten Schritt geplante regioselektive Öffnung des Epoxids konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden. Dass die Öffnung durch ein Azid-Nucleophil zu stabilen Produkten führte, konnte durch Reaktion mit Natriumazid nachgewiesen werden (Abb. 5.7). Dabei wurde vermehrt das ungewollte Regioisomer **118a** erhalten, welches allerdings für eine stereochemische Analyse genutzt werden konnte. Nach Cyclisierung der Verbindung **118a** mit Benzaldehyddimethylacetal wurde das Sechsring-Produkt **120a** erhalten (Abb. 5.7). Die erwartete Struktur konnte durch NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden, was die stereokontrollierte S_N2-artige Öffnung des Epoxids belegte. Das Epoxid **86** konnte somit insgesamt in einer Ausbeute von 17 % über 6 Stufen synthetisiert werden (Abb. 5.6). In zukünftigen Studien müssen zunächst geeignete Reaktionsbedingungen für die geplante

regioselektive Epoxidöffnung erforscht werden, bevor die finalen Syntheseschritte für die Darstellung von (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33** untersucht werden können.

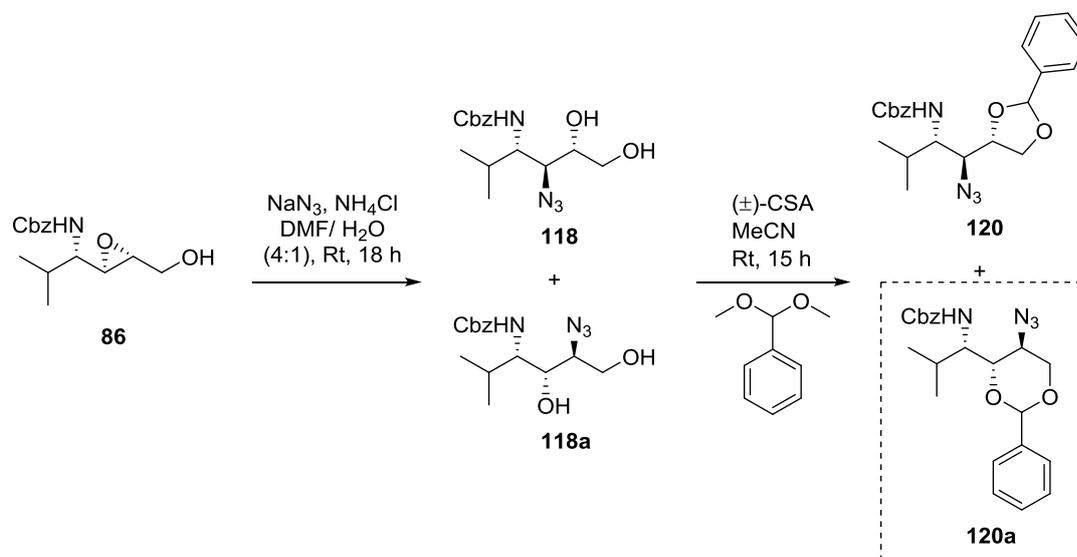


Abb. 5.7 Epoxidöffnung unter Verwendung von Natriumazid und Folgereaktion zur Bildung der Verbindungen **118/118a** und **120/120a**.

6. Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnten strukturell vereinfachte Muraymycin-Derivate mit hoher antibiotischer Potenz synthetisiert werden. Da diese überaus aktiven Derivate von großem Interesse im Hinblick auf einen Einsatz als potenzieller Wirkstoff sind, sollten weitere biologische Daten wie Toxizität, metabolische Stabilität und Plasmastabilität untersucht werden. Die natürlichen Muraymycine waren neben dem *E. coli* $\Delta tolC$ mit vermindertem Efflux auch gegen den Efflux-kompetenten *E. coli* DH5 α getestet worden, wobei ein Verlust der antibiotischen Wirkung beobachtet worden war. Der Efflux schien damit ebenfalls einen großen Einfluss auf die antibiotische Potenz der Verbindungen auszuüben. Durch Testung der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen könnten weitere Erkenntnisse über den dargelegten Sachverhalt erbracht werden. Außerdem könnten dabei weitere Informationen über die Rolle der Aminoribose-Einheit erhalten werden. Diese wurde zwar als wichtig für die Target-Interaktion angesehen, bei Abwesenheit wurden aber weiterhin gute antibiotische Aktivitäten nachgewiesen. Dementsprechend könnten aus der Abwesenheit der Aminoribose-Einheit potenzielle Aktivitäten gegen den Efflux-kompetenten Stamm resultieren.

Im Hinblick auf eine vereinfachte Synthese der Muraymycin-Grundstruktur konnte in den Arbeiten von Dr. Kristin Leyerer ein neuartiger Syntheseweg über Festphasenpeptidsynthese (solid phase peptide synthesis, SPPS) entwickelt werden. Dabei wurden zunächst vereinfachte Lysin-haltige Muraymycin-Derivate dargestellt. Eine Einbau der natürlich vorkommenden Aminosäure Epicapreomycin wurde für zukünftige Synthesen von 5'-Desoxy-Derivaten angestrebt, wobei erste Versuche bereits durchgeführt wurden. Weiterhin wäre auch der Einbau von 3-Hydroxyleucin erstrebenswert, wodurch die in dieser Arbeit entwickelten Derivatisierungen mit Fettsäure-Seitenketten auf später Stufe der Synthesesequenz ermöglicht werden könnten.

Unter den synthetisierten Verbindungen wurden vor allem für das 5'-Desoxy-3'''-Tridecanoyl-Muraymycin-Derivat **54** herausragende Aktivitäten nachgewiesen, womit eine Vereinfachung der natürlichen Muraymycin-Struktur sogar zu einer Steigerung der antibiotischen Aktivität führte. Im vorliegenden Derivat **54** wurden die Aminoribose-Einheit und eine terminale Funktionalität oder eine Verzweigung in der Fettsäure-Seitenkette vernachlässigt. Im Vergleich zu anderen synthetischen und zu den natürlichen Muraymycinen zeigte die Verbindung die bisher höchsten antibiotischen Aktivitäten gegenüber *S. aureus* (MIC = 0.32 $\mu\text{g/mL}$). Erstaunlicherweise zeigte das Derivat **54** auch gute Aktivitäten gegenüber MRSA. Aufgrund

dieser Resultate stellt das Tridecanoyl-Derivat **54** eine vielversprechende Leitstruktur für zukünftige Struktur-Optimierungen dar.

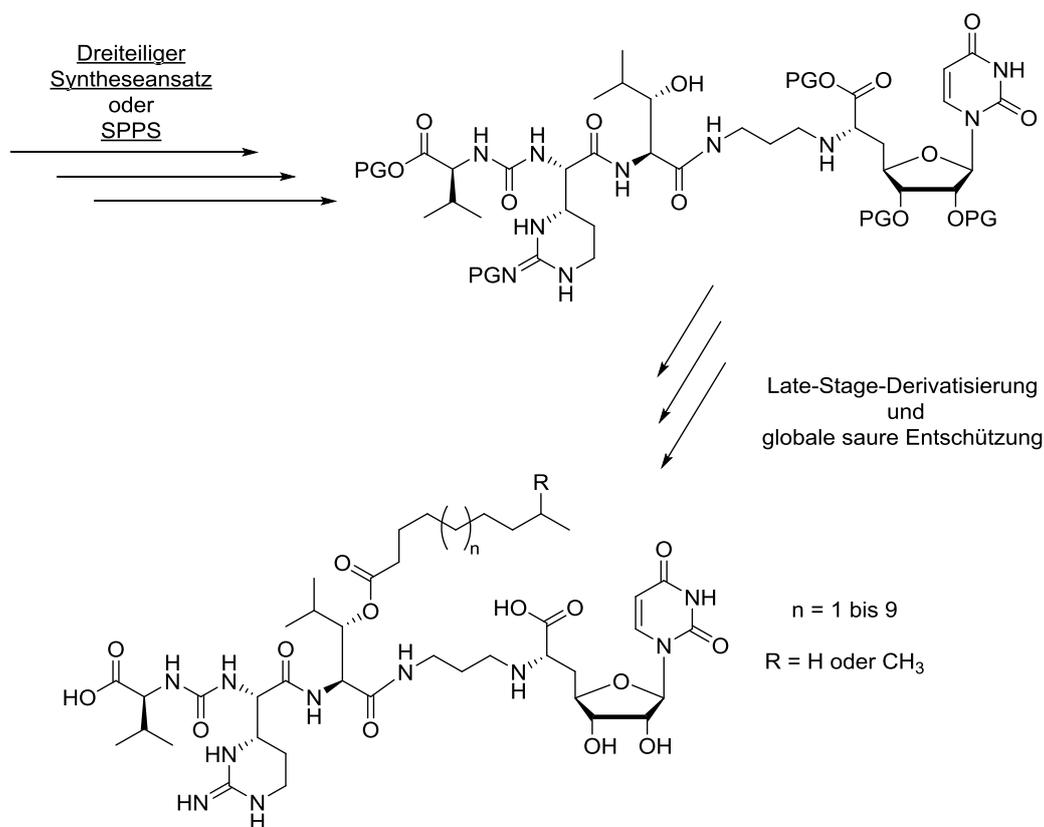


Abb. 6.1 Alternative Syntheserouten zur Darstellung weiterer *O*-acylierter Muraymycin-Derivate.

In den Synthesen sollte zunächst der Einbau von weiteren Fettsäure-Seitenketten mit unterschiedlichen Kettenlängen in die vereinfachte 5'-Desoxy-Grundstruktur angestrebt werden. Die in dieser Arbeit entwickelte Synthesestrategie aus dreiteiligem Syntheseansatz zur geschützten Grundstruktur und ihrer weiteren Derivatisierung sollte die Einführung anderer Fettsäure-Seitenketten leicht ermöglichen (Abb. 6.1). Weiterhin könnte dazu auch der bereits erwähnte SPPS-Ansatz genutzt werden. Die aktivsten synthetischen und natürlichen Muraymycine enthielten Fettsäure-Seitenketten mit 13 Kohlenstoffatomen, weshalb für die Kettenlänge ein linearer Bereich zwischen 9 bis 17 Kohlenstoffatomen gewählt werden sollte. In den natürlichen Muraymycinen unter Vernachlässigung der terminalen Verzweigung liegen ausschließlich ungeradzahlige Seitenketten vor. Deshalb wäre es ebenfalls interessant zu erfahren, ob eine Verwendung von geradzahligen Seitenketten ebenfalls für die Darstellung von antibiotisch-aktiven Verbindungen führen kann. Nach Evaluierung der biologischen Daten sollte ein Trend in Abhängigkeit der vorhandenen Kettenlänge erhalten werden, woraus eine optimale Kettenlänge für gute antibiotische Aktivitäten ermittelt werden könnte. Im Zuge dieser Arbeiten könnten analog zu den natürlich vorkommenden Muraymycinen auch Derivate mit

terminal verzweigten Fettsäure-Seitenketten dargestellt werden, um weitere Informationen über dieses natürliche Strukturmerkmal zu sammeln (Abb. 6.1).

Ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Zellaufnahme und einer vorhandenen antibiotischen Aktivität konnte durch den durchgeführten Modellassay an Vesikelmembranen nachgewiesen werden. Im beschriebenen Permeations-Assay an Membran-Mimetika konnte eine bessere Permeation für die lipophilen Verbindungen nachgewiesen werden. Der erhaltene Trend im Permeationsverhalten der Verbindungen war jedoch mit den Aktivitätsdaten der Muraymycine nur begrenzt möglich. Der vorliegende Assays wurde vor allem für die Untersuchung der Aufnahme von pharmazeutisch aktiven Wirkstoffen entwickelt. Deshalb sollte ergänzend eine weitere Messreihe unter Verwendung von unterschiedlichen natürlichen und synthetischen Muraymycinen durchgeführt werden, um im Gegensatz zu den bereits verwendeten Modellverbindungen eine genauere Aussage über das Permeationsverhalten der Muraymycine zu erhalten.

Ein anderessartiges Assaysystem für die Evaluierung der Zellaufnahme wurde in der Arbeitsgruppe *Ducho* von Joscha Meiers entwickelt. Dieser Assay basierte auf der Verwendung einer Gram-negativen Bakterienkultur, die mit einer Lösung eines potenziell zellgängigen Antibiotikums versetzt wurde. Nach anschließender Lyse der Zellen wurde das Zelllysate abgetrennt und mittels HPLC-MS auf die permeierte Substanz untersucht. Dabei konnten Unterschiede in Abhängigkeit der eingesetzten Wirkstoffkonzentration sowie der jeweils verwendeten Inkubationszeit festgestellt werden. Außerdem wurde die Permeation unter Berücksichtigung der doppelwandigen Gram-negativen Zellmembran untersucht, wobei zwischen einer periplasmatischen und cytosolischen Aufnahme unterschieden werden konnte. Die synthetisierten *O*-acylierten Muraymycin-Derivate stellen ideale Kandidaten für den beschriebenen Assay dar und sollten weitere Informationen zum Permeationsverhalten der Verbindungen liefern. Dabei wäre von großem Interesse, ob eine Korrelation zu den entsprechenden MIC-Werten der Verbindungen bzw. zu der im Vesikel-Assay beobachteten Membraninteraktion erhalten werden kann. Für die dieser Arbeit dargestellten Muraymycin-Derivate wurden sehr gute antibiotische Aktivitäten gegenüber *S. aureus* nachgewiesen, weshalb eine Etablierung des Zellaufnahme-Assays ebenfalls unter Verwendung von Gram-positiven Bakterienstämmen angestrebt werden sollte.

Für die Synthese von neuartigen Muraymycin-Derivaten mit Aminofunktion in der 3-Position der zentralen Leucin-Einheit sollte die Synthese von (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33** fortgeführt werden. Die Synthese des terminalen 1,2-Diols sollte mittels regio- und stereoselektiver Epoxidöffnung durchgeführt werden. Eine literaturbekannte Methode^[179] unter Einsatz von

Trimethylsilylazid und Titan-*iso*-propoxid führte zur Bildung eines Nebenproduktes, die höchstwahrscheinlich durch die anwesende Lewis-Säure katalysiert wurde. Die Reaktion unter Verwendung von Natriumazid resultierte in der Bildung eines Substanzgemisches, in dem bevorzugt das nicht erwünschte 1,3-Diol gebildet wurde. Im Anschluss sollten deshalb weitere Lewis-Säuren in der Epoxidöffnung eingesetzt werden. Sollte dies ebenfalls nicht zum gewünschten Erfolg der Reaktion führen, könnten speziellere Bedingungen, wie beispielsweise eine Verwendung von Zeolithen untersucht werden. In ähnlichen Reaktionen führte dies zur Bildung des gewünschten 1,2-Diols.^[182–184] Nach erfolgreicher Darstellung des gewünschten (2*S*,3*S*)-3-Azido-1,2-dihydroxy-Derivats **118** könnte im Anschluss eine Überführung in Verbindung **121** durchgeführt werden (Abb. 6.2). Eine NMR-spektroskopische Analyse der Sechsring-Verbindung könnte dann einen weiteren Beweis für die Stereochemie in Epoxid **86** liefern. Nach Reduktion der Azido-Funktion und Schützung (z.B. Acetyl) der resultierenden Aminofunktion sollte die terminale Hydroxygruppe mit einer entsprechenden Schutzgruppe (z.B. TBDPS oder TBDMS) versehen werden. Im Anschluss sollte dann eine Hydrogenolyse der Cbz-Gruppe erfolgen. Anschließende Cyclisierung sollte schließlich das Oxazinan **121** hervorbringen (Abb. 6.2).

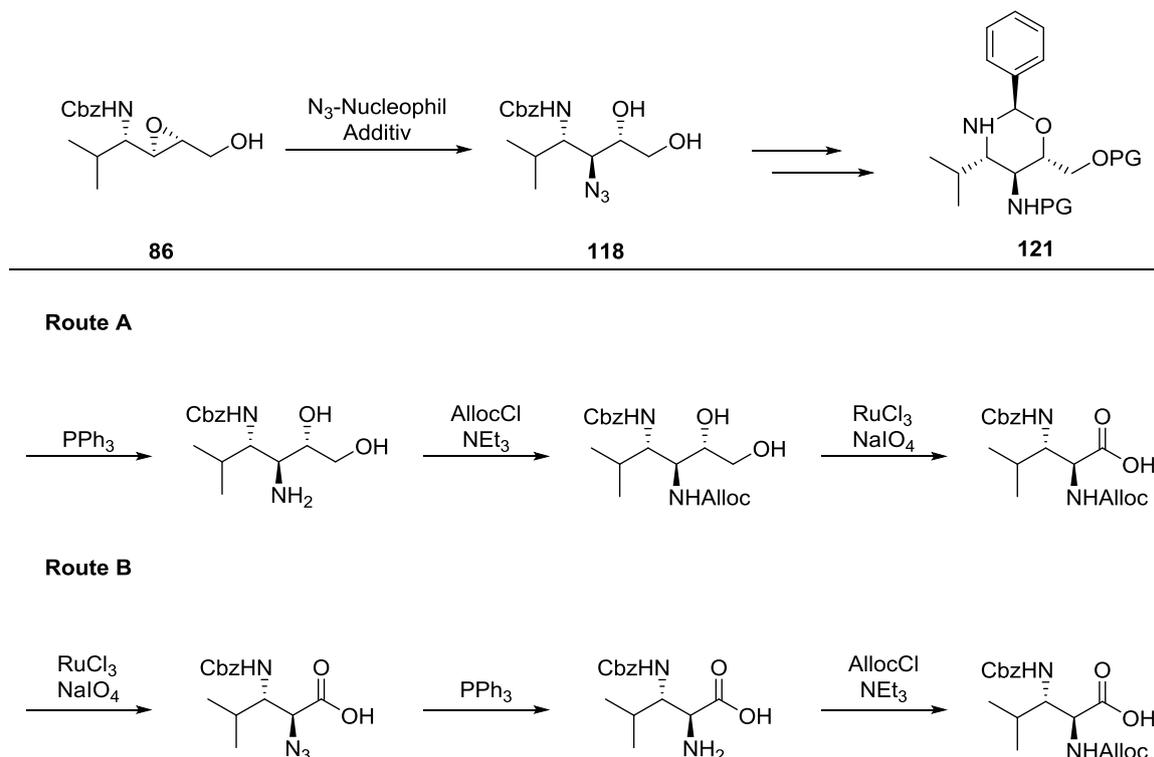


Abb. 6.2 Finale Syntheseschritte zur Darstellung von (2*S*,3*S*)-3-Aminoleucin **33**.

Weiterhin sollte das (2*S*,3*S*)-3-Azido-1,2-dihydroxy-Derivats **118** für die Darstellung des angestrebten Bausteins verwendet werden. Dazu könnten zwei unterschiedliche Routen zur Synthese verfolgt werden. In der ersten Route sollte zunächst das Azid zum Amin reduziert

(Staudinger-Bedingungen) und anschließend durch Reaktion mit Alloc-Chlorid geschützt werden. Oxidative Diol-Spaltung sollte die gewünschte Diaminosäure freisetzen (Abb. 6.2, Route A). Alternativ könnte die Diolspaltung vor der Reduktion des Azids, und der anschließenden Schützung des resultierenden Amins erfolgen (Abb. 6.2, Route B). Nach erfolgreicher Synthese des Bausteins **33** sollte der Einbau in das Muraymycin-Grundgerüst angestrebt werden. Die Aminofunktion sollte ebenfalls eine weitere Derivatisierung mit Fettsäure-Seitenketten erlauben, wobei anstelle der Esterbindung eine Amidbindung resultieren sollte. Anschließende SAR-Studien sollten neue Einblicke über die Funktion und Relevanz eines Substituenten in der 3-Position des Leucins liefern, wobei vor allem die Stabilität der Amidbindung im Hinblick auf die Synthese neuartiger Muraymycin-Derivate und ihrer biologischen Eigenschaften vorteilhaft sein wird.

7. Experimentalteil

7.1 Allgemeines

7.1.1 Allgemeine Methoden

Die Reaktionen wurden unter Inertgasbedingungen in zuvor ausgeheizten Glasgeräten durchgeführt. Falls nicht anders angegeben, diente Stickstoff als Inertgas, welches zur Trocknung durch Phosphor(V)-oxid und Orangegel geleitet wurde. Bei Reaktionen, die gekühlt ($T < 0\text{ °C}$) werden mussten, wurden Kältemischungen (Wasser/Eis, Wasser/Eis/NaCl, fl. Stickstoff/Aceton) eingesetzt.

7.1.2 Edukte und Reagenzien

Die Edukte und Reagenzien wurden in Synthesequalität erworben und nicht weiter gereinigt. Käuflich erhältliche Edukte wurden von den folgenden Firmen bezogen: *ABCR*, *Alfa Aesar*, *Acros Organics*, *Fluka*, *Grüssing*, *Sigma-Aldrich* und *VWR*. Einige Vorstufen und Reagenzien wurden in der Arbeitsgruppe *Ducho* synthetisiert und standen zur weiteren Verfügung bereit.

7.1.3 Lösungsmittel

Die folgenden Lösungsmittel wurden in technischer Qualität erworben und im Vakuum unter inertgasfreien Bedingungen destilliert:

Dichlormethan (DCM)

Ethylacetat (EE)

Petrolether, 40 °C-60 °C (PE).

Alle weiteren Lösungsmittel, die zur Extraktion, Säulenchromatographie oder anderen Aufarbeitungsschritten der Reaktionsgemische verwendet wurden, wurden in Synthesequalität (bzw. „Zur Analyse“) erworben.

7.1.4 Absolute Lösungsmittel

Absolutierte Lösungsmittel für den Einsatz in Reaktionen unter Luft- oder Feuchtigkeitsausschluss wurden käuflich bei der Firma *Sigma Aldrich* erworben oder, wie im Folgenden beschrieben, getrocknet und gereinigt. Die Trocknungsanlage MB SPS 800 (Solvent Purification System) der Firma *MBRAUN* wurde mit Lösungsmitteln des Reinheitsgrades „HPLC grade“ betrieben.

Acetonitril (MeCN): SPS, über Molekularsieb (3 Å) gelagert.

Dichlormethan (DCM): SPS.

Diethylether (Et₂O): SPS.

Dimethylsulfoxid (DMSO): Synthesequalität, über Molekularsieb (3 Å) gelagert.

Iso-Propanol: HPLC-Qualität, Vortrocknung über Calciumsulfat-Hemihydrat, über Molsieb (3 Å) gelagert.

Methanol (MeOH): HPLC-Qualität, über Molekularsieb (3 Å) gelagert.

N,N-Dimethylformamid (DMF): SPS.

Tetrahydrofuran (THF): SPS, Lagerung über Molekularsieb (3 Å).

Triethylamin (NEt₃): Synthesequalität, über Molekularsieb (3 Å) gelagert.

Die Lösungsmittel wurden zur Lagerung in Schlenk-Kolben aufbewahrt und vor Verwendung entgast und mit Inertgas versetzt.

7.1.5 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC)

Als Material dienten kieselgelbeschichtete Aluminiumplatten mit Fluoreszenzindikator (Kieselgel 60 F₂₅₄) der Firmen *Merck* und *VWR*. Die Gesamtlaufstrecke während der Dünnschichtchromatographie betrug 3.5 cm bis 4 cm, wobei eine gesättigte Kammeratmosphäre herrschte. Zum Anfärben der DC-Platten wurden Vanillin-Schwefelsäure-Lösung (VSS, 4 g Vanillin, 25 mL konz. Schwefelsäure, 80 mL Essigsäure und 680 mL Methanol), Ninhydrin-Lösung (100 mL Butanol, 3 mL Essigsäure und 0.3 mL Ninhydrin) und Kaliumpermanganat-Lösung (100 mL Wasser, 1.5 mL 5 % NaOH, 6 g K₂CO₃, 1 g KMnO₄) verwendet. Des Weiteren diente eine UV-Lampe mit einer Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm für die Detektion von UV-aktiven Verbindungen.

Säulenchromatographie

Als Säulenmaterial bei der Normalphasen-Chromatographie wurde Kieselgel 60 mit einer Partikelgröße von 40-63 μm der Firma *VWR* eingesetzt. Zur Reversed-Phase-Chromatographie (RP-Chromatographie) diente RP-Kieselgel 90 C₁₈ mit einer Partikelgröße von 40-63 μm der Firma *Fluka*. Beide Chromatographie-Varianten wurden bei schwierigen Trennungproblemen unter Schwerkraft und ansonsten unter Flash-Bedingungen durchgeführt.

Analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Analytische HPLC)

Die analytische HPLC wurde zur Reaktions- und Reinheitskontrolle sowie zur Methodenentwicklung für die weitere semipräparative HPLC-Reinigung verwendet. Das verwendete HPLC-System der Firma *Thermo Scientific* bestand aus den folgenden Komponenten: SN 4000 Controller, SCM 1000 Mischer, P4000 Pumpe, AS3000 Autosampler und UV 2000 Detektor und Surveyor MSQ Plus ESI-Massenspektrometer von der Firma *Finnigan*. Die verwendeten Lösungsmittel wurden in „HPLC grade“-Qualität von den Firmen *VWR* und *Sigma Aldrich* erworben. Zur Trennung wurden dabei Laufmittelmischungen aus

Wasser (Milli-Q-Qualität) und Acetonitril oder Wasser und Methanol verwendet. Zur besseren Protonierung einiger Substanzen wurde Trifluoressigsäure (TFA) als Additiv (0.1 %) zugesetzt. Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses erfolgte an der chiralen Trennphase *Chiralcel OD-H* (250 x 4.6 mm) der Firma *Daicel Chemical Industries* an einer HPLC-Anlage der Firma *MerckHitachi* (Modell LaChrom D-7000). Als Lösungsmittel wurden *iso*-Propanol und *n*-Hexan in „HPLC grade“-Qualität eingesetzt.

Semipräparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Semipräparative HPLC)

Die semipräparative HPLC diente zur Reinigung der finalen Zielverbindungen. Dabei wurde zum einen ein System der 1200-Serie von der Firma *Agilent Technologies* und zum anderen das System *LaChrom Elite*[®] der Firma *Hitachi* (vertrieben durch *VWR*), bestehend aus einer L-2300 Pumpe, einem L-2200 Autosampler und einem L-2300 Säulenofen, verwendet. Die Aufzeichnung der Chromatogramme erfolgte unter Verwendung eines L-2455 Diode Array Detector (DAD). Die Trennung erfolgte an der semipräparativen Säule des Typs *LichroCart*[®] *Purospher*[®] RP18e (5 µm, 10 x 250 mm). Dabei wurden Laufmittelgemische aus Wasser, Acetonitril und Trifluoressigsäure (0.1 % als Additiv) in „HPLC grade“-Qualität (*Sigma Aldrich* oder *VWR*) verwendet. Bei der Angabe der erhaltenen Retentionszeiten (t_R [min]) wurde auf eine Bereinigung der Totzeit verzichtet. Die verwendeten Methoden sind im Anhang detailliert zusammengefasst.

7.1.6 Spektroskopie und Spektrometrie

NMR-Spektroskopie

Die Messung der NMR-Spektren erfolgte in der NMR-Abteilung des Departments Chemie der Universität Paderborn an einem *Bruker Avance-500* (¹H-NMR: 500 MHz, ¹³C-NMR: 125 MHz). Weitere Messungen wurden in den NMR-Abteilungen der Fachrichtung Pharmazie der Universität des Saarlandes, der Fachrichtung Chemie der Universität des Saarlandes, sowie am Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) durchgeführt. Dabei kamen die folgenden Geräte der Firma *Bruker* zum Einsatz: *Avance-500 Ultra Shield*[™] mit einem B-ACS 60 Autosampler, *Avance-DRX-500*, *Avance-III-500* mit TCI Cryo-Probenkopf

(^1H -NMR: 500 MHz, ^{13}C -NMR: 125 MHz), sowie an einem Avance-II-400 (^{31}P -NMR: 162 MHz, ^{19}F -NMR: 376 MHz).

Als Lösungsmittel wurden deuteriertes Chloroform (99.8 %, *Deutero*), deuteriertes Dimethylsulfoxid (99.9 %, *Deutero*), deuteriertes Acetonitril (99.9 %, *Deutero*) und Deuteriumoxid (99.9 %, *Deutero*) eingesetzt, die zusätzlich als interne Standards dienten. Für einige Messungen wurden Gemische aus D_2O und $\text{DMSO-}d_6$ verwendet, wobei $\text{DMSO-}d_6$ tropfenweise als Cosolvens zugefügt wurde. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software MestReNova der Firma *Mestrelab Research S.L.*, sowie mit der Software Topspin der Firma *Bruker*. Neben den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren wurden auch 2D-Korrelations-Spektren ($^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY, $^1\text{H},^1\text{H}$ -TOCSY, $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HSQC und $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC) aufgenommen, um eine genaue Zuordnung der Signale zu gewährleisten. Für die Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale der ^1H -NMR-Spektren wurden die folgenden Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin (Quintett) und m (Multipllett). Die Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) und die chemischen Verschiebungen in der ppm-Einheit der δ -Skala angegeben. Bei diastereotopen Protonen wurden die Signale durch den tiefgestellten Index a für hochfeldverschobene Signale und b für tieffeldverschobene Signale gekennzeichnet. Der Großteil der Spektren wurde bei Raumtemperatur aufgenommen. Bei Verbindungen, die zu Rotamerenbildung neigten, erfolgte die Messung bei erhöhter Temperatur, was für die jeweilige Substanz angegeben wurde.

Massenspektrometrie (ESI und ESI-HRMS)

Für die Bestimmung der niederaufgelösten Massen wurde das Surveyor MSQ Plus ESI-Massenspektrometer der Firma *Finnigan* verwendet.

Die Bestimmung einiger weniger niederaufgelösten Massen wurden an einem Gerät der Firma *Shimadzu* (Systemcontroller SCL-10A, Flüssigchromatograph LC-10At, Autoinjektor SCL-6B, Massenspektrometer LCMS-2020, keine Angabe von Dezimalstellen) durchgeführt. Als Trennsäule wurde eine Phenomenex Luna C18(2)-Säule (50 x 4.6 mm, Partikelgröße 3 μm) verwendet. Die Detektion erfolgte mittels eines Diodenarray-Detektors (190-300 nm) sowie des oben genannten Massenspektrometers durch APCI- und Elektrospray-Ionisierung.

Die hochauflösenden Massen wurden im Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) an einem *Q Excative Focus* Massenspektrometer mit vorgeschalteter *Dionex Ultimate 3000* UHPLC der Firma *ThermoScientific* gemessen.

IR-Spektroskopie

Die Messung der IR-Spektren erfolgte mit dem Fouriertransformations-Infrarot-(FTIR)-Spektrometer ALPHA von *Bruker* mit einer Platinum-ATR-Einheit. Bei den angegebenen Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] handelt es sich um die zehn bis zwölf stärksten Absorptionsintensitäten für die jeweilige Substanz.

