

Totalsynthese von Jasplakinolid und Analoga

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)
von der Fakultät für Chemie
der Technischen Universität Dortmund
angenommene

DISSERTATION

von
Diplom-Chemiker
René Tannert
aus Berne

- 1. Gutachter: Prof. Dr. Herbert Waldmann**
- 2. Gutachter: Prof. Dr. Norbert Krause**

Tag der mündlichen Prüfung: 30. März 2009

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Prof. Dr. Herbert Waldmann an der Fakultät Chemie der Technischen Universität Dortmund und am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Dortmund, in der Zeit von Juni 2004 bis Februar 2009 angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	iv
1. Einleitung	1
2. Allgemeiner Teil.....	2
2.1 Aktin.....	2
2.2 Aktin-bindende Naturstoffe.....	6
2.2.1 Phalloidin.....	7
2.2.2 Jasplakinolid und Chondramid C.....	8
2.2.3 Dolastatin-11	9
2.2.4 Dolicolid	10
2.2.5 Amphidinolid H	10
2.2.6 Geodiamolide und verwandte Verbindungen.....	11
2.3 Das Design Aktin-bindender Jasplakinolidanaloga.....	11
3. Ziel der Arbeit	14
4. Spezieller Teil.....	15
4.1 Dockingstudien.....	15
4.2 Synthese.....	17
4.2.1 Retrosynthetische Überlegungen	17
4.2.2 Validierung der Synthesestrategie.....	21
4.2.3 Synthese von Fmoc- β -Tyrosin.....	24
4.2.4 Synthese der Abrinbausteine.....	26
4.2.5 Synthese von 2,4-Dimethylpent-4-ensäure.....	28
4.2.6 Festphasenpeptidsynthese.....	29

4.2.7	Synthese der Alkoholbausteine	33
4.2.8	Veresterung zum azyklischen Dien	34
4.2.9	Ringschlussmetathese und Desilylierung.....	36
4.2.10	Synthetische Folgearbeiten zu Chondramid.....	45
4.3	<i>Zelluläre Untersuchungen</i>	46
5.	Zusammenfassung	54
6.	Experimenteller Teil	60
6.1	<i>Dockingstudien</i>	60
6.1.1	Konformationsrechnungen	60
6.1.2	Docking an F-Aktin	60
6.2	<i>Synthese</i>	61
6.2.1	Allgemeines.....	61
6.2.2	Messgeräte und Hilfsmittel	61
6.2.3	Versuche zum Kapitel 4.2.2 - Validierung der Synthesestrategie.....	64
6.2.4	Versuche zum Kapitel 4.2.3 - Synthese von Fmoc- β -tyrosin.....	74
6.2.5	Versuche zum Kapitel 4.2.4 - Synthese der Abrinbausteine	83
6.2.6	Versuche zum Kapitel 4.2.5 - Synthese von Dimethylpentensäure.....	94
6.2.7	Versuche zum Kapitel 4.2.6 - Festphasenpeptidsynthese.....	99
6.2.8	Versuche zum Kapitel 4.2.7 - Synthese der Alkoholbausteine	114
6.2.9	Versuche zum Kapitel 4.2.8 - Veresterungen.....	126
6.2.10	Versuche zum Kapitel 4.2.9 - RCM und Desilylierung.....	140
6.3	<i>Zelluläre Untersuchungen</i>	159
7.	Literaturverzeichnis.....	160
8.	Abkürzungsverzeichnis	167
9.	Anhang	170
9.1	<i>Eidesstattliche Erklärung</i>	170

9.2 Danksagung.....	170
9.3 $^1\text{H-NMR}$ -Spektren	170

1. Einleitung

Trotz des stetigen Wissensgewinns in der medizinischen Forschung ist die Liste der Krankheiten, die heutzutage die Menschheit bedrohen, lang.

Bei einer geschätzten Zahl von über 500 Millionen Infektionen und 1-3 Millionen Todesopfern pro Jahr stellt die Malaria eine drastische Bedrohung nicht nur für die Menschen in Afrika, sondern auch in vielen Ländern Asiens dar.^[1-3] Die genannten Zahlen dürften in Zukunft ansteigen, da die Weltbevölkerung wächst und die Malariaerreger in zunehmendem Maße resistent gegen die klassischen Insektizide geworden sind. Derzeit bleibt mit den Artemisininen nur eine Wirkstoffklasse, für die noch keine Resistenzen beobachtet wurden.^[3]

Aufkommende Resistenzen gegen Wirkstoffe mindern den Erfolg vieler der in den letzten Jahrzehnten entwickelten Therapien. So entwickeln etwa 40 % aller menschlichen Tumore Resistenzen gegen die eingesetzten Chemotherapeutika.^[4] Seit der Entwicklung effektiver Antibiotika in den 1940er Jahren herrschte der Glaube vor, man könne Infektionskrankheiten schnell ausrotten. Dabei scheint das Gegenteil der Fall zu sein, bakterielle Infektionen scheinen präsenter als noch vor Jahren. So erlebt die Tuberkulose gerade eine Renaissance, und etwa ein Drittel der Weltbevölkerung trägt den Erreger im Körper.^[5] Auch die Tuberkulose fordert jährlich mehrere Millionen Todesopfer, nicht nur im Zusammenhang mit HIV-Infektionen.^[6]

Diese Beispiele sollen deutlich machen, wie sehr wir auf neue Wirkstoffe und Therapien angewiesen sind und dass ein Stillstand in der Entwicklung neuer Medikamente einen Rückschritt im Kampf gegen die Infektionskrankheiten darstellen würde. Wie entwickelt man aber neue Leitstrukturen für diese Medikamente? Hier hat die ungezielte kombinatorische Synthese riesiger Substanzbibliotheken die in sie gesetzten Erwartungen nicht erfüllt, strukturell neue Leitstrukturklassen hervorzubringen. Zunehmend rückten so in letzter Zeit wieder verstärkt Naturstoffe als Quelle für Leitstrukturen in den Fokus der pharmazeutischen Industrie.^[7]

Naturstoffe sind evolutionär für die Bindung an Proteine selektioniert und daher biologisch validierte Startpunkte im chemischen Strukturraum. Deshalb stellen fokussierte Substanzbibliotheken um biologisch aktive Naturstoffe einen gangbaren Weg bei der Suche nach neuen Wirkstoffen dar.^[8] Daher wurde im

Rahmen dieser Arbeit eine Bibliothek des Naturstoffs Jasplakinolid synthetisiert und diese auf ihre Aktin-stabilisierenden Eigenschaften überprüft.

2. Allgemeiner Teil

2.1 Aktin

Aktin ist das am häufigsten vorkommende eukaryotische Protein.^[9-11] Es besteht aus 375 Aminosäuren mit einem Gesamtgewicht von 43 kDa. Eine Röntgenstrukturanalyse des Komplexes von Aktin mit DNase I belegte seine globuläre räumliche Struktur.^[12] Zwei strukturell sehr ähnliche Proteindomänen, die miteinander propellerartig verdrillt sind, werden durch ein Adeninnukleotid im Zentrum stabilisiert. Adenosintriphosphat (ATP) wird stärker als Adenosindiphosphat (ADP) gebunden und deswegen in zellulärem Medium (höhere ATP-Konzentration) bevorzugt. Der Austausch mit Nukleotiden im Zellmedium ist langsam und wird von verschiedenen Proteinen gehemmt (ADF/Cofilin, β -Thymosin) bzw. beschleunigt (Profilin).

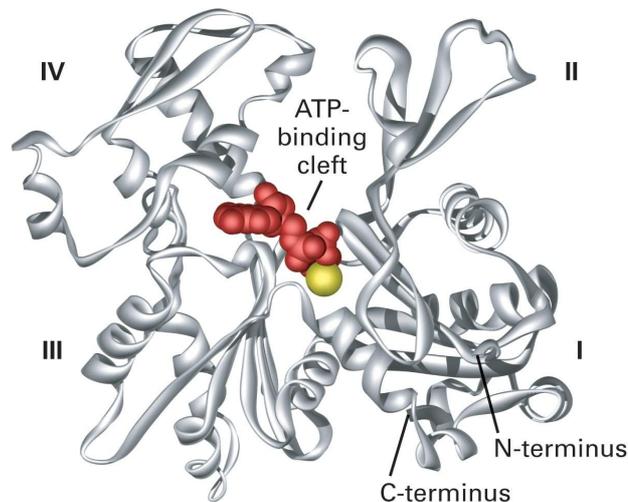


Abbildung 1: Darstellung von G-Aktin.^[13] Aktinsubdomänen sind mit I-IV bezeichnet, Adenosindiphosphat (ADP) ist rot, Magnesium (Mg^{2+}) gelb gekennzeichnet.

Globuläres Aktin (G-Aktin) polymerisiert unter physiologischen Bedingungen (hohe Salzkonzentrationen) bereitwillig unter Hydrolyse von ATP, wodurch sich filamentöses Aktin (F-Aktin) bildet, welches neben dem Tubulingerüst und den intermediären Filamenten ein zentrales Element des Zytoskeletts darstellt.

Mit Hilfe der Kryoelektronenmikroskopie konnte die Form von F-Aktin zwar bereits 1963 als eine von zwei Aktinsträngen aufgebaute Helix identifiziert werden,^[14] höher aufgelöste F-Aktin-Strukturen wurden jedoch erst in den letzten

Jahren durch Anwendung röntgendiffraktometrischer Methoden und Computergestützter Rechenverfahren zugänglich (Abbildung 2).^[15-18]

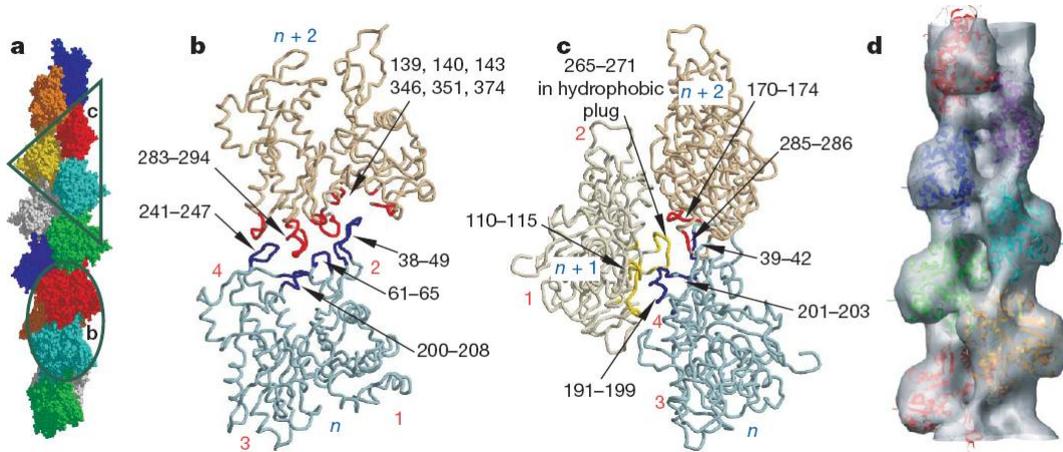


Abbildung 2: (a) Modell eines F-Aktin-Oligomers mit 13 Aktineinheiten, das mittels Röntgendiffraktometrie gewonnen wurde; (b) Wechselwirkungen innerhalb eines Aktinstranges; (c) Wechselwirkungen zwischen beiden Aktinsträngen; (d) Überlagerung des F-Aktinmodells aus (a) mit einem mittels Kryoelektronenmikroskopie erhaltenen Modell. Diejenigen Abschnitte des Proteinrückgrats, die sich in höchstens 10 Å Entfernung zum Rückgrat einer anderen Aktinuntereinheit befinden, sind farbig (rot, blau, gelb) hervorgehoben; Aminosäuren sind in schwarz, Aktinmonomere in blau und Aktinsubdomänen in rot nummeriert.^[18]

So konnte die exakte räumliche Struktur der Aktineinheiten in F-Aktin erst kürzlich in hoher Auflösung bestimmt werden.^[18] Demnach nehmen die Aktinmonomere im Filament eine leicht veränderte Konformation ein.

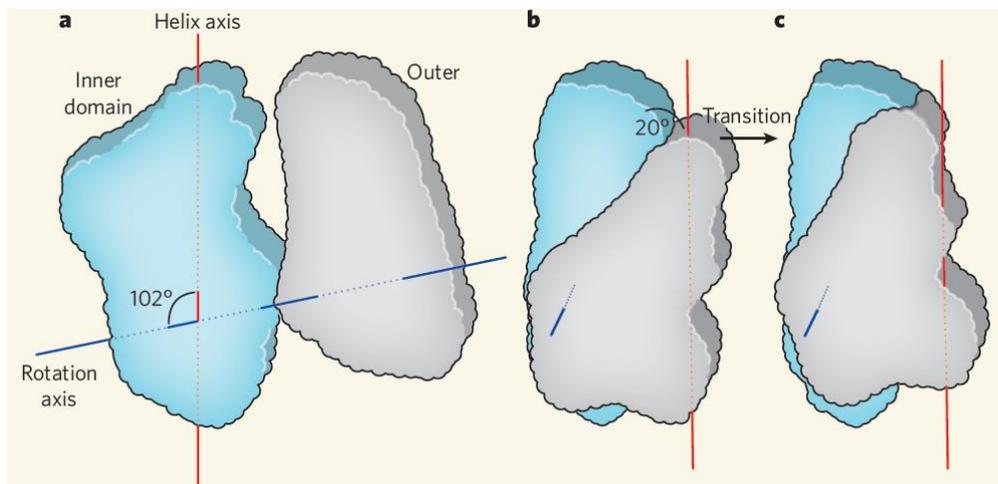


Abbildung 3: Unterschiedliche Anordnung der Aktindomänen in G-Aktin (a) und F-Aktin (b) durch eine 20°-Rotation der dem Helixäußeren zugewandten Aktindomäne.^[19]

Die dem Helixäußeren zugewandte Domäne rotiert um 20° relativ zu einer auf die Helixachse fast senkrechten Achse, was eine partielle Entdrilling der beiden Domänen und damit eine Verflachung des gesamten Aktinmonomers auslöst (Abbildung 3).

An den Aktinfilamenten findet neben der Polymerisation auch Depolymerisation statt (Abbildung 4). Das Gleichgewicht dieser beiden Reaktionen wird durch eine Vielzahl von Proteinen unterschiedlicher Funktion gesteuert.

Im Anfangsstadium der Filamentbildung, der Nukleierung, dissoziieren die zuerst gebildeten Aktindimere und -trimere so schnell, dass sie durch Proteine stabilisiert werden müssen, um schnell viele neue Filamente zu bilden.

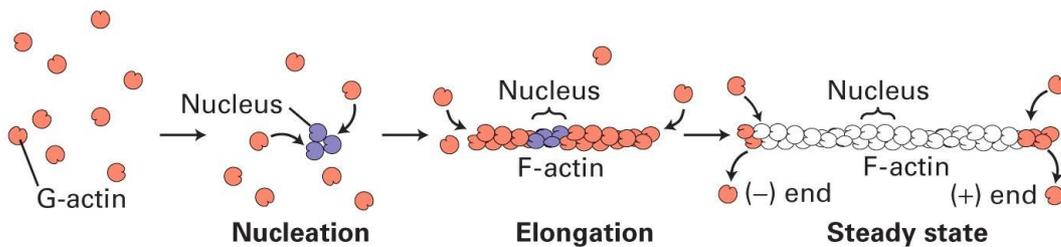


Abbildung 4: Polymerisation von G-Aktin: Nukleierung, Filamentverlängerung und stationärer Zustand.^[13]

Die Filamentverlängerung erfolgt dann rasch bis zum Erreichen eines Zustandes gleicher Geschwindigkeiten für Polymerisation und Depolymerisation. Die Konzentration freier Aktinmonomere in diesem Gleichgewichtszustand wird als kritische Konzentration c_c bezeichnet. Oberhalb dieser Konzentration werden Filamente verlängert, unterhalb dieser findet vermehrt Depolymerisation statt.

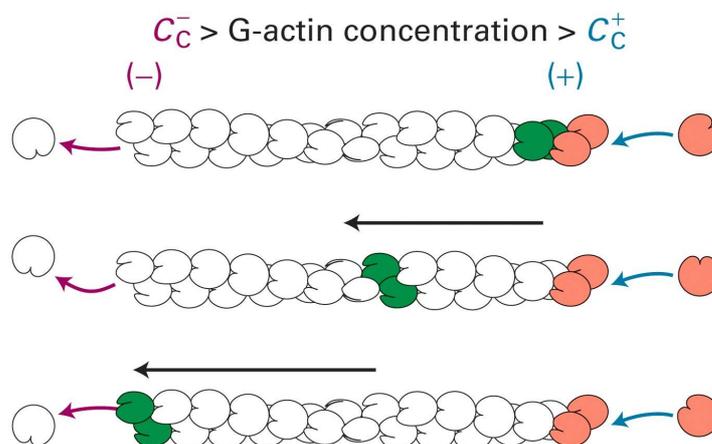


Abbildung 5: Tretmühleneffekt („treadmilling“) bei der Aktinpolymerisation.^[13] Der schwarze Pfeil kennzeichnet die Bewegung der einzelnen Monomere im Filament in die Richtung des (-)-Endes.

Die Polymerisation findet am (+)-Ende eines Aktinfilaments etwa 5-10 mal schneller als am (-)-Ende statt, da die kritische Konzentration des (+)-Endes c_c^+ niedriger ist als c_c^- . Für Aktinkonzentrationen, die zwischen den beiden kritischen Konzentrationen liegen, bedeutet das, dass an einem Filamentende Aktinmonomere abgebaut und am anderen Ende des Strangs G-Aktineinheiten

angelagert werden (Abbildung 5). Dieses Phänomen, das *de facto* eine Bewegung des Filaments darstellt, wird als Treitmühleneffekt (engl. „treadmilling“) bezeichnet.

In der Zelle wird die Polymerisation unter anderem durch Kontrolle der G-Aktin-Konzentration gesteuert. So vereinnahmt β -Thymosin G-Aktinmonomere durch Bildung von 1:1-Komplexen, was die verfügbare G-Aktin-Konzentration senkt. Proteine wie Tropomodulin und CapZ binden dagegen selektiv an eines der beiden Filamentenden und blockieren es so für weitere Monomeranlagerung, andere Proteine (Severin, Gelsolin) trennen zusätzlich das Filament an bestimmten Positionen in zwei Stränge. Der Arp2/3-Proteinkomplex wiederum bewirkt eine Aktinverzweigung im Winkel von 70° relativ zur Filamentachse.

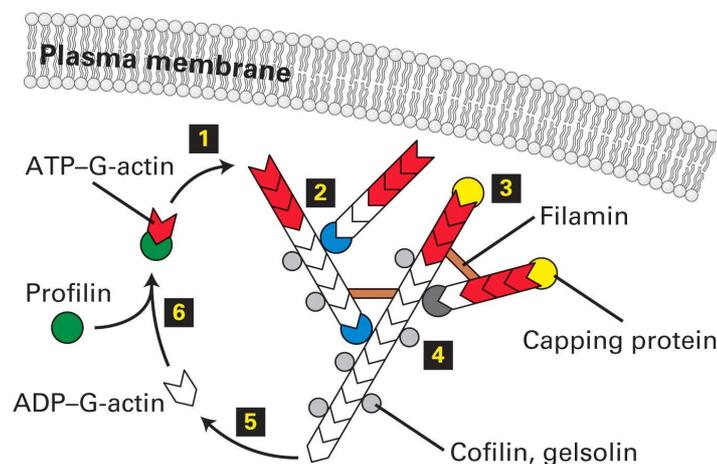


Abbildung 6: Aufbau eines verzweigten Aktinfilament-Netzwerks zur Generierung eines Lamellipodiums: (1) ATP-G-Aktin (rot) bindet an das Filament und drückt gegen die Membran; (2) Der Arp2/3-Komplex bindet seitlich ans Filament und erzeugt eine Verzweigung im 70° -Winkel; (3) Proteine binden an die Filamentenden; (4) ATP-G-Aktin wird im Filament in ADP-G-Aktin umgewandelt; (5) Aktinmonomere dissoziieren vom (-)-Ende des Filaments; (6) Profilin bindet an freigesetzte ADP-Aktinmonomere und regeneriert ATP-G-Aktin durch Nukleotidaustausch.^[20]

Das komplexe System der Steuerung der Aktinpolymerisation dient verschiedenen Zwecken. Neben dem Aufrechterhalten der Zellform wird auch die Zellteilung durch gezielte Aktinpolymerisation mitgesteuert, indem ein kontraktiler Ring, bestehend aus Aktin und Myosin, die Zellmembran zusammenschnürt und so die beiden neuen Zellkörper formt. Durch die Ausbildung von Aktinfilamenten können aber auch gezielt Ausstülpungen (flache Lamellipodien oder fingerförmige Filopodien) in der Zellmembran erzeugt werden (Abbildung 6).

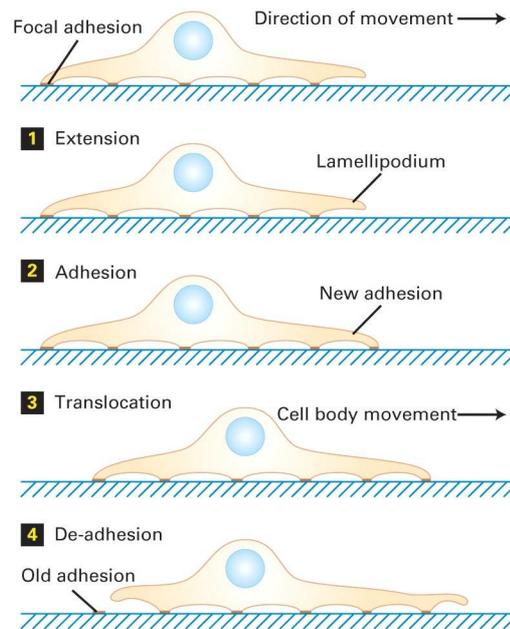


Abbildung 7: Zellwanderung (Lokomotion) einer Keratozyte (Fischepidermiszelle) durch Ausbildung von fokalen Adhäsionen: (1) Ausbildung eines Lamellipodiums; (2) Adhäsion des ausgebildeten Lamellipodiums an das zu bindende Substrat; (3) Verlagerung der Zellmasse in die Bewegungsrichtung; (4) Ablösung und Zurückbildung des Lamellipodiums.^[13]

Diese Ausstülpungen dienen vor allem der Fortbewegung (Lokomotion) der Zelle. Dazu nutzen die Zellen die Ausbildung und Ablösung von Anhaftungen zwischen Lamellipodien und Medium, sogenannte fokale Adhäsionen, zur Verlagerung des Zellkörpers aus (Abbildung 7). Darüber hinaus nutzen verschiedene Zellen des menschlichen Immunsystems Membranausstülpungen zur Einverleibung (Phagozytose) von Antigenen oder ganzen Zellen.

2.2 Aktin-bindende Naturstoffe

Aktin-bindende Naturstoffe kamen bisher im Wesentlichen in Studien zur Struktur des Aktinzytoskeletts und seiner Rolle in Signaltransduktionprozessen zum Einsatz.^[21-24] Solche Verbindungen werden aber auch in der Krebsforschung untersucht, da die typischen Veränderungen von Zellform, Zellwanderung und Zellteilung in Tumorzellen auch die Folge einer veränderten Protein-Zusammensetzung im Zytoskelett sind.^[25] So wurden Anstrengungen unternommen, Therapeutika zu entwickeln, die gezielt das Zytoskelett angreifen. Dabei wurden Inhibitoren der Polymerisation von Mikrotubuli gefunden, die heutzutage bereits erfolgreich gegen Krebs eingesetzt werden.^[26] Ein bekannter Vertreter solcher Wirkstoffe ist Paclitaxel (Taxol[®]), das zum Beispiel bei Brustkrebs eingesetzt wird.^[27] Im Gegensatz dazu existieren derzeit noch keine

marktreifen Wirkstoffe, die das Aktinzytoskelett anvisieren.^[28] Man kennt heutzutage aber einige Naturstoffe, die mit F-Aktin wechselwirken und in Zelltests antiproliferative Wirkung an Krebszellen entfalten. Einige Aktin-stabilisierende Naturstoffe sind im folgenden Abschnitt zusammen mit den biologischen Aktivitäten, die sie entfalten, genauer beschrieben.

2.2.1 Phalloidin

Phalloidin (**1**) ist ein Vertreter der Phallotoxine, die als einer der giftigen Bestandteile des Grünen Knollenblätterpilzes (*Amanita Phalloides*) bekannt sind (Abbildung 8). Seine chemische Struktur wurde als bizyklisches Heptapeptid mit ungewöhnlicher Verbrückung über ein Methioninschwefelatom an die 2-Position eines Tryptophanindols bestimmt.^[29-31]

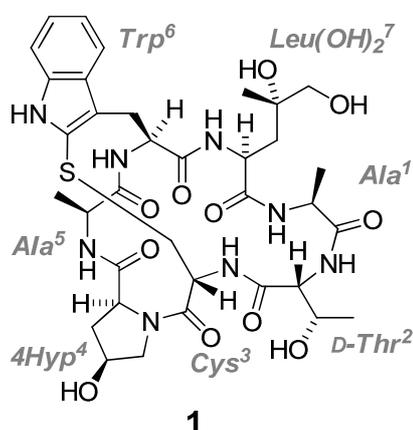


Abbildung 8: Struktur von Phalloidin (**1**).

Phalloidin kann Zellmembranen nicht passieren, bindet jedoch in aufgeschlossenen Zellen stark an filamentöses Aktin.^[32, 33] Dabei bindet es an die Kontaktfläche dreier Aktinuntereinheiten und stabilisiert diese so (Abbildung 9).^[17, 34, 35] Studien an synthetischen Phalloidinanaloga lieferten Hinweise auf Struktur-Wirkungs-Beziehungen. So ist die Cys³-4Hyp⁴-Ala⁵-Trp⁶-Sequenz für die Zytotoxizität essentiell.^[17] Die Anbindung von Fluorophoren an Leu(OH)₂⁷ beeinträchtigt die F-Aktin-Bindung nicht.^[36]

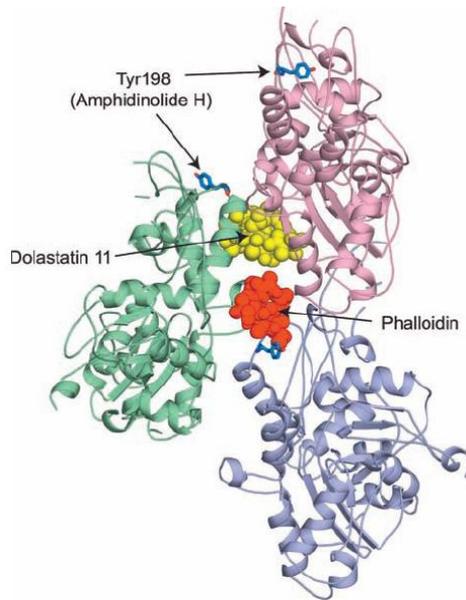


Abbildung 9: Aktintrimer mit den Bindestellen für Phalloidin (rot), Dolastatin (gelb) und Amphidinolid H.^[23]

2.2.2 Jasplakinolid und Chondramid C

Das 19-gliedrige Zyklodepsipeptid **2** wurde 1986 von Crews und Mitarbeitern aus einem marinen Schwamm vom Genus *Jaspis sp.* (welcher zuerst mit *Jasplakina sp.* verwechselt wurde) isoliert, charakterisiert und Jasplakinolid genannt.^[37]

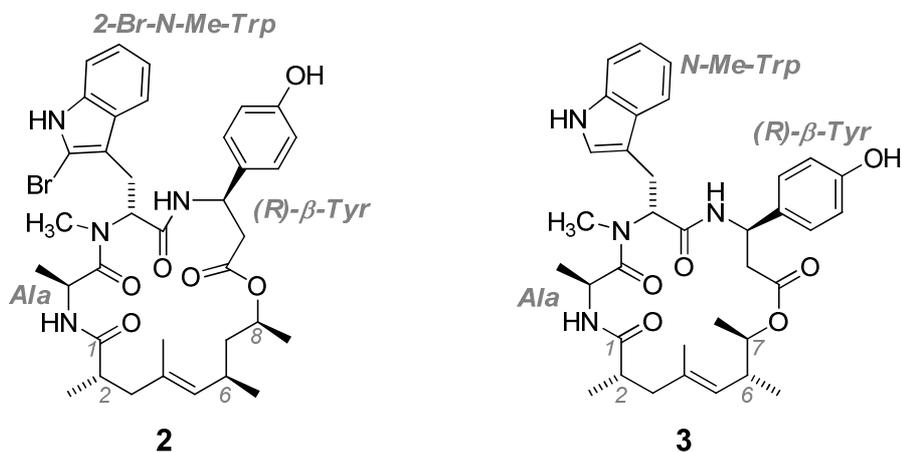


Abbildung 10: Strukturen von Jasplakinolid (**2**) und Chondramid C (**3**).

Zeitgleich wurde es von Zabriskie *et al.* isoliert und als Jaspamid beschrieben.^[38] In verschiedenen Untersuchungen wurden bei **2** insektizide,^[38, 39] herbizide,^[39] ichthytoxische,^[40] anthelminthische^[37, 41] und fungizide^[37-39, 42] Eigenschaften festgestellt. Daneben wurde auch eine toxische Wirkung gegen den Malaria-Parasiten *Plasmodium falciparum*^[43] sowie antiproliferative Wirkung bei verschiedenen Krebszelllinien^[44, 45] gezeigt. Präklinische Untersuchungen an **2**

mussten allerdings wegen zu hoher Toxizität gegen gesunde Zellen vorzeitig abgebrochen werden.^[46, 47] Jasplakinolid bindet kompetitiv mit Phalloidin an F-Aktin, besetzt also dieselbe Bindestelle im Filament (siehe Abbildung 9). Es bindet dabei so stark, dass, wie bei **1**, die kritische Konzentration für die Aktinpolymerisation drastisch herabgesetzt wird, so dass Aktin schneller polymerisiert und die Depolymerisation gehemmt ist.^[48, 49]

Chondramid C (**3**) wurde aus dem Myxobakterium *Chondromyces crocatus* isoliert.^[50] Es ist im Vergleich zu Jasplakinolid um eine Methyleneinheit im Polyketidteil verkürzt und nicht am Indol der Abrineinheit halogeniert (Abbildung 10). Auch für **3** konnte eine toxische Wirkung auf Krebszellen festgestellt werden.^[51] Wie **2** bindet auch Chondramid kompetitiv mit Phalloidin an F-Aktin und stabilisiert so die Aktinfilamente.^[52, 53]

2.2.3 Dolastatin-11

Aus im Indischen Ozean lebenden Seehasen (Schnecken der Art *Dolabella auricularia*) konnte Dolastatin-11 (**4**) isoliert werden.^[54]

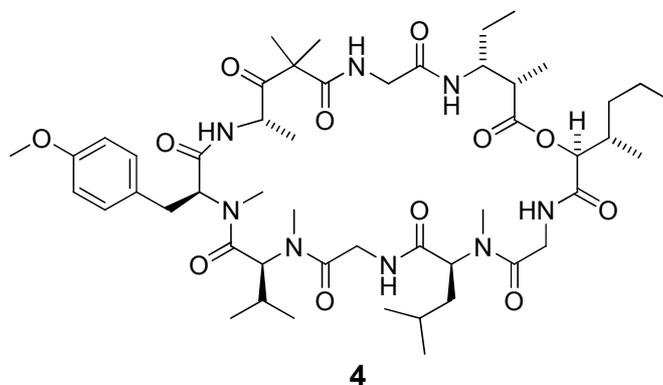


Abbildung 11: Struktur des Zyklodepsipeptids Dolastatin-11 (**4**).

Bei **4** handelt es sich um ein 30-gliedriges Zyklodepsipeptid (Abbildung 11), welchem ebenfalls Aktin-polymerisierende Wirkung attestiert wurde. Es zeigt die für Phalloidin und Jasplakinolid beschriebene Wirkung auf das Zytoskelett mit einer um den Faktor 2-3 höheren Potenz, bindet aber nicht kompetitiv mit diesen.^[55] Die Bindestelle in F-Aktin wurde von Oda und Mitarbeitern als diagonale Kontaktfläche zweier Aktinuntereinheiten bestimmt (Abbildung 9).^[56]

2.2.4 Dolicolid

Aus Seehasen (*Dolabella auricularia*), die vor der Küste Japans leben, wurde das 16-gliedrige Zyklodepsipeptid Dolicolid (**5**) gewonnen und seine Struktur bestimmt (Abbildung 12).^[57]

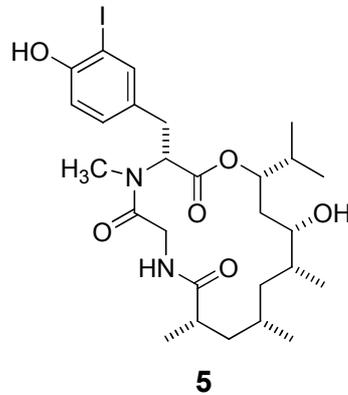


Abbildung 12: Struktur von Dolicolid (**5**).

Man beobachtete eine zytotoxische Wirkung für **5**, welche nach Ersatz des Iodtyrosins durch Tyrosin verloren ging.^[58] Dolicolid stabilisiert wie **2** und **3** Aktinfilamente und bindet an die Phalloidin-Bindestelle in F-Aktin.^[59]

2.2.5 Amphidinolid H

Amphidinolid H (**6**) wurde aus dem Dinoflagellat *Amphidinium sp.* isoliert. Es wurde als 26-gliedriges Makrolid mit einer untypischen Allylepoxydgruppe sowie einer Dieneinheit mit *exo*-Methylengruppe charakterisiert (Abbildung 13).^[60, 61]

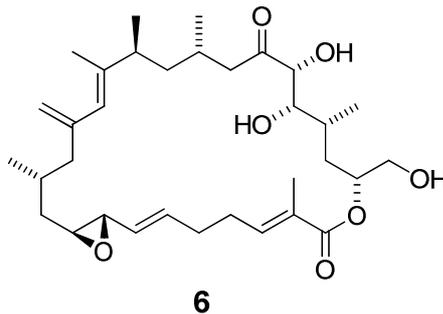


Abbildung 13: Struktur von Amphidinolid H (**6**).

Diese beiden Struktureinheiten sind neben der Ketonfunktionalität essentiell für die biologische Aktivität von **6**.^[62] Es wurde ferner gefunden, dass **6** eine kovalente Bindung mit einem Tyrosin aus der Subdomäne IV eines Aktinmonomers knüpft (Abbildung 9).^[63, 64]

2.2.6 Geodiamolide und verwandte Verbindungen

Strukturell sehr ähnlich zu Jasplakinolid und Chondramid ist die Familie der Geodiamolide, die wie **2** aus marinen Schwämmen (hier: *Geodia sp.*) extrahiert werden kann. Diese Zyklopeptide tragen das gleiche Polyketidgerüst wie Jasplakinolid, wobei die bromierte Abrineinheit durch chloriertes oder bromiertes *N*-Methyltyrosin ersetzt ist. Bei den meisten Geodiamoliden fehlt die β -Tyrosineinheit, stattdessen finden sich dort die *L*-konfigurierten α -Aminosäuren Alanin, Serin oder Valin.^[65-73]

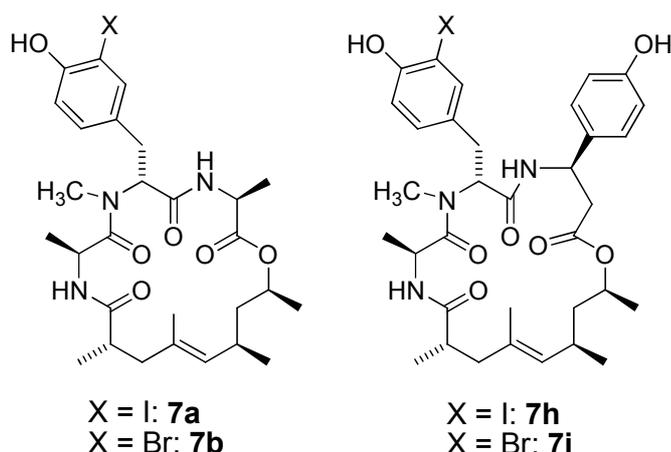


Abbildung 14: Strukturen von Geodiamolid A-B (links) und H-I (rechts).

Für die Geodiamolide A, B, H und I (**7a-b**, **7h-i**; Abbildung 14) konnten Aktinstabilisierende Eigenschaften nachgewiesen werden. Gegen verschiedene Brustkrebs-Zelllinien zeigten **7a** und **7b** eine stärkere Aktivität als **2**.^[44, 68] Eine Studie an dreidimensionalem Zellgewebe zeigte für **7h** eine starke Zytotoxizität gegen Krebszellen, ohne normales Gewebe signifikant zu schädigen.^[74]

Weitere marine Schwämme wie *Neosiphonia sp.* und *Suberites japonicus* lieferten bekannte Geodiamolide und weitere analoge Verbindungen, die als Neosiphoniamolide^[69] bzw. Seragamide^[75] bezeichnet wurden.

2.3 Das Design Aktin-bindender Jasplakinolidanaloge

Konformationsrechnungen, basierend auf interatomaren Abständen aus ROESY-Experimenten, ergaben für Jasplakinolid, dass Tryptophan- und Tyrosineinheit eine Typ II β -Schleife bilden. Diese Struktureinheit wurde als das entscheidende Pharmakophor betrachtet und 9-gliedrige zyklische Peptidmimetika **8** dargestellt, die lediglich die beiden entsprechenden Aminosäure-Seitenketten tragen (Abbildung 15).^[76] Die Verbindung **8b** zeigte eine moderate Aktivität ($LD_{50} \sim 50$

μg als Insektizid gegen *Heliothes virescens*, $\text{LD}_{50} < 5 \mu\text{g}$ gegen *Sarcophaga Fulcata*).

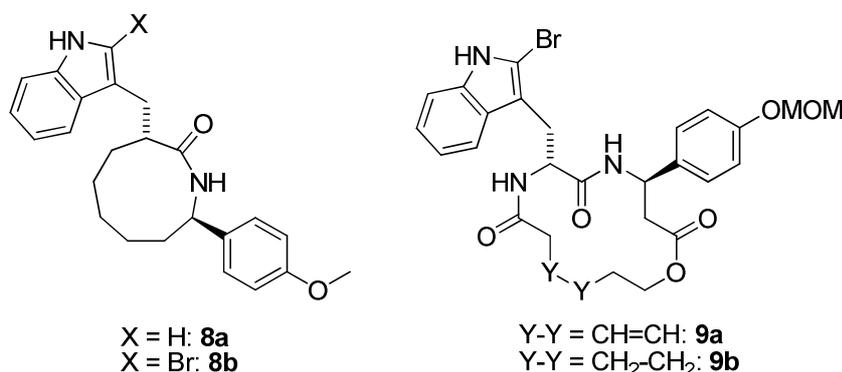
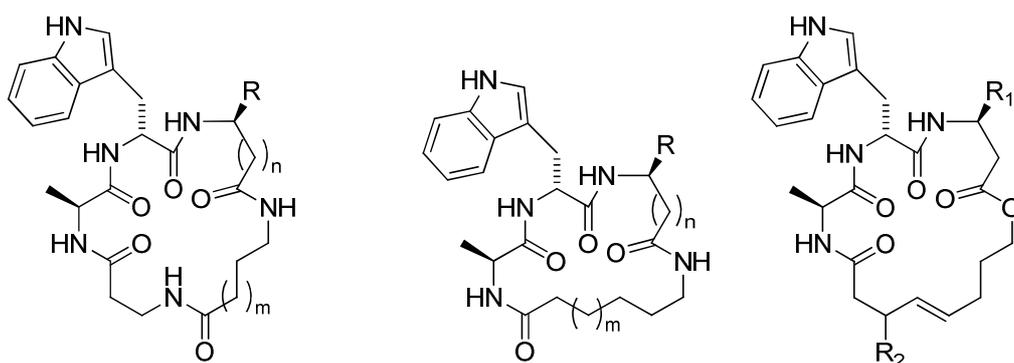


Abbildung 15: Strukturen von Jaspilkinolidanaloga mit Trp-Tyr-Einheit als β -Schleifenmimetika.

14-Gliedrige Zyklopeptidanaloga **9**, die sich auf die Trp-Tyr-Struktureinheit beschränkten und mit einem flexiblen Linker ausgestattet wurden, zeigten keine zytotoxische Wirkung an Krebszelllinien (Abbildung 15).^[77]



$n = 0, m = 2, R = i\text{-Pr}: \mathbf{10a}$
 $n = 0, m = 1, R = \text{Ph}: \mathbf{10b}$
 $n = 0, m = 1, R = 4\text{-Hydroxybenzyl}: \mathbf{10c}$
 $n = 1, m = 1, R = \text{H}: \mathbf{10d}$
 $n = 1, m = 1, R = \text{Ph}: \mathbf{10e}$
 $n = 1, m = 1, R = 4\text{-Hydroxyphenyl}: \mathbf{10f}$

$n = 0, m = 1, R = i\text{-Pr}: \mathbf{11a}$
 $n = 0, m = 3, R = i\text{-Pr}: \mathbf{11b}$
 $n = 0, m = 1, R = \text{Ph}: \mathbf{11c}$
 $n = 0, m = 3, R = \text{Ph}: \mathbf{11d}$
 $n = 1, m = 3, R = \text{Ph}: \mathbf{11e}$

$R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}: \mathbf{12a}$
 $R^1 = \text{Ph}, R^2 = \text{H}: \mathbf{12b}$
 $R^1 = \text{Ph}, R^2 = \text{Me}: \mathbf{12c}$

Abbildung 16: Strukturen der Jaspilkinolidanaloga mit flexiblem Linker.

In der Folgezeit wurden von Terraciano und Mitarbeitern die Jaspilkinolidanaloga **10** - **12** mit Tripeptideinheiten dargestellt, bei denen das Polyketid durch einen flexiblen Linker ersetzt wurde (Abbildung 16).^[78-80] Auch diese Derivate zeigten keine signifikante biologische Aktivität.

Hoffmann und Mitarbeiter haben beschrieben, wie die Natur mit Hilfe ihres Polypropionatstoffwechsels mit Methylgruppen dekorierte Polyketide zur Population aktiver Naturstoffkonformationen einsetzt.^[81, 82] Als Triebkraft für die definierte räumliche Anordnung wird dabei die Vermeidung von *syn*-Pentan-Wechselwirkungen und 1,3-Allylspannung genannt.

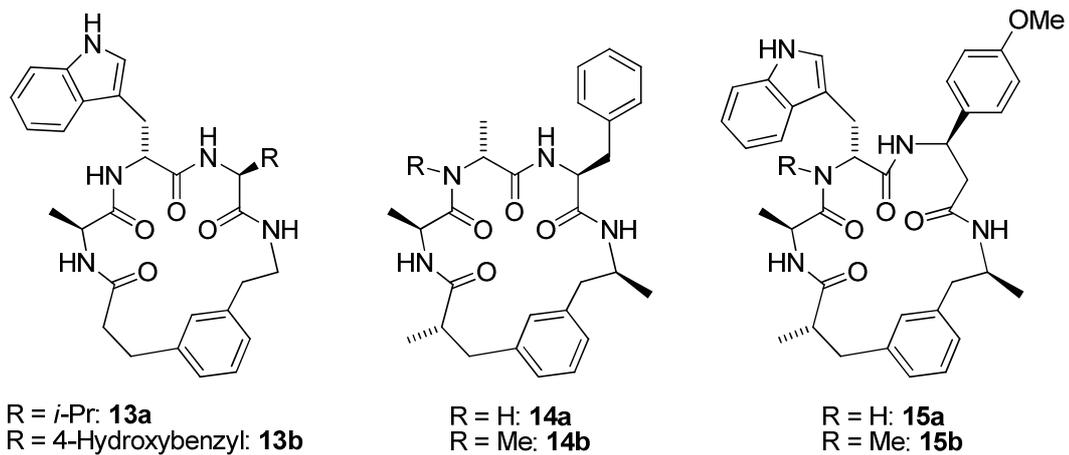


Abbildung 17: Strukturen der Jasplakinolidanaloga mit benzylischem Linker von Riccio *et al.* (**13**) bzw. Maier *et al.* (**14** und **15**).

Für Jasplakinolid mutmaßten Riccio und Maier, dass solche Effekte die Peptidkonformation entscheidend steuern und stellten Derivate mit rigiden benzylischen Linkern dar (Abbildung 17). Diese Substanzen zeigten allerdings auch keine Wirkung in folgenden Zytotoxizitätstests.^[79, 83]

Die genannten Beispiele machen deutlich, dass starke Veränderungen des Polyketidteils bei Zyklodepsipeptiden wie **2** zu einem dramatischem Verlust der biologischen Aktivität führen, was bedeutet, dass der Polyketidteil eine Funktion erfüllen muss, die über die einfache Verknüpfung der Peptidtermini hinausgeht. Hier kann dem Polyketidteil die oben beschriebene konformationssteuernde Rolle zukommen, indem das rigide Polypropionat die räumliche Anordnung des Peptidteils bestimmt.

Die Bedeutung der für die biologische Aktivität des Peptids notwendigen Polyketidkonformation scheint durch die vorher beschriebenen Studien zum Design Aktin-bindender Zyklodepsipeptide noch nicht ausreichend aufgeklärt worden zu sein.

3. Ziel der Arbeit

Aktin ist für essentielle Zellfunktionen verantwortlich. Obwohl Aktin schon seit mehreren Jahrzehnten die biologische Forschung beschäftigt, ist das Verständnis der Regulation dieser wichtigen Komponente des Zytoskeletts auf molekularer Ebene noch limitiert.^[9, 11, 84-86] Substanzen, die mit dem Aktinzytoskelett wechselwirken, werden als hilfreiche Werkzeuge zum Studium von Aktin^[24] und als potentielle Mittel zur Bekämpfung von Krebs^[28, 87] und Malaria^[1, 88] betrachtet.

In dieser Arbeit sollten Analoga der Aktin-bindenden Naturstoffe Jasplakinolid und Chondramid C dargestellt und in einem Phänotyp-basierten Testsystem auf ihre Aktin-bindenden Eigenschaften untersucht werden.

Da zahlreiche synthetische Studien an Jasplakinolidanaloga zeigten, dass das Weglassen oder starke Vereinfachungen des Polyketids zu einem Verlust der biologischen Aktivität führt,^[76-80, 83, 89, 90] sollte insbesondere die Fragestellung untersucht werden, inwieweit der Polyketidteil das Peptid konformativ steuert und wie man gezielt solche biologisch aktiven Konformationen durch Veränderungen des Polyketids erreichen kann.

Hierzu waren Veränderungen des Methylierungsmusters im Polyketid geplant, um den Einfluss von Allylspannung und syn-Pentan-Wechselwirkungen zu untersuchen. Außerdem sollte die Konfiguration der Doppelbindung variiert werden, was eine deutliche Konformationsänderung für Polyketid und Peptid zur Folge haben sollte.

Um die Wechselwirkungen von Naturstoff und Aktin auf molekularer Ebene zu verstehen, sollten strukturelle Variationen im Peptidteil durchgeführt werden. So sollten Verbindungen ohne β -Tyrosin klären, ob die Phenoleinheit essentiell für die biologische Aktivität von Jasplakinolid ist. Daneben sollte der Einfluss der Halogenierung und *N*-Methylierung untersucht werden.

4. Spezieller Teil

4.1 Dockingstudien

In Zusammenarbeit mit Dr. Steffen Renner (Max-Planck-Institut Dortmund) konnte ein im Vergleich zu früher erhältlichen Daten verfeinertes Modell der Bindung von Phalloidin an F-Aktin durch Docking erhalten werden. Dazu wurde die Kristallstruktur des Phalloidinanalogons [Ala⁷]-Phalloidin^[35] mit Hilfe des Programms MOE^[91] einer Energieminimierung unterzogen, wobei ein Satz von nur 56 energiearmen Konformationen erhalten wurde, dessen energieärmste Struktur fast identisch mit der im Kristall war. Diese Konformationen wurden anschließend, als starr betrachtet, mit dem Programm GOLD^[92, 93] in die hinsichtlich der Auflösung zu jener Zeit beste erhältliche Struktur von F-Aktin (8 Å)^[17] gedockt. Da sich die Phalloidinbindestelle an der Grenze dreier Aktinuntereinheiten befindet, wurde für das Docking lediglich ein Aktintrimer betrachtet (Abbildung 18).

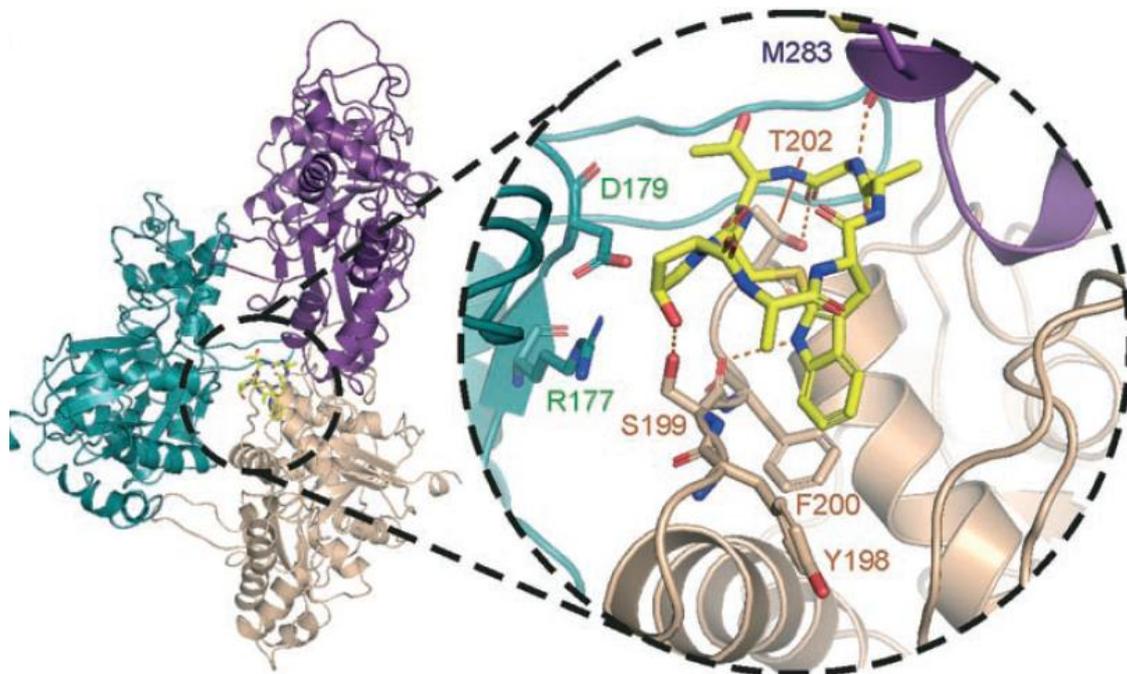


Abbildung 18: Bindemodus von [Ala⁷]-Phalloidin an F-Aktin am Beispiel eines Aktintrimers. Mögliche H-Brücken zu Aktinseitenketten sind gestrichelt rot dargestellt.

In dem erhaltenen Bindemodell findet man die Indoleinheit von Trp⁶ in großer Nähe zu den aromatischen Aminosäuren Phenylalanin (F200) und Tyrosin (Y198), was eine Stabilisierung durch π -Wechselwirkungen nahe legt. Für das Indol-NH lässt sich eine Wasserstoffbrücke zu der Carbonylgruppe eines Serins

(S199) postulieren, welches wiederum vermutlich über seine Seitenkette mit der Hydroxyfunktion von 4Hyp⁴ wechselwirkt. Vermutlich fungiert Ala¹ sowohl über seine Carbonylfunktion als H-Brücken-Akzeptor mit einer Threonin-Seitenkette (T202), als auch durch das Amid-Proton als H-Donor für die Methionin-Carbonylgruppe (M283) eines weiteren Aktinmonomers.

Phalloidinderivate, bei denen an Leu(OH)₂⁷ Fluorophore gebunden sind, werden in der Biologie als Färbereagenzien für F-Aktin verwendet.^[36] Das Anknüpfen sterisch anspruchsvoller Gruppen geht an dieser Position also ohne signifikante Schwächung der Aktinbindung einher. Der dargestellte Bindemodus trägt dieser Erkenntnis Rechnung, da in dem betreffenden Bereich der Aktinbindestelle eine größere Kavität vorhanden zu sein scheint.

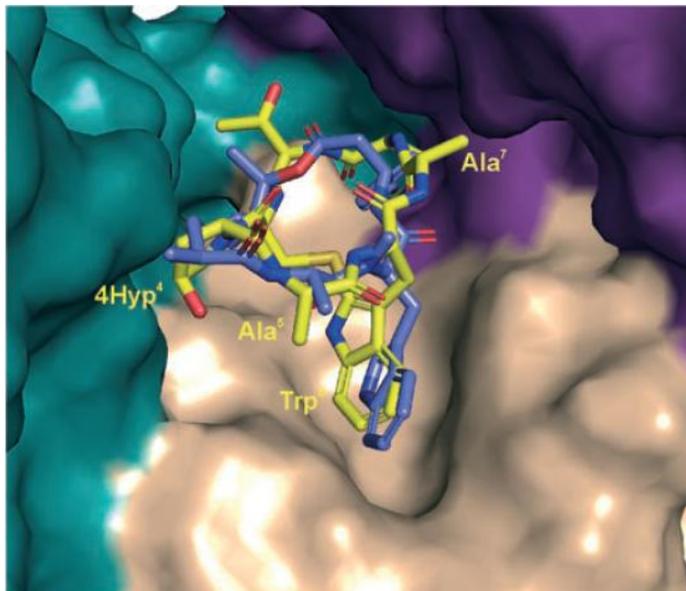


Abbildung 19: Überlagerung der Strukturen von Phalloidin (gelb) und Chondramid C (blau) in der Aktinbindestelle.

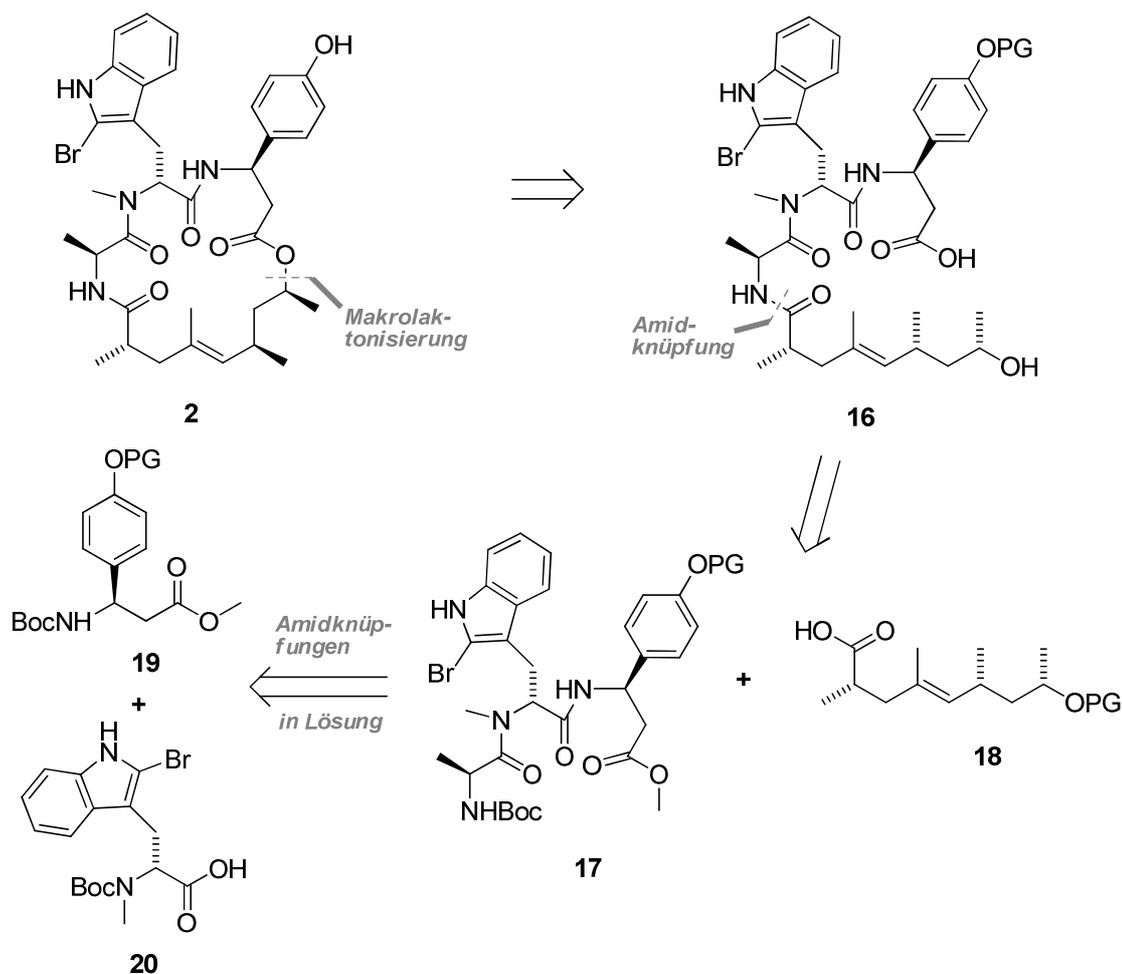
Da Jasplakinolid und Chondramid dieselbe Bindestelle besetzen wie Phalloidin, sollte durch Dockingstudien der Bindemodus dieser Zyklopeptide an F-Aktin aufgeklärt werden. Aufgrund der hohen strukturellen Ähnlichkeit von Jasplakinolid und Chondramid wurde davon ausgegangen, dass beide Peptide in derselben Weise an Aktin binden. Stellvertretend für beide Naturstoffe wurde die Energie der Chondramidstruktur minimiert und die energieärmsten Konformationen des im Vergleich zu Phalloidin wesentlich flexibleren Chondramids für das Docking weiterverwendet. Von den erhaltenen Dockinglösungen wurden dann solche bevorzugt, die dem Phalloidin-Pharmakophormodell entsprechen.

In der bestbewerteten dieser Lösungen überlagern die Indolreste beider Tryptophane trotz gegensätzlicher Aminosäurekonfiguration, während das Alanin des Chondramids mit Ala⁵ überlappt (Abbildung 19). Die β -Tyrosineinheit könnte mit Aktin über T202 Wechselwirkungen eingehen. Der Polyketidteil Chondramids überlagert mit Cys³ und 4Hyp⁴.

Der gezeigte Bindemodus stützt die These, dass nur der Peptidteil zur Bindung an die Aktinuntereinheiten beiträgt, da keine Wechselwirkungen des Polyketidteils mit Aktin erkennbar waren. Insofern rechtfertigten die Ergebnisse der Dockingstudien die nachfolgenden synthetischen Arbeiten.

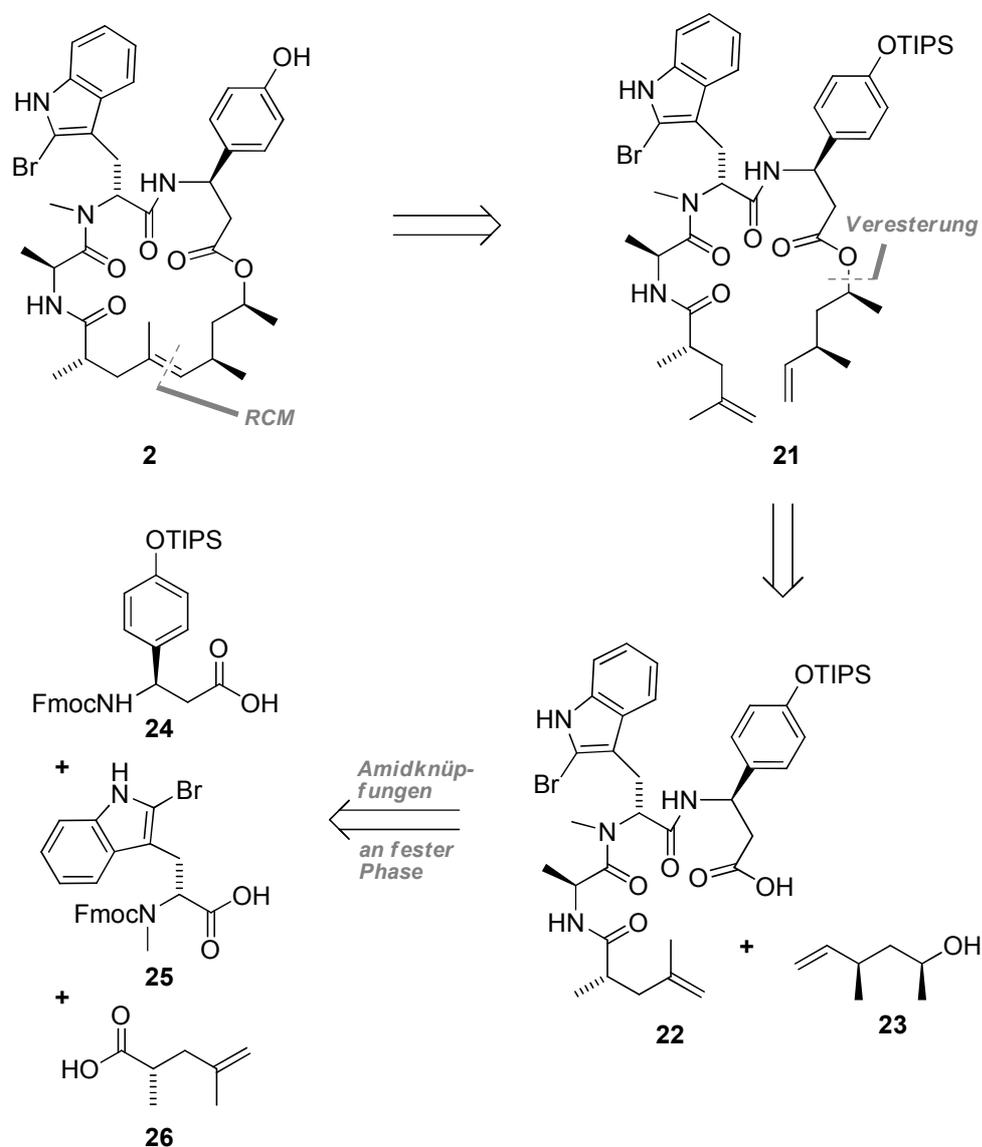
4.2 Synthese

4.2.1 Retrosynthetische Überlegungen



Schema 1: Allgemeine retrosynthetische Betrachtung der bekannten Jasplakinolidsynthesen.

Während Chondramid C zu Beginn dieser Arbeit noch nicht synthetisiert worden und seine absolute Konfiguration nicht aufgeklärt war, ist Jasplakinolid bereits Gegenstand einiger Totalsynthesen gewesen.^[94-100] Diese beinhalteten jeweils eine Makrolaktonisierung als ringschließende Methode und hatten außerdem gemeinsam, dass sowohl Peptid-, als auch Polyketidteil in Lösung dargestellt und zur *seco*-Säure **16** gekuppelt wurden (Schema 1). Während stets eine Boc-Schutzgruppenstrategie zur N-terminalen Verlängerung des Peptids **17** angewendet wurde, unterschieden sich die bisher veröffentlichten Synthesen hinsichtlich der Herangehensweise zur Darstellung der Hydroxysäure **18**.

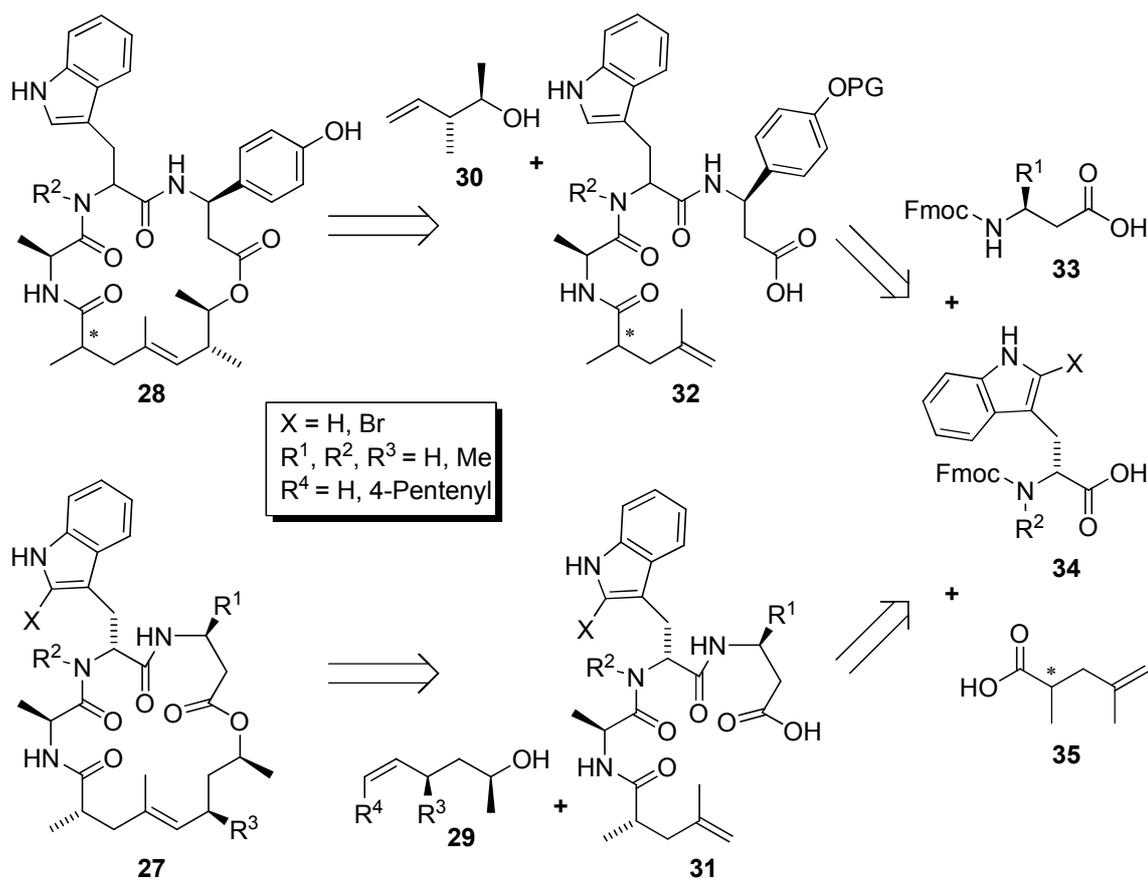


Schema 2: Retrosynthetische Analyse von Jasplakinolid.

Durch Literaturbeispiele von erfolgreichen Metathesereaktionen mit peptidischen Substraten ermutigt,^[101-104] wurde eine Synthesestrategie ins Auge gefasst, die eine Ringschlussmetathese (RCM) als Schlüsselschritt beinhaltet (Schema 2).

Ein RCM-Transform liefert für Jasplakinolid das Dien **21** als Syntheseäquivalent. Dieses ergibt nach Durchführung eines Veresterungstransforms neben dem Alkoholbaustein **23** die peptidische Säure **22**, welche durch Festphasen-peptidsynthese aus den N-terminal geschützten Aminosäuren β -Tyrosin (**24**), 2-Brom-*D*-abrin (**25**) und *L*-Alanin, sowie der 2,4-Dimethylpentensäure **26** zugänglich sind.

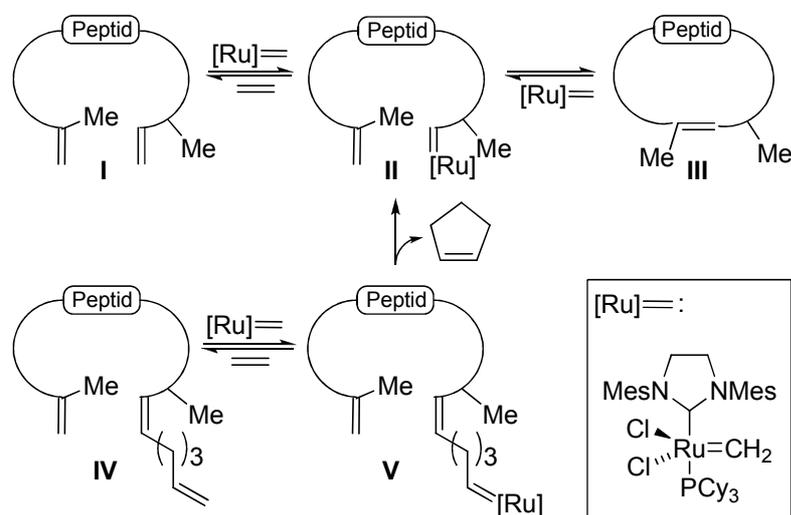
Die gezeigte Strategie kennzeichnet sich durch ihren modularen Charakter, der in wenigen Schritten den Aufbau von analogen Verbindungen ermöglicht. So sind Peptidvariationen an der festen Phase zum Beispiel durch Austausch der Aminosäurebausteine realisierbar, während Veränderungen am Polyketidteil durch Variation des Säurebausteins **22** und/oder des Alkohols **23** erreicht werden. Da die Ringschlussmetathese oft *E/Z*-Gemische bei großen Ringen hervorbringt, wird durch die beschriebene Synthesestrategie auch eine Variation der Doppelbindungskonfiguration im Polyketidteil durchführbar.



Schema 3: Retrosynthetische Analyse der Jasplakinolidanaloga **26** und Chondramidanaloga **27**.

Für die Synthese der geplanten Verbindungen bedeutete dieses konkret, dass β -Alanin-Analoga ($R^1 = H$) durch Einsatz von Fmoc- β -alanin anstelle des Tyrosins erhalten werden konnten. Der Ersatz von Bromabrin durch Abrin ($X = H$) sollte

die entsprechenden nicht-halogenierten Verbindungen liefern, und die Verwendung von Tryptophan ($X = H$, $R^2 = H$) Analoga, die weder halogeniert, noch *N*-methyliert sind. Um Verbindungen zu generieren, die im Polyketidteil keine Methylgruppe an C6 aufweisen ($R^3 = H$), war die Verwendung von (kommerziell erhältlichem) (*S*)-5-Hexen-2-ol als Alkoholbaustein **29** geplant.



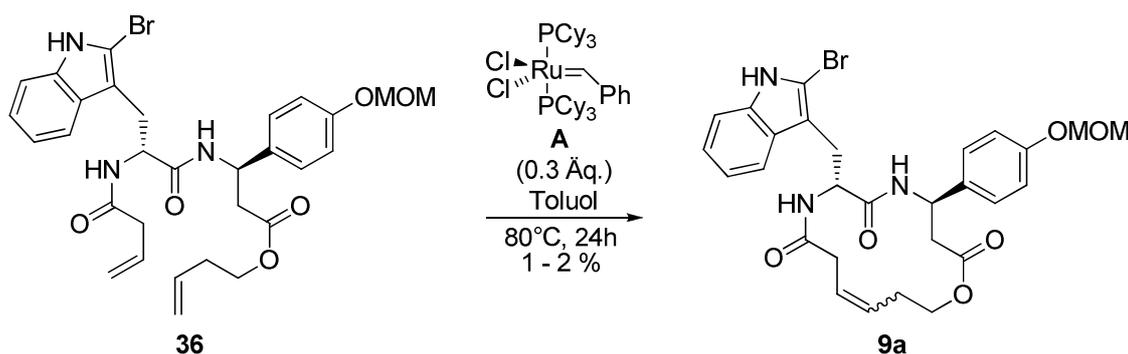
Schema 4: Konzept der konventionellen RCM (oben, von Substrat I über Metallcarben II zum Produkt III) und RRCM (von Substrat IV über Metallcarben V und Metallcarben II zum Produkt III) am Beispiel der betrachteten Zyklodepsipeptide.

Bei der Totalsynthese von Jasplakinolid und seinen Analoga sollte neben der klassischen Ringschlussmetathese auch die Relay-Ringschlussmetathese (RRCM)^[105] als Zyklisierungsvariante untersucht werden (Schema 4). Die RRCM wurde für sterisch gehinderte Substrate wie I, entwickelt, um die Ausbildung des Metallcarbenintermediats II, die durch Zykoaddition des katalytisch aktiven Metallcarbena, gefolgt von Zyklareversion des gebildeten Metallazyklobutans erhalten wird, zu ermöglichen bzw. zu beschleunigen. An dem um eine 4-Pentenyleinheit verlängerten Substrat IV kann die Ausbildung der Metallcarbenintermediats V durch die geringere sterische Hinderung leichter erfolgen. Unter Freisetzung von Zyklpenten wird dann das für den gewünschten Ringschluss benötigte Metallcarben II gebildet.

Zur Synthese von Relay-Metathesevorläufern musste also ein Alkoholbaustein verwendet werden, der um eine Pentenyleinheit verlängert ist ($R^4 = \text{Pent-4-en-1-yl}$).

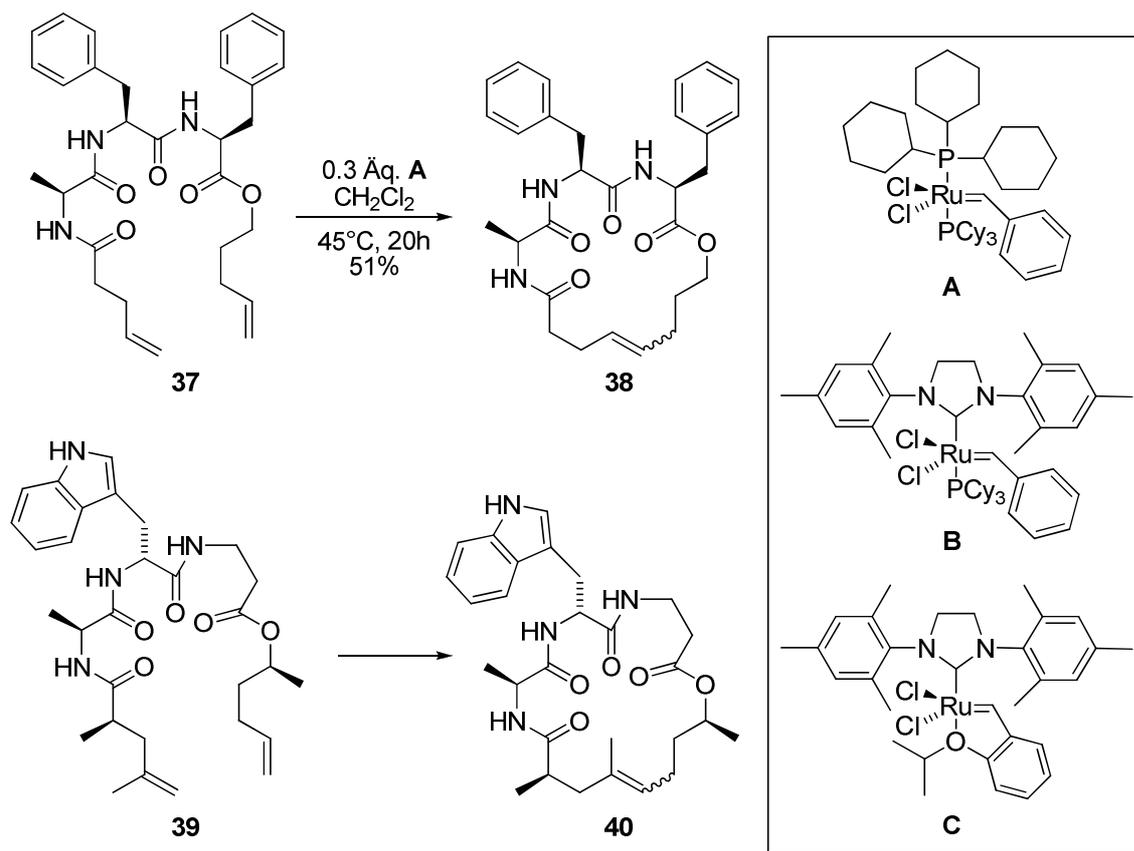
4.2.2 Validierung der Synthesestrategie

Anhand einfacherer Vorläufer sollte die Tauglichkeit der Peptiddiene für die Ringschlussmetathese überprüft werden. Dieses geschah vor dem Hintergrund, dass bereits Studien zur Darstellung von 14-gliedrigen Jasplakinolidanaloga mittels RCM von Joseph und Mitarbeitern publiziert wurden. (Schema 5).^[77] Die Autoren berichteten dabei von keinerlei Reaktionsumsatz des Substrats **36** unter Verwendung des Ruthenium-Katalysators **A** in CH₂Cl₂ bei 45 °C und von extrem niedrigen Ausbeuten von 1 - 2 % nach Wechsel des Lösungsmittels zu Toluol und Erhöhen der Reaktionstemperatur auf 80 °C. Ferner wurde berichtet, dass der Zusatz einer katalytischen Menge von Ti(O-*i*Pr)₄ zur Lewis-Säure-vermittelten Dekomplexierung von Substrat-Carbonylgruppen und Rutheniumintermediat, wie von Fürstner und Langemann beschrieben,^[106] keine Verbesserung hinsichtlich der Reaktionsausbeuten gezeigt habe.



Schema 5: Versuch der Darstellung des 14-gliedrigen Jasplakinolidanalogons **9a** durch RCM (Joseph *et al.*).

Um zu überprüfen, ob RCM geeignet ist, Jasplakinolidanaloga mit Ringgrößen von 18 und 19 Gliedern darzustellen, wurde zunächst der Vorläufer **37**, welcher nur *L*-konfigurierte α -Aminosäuren enthält, dargestellt und mit 30 mol-% eines Grubbs-Katalysators der ersten Generation in Dichlormethan unter Rückfluss erhitzt (Schema 6).



Schema 6: Ringschlussmetathese zur Synthese vereinfachter Jasplakinolidanaloga **38** und **40**.

Hierbei bildete sich das gewünschte 18-gliedrige Zyklodepsipeptid **38** in zufrieden stellender Ausbeute von 51 % als 1:1-Gemisch der beiden Doppelbindungsisomeren, welche mittels präparativer HPLC getrennt und charakterisiert werden konnten.

Tabelle 1: Experimentell untersuchte Bedingungen für den Ringschluss des vereinfachten Jasplakinolidanalogs **40**.

Konzentration	Katalysator	Lösungsmittel	Temperatur	Ausbeute
4 mM	A	CH_2Cl_2	25°C	-
4 mM	A	CH_2Cl_2	45°C	-
4 mM	B	CH_2Cl_2	45°C	Spuren
2 mM	C	Toluol	90°C	29 % ^[a, b]

[a] nach HPLC-Aufreinigung; [b] bestehend aus 21 % *E*-Isomer, 8 % *Z*-Isomer.

Unter diesen Bedingungen konnte das Dien **39**, welches anstatt einer Allyl- eine Methallyleinheit enthält, nicht cyclisiert werden (Tabelle 1). Auch der Einsatz des deutlich aktiveren Ruthenium-basierten Präkatalysators der 2. Generation **B** ergab in CH_2Cl_2 unter Rückfluss lediglich Spuren des gewünschten zyklischen Produktes, unreactiertes Ausgangsmaterial, Spuren von Dimeren sowie Spuren

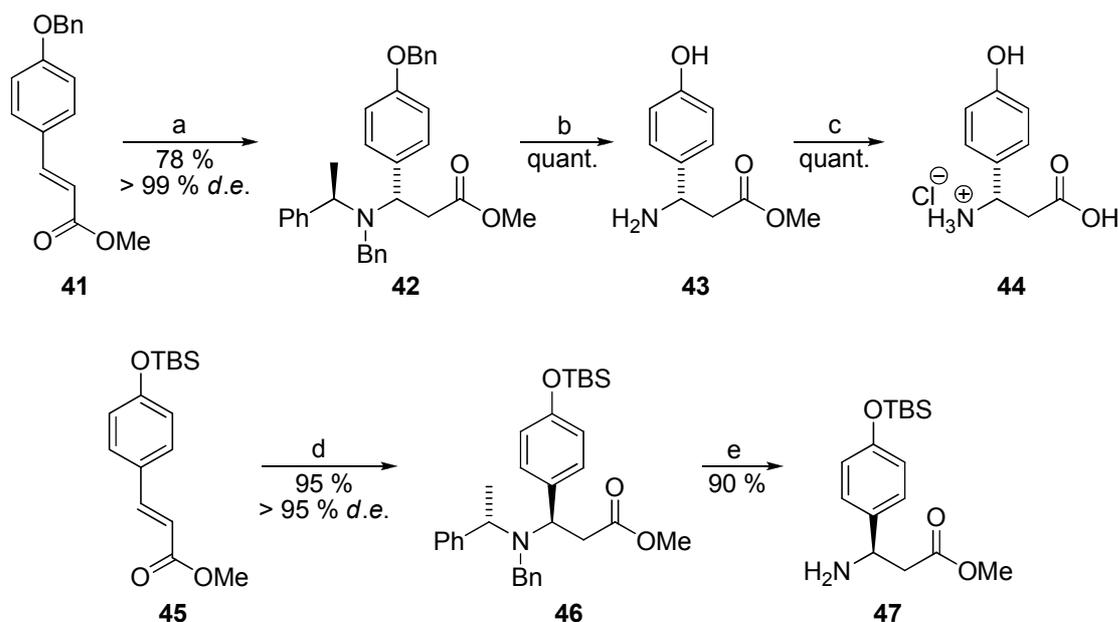
des Produktes einer Kreuzmetathese mit Styrol aus dem Präkatalysator. Diese Beobachtungen deuteten darauf hin, dass die zur Initiierung des Ringschlusses notwendige [2+2]-Zykloaddition zwischen Katalysator und dem unsubstituierten und damit leichter zugänglichen Olefin des Substrat stattfinden konnte und durch die folgende Zykloreversion ein Ruthenium-Carben-Intermediat entstand, welches nicht produktiv im Sinne eines Ringschlusses weiterreagierte. Eine mögliche Ursache für die geringe Produktbildung sind für einen Ringschluss ungünstige Molekülkonformationen, die durch intramolekulare Wasserstoff-Brücken oder eine zu starke Komplexierung des katalytisch aktiven Rutheniumintermediats fixiert sein können.

Um das Substrat konformativ flexibler zu gestalten, wurde die Reaktion in Toluol bei 80° durchgeführt. Außerdem wurde der reaktivere Rutheniumpräkatalysator mit *N*-heterozyklischem Liganden **C** verwendet. In diesem Fall konnte das gewünschte 19-gliedrige Zyklodepsipeptid **40** erhalten und die entstandenen Doppelbindungsisomere mittels HPLC getrennt werden. Beide Diastereomere wurden in einer Gesamtausbeute von 29 % erhalten.

Die diskutierten Untersuchungen an den vereinfachten Zyklodepsipeptidderivaten **38** und **40** zeigten, dass der Schlüsselschritt der Ringschlussmetathese die gewünschten 18- bzw. 19-gliedrigen Zyklodepsipeptide liefern kann, jedoch für strukturell anspruchsvollere Substrate mit substituierten Doppelbindungen höhere Reaktionstemperaturen sowie der Einsatz der aktiveren Rutheniumpräkatalysatoren der 2. Generation erforderlich sind.

4.2.3 Synthese von Fmoc- β -Tyrosin

Bei der Synthese von Fmoc- β -tyrosin **24** wurde die von Davies und Mitarbeitern entwickelte Michael-Addition von chiralen benzylicchen Amiden an das Cumarsäurederivat **41** genutzt,^[107] deren Anwendung Kocienski und Mitarbeiter im Zusammenhang mit ihrer Totalsynthese von Jasplakinolid für die Darstellung von H-D- β -Tyr(TBS)-OMe (**47**) beschrieben (Schema 7).^[99]



Schema 7: Synthese von β -Tyrosin nach Davies et al. (oben) und Kocienski et al. (unten): (a) *(R)*-*N*-(1-Phenylethyl)benzylamin, *n*BuLi, THF; (b) H₂, Pd(OH)₂, AcOH/EtOH; (c) 2 M HCl; (d) *(S)*-*N*-(1-Phenylethyl)benzylamin, *n*BuLi, THF; (e) H₂, Pd/C, AcOH/EtOH.

In Analogie zu diesen Arbeiten wurde die Synthese von TIPS-geschütztem Fmoc- β -Tyrosin **24** mit der Umsetzung von *para*-Cumarsäure (**48**) zum entsprechenden Benzylester **49** begonnen (Schema 8). Nach Silylierung der Phenoleinheit mit TIPSCI wurde die Michael-Addition bei -78°C durchgeführt. Da neben der gewünschten 1,4-Addition als Folgereaktion auch eine 1,2-Addition zum entsprechenden Amid auftrat, wurde versucht, die eingesetzte Menge an Amin und die Reaktionszeit zu minimieren. Dabei wurde eine Ausbeute von 60 % unter Verwendung von 1.7 Äq. Amin und einer Reaktionszeit von 22 min erreicht (Tabelle 2). Größere Aminmengen und eine längere Reaktionszeit führten zu höherem Anteil an Nebenprodukt durch 1,2-Addition. Eine kleinere Aminmenge führte zu einem nicht-vollständigen Umsatz des Ausgangsmaterials und somit zu Trennproblemen bei der Aufreinigung des Produkts. In allen betrachteten Fällen

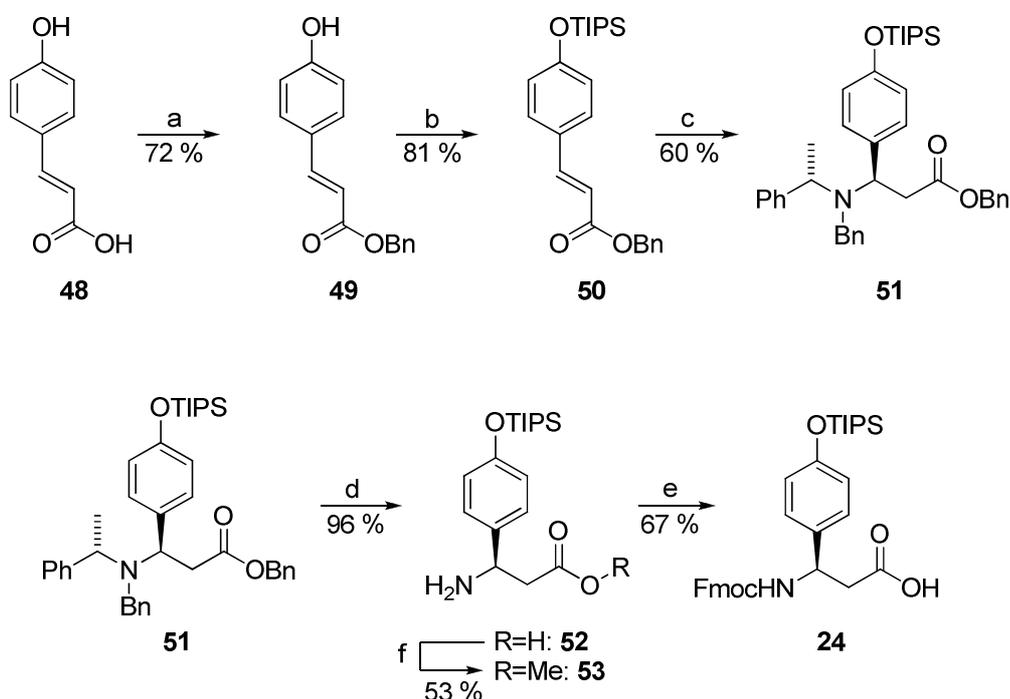
konnte lediglich ein Diastereomer im Rohgemisch der Reaktion detektiert werden, was auf eine sehr hohe Diastereoselektivität für die Michael-Addition hindeutete.

Tabelle 2: Experimentell untersuchte Bedingungen für die Michael-Addition von (*S*)-*N*-(1-Phenylethyl)benzylamin an TIPS-geschütztes Benzylcumarat **50**.

Eintrag	Äquivalente Amid	Reaktionszeit ^[a]	Umsatz ^[b]	Ausbeute
1	2.5	90 min	100 %	55 %
2	2.5	24 min	100 %	52 %
3	1.7	22 min	100 %	60 %
4	1.5	20 min	95 %	54 %

[a] nach beendeter tropfenweiser Zugabe des Amids; [b] bezogen auf das Cumarat

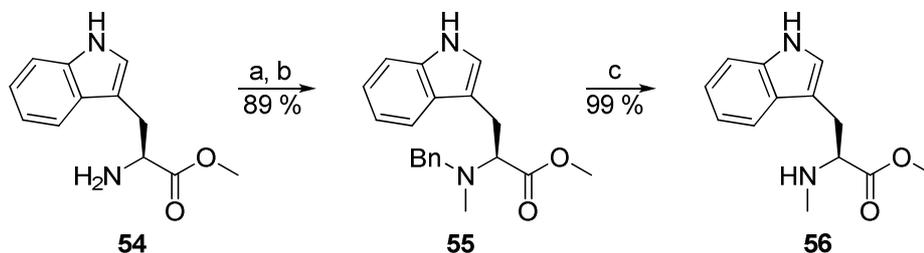
Durch Hydrogenolyse mit Pd(OH)₂ als Katalysator wurde in sehr guter Ausbeute die freie Aminosäure **52** erhalten, deren absolute Konfiguration durch Veresterung^[108] zum literaturbekanntem^[100] Methylester **53** bestätigt werden konnte, da seine polarimetrischen Eigenschaften mit den publizierten Angaben übereinstimmten. Die Schützung des freien N-Terminus der Säure **52** mittels FmocOSu lieferte das gewünschte TIPS-geschützte Fmoc-β-Tyrosin **24**.



