

Synthese des dansylierten Park-Nucleotids und vereinfachter Analoge der Muraymycin-Antibiotika



Dissertation

zur Erlangung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Doktorgrades

"Doctor rerum naturalium"

der Georg-August-Universität Göttingen

im Promotionsprogramm

Georg-August University School of Science (GAUSS)

vorgelegt von

Stephanie Wohnig

aus Stadtoldendorf

Göttingen, Oktober 2013

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Fakultät für Chemie der Georg-August-Universität Göttingen in der Zeit vom November 2009 bis Dezember 2011 und am Department Chemie der Universität Paderborn in der Zeit vom Januar 2012 bis Oktober 2013 unter der Leitung von Prof. Dr. Christian Ducho angefertigt.

Betreuungsausschuss:

Prof. Dr. C. Ducho, Universität Paderborn, Department Chemie

Prof. Dr. U. Diederichsen, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Mitglieder der Prüfungskommission:

Prof. Dr. C. Ducho, Universität Paderborn, Department Chemie

Prof. Dr. U. Diederichsen, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Weitere Mitglieder der Prüfungskommission:

Prof. Dr. L. Tietze, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Dr. A. Breder, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Prof. Dr. G. Clever, Institut für Anorganische Chemie

Prof. Dr. D. Stalke, Institut für Anorganische Chemie

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 2013

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Antibiotika	1
1.2	Resistenzbildung gegen Antibiotika	2
1.3	Klassifizierung und Wirkmechanismen verschiedener Antibiotika	3
1.4	Aktuelle Forschung	4
2	Kenntnisstand	6
2.1	Die bakterielle Zellwand (Peptidoglycan)	6
2.1.1	Allgemeines	6
2.1.2	Aufbau	6
2.1.3	Die Peptidoglycan-Biosynthese	8
2.2	Phospho- <i>N</i> -acetylmuramyl-pentapeptid-transferase (MraY)	10
2.2.1	Aufbau	10
2.2.2	Katalytischer Mechanismus	11
2.2.3	MraY-Assays	13
2.2.4	MurC-Assays	15
2.3	Synthesen wichtiger Intermediate der Peptidoglycan-Biosynthese	15
2.3.1	Enzymatische und chemoenzymatische Synthesen	15
2.3.2	Chemische Synthesen von UDP-MurNAc 8	18
2.3.3	Chemische Synthesen von Park-Nucleotid 10 und Derivaten	20
2.4	Muraymycine	23
2.4.1	Allgemeines	23
2.4.2	Struktur-Aktivitätsstudien mit Muraymycin-Analoga	24
2.5	Harnstoffpeptide	25
2.5.1	Vorkommen in Naturstoffen	25
2.5.2	Synthesen verschiedener Harnstoffpeptide	27
3	Aufgabenstellung und Planung der Arbeit	30
3.1	Aufgabenstellung	30
3.2	Planung der Arbeit	32
4	Resultate und Diskussion	36
4.1	Synthese des dansylierten Park-Nucleotids 71	36
4.1.1	Synthese der geschützten 1-Phosphomuraminsäure 36	36
4.1.2	Synthese der dansylierten Peptidseitenkette	40
4.1.3	Synthese des 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptids 84	50
4.1.4	Synthese der <i>cycloSal</i> -Verbindung 85	56
4.1.5	Abschließende Schritte zum dansylierten Park-Nucleotid 71	62
4.2	Synthese der UDP- <i>N</i> -Acetylmuraminsäure 8	65
4.2.1	Synthese von 1-Phospho-glycosylmethylester 21	65
4.2.2	Abschließende Schritte zur UDP- <i>N</i> -Acetylmuraminsäure 8	66