UV/VIS-Spektroskopie

Die UV-/VIS-Spektren wurden mit einem Cary Series 100 UV/VIS-Spectrophotometer der Firma *Agilent Technologies* aufgenommen. Als Lösungsmittel diente Methanol in HPLC-Qualität. Die Spektren wurden in einem Wellenlängenbereich $\Delta\lambda$ von 200 nm bis 800 nm gemessen, wobei die Absorptionsmaxima λ_{max} [nm] abgelesen und notiert wurden.

Weitere Absorptionsmaxima wurden aus den UV-Spektren der HPLC-Läufe (*Dionex Ultimate 3000* UHPLC der Firma *ThermoScientific*) während der Messung der hochaufgelösten Massen ermittelt.

Polarimetrie

Die spezifischen Drehwinkel $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ [$^{\circ}$ mL/g·dm] wurden mit dem Polarimeter 341 der Firma *Perkin Elmer* unter Verwendung einer Natriumdampfampe ($\lambda = 589$ nm) und einer Quarzküvette ($l = 10$ mm) gemessen. Die Messungen wurden bei einer Temperatur von 20 °C ± 0.1 °C. Die Massenkonzentration wird in [g/dL] angegeben.

7.1.7 Geräte

Gefriertrocknungs-Anlage

Zur Gefriertrocknung von wässrigen und wasserhaltigen Lösungen diente die Gefriertrocknungs-Anlage Alpha 2-4 LD Plus der Firma *Christ*.

Schmelzpunktbestimmungsapparatur

Die Schmelzpunkte T_m wurden mithilfe der Schmelzpunktbestimmungsapparatur SMP3 der Firma *Stuart Scientific* oder der Schmelzpunktbestimmungsapparatur SMP10 der Firma *Bibby Scientific* durchgeführt. Die Angabe der Schmelzpunkte erfolgte in °C.

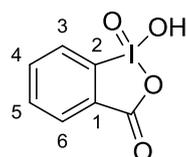
Ozongenerator

Die Durchführung der Ozonolyse-Reaktionen erfolgte mit einem Ozongenerator 500 der Firma *Fischer Technology*.

7.2 Synthesen

7.2.1 Synthese von Reagenzien

7.2.1.1 Synthese von 2-Iodoxybenzoesäure (IBX)



2-Iodbenzoesäure (15.0 g, 60.5 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (600 mL) gelöst. Nachdem Oxone[®] (112 g, 182 mmol, 3.0 Äq.) hinzugefügt worden war, erfolgte das Erhitzen auf 75 °C für 3 h. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch filtriert und der Filterkuchen wurde mit Ether, Wasser und Aceton (jeweils 250 mL) gewaschen. Die Trocknung erfolgte am Hochvakuum.

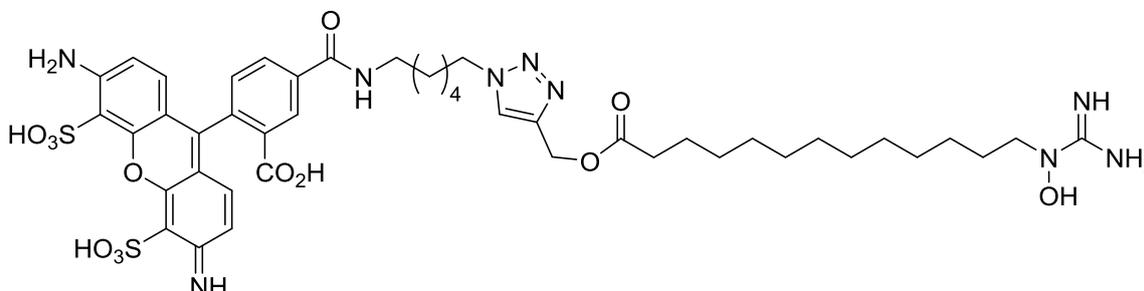
Ausbeute: 6.18 g (22.1 mmol, 37 %) als weißer Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (300 MHz, DMSO-*d*₆): 7.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, 5-H), 7.98-8.04 (m, 2H, 4-H, 6-H), 8.15 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 3-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (76 MHz, DMSO-*d*₆): 125.01 (C-3), 130.09 (C-6), 131.44 (C-1), 132.95 (C-5), 133.39 (C-4), 146.57 (C-2), 167.49 (C=O).

7.2.2 Synthesen der AlexaFluor488®-Fettsäure-Derivate

7.2.2.1 Synthese des AlexaFluor488®-C₁₃-Hydroxyguanidin-Konjugats **38**^[147]



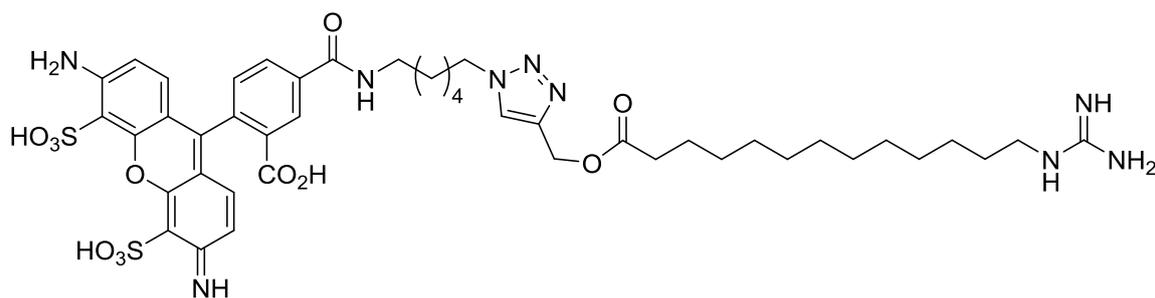
Ein Gemisch aus AlexaFluor488®-Azid (50 mM in DMF, 2 μ L, 0.1 μ mol, 1.0 Äq.), ω -Hydroxyguanidinotridecansäurepropargylester **37** (50 mM in Methanol, 8 μ L, 0.4 μ mol, 4.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 4 μ L, 0.08 μ mol, 0.8 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 4 μ L, 0.04 μ mol, 0.4 Äq.), Methanol (6 μ L) und Triton X-100 (48 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute (38): 14 nmol (14 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): t_R = 9.9 min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μ L (c < 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): t_R = 24.4 min (Methode MW_261_5_1), Injektionsvolumen: 400 μ L Lösung in DMF.

MS (ESI): m/z = 984.61 [M+H]⁺.

7.2.2.2 Synthese des AlexaFluor488[®]-C₁₃-Guanidin-Konjugats 56

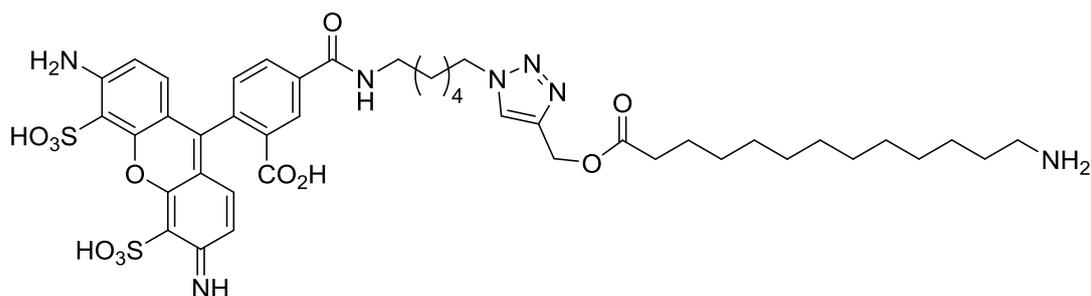
Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 4 μ L, 0.2 μ mol, 1.0 Äq.), ω -Guanidinotridecansäurepropargylester **41** (50 mM in Methanol, 16 μ L, 0.8 μ mol, 4.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 8 μ L, 0.16 μ mol, 0.8 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 8 μ L, 0.08 μ mol, 0.4 Äq.), Methanol (12 μ L) und Triton X-100 (96 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute (56): 38 nmol (19 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): $t_R = 9.7$ min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μ L (c < 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 32.3$ min (Methode MW_261_5_1), Injektionsvolumen: 400 μ L Lösung in DMF.

MS (ESI): m/z = 968.68 [M+H]⁺.

7.2.2.3 Synthese des AlexaFluor488[®]-C₁₃-Amin-Konjugats 57

Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 4 μ L, 0.2 μ mol, 1.0 Äq.), ω -Aminotridecansäurepropargylester **42** (50 mM in Methanol, 16 μ L, 0.8 μ mol, 4.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 8 μ L, 0.16 μ mol, 0.8 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 8 μ L, 0.08 μ mol, 0.4 Äq.), Methanol (12 μ L) und Triton X-100 (96 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

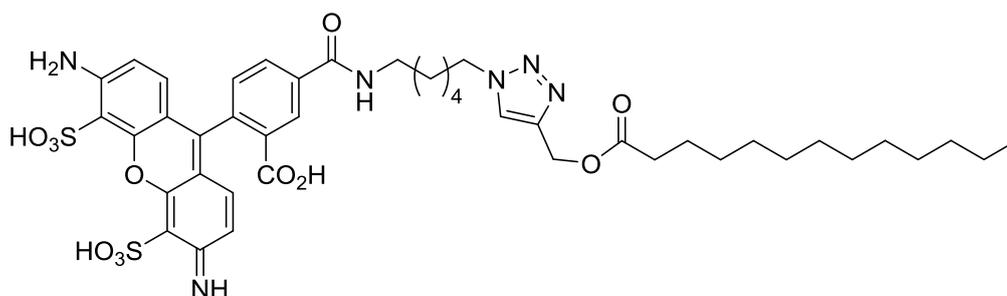
Ausbeute (57): 33 nmol (17 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): $t_R = 9.0$ min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μ L (c < 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 16.0$ min (Methode MW_261_5_2), Injektionsvolumen: 400 μ L Lösung in DMF.

MS (ESI): m/z = 926.63 [M+H]⁺.

7.2.2.4 Synthese des AlexaFluor488[®]-C₁₃-Konjugats **58**



Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 4 μ L, 0.2 μ mol, 1.0 Äq.), Tridecansäurepropargylester **43** (50 mM in Methanol, 16 μ L, 0.8 μ mol, 4.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 8 μ L, 0.16 μ mol, 0.8 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 8 μ L, 0.08 μ mol, 0.4 Äq.), Methanol (12 μ L) und Triton X-100 (96 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

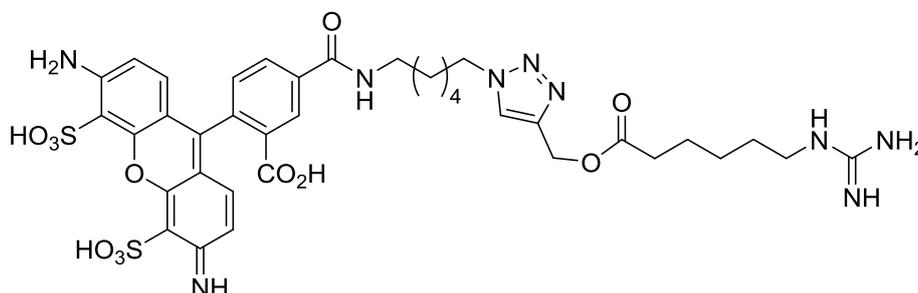
Ausbeute (58): 69 nmol (35 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): $t_R = 24.0$ min (Methode MWP_261_5_3), Injektionsvolumen: 20 μL ($c < 1$ mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 28.1$ min (Methode MW_261_5_3präp), Injektionsvolumen: 150 μL Lösung in DMF.

MS (ESI): $m/z = 911.50$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.2.5 Synthese des AlexaFluor488[®]-C₆-Guanidin-Konjugats 59



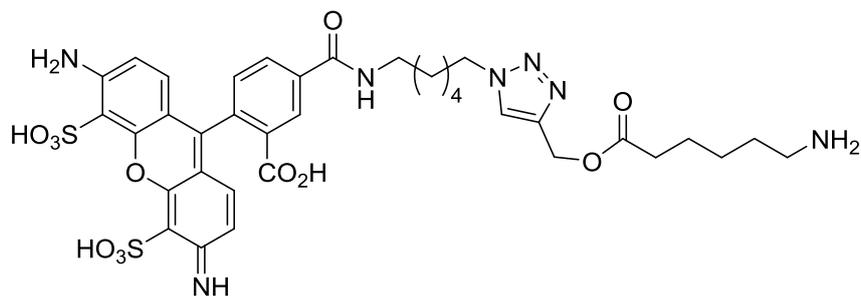
Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 2 μL , 0.1 μmol , 1.0 Äq.), ω -Guanidinohexansäureproparylester **44** (50 mM in Methanol, 8 μL , 0.4 μmol , 4.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 4 μL , 0.08 μmol , 0.8 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 4 μL , 0.04 μmol , 0.4 Äq.), Methanol (6 μL) und Triton X-100 (48 μL , 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute (59): 24 nmol (24 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): $t_R = 6.8$ min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μL ($c < 1$ mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 19.9$ min (Methode MW_133_7_3), Injektionsvolumen: 400 μL Lösung in DMF.

MS (ESI): $m/z = 870.36$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.2.6 Synthese des AlexaFluor488[®]-C₆-Amin-Konjugats 60

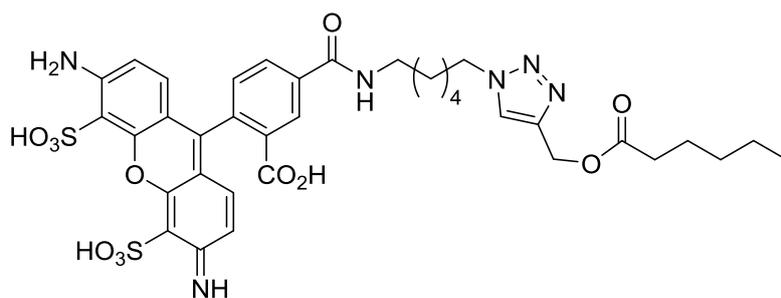
Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 2 μ L, 0.1 μ mol, 1.0 \ddot{A} q.), ω -Aminohexansäureproparylester **45** (50 mM in Methanol, 8 μ L, 0.4 μ mol, 4.0 \ddot{A} q.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 4 μ L, 0.08 μ mol, 0.8 \ddot{A} q.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 4 μ L, 0.04 μ mol, 0.4 \ddot{A} q.), Methanol (6 μ L) und Triton X-100 (48 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute (60): 28 nmol (28 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): t_R = 6.1 min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μ L (c < 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): t_R = 5.1 min (Methode MW_261_6_1), Injektionsvolumen: 400 μ L Lösung in DMF.

MS (ESI): m/z = 828.34 [M+H]⁺.

7.2.2.7 Synthese des AlexaFluor488[®]-C₆-Konjugats 61

Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 2 μ L, 0.1 μ mol, 1.0 Äq.), Hexansäurepropargylester **46** (50 mM in Methanol, 8 μ L, 0.4 μ mol, 4.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 4 μ L, 0.08 μ mol, 0.8 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 4 μ L, 0.04 μ mol, 0.4 Äq.), Methanol (6 μ L) und Triton X-100 (48 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

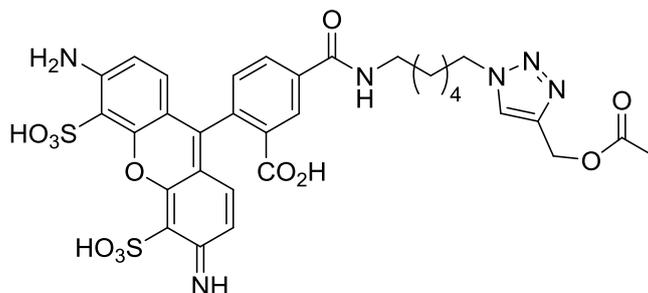
Ausbeute (61): 54 nmol (54 %) als roter Feststoff.

HPLC (analytisch): $t_R = 9.7$ min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μ L (c < 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 25.2$ min (Methode MW_261_6_1), Injektionsvolumen: 400 μ L Lösung in DMF.

MS (ESI): m/z = 813.31 [M+H]⁺.

7.2.2.8 Synthese des AlexaFluor488[®]-Acetyl-Konjugats **40**^[147]



Ein Gemisch aus AlexaFluor488[®]-Azid (50 mM in DMF, 2 μ L, 0.1 μ mol, 1.0 Äq.), Propargylacetat **39** (50 mM in Methanol, 14 μ L, 0.7 μ mol, 7.0 Äq.), Natrium-L-ascorbat (20 mM in Wasser, 10 μ L, 0.2 μ mol, 2.0 Äq.), Kupfer(II)sulfat (10 mM in Wasser, 10 μ L, 0.1 μ mol, 1 Äq.), Dimethylformamid (8 μ L) und Triton X-100 (48 μ L, 10 % in Wasser) wurde in ein Mikroreaktionsgefäß pipettiert und über Nacht bei 50 °C im ThermoMixer gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgte mit semipräparativer HPLC. Das Lösungsmittel des Eluats wurde mittels Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute (40): 47 nmol (47 %) als roter Feststoff.

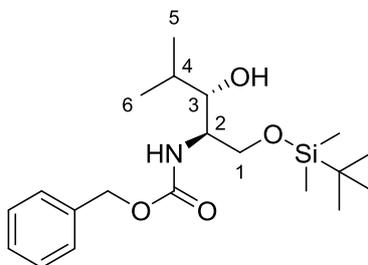
HPLC (analytisch): $t_R = 6.6$ min (Methode MWP_QC_261_5_1), Injektionsvolumen: 20 μL ($c < 1$ mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 13.3$ min (Methode MW_261_6_1), Injektionsvolumen: 400 μL Lösung in DMF.

MS (ESI): $m/z = 757.16$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.3 Synthese des Hydroxyleucin-Derivates

7.2.3.1 Synthese des (2*R*,3*S*)-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-1-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-4-methylpentan-3-ols **96**^[143]



Der Aminoalkohol **64** (420 mg, 1.70 mmol, 1 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Wasser (6 mL) und 1,4-Dioxan (10 mL) gelöst. Nach Zugabe von Natriumcarbonat (540 mg, 5.09 mmol, 3 Äq.) wurde das Gemisch auf 0 °C gekühlt. Chlorameisensäurebenzylester (521 mg, 0.44 mL, 1.8 Äq.) wurde zugefügt und es wurde über einen Zeitraum von 17 h gerührt, wobei die Lösung auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Das Gemisch wurde mit Wasser (10 mL) versetzt und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 15 mL) extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die weitere Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 4:1).

Ausbeute (96): 580 mg (1.52 mmol, 90 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f (PE/EE 4:1) = 0.33.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.08 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.92 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 5-H), 1.05 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 6-H), 1.70-1.82 (m, 1H, 4-H), 2.96 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, OH), 3.27 (ddd, $J = 8.8$ Hz, $J = 8.8$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1H, 3-H), 3.71-3.79 (m, 1H, 2-H), 3.85 (dd, $J = 10.6$ Hz,

$J = 1.7$ Hz, 1H, 1-H_a), 4.00 (dd, $J = 10.6$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, 1-H_b), 5.09-5.14 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.62 (d, $J = 8.0$ Hz, NH), 7.28-7.37 (m, 5H, Ph-H).

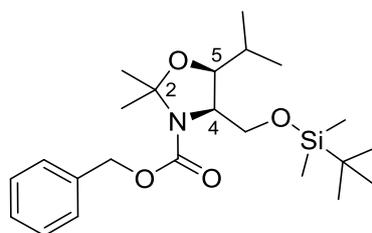
¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃): -5.59 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -5.51 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 18.23 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 19.03 (C-5), 19.36 (C-6), 25.94 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 31.94 (C-4), 52.08 (C-2), 63.75 (C-1), 66.84 (NCO₂CH₂Ph), 79.63 (C-3), 128.21, 128.25, 128.66 (C_{tert}-Ph), 136.72 (C_{quart}-Ph), 156.10 (NCO₂CH₂Ph).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2956, 2930, 2857, 1707, 1506, 1470, 1254, 1216, 1101, 1070, 837, 778.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 257$ nm.

MS (ESI): $m/z = 404.08$ [M+Na]⁺.

7.2.3.2 Synthese des (4*R*,5*S*)-*N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-4-(*tert*-butyldimethylsilyloxy-methyl)-5-*iso*-propyl-2,2-dimethyloxazolidins 97^[143]



Verbindung **96** (600 mg, 1.57 mmol, 1.0 Äq.), (±)-Camphersulfonsäure (55 mg, 0.24 mmol, 0.15 Äq.) und Magnesiumsulfat (625 mg, 5.19 mmol, 3.3 Äq.) wurden in 2,2-Dimethoxypropan (12 mL) suspendiert und bei 55 °C für 27 h gerührt. Im Anschluss wurde ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (40 mL) zugefügt und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 40 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die weitere Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 12:1).

Ausbeute (97): 597 mg (1.42 mmol, 90 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f (PE/EE 12:1) = 0.34.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*₆, 120 °C): 0.02 (s, 6H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.88 (s, 9H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.97 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH(CH₃)₂), 0.99 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, CH(CH₃)₂), 1.48 (s, 6H, 2 x 2-CH₃), 1.97-2.07 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.57 (dd, $J = 10.3$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1H, 4-CH_aH_b), 3.67 (dd, $J = 9.8$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1H, 5-H), 3.78 (dd, $J = 10.3$ Hz, $J = 7.8$ Hz, 1H, 4-CH_aH_b), 3.95 (ddd, $J = 7.8$ Hz, $J = 4.6$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1H, 4-H), 5.10 (d,

$J = 9.6$ Hz, 1H, $\text{NCO}_2\text{CH}_a\text{H}_b\text{Ph}$), 5.12 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, $\text{NCO}_2\text{CH}_a\text{H}_b\text{Ph}$), 7.29-7.38 (m, 5H, Ph-H).

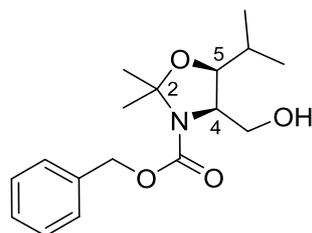
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 35 °C): -5.87 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 17.69 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 19.51 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 19.79, 19.85 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 22.88 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 25.56, 25.64, 26.45, 26.47 (2 x 2- CH_3), 27.44 ($\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 59.26, 59.78 (C-4), 59.92, 60.64 (4- CH_2), 65.76 ($\text{NCO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 81.91 (C-5), 91.69 (C-2), 127.66, 127.82, 128.30, 128.35 ($\text{C}_{\text{tert-Ph}}$), 136.54 ($\text{C}_{\text{quart-Ph}}$), 151.20 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 1706, 1404, 1351, 1255, 1133, 1094, 1054, 836, 777, 697.

UV (MeOH): λ_{max} = 203 nm, 257 nm.

MS (ESI): m/z = 444.94 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

7.2.3.3 Synthese des (4*R*,5*S*)-*N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-4-(hydroxymethyl)-5-*isopropyl*-2,2-di-methyloxazolidins **23**^[143]



Verbindung **97** (623 mg, 1.50 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (15 mL) gelöst, mit Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (2.3 mL, 2.3 mmol, 1 M in THF, 1.5 Äq.) versetzt und für 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 4:1) isoliert werden. Das Produkt konnte nicht vollständig gereinigt werden und wurde im nächsten Reaktionsschritt direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute (23): 376 mg eines noch verunreinigten gelben Öls (100 % Ausbeute: 461 mg).

DC: R_f (PE/EE 4:1) = 0.13.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.97 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 1.47 (s, 3H, 2- CH_3), 1.48 (s, 3H, 2- CH_3), 1.99-2.07 (m, 1H, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 3.42-3.49 (m, 1H, 4- CH_aH_b), 3.59-3.67 (m, 2H, 4- CH_aH_b , 5-H), 3.91-3.96 (m, 1H, 4-H), 4.30 (bs, 1H, OH), 5.07-5.15 (m, 2H, CH_2Ph), 7.28-7.42 (m, 5H, Ph-H).

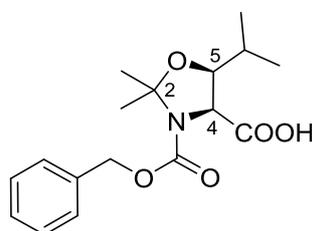
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 18.63 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 19.10 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25.87 (2 x 2- CH_3), 58.70 (C-4), 59.51 (4- CH_2), 65.32 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 81.58 (C-5), 91.24 (C-2), 126.83, 127.00, 127.63 ($\text{C}_{\text{tert-Ph}}$), 136.37 ($\text{C}_{\text{quart-Ph}}$), 151.33 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2960, 2939, 1699, 1409, 1379, 1354, 1254, 1129, 1089, 1046.

UV (MeOH): λ_{max} = 257 nm.

MS (ESI): m/z = 330.09 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

7.2.3.4 Synthese der (4*S*,5*S*)-*N*-(Benzyloxycarbonyl)-5-*iso*-propyl-2,2-dimethyloxazolidin-4-carbonsäure **24**^[143]



Der Alkohol **23** (376 mg, 1.22 mmol, 1 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Acetonitril (20 ml), Tetrachlormethan (10 mL) und Wasser (10 mL) gelöst und mit Natriumperodat (994 mg, 4.65 mmol, 3.8 Äq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt und Ruthenium(II)chlorid (51 mg, 0.25 mmol, 0.2 Äq.) wurde zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 3 h wurde Salzsäure (30 mL, 1 M) hinzugefügt und das resultierende Gemisch wurde über Celite filtriert. Die wässrige Phase wurde anschließend mit Ethylacetat (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (50 mL) gewaschen und nach erneuter Phasentrennung über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 1:1) erhalten werden.

Ausbeute (24): 252 mg (0.784 mmol, 52 % über zwei Stufen ausgehend vom TBDMS-Alkohol **97**) eines farblosen Öls.

DC: R_f (PE/EE 1:1) = 0.29.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 100 °C): 0.99 (d, J = 6.6 Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.01 (d, J = 6.6 Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.50 (s, 3H, 2- CH_3), 1.64 (s, 3H, 2- CH_3), 1.75 (dq, J = 9.2 Hz, J = 6.6 Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.89 (dd, J = 9.2 Hz, J = 2.9 Hz, 1H, 5-H), 4.38 (d, J = 6.0 Hz, 1H, 4-H), 5.05-5.15 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 7.27-7.41 (m, 5H, Ph-H).

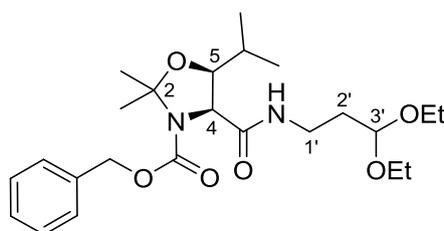
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 50 °C, Rotamere): 18.58, 18.71, 19.10, 19.15 (2 x $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 23.62, 24.74, 25.98 (2- CH_3), 28.23, 28.27 ($\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$), 61.24, 62.02 (C-4), 65.56, 66.29 ($\text{NCO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 80.68, 81.23 (C-5), 92.87, 93.22 (C-2), 126.74, 127.38, 127.46, 127.70, 128.05, 128.18 ($\text{C}_{\text{tert}}\text{-Ph}$), 136.21, 136.48 ($\text{C}_{\text{quart}}\text{-Ph}$), 150.94 ($\text{NCO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 170.63, 170.80 (4- CO_2H).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 1713, 1408, 1379, 1352, 1262, 1218, 1164, 1126 1093, 1052.

UV (MeOH): λ_{max} = 206 nm, 257 nm.

MS (ESI): m/z = 344.08 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

7.2.3.5 Synthese des (4*S*,5*S*)-*N*2-(Benzyloxycarbonyl)-*N*-(3',3'-diethoxypropan-1'-yl)-5-*iso*-propyl-2,2-dimethyl-oxazolidin-4-carbonsäureamids **25**^[143]



Die Carbonsäure **24** (344 mg, 1.07 mmol, 1 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (6.5 mL) gelöst. 1-Hydroxybenzotriazol (159 mg, 1.18 mmol, 1.1 Äq.) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (226 mg, 1.18 mmol, 1.1 Äq.) wurden zugefügt und die Lösung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von 3,3-Diethoxy-1-aminopropan (225 μL , 205 mg, 1.39 mmol, 1.3 Äq.) und Diisopropylethylamin (273 μL , 208 mg, 1.61 mmol, 1.5 Äq.). Die Lösung wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Ethylacetat (25 mL) wurde die organische Phase mit Wasser (1 x 15 mL), 1 M Salzsäure (1 x 15 mL), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (1 x 15 mL) und Wasser (1 x 15 mL) gewaschen. Die organischen Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 2:1) erhalten.

Ausbeute (25): 386 mg (0.857 mmol, 80 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f (PE/EE 2:1) = 0.15.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 100 °C): 0.93 (d, J = 6.5 Hz, 3H, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 0.96 (s, 3H, J = 6.6 Hz, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 1.12 (t, J = 7.0 Hz, 3H, $\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 1.13 (t, J = 7.0 Hz, 3H,

OCH₂CH₃), 1.48 (s, 3H, 2-CH₃), 1.60-1.79 (m, 3H, CH(CH₃)₂, 2'-H), 1.67 (s, 3H, 2-CH₃), 3.02-3.24 (m, 2H, 1'-H₂), 3.40-3.62 (m, 4H, OCH₂CH₃), 3.83 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1H, 5-H), 4.31 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, 4-H), 4.50 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, 3'-H), 5.03 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H, NCO₂CH₂H_bPh), 5.11 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H, NCO₂CH₂H_bPh), 7.26-7.38 (m, 5H, Ph-H), 7.41-7.49 (m, 1H, NH).

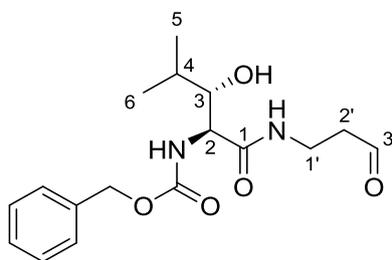
¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-*d*₆, 35 °C): 15.20 (OCH₂CH₃), 19.36, 19.40 (2 x CH(CH₃)₂), 23.61 (2-CH₃), 25.04 (2-CH₃), 27.84 (CH(CH₃)₂), 33.23 (C-2'), 34.73 (C-1'), 60.61, 60.78 (2 x OCH₂CH₃), 61.85 (C-4), 65.50 (NCO₂CH₂Ph), 81.57 (C-5), 93.21 (C-2), 100.39 (C-3'), 126.85, 127.49, 127.66, 127.89, 128.14, 128.37 (C_{tert}-Ph), 136.63 (C_{quart}-Ph), 151.16 (NCO₂CH₂Ph), 168.28 (4-C=O).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 1713, 1686, 1521, 1470, 1448, 1405, 1349, 1126, 1094, 1054.

UV (MeOH): λ_{\max} = 204 nm, 257 nm.

MS (ESI): m/z = 473.17 [M+Na]⁺.

7.2.3.6 Synthese des (2*S*,3*S*)-*N*2-(Benzyloxycarbonyl)-*N*1-(3-oxopropyl)-3-hydroxy-leucinamids **11**^[143]



Das Carbonsäureamid **25** (39.4 mg, 87.4 μ mol, wurde in einem Gemisch aus Dichlormethan (5.1 mL) und Trifluoressigsäure (0.9 mL) aufgenommen und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (10 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert (3 x 10 mL). Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produkt konnte durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE/EE 1:1 \rightarrow EE 100%) isoliert werden.