Schema 8: Synthese von Fmoc-β-Tyrosin: (a) BnBr, Na₂CO₃, DMF; (b) TIPSCI, Imidazol, DMF; (c) (*S*)-*N*-(1-Phenylethyl)-benzylamin, *n*BuLi, THF; (d) H₂, Pd(OH)₂, AcOH/EtOH; (e) NaHCO₃, FmocOSu, 1,4-Dioxan/H₂O; (f) TMSCl, MeOH, CH₂Cl₂.

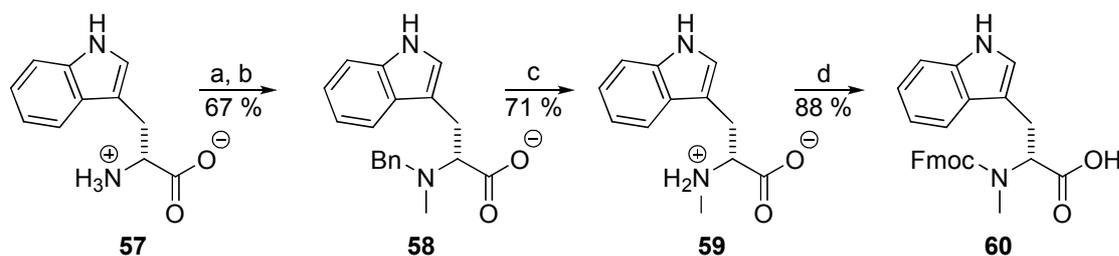
4.2.4 Synthese der Abrinbausteine

Die Synthese von *N*-Methyl-*L*-tryptophanmethylester durch eine Sequenz von reduktiver Benzylierung und Methylierung wurde bereits von Konopelski und White beschrieben (Schema 9).^[109]



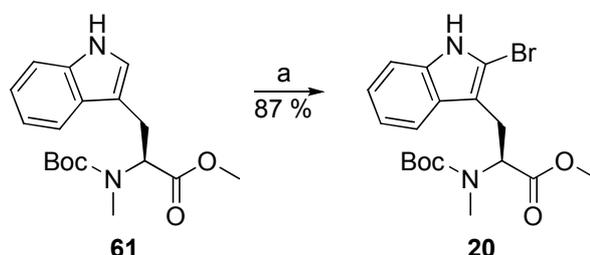
Schema 9: Darstellung von Abrinmethylester **56** nach Konopelski und White: (a) Benzaldehyd, NaCNBH₃, MeOH; (b) (CH₂O)_n, NaCNBH₃, MeOH; (c) H₂, Pd(OH)₂, MeOH.

Die Substratbandbreite dieser Reaktionssequenz konnte auf die freie Aminosäure erweitert werden (Schema 10). So konnten Benzylierung und Methylierung von *D*-Tryptophan (**57**) in einer Gesamtausbeute von 67 % durchgeführt werden.



Schema 10: Synthese von *Fmoc*-*D*-Abrin **60**: (a) Benzaldehyd, NaCNBH₃, MeOH, 95 %; (b) (CH₂O)_n, NaCNBH₃, MeOH, 70 %; (c) H₂, Pd(OH)₂, AcOH/EtOH; (d) NaOH, NaHCO₃, *FmocOSu*, 1,4-Dioxan/H₂O.

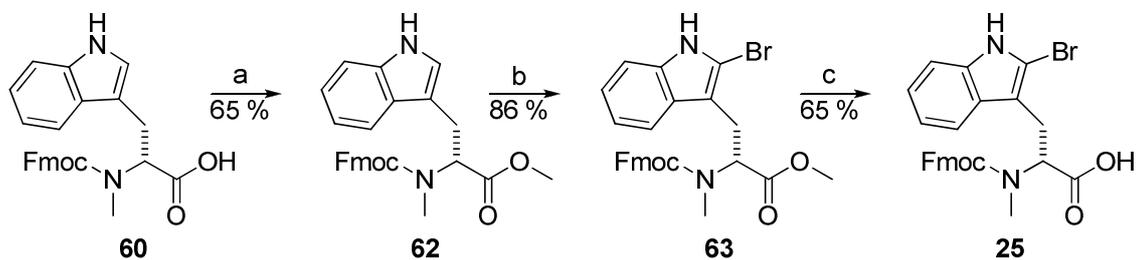
Debenzylierung durch Hydrogenolyse lieferte die freie Aminosäure **59** in moderater Ausbeute, die mit *FmocOSu* in guter Ausbeute in das *Fmoc*-geschützte Tryptophan **60** überführt werden konnte.



Schema 11: Bromierung von Abrinmethylester **61** nach Kocienski *et al.*: (a) NBS, CH₂Cl₂.

Der Versuch der Bromierung der freien Säure **60** führte unter den von Kocienski und Mitarbeitern beschriebenen Bedingungen (Schema 11) zur Zersetzung des

Ausgangsmaterials.^[99] Daher wurde **60** in moderater Ausbeute zum entsprechenden Methylester **62** umgesetzt und die regioselektive Bromierung mit einer guten Ausbeute von 86 % erfolgreich durchgeführt (Schema 12).

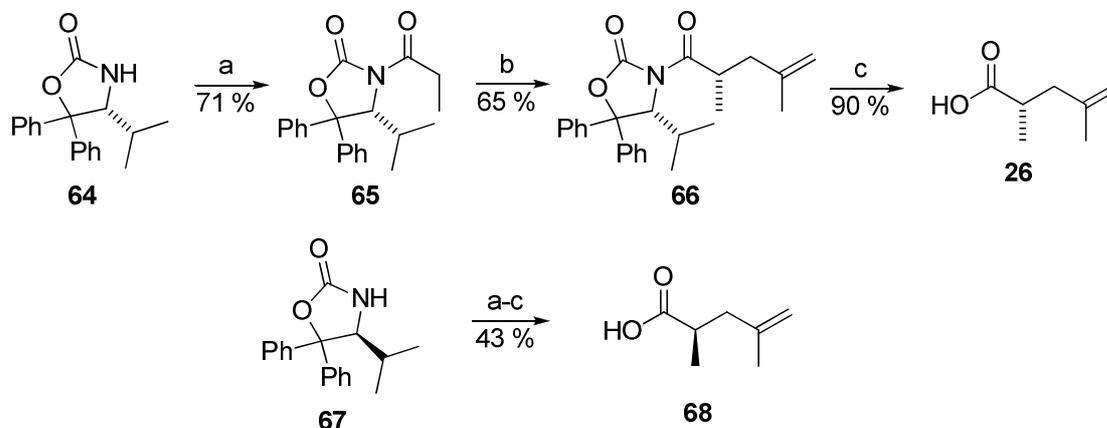


Schema 12: Synthese von bromiertem Fmoc-D-abrin **25**: (a) MeOH, EDC·HCl, DIPEA, DMAP, CH₂Cl₂; (b) NBS, CH₂Cl₂; (c) Me₃SnOH, 1,2-Dichloroethan.

Die Verseifung des resultierenden Bromtryptophanmethylesters **63** stellte sich zunächst als problematisch dar, weil das für Verseifungen gängige Reagenz LiOH wegen seiner hohen Basizität zur Entschützung des N-Terminus und zu weiteren Nebenreaktionen führte. Hier führte der Einsatz des von Nicolaou und Mitarbeitern für die selektive Verseifung von Methylestern beschriebenen Reagenzes Me₃SnOH in pH-neutralem Milieu zur gewünschten Hydrolyse des Esters ohne Fmoc-Entschützung.^[110] Man erhielt so das gewünschte Fmoc-geschützte bromierte Tryptophan **25** in moderater Ausbeute.

4.2.5 Synthese von 2,4-Dimethylpent-4-ensäure

Die Pentensäurebausteine **26** und **68** wurden mit Hilfe des von Seebach und Mitarbeitern modifizierten Evans-Auxiliars erhalten (Schema 13).



Schema 13: Synthese von 2,4-Dimethylpent-4-ensäure **26** bzw. **68**: (a) Propionsäurechlorid, THF; (b) LDA, ZnBr₂, β -Methallylbromid, THF; (c) NaOH, THF/MeOH/H₂O.

Auxiliar **64** wurde mit Propionsäurechlorid in moderater Ausbeute acyliert und das Zink-Enolat des resultierenden Acyloxazolidinons **65** mit β -Methallylbromid alkyliert.^[111] Man erhielt in zufrieden stellender Ausbeute von 65 % und mit exzellenter Diastereoselektivität (*d.e.* > 98 %) das kristalline Amid **66**. Basische Hydrolyse lieferte in guter Ausbeute (*S*)-2,4-Dimethylpent-4-ensäure (**26**). Die Verwendung des zu **64** enantiomeren Auxiliars **67** ergab entsprechend die enantiomere Pentensäure **68** mit einer ähnlichen Gesamtausbeute (43 %, ausgehend von **67**). In Zusammenarbeit mit Dr. Hans Preut und Dr. Markus Schürmann (Technische Universität Dortmund) konnte am Beispiel von **ent-66** dessen erwartete relative Konfiguration mittels Röntgenkristallographie zweifelsfrei bestätigt werden (Abbildung 20).^[112]

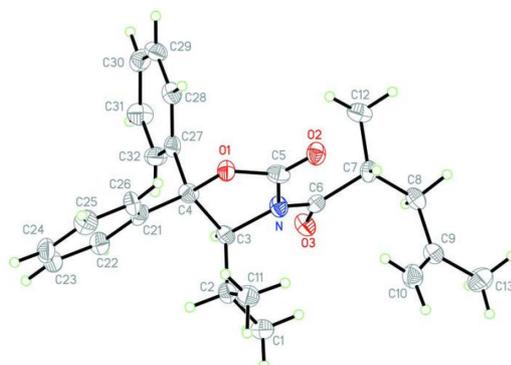
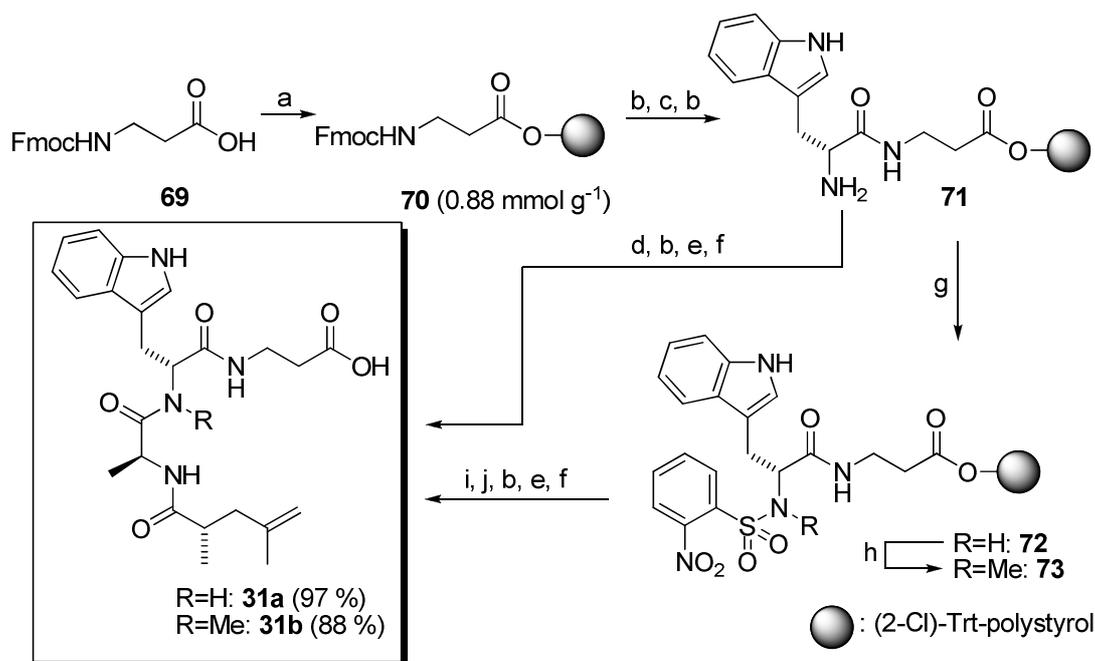


Abbildung 20: Struktur von **ent-66** im Kristall (PLATON-Darstellung^[113])

4.2.6 Festphasenpeptidsynthese

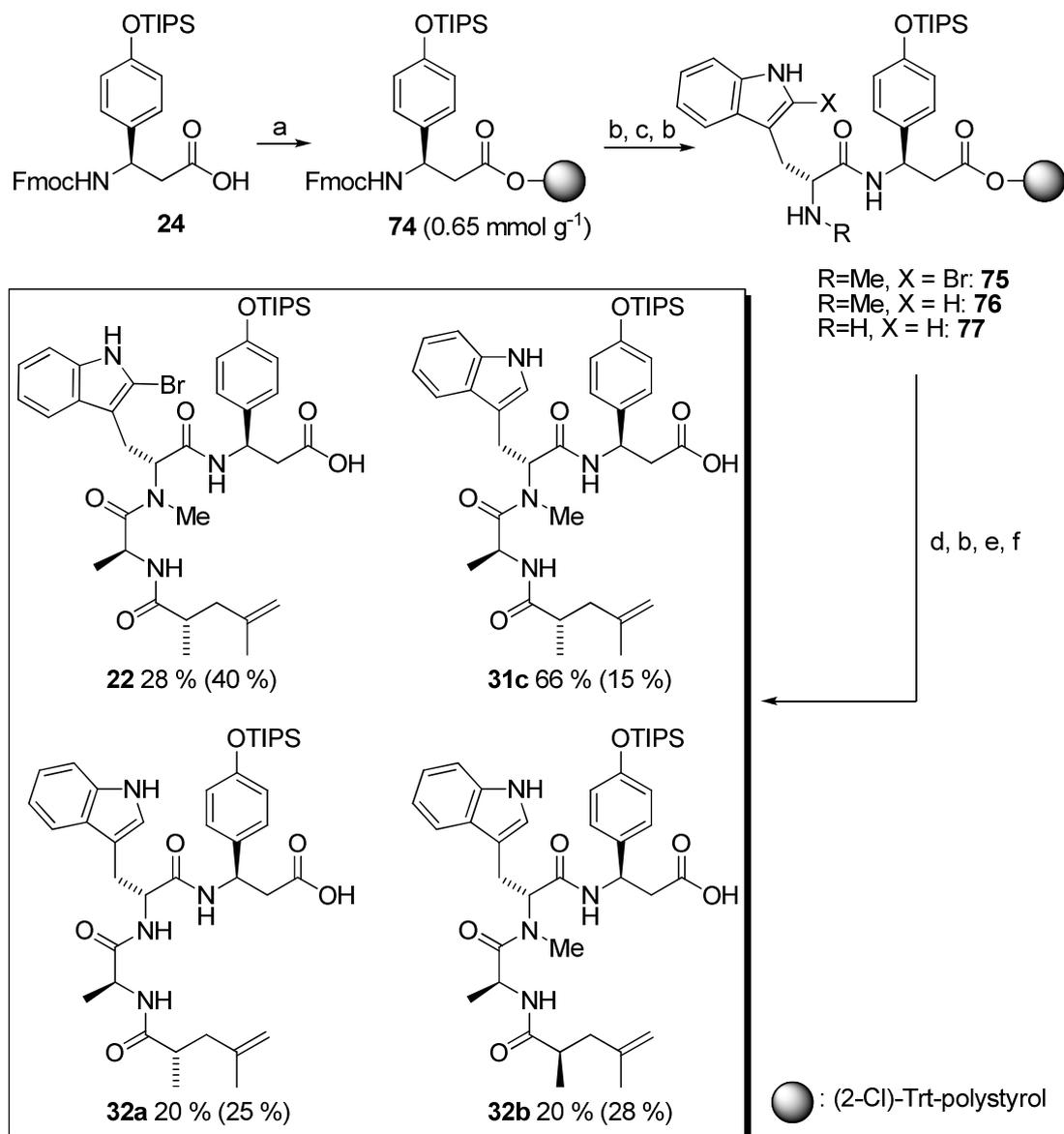
Die peptidische Säure **30** wurden durch Festphasensynthese erhalten (Schema 14). Hierzu wurde Fmoc- β -alanin (**69**) an (2-Chlor)tritylpolystyrol geknüpft und die Aminosäurebeladung bestimmt, indem eine kleine Probe des Harzes *N*-terminal entschützt und die UV-Absorption der Abspaltlösung gegen eine Blindprobe gemessen wurde.^[114]



Schema 14: Synthese der peptidischen Säuren **31a-b**: (a) Cl-(2-Cl)-Trt-polystyrol, DIPEA, CH₂Cl₂; (b) DBU, Piperidin, NMP; (c) Fmoc-*D*-Trp-OH, DIC, HOBt, NMP; (d) Fmoc-Ala-OH, DIC, HOBt, NMP; (e) **26**, DIC, HOBt, DIPEA, NMP; (f) HFIP/CH₂Cl₂ (g) *o*-NBSCI, DIPEA, NMP; (h) DBU, Me₂SO₄, NMP; (i) HSCH₂CH₂OH, NMP; (j) Fmoc-Ala-OH, HATU, HOAt, DIPEA, NMP.

Festphasengebundenes Alanin **70** wurde unter basischen Bedingungen *N*-Terminal entschützt und mittels DIC und HOBt mit Fmoc-*D*-tryptophan verknüpft. Nach erneuter Entschützung wurde ein Teil des resultierenden Harzes unter den von Kessler und Mitarbeitern beschriebenen Bedingungen *N*-methyliert.^[115] Hierzu wurde das *N*-terminal entschützte Peptid **71** mittels *o*-NBSCI in das entsprechende Sulfonamid **72** überführt, mit DBU und Dimethylsulfat methyliert und anschließend mit β -Mercaptoethanol zum sekundären Amin **73** gespalten. Während nicht-methyliertes Peptid **71** mittels DIC und HOBt mit Fmoc-Alanin gekuppelt wurde, wurden zur Alaninkupplung an das *N*-methylierte Peptid **73** HATU und HOAt verwendet. Anschließend wurden beide Peptide mit Pentensäure **26** verknüpft. Nach saurer Abspaltung vom Harz wurde nicht-methyliertes Peptid **31a** in einer exzellenten Gesamtausbeute von 97 %,

bezogen auf die Beladung mit der ersten Aminosäure, erhalten. Die *N*-methylierte peptidische Säure **31b** wurde in einer immer noch sehr guten Gesamtausbeute von 88 %, bezogen auf die Beladung mit der ersten Aminosäure β -Alanin, dargestellt.



Schema 15: Synthese der peptidischen Säuren **22**, **31c** und **32a-b**: (a) Cl-(2-Cl)-Trt-polystyrol, DIPEA, CH₂Cl₂; (b) DBU, Piperidin, NMP; (c) Fmoc-*D*-Trp-OH oder **25** oder **60**, DIC, HOBt, NMP; (d) Fmoc-Ala-OH, DIC, HOBt, NMP oder Fmoc-Ala-OH, HATU, HOAt DIPEA, NMP; (e) **26** oder **68**, DIC, HOBt, DIPEA, NMP; (f) HFIP/CH₂Cl₂.

Zur Synthese von Peptiden, die β -Tyrosin enthalten, wurde Tyrosinbaustein **24** an die feste Phase geknüpft und Carbodiimid-vermittelt die Peptidkupplungen durchgeführt, wie es für die Alanin-enthaltenden Säuren **31a-b** beschrieben wurde. Dabei trat ein signifikantes Maß an Desilylierung während der Peptidsynthese auf (Schema 15, Ausbeuten des desilylierten Produktes in Klammern).

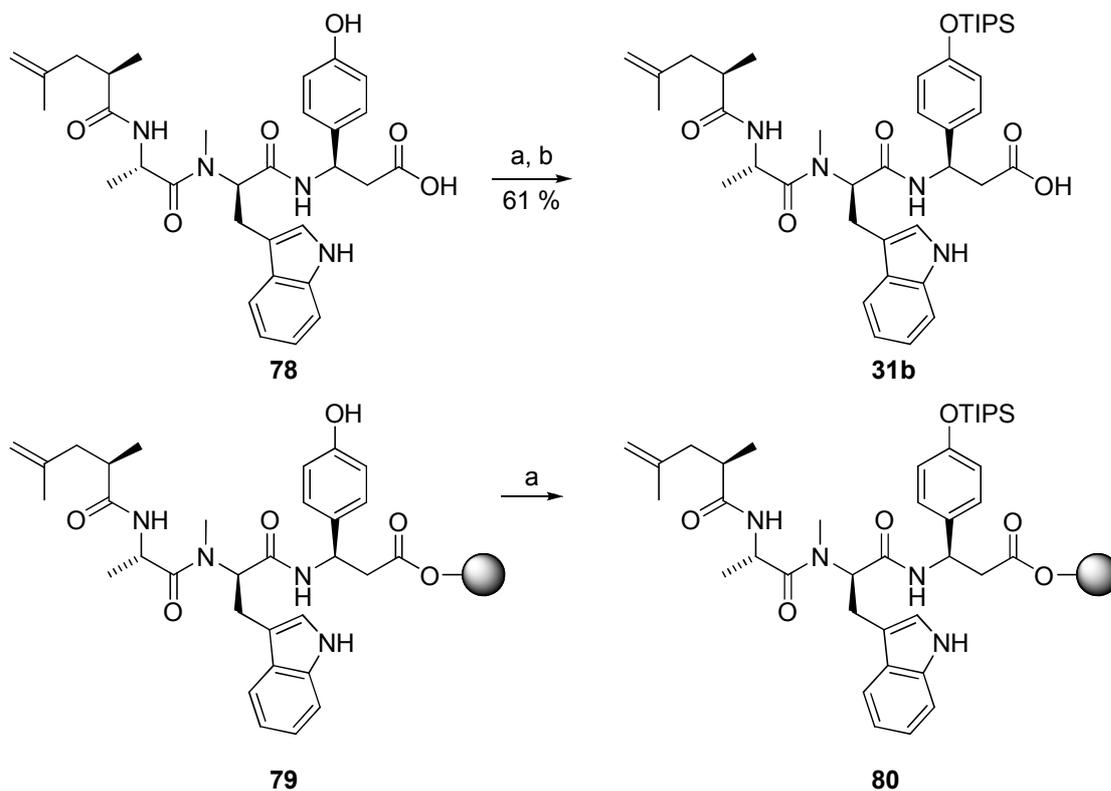
Tabelle 3: Studien zur partiellen Tyrosin-Desilylierung während der Festphasenpeptidsynthese.

	Reagenzien	Reaktionszeit	De-silylierung ^[a]
Peptid-Kupplung	i) DIC/HOBt (je 3 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 2.5 h ii) 10 min	0 %
	i) HATU (3 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 2.5 h ii) 10 min	0 %
	i) HOAt (3 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 2.5 h ii) 10 min	0 %
	i) HATU/HOAt (je 3 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 2.5 h ii) 10 min	0 %
	i) HATU/HOAt/DIPEA (3/3/6 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 2.5 h ii) 10 min	0 %
	i) 60 /DIC/HOBt (je 3 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 20 h ii) 10 min	37 % ^[b]
	i) 25 /DIC/HOBt (je 3 Äq.) in NMP ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 20 h ii) 10 min	25 %
Fmoc-Abspaltung	i) DBU/Piperidin/NMP (2:2:96) ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 20 min, 10min ii) 10 min	0 %
	i) Piperidin/NMP (1:4) ii) HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	i) 20 min, 10min ii) 10 min	0 %
Harz-Abspaltung	TFA/CH ₂ Cl ₂ (1:19)	10 min	0 %
	TFA/TIS/CH ₂ Cl ₂ (1:1:98)	10 min	0 %
	AcOH/TFE/CH ₂ Cl ₂ (1:1:8)	10 min	0 %
	HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	10 min	0 %
	HFIP/CH ₂ Cl ₂ (1:4)	30 min	0 %

[a] bestimmt mittels analytischer HPLC; [b] enthält O-acyliertes Nebenprodukt

Eine Untersuchung der Reaktionsbedingungen durch Behandeln von festphasengebundenem Tyrosin **74** mit den Bedingungen der Festphasenpeptidsynthese, gefolgt von Testabspaltungen, ergab, dass weder die

Fmoc-Abspaltung, noch die saure Abspaltung vom Harz die Desilylierung auslösen (Tabelle 3). Auch die Behandlung des Harzes mit Kupplungsreagenzien ergab *per se* noch keine Entschützung. Die Kombination aus Aminosäure und Kupplungsreagenzien führte hingegen zu einem hohen Maß (25 - 37 %) an Desilylierung. Es konnte in der Folge gezeigt werden, dass die desilylierten Peptidsäuren in Lösung erneut TIPS-geschützt werden können.

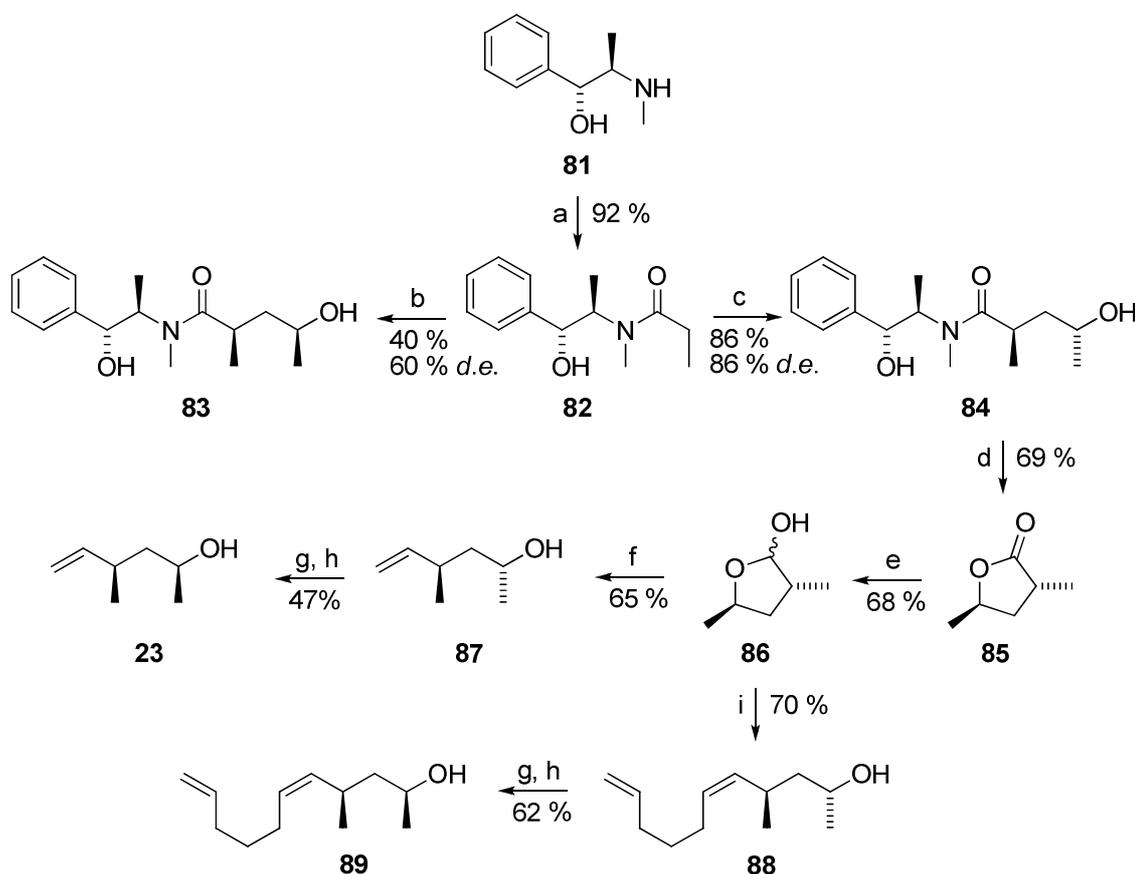


Schema 16: Resilylierung der peptidischen Säure **78** in Lösung (oben) und am polymeren Träger (unten): (a) TIPSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 ; (b) HCl, THF/MeOH/ H_2O .

Dazu wurde nach einer von Ghosh und Mitarbeitern veröffentlichten Methode beispielhaft Säure **78** in THF in Gegenwart der Base 2,6-Lutidin mit TIPSOTf an Phenol- und Säurefunktion silyliert und anschließend selektiv die Carboxylgruppe hydrolysiert (Schema 16).^[100] TIPS-geschützte peptidische Säure **32b** wurde in moderater Ausbeute erhalten. Dasselbe Peptid konnte außerdem erfolgreich an der festen Phase resilyliert werden, indem das Harz vor der Abspaltung für 2 h mit je 2.0 Äquivalenten 2,6-Lutidin und TIPSOTf in absolutem CH_2Cl_2 behandelt wurde. Hierdurch konnte der Entschütungsgrad von 36 % (aus Testabspaltung ermittelt) auf 5 % vermindert werden.

4.2.7 Synthese der Alkoholbausteine

Zur Synthese der Alkoholbausteine **29** wurde das von Myers und Mitarbeitern eingeführte Pseudoephedrinauxiliar verwendet.^[116] In guter Ausbeute wurde (*R,R*)-Pseudoephedrin (**81**) mit Propionsäureanhydrid acyliert (Schema 17). Das resultierende Amid **82** wurde in das entsprechende Lithiumenolat überführt und mit Propylenoxid als Elektrophil umgesetzt. Da die Alkylierung mit (*S*)-Propylenoxid in einem „mismatch“-Szenario einer diastereoselektiven Alkylierung (nach Diacetylierung des Diols) lediglich einen Diastereomerenüberschuss von 60 % im Alkylierungsprodukt **83** aufwies, wurde (*R*)-Propylenoxid als Elektrophil eingesetzt, wobei die Alkylierung einem „match“-Szenario folgte. Hier wurde Amid **84** mit einem guten Diastereomerenüberschuss von 86 % erhalten.



Schema 17: Synthese der Alkoholbausteine **23** und **89**: (a) Propionsäureanhydrid, NEt_3 ; CH_2Cl_2 ; (b) LDA, LiCl, (*S*)-Propylenoxid, THF; (c) LDA, LiCl, (*R*)-Propylenoxid, THF; (d) aq. H_2SO_4 in 1,4-Dioxan, 69 %; (e) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , 68 %; (f) Methyltriphenylphosphoniumiodid, *n*BuLi, THF; (g) *p*-Nitrobenzoesäure, PPh_3 , DIAD, THF, 69 % - 71 %; (h) NaOH, THF/MeOH/ H_2O , 68 % für **23**, 88 % für **89**; (i) 5-Hexenyltriphenylphosphoniumiodid, *n*BuLi, THF.

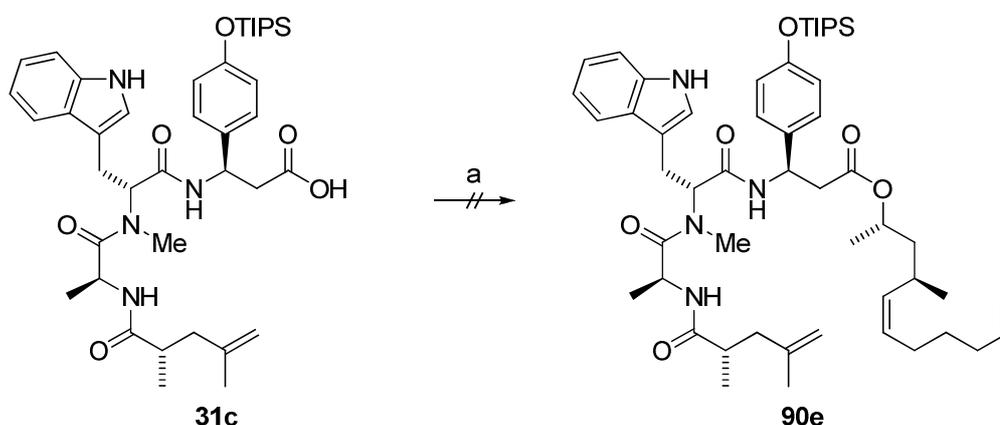
Anschließende saure Hydrolyse lieferte Laktone **85** in moderater Ausbeute. Die folgende Reduktion ergab in ebenfalls bescheidener Ausbeute das entsprechende Laktol **86**. Dieses wurde nun in einer Wittig-Olefinierung mit

Trimethylphosphoniumiodid zum Alkohol **87** umgesetzt. Der für die Relay-Ringschlussmetathese vorgesehene Alkoholbaustein **88** wurde durch Wittig-Reaktion von **86** mit 5-Hexenyltriphenylphosphoniumiodid erhalten.

Eine Mitsunobu-Stereoinversion der Alkohole **87** und **88** lieferte die entsprechenden Alkohole **23** und **89** mit der im Naturstoff enthaltenen absoluten Konfiguration.^[117]

4.2.8 Veresterung zum azyklischen Dien

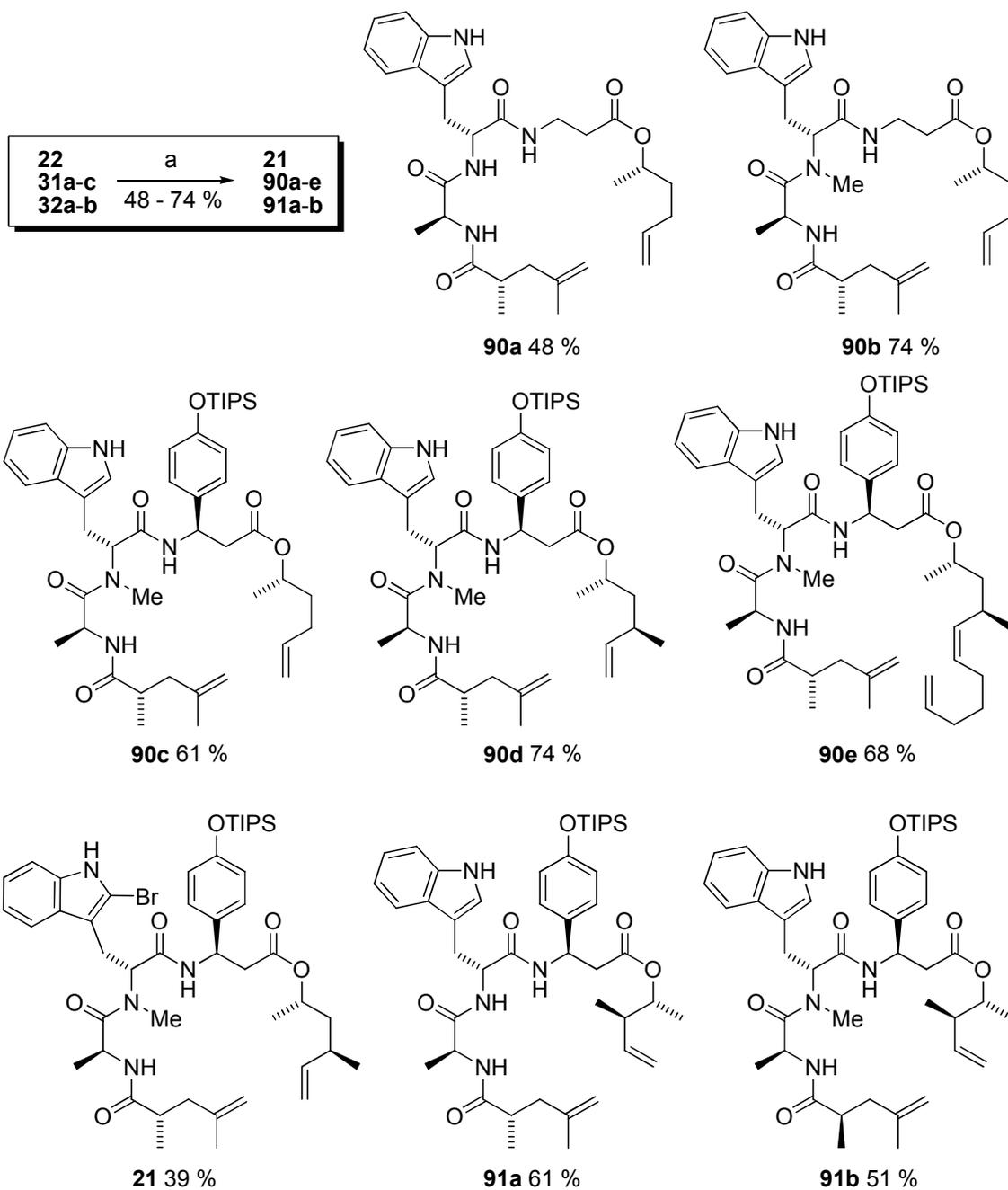
Zur Darstellung der Diene **21**, **90** und **91** war zunächst geplant, die Alkohole **87**, **88** nach der von Mitsunobu und Mitarbeitern entwickelten Methode zu verestern.^[118, 119]



Schema 18: Erfolgreicher Versuch der Darstellung von **90e** durch Mitsunobu-Veresterung: (a) 2 Äq. **88**, 2 Äq. DIAD, 2 Äq. PPh₃.

Diese führte für das Substrat **31c** jedoch nicht zum Erfolg, es konnte kein Umsatz zum Ester **90e** (mittels Dünnschichtchromatographie oder LC-MS) beobachtet werden (Schema 18).

Daher wurden die Alkohole **87** und **88**, wie in Kapitel 4.1.7 beschrieben, einer Stereoinversion unter Mitsunobu-Bedingungen unterzogen.^[117] Die resultierenden Bausteine **23** bzw. **89** wurden dann unter Steglich-Bedingungen mit den peptidischen Säuren **22**, **31** und **32** in moderaten bis guten Ausbeuten verestert (Schema 19).^[120]



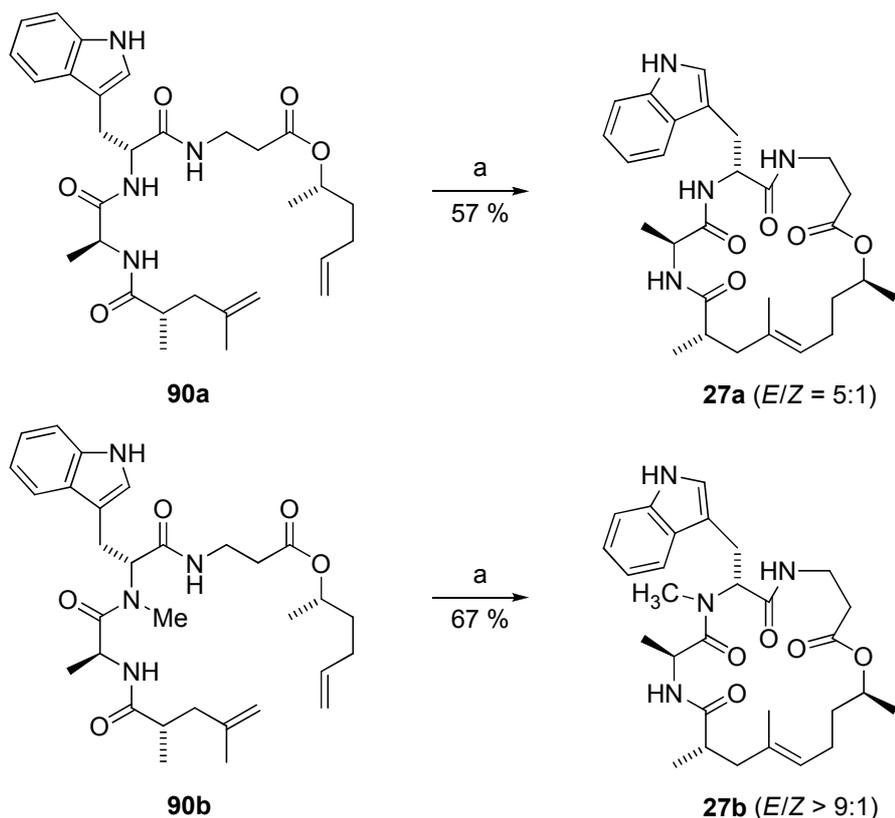
Schema 19: Darstellung der azyklischen Depsipeptide **90a-h** durch Steglich-Veresterung: (a) EDC-HCl, **23**, **30**, **89** oder (2*S*)-Hex-5-en-2-ol, DMAP, DIPEA, CH₂Cl₂/DMF.

Der zur Darstellung von Chondramidanaloga verwendete Alkoholbaustein (2*R*,3*R*)-3-Methylpent-4-en-2-ol (**30**) wurde von Dr. Tai-Shan Hu (Max-Planck-Institut Dortmund) nach der von Brown und Mitarbeitern beschriebenen enantioselektiven Crotylborierung von Acetaldehyd synthetisiert,^[121] (2*S*)-Hex-5-en-2-ol war kommerziell erhältlich.

4.2.9 Ringschlussmetathese und Desilylierung

4.2.9.1 Jasplakinolidanaloge mit β -Alanineinheit

Die Ringschlussmetathese der azyklischen Depsipeptide **90** lieferte hinsichtlich der Ausbeuten und der Doppelbindungsgeometrie durchaus unterschiedliche Ergebnisse. So konnten die Alaninanaloga **90a-b** mit ansprechenden Ausbeuten zyklisiert werden (Schema 20).



Schema 20: Ringschlussmetathese der azyklischen Depsipeptide **90a-b**: (a) Katalysator **B**, Toluol.

Die absolute Konfiguration der Doppelbindungsisomeren konnte durch ein NOESY-Experiment zugeordnet werden (Abbildung 20). So wurden für das Hauptisomer von **27b** dipolare Kopplungen zwischen dem olefinischen Proton an C5 des Polyketids zu den Methylenprotonen an C3 (Signale C und D in Abbildung 21, starke NOE) und C2 (B, stark) beobachtet. Schwächere Kopplungen durch den Raum konnten zu den Methylenprotonen an C7 (F und G, schwach) und der Methyleninheit des β -Alanins (A, mittelstark) ermittelt werden, kein NOE war zu der Methylgruppe an C4 detektierbar. Diese Ergebnisse weisen auf eine *E*-konfigurierte Doppelbindung des Polyketids hin.

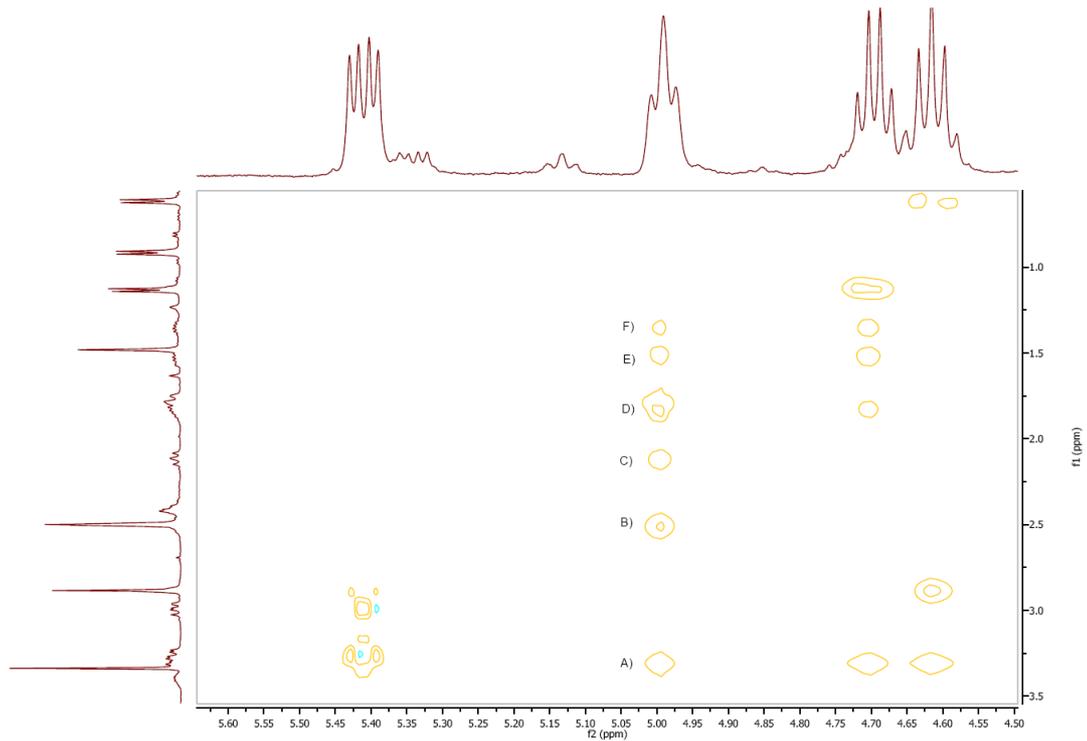


Abbildung 21: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum des Zyklopeptids **27b**. Die zum Olefinproton ($\delta = 4.98$ ppm) beobachteten Kreuzsignale A-F weisen auf eine *E*-Konfiguration dieses Isomers hin.

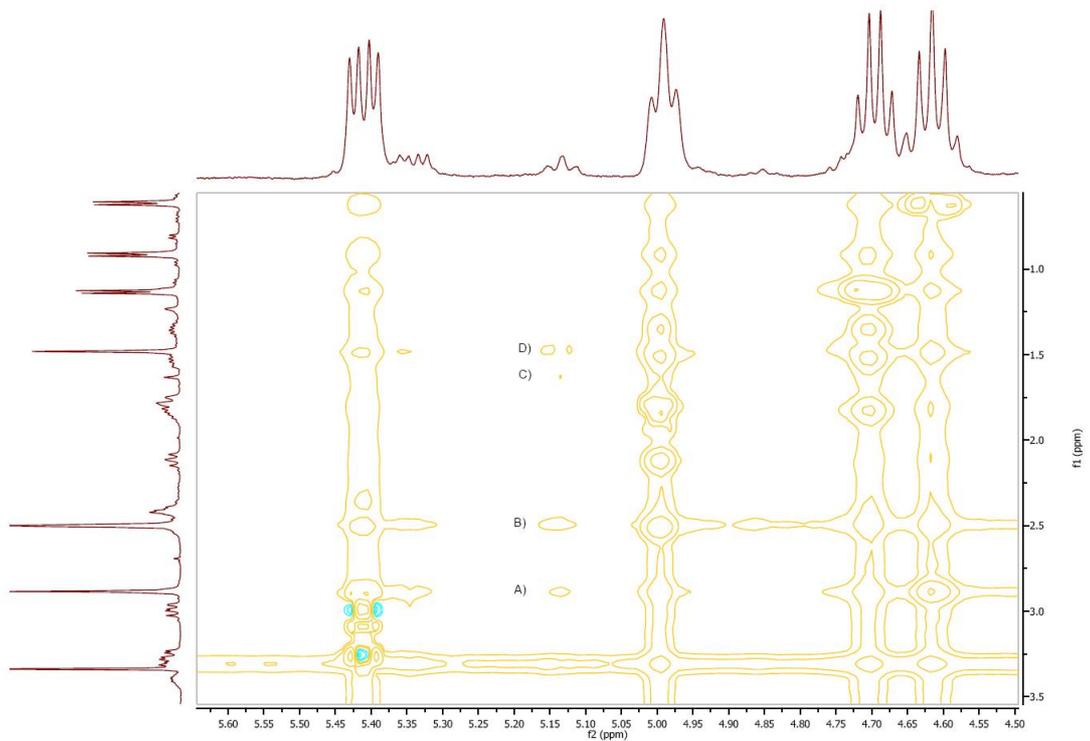
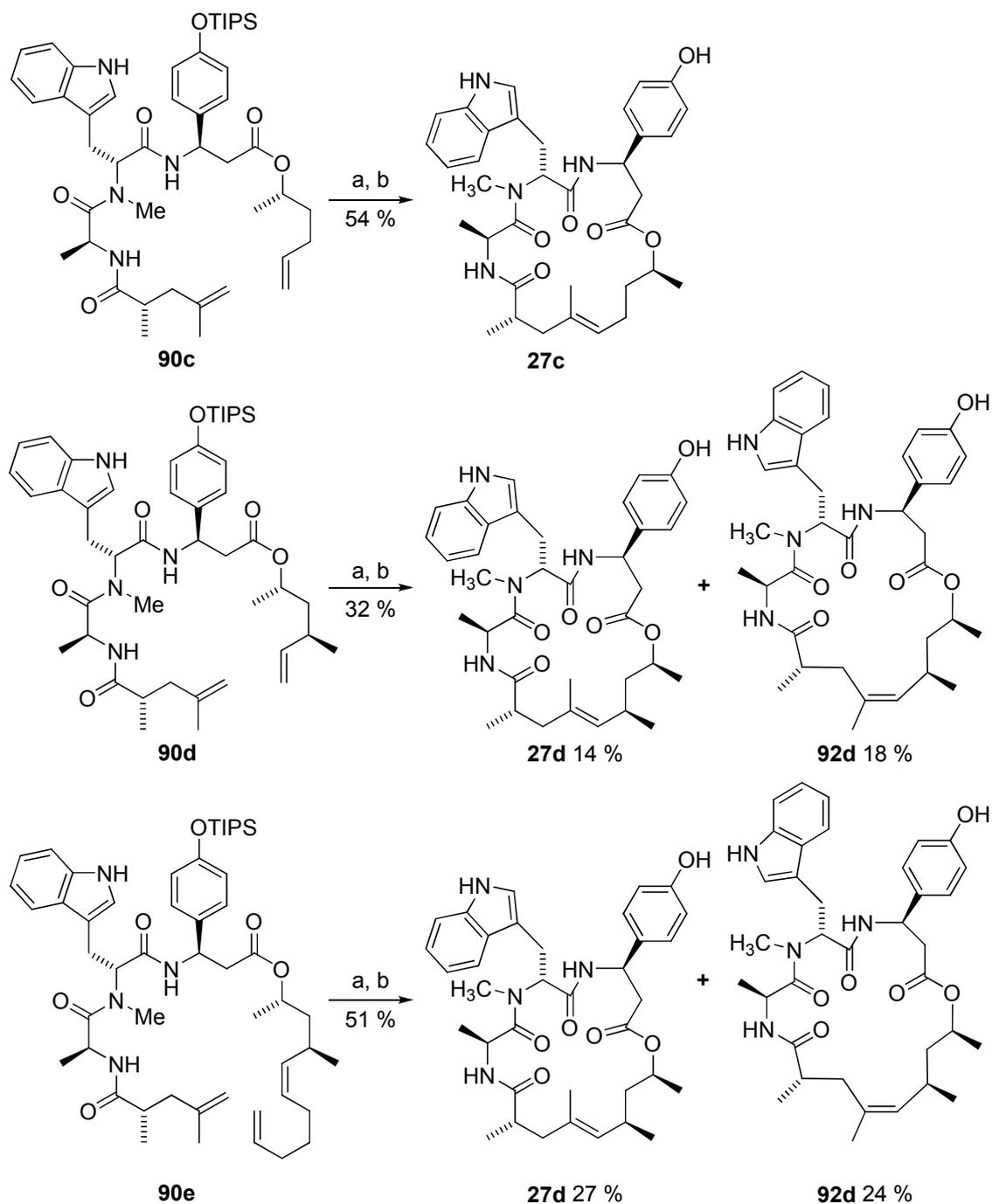


Abbildung 22: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum des Zyklopeptids **27b**. Die zum Olefinproton ($\delta = 5.13$ ppm) beobachteten Kreuzsignale A-D weisen auf eine *Z*-Konfiguration dieses Isomers hin.

Tatsächlich ist die für die *Z*-konfigurierte Verbindung erwartete dipolare Kopplung zwischen Olefinproton und benachbarter Methylgruppe für das Nebenisomer zu beobachten (Signal C, Abbildung 22).

4.2.9.2 Jasplakinolidanaloga mit β -Tyrosineinheit, Evaluierung der Relay-Ringschlussmetathese



Schema 21: Darstellung der Tyrosin-enthaltenden Jasplakinolidanaloga **27c-d** sowie *Z*-Isomer **92d** durch RCM (oben und Mitte) oder Relay-RCM (unten): (a) Katalysator **B**, Toluol, 41-68 % (b) TBAF, THF, 80 %.

Die β -Tyrosinanaloga **27c-d** und **92d** konnten analog durch Ringschlussmetathese zugänglich gemacht werden (Schema 21).

So konnte das Dien **90c** in sehr ansprechenderer Ausbeute zum entsprechenden Zyklodepsipeptid umgesetzt und mit TBAF desilyliert werden. Hierbei entstand ausschließlich ein Stereoisomer, welches durch ein NOESY-Experiment als *E*-Isomer **27c** charakterisiert wurde, da entsprechende dipolare Kopplungen zwischen Olefinproton und Protonen an C2, C3 und C7 zu beobachten waren, während kein NOE zur Methylgruppe an C4 sichtbar war (Abbildung 23, Signale A-C).

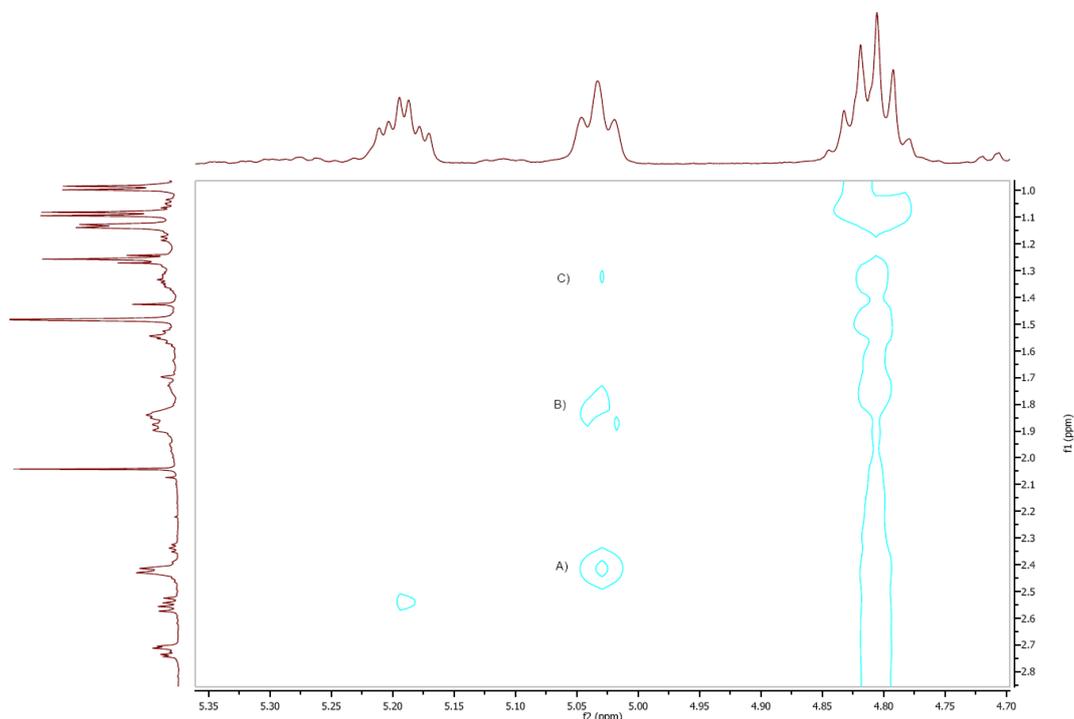


Abbildung 23: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum des Zyklodepsipeptids **27c**. Die zum Olefinproton ($\delta = 5.03$ ppm) beobachteten Kreuzsignale A-C weisen auf eine *E*-Konfiguration dieses Isomers hin.

Bei der Zyklisierung des Diens **90d** mittels RCM wurde in moderater Ausbeute ein Gemisch beider Doppelbindungsisomere erhalten, welches durch Kieselgelchromatographie aufgetrennt werden konnte. NOESY-Experimente dienen auch in diesem Fall zur Zuordnung der absoluten Konfiguration des Polyketids.

Die Relay-Ringschlussmetathese von **90e** lieferte das TIPS-geschützte Isomerengemisch in höherer Ausbeute (64 % vs. 41 %) und mit umgekehrten *E/Z*-Verhältnis (*E/Z* = 1.3 : 1) im Vergleich zur RCM (*E/Z* = 1 : 1.3). Eine Untersuchung des Rohgemisches der Reaktion mittels analytischer HPLC ergab

jedoch für beide Reaktionen eine vollständige Umsetzung des Startmaterials nach 20 min und identischen *E/Z*-Verhältnisse, weshalb die unterschiedlichen Ausbeuten nicht in direktem Zusammenhang mit der Metathesevariante gesehen werden sollten (Abbildung 24). Die Relay-Ringschlussmetathese selbst brachte also für die untersuchte Substratklasse keine signifikanten Verbesserungen, was bedeutet, dass für solche Diene die Bildung des Rutheniumcarbens **II** nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt des Ringschlusses ist (Schema 4). Stattdessen ist zu vermuten dass konformative Einschränkungen solcher Peptide die Zyklisierung behindern.

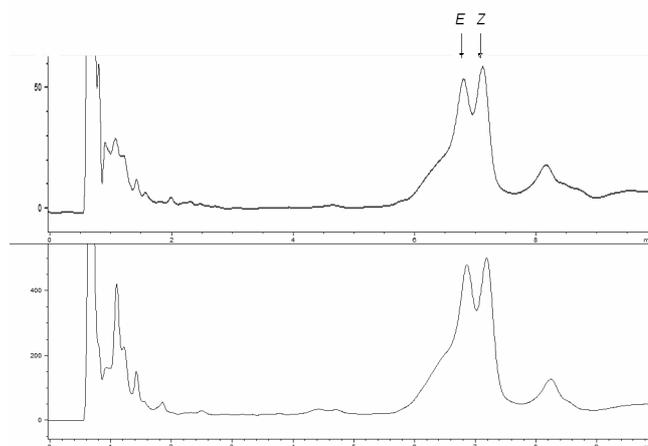
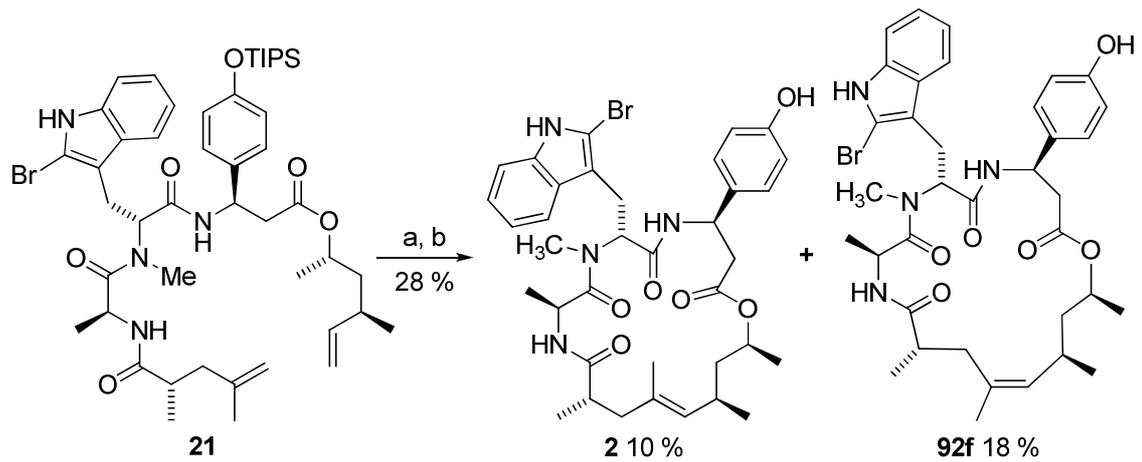


Abbildung 24: HPLC-Reaktionskontrolle der Ringschlussmetathese von **90d** (oben) bzw. der Relay-Ringschlussmetathese von **90e** (unten) nach 20 min.

Desilylierung mit Hilfe von TBAF lieferte in ordentlichen Ausbeuten Desbromjasplakinolid **27d** und sein *Z*-Isomer **92d**.

4.2.9.3 Totalsynthese von *E*- und *Z*-Jasplakinolid

Die Zyklisierung des Diens **21** lieferte in moderater Ausbeute ein Gemisch von TIPS-geschütztem Jasplakinolid und seinem *Z*-Isomer, welches sich weder durch Kieselgelchromatographie, noch durch präparative HPLC trennen ließ (Schema 22). Daher wurde das *E/Z*-Gemisch erst nach der Desilylierung mit TBAF mittels HPLC aufgetrennt, da auch hier eine chromatographische Auftrennung mit Kieselgel nicht möglich war. Der Naturstoff **2** und sein *Z*-Isomer **92f** wurden in niedriger Gesamtausbeute für RCM und Entschützung von 10 % bzw. 18 % erhalten.



Schema 22: Darstellung von **2** und **92f** durch RCM: (a) Katalysator **B**, Toluol, 42 % (b) TBAF, THF, 67 %.

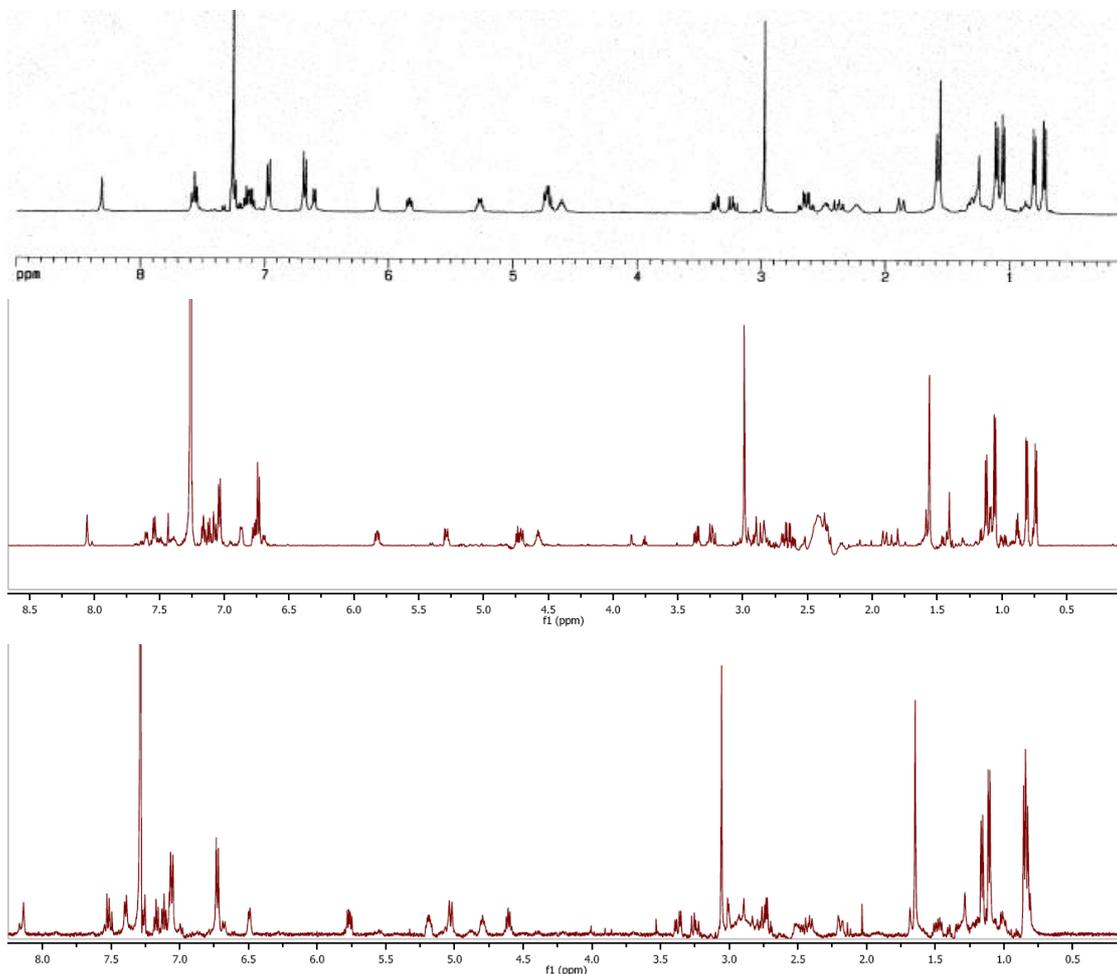


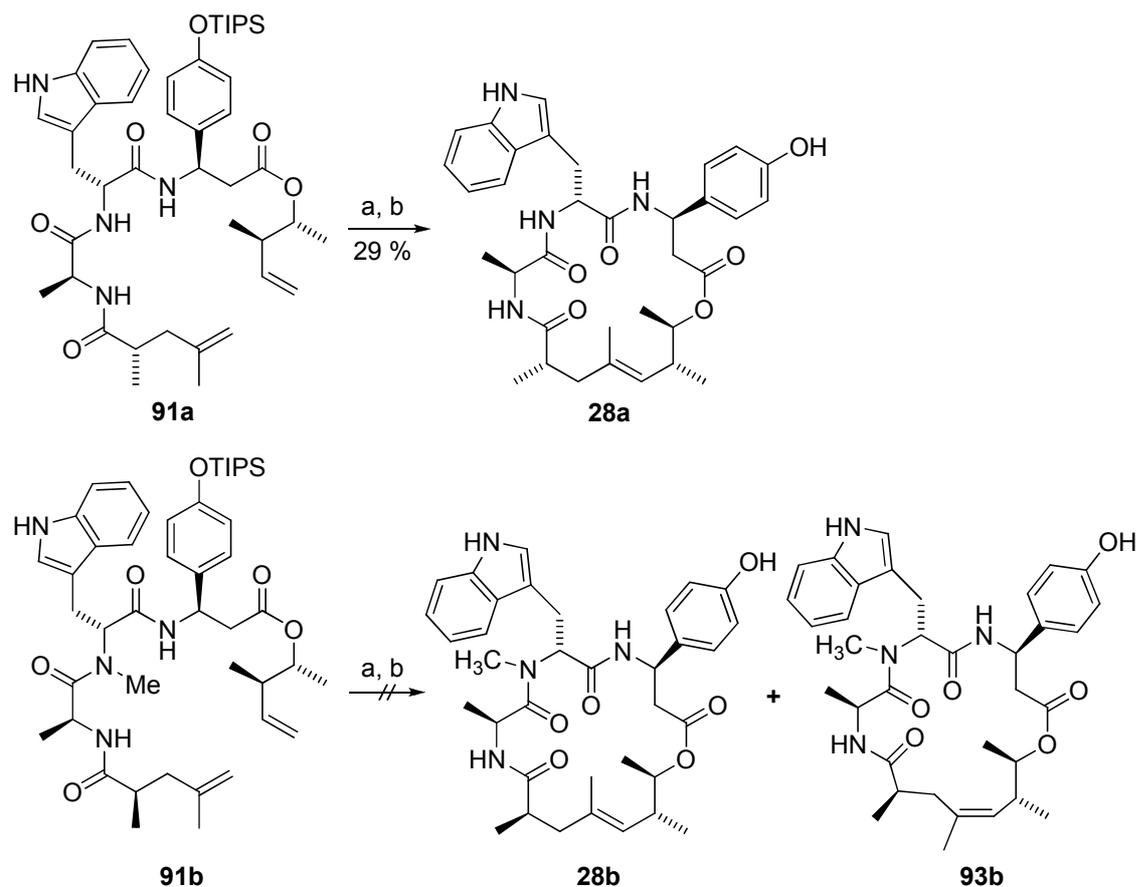
Abbildung 25: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von synthetischem Jaspilkinolid nach Ghosh *et al.* (oben), **2** (Mitte) und *Z*-Isomer **92f** (unten).

Ein Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von mit von Ghosh und Mitarbeitern dargestelltem Jaspilkinolid belegte die Identität der beiden Substanzen und die absolute Konfiguration der beiden Isomeren (Abbildung 25).

4.2.9.4 Synthese der Chondramidanaloga

Das azyklische Depsipeptid **91a** lieferte das gewünschte TIPS-geschützte Zyklodepsipeptid in ansprechender Ausbeute und mit hoher Stereoselektivität (Schema 23). Ein NOESY-Experiment ermöglichte es, die neu gebildete Doppelbindung als *E*-konfiguriert zu bestimmen.

Nach Desilylierung wurde Des-*N*-methylchondramid C (**28a**) in einer Ausbeute von 29 % für RCM und Desilylierung erhalten. Ein weiteres NOESY-Experiment (in DMSO als Lösungsmittel) sollte den Einfluss der fehlenden *N*-Methylierung auf die Amidkonformation untersuchen (Abbildung 25). Hierbei konnte ein starker NOE zwischen Tryptophan-Amidproton und Alanin- α -proton (Signal A) beobachtet werden, was auf eine *trans*-konfigurierte Doppelbindung hinwies. Zum Vergleich wurde auch Chondramid C untersucht. Hier konnte ein starke dipolare Kopplung zwischen *N*-Methyl-protonen und Alanin- α -proton (Abbildung 26, Signal A) ermittelt werden, was ebenfalls für eine *trans*-Amidbindung sprach.



Schema 23: Synthese von Des-*N*-methylchondramid C (**28a**), versuchte Darstellung der Chondramiddiastereomere **28b** und **93b**: (a) Katalysator **B**, Toluol, 42 % für **28a** (b) TBAF, THF, 68 % für **28a**.

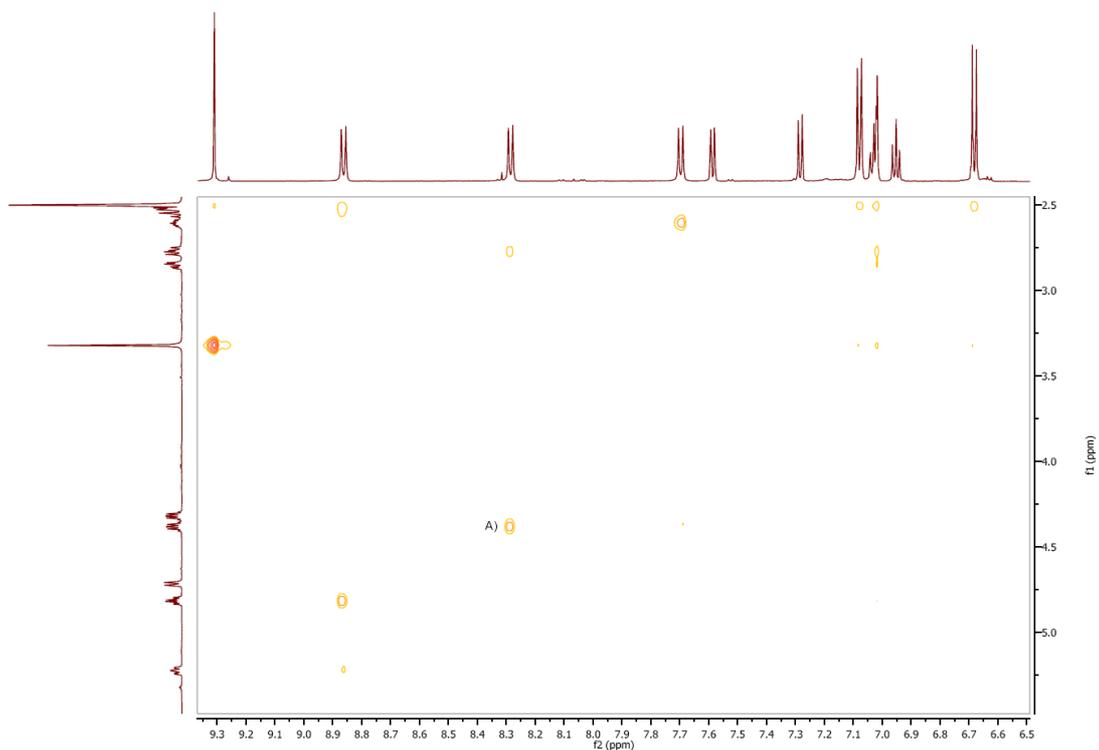


Abbildung 25: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum des Zyklopeptids **28a**. Das zum Amid-Proton des Tryptophans ($\delta = 8.29$ ppm) beobachtete Kreuzsignal A weist auf eine *trans*-Konfiguration des Amids hin.

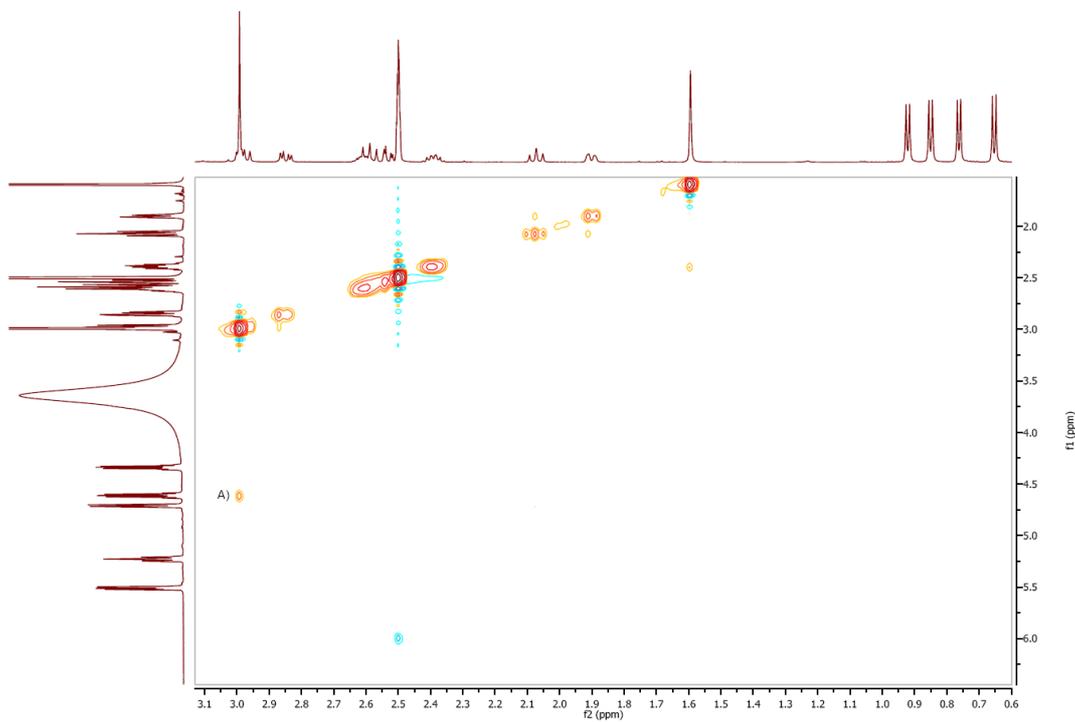
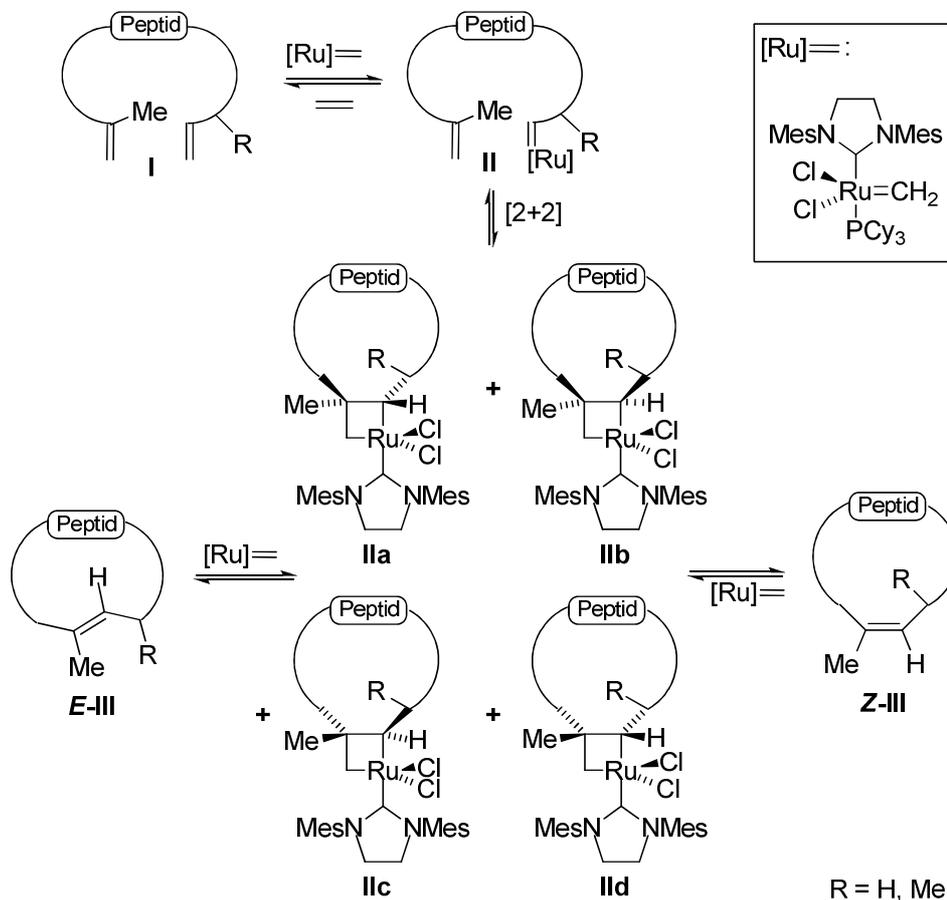


Abbildung 26: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Chondramid C. Das zu den *N*-Methylprotonen des Tryptophans ($\delta = 3.00$ ppm) beobachtete Kreuzsignal A weist auf eine *trans*-Konfiguration des Amids hin.

Weniger erfolgreich stellte sich die Synthese der Chondramiddiastereomeren **28b** bzw. **93b** dar: Mit der üblichen Katalysatorbeladung von 25 mol-% konnte nur eine geringe Umsetzung des Diens **91b** erreicht werden. Durch sukzessive

Erhöhung (3 Zugaben á 25 mol-%) der Katalysatorbeladung auf 75 mol-%, wurde zwar eine vollständige Umsetzung des Ausgangsmaterials erreicht, eine Isolierung von Produkten aus dem komplexen Rohgemisch der Reaktion war jedoch nicht erfolgreich.



Schema 24: RCM-Reaktionspfade zur Erklärung der substratabhängigen Stereoselektivität der Jasplakinolidanaloga.

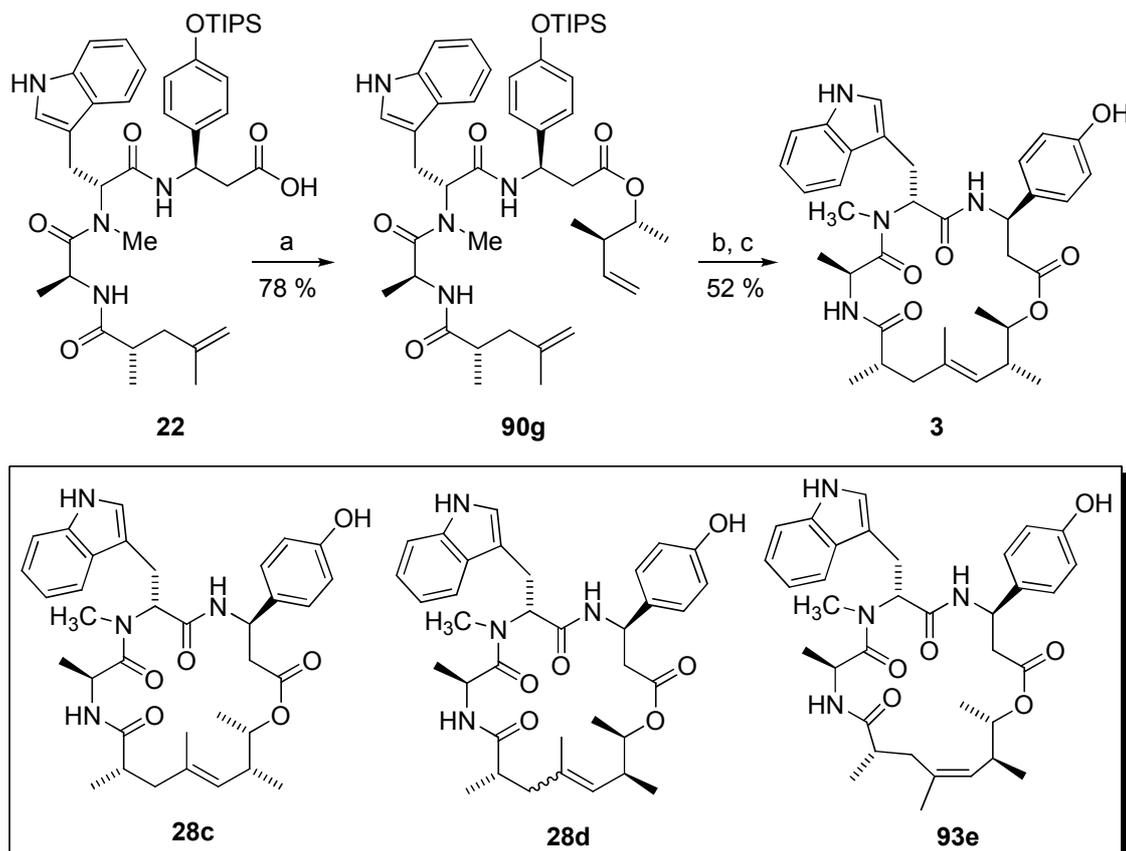
Somit lieferte die RCM für Diene, die aus einem Methallylrest sowie einem terminalem, frei zugänglichem Olefin zusammengesetzt waren, mit hoher Präferenz die *E*-konfigurierten Produkte, während die Kombination aus methallylischem Olefin und terminalem Alken mit α -ständiger Methylgruppe für alle Jasplakinolidderivate in *E/Z*-Gemischen resultierte. De-*N*-methylchondramid C wurde allerdings als reines *E*-Isomer erhalten, das C2-Epimer zu Chondramid C ließ sich nicht durch RCM darstellen.

Während also für die Jasplakinolidanaloga ohne Methylgruppe an C6 fast ausschließlich *anti*-konfigurierte Ruthenazyklobutan-Zwischenstufen **IIa** und/oder **IIc** durch [2+2]-Zykloaddition gebildet wurden, die nach (produktiver) Zykloreversion die *E*-Olefine lieferten, kam es bei den Dienen mit Methylgruppe an C6 zu der Bildung von *syn*- und *anti*-Ruthenazyklobutanen und damit zu *E/Z*-

Produktgemischen (Schema 24). Bei der erfolglosen Metathese des Chondramidvorläufers **91b** musste die [2+2]-Zykloaddition entweder für das Dien (**I**) oder Rutheniumcarben **II** wegen ungünstiger Molekülkonformationen gehindert gewesen sein.

4.2.10 Synthetische Folgearbeiten zu Chondramid

Der in 4.1.1 dargestellten und in 4.1.2 validierten Synthesestrategie folgend, gelang Dr. Tai-Shan Hu die Totalsynthese von Chondramid C und Diastereomeren **28c-d** sowie **93e** (Schema 25).^[122] Der Vergleich mit einer natürlichen Probe des Naturstoffs ermöglichte die eindeutige Aufklärung der vorher unbekanntes absoluten Konfiguration. Zu dieser Arbeit wurde durch die Darstellung der peptidischen Säure **22** beigetragen.



Schema 25: Totalsynthese von Chondramid C (**3**) und Diastereomeren **28c-d** und **93e**: (a) **30**, EDC·HCl, DMAP, DIPEA, CH₂Cl₂/DMF (b) Katalysator **B**, Toluol (c) TBAF, THF.

4.3 Zelluläre Untersuchungen

In einer Phänotyp-basierten Testreihe sollten in Zusammenarbeit mit den Diplom-Biologen Sascha Menninger und Bernhard Ellinger (beide Max-Planck-Institut Dortmund) die synthetisierten Analoga von Jasplakinolid (**2**) und Chondramid C (**3**) auf ihre Fähigkeit, an das Aktinzytoskelett zu binden, untersucht werden. Hierzu wurden Nierenepithelzellen der grünen afrikanischen Meerkatze (BSC-1-Zellen) ausgewählt, da diese Zellen sehr groß und daher für die Ganzzellmikroskopie besonders gut geeignet sind.

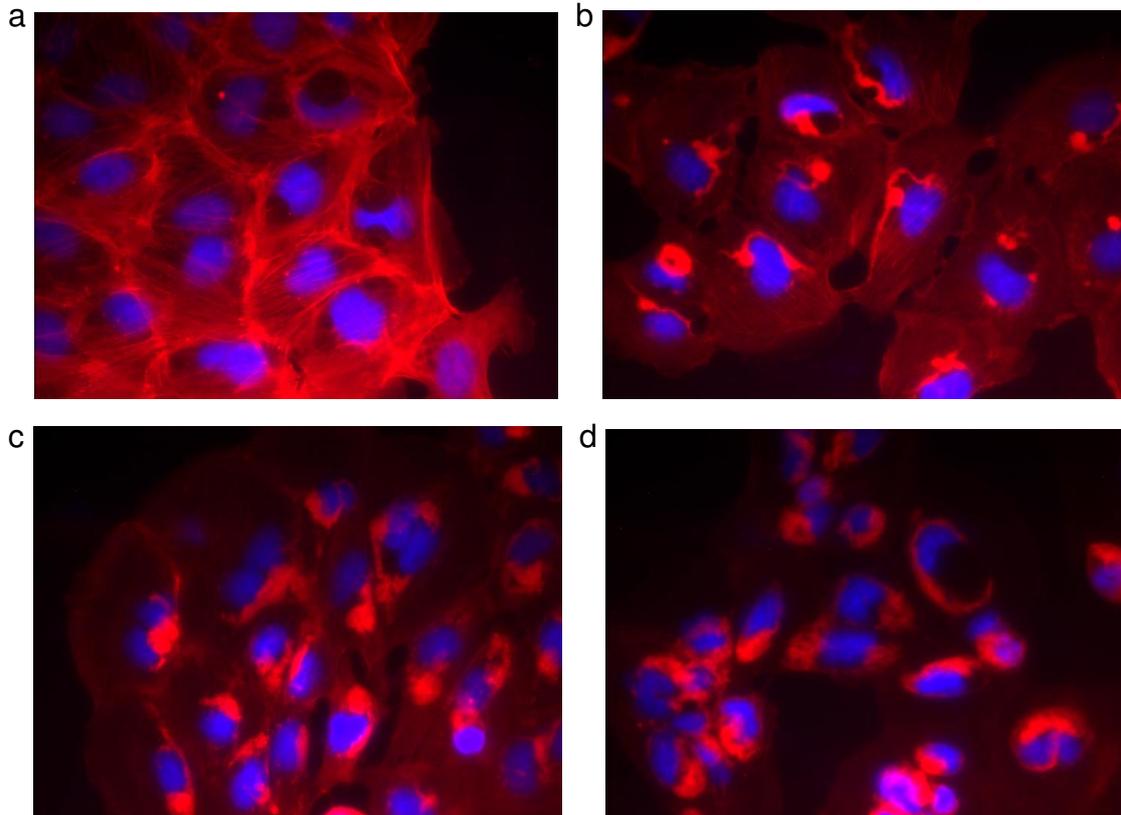
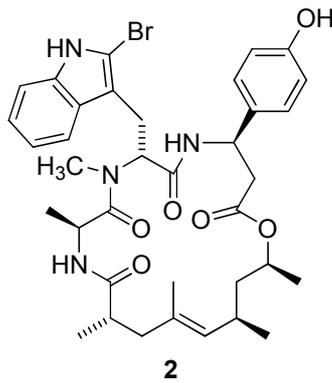


Abbildung 27: oben: Struktur von Jasplakinolid (**2**); unten: Zellphänotyp-Testreihe mit BSC-1-Zellen. Das Aktinzytoskelett ist mit TRITC-Phalloidin (rot), die DNA mit DAPI (blau) eingefärbt. Dargestellt sind Zellen ohne **2** (a, DMSO-Kontrolle) bzw. mit Konzentrationen von 25 nM (b), 50 nM (c) und 100 nM (d).

Nach Inkubation mit den in DMSO gelösten Zyklodepsipeptiden wurden die Zellen fixiert und das Aktinzytoskelett mit Fluorophor-gebundenem Phalloidin (TRITC-Phalloidin) angefärbt. Zur Visualisierung der Zellkerne wurde der fluoreszierende DNA-Interkalator DAPI verwendet und Bilder der Zellen unter dem Fluoreszenzmikroskop mit 40-facher Vergrößerung aufgenommen.