4.3	Synthese der Harnstoffpeptide.....	70
4.3.1	Synthese der geschützten Aminosäuren	70
4.3.2	Synthese der Harnstoffpeptide.....	80
4.4	Synthese von (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-Diaminosäuren.....	95
4.4.1	Versuch der Synthese von geschütztem (3 <i>S</i>)-3-Amino-L-leucin 83	95
4.4.2	Synthese der geschützten (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-2,3-Diaminohexansäure 82	105
5	Zusammenfassung	111
6	Ausblick	119
7	Experimentaltteil	123
7.1	Allgemeines	123
7.1.1	Allgemeine Arbeitsweisen	123
7.1.2	Edukte und Reagenzien	123
7.1.3	Lösungsmittel.....	123
7.1.4	Absolute Lösungsmittel	124
7.1.5	Chromatographie	125
7.1.6	Spektroskopie und Spektrometrie	128
7.1.7	Geräte.....	130
7.2	Synthesen	131
7.2.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)	131
7.2.2	Synthese der geschützten Zuckerphosphate	134
7.2.3	Synthese der geschützten Aminosäuren für das Pentapeptid 133	147
7.2.4	Synthese des Pentapeptids 133	156
7.2.5	Synthese des <i>cyclo</i> Sal-Nucleotids 85	171
7.2.6	Synthese des dansylierten Park-Nucleotids 71	177
7.2.7	Synthese von UDP- <i>N</i> -Acetylmuraminsäure 8	192
7.2.8	Synthese der geschützten Aminosäuren für die Harnstoffpeptide	195
7.2.9	Synthese der Harnstoffpeptide.....	217
7.2.10	Synthesen und Versuche zur Synthese verschiedener Diaminosäuren.....	237
8	Literaturverzeichnis	266
9	Anhang	287
9.1	Abkürzungsverzeichnis.....	287
9.2	Danksagung	294
9.3	Lebenslauf.....	297

1 Einleitung

1.1 Antibiotika

Das Wort „Antibiotikum“ kommt aus dem Altgriechischen und kann frei mit den Worten *gegen Leben* übersetzt werden. Nach dem Aufkommen der ersten Wirkstoffe gegen bakterielle Erkrankungen wurde von *S. A. Waksman* das Wort „Antibiotikum“ geprägt. Er beschrieb damit eine Klasse von Stoffen, die aus Mikroorganismen isoliert wurden und das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmen.^[1] Inzwischen werden auch Wirkstoffe synthetischer und semisynthetischer Natur zu den Antibiotika gezählt. Das erste rein synthetisch hergestellte Antibiotikum war Salvarsan[®], entdeckt von *A. Bertheim* und *P. Ehrlich*, welches seit 1910 kommerziell erhältlich ist.^[2] Darauf folgten Prontosil[®] (*Gerhard Domagk*, 1932),^[3] ein Sulfonamid, nachfolgend die Gruppe der Chinolone (*Georg Leshner*, 1962)^[4] und erst fast 40 Jahre später die Gruppe der Oxazolidinone (z. B. Linezolid, 2000).^[5] Da rein synthetisch entwickelte Wirkstoffe entweder durch aufwändige Screenings^[5] oder durch Zufall entdeckt wurden,^[3] sind der Großteil der Antibiotika Naturstoffe oder Naturstoffanaloga.^[6] Bereits 1893 wurde die Mycophenolsäure als erster Naturstoff, der das Wachstum von Mikroorganismen hemmt, von *B. Gosio* aus *Penicillium brevicompactum* isoliert.^[7] 1928 entdeckte *Alexander Fleming*, dass der Schimmelpilz *Penicillium chrysogenum* einen antibiotisch wirkenden Naturstoff produziert.^[8] Nach der Isolierung und Charakterisierung des Wirkstoffes Penicillin durch *H. Florey* und *E. Chain* in den frühen 40er Jahren^[9] begann das „goldene Zeitalter“ der Antibiotikaforschung. Die Möglichkeit der Isolierung von größeren Mengen an Penicillin G durch Fermentation rettete im zweiten Weltkrieg vielen Soldaten und später auch vielen Zivilisten das Leben.^[9] In den folgenden zwanzig Jahren wurde eine große Zahl an meist naturstoffbasierten Antibiotika auf den Markt gebracht.^[10] Der anschließende Rückgang der Antibiotikaforschung beruhte darauf, dass die Menge an Wirkstoffen für ausreichend befunden wurde und bakterielle Krankheiten als besiegt galten.^[10] Viele Pharmakonzerne zogen sich in dieser Zeit aus der Antibiotikaforschung zurück, da die kurze Behandlungszeit und der eher seltene Einsatz eines Antibiotikums geringe Gewinne versprachen.^[6] Die niedrige Anzahl neuartiger Antibiotikaklassen, die in den letzten Jahren auf den Markt gekommen sind, sowie die zunehmende Resistenzbildung der Bakterien führt zu großen Problemen im Kampf gegen bakterielle Erreger. Bakterielle Erkrankungen sind weltweit die zweithäufigste und in den Industrienationen die dritthäufigste Todesursache.^[11]