Ausbeute (25): 20.4 mg (60.6 μ mol, 70 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f (EE) = 0.31.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD₃CN): 0.86 (d, J = 6.7 Hz, 3H, 5-H), 0.93 (d, J = 6.8 Hz, 3H, 6-H), 1.67-1.77 (m, 1H, 4-H), 2.43-2.63 (m, 2H, 2'-H), 3.36-3.49 (m, 3H, 3-H, 1'-H), 3.62 (m, 1H, OH), 3.97-4.04 (m, 1H, 2-H), 5.03-5.12 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.94 (d, J = 8.3 Hz, NH), 6.81-6.98 (m, 1H, NH), 7.29-7.41 (m, 5H, Ph-H), 9.64-9.68 (m, 1H, 3'-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CD₃CN): 16.61 (C-5), 19.98 (C-6), 30.72 (C-4), 33.76 (C-1'), 44.04 (C-2'), 57.45 (C-2), 67.26 (NCO₂CH₂Ph), 76.89 (C-3), 128.68, 128.92, 129.45 (C_{tert}-Ph), 138.10 (C_{quart}-Ph), 156.95 (NCO₂CH₂Ph), 172.63 (C-1), 202.65 (C-3').

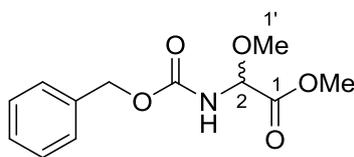
IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3302, 1716, 1693, 1647, 1542, 1367, 1276, 1242, 1019, 697.

UV (MeOH): λ_{\max} = 204 nm, 257 nm.

MS (ESI): m/z = 337.14 [M+H]⁺.

7.2.4 Synthese des Cbz-geschützten Phosphonats

7.2.4.1 Synthese von Methyl-2-methoxy-*N*-benzyloxycarbonylglycinat **100**^[162–165]



Glyoxal säure-Monohydrat **99** (25.0 g, 272 mmol, 1.0 Äq.) und Benzylcarbammat (36.9 g, 244 mmol, 0.9 Äq.) wurden in abs. Diethylether (240 mL) gelöst und für 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde im Vakuum auf ca. 100 mL eingengt und anschließend filtriert. Der Rückstand wurde mit auf 0 °C gekühltem Diethylether gewaschen und dann am Hochvakuum getrocknet.

Der resultierende farblose Feststoff wurde in abs. Methanol (550 mL) gelöst und es erfolgte die Zugabe von konz. Schwefelsäure (14.0 g, 7.60 mL, 142 mmol, 0.52 Äq.) bei 0 °C. Das Reaktionsgemisch wurde für 6 d bei Raumtemperatur gerührt. Dann erfolgte die langsame Zugabe von auf 0 °C gekühlter ges. wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung (1 L). Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (5 x 400 mL, 5 x 250 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurde mit Wasser (750 mL) gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Petrolether (200 mL) aufgenommen. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit gekühltem Petrolether (100 mL) gewaschen. Das resultierende Produkt wurde im Hochvakuum getrocknet.
Ausbeute (100): 38.2 g (151 mmol, 56 %) als farbloser Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD₃OD): 3.36 (s, 3H, 1'-CH₃), 3.75 (s, CH, COOCH₃), 5.12 (s, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.22 (s, 1H, 2-CH), 7.27-7.38 (m, 5H, Ph-H).

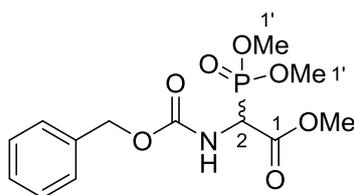
¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CD₃OD): 53.05 (COOCH₃), 55.84 (C-1'), 67.96 (NCO₂CH₂Ph), 82.05 (C-2), 128.95, 129.15, 129.51 (C_{tert}-Ph), 137.89 (C_{quart}-Ph), 158.21 (NCO₂CH₂Ph), 169.78 (C-1).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 1724, 1520, 1454, 1440, 1332, 1254, 1217, 1154, 1085, 1050.

UV (MeOH): λ_{\max} = 203 nm, 257 nm.

MS (ESI): m/z = 275.97 [M+Na]⁺.

7.2.4.2 Synthese des Methylester-Phosphonats **101**^[162–165]



Methyl-2-methoxy-*N*-benzyloxycarbonylglycinat **100** (24.0 g, 94.8 mmol, 1.00 Äq.) wurde in Toluol (100 mL) gelöst und auf 80 °C erhitzt. Phosphor(III)-chlorid (8.50 mL, 13.3 g, 97.2 mmol, 1.02 Äq.) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch wurde für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde Trimethylphosphit (12.6 mL, 13.2 g, 107 mmol, 1.13 Äq.) zugegeben und für weitere 2 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde in Ethylacetat (750 mL) aufgenommen und mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 200 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der flüssige Rückstand wurde in *n*-Hexan (100 mL) aufgenommen und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde filtriert und der Filterkuchen wurde mit gekühltem *n*-Hexan (3 x 20 mL) gewaschen. Das Produkt wurde im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute (101): 12.4 g (37.4 mmol, 40 %) als farbloser Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 3.78 (d, J = 10.9 Hz, 3H, 1'-H_a), 3.79-3.84 (m, 6H, 1'-H_b, COOCH₃), 5.62 (dd, J = 22.3 Hz, J = 9.2 Hz, 1H, 2-H), 5.12 (d, J = 12.2 Hz, 1H,

$\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{H}_b\text{Ph}$), 5.15 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H, $\text{NCO}_2\text{CH}_a\text{H}_b\text{Ph}$), 5.62 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, NH), 7.30-7.37 (m, 5H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, CDCl_3): 52.19 (d, $^1J_{\text{HP}} = 148.4$ Hz, C-2), 53.52 (COOCH_3), 54.15 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.8$ Hz, $\text{C}_a\text{-1}'$), 54.30 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.5$ Hz, $\text{C}_b\text{-1}'$), 67.79 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 128.29, 128.48, 128.69 ($\text{C}_{\text{tert}}\text{-Ph}$), 135.95 ($\text{C}_{\text{quart}}\text{-Ph}$), 155.72 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 167.34 (C-1).

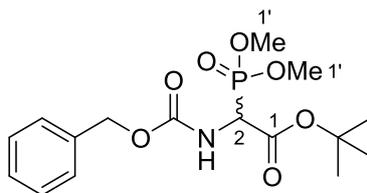
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (203 MHz, CDCl_3): 18.33.

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2957, 2927, 1718, 1530, 1455, 1438, 1314, 1261, 1039, 699.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 203$ nm, 257 nm.

MS (ESI): $m/z = 353.99$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, 395.02 [$\text{M}+\text{MeCN}$] $^+$.

7.2.4.3 Synthese des *tert*-Butylester-Phosphonats **17**^[162–165]



N-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphinyl)-glycine methylester **101** (7.35 g, 22.2 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1,4-Dioxan (8 mL) gelöst und auf 15 °C gekühlt. Dann erfolgte die Zugabe von wässriger Natriumhydroxid-Lösung (11.1 mL, 22.2 mmol, 2 M, 1.0 Äq.) und es wurde für 30 min bei 15 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt, mit Salzsäure (5 M) versetzt und auf einen pH-Wert von ungefähr 2 eingestellt. Wasser (35 mL) und Ethylacetat (65 mL) wurden hinzugefügt und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (4 x 35 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die weitere Trocknung wurde im Hochvakuum durchgeführt.

Der farblose Rückstand wurde in abs. Dichlormethan (80 mL) und abs. *tert*-Butanol (280 mL) mit frisch aktiviertem Molsieb (3 Å und 4 Å) aufgenommen. Es wurde für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin (6.60 g, 26.7 mmol, 1.2 Äq.) wurde zugegeben und das Gemisch wurde für weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch Celite[®] filtriert und die Celite wurden mit Ethylacetat gespült. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt und der flüssige Rückstand wurde mit Ethylacetat (350 mL) versetzt. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und

mit Salzsäure (3 x 70 mL) und Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 70 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 50:50) isoliert werden.

Ausbeute (17): 4.20 g (11.3 mmol, 51 %) als farbloser Feststoff

DC: R_f (PE/EE 50:50) = 0.12.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.41 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 3.68 (d, J = 10.9 Hz, 3H, 1'-H_a), 3.71 (d, J = 11.1 Hz, 3H, 1'-H_b), 4.67 (dd, J = 23.7 Hz, J = 9.4 Hz, 1H, 2-H), 5.06 (d, J = 12.7 Hz, 1H, NCO₂CH_aH_bPh), 5.09 (d, J = 12.7 Hz, 1H, NCO₂CH_aH_bPh), 7.30-7.40 (m, 5H, Ph-H), 8.23 (dd, J = 9.4 Hz, J = 2.5 Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, DMSO- d_6): 27.49 (OC(CH₃)₃), 52.68 (d, $^1J_{\text{CP}}$ = 147.8 Hz, C-2), 53.49 (d, J = 6.7 Hz, C_a-1'), 53.59 (d, J = 6.5 Hz, C_b-1'), 66.0 (NCO₂CH₂Ph), 82.31 (OC(CH₃)₃), 127.72, 127.89 (C_{tert}-Ph), 136.73 (C_{quart}-Ph), 156.17 (d, J = 8.0 Hz, NCO₂CH₂Ph), 165.55 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 3.6 Hz, C-1).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (203 MHz, CDCl₃): 19.45.

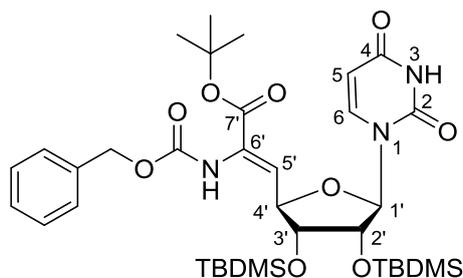
IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2958, 1721, 1538, 1456, 1370, 1318, 1266, 1154, 1041, 838.

UV (MeOH): λ_{max} = 204 nm, 257 nm.

MS (ESI): m/z = 396.01 [M+Na]⁺.

7.2.5 Synthese des Nucleosid-Bausteins

7.2.5.1 Synthese der (Z)-Didehydro-Nucleosyl-Aminosäure 18^[140,141]



2',3'-*O*-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-uridin **63** (1.06 g, 2.24 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Acetonitril (20 mL) gelöst. IBX (1.57 g, 5.61 mmol, 2.5 Äq.) wurde hinzugefügt und das

Gemisch wurde für 1 h auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde das Gemisch auf 0 °C gekühlt und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Der resultierende Aldehyd wurde ohne weitere Reinigung direkt umgesetzt.

Eine Lösung von Kaliumhexamethyldisilazan (4.5 mL, 2.3 mmol, 0.5 M in Toluol, 1.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (10 mL) wurde auf -78 °C gekühlt. Das Phosphonat **17** (836 mg, 2.24 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (10 mL) aufgenommen und der zuvor hergestellten Lösung zugefügt. Es wurde für 15 min bei -78 °C gerührt. Der Aldehyd **16** wurde in abs. Tetrahydrofuran (10 mL) gelöst und vorsichtig bei -78 °C zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h gerührt, wobei langsam auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Das Gemisch wurde auf 10 °C gekühlt, mit Methanol (2 mL) und Ethylacetat (70 mL) versetzt und mit halbges. Natriumchlorid-Lösung (2 x 135 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 75:25 → 70:30) isoliert werden.

Ausbeute (18): 952 mg (1.33 mmol, 63 %) als farbloser Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 70:30) = 0.28.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.07 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.08 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.08 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.12 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.89 (s, 9H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.90 (s, 9H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 1.48 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 3.95 (dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1H, 3'-H), 4.34 (dd, $J = 3.7$ Hz, $J = 3.4$ Hz, 1H, 2'-H), 4.88 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1H, 4'-H), 5.14 (s, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.58 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, 1'-H), 5.73 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.1$ Hz, 1H, 5-H), 6.26 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5'-H), 6.76 (s, 1H, 6'-NH), 7.27 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 6-H), 7.29-7.40 (m, 5H, Ph-H).

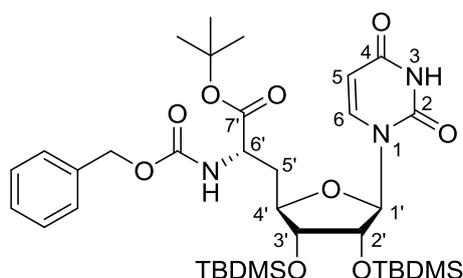
¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃): -4.71 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), -4.66 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), -4.33 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), -4.26 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 18.17 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 18.26 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 25.93 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 25.99 (Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 28.01 (OC(CH₃)₃), 67.67 (NCO₂CH₂Ph), 74.84 (C-2'), 76.21 (C-3'), 79.33 (C-4'), 82.81 (OC(CH₃)₃), 93.01 (C-1'), 102.47 (C-5), 124.79 (C-5'), 128.32, 128.46, 128.67 (C_{tert}-Ph), 131.46 (C-6'), 135.93 (C_{quart}-Ph), 140.62 (C-6), 149.88 (C-2), 153.68 (NCO₂CH₂Ph), 162.86, 163.05 (C-4, C-7').

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2955, 2931, 1695, 1462, 1369, 1257, 1225, 1157, 1055, 838, 778.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 256 \text{ nm}$.

MS (ESI): $m/z = 718.46 [M+H]^+$.

7.2.5.2 Synthese der *N*-Cbz-(6'*S*)-Nucleosyl-Aminosäure **19**^[140,141]



Die (*Z*)-Didehydro-Nucleosyl-Aminosäure **18** (904 mg, 1.26 mmol) wurde unter Argon-Atmosphäre in abs. Methanol (25 mL) gelöst und mit (*S,S*)-Me-DUPHOS-Rh (Spatelspitze) versetzt. Es wurde für 6 d unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 70:30) erhalten werden.

Ausbeute (19): 835 mg (1.16 mmol, 92 %) als farbloser Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 70:30) = 0.20.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.05 (s, 3H, (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 0.06 (s, 3H, (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 0.08 (s, 3H, (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 0.12 (s, 3H, (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 0.88 (s, 9H, (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 1.44 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 1.96-2.06 (m, 1H, 5'-H_a), 2.14-2.22 (m, 1H, 5'-H_b), 3.61-3.69 (m, 1H, 3'-H), 4.15-4.24 (m, 2H, 2'-H, 4'-H), 4.39-4.47 (m, 1H, 6'-H), 5.10 (s, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.57-5.64 (m, 2H, 5-H, 1'-H), 5.77 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 6'-NH), 7.28-7.38 (m, 5H, Ph-H), 7.59 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H, 6-H), 9.46 (s, 1H, 3-H).

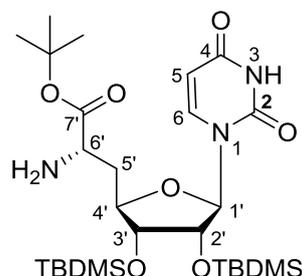
¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃): -4.78 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -4.69 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -4.37 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -4.01 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 18.10 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 18.13 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 25.93 (2 x Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 28.04 (OC(CH₃)₃), 36.21 (C-5'), 52.28 (C-6'), 67.70 (NCO₂CH₂Ph), 75.25 (C-2'), 75.36 (C-3'), 80.13 (C-4'), 82.91 (OC(CH₃)₃), 91.92 (C-1'), 102.30 (C-5), 128.22, 128.31, 128.64 (C_{tert}-Ph), 136.41 (C_{quart}-Ph), 140.63 (C-6), 150.28 (C-2), 155.66 (NCO₂CH₂Ph), 162.86, 163.66 (C-4), 170.70 (C-7').

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2955, 2930, 1693, 1462, 1256, 1159, 1085, 1056, 839, 778.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 261 \text{ nm}$.

MS (ESI): $m/z = 720 [M+H]^+$, $743 [M+Na]^+$.

7.2.5.3 Synthese der (6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **10**^[140,141]



Die *N*-Cbz-(6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **19** (194 mg, 0.269 mmol) wurde in *iso*-Propanol (15 mL) gelöst, mit Cyclohexadien (0.25 mL, 0.22 g, 2.7 mmol, 10 Äq.) und Palladium Black (45 mg, 0.42 mmol) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem der vollständige Umsatz der Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 9:1) nachgewiesen werden konnte, wurde das Reaktionsgemisch durch einen Spritzenfilter filtriert. Der Filter wurde mit *iso*-Propanol gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt, wodurch das Produkt erhalten wurde.

Ausbeute (10): 158 mg (0.269 mmol, quant.) als farbloser Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD₃OD): 0.08 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.09 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.10 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.12 (s, 3H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.89 (s, 9H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 0.92 (s, 9H, Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃)), 1.46 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 1.85 (ddd, $J = 14.0 \text{ Hz}$, $J = 11.3 \text{ Hz}$, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1H, 5'-H_a), 2.10 (ddd, $J = 14.0 \text{ Hz}$, $J = 8.2 \text{ Hz}$, $J = 2.6 \text{ Hz}$, 1H, 5'-H_b), 3.50 (dd, $J = 8.2 \text{ Hz}$, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1H, 6'-H), 3.85-3.89 (m, 1H, 3'-H), 4.11 (ddd, $J = 11.3 \text{ Hz}$, $J = 5.2 \text{ Hz}$, $J = 2.6 \text{ Hz}$, 1H, 4'-H), 4.31 (t, $J = 4.2 \text{ Hz}$, 1H, 2'-H), 5.72 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H, 5-H), 5.75 (d, $J = 4.2 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 7.64 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H, 6-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CD₃OD): -4.49 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -4.44 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -4.38 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), -3.98 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 18.88 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 18.95 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 26.40 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 26.46 (Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 28.33 (OC(CH₃)₃), 39.49 (C-5'), 53.78 (C-6'), 75.94 (C-2'), 76.61 (C-3'), 82.60 (OC(CH₃)₃), 82.91 (C-4'), 91.99 (C-1'), 102.95 (C-5), 142.67 (C-6), 152.15 (C-2), 166.10 (C-4), 175.14 (C-7').

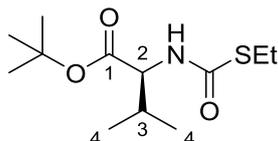
IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2955, 2930, 2858, 1695, 1369, 1259, 1160, 1091, 869, 839, 778.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 215 \text{ nm}$, 257 nm .

MS (ESI): $m/z = 586.35 [M+H]^+$.

7.2.6 Synthese des Epicapreomycin-Bausteins

7.2.6.1 Synthese von *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butylester **67**



L-Valin-*tert*-butylester-hydrochlorid **65** (885 mg, 4.22 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Ethylacetat (23 mL) und ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (23 mL) gelöst. Nach Zugabe von *S*-Ethylthiochlorformiat **66** (526 mg, 0.44 mL, 4.2 mmol, 1.0 Äq.) wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt und die Reaktion durch Zugabe von Methanol (3 mL) beendet. Das Reaktionsgemisch wurde mit Natriumchlorid-Lösung (3 x 50 mL) gewaschen und die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 9:1).

Ausbeute (67): 1.10 g (4.21 mmol, 99 %) als farbloses Öl.

DC: R_f (PE/EE 9:1) = 0.27.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.90 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4-H_a), 0.95 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4-H_b), 1.29 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, *S*-CH₂CH₃), 1.47 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 2.09-2.19 (m, 1H, 3-H), 2.91 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, *S*-CH₂CH₃), 4.36-4.45 (m, 1H, 2-H), 5.84 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃): 15.76 (*S*-CH₂CH₃), 17.70 (C_a-4), 19.03 (C_b-4), 24.55 (*S*-CH₂CH₃), 28.18 (OC(CH₃)₃), 31.90 (C-3), 59.07 (C-2), 82.38 (OC(CH₃)₃), 167.70 (NHC(=O)SEt), 170.82 (C-1).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2967, 1724, 1675, 1515, 1486, 1369, 1312, 1259, 1198, 1156.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 217$ nm.

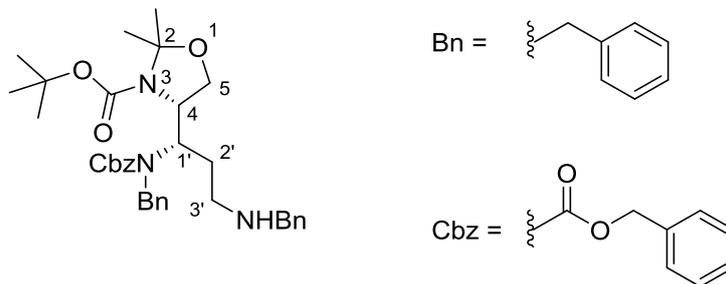
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +23.4$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

MS (ESI): $m/z = 284.01 [M+Na]^+$.

HRMS (ESI): C₃₆H₆₉N₅O₉Si₂ (261.38)

ber.: 206.0845 [M-*t*Bu+2H]⁺.

gef.: 206.0841 [M-*t*Bu+2H]⁺.

7.2.6.2 Synthese des geschützten Diamins **28**^[125,144]

Eine Lösung von Verbindung **27** (2.15 g, 4.40 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Methanol (80 mL) und abs. Dichlormethan (9 mL) wurde mit Pyridin (1.40 mL, 1.37 g, 17.4 mmol, 4.0 Äq.) versetzt und auf -90 °C gekühlt. Ozon wurde über einen Zeitraum von 10 min in die Lösung (tiefblaue Färbung der Lösung) geleitet. Die Entfernung des Ozons wurde durch Spülen der Lösung mit Stickstoff durchgeführt. Bei einer Temperatur von -86 °C wurde Dimethylsulfid (3.10 mL, 2.64 g, 42.4 mmol, 9.6 Äq.) zugefügt, bevor das Reaktionsgemisch über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt **102** wurde am Hochvakuum getrocknet.

Anschließend wurde das Rohprodukt in abs. Dichlormethan (60 mL) gelöst und über zuvor aktiviertem Molsieb (3 Å) für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Es folgte die Zugabe von Benzylamin (0.48 mL, 0.47 mg, 4.4 mmol) und Rühren für 18 h bei Raumtemperatur. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] wurden mit Dichlormethan gewaschen. Das Lösungsmittel des vereinigten Filtrats wurde im Vakuum entfernt und die das erhaltene Produkt **103** am Hochvakuum getrocknet.

Das so erhaltene Produkt wurde in Methanol (90 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Natriumborhydrid (417 mg, 11.0 mmol) wurde zugegeben und es wurde 1 h bei 0 °C und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgte durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung (300 mL), Wasser (150 mL) und Diethylether (300 mL). Die wässrige Phase wurde mit Diethylether (2 x 300 mL) extrahiert und die organische Phase wurde mit Wasser (300 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum wurde das Produkt erhalten.

Ausbeute (28): 2.42 g (4.12 mmol, 94 % über 3 Stufen ausgehend von Verbindung **27**) als gelbes Öl.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*₆, 100 °C): 1.42 (s, 3H, 2-CH₃), 1.44 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 1.49 (s, 3H, 2-CH₃), 1.70-1.77 (m, 1H, 2'-H_a), 1.82-1.92 (m, 1H, 2'-H_b), 2.35-2.42 (m, 2H, 3'-H₂), 3.52-3.61 (m, 3H, Bn-CH₂, 5-H_a), 3.75 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, 5-H_b), 3.96-4.03 (m, 1H, 4-H), 4.10-4.25 (m, 1H, 1'-H), 4.27 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H, Bn-CH_a), 4.58 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H, Bn-CH_b), 5.12 (s, 2H, NCO₂CH₂Ph), 7.18-7.34 (m, 15H, Aryl-H).

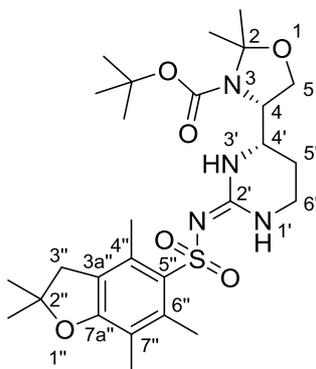
¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-*d*₆, 100 °C): 23.08 (C(CH₃)₂), 26.73 (C(CH₃)₂), 27.57 (OC(CH₃)₃), 28.67 (C-2'), 45.41 (C-3'), 52.40 (Bn-CH₂), 57.16 (C-1'), 58.13 (C-4), 64.56 (C-5), 66.17 (NCO₂CH₂Ph), 79.03 (OC(CH₃)₃), 93.04 (C-2), 125.78, 126.35, 126.81, 126.95, 127.15, 127.17, 127.38, 127.64, 127.65, 127.68, 127.69 (C_{tert}-Aryl), 136.22, 138.37, 140.40 (C_{quart}-Aryl), 151.45 (NCO₂C(CH₃)), 155.96 (NCO₂CH₂Ph).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 1694, 1454, 1384, 1365, 1242, 1170, 1099, 1080, 736, 699.

UV (MeOH): λ_{\max} = 213 nm, 252 nm, 258 nm.

MS (ESI): *m/z* = 588.24 [M+H]⁺.

7.2.6.3 Synthese des Pbf-geschützten cyclischen Guanidins **29**^[125,144]



Das geschützte Diamin **28** (621 mg, 1.06 mmol) wurde in Methanol (20 mL) gelöst, mit 10 % Pd/C versetzt und für 6.5 h bei 80 °C unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch Celite[®] filtriert und die Celite[®] wurden mit Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel des vereinigten Filtrats wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt **104** wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

Die Rohprodukt **104** wurde in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran (5.5 mL) und Dimethylformamid (5.5 mL) gelöst und mit Dimethyl-2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-ylsulfonycarbonimidodithioat (376 mg, 1.00 mmol) und Triethylamin (0.52 mL, 0.38 g, 3.8 mmol) versetzt. Nach vollständiger Lösung erfolgte die Zugabe von Silbertrifluormethansulfonat (587 mg, 2.29 mmol) und es wurde für 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] wurden mit Ethylacetat

gewaschen. Das vereinigte Filtrat wurde mit ges. wässriger Natriumchlorid-Lösung (3 x 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:3).

Ausbeute (29): 174 mg (0.316 mmol, 30 % über zwei Stufen ausgehend von Verbindung **28**) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 1:3) = 0.20.

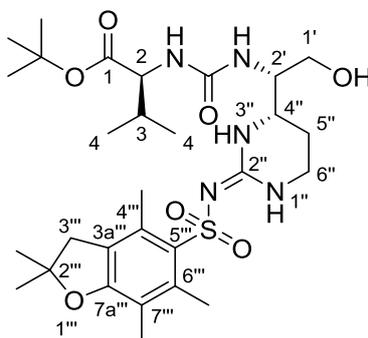
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.44 (s, 6H, 2''-C(CH $_3$) $_2$), 1.46 (s, 12H, OC(CH $_3$) $_3$ 2-C(CH $_3$) $_2$), 1.57 (s, 3H, 2-C(CH $_3$) $_2$), 1.58-1.65 (m, 1H, 5'-H $_a$), 1.79-1.86 (m, 1H, 5'-H $_b$), 2.05 (s, 3H, 7''-CH $_3$), 2.46 (s, 3H, 6''-CH $_3$), 2.51 (s, 3H, 4''-CH $_3$), 2.97 (s, 2H, 3''-H), 3.19-3.27 (m, 1H, 6'-H $_a$), 3.31-3.38 (m, 1H, 6'-H $_b$), 3.62-3.69 (m, 1H, 4'-H), 3.84-3.95 (m, 3H, 4-H, 5-H), 7.09 (s, 1H, 3'-H), 7.18 (s, 1H, 1'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, DMSO- d_6): 11.39 (7''-CH $_3$), 16.64 (4''-CH $_3$), 18.00 (6''-CH $_3$), 22.41 (C-5'), 22.99 (2-C(CH $_3$) $_2$), 26.29 (2-C(CH $_3$) $_2$), 27.47 (OC(CH $_3$) $_3$), 27.60 (2''-C(CH $_3$) $_2$), 36.96 (C-6'), 42.22 (C-3''), 50.67 (C-4'), 58.73 (C-4), 62.94 (C-5), 79.53 (OC(CH $_3$) $_3$), 85.54 (C-2''), 93.21 (C-2), 115.50 (C-7''), 123.65 (C-5''), 130.95 (C-3a''), 134.63 (C-4''), 136.46 (C-6''), 151.84 (NCO $_2$ C(CH $_3$)), 153.11 (C-7a''), 159.92 (C-2').

IR (ATR): ν (cm $^{-1}$) = 2972, 2932, 1695, 1611, 1549, 1455, 1367, 1304, 1257, 1170, 1103, 845.

UV (MeOH): λ_{max} = 216 nm, 255 nm.

MS (ESI): m/z = 551.25 [M+H] $^+$.

7.2.6.4 Synthese des Harnstoffpeptidalkohols **32**^[125,144]

Das geschützte Guanidin **29** (159 mg, 0.289 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (3.5 mL) gelöst und mit Salzsäure (0.58 mL, 2.9 mmol, 5 M, 10 Äq.) versetzt. Es wurde für 2 h auf 80 °C erhitzt. Das Rohprodukt wurde nach Entfernen des Lösungsmittels als bräunlicher Schaum erhalten.

Eine Lösung des Rohproduktes in Dimethylformamid (5 mL) wurde mit *N*-(*S*-Ethylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butylester **67** (91 mg, 0.35 mmol) versetzt. Es wurde Triethylamin (0.17 mL, 0.12 g, 1.2 mmol) zugetropft, Silbertrifluormethansulfonat (96 mg, 0.38 mmol) zugegeben und für 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Ethylacetat (200 mL) gewaschen. Das vereinigte Filtrat wurde mit ges. wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 45 mL) und Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2→96:4) konnte das Produkt isoliert werden.

Ausbeute (32): 103 mg (0.169 mmol, 59 % über zwei Stufen) als weißer Feststoff.