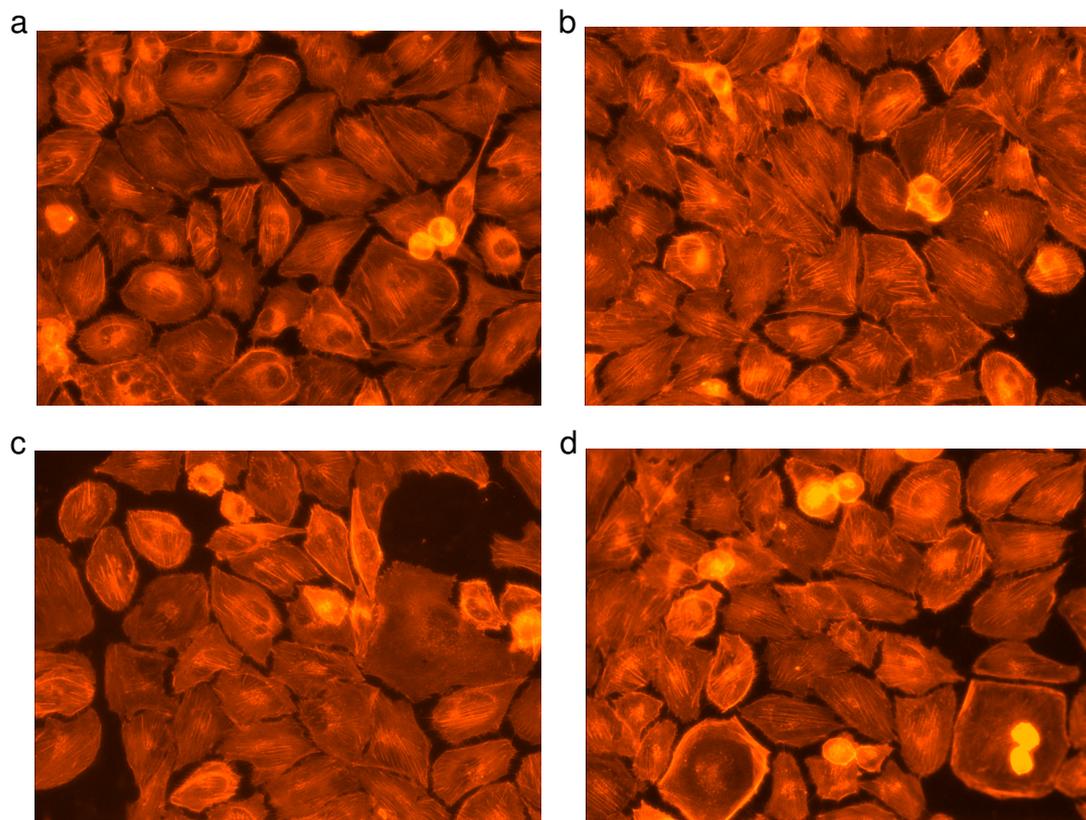
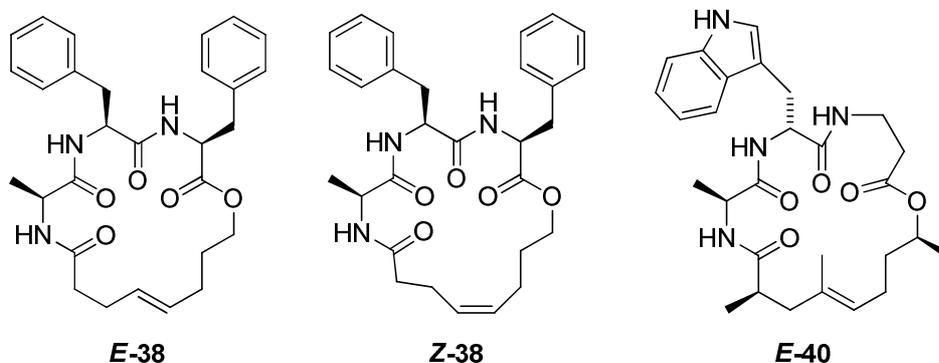


Abbildung 28: oben: Strukturen der Jasplakinolidanaloga **E-38**, **Z-38** und **E-40**; unten: Zellphänotyp-Testreihe mit BSC-1-Zellen. Das Aktinzytoskelett ist mit TRITC-Phalloidin (rot) eingefärbt. Dargestellt sind Zellen ohne Zusatz von Zyklodepsipeptiden (a, DMSO-Kontrolle) bzw. behandelt mit Jasplakinolidanaloga **E-38** (b), **Z-38** (c) und **E-40** (d), jeweils in Konzentrationen von 30 μM .

Als Negativkontrolle diente DMSO (Abbildung 27). Deutlich zu erkennen sind hier die für ein intaktes Zytoskelett charakteristischen Aktinstressfasern, die sich über die ganze Zelle spannen. Daneben sind auch höhere Aktinkonzentrationen an den Zellrändern und besonders den Kontaktflächen benachbarter Zellen sichtbar.

Im Gegensatz dazu zeigten BSC-1-Zellen nach Behandlung mit geringen Konzentrationen von **2** (25 nM; Abbildung 27b) deutliche Aktinverklumpungen und eine signifikante Reduktion der Stressfasern. Höhere Konzentrationen ($c \geq 100$ nM) führten zum vollständigen Verschwinden der Stressfasern, insgesamt niedrigerer zellulärer F-Aktinkonzentration und zum Schrumpfen und Abrunden der ganzen Zelle. Zudem konnten Zellen mit mehreren Nuklei beobachtet werden.

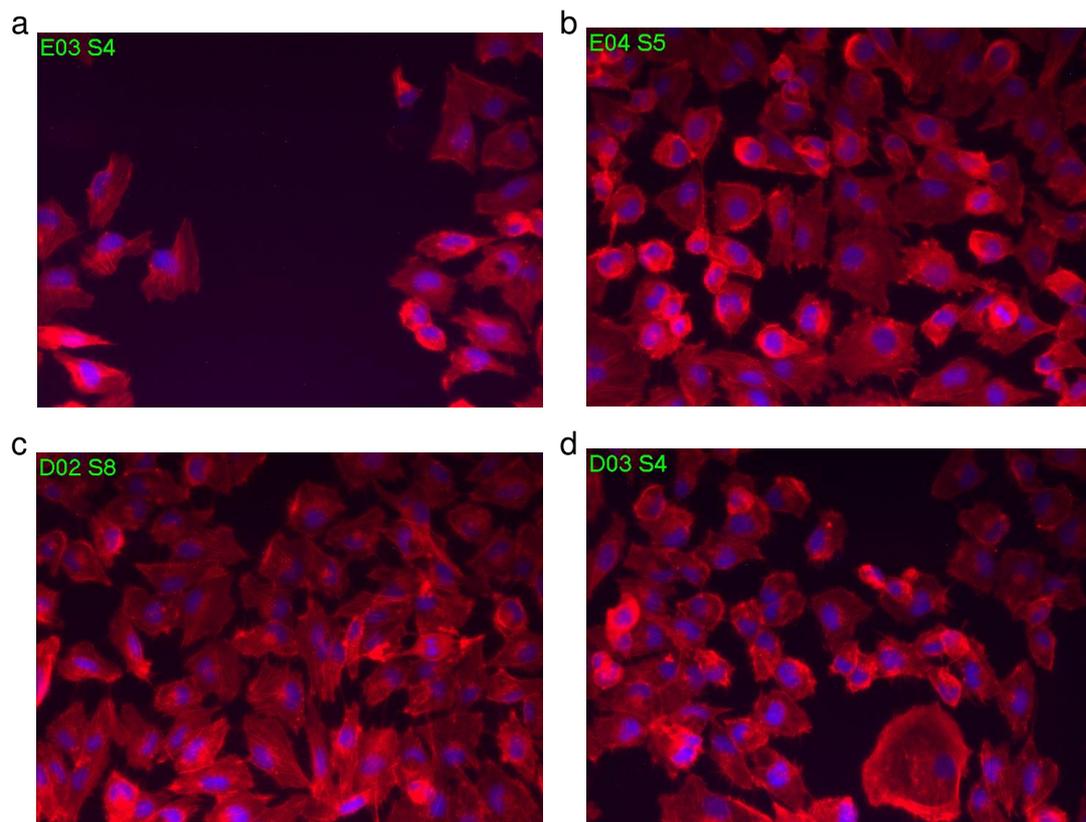
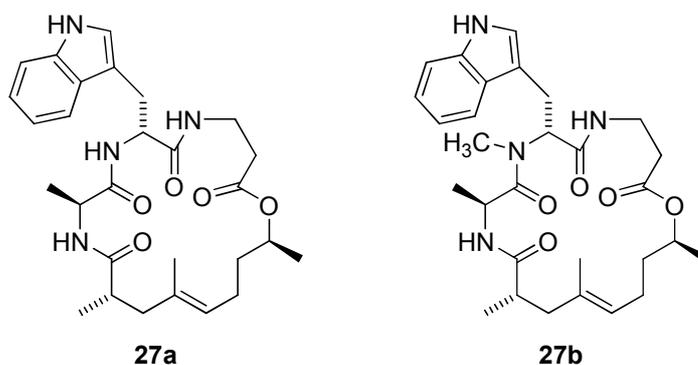


Abbildung 29: oben: Strukturen der Jaspalakinolidanaloge **27a** und **27b**; unten: Zellphänotyp-Testreihe mit BSC-1-Zellen. Das Aktinzytoskelett ist mit TRITC-Phalloidin (rot), die DNA mit DAPI (blau) eingefärbt. Dargestellt sind Zellen nach Behandlung mit Zyklodepsipeptid **27a** (a: 100 nM; b: 250 nM) bzw. **27b** (c: 50 nM; d: 100 nM).

Die Jaspalakinolidanaloge **E-38**, **Z-38** und **E-40** zeigten selbst bei einer Konzentration von $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ keine erkennbaren Veränderung des

Aktinphänotyps (Abbildung 28), scheinen also nicht in der Lage zu sein, F-Aktin entscheidend zu stabilisieren. Zu erklären ist dieses durch die großen strukturellen Unterschiede zum Naturstoff: Verbindungen **E-38** und **Z-38** haben mit der Ala-Phe-Phe-Sequenz einen deutlich von **2** abweichenden Peptidteil, außerdem ist die Polyketideinheit zu flexibel und trägt ein Z-konfiguriertes Olefin (**Z-38**).

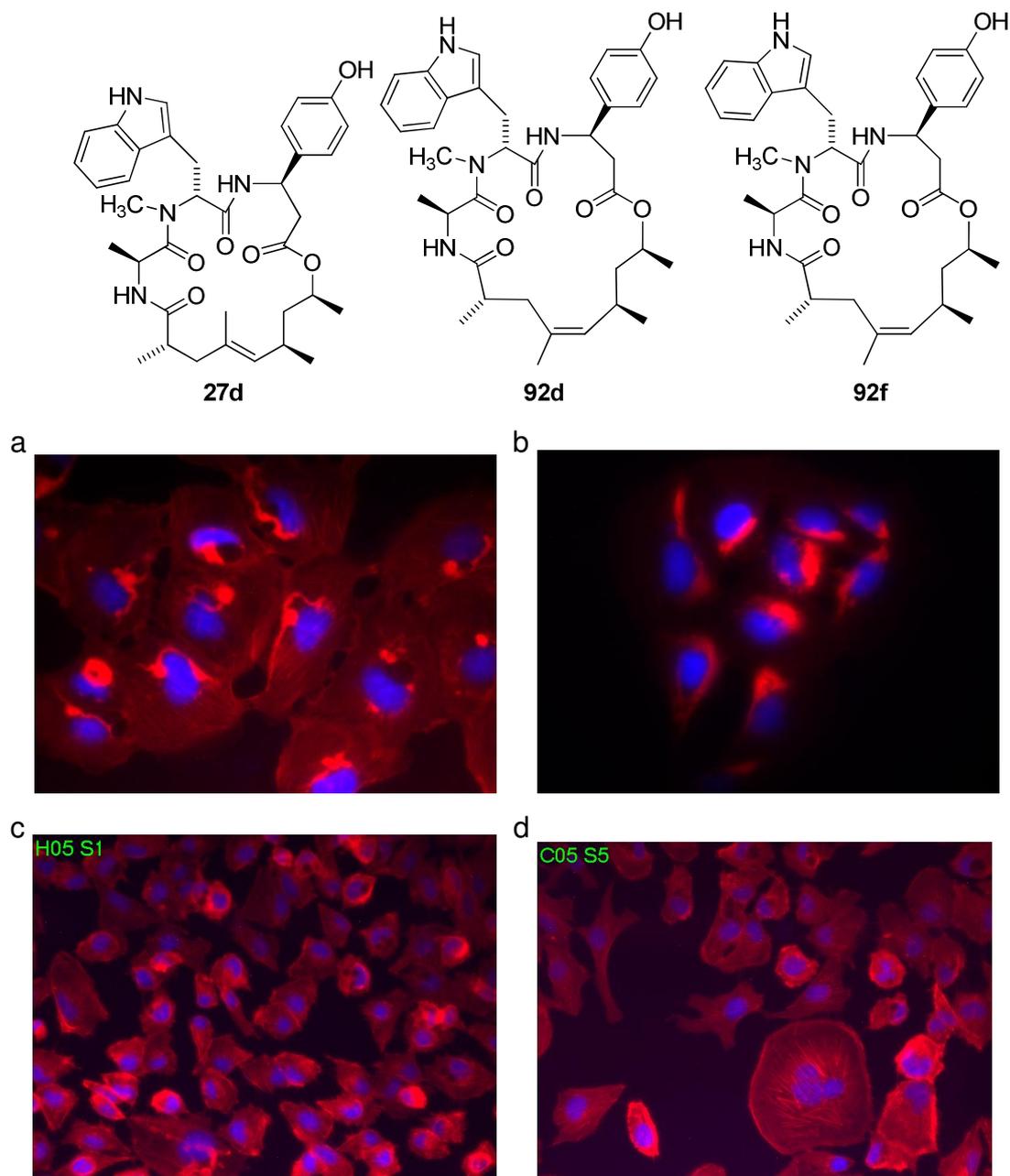


Abbildung 30: oben: Strukturen der Jasplakinolidanaloga **27d**, **92d** und **92f**; unten: Zellphänotyp-Testreihe mit BSC-1-Zellen. Das Aktinzytoskelett ist mit TRITC-Phalloidin (rot), die DNA mit DAPI (blau) eingefärbt. Dargestellt sind Zellen nach Behandlung mit **2** (a; 25 nM), **27d** (b; 25 nM), **92f** (c; 500 nM) und **92d** (d; 500 nM).

Zyklodepsipeptid **E-40** ähnelt **2** hinsichtlich des Peptidteils zwar (Ala-D-Trp- β Ala-Sequenz), hat aber an C2 im Polyketidteil eine Methylgruppe mit unnatürlicher (*R*)-Konfiguration.

Im Gegensatz dazu zeigte Verbindung **27a**, welche das C2-Epimer zu **E-40** darstellt, bei einer Konzentration von 250 nM den für **2** bei 25 nM beschriebenen Phänotyp, das *N*-methylierte Derivat **27b** bereits bei 100 nM (Abbildung 29). Der Phänotyp war allerdings nicht ganz so stark ausgeprägt wie bei **2**, da immer noch einige Zellen nicht betroffen schienen. Das bedeutet, dass ein Wechsel der Stereochemie an C2 im Polyketid einen großen Einfluss auf die biologische Aktivität hat, was auf unterschiedliche Polyketidkonformationen zurückzuführen ist. Außerdem weist die unerwartet hohe Aktivität der Analoga ohne Tyrosin auf einen niedrigen Beitrag der Phenoleinheit von Jasplakinolid bzw. Chondramid zur Bindung an F-Aktin hin, was den in 2.3 beschriebenen Vermutungen anderer Arbeitsgruppen widerspricht. Hieraus lässt sich schließen, dass die in 4.1 postulierte Wasserstoffbrücke zu T202 einer Aktinuntereinheit keinen größeren Beitrag zur Aktinbindung liefert.

Bei dem Vergleich der Aktivität Jasplakinolids mit der des nicht-bromierten Analogons **27d** ließen sich kaum Unterschiede feststellen (Abbildung 30). Beide Zyklodepsipeptide zeigen den bereits beschriebenen Phänotyp bei Konzentrationen von 25 nmol·L⁻¹. Die entsprechenden *Z*-konfigurierten Verbindungen **92d** und **92f** zeigen eine ähnlich stark ausgeprägte Aktinpolymerisation erst bei deutlich höherer Konzentration (jeweils *c* = 500 nM). Während somit der Einfluss der Bromierung auf die Aktivität als unbedeutend eingestuft werden kann, hat die Doppelbindungskonfiguration signifikanten Einfluss auf die biologische Aktivität dieser Substanzklasse. Das entspricht insoweit den Erwartungen, als dass eine Änderung der Doppelbindungskonfiguration eine deutliche Konformationsänderung in Polyketid- und Peptidteil nach sich ziehen sollte. Schwächungen der F-Aktin-Bindung sollten erwartungsgemäß die Folge solcher dramatischen strukturellen Veränderungen sein.

Im Vergleich mit **2** zeigte Analogon **27c**, welches am C6-Atom des Polyketidteils nicht methyliert ist, eine nur leicht reduzierte biologische Aktivität, beide induzierten einen ähnlichen Phänotyp bei einer Konzentration von 50 bzw. 100 nmol·L⁻¹ (Abbildung 31, a und b). Hieraus lässt sich folgern, dass der für

Allylspannung und *syn*-Pentan-Wechselwirkungen postulierte Beitrag zur Steuerung der Molekülkonformation,^[83] der bei diesem Derivat minimiert sein sollten, eher klein ist.

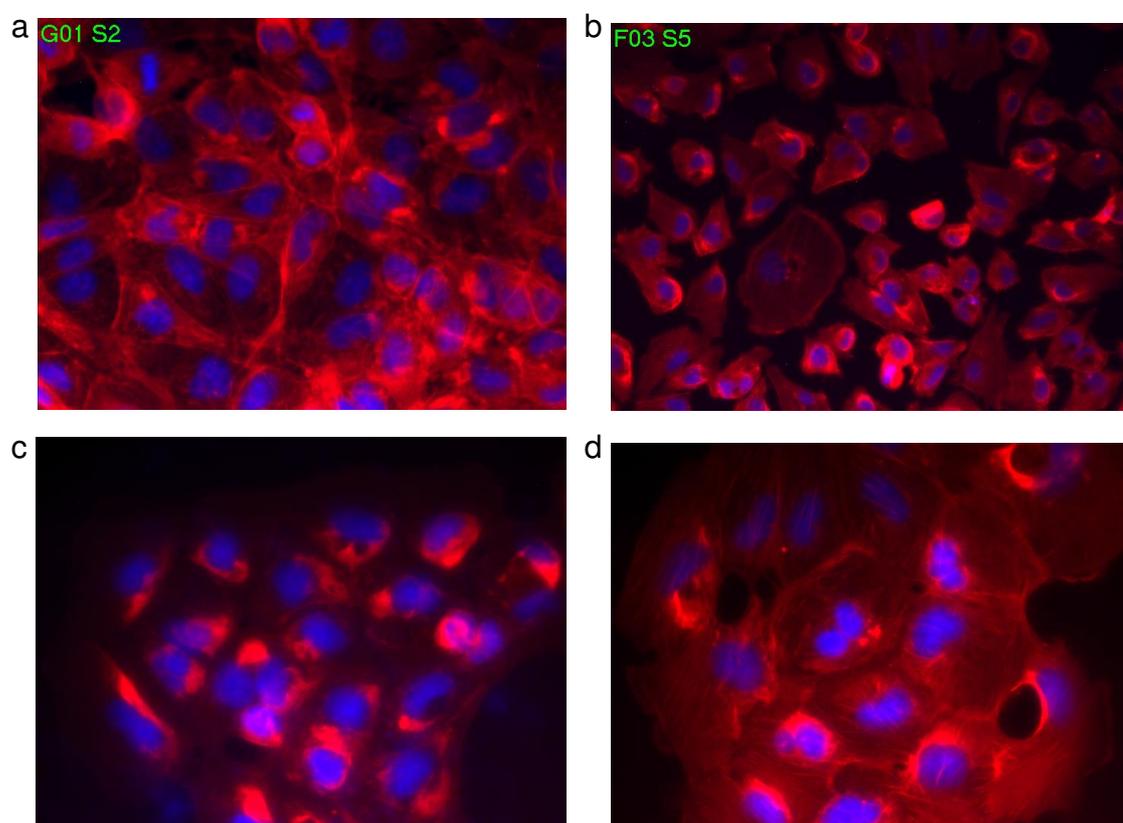
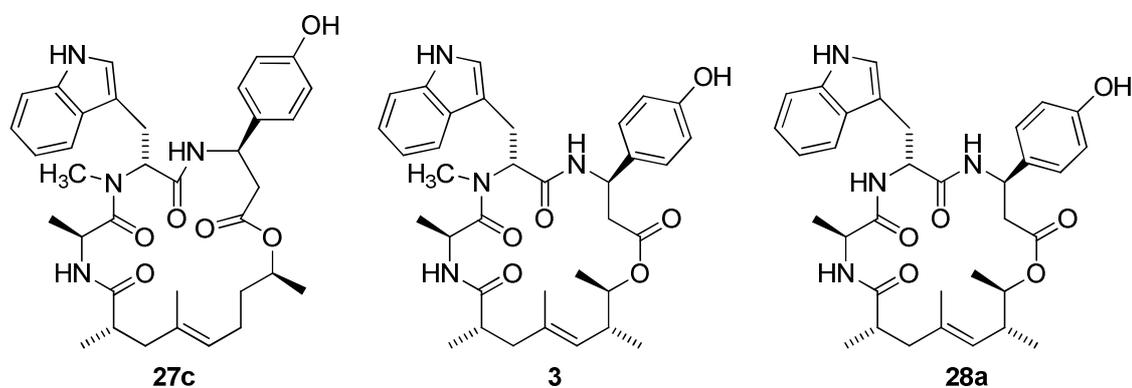


Abbildung 31: oben: Strukturen von Jasplakinolidanaloga **27c**, **92d** und **92f**; unten: Zellphänotyp-Testreihe mit BSC-1-Zellen. Das Aktinzytoskelett ist mit TRITC-Phalloidin (rot), die DNA mit DAPI (blau) eingefärbt. Dargestellt sind Zellen nach Behandlung mit **2** (a: 50 nM), **27c** (b: 100 nM), **3** (c: 50 nM) und **28a** (d: 190 nM).

Einen Phänotyp, wie ihn **2** bei $25 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ zeigte, wies Chondramid C (**3**) bei einer leicht höheren Konzentration (50 nM) auf (Abbildung 31, c und d). Chondramidanalogon **28b**, welches nicht *N*-methyliert ist, zeigte einen solchen Effekt bei einer Konzentration von $190 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Die Abschwächung der biologischen Aktivität kann verschiedene Ursachen haben. Ein NOESY-Experiment in deuteriertem DMSO zeigte für **3** und sein Demethylanalogon die

gleiche Bevorzugung der *trans*-Amidkonfiguration am Tryptophan (siehe 4.1.9.4). Hier könnte man eine größere konformative Flexibilität des nicht-methylierten Peptids für den Aktivitätsverlust verantwortlich machen. Denkbar wäre allerdings auch eine schlechtere Zellgängigkeit, da sich die Molekülpolarität aufgrund der fehlenden *N*-Methylierung erhöht.

Tabelle 4: Ergebnisse der Phänotypuntersuchung an BSC-1-Zellen. Es sind die Mindestkonzentrationen für signifikante Aktinstabilisierung angegeben.

Verbindung	Konzentration ^[a]	Verbindung	Konzentration ^[a]
Jasplakinolid	25 nM	27a	250 nM
27d	25 nM	92f	500 nM
Chondramid C	50 nM	92d	500 nM
27c	100 nM	E-38	-
27b	100 nM	E-38	-
28a	190 nM	E-40	-

[a] Konzentration, bei welcher der beobachtete Phänotyp dem Jasplakinolids bei $c = 25$ nM entspricht

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die durchgeführten strukturellen Veränderungen an Jasplakinolid die biologische Aktivität unterschiedlich stark beeinflussten: Während ein Verzicht auf die Halogenierung der Indoleinheit keine Verminderung der Aktin-stabilisierenden Eigenschaften bedeutete, führte das Weglassen der Phenolgruppe zur leichten Verminderung der biologischen Aktivität (Tabelle 4, Abbildung 32).

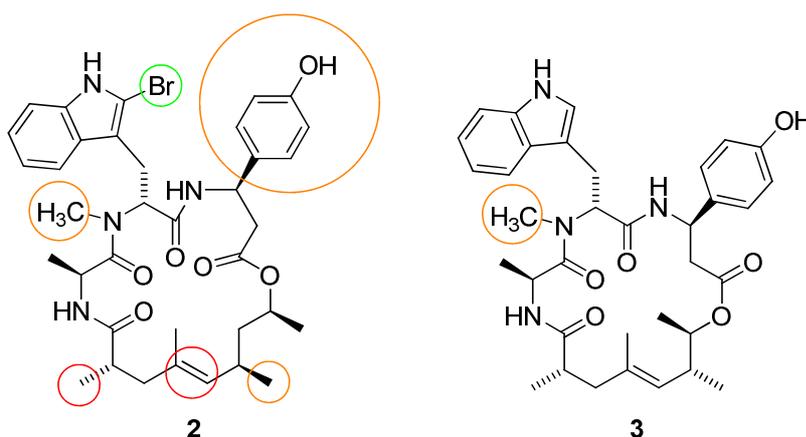


Abbildung 32: Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Jasplakinolid (2) und Chondramid C (3). Farblich umkreist sind die Positionen, an denen strukturelle Veränderungen vorgenommen wurden, die Farben kennzeichnen ob mit der Variation die Aktin-bindenden Eigenschaften gar nicht (grün), leicht (gelb) oder stark (rot) abgeschwächt werden.

Da die Aktinbindung durch Weglassen der Methylgruppe an der C6-Position des Polyketids wenig beeinflusst wurde, scheinen die diskutierten konformativen

Einflüsse (Allylspannung, *syn*-Pentan-Wechselwirkungen) eine untergeordnete Rolle bei der konformativen Fixierung des Peptids zu spielen.

Beide Verbindungen mit unnatürlicher *Z*-konfigurierter Doppelbindung zeigten im Vergleich zu den entsprechenden *E*-Olefinen eine deutlich schwächere Aktivität.

Ein Wechsel der absoluten Konfiguration an C2 des Polypropionats führte im gezeigten Fall sogar zu dem Verlust der biologischen Aktivität. Ein Verzicht auf die *N*-Methylierung brachte für sowohl für ein Jasplakinolidanalogon, als auch für Chondramid C einen leichten Rückgang der biologischen Aktivität.

5. Zusammenfassung

Aktin, das häufigste Protein in eukaryotischen Zellen, regelt elementare Zellfunktionen wie die Aufrechterhaltung der Zellform, die Zellbeweglichkeit oder die Zellteilung. Es wird davon ausgegangen, dass eine fehlerhafte Regulierung der Aktinpolymerisation in der Zelle an der Entstehung von Krebs beteiligt ist. Die Aktinfilament-stabilisierenden Naturstoffe Jasplakinolid (**2**) und Chondramid C (**3**) haben neben Zytotoxizität gegen Krebszellen auch Wirkung gegen Malaria Parasiten, Pilze, Insekten und Pflanzen gezeigt.

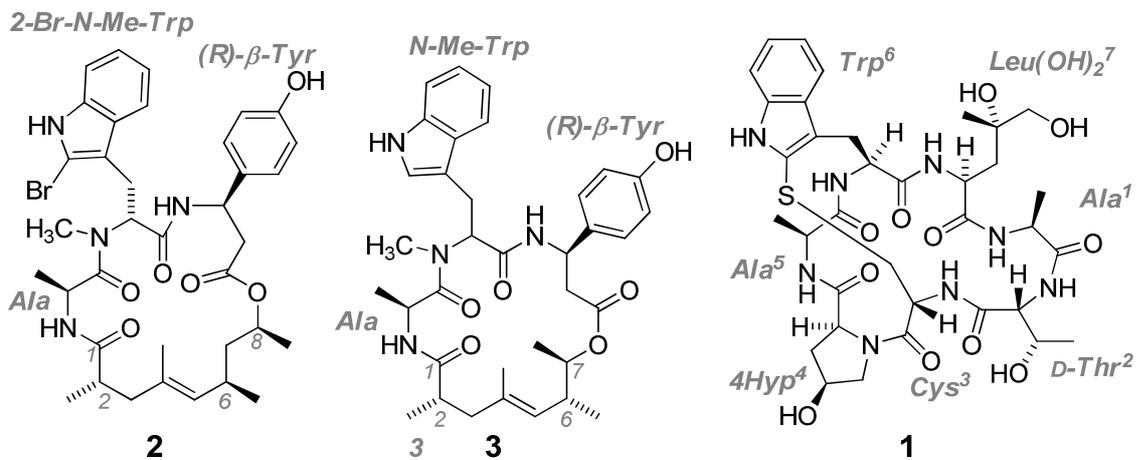


Abbildung 33: Strukturen von Jasplakinolid (**2**), Chondramid C (**3**) und Phalloidin (**1**).

Um ein tiefergehendes Verständnis der Funktion des Aktinzytoskeletts zu erlangen, war das Ziel dieser Arbeit, auf molekularer Ebene nähere Einsichten über den noch unbekanntem Bindemodus von **2** und **3** an F-Aktin zu erlangen. Dabei sollte die Frage beantwortet werden, wie der Polypropionatteil zur Aktinbindung beiträgt.

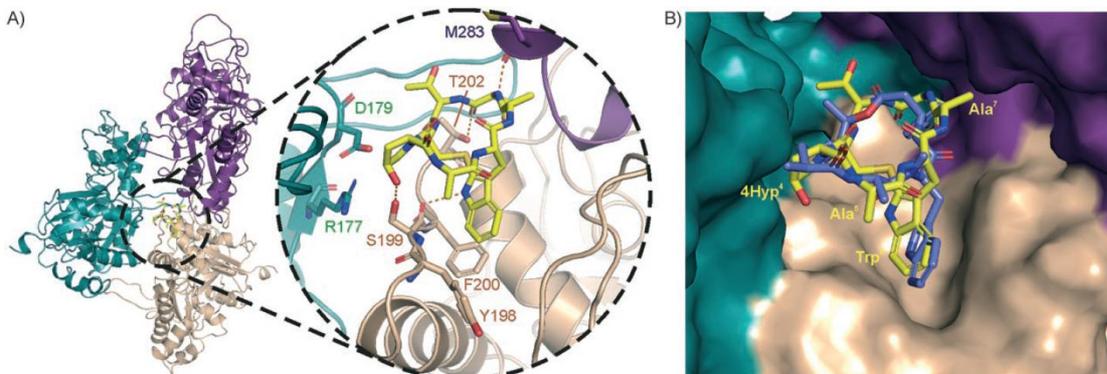
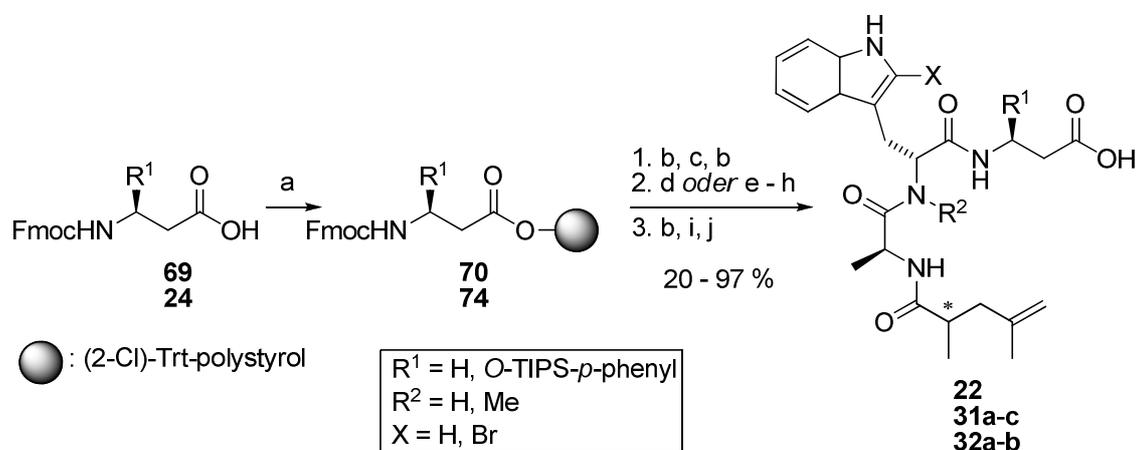


Abbildung 34: (A) Bindemodus von Phalloidin (gelb) an Aktin, mögliche H-Brücken sind gestrichelt rot dargestellt; (B) Überlagerung der Dockinglösungen von Phalloidin (gelb) und Chondramid C (blau).

Zunächst wurde ein existierende Pharmakophor-Modell für das bizyklische Heptapeptid Phalloidin (**1**), welches dieselbe Bindestelle wie Jasplakinolid und Chondramid in Aktin besetzt, durch Docking an ein Aktintrimer verfeinert (Abbildung 34, A). Das Docken der energieminierten Struktur von Chondramid C in die Aktinbindestelle lieferte unter denselben Bedingungen einen Bindemodus, bei dem die Indolgruppe analog zu Phalloidin angeordnet ist (Abbildung 34, B). Das gezeigte Bindemodell unterstützte die Hypothese, dass der Peptidteil an die Aktinuntereinheiten bindet und das Polypropionat zur konformativen Steuerung des Peptidteils dient.

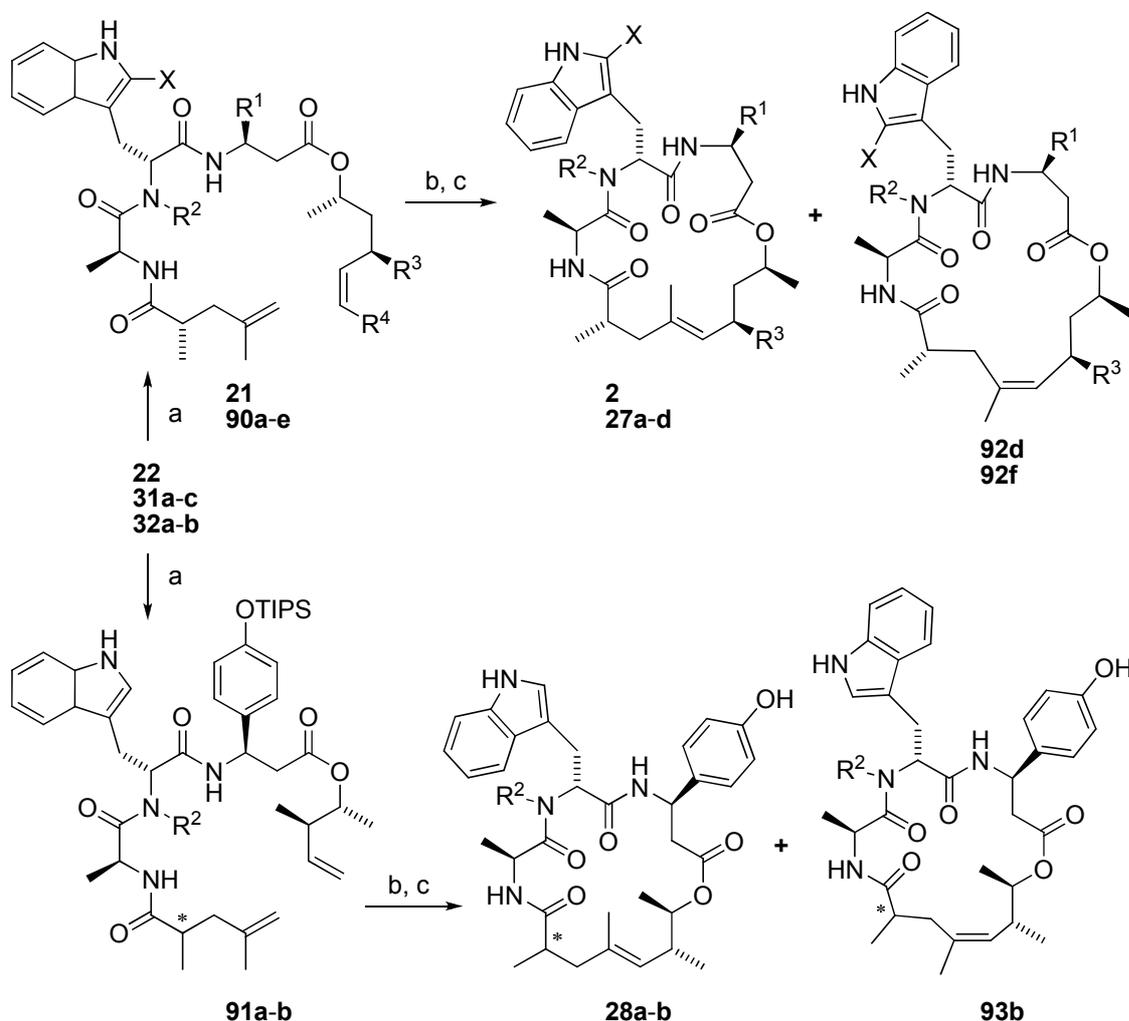
Um dies natürlichen Werkzeuge zur Konformationssteuerung näher zu verstehen und um die zur Aktinbindung beitragenden Peptidkomponenten zu charakterisieren, sollte nun eine fokussierte Naturstoffbibliothek um die Naturstoffe Jasplakinolid und Chondramid C synthetisiert werden. Hierzu war die Entwicklung einer flexiblen und modularen Synthesestrategie notwendig, damit eine möglichst große Zahl von Variationen hinsichtlich der Peptidzusammensetzung und der Gestaltung des Polyketidteils synthetisch zugänglich sein würden.



Schema 26: Festphasensynthese von **22**, **31** und **32**: (a) Cl-(2-Cl)-Trt-polystyrol, DIPEA, CH₂Cl₂, 0.65 - 0.88 mmol·g⁻¹; (b) DBU, Piperidin, NMP; (c) Fmoc-D-tryptophan *oder* Abrin **60** *oder* Bromabrin **25**, DIC, HOBT, NMP; (d) Fmoc-Ala-OH, DIC, HOBT, NMP *oder* Fmoc-Ala-OH, HATU, HOAt, DIPEA, NMP; (e) *o*-NBSCl, DIPEA, NMP; (f) DBU, Me₂SO₄, NMP; (g) HSCH₂CH₂OH, NMP; (h) Fmoc-Ala-OH, HATU, HOAt, DIPEA, NMP; (i) **26** *oder* **68**, DIC, HOBT, DIPEA, NMP; (j) HFIP/CH₂Cl₂.

Es wurde daher eine Synthesestrategie entwickelt, die auf Festphasenpeptidsynthese und Ringschlussmetathese beruht. Die nach der Fmoc-Strategie benötigten Bausteine wurden durch Abänderungen existierender Methoden dargestellt. Diese Bausteine wurden dann mittels Festphasenpeptidsynthese zu peptidischen Säuren gekuppelt und vom

polymeren Träger abgespalten (Schema 26). Man erhielt durch Variation der Bausteine ein Ensemble von sechs verschiedenen Peptiden. Diese wurden in einer Steglich-Veresterung mit olefinischen Alkoholen zu acht Dienen umgesetzt (Schema 27, Tabelle 5).



Schema 27: Totalsynthese von Jasplakinolid und Analoga durch Veresterung der Säure xx, gefolgt von RCM und Desilylierung: (a) EDC·HCl, **23** / **30** / **89** / (2*S*)-Hex-5-en-2-ol, DMAP, DIPEA, CH₂Cl₂/DMF, 48 - 74 %; (b) Katalysator **B**, Toluol, 0 - 67 % (c) TBAF, THF, 67 - 80 % (nur für Phenolverbindungen).

Die nachfolgende Ringschlussmetathese (und Desilylierung für die Tyrosinverbindungen) lieferte die entsprechenden Zyklodepsipeptide mit stark Substrat-abhängigen *E/Z*-Verhältnissen (Tabelle 5). Während Diene, die aus einem Methallylrest sowie einem terminalem, frei zugänglichem Olefin zusammengesetzt waren, mit hoher Präferenz die *E*-konfigurierten Produkte ergaben, führte eine Kombination aus methallylischem Olefin und terminalem Alken mit α -ständiger Methylgruppe für alle Jasplakinolidderivate zu *E/Z*-Gemischen. Die starke Substratabhängigkeit war auf unterschiedliche Dienkonformationen zurückzuführen, die zu unterschiedlichen Verhältnissen von

syn und *anti*-Ruthenazyklobutanzwischenstufen führten. Diese wiederum bestimmten das Verhältnis der Metatheseprodukte.

Tabelle 5: Darstellung der Ester **21**, **90** und **91** sowie der Zyklodepsipeptide **2**, **27**, **28** und **92** durch nachfolgende RCM.

Säure	Alk.	Ester	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X	E ^[a]	Z ^[a]
31a	W ^[b]	90a (48 %)	H	H	H	H	H	27a (57 %) ^[c]	
31b	W ^[b]	90b (74 %)	H	Me	H	H	H	27b (67 %) ^[d]	
31c	W ^[b]	90c (61 %)	Y ^[e]	Me	H	H	H	27c (54 %)	-
31c	23	90d (74 %)	Y ^[e]	Me	Me	H	H	27d (14 %)	92d (18 %)
31c	89	90e (68 %)	Y ^[e]	Me	Me	Z ^[f]	H	27d (27 %)	92d (24 %)
22	23	21 (39 %)	Y ^[e]	Me	Me	H	Br	2 (10 %)	92f (18 %)
32a	30	91a (61 %)	Y ^[e]	H	-	-	H	28a (29 %)	-
32b	30	91b (51 %)	Y ^[e]	Me	-	-	H	-	-

[a] Isolierter Anteil des Isomers nach RCM (und Desilylierung für Phenolverbindungen), Ausbeute in Klammern;

[b] W: (2S)-Hex-5-en-2-ol; [c] E/Z-Verhältnis 5:1; [d] E/Z-Verhältnis > 9:1; [e] Y: O-TIPS-p-phenyl; [f] Z: Pent-4-en-1-yl.

Die dargestellten Substanzen wurden in einer phänotypischen Testreihe an BSC-1-Zellen auf ihre Fähigkeit zur Stabilisierung des Aktinzytoskeletts untersucht. Mit Jasplakinolid traten bereits bei einer Konzentration von 25 nmol·L⁻¹ signifikante Veränderungen, wie das Fehlen von Stressfasern und das Auftreten von Aktinverklumpungen, auf. Für die anderen Zyklodepsipeptide wurden diejenigen Konzentrationen gesucht, bei denen der auftretende Phänotyp dem für Jasplakinolid (bei c = 25 nM) beobachteten ähnelte. Dabei beeinflussten die strukturellen Veränderungen an Jasplakinolid und Chondramid C die Aktinbindenden Eigenschaften unterschiedlich stark (Tabelle 4), so dass sich dann Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ableiten ließen (Abbildung 32).

Tabelle 4: Ergebnisse der Phänotypuntersuchung an BSC-1-Zellen. Es sind die Mindestkonzentrationen für signifikante Aktinstabilisierung angegeben.

Verbindung	Konzentration ^[a]	Verbindung	Konzentration ^[a]
Jasplakinolid	25 nM	27a	250 nM
27d	25 nM	92f	500 nM
Chondramid C	50 nM	92d	500 nM
27c	100 nM	E-38	-
27b	100 nM	E-38	-
28a	190 nM	E-40	-

[a] Konzentration, bei welcher der beobachtete Phänotyp dem Jasplakinolids bei c = 25 nM entspricht

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine fokussierte Substanzbibliothek um die Zyklodepsipeptide Jasplakinolid und Chondramid C synthetisiert und auf ihre Aktin-stabilisierenden Eigenschaften hin untersucht wurde. Es wurden in der Folge Struktur-Wirkungs-Beziehungen für diese Naturstoffklasse abgeleitet. Dabei zeigte sich unter Anderem, dass im Gegensatz zu Literatur-beschriebenen Aussagen die Tyrosineinheit für eine starke Aktinbindung nicht notwendig ist. Außerdem konnten die für die Steuerung der Molekülkonformation diskutierten Allylspannungen und *syn*-Pentan-Wechselwirkungen postuliert werden, als klein eingestuft werden. Die vorliegende Arbeit sollte daher die zukünftige Entwicklung Aktin-bindender Substanzen leiten.

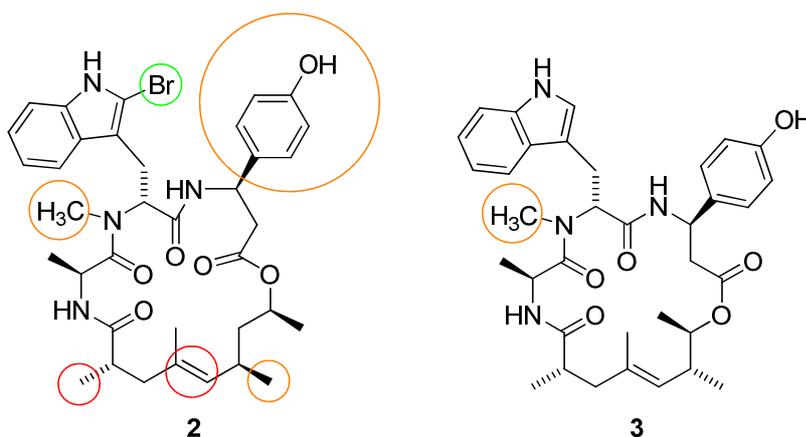


Abbildung 32: Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Jasplakinolid (**2**) und Chondramid C (**3**). Farblich umkreist sind die Positionen, an denen strukturelle Veränderungen vorgenommen wurden, die Farben kennzeichnen ob mit der Variation die Aktin-bindenden Eigenschaften gar nicht (grün), leicht (gelb) oder stark (rot) abgeschwächt werden.

Um den vorgeschlagenen Bindemodus an F-Aktin abschließend beurteilen zu können, sind verschiedene Folgeexperimente möglich. So sollten Dockingstudien

mit einer kürzlich von Oda *et al.* veröffentlichten F-Aktin-Struktur höherer Auflösung (3.3 Å radial bzw. 5.6 Å äquatorial) wiederholt werden, um die vorgeschlagenen Wechselwirkungen mit Aktin zu bestätigen und gegebenenfalls genauer zu beschreiben. Ferner sollten zusätzliche Variationen im Peptidteil durchgeführt werden, um eine noch genauere Einsicht in die Struktur-Wirkungs-Beziehungen dieser Substanzklasse zu erhalten.

Kürzlich wurde von der Bindung von Phalloidin an den Arp2/3-Komplex berichtet.^[123] Hier sollte experimentell überprüft werden, ob Jasplakinolid auch diese Phalloidin-Bindestelle besetzen kann. Möglicherweise bieten hier Jasplakinolidanaloga die Möglichkeit, selektiv an das Aktinfilament oder den Arp2/3-Komplex zu binden. Verbindungen, die nur den Arp2/3-Komplex und damit die Verzweigung von Aktin, die bei der Bildung von Lamellipodien für die Zellwanderung (insbesondere auch die Metastase) eine große Rolle spielt, inhibieren, hätten wahrscheinlich ein vollkommen anderes Zytotoxizitätsprofil als die bekannten Inhibitoren des Aktinfilaments.

6. Experimenteller Teil

6.1 Dockingstudien

6.1.1 Konformationsrechnungen

Da das verwendete Dockingprogramm GOLD zyklische Verbindungen nur als starr betrachten kann, mussten vor dem Docking ein Ensemble energieminimierter Konformationen generiert werden. Die Konformationen von [Ala]⁷-Phalloidin und Chondramid C wurden mit MOE^[91] (Version 2007.09) unter Verwendung des stochastischen Suchalgorithmus berechnet. Als Kraftfeld wurde das MMFF94x-Feld mit implementiertem GB/SA- (Generalized Born Surface Area-) Solvatisierungsmodell ($\epsilon = 80$) verwendet.^[124] Die Konformationssuche wurde iterativ für 100000 Rechenschritte mit Hilfe des LMOD- (Low mode)-Verfahrens durchgeführt,^[125] und Konformationen wurden als neu betrachtet, wenn der RMSD-Wert für das Rückgrat der Makrozyklen inklusive des ersten Seitenkettenatoms (nicht H) 0.25 Å oder mehr betrug. Alle Konformationen innerhalb eines Energiefensters von 10 kcal·mol⁻¹ oberhalb des globalen Minimums wurden weiter berücksichtigt. Für [Ala]⁷-Phalloidin wurden so 56 energieminierte Konformationen ermittelt, wobei die Konformation mit der niedrigsten Energie nur minimal von der im Kristall abwich (RMSD = 1.1 Å). Für das flexiblere Chondramid C wurden unter den gleichen Bedingungen 2648 Konformationen gefunden.

6.1.2 Docking an F-Aktin

Die Atomkoordinaten des Phalloidin-gebundenen F-Aktins wurden von Oda *et al.* erhalten.^[17] Wasserstoffatome wurden mit Hilfe der Protonate3D-Funktion in MOE hinzugefügt. Die Liganden wurden in das resultierende Atommodell mit dem Programm GOLD^[92, 93] (Version 3.2) gedockt. Der Mittelpunkt der Phalloidin zugeordneten Elektronendichte im Aktinmodell von Oda *et al.* (8 Å Auflösung) wurde mit einem Radius von 15 Å als Bindetasche definiert. Dockingergebnisse wurden durch die ChemScore-Funktion, zusammen mit den genauesten erhältlichen Einstellungen des genetischen Algorithmus („autoscale = 1“), gewichtet. Auf diese Weise wurden für jede der minimierten Konformationen 10 Dockinglösungen generiert und anhand des Dockingscores aufgelistet.

6.2 Synthese

6.2.1 Allgemeines

Lösungsmittel wurden, sofern sie nicht bereits hinreichend rein und wasserfrei waren, nach Standardvorschriften destilliert.^[126] Die Lösungsmittel Dichlormethan, Diethylether, Toluol, Tetrahydrofuran und DMF (HPLC-Reinheit) wurden alternativ zur Trocknung unter Inertgasatmosphäre durch Aluminiumoxidsäulen gepresst (MBraun Lösungsmittelreinigungssystem). Für alle Experimente wurde voll-entsalztes Wasser verwendet. 4-Isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-on wurde in beiden enantiomeren Formen von der Firma Novartis Pharma gestiftet. (*S*)-Hex-5-en-2-ol und Hex-5-en-1-ol wurden von Sigma Aldrich erworben. *D*-Tryptophan wurde von der Degussa AG gestiftet. Lithiumchlorid (von Sigma Aldrich) wurde bei $T = 110^{\circ}\text{C}$ und $p < 1$ mbar für 15 h getrocknet. Zinkbromid (von Fluka) wurde bei $T = 150^{\circ}\text{C}$ and $p < 1$ mbar für 15 h getrocknet. Alle anderen Reagenzien wurden von den Lieferanten Acros, Alfa Aesar, Fluka, GL Biochem Shanghai, Novabiochem, Sigma-Aldrich oder Strem erworben und ohne weitere Aufreinigung verwendet.

Der Ausdruck „einengen unter vermindertem Druck“ in Reaktionsaufarbeitungen bezieht sich auf das Verdampfen des jeweiligen Lösungsmittels am Rotationsverdampfer bei 40°C und dem entsprechenden Siededruck bei 40°C (wenn nicht anders angegeben). Dem schloss sich das mehrstündige Trocknen der Probe im Feinvakuum ($p < 0.1$ mbar) an.

6.2.2 Messgeräte und Hilfsmittel

Analytische Dünnschichtchromatographie wurde mit vorbeschichteten Kieselgelplatten 60F-254 der Firma Merck durchgeführt, welche zur Substanzvisualisierung entweder mit ultravioiolettem Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm bestrahlt oder mit einer KMnO_4 -Lösung, bestehend aus 1 g KMnO_4 , 6.6 g K_2CO_3 , 1.7 mL 5% wässrige NaOH Lösung und 100 mL H_2O , behandelt und dann erhitzt wurde.

Analytische Dünnschichtchromatographie (DC) wurde mit Kieselgel von J.T. Baker (Partikelgröße 40-60 μm) durchgeführt, wobei ein Überdruck von 0.3-0.5

bar angelegt wurde. Säulendimensionen sind durch Angabe von Höhe (h) und Durchmesser (d) beschrieben.

UV/Vis-Spektrometrie wurde an einem Varian CaryUV50-Gerät betrieben.

Zur **Gas-Chromatographie** (GC) wurde ein HP 6890 GC-System, ausgestattet mit einer HP-5MS-Säule (Dimensionen 24.8 m x 201 μm x 0.33 μm) verwendet.

Analytische HPLC (LC) wurde an einem Agilent 1100-System, das eine Macherey-Nagel C18 gravity 3 μm Reversed Phase - Säule verwendet, durchgeführt. Trennungen wurden bei einem MeCN-Anteil von 10 % (mit 0.1 % TFA) in H_2O (mit 0.1% TFA) begonnen und bei einem Fluss von 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ linear innerhalb von 7 min auf 100 % erhöht und dann weitere 7 min bei 100 % fortgeführt.

Gekoppelte Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) wurde an einem Agilent 1100-System, das mit einer Macherey-Nagel C18 gravity 3 μm Reversed Phase - Säule und einer Macherey-Nagel C4 gravity 3 μm -Säule ausgestattet ist, durchgeführt. Trennungen auf der C18-Säule wurden für 1 min bei einem MeCN-Anteil von 10 % (mit 0.1 % TFA) in H_2O (mit 0.1% TFA) begonnen und bei einem Fluss von 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ linear innerhalb von 15 min auf 100 % erhöht und dann weitere 5 min bei 100 % fortgeführt. Trennungen auf der C4-Säule wurden für 1 min bei einem MeCN-Anteil von 10 % (mit 0.1 % TFA) in H_2O (mit 0.1% TFA) begonnen und bei einem Fluss von 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ linear innerhalb von 12 min auf 100 % erhöht und dann weitere 2 min bei 100 % fortgeführt.

Die Massendetektion erfolgte mit einem Thermo Finnigan LCQ-ESI-Massenspektrometer.

Präparative HPLC wurde an einer Waters-Maschine, die mit einer Macherey-Nagel C18 gravity 5 μm Reversed Phase-Säule ausgestattet ist, durchgeführt. Wenn nicht anders angegeben, wurde zur Trennung bei einem konstanten MeCN-Anteil von 50 % (mit 0.1 % TFA) in H_2O (mit 0.1% TFA) und einem Fluss von 20 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ eluiert.

Schmelzpunkte wurde mit einem Büchi Melting Point B-540 bestimmt (Die erhaltenen Werte wurden nicht korrigiert).

Optische Rotationen wurden mit einem Schmidt + Haensch Polartronic HH8 Polarimeter bei $\lambda = 589$ nm bestimmt. Drehwerte $[\alpha]_D$ sind in 10^{-1} deg $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ und Konzentrationen c sind in $\text{g} \cdot (100\text{mL})^{-1}$ angegeben.

^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren wurden an Spektrometern des Typs Varian Unity Inova 600 (599.8 MHz (^1H) und 150.8 MHz (^{13}C)), Bruker DRX 500 (500.1 MHz (^1H) und 125.8 MHz (^{13}C)), Bruker DRX 400 (400 MHz (^1H) und 100.5 MHz (^{13}C)) und Varian Mercury VX 400 (400.1 MHz (^1H) and 100.6 MHz (^{13}C)) aufgenommen. Chemische Verschiebungen sind in parts per million (ppm) angegeben, Spektren sind auf nicht-deuterierte Lösungsmittelreste von CDCl_3 (7.26 ppm (^1H) und 77.0 ppm (^{13}C)), CD_3OD (3.31 ppm (^1H) und 49.0 ppm (^{13}C)), C_6D_6 (7.16 ppm (^1H) und 128.0 ppm (^{13}C)), DMSO (2.50 ppm (^1H) und 39.43 ppm (^{13}C)), und D_2O (4.79 ppm (^1H)) kalibriert. Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) angegeben, die folgenden Abkürzungen kennzeichnen die Multiplizität der Signale: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), qui (Quintett), sext (Sextett), sept (Septett), m (Multipllett), app (scheinbar), br (breites Signal). Wenn nicht angegeben, wurden die Spektren bei 27°C aufgenommen.

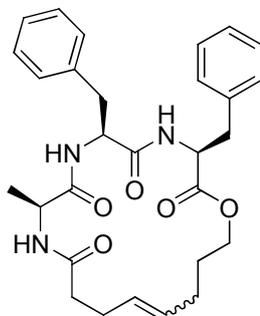
Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (IR) wurde mit einem Bruker Tensor 27 Spektrometer (ATR, in Substanz) durchgeführt.

Für die **hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS)** wurden Fast Atom Bombardment (FAB)-Spektren an einem Jeol SX 102 A (Matrix *meta*-Nitrobenzylalkohol), Electron Impact (EI)-Spektren (Quellenspannung 70 keV; Referenzsubstanz Perfluorkerosin, Auflösung: 10000) und Chemical Ionization (CI)-Spektren (Methangas; Quellenspannung 120 keV; Referenzsubstanz Ultramark 2500F, Auflösung: 10000) an einem Thermo DFS High Resolution Magnetic Sector MS (Doppelt fokussierendem) Massenspektrometer aufgenommen. Für Electro Spray Ionization (ESI)-Spekten wurde ein Thermo Electron LTQ Orbitrap Spektrometer (Quellenspannung 3.8 kV, Auflösung: 60000) verwendet.

6.2.3 Versuche zum Kapitel 4.2.2 - Validierung der Synthesestrategie

(3*S*,6*S*,9*S*)-3,6-Dibenzyl-9-methyl-1-oxa-4,7,10-triazazyklooctadec-14-en-
2,5,8,11-tetraon

Cyclo-[Oct-Ala-Phe-Phe] (**38**)



Zu einer Lösung von Fmoc-geschütztem Phenylalanin (11 Äq., 9.3 mmol, 3.6 g) in abs. CH₂Cl₂ (10 mL) und abs. DMF (0.5 mL) wurde mit einer Spritze DIC (5.4 Äq., 4.7 mmol, 0.73 mL) in einer Portion bei 0°C zugegeben und die Lösung bei 0°C für 30 min gerührt, woraufhin ein farbloser, gallertartiger Feststoff präzipitierte. Die Suspension wurde eingeeengt ($T = 40^\circ\text{C}$, $p = 500$ mbar) und der resultierende Feststoff in abs. DMF gelöst. Unter Argonatmosphäre wurde diese Lösung bei 23°C in einen 25 mL-Festphasenreaktor, der mit Wang-Polystyrol (100-200 mesh; 1.0 g; 0.86 mmol) befüllt wurde, gegeben und 1 h bei 23°C geschüttelt (200 rpm). Das Harz wurde filtriert und mit DMF (2x 15 mL) und MeOH (1x 15 mL) gewaschen.

Anschließend wurde das Harz in Piperidin/DMF (1:4 v/v; 15 mL) suspendiert, für 30 min geschüttelt (200 rpm) und mit DMF (3x 15 mL) gewaschen. Eine Lösung von Fmoc-Phenylalanin (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.97 g), HOBt (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.38 g) und DIC (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.39 mL) in DMF (10 mL) wurde für 1 min geschüttelt und dann bei 23°C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 3 h geschüttelt (200 rpm) und mit DMF (3x 15 mL) gewaschen.

Zur Entschützung wurde das Harz für 30 min mit Piperidin/DMF (1:4 v/v; 15 mL) geschüttelt und mit DMF (3x 15 mL) gewaschen. Eine Lösung von Fmoc-Alanin (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.78 g), HOBt (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.38 g) und DIC (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.39 mL) in DMF (10 mL) wurde für 1 min geschüttelt und dann bei 23°C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 10 h geschüttelt (200 rpm) und mit DMF (3x 15 mL) gewaschen.

Das Harz wurde für 45 min mit Piperidin/DMF (1:4 v/v; 15 mL) geschüttelt und mit DMF (3x 15 mL) gewaschen. Eine Lösung von 4-Pentensäure (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.26 mL), HOBt (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.38 g) und DIC (2.9 Äq., 2.5 mmol, 0.39 mL) in DMF (10 mL) wurde für 1 min geschüttelt und dann bei 23°C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 3 h geschüttelt (200 rpm) und mit CH₂Cl₂ (6x 15 mL) gewaschen.

Zur Abspaltung des Peptids wurde das Harz bei 23°C in TFA (10 mL) suspendiert, für 3 h bei 23°C geschüttelt und filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingengt. Es wurde Pnt-Ala-Phe-Phe-OH als farbloses Wachs, welches ohne Aufreinigung weiterverwendet wurde, erhalten.

Ausbeute: 0.26 g, 0.56 mmol, 65% (ausgehend vom Wangharz).

LC-MS (C18): $t_R = 7.38$ min
ber. für C₂₆H₃₂N₃O₅ [M+H]⁺: 466.22, gef. 466.50,
ber. für C₂₆H₃₁N₃NaO₅ [M+Na]⁺: 488.22, gef. 488.49.

Unter Argonatmosphäre wurde Pnt-Ala-Phe-Phe-OH (0.26 g, 0.56 mmol) in abs. DMF (4 mL) gelöst und Cs₂CO₃ (1.2 Äq., 0.67 mmol, 0.22 g) bei 23°C in einer Portion zugegeben. Die Lösung wurde für 10 min bei 23°C gerührt, bevor 5-Brompent-1-en (1.0 Äq., 0.56 mmol, 66 µL) in einer Portion mit einer Pipette zugegeben wurde. Die Reaktionslösung wurde für 10 h bei 23°C gerührt, wässrige HCl-Lösung (5 % m/m; 10 mL) zugegeben und mit Et₂O (2x 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Extrakte wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 10 mL), wässriger NaHCO₃-Lösung (5 % m/m; 1x 10 mL) und erneut ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 10 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingengt. Der resultierende farblose Feststoff wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Hierzu wurde bei einem Fluss von 25 mL·min⁻¹ mit einem in 10 min von 10 % auf 100 % erhöhten Anteil von MeCN (mit 0.1% TFA) in Wasser (mit 0.1 % TFA) eluiert. Nach Einengen unter vermindertem Druck wurde Pnt-Ala-Phe-Phe-O-Poh (**37**) als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 38 mg, 71 µmol, 13%.

DC: $R_f = 0.77$ (AcOEt).

LC-MS (C18): $t_R = 9.32$ min

ber. für $C_{31}H_{40}N_3O_5$ $[M+H]^+$: 534.30, gef. 534.65,

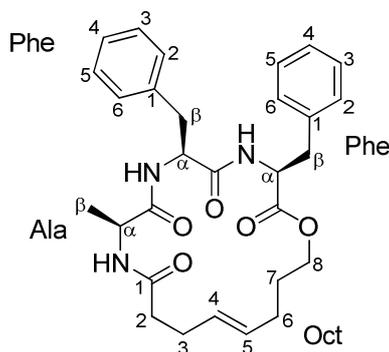
ber. für $C_{31}H_{39}N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$: 556.28, gef. 556.54.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta=7.29-7.19$ (m, 6H), 7.16 (d, $^3J=7.0$ Hz, 2H), 7.03-6.98 (m, 2H), 6.73-6.66 (m, 1H), 6.48-6.40 (m, 1H), 6.09-6.00 (m, 1H), 5.85-5.70 (m, 2H), 5.09-4.97 (m, 4H), 4.79-4.72 (m, 1H), 4.68-4.60 (m, 1H), 4.46-4.37 (m, 1H), 4.14-4.00 (m, 2H), 3.10-2.98 (m, 4H), 2.38-2.30 (m, 2H), 2.25-2.20 (m, 2H), 2.08-2.01 (m, 2H), 1.67 (tt, $^3J=7.3/6.9$ Hz, 2H), 1.25 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H) ppm.

Zu einer Lösung des azyklischen Depsipeptids **37** (33 mg, 61 μ mol) in abs. CH_2Cl_2 (30 mL) in einem 100 mL-Rundkolben wurde eine dunkelrote Lösung von Katalysator **A** (0.25 \AA q., 15 μ mol, 13 mg) in abs. CH_2Cl_2 (20 mL) mit einer Spritze hinzugegeben. Die resultierende dunkle Lösung wurde für 20 h bei 45 °C Ölbadtemperatur gerührt, auf 23 °C abgekühlt und unter vermindertem Druck eingengt. Der grün-schwarze Rückstand (43 mg) wurde durch Säulenchromatographie ($h = 12$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 100% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Präparative HPLC-Aufreinigung (zu den für den Ester beschriebenen Bedingungen) des resultierenden *E/Z*-Gemisches (Verhältnis 1:1), gefolgt von Einengen unter vermindertem Druck ($p=120$ mbar, $T=40^\circ\text{C}$) lieferte Zyklodepsipeptide **E-38** (3.0 mg, 5.9 μ mol, 9.7%) und **Z-38** (3.0 mg, 5.9 μ mol, 9.7%) als farblose Wachse.

Ausbeute: 17 mg, 36 μ mol, 51% (bezogen auf das *E/Z*-Gemisch).

E-Isomer:



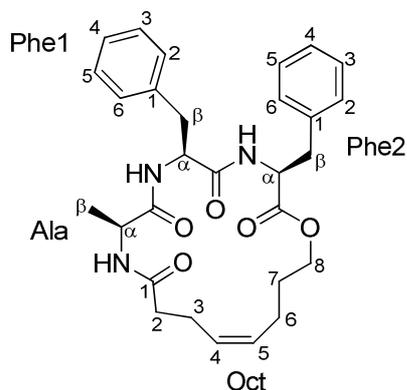
DC: $R_f = 0.50$ (AcOEt).

$[\alpha]_D^{23}$: -26.7 ($c = 0.30$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta=8.68$ (d, $^3J=6.2$ Hz, 1H; Phe α -NH), 8.06 (d, $^3J=7.9$ Hz, 1H; Ala α -NH), 7.32-7.25 (m, 3H; Phe α -NH, Phe3-H, Phe5-H), 7.24-7.15 (m, 6H; Phe3-H, Phe5-H, 2x Phe2-H, 2x Phe6-H), 7.10-7.07 (m, 2H; 2x Phe4-H), 5.44-5.30 (m, 2H, Oct4-H, Oct5-H), 4.45 (td, $^3J=8.3/5.0$ Hz, 1H; Phe α -H), 4.18-4.12 (m, 2H; Oct8- H_2), 4.07 (dq, $^3J=7.5/7.3$ Hz, 1H; Ala α -H), 3.91 (ddd, $^3J=10.9/7.5/3.9$ Hz, 1H; Phe α -H), 3.16 (dd, $^3J=5.9$ Hz, $^2J=14.1$ Hz, 1H; Phe β - H_a), 3.06 (dd, $^3J=9.2$ Hz, $^2J=14.1$ Hz, 1H; Phe β - H_b), 2.97 (dd, $^3J=4.9$ Hz, $^2J=13.7$ Hz, 1H; Phe β - H_a), 2.73 (dd, $^3J=8.6$ Hz, $^2J=13.7$ Hz, 1H; Phe β - H_b), 2.35-2.27 (m, 1H; Oct3- H_a), 2.22-2.12 (m, 2H; Oct3- H_b , Oct2- H_a), 2.12-2.06 (m, 1H; Oct2- H_b), 2.06-1.99 (m, 1H; Oct6- H_a), 1.96-1.87 (m, 1H; Oct6- H_b), 1.62-1.63 (m, 1H; Oct7- H_a), 1.49-1.40 (m, 1H; Oct7- H_b), 1.00 (d, $^3J=7.3$ Hz, 1H; Ala β - H_3) ppm.

HR-MS (FAB): ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M}]^+$: 505.2577, gef. 505.2578,
ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 506.2649, gef. 505.2648.

Z-Isomer:



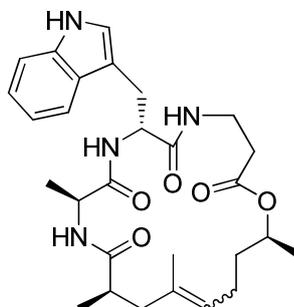
DC: $R_f = 0.50$ (AcOEt).

$[\alpha]_D^{23}$: -18.7 ($c = 0.30$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta=8.51$ (d, $^3J=5.7$ Hz, 1H; Phe α -NH), 8.08 (d, $^3J=6.6$ Hz, 1H; Ala α -NH), 7.35 (d, $^3J=8.5$ Hz, 1H; Phe α -NH), 7.31-7.26 (m, 2H; Phe3-H, Phe5-H), 7.25-7.16 (m, 6H; Phe3-H, Phe5-H, 2x Phe2-H, 2x Phe6-H), 7.15-7.12 (m, 2H; 2x Phe4-H), 5.35-5.28 (m, 2H, Oct4-H, Oct5-H), 4.41 (td, $^3J=8.9/4.7$ Hz, 1H; Phe α -H), 4.29-4.20 (m, 2H; Oct8- H_2), 4.07 (qd, $^3J=7.3/7.0$ Hz, 1H; Ala α -H), 3.76 (ddd, $^3J=10.4/6.7/3.2$ Hz, 1H; Phe α -H), 3.10-3.00 (m, 3H; Phe β - H_2 , Phe β - H_a), 2.81 (dd, $^3J=9.2$ Hz, $^2J=13.7$ Hz, 1H; Phe β - H_b), 2.39-2.29 (m, 1H; Oct3- H_a), 2.28-2.14 (m, 3H; Oct3- H_b , Oct2- H_2), 2.14-2.05 (m, 1H; Oct6- H_a), 2.05-1.95 (m, 1H; Oct6- H_b), 1.61-1.44 (m, 1H; Oct7- H_2), 1.03 (d, $^3J=7.3$ Hz, 1H; Ala β - H_3) ppm.

HR-MS (FAB): ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 506.2649, gef. 505.2677.

(7*R*,10*S*,13*R*,19*S*)-7-((1*H*-Indol-3-yl)methyl)-10,13,15,19-tetramethyl-1-oxa-5,8,11-triazacyklononadec-15-en-2,6,9,12-tetraon
Cyclo-[Hdn-Ala-*D*-Trp-βAla] (**40**)



Unter Argonatmosphäre wurde in einem 25 mL-Festphasenreaktor 2-Chlortritylchloridpolystyrol (200-400 mesh; 2.5 g; 3.5 mmol) vorgelegt. Eine Lösung von *N*-Fmoc-geschütztem β-Alanin (1.2 Äq., 4.2 mmol, 1.3 g) in abs. CH₂Cl₂ (10 mL) wurde bei 23°C zum Harz gegeben. Mit einer Spritze wurde DIPEA (4.0 Äq., 5.6 mmol, 1.0 mL) in einer Portion bei 23°C zugegeben und die Suspension bei 23°C für 1 h geschüttelt (200 rpm). Das Harz wurde filtriert und mit abs. CH₂Cl₂ (1x 10 mL), abs. CH₂Cl₂/MeOH/DIPEA (17:2:1 v/v/v; 3x 7 mL), CH₂Cl₂ (4x 10 mL), DMF (3x 10 mL), und CH₂Cl₂ (3x 10 mL) gewaschen. Die Aminosäurebeladung wurde bestimmt, indem eine kleine Probe des Harzes (2x 4 mg) mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v) *N*-terminal entschützt und die UV-Absorption ($\lambda=304$ nm) der Abspaltlösung gegen eine Blindprobe bestimmt wurde.^[114]

Das Harz (2.8 mmol) wurde für 30 min mit Piperidin/DMF (1:4 v/v; 25 mL) geschüttelt und mit DMF (3x 25 mL) gewaschen. Fmoc-*D*-tryptophan (2.5 Äq., 7.0 mmol, 3.0 g), HOBt (2.5 Äq., 7.0 mmol, 0.95 g) und DIC (2.5 Äq., 7.0 mmol, 1.1 mL) wurden nacheinander in DMF (20 mL) gelöst, 1 min geschüttelt und dann bei 23°C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 3 h geschüttelt (200 rpm) und mit DMF (3x 25 mL) gewaschen.

Zur Entschützung wurde das Harz für 30 min mit Piperidin/DMF (1:4 v/v; 25 mL) geschüttelt und mit DMF (3x 25 mL) gewaschen. Fmoc-Alanin (2.5 Äq., 7.0 mmol, 2.2 g), HOBt (2.5 Äq., 7.0 mmol, 0.95 g) und DIC (2.5 Äq., 7.0 mmol, 1.1 mL) wurden nacheinander in DMF (20 mL) gelöst, 1 min geschüttelt und dann bei

23 °C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 2 h geschüttelt (200 rpm) und mit DMF (3x 25 mL) gewaschen.

Das Harz wurde für 45 min mit Piperidin/DMF (1:4 v/v; 25 mL) geschüttelt und mit DMF (3x 25 mL) gewaschen. Nacheinander wurden **68** (2.5 Äq., 7.0 mmol, 0.73 mL), HOBt (2.5 Äq., 7.0 mmol, 0.95 g) und DIC (2.5 Äq., 7.0 mmol, 1.1 mL) in DMF (20 mL) gelöst, 1 min geschüttelt und dann bei 23 °C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 3 h geschüttelt (200 rpm) und mit CH₂Cl₂ (6x 25 mL) gewaschen.

Zur Abspaltung des Peptids wurde das Harz bei 23 °C in TFA/CH₂Cl₂ (4 % v/v; 20 mL) suspendiert, für 1 h bei 23 °C geschüttelt und filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und durch Säulenchromatographie ($h = 10$ cm, $d = 2$ cm; CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 95:4.9:0.1 v/v/v) aufgereinigt. Es wurde Pea-Ala-*D*-Trp-βAla-OH als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 0.56 g, 1.2 mmol, 43%.

DC: $R_f = 0.48$ (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 12:1:0.1).

LC-MS (C18): $t_R = 7.56$ min

ber. für C₂₄H₃₃N₄O₅ [M+H]⁺: 457.3, gef. 457.2,

ber. für C₃₀H₄₂N₄NaO₅ [M+Na]⁺: 479.2, gef. 479.2.

[α]_D²³: -15.1 ($c = 1.0$ in Methanol).

In einem 100 mL-Rundkolben wurde Pea-Ala-*D*-Trp-βAla-OH (0.56 g, 1.2 mmol) unter Argonatmosphäre in abs. CH₂Cl₂ (63 mL) und abs. DMF (7 mL) gelöst. Bei 23 °C wurden nacheinander EDC·HCl (2.0 Äq., 2.5 mmol, 0.48 g), DMAP (1.2 Äq., 1.5 mmol, 0.18 g), und (*S*)-5-Hexen-2-ol (4.0 Äq., 4.9 mmol, 0.59 mL), zu der farblosen Lösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 20 h gerührt, mit AcOEt (30 mL) verdünnt und mit ges. wässriger NH₄Cl-Lösung (1x 20 mL, 1x 15 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit AcOEt (1x 20 mL) extrahiert und die vereinten organischen Extrakte mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 10 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie ($h = 8$ cm, $d = 2$ cm; 5% MeOH in CH₂Cl₂) aufgereinigt. Man erhielt das azyklische Depsipeptid **39** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 0.42 g, 0.78 mmol, 63%.

DC: $R_f = 0.58$ (AcOEt).

LC-MS (C18): $t_R = 9.10$ min

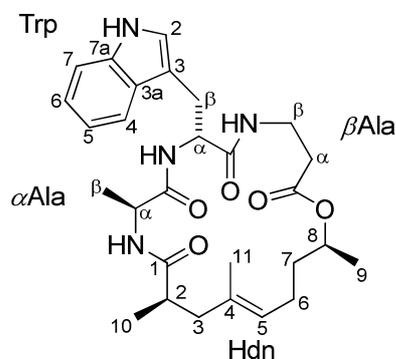
ber. für $C_{30}H_{43}N_4O_5$ $[M+H]^+$: 539.32, gef. 539.13,

ber. für $C_{30}H_{42}N_4NaO_5$ $[M+Na]^+$: 561.31, gef. 561.30.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta=10.91$ (s, 1H), 8.07 (d, $^3J=7.0$ Hz, 1H), 8.00 (t, $^3J=5.4$ Hz, 1H), 7.79 (d, $^3J=7.8$ Hz, 1H), 7.52 (d, $^3J=8.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $^3J=8.0$ Hz, 1H), 7.11 (d, $^3J=1.8$ Hz, 2H), 7.03 (t, $^3J=7.5$ Hz, 1H), 6.94 (t, $^3J=7.4$ Hz, 1H), 6.94 (ddt, $^3J=16.8/10.1/6.6$ Hz, 1H), 5.00 (dd, $^3J=17.3$ Hz, $^2J=1.5$ Hz, 1H), 4.94 (app d, $^3J=10.0$ Hz, 1H), 4.79 (app dd, $^3J=12.9/6.5$ Hz, 1H), 4.68 (br s, 1H), 4.62 (br s, 1H), 4.40 (dd, $^3J=13.7/7.3$ Hz, 1H), 4.18 (qui, $^3J=6.9$ Hz, 1H), 3.21 (dtd, $^3J=13.1/6.1$ Hz, $^2J=19.2$ Hz, 2H), 3.07 (dd, $^3J=5.5$ Hz, $^3J=14.8$ Hz, 1H), 2.98 (dd, $^3J=7.8$ Hz, $^3J=14.9$ Hz, 1H), 2.56-2.47 (m, 1H), 2.32 (t, $^3J=7.2$ Hz, 1H), 2.19 (dd, $^3J=7.6$ Hz, $^3J=13.9$ Hz, 1H), 2.09-1.92 (m, 2H), 1.89 (dd, $^3J=7.1$ Hz, $^3J=14.1$ Hz, 1H), 1.66-1.50 (m, 2H), 1.65 (s, 3H), 1.15 (d, $^3J=6.3$ Hz, 3H), 1.13 (d, $^3J=7.2$ Hz, 3H), 0.89 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H) ppm.

Zu einer Suspension des azyklischen Depsipeptids Pea-Ala-*D*-Trp- β Ala-OH (**39**; 0.39 g, 0.73 mmol) in abs. Toluol (350 mL) in einem 500 mL-Rundkolben wurde der Katalysator **C** (0.15 Äq., 0.11 mmol, 69 mg) in einer Portion hinzugegeben. Der Reaktionskolben wurde mit einem Rückflusskühler versehen und für 2.5 h im Ölbad (90 °C) gerührt. Die resultierende dunkelgrüne Lösung wurde auf 23 °C abgekühlt und unter vermindertem Druck eingengt. Der grün-schwarze Rückstand wurde durch Säulenchromatographie ($h = 8$ cm, $d = 2$ cm; 25% - 100% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Der resultierende graue Wachs (154 mg) wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Hierzu wurde bei einem Fluss von $25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ mit einem in 10 min von 10 % auf 100 % erhöhten Anteil von MeCN (mit 0.1% TFA) in Wasser (mit 0.1 % TFA) eluiert. Nach Einengen unter vermindertem Druck ($p=120$ mbar, $T=40^\circ\text{C}$) und Gefriertrocknung der zurückbleibenden wässrigen Phase wurden die Zyklodepsipeptide **E-40** und **Z-40** als farblose Wachse erhalten.

E-Isomer:



Ausbeute: 80 mg, 0.16 mmol, 21%.

DC: $R_f = 0.22$ (AcOEt).

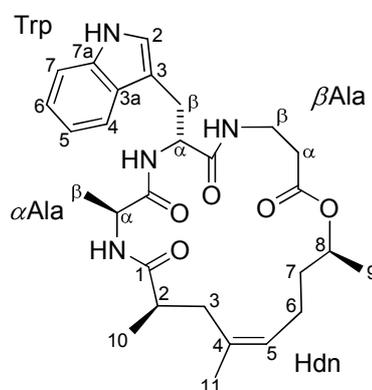
$[\alpha]_D^{23}$: +19.1 ($c = 0.69$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 10.75$ (d, $^3J = 1.5$ Hz, 1H; Trp2-NH), 8.07 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 1H; Trp-NH), 7.97 (dd, $^3J = 5.7/4.9$ Hz, 1H; $\beta\text{Ala-NH}$), 7.57 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.22 (d, $^3J = 7.1$ Hz, 1H; $\alpha\text{Ala-NH}$), 7.07 (d, $^3J = 2.1$ Hz, 1H; Trp2-H), 7.04 (td, $^4J = 0.9$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; Trp6-H), 6.96 (td, $^4J = 0.9$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp5-H), 5.12 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H; Hdn5-H), 4.76 (sext, $^3J = 6.4$ Hz, 1H; Hdn8-H), 4.51 (td, $^3J = 9.8/4.3$ Hz, 1H; Trp α -H), 4.26 (dq, $^3J = 6.9/6.9$ Hz, 1H; $\alpha\text{Ala}\alpha$ -H), 3.52-3.43 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\beta$ -H_a), 3.21-3.14 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\beta$ -H_b), 3.17 (dd, $^3J = 4.4$ Hz, $^2J = 14.3$ Hz, 1H; Trp β -H_a), 2.84 (dd, $^3J = 10.0$ Hz, $^2J = 14.6$ Hz, 1H; Trp β -H_b), 2.53-2.45 (m, 2H; Hdn2-H, $\beta\text{Ala}\alpha$ -H_a), 2.39 (ddd, $^3J = 7.1/4.1$ Hz, $^2J = 11.2$ Hz, 1H; $\beta\text{Ala}\alpha$ -H_b), 2.17 (dd, $^3J = 11.8$ Hz, $^2J = 13.6$ Hz, 1H; Hdn3-H_a), 1.98 (dd, $^3J = 3.4$ Hz, $^2J = 13.5$ Hz, 1H; Hdn3-H_b), 1.86 (ddd, $^3J = 7.8/7.8$ Hz, $^2J = 16.7$ Hz, 1H; Hdn6-H_a), 1.78 (ddd, $^3J = 7.9/7.9$ Hz, $^2J = 14.5$ Hz, 1H; Hdn6-H_b), 1.49-1.40 (m, 1H; Hdn7-H_a), 1.46 (s, 3H; Hdn11-H₃), 1.41-1.32 (m, 1H; Hdn7-H_b), 1.15 (d, $^3J = 6.3$ Hz, 3H; Hdn9-H₃), 1.03 (d, $^3J = 7.1$ Hz, 3H; Hdn10-H₃), 0.90 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 3H; $\alpha\text{Ala}\beta$ -H₃) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): 173.8 (Hdn-1), 171.6 ($\alpha\text{Ala-C=O}$), 171.3 (Trp-C=O), 171.1 ($\beta\text{Ala-C=O}$), 136.0 (Trp-7a), 131.8 (Hdn-4), 127.2 (Trp-3a), 125.7 (Hdn-5), 123.6 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.3 (Trp-5), 118.0 (Trp-4), 111.1 (Trp-7), 110.1 (Trp-3), 70.5 (Hdn-8), 52.9 (Trp- α), 47.3 ($\alpha\text{Ala-}\alpha$), 43.2 (Hdn-3), 40.4 ($\beta\text{Ala-}\alpha$), 35.3 ($\beta\text{Ala-}\beta/\text{Hdn-7}$), 35.2 (Hdn-7/ $\beta\text{Ala-}\beta$), 33.8 (Hdn-2), 27.9 (Trp- β), 23.8 (Hdn-6), 19.4 (Hdn-10), 18.5 (2x, Hdn-9, $\alpha\text{Ala-}\beta$), 15.5 (Hdn-11) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 511.2915, gef. 511.2953.

Z-Isomer:



Ausbeute: 30 mg, 59 μmol , 8.0%.

DC: $R_f = 0.33$ (AcOEt).

^1H NMR (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ =10.79 (s, 1H; Trp2-NH), 8.50 (d, $^3J=8.5$ Hz, 1H; Trp-NH), 8.16 (d, $^3J=2.8$ Hz, 1H; $\alpha\text{Ala-NH}$), 7.93 (t, $^3J=4.0$ Hz, 1H; $\beta\text{Ala-NH}$), 7.56 (d, $^3J=7.8$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.31 (d, $^3J=7.9$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.10 (s, 1H Trp2-H), 7.05 (t, $^3J=7.3$ Hz, 1H; Trp6-H), 6.97 (t, $^3J=7.1$ Hz, 1H; Trp5-H), 5.18 (t, $^3J=7.5$ Hz, 1H; Hdn5-H), 4.92-4.85 (m, 1H; Hdn8-H), 4.25-4.18 (m, 1H; $\alpha\text{Ala}\alpha$ -H), 3.84 (dd, $^3J=6.9/3.8$ Hz, 1H; Trp α -H), 3.60-3.50 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\beta$ -H_a), 3.30-3.20 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\beta$ -H_b), 3.18-3.10 (m, 1H; Trp β -H_a), 2.81 (dd, $^3J=11.8$ Hz, $^2J=14.6$ Hz, 1H; Trp β -H_b), 2.60-2.51 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\alpha$ -H_a), 2.37 (t, $^3J=7.2$ Hz, 1H, Hdn2-H), 2.28-2.18 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\alpha$ -H_b), 1.84-1.76 (m, 1H; Hdn6-H_a), 1.73 (dd, $^3J=4.1$ Hz, $^2J=12.9$ Hz, 1H; Hdn3-H_a), 1.65-1.55 (m, 1H; Hdn3-H_b, Hdn6-H_b), 1.61 (s, 3H; Hdn11-H₃),

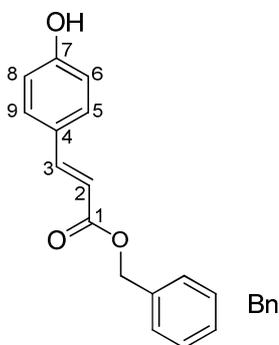
1.35-1.20 (m, 2H; Hdn7- H_2), 1.15 (d, $^3J=6.3$ Hz, 3H; Hdn9- H_3), 0.95 (d, $^3J=6.7$ Hz, 6H; Hdn10- H_3 , α Ala β - H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): 176.0 (Hdn-1), 172.7 (α Ala-C=O), 171.6 (Trp-C=O), 171.0 (β Ala-C=O), 136.0 (Trp-7a), 133.3 (Hdn-4), 127.1 (Trp-3a), 125.4 (Hdn-5), 123.0 (Trp-2), 120.8 (Trp-6), 118.2 (Trp-5), 118.1 (Trp-4), 111.2 (Trp-7), 109.1 (Trp-3), 69.7 (Hdn-8), 53.8 (Trp- α), 49.7 (α Ala- α), 36.5 (Hdn-3/Hdn-7/ β Ala- α / β Ala- β), 36.1 (Hdn-3/Hdn-7/ β Ala- α / β Ala- β), 35.4 (Hdn-3/Hdn-7/ β Ala- α / β Ala- β), 34.7 (Hdn-3/Hdn-7/ β Ala- α / β Ala- β), 32.6 (Hdn-2), 26.1 (Trp- β), 23.5 (Hdn-6), 22.6 (Hdn-10/Hdn-9/ α Ala- β), 19.8 (Hdn-9/Hdn-10/ α Ala- β), 18.7 (α Ala- β /Hdn-9/Hdn-10), 15.7 (Hdn-11) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 511.2915, gef. 511.2953.

6.2.4 Versuche zum Kapitel 4.2.3 - Synthese von Fmoc- β -tyrosin

4-Hydroxyzimtsäurebenzylester (49)



Zu einer Lösung von *para*-Cumarsäure **47** (7.30 g, 44.5 mmol) in DMF (175 mL) wurde in einem 250 mL-Rundkolben bei 23°C Na_2CO_3 (2.37 Äq., 105 mmol, 11.2 g) gegeben. Nach der Zugabe von Benzylbromid (3.55 Äq., 158 mmol, 18.8 mL) bei 23°C wurde die Suspension für 1 h bei 23° gerührt. Wasser (500 mL) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch mit AcOEt (3x 250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie ($h = 8$ cm, $d = 7$ cm, 25 % - 100% AcOEt in Cyclohexan)

aufgereinigt. Es wurde das bekannte^[127] Benzylcumarat **49** als blass-brauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 8.1 g, 31.9 mmol, 72%.

DC: $R_f = 0.12$ (Cyclohexan/AcOEt 4:1).

GC: $t_R = 7.73$ min.

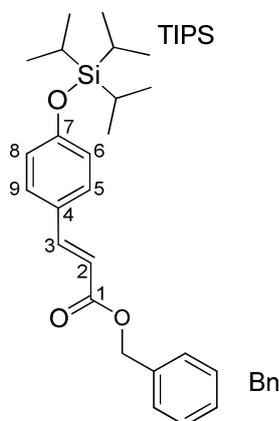
Schmp.: 91 - 92°C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.68$ (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H; C3-H), 7.44-7.32 (m, 7H; C5-H; C9-H; 5x Bn), 6.85 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H; C6-H, C8-H), 6.35 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H; C2-H), 6.10 (br s, 1H; C7-OH), 5.26 (s, 2H; Bn) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 167.7$ (C-1), 158.0 (C-7), 145.2 (C-3), 135.9 (Bn), 130.1 (2x, C-5, C-9), 128.6 (2x, Bn), 128.2 (Bn), 128.2 (2x, Bn), 126.9 (C-4), 115.9 (2x, C-6, C-8), 114.9 (C-2), 66.4 (Bn) ppm.

HR-MS (EI): ber. für C₁₆H₁₄O₃ [M]⁺: 254.0937, gef. 254.0937.

(*E*)-3-(4-(Triisopropylsilyloxy)phenyl)acrylsäurebenzylester (**50**)



Zu einer Lösung von Benzylcumarat **49** (7.9 g, 31 mmol) in DMF (37 mL) in einem 100 mL-Rundkolben wurde Imidazol (2.0 Äq., 63 mmol, 4.3 g) bei 23°C

gegeben. Bei 0 °C wurde TIPSCl (1.2 Äq., 37 mmol, 7.9 mL) mit einer Spritze innerhalb 1 min hinzugegeben, und die Reaktionslösung wurde bei 0 °C für 15 min, dann bei 23 °C für 3 h gerührt. Nach Zugabe von MeOH (2 mL) bei 23 °C wurde für weitere 5 min bei 23 °C gerührt. Wasser (100 mL) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch mit AcOEt (3x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NH₄Cl-Lösung (3x 50 mL) und Wasser (1x 20 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie ($h = 20$ cm, $d = 8$ cm, 5 % AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Es wurde silyliertes Benzylcumarat **50** als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 10 g, 25 mmol, 81%.