1.2 Resistenzbildung gegen Antibiotika

Die Resistenz von Bakterien lässt sich durch die Unempfindlichkeit gegenüber antibiotischen Wirkstoffen beschreiben. Diese Resistenzbildung findet durch natürliche Mutation statt.^[12] Andererseits tragen einige Bakterien, die eigens antibiotische Stoffe produzieren, Resistenzgene bereits in sich. Diese können über Plasmide auf andere Bakterienarten, wie pathogene Erreger, übertragen werden.^[13-14] Die hohe Resistenzbildung in den letzten Jahrzehnten ist einem hohen evolutionären Druck geschuldet, der aufgrund des erhöhten Einsatzes von Antibiotika in der Humanmedizin,^[15] aber auch in der Veterinärmedizin und im Pflanzenschutz gegeben ist.^[16] Darüber hinaus wird die Behandlung häufig zu früh abgebrochen, so dass die überlebenden Bakterien leichter Resistenzen ausbilden können.^[17] Dazu kommt, dass lange Zeit keine neuen Antibiotikaklassen entdeckt worden sind und nur einige bestehende weiterentwickelt wurden. Dieses führte wiederum zu Kreuzresistenzen.^[18] Kreuzresistenz beschreibt die Unempfindlichkeit der Bakterien gegen mehrere Antibiotika mit gleichem Wirkort oder ähnlicher chemischer Struktur. Die Zeit, in der eine Bakterienart Resistenzen ausbildet, variiert stark. Beispielsweise bildeten sich gegen Penicillin V nach nur einem Jahr Resistenzen aus, wohingegen bei Vancomycin erst nach 30 Jahren resistente Erreger entdeckt wurden.^[19] Der Anteil von Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) stieg in Deutschland ab 1995 stark an und lag im Jahre 2001 bei 21 %. Dieser Trend wird ebenfalls bei anderen Bakterienstämmen und in anderen Ländern beobachtet.^[20] Zum Beispiel wurde in Indien im Jahre 2012 ein Tuberkulosestamm entdeckt, der gegen alle bis heute bekannten Antibiotika resistent ist.^[21] Nach derzeitigem Kenntnisstand gibt es vier häufig vorkommende Mechanismen, die zur Resistenzbildung führen. Zum einen ist dies die Inaktivierung des Antibiotikums durch bakterielle Enzyme (z. B. die β -Lactamase bei β -Lactam-Antibiotika)^[22-23] und zum zweiten das Verändern des antibiotischen Targets, so dass die Wirksamkeit verringert wird (z. B. Veränderung der Peptidseitenkette des Peptidoglycans durch Vancomycin-resistente Enterokokken).^[24] Der dritte Mechanismus ist das Entfernen des Antibiotikums über eine transmembrane Efflux-Pumpe (der Hauptmechanismus bei *Pseudomonas*)^[25-26] und als viertes erfolgt die Erhöhung der Penetrationsbarriere (z. B. eine Zellwandverdickung bei Vancomycin-resistenten Staphylokokken).^[27]

1.3 Klassifizierung und Wirkmechanismen verschiedener Antibiotika

Antibiotika lassen sich nach ihrer Wirkung auf das Bakterium grob in drei Klassen unterteilen. Es gibt bakteriostatische, bakteriozide und bakteriolytische Wirkstoffe. Die bakteriostatischen Antibiotika hemmen nur das Wachstum der Bakterien. Die bakterioziden Stoffe töten die Bakterien und die bakteriolytischen lösen die Bakterien auf. Eine genauere Einteilung kann anhand des entsprechenden Wirkorts oder des Wirkmechanismus vorgenommen werden. Der Großteil der Antibiotika wirkt gegen die folgenden vier Targets, die in humanen Zellen keine exakte Entsprechung finden: Die bakterielle Zellwandsynthese, die bakterielle Proteinbiosynthese, die DNA-Replikation und DNA-Reparatur sowie die Folat-Biosynthese.^[28]