DC: R_f (DCM/MeOH 9:1) = 0.32.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.76 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 4-H_a), 0.86 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 4-H_b), 1.42 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 1.44 (s, 3H, 2'''-C(CH₃)₂), 1.45 (s, 3H, 2'''-C(CH₃)₂), 1.76-1.84 (m, 1H, 5''-H_a), 1.93-2.04 (m, 2H, 3-H, 5''-H_b), 2.05 (s, 3H, 7'''-CH₃), 2.45 (s, 3H, 6'''-CH₃), 2.49 (s, 3H, 4'''-CH₃), 2.93 (s, 2H, 3'''-H), 3.19-3.27 (m, 1H, 6''-H_a), 3.49-3.57 (m, 1H, 6''-H_b), 3.60-3.65 (m, 1H, 4''-H), 3.66-3.78 (m, 2H, 1'-H), 3.79-3.85 (m, 1H, 2'-H), 4.18 (dd, J = 9.0 Hz, J = 4.8 Hz, 1H, 2-H), 5.66 (d, J = 9.0 Hz, 1H, 2-NH), 6.07 (d, J = 8.8 Hz, 1H, 2'-NH), 7.15 (s, 1H, 1''-H), 7.42 (s, 1H, 3''-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃): 12.55 (7'''-CH₃), 17.55 (C-4), 17.80 (4'''-CH₃), 19.16 (C-4), 19.34 (6'''-CH₃), 21.61 (C-5''), 28.17 (OC(CH₃)₃), 28.72 (2'''-C(CH₃)₂), 31.20 (C-3),

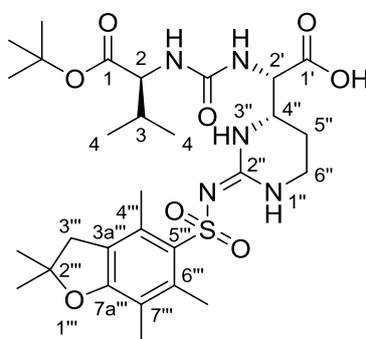
37.08 (C-6''), 43.39 (C-3'''), 49.87 (C-4''), 53.28 (C-2'), 58.88 (C-2), 61.85 (C-1'), 81.57 (OC(CH₃)₃), 86.54 (2''-C(CH₃)₂), 117.70 (C-7'''), 124.83 (C-5'''), 132.50 (C-4'''), 132.69 (C-6'''), 138.58 (C-3a'''), 153.82 (C-7a''), 158.34 (C-2''), 158.98 (NC(=O)N), 172.94 (C-1).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3340, 2971, 1610, 1550, 1455, 1369, 1306, 1253, 1157, 1093.

UV (MeOH): λ_{\max} = 225 nm, 254 nm.

MS (ESI): m/z = 624.19 [M+H]⁺.

7.2.6.5 Synthese des Epicapreomycinid-inhaltigen Harnstoffdipeptids **12**^[125,144]



Eine Lösung des Harnstoffpeptidalkohols **32** (87 mg, 0.14 mmol, 1.0 Äq.) in Acetonitril (5 mL) und Kaliumphosphatpuffer (0.2 M, pH = 7.2, 3 mL) wurde mit 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl (TEMPO, 7.3 mg, 47 μ mol, 0.3 Äq.) und Natriumchlorit (42 mg, 0.46 mmol, 3.2 Äq.) versetzt. Das Gemisch wurde auf 35 °C erhitzt und Natriumhypochlorit (5 % in Wasser, 42 μ L, 0.028 μ mol) wurde zugefügt. Nach 24 h erfolgte die erneute Zugabe von TEMPO (7.3 mg, 47 μ mol, 0.3 Äq.), Natriumchlorit (42 mg, 0.46 μ mol, 3.2 Äq.) und Natriumhypochlorit (5 % in Wasser, 42 μ L, 0.028 μ mol). und es wurde für weitere 48 h bei 35 °C gerührt. Nach Zugabe von Ethylacetat (50 mL) wurde mit ges. wässriger Natriumthiosulfat-Lösung (2 x 50 mL) und mit ges. wässriger Natriumchlorid-Lösung (2 x 40 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Zielverbindung konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (DCM/MeOH 95:5 \rightarrow 80:20) isoliert werden.

Ausbeute (12): 77 mg (0.12 mmol, 86 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (DCM/MeOH 80:20) = 0.12.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD₃OD): 0.91 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4-H_a) 0.93 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4-H_b), 1.44 (s, 6H, 2'''-C(CH₃)₂), 1.45 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 1.68-1.79 (m, 1H, 5''-H_a), 1.85-1.93 (m, 1H, 5''-H_b), 2.01-2.12 (m, 4H, 3-H, 7'''-CH₃), 2.49 (s, 3H, 6'''-CH₃), 2.54 (s, 3H, 4'''-CH₃), 2.97 (s, 2H, 3'''-H), 3.15-3.23 (m, 1H, 6''-H_a), 3.32-3.38 (m, 1H, 6''-H_b), 3.53-3.63 (m, 1H, 4''-H), 4.07 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, 2-H), 4.15 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 2'-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CD₃OD): 12.54 (7'''-CH₃), 18.33 (4'''-CH₃), 19.59 (C-4), 19.65 (6'''-CH₃), 23.99 (C-5'''), 28.40 (OC(CH₃)₃), 28.72 (2'''-C(CH₃)₂), 32.16 (C-3), 38.97 (C-6''), 43.99 (C-3'''), 53.70 (C-4''), 58.33 (C-2'), 60.33 (C-2), 82.53 (OC(CH₃)₃), 87.64 (2'''-C(CH₃)₂), 118.29 (C-7'''), 125.93 (C-5'''), 133.67 (C-4'''), 134.49 (C-6'''), 139.50 (C-3a'''), 154.93 (C-7a'''), 159.84 (C-2''), 160.52 (NC(=O)N), 173.39 (C-1), 177.94 (C-1').

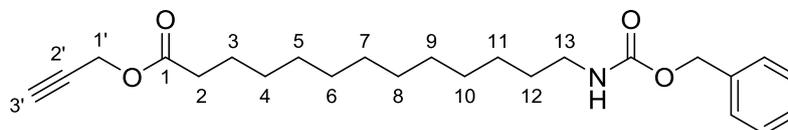
IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3353, 2968, 2930, 1604, 1551, 1370, 1304, 1252, 1155, 1101.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 253$ nm.

MS (ESI): $m/z = 624.19$ [M+H]⁺.

7.2.7 Synthesen der Fettsäure-Seitenketten

7.2.7.1 Synthese von *N*-Cbz-13-Aminotridecansäurepropargylester **73**



Eine Lösung von 13-Aminotridecansäurepropargylester-trifluoracetat **74** (1.01 g, 2.65 mmol, 1.0 Äq.) in einem Gemisch aus Wasser (7 mL) und 1,4-Dioxan (12 mL) wurde mit Natriumcarbonat (845 mg, 7.97 mmol, 3.0 Äq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Chlorameisensäurebenzylester (0.68 mL, 0.81 g, 4.8 mmol, 1.8 Äq.) wurde bei dieser Temperatur zugetropft und die Lösung wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Wasser (15 mL) wurde hinzugefügt und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat extrahiert (4 x 15 mL). Die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Reinigung (PE/EE 6:1) erhalten.

Ausbeute (73): 797 mg (1.99 mmol, 75 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 6:1) = 0.15.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.23 (s, 16H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H, 10-H, 11-H), 1.33-1.41 (m, 2H, 12-H), 1.47-1.55 (m, 2H, 3-H), 2.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, 2-H), 2.97 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2H, 13-H), 3.52 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H, 3'-H), 4.67 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H, 1'-H), 4.98-5.05 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 7.21 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, NH), 7.28-7.38 (m, 5H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 24.35 (C-3), 26.22, 28.34, 28.65, 28.72, 28.87, 28.96, 28.99, 29.38 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12), 33.13 (C-2), 40.02 (C-13), 51.44 (C-1'), 65.03 (NCO₂CH₂Ph), 77.45 (C-3'), 78.53 (C-2'), 127.68, 128.31 (C_{tert}-Ph), 137.33 (C_{quart}-Ph), 156.06 (NCO₂CH₂Ph), 172.19 (C-1).

Schmelzpunkt: $T_m = 57$ °C.

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2916, 1738, 1690, 1547, 1274, 1261, 1159, 1139, 696, 679.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 204$ nm, 258 nm.

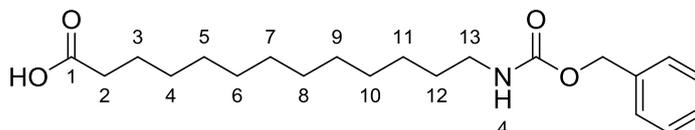
MS (ESI): $m/z = 402.16$ [M+H]⁺, 424.03 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI): C₂₄H₃₅NO₄ (401.26)

ber.: 402.2639 [M+H]⁺,
424.2458 [M+Na]⁺.

gef.: 402.2636 [M+H]⁺
424.2454 [M+Na]⁺.

7.2.7.2 Synthese von *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71**



N-Cbz-13-Aminotridecansäurepropargylester **73** (250 mg, 0.623 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (6 mL) gelöst, mit Natriumhydroxid-Lösung (1.9 mL, 2 M, 3.8 mmol, 6.0 Äq.) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Aufgrund eines unvollständigen Umsatzes wurde für 2.5 h auf 35 °C und 1.5 h auf 40 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde nach Abkühlen mit Salzsäure (3 mL, 2 M) versetzt und mit Ethylacetat (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Zielverbindung konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 60:40, 0.1 % HCOOH) erhalten werden.

Ausbeute (71): 210 mg (0.578 mmol, 93 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 60:40) = 0.12.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*₆): 1.23 (s, 16H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H, 10-H, 11-H), 1.33-1.42 (m, 2H, 3-H), 1.43-1.52 (m, 2H, 12-H), 2.18 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, 2-H), 2.97 (q, $J = 13.0$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 2H, 13-H), 4.98-5.05 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 7.21 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H, NH), 7.28-7.38 (m, 5H, Ph-H), 11.97 (s, 1H, COOH).

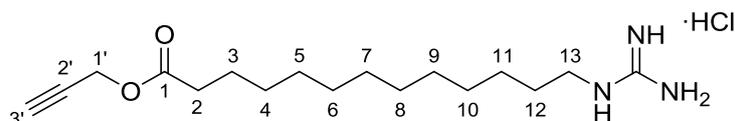
¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-*d*₆): 24.49 (C-3), 26.21, 28.55, 28.71, 28.74, 28.91, 28.96, 28.98 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-11), 29.37 (C-12), 33.66 (C-2), 40.10 (C-13), 65.03 (NCO₂CH₂Ph), 127.68, 127.71, 128.32 (C_{tert}-Ph), 137.34 (C_{quart}-Ph), 156.06 (NCO₂CH₂Ph), 174.50 (C-1).

Schmelzpunkt: $T_m = 101$ °C.

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3325, 2915, 2848, 1687, 1545, 1258, 1208, 1138, 715, 695.

UV (HPLC): $\lambda_{max} = 226$ nm.

MS (ESI): $m/z = 364.15$ [M+H]⁺, 386.13 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI): C₂₁H₃₃NO₄ (363.24)ber.: 364.2482 [M+H]⁺,
386.2302 [M+Na]⁺.
gef.: 364.2480 [M+H]⁺
386.2298 [M+Na]⁺.**7.2.7.3 Synthese von 13-Guanidino-tridecansäurepropargylester-hydrochlorid 41**

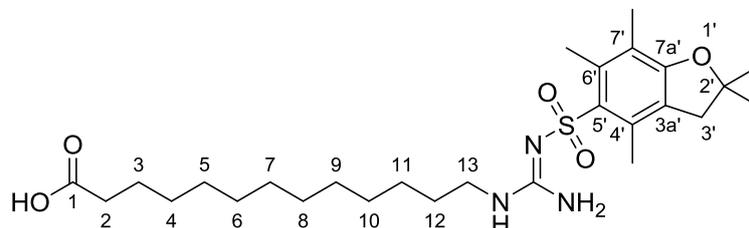
Ein Gemisch aus 13-Aminotridecansäurepropargylester-trifluoroacetat **74** (119 mg, 0.320 mmol, 1.0 Äq.), 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid (82 mg, 0.559 mmol, 1.8 Äq.) und Triethylamin (101 mg, 138 µL, 1.00 mmol, 3.2 Äq.) in Dimethylformamid (3 mL) wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Salzsäure (1 M, 10 mL) wurde mit Dichlormethan (3 x 10-15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 9:1) gereinigt. Die erhaltene Produktfraktion wurde mit Wasser und Salzsäure (1 M) versetzt und gefriergetrocknet.

Ausbeute (41): 39.4 mg (0.114 mmol, 37 %) als weißer Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*₆): 1.24 (s, 16H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H, 10-H, 11-H), 1.37-1.59 (m, 4H, 12-H, 3-H), 2.32 (t, *J* = 7.3 Hz, 2-H), 3.07 (dt, *J* = 6.8 Hz, *J* = 6.4 Hz, 13-H), 3.53 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, 3'-H), 4.67 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, 1'-H), 6.63-7.83 (m, 5H, NH·HCl).
¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-*d*₆): 24.30 (C-3), 26.01 (C-11), 28.28, 28.45, 28.58, 28.81, 28.90 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-12), 33.11 (C-2), 40.60 (C-13), 51.40 (C-1'), 77.43 (C-3'), 78.48 (C-2'), 157.14 (N(C=N)N), 172.15 (C-1).

Schmelzpunkt: T_m = 89 °C.**IR (ATR):** ν (cm⁻¹) = 3313, 3181, 2926, 2854, 2358, 1740, 1715, 1666, 1170, 668.**HRMS (ESI):** C₁₇H₃₁N₃O₂ (309.24)ber.: 310.2489 [M+H]⁺.
gef.: 310.2485 [M+H]⁺.

7.2.7.4 Synthese von *N*-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-13-Guanidinotridecansäure **107**



Eine Lösung aus 13-Guanidinotridecansäurepropargylester-hydrochlorid **41** (25 mg, 72.3 μmol , 1.0 Äq.) in einem Gemisch aus Aceton (1 ml) und Wasser (0.25 ml) wurde auf 0 °C gekühlt und 15 min gerührt. Auf 0 °C gekühlte Natronlauge (4 M, 0.20 mL, 0.80 μmol , 11 Äq.) wurde vorsichtig zugetropft bis ein konstanter pH-Wert von 12-14 erreicht wurde. Anschließend wurde 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonylchlorid (58.3 mg, 202 μmol , 2.8 Äq.), gelöst in Aceton (0.25 mL) bei 0 °C zugetropft und für 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Eine weitere Portion von 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonylchlorid (21.0 mg, 72.7 μmol , 1.0 Äq.) wurde zugefügt und das Gemisch für weitere 15 min gerührt. Nach Erwärmung auf Raumtemperatur wurde Salzsäure (1 M, 10-15 mL) vorsichtig hinzugefügt bis ein pH-Wert von 2 erreicht wurde. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (4 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung (30 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM, 0.1 % HCOOH \rightarrow DCM/MeOH 98:2, 0.1 % HCOOH) gereinigt.

Ausbeute (107): 33.3 mg (63.6 μmol , 88 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (DCM/MeOH 96:4, 0.1 % HCOOH) = 0.12.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 1.17-1.39 (m, 16H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H, 10-H, 11-H), 1.42-1.52 (m, 8H, 2'-C(CH₃)₂, 12-H), 1.57-1.65 (m, 2H, 3-H), 2.08 (s, 3H, 7'-CH₃), 2.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2-H), 2.50 (s, 3H, 4'-CH₃), 2.56 (s, 3H, 6'-CH₃), 2.95 (s, 2H, 3'-H), 3.05-3.14 (m, 2H, 13-H), 6.05 (bs, 3H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, CDCl_3): 12.62 (7'-CH₃), 17.96 (6'-CH₃), 19.38 (4'-CH₃), 24.76 (C-3), 26.77, 28.73, 28.90, 29.04, 29.15, 29.17, 29.24, 29.33 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9,

C-10, C-11, C-12, 2'-C(CH₃)₂, 34.03 (C-2), 41.63 (C-13), 43.39 (C-3'), 86.53 (C-2'), 117.64, 124.74, 132.56, 138.63 (C-3a', C-4', C-5', C-6', C-7'), 156.45 (N(C=N)N), 158.94 (C-7a'), 179.04 (C-1).

Schmelzpunkt: T_m = 62-64 °C.

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3444, 3343, 2925, 2854, 2360, 1708, 1621, 1553, 1457, 1258, 1156, 1034.

UV (HPLC): λ_{max} = 222 nm.

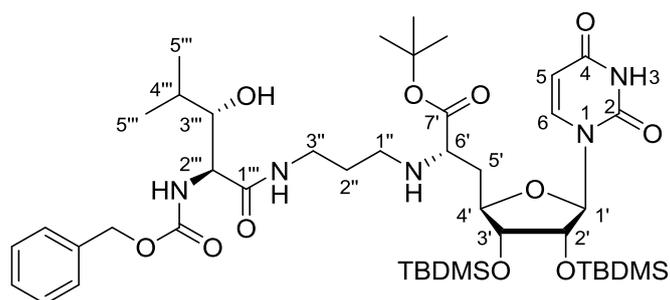
HRMS (ESI): C₂₇H₄₅N₃O₅S (523.73)

ber.: 524.3153 [M+H]⁺.

gef.: 524.3141 [M+H]⁺.

7.2.8 Synthese von Muraymycin-Derivaten

7.2.8.1 Synthese des Cbz-geschützten Amins **13**^[125,141]



Die (6'S)-Nucleosyl-Aminosäure **10** (97.6 mg, 167 μmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (12 mL) über zuvor ausgeheiztem Molekularsieb (4 Å) gelöst und für 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Aldehyd **11** (63 mg, 0.19 mmol, 1.1 Äq.) wurde zugefügt und das Gemisch wurde für 1 h gerührt. Es folgte die Zugabe von Amberlyst-15[®] (8.8 mg, 42 μmol, 0.25 Äq.) und Natriumtriacetoxyborhydrid (70.8 mg, 334 μmol, 2.2 Äq.) und es wurde für weitere 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert, die Celite[®] mit Ethylacetat gewaschen und das vereinigte Filtrat mit ges. wässriger Natriumcarbonat-Lösung (120 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat extrahiert (2 x 30 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (DCM/MeOH, 99:1 → 97:3) konnte das Produkt erhalten werden.

Ausbeute (13): 116 mg (128 μmol , 77 %) als farbloser Feststoff.

DC: R_f (DCM/MeOH 9:1) = 0.39.

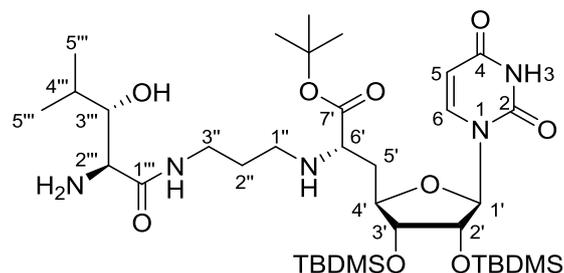
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CD_3OD): 0.08 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.10 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.12 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.13 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.89-0.91 (m, 12H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3)$, 5'''-H_a), 0.93 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3)$), 0.98 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 5'''-H_b), 1.48 (s, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.65-1.73 (m, 2H, 2''-H), 1.78-1.86 (m, 1H, 4'''-H), 1.89-1.96 (m, 1H, 5'-H_a), 1.99-2.06 (m, 1H, 5'-H_b), 2.52-2.68 (m, 2H, 1''-H), 3.20-3.37 (m, 3H, 3''-H, 6'-H), 3.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H, 3'''-H), 3.87-3.91 (m, 1H, 3'-H), 4.06 (ddd, $J = 11.2$ Hz, $J = 4.6$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, 4'-H), 4.12 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 2'''-H), 4.34 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, 2'-H), 5.05-5.12 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5.74 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 5.76 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, 1'-H), 7.27-7.36 (m, 5H, Ph-H), 7.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CD_3OD): -4.44 ($\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -4.40 (2 x $\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -3.99 ($\text{Si}(\underline{\text{CH}_3})_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 16.42 (C_a-5'''), 18.86 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 18.93 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 20.24 (C_b-5'), 26.40 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 26.46 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 28.45 ($\text{OC}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 30.18 (C-2''), 30.87 (C-4'''), 38.03 (C-5'), 38.36 (C-3'''), 46.15 (C-1''), 58.72 (C-2'''), 60.66 (C-6'), 67.77 ($\text{NCO}_2\underline{\text{CH}_2}\text{Ph}$), 75.81 (C-2'), 76.58 (C-3'), 76.72 (C-3'''), 82.59 (C-4'), 82.94 ($\text{OC}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 91.92 (C-1'), 103.05 (C-5), 128.87, 129.04, 129.47 (C_{tert}-Ph), 138.12 (C_{quart}-Ph), 142.76 (C-6), 152.12 (C-2), 158.06 ($\text{NCO}_2\underline{\text{CH}_2}\text{Ph}$), 166.00 (C-4), 173.78 (C-1'''), 174.78 (C-7').

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2956, 2930, 2857, 1696, 1462, 1369, 1258, 1157, 839, 779.

UV (MeOH): λ_{max} = 203 nm, 261 nm.

MS (ESI): m/z = 906.67 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.8.2 Synthese des freienamins **14**^[125,141]

Das Cbz-geschützte Amin **13** (105 mg, 116 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. *iso*-Propanol (12 mL) gelöst und mit 1,4-Cyclohexadien (108 μL , 92.9 mg, 1.16 mmol, 9.7 Äq.) und Palladium Black (Spatelspitze) versetzt. Es wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Spritzenfilter (Porendurchmesser $d = 0.2 \mu\text{m}$) filtriert und der Spritzenfilter mit *iso*-Propanol gewaschen. Das Lösungsmittel des vereinigten Filtrats wurde im Vakuum entfernt, wodurch das Produkt erhalten wurde, welches ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wurde.

Ausbeute (14): 88.7 mg (115 μmol , 99 %) als farbloser Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CD_3OD): 0.09 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.10 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.12 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.13 (s, 3H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 0.91 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3)$), 0.93-0.95 (m, 12H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3)$, 5'''-H_a), 0.98 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 3H, 5'''-H_b), 1.49 (s, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.65-1.76 (m, 2H, 2''-H), 1.81-1.95 (m, 2H, 4'''-H, 5'-H_a), 2.00-2.07 (m, 1H, 5'-H_b), 2.52-2.60 (m, 1H, 1''-H_a), 2.62-2.70 (m, 1H, 1''-H_b), 3.20-3.41 (m, 4H, 3''-H, 6'-H, 3'''-H), 3.90 (t, $J = 4.5 \text{ Hz}$, 1H, 3'-H), 4.07 (ddd, $J = 11.1 \text{ Hz}$, $J = 4.6 \text{ Hz}$, $J = 2.8 \text{ Hz}$, 1H, 4'-H), 4.35 (t, $J = 4.5 \text{ Hz}$, 1H, 2'-H), 5.75 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H, 5-H), 5.77 (d, $J = 4.5 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 7.66 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H, 6-H).

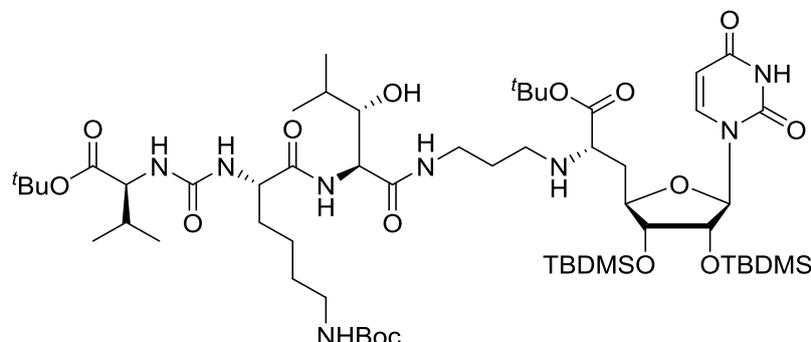
¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CD_3OD): -4.46 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), -4.41 (2 x $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), -4.00 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$), 17.10 (C_a-5'''), 18.86 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3)$), 18.92 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3)$), 20.28 (C_b-5'''), 26.39 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3)$), 26.45 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3)$), 28.43 ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 30.27 (C-2''), 31.05 (C-4'''), 38.03 (C-5'), 38.20 (C-3''), 46.12 (C-1''), 58.34 (C-2'''), 60.66 (C-6'), 75.80 (C-2'), 76.57 (C-3'), 78.85 (C-3'''), 82.58 (C-4'), 82.92 ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 92.03 (C-1'), 103.03 (C-5), 142.82 (C-6), 152.13 (C-2), 166.03 (C-4), 174.82 (C-1'''), 175.96 (C-7').

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2956, 2930, 2857, 1694, 1462, 1369, 1258, 1160, 840, 778.

UV (MeOH): λ_{max} = 262 nm.

MS (ESI): $m/z = 772.64 [M+H]^+$.

7.2.8.3 Synthese des geschützten Lysin-haltigen 5'-Desoxy-Muraymycin-Derivats **68**

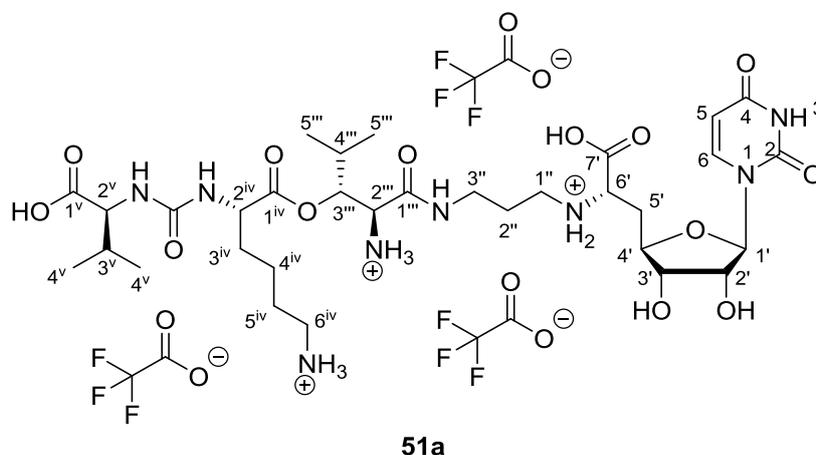
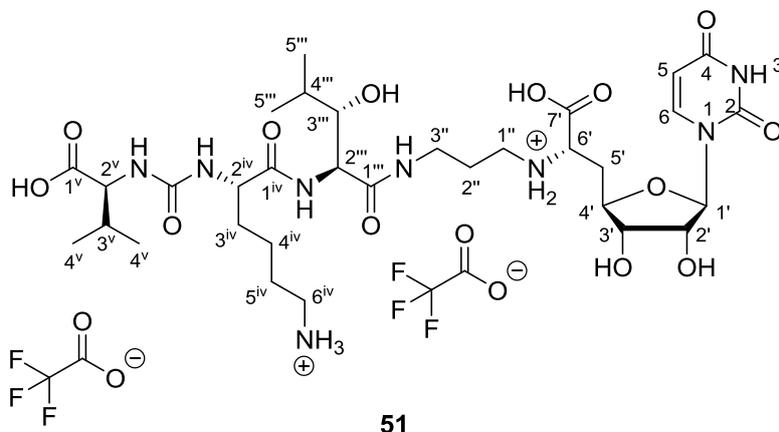


Das Harnstoffdipeptid **62** (9.2 mg, 21 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (2.7 mL) gelöst, mit 1-Hydroxybenzotriazol (2.8 mg, 20.7 μmol , 1.0 Äq.), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP[®], 10.8 mg, 20.7 μmol , 1.0 Äq.) und *N,N*-Diisopropylethylamin (7.2 μL , 5.4 mg, 41 μmol , 2.0 Äq.) versetzt und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde auf 0 °C gekühlt und es erfolgte die Zugabe einer Lösung des primären Amins **14** (9.2 mg, 21 μmol , 1.0 Äq.) in Tetrahydrofuran (3.6 mL). Es wurde für 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 99:1→95:5) gereinigt. Das Produkt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen. Ebenso wurde anhand des Chromatogramms der LC/MS-Analyse die Reinheit und somit die Ausbeute abgeschätzt. Auf weitere analytische Daten wurde aufgrund der geringen Substanzmenge und der unübersichtlichen NMR-Spektren, welche durch die Anzahl an Schutzgruppen zustande kommen, verzichtet.

Ausbeute (68): 20 mg (~ 17 μmol , ~ 80 %) als farbloser Feststoff.

DC: R_f (DCM/MeOH 9:1) = 0.45.

MS (ESI): $m/z = 1199.85 [M+H]^+$.

7.2.8.4 Synthese der Lysin-haltigen 5'-Desoxy-Muraymycin-Derivate **51** und **51a**

Die Verbindung **68** (20 mg, ~ 17 μmol , ~ 80 %) wurde in Trifluoressigsäure (3.5 mL, 80% in Wasser) gelöst und für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde mit Wasser verdünnt und das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt. Die Zielverbindungen wurden mittels semipräparativer HPLC gereinigt.

Ausbeute (51): 1.23 mg (1.2 μmol , 6% über zwei Stufen ausgehend von Harnstoffdipeptid **62**) als farblose Watte.

HPLC (semipräparativ): $t_R = 22.3$ min (Methode MW_113Neu), Injektionskonzentration: 6.6 mg in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ 99:1 (0.5 mL).

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, D_2O): 0.82-0.85 (m, 3H, 5'''-H_a), 0.89-0.92 (m, 3H, 4^v-H_a), 0.93-0.97 (m, 6H, 4^v-H_b, 5'''-H_b), 1.35-1.48 (m, 2H, 4^{iv}-H), 1.61-1.71 (m, 3H, 5^{iv}-H, 3^{iv}-H_a), 1.72-1.82 (m, 2H, 4'''-H, 3^{iv}-H_b), 1.85-1.96 (m, 2H, 2''-H), 2.11-2.22 (m, 1H, 3^v-H), 2.27 (ddd, $J = 14.9$ Hz, $J = 10.3$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1H, 5'-H_a), 2.40 (ddd, $J = 14.9$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1H, 5'-H_b), 2.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 6^{iv}-H), 3.03-3.14 (m, 2H, 1''-H), 3.19-3.27 (m, 1H, 3''-H_a),

3.33-3.41 (m, 1H, 3''-H_b), 3.65 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1H, 3'''-H), 3.86 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, 6'-H), 4.04-4.18 (m, 4H, 3'-H, 4'-H, 2^{iv}-H, 2^v-H), 4.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 2'''-H), 4.41 (dd, $J = 5.6$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1H, 2'-H), 5.75 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, 1'-H), 5.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, D₂O): 15.14 (C_a-5'''), 16.84 (C_a-4^v), 18.49 (C_b-4^v), 18.81 (C_b-5'''), 22.02 (C-4^{iv}), 25.63 (C-2''), 26.17 (C-5^{iv}), 29.25 (C-4'''), 30.01 (C-3^v), 30.68 (C-3^{iv}), 33.89 (C-5'), 35.91 (C-3''), 39.18 (C-6^{iv}), 44.27 (C-1''), 53.91 (C-2^{iv}), 55.99 (C-2'''), 58.76 (C-2^v), 59.85 (C-6'), 72.66 (C-2'), 72.89 (C-3'), 74.76 (C-3'''), 79.83 (C-4'), 91.70 (C-1'), 102.13 (C-5), 116.30 (q, $J = 291.5$ Hz, CF₃COO), 142.73 (C-6), 151.39 (C-2), 159.32 (NC(=O)N), 163.01 (q, $J = 35.4$ Hz, CF₃COO), 166.21 (C-4), 172.15 (C-7'), 172.56 (C-1'''), 174.95 (C-1^{iv}), 176.77 (C-1^v).

¹⁹F-NMR: δ [ppm] (282 MHz, D₂O): -75.60 (s, CF₃).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3292, 2965, 1670 1555, 1425, 1391, 1200, 1181, 1130, 1025, 998, 800, 720.