DC: $R_f = 0.71$ (Cyclohexan/AcOEt 4:1).

GC: $t_R = 10.84$ min.

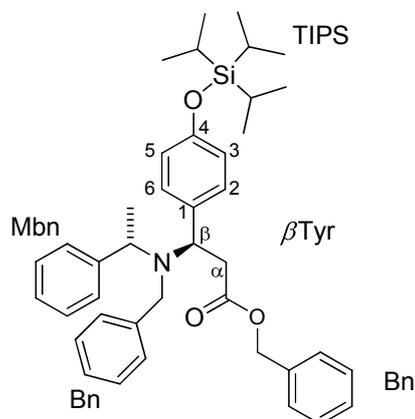
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.70$ (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H; C3-H), 7.45-7.32 (m, 7H; C5-H, C9-H, 5x Bn), 6.89 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H; C6-H, C8-H), 6.37 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H; C2-H), 5.26 (s, 2H; Bn), 1.34-1.22 (m, 3H; TIPS), 1.19 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 18H; TIPS) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 167.1$ (C-1), 158.3 (C-7), 144.9 (C-3), 136.2 (Bn), 129.7 (2x, C-5, C-9), 128.5 (2x, Bn), 128.2 (Bn), 128.1 (2x, Bn), 127.4 (C-4), 120.3 (2x, C-6, C-8), 115.3 (C-2), 66.1 (Bn), 17.8 (6x, TIPS), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 2944, 2892, 2866, 1713, 1633, 1600, 1509$ cm⁻¹.

HR-MS (EI): ber. für C₂₅H₃₄O₃Si[M]⁺: 410.2272, gef. 410.2269.

(*R*)-3-(Benzyl((*S*)-1-phenylethyl)amino)-3-(4-(triisopropylsilyloxy)phenyl)propansäurebenzylester (**51**)



Eine Lösung von *n*BuLi (1.7 Äq., 52 mmol) in Hexan ($c = 2.5$ M; 21 mL) wurde bei -78°C innerhalb von 15 min zu einer Lösung von (*S*)-*N*-(1-Phenylethyl)benzylamin (1.7 Äq., 11 g, mmol) in abs. THF (110 mL) getropft. Die resultierende lilafarbene Lösung wurde zuerst für 7 min bei -78°C , dann für 20 min bei 0°C gerührt und danach mittels Transferkanüle innerhalb von 45 min zu einer gekühlten (-78°C) Lösung von silyliertem Benzylcumarat **50** (12.6 g, 30.7 mmol) in abs. THF (140 mL) in einem 500 mL-Rundkolben getropft. Die resultierende orangefarbene Lösung wurde bei -78°C für 22 min gerührt, bevor ges. wässrige NH_4Cl -Lösung (100 mL) zugegeben wurde. Das Gemisch wurde eingeeengt (40°C , 170 mbar) und mit AcOEt (4x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 50 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie ($h = 20$ cm, $d = 8$ cm, 5 % AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Es wurde benzyliertes β -Tyrosin **51** als goldenes Öl erhalten.

Ausbeute: 11.5 g, 18.4 mmol, 60%.

DC: $R_f = 0.65$ (Cyclohexan/AcOEt 4:1).

LC: $t_R = 11.36$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +1.4 ($c = 1.0$ in Chloroform).

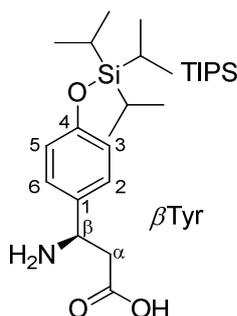
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ=7.41 (d, ³J=7.4 Hz, 2H; 2x Bn), 7.33-7.12 (m, 15H; C2-*H*, C6-*H*, 8x Bn, 5x Mbn), 6.85 (d, ³J=8.5 Hz, 2H; C3-*H*, C5-*H*), 4.91 (app q, ²J=12.4 Hz, 2H; Bn), 4.41 (dd, ³J=9.5/5.5 Hz, 1H; βTyrβ-*H*), 3.99 (q, ³J=6.8 Hz, 1H; Mbn), 3.67 (s, 2H; Bn), 2.69 (dd, ³J=5.5 Hz, ²J=14.6 Hz, 1H; βTyrα-*H*_a), 2.61 (dd, ³J=9.6 Hz, ²J=14.6 Hz, 1H; βTyrα-*H*_a), 1.25 (sept, ³J=7.5 Hz, 3H; TIPS), 1.20 (d, ³J=6.9 Hz, 3H; Mbn), 1.09 (d, ³J=7.6 Hz, 18H; TIPS) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, 15 °C): δ=171.6 (βTyr-C=O), 155.2 (βTyr-4), 144.2 (Mbn), 141.6 (Bn), 135.8 (Bn), 133.9 (βTyr-1), 129.1 (2x, βTyr-2, βTyr-6), 128.4 (2x, Bn), 128.1 (8x, Mbn, Bn), 128.0 (Bn/Mbn), 127.8 (2x, Bn/Mbn), 126.8 (Mbn/Bn), 126.5 (Bn/Mbn), 119.7 (2x, βTyr-3, βTyr-5), 66.0 (Bn), 58.9 (βTyr-β/Mbn), 56.9 (Mbn/βTyrβ), 50.6 (Bn), 37.5 (βTyr-α), 17.9 (6x, TIPS), 16.2 (Mbn), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 2945, 2894, 2868, 1736, 1607, 1510 cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₀H₅₂NO₃Si[M+H]⁺: 622.3711, gef. 622.3703.

(*R*)-3-Amino-3-(4-(triisopropylsilyloxy)phenyl)propansäure (**52**)



Zu einer Lösung des benzylierten β -Tyrosins **51** (12.2 g, 19.5 mmol) in EtOH/AcOH (9:1 v/v; 150 mL) in einem zylindrischen 200 mL-Kolben wurde Palladiumhydroxid, adsorbiert auf Aktivkohle (20% m/m, befeuchtet mit ~50% Wasser; 3.0 g), gegeben und eine H₂-Atmosphäre (10 bar) hergestellt. Die Suspension wurde für 23 h bei 23 °C gerührt und mit einer Celite-Säule ($h = 7$ cm, $d = 6$ cm) filtriert. Zum Filtrat wurde Toluol (40 mL) gegeben und unter vermindertem Druck eingengt. Es wurde β -Tyrosin **52** als farbloses Wachs, welches ohne Aufreinigung weiterverwendet wurde, erhalten.

Ausbeute: 6.5 g, 18.9 mmol, 96%

DC: $R_f = 0.26$ (CHCl₃/MeOH 19:1).

LC: $t_R = 6.78$ min.

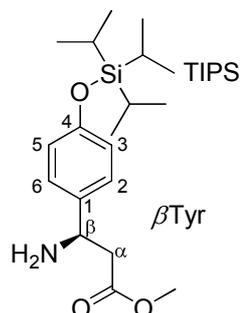
[α]_D²³: -12.6 ($c = 2.0$ in Methanol).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): $\delta = 7.36$ (d, $^3J = 7.8$ Hz, 2H; 3-*H*, 5-*H*), 6.95 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 2H; 2-*H*, 6-*H*), 4.60-4.50 (m, 1H; β -*H*), 2.98-2.85 (m, 1H; α -*H*_a), 2.85-2.71 (m, 1H; α -*H*_b), 1.28 (sept, $^3J = 7.4$ Hz, 3H; TIPS), 1.12 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 18H; TIPS) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 175.5$ (β Tyr-C=O), 158.2 (β Tyr-4), 130.6 (β Tyr-1), 129.8 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 121.5 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 53.3 (β Tyr- β), 40.3 (β Tyr- α), 18.4 (6x, TIPS), 13.9 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₁₈H₃₂NO₃Si[M+H]⁺: 338.2146, gef. 338.2146.

(*R*)-3-Amino-3-(4-(triisopropylsilyloxy)phenyl)propansäuremethylester (**53**)



Zu einer farblosen Lösung von β -Tyrosin **52** (1.5 g, 4.4 mmol) und abs. MeOH (1.0 Äq., 4.4 mmol, 0.14 g) in abs. CH₂Cl₂ (32 mL) in einem 50 mL-Rundkolben wurde unter Argonatmosphäre bei 0°C mit einer Spritze innerhalb von 3 min TMSCl (2.5 Äq., 11 mmol, 1.4 mL) getropft. Die Reaktionslösung wurde für 16 h gerührt und dabei langsam auf 23°C aufgewärmt. Nach Zugabe von ges. wässriger NaHCO₃-Lösung (20 mL) wurde die wässrige Phase (pH 8) mit CH₂Cl₂ (2x 15 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie (5 % MeOH in CH₂Cl₂) aufgereinigt. Es wurde der bekannte^[100] β -Tyrosinmethylester **53** als gelbfarbenes Öl erhalten.

Ausbeute: 0.82 g, 2.3 mmol, 53%

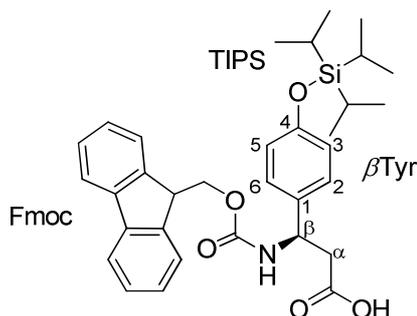
DC: $R_f = 0.38$ (CH₂Cl₂/MeOH 9:1).

$[\alpha]_D^{23}$: +13.1 ($c = 2.4$ in Chloroform).

(Lit.: $[\alpha]_D^{23}$: +7.6 ($c = 2.4$ in Chloroform)^[100])

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ =7.18 (d, ³ J =8.5 Hz, 2H; 3-*H*, 5-*H*), 6.82 (d, ³ J =8.6 Hz, 2H; 2-*H*, 6-*H*), 4.35 (t, ³ J =6.3 Hz, 1H; β -*H*), 3.65 (s, 3H; OCH₃), 2.65-2.61 (m, 1H; α -*H*_a), 2.85-2.71 (m, 1H; α -*H*_b), 1.29-1.18 (m, 3H; TIPS), 1.08 (d, ³ J =7.4 Hz, 18H; TIPS) ppm.

(*R*)-3-(((9H-Fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)-3-(4-(triisopropylsilyloxy)phenyl)propansäure (**24**)



Zu einer Suspension von β -Tyrosin **52** (2.2 g, 6.5 mmol) in 1,4-Dioxan/Wasser (10 mL/20 mL) in einem 250 mL-Rundkolben wurde eine wässrige NaOH-Lösung (0.90 Äq., 0.58 M, 10 mL) innerhalb von 6 min bei 0°C mittels Pasteurpipette getropft. Festes NaHCO₃ (3.2 Äq., 20 mmol, 1.7 g) wurde in einer Portion zugegeben. Mit einer Pasteurpipette wurde eine Lösung von FmocOSu (1.3 Äq., 8.6 mmol, 2.9 g) in 1,4-Dioxan (20 mL) bei 0°C innerhalb von 4 min zugetropft und die Suspension bei 0°C für 30 min gerührt. Das Eisbad wurde entfernt und bei 23°C für weitere 4 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde durch Zugabe von wässriger HCl (1 M, 20 mL) angesäuert (pH 2) und mit AcOEt (2x 75 mL, 1x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 50 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der resultierende braune Schaum wurde durch Säulenchromatographie ($h = 16$ cm, $d = 4$ cm, 2% - 4% MeOH in CHCl₃) aufgereinigt. Es wurde Fmoc-geschütztes β -Tyrosin **24** als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 2.4 g, 4.3 mmol, 67%.

DC: $R_f = 0.52$ (CHCl₃/MeOH 10:1).

LC: $t_R = 10.56$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +16.1 ($c = 1.1$ in Chloroform).

¹H NMR (400 MHz, [D₆]DMSO): δ=12.2 (br s, 1H; COOH); 7.88 (d, 3H; ³J=8.0 Hz, βTyr2-H, βTyr6-H, βTyr3-NH), 7.66 (d, ³J=6.8 Hz, 2H; Fmoc), 7.44-7.35 (m, 2H; Fmoc), 7.35-7.25 (m, 2H; Fmoc), 7.19 (d, ³J=8.0 Hz, 2H; Fmoc), 6.79 (d, 3H; ³J=8.4 Hz, βTyr3-H, βTyr5-H), 4.89 (ddd, ³J=8.2/8.2/6.8 Hz, 1H; βTyrβ-H), 4.29-4.24 (m, 2H; Fmoc), 4.24-4.15 (m, 1H; Fmoc), 2.69 (dd, ³J=9.0 Hz, ²J=15.4 Hz, 1H; βTyrα-H_a), 2.60 (dd, ³J=6.4 Hz, ²J=15.2 Hz, 1H; βTyrα-H_b), 1.29-1.16 (m, 3H; TIPS), 1.04 (d, ³J=7.2 Hz, 18H; TIPS) ppm.

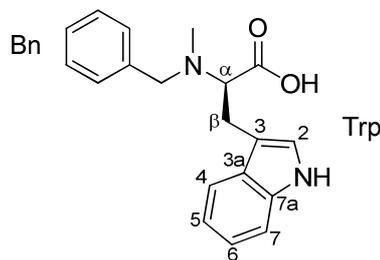
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ=171.7 (βTyr-C=O), 155.2 (Fmoc), 154.2 (βTyr-4), 143.8 (Fmoc), 143.7 (Fmoc), 140.6 (2x, Fmoc), 135.4 (βTyr-1), 127.5 (4x, Fmoc, βTyr-2, βTyr-6), 126.9 (2x, Fmoc), 125.1 (2x, Fmoc), 120.0 (2x, Fmoc), 119.1 (2x, βTyr-3, βTyr-5), 65.2 (Fmoc), 50.9 (βTyr-β), 46.6 (Fmoc), 41.1 (βTyr-α), 17.7 (6x, βTyr-2), 12.0 (3x, βTyr-1) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 2944, 2866, 1709, 1607, 1509, 1450, 1263 cm⁻¹.

HR-MS (FAB): ber. für C₃₃H₄₂NO₅Si [M+H]⁺: 560.2827, gef. 560.2826.

6.2.5 Versuche zum Kapitel 4.2.4 - Synthese der Abrinbausteine

(*R*)-2-(Benzyl(methyl)amino)-3-(1H-indol-3-yl)propansäure (**58**)



Eine Suspension von *D*-Tryptophan **57** (12.5 g, 61.2 mmol) und Benzaldehyd (1.20 Äq., 73.5 mmol, 7.87 g) in MeOH (500 mL) wurde bei 23°C für 2 h gerührt, bevor NaCNBH₃ (1.12 Äq., 68.6 mmol, 4.35 g) in einer Portion bei 0°C zugegeben wurde. Nach 15 h Rühren bei 23°C wurde die Suspension filtriert. Es wurde *N*-Benzyl-*D*-tryptophan als farbloser Feststoff, der ohne Aufreinigung weiterverwendet wurde, erhalten.

Ausbeute: 17.2 g, 58.4 mmol, 95%.

LC: $t_R = 5.16$ min.

¹H NMR (500 MHz, D₂O/NaOH): $\delta = 7.45$ (d, ³ $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.28 (d, ³ $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.16-7.06 (m, 3H), 7.05-6.99 (m, 3H), 6.97 (s, 1H), 6.93 (t, ³ $J = 7.4$ Hz, 1H), 3.54 (d, ³ $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.36 (d, ³ $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.29 (t, ³ $J = 6.8$ Hz, 1H), 2.94 (dd, ³ $J = 6.7$ Hz, ² $J = 14.3$ Hz, 1H), 2.89 (dd, ³ $J = 6.6$ Hz, ² $J = 14.3$ Hz, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, D₂O/NaOH): $\delta = 184.3, 141.6, 138.8, 131.2$ (2x), 131.1 (2x), 129.8, 126.6, 124.3, 121.6, 121.4, 114.3, 113.4, 66.0, 53.7, 31.4 ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3410, 1598, 1457, 1388, 701$ cm⁻¹.

Eine Suspension von *N*-Benzyl-*D*-tryptophan (17.2 g, 58.4 mmol) und NaCNBH₃ (1.43 Äq., 83.6 mmol, 5.30 g) in MeOH (300 mL) wurde bei 23°C für 10 min gerührt. Bei 0°C wurde *para*-Formaldehyd (1.42 Äq., 83.0 mmol, 2.52 g) in einer Portion hinzugefügt, die Reaktionslösung für 40 h bei 23°C gerührt und dann

unter vermindertem Druck eingeengt. Der Rückstand wurde in AcOEt aufgenommen und erneut unter vermindertem Druck eingeengt (2x), woraufhin ein Feststoff ausfiel. Filtration lieferte Benzylabrin **58** als farblosen Feststoff (3.12 g). Das Filtrat wurde mit AcOEt verdünnt und unter vermindertem Druck eingeengt (2x). Säulenchromatographie ($h = 15$ cm, $d = 7$ cm, 20% MeOH in CH_2Cl_2) des zurückbleibenden orangefarbenen Öls lieferte weiteres Benzylabrin **58** als farblosen Feststoff (9.43 g).

Ausbeute: 12.6 g, 40.7 mmol, 70%.

DC: $R_f = 0.17$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1).

LC: $t_R = 5.27$ min.

Schmp.: 70 - 72°C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{23}$: +1.6 ($c = 1.1$ in Methanol).

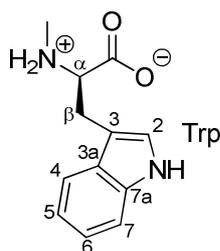
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 7.55$ (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; Trp4-*H*), 7.43-7.36 (m, 2H; Bn), 7.36-7.31 (m, 2H; Bn), 7.31-7.24 (m, 3H; Trp6-*H*), 4.37 (d, $^3J = 12.8$ Hz, 1H; Bn), 4.09 (d, $^3J = 12.8$ Hz, 1H; Bn), 4.02 (dd, $^3J = 8.3/5.4$ Hz, 1H; Trp α -*H*), 3.62 (dd, $^3J = 5.2$ Hz, $^2J = 15.7$ Hz, 1H; Trp β -*H*_a), 3.42 (dd, $^3J = 8.4$ Hz, $^2J = 15.8$ Hz, 1H; Trp β -*H*_b), 2.74 (s, 3H; NCH_3) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): $\delta = 172.7$ (Trp-C=O), 138.2 (Trp-7a), 131.8 (Bn), 131.7 (2x, Bn), 130.8 (2x, Bn), 130.1 (Bn), 128.2 (Trp-3a), 125.0 (Trp-2), 122.9 (Trp-6), 120.2 (Trp-5), 119.3 (Trp-4), 112.6 (Trp-7), 110.3 (Trp-3), 69.4 (Trp- α), 59.7 (Bn), 38.5 (Trp-N CH_3), 25.0 (Trp- β) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3442, 1639, 1623, 1350, 1325, 738$ cm^{-1} .

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 309.1598, gef. 309.1598.

(*R*)-2-(Methylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propansäure (**59**)



Zu einer Lösung von Benzyltryptophan **58** (3.61 g, 11.7 mmol) in EtOH/AcOH (2:1 v/v; 81 mL) in einem zylindrischen 200 mL-Kolben wurde Palladiumhydroxid, adsorbiert auf Aktivkohle (20% *m/m*, befeuchtet mit ~50% Wasser; 0.92 g), gegeben und eine H₂-Atmosphäre (8 bar) hergestellt. Die Suspension wurde für 20 h bei 23°C gerührt und ausgefallener Feststoff anschließend durch Zugabe von AcOH gelöst. Die Lösung wurde mit einer Celite-Säule filtriert, das Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand mit MeOH versetzt. Nach Filtration wurde unter vermindertem Druck eingeeengt. Es wurde *N*-Methyl-*D*-tryptophan **59** als blass pinkfarbener Feststoff, welcher ohne Aufreinigung weiterverwendet wurde, erhalten.

Ausbeute: 1.83 g, 8.38 mmol, 71%.

LC: $t_R = 4.17$ min.

[α]_D²³: -43.2 ($c = 0.98$ in 0.5 N wässriger HCl-Lösung).

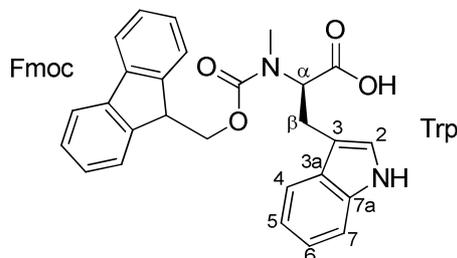
Literaturwert: +41.5 ($c = 2.5$ in 0.5 N wässriger HCl-Lösung) für *N*-Methyl-*L*-tryptophan von Acros Organics .

¹H NMR (500 MHz, D₂O/NaOH): $\delta = 7.68$ (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; Trp4-*H*), 7.45 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1H; Trp7-*H*), 7.20 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; Trp6-*H*), 7.15 (s, 1H; Trp2-*H*), 7.12 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp5-*H*), 3.28 (t, $^3J = 6.7$ Hz, 1H; Trp α -*H*), 3.08-2.97 (m, 2H; Trp β -*H*₂), 2.21 (s, 3H, Trp-NCH₃) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, D₂O/NaOH): $\delta = 183.4$ (Trp-C=O), 137.5 (Trp-7a), 128.7 (Trp-3a), 125.5 (Trp-2), 123.1 (Trp-6), 120.4 (Trp-5), 120.2 (Trp-4), 113.2 (Trp-7), 112.2 (Trp-3), 67.5 (Trp- α), 34.7 (Trp-NCH₃), 30.0 (Trp- β) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3403, 1584, 1399, 764 \text{ cm}^{-1}$.

(*R*)-2-((((9H-Fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)(methyl)amino)-3-(1H-indol-3-yl)-propansäure (**60**)



N-Methyl-*D*-tryptophan (0.973 g, 4.46 mmol) wurde in 1,4-Dioxan/Wasser (3:2 v/v, 20 mL) suspendiert. Eine Lösung von NaOH (0.99 Äq., 0.176 g, 4.40 mmol) in Wasser (16 mL) wurde bei 0 °C mittels Pasteurpipette zugetropft. Festes NaHCO₃ (1.5 Äq., 0.700 g, 6.60 mmol) wurde in einer Portion zugegeben. Mit einer Pasteurpipette wurde eine Lösung von FmocOSu (1.1 Äq., 1.654 g, 4.90 mmol) in 1,4-Dioxan (12 mL) bei 0 °C zugetropft und die Suspension bei 0 °C für 1 h gerührt. Nach entfernen des Eisbads wurde die Suspension bei 23 °C für weitere 3 h gerührt, in Wasser (72 mL) gegossen und mit Et₂O (70 mL) extrahiert. Das Reaktionsgemisch wurde durch Zugabe von wässriger HCl (6 N) angesäuert (pH 4) und mit AcOEt (1x 150 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 50 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie (6% MeOH in CH₂Cl₂) aufgereinigt. Es wurde bekanntes^[128] Fmoc- *N*-Methyl-*D*-tryptophan **60** als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 1.72 g, 3.91 mmol, 88%.

DC: $R_f = 0.59$ (CH₂Cl₂/MeOH 10:1).

LC: $t_R = 7.81 \text{ min}$.

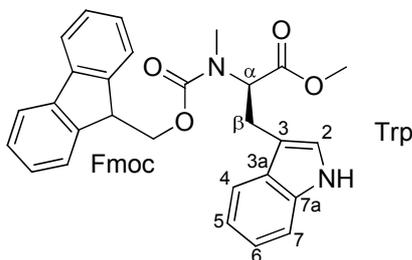
$[\alpha]_D^{23}$: +43.9 ($c = 0.72$ in Chloroform).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.7:1), Hauptrotamer: δ=7.99 (br s, 1H; Trp2-NH), 7.80-7.70 (m, 2H; Fmoc), 7.63 (d, ³J=7.7 Hz, 1H; Trp4-H), 7.56-7.49 (m, 1H; Fmoc), 7.47-7.32 (m, 3H; Fmoc, Trp7-H), 7.31-7.24 (m, 1H; Fmoc), 7.24-7.17 (m, 2H; Fmoc, Trp6-H), 7.14 (t, ³J=7.5 Hz, 1H; Trp5-H), 7.00 (s, 1H; Trp2-H), 5.03 (dd, ³J=10.5/5.2 Hz, 1H; Trpα-H), 4.42 (d, ³J=7.0 Hz, 2H; Fmoc), 4.23 (t, ³J=6.9 Hz, 1H; Fmoc), 3.50 (dd, ³J=5.0 Hz, ²J=15.4 Hz, 1H; Trpβ-H_a), 3.35 (dd, ³J=10.3 Hz, ²J=15.2 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.80 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm; Nebenrotamer: 7.99 (br s, 1H; Trp2-NH), 7.80-7.70 (m, 2H; Fmoc), 7.63 (d, ³J=7.7 Hz, 1H; Trp4-H), 7.56-7.49 (m, 1H; Fmoc), 7.47-7.32 (m, 3H; Fmoc, Trp7-H), 7.31-7.24 (m, 1H; Fmoc), 7.24-7.17 (m, 2H; Fmoc, Trp6-H), 7.09 (t, ³J=7.3 Hz, 1H; Trp5-H), 6.73 (s, 1H; Trp2-H), 4.84 (dd, ³J=10.6/4.5 Hz, 1H; Trpα-H), 4.46 (dd, ³J=6.4 Hz, ²J=10.5 Hz, 1H; Fmoc), 4.30 (dd, ³J=5.7 Hz, ²J=10.5 Hz, 1H; Fmoc), 4.06 (t, ³J=5.8 Hz, 1H; Fmoc), 3.40-3.30 (m, 1H; Trpβ-H_a), 3.00 (dd, ³J=10.9 Hz, ²J=15.0 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.84 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch, Hauptrotamer: δ=175.1 (Trp-C=O), 157.0 (Fmoc), 143.8 (2x, Fmoc), 141.3 (Fmoc), 143.2 (Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 128.2 (Fmoc), 127.7 (2x, Trp-3a, Fmoc), 127.0 (2x, Fmoc), 125.0 (Fmoc), 124.7 (Fmoc), 122.4 (Trp-6/Trp-2), 122.2 (2x, Trp-2/Trp-6, Fmoc), 120.0 (3x, Trp-5, Fmoc), 118.3 (Trp-4), 111.3 (Trp-3/Trp-7), 111.0 (Trp-7/Trp-3), 67.8 (Fmoc), 60.1 (Trp-α), 47.1 (Fmoc), 32.4 (Trp-NCH₃), 24.5 (Trp-β) ppm.

HR-MS (FAB): ber. für C₂₇H₂₄N₂O₄ [M]⁺: 440.1736, gef. 440.1738.

(*R*)-2-((((9H-Fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)(methyl)amino)-3-(1H-indol-3-yl)-propansäuremethylester (**62**)



In einem 25 mL-Rundkolben, ausgestattet mit einem Rührkern, wurde Aminosäure **60** (98 mg, 0.22 mmol) unter Argonatmosphäre in abs. CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst. Nacheinander wurden bei 23 °C DMAP (0.1 Äq., 2.7 mg, 22 µmol), MeOH (20 Äq., 4.4 mmol, 0.18 mL), DIPEA (2.0 Äq., 0.44 mmol, 78 µL), und EDC·HCl (2.0 Äq., 0.44 mmol, 86 µg) zu der farblosen Lösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde bei 23 °C für 17 h gerührt. Nach Zugabe von ges. wässriger NH₄Cl Lösung (1x 10 mL) und AcOEt (20 mL) wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phasen mit AcOEt (3x 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 10 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand (0.11 g) wurde durch Säulenchromatographie ($h = 11.5$ cm, $d = 1$ cm, 20% - 40% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Es wurde Methylester **62** als farbloses Wachs erhalten. Die physikalischen Eigenschaften stimmen mit Ausnahme des optischen Drehwerts mit den für das bekannte Enantiomer publizierten Daten^[129] überein.

Ausbeute: 66 mg, 0.15 mmol, 65 %.

DC: $R_f = 0.44$ (AcOEt/Cyclohexan 2:3)

LC: $t_R = 8.72$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +62.6 ($c = 1.0$ in Methanol).

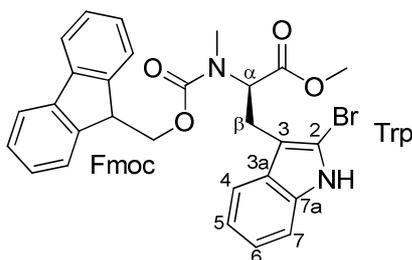
Literaturwert: -43.3 ($c = 0.49$ in Chloroform) für Fmoc-*N*-Methyl-*L*-tryptophanmethylester^[129]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptrotamer: δ=8.07 (s, 1H; Trp2-NH), 7.76 (d, ³J=8.0 Hz, 2H; Fmoc), 7.64 (d, ³J=7.6 Hz, 1H; Trp4-H), 7.53 (d, ³J=7.6 Hz, 1H; Fmoc), 7.48-7.06 (m, 8H; Fmoc, Trp7-H, Trp6-H, Trp5-H), 7.01 (s, 1H; Trp2-H), 5.15 (dd, ³J=10.4/5.2 Hz, 1H; Trpα-H), 4.44-4.32 (m, 2H; Fmoc), 4.29-4.19 (m, 1H; Fmoc), 3.77 (s, 3H; Trp-OCH₃), 3.48 (dd, ³J=5.4 Hz, ²J=15.4 Hz, 1H; Trpβ-H_a), 3.28 (dd, ³J=10.4 Hz, ²J=15.6 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.85 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm; Nebenrotamer: δ=8.05 (s, 1H; Trp2-NH), 7.74 (d, ³J=9.2 Hz, 2H; Fmoc), 7.57 (d, ³J=7.6 Hz, 1H; Trp4-H), 7.48-7.06 (m, 9H; Fmoc, Trp7-H, Trp6-H, Trp5-H), 6.75 (s, 1H; Trp2-H), 4.89 (dd, ³J=10.4/4.8 Hz, 1H; Trp-H^α), 4.44-4.19 (m, 2H; Fmoc-H₂), 4.05 (t, ³J=6.0 Hz, 1H; Fmoc), 3.71 (s, 3H; Trp-OCH₃), 3.36 (dd, ³J=4.8 Hz, ²J=15.6 Hz, 1H; Trp-H^β_a), 3.02 (dd, ³J=10.8 Hz, ²J=15.2 Hz, 1H; Trp-H^β_b), 2.86 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptrotamer: δ=171.7 (Trp-C=O), 156.6 (Fmoc), 143.9 (Fmoc), 143.8 (Fmoc), 141.3 (2x, Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 127.6 (Trp-3a), 127.6 (2x, Fmoc), 127.0 (2x, Fmoc), 125.0 (Fmoc), 125.0 (Fmoc), 122.2 (Trp-2/Trp-6), 122.1 (Trp-6/Trp-2), 120.0 (2x, Fmoc), 119.5 (Trp-5), 118.4 (Trp-4), 111.2 (2x, Trp-3, Trp-7), 67.6 (Fmoc), 59.1 (Trp-α), 52.3 (Trp-OCH₃), 47.1 (Fmoc), 31.3 (Trp-NCH₃), 24.6 (Trp-β) ppm; Nebenrotamer: δ=171.4 (Trp-C=O), 156.1 (Fmoc-C=O), 144.1 (Fmoc), 143.7 (Fmoc), 141.2 (2x, Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 127.6 (2x, Fmoc), 127.3 (Trp-3a), 127.0 (Fmoc), 127.0 (Fmoc), 124.8 (Fmoc), 124.7 (Fmoc), 122.4 (Trp-2/Trp-6), 122.1 (Trp-6/Trp-2), 120.0 (2x, Fmoc), 119.5 (Trp-5), 118.3 (Trp-4), 111.2 (Trp-7), 111.0 (Trp-3), 67.4 (Fmoc), 59.1 (Trp-α), 52.3 (Trp-OCH₃), 47.1 (Fmoc), 31.3 (Trp-NCH₃), 24.8 (Trp-β) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₂₈H₂₇N₂O₄ [M+H]⁺: 455.1965, gef. 455.1959.

(*R*)-2-((((9H-Fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)(methyl)amino)-3-(2-brom-1H-indol-3-yl)propansäuremethylester (**63**)



Unter Argonatmosphäre wurde NBS (1.10 Äq., 73.8 μmol , 13.1 mg) zu einer Lösung von Methylester **62** (30.5 mg, 67.1 μmol) in abs. CH_2Cl_2 (10 mL) in einem 10 mL-Rundkolben in einer Portion bei 23°C gegeben. Die Lösung wurde bei 23°C für 10 min gerührt, woraufhin ein Farbwechsel von farblos über orange nach rosa zu beobachten war. Kieselgel (1 cm^3) wurde hinzugegeben. Die Suspension wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und mittels Säulenchromatographie ($h = 10$ cm, $d = 1$ cm, 15% - 20% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Es wurde Methylester **63** als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 30.8 mg, 57.7 μmol , 86%.

DC: $R_f = 0.66$ (AcOEt/Cyclohexan 2:3).

LC: $t_R = 8.98$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +61.8 ($c = 1.0$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptrotamer: $\delta = 8.26$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.75 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 2H; Fmoc), 7.57 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.51-7.20 (m, 7H; Fmoc, Trp7-H), 7.19-7.02 (m, 2H; Trp6-H, Trp5-H), 4.95 (dd, $^3J = 9.8/5.4$ Hz, 1H; Trp-H $^\alpha$), 4.40-4.24 (m, 2H; Fmoc), 4.20-4.14 (m, 1H; Fmoc), 3.76 (s, 3H; Trp-OCH $_3$), 3.48 (dd, $^3J = 5.2$ Hz, $^2J = 15.8$ Hz, 1H; Trp β -H $_a$), 3.31 (dd, $^3J = 10.3$ Hz, $^2J = 14.7$ Hz, 1H; Trp β -H $_b$), 2.88 (s, 3H; Trp-NCH $_3$) ppm; Nebenrotamer: $\delta = 8.31$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.75 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 2H; Fmoc), 7.51-7.20 (m, 8H; Trp4-H, Trp7-H, Fmoc), 7.19-7.02 (m, 2H; Trp6-H, Trp5-H), 4.91 (dd, $^3J = 10.0/5.6$ Hz, 1H; Trp α -H), 4.40-4.10 (m, 2H; Fmoc), 4.00 (t, $^3J = 6.2$ Hz, 1H;

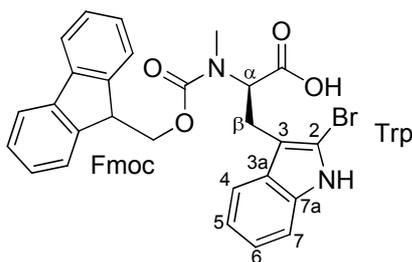
Fmoc), 3.69 (s, 3H; Trp-OCH₃), 3.40-3.20 (m, 1H; Trpβ-H_a), 2.97 (dd, ³J=10.2 Hz, ²J=15.0 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.86 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptrotamer: δ=171.2 (Trp-C=O), 156.2 (Fmoc), 143.9 (Fmoc), 143.8 (Fmoc), 141.2 (Fmoc), 141.2 (Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 127.6 (3x, Trp-3a, Fmoc), 127.0 (2x, Fmoc), 125.1 (Fmoc), 125.1 (Fmoc), 122.4 (Trp-6), 120.2 (Trp-5), 119.9 (Fmoc), 119.9 (Fmoc), 118.0 (Trp-4), 111.0 (Trp-7), 110.5 (Trp-3), 67.7 (Fmoc), 59.8 (Trp-α), 52.4 (Trp-OCH₃), 47.0 (Fmoc), 33.1 (Trp-NCH₃), 24.8 (Trp-β) ppm; Nebenrotamer: δ=171.1 (Trp-C=O), 156.0 (Fmoc), 144.1 (Fmoc), 143.6 (Fmoc), 141.2 (Fmoc), 141.2 (Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 127.6 (Fmoc), 127.6 (Fmoc), 127.3 (Trp-3a), 127.0 (2x, Fmoc), 124.9 (Fmoc), 124.8 (Fmoc), 122.4 (Trp-6), 120.2 (Trp-5), 119.9 (Fmoc), 119.9 (Fmoc), 118.0 (Trp-4), 110.7 (Trp-7), 110.6 (Trp-3), 67.6 (Fmoc), 59.0 (Trp-α), 52.4 (Trp-OCH₃), 47.0 (Fmoc), 32.7 (Trp-NCH₃), 25.1 (Trp-β) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3277, 3063, 2925, 2849, 1742, 1684, 1449 cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₂₈H₂₆⁷⁹BrN₂O₄ [M+H]⁺: 533.1071, gef. 533.1067.

(*R*)-2-((((9H-Fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)(methyl)amino)-3-(2-brom-1H-indol-3-yl)propansäure (**25**)



Zu einer Lösung des bromierten Methylesters **63** (470 mg, 0.88 mmol) in abs. 1,2-Dichlorethan (50 mL) in einem 250 mL-Rundkolben wurde unter Argonatmosphäre bei 23°C Me₃SnOH (10 Äq., 8.8 mmol, 1.6 g) gegeben, die Suspension auf 80°C aufgeheizt und bei 80°C für 20 h gerührt. Die Suspension wurde auf 23°C abgekühlt und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde in AcOEt (18 mL) aufgenommen und mit wässriger HCl-Lösung (3x 5 mL 1M) und ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 5 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingengt. Säulenchromatographie (*h* = 12 cm, *d* = 2 cm, 1 % - 5% MeOH in CHCl₃) lieferte Fmoc-2-Br-NMe-*D*-Trp-OH (**25**) als orangefarbenes Öl.

Ausbeute: 0.30 g, 0.57 mmol, 65%.

DC: *R*_f = 0.25 (CHCl₃/MeOH 19:1).

LC: *t*_R = 7.97 min.

[α]_D²³: +40.5 (c = 1.0 in Methanol).

¹H NMR (400 MHz, [D₆]DMSO): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptrotamer: δ=12.92 (br s, 1H, Trp-COOH), 11.66 (s, 1H; Trp2-NH), 7.86 (d, ³*J*=7.6 Hz, 2H; Fmoc), 7.56-7.23 (m, 8H; Trp4-*H*, Trp7-*H*, Fmoc), 7.06 (t, ³*J*=7.4 Hz, 1H; Trp6-*H*), 6.99 (t, ³*J*=7.4 Hz, 1H, Trp5-*H*), 4.79 (dd, ³*J*=10.2/5.0 Hz, 1H; Trpα-*H*), 4.18-4.11 (m, 2H; Fmoc), 3.92-3.82 (m, 1H; Fmoc), 3.36-3.11 (m, 2H; Trpβ-*H*₂), 2.76 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm; Nebenrotamer: δ=13.09 (br s, 1H, Trp-COOH), 11.73 (s, 1H; Trp2-NH), 7.88 (d, ³*J*=7.6 Hz, 2H; Fmoc), 7.56-7.17 (m, 8H;

Trp4-*H*, Trp7-*H*, Fmoc), 7.06 (t, $^3J=7.4$ Hz, 1H; Trp6-*H*), 7.02-6.93 (m, 1H, Trp5-*H*), 5.08-4.99 (m, 1H; Trp α -*H*), 4.20-3.97 (m, 2H; Fmoc), 3.92-3.82 (m, 1H; Fmoc), 3.36-3.11 (m, 2H; Trp β -*H*₂), 2.78 (s, 3H; Trp-NCH₃) ppm.

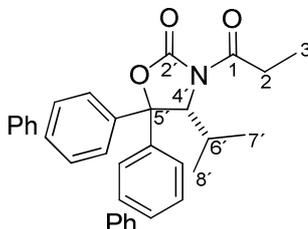
¹³C NMR (100 MHz, [D₆]DMSO): Rotamerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptrotamer: $\delta=171.9$ (Trp-C=O), 155.4 (Fmoc), 143.6 (Fmoc), 143.3 (Fmoc), 140.5 (Fmoc), 140.5 (Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 127.5 (3x, Trp-3a, Fmoc), 127.0 (2x, Fmoc), 125.0 (Fmoc), 124.9 (Fmoc), 121.4 (Trp-6), 120.0 (3x, Trp-5, Fmoc), 119.2 (Trp-4), 110.7 (Trp-3/Trp-7), 110.7 (Trp-7/Trp-3), 109.4 (Trp-2), 66.8 (Fmoc), 59.2 (Trp- α), 46.4 (Fmoc), 32.4 (Trp-NCH₃), 23.9 (Trp- β) ppm; Nebenrotamer: $\delta=171.9$ (Trp-C=O), 155.3 (Fmoc), 143.6 (Fmoc), 143.5 (Fmoc), 140.5 (Fmoc), 140.5 (Fmoc), 136.0 (Trp-7a), 127.5 (3x, Trp-3a, Fmoc), 127.0 (2x, Fmoc), 125.0 (Fmoc), 124.8 (Fmoc), 121.4 (Trp-6), 120.0 (3x, Trp-4, Fmoc), 119.2 (Trp-5), 110.7 (Trp-3/Trp-7), 110.7 (Trp-7/Trp-3), 67.0 (Fmoc), 59.2 (Trp- α), 46.3 (Fmoc), 32.4 (Trp-NCH₃), 23.9 (Trp- β) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3275, 3017, 2954, 1718, 1683, 1451$ cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₂₇H₂₄⁷⁹BrN₂O₄ [M+H]⁺: 519.0914, gef. 519.0909.

6.2.6 Versuche zum Kapitel 4.2.5 - Synthese von Dimethylpentensäure

(*R*)-4-Isopropyl-5,5-diphenyl-3-propionyloxazolidin-2-on (**65**)



Eine Lösung von *n*BuLi (1.04 Äq., 26.0 mmol) in Hexan ($c = 2.50$ M; 10.4 mL) wurde unter Argonatmosphäre innerhalb von 10 min mit einer Spritze bei 0°C zu einer Lösung von (*R*)-4-Isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-on (7.03 g, 25.0 mmol) in abs. THF (100 mL) in einem 250 mL-Rundkolben getropft. Propionsäurechlorid (1.20 Äq., 30.0 mmol, 2.62 mL) wurde per Spritze schnell in einer Portion zu der leicht orangefarbenen Lösung bei 0°C gegeben, und die Reaktionslösung wurde bei 23°C für 16 h gerührt. Eine ges. wässrige Lösung von NH₄Cl (25 mL) wurde hinzugegeben und die Mischung mit Et₂O (100 mL) verdünnt. Nach Phasentrennung wurde die organische Phase mit wässriger HCl-Lösung (5% *m/m*, 2x 70 mL), wässriger NaOH-Lösung (5% *m/m*, 2x 70 mL), und ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingengt. Es wurde ein farbloser Feststoff (8 g) erhalten. Umkristallisation des Rohprodukts (Et₂O/*n*-Pentan) lieferte das bekannte^[111] Acyloxazolidinon **65** als farblose Nadeln.

Ausbeute: 6.00 g, 17.8 mmol, 71%.

DC: $R_f = 0.29$ (Cyclohexan/AcOEt 19:1).

GC: $t_R = 7.39$ min.

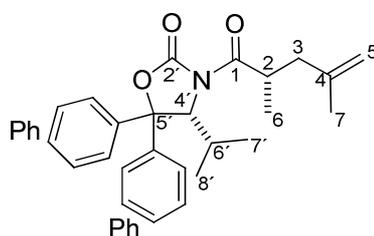
Schmp.: 109 - 110°C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.49-7.27$ (m, 10H; Ph), 5.38 (d, $^3J = 3.3$ Hz, 1H; 4'-H), 2.93 (dq, $^3J = 7.4$ Hz, $^2J = 17.3$ Hz, 1H; 2-H_a), 2.73 (dq, $^3J = 7.4$ Hz, $^2J = 17.3$ Hz,

1H; 2- H_b), 1.97 (sept d, $^3J=6.8/3.4$ Hz, 1H; 6'- H), 1.09 (t, $^3J=7.4$ Hz, 3H; 3- H_3), 0.88 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; 7'- $H_3/8'$ - H_3), 0.76 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; 8'- $H_3/7'$ - H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta=173.9$ (C-1), 153.0 (C-2'), 142.3 (Ph), 138.1 (Ph), 128.8 (2x, Ph), 128.5 (Ph), 128.3 (2x, Ph), 127.8 (Ph), 125.8 (2x, Ph), 125.5 (2x, Ph), 89.3 (C-5'), 64.3 (C-4'), 29.8 (C-6'), 28.8 (C-2), 21.7 (C-7'/C-8'), 16.3 (C-8'/C-7'), 8.6 (C-3) ppm.

(*R*)-3-((*S*)-2,4-Dimethylpent-4-enoyl)-4-isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-on (**66**)



Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von *n*BuLi (1.30 Äq., 85.0 mmol) in Hexan ($c = 2.50$ M; 34.0 mL) innerhalb von 10 min mit einer Spritze bei -78°C zu einer Lösung von Diisopropylamin (1.30 Äq., 84.8 mmol 12.0 mL) in abs. THF (170 mL) in einem 250 mL-Rundkolben getropft und für 30 min bei -78°C gerührt. Mit einer Transferkanüle wurde die leicht orangefarbene Lösung innerhalb von 35 min zu einer auf -78°C gekühlten Lösung von Acyloxazolidinon **65** (1.00 Äq., 22.0 g, 65.2 mmol) in abs. THF (220 mL) getropft und bei -78°C für 2.5 h gerührt. Eine Lösung von abs. ZnBr_2 (1.3 Äq., 19 g, 85 mmol) in abs. THF (100 mL) wurde bei -78°C mittels Transferkanüle innerhalb von 10 min zugetropft und bei -78°C für weitere 30 min gerührt, bevor 3-Brom-2-methyl-1-propen (4.00 Äq., 261 mmol, 26.3 mL) schnell in 2 Portionen mit einer Spritze bei -78°C hinzugegeben wurde. Das Reaktionsgemisch wurde für 14 h gerührt und dabei langsam auf -15°C aufgewärmt. Eine ges. wässrige Lösung von NH_4Cl wurde hinzugegeben (200 mL), und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Et_2O (1x 200 mL, 4x 100 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit wässriger HCl-Lösung (1 M, 2x 150 mL), wässriger NaOH-Lösung (1 M, 2x 150 mL) und ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 100 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingeengt. Der feste gelbliche Rückstand (25 g) wurde in Et_2O (200 mL, 34°C) suspendiert und filtriert. Das

Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt. Nach Umkristallisation des Rohprodukts (Et₂O/*n*-Pentan) wurde Pentenoyloxazolidinon **66** als farblose Nadeln erhalten.

Ausbeute: 16.83 g, 42.56 mmol, 65%.

DC: $R_f = 0.67$ (Cyclohexan/AcOEt 4:1).

GC: $t_R = 8.08$ min.
 $d.e. > 98 \%$

Schmp.: 120 °C.

$[\alpha]_D^{23}$: +179.8 ($c = 0.50$ in CHCl₃).

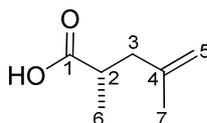
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.50$ - 7.24 (m, 10H; Ph), 5.38 (d, $^3J = 3.0$ Hz, 1H; 4'-H), 4.77 (s, 1H; 5-*H*_{cis}), 4.73 (s, 1H; 5-*H*_{trans}), 3.96-3.86 (m, 1H; 2-H), 2.56 (dd, $^3J = 7.2$ Hz, $^2J = 14.0$ Hz, 1H; 3-*H*_a), 2.02 (dd, $^3J = 7.7$ Hz, $^2J = 14.2$ Hz, 1H; 3-*H*_b), 1.95 (sept d, $^3J = 6.7/3.2$ Hz, 1H; 6'-H), 1.76 (s, 3H; 7-*H*₃), 0.86 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 3H; 6-*H*₃), 0.79 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; 7'-*H*₃/8'-*H*₃), 0.75 (d, $^3J = 6.7$ Hz, 3H; 8'-*H*₃/7'-*H*₃) ppm;

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 176.6$ (C-1), 152.9 (C-2'), 143.0 (C-4), 142.3 (Ph), 138.1 (Ph), 128.8 (2x, Ph), 128.5 (Ph), 128.4 (2x, Ph), 127.9 (Ph), 125.8 (2x, Ph), 125.6 (2x, Ph), 112.2 (C-5), 89.2 (C-5'), 64.5 (C-4'), 41.7 (C-3), 35.4 (C-2), 29.8 (C-6'), 22.2 (C-7/C-6), 21.7 (C-6/C-7), 16.3 (C-7'/C-8'), 16.3 (C-8'/C-7') ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 2970, 2936, 2894, 1779, 1701$ cm⁻¹.

HR-MS (FAB): ber. für C₂₅H₃₀NO₃ [M+H]⁺: 392.2220; gef.: 392.2247.

(S)-2,4-Dimethylpent-4-ensäure (**26**)



Zu einer farblosen Lösung des Amids **66** (16.8 g, 42.5 mmol) in MeOH/THF (1:1 v/v, 120 mL) in einem 500 mL-Rundkolben wurde innerhalb von 10 min bei 23 °C mit einer Pasteurpipette eine wässrige Lösung von NaOH (1M, 50 mL) getropft, woraufhin die Reaktionslösung eine gelbe Farbe annahm, gefolgt vom Niederschlag eines farblosen Feststoffes. Es wurde für 2.5 h bei 23 °C gerührt, bevor die Suspension unter vermindertem Druck (40 °C, 200 mbar) eingeeengt wurde. Et₂O (330 mL) wurde hinzugegeben, und das Gemisch wurde bei 23 °C für 15 min gerührt und dann filtriert. Der Filtrerrückstand wurde mit wässriger NaOH-Lösung (1 M, 1x 70 mL), Wasser (1x 30 mL), Et₂O (1x 50 mL) und *n*-Pentan (1x 50 mL) gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden mit Et₂O (100 mL) verdünnt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit wässriger HCl-Lösung (1x 20 mL 5 M, 1x 40 mL 1 M) angesäuert (pH 2) und mit Et₂O (2 x 200 mL, 1 x 100 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 100 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand, eine gelbe Flüssigkeit (5 g), wurde durch Kugelrohrdestillation (50-125 °C, 30 mbar) aufgereinigt. Es wurde die Säure **26** als farblose Flüssigkeit erhalten.

Ausbeute: 4.93 g, 38.4 mmol, 90%.

DC: $R_f=0.62$ (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH 19:1:0.5).

GC: $t_R = 3.44$ min.

Siedep.: 125 °C ($p = 30$ mbar).

[α]_D²³: -2.7 ($c = 5.4$ in CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta=11.95$ (br s, 1H; 1-OH), 4.79 (s, 1H; 5-*H*_{cis}), 4.73 (s, 1H; 5-*H*_{trans}), 2.69-2.61 (m, 1H; 2-*H*), 2.45 (dd, ³*J*=7.1 Hz, ²*J*=14.1 Hz, 1H; 3-*H*_a),

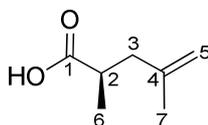
2.10 (dd, $^3J=7.7$ Hz, $^2J=14.2$ Hz, 1H; 3- H_b), 1.72 (s, 3H; 7- H_3), 1.17 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; 6- H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta=183.3$ (C-1), 142.5 (C-4), 112.5 (C-5), 41.5 (C-3), 37.6 (C-2), 22.1 (C-7), 16.5 (C-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3078, 2975, 2939, 1703, 1651, 1459$ cm^{-1} .

HR-MS (EI): ber. für $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 128.0837; gef.: 128.0853.

(*R*)-2,4-Dimethylpent-4-ensäure (**68**)



Die Darstellung von (*R*)-2,4-Dimethylpent-4-ensäure (**68**) wurde analog zur Synthese des Enantiomers **26** durchgeführt, jedoch unter Verwendung von (*S*)-4-Isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-on als Ausgangsmaterial.

DC: $R_f = 0.62$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 19:1:0.5).

GC: $t_R = 3.44$ min;

Siedep.: 110°C ($p = 15$ mbar).

$[\alpha]_D^{23}$: $+2.1$ ($c = 5.2$ in CHCl_3).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 15°C): $\delta=9.19$ (br s, 1H; 1-OH), 4.79 (s, 1H; 5- H_{cis}), 4.73 (s, 1H; 5- H_{trans}), 2.71-2.62 (m, 1H; 2- H), 2.45 (dd, $^3J=7.1$ Hz, $^2J=14.2$ Hz, 1H; 3- H_a), 2.10 (dd, $^3J=7.7$ Hz, $^2J=14.2$ Hz, 1H; 3- H_b), 1.72 (s, 3H; 7- H_3), 1.17 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; 6- H_3) ppm.

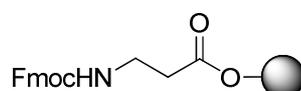
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , 15°C): $\delta=183.8$ (C-1), 142.5 (C-4), 112.5 (C-5), 41.5 (C-3), 37.6 (C-2), 22.1 (C-7), 16.6 (C-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3078, 2975, 2939, 1703, 1651, 1459 \text{ cm}^{-1}$.

HR-MS (EI): ber. für $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2 [\text{M}]^+$: 128.0837; gef.: 128.0818.

6.2.7 Versuche zum Kapitel 4.2.6 - Festphasenpeptidsynthese

Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl- β -alanyl-(2-chlor)tritylpolystyrol (**70**)

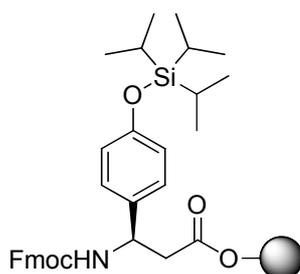


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Suspension von 2-Chlortritylchloridpolystyrol (200-400 mesh; 1.0 g; 1.4 mmol) und *N*-Fmoc-geschütztem β -Alanin **69** (1.2 Äq., 1.7 mmol, 0.52 g) in abs. CH_2Cl_2 (10 mL) in einem 25 mL-Festphasenreaktor bei 23°C mit einer Spritze DIPEA (4.0 Äq., 5.6 mmol, 1.0 mL) in einer Portion gegeben und die Suspension bei 23°C für 1 h geschüttelt (200 rpm). Das Harz wurde filtriert und mit abs. CH_2Cl_2 (1x 10 mL), abs. $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{DIPEA}$ (17:2:1 v/v/v; 3x 7 mL), CH_2Cl_2 (4x 10 mL), DMF (3x 10 mL), und CH_2Cl_2 (3x 10 mL) gewaschen. Das Harz wurde für 14 h getrocknet (0.5 mbar, 23°C). Die Aminosäurebeladung wurde bestimmt, indem eine kleine Probe des Harzes (2x 4 mg) mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v) Fmoc-entschützt und die UV-Absorption ($\lambda=304 \text{ nm}$) der Abspaltlösung gegen eine Blindprobe bestimmt wurde.^[114]

Ausbeute: 1.3 g, 1.1 mmol, 80%

Beladung: 0.88 mmol·g⁻¹

Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl-*O*-tri(methylethyl)silyl- β -tyrosyl-(2-Chlor)tritylpolystyrol (**74**)

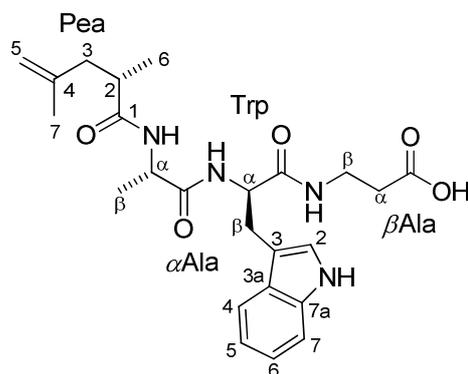


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Suspension von 2-Chlortritylchloridpolystyrol (200-400 mesh; 1.3 Äq., 3.1 g; 4.0 mmol) und *N*-Fmoc-geschütztem TIPS- β -tyrosin **24** (3.2 mmol, 1.8 g) in abs. CH₂Cl₂ (15 mL), in einem 25 mL-Festphasenreaktor bei 23 °C mit einer Spritze DIPEA (4.0 Äq., 13 mmol, 2.2 mL) in einer Portion bei 23 °C gegeben und die Suspension bei 23 °C für 3 h geschüttelt (200 rpm). Das Harz wurde filtriert und mit abs. CH₂Cl₂ (1x 20 mL), abs. CH₂Cl₂/MeOH/DIPEA (17:2:1 v/v/v; 3x 20 mL) und CH₂Cl₂ (3x 20 mL) gewaschen. Das Harz wurde für 45 min getrocknet (0.2 mbar, 23 °C). Die Aminosäurebeladung wurde bestimmt, indem eine kleine Probe des Harzes (2x 4 mg) mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v) Fmoc-entschützt und die UV-Absorption ($\lambda=304$ nm) der Abspalllösung gegen eine Blindprobe bestimmt wurde.^[114]

Ausbeute: 3.7 g, 2.4 mmol, 75%

Beladung: 0.65 mmol·g⁻¹

L-Pea-*Ala*-*D*-Trp- β Ala-OH (**31a**)



Polymer-gebundenes Fmoc-Alanin **70** ($0.88 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.3 g, 1.1 mmol) wurde durch Behandlung mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v/v; 5x 10 mL) entschützt und mit NMP (3x 10 mL) gewaschen. Eine Lösung von Fmoc-*D*-tryptophan (3.0 Äq., 3.4 mmol, 1.5 g), HOBt (3.0 Äq., 3.4 mmol, 0.46 g) und DIC (3.0 Äq., 3.4 mmol, 0.53 mL) in NMP (10 mL) wurde 1 min geschüttelt und dann bei 23°C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 2 h geschüttelt (200 rpm), mit NMP (2x 10 mL) und CH_2Cl_2 (3x 10 mL) gewaschen und getrocknet (1.8 g, 1.1 mmol, quantitative Ausbeute gemäß Massenbilanz).

Ein Teil des Harzes (0.75 g, 0.47 mmol) wurde durch Behandlung mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v/v; 5x 10 mL) N-terminal entschützt und mit NMP (3x 10 mL) gewaschen. Wie vorher für *D*-Tryptophan beschrieben, wurde mit Fmoc-Alanin (3.0 Äq., 1.4 mmol, 0.45 g) beladen, wieder entschützt und mit Pentensäure **26** (3.0 Äq., 1.4 mmol, 0.18 g) gekuppelt. Zur Abspaltung des Peptids wurde das Harz in CH_2Cl_2 /HFIP (4:1 v/v, 5 mL, 1x 20 min, 1x 10 min) suspendiert und filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden im Argonstrom bei 23°C eingengt und dann im Feinvakuum (0.1 mbar) für 30 min getrocknet. Der zurückbleibende rosafarbene Schaum wurde durch Säulenchromatographie ($h = 5 \text{ cm}$, $d = 2 \text{ cm}$, 10% MeOH in CHCl_3) aufgereinigt. Es wurde die peptidische Säure **31a** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 0.21 g, 0.46 mmol, 97% (basierend auf der Alanin-Beladung).

DC: $R_f = 0.36$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 5:1).

LC: $t_R = 5.78$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: -5.4 ($c = 1.0$ in Methanol).

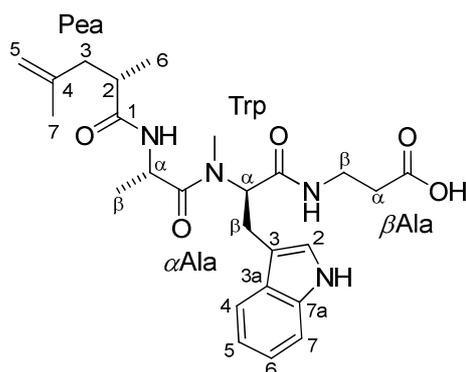
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 12.23$ (s, 1H; $\beta\text{Ala-COOH}$), 10.79 (s, 1H; Trp2-NH), 8.08-8.00 (m, 3H; Trp-NH, $\alpha\text{Ala-NH}$, $\beta\text{Ala-NH}$), 7.57 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.08 (d, $^3J = 2.0$ Hz, 1H; Trp2-H), 7.04 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H; Trp6-H), 6.96 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H; Trp5-H), 4.69 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.64 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.43-4.38 (m, 1H; Trp- H^A), 4.23-4.16 (m, 1H; $\alpha\text{Ala}\alpha\text{-H}$), 3.29-3.20 (m, 2H; $\beta\text{Ala}\beta\text{-H}_2$), 3.14 (dd, $^3J = 4.0$ Hz, $^2J = 14.8$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_a$), 2.87 (dd, $^3J = 9.6$ Hz, $^2J = 14.8$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_b$), 2.56-2.47 (m, 1H; Pea2-H), 2.43-2.31 (m, 2H; $\beta\text{Ala}\alpha\text{-H}_2$), 2.21 (dd, $^3J = 6.8$ Hz, $^2J = 14.0$ Hz, 1H; Pea3- H_a), 1.89 (dd, $^3J = 7.8$ Hz, $^2J = 14.0$ Hz, 1H; Pea3- H_b), 1.63 (s, 3H; Pea7- H_3), 0.99 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; $\alpha\text{Ala}\beta\text{-H}_3$), 0.92 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; Pea6- H_3) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 175.3$ (Pea-1), 172.7 ($\alpha\text{Ala-C=O}$), 172.0 (Trp-C=O), 171.1 ($\beta\text{Ala-C=O}$), 143.1 (Pea-4), 135.9 (Trp-7a), 127.1 (Trp-3a), 123.4 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.3 (Trp-5), 118.0 (Trp-4), 111.7 (Pea-5), 111.1 (Trp-7), 110.0 (Trp-3), 53.2 (Trp- α), 48.2 ($\alpha\text{Ala}\alpha$), 41.2 (Pea-3), 37.0 (Pea-2), 34.8 ($\beta\text{Ala}\beta$), 27.6 (Trp- β), 22.0 (Pea-7), 17.6 ($\alpha\text{Ala}\beta$), 17.1 (Pea-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3413, 3296, 3080, 1731, 1660, 1620, 1543$ cm^{-1} .

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 457.2446, gef. 457.2446.

L-Pea-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Ala-OH (**31b**)



Polymer-gebundenes Fmoc-Alanin **70** ($0.88 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.3 g, 1.1 mmol) wurde durch Behandlung mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v/v; 5x 10 mL) N-terminal entschützt und mit NMP (3x 10 mL) gewaschen. Eine Lösung von Fmoc-*D*-tryptophan (3.0 Äq., 3.4 mmol, 1.5 g), HOBt (3.0 Äq., 3.4 mmol, 0.46 g) und DIC (3.0 Äq., 3.4 mmol, 0.53 mL) in NMP (10 mL) wurde 1 min geschüttelt und dann bei 23°C zum filtrierten Harz gegeben. Die Suspension wurde für 2 h geschüttelt (200 rpm), mit NMP (2x 10 mL) und CH_2Cl_2 (3x 10 mL) gewaschen und getrocknet (1.8 g, 1.1 mmol, quantitative Ausbeute gemäß Massenbilanz).

Ein Teil des Harzes (1.0 g, 0.65 mmol) wurde mit DBU/Piperidin/NMP (2:2:96 v/v/v; 5x 5 mL) entschützt und mit NMP (3x 10 mL) gewaschen. *N*-Methylierung wurde nach einem bekannten Protokoll durchgeführt:^[115] In einem 10 mL-Rundkolben wurden *ortho*-Nitrobenzolsulfonylchlorid (3.3 Äq., 2.1 mmol, 0.48 g) und 2,4,6-Collidin (8.1 Äq., 5.3 mmol, 0.71 mL) in NMP (8 mL) gelöst und mit einer Spritze zum filtrierten Harz überführt. Die Suspension wurde für 15 min geschüttelt und mit NMP (5x 10 mL) gewaschen. Eine Lösung von DBU (2.5 Äq., 1.6 mmol, 0.24 mL) in NMP (5 mL) wurde per Spritze zum Harz gegeben und für 3 min geschüttelt. Eine Lösung von Me_2SO_4 (8.1 Äq., 5.3 mmol, 0.51 mL) in NMP (5 mL) wird mit einer Spritze hinzugegeben und für 2 min geschüttelt. Nach Waschen mit NMP (1x 10 mL) wurden Deprotonierung, Methylierung und Waschen wiederholt (1x). Zur Abspaltung des Sulfonamids wurde das Harz mit einer Lösung von β -Mercaptoethanol (2x; 8.2 Äq., 5.3 mmol, 0.37 mL) und DBU (4.1 Äq., 2.6 mmol, 0.40 mL) in NMP (8 mL) behandelt. Das Harz wurde mit NMP (5x 10 mL) gewaschen und eine Lösung von Fmoc-Ala-OH (2.4 Äq., 1.6 mmol, 0.50 g), HATU (2.4 Äq., 1.6 mmol, 0.61 g), HOAt (2.4 Äq., 1.6 mmol, 0.22 g) und DIPEA (4.9 Äq., 3.2 mmol, 0.56 mL) in NMP (8 mL) hinzugegeben und für 19 h

geschüttelt. Das filtrierte Harz wurde, wie für *D*-Tryptophan beschrieben, gewaschen, schrittweise entschützt und mit Pentensäure **26**, gekuppelt. Zur Abspaltung des Peptids wurde das Harz in CH₂Cl₂/HFIP (4:1 v/v, 5 mL, 1x 20 min, 1x 10 min) suspendiert und filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden im Argonstrom bei 23 °C eingengt und dann im Feinvakuum (0.1 mbar) für 30 min getrocknet. Der zurückbleibende rosafarbene Schaum wurde durch Säulenchromatographie (*h* = 5 cm, *d* = 2 cm, 10% MeOH in CHCl₃) aufgereinigt. Es wurde die peptidische Säure **31b** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 0.27 g, 0.57 mmol, 88% (basierend auf der Alanin-Beladung).

DC: *R_f* = 0.71 (CHCl₃/MeOH 5:1).

LC: *t_R* = 6.09 min.

[α]_D²³: +28.9 (*c*=1.0 in Methanol).

¹H NMR (400 MHz, [D₆]DMSO): Rotamerengemisch (Verhältnis 4:1), Hauptrotamer: δ=12.23 (br s, 1H; βAla-COOH), 10.78 (s, 1H; Trp2-NH), 8.00 (d, ³*J*=6.8 Hz, 1H; αAla-NH), 7.75 (t, ³*J*=5.4 Hz, 1H; βAla-NH), 7.56 (d, ³*J*=8.0 Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, ³*J*=8.0 Hz, 1H; Trp7-H), 7.07-7.01 (m, 2H; Trp2-H, Trp6-H), 6.95 (t, ³*J*=7.4 Hz, 1H; Trp5-H), 5.29 (dd, ³*J*=10.8/5.2 Hz, 1H; Trp-H^α), 4.68 (s, 1H; Pea5-H_a), 4.62 (s, 1H; Pea5-H_b), 4.55-4.46 (m, 1H; αAlaα-H), 3.37-3.20 (m, 3H; βAlaβ-H₂, Trpβ-H_a), 3.01 (dd, ³*J*=10.8 Hz, ²*J*=15.2 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.89 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.56-2.46 (m, 1H; Pea2-H), 2.42 (t, ³*J*=7.2 Hz, 2H; βAlaα-H₂), 2.24-2.14 (m, 1H; Pea3-H_a), 1.94-1.83 (m, 1H; Pea3-H_b), 1.62 (s, 3H; Pea7-H₃), 0.91 (d, ³*J*=6.8 Hz, 3H; Pea6-H₃), 0.76 (d, ³*J*=6.8 Hz, 3H; αAlaβ-H₃) ppm; Nebenrotamer: δ=12.23 (br s, 1H; βAla-COOH), 10.83 (s, 1H; Trp2-NH), 8.32 (t, ³*J*=5.4 Hz, 1H; βAla-NH), 7.91 (d, ³*J*=7.2 Hz, 1H; αAla-NH), 7.62 (d, ³*J*=7.6 Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, ³*J*=8.0 Hz, 1H; Trp7-H), 7.20 (d, ³*J*=1.6 Hz, 1H; Trp2-H), 7.07-7.01 (m, 1H; Trp6-H), 6.95 (t, ³*J*=7.4 Hz, 1H; Trp5-H), 4.97-4.90 (m, 1H; Trpα-H), 4.90-4.80 (m, 1H; αAlaα-H), 4.68 (s, 1H; Pea5-H_a), 4.62 (s, 1H; Pea5-H_b), 3.37-3.20 (m, 3H; βAlaβ-H₂, Trpβ-H_a), 3.10-2.94 (m, 1H; Trpβ-H_b), 2.82 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.56-2.46 (m, 1H; Pea2-H), 2.35 (t, ³*J*=7.2 Hz, 2H; βAlaα-H₂),

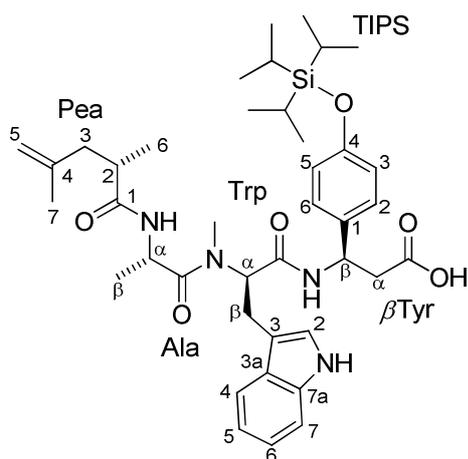
2.20-2.10 (m, 1H; Pea3- H_a), 1.94-1.83 (m, 1H; Pea3- H_b), 1.59 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.10 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; α Ala β - H_3), 0.94-0.91 (m, 3H; Pea6- H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): Hauptrotamer: $\delta=175.3$ (Pea-1), 172.7 (2x, α Ala-C=O, Trp-C=O), 169.9 (β Ala-1), 143.1 (Pea-4), 135.9 (Trp-7a), 127.0 (Trp-3a), 122.9 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.2 (Trp-5), 118.1 (Trp-4), 111.7 (Pea-5), 111.1 (Trp-7), 110.0 (Trp-3), 56.2 (Trp- α), 44.6 (α Ala- α), 41.3 (Pea-3), 36.9 (Pea-2), 35.0 (β Ala- β), 33.6 (Trp- β), 30.7 (Trp-NCH $_3$), 22.1 (Pea-7), 17.3 (α Ala- β), 16.6 (Pea-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3306, 3066, 2971, 2933, 1719, 1630, 1532 \text{ cm}^{-1}$.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 471.2602, gef. 471.2605.

L-Pea-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr(TIPS)-OH (**31c**)



Polymer-gebundenes β -Tyrosin **74** (0.61 mmol·g⁻¹, 5.5 g, 3.3 mmol) wurde mit Abrin **60**, Fmoc-Ala-OH, und Pentensäure **26** gekuppelt, wie für polymer gebundenes β -Alanin **31b** beschrieben.

Säulenchromatographie (4% - 10% MeOH in CH₂Cl₂) des abgespaltenen Rohprodukts lieferte Säure **31c** als farbloses Wachs, sowie als Nebenprodukt das desilylierte Peptid als farbloses Wachs.

Ausbeute: 1.6 g, 2.2 mmol, 66% (basierend auf der Tyrosin-Beladung),

Nebenprodukt: 0.28 g, 0.50 mmol, 15% (gemäß Tyrosin-Beladung).

DC: $R_f = 0.21$ (CHCl₃/MeOH 20:1).

LC: $t_R = 9.94$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +32.5 ($c = 1.2$ in Chloroform).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis >12:1), Hauptrotamer: δ =8.29 (s, 1H; Trp2-NH), 7.58 (d, ³ J =7.9 Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, ³ J =8.1 Hz, 1H; Trp7-H), 7.16 (t, ³ J =7.6 Hz, 1H; Trp6-H), 7.12 (d, ³ J =8.6 Hz, 2H; β Tyr2-H, β Tyr6-H), 7.10 (t, ³ J =7.0 Hz, 1H; Trp5-H), 6.94 (d, ³ J =1.8 Hz, 1H; Trp α -H), 6.92 (d, ³ J =8.6 Hz, 1H; β Tyr β -NH), 6.80 (d, ³ J =8.6 Hz, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 6.54 (d, ³ J =7.0 Hz, 1H; Ala α -NH), 5.63 (dd, ³ J =10.5/5.9 Hz, 1H; Trp α -H), 5.39 (td, ³ J =8.5/5.0 Hz, 1H; β Tyr β -H), 4.75 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.69 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.68 (dq, ³ J =7.0/7.0 Hz, 1H; Ala α -H), 3.36 (dd, ³ J =5.5 Hz, ² J =15.7 Hz, 1H; Trp β - H_a),

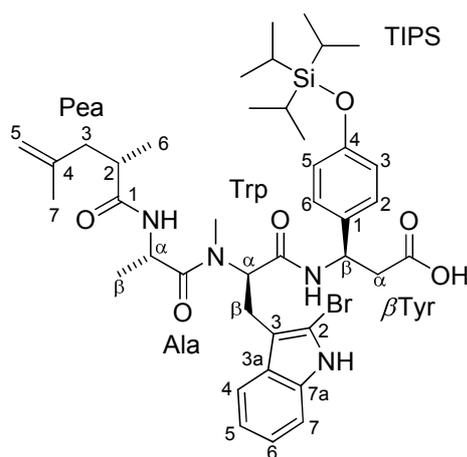
3.25 (dd, $^3J=10.5$ Hz, $^2J=15.8$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.93 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.85 (dd, $^3J=4.8$ Hz, $^2J=14.9$ Hz, 1H; β Tyr α - H_a), 2.76 (dd, $^3J=8.6$ Hz, $^2J=15.0$ Hz, 1H; β Tyr α - H_b), 2.50-2.41(m, 1H; Pea2- H), 2.34 (dd, $^3J=6.5$ Hz, $^2J=14.1$ Hz, 1H; Pea3- H_a), 2.03 (dd, $^3J=8.3$ Hz, $^2J=14.5$ Hz, 1H; Pea3- H_b), 1.66 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.29-1.19 (m, 3H; TIPS), 1.10 (d, $^3J=6.2$ Hz, 3H; Pea6- H_3), 1.08 (d, $^3J=7.3$ Hz, 18H; TIPS), 0.88 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; Ala β - H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta=177.6$ (Pea-1), 174.3 (Ala-C=O), 172.2 (Trp-C=O), 169.1 (β Tyr-C=O), 155.4 (β Tyr-4), 142.6 (Pea-4), 136.1 (Trp-7a), 132.9 (β Tyr-1), 127.4 (Trp-3a), 127.3 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 122.1 (Trp-6), 122.1 (Trp-2), 120.0 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 119.9 (Trp-5), 118.5 (Trp-4), 112.6 (Pea-5), 111.1 (Trp-3), 110.8 (Trp-7), 56.3 (Trp- α), 49.5 (β Tyr- β), 45.7 (Ala- α), 41.6 (Pea-3), 40.6 (β Tyr- α), 38.8 (Pea-2), 30.5 (Trp-NCH₃), 22.9 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 17.9 (6x, TIPS), 17.1 (Ala- β), 16.6 (Pea-6), 12.7 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3296, 2943, 2867, 1734, 1641, 1603, 1541, 1510, 1457$ cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₀H₅₉N₄O₆Si [M+H]⁺: 719.4198, gef. 719.4202.

L-Pea-Ala-*D*-2-Br-*N*-Me-Trp- β Tyr(TIPS)-OH (**22**)



Polymer-gebundenes β -Tyrosin **74** ($0.65 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, 0.55 g , 0.36 mmol) wurde mit Fmoc-2-Br-*N*-Methyl-*D*-Tryptophan **25**, Fmoc-Ala-OH, und Pentensäure **26** gekuppelt, wie für polymer gebundenes β -Alanin **31b** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 7 \text{ cm}$, $d = 2 \text{ cm}$, 2% - 9% MeOH in CHCl_3) des abgespaltenen Rohprodukts lieferte Säure **22** als farbloses Wachs sowie als Nebenprodukt das desilylierte Peptid als farbloses Wachs.

Ausbeute: 80 mg, 0.10 mmol, 28% (gemäß Tyrosin-Beladung),

Nebenprodukt: 91 mg, 0.14 mmol, 40% (gemäß Tyrosin-Beladung).

DC: $R_f = 0.42$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1).

LC: $t_R = 10.07 \text{ min}$.

$[\alpha]_D^{23}$: $+29.3$ ($c = 0.83$ in Chloroform).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): Rotamerengemisch (Verhältnis 9:1), Hauptrotamer: $\delta=8.42$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.51 (d, $^3J=7.6 \text{ Hz}$, 1H; Trp4-H), 7.26-7.23 (m, 1H; Trp7-H), 7.13-7.04 (m, 4H; Trp6-H, β Tyr2-H, β Tyr6-H, Trp5-H), 6.87 (d, $^3J=8.4 \text{ Hz}$, 1H; β Tyr β -NH), 6.80 (d, $^3J=8.4 \text{ Hz}$, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 6.39 (d, $^3J=7.2 \text{ Hz}$, 1H; Ala α -NH), 5.68 (dd, $^3J=8.8/7.6 \text{ Hz}$, 1H; Trp α -H), 5.37 (td, $^3J=8.0/5.6 \text{ Hz}$, 1H; β Tyr β -H), 4.72 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.65 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.59 (dq, $^3J=7.0/7.0 \text{ Hz}$, 1H; Ala α -H), 3.41-3.36 (m, 1H; Trp β - H_a), 3.29-3.24 (m, 1H; Trp β - H_b), 2.99 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.83 (dd, $^3J=5.2 \text{ Hz}$, $^2J=15.0 \text{ Hz}$, 1H; β Tyr α - H_a), 2.74 (dd, $^3J=8.2 \text{ Hz}$, 108

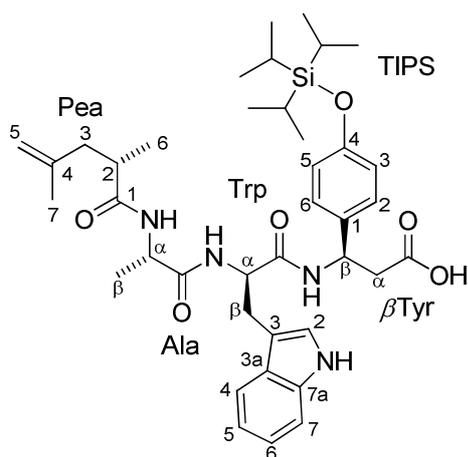
$^2J=15.0$ Hz, 1H; β Tyr α - H_b), 2.45-2.27(m, 2H; Pea2- H , Pea3- H_a), 2.07-1.96 (m, 1H; Pea3- H_b), 1.63 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.29-1.18 (m, 3H; TIPS), 1.09 (d, $^3J=7.2$ Hz, 18H; TIPS), 1.06 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; Pea6- H_3), 0.62 (d, $^3J=7.2$ Hz, 3H; Ala β - H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta=177.5$ (Pea-1), 174.1 (Ala- $C=O$), 172.1 (Trp- $C=O$), 168.9 (β Tyr- $C=O$), 155.4 (β Tyr-4), 142.5 (Pea-4), 136.0 (Trp-7a), 132.8 (β Tyr-1), 127.5 (Trp-3a), 127.4 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 122.3 (Trp-6), 120.1 (Trp-5), 119.9 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 118.2 (Trp-4), 112.6 (Pea-5), 110.5 (Trp-3), 110.4 (Trp-7), 109.0 (Trp-2), 55.6 (Trp- α), 49.6 (β Tyr- β), 45.5 (Ala- α), 41.6 (Pea-3), 40.5 (β Tyr- α), 38.7 (Pea-2), 30.7 (Trp-N CH_3), 23.0 (Trp- β), 22.1 (Pea-7), 17.9 (6x, TIPS), 17.6 (Pea-6), 17.0 (Ala- β), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 2944, 2867, 1645, 1511, 1453$ cm^{-1} .

HR-MS (ESI): ber. für $C_{40}H_{58}^{79}BrN_4O_6Si$ $[M+H]^+$: 797.3304, gef. 797.3311.

L-Pea-Ala-D-Trp- β Tyr(TIPS)-OH (**32a**)



Polymer-gebundenes β -Tyrosin **74** (0.65 mmol·g⁻¹, 0.76 g, 0.49 mmol) wurde mit Fmoc-D-Trp-OH, Fmoc-Ala-OH, und Pentensäure **26** gekuppelt, wie für polymer gebundenes β -Alanin **31a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 15$ cm, $d = 2$ cm, 4% - 10% MeOH in CHCl₃) des abgespaltenen Rohprodukts (0.47 g) lieferte Säure **32a** als farbloses Wachs sowie als Nebenprodukt das desilylierte Peptid als farbloses Wachs.

Ausbeute: 69 mg, 98 μ mol, 20% (basierend auf der Tyrosin-Beladung),

Nebenprodukt: 68 mg, 0.12 mmol, 25% (gemäß Tyrosin-Beladung).

DC: $R_f=0.65$ (CHCl₃/MeOH 5:1).

LC: $t_R = 9.57$ min.

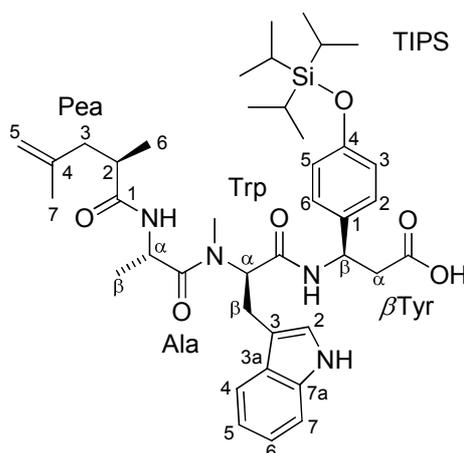
$[\alpha]_D^{23}$: +8.5 ($c = 1.0$ in Methanol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta=8.72$ (br s, 1H; Trp2-NH), 7.58-7.52 (m, 1H; Trp4-H), 7.58-7.40 (m, 2H; β Tyr2-H, β Tyr6-H), 7.34-6.80 (m, 7H; Trp7-H, Trp6-H, Trp5-H, Trp2-H, β Tyr β -NH, Ala α -NH, Trp α -NH), 6.70 (d, ³ $J=6.8$ Hz, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 5.46-5.26 (m, 1H; β Tyr β -H), 4.92-4.79 (m, 1H; Trp α -H), 4.71 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.63 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.35-4.15 (m, 1H; Ala α -H), 3.29-3.08 (m, 2H; Trp β - H_2), 2.90-2.72 (m, 1H; β Tyr α - H_a), 2.72-2.54 (m, 1H; β Tyr α - H_b), 2.50-2.31 (m, 1H; Pea2-H), 2.31-2.15 (m, 1H; Pea3- H_a), 2.05-1.85 (m, 1H; Pea3- H_b), 1.59 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.30-1.11 (m, 6H; TIPS, Pea6- H_3), 1.08 (d, ³ $J=7.3$ Hz, 18H; TIPS), 0.99 (d, ³ $J=4.8$ Hz, 3H; Ala β - H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ =177.3 (Pea-1), 173.0 (Ala-C=O), 173.0 (Trp-C=O), 171.2 ($\beta\text{Tyr-C=O}$), 155.1 ($\beta\text{Tyr-4}$), 142.7 (Pea-4), 136.0 (Trp-7a), 133.1 ($\beta\text{Tyr-1}$), 127.5 (Trp-3a), 127.1 (2x, $\beta\text{Tyr-2}$, $\beta\text{Tyr-6}$), 123.7 (Trp-2), 121.7 (Trp-6), 119.8 (2x, $\beta\text{Tyr-3}$, $\beta\text{Tyr-5}$), 119.3 (Trp-5), 118.3 (Trp-4), 112.5 (Pea-5), 111.3 (Trp-7), 109.5 (Trp-3), 54.0 (Trp- α), 49.6 ($\beta\text{Tyr-}\beta/\text{Ala-}\alpha$), 49.4 (Ala- $\alpha/\beta\text{Tyr-}\beta$), 41.5 ($\beta\text{Tyr-}\alpha$), 41.5 (Pea-3), 38.5 (Pea-2), 27.1 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 17.9 (6x, TIPS), 17.6 (Ala- β), 17.0 (Pea-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{57}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 705.4042, gef. 705.4043.

D-Pea-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- βTyr (TIPS)-OH (**32b**)



Polymer-gebundenes β -Tyrosin **74** ($0.65 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, 0.31 g, 0.20 mmol) wurde mit Abrin **60**, Fmoc-Ala-OH, und Pentensäure **26** gekuppelt, wie für polymer gebundenes β -Alanin **31b** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 7 \text{ cm}$, $d = 2 \text{ cm}$, 2% - 9% MeOH in CHCl_3) des abgespaltenen Rohprodukts (0.12 g) lieferte Säure **32b** als farbloses Wachs, sowie als Nebenprodukt das desilylierte Peptid **78** als farbloses Wachs.

Zur Resilylierung wurde unter Argonatmosphäre zu einer Lösung des Peptids **78** (68 mg, 0.12 mmol) in abs. CH_2Cl_2 (9 mL) in einem 25 mL-Rundkolben bei 23°C 2,6-Lutidin (4.0 Äq., 0.48 mmol, 56 μL) in einer Portion mit einer Spritze hinzugegeben, bevor TIPSOTf (3.0 Äq., 0.36 mmol, 97 μL) mit einer Pipette zugetropft wurde.^[100] Die Lösung wurde bei 23°C für 1 h gerührt. Nach Zugabe von Wasser (10 mL) wurden die Phasen der resultierenden zweiphasigen Mischung getrennt. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (4x 10 mL) extrahiert.

Die vereinten organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das zurückbleibende Öl (0.15 g) wurde in THF/MeOH/Wasser (2:1:1 v/v/v, 7 mL) gelöst, festes K_2CO_3 (36 mg, 26 mmol) bei 23 °C zugegeben und für 2 h bei 23 °C gerührt. Wässrige HCl-Lösung (2 M, 1 mL) wurde bei 23 °C hinzugegeben, die Mischung bei 23 °C für 90 min gerührt und dann mit AcOEt (6 mL) und Wasser (5 mL) verdünnt. Die abgetrennte wässrige Phase wurde mit AcOEt (4x 6 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Säulenchromatographie ($h = 11$ cm, $d = 1$ cm, 3% - 10% MeOH in CH_2Cl_2) lieferte das silylierte Peptid **32b** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 29 mg, 40 μmol , 20% (für die Festphasenpeptidsynthese),
Nebenprodukt: 32 mg, 57 μmol , 28% (gemäß Tyrosin-Beladung).

Ausbeute: 53 mg, 74 μmol , 61% (für die Silylierung in Lösung)

DC: $R_f = 0.44$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 10:1).

LC: $t_R = 9.93$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +71.1 ($c = 0.23$ in Chloroform).

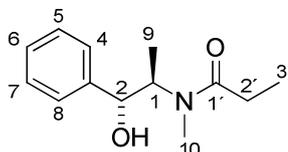
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): Rotamerengemisch (Verhältnis 4:1), Hauptrotamer: $\delta = 8.47$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.55 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.17-7.04 (m, 4H; Trp6-H, $\beta\text{Tyr}2$ -H, $\beta\text{Tyr}6$ -H, Trp5-H), 6.92 (s, 1H; Trp2-H), 6.78 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3$ -H, $\beta\text{Tyr}5$ -H), 6.80-6.70 (m, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta$ -NH), 5.60 (dd, $^3J = 9.5/5.6$ Hz, 1H; Trp α -H), 5.40 (td, $^3J = 7.3/6.2$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta$ -H), 4.74 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.67 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.70-4.60 (m, 1H; Ala α -H), 3.37 (dd, $^3J = 5.1$ Hz, $^2J = 15.6$ Hz, 1H; Trp β - H_a), 3.22 (dd, $^3J = 10.8$ Hz, $^2J = 15.4$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.91 (s, 3H; Trp-NCH $_3$), 2.96-2.89 (m, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ - H_a), 2.84-2.76 (m, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ - H_b), 2.45 (d, $^3J = 13.8/6.8$ Hz, 1H; Pea2-H), 2.33 (dd, $^3J = 7.7$ Hz, $^2J = 13.7$ Hz, 1H; Pea3- H_a), 2.02 (dd, $^3J = 6.2$ Hz, $^2J = 13.3$ Hz, 1H; Pea3- H_b), 1.67 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.32-1.16 (m, 3H; TIPS), 1.08 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 18H; TIPS), 1.06 (d, $^3J = 9.1$ Hz, 3H; Pea6- H_3), 0.85 (d, $^3J = 6.7$ Hz, 3H; Ala β - H_3) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ=177.3 (Pea-1), 174.5 (Ala-C=O), 173.0 (Trp-C=O), 169.1 (βTyr-C=O), 155.3 (βTyr-4), 142.8 (Pea-4), 136.1 (Trp-7a), 133.1 (βTyr-1), 127.3 (2x, βTyr-2, βTyr-6), 127.3 (Trp-3a), 122.2 (Trp-2/Trp-6), 121.9 (Trp-6/Trp-2), 119.8 (2x, βTyr-3, βTyr-5), 119.3 (Trp-5), 118.4 (Trp-4), 112.4 (Pea-5), 111.1 (Trp-3), 110.6 (Trp-7), 56.5 (Trp-α), 49.6 (βTyr-β), 45.7 (Ala-α), 42.0 (Pea-3), 40.8 (βTyr-α), 38.9 (Pea-2), 30.6 (Trp-NCH₃), 23.0 (Trp-β), 22.2 (Pea-7), 17.9 (6x, TIPS), 17.1 (Ala-β), 16.6 (Pea-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₀H₅₉N₄O₆Si [M+H]⁺: 719.4198, gef. 719.4215.