Die bakterielle Zellwandsynthese wird in Kapitel 2 ausführlicher beschrieben. Häufig wird hierbei ein später Schritt inhibiert, der außerhalb der Bakterienmembran stattfindet. Da bis jetzt nur wenige Wirkstoffe bekannt sind, die frühe Schritte inhibieren, sind diese gute Targets für neue Antibiotika.^[29] Im Bereich der Proteinbiosynthese gibt es einen großen strukturellen Unterschied zwischen den ribosomalen Untereinheiten (30S und 50S) der Bakterien und den Untereinheiten (40S und 60S) von Säugetieren. In den meisten Fällen binden Antibiotika selektiv an eine der beiden Untereinheiten. Dies konnte anhand von Kristallstrukturanalysen nachgewiesen werden.^[30-31] Für neue Wirkstoffe sind andere Komponenten der Translation ebenfalls als Target interessant, wie z. B. die Initiations- und Elongations-Faktoren.^[29] Bei der DNA-Replikation und DNA-Reparatur werden verschiedene Enzyme, beispielsweise die DNA-Gyrase, gehemmt. Die Folat-Biosynthese ist ein geeignetes Target, weil Bakterien Folsäure nicht speichern können und zum Überleben synthetisieren müssen. Säugetiere besitzen keine Enzyme für diese Biosynthese und müssen Folsäure durch die Nahrung aufnehmen. So inhibieren Sulfonamide die Folat-Biosynthese, wobei sich jedoch relativ schnell Resistenzen ausbildeten. Da der Wirkmechanismus noch nicht genau bekannt ist, muss dieser erst gründlich untersucht werden, um neue Wirkstoffe gegen dieses Target zu entwickeln.^[32]

Am gebräuchlichsten ist die Einteilung der Antibiotika nach der chemischen Struktur (siehe Tabelle 1.1).

Jahr	Klasse	Beispiel	Target	Herkunft
1932	Sulfonamide	Sulfapyridin	Folat-Biosynthese	synthetisch
1940	β -Lactame	Penicillin	Peptidoglycan-Biosynthese	natürlich
1944	Aminoglycoside	Streptomycin	Protein-Biosynthese	natürlich
1947	Phenylpropanoide	Chloramphenicol	Protein-Biosynthese	natürlich
1948	Tetracycline	Chlortetracyclin	Protein-Biosynthese	natürlich
1950	Macrolide	Erythromycin	Protein-Biosynthese	natürlich
1955	Glycopeptide	Vancomycin	Peptidoglycan-Biosynthese	natürlich
1955	Streptogramine	Virginiamycin	Protein-Biosynthese	natürlich
1955	Lincosamide	Lincomycin	Protein-Biosynthese	natürlich
1959	Ansamycine	Rifamycin	RNA-Replikation	natürlich
1962	Chinolone	Nalidixinsäure	DNA-Replikation	synthetisch
1969	Phosphonate	Fosfomycin	Peptidoglycan-Biosynthese	natürlich
2000	Oxazolidine	Linezolid	Protein-Biosynthese	synthetisch
2003	Lipopeptide	Daptomycin	Zellmembran-Biosynthese	natürlich

Tab. 1-1 Auswahl wichtiger Antibiotikaklassen (aus C.T. Walsh et al.; Introduction: Antibiotic Resistance; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391-393).^[26]

Wie aus der oben stehenden Tabelle erkennbar ist, wurde der Hauptteil neuer Antibiotikaklassen zwischen 1940 und 1970 entdeckt. Fast alle diese Antibiotika wirken gegen eins der vier beschriebenen Targets, und der größte Teil der Wirkstoffe ist natürlicher Herkunft. Für die Zukunft gilt es neue Antibiotika-Klassen, die gegen neue Targets wirken, zu entwickeln, um im Kampf mit den bakteriellen Erregern bestehen zu können.

1.4 Aktuelle Forschung

Mittlerweile wird wieder verstärkt an antibiotischen Wirkstoffen geforscht.^[33] Um Resistenzbildung zu verlangsamen, müssen neue Stoffklassen, neue Wirkmechanismen und andere Wirkorte gefunden werden.^[32] Eine recht neue Antibiotikaklasse, die Oxazolidinone (z. B. Linezolid, 2000), inhibieren einen frühen Schritt der Proteinbiosynthese, was einen bisher ungenutzten Wirkmechanismus darstellt.^[34] Sie wirken unter anderen gegen viele schwer behandelbare Erreger, wie MRSA, jedoch sind inzwischen erste Resistenzen gegen diese Klasse aufgetaucht.^[35] Ketolide (z. B. Telithromycin, 2007) hemmen die bakterielle Proteinsynthese in einem späteren Schritt, analog der Makrolide, binden aber stärker an die 50S-Einheit der Ribosomen.^[36] Noch wirken sie gegen Makrolid-resistente Bakterien, da sie aber nur eine Weiterentwicklung der Makrolide sind, wurden bereits erste Resistenzen festgestellt.^[20] Lipopeptide (z. B. Daptomycin, 2006) wirken, indem sie nach dem Einbau in die Bakterienmembran Kanäle