UV (HPLC): $\lambda_{\max} = 262$ nm-

MS (ESI): $m/z = 759.35$ [M+H]⁺.

HRMS (ESI): C₃₂H₅₄N₈O₁₃ (758.83)

ber.: 759.3883 [M+H]⁺,
380.1978 [M+2H]⁺.
gef.: 759.3862 [M+H]⁺,
380.1969 [M+2H]⁺.

Ausbeute (51a): 2.6 mg (2.3 μ mol, 11 % über zwei Stufen ausgehend von Harnstoffdipeptid **62**) als farblose Watte.

HPLC (semipräparativ): $t_R = 21.9$ min (Methode MW_398), Injektionskonzentration: 6.6 mg in H₂O/MeCN 99:1 (0.5 mL).

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D₂O): 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4^v-H_a), 0.95 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 5'''-H_a), 0.97 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H, 5'''-H_b), 0.98 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 4^v-H_b), 1.38-1.58 (m, 2H, 4^{iv}-H), 1.63-1.78 (m, 3H, 3^{iv}-H_a, 5^{iv}-H), 1.86-1.97 (m, 3H, 2''-H, 3^{iv}-H_b), 1.99-2.07 (m, 1H, 4'''-H), 2.12-2.21 (m, 1H, 3^v-H), 2.24-2.33 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 6.4$ Hz, 1H, 5'-H_a), 2.44 (ddd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.6$ Hz, 1H, 5'-H_b), 3.00 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 6^{iv}-H), 3.05-3.17 (m, 2H, 1''-H), 3.24 (dt, $J = 13.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1H, 3''-H_a), 3.37 (dt, $J = 13.9$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, 3''-H_b), 3.93 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, 6'-H), 4.07-4.11 (m, 2H, 3'-H, 2^v-H), 4.13-4.19 (m, 2H, 4'-H, 2'''-H), 4.30 (dd, $J = 10.3$ Hz, $J = 4.4$ Hz, 1H, 2^{iv}-H), 4.43 (dd, $J = 5.6$ Hz,

$J = 3.7$ Hz, 1H, 2'-H), 5.06 (dd, $J = 6.5$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H, 3'''-H), 5.76 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, 1'-H), 5.89 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, D_2O): 18.27 ($\text{C}_a\text{-5}''''$), 19.83 ($\text{C}_a\text{-4}^v$), 21.30 ($\text{C}_b\text{-5}''''$, $\text{C}_b\text{-4}^v$), 24.96 (C-4^{iv}), 28.20 ($\text{C-2}''$), 28.92 (C-5^{iv}), 31.22 ($\text{C-4}''''$), 32.57 (C-3^v), 32.73 (C-3^{iv}), 35.65 (C-5^i), 39.40 ($\text{C-3}''$), 42.02 (C-6^{iv}), 47.16 ($\text{C-1}''$), 55.60 (C-2^{iv}), 56.39 ($\text{C-2}''''$), 61.78 (C-2^v), 62.36 (C-6^i), 75.36 (C-2^i), 75.67 (C-3^i), 78.99 ($\text{C-3}''''$), 82.61 (C-4^i), 94.56 (C-1^i), 105.00 (C-5), 119.10 (q, $J = 291.7$ Hz, CF_3COO), 145.53 (C-6), 154.20 (C-2), 162.43 (NC(=O)N), 165.75 (q, $J = 35.5$ Hz, CF_3COO), 168.99 (C-4), 169.67 ($\text{C-1}''''$), 174.65 (C-7^i), 176.33 (C-1^{iv}), 179.54 (C-1^v).

$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (282 MHz, D_2O): -75.60 (s, CF_3).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2970, 1671, 1582, 1468, 1430, 1396, 1186, 1133, 837, 800, 722.

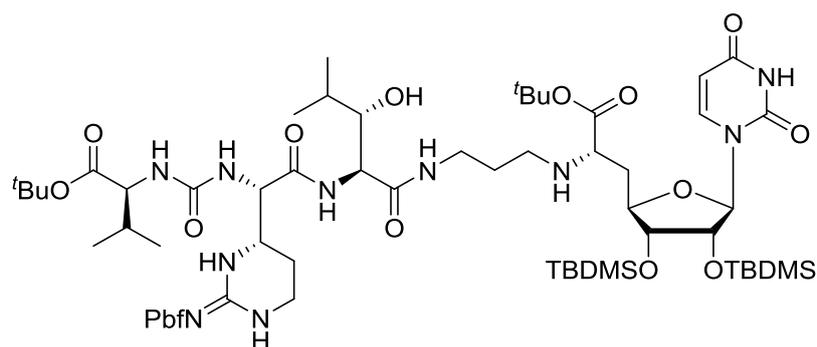
UV (HPLC): $\lambda_{\text{max}} = 262$ nm.

MS (ESI): $m/z = 759.35$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

HRMS (ESI): $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_8\text{O}_{13}$ (758.83)

ber.: 759.3883 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$,
380.1987 [$\text{M}+2\text{H}$] $^+$.
gef.: 759.3863 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$,
380.1968 [$\text{M}+2\text{H}$] $^+$.

7.2.8.5 Synthese des geschützten 5'-Desoxy-Muraymycin-Derivats **69**^[125,141]



Das Harnstoffdipeptid **12** (28.3 mg, 45.4 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (7.5 mL) gelöst und mit 1-Hydroxybenztriazol (6.1 mg, 45 μmol , 1.0 Äq.), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexa-fluorophosphat (PyBOP[®], 23.6 mg, 45.3 μmol , 1.0 Äq.) und *N,N*-Diisopropylethylamin (16 μL , 12 mg, 91 μmol , 2.0 Äq.) versetzt und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde auf 0 °C gekühlt und es erfolgte die Zugabe einer

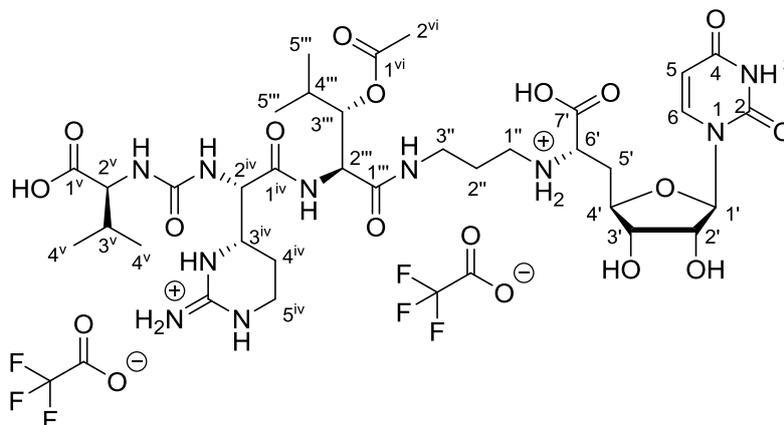
Lösung des primären Amins **14** (35.0 mg, 45.3 μmol , 1.0 Äq.) in Tetrahydrofuran (6 mL). Es wurde für 1 h bei 0 °C und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2 \rightarrow 95:5) gereinigt. Das Produkt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen. Ebenso wurde anhand des Chromatogramms der LC/MS-Analyse die Reinheit und somit die Ausbeute abgeschätzt.

Ausbeute (69): ~ 50 mg (~ 36 μmol , ~ 80 %) als farbloser Feststoff.

DC: R_f (DCM/MeOH 9:1) = 0.34.

MS (ESI): $m/z = 1378.00$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.8.6 Synthese des 3'''-Acetyl-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **55**



Das geschützte Muraymycin-Grundgerüst **69** (23.9 mg, 17.4 μmol , 1.0 Äq.) wurde in Dichlormethan (2 mL) gelöst, mit 4-(Dimethylamino)-pyridin (6.0 mg, 49 μmol , 2.8 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (9.4 mg, 49 μmol , 2.8 Äq.) und Essigsäure **72** (2.1 μL , 2.2 mg, 37 μmol , 2.1 Äq.) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde Salzsäure (8 mL, 1 M) zugefügt und mit Dichlormethan (4 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2 \rightarrow 95:5) gereinigt. Das so erhaltene Zwischenprodukt wurde in wässriger Trifluoressigsäure (1.8 mL, 80 %) aufgenommen und für 24 h gerührt. Das blaue Gemisch wurde mit Wasser (10 mL) verdünnt und das Lösungsmittel

wurde im Vakuum entfernt. Der erhaltene blaue Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser, Acetonitril und Trifluoressigsäure (65:35, 0.1 %) aufgenommen, filtriert und gefriergetrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels semipräparativer HPLC. Nach erneuter Gefrierdrying des Eluats konnte das Produkt **55** als farblose Watte erhalten werden.

Ausbeute (55): 7.6 mg (7.2 μmol , 24 % über 3 Stufen ausgehend von Harnstoffdipeptid **12**) einer farblosen Watte.

HPLC (analytisch): $t_R = 4.8$ min (Methode QC_grad_pos_acid_HYDRO_500_2000), Injektionsvolumen: 15 μL (c ~ 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 21.4$ min (Methode MW_398), Injektionskonzentration: 17 mg in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}/\text{TFA}$ 65:35:0.1 (0.8 mL).

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, D_2O): 0.86 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, $5'''\text{-H}_a$), 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, $5'''\text{-H}_b$), 0.91 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4^v-H_a), 0.95 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4^v-H_b), 1.84-1.98 (m, 5H, $2''\text{-H}$, 4^{iv}-H , $4'''\text{-H}$), 2.10 (s, 3H, 2^{vi}-H), 2.11-2.23 (m, 1H, 3^v-H), 2.25-2.36 (m, 1H, $5'\text{-H}_a$), 2.44 (ddd, $J = 14.9$ Hz, $J = 6.6$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1H, $5'\text{-H}_b$), 3.02-3.15 (m, 2H, $1''\text{-H}$), 3.16-3.24 (m, 1H, $3''\text{-H}_a$), 3.26-3.38 (m, 3H, $3''\text{-H}_b$, 5^{iv}-H), 3.85-3.92 (m, 1H, 3^{iv}-H), 3.95 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H, $6'\text{-H}$), 4.07 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, $3'\text{-H}$), 4.11 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, 2^v-H), 4.13-4.19 (m, 1H, $4'\text{-H}$), 4.37 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 2^{iv}-H), 4.42 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 4.0$ Hz, 1H, $2'\text{-H}$), 4.49 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, $2'''\text{-H}$), 4.99 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1H, $3'''\text{-H}$), 5.75 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, $1'\text{-H}$), 5.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, D_2O): 14.68 ($\text{C}_a\text{-}5'''$), 16.75 ($\text{C}_a\text{-}4^v$), 18.42 ($\text{C}_b\text{-}5'''$), 18.45 ($\text{C}_b\text{-}4^v$), 20.09 ($\text{C-}2^{vi}$), 20.42 ($\text{C-}4^{iv}$), 25.48 ($\text{C-}2''$), 28.34 ($\text{C-}4'''$), 29.97 ($\text{C-}3^v$), 32.67 ($\text{C-}5'$), 35.68 ($\text{C-}5^{iv}$), 36.21 ($\text{C-}3''$), 44.34 ($\text{C-}1''$), 49.16 ($\text{C-}3^{iv}$), 54.26 ($\text{C-}2'''$), 55.47 ($\text{C-}2^{iv}$), 58.70 ($\text{C-}2^v$), 59.22 ($\text{C-}6'$), 72.55 ($\text{C-}2'$), 72.90 ($\text{C-}3'$), 75.95 ($\text{C-}3'''$), 79.63 ($\text{C-}4'$), 91.51 ($\text{C-}1'$), 102.15 ($\text{C-}5$), 116.28 (q, $J = 291.6$ Hz, CF_3COO), 142.69 ($\text{C-}6$), 151.36 ($\text{C-}2$), 153.77 (NC(=NH)N), 158.87 (NC(=O)N), 162.96 (q, $J = 35.5$ Hz, CF_3COO), 166.12 ($\text{C-}4$), 171.42 ($\text{C-}1'''$), 171.51 ($\text{C-}1^{iv}$), 171.68 ($\text{C-}7'$), 173.42 ($\text{C-}1^{vi}$), 176.48 ($\text{C-}1^v$).

$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (376 MHz, D_2O): -75.61 (s, CF_3).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 1668, 1633, 1556, 1427, 1375, 1240, 1200, 1134, 1031, 721.

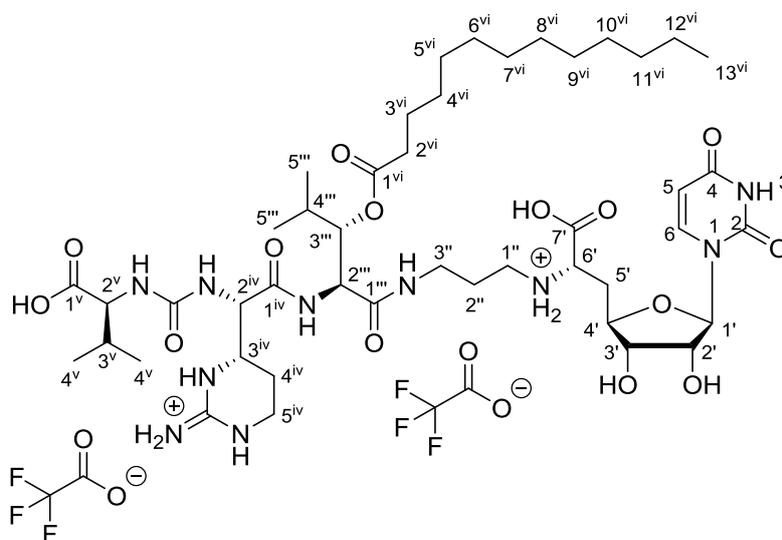
UV (HPLC): $\lambda_{\text{max}} = 210$ nm, 262 nm.

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44.6$ (c = 0.7, H_2O)

MS (ESI): $m/z = 827.33$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

HRMS (ESI): C₃₄H₅₄N₁₀O₁₄ (826.38)

ber.: 827.3899 [M+H]⁺,
 414.1983 [M+2H]⁺.
 gef.: 827.3899 [M+H]⁺,
 414.1981 [M+2H]⁺.

7.2.8.7 Synthese des 3'''-Tridecanoyl-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **54**

Das Muraymycin-Grundgerüst **69** (21.8 mg, 15.8 µmol, 1.0 Äq.) wurde in Dichlormethan (1.5 mL) gelöst, mit 4-(Dimethylamino)-pyridin (4.8 mg, 39 µmol, 2.5 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (7.6 mg, 40 µmol, 2.5 Äq.) und Tridecansäure **70** (5.4 mg, 25 µmol, 1.6 Äq.) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) zugefügt und mit Dichlormethan (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2 → 96:4) gereinigt. Das Zwischenprodukt **78** wurde in wässriger Trifluoressigsäure (1.5 mL, 80 %) aufgenommen und für 24 h gerührt. Das blaue Gemisch wurde mit Wasser (10 mL) verdünnt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der erhaltene blaue Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser, Acetonitril und Trifluoressigsäure (70 : 30, 0.1 %) aufgenommen, filtriert und gefriergetrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels semipräparativer HPLC. Nach erneuter Gefrierd Trocknung des Eluats konnte das Produkt **54** als farblose Watte erhalten werden.

Ausbeute (54): 8.8 mg (7.3 μmol , 37 % über drei Stufen ausgehend von Harnstoffdipeptid **12**) als farbloser Watte.

HPLC (analytisch): $t_R = 10.5$ min (Methode MW-451_7030analytisch), Injektionsvolumen: 15 μL ($c \sim 1$ mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 11.3$ min (Methode MW_451), Injektionskonzentration: 14 mg in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}/\text{TFA}$ 70:30:0.1 (0.5 mL).

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CD_3OD): 0.85 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, 13^{vi}-H), 0.88 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H, 5^{iii}-H), 0.89 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, 4^{v}-H_a), 0.94 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, 4^{v}-H_b), 1.21-1.31 (m, 18H, 4^{vi}-H , 5^{vi}-H , 6^{vi}-H , 7^{vi}-H , 8^{vi}-H , 9^{vi}-H , 10^{vi}-H , 11^{vi}-H , 12^{vi}-H), 1.51-1.61 (m, 2H, 3^{vi}-H), 1.75-1.95 (m, 4H, 2^{ii}-H , 4^{iv}-H), 1.97-2.06 (m, 1H, 4^{iii}-H), 2.09-2.20 (m, 2H, 3^{v}-H , 5^{i}-H_a), 2.23-2.39 (m, 3H, 2^{vi}-H , 5^{i}-H_b), 2.93-3.00 (m, 1H, 1^{i}-H_a), 3.01-3.14 (m, 3H, 1^{i}-H_b , 3^{ii}-H_a), 3.23-3.30 (m, 1H, 5^{iv}-H_a), 3.33-3.46 (m, 2H, 5^{iv}-H_b , 3^{ii}-H_b), 3.64 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H, 6^{i}-H), 3.73 (dt, $J = 9.3$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1H, 3^{iv}-H), 3.94 (dd, $J = 5.9$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1H, 3^{i}-H), 4.07-4.17 (m, 2H, 4^{i}-H , 2^{v}-H), 4.27 (dd, $J = 5.8$ Hz, $J = 3.9$ Hz, 1H, 2^{i}-H), 4.33 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, 2^{iv}-H), 4.41 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, 2^{iii}-H), 5.02 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 3.4$ Hz, 1H, 3^{iii}-H), 5.71 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, 1^{i}-H), 5.68 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.58 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CD_3OD): 14.47 (C- 13^{vi}), 15.94 (C- 5^{iii}), 17.87 (C- 4^{v}), 19.78 (C- 5^{iii}), 20.05 (C- 4^{v}), 22.18 (C- 4^{iv}), 26.07 (C- 3^{vi}), 27.41 (C- 2^{ii}), 23.75, 30.28, 30.42, 30.49, 30.62, 30.73, 30.77, 30.78, 33.09 (C- 4^{vi} , C- 5^{vi} , C- 6^{vi} , C- 7^{vi} , C- 8^{vi} , C- 9^{vi} , C- 10^{vi} , C- 11^{vi} , C- 12^{vi}), 29.91 (C- 4^{iii}), 31.83 (C- 3^{v}), 34.90, 35.05 (C- 5^{i} , C- 2^{vi}), 37.14 (C- 3^{ii} , C- 5^{iv}), 45.53 (C- 1^{i}), 51.59 (C- 3^{iv}), 56.03 (C- 2^{iii}), 56.53 (C- 2^{iv}), 59.58 (C- 2^{v}), 61.99 (C- 6^{i}), 74.10 (C- 2^{i}), 74.72 (C- 3^{i}), 76.46 (C- 3^{iii}), 82.01 (C- 4^{i}), 93.92 (C- 1^{i}), 103.08 (C- 5), 143.88 (C- 6), 152.28 (C- 2), 155.49 (NC(=NH)N), 160.02 (NC(=O)N), 166.06 (C- 4), 172.16 (C- 1^{iv}), 172.84 (C- 7^{i}), 172.99 (C- 1^{iii}), 174.70 (C- 1^{vi}), 175.86 (C- 1^{v}).

$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (376 MHz, CD_3OD): -76.95 (s, CF_3).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2926, 1666, 1643, 1556, 1466, 1392, 1200, 1182, 1133, 836, 800, 721.

UV (HPLC): $\lambda_{\text{max}} = 222$ nm.

MS (ESI): $m/z = 491.33$ [$\text{M}+2\text{H}$] $^+$, 981.52 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

HRMS (ESI): $\text{C}_{46}\text{H}_{78}\text{N}_{10}\text{O}_{14}$ (981.16)

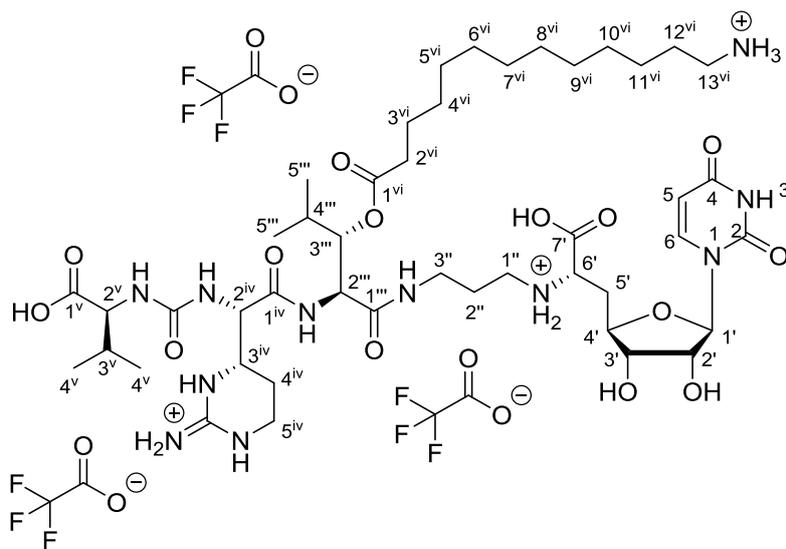
ber.: 981.5616 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$,

491.2844 [$\text{M}+2\text{H}$] $^+$.

gef.: 981.5590 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$,

491.2831 [$\text{M}+2\text{H}$] $^+$.

7.2.8.8 Synthese des 3'''-(ω -Aminotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats **53**



Das Muraymycin-Grundgerüst **69** (38.0 mg, 27.6 μmol , 1.0 Äq.) wurde in Dichlormethan (2.0 mL) gelöst, mit 4-(Dimethylamino)-pyridin (8.4 mg, 69 μmol , 2.5 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (13.2 mg, 68.9 μmol , 2.5 Äq.) und *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71** (19.0 mg, 52.3 μmol , 1.9 Äq.) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde Salzsäure (10 mL, 1 M) zugefügt und mit Dichlormethan (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2 \rightarrow 96:4) gereinigt. Das so erhaltene Zwischenprodukt **80** wurde in *iso*-Propanol (2 mL) aufgenommen und über einen Zeitraum von 6 h in mehreren Portionen (je \sim 10 Äq.) mit 1,4-Cyclohexadien (91 μL , 78 mg, 0.98 μmol , 63 Äq.) und Palladium Black (Spatelspitze) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 35 °C erhitzt, bis ein vollständiger Umsatz mittels Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 9:1) beobachtet werden konnte. Das Reaktionsgemisch wurde über einen Spritzenfilter filtriert und das Lösungsmittel des Filtrats wurde im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Zwischenprodukt **82** wurde ohne weitere Reinigung direkt in der sauren globalen Entschützung mit Trifluoressigsäure (2.2 mL, 80 %) eingesetzt. Nach Rühren bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 24 h wurde die blaue Reaktionslösung mit Wasser (10 mL) verdünnt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der erhaltene blaue Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser, Acetonitril und Trifluoressigsäure (95:5:0.1) aufgenommen, filtriert und gefriergetrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels semipräparativer HPLC. Nach erneuter Gefrierd Trocknung des Eluats konnte das Produkt **53** als farblose Watte erhalten werden.

Ausbeute (53): 7.1 mg (5.3 μmol , 10 % über vier Stufen ausgehend von Harnstoffdipeptid **12**) als farblose Watte.

HPLC (analytisch): $t_R = 4.7$ min (Methode MWP_QC_grad_pos_acid_HYDRO_400_1900), Injektionsvolumen: 20 μL ($c \sim 1$ mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 17.5$ min (Methode MW_421), Injektionskonzentration: 11.5 mg in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}/\text{TFA}$ 95:5:0.1 (0.5 mL).

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{DMSO-}d_6$): 0.83 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 5^{'''}-H_a), 0.85 (d, $J = 6.8$, Hz, 3H, 5^{'''}-H_b), 0.87 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 4^v-H_a), 0.92 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 4^v-H_b), 1.18-1.36 (m, 16H, 4^{vi}-H, 5^{vi}-H, 6^{vi}-H, 7^{vi}-H, 8^{vi}-H, 9^{vi}-H, 10^{vi}-H, 11^{vi}-H), 1.49-1.64 (m, 4H, 3^{vi}-H, 12^{vi}-H), 1.78-1.98 (m, 5H, 2^{''}-H, 4^{iv}-H, 4^{'''}-H), 2.07-2.24 (m, 2H, 3^v-H, 5ⁱ-H_a), 2.27-2.44 (m, 3H, 2^{vi}-H, 5ⁱ-H_b), 2.92 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 13^{vi}-H), 2.96-3.08 (m, 2H, 1^{''}-H), 3.08-3.16 (m, 1H, 3^{''}-H_a), 3.25-3.35 (m, 3H, 3^{''}-H_b, 5^{iv}-H), 3.72 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, 6ⁱ-H), 3.83-3.89 (m, 1H, 3^{iv}-H) 4.01 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, 3ⁱ-H), 4.04 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, 2^v-H), 4.08-4.14 (m, 1H, 4ⁱ-H), 4.30-4.37 (m, 2H, 2^{iv}-H, 2ⁱ-H), 4.46 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, 2^{'''}-H) 4.98 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 3.7$ Hz, 1H, 3^{'''}-H), 5.72 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, 1ⁱ-H), 5.83 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.63 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{DMSO-}d_6$): 16.57 (C_a-4^v), 18.55 (C_a-5^{'''}), 20.33 (C_b-5^{'''}), 20.37 (C_b-4^v), 22.12 (C-4^{iv}), 25.99 (C-3^{vi}), 27.16 (C-2^{''}), 27.24, 28.36, 29.88, 29.98, 30.03, 30.08, 30.21, 30.27, 30.35 (C-4^{vi}, C-5^{vi}, C-6^{vi}, C-7^{vi}, C-8^{vi}, C-9^{vi}, C-10^{vi}, C-11^{vi}, C-12^{vi}, C-4^{'''}), 31.83 (C-3^v), 34.83 (C-5ⁱ), 35.50 (C-2^{vi}), 37.37 (C-5^{iv}), 37.87 (C-3^{''}), 41.12 (C-13^{vi}), 45.99 (C-1^{''}), 50.78 (C-3^{iv}), 56.01 (C-2^{'''}), 57.13 (C-2^{iv}), 60.68 (C-2^v), 61.92 (C-6ⁱ), 74.33 (C-2ⁱ), 74.56 (C-3ⁱ), 77.39 (C-3^{'''}), 81.71 (C-4ⁱ), 92.98 (C-1ⁱ), 103.80 (C-5), 117.99 (q, $J = 291.8$ Hz, CF_3COO), 144.30 (C-6), 152.98 (C-2), 155.41 (N(C=NH)N), 160.46 (NC(=O)N), 164.49 (q, $J = 35.4$ Hz, CF_3COO), 167.69 (C-4), 173.01 (C-1^{'''}), 173.16 (C-1^{iv}), 173.94 (C-7ⁱ), 177.63 (C-1^{vi}), 178.54 (C-1^v).

$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (376 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{DMSO-}d_6$): -73.57 (s, CF_3).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2928, 1665, 1638, 1550, 1466, 1390, 1199, 1179, 1130.

UV (HPLC): $\lambda_{\text{max}} = 218$ nm, 258 nm.

MS (ESI): $m/z = 498.77$ [$\text{M}+2\text{H}$]⁺, 996.70 [$\text{M}+\text{H}$]⁺.

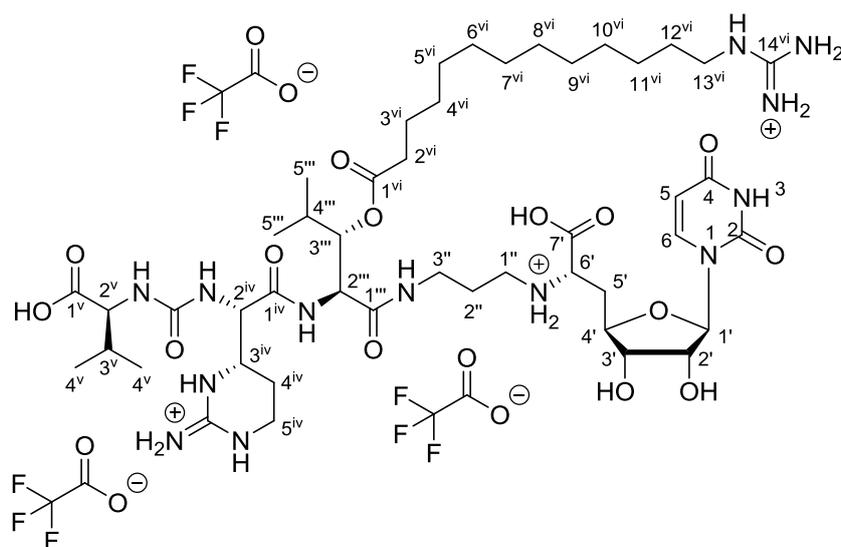
HRMS (ESI): $\text{C}_{45}\text{H}_{77}\text{N}_{11}\text{O}_{14}$ (995.57)

ber.: 996.5724 [$\text{M}+\text{H}$]⁺,
498.7898 [$\text{M}+2\text{H}$]⁺.
332.8623 [$\text{M}+3\text{H}$]⁺.

gef.: 996.5719 [M+H]⁺
 498.7900 [M+2H]⁺
 332.8621 [M+3H]⁺.

7.2.8.9 Synthese des 3'''-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin-Derivats

52



Das Muraymycin-Grundgerüst **69** (36.9 mg, 26.8 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in Dichlormethan (1.5 mL) gelöst, mit 4-(Dimethylamino)-pyridin (8.2 mg, 67 μ mol, 2.5 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (12.8 mg, 66.8 μ mol, 2.5 Äq.) und *N*-Pbf-13-Guanidinotridecansäure **107** (26.6 mg, 50.8 μ mol, 1.9 Äq.) versetzt und 16.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde ges. Ammoniumchlorid-Lösung (5 mL) zugefügt und mit Dichlormethan (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Et₂O/MeOH 95:5 \rightarrow 90:10) gereinigt. Das so erhaltene Zwischenprodukt **84a** wurde in wässriger Trifluoressigsäure (2.8 mL, 80 %) aufgenommen und für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das blaue Gemisch wurde mit Wasser (10 mL) verdünnt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der erhaltene blaue Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser, Acetonitril und Trifluoressigsäure (90:10:0.1) aufgenommen, filtriert und gefriergetrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels semipräparativer HPLC. Nach erneuter Gefrierd Trocknung des Eluats konnte das Produkt **52** als farblose Watte erhalten werden.

Ausbeute (52): 24.0 mg (17.4 μmol , 37 % über drei Stufen ausgehend von **12**) als farbloser Feststoff.

HPLC (analytisch): $t_R = 4.8$ min (MWP_Methode QC_grad_pos_acid_HYDRO_200_1600), Injektionsvolumen: 15 μL (c ~ 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): $t_R = 16.2$ min (Methode MW_447_9010), Injektionskonzentration: 10 mg in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}/\text{TFA}$ 90:10:0.1 (0.3 mL).