6.2.8 Versuche zum Kapitel 4.2.7 - Synthese der Alkoholbausteine

N-((1*R*,2*R*)-1-Hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)-*N*-methylpropionamid (**82**)



Zu einer Lösung von (-)-Pseudoephedrin (21.0 g, 127 mmol) und Et₃N (1.20 Äq., 153 mmol, 21.3 mL) in abs. CH₂Cl₂ (250 mL) in einem 1 L-Rundkolben im Wasserbad (23 °C) wurde Propionsäureanhydrid (1.07 Äq., 136 mmol, 17.4 mL) mit einer Spritze in 1 mL-Portionen innerhalb von 30 min zugegeben.^[130] Die Reaktionslösung wurde bei 23 °C für 20 min gerührt, bevor Wasser (40 mL) hinzugefügt wurde. Die organische Phase wurde mit halbgesättigter wässriger NaHCO₃-Lösung (2x 40 mL) und wässriger HCl-Lösung (1M, 2x 40 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Umkristallisation (Toluol, 60mL, 110 °C) des festen Rückstandes (28.5 g) lieferte Propionamid **82** als bekannten^[130] farblosen Feststoff.

Ausbeute: 25.8 g, 117 mmol, 92%.

DC: $R_f = 0.46$ (AcOEt/Cyclohexan 2:1).

Schmp.: 113 - 114 °C.

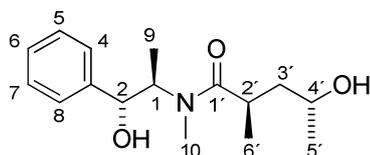
¹H NMR (400 MHz, C₆D₆, 27 °C): Rotamerengemisch (Verhältnis 2:1), Hauptrotamer: $\delta = 7.34$ (d, $^3J = 7.3$ Hz, 2H, 4-*H*, 8-*H*), 7.19-7.12 (m, 2H, 5-*H*, 7-*H*), 7.07 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 1H, 6-*H*), 5.01 (brs, 1H, 2-OH), 4.53 (d, $^3J = 7.4$ Hz, 1H, 2-*H*), 4.35 (brs, 1H, 1-*H*), 3.04-2.93 (m, 1H, 4'-*H*), 2.14 (s, 3H, 10-*H*₃), 1.87-1.68 (m, 2H, 2'-*H*₂), 1.01 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 3H, 3'-*H*₃), 0.94 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 3H, 9-*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 27 °C): Rotamerengemisch (Verhältnis 2:1), Hauptrotamer: $\delta = 175.2$ (C-1'), 143.8 (C-3), 128.4 (2x, C-5, C-7), 127.9 (C-6), 126.9 (2x, C-4, C-8), 76.4 (C-2), 58.5 (C-1), 27.5 (C-2'/C-10), 26.7 (C-10/C-2'),

14.4 (C-9), 9.4 (C-3') ppm; Hauptrotamer: $\delta=174.4$ (C-1'), 142.9 (C-3), 128.5 (2x, C-5, C-7), 128.1 (C-6), 127.4 (C-4/C-8), 127.4 (C-8/C-4), 75.3 (C-2), 58.9 (C-1), 32.4 (C-10), 26.9 (C-2'), 15.2 (C-9), 10.0 (C-3') ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₁₃H₂₀NO₂ [M+H]⁺: 222.1489, gef. 222.1488.

(2*R*,4*R*)-4-Hydroxy-*N*-((1*R*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)-*N*,2-dimethylpentanamid (**84**)



Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von *n*BuLi (2.21 Äq., 145 mmol) in Hexan (2.50M; 58.0 mL) mit einer Spritze bei -78 °C innerhalb von 15 min zu einer Lösung von LiCl (6.00 Äq., 39.4 mmol, 16.7 g) und Diisopropylamin (2.10 Äq., 138 mmol, 19.3 mL) in abs. THF (80 mL) in einem 500 mL-Rundkolben getropft.^[116] Die Reaktionslösung wurde bei -78 °C für 50 min und bei 0 °C für 10 min gerührt. Bei -78 °C wurde eine Lösung von Propionamid **82** (14.5 g, 65.6 mmol) in abs. THF (160 mL) mit einer Transferkanüle innerhalb von 15 min hinzuge tropft und die Reaktionslösung bei -78 °C für 70 min, bei 0 °C für 10 min, und dann bei 23 °C für 7 min gerührt. Bei 0 °C wurde (*R*)-Propylenoxid (2.00 Äq., 131 mmol, 9.17 mL) innerhalb von 30 s mit einer Spritze hinzugegeben, die Lösung auf -8 °C abgekühlt und für 3.5 h gerührt, wobei langsam auf 1.5 °C aufgewärmt wurde. Eine ges. wässrige Lösung von NH₄Cl (200 mL) wurde hinzugegeben, und das resultierende zweiphasige Gemisch mit Wasser (200 mL) und AcOEt (200 mL) verdünnt. Die abgetrennte wässrige Phase wurde mit AcOEt (2x 200 mL, 1x 100 mL) und CH₂Cl₂ (1x 200 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das resultierende gelbe Öl (18.2 g) wurde durch Säulenchromatographie (*h* = 19 cm, *d* = 8 cm, 25% - 100% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Es wurde Hydroxypentanamid **84** als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 15.8 g, 56.6 mmol, 86%.

DC: $R_f = 0.30$ (AcOEt).

LC: $t_R = 5.68$ min.

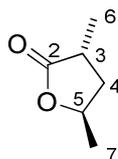
GC: $t_R = 7.29$ min (Hauptdiastereomer),
 $t_R = 7.38$ min (Nebendiastereomer),
 $d.e. = 86\%$
(nach *O,O*-Diacetylierung durch Behandlung mit DMAP/Ac₂O
für 2 min, gefolgt von wässriger Aufarbeitung).

¹H NMR (500 MHz, C₆D₆): Rotamerengemisch (Verhältnis 4:1), Hauptrotamer:
 $\delta = 7.38$ (d, $^3J = 7.0$ Hz, 2H; 4-*H*, 8-*H*), 7.17 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2H; 5-*H*, 7-*H*), 7.08 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 1H; 6-*H*), 5.54 (br s, 1H; 2-*OH*), 4.82 (br s, 1H; 4'-*OH*), 4.39 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H; 2-*H*), 3.92-3.85 (m, 1H; 1-*H*), 3.04-2.93 (m, 1H; 4'-*H*), 2.57 (s, 3H; 10-*H*₃), 2.00 (ddd, $^3J = 13.3/10.3/2.5$ Hz, 1H; 2'-*H*), 1.41 (ddd, $^3J = 10.0/3.8$ Hz, $^2J = 13.5$ Hz, 1H; 3'-*H*_a), 1.24 (d, $^3J = 6.5$ Hz, 3H; 6'-*H*₃), 1.09 (dd, $^3J = 6.3$ Hz, $^2J = 13.3$ Hz, 1H; 3'-*H*_b), 0.99 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 3H; 9-*H*₃), 0.75 (d, $^3J = 6.5$ Hz, 3H; 5'-*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis 6:1), Hauptrotamer:
 $\delta = 178.3$ (C-1'), 143.0 (C-3), 128.5 (2x, C-5, C-7), 127.8 (C-6), 127.4 (2x, C-4, C-8), 75.9 (C-2), 65.4 (2x, C-1, C-4'), 43.8 (C-3'), 33.1 (2x, C-2', C-10), 24.7 (C-5'), 18.2 (C-6'), 14.5 (C-9) ppm.

HR-MS (FAB): ber. für C₁₆H₂₆NO₃ [M+H]⁺: 280.1907, gef. 280.1906.

(3*R*,5*R*)-3,5-Dimethyldihydrofuran-2(3*H*)-on (**85**)



Konzentrierte Schwefelsäure (2.0 Äq., 0.30 mol, 29 mL) wurde in Wasser (150 mL) gelöst und dann bei 23°C innerhalb von 5 min mit einer Pipette zu einer Lösung des Hydroxypentenamids **84** (41.8 g, 150 mmol) in abs. 1,4-Dioxan (500 mL) in einem 1 L-Rundkolben getropft. Die Reaktionslösung wurde für 90 min unter Rückfluss (115°C Ölbadtemperatur) erhitzt. Nach Abkühlen auf 23°C wurden ges. wässrige NaHCO₃-Lösung (500 mL) und CH₂Cl₂ (300 mL) zugegeben. Die wässrige Phasen (pH 7 - pH 8) wurde mit CH₂Cl₂ (2x 100 mL, 2x 75mL, 1x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck (400 mbar, 40°C) auf ein Restvolumen von 1 L eingengt. Weiteres Lösungsmittel wurde bei Raumdruck abdestilliert (1 bar, 130°C). Destillation der zurückbleibenden Flüssigkeit (40 mbar, 110 °C) lieferte das bekannte^[131] Lakton **85** als farblose Flüssigkeit.

Ausbeute: 11.8 g, 103 mmol, 69%.

DC: $R_f = 0.87$ (AcOEt).

Siedep.: 96°C ($p = 42$ mbar).

[α]_D²³: +43.3 ($c = 1.0$ in 1,4-Dioxan).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): Diastereomeregemisch (Verhältnis 10:1), Hauptdiastereomer: $\delta=4.67-4.57$ (m, 1H; 5-*H*), 2.71-2.62 (m, 1H; 3-*H*), 2.06-1.94 (m, 2H; 4-*H*₂), 1.32-1.27 (m, 3H; 7-*H*₃), 1.23-1.18 (m, 3H; 6-*H*₃) ppm; Nebendiastereomer: $\delta=4.49-4.36$ (m, 1H; 5-*H*), 2.49-2.43 (m, 1H; 3-*H*), 2.06-1.94 (m, 2H; 4-*H*₂), 1.37-1.33 (m, 3H; 7-*H*₃), 1.23-1.18 (m, 3H; 6-*H*₃) ppm.

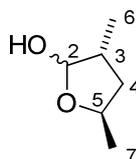
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): Diastereomeregemisch (Verhältnis 10:1), Hauptdiastereomer: $\delta=179.8$ (C-2), 74.4 (C-5), 36.8 (C-4), 33.8 (C-3), 20.8 (C-7),

15.5 (C-6) ppm; Nebendiastereomer: δ =179.8 (C-2), 74.7 (C-5), 38.9 (C-4), 33.8 (C-3), 20.7 (C-7), 14.9 (C-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 2977, 2937, 2879, 1766, 1456, 1385 cm^{-1} .

HR-MS (CI): ber. für $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 115.0754, gef. 115.0752.

(3*R*,5*R*)-3,5-Dimethyltetrahydrofuran-2-ol (**86**)



Unter Argonatmosphäre wurde bei -78°C zu einer Lösung des Laktons **85** (10 g, 88 mmol) in abs. CH_2Cl_2 (29 mL) in einem 500 mL-Rundkolben eine Lösung von DIBAL-H (1.2 Äq., 0.11 mol) in CH_2Cl_2 (1M; 0.11 L) mit einem Tropftrichter innerhalb von 35 min getropft. Die Reaktionslösung wurde für 35 min bei -78°C gerührt und ges. wässrige NH_4Cl -Lösung von (50 mL) bei -78°C hinzugegeben. Das resultierende zweiphasige Gemisch wurde bei 23°C für 14 h gerührt und dann durch Zugabe von ges. wässriger Natriumkaliumtartrat-Lösung (50 mL) und CH_2Cl_2 (50 mL) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (4x 50 mL) extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit Wasser (1x 40 mL) und ges. wässriger NaCl -Lösung (1x 50 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck (500 mbar, 40°C) eingeeengt. Es wurde das bekannte^[132] Laktol **86** als farblose Flüssigkeit, die ohne Aufreinigung für die folgende Reaktion verwendet wurde, erhalten.

Ausbeute: 7.0 g, 59 mmol, 68%.

DC: $R_f=0.78$ (AcOEt).

GC: $t_R = 2.54$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +4.8 ($c = 1.0$ in 1,4-Dioxan).

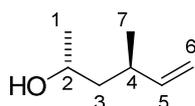
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): Anomerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptanomer: δ=5.25 (s, 1H; 2-*H*), 4.32-4.20 (m, 2H; 2-OH, 5-*H*), 2.24-2.16 (m, 1H; 3-*H*), 1.87-1.79 (m, 1H; 4-*H*_a), 1.63 (ddd, ³*J*= 6.5/2.8 Hz, ²*J*= 12.3 Hz, 1H; 4-*H*_b), 1.27 (d, ³*J*=6.3 Hz, 3H; 7-*H*₃), 0.95 (d, ³*J*=7.3 Hz, 3H; 6-*H*₃) ppm; Nebenanomer: δ=5.00 (br s, 1H; 2-*H*), 4.37 (dq, ³*J*= 12.5/6.3/3.5 Hz, 1H; 5-*H*), 4.08 (br s, 1H; 2-OH), 2.24-2.16 (m, 1H; 3-*H*), 1.87-1.79 (m, 1H; 4-*H*_a), 1.57 (ddd, ³*J*= 8.5/3.5 Hz, ²*J*= 12.0 Hz, 1H; 4-*H*_b), 1.12 (d, ³*J*=6.4 Hz, 3H; 7-*H*₃), 1.00 (d, ³*J*=6.9 Hz, 3H; 6-*H*₃) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): Anomerengemisch (Verhältnis 1.5:1), Hauptanomer: δ=104.1 (*C*-2), 75.2 (*C*-5), 40.7 (*C*-3), 38.4 (*C*-4), 23.1 (*C*-7), 16.7 (*C*-6) ppm; Nebenanomer: δ=99.3 (*C*-2), 73.7 (*C*-5), 37.5 (*C*-4), 37.1 (*C*-3), 22.1 (*C*-7), 12.9 (*C*-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3407, 2967, 2933, 2877, 1460, 1379 cm⁻¹.

HR-MS (CI): ber. für C₆H₁₁O [M-OH]⁺: 99.0804, gef. 99.0804.

(2*R*,4*R*)-4-Methylhex-5-en-2-ol (**87**)



Eine Lösung von *n*BuLi (2.2 Äq., 68 mmol) in Hexan (2.5 M; 27 mL) wurde mit einer Spritze bei -78°C innerhalb von 20 min zu einer Suspension von Methyltriphenylphosphoniumiodid (2.2 Äq., 68 mmol, 28 g) in abs. THF (160 mL) in einem 500 mL-Rundkolben getropft. Die resultierende orangefarbene Suspension wurde bei -78°C für 1 h gerührt. Laktol **86** (3.6 g, 31 mmol) wurde mit einer Spritze innerhalb von 10 min bei -78°C hinzugegeben und die Suspension zuerst für 1 h bei -78°C, dann für 2 h bei 0°C gerührt. Ges. wässrige NH₄Cl Lösung (100mL) wurde hinzugegeben und das zweiphasige Gemisch mit Et₂O (500 mL) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit Et₂O (2x 150 mL, 1x 100 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen getrocknet (MgSO₄) und unter

vermindertem Druck (150 mbar, 40 °C) eingengt. Es wurde Hexenol **87**, welches als Racemat in der Literatur beschrieben ist,^[133] als farblose Flüssigkeit erhalten.

Ausbeute: 2.3 g, 20 mmol, 65%.

DC: $R_f = 0.38$ (Et₂O/Cyclohexan 1:1).

GC: $t_R = 2.25$ min.

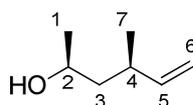
$[\alpha]_D^{23}$: 40.7 ($c = 2.0$ in Chloroform).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.64$ (ddd, $^3J = 18.0/10.1/8.2$ Hz, 1H; 5-*H*), 4.98 (d, $^3J = 17.1$ Hz, 1H; 6-*H*_{trans}), 4.91 (d, $^3J = 10.3$ Hz, 1H; 6-*H*_{cis}), 3.83-3.75 (m, 1H; 2-*H*), 2.38-2.28 (m, 1H; 4-*H*), 1.90 (br s, 1H; 2-OH), 1.41 (ddd, $^3J = 8.8/5.0$ Hz, $^2J = 13.8$ Hz, 1H; 3-*H*_a), 1.36-1.30 (m, 1H; 3-*H*_b), 1.13 (d, $^3J = 6.2$ Hz, 3H; 1-*H*₃), 0.97 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; 7-*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 144.1$ (*C*-5), 113.2 (*C*-6), 65.9 (*C*-2), 46.0 (*C*-3), 34.8 (*C*-4), 23.9 (*C*-1), 20.9 (*C*-7) ppm.

HR-MS (CI): ber. für C₇H₁₃ [M-OH]⁺: 97.1012, gef. 97.1010.

(2*S*,4*R*)-4-Methylhex-5-en-2-ol (**23**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung von Hexenol **87** (1.5 g, 13 mmol), *para*-Nitrobenzoesäure (2.0 Äq., 26 mmol, 4.4 g) und PPh₃ (2.0 Äq., 26 mmol, 6.9 g), in abs. THF (30 mL) in einem 50 mL-Rundkolben DIAD (2.0 Äq., 26 mmol, 5.2 mL) mit einer Spritze innerhalb von 5 min bei 0°C getropft. Die Reaktionslösung wurde bei 0°C für 1 h gerührt. Unter langsamem Erwärmen auf 23°C wurde für weitere 18 h gerührt. Nach Zugabe von Et₂O (80 mL) und ges. wässriger NaHCO₃-Lösung (100 mL) wurde die wässrige Phase (pH 9) mit Et₂O (2x 100 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 80 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der feste gelbe Rückstand (16 g) wurde durch Säulenchromatographie (*h* = 14.5 cm, *d* = 8 cm, 3% Et₂O in *n*-Pentan) aufgereinigt. Es wurde (2'*S*,4'*R*)-4-Nitrobenzoesäure-(4'-Methyl-)hex-5'-en-2'-ylester, welcher als Racemat in der Literatur beschrieben ist,^[133] als gelbliche Flüssigkeit erhalten.

Ausbeute: 2.4 g, 9.0 mmol, 69%.

DC: *R*_f = 0.53 (Cyclohexan/AcOEt 6:1).

GC: *t*_R = 6.29 min.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ=8.25 (d, ³*J*=9.0 Hz, 2H), 8.17 (d, ³*J*=9.0 Hz, 2H), 5.70 (ddd, ³*J*=17.9/10.3/7.7 Hz, 1H), 5.25-5.18 (m, 1H), 4.97 (ddd, ³*J*=17.2/1.3 Hz, ²*J*=1.3 Hz, 1H), 4.87 (ddd, ³*J*=10.3/1.5 Hz, ²*J*=1.4 Hz, 1H), 2.30-2.20 (m, 1H), 1.85 (ddd, ³*J*=7.7/7.7 Hz, ²*J*=14.0 Hz), 1.54 (ddd, ³*J*=6.3/6.3 Hz, ²*J*=13.8 Hz), 1.35 (d, ³*J*=6.3 Hz, 3H), 1.02 (d, ³*J*=6.8 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ=164.0, 150.3, 143.4, 136.1, 130.5 (2x), 123.3 (2x), 113.0, 71.4, 42.5, 34.8, 20.3, 20.1 ppm.

HR-MS (CI): ber. für C₁₆H₂₂NO₄ [M+C₂H₅]⁺: 292.1543, gef. 292.1549.

Zu einer Lösung von (2'*S*,4'*R*)-4-Nitrobenzoesäure-(4'-Methyl-)hex-5'-en-2'-ylester (2.4 g, 9.0 mmol) in THF (20 mL) und MeOH (9 mL) in einem 50 mL-Rundkolben wurde bei 0°C eine Lösung von NaOH (2.5 Äq., 22 mmol, 0.90 g) in Wasser (12 mL) mit einer Pasteurpipette innerhalb von 3 min gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 12 h bei 23°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser (50 mL) wurde mit Et₂O (4x 20 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das zurückbleibende Öl (1.7 g) wurde durch Säulenchromatographie (*h* = 18 cm, *d* = 3 cm, 3% - 7% Et₂O in Pentan) aufgereinigt. Es wurde Hexenol **23**, welches als Racemat in der Literatur beschrieben ist,^[133] als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 0.70 g, 6.1 mmol, 68%.

DC: *R*_f=0.38 (Et₂O/Cyclohexan 1:1).

GC: *t*_R = 2.28 min.

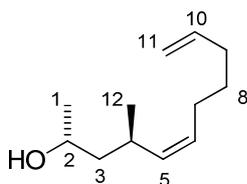
[α]_D²³: -8.8 (*c* = 1.5 in Chloroform).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ=5.69 (dddd, ⁴*J*=0.7 Hz, ³*J*=18.1/10.2/7.9 Hz, 1H; 5-*H*), 4.96 (dm, ³*J*=17.2 Hz, 1H; 6-*H*_{trans}), 4.87 (dm, ³*J*=10.2 Hz, 1H; 6-*H*_{cis}), 3.84-3.75 (m, 1H; 2-*H*), 2.30-2.18 (m, 1H; 4-*H*), 2.13 (br s, 1H; *OH*), 1.48 (ddd, ³*J*=7.8/7.8 Hz, ²*J*=13.7 Hz, 3-*H*_a), 1.33-1.25 (m, 1H; 3-*H*_b), 1.12 (dd, ⁴*J*=0.7 Hz, ³*J*=6.2 Hz, 3H; 1-*H*₃), 0.96 (dd, ⁴*J*=0.6 Hz, ³*J*=6.7 Hz, 3H; 7-*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ=144.7 (*C*-5), 112.6 (*C*-6), 66.2 (*C*-2), 46.1 (*C*-3), 35.3 (*C*-4), 23.5 (*C*-1), 20.3 (*C*-7) ppm.

HR-MS (CI): ber. für C₇H₁₃ [M-OH]⁺: 97.1012, gef. 97.1009.

(2*R*,4*R*,*Z*)-4-Methylundeca-5,10-dien-2-ol (**88**)



Unter Argonatmosphäre wurde bei -78°C zu einer Suspension von 5-Hexenyltriphenylphosphoniumiodid (2.2 Äq., 14 mmol, 6.7 g) in abs. THF (70 mL) in einem 250 mL-Rundkolben innerhalb von 10 min mit einer Spritze eine Lösung von *n*BuLi (2.2 Äq., 14 mmol) in Hexan (2.5 M; 5.7 mL) getropft. Die resultierende orangefarbene Suspension wurde bei -78°C für 1 h gerührt. Laktol **86** (0.75 g, 6.4 mmol) wurde mit einer Spritze innerhalb von 4 min bei -78°C hinzuge tropft, die Suspension zuerst für 2 h bei -78°C und dann für 2 h bei 0°C gerührt. Nach Zugabe von ges. wässrige NH_4Cl Lösung (40mL) wurde die zweiphasige Mischung mit Et_2O (100 mL) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit Et_2O (3x 40 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingengt. Säulenchromatographie ($h = 10.5$ cm, $d = 3$ cm, 0% - 30% Et_2O in *n*-Pentan) lieferte Undecadienol **88** als farbloses Öl.

Ausbeute: 0.82 g, 4.5 mmol, 70%.

DC: $R_f=0.09$ (Cyclohexan/ Et_2O 3:1).

GC: $t_R = 4.31$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: -17.1 ($c = 1.0$ in Chloroform).

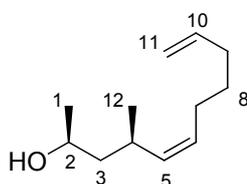
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta=5.77$ (ddt, $^3J=16.9/10.2/6.7$ Hz, 1H; 10-*H*), 5.30 (dt, $^3J= 10.5/7.4$ Hz, 1H; 6-*H*), 5.08 (tt, $^3J=10.3/1.4$ Hz, 1H; 5-*H*), 4.97 (ddd, $^4J=3.5$ Hz, $^3J=17.1$ Hz, $^2J=1.6$ Hz, 1H; 11-*H*_{trans}), 4.91 (ddt, $^4J=1.1$ Hz, $^3J=10.2$ Hz, $^2J= 2.1$ Hz, 1H; 11-*H*_{cis}), 3.75-3.68 (m, 1H; 2-*H*), 2.70-2.60 (m, 1H; 4-*H*), 2.13-1.93 (m, 4H; 7-*H*₂, 9-*H*₂), 1.47-1.36 (m, 3H; 3-*H*_a, 8-*H*₂), 1.27-1.20 (m, 1H; 3-*H*_b), 1.13 (d, $^3J=6.3$ Hz, 3H; 1-*H*₃), 0.91 (d, $^3J=6.7$ Hz, 3H; 12-*H*₃) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ =138.7 (C-10), 135.8 (C-5), 128.7 (C-6), 114.4 (C-11), 66.0 (C-2), 46.8 (C-3), 33.2 (C-9), 29.1 (C-8), 28.4 (C-4), 26.8 (C-7), 24.0 (C-1), 21.7 (C-12) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3390, 2964, 2927, 1641, 1456, 1376 cm^{-1} .

HR-MS (EI): ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{20}$ $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$: 164.1560, gef. 164.1562.

(2*S*,4*R*,*Z*)-4-Methylundeca-5,10-dien-2-ol (**89**)



Unter Argonatmosphäre wurde bei 0°C zu einer Lösung von Undecadienol **88** (0.45 g, 2.5 mmol), *para*-Nitrobenzoesäure (1.9 Äq., 4.8 mmol, 0.80 g) und PPh_3 (1.9 Äq., 4.8 mmol, 1.3 g) in abs. THF (6 mL) in einem 10 mL-Rundkolben mit einer Spritze innerhalb von 2.5 min DIAD (1.8 Äq., 3.8 mmol, 0.87 mL) getropft. Nach Entfernen des Eisbades wurde die Lösung für 19 h bei 23°C gerührt. Nach Zugabe von ges. wässriger NaHCO_3 -Lösung (20 mL) und Et_2O (15 mL) wurde die wässrige Phase (pH 9) mit Et_2O (2x 20 mL) extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit ges. wässriger NaCl -Lösung (1x 20 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und unter vermindertem Druck eingengt. Das zurückbleibende orangefarbene Öl (3 g) wurde durch Säulenchromatographie (h = 11.5 cm, d = 4 cm, 3% Et_2O in *n*-Pentan) aufgereinigt. Es wurde (2'*S*,4'*R*)-4-Nitrobenzoesäure-(4'-methyl-)undecadienylester als orangefarbenes Öl erhalten.

Ausbeute: 0.58 g, 1.8 mmol, 71%.

GC: t_{R} = 7.33 min.

$[\alpha]_{\text{D}}^{23}$: +46.7 (c = 1.0 in Chloroform).

HR-MS (CI): ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{CH}_3]^+$: 346.2013, gef. 346.2012.

Zu einer Lösung von (2'*S*,4'*R*)-4-Nitrobenzoesäure-(4'-methyl-)undecadienylester (0.40 g, 1.2 mmol) in THF (2.6 mL) und MeOH (1.2 mL) in einem 5 mL-Rundkolben wurde mit einer Pasteurpipette bei 0°C eine Lösung von NaOH (2.5 Äq., 3.0 mmol, 0.12 g) in Wasser (1.6 mL) gegeben. Nach Entfernen des Eisbades wurde die Lösung für 15 h bei 23°C gerührt. Nach Zugabe von halbgesättigter wässriger NaCl-Lösung (10 mL) und Et₂O (5 mL) wurde die Reaktionslösung mit Et₂O (4x 5 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das zurückbleibende Öl (0.2 g) wurde durch Säulenchromatographie ($h = 6.5$ cm, $d = 2$ cm, 2% - 7% Et₂O in *n*-Pentan) aufgereinigt. Es wurde Undecadienol **89** als gelbliches Öl erhalten.

Ausbeute: 0.19 g, 1.1 mmol, 88%.

GC: $t_R = 4.37$ min.

[α]_D²³: -3.3 ($c = 1.0$ in Chloroform).

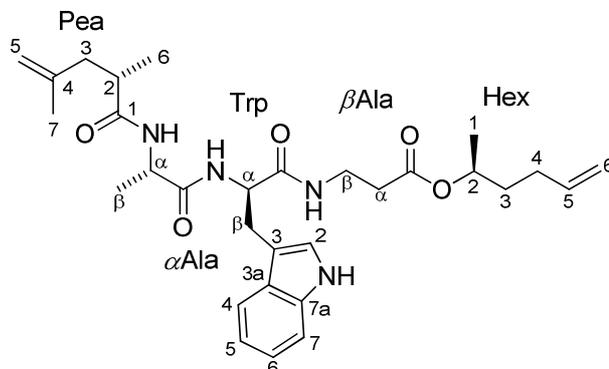
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.80$ (ddt, ³ $J = 16.9/10.2/6.7$ Hz, 1H; 10-*H*), 5.33 (dt, ³ $J = 11.0/7.3$ Hz, 1H; 6-*H*), 5.23 (tt, ³ $J = 11.1/1.4$ Hz, 1H; 5-*H*), 5.00 (ddd, ⁴ $J = 3.7$ Hz, ³ $J = 17.1$ Hz, ² $J = 1.6$ Hz, 1H; 11-*H*_{trans}), 4.94 (ddt, ⁴ $J = 1.2$ Hz, ³ $J = 10.2$ Hz, ² $J = 2.2$ Hz, 1H; 11-*H*_{cis}), 3.85-3.76 (m, 1H; 2-*H*), 2.64-2.56 (m, 1H; 4-*H*), 2.15-1.95 (m, 4H; 7-*H*₂, 9-*H*₂), 1.78 (s, 1H; 2-*OH*), 1.49-1.39 (m, 4H; 3-*H*₂, 8-*H*₂), 1.15 (d, ³ $J = 6.2$ Hz, 3H; 1-*H*₃), 0.95 (d, ³ $J = 6.7$ Hz, 3H; 12-*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 138.6$ (*C*-10), 136.3 (*C*-5), 128.7 (*C*-6), 114.5 (*C*-11), 67.2 (*C*-2), 47.1 (*C*-3), 33.3 (*C*-9), 29.7 (*C*-4), 29.0 (*C*-8), 26.9 (*C*-7), 23.5 (*C*-1), 21.5 (*C*-12) ppm.

HR-MS (EI): ber. für C₁₂H₂₀ [M-H₂O]⁺: 164.1560, gef. 164.1564.

6.2.9 Versuche zum Kapitel 4.2.8 - Veresterungen

L-Pea-*Ala*-*D*-Trp- β *Ala*-*O*-Hex (**90a**)



Unter Argonatmosphäre wurden bei 23°C zu einer Lösung der peptidischen Säure **31a** (0.10 g, 0.22 mmol) in abs. CH₂Cl₂ (10 mL) und abs. DMF (1 mL) (*S*)-5-Hexen-2-ol (4.0 Äq., 0.88 mmol, 0.11 mL), DMAP (2.0 Äq., 0.44 mmol, 54 mg), DIPEA (2.0 Äq., 0.44 mmol, 77 μ L) und EDC·HCl (2.0 Äq., 0.44 mmol, 86 mg) gegeben. Die farblose Lösung wurde für 20 h gerührt, mit AcOEt (20 mL) verdünnt und mit ges. wässriger NH₄Cl-Lösung (2x 20 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit AcOEt (3x 10 mL) extrahiert, die vereinten organischen Extrakte mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 10 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingeeengt. Aufreinigung des Rohprodukts durch Säulenchromatographie ($h = 12$ cm, $d = 1$ cm; 1% - 3% MeOH in CHCl₃) lieferte das Dien **90a** als farbloses Wachs .

Ausbeute: 57 mg, 0.11 mmol, 48%.

DC: $R_f = 0.29$ (CHCl₃/MeOH 19:1).

LC: $t_R = 7.69$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +1.6 ($c = 0.83$ in Methanol).

¹H NMR (400 MHz, [D₆]DMSO): $\delta = 10.79$ (s, 1H; Trp2-NH), 8.09 (d, ³ $J = 8.4$ Hz, 1H; Trp α -NH), 8.06-7.99 (m, 2H; α Ala α -NH, β Ala β -NH), 7.56 (d, ³ $J = 8.0$ Hz, 1H;

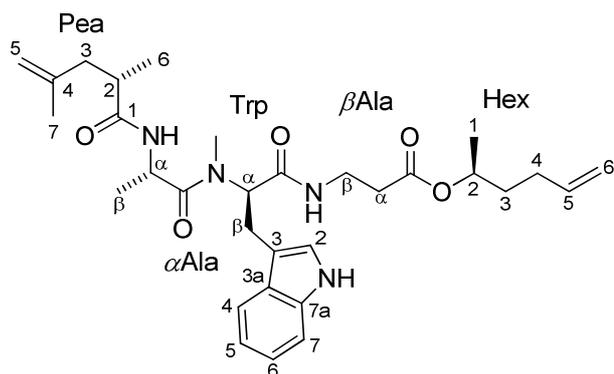
Trp4-*H*), 7.30 (d, $^3J=8.0$ Hz, 1H; Trp7-*H*), 7.08 (d, $^3J=1.6$ Hz, 1H; Trp2-*H*), 7.04 (t, $^3J=7.4$ Hz, 1H; Trp6-*H*), 6.95 (t, $^3J=7.4$ Hz, 1H; Trp5-*H*), 5.78 (ddt, $^3J=17.0/10.2/6.8$ Hz, 1H; Mhx5-*H*), 5.00 (dd, $^3J=17.2$ Hz, $^2J=1.6$ Hz, 1H; Mhx6-*H*_{trans}), 4.94 (d, $^3J=10.0$ Hz, 1H; Mhx6-*H*_{cis}), 4.81 (dq, $^3J=12.2/6.0$ Hz, 1H; Mhx2-*H*), 4.69 (s, 1H; Pea5-*H*_a), 4.63 (s, 1H; Pea5-*H*_b), 4.39 (td, $^3J=8.8/4.4$ Hz, 1H; Trp α -*H*), 4.19 (dq, $^3J=6.8/6.8$ Hz, 1H; α Ala α -*H*), 3.32-3.20 (m, 2H; β Ala β -*H*₂), 3.13 (dd, $^3J=4.4$ Hz, $^2J=14.4$ Hz, 1H; Trp β -*H*_a), 2.87 (dd, $^3J=9.6$ Hz, $^2J=14.8$ Hz, 1H; Trp β -*H*_b), 2.55-2.46 (m, 1H; Pea2-*H*), 2.41 (t, $^3J=7.2$ Hz, 2H; β Ala α -*H*₂), 2.20 (dd, $^3J=6.4$ Hz, $^2J=14.0$ Hz, 1H; Pea3-*H*_a), 2.10-1.96 (m, 2H; Mhx4-*H*₂), 1.88 (dd, $^3J=8.0$ Hz, $^2J=14.0$ Hz, 1H; Pea3-*H*_b), 1.67-1.50 (m, 2H; Mhx3-*H*₂), 1.63 (s, 3H; Pea7-*H*₃), 1.16 (d, $^3J=6.0$ Hz, 3H; Mhx1-*H*₃), 0.99 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; α Ala β -*H*₃), 0.92 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; Pea6-*H*₃) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, [D₆]DMSO): 175.4 (Pea-1), 172.1 (α Ala-C=O), 171.2 (Trp-C=O), 170.6 (β Ala-C=O), 143.1 (Pea-4), 137.8 (Mhx-5), 135.9 (Trp-7a), 127.1 (Trp-3a), 123.4 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.3 (Trp-5), 118.1 (Trp-4), 115.0 (Mhx-6), 111.7 (Pea-5), 111.1 (Trp-7), 110.1 (Trp-3), 69.8 (Mhx-2), 53.3 (Trp- α), 48.3 (α Ala- α), 41.3 (Pea-3), 37.0 (Pea-2), 34.8 (β Ala- β), 34.2 (Mhx-3), 33.7 (β Ala- α), 29.1 (Mhx-4), 27.6 (Trp- β), 22.1 (Pea-7), 19.6 (Mhx-1), 17.6 (α Ala- β), 17.1 (Pea-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3408, 3280, 3078, 2975, 2931, 1731, 1633, 1541$ cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₃₀H₄₃N₄O₅ [M+H]⁺: 539.3228, gef. 539.3235.

L-Pea-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βAla-O-Hex (**90b**)



Die peptidische Säure **31b** (0.13 g, 0.27 mmol) wurde, wie für Verbindung **31a** beschrieben, mit (*S*)-5-Hexen-2-ol verestert. Es wurde das Dien **90b** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 0.11 g, 0.20 mmol, 74 %.

DC: $R_f = 0.44$ (CHCl₃/MeOH 19:1).

LC: $t_R = 8.07$ min;.

[α]_D²³: +35.2 ($c = 1.0$ in Methanol).

¹H NMR (400 MHz, [D₆]DMSO): Rotamerengemisch (Verhältnis 5:1), Hauptrotamer: δ=10.79 (s, 1H; Trp2-NH), 8.03 (d, ³J=7.6 Hz, 1H; αAlaα-NH), 7.73 (t, ³J=5.4 Hz, 1H; βAlaβ-NH), 7.55 (d, ³J=8.0 Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, ³J=8.0 Hz, 1H; Trp7-H), 7.04 (s, 1H; Trp2-H), 7.04 (t, ³J=7.2 Hz, 1H; Trp6-H), 6.95 (t, ³J=7.8 Hz, 1H; Trp5-H), 5.78 (ddt, ³J=16.8/10.2/6.6 Hz, 1H; Mhx5-H), 5.29 (dd, ³J=10.6/5.0 Hz, 1H; Trpα-H), 5.00 (dd, ³J=17.0 Hz, ²J=1.4 Hz, 1H; Mhx6-*H*_{trans}), 4.94 (d, ³J=9.8 Hz, 1H; Mhx6-*H*_{cis}), 4.81 (dq, ³J=12.0/6.0 Hz, 1H; Mhx2-H), 4.68 (s, 1H; Pea5-*H*_a), 4.62 (s, 1H; Pea5-*H*_b), 4.50 (dq, ³J=6.8/6.8 Hz, 1H; αAlaα-H), 3.38-3.28 (m, 2H; βAlaβ-*H*₂), 3.27 (dd, ³J=4.4 Hz, ²J=16.8 Hz, 1H; Trpβ-*H*_a), 3.00 (dd, ³J=10.8 Hz, ²J=15.2 Hz, 1H; Trpβ-*H*_b), 2.89 (s, 1H; Trp-NCH₃), 2.56-2.45 (m, 3H; Pea2-H, βAlaα-*H*₂), 2.20 (dd, ³J=6.4 Hz, ²J=14.0 Hz, 1H; Pea3-*H*_a), 2.10-1.96 (m, 2H; Mhx4-*H*₂), 1.88 (dd, ³J=7.6 Hz, ²J=14.0 Hz, 1H; Pea3-*H*_b), 1.67-1.50 (m, 2H; Mhx3-*H*₂), 1.63 (s, 3H; Pea7-*H*₃), 1.16 (d, ³J=6.0 Hz, 3H;

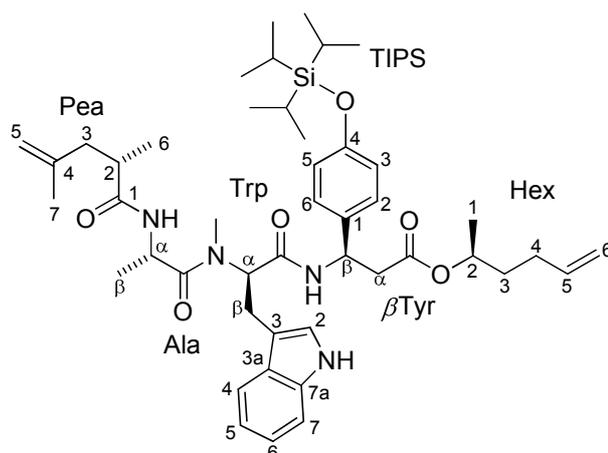
Mhx1- H_3), 0.91 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; Pea6- H_3), 0.78 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; α Ala β - H_3) ppm; Nebenrotamer: $\delta=10.84$ (s, 1H; Trp2-NH), 8.32 (t, $^3J=5.0$ Hz, 1H; β Ala β -NH), 7.94 (d, $^3J=7.2$ Hz, 1H; α Ala α -NH), 7.61 (d, $^3J=7.6$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, $^3J=8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.20 (s, 1H; Trp2-H), 7.04 (t, $^3J=7.6$ Hz, 1H; Trp6-H), 6.95 (t, $^3J=7.8$ Hz, 1H; Trp5-H), 5.78 (ddt, $^3J=16.8/10.2/6.6$ Hz, 1H; Mhx5-H), 5.06-4.89 (m, 3H; Mhx6- H_{trans} , Mhx6- H_{cis} , Trp α -H), 4.87-4.76 (m, 2H; Mhx2-H, α Ala α -H), 4.68 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.62 (s, 1H; Pea5- H_b), 3.38-3.20 (m, 3H; β Ala β - H_2 , Trp β - H_a), 3.11 (dd, $^3J=8.6$ Hz, $^2J=15.4$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.81 (s, 1H; Trp-NCH $_3$), 2.56-2.38 (m, 3H; Pea2-H, β Ala α - H_2), 2.20-2.12 (m, 1H; Pea3- H_a), 2.10-1.96 (m, 2H; Mhx4- H_2), 1.93-1.83 (m, 1H; Pea3- H_b), 1.68-1.50 (m, 2H; Mhx3- H_2), 1.59 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.10 (d, $^3J=6.0$ Hz, 3H; Mhx1- H_3), 0.92 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; α Ala β - H_3), 0.87 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; Pea6- H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, [D $_6$]DMSO): $\delta=175.0$ (Pea-1), 172.8 (α Ala-C=O), 170.7 (Trp-C=O), 169.8 (β Ala-C=O), 143.0 (Pea-4), 137.8 (Mhx-5), 136.0 (Trp-7a), 127.0 (Trp-3a), 122.9 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.2 (Trp-5), 118.1 (Trp-4), 115.0 (Mhx-6), 111.7 (Pea-5), 111.1 (Trp-7), 110.0 (Trp-3), 69.8 (Mhx-2), 56.2 (Trp- α), 44.6 (α Ala- α), 41.3 (Pea-3), 36.9 (Pea-2), 34.9 (β Ala- β), 34.2 (Mhx-3), 33.8 (β Ala- α), 30.6 (Trp-NCH $_3$), 29.0 (Mhx-4), 23.7 (Trp- β), 22.0 (Pea-7), 19.6 (Mhx-1), 17.2 (α Ala- β), 16.5 (Pea-6) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3371, 3283, 3076, 2976, 2933, 1733, 1632, 1543$ cm $^{-1}$.

HR-MS (ESI): ber. für C $_{31}$ H $_{45}$ N $_4$ O $_5$ [M+H] $^+$: 553.3385, gef. 553.3392.

L-Pea-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-Tyr(TIPS)O-Hex (**90c**)



Unter Argonatmosphäre wurden bei 23 °C zu einer Lösung der peptidischen Säure **31c** (50 mg, 70 µmol) in abs. CH₂Cl₂ (10 mL) und abs. DMF (0.5 mL) in einem 50 mL-Rundkolben (*S*)-5-Hexen-2-ol (4.0 Äq., 0.28 mmol, 34 µL), DMAP (2.0 Äq., 0.14 mmol, 17 mg), DIPEA (2.0 Äq., 0.14 mmol, 24 µL) und EDC·HCl (2.0 Äq., 0.14 mmol, 27 mg) gegeben. Die farblose Reaktionslösung wurde für 20 h gerührt, mit AcOEt (30 mL) verdünnt und mit ges. wässriger NH₄Cl-Lösung (1x 20 mL, 1x 15 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit AcOEt (1x 20 mL) extrahiert und die vereinten organischen Extrakte mit ges. wässriger NaCl-Lösung (1x 10 mL) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und unter vermindertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (*h* = 13 cm, *d* = 1 cm; 30% - 40% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Es wurde das Dien **90c** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 34 mg, 42 µmol, 61 %.

DC: *R*_f = 0.42 (AcOEt/Cyclohexan 1:1).

LC: *t*_R = 12.04 min.

[α]_D²³: +20.4 (*c* = 1.0 in Chloroform).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): Rotamerengemisch (Verhältnis >7:1), Hauptrotamer: δ=8.09 (s, 1H; Trp2-NH), 7.59 (d, ³*J*=7.8 Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, ³*J*=8.0 Hz, 1H;

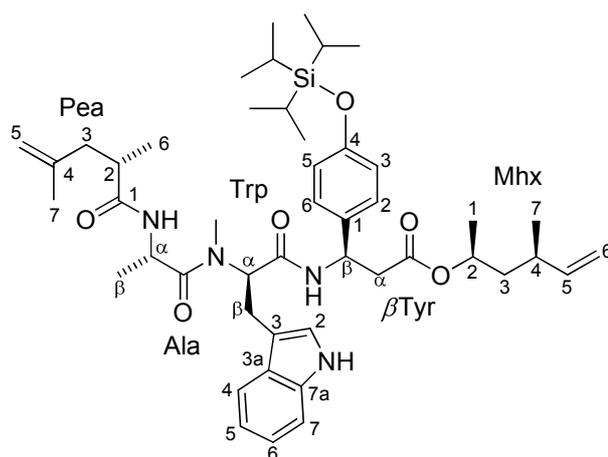
Trp7-*H*), 7.19-7.09 (m, 3H; Trp6-*H*, Trp5-*H*, β Tyr β -*NH*), 7.09 (d, $^3J=8.5$ Hz, 2H; β Tyr2-*H*, β Tyr6-*H*), 6.94 (s, 1H; Trp2-*H*), 6.76 (d, $^3J=8.5$ Hz, 2H; β Tyr3-*H*, β Tyr5-*H*), 6.34 (d, $^3J=6.1$ Hz, 1H; Ala α -*NH*), 5.71 (ddt, $^3J=16.9/10.2/6.6$ Hz, 1H; Hex5-*H*), 5.56 (dd, $^3J=10.3/5.9$ Hz, 1H; Trp α -*H*), 5.36 (dd, $^3J=14.8/7.1$ Hz, 1H; β Tyr β -*H*), 4.94 (dd, $^3J=17.2$ Hz, $^2J=1.6$ Hz, 1H; Hex6-*H*_{trans}), 4.92 (d, $^3J=10.1$ Hz, 1H; Hex6-*H*_{cis}), 4.86-4.77 (m, 1H; Hex2-*H*), 4.77 (s, 1H; Pea5-*H*_a), 4.70 (s, 1H; Pea5-*H*_b), 4.61 (dq, $^3J=6.8/6.8$ Hz, 1H; Ala α -*H*), 3.46 (dd, $^3J=5.9$ Hz, $^2J=15.7$ Hz, 1H; Trp β -*H*_a), 3.21 (dd, $^3J=10.5$ Hz, $^2J=15.7$ Hz, 1H; Trp β -*H*_b), 2.94 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.90 (dd, $^3J=7.4$ Hz, $^2J=15.2$ Hz, 1H; β Tyr α -*H*_a), 2.75 (dd, $^3J=6.2$ Hz, $^2J=15.2$ Hz, 1H; β Tyr α -*H*_b), 2.46-2.36 (m, 1H; Pea2-*H*), 2.36 (dd, $^3J=6.3$ Hz, $^2J=13.9$ Hz, 1H; Pea3-*H*_a), 2.03 (dd, $^3J=7.6$ Hz, $^2J=13.7$ Hz, 1H; Pea3-*H*_b), 1.99-1.86 (m, 1H; Hex4-*H*₂), 1.68 (s, 3H; Pea7-*H*₃), 1.52-1.40 (m, 1H; Hex3-*H*_a), 1.29-1.16 (m, 4H; Hex3-*H*_b, TIPS), 1.11 (d, $^3J=6.1$ Hz, 3H; Hex1-*H*₃), 1.08 (d, $^3J=7.2$ Hz, 18H; TIPS), 1.10-1.06 (m, 3H; Pea6-*H*₃), 0.95 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; Ala β -*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ =176.0 (Pea-1), 173.9 (Ala-C=O), 170.4 (Trp-C=O), 168.9 (β Tyr-C=O), 155.4 (β Tyr-4), 142.8 (Pea-4), 137.6 (Hex-5), 136.0 (Trp-7a), 132.9 (β Tyr-1), 127.5 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 127.3 (Trp-3a), 122.0 (2x, Trp-2, Trp-6), 119.7 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 119.4 (Trp-5), 118.5 (Trp-4), 114.9 (Hex-6), 112.4 (Pea-5), 111.1 (Trp- β), 111.0 (Trp-7), 70.7 (Hex-2), 56.8 (Trp- α), 49.4 (β Tyr- β), 45.7 (Ala- α), 41.7 (Pea-3), 40.8 (β Tyr- α), 38.7 (Pea-2), 34.8 (Hex-3), 31.0 (Trp-NCH₃), 29.4 (Hex-4), 23.3 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 19.8 (Hex-1), 17.9 (6x, TIPS), 17.2 (Ala- β), 16.9 (Pea-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3306, 3062, 2942, 2867, 1731, 1639, 1510 cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₆H₆₉N₄O₆Si [M+H]⁺: 801.4981, gef. 801.4989.

L-Pea-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-Tyr(TIPS)O-Mhx (**90d**)



Die peptidische Säure **31c** (44 mg, 61 μmol) wurde, wie für Verbindung **90c** beschrieben, mit Alkohol **23** verestert. Es wurde das Dien **90d** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 37 mg, 45 μmol , 74 %.

DC: $R_f = 0.36$ (AcOEt/Cyclohexan 1:1).

LC: $t_R = 12.53$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +13.8 ($c = 0.82$ in Chloroform).

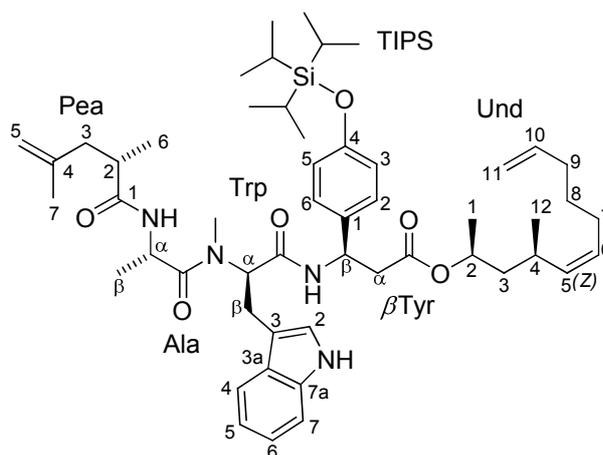
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): Rotamerengemisch (Verhältnis >8:1), Hauptrotamer: $\delta=8.05$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.60 (d, $^3J=7.8$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, $^3J=8.1$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.17 (t, $^3J=7.4$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.13-7.09 (m, 2H; Trp5-H, $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$), 7.08 (d, $^3J=8.5$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 6.94 (d, $^3J=2.0$ Hz, 1H; Trp2-H), 6.76 (d, $^3J=8.6$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 6.31 (d, $^3J=6.3$ Hz, 1H; Ala $\alpha\text{-NH}$), 5.63 (ddd, $^3J=17.6/10.3/7.6$ Hz, 1H; Mhx5-H), 5.55 (dd, $^3J=10.3/6.0$ Hz, 1H; Trp $\alpha\text{-H}$), 5.35 (dt, $^3J=7.7/7.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 4.91 (d, $^3J=17.2$ Hz, 1H; Mhx6- H_{trans}), 4.87 (d, $^3J=10.3$ Hz, 1H; Mhx6- H_{cis}), 4.89-4.81 (m, 1H; Mhx2-H), 4.77 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.70 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.66-4.58 (m, 1H; Ala $\alpha\text{-H}$), 3.46 (dd, $^3J=6.0$ Hz, $^2J=15.7$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_a$), 3.21 (dd, $^3J=10.4$ Hz, $^2J=15.7$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_b$), 2.94 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.87 (dd, $^3J=7.2$ Hz, $^2J=15.2$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_a$), 2.73 (dd, $^3J=6.3$ Hz,

$^2J=15.2$ Hz, 1H; β Tyr α -H $_b$), 2.45-2.35 (m, 2H; Pea2-H, Pea3-H $_a$), 2.10-1.99 (m, 2H; Mhx4-H, Pea3-H $_b$), 1.68 (s, 3H; Pea7-H $_3$), 1.57 (ddd, $^3J=7.5/7.5$ Hz, $^2J=14.1$ Hz, 1H; Mhx3-H $_a$), 1.30-1.18 (m, 4H; Mhx3-H $_b$, TIPS), 1.10 (d, $^3J=6.2$ Hz, 3H; Mhx1-H $_3$), 1.08 (d, $^3J=7.3$ Hz, 18H; TIPS), 1.10-1.06 (m, 3H; Pea6-H $_3$), 0.96 (d, $^3J=6.8$ Hz, 3H; Ala β -H $_3$), 0.90 (d, $^3J=6.7$ Hz, 3H; Mhx7-H $_3$) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl $_3$): $\delta=175.9$ (Pea-1), 173.8 (Ala-C=O), 170.4 (Trp-C=O), 168.9 (β Tyr-C=O), 155.4 (β Tyr-4), 143.7 (Mhx-5), 142.8 (Pea-4), 136.1 (Trp-7a), 132.9 (β Tyr-1), 127.5 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 127.4 (Trp-3a), 122.1 (Trp-2/Trp-6), 122.0 (Trp-6/Trp-2), 119.7 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 119.5 (Trp-5), 118.6 (Trp-4), 112.7 (Mhx-6), 112.4 (Pea-5), 111.2 (Trp-3), 111.0 (Trp-7), 69.6 (Mhx-2), 56.9 (Trp- α), 49.4 (β Tyr- β), 45.7 (Ala- α), 42.4 (Mhx-3), 41.8 (Pea-3), 40.9 (β Tyr- α), 38.8 (Pea-2), 34.3 (Mhx-4), 31.0 (Trp-NCH $_3$), 23.4 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 20.0 (2x, Mhx-7, Mhx-1), 17.9 (6x, TIPS), 17.2 (Ala- β), 17.0 (Pea-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C $_{47}$ H $_{71}$ N $_4$ O $_6$ Si [M+H] $^+$: 815.5137, gef. 815.5144.

L-Pea-Ala-*D*-N-Me-Trp-Tyr(TIPS)O-Und (**90e**)



Die peptidische Säure **31c** (50 mg, 70 μ mol) wurde, wie für Verbindung **90c** beschrieben, mit Alkohol **89** verestert. Es wurde das Dien **90d** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 42 mg, 48 μ mol, 68 %.

DC: $R_f = 0.56$ (AcOEt/Cyclohexan 3:2).

LC: $t_R = 15.53$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: $+18.3$ ($c = 1.0$ in Chloroform).

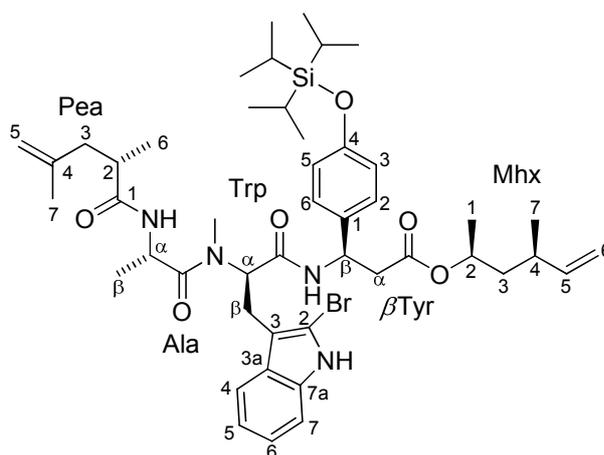
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): Rotamerengemisch (Verhältnis 10:1), Hauptrotamer: $\delta = 8.12$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.59 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.17 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.13-7.07 (m, 3H; Trp5-H, $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 6.94 (s, 1H; Trp2-H), 6.76 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 6.33 (d, $^3J = 6.2$ Hz, 1H; Ala α -NH), 5.79 (ddt, $^3J = 16.9/10.2/6.6$ Hz, 1H; Und10-H), 5.55 (dd, $^3J = 10.3/5.9$ Hz, 1H; Trp α -H), 5.36 (dt, $^3J = 7.6/7.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 5.26 (dt, $^3J = 10.8/7.2$ Hz, 1H; Und6-H), 5.10 (dd, $^3J = 10.2/10.2$ Hz, 1H; Und5-H), 4.99 (d, $^3J = 17.1$ Hz, 1H; Und11- H_{trans}), 4.94 (d, $^3J = 10.1$ Hz, 1H; Und11- H_{cis}), 4.82-4.72 (m, 1H; Und2-H), 4.77 (s, 1H; Pea5- H_{trans}), 4.70 (s, 1H; Pea5- H_{cis}), 4.66-4.56 (m, 1H; Ala α -H), 3.46 (dd, $^3J = 5.9$ Hz, $^2J = 15.7$ Hz, 1H; Trp β - H_a), 3.21 (dd, $^3J = 10.5$ Hz, $^2J = 15.8$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.94 (s, 3H; Trp-NCH $_3$), 2.86 (dd, $^3J = 7.2$ Hz, $^2J = 15.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ - H_a), 2.73 (dd, $^3J = 6.4$ Hz, $^2J = 15.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ - H_b), 2.47-2.32 (m, 3H; Pea2-H, Pea3- H_a , Und4-H), 2.10-1.91 (m, 5H; Pea3- H_b , Und7- H_2 , Und9- H_2), 1.68 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.52-1.37 (m, 3H; Und3- H_a , Und8- H_2), 1.34-1.16 (m, 4H; Und3- H_b , TIPS), 1.13-1.02 (m, 24H; Und1- H_3 , TIPS, Pea6- H_3), 0.95 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; Ala β - H_3), 0.86 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 3H; Und12- H_3) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 175.9$ (Pea-1), 173.8 (Ala-C=O), 170.3 (Trp-C=O), 168.9 (βTyr -C=O), 155.3 (βTyr -4), 142.8 (Pea-4), 138.7 (Und-10), 136.0 (Trp-7a), 135.2 (Und-5), 132.9 (βTyr -1), 128.4 (Und-6), 127.5 (2x, βTyr -2, βTyr -6), 127.3 (Trp-3a), 122.0 (2x, Trp-6, Trp-2), 119.7 (2x, βTyr -3, βTyr -5), 119.4 (Trp-5), 118.5 (Trp-4), 114.5 (Und-11), 112.4 (Pea-5), 111.1 (Trp-3), 111.0 (Trp-7), 69.9 (Und-2), 56.9 (Trp- α), 49.5 (βTyr - β), 45.7 (Ala- α), 43.1 (Und-3), 41.8 (Pea-3), 41.0 (βTyr - α), 38.7 (Pea-2), 33.3 (Und-9), 31.0 (Trp-NCH $_3$), 29.0 (Und-8), 28.3 (Und-4), 26.8 (Und-7), 23.3 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 21.3 (Und-12), 19.7 (Und-1), 17.9 (6x, TIPS), 17.2 (Ala- β), 16.9 (Pea-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3307, 2930, 2867, 1732, 1639, 1510 \text{ cm}^{-1}$.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{52}\text{H}_{79}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 883.5763, gef. 883.5771.

L-Pea-Ala-D-2-Br-N-Me-Trp-Tyr(TIPS)O-Mhx (90f)



Die peptidische Säure **22** (72 mg, 90 μmol) wurde, wie für Verbindung **90c** beschrieben, mit Alkohol **23** verestert. Es wurde das Dien **21** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 31 mg, 35 μmol , 39 %.

DC: $R_f = 0.53$ (AcOEt/Cyclohexan 1:1).

LC: $t_R = 12.87 \text{ min}$.

$[\alpha]_D^{23}$: +27.6 ($c = 1.0$ in Chloroform).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): Rotamerengemisch (Verhältnis 7:1), Hauptrotamer: $\delta = 8.43$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.51 (d, $^3J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H; Trp4-H), 7.22 (d, $^3J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H; Trp7-H), 7.13-7.09 (m, 3H; Trp6-H, $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 7.09-7.01 (m, 2H; Trp5-H, $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$), 6.77 (d, $^3J = 9.0 \text{ Hz}$, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 6.20 (d, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, 1H; Ala α -NH), 5.62 (ddd, $^3J = 17.5/10.0/7.5 \text{ Hz}$, 1H; Mhx5-H), 5.58 (dd, $^3J = 11.0/5.5 \text{ Hz}$, 1H; Trp α -H), 5.38 (dt, $^3J = 7.0/7.0 \text{ Hz}$, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 4.91-4.81 (m, 1H; Mhx2-H),

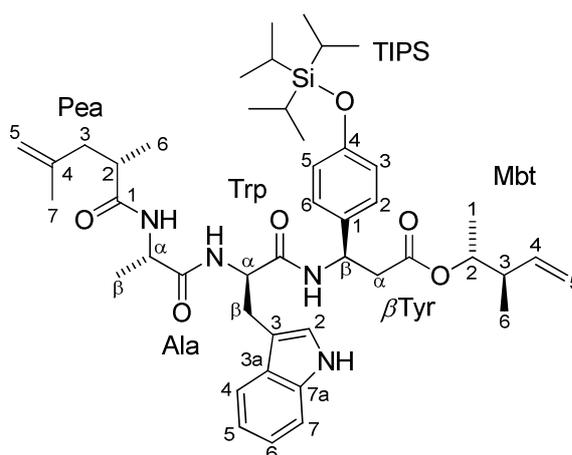
4.91 (d, $^3J=16.5$ Hz, 1H; Mhx6- H_{trans}), 4.87 (d, $^3J=10.5$ Hz, 1H; Mhx6- H_{cis}), 4.74 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.66 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.52 (dq, $^3J=6.5/6.5$ Hz, 1H; Ala α -H), 3.42 (dd, $^3J=5.5$ Hz, $^2J=15.5$ Hz, 1H; Trp β - H_a), 3.22 (dd, $^3J=11.0$ Hz, $^2J=15.0$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.97 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.89 (dd, $^3J=6.8$ Hz, $^2J=15.3$ Hz, 1H; β Tyr α - H_a), 2.74 (dd, $^3J=6.5$ Hz, $^2J=15.5$ Hz, 1H; β Tyr α - H_b), 2.39-2.28 (m, 2H; Mhx4-H, Pea3- H_a), 2.07-1.95 (m, 2H; Pea2-H, Pea3- H_b), 1.65 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.61-1.52 (m, 1H; Mhx3- H_a), 1.30-1.17 (m, 4H; Mhx3- H_b , TIPS), 1.10 (d, $^3J=6.0$ Hz, 3H; Mhx1- H_3) 1.08 (d, $^3J=7.5$ Hz, 18H; TIPS), 1.06 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; Pea6- H_3), 0.90 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; Mhx7- H_3), 0.72 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; Ala β - H_3) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ =176.0 (Pea-1), 173.7 (Ala-C=O), 170.4 (Trp-C=O), 168.7 (β Tyr-C=O), 155.4 (β Tyr-4), 143.7 (Mhx-5), 142.7 (Pea-4), 136.0 (Trp-7a), 132.7 (β Tyr-1), 127.6 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 127.4 (Trp-3a), 122.3 (Trp-6), 120.0 (Trp-5), 119.8 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 118.2 (Trp-4), 112.7 (Mhx-6), 112.4 (Pea-5), 110.6 (Trp-3), 110.4 (Trp-7), 109.0 (Trp-2), 69.5 (Mhx-2), 56.6 (Trp- α), 49.5 (β Tyr- β), 45.5 (Ala- α), 42.3 (Mhx-3), 41.7 (Pea-3), 40.8 (β Tyr- α), 38.6 (Mhx-4), 34.2 (Pea-2), 32.0 (Trp-NCH₃), 23.5 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 20.0 (Mhx-1), 20.0 (Mhx-7), 17.9 (6x, TIPS), 17.0 (Pea-6), 16.6 (Ala- β), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3272, 2931, 2867, 1734, 1640, 1511 cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₇H₇₀⁷⁹BrN₄O₆Si [M+H]⁺: 893.4243, gef. 893.4253.

L-Pea-Ala-*D*-Trp-Tyr(TIPS)O-Mbt (**91a**)



Die peptidische Säure **32a** (68 mg, 0.10 mmol) wurde, wie für Verbindung **90c** beschrieben, mit Alkohol **30** verestert. Es wurde das Dien **91a** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 46 mg, 58 μ mol, 61 %.

DC: $R_f = 0.32$ (AcOEt/Cyclohexan 3:2).

LC: $t_R = 11.58$ min.

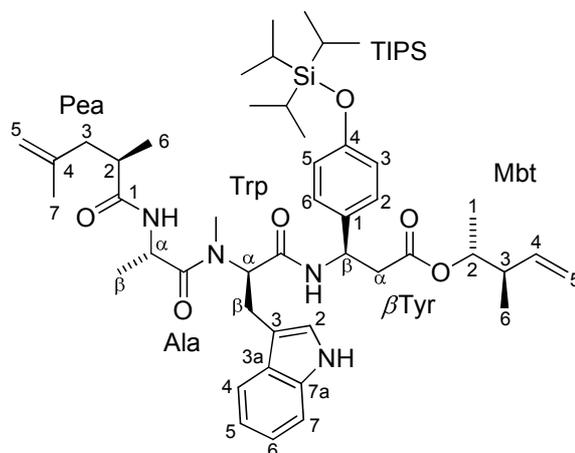
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.28$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.62 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.31 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.16 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.12-7.04 (m, 2H; Trp5-H, β Tyr β -NH), 6.95 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 2H; β Tyr2-H, β Tyr6-H), 6.89-6.84 (m, 1H; Trp α -NH), 6.87 (s, 1H; Trp2-H), 6.72 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 6.39 (d, $^3J = 6.5$ Hz, 1H; Ala α -NH), 5.60 (ddd, $^3J = 16.6/11.0/7.7$ Hz, 1H; Mbt4-H), 5.32-5.13 (m, 1H; β Tyr β -H), 4.98 (d, $^3J = 10.7$ Hz, 1H; Mbt5- H_{cis}), 4.97 (d, $^3J = 17.2$ Hz, 1H; Mbt5- H_{trans}), 4.79-4.70 (m, 1H; Trp α -H), 4.75 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.70-4.58 (m, 1H; Mbt2-H), 4.68 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.37-4.27 (m, 1H; Ala α -H), 3.28 (dd, $^3J = 6.0$ Hz, $^2J = 14.6$ Hz, 1H; Trp β - H_a), 3.17 (dd, $^3J = 6.9$ Hz, $^2J = 14.6$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.80 (dd, $^3J = 6.1$ Hz, $^2J = 15.3$ Hz, 1H; β Tyr α - H_a), 2.62 (dd, $^3J = 7.2$ Hz, $^2J = 15.3$ Hz, 1H; β Tyr α - H_b), 2.45-2.35 (m, 2H; Pea2-H), 2.31 (dd, $^3J = 6.9$ Hz, $^2J = 14.0$ Hz, 1H; Pea3- H_a), 2.26-2.13 (m, 1H; Mbt3- H_b), 2.01 (dd, $^3J = 7.7$ Hz, $^2J = 14.2$ Hz, 1H; Pea3- H_b), 1.65 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.29-1.16 (m, 6H;

Ala β -H₃, TIPS), 1.07 (d, ³J=7.2 Hz, 18H; TIPS), 1.09-1.04 (m, 3H; Pea6-H₃), 0.92 (d, ³J=6.3 Hz, 3H; Mbt1-H₃), 0.87 (d, ³J=6.6 Hz, 3H; Mbt6-H₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ =176.2 (Pea-1), 172.3 (Ala-C=O), 170.4 (Trp-C=O), 170.1 (β Tyr-C=O), 155.3 (β Tyr-4), 142.9 (Pea-4), 139.3 (Mbt-4), 136.1 (Trp-7a), 132.6 (β Tyr-1), 127.5 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 127.3 (Trp-3a), 123.3 (Trp-2), 122.1 (Trp-6), 119.7 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 119.6 (Trp-5), 118.6 (Trp-4), 115.4 (Mbt-5), 112.4 (Pea-5), 111.2 (Trp-7), 110.2 (Trp-3), 74.1 (Mbt-2), 53.7 (Trp- α), 49.5 (β Tyr- β), 49.2 (Ala- α), 42.2 (Mbt-3), 41.8 (Pea-3), 40.4 (β Tyr- α), 38.8 (Pea-2), 27.7 (Trp- β), 22.2 (Pea-7), 18.0 (Ala- β), 17.9 (6x, TIPS), 17.2 (Pea-6/Mbt-1), 16.8 (Mbt-1/Pea-6), 15.4 (Mbt-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₅H₆₇N₄O₆Si [M+H]⁺: 787.4824, gef. 787.4828.

D-Pea-Ala-*D*-N-Me-Trp-Tyr(TIPS)O-Mhx (**91b**)



Die peptidische Säure **32b** (53 mg, 73 μ mol) wurde, wie für Verbindung **90c** beschrieben, mit Alkohol **30** verestert. Es wurde das Dien **91b** als farbloses Wachs erhalten.

Ausbeute: 30 mg, 37 μ mol, 51 %

DC: R_f = 0.36 (AcOEt/Cyclohexan 1:1).

LC: $t_R = 9.91$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +10.2 ($c = 2.8$ in Chloroform).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.05$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.60 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.17 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.14-7.05 (m, 4H; Trp5-H, $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$, $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 6.94 (s, 1H; Trp2-H), 6.76 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 6.29 (d, $^3J = 5.9$ Hz, 1H; Ala α -NH), 5.65 (ddd, $^3J = 17.5/9.7/7.7$ Hz, 1H; Mbt4-H), 5.56 (dd, $^3J = 10.2/5.9$ Hz, 1H; Trp α -H), 5.42-5.31 (m, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 5.01 (d, $^3J = 11.7$ Hz, 1H; Mbt5- H_{cis}), 5.00 (d, $^3J = 15.8$ Hz, 1H; Mbt5- H_{trans}), 4.76 (s, 1H; Pea5- H_a), 4.70 (s, 1H; Pea5- H_b), 4.74-4.67 (m, 1H; Mbt2-H), 4.67-4.58 (m, 1H; Ala α -H), 3.46 (dd, $^3J = 5.6$ Hz, $^2J = 15.7$ Hz, 1H; Trp β - H_a), 3.21 (dd, $^3J = 10.5$ Hz, $^2J = 15.7$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.94 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.90 (dd, $^3J = 6.8$ Hz, $^2J = 15.7$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ - H_a), 2.76 (dd, $^3J = 6.2$ Hz, $^2J = 15.3$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ - H_b), 2.46-2.31 (m, 2H; Pea2-H, Pea3- H_a), 2.33-2.19 (m, 1H; Mbt3- H_b), 2.10-1.97 (m, 1H; Pea3- H_b), 1.70 (s, 3H; Pea7- H_3), 1.30-1.14 (m, 3H; TIPS), 1.11-1.04 (m, 3H; Pea6- H_3), 1.08 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 18H; TIPS), 0.99 (d, $^3J = 6.1$ Hz, 3H; Mbt1- H_3), 0.95 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; Ala β - H_3), 0.90 (d, $^3J = 6.7$ Hz, 3H; Mbt6- H_3) ppm.

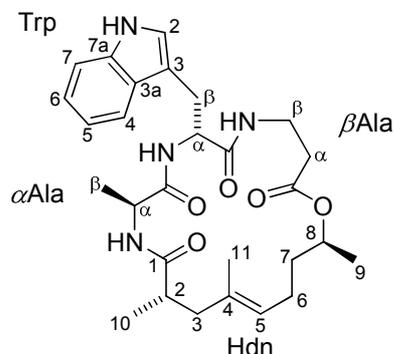
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 175.8$ (Pea-1), 173.9 (Ala-C=O), 170.3 (Trp-C=O), 168.9 ($\beta\text{Tyr-C=O}$), 155.4 ($\beta\text{Tyr-4}$), 142.9 (Pea-4), 139.3 (Mbt-4), 136.0 (Trp-7a), 132.8 ($\beta\text{Tyr-1}$), 127.6 (2x, $\beta\text{Tyr-2}$, $\beta\text{Tyr-6}$), 127.3 (Trp-3a), 122.1 (Trp-2/Trp-6), 122.0 (Trp-6/Trp-2), 119.7 (2x, $\beta\text{Tyr-3}$, $\beta\text{Tyr-5}$), 119.4 (Trp-5), 118.5 (Trp-4), 115.5 (Mbt-5), 112.4 (Pea-5), 111.2 (Trp-3), 111.0 (Trp-7), 74.0 (Mbt-2), 56.8 (Trp- α), 49.4 ($\beta\text{Tyr-}\beta$), 45.7 (Ala- α), 42.3 (Mbt-3), 42.0 (Pea-3), 40.7 ($\beta\text{Tyr-}\alpha$), 39.0 (Pea-2), 30.9 (Trp-NCH₃), 23.3 (Trp- β), 22.3 (Pea-7), 17.9 (6x, TIPS), 17.3 (Ala- β), 17.0 (Pea-6/Mbt-1), 16.9 (Mbt-1/Pea-6), 15.5 (Mbt-6), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3307, 2928, 2868, 1734, 1638, 1511$ cm^{-1} .

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{46}\text{H}_{69}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 801.4981, gef. 801.4989.

6.2.10 Versuche zum Kapitel 4.2.9 - RCM und Desilylierung

Cyclo-[(2*S*,4*E*,8*S*)-Hdn-Ala-*D*-Trp- β Ala] (**27a**)



Mit einer Kanüle wurde bei 23 °C für 15 min Argon durch eine Lösung des azyklischen Depsipeptids **90a** (33 mg, 61 μ mol) in abs. Toluol (50 mL) in einem 100 mL-Zweihalskolben geleitet. Die farblose Lösung wurde unter einem kontinuierlichem Argonstrom für 20 min auf 120 °C erhitzt. Eine dunkelrote Lösung des Katalysators **B** (0.25 \AA q., 15 μ mol, 13 mg) in abs. Toluol (2 mL) wurde mit einer Spritze in zwei Portionen hinzugegeben. Die resultierende dunkle Lösung wurde mit kontinuierlichem Argonstrom für 3 h bei 120 °C Ölbadtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf 23 °C abgekühlt und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der grün-schwarze Rückstand (43 mg) wurde durch Säulenchromatographie ($h = 12$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 100% AcOEt in Cyclohexan) aufgereinigt. Präparative HPLC des erhaltenen grauen Wachses (28 mg), gefolgt von Einengen unter vermindertem Druck ($p=120$ mbar, $T=40^\circ\text{C}$) und Gefriertrocknung lieferte ein *E/Z*-Gemisch (Verhältnis 5:1) des Zyklodepsipeptids **27a** als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 18 mg, 35 μ mol, 57%.

DC: $R_f = 0.50$ (AcOEt).

LC: $t_R = 6.73$ min.

Schmp.: 90 - 95 °C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{23}$: +37.5 ($c = 0.8$ in Methanol).

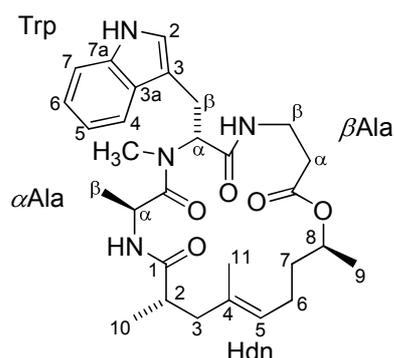
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): *E/Z*-Gemisch (Verhältnis 5:1), *E*-Isomer: $\delta = 10.78$ (s, 1H; Trp2-NH), 8.04 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 1H; Trp-NH), 7.88 (t, $^3J = 5.5$ Hz, 1H; $\beta\text{Ala-NH}$), 7.67 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; $\alpha\text{Ala-NH}$), 7.56 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.30 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.08 (d, $^3J = 1.9$ Hz, 1H; Trp2-H), 7.04 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp6-H), 6.96 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 1H; Trp5-H), 4.96 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 1H; Hdn5-H), 4.68 (q, $^3J = 6.4$ Hz, 1H; Hdn8-H), 4.51 (dd, $^3J = 9.4/4.4$ Hz, 1H; Trp α -H), 4.34 (dq, $^3J = 7.4/7.4$ Hz, 1H; $\alpha\text{Ala}\alpha$ -H), 3.47-3.37 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\beta$ - H_a), 3.28-3.19 (m, 1H; $\beta\text{Ala}\beta$ - H_b), 3.12 (dd, $^3J = 4.3$ Hz, $^2J = 14.5$ Hz, 1H; Trp β - H_a), 2.84 (dd, $^3J = 9.7$ Hz, $^2J = 14.5$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.55-2.43 (m, 2H; Hdn2-H, $\beta\text{Ala}\alpha$ - H_a), 2.37 (ddd, $^3J = 9.3/3.0$ Hz, $^2J = 12.7$ Hz, 1H; $\beta\text{Ala}\alpha$ - H_b), 2.12 (dd, $^3J = 11.7$ Hz, $^2J = 13.7$ Hz, 1H; Hdn3- H_a), 1.86-1.73 (m, 3H; Hdn3- H_b , Hdn6- H_2), 1.57-1.45 (m, 1H; Hdn7- H_a), 1.48 (s, 3H; Hdn11- H_3), 1.36-1.28 (m, 1H; Hdn7- H_b), 1.11 (d, $^3J = 6.2$ Hz, 3H; Hdn9- H_3), 0.92 (d, $^3J = 6.7$ Hz, 3H; Hdn10- H_3), 0.86 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 3H; $\alpha\text{Ala}\beta$ - H_3) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): *E/Z*-Gemisch, *E*-Isomer: 174.1 (Hdn-1), 171.5 ($\alpha\text{Ala-C=O}$), 171.2 (Trp-C=O), 171.2 ($\beta\text{Ala-C=O}$), 136.0 (Trp-7a), 132.7 (Hdn-4), 127.2 (Trp-3a), 123.8 (Hdn-5), 123.5 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.3 (Trp-5), 118.0 (Trp-4), 111.1 (Trp-7), 110.0 (Trp-3), 70.3 (Hdn-8), 53.0 (Trp- α), 47.1 ($\alpha\text{Ala}\alpha$), 43.2 (Hdn-3), 37.7 (Hdn-2), 35.1 ($\beta\text{Ala}\beta$), 34.6 (Hdn-7), 34.2 ($\beta\text{Ala}\alpha$), 28.0 (Trp- β), 23.3 (Hdn-6), 19.4 (Hdn-10), 18.9 (2x, Hdn-9, $\alpha\text{Ala}\beta$), 16.4 (Hdn-11) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3295, 2976, 2933, 1715, 1643, 1524, 1455 \text{ cm}^{-1}$.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 511.2915, gef. 511.2907.

Cyclo-[(2*S*,4*E*,8*S*)-Hdn-Ala-*D*-N-Me-Trp-βAla] (**27b**)



Azyklisches Depsipeptid **90b** (88 mg, 0.16 mmol) wurde der Ringschlussmetathese unterworfen, wie für Verbindung **27a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 15$ cm, $d = 1$ cm; 25% - 80% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte ein *E/Z*-Gemisch (Verhältnis >9:1) des Zyklodepsipeptids **27b** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 56 mg, 0.11 mmol, 67%.

DC: $R_f = 0.56$ (AcOEt).

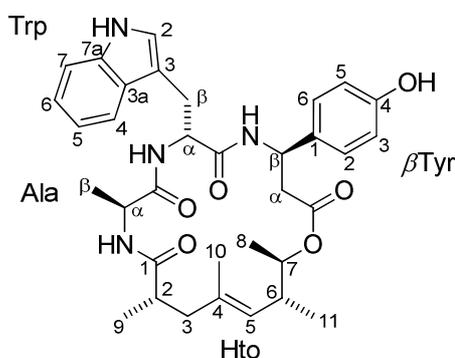
LC: $t_R = 12.04$ min.

¹H NMR (400 MHz, [D₆]DMSO): *E/Z*-Gemisch (Verhältnis >9:1), *E*-Isomer: $\delta = 10.78$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.79-7.68 (m, 2H; α Ala-NH, β Ala-NH), 7.56 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp4-*H*), 7.29 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-*H*), 7.05 (s, 1H; Trp2-*H*), 7.03 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H; Trp6-*H*), 6.95 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp5-*H*), 5.41 (dd, $^3J = 10.8/5.2$ Hz, 1H; Trp α -*H*), 4.99 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 1H; Hdn5-*H*), 4.70 (q, $^3J = 6.4$ Hz, 1H; Hdn8-*H*), 4.62 (dq, $^3J = 7.2/7.2$ Hz, 1H; α Ala α -*H*), 3.46-3.36 (m, 1H; β Ala β -*H*_a), 3.36-3.26 (m, 1H; β Ala β -*H*_b), 3.26 (dd, $^3J = 4.8$ Hz, $^2J = 15.2$ Hz, 1H; Trp β -*H*_a), 2.99 (dd, $^3J = 10.8$ Hz, $^2J = 15.4$ Hz, 1H; Trp β -*H*_b), 2.89 (s, 1H; Trp-NCH₃), 2.57-2.45 (m, 1H; Hdn2-*H*), 2.46-2.34 (m, 2H; β Ala α -*H*₂), 2.11 (dd, $^3J = 11.2$ Hz, $^2J = 14.4$ Hz, 1H; Hdn3-*H*_a), 1.92-1.72 (m, 3H; Hdn3-*H*_b, Hdn6-*H*₂), 1.58-1.50 (m, 1H; Hdn7-*H*_a), 1.48 (s, 3H; Hdn11-*H*₃), 1.43-1.29 (m, 1H; Hdn7-*H*_b), 1.13 (d, $^3J = 6.4$ Hz, 3H; Hdn9-*H*₃), 0.92 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; Hdn10-*H*₃), 0.62 (d, $^3J = 7.2$ Hz, 3H; α Ala β -*H*₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, [D₆]DMSO): *E/Z*-Gemisch, *E*-Isomer: 173.8 (Hdn-1), 172.6 (α Ala-C=O), 171.2 (Trp-C=O), 169.8 (β Ala-C=O), 136.0 (Trp-7a), 132.4 (Hdn-4), 127.0 (Trp-3a), 123.7 (Hdn-5), 123.1 (Trp-2), 120.7 (Trp-6), 118.2 (Trp-5), 118.1 (Trp-4), 111.1 (Trp-7), 109.7 (Trp-3), 70.3 (Hdn-8), 55.7 (Trp- α), 44.0 (α Ala- α), 42.8 (Hdn-3), 37.4 (Hdn-2), 35.4 (β Ala- β), 34.7 (Hdn-7), 34.2 (β Ala- α), 30.3 (Trp-NCH₃), 24.0 (Trp- β), 23.4 (Hdn-6), 19.4 (Hdn-10), 19.0 (Hdn-9), 17.5 (α Ala- β), 16.6 (Hdn-11) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₂₉H₄₁N₄O₅ [M+H]⁺: 525.3072, gef. 525.3065.

Cyclo-[(2*S*,4*E*,7*R*)-Hto-Ala-*D*-Trp- β Tyr] (**28a**)



Peptiddien **91a** (46 mg, 59 μ mol) wurde der Ringschlussmetathese unterworfen, wie für Verbindung **27a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 16$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 60% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte Zyklodepsipeptid *Cyclo*-[(2*S*,4*E*,7*R*)-Hto-Ala-*D*-Trp- β Tyr(TIPS)] als farbloses Wachs.

Ausbeute: 19 mg, 25 μ mol, 43%.

DC: $R_f=0.60$ (AcOEt).

LC: $t_R = 10.97$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +27.2 ($c = 1.0$ in Chloroform).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ=8.11 (s, 1H; Trp2-NH), 7.59 (d, ³J=7.8 Hz, 1H; Trp4-H), 7.34 (d, ³J=8.1 Hz, 1H; Trp7-H), 7.19 (t, ³J=7.5 Hz, 1H; Trp6-H), 7.13 (t, ³J=7.4 Hz, 1H; Trp5-H), 7.04 (d, ³J=9.0 Hz, 1H; βTyrβ-NH), 6.99-6.96 (m, 3H; βTyr2-H, βTyr6-H, Trp2-H), 6.78 (d, ³J=8.2 Hz, 2H; βTyr3-H, βTyr5-H), 6.39 (d, ³J=7.4 Hz, 1H; Trp-NH), 6.08 (d, ³J=6.8 Hz, 1H; Alaα-NH), 5.37 (dt, ⁴J=2.8 Hz, ³J=9.3 Hz, 1H; βTyrβ-H), 4.89 (d, ³J=9.5 Hz, 1H; Hto5-H), 4.70-4.61 (m, 2H; Trpα-H, Hto7-H), 4.21 (dq, ³J=6.6/6.6 Hz, 1H; Alaα-H), 3.34 (dd, ³J=6.4 Hz, ²J=14.7 Hz, 1H; Trpβ-H_a), 3.18 (dd, ³J=7.0 Hz, ²J=14.7 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.59 (dd, ³J=2.7 Hz, ²J=14.2 Hz, 1H; βTyrα-H_a), 2.50 (dd, ³J=11.1 Hz, ²J=14.1 Hz, 1H; βTyrα-H_b), 2.49-2.43 (m, 1H; Hto6-H), 2.43-2.35 (m, 1H; Hto2-H), 2.31 (dd, ³J=12.1 Hz, ²J=12.1 Hz, 1H; Hto3-H_a), 1.97 (app d, ²J=12.8 Hz, 1H; Hto3-H_b), 1.58 (s, 3H; Hto10-H₃), 1.30-1.19 (m, 3H; TIPS), 1.22 (d, ³J=6.9 Hz, 3H; Alaβ-H₃), 1.15 (d, ³J=6.6 Hz, 3H; Hto9-H₃), 1.10 (d, ³J=7.4 Hz, 18H; TIPS), 0.87 (d, ³J=6.8 Hz, 3H; Hto11-H₃), 0.77 (d, ³J=6.2 Hz, 3H; Hto8-H₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ=174.8 (Hto-1), 173.0 (Ala-C=O), 170.6 (βTyr-C=O), 169.9 (Trp-C=O), 155.3 (βTyr-4), 136.2 (Trp-7a), 133.8 (Hto-4), 133.6 (βTyr-1), 128.5 (Hto-5), 127.4 (Trp-3a), 127.0 (2x, βTyr-2, βTyr-6), 123.6 (Trp-2), 122.3 (Trp-6), 119.9 (3x, βTyr-3, βTyr-5, Trp-5), 118.3 (Trp-4), 111.3 (Trp-7), 109.9 (Trp-3), 75.9 (Hto-7), 53.9 (Trp-α), 49.9 (βTyr-β), 49.0 (Ala-α), 45.3 (Hto-3), 42.2 (βTyr-α), 40.0 (Hto-2), 36.4 (Hto-6), 26.3 (Trp-β), 18.9 (Ala-β), 18.8 (Hto-9), 17.9 (6x, TIPS), 16.7 (Hto-11), 16.2 (Hto-10), 15.7 (Hto-8), 12.7 (3x, TIPS) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3295, 2927, 2867, 1727, 1642, 1610, 1509 cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₃H₆₃N₄O₆Si [M+H]⁺: 759.4511, gef. 759.4514.

Zu einer Lösung von *Cyclo*-[(2*S*,4*E*,7*R*)-Hto-Ala-*D*-Trp-βTyr(TIPS)] (16 mg, 22 μmol) in THF (1.0 mL) in einem 5 mL-Rundkolben wurde bei 23 °C mit einer Pipette eine Lösung von TBAF (1.0 Äq., 22 μmol) in THF (1.0M, 22 μL) gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 30 min gerührt und dann unter vermindertem Druck eingengt. Säulenchromatographie (*h* = 13 cm, *d* = 1 cm; 40% - 100% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte desilyliertes Zyklodepsipeptid **28a** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 8.8 mg, 15 μ mol, 68 %.

DC: $R_f = 0.36$ (AcOEt).

LC: $t_R = 6.75$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +20.5 ($c = 1.0$ in Chloroform).