bilden und dadurch das Membranpotential zusammenbricht, was zum Tod der Bakterien führt.^[37] Eine neue Klasse makrocyclischer Antibiotika bildet das 2013 auf den Markt gebrachte Fidaxomicin. Es hemmt die Proteinbiosynthese, indem es an die DNA-abhängige RNA-Polymerase bindet.^[38] Durch aktuelle Forschungsansätze wie z. B. die Genomforschung können ebenfalls auf anderen Wegen sowohl neue Antibiotikaklassen als auch Targets gefunden werden.^[28] Zur Entdeckung neuartiger Antibiotika werden heutzutage völlig neue Organismen untersucht, z. B. anaerobe Bakterien (Entdeckung der Closthioamide)^[39] oder Bakterien aus der Tiefsee (z. B. Anthracimycin).^[40] Da diese Bakterienarten häufig schwierig zu kultivieren sind, werden die Gene in einfacher zu verwendende Bakterienspezies übertragen.^[41] Ein vielversprechender Ansatz besteht darin, nicht das Zellwachstum zu inhibieren oder den Zelltod herbeizuführen, sondern die Zellkommunikation zu unterbrechen.^[42-43] Es bleibt zu hoffen, dass die aktuelle Forschung in absehbarer Zeit effektive Wirkstoffe gegen resistente Erreger, aber auch gegen häufig vorkommende Pathogene hervorbringt.

2 Kenntnisstand

2.1 Die bakterielle Zellwand (Peptidoglycan)

2.1.1 Allgemeines

Bakterien unterscheiden sich hinsichtlich ihres Zellwandaufbaus und sind demzufolge in drei Typen zu unterteilen. Zum ersten Typ gehören die grampositiven Bakterien, die eine dicke Zellwand besitzen (20-28 nm). Zum zweiten Typ zählen die gramnegativen Bakterien, die nur eine dünne Zellwand aufweisen (2 nm), jedoch über eine zusätzliche äußere Membran verfügen. Als drittes sind die Mycobakterien zu nennen, die eine sehr komplexe Zellwand und eine zusätzliche äußere Mycolsäureschicht haben.^[44] Grampositive und gramnegative Bakterien lassen sich durch die sogenannte *Gram*-Färbung kenntlich machen. Die *Gram*-Färbung wurde von *H. G. Gram* entwickelt und beruht auf der permanenten Einlagerung eines Farbstoffes in die Zellwand der grampositiven Zellen, während er aus gramnegativen Zellen leicht extrahierbar ist.^[45] Den Hauptbestandteil (50 Gew%) der bakteriellen Zellwand macht das Peptidoglycan **1** aus (s. Abb. 2-1).^[27] Bakterienzellen benötigen die Zellwand, um dem hohen osmotischen Druck zwischen dem Zellinneren und der Zellumgebung standzuhalten.^[46] Die Zellwand verleiht ihnen ihre charakteristische Form. Außerdem können bestimmte Moleküle wie Proteine oder Polysaccharide darin eingelagert werden.^[47] In den Zellwänden der grampositiven Bakterien ist z. B. in großen Mengen Teichonsäure eingelagert, wodurch die Zellwand negativ geladen ist. Diese Zellwand ist für Moleküle von bis zu 57000 Da durchlässig und stellt daher nur eine geringe Barriere für die meisten Antibiotika dar.^[48]

2.1.2 Aufbau

Das Peptidoglycan **1** ist aus alternierenden *N*-Acetylglucosamin (GlcNAc)- und *N*-Acetylmuraminsäure (MurNAc)-Einheiten aufgebaut, die über eine β -1,4-glycosidische Bindung verknüpft sind (Abb. 2-1). Die *N*-Acetylmuraminsäure-Einheiten sind über den an der 3-Position verknüpften Milchsäurerest mit einer Peptidkette verbunden, die zur Quervernetzung der Glycanketten dient. Das Peptid besteht in den meisten Fällen aus L-Alanin, γ -D-Glutaminsäure, *meso*-Diaminopimelinsäure (gramnegative Zellen) oder L-Lysin (grampositive Zellen) und dem Dipeptid D-Alanin-D-Alanin. Die Querverknüpfung findet in diesen Fällen zwischen der *meso*-Diaminopimelinsäure oder

dem L-Lysin und der endständigen Peptidbindung statt, wobei mitunter weitere Aminosäuren diese beiden Strukturen verknüpfen (Abb. 2-1).