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{DMSO-}d_6$): 0.75 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 5'''-H_a), 0.76 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 5'''-H_b), 0.79 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 4^v-H_a), 0.84 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 4^v-H_b), 1.05-1.23 (m, 16H, 4^{vi}-H, 5^{vi}-H, 6^{vi}-H, 7^{vi}-H, 8^{vi}-H, 9^{vi}-H, 10^{vi}-H, 11^{vi}-H), 1.37-1.51 (m, 4H, 3^{vi}-H, 12^{vi}-H), 1.68-1.94 (m, 5H, 2''-H, 4^{iv}-H, 4'''-H), 2.01-2.09 (m, 1H, 3^v-H), 2.12-2.33 (m, 3H, 2^{vi}-H, 5'-H_a), 2.33-2.45 (m, 1H, 5'-H_b), 2.93-3.31 (m, 8H, 1''-H, 13^{vi}-H, 3''-H, 5^{iv}-H), 3.71-3.80 (m, 1H, 3^{iv}-H), 3.93-4.11 (m, 4H, 3'-H, 2^v-H, 6'-H, 4'-H), 4.28 (t, $J = 4.3$ Hz, 2'-H), 4.34 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 2^{iv}-H), 4.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 2'''-H), 4.80-4.89 (m, 1H, 3'''-H), 5.65 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, 1'-H), 5.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.52 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{DMSO-}d_6$): 17.18 (C_a-5'''), 18.65 (C_b-5'''), 20.40 (C_a-4^v), 20.65 (C_b-4^v), 21.92 (C-4^{iv}), 26.31 (C-3^{vi}), 27.12 (C-2''), 27.85, 29.82, 29.98, 30.28, 30.42, 30.49, 30.68, 30.77 (C-4^{vi}, C-5^{vi}, C-6^{vi}, C-7^{vi}, C-8^{vi}, C-9^{vi}, C-10^{vi}, C-11^{vi}, C-12^{vi}, C-4'''), 31.79 (C-3^v), 34.03 (C-5'), 35.61 (C-2^{vi}), 37.38 (C-5^{iv}), 37.87 (C-3''), 42.77 (C-13^{vi}), 45.90 (C-1''), 50.98 (C-3^{iv}), 55.86 (C-2'''), 57.05 (C-2^{iv}), 59.18 (C-6'), 60.10 (C-2^v), 74.26 (C-2'), 74.53 (C-3'), 77.65 (C-3'''), 80.72 (C-4'), 92.81 (C-1'), 103.83 (C-5), 117.85 (q, $J = 291.5$ Hz, CF_3COO), 143.96 (C-6), 152.77 (C-2), 155.38 (NC(=NH)N), 158.24 (C-14^{vi}), 160.45 (NC(=O)N), 163.90 (q, $J = 35.7$ Hz, CF_3COO), 167.29 (C-4), 172.05 (C-7'), 172.423 (C-1'''), 172.71 (C-1^{iv}), 176.31 (C-1^{vi}), 177.42 (C-1^v).

$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (376 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{DMSO-}d_6$): -75.39 (s, CF_3).

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2931, 1659, 1557, 1433, 1180, 1130, 1026, 836, 799, 721, 598, 518.

UV (HPLC): $\lambda_{\text{max}} = 234$ nm, 261 nm.

MS (ESI): $m/z = 520$ [M+2H]⁺, 347 [M+3H]⁺.

HRMS (ESI): $\text{C}_{46}\text{H}_{79}\text{N}_{13}\text{O}_{14}$ (1038.22)

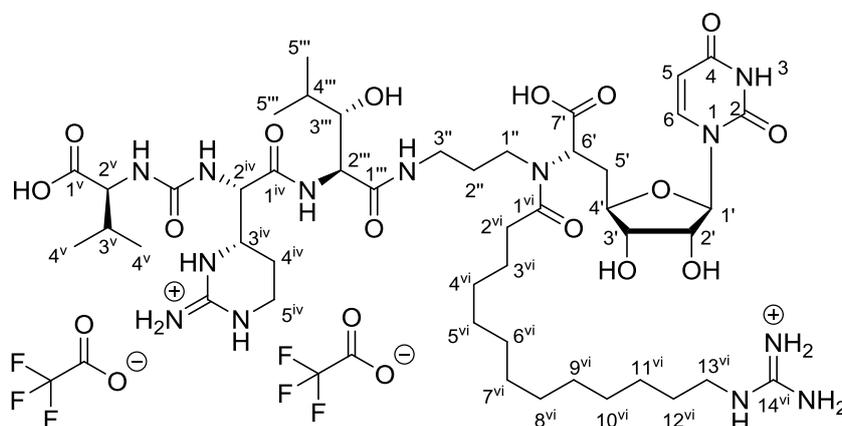
ber.: 519.8007 [M+2H]⁺.

346.8696 [M+3H]⁺.

gef.: 519.7999 [M+2H]⁺

346.8688 [M+3H]⁺.

7.2.8.10 Synthese des 6'*N*-(ω -Guanidinotridecanoyl)-5'-desoxy-Muraymycin Derivats 52a



Das Muraymycin-Grundgerüst **69** (69.0 mg, 50.1 μmol , 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (4.0 mL) gelöst, mit 4-(Dimethylamino)-pyridin (15.7 mg, 129 μmol , 2.6 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (7.6 mg, 0.13 μmol , 2.5 Äq.) und *N*-Cbz-13-Aminotridecansäure **71** (35.0 mg, 96.3 μmol , 1.9 Äq.) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde ges. Ammoniumchlorid-Lösung (15 mL) zugefügt und mit Ethylacetat (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2 \rightarrow 96:4) gereinigt. Das so erhaltene Zwischenprodukt **80** wurde in *iso*-Propanol (2 mL) aufgenommen und über einen Zeitraum von 5 h in mehreren Portionen (je 4 x ~4.0 Äq.) mit 1,4-Cyclohexadien (72 μL , 0.62 mg, 0.74 mmol, 15 Äq.) und Palladium Black (Spatelspitzen) versetzt, bis ein vollständiger Umsatz mittels Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 9:1) beobachtet werden konnte. Das Reaktionsgemisch wurde über einen Spritzenfilter filtriert und das Lösungsmittel des Eluats entfernt. Der erhaltene Rückstand **82** wurde ohne weitere Reinigung direkt in DMF (1.7 mL) gelöst und mit 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidin-hydrochlorid (8.4 mg, 0.57 μmol , 1.1 Äq.) und Triethylamin (12 μL , 8.8 mg, 87 μmol , 1.7 Äq.) versetzt und für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Es folgte die Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) und die Extraktion mit Ethylacetat (3 x 10 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das erhaltene Zwischenprodukt **84b** wurde ohne Reinigung in der globalen sauren Entschützung

mit wässriger Trifluoressigsäure (2.8 mL, 80 %) eingesetzt. Das blaue Gemisch wurde mit Wasser (10 mL) verdünnt und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der erhaltene blaue Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser, Acetonitril und Trifluoressigsäure (95:5:0.1) aufgenommen, filtriert und gefriergetrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels semipräparativer HPLC. Nach erneuter Gefriertrocknung des Eluats konnte das Produkt **52a** als farblose Watte erhalten werden.

Ausbeute (52a): 6.5 mg (4.7 μ mol, 6 % über 5 Stufen ausgehend von Harnstoffdipeptid **12**) als farblose Watte.

HPLC (analytisch): t_R = 1.8 min (MWP_QC_grad_pos_acid_HYDRO_400_1900_7525), Injektionsvolumen: 15 μ L (c \sim 1 mg/mL in MeOH).

HPLC (semipräparativ): t_R = 14.0 min (Methode MW_417), Injektionskonzentration: 9 mg in H₂O/MeCN/TFA 95:5:0.1 (0.5 mL).

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D₂O:DMSO-*d*₆): 0.77-0.83 (m, 3H, 5^{'''}-H_a), 0.85-0.89 (m, 3H, 4^v-H_a), 0.89-0.96 (m, 6H, 4^v-H_b, 5^{'''}-H_a), 1.10-1.33 (m, 16H, 4^{vi}-H, 5^{vi}-H, 6^{vi}-H, 7^{vi}-H, 8^{vi}-H, 9^{vi}-H, 10^{vi}-H, 11^{vi}-H), 1.36-1.44 (m, 2H, 3^{vi}-H), 1.47-1.57 (m, 2H, 12^{vi}-H), 1.67-2.00 (m, 5H, 4^{'''}-H, 2^{''}-H, 4^{iv}-H), 2.17-2.22 (m, 2H, 3^v-H, 2^{vi}-H_a), 2.25-2.39 (m, 2H, 5[']-H_a, 2^{vi}-H_b), 2.40-2.51 (m, 1H, 5[']-H_b), 3.12 (t, J = 6.9 Hz, 2H, 13^{vi}-H), 3.19-3.39 (m, 5H, 3^{''}-H, 5^{iv}-H, 1^{''}-H_a), 3.51-3.65 (m, 2H, 1^{''}-H_b, 3^{'''}-H), 3.76-3.84 (m, 1H, 3^{iv}-H), 3.89-3.95 (m, 1H, 3[']-H), 4.02-4.14 (m, 3H, 4[']-H, 2^v-H, 6[']-H), 4.22 (dd, J = 5.2 Hz, J = 3.1 Hz, 1H, 2[']-H), 4.27-4.32 (m, 1H, 2^{'''}-H), 4.34-4.39 (m, 1H, 2^{iv}-H), 5.72-5.79 (m, 1H, 1[']-H), 5.81-5.88 (m, 1H, 5-H), 7.49-7.66 (m, 1H, 6-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, D₂O:DMSO-*d*₆): 16.76 (C_a-5^{'''}), 18.44 (C_a-4^v), 20.17 (C_b-4^v), 20.49 (C_b-5^{'''}), 22.12 (C-4^{iv}), 26.18 (C-3^{vi}), 29.37 (C-2^{''}), 27.32, 29.81, 29.97, 30.06, 30.08, 30.14, 30.17, 30.21 (C-4^{vi}, C-5^{vi}, C-6^{vi}, C-7^{vi}, C-8^{vi}, C-9^{vi}, C-10^{vi}, C-11^{vi}, C-12^{vi}), 30.93 (C-4^{'''}), 31.60 (C-3^v), 33.34 (C-5[']), 34.33 (C-2^{vi}), 37.46 (C-5^{iv}), 38.35 (C-3^{''}), 42.62 (C-13^{vi}), 49.91 (C-1^{''}), 51.30 (C-3^{iv}), 57.02 (C-2^{iv}), 57.77 (C-2^{'''}), 60.35 (C-2^v), 61.53 (C-6[']), 74.55 (C-2[']), 74.73 (C-3[']), 76.17 (C-3^{'''}), 82.75 (C-4[']), 92.30 (C-1[']), 103.64 (C-5), 117.86 (q, J = 292.1 Hz, CF₃COO), 143.37 (C-6), 152.67 (C-2), 155.30 (NC(=NH)N), 158.08 (C-14^{vi}), 160.45 (NC(=O)N), 164.18 (q, J = 35.2 Hz, CF₃COO), 167.33 (C-4), 172.42 (C-1^{iv}), 173.54 (C-1^{'''}), 175.55 (C-7[']), 177.46 (C-1^{vi}), 178.04 (C-1^v).

¹⁹F-NMR: δ [ppm] (376 MHz, D₂O:DMSO-*d*₆): -73.32 (s, CF₃).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 3324, 2929, 2855, 1655, 1555, 1466, 1427, 1262, 1181, 1133, 800, 721.

UV (HPLC): $\lambda_{\max} = 263 \text{ nm}$.

MS (ESI): $m/z = 520.00 \text{ [M+2H]}^+$.

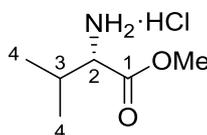
HRMS (ESI): $\text{C}_{46}\text{H}_{79}\text{N}_{13}\text{O}_{14}$ (1038.22)

ber.: 519.8007 $[\text{M+2H}]^+$.

gef.: 519.7997 $[\text{M+2H}]^+$.

7.2.9 Synthesen des 3-Aminoleucin-Bausteins

7.2.9.1 Synthese des Methyl-L-valinat-hydrochlorids (*S*)-115



Methanol (100 mL) wurde vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von 20 min wurde Acetylchlorid (19.0 mL, 20.9 g, 266 mmol, 3.1 Äq.) zugetropft und für weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von L-Valin (*S*)-**91** (10.1 g, 86.2 mmol, 1.0 Äq.) in Portionen. Das Gemisch wurde für 16 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute ((*S*)-**115**): 14.4 g (86.2 mmol, quant.) als weißer Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (300 MHz, D_2O): 1.07 (d, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 3H, 4- H_a), 1.08 (d, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 3H, 4- H_b), 2.32-2.48 (m, 1H, 3-H), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 4.08 (d, $J = 4.7 \text{ Hz}$, 1H, 2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, D_2O): 17.06 (C_a -4) 17.35 (C_b -4), 29.37 (C-3), 53.48 (OCH_3), 58.48 (C-2), 170.46 (C-1).

Schmelzpunkt: $T_m = 148 \text{ }^\circ\text{C}$, bis 160 °C Zersetzung.

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2966, 2834, 1736, 1505, 1434, 1286, 1236, 1156, 1107, 1038.

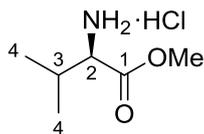
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +27.5$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ (131.09)

ber.: 132.1019 $[\text{M+H}]^+$.

gef.: 132.1020 $[\text{M+H}]^+$.

7.2.9.2 Synthese des Methyl-D-valinat-hydrochlorids (*R*)-115



Methanol (50 mL) wurde vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von 20 min wurde Acetylchlorid (9.5 mL, 10.5 g, 133 mmol, 3.1 Äq.) zugetropft und für weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von D-Valin (*R*)-**91** (5.05 g, 43.1 mmol, 1.0 Äq.) in Portionen. Das Gemisch wurde für 16 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute ((*R*)-115): 7.22 g (43.1 mmol, quant.) als weißer Feststoff.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D₂O): 1.03 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, 4-H_a), 1.04 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, 4-H_b), 2.31-2.40 (m, 1H, 3-H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 4.04 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, 2-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, D₂O): 17.06 (C_a-4), 17.33 (C_b-4), 29.35 (C-3), 53.46 (OCH₃), 58.46 (C-2), 170.44 (C-1).

Schmelzpunkt: T_m = 148 °C, bis 160 °C Zersetzung.

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2967, 2830, 1735, 1505, 1435, 1286, 1237, 1157, 1106, 1038.

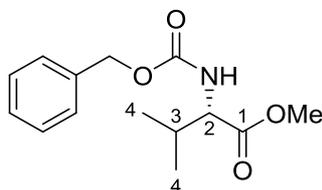
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -21.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

HRMS (ESI): C₆H₁₃NO₂ (131.09)

ber.: 132.1019 [M+H]⁺.

gef.: 132.1020 [M+H]⁺.

7.2.9.3 Synthese des Methyl-*N*-(benzyloxycarbonyl)-*L*-valinats (*S*)-**90**



Der Methylester (*S*)-**115** (5.03 g, 30.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Wasser (90 mL) und 1,4-Dioxan (150 mL) gelöst, Natriumcarbonat (12.2 g, 115 mmol, 3.8 Äq.) wurde hinzugefügt und die Suspension wurde auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde Chlorameisensäurebenzylester (10.0 mL, 12.0 g, 70.0 mmol, 2.4 Äq.) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h gerührt, wobei es sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Nach Zugabe von Wasser (150 mL) erfolgte die Extraktion mit Ethylacetat

(3 x 150 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 5:1) wurde das Produkt erhalten.

Ausbeute ((S)-90): 7.39 g (27.9 mmol, 93 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 5:1) = 0.18.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4- H_a), 0.97 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4- H_b), 2.11-2.21 (m, 1H, 3-H), 3.66-3.77 (m, 3H, OCH_3), 4.31 (dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1H, 2-H), 5.08-5.15 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5.23-5.35 (m, 1H, NH), 7.28-7.40 (m, 5H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 17.65 (C_a -4), 19.08 (C_b -4), 31.42 (C-3), 52.29 (OCH_3), 59.13 (C-2), 67.17 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 128.28, 128.33, 128.68 ($\text{C}_{\text{tert-Ph}}$), 136.37 ($\text{C}_{\text{quart-Ph}}$), 156.34 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 172.68 (C-1).

Schmelzpunkt: $T_m = 58$ °C.

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2964, 1723, 1524, 1456, 1349, 1313, 1213, 1162, 1095, 1027.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 257$ nm.

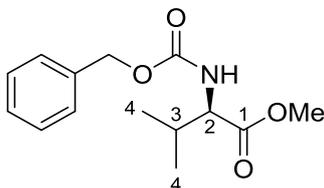
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +9.6$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (265.13)

ber.: 266.1387 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

gef.: 266.1386 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.9.4 Synthese des Methyl-*N*-(benzyloxycarbonyl)-*D*-valinats (*R*)-90



Der Methyl ester (*R*)-**115** (2.51 g, 15.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Wasser (75 mL) und 1,4-Dioxan (45 mL) gelöst, Natriumcarbonat (4.75 g, 44.8 mmol, 3.0 Äq.) wurde hinzugefügt und die Suspension wurde auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde Chlorameisensäurebenzylester (3.8 mL, 4.6 g, 27 mmol, 1.8 Äq.) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h gerührt, wobei es sich langsam auf Raumtemperatur erwärmte. Nach Zugabe von Wasser (75 mL) erfolgte die Extraktion mit Ethylacetat (3 x 75 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und

das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 6:1) wurde das Produkt erhalten.

Ausbeute ((R)-90): 3.03 g (11.4 mmol, 76 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 6:1) = 0.25.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4- H_a), 0.97 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 4- H_b), 2.10-2.22 (m, 1H, 3-H), 3.64-3.80 (m, 3H, OCH_3), 4.31 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1H, 2-H), 5.08-5.17 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5.26 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, NH), 7.28-7.41 (m, 5H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, CDCl_3): 17.68 (C_{a-4}), 19.08 (C_{b-4}), 31.45 (C-3), 52.29 (OCH_3), 59.16 (C-2), 67.19 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 128.28, 128.34, 128.69 ($\text{C}_{\text{tert-Ph}}$), 136.40 ($\text{C}_{\text{quart-Ph}}$), 156.35 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 172.68 (C-1).

Schmelzpunkt: $T_m = 58$ °C.

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 3350, 2953, 1746, 1691, 1533, 1312, 1244, 1194, 1093, 1023, 751, 699.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 257$.

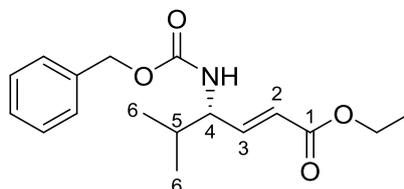
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.4$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (265.13)

ber.: 266.1387 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

gef.: 266.1385 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

7.2.9.5 Synthese des Ethyl-(4*S,E*)-4-((benzyloxycarbonyl)amino)-5-methylhex-2-enoats (*S*)-88



Das Methyl-*N*-Cbz-*L*-valinat (*S*)-**90** (2.00 g, 7.54 mmol, 1.0 Äq.) wurde in DCM (18 mL) gelöst und bei -78 °C mit DIBAL-H (1.2 M, 12.6 ml, 15.1 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Anschließend wurden Kalium-*tert*-butanolat (931 mg, 8.29 mmol, 1.1 Äq.) und Triethylphosphonoacetat (1.86 g, 1.65 mL, 8.29 mmol, 1.1 Äq.) bei -78 °C zugefügt und das resultierende Gemisch wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wurde Weinsäure-Lösung (10 %) zugefügt, für 10 min kräftig gerührt und mit Dichlormethan extrahiert (3 x 20 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie über Kieselgel (PE/EE 1:1) gereinigt.

Ausbeute ((*S*)-**89**): 1.54 g (5.04 mmol, 67 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 4:1) = 0.20.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.91 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 6-H_a), 0.95 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 6-H_b), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.83-1.93 (m, 1H, 5-H), 4.19 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.22-4.29 (m, 1H, 4-H), 4.80 (d, J = 8.9 Hz, 1H, NH), 5.07-5.15 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.93 (d, J = 15.7 Hz, 1H, 2-H), 6.85 (d, J = 15.7 Hz, J = 5.6 Hz, 1H, 3-H), 7.30-7.39 (m, 5H, Ph-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃): 14.37 (OCH₂CH₃), 18.12 (C_a-6), 18.99 (C_b-6), 32.29 (C-5), 57.46 (C-4), 60.64 (OCH₂CH₃), 67.18 (NCO₂CH₂Ph), 121.99 (C-2), 128.34, 128.40, 128.73 (C_{tert}-Ph), 136.38 (C_{quart}-Ph), 146.83 (C-3), 156.01 (NCO₂CH₂Ph), 166.29 (C-1).

Schmelzpunkt: T_m = 46-48 °C.

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 1698, 1528, 1369, 1286, 1236, 1183, 1095, 1041, 985, 698.

UV (MeOH): λ_{max} = 223 nm.

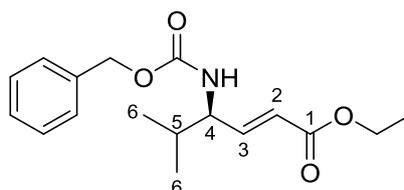
Drehwert: $[\alpha]_D^{20}$ = +5.2 (c = 1.0, CHCl₃).

HRMS (ESI): C₁₇H₂₃NO₄ (305.16)

ber.: 306.1700 [M+H]⁺

328.1519 [M+Na]⁺.gef.: 306.1697 [M+H]⁺328.1515 [M+Na]⁺.

7.2.9.6 Synthese des Ethyl-(4*R,E*)-4-((benzyloxycarbonyl)amino)-5-methylhex-2-enoats (*R*)-88



Das Methyl-*N*-Cbz-D-valinat (*R*)-**90** (1.00 g, 3.77 mmol, 1.0 Äq.) wurde in DCM (9 mL) gelöst und bei -78 °C mit DIBAL-H (1.2 M, 6.3 ml, 7.56 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Anschließend wurden Kalium-*tert*-butanolat (465 mg, 4.15 mmol, 1.1 Äq.) und Triethylphosphonoacetat (930 mg, 1.7 mL, 8.3 mmol, 1.1 Äq.) bei -78 °C zugefügt und das resultierende Gemisch wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wurde Weinsäure-Lösung (10 %) zugefügt, für 10 min kräftig gerührt und mit Dichlormethan extrahiert (3 x 20 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie über Kieselgel (PE/EE 1:1) gereinigt.

Ausbeute ((*R*)-**89**): 835 mg (2.73 mmol, 73 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 4:1) = 0.20.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.91 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 6-H_a), 0.94 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 6-H_b), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.83-1.94 (m, 1H, 5-H), 4.19 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.22-4.29 (m, 1H, 4-H), 4.82 (d, J = 9.0 Hz, 1H, NH), 5.06-5.15 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.93 (d, J = 15.7 Hz, 1H, 2-H), 6.85 (d, J = 15.7 Hz, J = 5.6 Hz, 1H, 3-H), 7.28-7.41 (m, 5H, Ph-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃): 14.34 (OCH₂CH₃), 18.11 (C_a-6), 18.96 (C_b-6), 32.27 (C-5), 57.45 (C-4), 60.59 (OCH₂CH₃), 67.12 (NCO₂CH₂Ph), 121.97 (C-2), 128.30, 128.35, 128.69 (C_{tert}-Ph), 136.39 (C_{quart}-Ph), 146.81 (C-3), 156.00 (NCO₂CH₂Ph), 166.26 (C-1).

Schmelzpunkt: T_m = 46-48 °C.

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 1699, 1528, 1369, 1286, 1237, 1183, 1096, 1042, 985, 698.

UV (MeOH): λ_{max} = 214 nm.

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = -3.6 (c = 1.0, CHCl₃).

HRMS (ESI): C₁₇H₂₃NO₄ (305.16)

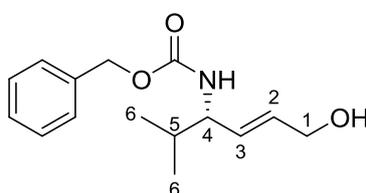
ber.: 306.1700 [M+H]⁺

328.1519 [M+Na]⁺.

gef.: 306.1698 [M+H]⁺

328.1516 [M+Na]⁺.

7.2.9.7 Synthese des (4*S*,*E*)-4-((Benzyloxycarbonyl)amino)-5-methylhex-2-en-1-ols **87**



Eine Lösung des α,β -ungesättigten Ethylesters (**S**)-**88** (150 mg, 0.491 mmol, 1.0 Äq.) in DCM (5 mL) wurde auf -78 °C gekühlt und Bortrifluoriddiethyletherat (69 μ L, 77 mg, 0.54 mmol, 1.1 Äq.) wurde zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei -78 °C gerührt. Dann erfolgte die Zugabe von DIBAL-H (1 M in Toluol, 1.75 mL, 1.75 mmol, 3.5 Äq.) Das Reaktionsgemisch wurde für weitere 40 min bei -78 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe von Salzsäure (1 M) wurde mit Ethylacetat (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden anschließend mit Wasser (2 x 15 mL) und mit ges. Natriumchlorid-Lösung (1 x 15 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 1:1).

Ausbeute (87): 93.4 mg (0.355 mmol, 72 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 1:1) = 0.24.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.88-0.92 (m, 6H, 6-H), 1.70-1.84 (m, 1H, 5-H), 3.97-4.09 (m, 1H, 4-H), 4.13 (d, J = 4.8 Hz, 2H, 1-H), 4.82 (d, J = 7.8 Hz, 1H, NH), 5.05-5.14 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.61 (dd, J = 15.4 Hz, J = 6.0 Hz, 1H, 3-H), 5.70-5.81 (m, 1H, 2-H), 7.27-7.41 (m, 5H, Ph-H).

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 18.23 ($\text{C}_{\text{a-6}}$), 18.85 ($\text{C}_{\text{b-6}}$), 32.47 (C-5), 57.90 (C-4), 63.05 (C-1), 66.88 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 128.26, 128.65 ($\text{C}_{\text{tert-Ph}}$), 130.23 (C-3), 130.70 (C-2), 136.61 ($\text{C}_{\text{quart-Ph}}$), 156.15 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

Schmelzpunkt: $T_{\text{m}} = 63\text{-}64\text{ }^\circ\text{C}$.

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 3321, 2960, 1695, 1531, 1455, 1408, 1288, 1240, 1088, 1013, 974, 697.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 204\text{ nm}, 257\text{ nm}$.

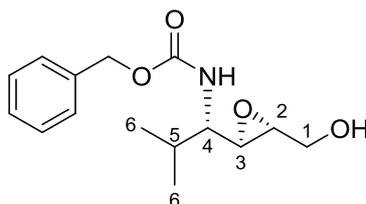
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.8$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

HRMS (ESI): $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ (263.15)

ber.: 286.1414 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

gef.: 286.1410 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

7.2.9.8 Synthese des (4S)-4-((Benzyloxycarbonyl)amino)-(2R,3R)-2,3-epoxy-5-methylhexan-1-ols **86**



Titan(IV)isopropoxid (68 μL , 65 mg, 0.23 mmol, 0.10 Äq.) und (-)-Diethyl-D-tartrat (49 μL , 59 mg, 0.29 mmol, 0.13 Äq.) wurden bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ über ausgeheiztem Molekularsieb (4 \AA) in abs. Dichlormethan (10 mL) gelöst und für 15 min gerührt. Der Allylkohol **87** (603 mg, 2.29 mmol, 1.0 Äq.) wurde zugegeben und das Gemisch wurde für weitere 15 min gerührt. *Tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (1.30 mL, 5.5 M in *n*-Decan, 7.15 mmol, 644 mg, 3.1 Äq.) wurde zugetropft, für 30 min bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt und dann für 24 h im Eisfach ($-21\text{ }^\circ\text{C}$) gelagert. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von einer Natriumchlorid/Natriumhydroxid-Lösung (20 mL, ges. wässrige NaCl : wässrige NaOH (2 M) 50:50) beendet. Das Gemisch wurde für eine weitere Stunde bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt, bevor es über Celite® filtriert und die wässrige Phase mit Dichlormethan (3 x 20 mL) extrahiert wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung (1 x 20 mL) gewaschen und es wurde nochmals mit Dichlormethan extrahiert (20 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 1:1).

Ausbeute (86): 458 mg (1.64 mmol, 72 %) als weißer Feststoff.

DC: R_f (PE/EE 1:1) = 0.15.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.99 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 6- H_a), 1.01 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, 6- H_b), 1.88-1.98 (m, 1H, 5-H), 2.95 (dt, $J = 3.9$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, 2-H), 3.03-3.16 (m, 1H, 3-H), 3.65 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 3.9$ Hz, 1H, 1- H_a), 3.82 (ddd, $J = 9.9$ Hz, $J = 5.7$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 4-H), 3.94 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, 1- H_b), 4.80 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, NH), 5.06-5.16 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 7.30-7.38 (m, 5H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 18.52 (C_a -6), 19.21 (C_b -6), 32.36 (C-5), 54.28 (C-4), 55.02 (C-2), 55.26 (C-3), 60.98 (C-1), 67.06 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 128.19, 128.33, 128.69 ($\text{C}_{\text{tert-Ph}}$), 136.49 ($\text{C}_{\text{quart-Ph}}$), 156.58 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

Schmelzpunkt: $T_m = 80$ °C.

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 1670, 1529, 1455, 1304, 1233, 1075, 1046, 1016, 738, 698.

UV (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 257$ nm.

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +25.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

MS (ESI): $m/z = 280.06$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 302.08 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI): $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (279.15)

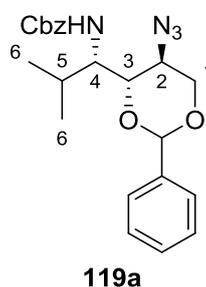
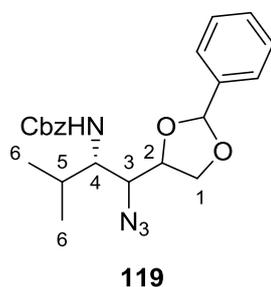
ber.: 280.1543 $[\text{M}+\text{H}]^+$

302.1363 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

gef.: 280.1541 $[\text{M}+\text{H}]^+$

302.1360 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

7.2.9.9 Synthese von Hexan-1,2-diol-Derivat 119 und Hexan-1,3-diol-Derivat 119a



Das Epoxid **86** (32.5 mg, 0.116 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Gemisch aus DMF (2 mL) und Wasser (0.5 mL) gelöst, bei 0 °C mit Natriumazid (75.6 mg, 1.16 mmol, 10 Äq.) und Ammoniumchlorid (18.6 mg, 0.348 mmol, 3.0 Äq.) versetzt und anschließend für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (10 mL) versetzt und mit

Ethylacetat (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (PE 100 → PE/EE 50:50) wurde ein Gemisch (vermutlich aus **118/118a**, 29.3 mg, 90.9 μmol, 78 % Gesamtausbeute) isoliert.