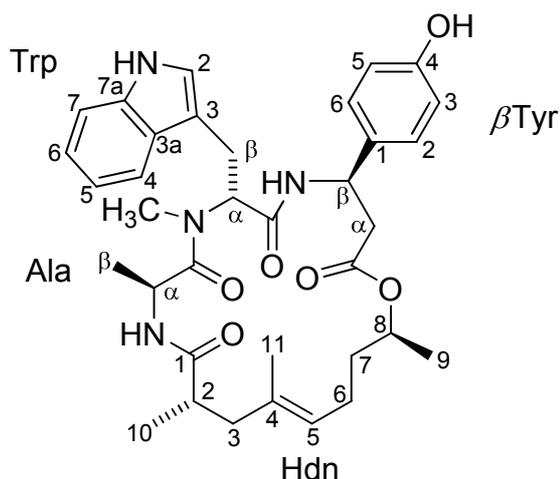
$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 10.72$ (s, 1H; Trp2-NH), 9.31 (s, 1H; $\beta\text{Tyr4-OH}$), 8.86 (d, $^3J = 9.4$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$), 8.29 (d, $^3J = 9.2$ Hz, 1H; Trp-NH), 7.70 (d, $^3J = 9.3$ Hz, 1H; Ala α -NH), 7.59 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.28 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.08 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr2-H}$, $\beta\text{Tyr6-H}$), 7.05-7.01 (m, 2H; Trp6-H, Trp2-H), 6.97-6.93 (m, 1H; Trp5-H), 6.68 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr3-H}$, $\beta\text{Tyr5-H}$), 5.23 (ddd, $^3J = 11.4/9.7/3.5$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 4.82 (td, $^3J = 9.4/5.2$ Hz, 1H; Trp α -H), 4.72 (d, $^3J = 9.7$ Hz, 1H; Hto5-H), 4.38 (dq, $^3J = 9.1/7.1$ Hz, 1H; Ala α -H), 4.32 (dq, $^3J = 8.5/6.2$ Hz, 1H; Hto7-H), 2.85 (dd, $^3J = 5.0$ Hz, $^2J = 14.5$ Hz, 1H; Trp β -H_a), 2.77 (dd, $^3J = 9.6$ Hz, $^2J = 14.4$ Hz, 1H; Trp β -H_b), 2.64-2.57 (m, 1H; Hto2-H), 2.57-2.49 (m, 2H; $\beta\text{Tyr}\alpha$ -H₂), 2.38-2.29 (m, 1H; Hto6-H), 2.04-1.99 (m, 1H; Hto3-H_a), 1.92 (dd, $^3J = 3.6$ Hz, $^2J = 13.2$ Hz, 1H; Hto3-H_b), 1.59 (s, 3H; Hto10-H₃), 0.92 (d, $^3J = 6.7$ Hz, 3H; Hto9-H₃), 0.88 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 3H; Ala β -H₃), 0.84 (d, $^3J = 6.9$ Hz, 3H; Hto11-H₃), 0.83 (d, $^3J = 6.4$ Hz, 3H; Htn8-H₃) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 172.9$ (Hto-1), 171.9 (Ala-C=O), 171.3 ($\beta\text{Tyr-C=O}$), 170.2 (Trp-C=O), 156.2 ($\beta\text{Tyr-4}$), 136.0 (Trp-7a), 132.9 (Hto-4), 132.6 ($\beta\text{Tyr-1}$), 127.3 (Hto-5), 127.1 (Trp-3a), 126.9 (2x, $\beta\text{Tyr-2}$, $\beta\text{Tyr-6}$), 123.6 (Trp-2), 120.6 (Trp-6), 118.6 (Trp-4), 117.9 (Trp-5), 115.0 (2x, $\beta\text{Tyr-3}$, $\beta\text{Tyr-5}$), 111.0 (Trp-7), 109.6 (Trp-3), 76.7 (Hto-7), 52.2 (Trp- α), 49.8 ($\beta\text{Tyr-}\beta$), 46.2 (Ala- α), 44.8 (Hto-3), 42.7 ($\beta\text{Tyr-}\alpha$), 37.5 (Hto-2), 36.8 (Hto-6), 28.8 (Trp- β), 20.0 (Ala- β), 18.5 (Hto-9), 18.5 (Hto-8), 17.6 (Hto-11), 15.7 (Hto-10) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3289, 2962, 2926, 2872, 2854, 1714, 1640, 1514$ cm^{-1} .

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 603.3177, gef. 603.3175.

Cyclo–[(2*S*,4*E*,8*S*)–Hdn–Ala–*D*–Trp– β Tyr] (**27c**)



Peptidien **90c** (31 mg, 42 μ mol) wurde der Ringschlussmetathese unterworfen, wie für Verbindung **27a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 11$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 70% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte das Metatheseprodukt (22 mg, 28 μ mol, 68%) als bräunliches Wachs, welches direkt, wie für Verbindung **28a** beschrieben, desilyliert wurde. Säulenchromatographie ($h = 13$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 100% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte das desilylierte Zyklopeptid **27c** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 14 mg, 23 μ mol, 80%.

DC: $R_f = 0.31$ (AcOEt/Cyclohexan 4:1).

LC: $t_R = 7.13$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +36.9 ($c = 0.79$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ =8.29 (s, 1H; Trp2-NH), 7.60 (d, $^3J=7.9$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.32 (d, $^3J=8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.22 (d, $^3J=8.2$ Hz, 1H; β Tyr β -NH), 7.16 (td, $^4J=1.0$ Hz, $^3J=7.2$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.10 (td, $^3J=7.2$ Hz, 1H; Trp5-H), 6.92 (d, $^3J=8.4$ Hz, 2H; β Tyr2-H, β Tyr6-H), 6.83 (s, 1H; Trp2-H), 6.71-6.67 (m, 1H; Ala α -NH), 6.68 (d, $^3J=8.2$ Hz, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 5.65 (dd, $^3J=8.9/7.2$ Hz, 1H; Trp α -H), 5.19 (ddd, $^3J=8.3/8.3/3.9$ Hz, 1H; β Tyr β -H), 5.03 (t, $^3J=6.7$ Hz, 1H Hdn5-H), 4.85-4.77 (m, 2H; Hdn8-H, Ala α -H), 3.42 (dd, $^3J=6.9$ Hz, $^2J=15.5$ Hz, 1H;

Trp β - H_a), 3.16 (dd, $^3J=9.3$ Hz, $^2J=15.4$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.96 (s, 3H; Trp-NCH $_3$), 2.73 (dd, $^3J=3.8$ Hz, $^2J=15.5$ Hz, 1H; β Tyr α - H_a), 2.68 (dd, $^3J=8.6$ Hz, $^2J=15.5$ Hz, 1H; β Tyr α - H_b), 2.45-2.40 (m, 2H; Hdn2- H , Hdn3- H_a), 1.90-1.80 (m, 3H; Hdn3- H_b , Hdn6- H_2), 1.59-1.51 (m, 1H; Hdn7- H_a), 1.48 (s, 3H; Hdn11- H_3), 1.39-1.30 (m, 1H; Hdn7- H_b), 1.13 (d, $^3J=5.7$ Hz, 3H; Hdn10- H_3), 1.09 (d, $^3J=6.3$ Hz, 3H; Htn9- H_3), 0.99 (d, $^3J=6.7$ Hz, 3H; Ala β - H_3) ppm.

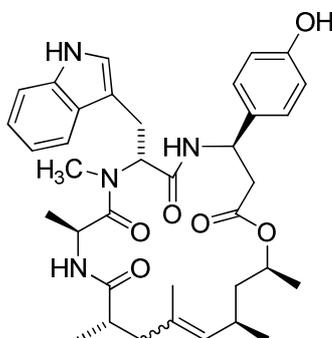
^{13}C NMR (150 MHz, CDCl $_3$): $\delta=174.7$ (Ala-C=O), 174.7 (Hdn-1), 170.5 (Trp-C=O), 169.1 (β Tyr-C=O), 155.7 (β Tyr-4), 136.2 (Trp-7a), 133.9 (Hdn-5), 131.9 (β Tyr-1), 124.5 (Hdn-4), 127.1 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 127.1 (Trp-3a), 122.1 (Trp-6), 122.0 (Trp-2), 119.4 (Trp-5), 118.5 (Trp-4), 115.6 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 111.2 (Trp-7), 110.4 (Trp-3), 70.0 (Hdn-8), 56.2 (Trp- α), 49.2 (β Tyr- β), 46.0 (Ala- α), 43.4 (Hdn-7), 40.0 (Hdn-2), 40.0 (β Tyr- α), 35.4 (Hdn-3), 30.4 (Trp-NCH $_3$), 23.2 (Hdn-6), 23.2 (Trp- β), 20.2 (Hdn-9), 20.0 (Hdn-10), 18.1 (Ala- β), 16.2 (Hdn-11) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3308, 3055, 2930, 2854, 1726, 1631, 1510$ cm $^{-1}$.

HR-MS (ESI): ber. für C $_{35}$ H $_{45}$ N $_4$ O $_6$ [M+H] $^+$: 617.3334, gef. 617.3331.

Cyclo-[(2*S*,4*E*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βTyr] (**27d**)

Cyclo-[(2*S*,4*Z*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βTyr] (**92d**)



Ringschlussmetathese:

Peptiddien **90d** (34 mg, 42 μmol) wurde der Ringschlussmetathese unterworfen, wie für Verbindung **27a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 16$ cm, $d = 1$ cm; 60% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte die Zyklodepsipeptide *Cyclo*-[(2*S*,4*E*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βTyr(TIPS)] und *Cyclo*-[(2*S*,4*Z*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βTyr(TIPS)] als farblose Wachse.

Relay-Ringschlussmetathese:

Peptiddien **90e** (39 mg, 44 μmol) wurde der Ringschlussmetathese unterworfen, wie für Verbindung **27a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 13.5$ cm, $d = 1$ cm; 25% - 60% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte die Zyklodepsipeptide *Cyclo*-[(2*S*,4*E*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βTyr(TIPS)] und *Cyclo*-[(2*S*,4*Z*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp-βTyr(TIPS)] als farblose Wachse.

E-Isomer:

Ausbeute: 5.8 mg, 7.4 μmol, 18% (RCM),
11.7 mg, 15 μmol, 34% (RRCM).

DC: $R_f = 0.32$ (AcOEt/Cyclohexan 3:2).

LC: $t_R = 11.96$ min.

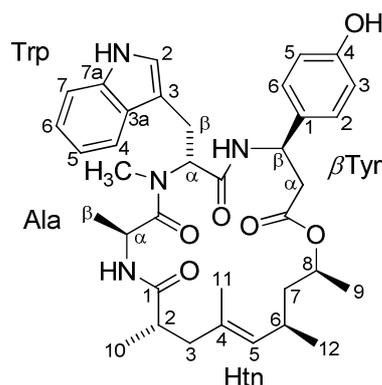
[α]_D²³: +27.5 ($c = 0.40$ in Chloroform).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ=7.95 (s, 1H; Trp2-NH), 7.62 (d, ³J=7.9 Hz, 1H; Trp4-H), 7.44 (d, ³J=9.0 Hz, 1H; βTyrβ-NH), 7.34 (d, ³J=8.1 Hz, 1H; Trp7-H), 7.19 (td, ⁴J=1.1 Hz, ³J=7.5 Hz, 1H; Trp6-H), 7.13 (td, ⁴J=0.9 Hz, ³J=7.5 Hz, 1H; Trp5-H), 7.00 (d, ³J=8.5 Hz, 2H; βTyr2-H, βTyr6-H), 6.95 (d, ³J=2.1 Hz, 1H; Trp2-H), 6.78 (d, ³J=8.6 Hz, 2H; βTyr3-H, βTyr5-H), 6.73 (d, ³J=6.4 Hz, 1H; Alaα-NH), 5.66 (dd, ³J=9.9/6.5 Hz, 1H; Trpα-H), 5.30 (ddd, ³J=9.0/5.2/4.5 Hz, 1H; βTyrβ-H), 4.81-4.74 (m, 2H; Htn5-H, Alaα-H), 4.62 (ddd, ³J=10.2/6.3/4.1 Hz, 1H; Htn8-H), 3.40 (ddd, ⁴J=0.7 Hz, ³J=6.4 Hz, ²J=15.6 Hz, 1H; Trpβ-H_a), 3.23 (dd, ³J=9.9 Hz, ²J=15.7 Hz, 1H; Trpβ-H_b), 2.94 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.69 (dd, ³J=4.7 Hz, ²J=14.9 Hz, 1H; βTyrα-H_a), 2.59 (dd, ³J=5.8 Hz, ²J=15.2 Hz, 1H; βTyrα-H_b), 2.55 (ddd, ³J=11.4/6.9/2.5 Hz, 1H; Htn2-H), 2.39 (dd, ³J=11.6 Hz, ²J=15.9 Hz, 1H; Htn3-H_a), 2.29-2.20 (m, 1H; Htn6-H), 1.91 (d, ²J=15.7 Hz, 1H; Htn3-H_b), 1.58 (s, 3H; Htn11-H₃), 1.31 (ddd, ³J=11.3 /3.2 Hz, ²J=14.0 Hz, 1H; Htn7-H_a), 1.27-1.21 (m, 3H; TIPS), 1.15 (d, ³J=7.0 Hz, 3H; Htn10-H₃), 1.15-1.10 (m, 1H; Htn7-H_b), 1.09 (d, ³J=7.4 Hz, 18H; TIPS), 1.05 (d, ³J=6.3 Hz, 3H; Htn9-H₃), 1.01 (d, ³J=6.7 Hz, 3H; Alaβ-H₃), 0.83 (d, ³J=6.7 Hz, 3H; Htn12-H₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ=174.9 (Htn-1), 174.2 (Ala-C=O), 170.5 (Trp-C=O), 168.9 (βTyr-C=O), 155.3 (βTyr-4), 136.1 (Trp-7a), 133.8 (Htn-4), 132.9 (βTyr-1), 127.8 (Htn-5), 127.6 (Trp-3a), 127.0 (2x, βTyr-2, βTyr-6), 122.2 (Trp-2), 121.9 (Trp-6), 119.8 (2x, βTyr-3, βTyr-5), 119.5 (Trp-5), 118.6 (Trp-4), 111.1 (Trp-7), 111.0 (Trp-3), 70.4 (Htn-8), 55.9 (Trp-α), 48.7 (βTyr-β), 46.2 (Ala-α), 43.5 (Htn-7), 40.6 (Htn-3), 40.1 (βTyr-α), 39.8 (Htn-2), 30.2 (Trp-NCH₃), 29.2 (Htn-6), 22.8 (Htn-12), 22.2 (Trp-β), 19.0 (Htn-9), 18.6 (Htn-10), 17.9 (8x, Ala-β, Htn-11, TIPS), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C₄₅H₆₇N₄O₆Si [M+H]⁺: 787.4824, gef. 787.4828.

Cyclo-[(2*S*,4*E*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr] (**27d**)



Cyclo-[(2*S*,4*E*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr(TIPS)] (4.0 mg, 5.1 μ mol) wurde desilyliert, wie für Verbindung **28a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 16$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 60% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte Zyklodepsipeptid **27d** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 2.6 mg, 4.1 μ mol, 80%.

DC: $R_f = 0.27$ (AcOEt/Cyclohexan 4:1).

LC: $t_R = 7.48$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +9.6 ($c = 0.25$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ =8.02 (s, 1H; Trp2-NH), 7.62 (d, $^3J=7.9$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.45 (d, $^3J=8.6$ Hz, 1H; β Tyr β -NH), 7.34 (d, $^3J=8.1$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.19 (td, $^4J=0.9$ Hz, $^3J=7.6$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.13 (td, $^4J=0.8$ Hz, $^3J=7.5$ Hz, 1H; Trp5-H), 6.98 (d, $^3J=8.5$ Hz, 2H; β Tyr2-H, β Tyr6-H), 6.92 (d, $^3J=1.8$ Hz, 1H; Trp2-H), 6.72-6.68 (m, 1H; Ala α -NH), 6.71 (d, $^3J=8.6$ Hz, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 5.65 (dd, $^3J=9.7/6.7$ Hz, 1H; Trp α -H), 5.28 (ddd, $^3J=8.6/5.4/5.4$ Hz, 1H; β Tyr β -H), 4.82-4.75 (m, 2H; Htn5-H, Ala α -H), 4.64 (ddd, $^3J=10.2/6.3/4.2$ Hz, 1H; Htn8-H), 3.41 (ddd, $^4J=0.5$ Hz, $^3J=6.6$ Hz, $^2J=15.6$ Hz, 1H; Trp β -H_a), 3.21 (dd, $^3J=9.7$ Hz, $^2J=15.6$ Hz, 1H; Trp β -H_b), 2.95 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.69 (dd, $^3J=4.6$ Hz, $^2J=15.0$ Hz, 1H; β Tyr α -H_a), 2.60 (dd, $^3J=6.3$ Hz, $^2J=15.0$ Hz, 1H; β Tyr α -H_b), 2.53 (ddd, $^3J=11.3/7.0/2.7$ Hz, 1H; Htn2-H), 2.37 (dd, $^3J=11.5$ Hz, $^2J=15.6$ Hz, 1H; Htn3-H_a), 2.29-2.21 (m, 1H; Htn6-H), 1.93 (d, $^2J=15.6$ Hz, 1H; Htn3-H_b), 1.59 (s, 3H; Htn11-

H_3), 1.37-1.31 (m, 1H; Htn7- H_a), 1.19-1.15 (m, 1H; Htn7- H_b), 1.15 (d, $^3J=7.0$ Hz, 3H; Htn10- H_3), 1.07 (d, $^3J=6.4$ Hz, 3H; Htn9- H_3), 1.02 (d, $^3J=6.7$ Hz, 3H; Ala β - H_3), 0.84 (d, $^3J=6.6$ Hz, 3H; Htn12- H_3) ppm.

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): $\delta=175.0$ (Htn-1), 174.3 (Ala-C=O), 170.5 (Trp-C=O), 169.0 (β Tyr-C=O), 155.1 (β Tyr-4), 136.1 (Trp-7a), 133.9 (Htn-4), 132.0 (β Tyr-1), 127.8 (Htn-5), 127.3 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 127.2 (Trp-3a), 122.0 (Trp-6/Trp-2), 121.9 (Trp-2/Trp-6), 119.6 (Trp-5), 118.5 (Trp-4), 115.4 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 111.1 (Trp-3), 110.8 (Trp-7), 70.5 (Htn-8), 56.1 (Trp- α), 48.9 (β Tyr- β), 46.2 (Ala- α), 43.5 (Htn-7), 40.8 (Htn-3), 40.2 (2x, β Tyr- α , Htn-2), 29.7 (Trp-NCH $_3$), 29.2 (Htn-6), 23.0 (Trp- β), 21.9 (Htn-12), 20.4 (Htn-10), 18.0 (Htn-9/Htn-11), 17.9 (Ala- β), 17.8 (Htn-11/Htn-9) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für $C_{36}H_{47}N_4O_6$ [M+H] $^+$: 631.3490, gef. 631.3488.

Z-Isomer:

Ausbeute: 7.4 mg, 9.4 μ mol, 23% (RCM),
11 mg, 13 μ mol, 30% (RRCM).

DC: $R_f = 0.42$ (AcOEt/Cyclohexan 3:2).

LC: $t_R = 12.01$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +20.5 ($c = 0.39$ in Chloroform).

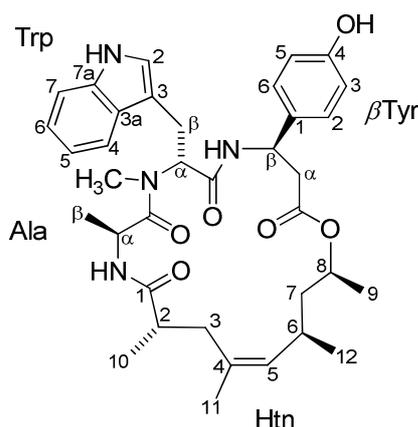
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): $\delta=7.95$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.62 (d, $^3J=7.9$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.33 (d, $^3J=8.1$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.18 (td, $^4J=1.0$ Hz, $^3J=7.6$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.14 (d, $^3J=8.5$ Hz, 1H; β Tyr β -NH), 7.12 (td, $^4J=0.9$ Hz, $^3J=7.5$ Hz, 1H; Trp5-H), 7.01 (d, $^3J=8.5$ Hz, 2H; β Tyr2-H, β Tyr6-H), 6.95 (d, $^3J=1.7$ Hz, 1H; Trp2-H), 6.77 (d, $^3J=8.6$ Hz, 2H; β Tyr3-H, β Tyr5-H), 6.60 (d, $^3J=6.5$ Hz, 1H; Ala α -NH), 5.59 (dd, $^3J=9.5/6.7$ Hz, 1H; Trp α -H), 5.20 (ddd, $^3J=8.6/8.6/4.5$ Hz, 1H; β Tyr β -H), 5.02 (d, $^3J=9.3$ Hz, 1H; Htn5-H), 4.78 (dq, $^3J=6.8/6.7$ Hz, 1H; Ala α -H), 4.73 (ddd, $^3J=8.5/6.2/3.2$ Hz, 1H; Htn8-H), 3.37 (ddd, $^4J=0.7$ Hz, $^3J=6.7$ Hz, $^2J=15.7$ Hz, 1H;

Trp β - H_a), 3.22 (dd, $^3J=9.6$ Hz, $^2J=15.8$ Hz, 1H; Trp β - H_b), 2.99 (s, 3H; Trp-NCH $_3$), 2.68 (dd, $^3J=4.5$ Hz, $^2J=15.8$ Hz, 1H; β Tyr α - H_a), 2.62 (dd, $^3J=8.9$ Hz, $^2J=15.9$ Hz, 1H; β Tyr α - H_b), 2.57 (dd, $^3J=9.2$ Hz, $^2J=13.9$ Hz, 1H; Htn3- H_a), 2.49 (m, 2H; Htn2- H , Htn6- H), 1.96 (dd, $^3J=4.2$ Hz, $^2J=14.0$ Hz, 1H; Htn3- H_b), 1.66 (d, $^4J=0.7$ Hz, 3H; Htn11- H_3), 1.51 (ddd, $^3J=7.9/7.9$ Hz, $^2J=14.3$ Hz, 1H; Htn7- H_a), 1.33 (ddd, $^3J=6.5/3.3$ Hz, $^2J=14.2$ Hz, 1H; Htn7- H_b), 1.27-1.19 (m, 3H; TIPS), 1.17 (d, $^3J=6.9$ Hz, 3H; Htn10- H_3), 1.01 (d, $^3J=6.7$ Hz, 3H; Ala β - H_3), 1.08 (d, $^3J=7.4$ Hz, 18H; TIPS), 1.05 (d, $^3J=6.5$ Hz, 3H; Htn9- H_3), 0.84 (d, $^3J=6.7$ Hz, 3H; Htn12- H_3) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl $_3$): δ =174.8 (Htn-1), 174.6 (Ala-C=O), 170.0 (Trp-C=O), 168.9 (β Tyr-C=O), 155.2 (β Tyr-4), 136.1 (Trp-7a), 133.7 (Htn-5), 133.3 (β Tyr-1), 130.7 (Htn-4), 127.3 (Trp-3a), 127.2 (2x, β Tyr-2, β Tyr-6), 122.1 (Trp-6), 122.0 (Trp-2), 119.7 (2x, β Tyr-3, β Tyr-5), 119.5 (Trp-5), 118.6 (Trp-4), 111.1 (Trp-7), 111.0 (Trp-3), 70.8 (Htn-8), 55.8 (Trp- α), 48.9 (β Tyr- β), 45.7 (Ala- α), 43.9 (Htn-7), 40.3 (β Tyr- α), 39.1 (Htn-2), 35.6 (Htn-3), 30.5 (Trp-NCH $_3$), 29.8 (Htn-6), 23.5 (Trp- β), 22.8 (Htn-12) 21.2 (Htn-9), 21.2 (Htn-10), 18.6 (Ala- β), 17.9 (6x, TIPS), 17.8 (Htn-11), 12.6 (3x, TIPS) ppm.

HR-MS (ESI): ber. für C $_{45}$ H $_{67}$ N $_4$ O $_6$ Si [M+H] $^+$: 787.4824, gef. 787.4828.

Cyclo-[(2*S*,4*Z*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr] (**92d**)



Cyclo-[(2*S*,4*Z*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr(TIPS)] (4.5 mg, 5.7 μ mol) wurde desilyliert, wie für Verbindung **28a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 16$ cm, $d = 1$ cm; 40% - 60% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts lieferte das Zyklopeptid **92d** als farbloses Wachs.

Ausbeute: 2.9 mg, 4.6 μ mol, 80%.

DC: $R_f = 0.45$ (AcOEt/Cyclohexan 4:1).

LC: $t_R = 7.65$ min.

$[\alpha]_D^{23}$: +8.0 ($c = 0.23$ in Chloroform).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.07$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.60 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.35-7.31 (m, 2H; Trp7-H, $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$), 7.16 (td, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.10 (td, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp5-H), 6.99 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 6.88 (s, 1H; Trp2-H), 6.67 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 6.35 (d, $^3J = 5.9$ Hz, 1H; Ala $\alpha\text{-NH}$), 5.64 (dd, $^3J = 8.9/7.1$ Hz, 1H; Trp $\alpha\text{-H}$), 5.18 (ddd, $^3J = 8.4/8.4/5.2$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 5.04 (d, $^3J = 9.1$ Hz, 1H; Htn5-H), 4.78 (ddd, $^3J = 9.1/6.2/2.8$ Hz, 1H; Htn8-H), 4.69 (dq, $^3J = 6.6/6.6$ Hz, 1H; Ala $\alpha\text{-H}$), 3.45 (dd, $^3J = 6.6$ Hz, $^2J = 15.9$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_a$), 3.18 (dd, $^3J = 9.5$ Hz, $^2J = 15.7$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_b$), 3.02 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.74 (dd, $^3J = 9.1$ Hz, $^2J = 15.8$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_a$), 2.68 (dd, $^3J = 4.9$ Hz, $^2J = 16.3$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_b$), 2.53-2.40 (m, 3H; Htn6-H, Htn2-H, Htn3-H_a), 2.16 (dd, $^3J = 3.7$ Hz, $^2J = 14.0$ Hz, 1H; Htn3-H_b), 1.65 (s, 3H; Htn11-H₃), 1.49 (ddd, $^3J = 8.9/6.8$ Hz, $^2J = 14.4$ Hz, 1H; Htn7-H_a), 1.35-1.23 (m, 1H; Htn7-H_b), 1.16 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 3H; Htn10-H₃), 1.08 (d, $^3J = 7.2$ Hz, 3H; Ala $\beta\text{-H}_3$), 1.07 (d, $^3J = 6.5$ Hz, 3H; Htn9-H₃), 0.84 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 3H; Htn12-H₃) ppm.

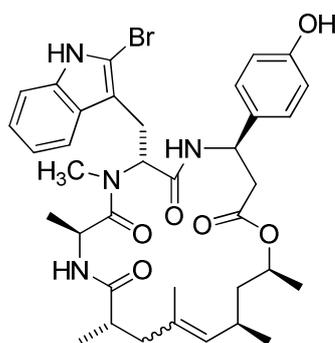
$^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): $\delta = 175.0$ (Htn-1), 174.6 (Ala-C=O), 169.8 (Trp-C=O), 168.7 ($\beta\text{Tyr}\text{-C=O}$), 155.1 ($\beta\text{Tyr}\text{-4}$), 136.0 (Trp-7a), 133.8 (Htn-5), 132.7 ($\beta\text{Tyr}\text{-1}$), 130.4 (Htn-4), 127.3 (2x, $\beta\text{Tyr}\text{-2}$, $\beta\text{Tyr}\text{-6}$), 127.1 (Trp-3a), 121.9 (Trp-6), 121.7 (Trp-2), 119.3 (Trp-5), 118.4 (Trp-4), 115.2 (2x, $\beta\text{Tyr}\text{-3}$, $\beta\text{Tyr}\text{-5}$), 111.0 (Trp-3), 110.8 (Trp-7), 70.3 (Htn-8), 56.0 (Trp- α), 49.2 ($\beta\text{Tyr}\text{-}\beta$), 45.5 (Ala- α), 43.8 (Htn-7), 40.1 ($\beta\text{Tyr}\text{-}\alpha$), 39.0 (Htn-2), 35.1 (Htn-3), 30.6 (Trp-NCH₃), 29.3 (Htn-6), 23.6 (Htn-11), 22.6 (Trp- β), 20.8 (Htn-9), 20.8 (Htn-12), 17.6 (Htn-10), 17.1 (Ala- β) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3312, 2927, 2855, 1731, 1636, 1517$ cm^{-1} .

HR-MS (ESI): ber. für C₃₆H₄₇N₄O₆ [M+H]⁺: 631.3490, gef. 631.3489.

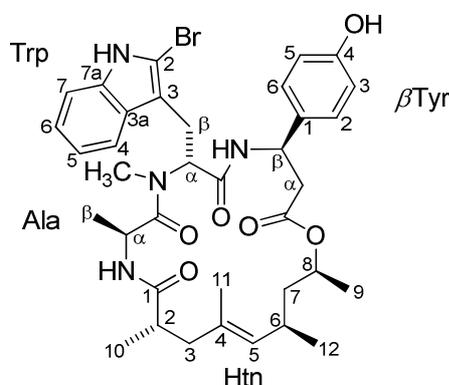
Jasplakinolid (2)

Cyclo-[(2*S*,4*Z*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-2-Br-*N*-Me-Trp-βTyr] (**92f**)



Peptidien **21** (30 mg, 34 μmol) wurde der Ringschlussmetathese unterworfen, wie für Verbindung **27a** beschrieben. Säulenchromatographie ($h = 12$ cm, $d = 1$ cm; 20% - 50% AcOEt in Cyclohexan) des Rohprodukts der Metathese ergab *Cyclo*-[(2*S*,6*R*,8*S*)-Htn-Ala-*D*-2-Br-*N*-Me-Trp-βTyr(TIPS)] (*E/Z*-Gemisch; 12 mg, 14 μmol, 42%) als bräunliches Wachs, welches direkt, wie für Verbindung **28a** beschrieben, desilyliert wurde. Säulenchromatographie ($h = 6$ cm, $d = 1$ cm; 30% - 80% AcOEt in Cyclohexan), gefolgt von präparativer HPLC, lieferte Jasplakinolid **2** (2.3 mg, 3.2 μmol, 23%) und sein *Z*-Isomer **92f** (4.2 mg, 5.9 μmol, 42%) als farblose Wachse.

Jasplakinolid (2)



Ausbeute: 2.3 mg, 3.2 μmol, 10% (für RCM und Desilylierung).

DC: $R_f = 0.65$ (AcOEt/Cyclohexan 4:1).

LC: $t_R = 7.70$ min.

Schmp.: 110 - 112 °C (Zersetzung).

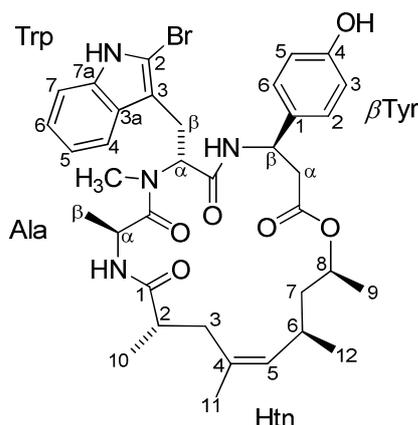
$[\alpha]_D^{23}$: +11.0 ($c = 0.18$ in Methanol),
(Lit.: $[\alpha]_D^{23}$: +35 ($c = 2.4$ in Methanol)^[96]).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.06$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.60 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.54 (d, $^3J = 7.8$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$), 7.27-7.24 (m, 1H; Trp7-H), 7.16 (td, $^4J = 1.1$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.11 (td, $^4J = 0.9$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; Trp5-H), 7.04 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 6.88-6.85 (m, 1H; $\text{Ala}\alpha\text{-NH}$), 6.74 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 5.82 (dd, $^3J = 10.5/6.1$ Hz, 1H; Trp $\alpha\text{-H}$), 5.31-5.26 (m, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 4.74 (dq, $^3J = 6.7/6.7$ Hz, 1H; $\text{Ala}\alpha\text{-H}$), 4.70 (d, $^3J = 10.1$ Hz, 1H; Htn5-H), 4.61-4.55 (m, 1H; Htn8-H), 3.36 (dd, $^3J = 6.1$ Hz, $^2J = 15.3$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_a$), 3.23 (dd, $^3J = 10.6$ Hz, $^2J = 15.4$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_b$), 2.99 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.68 (dd, $^3J = 4.8$ Hz, $^2J = 15.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_a$), 2.62 (dd, $^3J = 5.3$ Hz, $^2J = 15.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_b$), 2.56-2.50 (m, 1H; Htn2-H), 2.35 (dd, $^3J = 11.6$ Hz, $^2J = 16.6$ Hz, 1H; Htn3-H_a), 2.30-2.21 (m, 1H; Hdn6-H), 1.90 (app d, $^2J = 16.2$ Hz, 1H; Htn3-H_b), 1.56 (s, 3H; Htn11-H₃), 1.31-1.25 (m, 2H; Htn7-H₂), 1.12 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 3H; Htn10-H₃), 1.05 (d, $^3J = 6.3$ Hz, 3H; Htn9-H₃), 0.81 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 3H; Htn12-H₃), 0.74 (d, $^3J = 6.7$ Hz, 3H; $\text{Ala}\beta\text{-H}_3$) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu} = 3211, 3065, 2978, 1663, 1647, 1636, 1517, 1449$ cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{46}^{79}\text{BrN}_4\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 709.2595, gef. 709.2595.

Cyclo-[(2S,4Z,6R,8S)-Htn-Ala-D-2-Br-N-Me-Trp-βTyr] (**92f**)



Ausbeute: 4.2 mg, 5.9 μmol, 18% (für RCM und Desilylierung).

DC: $R_f = 0.65$ (AcOEt/Cyclohexan 4:1).

LC: $t_R = 7.93$ min.

Schmp.: 110 - 112 °C (Zersetzung).

$[\alpha]_D^{23}$: +21.0 ($c = 0.34$ in Methanol).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.11$ (s, 1H; Trp2-NH), 7.49 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp4-H), 7.37 (d, $^3J = 6.9$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-NH}$), 7.23 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H; Trp7-H), 7.14 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 1H; Trp6-H), 7.09 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1H; Trp5-H), 7.03 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}2\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}6\text{-H}$), 6.70 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2H; $\beta\text{Tyr}3\text{-H}$, $\beta\text{Tyr}5\text{-H}$), 6.47 (d, $^3J = 5.7$ Hz, 1H; Ala $\alpha\text{-NH}$), 5.74 (dd, $^3J = 10.3/6.1$ Hz, 1H; Trp $\alpha\text{-H}$), 5.16 (dt, $^3J = 8.3/4.6$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\beta\text{-H}$), 5.00 (d, $^3J = 9.1$ Hz, 1H; Htn5-H), 4.79-4.73 (m, 1H; Htn8-H), 4.61-4.55 (m, 1H; Ala $\alpha\text{-H}$), 3.35 (dd, $^3J = 6.1$ Hz, $^2J = 15.4$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_a$), 3.22 (dd, $^3J = 10.2$ Hz, $^2J = 15.2$ Hz, 1H; Trp $\beta\text{-H}_b$), 3.03 (s, 3H; Trp-NCH₃), 2.74 (dd, $^3J = 9.2$ Hz, $^2J = 16.3$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_a$), 2.62 (dd, $^3J = 4.6$ Hz, $^2J = 16.1$ Hz, 1H; $\beta\text{Tyr}\alpha\text{-H}_b$), 2.52-2.41 (m, 2H; Htn2-H, Htn6-H), 2.39 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^2J = 14.4$ Hz, 1H; Htn3-H_a), 2.16 (dd, $^3J = 3.6$ Hz, $^2J = 14.2$ Hz, 1H; Htn3-H_b), 1.62 (s, 3H; Htn11-H₃), 1.50-1.43 (m, 1H; Htn7-H_a), 1.34-1.26 (m, 1H; Htn7-H_b), 1.13 (d, $^3J = 6.9$ Hz, 3H; Htn10-H₃), 1.08 (d, $^3J = 6.2$ Hz, 3H; Htn9-H₃), 0.82 (d, $^3J = 6.8$ Hz, 3H; Htn12-H₃), 0.81 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 3H; Ala $\beta\text{-H}_3$) ppm.

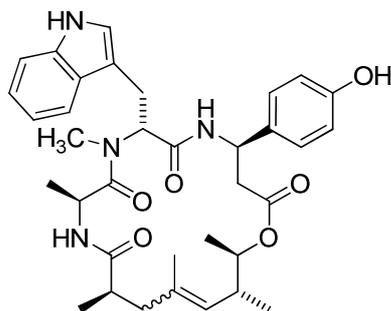
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ=176.0 (Htn-1), 174.8 (Ala-C=O), 170.2 (Trp-C=O), 169.1 (βTyr-C=O), 155.2 (βTyr-4), 134.1 (Trp-7a), 134.1 (Htn-5), 133.0 (βTyr-1), 130.3 (Htn-4), 127.5 (2x, βTyr-2, βTyr-6), 127.5 (Trp-3a), 122.4 (Trp-6), 121.6 (Trp-3), 120.3 (Trp-5), 118.3 (Trp-4), 115.5 (2x, βTyr-3, βTyr-5), 110.4 (Trp-7), 107.2 (Trp-2), 70.5 (Htn-8), 55.6 (Trp-α), 49.7 (βTyr-β), 45.8 (Ala-α), 44.1 (Htn-7), 40.3 (βTyr-α), 39.2 (Htn-2), 35.4 (Htn-3), 31.2 (Trp-NCH₃), 29.5 (Htn-6), 23.9 (Htn-11), 21.9 (Trp-β), 21.1 (Htn-9), 21.0 (Htn-12), 17.7 (Htn-10), 16.7 (Ala-β) ppm.

IR (in Substanz): $\tilde{\nu}$ = 3206, 3065, 2975, 1663, 1646, 1637, 1517, 1448 cm⁻¹.

HR-MS (ESI): ber. für C₃₆H₄₆⁷⁹BrN₄O₆ [M+H]⁺: 709.2595, gef. 709.2596.

Cyclo-[(2*R*,4*E*,6*R*,7*R*)-Hto-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr] (**28b**)

Cyclo-[(2*R*,4*Z*,6*R*,7*R*)-Hto-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr] (**93b**)



Mit einer Kanüle wurde bei 23°C für 20 min Argon durch eine Lösung des azyklischen Depsipeptids **91b** (18 mg, 22 μ mol) in abs. Toluol (10 mL) in einem 25 mL-Zweihalskolben geleitet. Die farblose Reaktionslösung wurde unter kontinuierlichem Argonstrom für 20 min auf 120°C erhitzt. Eine dunkelrote Lösung von Katalysator **B** (0.25 Äq., 5.6 μ mol, 4.6 mg) in abs. Toluol (1 mL) wurde mit einer Spritze in einer Portion hinzugegeben. Die resultierende dunkle Lösung wurde unter kontinuierlichem Argonstrom für 2.5 h bei 120 °C Ölbadtemperatur gerührt. Die Lösung einer zweiten Portion des Katalysators **B** (0.25 Äq., 5.6 μ mol, 4.6 mg) in abs. Toluol (3 mL) wurde mit einer Spritze in einer Portion hinzugegeben, bevor weitere 3 h bei 120°C Ölbadtemperatur gerührt wurde. Die Lösung einer dritten Portion des Katalysators **B** (0.25 Äq., 5.6 μ mol, 4.6 mg) in abs. Toluol (9 mL) wurde mit einer Spritze in einer Portion hinzugegeben, bevor weitere 13 h bei 120°C Ölbadtemperatur gerührt wurde. Die Lösung wurde auf 23°C abgekühlt und unter vermindertem Druck eingeeengt. Eine LC-MS-Analyse des zurückbleibenden dunkelbraunen Öls wies auf ein sehr komplexes Gemisch aus gewünschtem *Cyclo*-[(2*R*,6*R*,7*R*)-Hto-Ala-*D*-*N*-Me-Trp- β Tyr(TIPS)] (die erwartete Molmasse wurde detektiert) und vielen ähnlich polaren Verunreinigungen hin.

LC-MS (C4): $t_R = 11.42$ min
ber. für C₄₅H₆₄N₄O₆Si [M+H]⁺: 773.47, gef. 773.11.

6.3 Zelluläre Untersuchungen

Zur Ganzzellfluoreszenzmikroskopie wurden BSC-1 Zellen (Nierenepithelzellen der grünen afrikanischen Meerkatze) in 96 Loch-Mikrotiterplatten bei einer Zelldichte von 2000 Zellen pro Vertiefung für 24 h gemäß Standardprotokollen kultiviert. Die zu testenden in DMSO gelösten Verbindungen ($c = 10 \text{ mM}$) wurden durch Zugabe von DMSO auf die Endkonzentrationen verdünnt. Kommerzielles Jasplakinolid (Invitrogen) wurde als Positivkontrolle verwendet. Die Zellen wurden für 16 h mit den synthetisierten Substanzen, Jasplakinolid oder einem äquivalenten Volumen an DMSO inkubiert und mit 4 % Formalinlösung (enthielt ferner 80 mM PIPES, pH 6.8, 1mM MgCl_2 , 1 mM EGTA, 0.1 % Triton X-100) fixiert. Durch Zugabe von TRITC-Phalloidin (Sigma) und DAPI (Sigma) wurden das Aktinzytoskelett bzw. die Zellkerne angefärbt. Zellbilder wurden mit einem automatisieren Mikroskop (Zeiss 200 M oder Zeiss Axiofot), ausgestattet mit einer 40x-Linse, aufgenommen.

7. Literaturverzeichnis

- [1] J. Fotie, R. E. Morgan, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2008**, *8*, 1088.
- [2] R. W. Snow, C. A. Guerra, A. M. Noor, H. Y. Myint, S. I. Hay, *Nature* **2005**, *434*, 214.
- [3] N. J. White, *J. Clin. Invest.* **2004**, *113*, 1084.
- [4] C. F. Higgins, *Nature* **2007**, *446*, 749.
- [5] C. Dye, S. Scheele, P. Dolin, V. Pathania, R. C. Raviglione, *J. Am. Med. Assoc.* **1999**, *282*, 677.
- [6] http://www.who.int/tb/publications/global_report/en, World Health Organisation, **2008**.
- [7] D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461.
- [8] Rolf Breinbauer, Ingrid R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2878.
- [9] A. Disanza, A. Steffen, M. Hertzog, E. Frittoli, K. Rottner, G. Scita, *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 955.
- [10] T. D. Pollard, W. C. Earnshaw, *Cell Biology*, 1st ed., W.B. Saunders, Philadelphia, **2004**.
- [11] E. Reisler, E. H. Egelman, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 36133.
- [12] W. Kabsch, H. G. Mannherz, D. Suck, E. F. Pai, K. C. Holmes, *Nature* **1990**, *347*, 37.
- [13] H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, L. Zipursky, J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 5th ed., W.H. Freeman & Company, New York, **2003**.
- [14] J. Hanson, J. Lowy, *J. Mol. Biol.* **1963**, *6*, 46.
- [15] K. C. Holmes, D. Popp, W. Gebhard, W. Kabsch, *Nature* **1990**, *347*, 44.
- [16] K. C. Holmes, I. Angert, F. J. Kull, W. Jahn, R. R. Schroder, *Nature* **2003**, *425*, 423.
- [17] T. Oda, K. Namba, Y. Maéda, **2005**, *88*, 2727.
- [18] T. Oda, M. Iwasa, T. Aihara, Y. Maeda, A. Narita, *Nature* **2008**, *457*, 441.
- [19] K. C. Holmes, *Nature* **2009**, *457*, 389.
- [20] T. M. Svitkina, G. G. Borisy, *J. Cell Biol.* **1999**, *145*, 1009.
- [21] J. R. Peterson, T. J. Mitchison, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 1275.

- [22] G. Fenteany, S. T. Zhu, *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 593.
- [23] J. S. Allingham, V. A. Klenchin, I. Rayment, *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, *63*, 2119.
- [24] G. Kustermans, J. Piette, S. Legrand-Poels, *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 1310.
- [25] K. Weber, E. Lazarides, R. D. Goldman, A. Vogel, R. Pollack, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **1975**, *39 Pt 1*, 363.
- [26] E. K. Rowinsky, R. C. Donehower, *Pharmacol. Ther.* **1991**, *52*, 35.
- [27] F. A. Holmes, R. S. Walters, R. L. Theriault, A. D. Forman, L. K. Newton, M. N. Raber, A. U. Buzdar, D. K. Frye, G. N. Hortobagyi, *J. Natl. Cancer I.* **1991**, *83*, 1797.
- [28] J. Y. Rao, N. Li, *Curr. Cancer Drug Targets* **2004**, *4*, 345.
- [29] T. Wieland, W. Schön, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1955**, *593*, 157.
- [30] H. Kessler, T. Wein, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 179.
- [31] T. Wieland, *Science* **1968**, *159*, 946.
- [32] A. Lengsfeld, I. Löw, T. Wieland, P. Dancker, W. Hasselbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, *71*, 2803.
- [33] T. Wieland, V. M. Govindan, *FEBS Lett.* **1974**, *46*, 351.
- [34] J. Vandekerckhove, A. Deboben, M. Nassal, T. Wieland, *EMBO J.* **1985**, *4*, 2815.
- [35] G. Zanotti, L. Falcigno, M. Saviano, G. D'Auria, B. M. Bruno, T. Campanile, L. Paolillo, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 1479.
- [36] E. Wulf, A. Deboben, F. A. Bautz, H. Faulstich, T. Wieland, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 4498.
- [37] P. Crews, L. V. Manes, M. Boehler, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 2797.
- [38] T. M. Zabriskie, J. A. Klocke, C. M. Ireland, A. H. Marcus, T. F. Molinski, D. J. Faulkner, C. F. Xu, J. C. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3123.
- [39] J. N. Peng, X. Y. Shen, K. A. El Sayed, D. C. Dunbar, T. L. Perry, S. P. Wilkins, M. T. Hamann, *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 2246.
- [40] J. C. Braekman, D. Daloz, B. Moussiaux, R. Riccio, *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 994.
- [41] P. Crews, L. M. Hunter, *Mar. Biotechnol.; Pharmaceutical and bioactive natural products* **1993**, 343.

- [42] V. R. Scott, R. Boehme, T. R. Matthews, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1988**, *32*, 1154.
- [43] Y. Mizuno, A. Makioka, S. Kawazu, S. Kano, S. Kawai, M. Akaki, M. Aikawa, H. Ohtomo, *Parasitol. Res.* **2002**, *88*, 844.
- [44] J. Stingl, R. J. Andersen, J. T. Emerman, *Cancer Chemoth. Pharm.* **1992**, *30*, 401.
- [45] A. M. J. Senderowicz, G. Kaur, E. Sainz, C. Laing, W. D. Inman, J. Rodriguez, P. Crews, L. Malspeis, M. R. Grever, E. A. Sausville, K. L. K. Duncan, *J. Natl. Cancer I.* **1995**, *87*, 46.
- [46] J. E. Schindler-Horvat, D. G. Fairchild, C. Hassler, J. E. Tomaszewski, S. J. Donohue, C. A. Tyson, in *P. Am. Assoc. Canc. Res. Annual Meeting, Vol. 39*, 89th ed., New Orleans, Louisiana, USA, **1998**, p. 597.
- [47] D. J. Faulkner, *A. Van Leeuw. Int. J. G.* **2000**, *77*, 135.
- [48] M. R. Bubb, A. M. J. Senderowicz, E. A. Sausville, K. L. K. Duncan, E. D. Korn, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 14869.
- [49] M. R. Bubb, I. Spector, B. B. Beyer, K. M. Fosen, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 5163.
- [50] R. Jansen, B. Kunze, H. Reichenbach, G. Hofle, *Liebigs Annalen* **1996**, 285.
- [51] B. Kunze, R. Jansen, F. Sasse, G. Hofle, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1262.
- [52] F. Sasse, B. Kunze, T. M. A. Gronewold, H. Reichenbach, *J. Natl. Cancer I.* **1998**, *90*, 1559.
- [53] A. Holzinger, U. Lutz-Meindl, *Cell Motility and the Cytoskeleton* **2001**, *48*, 87.
- [54] G. R. Pettit, Y. Kamano, H. Kizu, C. Dufresne, C. L. Herald, R. J. Bontems, J. M. Schmidt, F. E. Boettner, R. A. Nieman, *Heterocycles* **1989**, *28*, 553.
- [55] R. Bai, P. Verdier-Pinard, S. Gangwar, C. C. Stessman, K. J. McClure, E. A. Sausville, G. R. Pettit, R. B. Bates, E. Hamel, *Mol Pharmacol* **2001**, *59*, 462.
- [56] T. Oda, Z. D. Crane, C. W. Dicus, B. A. Sufi, R. B. Bates, *J. Mol. Biol.* **2003**, *328*, 319.
- [57] H. Ishiwata, T. Nemoto, M. Ojika, K. Yamada, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4710.

- [58] H. Ishiwata, H. Sone, H. Kigoshi, K. Yamada, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 12853.
- [59] R. L. Bai, D. G. Covell, C. F. Liu, A. K. Ghosh, E. Hamel, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 32165.
- [60] J. Kobayashi, H. Shigemori, M. Ishibashi, T. Yamasu, H. Hirota, T. Sasaki, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5221.
- [61] J. Kobayashi, K. Shimbo, M. Sato, M. Shiro, M. Tsuda, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2805.
- [62] J. Kobayashi, K. Shimbo, M. Sato, M. Tsuda, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6585.
- [63] S. Y. Saito, J. Feng, A. Kira, J. Kobayashi, Y. Ohizumi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *320*, 961.
- [64] T. Usui, S. Kazami, N. Dohmae, Y. Mashimo, H. Kondo, M. Tsuda, A. G. Terasaki, K. Ohashi, J. Kobayashi, H. Osada, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1269.
- [65] W. R. Chan, W. F. Tinto, P. S. Manchand, L. J. Todaro, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3091.
- [66] E. D. Desilva, R. J. Andersen, T. M. Allen, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 489.
- [67] R. Talpir, Y. Benayahu, Y. Kashman, L. Pannell, M. Schleyer, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4266.
- [68] J. E. Coleman, E. D. Desilva, F. M. Kong, R. J. Andersen, T. M. Allen, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10653.
- [69] M. V. Dauria, L. G. Paloma, L. Minale, A. Zampella, C. Debitus, J. Perez, *Journal of Natural Products-Lloydia* **1995**, *58*, 121.
- [70] Y. Kashman, D. G. Gravalos, **1997**, p. 2973.
- [71] W. F. Tinto, A. J. Lough, S. McLean, W. F. Reynolds, M. Yu, W. R. Chan, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4451.
- [72] J. E. Coleman, R. Van Soest, R. J. Andersen, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1137.
- [73] R. N. Sonnenschein, J. J. Farias, K. Tenney, S. L. Mooberry, E. Lobkovsky, J. Clardy, P. Crews, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 779.
- [74] V. M. Freitas, M. Rangel, L. F. Bisson, R. G. Jaeger, G. M. Machado-Santelli, *J. Cell. Physiol.* **2008**, *216*, 583.
- [75] C. Tanaka, J. Tanaka, R. F. Bolland, G. Marriott, T. Higa, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 3536.

- [76] M. Kahn, H. Nakanishi, T. Su, J. Y. H. Lee, M. E. Johnson, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, *38*, 324.
- [77] S. Celanire, C. Descamps-Francois, B. Lesur, G. Guillaumet, B. Joseph, *Lett. Org. Chem.* **2005**, *2*, 528.
- [78] S. Terracciano, I. Bruno, G. Bifulco, J. E. Copper, C. D. Smith, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1325.
- [79] S. Terracciano, I. Bruno, G. Bifulco, E. Avallone, C. D. Smith, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Biorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 5225.
- [80] S. Terracciano, I. Bruno, E. D'Amico, G. Bifulco, A. Zampella, V. Sepe, C. D. Smith, R. Riccio, *Biorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6580.
- [81] R. W. Hoffmann, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1147.
- [82] R. W. Hoffmann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2134.
- [83] S. Marimnganti, S. Yasmeen, D. Fischer, M. E. Maier, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6687.
- [84] S. J. Winder, K. R. Ayscough, *J. Cell Sci.* **2005**, *118*, 651.
- [85] R. Dominguez, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, *29*, 572.
- [86] A. Schmidt, M. N. Hall, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1998**, *14*, 305.
- [87] M. A. Jordan, L. Wilson, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1998**, *10*, 123.
- [88] J. Baum, C. J. Tonkin, A. S. Paul, M. Rug, B. J. Smith, S. B. Gould, D. Richard, T. D. Pollard, A. F. Cowman, *Cell Host & Microbe* **2008**, *3*, 188.
- [89] S. Terracciano, I. Bruno, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Biopolymers* **2003**, *71*, 362.
- [90] S. Terracciano, I. Bruno, G. Bifulco, L. Gomez-Paloma, R. Riccio, *Peptide Revolution: Genomics, Proteomics & Therapeutics* **2004**, 508.
- [91] Chemical Computing Group Inc., Montréal, Kanada.
- [92] G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach, R. Taylor, *J. Mol. Biol.* **1997**, *267*, 727.
- [93] CCDC Software Ltd., Cambridge, Großbritannien.
- [94] P. A. Grieco, Y. S. Hon, A. Perez-Medrano, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1630.
- [95] U. Schmidt, W. Siegel, K. Mundinger, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1269.
- [96] K. S. Chu, G. R. Negrete, J. P. Konopelski, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5196.
- [97] Y. Hirai, K. Yokota, T. Momose, *Heterocycles* **1994**, *39*, 603.
- [98] T. Imaeda, Y. Hamada, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 591.

- [99] P. Ashworth, B. Broadbelt, P. Jankowski, P. Kocienski, A. Pimm, R. Bell, *Synthesis-Stuttgart* **1995**, 199.
- [100] A. K. Ghosh, D. K. Moon, *Org. Lett.* **2007**, 9, 2425.
- [101] S. J. Miller, H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9606.
- [102] H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 3281.
- [103] C. E. Schafmeister, J. Po, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 5891.
- [104] R. N. Chapman, G. Dimartino, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12252.
- [105] T. R. Hoye, C. S. Jeffrey, M. A. Tennakoon, J. Z. Wang, H. Y. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10210.
- [106] A. Fürstner, K. Langemann, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 9130.
- [107] S. G. Davies, O. Ichihara, *Tetrahedron-Asymmetr.* **1991**, 2, 183.
- [108] M. A. Brook, T. H. Chan, *Synthesis-Stuttgart* **1983**, 201.
- [109] K. N. White, J. P. Konopelski, *Org. Lett.* **2005**, 7, 4111.
- [110] K. C. Nicolaou, A. A. Estrada, M. Zak, S. H. Lee, B. S. Safina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1378.
- [111] T. Hintermann, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, 81, 2093.
- [112] R. Tannert, M. Schurmann, H. Preut, H. D. Arndt, H. Waldmann, *Acta Crystallogr. Sect. E: Struct. Rep. Online* **2007**, 63, O4381.
- [113] A. L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.* **2003**, 36, 7.
- [114] M. Gude, J. Ryf, P. D. White, *Lett. Pept. Sci.* **2002**, 9, 203.
- [115] E. Biron, J. Chatterjee, H. Kessler, *J. Pept. Sci.* **2006**, 12, 213.
- [116] A. G. Myers, L. McKinsty, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2428.
- [117] S. F. Martin, J. A. Dodge, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3017.
- [118] O. Mitsunobu, M. Yamada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, 40, 2380.
- [119] O. Mitsunobu, *Synthesis-Stuttgart* **1981**, 1.
- [120] B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, 17, 522.
- [121] H. C. Brown, K. S. Bhat, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 293.
- [122] H. Waldmann, T. S. Hu, S. Renner, S. Menninger, R. Tannert, T. Oda, H. D. Arndt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 6473.
- [123] R. E. Mahaffy, T. D. Pollard, *Biochemistry* **2008**, 47, 6460.

- [124] W. C. Still, A. Tempczyk, R. C. Hawley, T. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6127.
- [125] F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 440.
- [126] W. L. F. Armarego, L. L. Chai, *Purification of Laboratory Chemicals*, 5th ed., Elsevier, Amsterdam, **2002**.
- [127] Ambika, P. P. Singh, S. M. S. Chauhan, *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 928.
- [128] L. H. Yang, K. L. Chiu, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7307.
- [129] D. L. Boger, H. Keim, B. Oberhauser, E. P. Schreiner, C. A. Foster, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6197.
- [130] A. G. Myers, B. H. Yang, H. Chen, L. McKinstry, D. J. Kopecky, J. L. Gleason, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6496.
- [131] M. D. Bachi, E. Bosch, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4696.
- [132] T. K. Chakraborty, D. Thippeswamy, S. Jayaprakash, *J. Indian Chem. Soc.* **1998**, *75*, 741.
- [133] E. A. Hill, M. M. Myers, *J. Organomet. Chem.* **1979**, *173*, 1.

8. Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut (wasserfrei)
APT	<u>A</u> ttached <u>P</u> roton <u>T</u> est
Äq.	Äquivalent
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
c	Konzentration
CI	<u>C</u> hemical <u>I</u> onization
Cy	Cyclohexyl
DAPI	4',6- <u>D</u> i <u>a</u> midino-2- <u>p</u> henyl <u>i</u> ndol
DBU	1,8- <u>D</u> iazabicyclo[5.4.0] <u>u</u> ndec-7-en
DNA	Desoxyribonukleinsäure („ <u>d</u> esoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid“)
d.e.	Diastereomerenüberschuss („ <u>d</u> ia <u>s</u> tereomeric <u>e</u> xcess“)
Dec	3-Methyl-4,9-decadien-2-ol
DIAD	<u>D</u> iisopropyl <u>a</u> zod <u>i</u> carboxylat
DIBAL-H	<u>D</u> iisobutyl <u>a</u> luminium <u>h</u> ydrid
DIC	<i>N,N'</i> - <u>D</u> iisopropyl <u>c</u> arbodiimid
DIPEA	<i>N,N</i> - <u>D</u> iisopropyl <u>e</u> thyl <u>a</u> min
DMAP	4-(<u>D</u> imethyl <u>a</u> mino) <u>p</u> yridin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid,
EDC·HCl	<i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid hydrochlorid
ϵ	Dielektrizitätskonstante
e.e.	Enantiomerenüberschuss („ <u>e</u> nantiomeric <u>e</u> xcess“)
EGTA	Ethylenglykoltetraessigsäure („ <u>e</u> thylene <u>g</u> lycol <u>t</u> etraacetic <u>a</u> cid“)
EI	<u>E</u> lectron <u>I</u> mpact
ESI	<u>E</u> lectrospray <u>I</u> onization
FAB	<u>F</u> ast <u>A</u> tom <u>B</u> ombardment
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
FmocOSu	<i>N</i> -(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimid
gCOSY	gradient enhanced <u>C</u> orrelation <u>S</u> pectroscopy
gef.	gefunden
ges.	gesättigt

gHMBC	gradient enhanced <u>H</u> eteronuclear <u>M</u> ultiple <u>B</u> ond <u>C</u> orrelation
gHSQC	gradient enhanced <u>H</u> eteronuclear <u>S</u> ingle <u>Q</u> uantum <u>C</u> orrelation
h	Stunde
HATU	2-(7-Aza-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat
Hdn	8-Hydroxy-2,4-dimethylnon-4-ensäure
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluorisopropanol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
Hoc	8-Hydroxyoct-4-ensäure
Htn	(2 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-8-Hydroxy-2,4,6-trimethylnon-4-ensäure
Hto	7-Hydroxy-2,4,6-trimethyloct-4-ensäure
Hex	(<i>S</i>)-5-hexen-2-ol
<i>i</i> Pr	isopropyl (IUPAC: methylethyl)
<i>J</i>	Kopplungskonstante
L	Liter
<i>m</i>	Masse
M	molar (Mol pro Liter)
Mbt	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-methylpent-4-enol
Mbn	α -Methylbenzyl
Mhx	(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-methylhex-5-enol
min	Minute
mL	Milliliter
MOM	Methoxymethyl
N	normal (Äquivalent pro Liter)
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NMP	1-Methylpyrrolidin-2-on
NMR	Kernresonanz („ <u>n</u> uclear <u>m</u> agnetic <u>r</u> esonance“)
NOE	Kern-Overhauser-Effekt („ <u>n</u> uclear <u>O</u> verhauser <u>e</u> ffect“)
NOESY	<u>N</u> uclear <u>O</u> verhauser <u>E</u> nhancement <u>S</u> pectroscopy
<i>n</i> BuLi	<i>n</i> - <u>B</u> uyl <u>l</u> ithium
<i>o</i> -NBSCI	<u>o</u> r <u>tho</u> - <u>N</u> itro <u>b</u> enzol <u>s</u> ulfon <u>s</u> äure <u>ch</u> lorid
Pea	2,4-Dimethylpent-4-ensäure

PG	Schutzgruppe („protecting group“)
PIPES	<u>P</u> iperazin-1,4-bis(<u>e</u> thans <u>s</u> ulfonsäure)
Pnt	Pent-4-ensäure
Poh	Pent-4-en-1-ol
Rf	Retentionsfaktor
RMSD	mittlere räumliche Abweichung („ <u>R</u> oot <u>M</u> ean <u>S</u> quare <u>D</u> eviation“)
rpm	Umdrehungen pro Minute („ <u>r</u> evolutions <u>p</u> er <u>m</u> inute“)
Rt	Raumtemperatur
S	Sekunde
Schmp.	Schmelzpunkt
Siedep.	Siedepunkt
TBAF	<u>T</u> etra- <i>n</i> - <u>b</u> utylammonium <u>f</u> luorid
TBS	<i>ter</i> tär- <u>B</u> utyl <u>d</u> imethyl <u>s</u> ilyl
TFA	Trifluoressigsäure („ <u>T</u> ri <u>f</u> luoro <u>a</u> cetic <u>a</u> cid“)
TFE	<u>T</u> ri <u>f</u> luo <u>e</u> thanol
THF	<u>T</u> etra <u>h</u> ydro <u>f</u> uran
TIPS	<u>T</u> ri <u>i</u> sopropyl <u>s</u> ilyl
TIPSCI	<u>T</u> ri <u>i</u> sopropyl <u>s</u> ilyl <u>c</u> hlorid
TIS	<u>T</u> ri <u>i</u> sopropyl <u>s</u> ilan
TMSCI	<u>T</u> ri <u>m</u> ethyl <u>s</u> ilyl <u>c</u> hlorid
t_R	Retentionszeit
TRITC	<u>T</u> exas <u>R</u> ed - <u>I</u> so <u>t</u> hiocyanat
Und	(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Methylundeca-5,10-dien-2-ol
v	Volumen

Aminosäuren werden in der üblichen Weise durch den Ein- oder Dreibuchstaben-Code abgekürzt (vgl. IUPAC-IUB Commission of Biochemical Nomenclature, *Pure Appl.Chem.* **1982**, 54, 1517 und 1525).

9. Anhang

9.1 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.

Dortmund, 02.03.2009

René Tannert

9.2 Danksagung

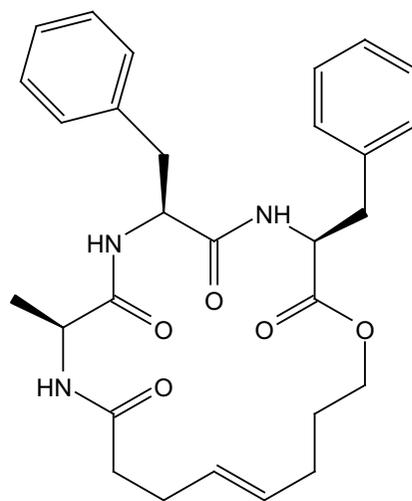
Dank gebürt zuerst Prof. Dr. Herbert Waldmann für die Möglichkeit, ein anspruchsvolles Thema mit größtmöglicher wissenschaftlicher Freiheit und mit bester Infrastruktur in seiner Arbeitsgruppe zu bearbeiten. Herrn Dr. Hans-Dieter Arndt danke ich für die hilfreiche wissenschaftliche Koordination des Projektes, und für die Übernahme des Koreferats bin ich Prof. Dr. Norbert Krause dankbar. Ich danke Dr. Roman Lichtenecker und Dr. Lech-Gustav Milroy für die kritische Durchsicht von Teilen dieser Arbeit.

Großer Dank gilt auch meinen Projektpartnern Sascha Menninger, Bernhard Ellinger, Dr. Steffen Renner, Thilo Walther und Dr. Lech Gustav-Milroy, vor Allem aber Dr. Tai-Shan Hu, der mir bei vielen Syntheseproblemen hilfreich war. Denis Streich danke ich für die im Rahmen seiner Ausbildung zum Chemielaboranten geleistete Hilfe, ebenso Timon Mönig für die Hilfe während seines Forschungspraktikums.

Meinen Laborkollegen, besonders Dr. Samy Chammaa Tórtola und Dr. Hugo Lachance danke ich für eine tolle Atmosphäre (mit super Musik) im Labor und außerhalb. Das gilt eigentlich für die ganze Belegschaft an Uni und MPI, danke für die gute Zusammenarbeit, die Arbeit mit Euch hat Spaß gemacht!

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden Andrea, Dani, Maurits, Olli und Stefan für ihre kontinuierliche Unterstützung während der Zeit der Promotion. Nicht zuletzt geht ein Riesendank an meine liebe Helene für ihr Verständnis und ihre Geduld, fast alle meine Launen zu ertragen und mir stets zur Seite zu stehen.

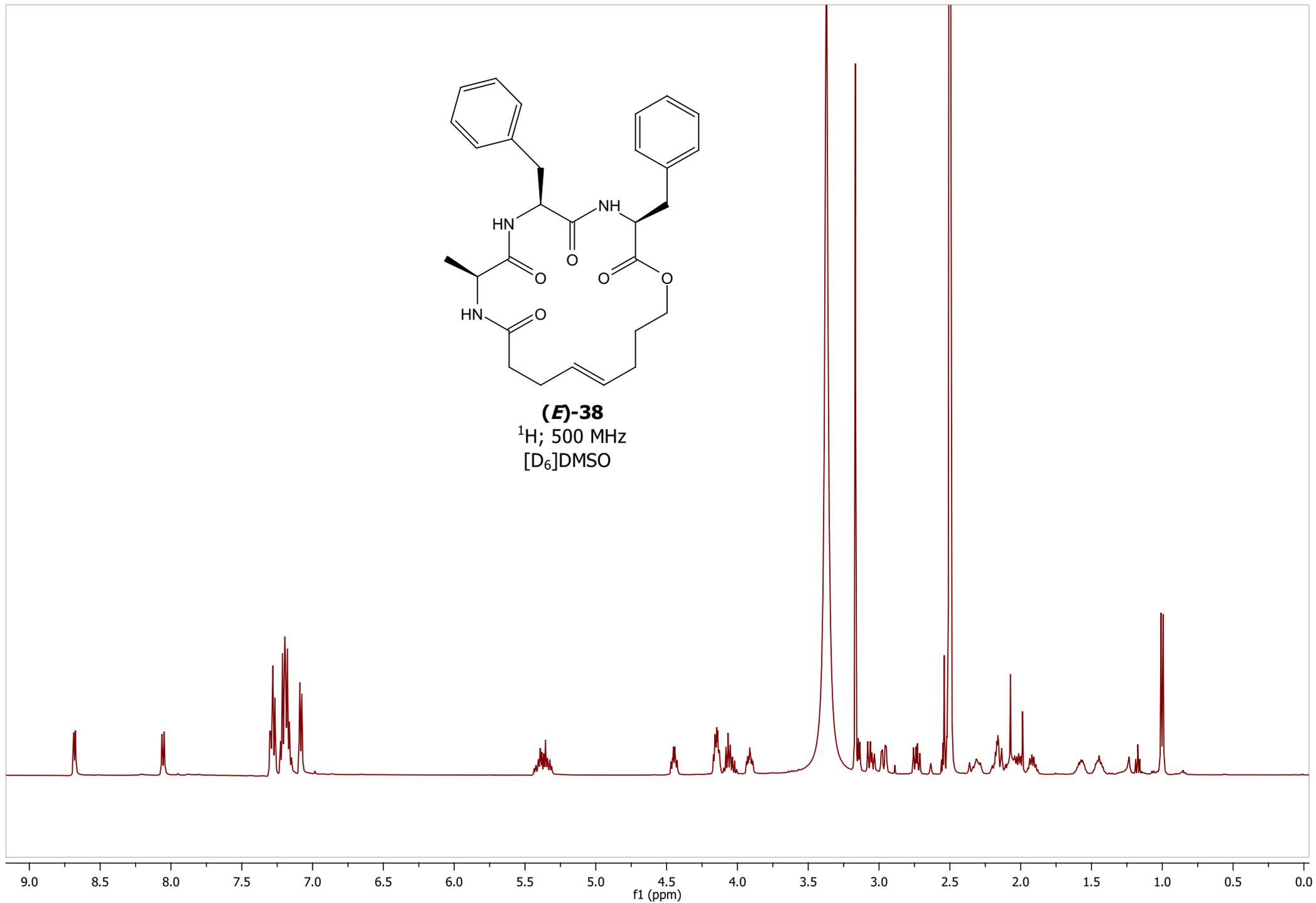
9.3 ¹H-NMR-Spektren

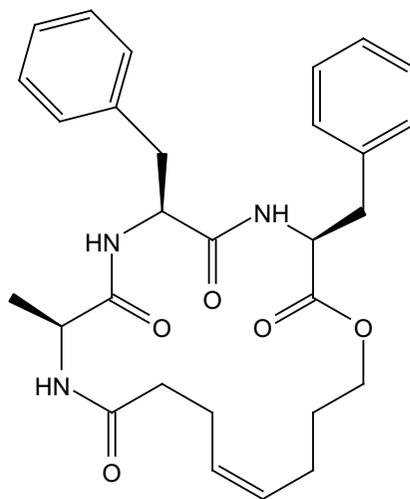


(E)-38

^1H ; 500 MHz

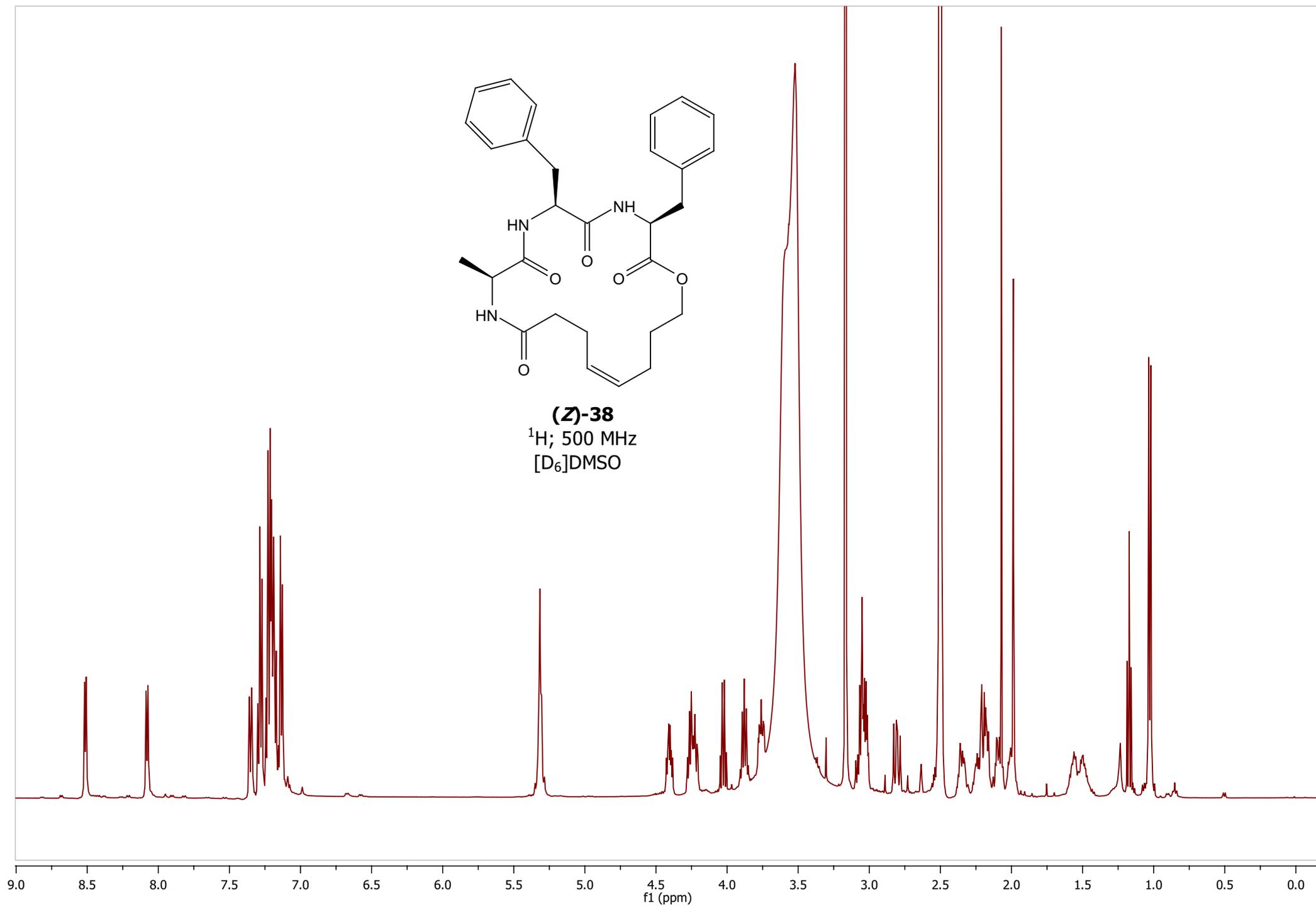
$[\text{D}_6]\text{DMSO}$

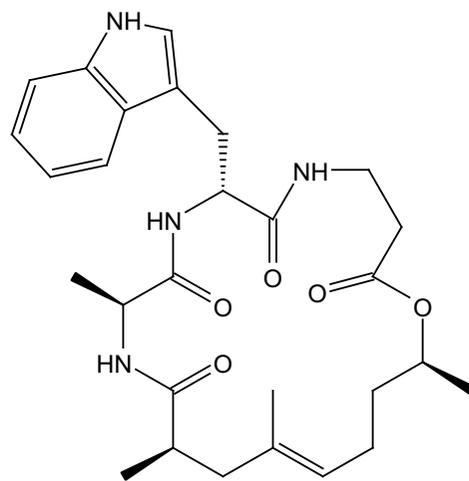




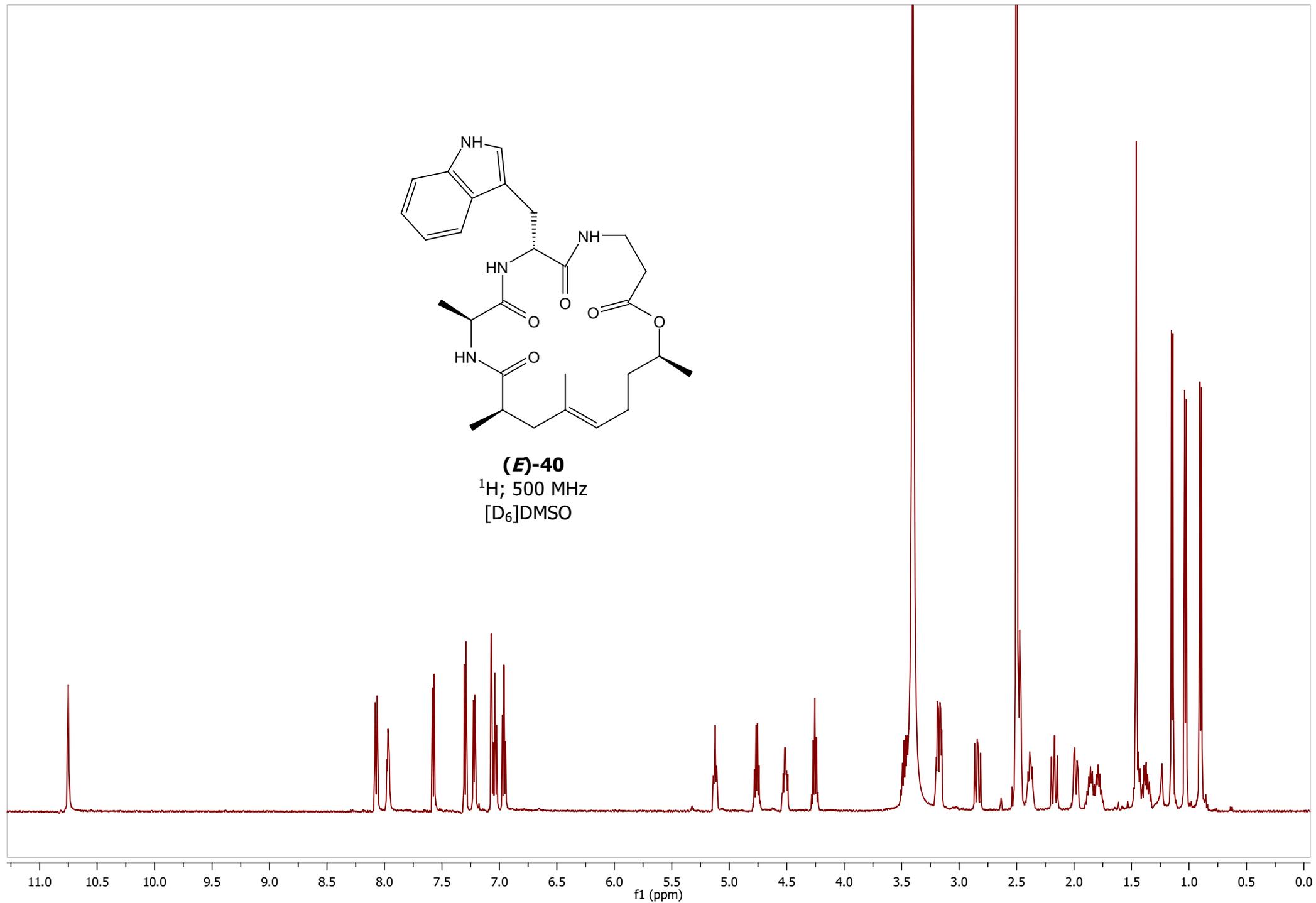
(Z)-38

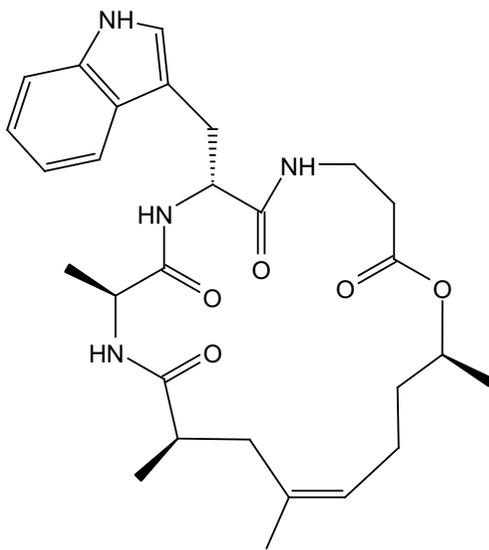
^1H ; 500 MHz
[D₆]DMSO





(E)-40
 ^1H ; 500 MHz
[D₆]DMSO

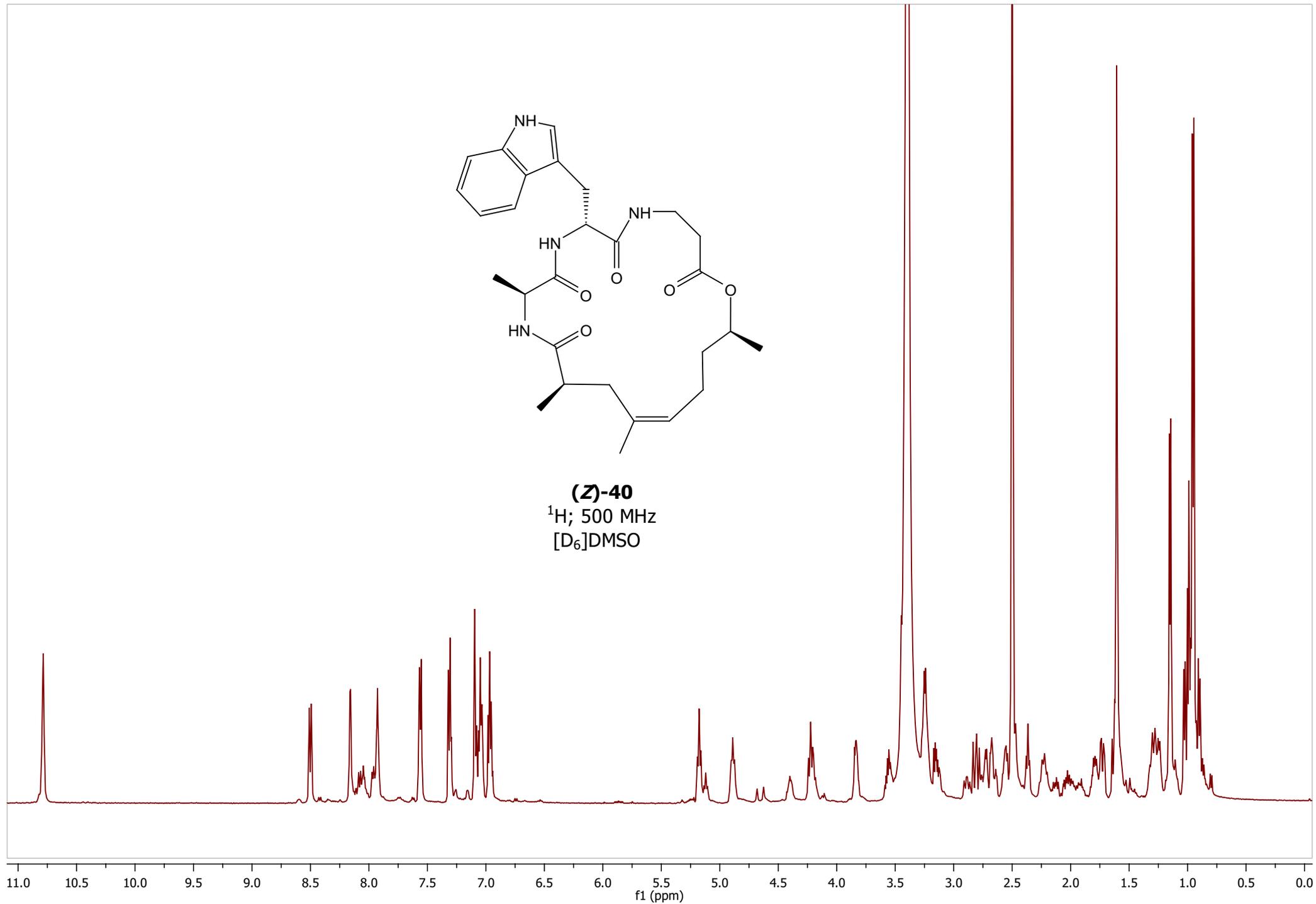


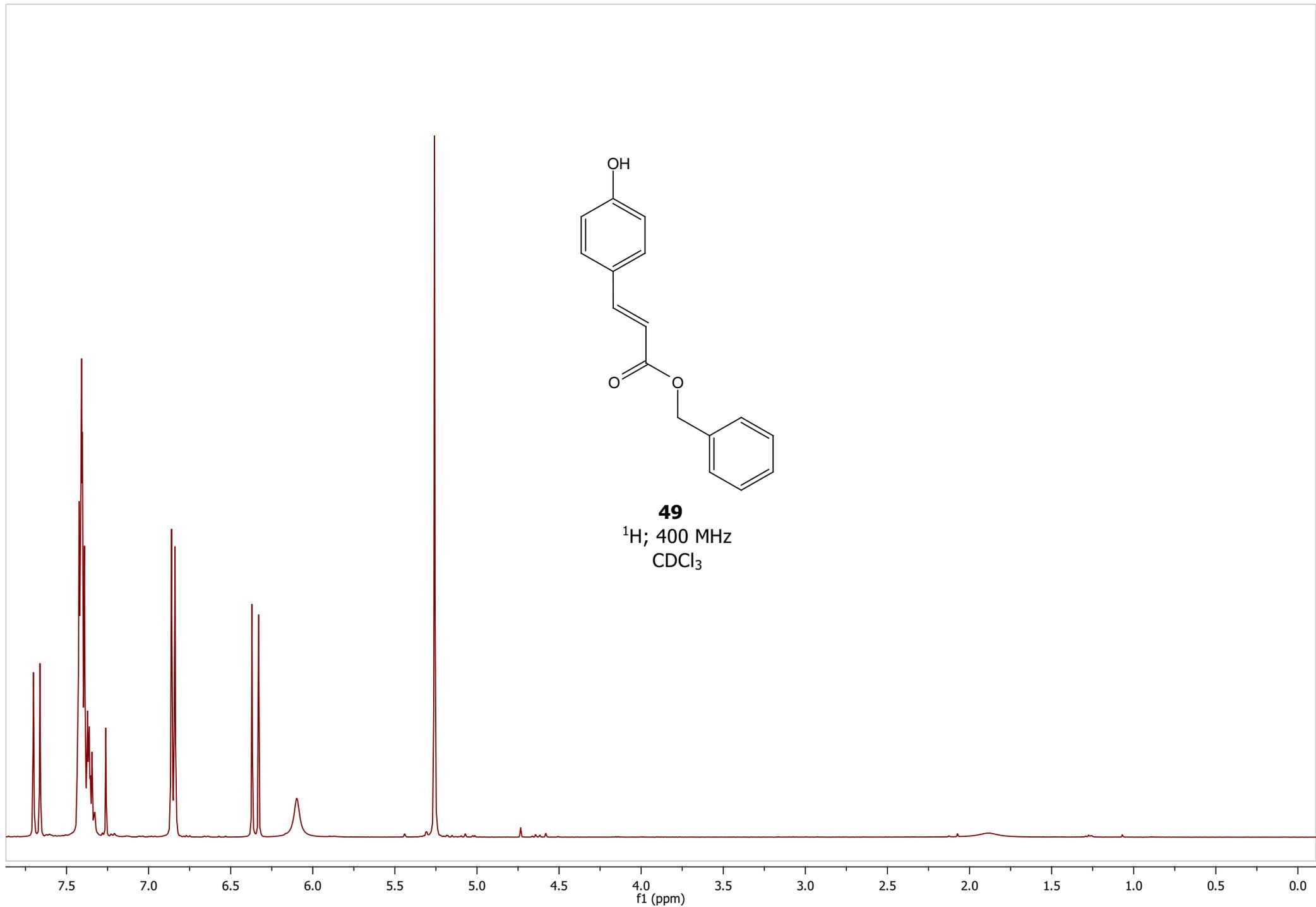


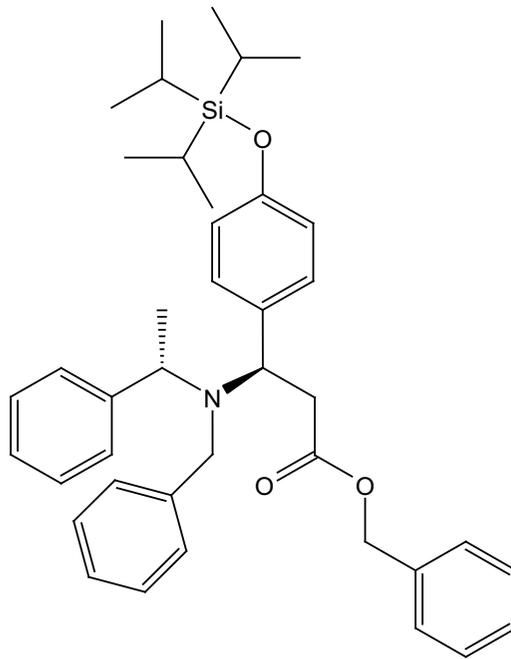
(Z)-40

¹H; 500 MHz

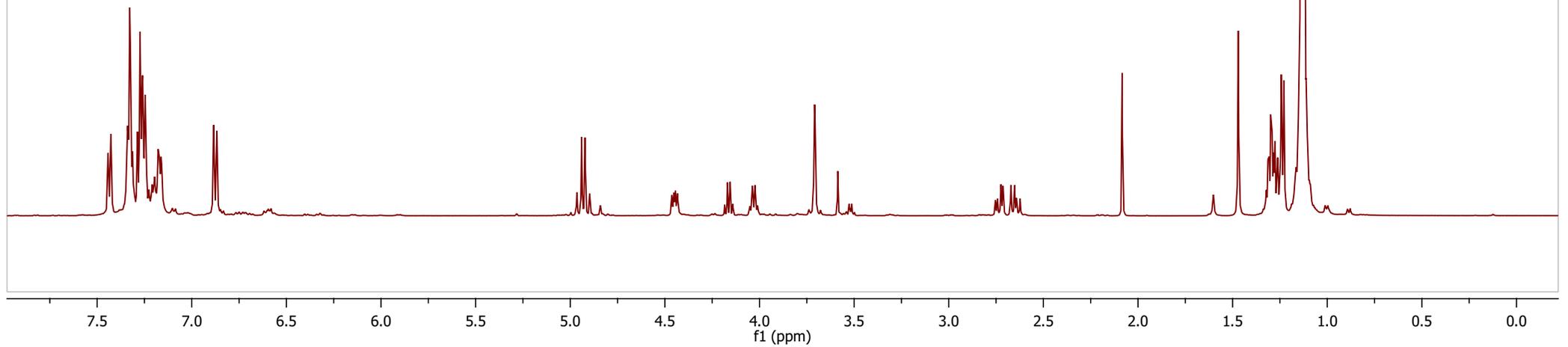
[D₆]DMSO

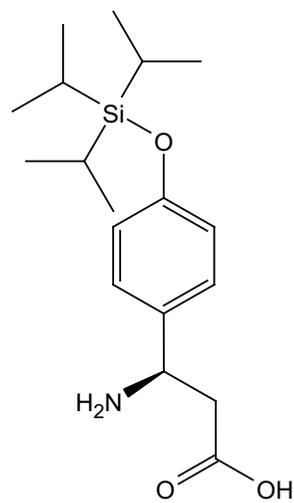




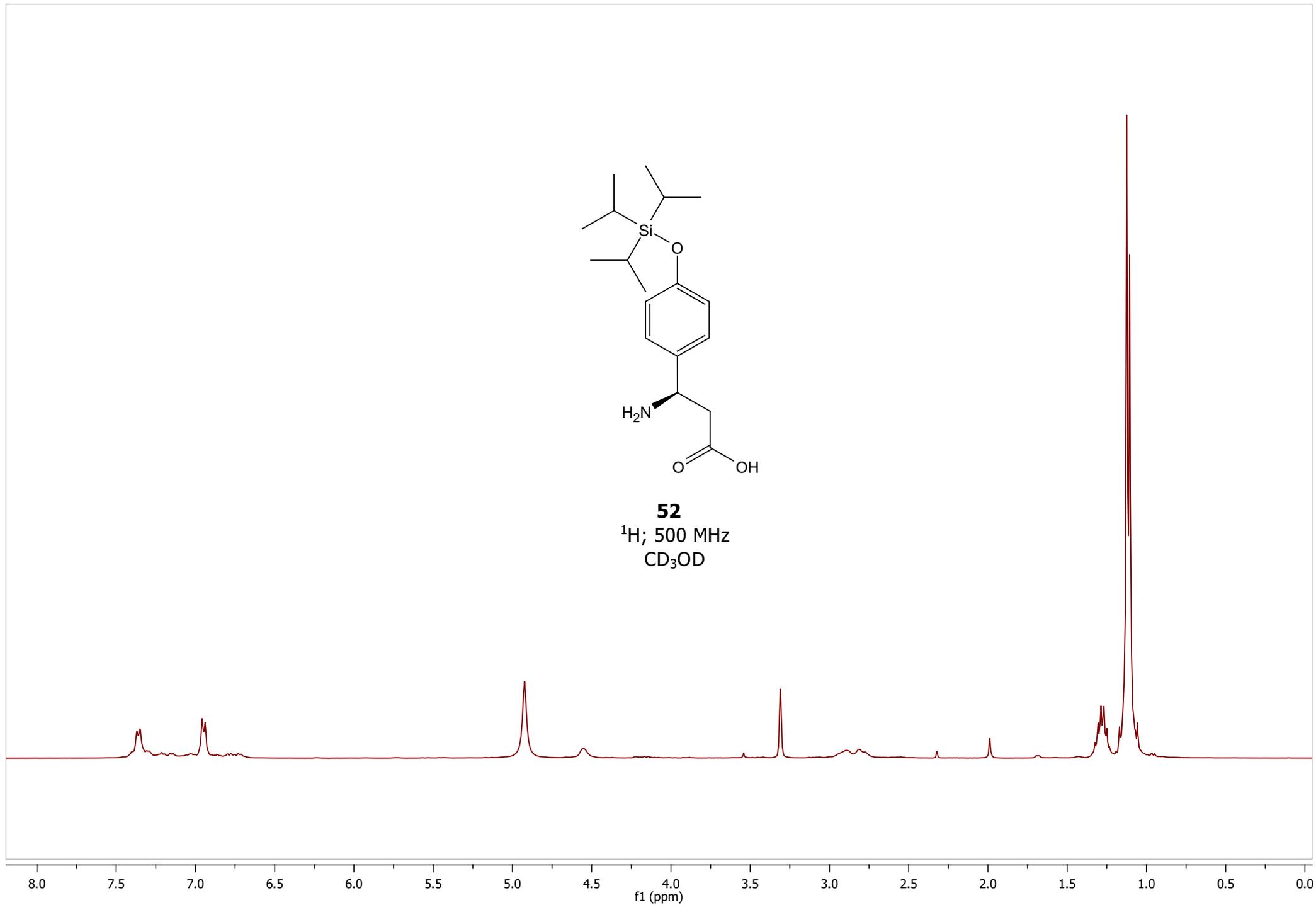


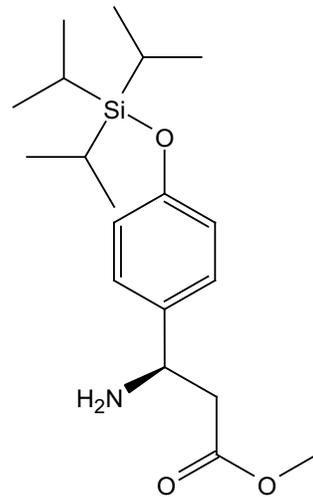
51
¹H; 500 MHz
CDCl₃



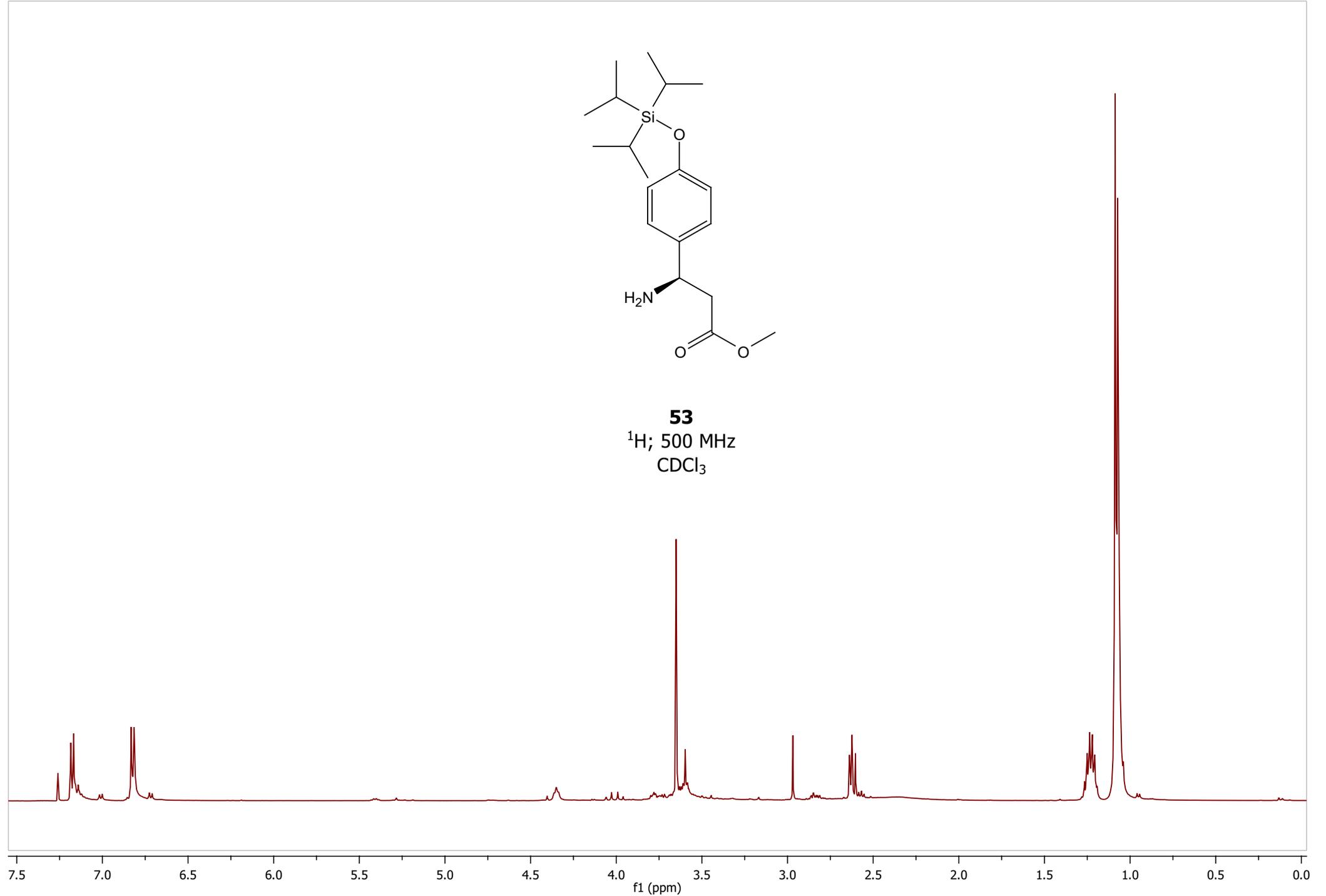


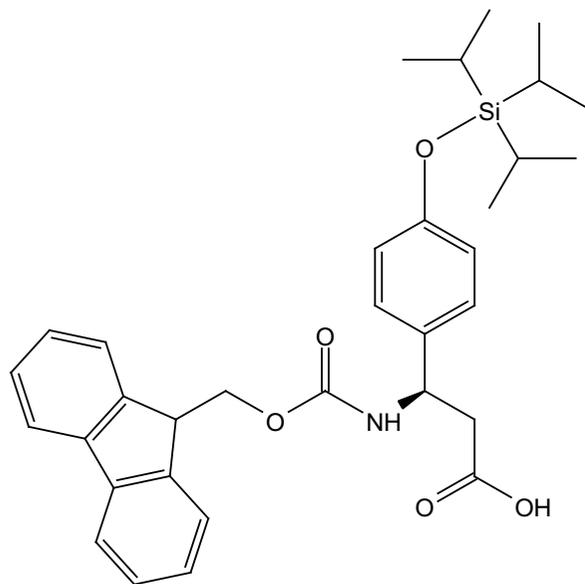
52
¹H; 500 MHz
CD₃OD





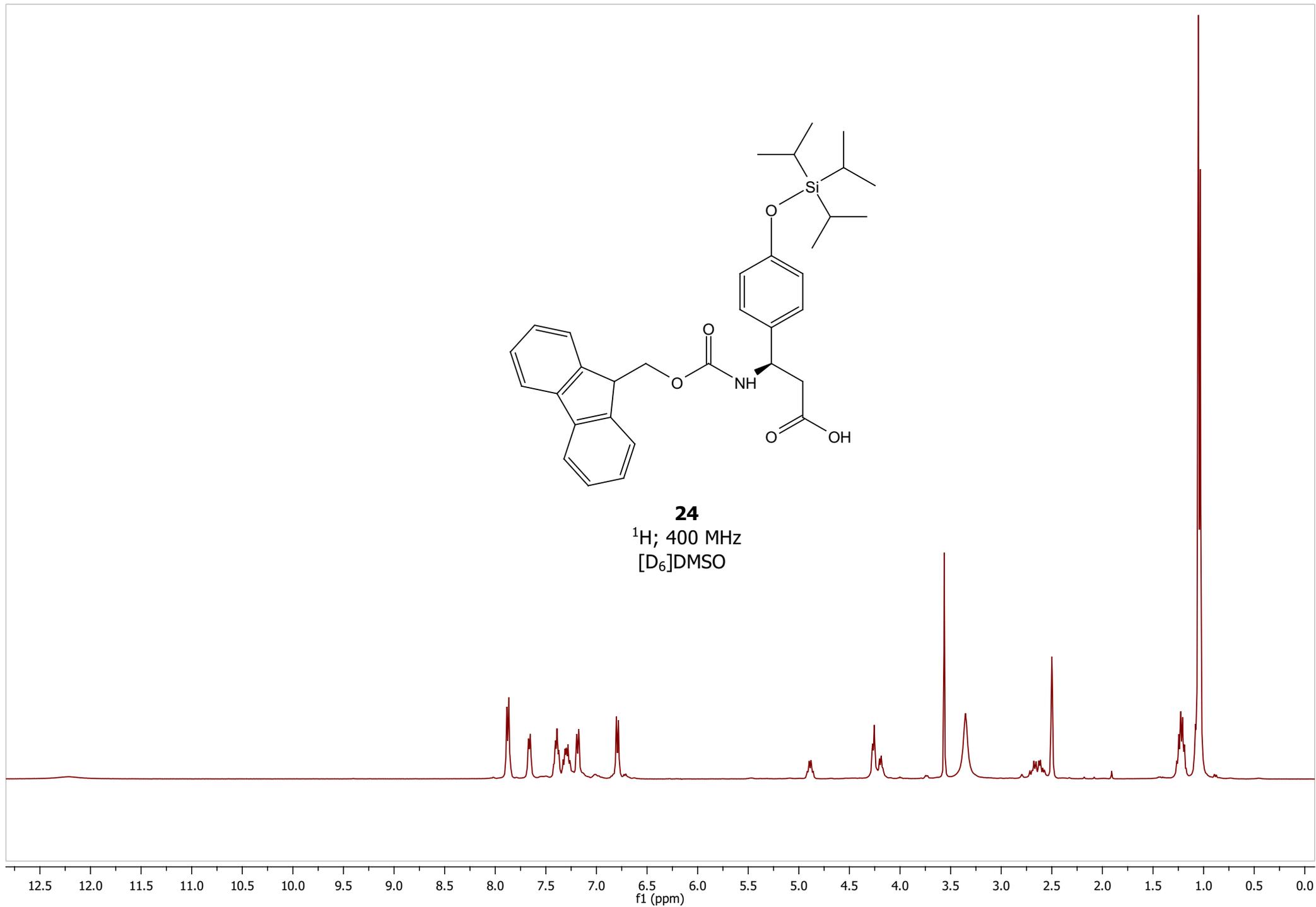
53
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3

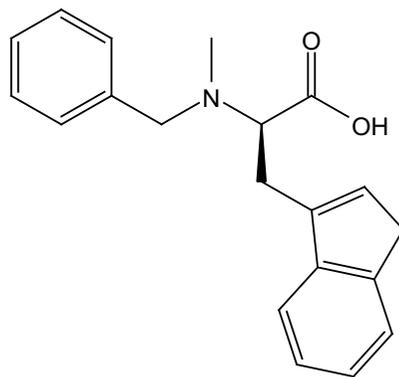




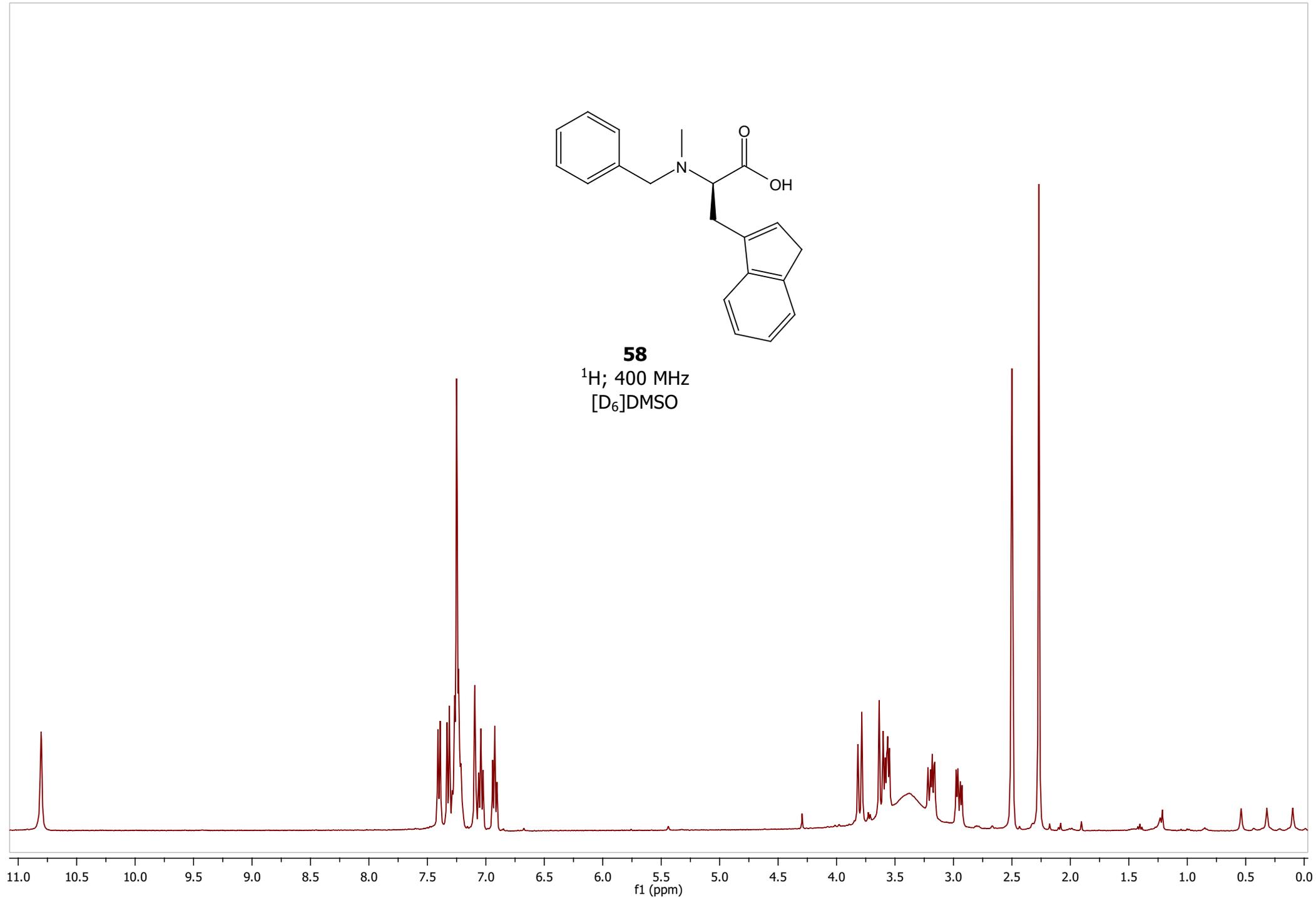
24

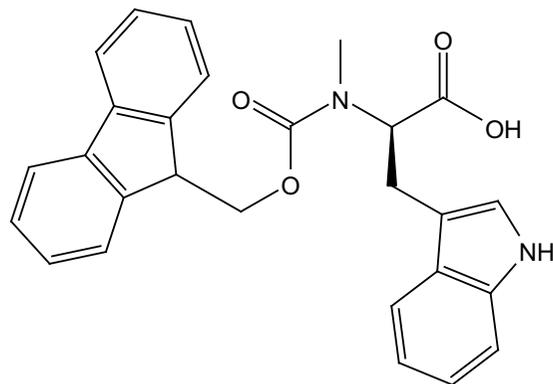
¹H; 400 MHz
[D₆]DMSO



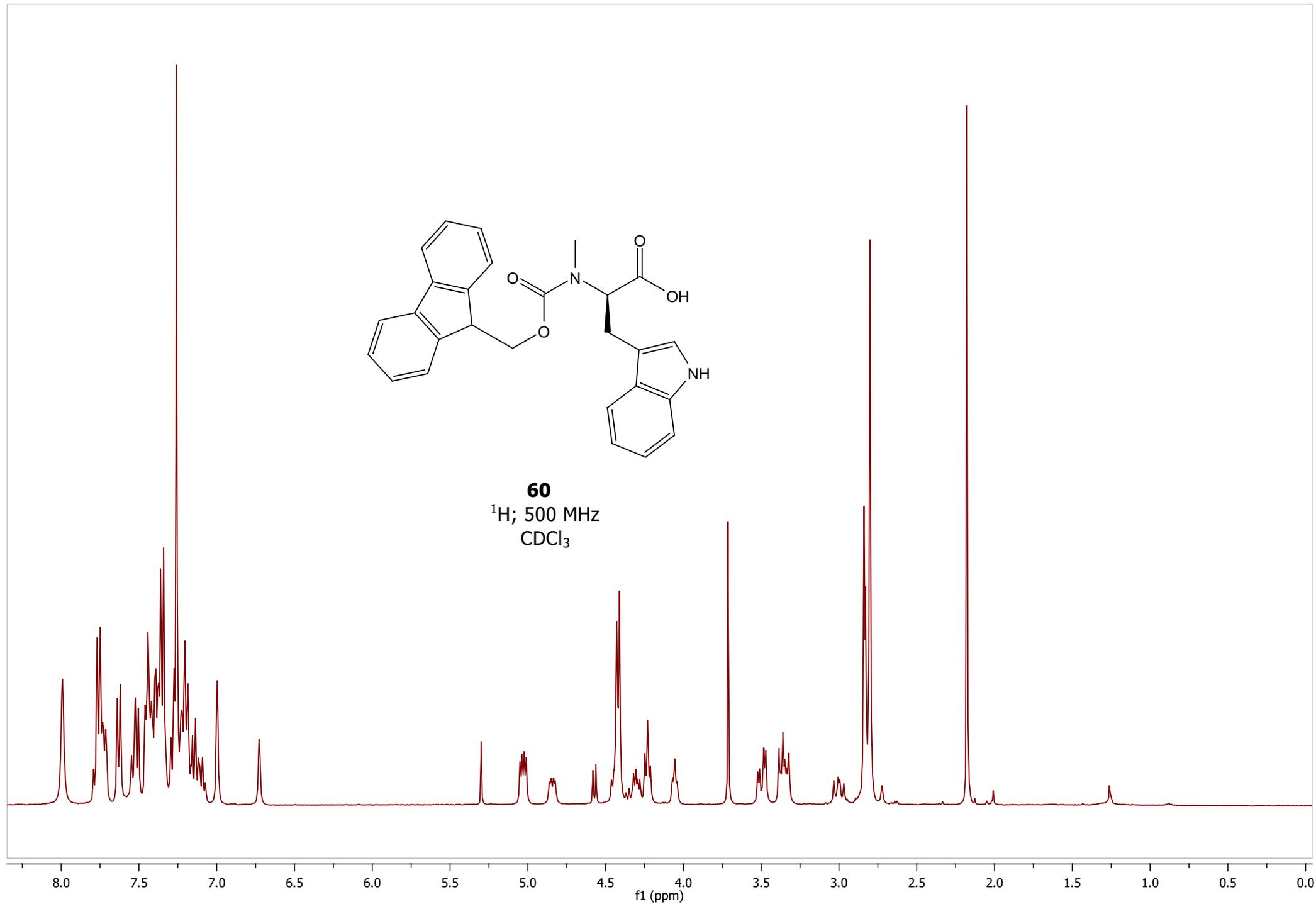


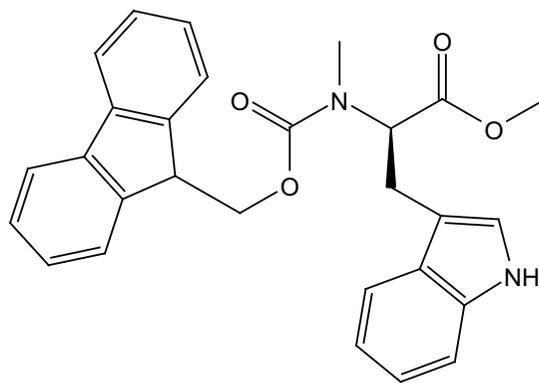
58
¹H; 400 MHz
[D₆]DMSO



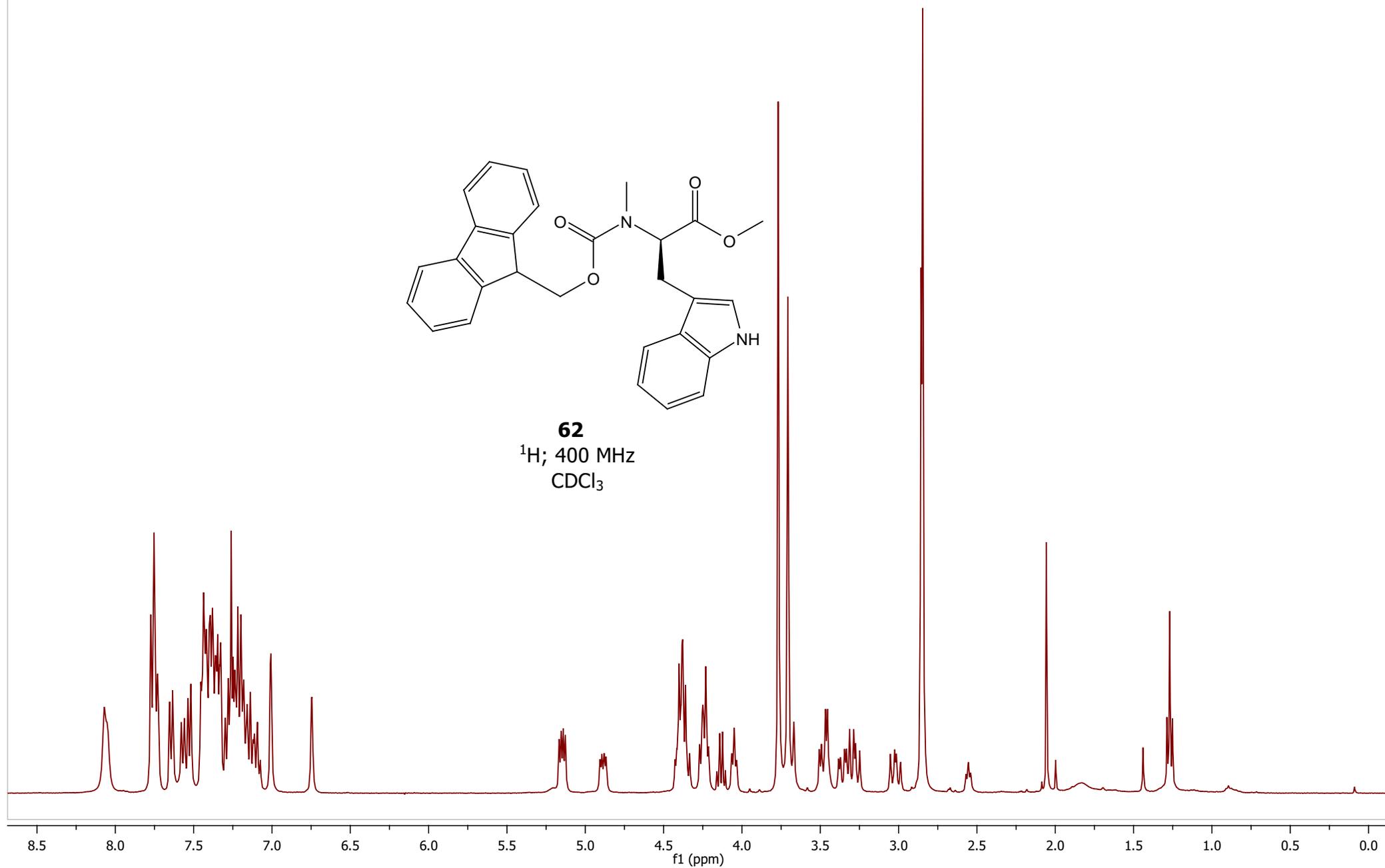


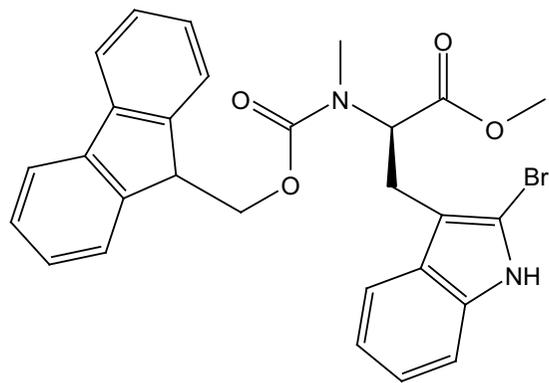
60
¹H; 500 MHz
CDCl₃



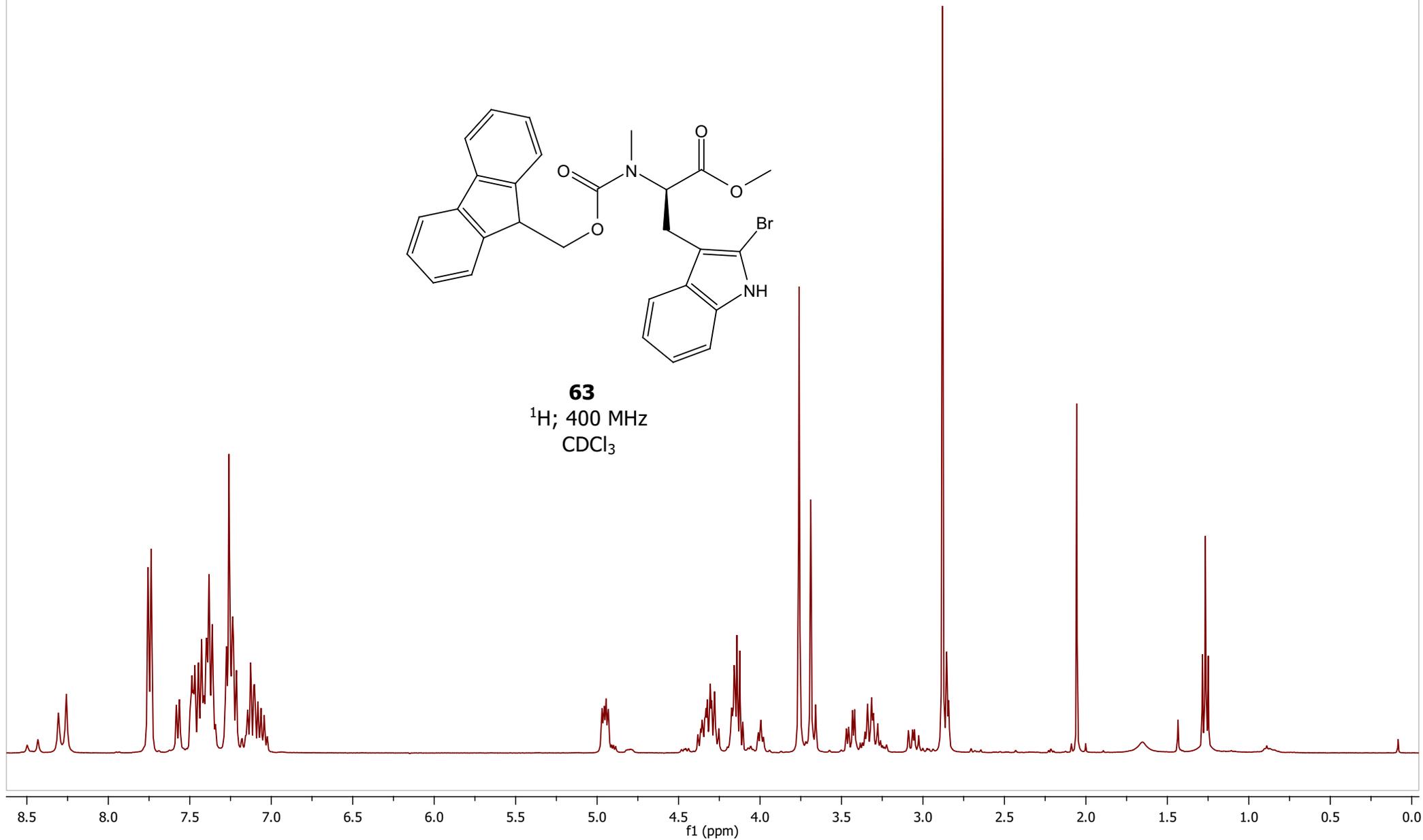


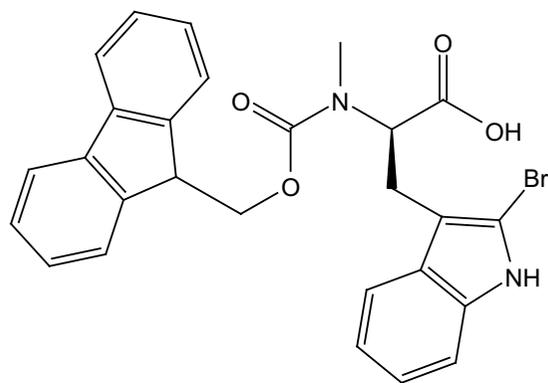
62
 ^1H ; 400 MHz
 CDCl_3



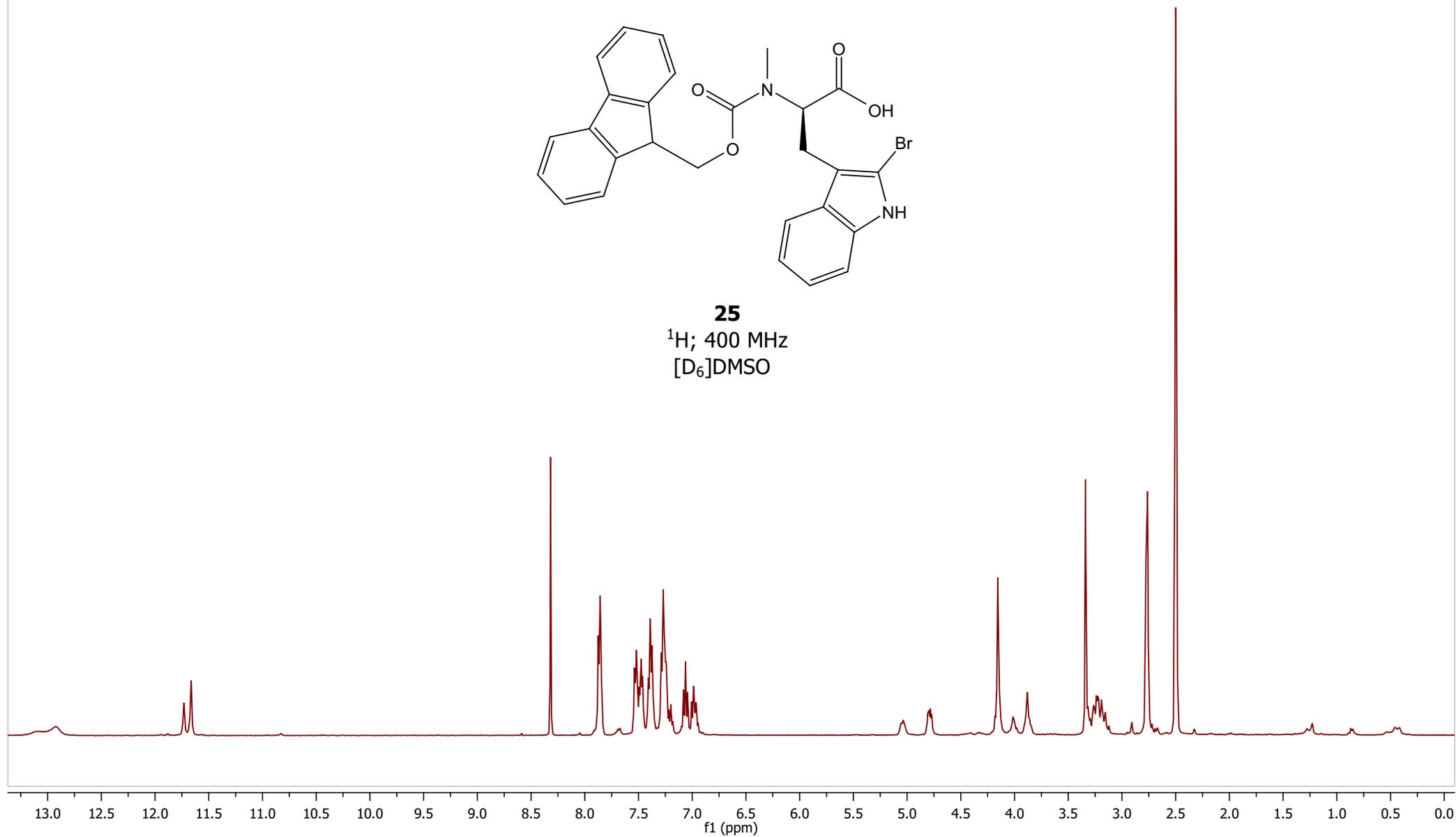


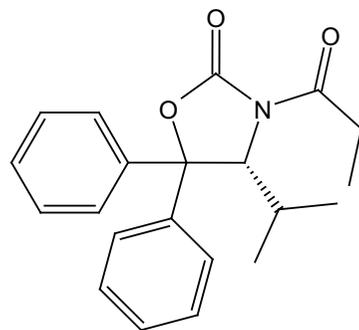
63
¹H; 400 MHz
CDCl₃



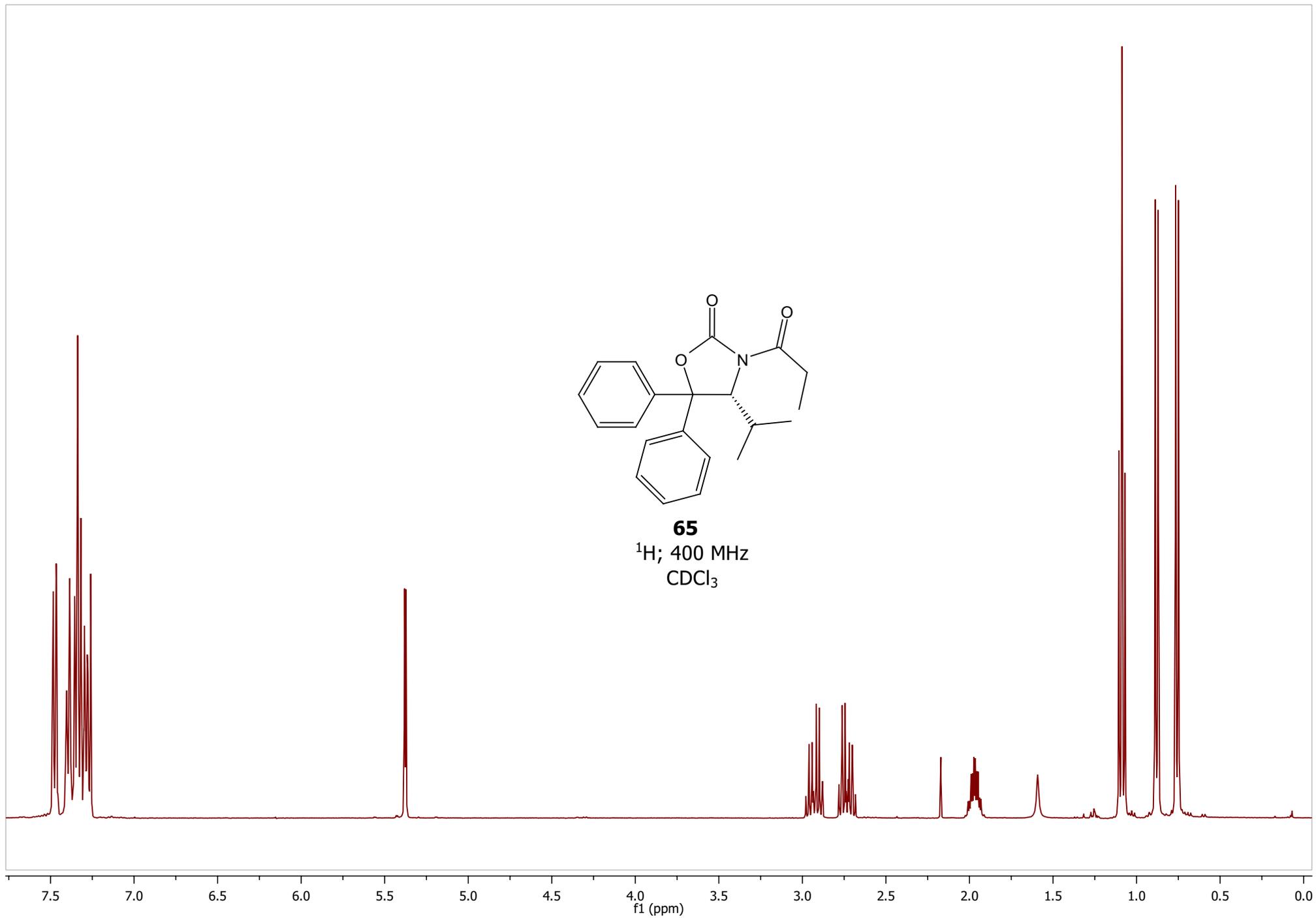


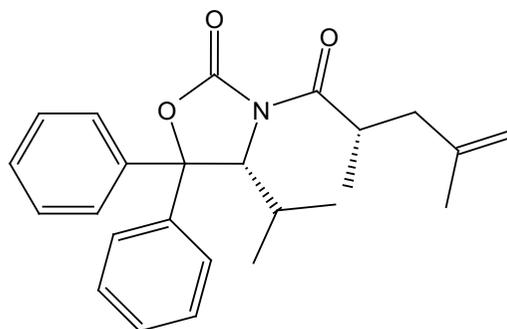
25
¹H; 400 MHz
[D₆]DMSO



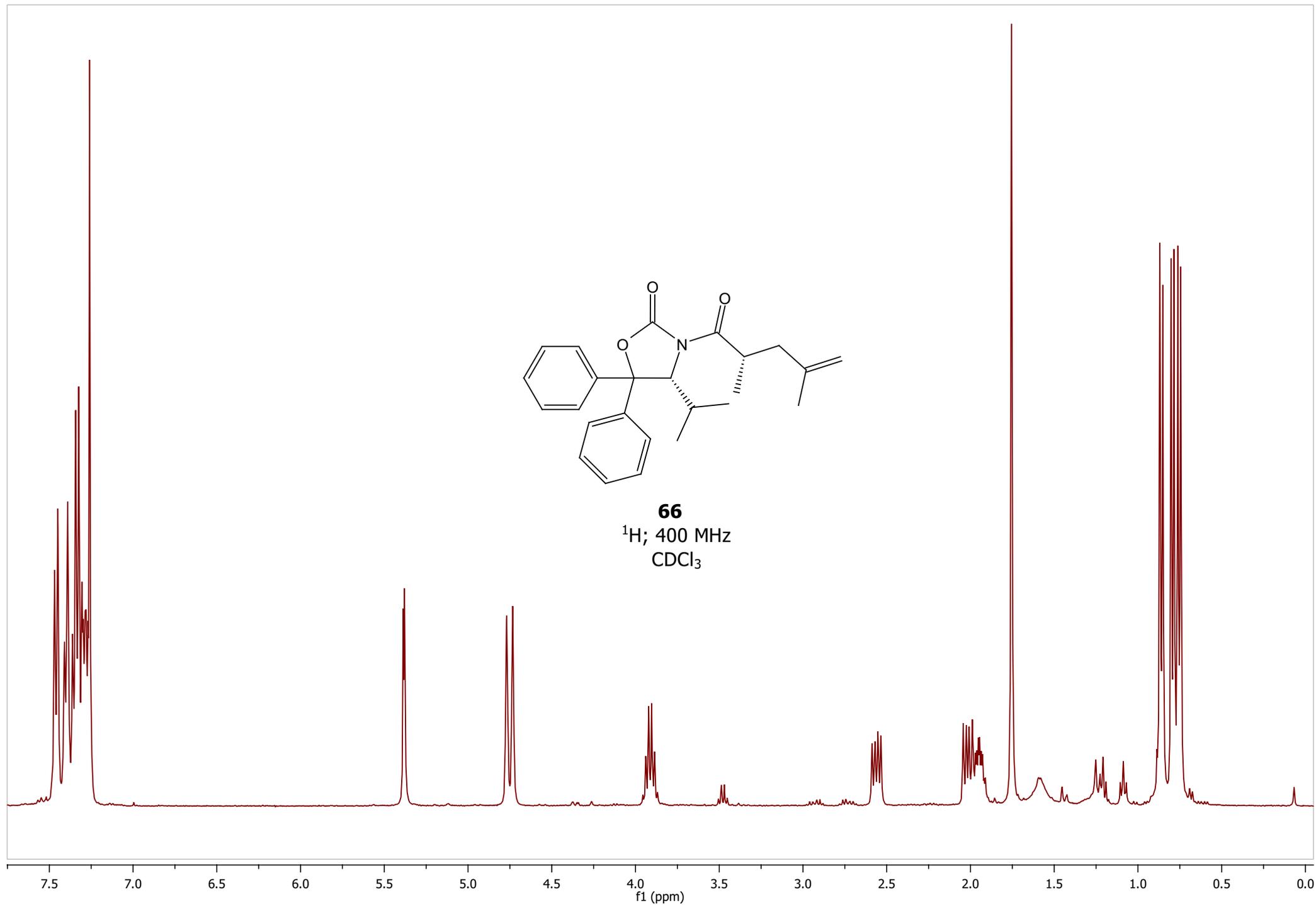


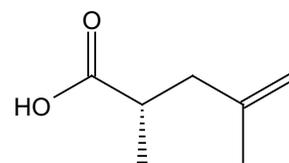
65
¹H; 400 MHz
CDCl₃





66
 ^1H ; 400 MHz
 CDCl_3

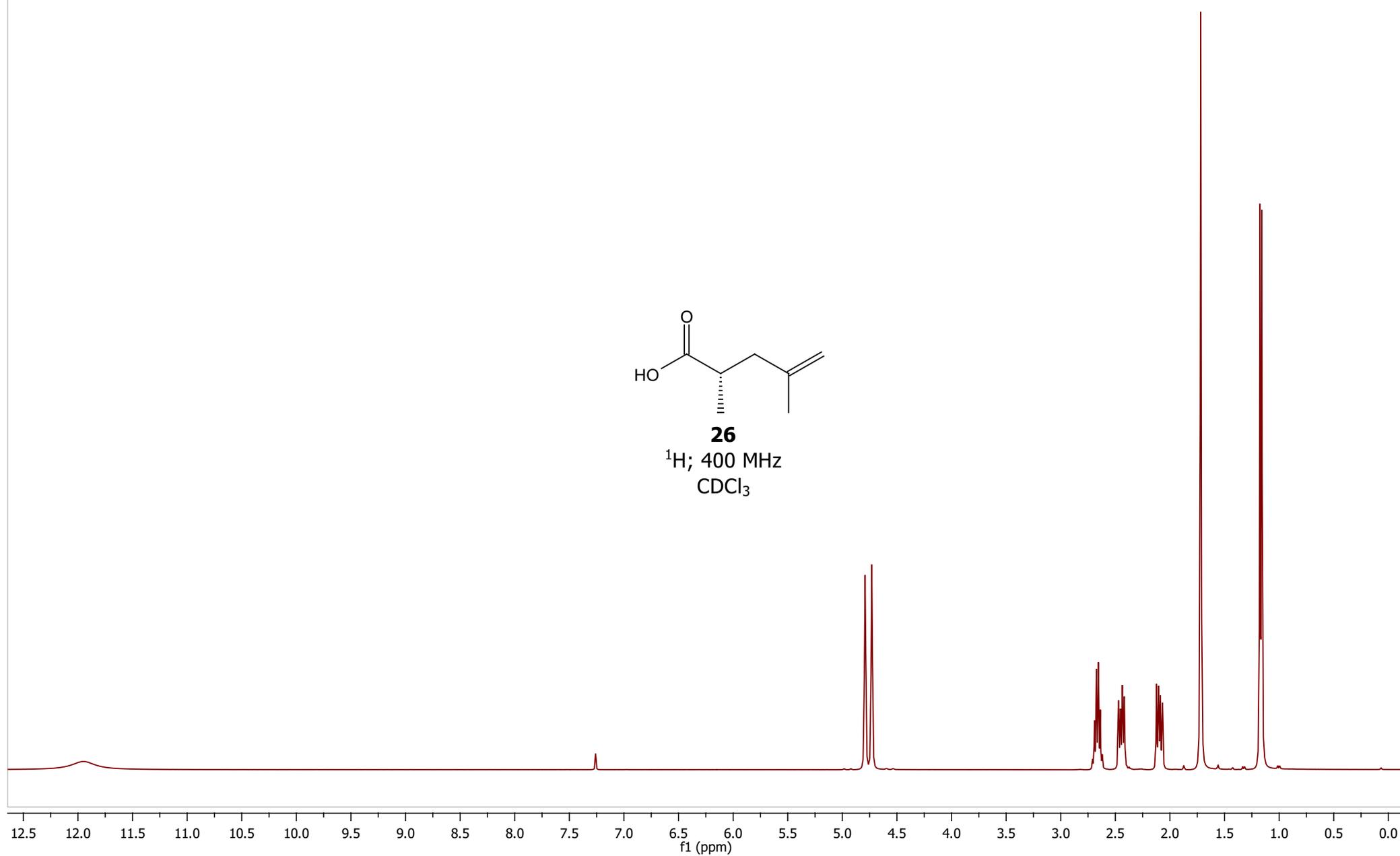


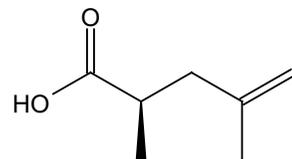


26

^1H ; 400 MHz

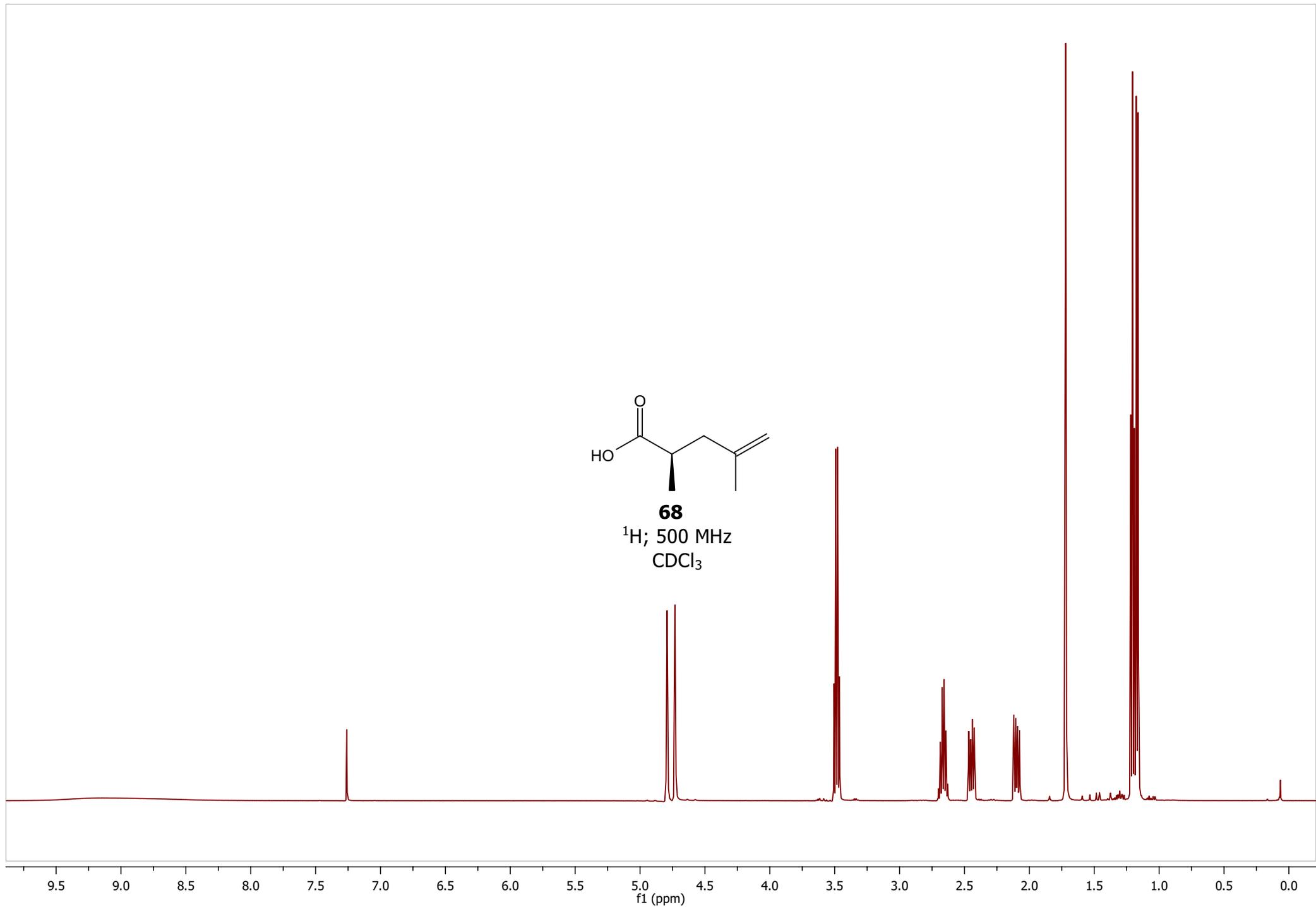
CDCl_3

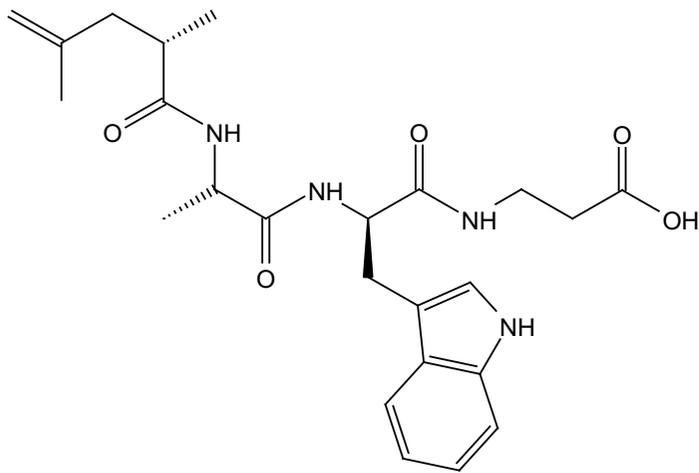




68

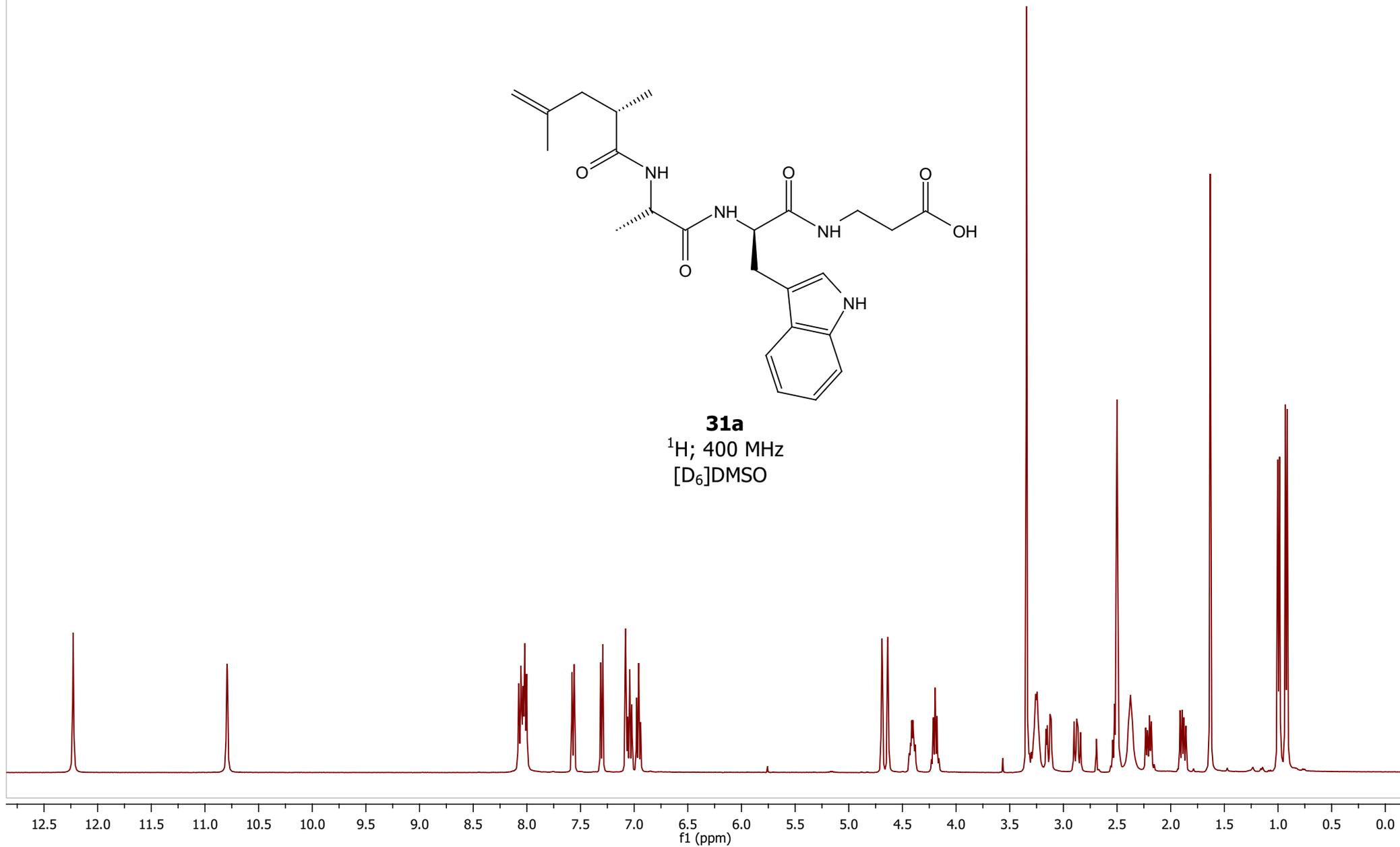
¹H; 500 MHz
CDCl₃

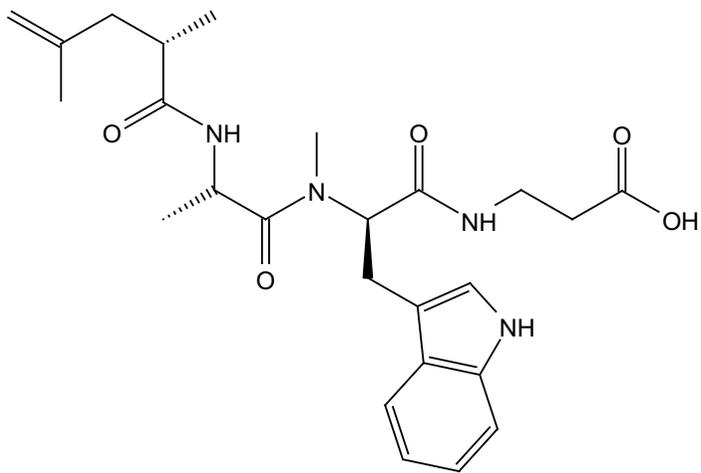




31a

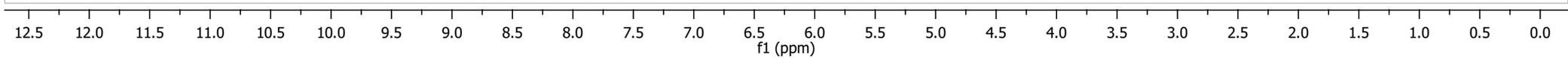
^1H ; 400 MHz
[D₆]DMSO

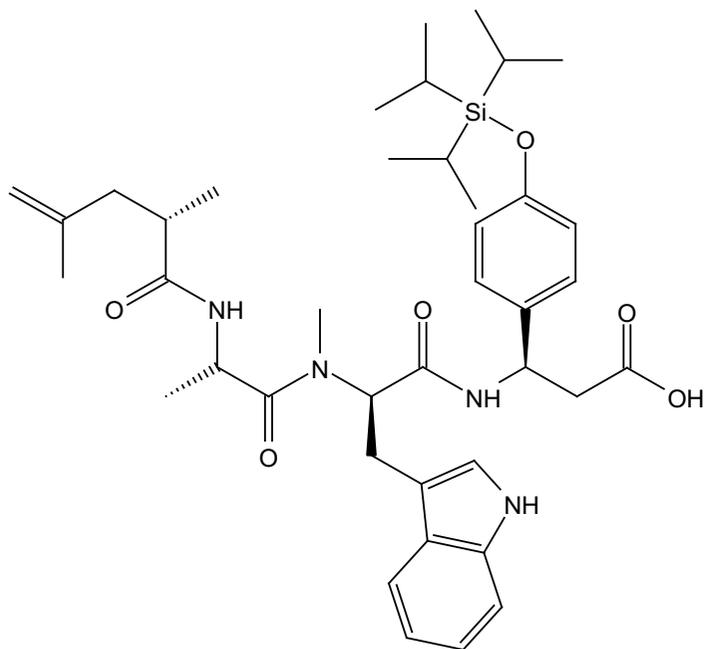




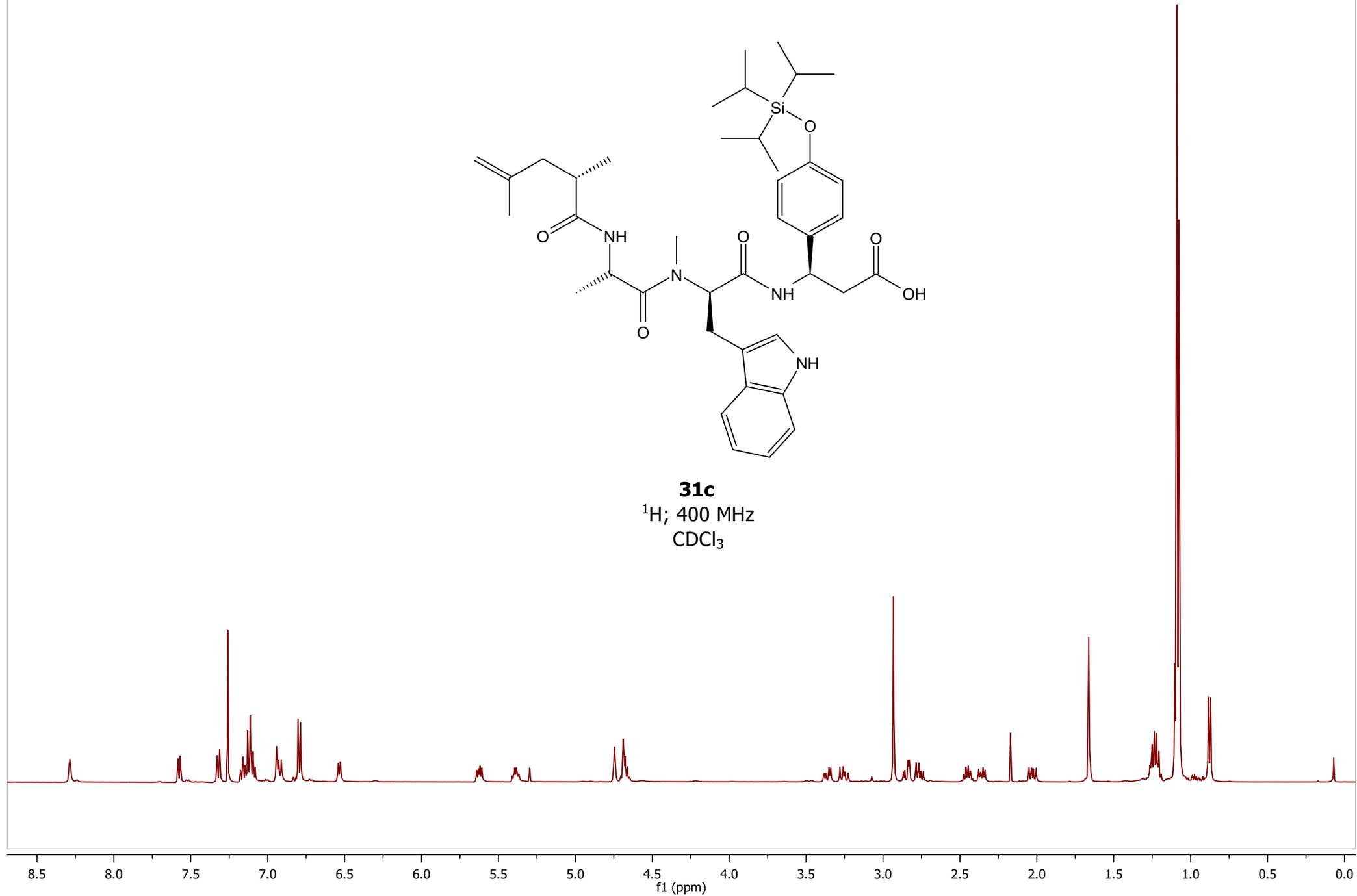
31b

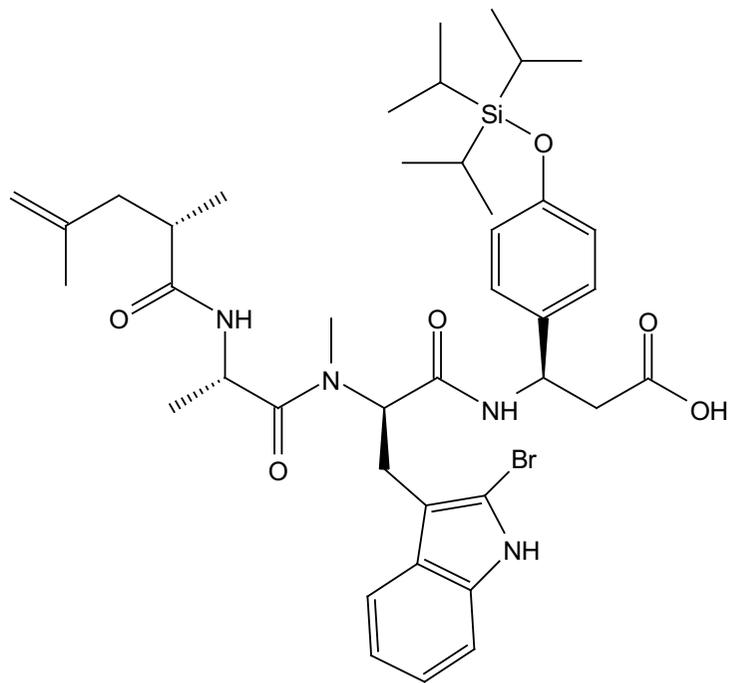
^1H ; 400 MHz
[D₆]DMSO



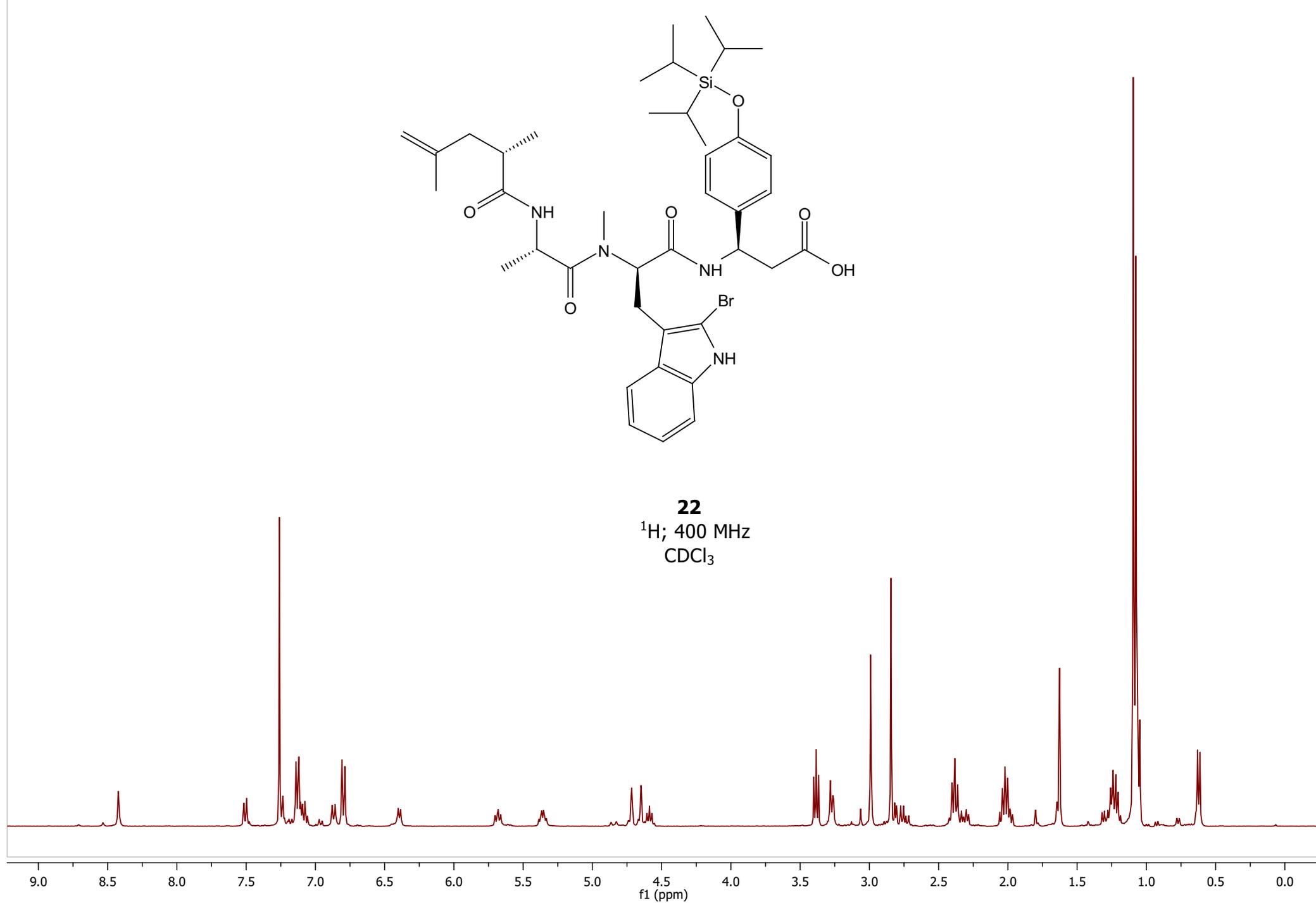


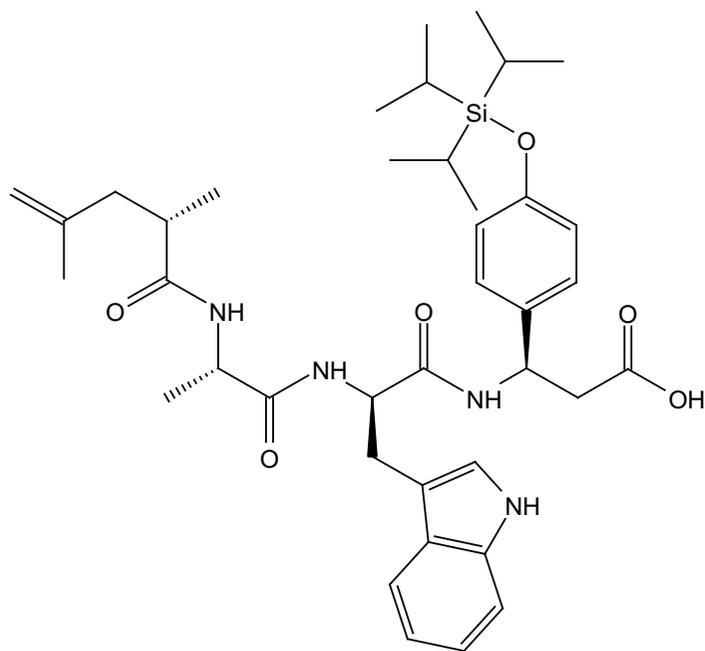
31c
¹H; 400 MHz
CDCl₃



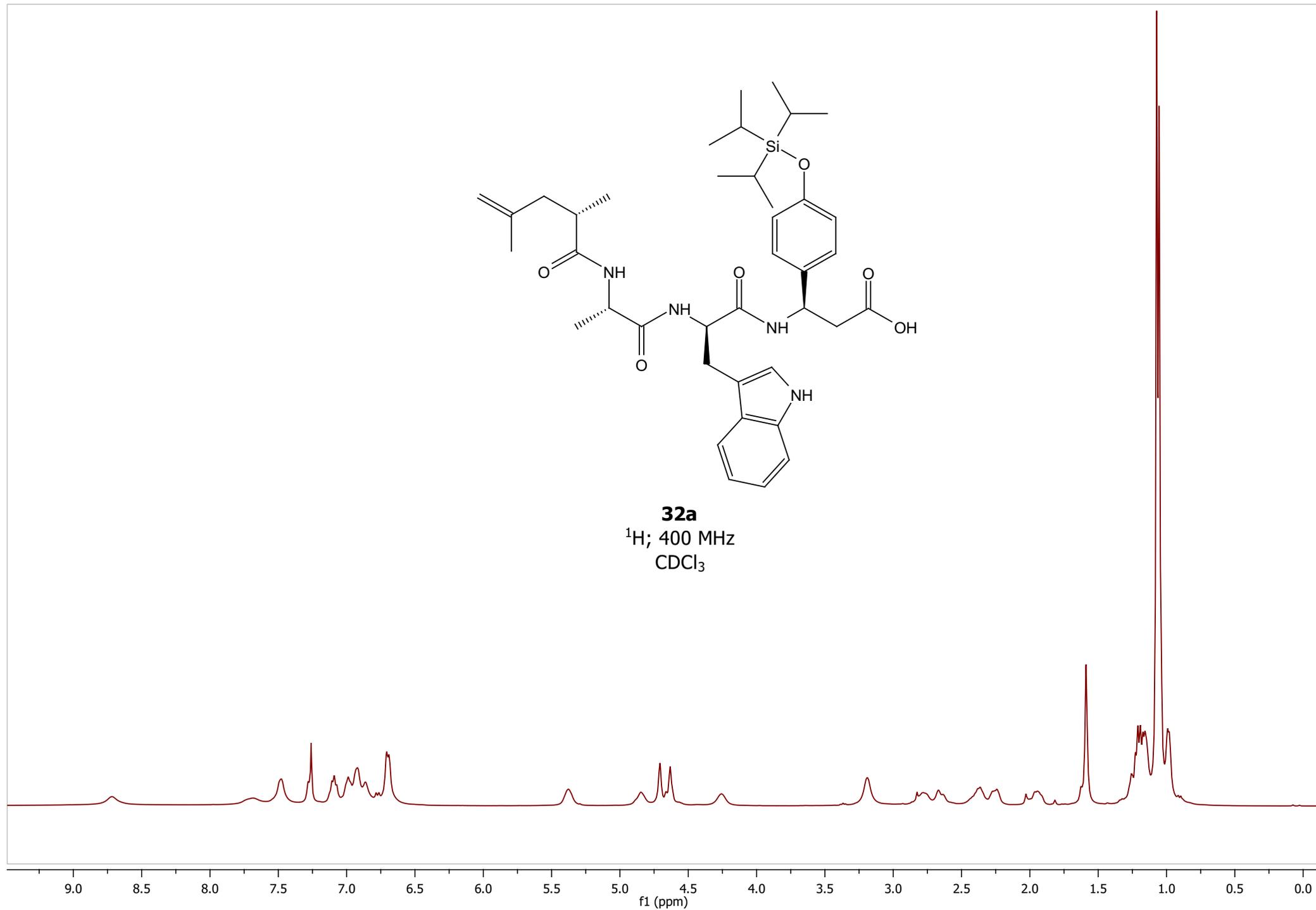


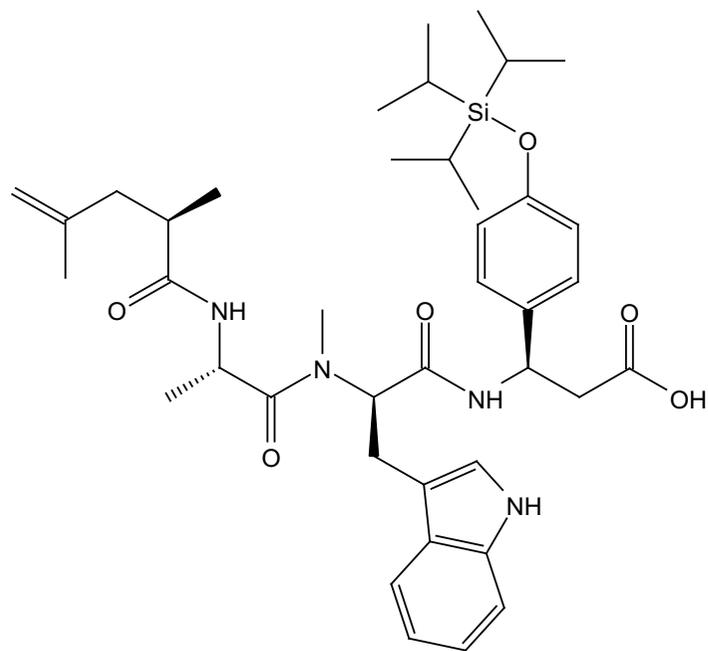
22
 ^1H ; 400 MHz
 CDCl_3



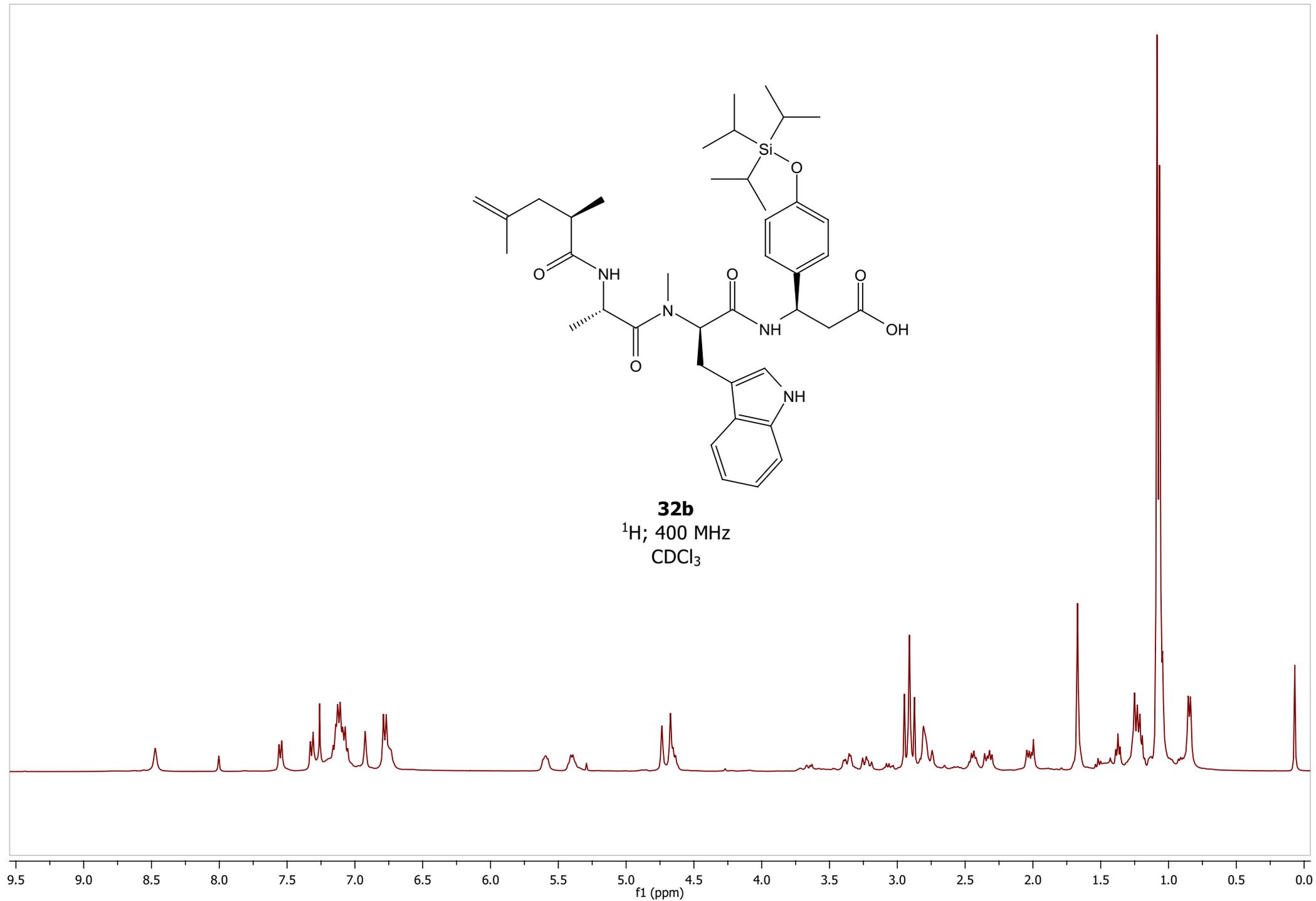


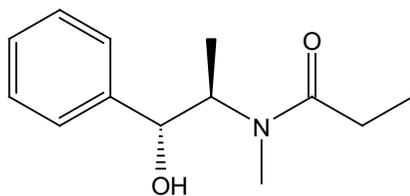
32a
¹H; 400 MHz
CDCl₃



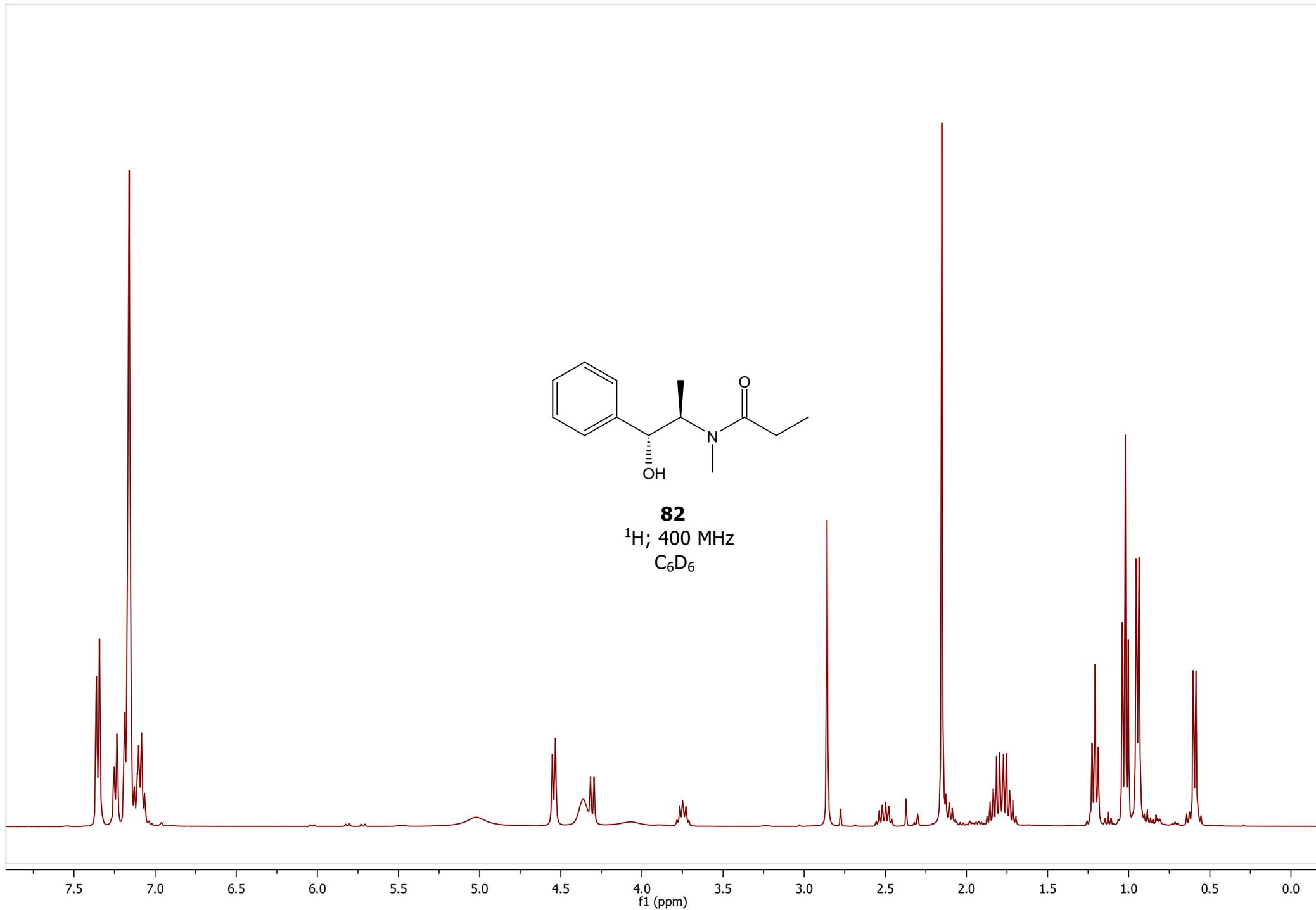


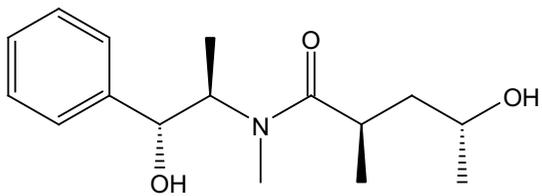
32b
 ^1H ; 400 MHz
 CDCl_3



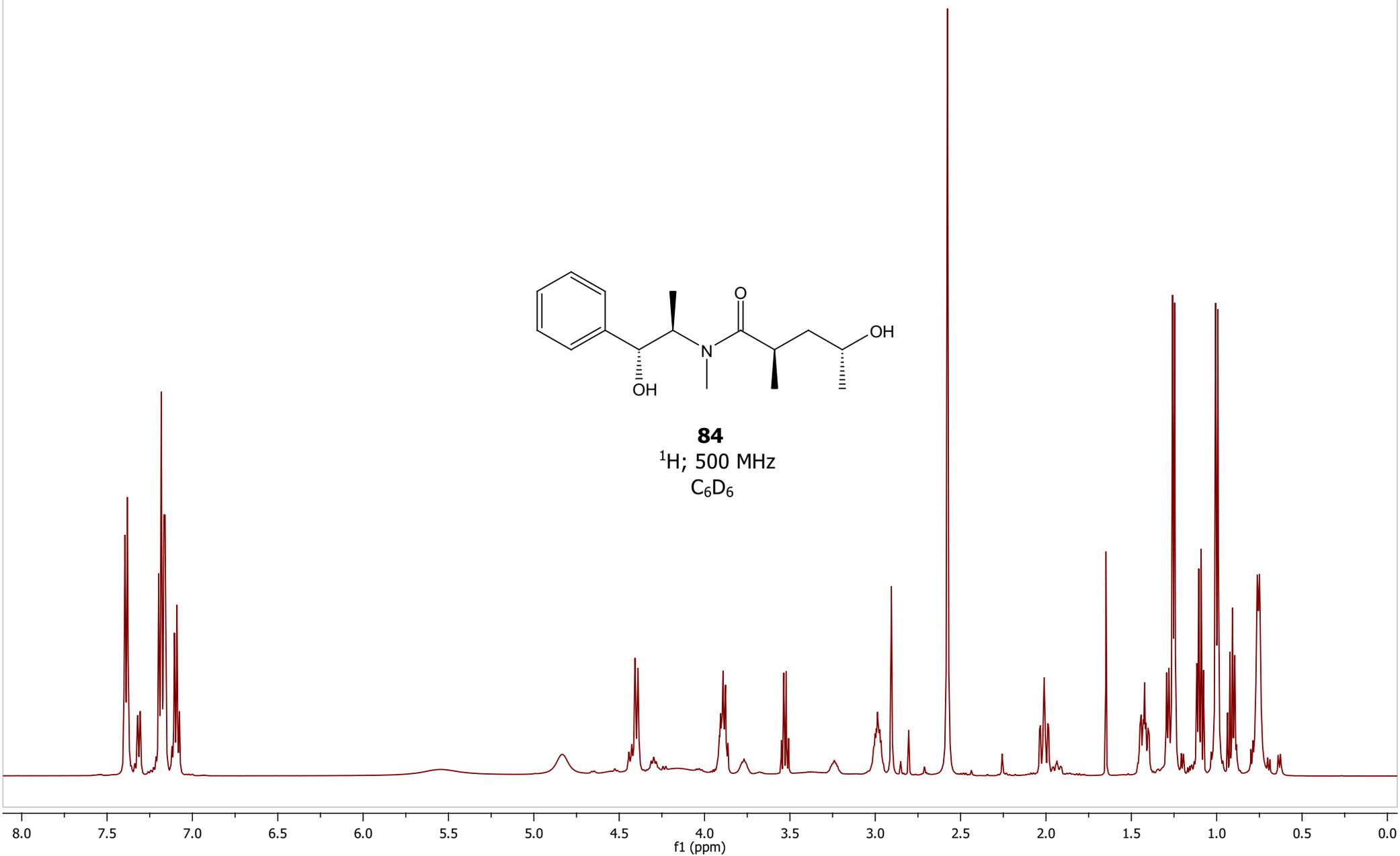


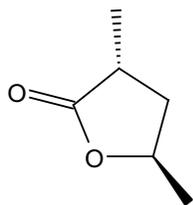
82
¹H; 400 MHz
C₆D₆



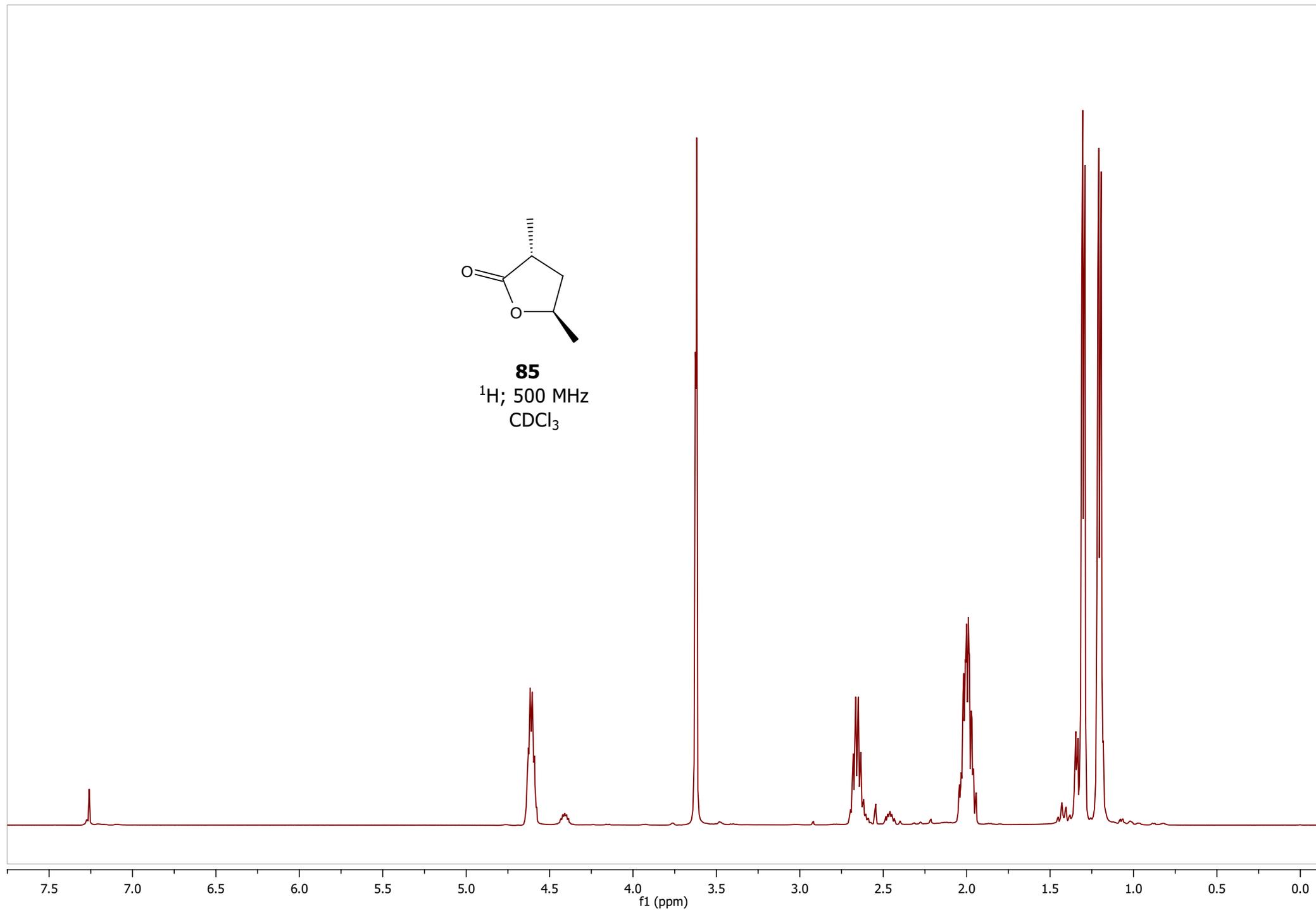


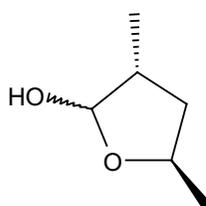
84
¹H; 500 MHz
C₆D₆



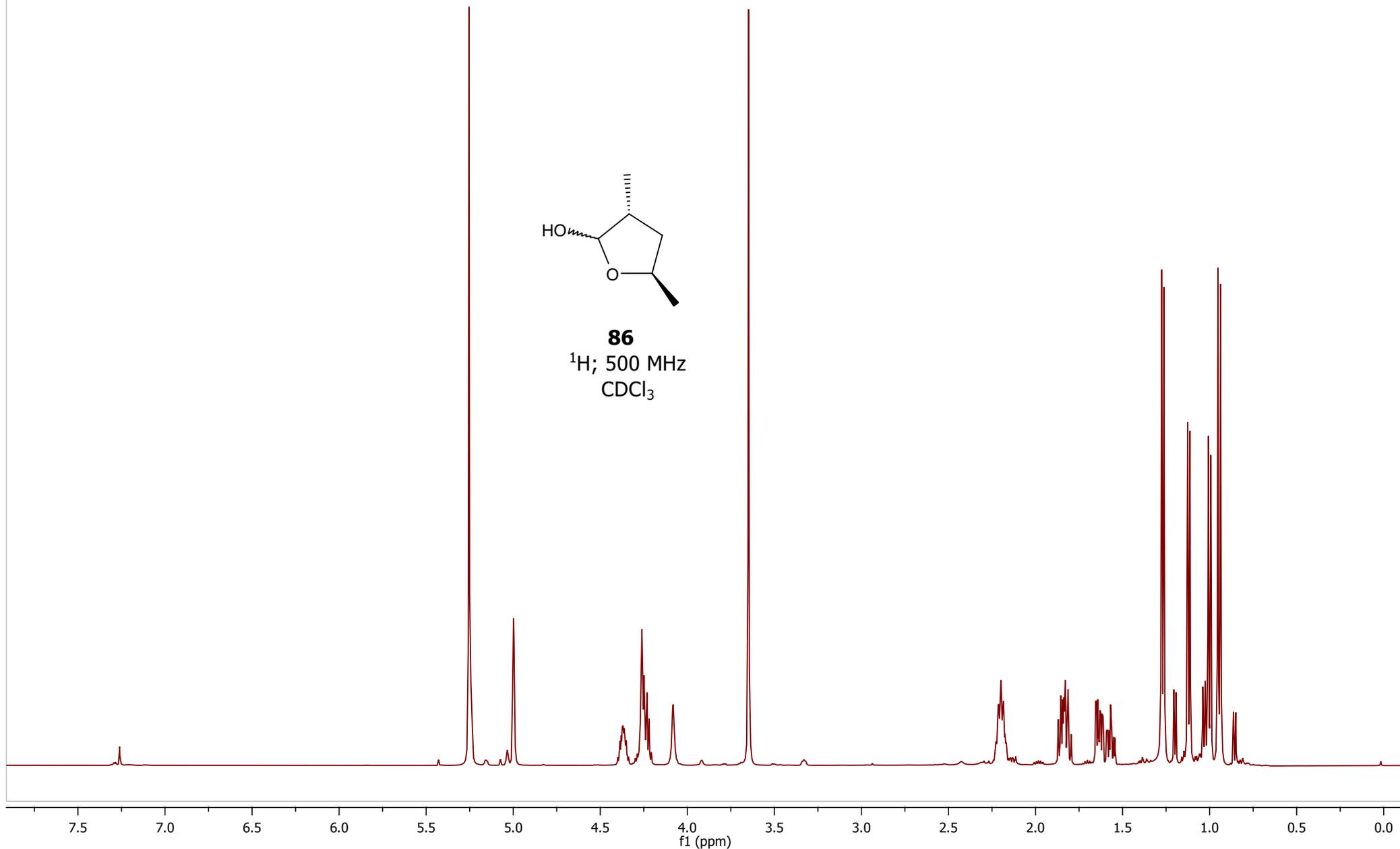


85
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3





86
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3

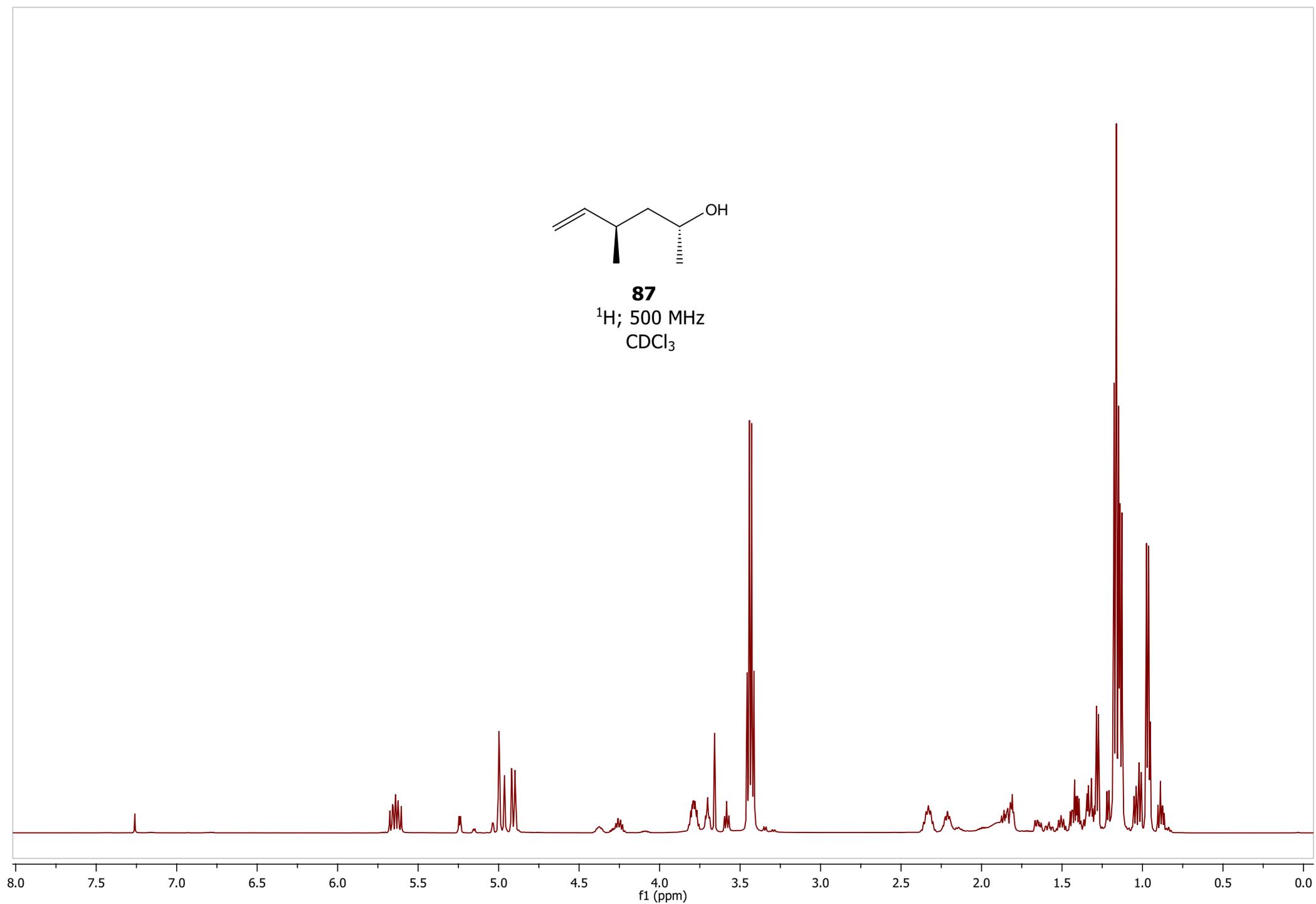