Das Gemisch (Anteil der Gesamtausbeute: 18.5 mg, 57.4 μmol, 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (2 mL) gelöst, mit (±)-Camphersulfonsäure (0.7 mg, 3 μmol, 5 mol%, bezogen auf eingesetzte Menge des Gemischs) und Benzaldehyddimethylacetal (23 μL, 23 mg, 0.15 mmol, 2.7 Äq., bezogen auf eingesetzte Menge des Gemischs) versetzt und für 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit ges. Natriumchlorid-Lösung (10 mL) verdünnt und mit Dichlormethan extrahiert (3 x 15 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (10 mL) gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel wurden die Produkte **119** und **119a** erhalten.

Ausbeute (119): ~3.2 mg (~7.8 μmol, <10 %, verunreinigt) als klares Öl.

DC: R_f (PE/EE 1:1) = 0.24.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.88 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 6-H_a), 0.95 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 6-H_b), 2.16-2.26 (m, 1H, 5-H), 3.52 (ddd, J = 10.0 Hz, J = 9.5 Hz, J = 3.7 Hz, 1H, 4-H), 3.74 (dd, J = 9.5 Hz, J = 4.2 Hz, 1H, 3-H), 4.09 (dd, J = 8.0 Hz, J = 8.0 Hz, 1H, 1-H_a), 4.17 (dd, J = 8.0 Hz, J = 5.6 Hz, 1H, 1-H_b), 4.37 (ddd, J = 8.0 Hz, J = 5.6 Hz, J = 4.2 Hz, 1H, 2-H), 4.69 (d, J = 10.0 Hz, 1H, NH), 5.06-5.16 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 5.72 (s, 1H, O₂CHPh), 7.32-7.42 (m, 8H, Ph-H), 7.49-7.55 (m, 2H, Ph-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃): 15.59 (C_a-6), 20.19 (C_b-6), 28.29 (C-5), 56.44 (C-4), 64.64 (C-3), 66.65 (C-1), 67.38 (NCO₂CH₂Ph), 76.74 (C-2), 104.31 (O₂CHPh), 126.81, 128.32, 128.51, 128.54, 128.77, 129.68 (C_{tert}-Ph), 136.30 (C_{quart}-Ph), 136.47 (C_{quart}-Ph), 156.55 (NCO₂CH₂Ph).

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2106, 1703, 1526, 1457, 1308, 1252, 1223, 1089, 997, 697.

HRMS (ESI): C₂₂H₂₆N₄O₄ (410.47)

ber.: 383.1965 [(M-N₂)+H]⁺

gef.: 383.1960 [(M-N₂)+H]⁺.

Ausbeute (119a): 14.5 mg (~35.3 μmol, ~48 %, verunreinigt) als klares Öl.

DC: R_f (PE/EE 1:1) = 0.38.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.94-1.04, (m, 6H, 6-H), 1.85-1.98 (m, 1H, 5-H), 3.55 (ddd, $J = 11.0$ Hz, $J = 9.8$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H, 2-H), 3.66-3.75 (m, 2H, 1-H_a, 3-H), 3.79-3.84 (m, 1H, 4-H), 4.41 (dd, $J = 11.0$ Hz, $J = 5.4$ Hz 1H, 1-H_b), 5.03 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, NH), 5.09-5.19 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5.44-5.46 (s, 1H, O_2CHPh), 7.29-7.44 (m, 10H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 19.72 (C_{a-6}), 19.82 (C_{b-6}), 30.42 (C-5), 53.74, (C-2), 55.90 (C-4), 67.13 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 69.26 (C-1), 79.04 (C-3), 100.91 (O_2CHPh), 126.00, 128.32, 128.38, 128.43, 128.69, 129.29 (C_{tert-Ph}), 136.60 (C_{quart-Ph}), 137.23 (C_{quart-Ph}), 156.65 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

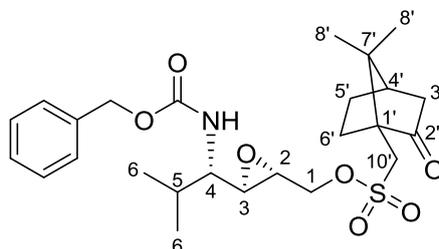
IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2110, 1721, 1506, 1455, 1289, 1217, 1106, 1018, 740, 697.

HRMS (ESI): $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$ (410.47)

ber.: 383.1965 [(M-N₂)+H]⁺.

gef.: 383.1956 [(M-N₂)+H]⁺.

7.2.9.10 Synthese des Camphersulfonsäure-Derivats 116



Das Epoxid **86** (15.0 mg, 53.7 μmol , 1.0 Äq.) wurde in Dichlormethan (1.0 mL) gelöst und bei 0 °C wurden (1*S*)-(+)-10-Camphersulfonsäurechlorid (16.2 mg, 64.6 μmol , 1.2 Äq.) und DMAP (9.8 mg, 80 μmol , 1.5 Äq.) zugefügt. Nach Rühren für 2 h bei 0 °C wurde das Reaktionsgemisch mit Salzsäure (2.5 mL, 1 M) versetzt und mit Dichlormethan (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 1:1), wobei das Produkt erhalten wurde.

Ausbeute (116): 18.4 mg (37.3 μmol , 68 %) als zähes, farbloses Öl.

DC: R_f (PE/EE 2:1) = 0.16.

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃): 0.88 (s, 3H, 8'-H_a), 0.98 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 6-H_a), 1.01 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 6-H_b), 1.10 (s, 3H, 8'-H_b), 1.42-1.48 (m, 1H, 5'-H_a), 1.66-1.73 (m, 1H, 6'-H_a), 1.91-1.98 (m, 2H, 3'-H_a, 5-H), 2.01-2.11 (m, 1H, 5'-H_b), 2.11-2.14 (m, 1H, 4'-H), 2.35-2.48 (m, 2H, 3'-H_b, 6'-H_b), 3.05 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H, 10'-H_a), 3.06-3.10 (m, 2H, 2-H, 3-H), 3.63 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H, 10'-H_b), 3.82-3.91 (m, 1H, 4-H), 4.22 (dd, $J = 11.8$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 1H, 1-H_a), 4.51 (dd, $J = 11.8$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H, 1-H_b), 4.74 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H, NH), 5.06-5.15 (m, 2H, NCO₂CH₂Ph), 7.30-7.39 (m, 5H, Ph-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, CDCl₃): 18.41 (C_a-6), 19.22 (C_b-6), 19.82 (C_a-8'), 19.88 (C_b-8'), 25.05 (C-6'), 27.03 (C-5'), 32.30 (C-5), 42.64 (C-3'), 42.88 (C-4'), 47.45 (C-10'), 48.21 (C-7'), 51.70 (C-2), 53.95 (C-4), 56.07 (C-3), 58.06 (C-1'), 67.15 (NCO₂CH₂Ph), 69.40 (C-1), 128.21, 128.37, 128.72 (C_{tert}-Ph), 136.41 (C_{quart}-Ph), 156.48 (NCO₂CH₂Ph), 214.45 (C-2').

IR (ATR): ν (cm⁻¹) = 2962, 1745, 1720, 1525, 1455, 1361, 1230, 1172, 965, 830.

UV (MeOH): $\lambda_{\max} = 203$ nm, 258 nm.

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +34.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

HRMS (ESI): C₂₅H₃₅NO₇S (493.21)

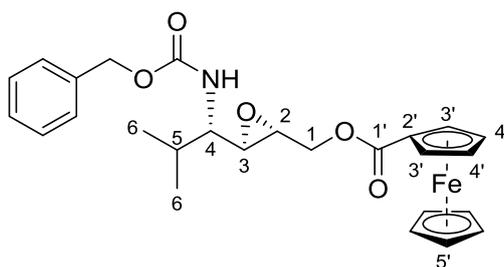
ber.: 494.2207 [M+H]⁺

516.2026 [M+Na]⁺.

gef.: 494.2207 [M+H]⁺

516.2025 [M+Na]⁺.

7.2.9.11 Synthese des Ferrocen-Derivats 117



Das Epoxid **86** (20.0 mg, 71.6 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (1.8 mL) gelöst, mit Ferrocenylcarbonsäure (25.2 mg, 110 μmol , 1.5 Äq.), DMAP (18.1 mg, 148 μmol , 2.1 Äq.) und EDC·HCl (28.1 mg, 147 μmol , 2.0 Äq.) versetzt und für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde mit Salzsäure (10 mL, 0.5 M) versetzt und mit Ethylacetat (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im

Vakuum entfernt. Die Zielverbindung konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EE 4:1) isoliert werden.

Ausbeute (117): 30.0 mg (61.1 μmol , 85 %) als zähes, rotes Öl.

DC: R_f (PE/EE 4:1) = 0.10.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 1.01 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 6- H_a), 1.04 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, 6- H_b), 1.92-2.02 (m, 1H, 5-H), 3.05-3.12 (m, 2H, 2-H, 3-H), 3.84-3.91 (m, 1H, 4-H), 4.08 (dd, $J = 12.5$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 1H, 1- H_a), 4.21 (s, 5H, 5'-H), 4.40-4.43 (m, 2H, 4'-H), 4.53-4.61 (m, 1H, 1- H_b), 4.75-4.85 (m, 3H, NH, 3'-H), 5.08-5.13 (m, 2H, $\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 7.29-7.37 (m, 5H, Ph-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (126 MHz, CDCl_3): 18.43 (C_a -6), 19.24 (C_b -6), 32.39 (C-5), 52.31 (C-2), 54.19 (C-4), 56.05 (C-3), 63.50 (C-1), 67.06 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 70.00 (C-5'), 70.33, 70.36 (C-2', C-3'), 71.64 (C-4'), 128.17, 128.31, 128.68 ($\text{C}_{\text{tert}}\text{-Ph}$), 136.46 ($\text{C}_{\text{quart}}\text{-Ph}$), 156.51 ($\text{NCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 171.53 (C-1').

IR (ATR): ν (cm^{-1}) = 2960, 1715, 1527, 1459, 1304, 1274, 1232, 1136, 1107, 1027.

UV (MeOH): λ_{max} = 263 nm, 310 nm, 445 nm.

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +15.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

MS (ESI): $m/z = 491.06$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 514.04 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI): $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{FeNO}_5$ (491.14)

ber.: 492.1468 $[\text{M}+\text{H}]^+$

514.1287 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

gef.: 492.1464 $[\text{M}+\text{H}]^+$

514.1285 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

7.3 Biologische Studien

7.3.1 *In-vitro*-Messungen mit dem fluoreszenzbasierten *MraY*-Assay

Die Bestimmungen der inhibitorischen Konzentrationen (IC_{50} -Werte) gegenüber *MraY* wurden in der Arbeitsgruppe *Ducho* von Stefan Koppermann und Jannine Ludwig nach einer leicht angepassten Methode von Bugg und Mitarbeitern durchgeführt.^[110,117,123,124] Die Bestimmung über die Zunahme der Fluoreszenzintensität erfolgte über die Zeit bei den Wellenlängen von $\lambda_{ex} = 355$ nm und $\lambda_{em} = 520$ nm (BMG Labtech POLARstar Omega, 384-Well-Plate-Format). Der Inhibitor wurde in DMSO gelöst vorgelegt und in einer Mischung aus Undecaprenylphosphat (50 μ M) und dansyliertem Parks-Nucleotid (synthetisch^[185] oder semisynthetisch, 7.5 μ M) in Puffer (100 mM Tris-HCl-Puffer pH 7.5, 200 mM KCl, 10 mM $MgCl_2$, 0.1% Triton X-100, 5% DMSO, 20 μ L gesamt) aufgenommen. Die Membranpräparation^[185] von *MraY* aus *S. aureus* (1 μ L) wurde hinzugefügt, wobei die Messung gestartet wurde. Die Messung erfolgte in Triplikaten. Die *MraY*-Aktivität bei einer bestimmten Konzentration wurde durch linearen Fit der Fluoreszenzintensitäts-Kurve über einen Zeitraum von 0 min bis 2 min. Die enzymatischen Aktivitäten wurden gegen die logarithmierten Inhibitorkonzentrationen aufgetragen. Nach sigmoidalem Fit konnten die IC_{50} -Werte nach bekannter Formel^[124,185] bestimmt werden.

7.3.2 Messung der antibakteriellen Aktivität

Die Bestimmungen der minimalen inhibitorischen Konzentrationen (MIC -Werte) gegen Bakterienwachstum wurden ebenfalls in der Arbeitsgruppe *Ducho* von Stefan Koppermann und Jannine Ludwig durchgeführt.^[125] In den antibakteriellen Assays wurden verschiedene Bakterienstämme (*S. aureus* Newman, *E. coli* $\Delta tolC$ mutant JW5503 (*E. coli* genetic stock center) und MRSA) eingesetzt. Die einzelnen Stämme wurden in LB-Medium (5 mL) für 16 h bei 37 °C bei 250 rpm geschüttelt und 1000-fach in 4.5 mL Medium verdünnt, bis die Messung der optischen Dichte einen Wert von $OD_{600} = 0.4$ ergab. Nach Aliquotierung erfolgte eine weitere Verdünnung (1:1000) der einzelnen Kulturlösungen, die anschließend auf ein entsprechendes 96-Wellplate aufgeteilt (je 90 μ L) wurden, welches bereits mit entsprechender Testsubstanz-Lösung (10 μ L) befüllt waren. Die Inkubation erfolgte bei 37 °C über einen Zeitraum von 16 h. Die optische Dichte ($\lambda = 600$ nm) wurde zu Beginn sowie nach abgelaufener

Inkubationszeit bestimmt. Die erhaltenen OD₆₀₀-Werte wurden gegen die prozentuale Konzentration (100 % entspricht der eingesetzten InhibitorKonzentration) aufgetragen, wobei die inhibitorische Konzentration bei einem OD-Wert von 50 % abgelesen wurde.

7.3.3 Fluoreszenzmikroskopische Experimente

Die fluoreszenzmikroskopischen Experimente an artifiziellen Vesikeln wurden an der Georg-August-Universität Göttingen in der Arbeitsgruppe *Steinem* von Johannes Schumacher durchgeführt. Der Assays erfolgte nach geringer Modifizierung des literaturbekannten Protokolls.^[147]

7.3.4 Permeationsassay

Der Assay zur Permeation an einem artifiziellen Membranmodell wurde am Helmholtz-Institut für pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) in der Arbeitsgruppe *Lehr* von Dr. Florian Gräf durchgeführt. Der Assay wurde nach dem literaturbekannten Protokoll^[186] durchgeführt.

8. Literaturverzeichnis

- [1] C. Friedrich; Von der Immunologie bis zu Salvarsan; *Pharm. Ztg. Online* **2004**, 1–5.
- [2] A. Helmstädter; 100 Jahre Salvarsan: Chemisch auf Erreger zielen; *Pharm. Ztg. Online* **2010**, 1–8.
- [3] K. Strebhardt, A. Ullrich; Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress; *Nat. Rev. Cancer* **2008**, 8, 473–480.
- [4] K. A. Sepkowitz; One hundred years of Salvarsan; *N Engl J Med* **2011**, 365, 291–293.
- [5] P. Ehrlich, A. Bertheim; *Über das salzsaure 3,3'-Diamino-4,4'-dioxy-arsenobenzol und seine nächsten Verwandten*, Georg Speyer Haus, Frankfurt, **1912**.
- [6] R. I. Aminov; A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future; *Front. Microbiol.* **2010**, 1, 1–7.
- [7] G. Domagk; Chemotherapie der bakteriellen Infektionen; *Angew. Chem.* **1935**, 48, 657–667.
- [8] E. Grundmann; Gerhard Domagk Ein Pathologe besiegt die bakteriellen Infektionskrankheiten; *Pathol.* **2001**, 22, 241–251.
- [9] A. Fleming; On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*; *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, 10, 226.
- [10] A. Fleming; The discovery of penicillin; *Br. Med. Bull.* **1944**, 2, 4–5.
- [11] E. Chain, H. W. Florey; The discovery of the chemotherapeutic properties of penicillin; *Br. Med. Bull.* **1944**, 2, 5–7.
- [12] K. Bush; The coming of age of antibiotics: discovery and therapeutic value: Origins of antibiotic drug discovery; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2010**, 1213, 1–4.
- [13] S. A. Waksman; History of the word 'Antibiotic'; *J. Hist. Med. Allied Sci.* **1973**, 28, 284–286.
- [14] A. Brakhage; *Angewandte Mikrobiologie*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2006**.

- [15] H. Kalant; The Pharmacology of Semisynthetic Antibiotics; *Can. Med. Assoc. J.* **1965**, *93*, 839–843.
- [16] F. Peláez; The historical delivery of antibiotics from microbial natural products—Can history repeat?; *Biochem. Pharmacol.* **2006**, *71*, 981–990.
- [17] D. Quan, G. Nagalingam, R. Payne, J. A. Triccas; New tuberculosis drug leads from naturally occurring compounds; *Int. J. Infect. Dis.* **2017**, *56*, 212–220.
- [18] C. Walsh; Where will new antibiotics come from?; *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, *1*, 65–70.
- [19] F. von Nussbaum, M. Brands, B. Hinzen, S. Weigand, D. Häbich; Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry - Exodus or Revival?; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5072–5129. F. von Nussbaum, M. Brands, B. Hinzen, S. Weigand, D. Häbich; Antibakterielle Naturstoffe in der medizinischen Chemie – Exodus oder Renaissance?; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5194–5254.
- [20] W. W. Duemling; Clinical Experiences with Penicillin in the Navy; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1946**, *48*, 201–220.
- [21] S. B. Levy, B. Marshall; Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses; *Nat. Med.* **2004**, *10*, 122–129.
- [22] A. Fleming; Penicillin; *Nobel Lect.* **1945**, gefunden unter: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1945/fleming/lecture/>.
- [23] M. Barber, M. Rozwadowska-Dowzenko; Infection by penicillin-resistant staphylococci; *The Lancet* **1948**, *252*, 641–644.
- [24] C. Walsh; Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance; *Nature* **2000**, *406*, 775–781.
- [25] V. M. D’Costa, C. E. King, L. Kalan, M. Morar, W. W. L. Sung, C. Schwarz, D. Froese, G. Zazula, F. Calmels, R. Debruyne, et al.; Antibiotic resistance is ancient; *Nature* **2011**, *477*, 457–461.
- [26] D. N. Wilson; Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance; *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *12*, 35–48.

- [27] A. J. Baylay, D. O. Ogbolu, J. M. A. Blair, L. J. V. Piddock, M. A. Webber; Molecular mechanisms of antibiotic resistance; *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, *13*, 42.
- [28] S. G. B. Amyes, J. T. Smith; R-factor mediated dihydrofolate reductases which confer trimethoprim resistance; *Microbiology* **1978**, *107*, 263–271.
- [29] G. Wright; Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification; *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57*, 1451–1470.
- [30] R. B. Sykes, M. Matthew; The β -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics; *J. Antimicrob. Chemother.* **1976**, *2*, 115–157.
- [31] G. A. Jacoby, A. A. Medeiros; More extended-spectrum β -lactamases.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 1697.
- [32] D. M. Livermore; Interplay of impermeability and chromosomal β -lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 2046–2048.
- [33] P. A. Lambert; Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria; *J. Appl. Microbiol.* **2002**, *92*, 46–54.
- [34] S. P. Denyer, J.-Y. Maillard; Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria; *J. Appl. Microbiol.* **2002**, *92*, 35–45.
- [35] X.-Z. Li, H. Nikaido; Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: An Update; *Drugs* **2009**, *69*, 1555–1623.
- [36] J. Sun, Z. Deng, A. Yan; Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2014**, *453*, 254–267.
- [37] A. J. Alanis; Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?; *Arch. Med. Res.* **2005**, *36*, 697–705.
- [38] C. L. Ventola; The Antibiotic Resistance Crisis; *Pharm. Ther.* **2015**, *40*, 277–283.
- [39] A. E. Clatworthy, E. Pierson, D. T. Hung; Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy; *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 541–548.
- [40] D. J. Diekema, R. N. Jones; Oxazolidinone antibiotics; *The Lancet* **2001**, *358*, 1975–1982.

- [41] G. Zappia, P. Menendez, G. Delle Monache, D. Misiti, L. Nevola, B. Botta; The contribution of oxazolidinone frame to the biological activity of pharmaceutical drugs and natural products; *Mini Rev. Med. Chem.* **2007**, *7*, 389–409.
- [42] A. Raja, J. LaBonte, J. Lebbos, P. Kirkpatrick; Daptomycin; *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 943.
- [43] J. N. Steenbergen, J. Alder, G. M. Thorne, F. P. Tally; Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections; *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *55*, 283–288.
- [44] P. I. Hair, S. J. Keam; Daptomycin: a review of its use in the management of complicated skin and soft-tissue infections and *Staphylococcus aureus* bacteraemia; *Drugs* **2007**, *67*, 1483–1512.
- [45] E. D. Brown, G. D. Wright; Antibacterial drug discovery in the resistance era; *Nature* **2016**, *529*, 336–343.
- [46] S. P. Hey, A. S. Kesselheim; Reprioritizing Research Activity for the Post-Antibiotic Era: Ethical, Legal, and Social Considerations; *Hastings Cent. Rep.* **2017**, *47*, 16–20.
- [47] J. F. Barrett; MRSA: status and prospects for therapy? An evaluation of key papers on the topic of MRSA and antibiotic resistance; *Expert Opin. Ther. Targets* **2004**, *8*, 515–519.
- [48] A. P. Johnson; Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK; *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *56*, 455–462.
- [49] M. Otto; Community-associated MRSA: What makes them special?; *Int. J. Med. Microbiol.* **2013**, *303*, 324–330.
- [50] M. Otto; MRSA virulence and spread; *Cell. Microbiol.* **2012**, *14*, 1513–1521.
- [51] Y. Cetinkaya, P. Falk, C. G. Mayhall; Vancomycin-Resistant Enterococci; *Clin. Microbiol. Rev.* **2000**, *13*, 686–707.
- [52] M. J. Bonten, R. Willems, R. A. Weinstein; Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from?; *Lancet Infect. Dis.* **2001**, *1*, 314–325.
- [53] L. B. Rice; Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE; *J. Infect. Dis.* **2008**, *197*, 1079–1081.

- [54] H. W. Boucher, G. H. Talbot, J. S. Bradley, J. E. Edwards, D. Gilbert, L. B. Rice, M. Scheld, B. Spellberg, J. Bartlett; Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America; *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48*, 1–12.
- [55] S. Santajit, N. Indrawattana; Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens; *BioMed Res. Int.* **2016**, *2016*, 1–8.
- [56] W. Younis, A. AbdelKhalek, A. S. Mayhoub, M. N. Seleem; *In Vitro* Screening of an FDA-Approved Library Against ESKAPE Pathogens; *Curr. Pharm. Des.* **2017**, *23*, 2147–2157.
- [57] G. L. Armstrong, L. A. Conn, R. W. Pinner; Trends in Infectious Disease Mortality in the United States During the 20th Century; *JAMA* **1999**, *281*, 61–66.
- [58] A. Cassini, L. D. Högberg, D. Plachouras, A. Quattrocchi, A. Hoxha, G. S. Simonsen, M. Colomb-Cotinat, M. E. Kretzschmar, B. Devleeschauwer, M. Cecchini, et al.; Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis; *Lancet Infect. Dis.* **2018**, 1–11.
- [59] P. Gastmeier, C. Geffers, M. Herrmann, S. Lemmen, B. Salzberger, H. Seifert, W. Kern, G. Fätkenheuer; Nosokomiale Infektionen und Infektionen mit multiresistenten Erregern – Häufigkeit und Sterblichkeit; *DMW - Dtsch. Med. Wochenschr.* **2016**, *141*, 421–426.
- [60] T. Frieden and others; Antibiotic resistance threats in the United States; **2013**, gefunden unter: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.
- [61] Die Bundesregierung; DART 2020, 2. Zwischenbericht 2017; **2017**, gefunden unter: https://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/files/dart2020_zwischenbericht_barrierefrei.pdf.
- [62] I. Noll, B. Schweickert, M. Abu Sin, M. Feig, H. Claus, T. Eckmanns; Daten zur Antibiotikaresistenzlage in Deutschland: Vier Jahre Antibiotika-Resistenz-Surveillance (ARS); *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* **2012**, *55*, 1370–1376.
- [63] World Health Organisation; Global action plan on antimicrobial resistance; **2015**, gefunden unter: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/193736/9789241509763_eng.pdf?sequence=1.
- [64] H. W. Boucher, G. H. Talbot, J. S. Bradley, J. E. Edwards, D. Gilbert, L. B. Rice, M. Scheld, B. Spellberg, J. Bartlett; Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America; *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48*, 1–12.

- [65] G. A. Pankey, L. D. Sabath; Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections; *Clin. Infect. Dis.* **2004**, *38*, 864–870.
- [66] A. C. Liwa, H. Jaka; The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs; *Formatex Res. Cent.* **2015**, *2*, 876–885.
- [67] M. A. Kohanski, D. J. Dwyer, J. J. Collins; How antibiotics kill bacteria: from targets to networks; *Nat. Rev. Microbiol.* **2010**, *8*, 423–435.
- [68] M. S. Butler, A. D. Buss; Natural products — The future scaffolds for novel antibiotics?; *Biochem. Pharmacol.* **2006**, *71*, 919–929.
- [69] I. Chopra, L. Hesse, A. j. O’Neill; Exploiting current understanding of antibiotic action for discovery of new drugs; *J. Appl. Microbiol.* **2002**, *92*, 4–15.
- [70] F. Schlünzen, R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Franceschi; Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria; *Nature* **2001**, *413*, 814–821.
- [71] M. Pioletti, F. Schlünzen, J. Harms, R. Zarivach, M. Glühmann, H. Avila, A. Bashan, H. Bartels, T. Auerbach, C. Jacobi; Crystal structures of complexes of the small ribosomal subunit with tetracycline, edeine and IF3; *EMBO J.* **2001**, *20*, 1829–1839.
- [72] A. P. Carter, W. M. Clemons, D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan; Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics; *Nature* **2000**, *407*, 340–348.
- [73] J. Drews; Hemmstoffe des Folsäure-Stoffwechsels; *Infection* **1980**, *8*, 268–275.
- [74] T. D. H. Bugg, D. Braddick, C. G. Dowson, D. I. Roper; Bacterial cell wall assembly: still an attractive antibacterial target; *Trends Biotechnol.* **2011**, *29*, 167–173.
- [75] F. H. Kayser; *Medizinische Mikrobiologie*, Georg Thieme Verlag, Zürich, **2005**.
- [76] H. C. Gram; Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten; *Fortschr. Med.* **1884**, *2*, 185–189.
- [77] A. M. Glauert, M. J. Thornley; The Topography of the Bacterial Cell Wall; *Annu. Rev. Microbiol.* **1969**, *23*, 159–198.

- [78] P. Singleton; *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*, John Wiley & Sons, Chichester, **1995**.
- [79] E. Gordon; Crystal Structure of UDP-*N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-glutamate: meso-Diaminopimelate Ligase from *Escherichia Coli*; *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 10999–11006.
- [80] A. L. Lovering, S. S. Safadi, N. C. J. Strynadka; Structural Perspective of Peptidoglycan Biosynthesis and Assembly; *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, *81*, 451–478.
- [81] A. Bouhss, A. E. Trunkfield, T. D. H. Bugg, D. Mengin-Lecreulx; The biosynthesis of peptidoglycan lipid-linked intermediates; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208–233.
- [82] T. D. H. Bugg, C. T. Walsh; Intracellular steps of bacterial cell wall peptidoglycan biosynthesis: enzymology, antibiotics, and antibiotic resistance; *Nat. Prod. Rep.* **1992**, *9*, 199–215.
- [83] J. van Heijenoort; Recent advances in the formation of the bacterial peptidoglycan monomer unit; *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 503–519.
- [84] W. Vollmer, D. Blanot, M. A. D. Pedro; Peptidoglycan structure and architecture; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 149–167.
- [85] A. Lemke; *Neue Synthesen von 3-Hydroxyarginin für Biosynthese-Studien*, Diplomarbeit, Georg-August-Universität, Göttingen, **2009**.
- [86] H. Barreteau, A. Kovač, A. Boniface, M. Sova, S. Gobec, D. Blanot; Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 168–207.
- [87] L.-T. Sham, E. K. Butler, M. D. Lebar, D. Kahne, T. G. Bernhardt, N. Ruiz; MurJ is the flippase of lipid-linked precursors for peptidoglycan biogenesis; *Science* **2014**, *345*, 220–222.
- [88] A. J. Meeske, L.-T. Sham, H. Kimsey, B.-M. Koo, C. A. Gross, T. G. Bernhardt, D. Z. Rudner; MurJ and a novel lipid II flippase are required for cell wall biogenesis in *Bacillus subtilis*; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2015**, *112*, 6437–6442.
- [89] N. Ruiz; Lipid Flippases for Bacterial Peptidoglycan Biosynthesis; *Lipid Insights* **2015**, *8*, 21–31.
- [90] D. Wiegmann, S. Koppermann, M. Wirth, G. Niro, K. Leyerer, C. Ducho; Muraymycin nucleoside-peptide antibiotics: uridine-derived natural products as lead structures for the development of novel antibacterial agents; *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 769–795.

- [91] D. D. Pless, F. C. Neuhaus; Initial Membrane Reaction in Peptidoglycan Synthesis, Lipid Dependence of Phospho-*N*-Acetylmuramyl-pentapeptide Translocase; *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 1568–1576.
- [92] W. G. Struve, F. C. Neuhaus; Evidence for an Initial Acceptor of UDP-*N*Ac-Muramyl-Pentapeptide in the Synthesis of Bacterial Mucopeptide; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1965**, *18*, 6–12.
- [93] J. S. Anderson, M. Matsuhashi, M. A. Haskin, J. L. Strominger; Lipid-Phosphoacetylmuramyl-pentapeptide and Lipid-Phosphodisaccharide-pentapeptide: Presumed Membrane Transport Intermediates in Cell Wall Synthesis; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1965**, *53*, 881–889.
- [94] W. G. Struve, R. K. Sinha, F. C. Neuhaus, M. S. Prime; On the Initial Stage in Peptidoglycan Synthesis. Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide Translocase; *Biochemistry* **1966**, *5*, 82–93.
- [95] M. G. Heydanek Jr, W. G. Struve, F. C. Neuhaus; Initial state in peptidoglycan synthesis. III. Kinetics and uncoupling of phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide translocase; *Biochemistry* **1969**, *8*, 1214–1221.
- [96] F. C. Neuhaus; Initial Translocation Reaction in the Biosynthesis of Peptidoglycan by Bacterial Membranes; *Acc. Chem. Res.* **1971**, *4*, 297–303.
- [97] B. Al-Dabbagh, X. Henry, M. E. Ghachi, G. Auger, D. Blanot, C. Parquet, D. Mengin-Lecreulx, A. Bouhss; Active Site Mapping of *MraY*, a Member of the Polyprenyl-phosphate *N*-Acetylhexosamine 1-Phosphate Transferase Superfamily, Catalyzing the First Membrane Step of Peptidoglycan Biosynthesis; *Biochemistry* **2008**, *47*, 8919–8928.
- [98] B. Al-Dabbagh, S. Olatunji, M. Crouvoisier, M. El Ghachi, D. Blanot, D. Mengin-Lecreulx, A. Bouhss; Catalytic mechanism of *MraY* and *WecA*, two paralogues of the polyprenyl-phosphate *N*-acetylhexosamine 1-phosphate transferase superfamily; *Biochimie* **2016**, *127*, 249–257.
- [99] M. Ikeda, M. Wachi, H. K. Jung, F. Ishino, M. Matsuhashi; The *Escherichia coli mraY* gene encoding UDP-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptide: undecaprenyl-phosphate phospho-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptide transferase.; *J. Bacteriol.* **1991**, *173*, 1021–1026.