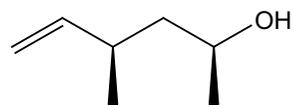


87

^1H ; 500 MHz

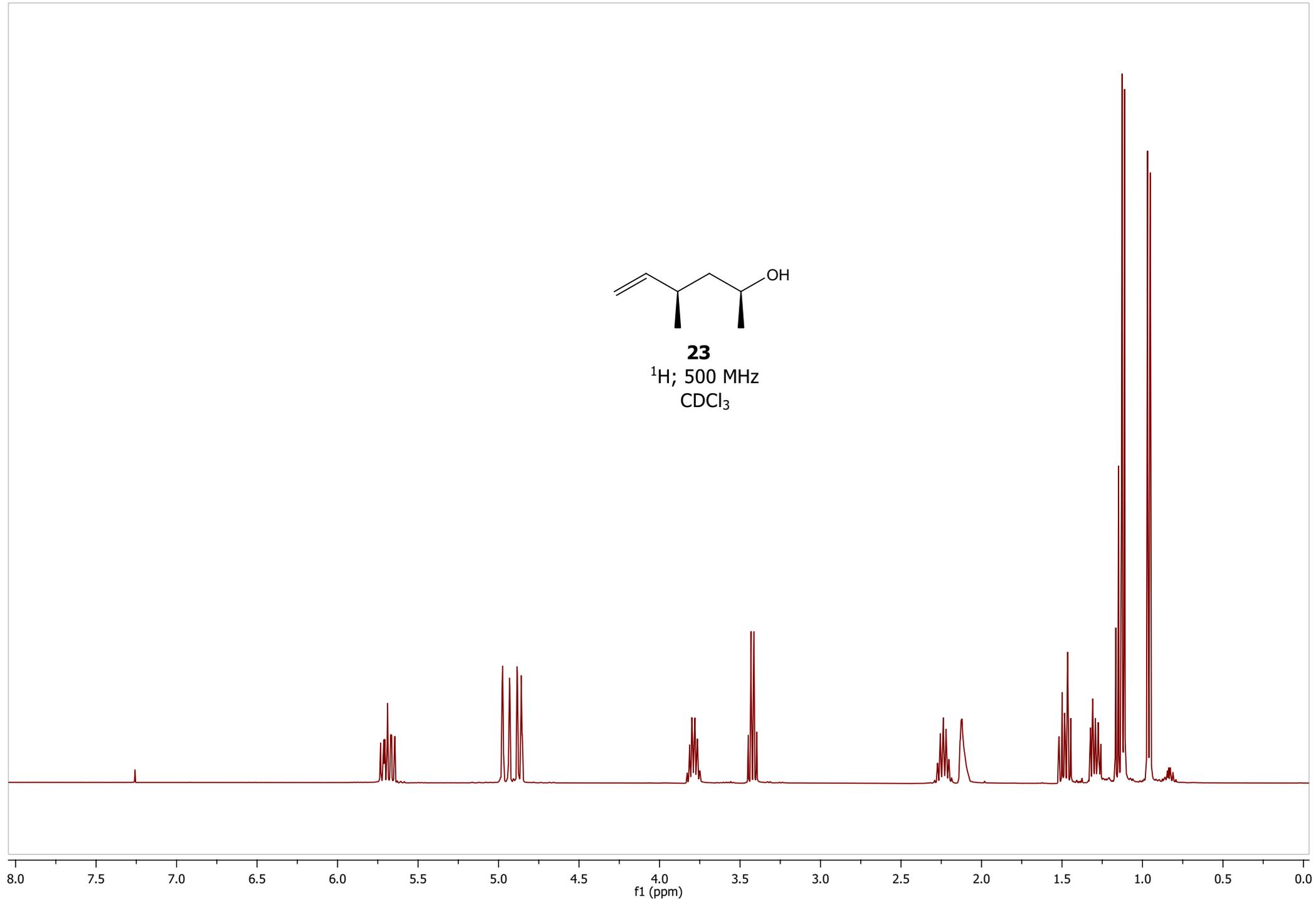
CDCl_3

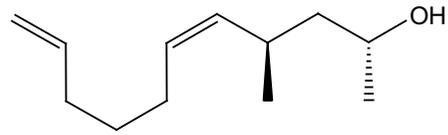




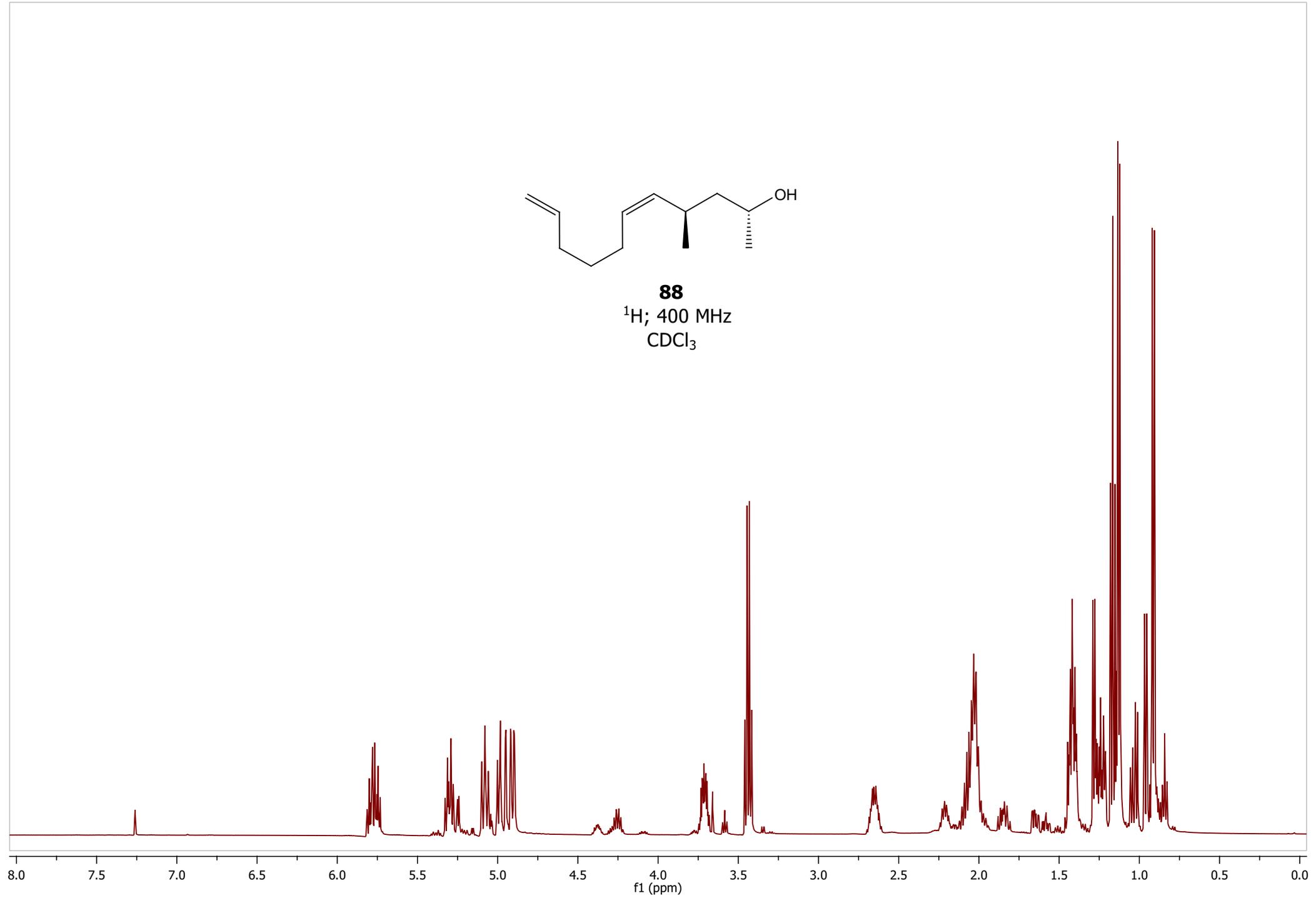
23

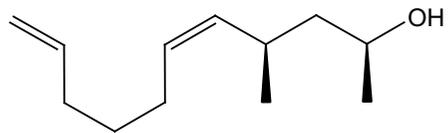
^1H ; 500 MHz
 CDCl_3





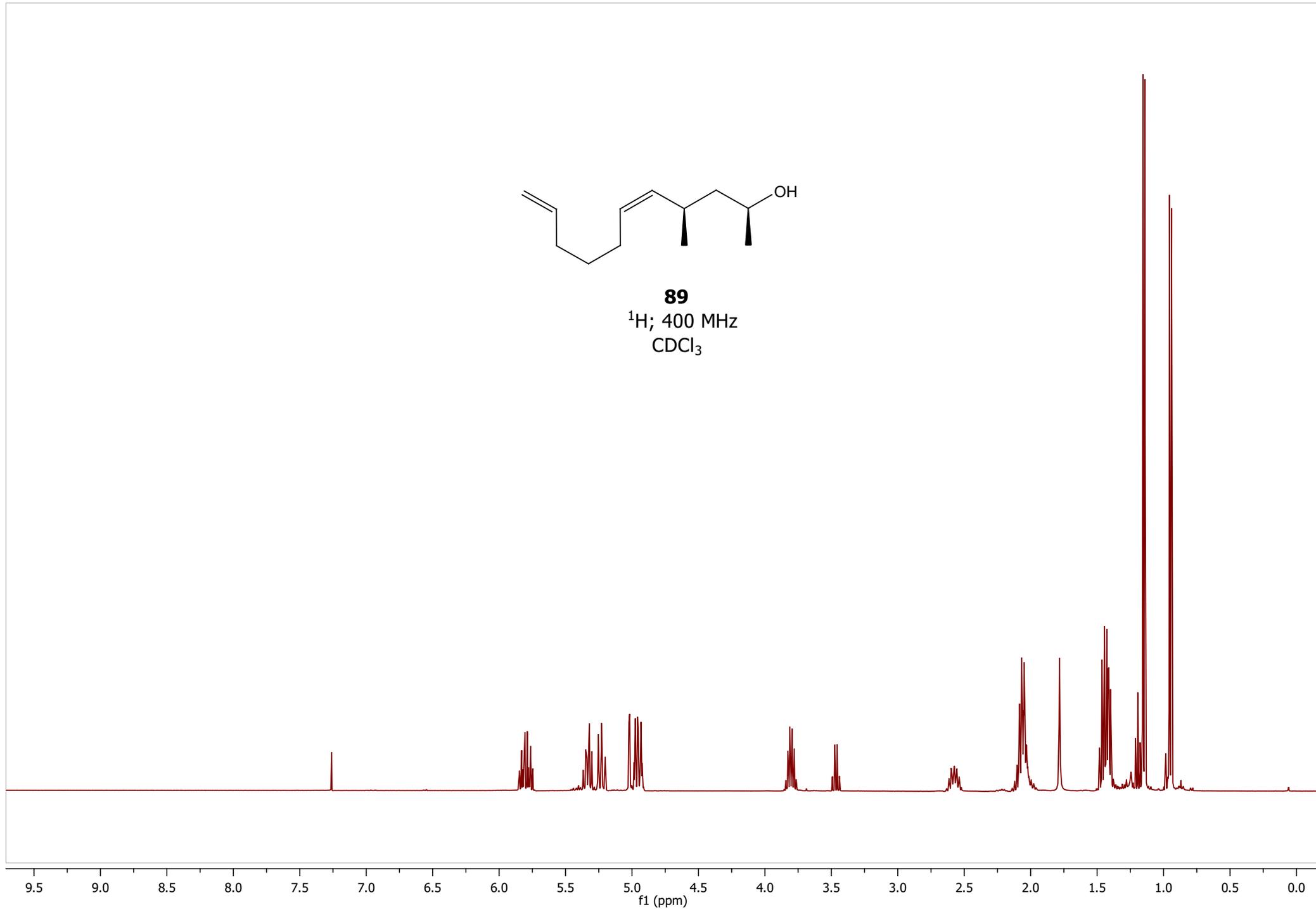
88
¹H; 400 MHz
CDCl₃

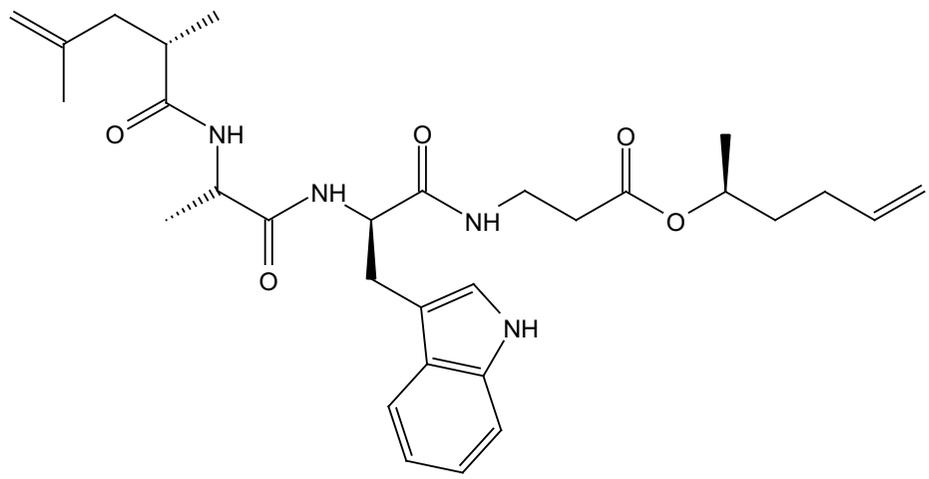




89

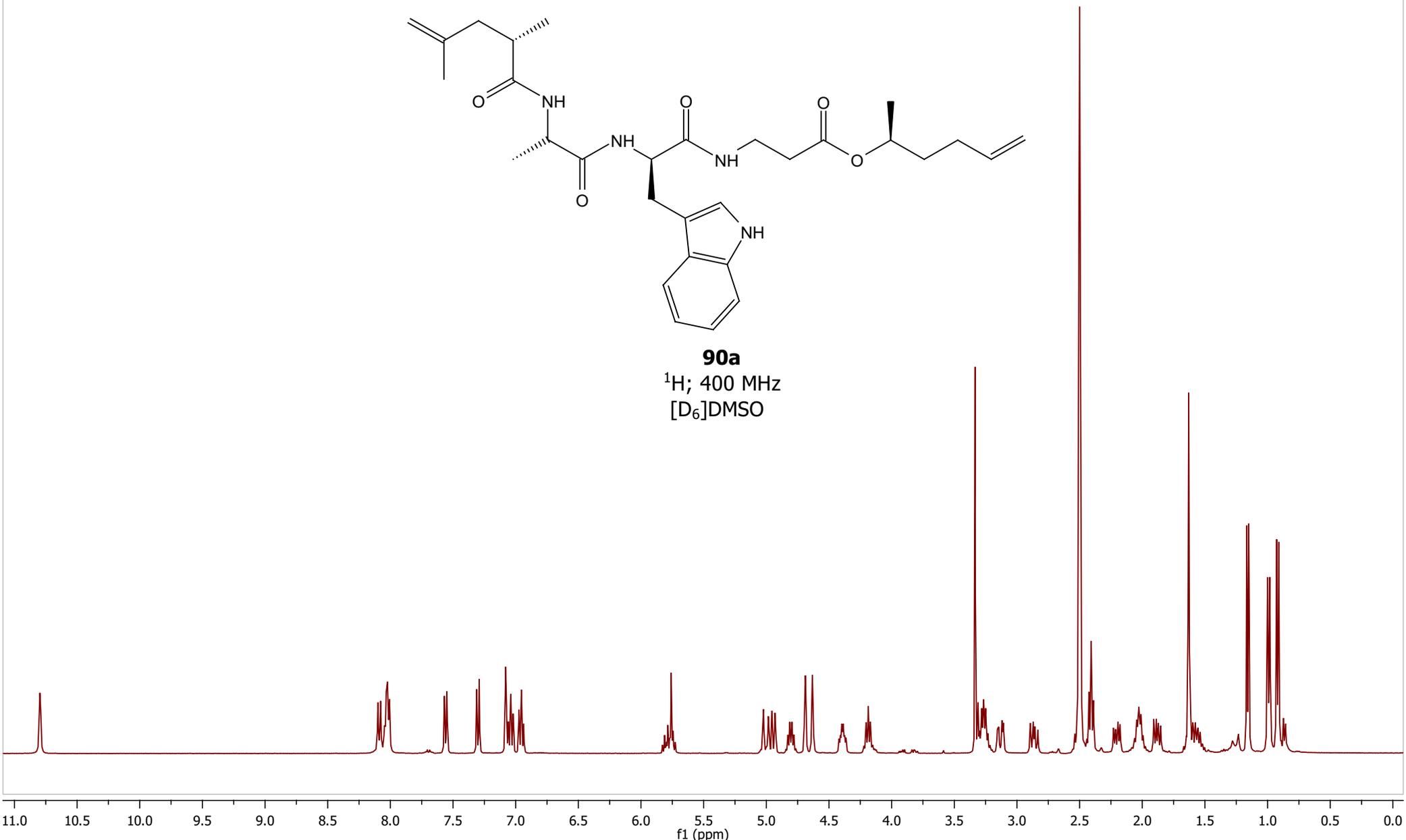
^1H ; 400 MHz
 CDCl_3

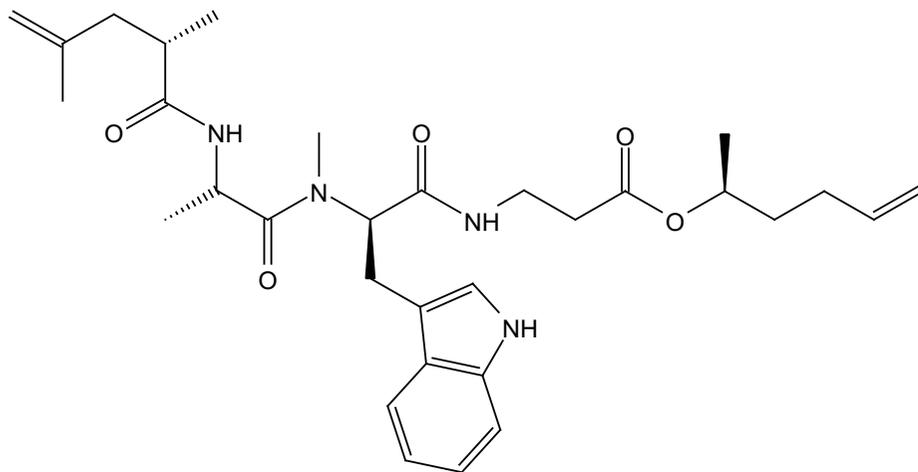




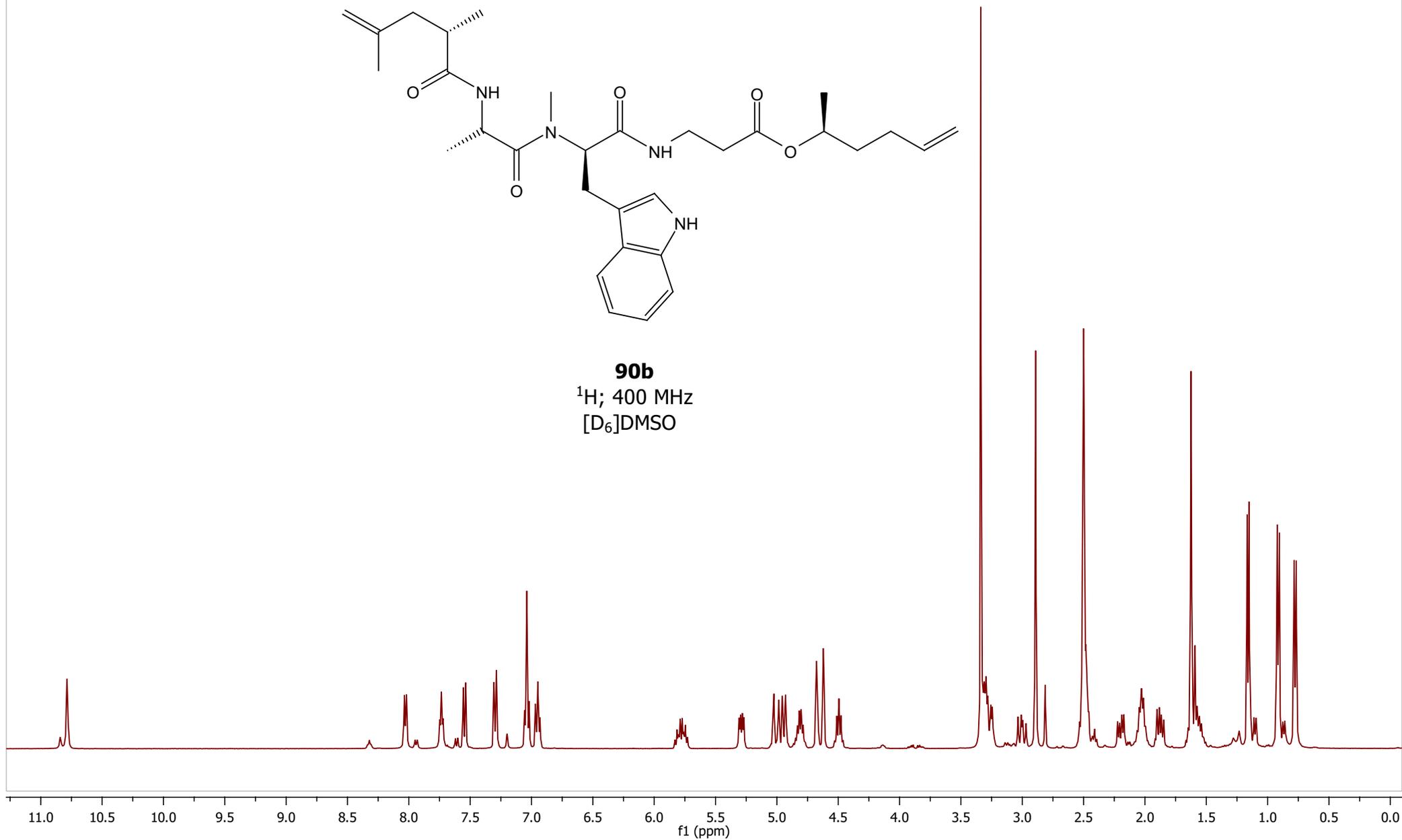
90a

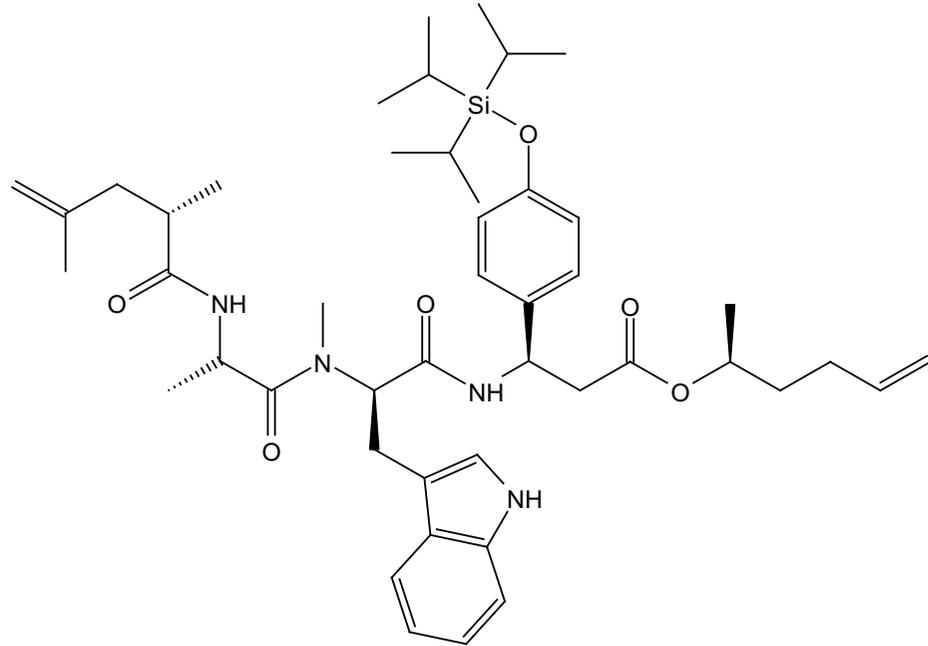
¹H; 400 MHz
[D₆]DMSO



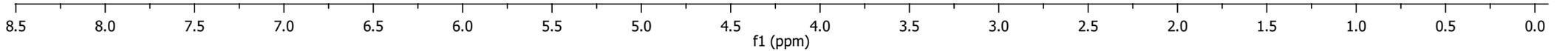


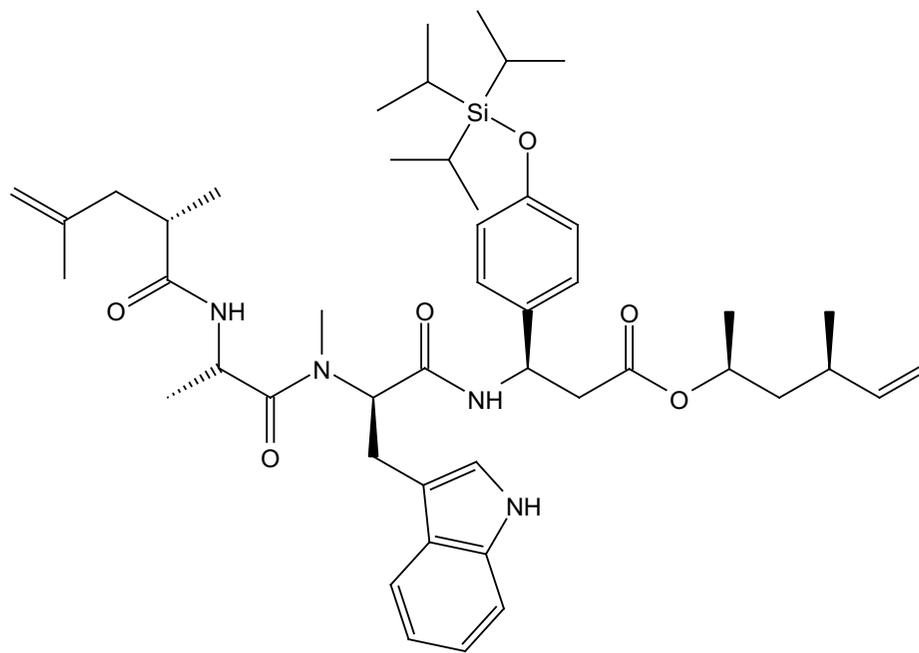
90b
¹H; 400 MHz
[D₆]DMSO



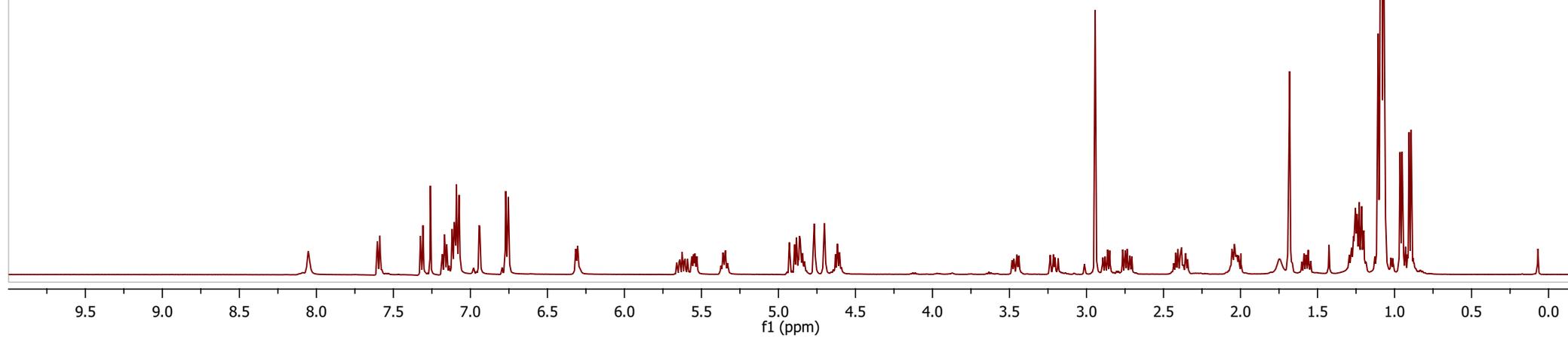


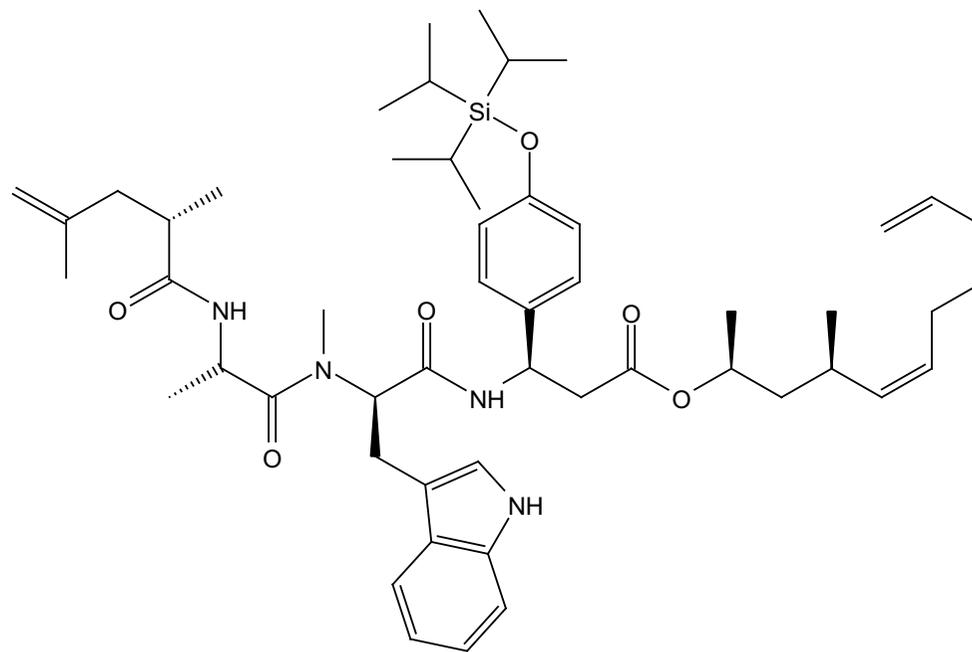
90c
¹H; 400 MHz
CDCl₃



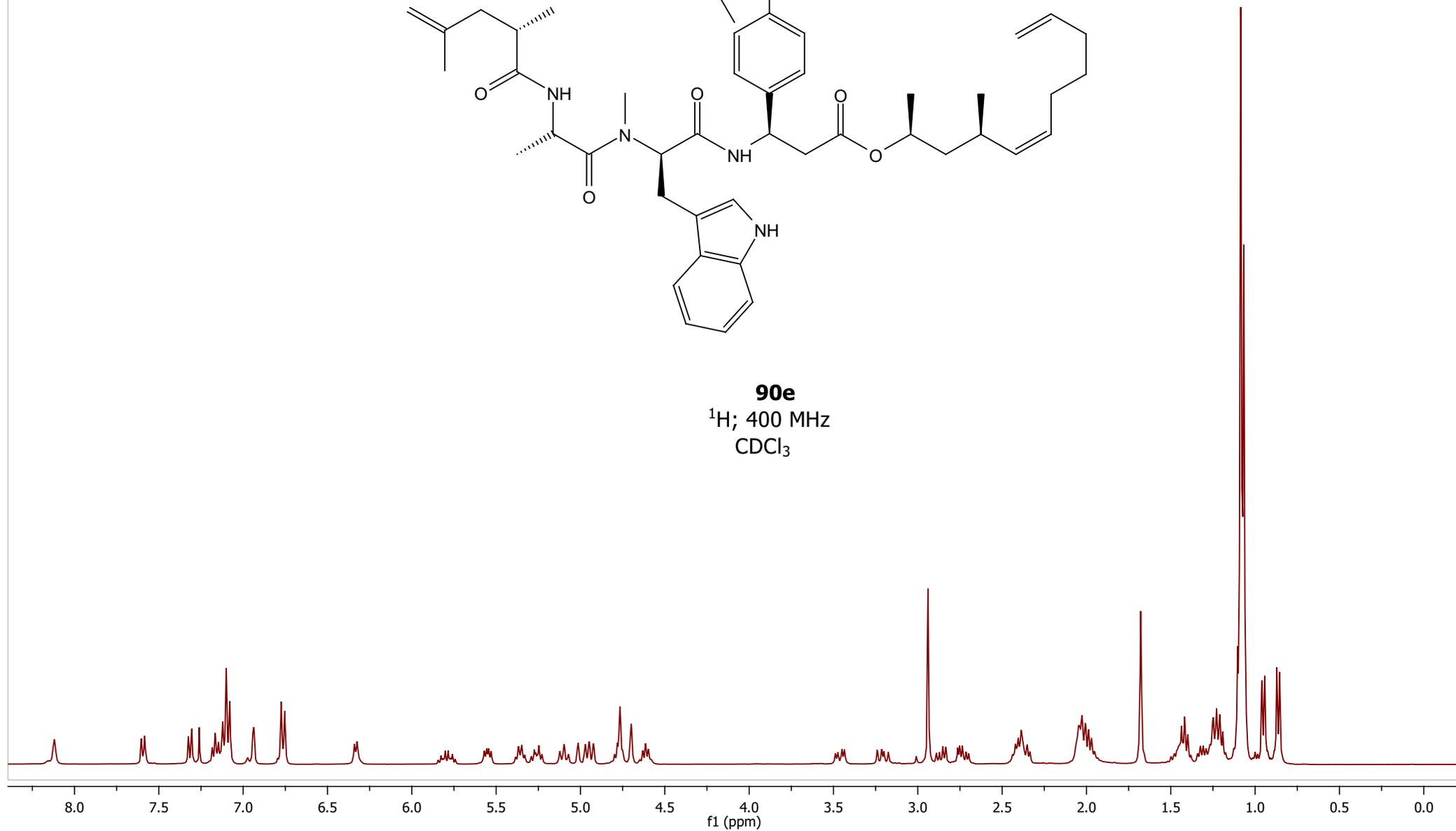


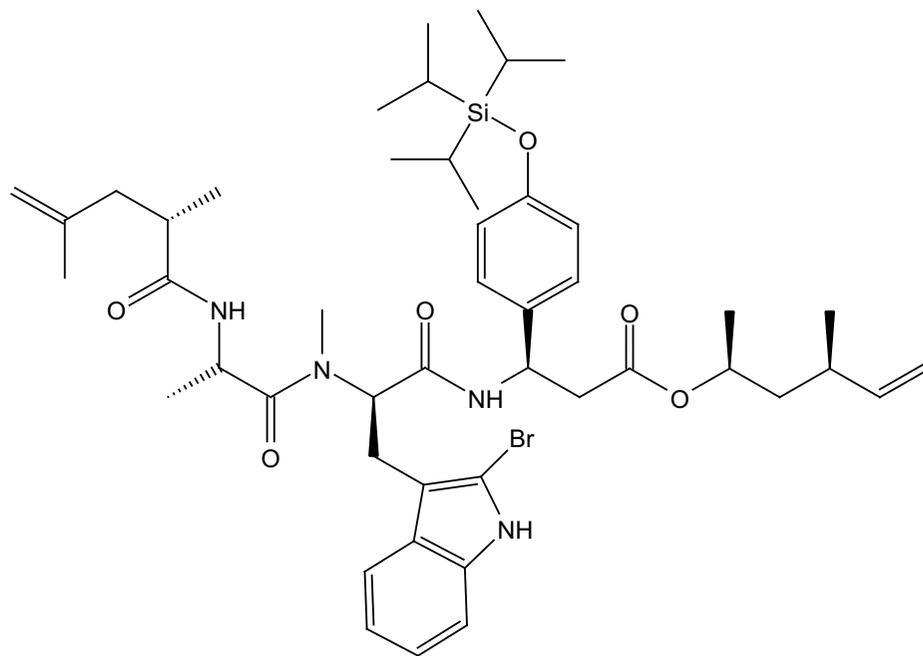
90d
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3



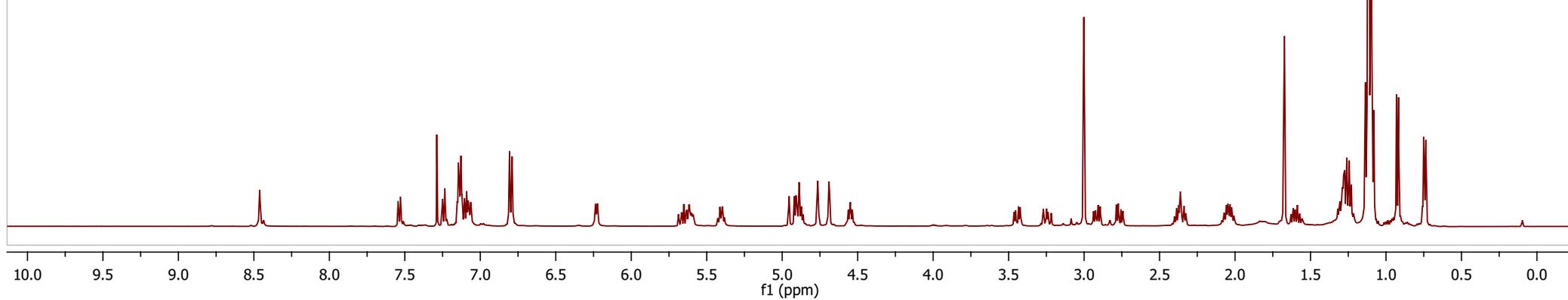


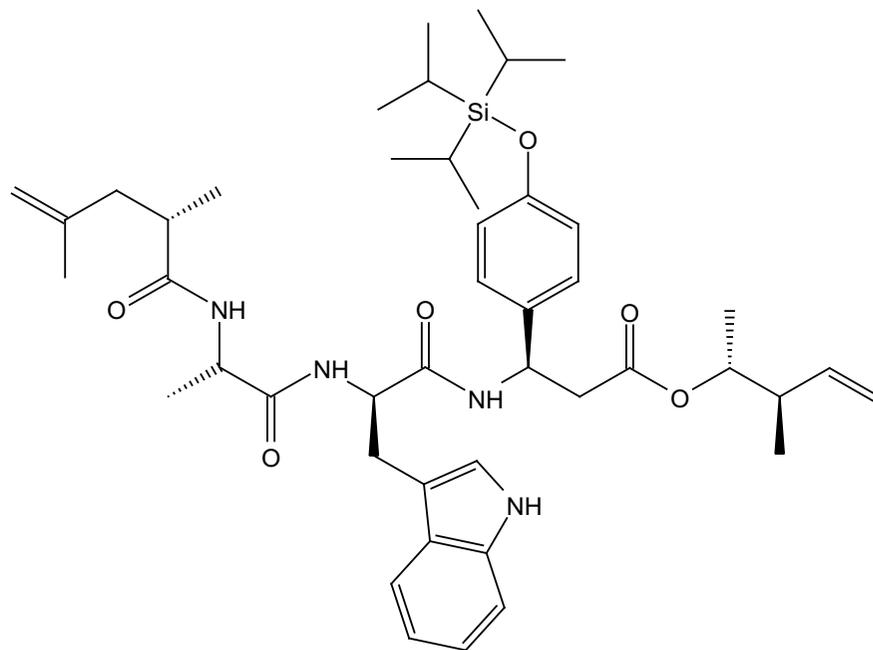
90e
 ^1H ; 400 MHz
 CDCl_3



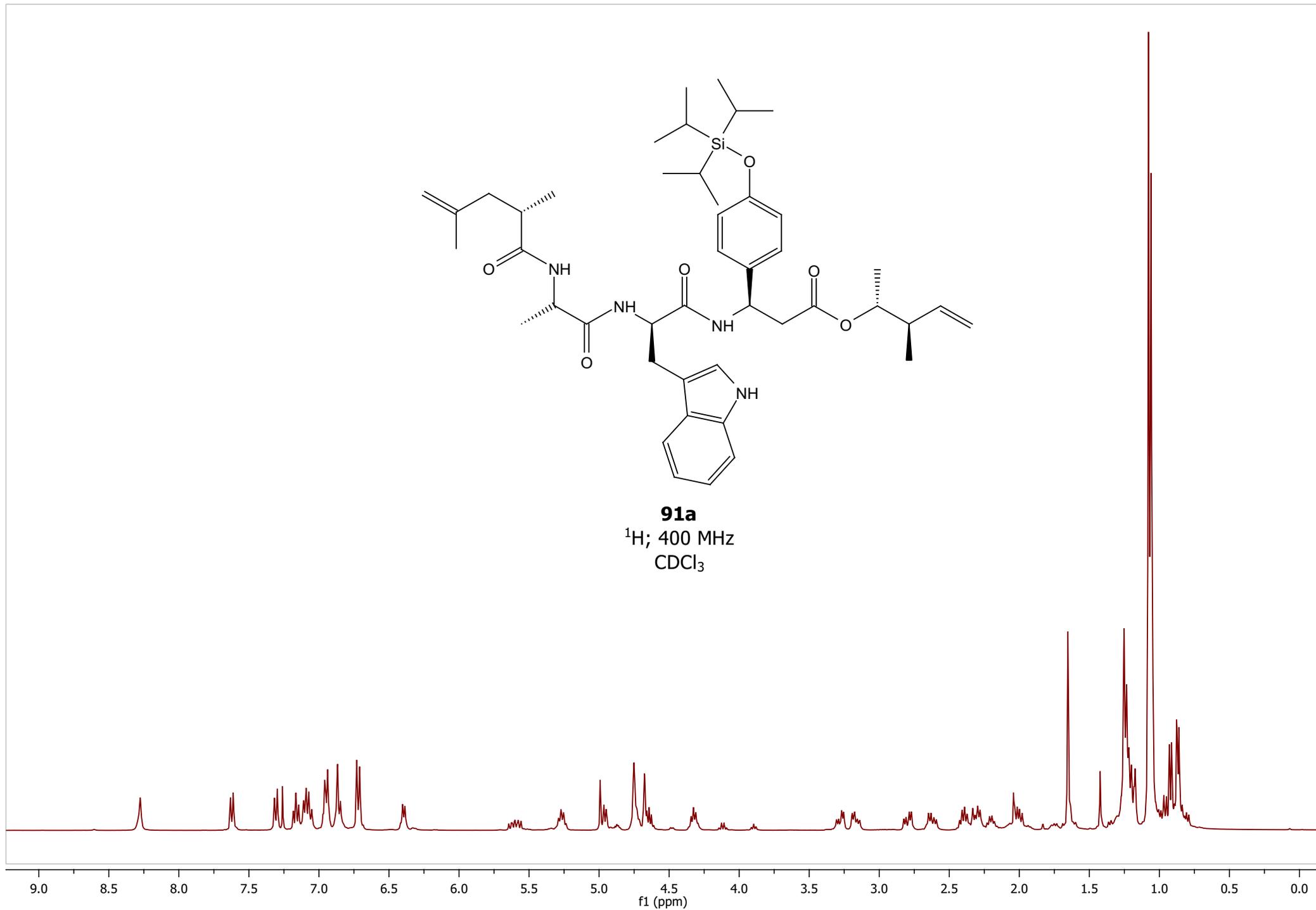


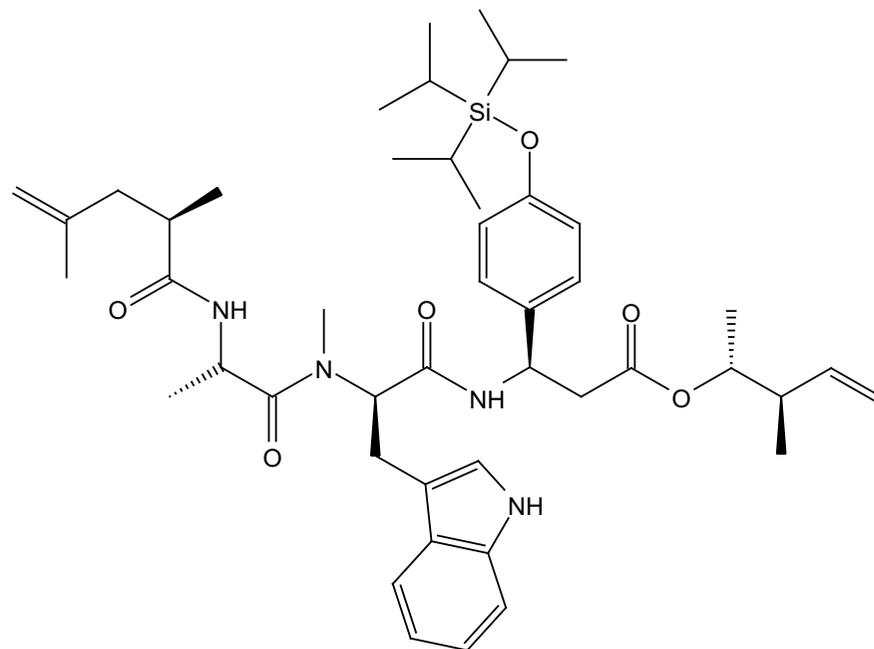
21
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3



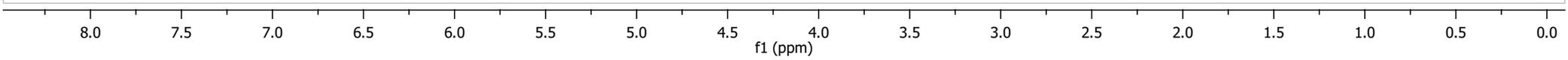


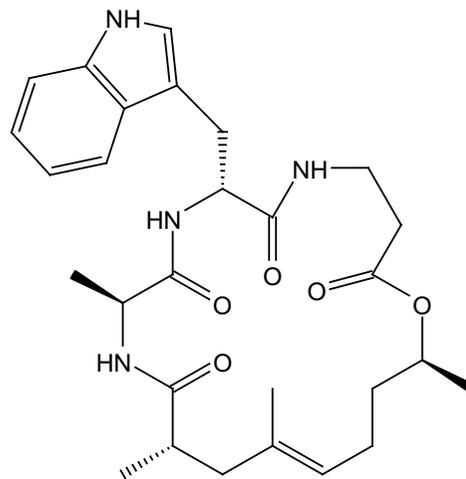
91a
 ^1H ; 400 MHz
 CDCl_3





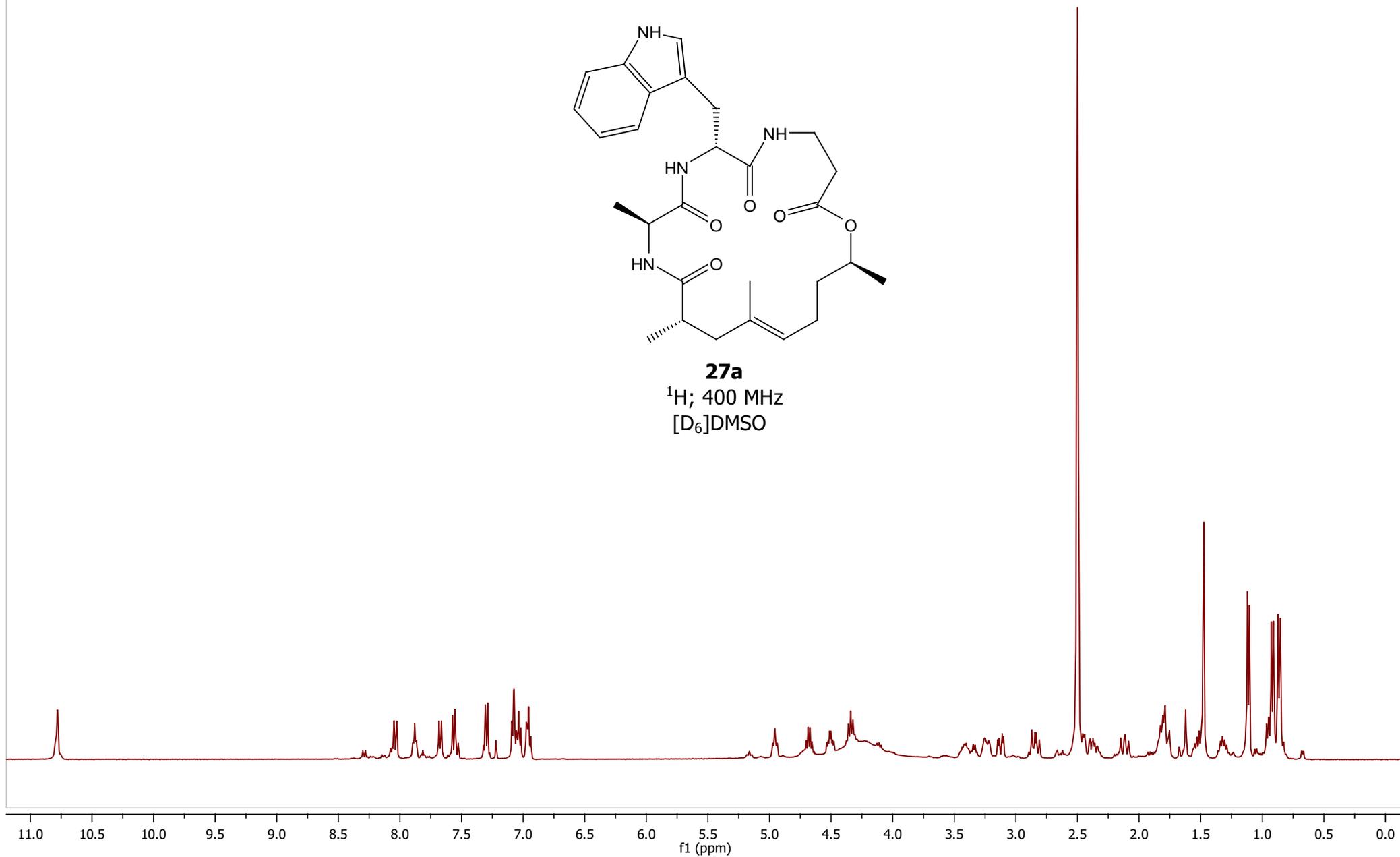
91b
¹H; 400 MHz
CDCl₃

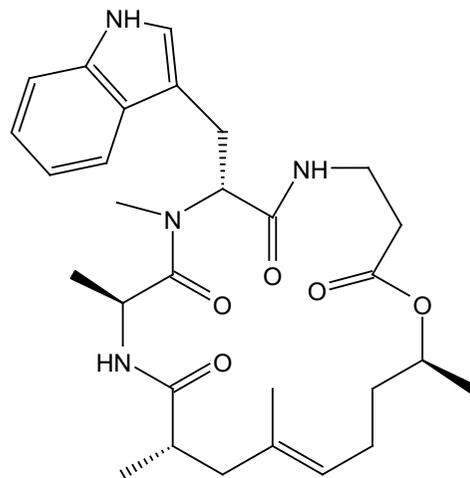




27a

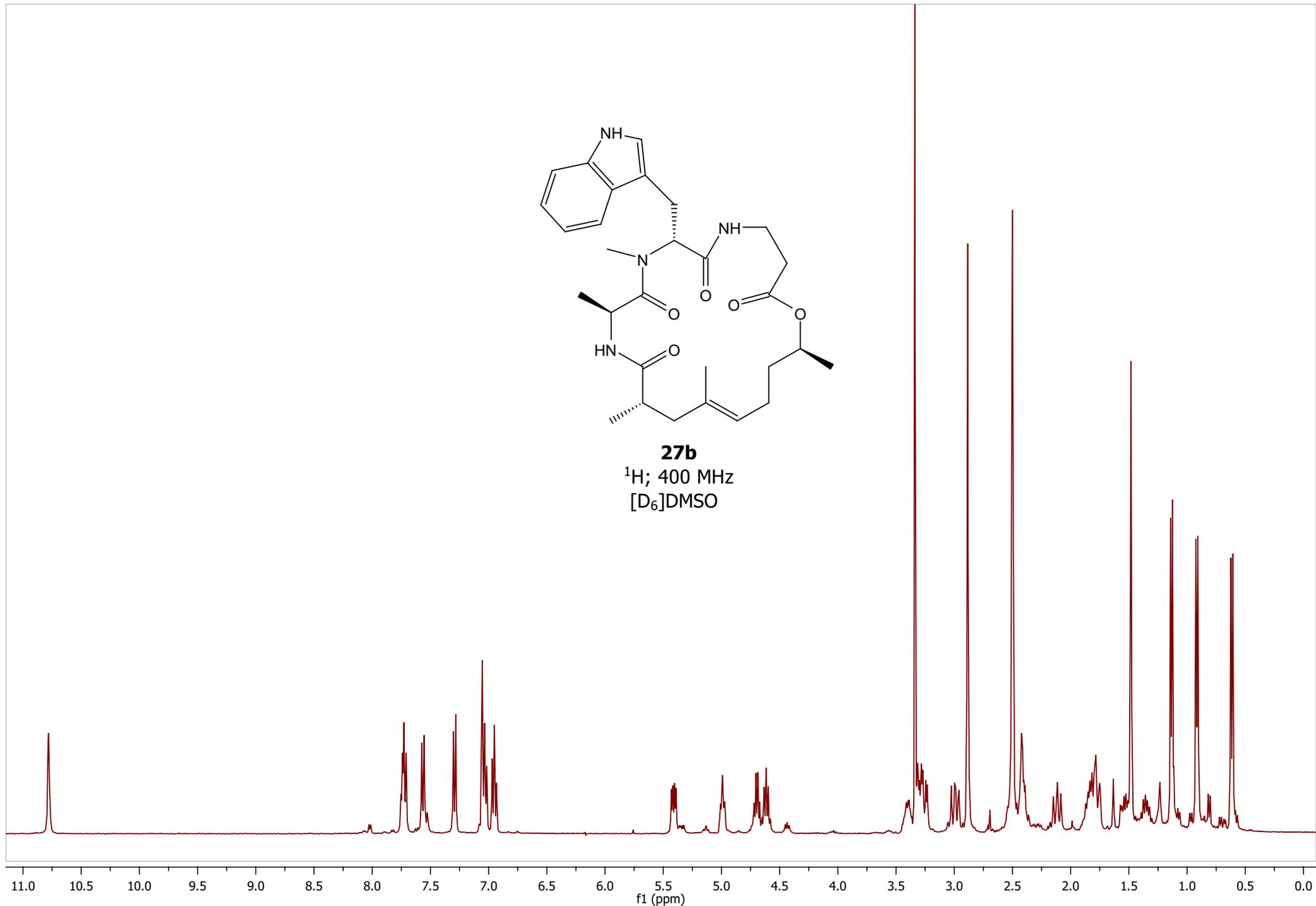
^1H ; 400 MHz
[D₆]DMSO

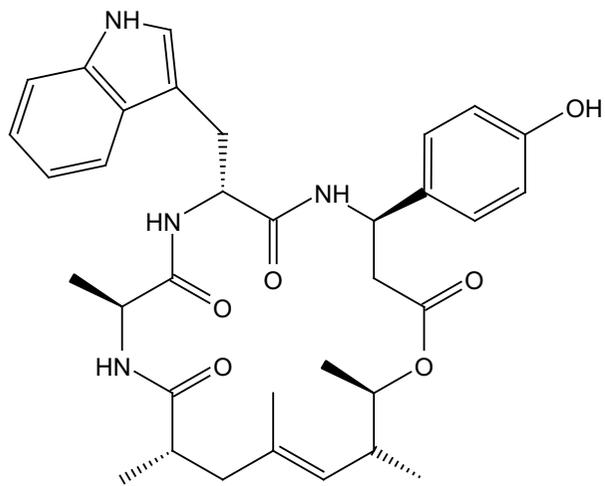




27b

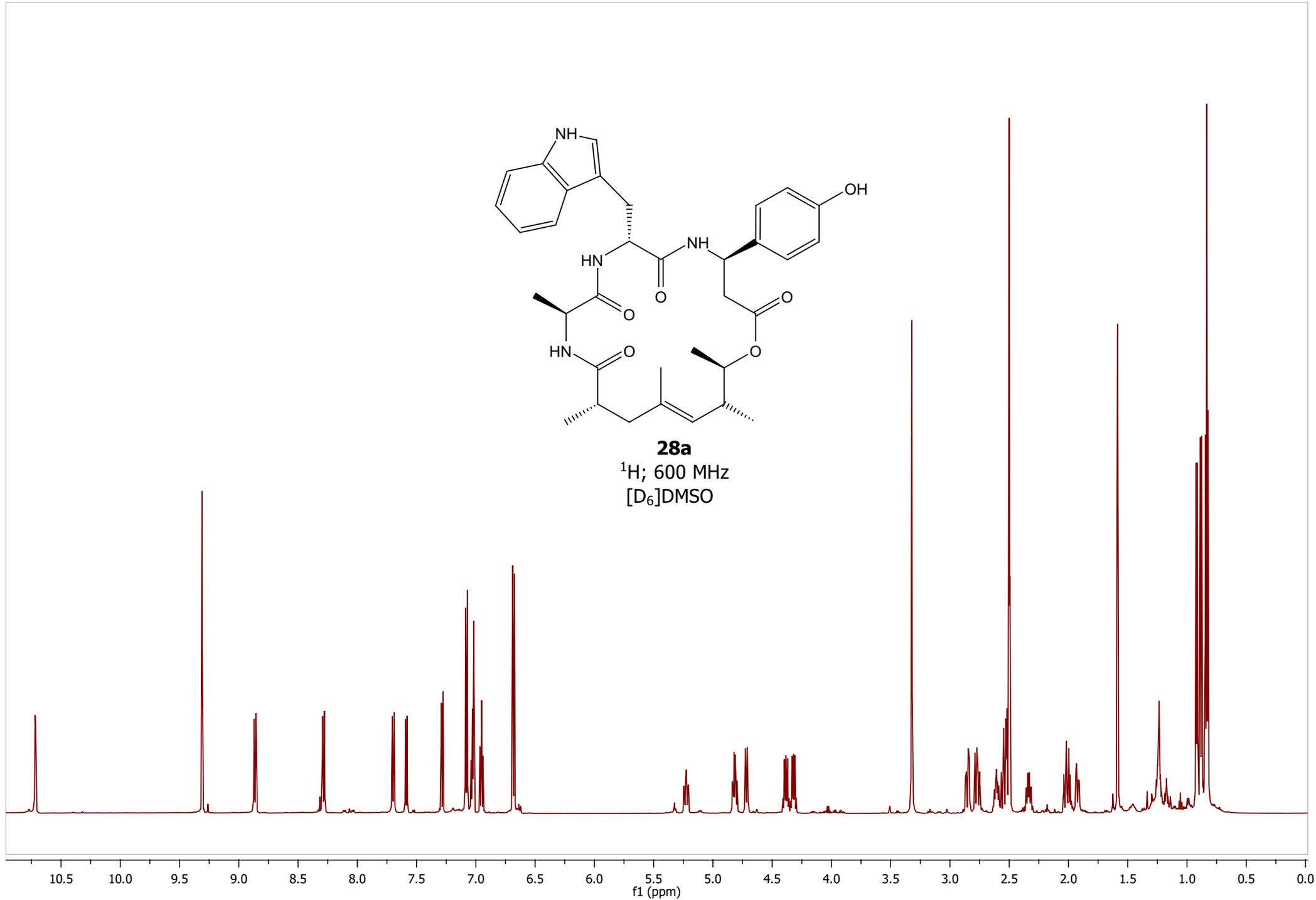
¹H; 400 MHz
[D₆]DMSO

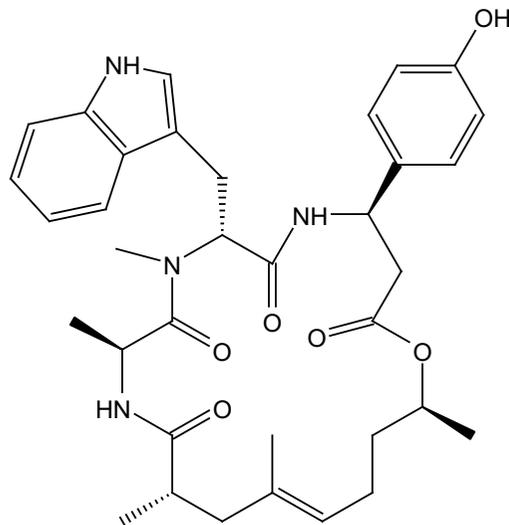




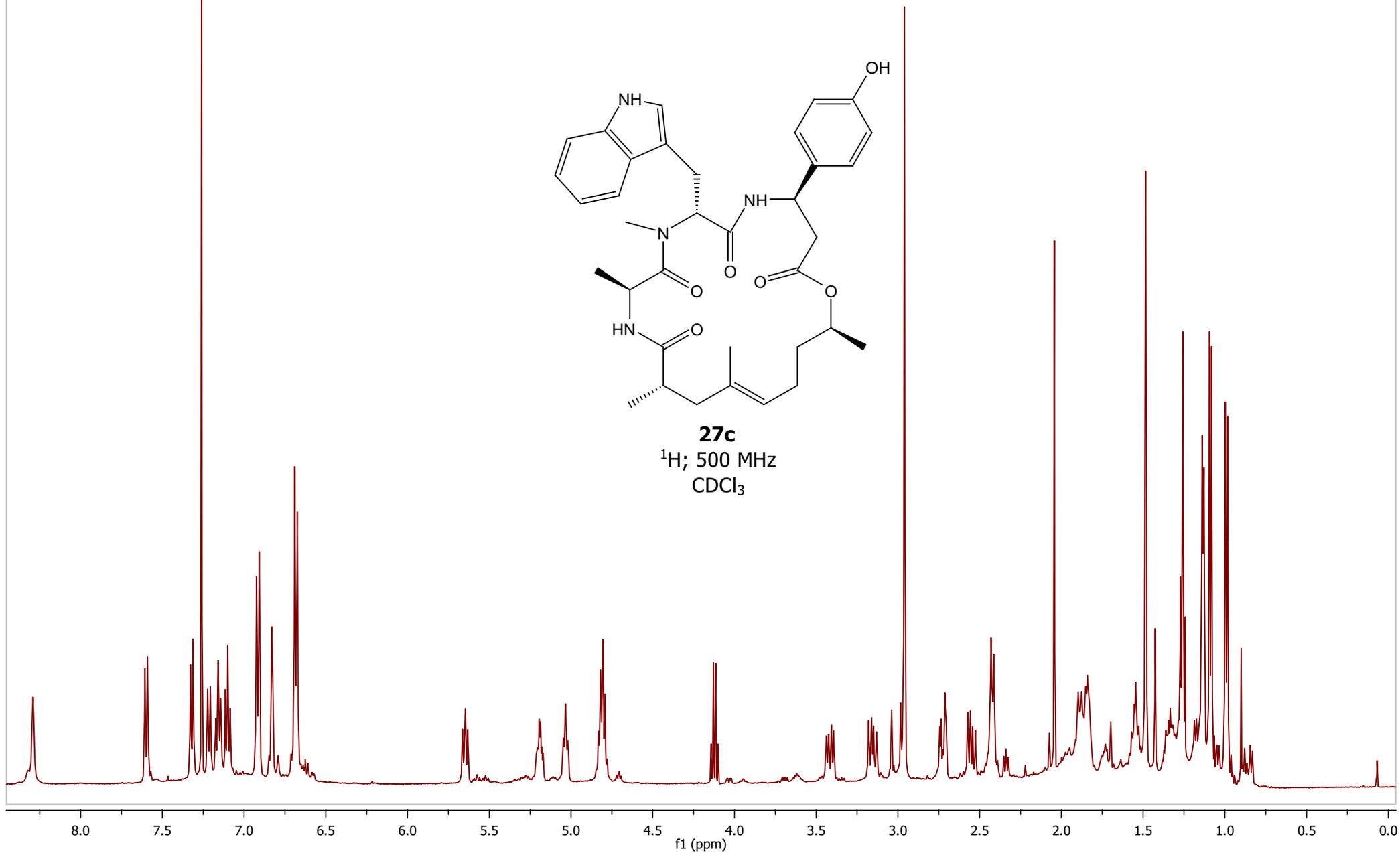
28a

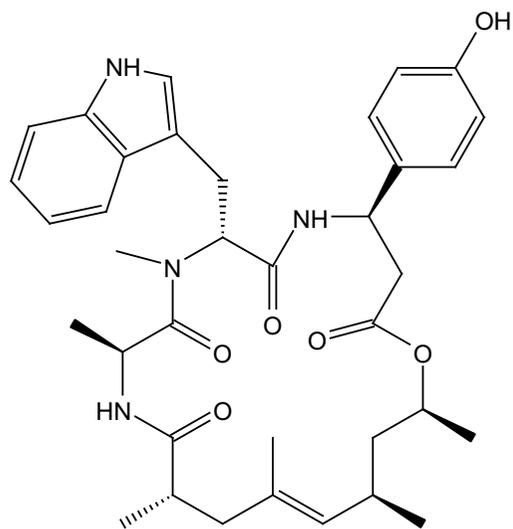
^1H ; 600 MHz
[D₆]DMSO



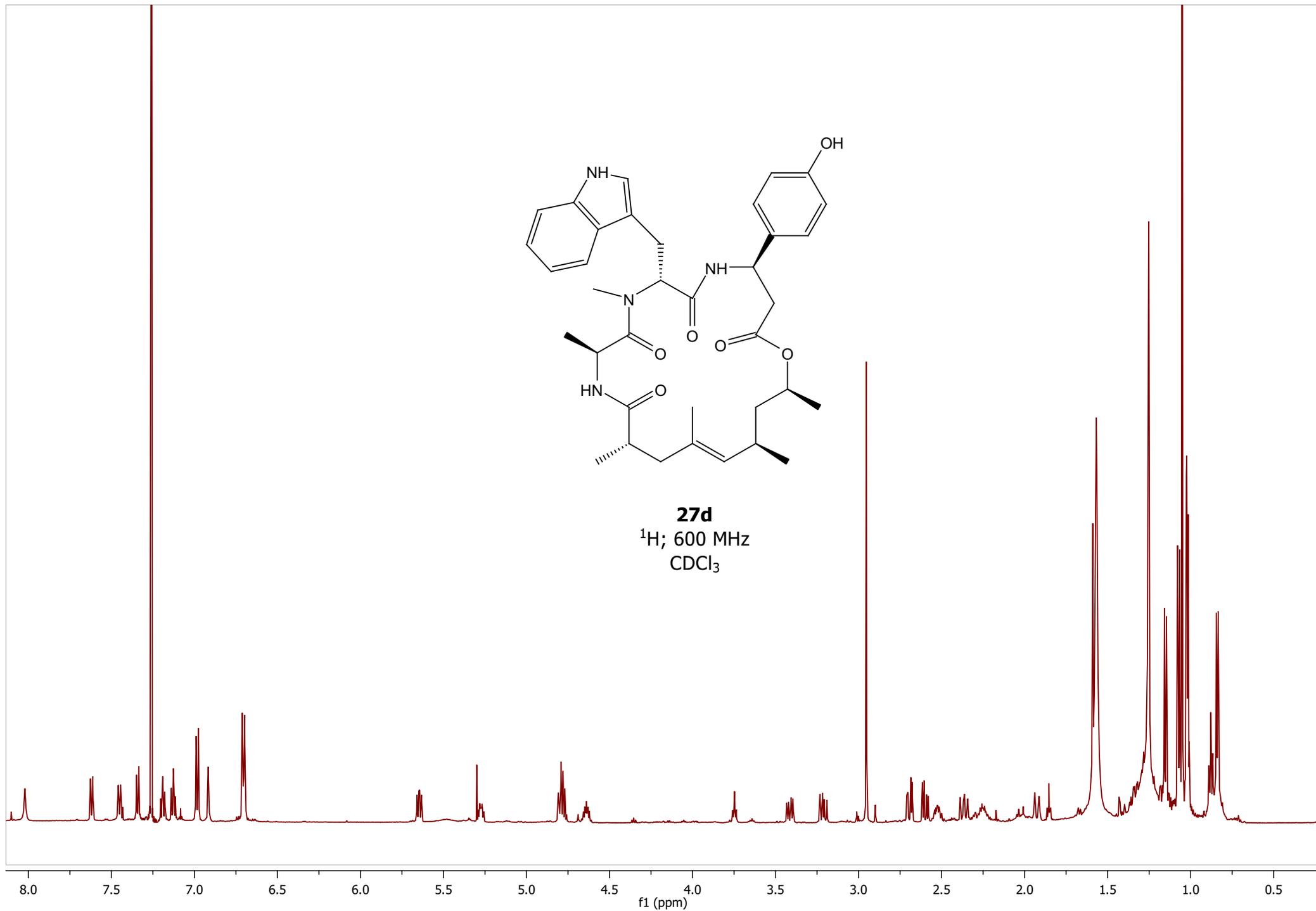


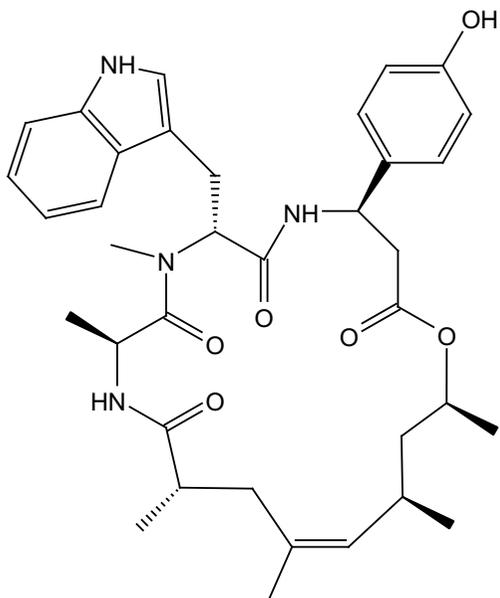
27c
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3



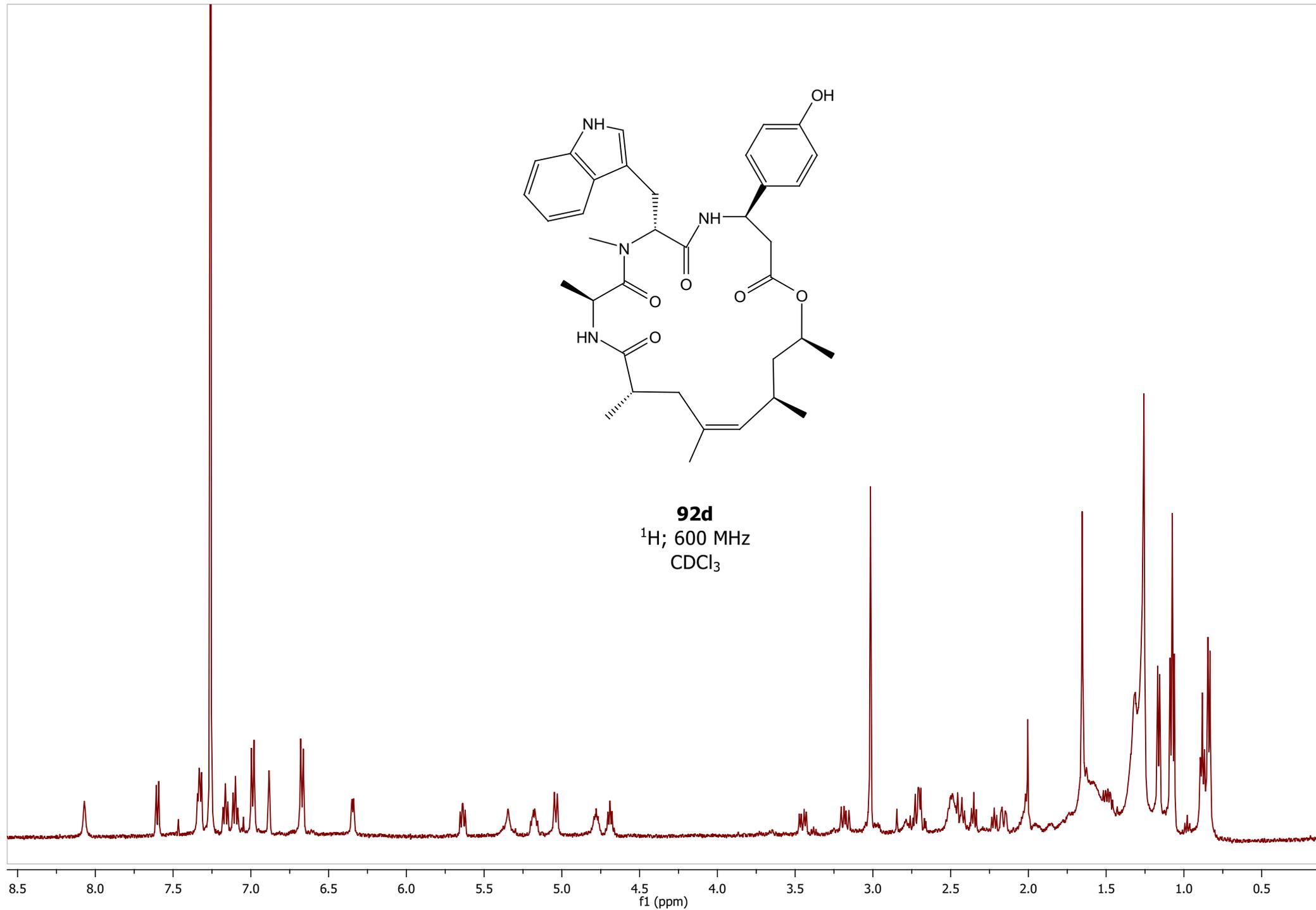


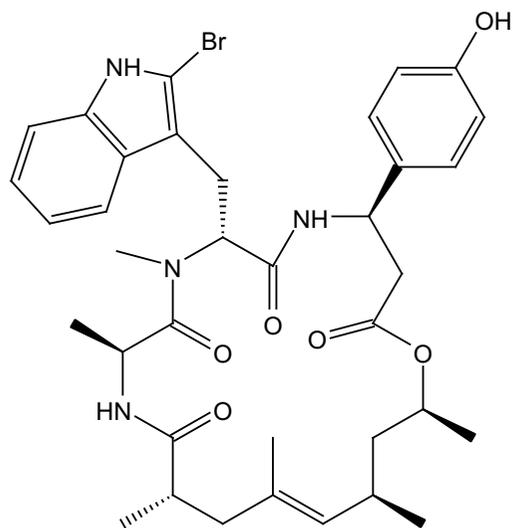
27d
 ^1H ; 600 MHz
 CDCl_3



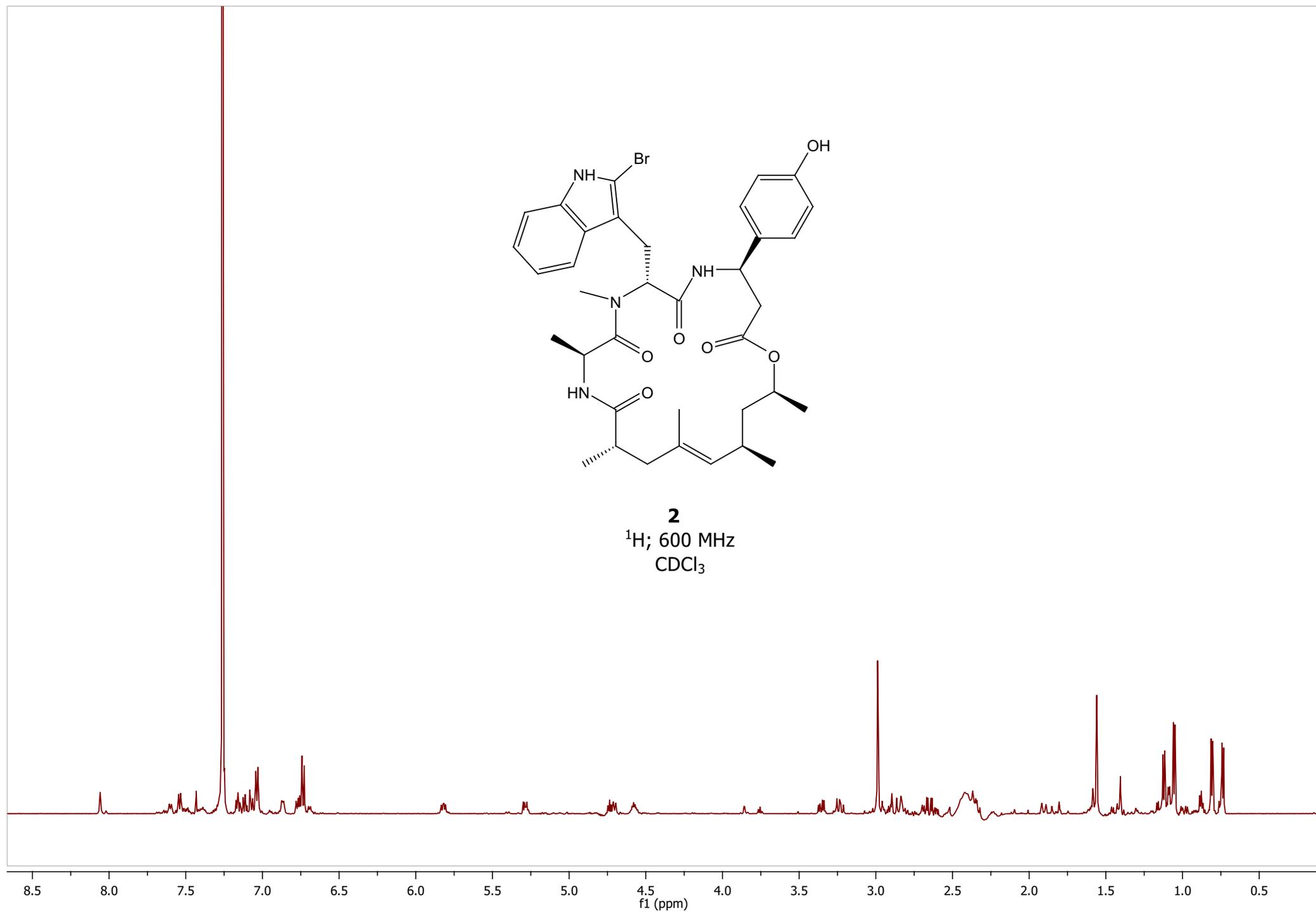


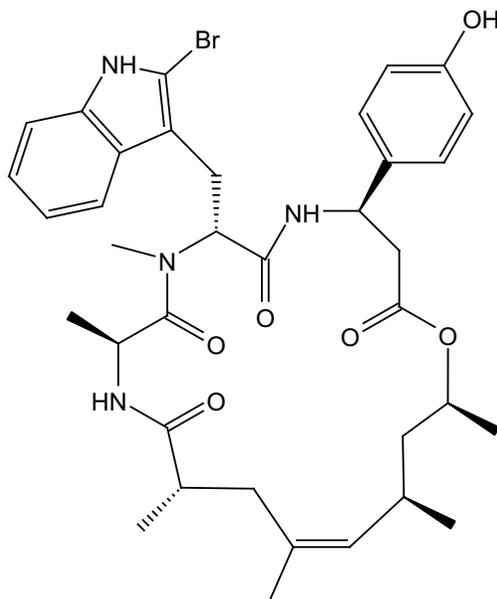
92d
 ^1H ; 600 MHz
 CDCl_3





2
¹H; 600 MHz
CDCl₃





92f
 ^1H ; 500 MHz
 CDCl_3