- [100] D. S. Boyle, W. D. Donachie; *mraY* Is an Essential Gene for Cell Growth in *Escherichia coli*; *J. Bacteriol.* **1998**, *180*, 6429–6432.
- [101] A. Bouhss, M. Crouvoisier, D. Blanot, D. Mengin-Lecreulx; Purification and Characterization of the Bacterial *MraY* Translocase Catalyzing the First Membrane Step of Peptidoglycan Biosynthesis; *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 29974–29980.
- [102] Y. Ma, D. Munch, T. Schneider, H.-G. Sahl, A. Bouhss, U. Ghoshdastider, J. Wang, V. Dotsch, X. Wang, F. Bernhard; Preparative Scale Cell-free Production and Quality Optimization of *MraY* Homologues in Different Expression Modes; *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 38844–38853.
- [103] E. Henrich, Y. Ma, I. Engels, D. Münch, C. Otten, T. Schneider, B. Henrichfreise, H.-G. Sahl, V. Dötsch, F. Bernhard; Lipid Requirements for the Enzymatic Activity of *MraY* Translocases and *in Vitro* Reconstitution of the Lipid II Synthesis Pathway; *J. Biol. Chem.* **2016**, *291*, 2535–2546.
- [104] A. J. Lloyd, P. E. Brandish, A. M. Gilbey, T. D. H. Bugg; Phospho-*N*-Acetyl-Muramyl-Pentapeptide Translocase from *Escherichia coli*: Catalytic Role of Conserved Aspartic Acid Residues; *J. Bacteriol.* **2004**, *186*, 1747–1757.
- [105] B. C. Chung, J. Zhao, R. A. Gillespie, D.-Y. Kwon, Z. Guan, J. Hong, P. Zhou, S.-Y. Lee; Crystal Structure of *MraY*, an Essential Membrane Enzyme for Bacterial Cell Wall Synthesis; *Science* **2013**, *341*, 1012–1016.
- [106] A. Bouhss, D. Mengin-Lecreulx, D. Le Beller, J. Van Heijenoort; Topological analysis of the *MraY* protein catalysing the first membrane step of peptidoglycan synthesis; *Mol. Microbiol.* **1999**, *34*, 576–585.
- [107] T. Tanino, S. Ichikawa, M. Shiro, A. Matsuda; Total Synthesis of (–)-Muraymycin D2 and Its Epimer; *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1366–1377.
- [108] B. C. Chung, E. H. Mashalidis, T. Tanino, M. Kim, A. Matsuda, J. Hong, S. Ichikawa, S.-Y. Lee; Structural insights into inhibition of lipid I production in bacterial cell wall synthesis; *Nature* **2016**, *533*, 557–560.
- [109] A. Katsuyama, S. Ichikawa; Synthesis and Medicinal Chemistry of Muraymycins, Nucleoside Antibiotics; *Chem. Pharm. Bull.* **2018**, *66*, 123–131.

- [110] P. E. Brandish, K. Kimura, M. Inukai, R. Southgate, J. T. Lonsdale, T. D. Bugg; Modes of action of tunicamycin, liposidomycin B, and mureidomycin A: inhibition of phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide translocase from *Escherichia coli*.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 1640–1644.
- [111] S. Koppermann, C. Ducho; Natural Products at Work: Structural Insights into Inhibition of the Bacterial Membrane Protein *MraY*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 11722–11724. S. Koppermann, C. Ducho; Naturstoffe bei der Arbeit: strukturelle Einblicke in die Inhibition des bakteriellen Membranproteins *MraY*; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 11896–11898.
- [112] A. Takatsuki, K. Arima, G. Tamura; Tunicamycin, a new antibiotic. I. Isolation and characterization of tunicamycin; *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 215–223.
- [113] A. Takatsuki, G. Tamura; Tunicamycin, a new antibiotic. II. Some biological properties of the antiviral activity of tunicamycin; *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 224–231.
- [114] J. K. Hakulinen, J. Hering, G. Brändén, H. Chen, A. Snijder, M. Ek, P. Johansson; *MraY*–antibiotic complex reveals details of tunicamycin mode of action; *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 265–267.
- [115] P. E. Brandish, M. K. Burnham, J. T. Lonsdale, R. Southgate, M. Inukai, T. D. Bugg; Slow binding inhibition of phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide-translocase (*Escherichia coli*) by mureidomycin A; *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 7609–7614.
- [116] L. A. McDonald, L. R. Barbieri, G. T. Carter, E. Lenoy, J. Lotvin, P. J. Petersen, M. M. Siegel, G. Singh, R. T. Williamson; Structures of the Muraymycins, Novel Peptidoglycan Biosynthesis Inhibitors; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10260–10261.
- [117] T. Stachyra, C. Dini, P. Ferrari, A. Bouhss, J. van Heijenoort, D. Mengin-Lecreulx, D. Blanot, J. Biton, D. Le Beller; Fluorescence Detection-Based Functional Assay for High-Throughput Screening for *MraY*; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 897–902.
- [118] F. J. Wyszynski, S. S. Lee, T. Yabe, H. Wang, J. P. Gomez-Escribano, M. J. Bibb, S. J. Lee, G. J. Davies, B. G. Davis; Biosynthesis of the tunicamycin antibiotics proceeds via unique exo-glycal intermediates; *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 539–546.
- [119] M. Inukai, F. Isono, S. Takahashi, R. Enokita, Y. Sakaida, T. Haneishi; Mureidomycins A-D, novel peptidylnucleoside antibiotics with spheroplast forming activity. I. Taxonomy, fermentation, isolation and physico-chemical properties.; *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 662–666.

- [120] K. Isono, M. Uramoto, H. Kusakabe, K. Kimura, K. Izaki, C. C. Nelson, J. A. McCloskey; Liposidomycins: Novel nucleoside antibiotics which inhibit bacterial peptidoglycan synthesis.; *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1617–1621.
- [121] H. Yamaguchi, S. Sato, S. Yoshida, K. Takada, M. Itoh, H. Seto, N. Otake; Capuramycin, a new nucleoside antibiotic. Taxonomy, fermentation, isolation and characterization.; *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1047–1053.
- [122] H. Seto, N. Otake, S. Sato, H. Yamaguchi, K. Takada, M. Itoh, H. S. M. Lu, J. Clardy; The structure of a new nucleoside antibiotic, capuramycin; *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2343–2346.
- [123] Z. Cui, X. Wang, S. Koppermann, J. S. Thorson, C. Ducho, S. G. Van Lanen; Antibacterial Muraymycins from Mutant Strains of *Streptomyces* sp. NRRL 30471; *J. Nat. Prod.* **2018**, *81*, 942–948.
- [124] S. Koppermann, Z. Cui, P. D. Fischer, X. Wang, J. Ludwig, J. S. Thorson, S. G. Van Lanen, C. Ducho; Insights into the Target Interaction of Naturally Occurring Muraymycin Nucleoside Antibiotics; *ChemMedChem* **2018**, *13*, 779–784.
- [125] A. P. Spork, M. Büschleb, O. Ries, D. Wiegmann, S. Boettcher, A. Mihalyi, T. D. Bugg, C. Ducho; Lead Structures for New Antibacterials: Stereocontrolled Synthesis of a Bioactive Muraymycin Analogue; *Chem.-Eur. J.* **2014**, *20*, 15292–15297.
- [126] L. Cheng, W. Chen, L. Zhai, D. Xu, T. Huang, S. Lin, X. Zhou, Z. Deng; Identification of the genecluster involved in muraymycin biosynthesis from *Streptomyces* sp. NRRL 30471; *Mol BioSyst* **2011**, *7*, 920–927.
- [127] X. Chi, P. Pahari, K. Nonaka, S. G. Van Lanen; Biosynthetic Origin and Mechanism of Formation of the Aminoribosyl Moiety of Peptidyl Nucleoside Antibiotics; *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14452–14459.
- [128] S. Barnard-Britson, X. Chi, K. Nonaka, A. P. Spork, N. Tibrewal, A. Goswami, P. Pahari, C. Ducho, J. Rohr, S. G. Van Lanen; Amalgamation of Nucleosides and Amino Acids in Antibiotic Biosynthesis: Discovery of an L-Threonine:Uridine-5'-Aldehyde Transaldolase; *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18514–18517.

- [129] Z. Cui, X. Liu, J. Overbay, W. Cai, X. Wang, A. Lemke, D. Wiegmann, G. Niro, J. S. Thorson, C. Ducho, et al.; Enzymatic Synthesis of the Ribosylated Glycyl-Uridine Disaccharide Core of Peptidyl Nucleoside Antibiotics; *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 7239–7249.
- [130] Y.-I. Lin, Z. Li, G. D. Francisco, L. A. McDonald, R. A. Davis, G. Singh, Y. Yang, T. S. Mansour; Muraymycins, novel peptidoglycan biosynthesis inhibitors: semisynthesis and SAR of their derivatives; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2341–2344.
- [131] A. Yamashita, E. Norton, P. J. Petersen, B. A. Rasmussen, G. Singh, Y. Yang, T. S. Mansour, D. M. Ho; Muraymycins, novel peptidoglycan biosynthesis inhibitors: synthesis and SAR of their analogues; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3345–3350.
- [132] A. Spork, K. Leyerer, S. Koppermann, C. Ducho; unpublizierte Ergebnisse; **2019**.
- [133] T. Tanino, S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Synthetic study of muraymycins using Ugi-four component reaction; *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, *52*, 557–558.
- [134] T. Tanino, S. Ichikawa, B. Al-Dabbagh, A. Bouhss, H. Oyama, A. Matsuda; Synthesis and Biological Evaluation of Muraymycin Analogues Active against Anti-Drug-Resistant Bacteria; *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 258–262.
- [135] T. Tanino, B. Al-Dabbagh, D. Mengin-Lecreux, A. Bouhss, H. Oyama, S. Ichikawa, A. Matsuda; Mechanistic Analysis of Muraymycin Analogues: A Guide to the Design of MraY Inhibitors; *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8421–8439.
- [136] Y. Takeoka, T. Tanino, M. Sekiguchi, S. Yonezawa, M. Sakagami, F. Takahashi, H. Togame, Y. Tanaka, H. Takemoto, S. Ichikawa, et al.; Expansion of Antibacterial Spectrum of Muraymycins toward *Pseudomonas aeruginosa*; *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 556–560.
- [137] B. A. Alewi, C. M. Schneider, M. Kurosu; Synthesis of Ureido-Muraymycidine Derivatives for Structure Activity Relationship Studies of Muraymycins; *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3859–3867.
- [138] K. Mitachi, B. A. Alewi, C. M. Schneider, S. Siricilla, M. Kurosu; Stereocontrolled Total Synthesis of Muraymycin D1 Having a Dual Mode of Action against *Mycobacterium tuberculosis*; *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 12975–12980.
- [139] A. P. Spork, C. Ducho; Novel 5'-deoxy nucleosyl amino acid scaffolds for the synthesis of muraymycin analogues; *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2323–2326.

- [140] A. P. Spork, D. Wiegmann, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho; Stereoselective Synthesis of Uridine-Derived Nucleosyl Amino Acids; *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 10083–10098.
- [141] A. Spork; *Synthetische Untersuchungen zur Nucleosid-Einheit von Muraymycin-Antibiotika*, Dissertation, Georg-August-Universität, Göttingen, **2012**.
- [142] O. Ries; *Synthese und Eigenschaften der Lipid-Einheit von Muraymycin-Antibiotika*, Dissertation, Georg-August-Universität, **2012**.
- [143] O. Ries, M. Büschleb, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho; Amino acid motifs in natural products: synthesis of *O*-acylated derivatives of (2*S*,3*S*)-3-hydroxyleucine; *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1135–1142.
- [144] M. Büschleb; *Synthese von Capreomycin- und Epicapreomycin-haltigen Naturstoff-Bausteinen*, Dissertation, Georg-August-Universität, Göttingen, **2012**.
- [145] A. Dondoni, D. Perrone; Synthesis of 1,1-Dimethylethyl (*S*)-4-Formyl-2,2-Dimethyl-3-Oxazolidinecarboxylate by Oxidation of the Alcohol; *Org. Synth.* **2000**, *77*, 64–64.
- [146] S. Wohnig; *Synthese des Dansylierten Park-Nucleotids und vereinfachter Analoga der Muraymycin-Antibiotika*, Dissertation, Georg-August-Universität, Göttingen, **2013**.
- [147] O. Ries, C. Carnarius, C. Steinem, C. Ducho; Membrane-interacting properties of the functionalised fatty acid moiety of muraymycin antibiotics; *Med. Chem. Commun.* **2015**, *6*, 879–886.
- [148] W. J. Alford, R. D. Van der Neut, V. J. Zaleckas; Laser scanning microscopy; *Proc. IEEE* **1982**, *70*, 641–651.
- [149] J.-A. Conchello, J. W. Lichtman; Optical sectioning microscopy; *Nat. Methods* **2005**, *2*, 920–931.
- [150] C. D. Hein, X.-M. Liu, D. Wang; Click Chemistry, A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences; *Pharm. Res.* **2008**, *25*, 2216–2230.
- [151] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal; Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides; *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- [152] K. B. Sharpless, M. G. Finn, H. G. Kolb; Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions; *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2001**, *40*, 2004–2021. H. C. Kolb, M.

G. Finn, K. B. Sharpless; Click-Chemie: diverse chemische Funktionalität mit einer Handvoll guter Reaktionen; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056–2075.

[153] A. Moscho, O. Orwar, D. T. Chiu, B. P. Modi, R. N. Zare; Rapid preparation of giant unilamellar vesicles; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, *93*, 11443–11447.

[154] A. Boll, A. Jatho, N. Czudnochowski, M. Geyer, C. Steinem; Mechanistic insights into the translocation of full length HIV-1 Tat across lipid membranes; *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* **2011**, *1808*, 2685–2693.

[155] P. J. Davis, K. M. W. Keough, K. P. Coolbear, B. D. Fleming; Gel to Liquid-Crystalline Transition Temperatures of Water Dispersions of Two Pairs of Positional Isomers of Unsaturated Mixed-Acid Phosphatidylcholines; *Biochemistry* **1981**, *20*, 3633–3636.

[156] R. M. Epand; Diacylglycerols, lysolecithin, or hydrocarbons markedly alter the bilayer to hexagonal phase transition temperature of phosphatidylethanolamines; *Biochemistry* **1985**, *24*, 7092–7095.

[157] M. Wirth; *Synthese von Modellverbindungen für Untersuchungen zur Membrangängigkeit lipidierter Muraymycin-Antibiotika*, Masterarbeit, Universität Paderborn, **2013**.

[158] C. M. Schütz; *Inhibitoren der bakteriellen Translocase und Collagenase als potentielle Antibiotika*, Masterarbeit, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2016**.

[159] A. P. Spork, S. Koppermann, S. Wohnig, R. Linder, C. Ducho; Analogues of Muraymycin Nucleoside Antibiotics with Epimeric Uridine-Derived Core Structures; *Molecules* **2018**, *23*, 2868.

[160] D. Wiegmann; *Neue Strategien zur Entwicklung von Derivaten der Muraymycin-Antibiotika mit verbesserter biologischer Aktivität*, Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2016**.

[161] K. Leyerer; *Arbeiten zur Synthese neuer Analoga der Muraymycin-Antibiotika*, Masterarbeit, Universität Paderborn, **2013**.

[162] U. Schmidt, A. Lieberknecht, U. Schanbacher, T. Beuttler, J. Wild; Facile Preparation of *N*-Acyl-2-(diethoxyphosphoryl) glycine Esters and Their Use in the Synthesis of Dehydroamino Acid Esters; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 776–777. U. Schmidt, A. Lieberknecht, U. Schanbacher, T. Beuttler, J. Wild; Einfache Herstellung von *N*-Acyl-2-

246

(diethoxyphosphoryl)-glycinestern und ihre Verwendung zum Aufbau von Dehydroaminosäureestern; *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 797–798.

[163] U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild; Amino Acids and Peptides; XLIII. Dehydroamino Acids; XVIII. Synthesis of Dehydroamino Acids and Amino Acids from *N*-Acyl-2-(dialkyloxyphosphinyl)-glycin Esters; II; *Synthesis* **1984**, 53–60.

[164] U. Schmidt, J. Wild; Totalsynthese von Hexaacetylcelenamid A; *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, *1985*, 1882–1894.

[165] R. Hamzavi, F. Dolle, B. Tavitian, O. Dahl, P. E. Nielsen; Modulation of the Pharmacokinetic Properties of PNA: Preparation of Galactosyl, Mannosyl, Fucosyl, *N*-Acetylgalactosaminyl, and *N*-Acetylglucosaminyl Derivatives of Aminoethylglycine Peptide Nucleic Acid Monomers and Their Incorporation into PNA Oligomers; *Bioconjug. Chem.* **2003**, *14*, 941–954.

[166] T. Laib, J. Chastanet, J. Zhu; A Highly Stereoselective Synthesis of (2*S*,3*S*)-Hydroxyleucine; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1771–1772.

[167] A. N. Hulme, C. H. Montgomery, D. K. Henderson; A flexible and efficient synthesis of the pyrrolidine α -glycosidase inhibitor 1,4-dideoxy-1,4-imino-D-arabinitol (DAB-1); *J. Chem. Soc. Perkin 1* **2000**, 1837–1841.

[168] T. Laib, J. Chastanet, J. Zhu; Diastereoselective Synthesis of γ -Hydroxy- α -amino Alcohols and (2*S*,3*S*)- α -Hydroxyleucine from Chiral D-(*N,N*-Dibenzylamino)serine (TBDMS) Aldehyde; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1709–1713.

[169] O. Ries, A. Ochmann, C. Ducho; Synthesis of *N*-Alkyl-*N*-hydroxyguanidines: A Comparative Study Using Different Protecting Group Strategies; *Synthesis* **2011**, *2011*, 2357–2368.

[170] A. K. Ghosh, Y. Wang; Total Synthesis of (+)-Polyoxin J; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2789–2795.

[171] R. Badorrey, C. Cativiela, M. D. Díaz- de- Villegas, R. Díez, J. A. Gálvez; Study of the Reactions between Vinylmagnesium Bromide and Imines Derived from (*R*)-Glyceraldehyde – The Key Step in the Stereodivergent Synthesis of Conveniently Protected, Enantiopure syn- and anti-2-Amino-1,3,4-butanetriol Derivatives; *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 2268–2275.

- [172] H. Staudinger, J. Meyer; Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylenderivate und Phosphinimine; *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635–646.
- [173] K. Tsubaki, T. Kusumoto, N. Hayashi, D. Tanima, K. Fuji, T. Kawabata; Convenient preparation of optically active *N,N*-bis(4-substituted-4-aminobutyl)amines; *Tetrahedron Asymmetry* **2005**, *16*, 739–743.
- [174] T. Humbert, A. Marsura, C. Luu-Duc; Solid phase synthesis of a tetrapeptide labelled with Carbon-13.; *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1992**, *31*, 183–198.
- [175] D. Wiegmann, S. Koppermann, C. Ducho; Aminoribosylated Analogues of Muraymycin Nucleoside Antibiotics; *Molecules* **2018**, *23*, 3085.
- [176] K. Leyerer; *Muraymycin Nucleoside Antibiotics: Novel SAR Insights and Synthetic Approaches*, Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2018**.
- [177] J. L. Burkhart, R. Müller, U. Kazmaier; Syntheses and Evaluation of Simplified Pretubulysin Analogues; *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 3050–3059.
- [178] M. Caron, P. R. Carlier, K. B. Sharpless; Regioselective azide opening of 2,3-epoxy alcohols by [Ti(*O-i*-Pr)₂(N₃)₂]: synthesis of α -amino acids; *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5185–5187.
- [179] K. I. Sutowardoyo, M. Emziane; Highly regio and chemoselective ring opening with trimethylsilyl azide in the presence of aluminium isopropoxide and titanium isopropoxide; *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1435–1446.
- [180] S. Futagawa, T. Inui, T. Shiba; Nuclear Magnetic Resonance Study of the Stereoisomeric 2-Oxazolidone and 2-Phenyl-2-oxazoline Derivatives of α -Amino- β -hydroxy Acids; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1973**, *46*, 3308–3310.
- [181] M. Chini, P. Crotti, F. Macchia; Efficient metal salt catalyzed azidolysis of epoxides with sodium azide in acetonitrile; *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5641–5644.
- [182] M. Onaka, K. Sugita, Y. Izumi; Regioselective Ring-opening Reactions of 2,3-Epoxy Alcohols with Sodium Azide Supported on Zeolite CaY; *Chem. Lett.* **1986**, *15*, 1327–1328.
- [183] K. Maruoka, H. Sano, H. Yamamoto; A highly regio- and stereoselective ring-opening of 2,3-epoxy alcohols with trimethylsilyl azide-diethylaluminium fluoride system; *Chem. Lett.* **1985**, *14*, 599–602.

- [184] M. Caron, K. B. Sharpless; Titanium isopropoxide-mediated nucleophilic openings of 2,3-epoxy alcohols. A mild procedure for regioselective ring-opening; *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1557–1560.
- [185] S. Wohnig, A. P. Spork, S. Koppermann, G. Mieskes, N. Gisch, R. Jahn, C. Ducho; Total Synthesis of Dansylated Park's Nucleotide for High-Throughput MraY Assays; *Chem. – Eur. J.* **2016**, *22*, 17813–17819.
- [186] F. Graef, B. Vukosavljevic, J.-P. Michel, M. Wirth, O. Ries, C. De Rossi, M. Windbergs, V. Rosilio, C. Ducho, S. Gordon, et al.; The bacterial cell envelope as delimiter of anti-infective bioavailability – An *in vitro* permeation model of the Gram-negative bacterial inner membrane; *J. Controlled Release* **2016**, *243*, 214–224.

9. Anhang

9.1 HPLC-Methoden

9.1.1 Analytische HPLC-Methoden

Methode QC_grad_pos_acid_HYDRO_500_2000

HPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MWD (254.0), MS, Flussrate: 0.8 mL/min,

Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A - Wasser (0.1 % TFA); B - Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	6	10.5	12.0
B [%]	5	100	5	5

Methode MWP_QC_grad_pos_acid_HYDRO_400_1900_9010

HPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MWD (254.0), MS, Flussrate: 0.8 mL/min,

Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A - Wasser (0.1 % TFA); B - Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	5.50	10.5	12.0
B [%]	10	100	10	10

Methode MWP_QC_grad_pos_acid_HYDRO_400_1900_7525

HPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MWD (254.0), MS, Flussrate: 0.8 mL/min,

Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A - Wasser (0.1 % TFA); B - Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	5.50	10.5	12.0
B [%]	25	100	25	25

Methode MWP_QC_grad_pos_acid_HYDRO_200_1600

HPLC-Anlage: *Thermo Scientific*, Detektor: MWD (254.0), MS, Flussrate: 0.8 mL/min,

Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A - Wasser (0.1 % TFA); B - Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	9.0	10.5	12.0
B [%]	25	99	25	25

Methode MW_QC_451:

HPLC-Anlage: *Hitachi LaChrom Elite*, Detektor: DAD,

Flussrate: 3 mL/min, Säule: EC 125/3 NUCLEODUR 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	12	16	17
B [%]	30	99	99	50

Methode MW_QC_261_5_1:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),

Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	16.0	17.0	19.0
B [%]	10	80	100	5

Methode MWP_QC_261_5_3

HPLC-Anlage: *Hitachi LaChrom Elite*, Detektor: DAD,

Flussrate: 0.45 mL/min, Säule: Phenyl-Hexyl 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	30	35	36
B [%]	44	44	99	10

9.1.2 Semipräparative HPLC-Methoden

Methode MW_133_7_3:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	35	41	44.4
B [%]	10	50	100	5

Methode MW_261_5_1:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	35	41	44.4
B [%]	15	50	100	5

Methode MW_261_6_1:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),
Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)
Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	30	34	44.1
B [%]	25	70	100	25

Methode MWP_261_5_3präp:

HPLC-Anlage: *Hitachi LaChrom Elite*, Detektor: DAD,

Flussrate: 0.45 mL/min, Säule: Phenyl-Hexyl 100-5 C18ec (5 µm, 5 x 100 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	42	44	45
B [%]	44	44	99	10

Methode MW_398:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),

Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	30	44	44.1
B [%]	7	35	100	1

Methode MW_414:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),

Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	35	44	44.1
B [%]	20	100	100	20

Methode MW_421:

HPLC-Anlage: *Agilent Technologies 1200 Series*, Detektor: MWD (254.16/280.16),

Flussrate: 3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	35	40	44.1
B [%]	5	100	100	5

Methode MW_417:

HPLC-Anlage: *Hitachi LaChrom Elite* ,Detektor: DAD,

Flussrate:3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	30	40	44.5
B [%]	5	99	99	20

Methode MW_447_9010:

HPLC-Anlage: *Hitachi LaChrom Elite* ,Detektor: DAD,

Flussrate:3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	30	40	44.5
B [%]	10	99	99	20

Methode MW_451:

HPLC-Anlage: *Hitachi LaChrom Elite* ,Detektor: DAD,

Flussrate:3 mL/min, Säule: LiChroCART® Purospher® RP-18e (5 µm, 10 x 250 mm)

Eluenten: A – Wasser (0.1 % TFA); B – Acetonitril (0.1 % TFA)

t [min]	0	30	40	45
B [%]	30	99	99	20

9.3 Publikationen

[1] F. Gräf, B. Vukosavljevic, J.-P. Michel, M. Wirth, O. Ries, C. De Rossi, M. Windbergs, V. Rosilio, C. Ducho, S. Gordon, C.-M. Lehr; The bacterial cell envelope as delimiter of anti-infective bioavailability - An *in vitro* permeation model of the Gram-negative bacterial inner membrane; *J. Controlled Release* **2016**, 243, 214-224.

[2] D. Wiegmann, S. Koppermann, M. Wirth, G. Niro, K. Leyerer, C. Ducho; Muraymycin nucleoside-peptide antibiotics: uridine-derived natural products as lead structures for the development of novel antibacterial agents; *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 769-795.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, Marius Wirth (geboren am 23.08.1987 in Brilon), dass ich diese Arbeit selbstständig und nur mit den angegebenen Literaturangaben verfasst habe.

Saarbrücken, den

Marius Wirth

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Christian Ducho für die interessante Themenstellung der Dissertation und die Möglichkeit, meine Dissertation in seiner Arbeitsgruppe anzufertigen, bedanken. Ich habe die stetige Hilfsbereitschaft und die Betreuung in einer entspannten Atmosphäre sehr geschätzt.

Weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Claus-Michael Lehr für die Betreuung als wissenschaftlicher Begleiter und für die Übernahme des Zweitgutachtens. Außerdem möchte ich mich für die Möglichkeit des kooperativen Arbeitens mit seiner Arbeitsgruppe, insbesondere bei Florian Gräf für die gute Zusammenarbeit, bedanken. Bei Robert Richter möchte ich mich schon im Voraus für die weiterführenden Arbeiten bedanken.

Frau Prof. Dr. Steinem danke ich ebenfalls für die Möglichkeit der Kooperation. Besonderer Dank gilt hier Johannes Schumacher für die Geduld und Ausdauer bei den zahlreichen Experimenten.

Außerdem danke ich allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe: Malte-Ole Schneemann, Daniel Wiegmann, Kristin Leyerer, Stefan Koppermann, Philipp Schäfer, Reem Fathalla, Ahmed Kamal, Eugen Mareykin, Katrin Voos, Verena Böttner, Philine Kirsch, Christian Rohrbacher, Theresa Manz, Melissa Meng, Giuliana Niro, Patrick Fischer, Pierre Junghanns, Christian Schütz, Simon Probst, Anke Lemke und Stephanie Wohnig sowie Dr. Matthias Engel und Dr. Martin Frotscher für ihre Hilfsbereitschaft und die gute Atmosphäre. Dr. Stefan Boettcher danke ich für die Unterstützung bei Fragen rund um die HPLC und MS-Analytik. Bei Martina Jankowski, Jannine Ludwig und Stefan Koppermann möchte ich mich für die Bestimmung der biologischen Daten bedanken. Weiterer Dank für die Hilfe bei technischen Problemen gilt Lothar Jager und Malte-Ole Schneemann. Meinen Studenten Yvonne Kaiser, Tobias Jung, Charel Vullers und Angelika Franz danke ich für ihre engagierte Arbeit und ihren Beitrag zu dieser Arbeit. Für das Korrekturlesen der Arbeit bedanke ich mich besonders bei Kristin Leyerer, Stefan Koppermann, Daniel Wiegmann und Malte-Ole Schneemann.

Bei Herrn Dr. Josef Zapp aus dem Fachbereich Pharmazie der Universität des Saarlandes möchte ich für die zahlreichen NMR-Messungen und die stetige Hilfsbereitschaft bedanken.

Im Besonderen gilt weiterer Dank meinen Mitbewohnern Daniel, Kristin, Stefan und Lorenz in der "WG 1.0" für die moralische Unterstützung und das gute Zusammenleben. Vielen Dank für die erholsamen Abende und Ausflüge, und vor allem für das gute Essen.

Ich möchte mich bei allen Freunden aus dem Sauerland, aus Paderborn und dem Saarland für die abwechslungsreiche Ablenkung in der Freizeit bedanken. Ob beim Wandern oder Reisen mit dem "Stammtisch ohne Namen" (Andé, Martin, Simon, Thomas, Jan, Thomas, Stefan) beim Surfen in der "Push-it Gallery" (Siggi, Marco, Alex, Holger, Vane, Michbeck, Ralle, Steffi, Tommes, Benni, Alina, Mareike und weitere) beim Rollen mit der "Saar-Pfalz-Bande" (Flo, Steffen, Maurice, Pascal, Robert, Julia, Yannis, Dennis, Sven), beim Feiern mit der "Spritwoch-Gruppe" (Alex, Chris, Ändy, Mize, Coach, Simon, Daniel, Lorenz, Philipp, Lena, Marie Lisa, Tim) oder den "Männern mit Schnurrbärten" (Frank, Wulf, Arne, Dre, Matze, Philipp, Markus, Stefan) -let the good times roll-.

Besonderer Dank gilt meiner Freundin Carolin für die Unterstützung und Ermutigung, vor allem während der Endphase der Arbeit. Vielen Dank für deine große Geduld und die schöne gemeinsame Zeit.

Ebenso möchte ich mich bei der wachsenden "Wilden 13" und der Familie Wrede für den tollen Zusammenhalt bedanken. Der größte Dank gilt meiner Familie, meinem Vater Werner, meiner Mutter Edith und meiner Schwester Britta für die Begleitung und bedingungslose Unterstützung auf meinem Lebensweg.