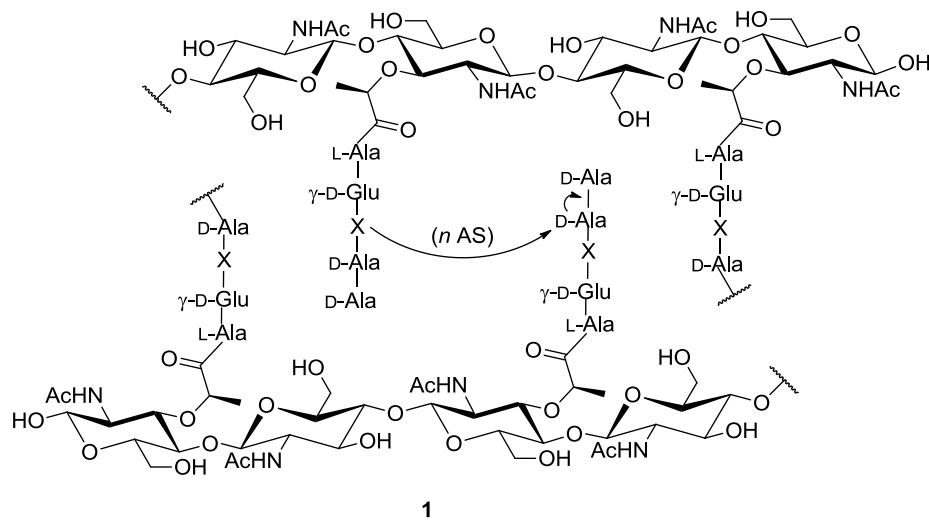


Abb. 2-1 Ausschnitt einer Peptidoglycanstruktur **1** (X: *meso*-Diaminopimelinsäure oder L-Lysin, n AS: n verbrückende Aminosäuren)

Die Glycankette ist aufgrund sterischer Hinderung helikal angeordnet. Jeweils vier Einheiten des GlcNAc-MurNAc-Peptids sind in einer Helix-Windung enthalten. Es wurden ca. 100 verschiedene Peptidoglycanstrukturen in Bakterien charakterisiert, wobei die meisten Variationen an der Peptidkette zu finden sind.^[49-50] Da die Peptidoglycanstruktur **1** ausschließlich in Bakterienzellen vorkommt, sind die Enzyme ihrer Biosynthese geeignete Targets für Antibiotika. Eines der ältesten und noch heute häufig verwendeten Antibiotika, das Penicillin, inhibiert die Quervernetzung der Peptidketten, die einen späten Schritt in der Zellwand-Biosynthese darstellt (s. Kap. 2.1.3). Die Glycanstrukturen sind in fast allen Bakterienarten unverändert,^[51] somit wäre es von Vorteil, einen Schritt der Zellwandbiosynthese zu hemmen, der den Aufbau dieser Strukturen katalysiert. Zudem gibt es zurzeit nur wenige kommerziell erhältliche Antibiotika, die frühe intrazelluläre Schritte hemmen. Dazu gehören z. B. Fosfomycin^[52] oder die Glycopeptide.^[53] In den letzten Jahren wurden einige Naturstoffe wie z. B. Tunicamycin,^[54] die Mureidomycine^[55] oder die Muraymycine^[56] entdeckt, die intrazelluläre Enzyme inhibieren. Die Substanzklasse der Muraymycine wird in Kapitel 2.2 ausführlich beschrieben.

2.1.3 Die Peptidoglycan-Biosynthese

Einige Intermediate der Peptidoglycan-Biosynthese wurden bereits 1952 von *J. T. Park* isoliert und charakterisiert.^[57] In den 60er Jahren wurden der Aufbau und der Biosyntheseweg des Peptidoglycans **1** in den Grundzügen aufgeklärt.^[46] Die Zellwand-Biosynthese lässt sich in drei Abschnitte unterteilen: Erstens die Synthese der Vorläufer im Cytosol, zweitens der intrazelluläre Teil zum Lipid II **12** und drittens der extrazelluläre Abschnitt, der mit dem Peptidoglycan **1** abschließt.

Der erste Abschnitt beginnt mit Fructose-6-phosphat **2** und liefert in vier Schritten das Uridindiphosphat-*N*-Acetylglucosamin **6** (Abb. 2-2).

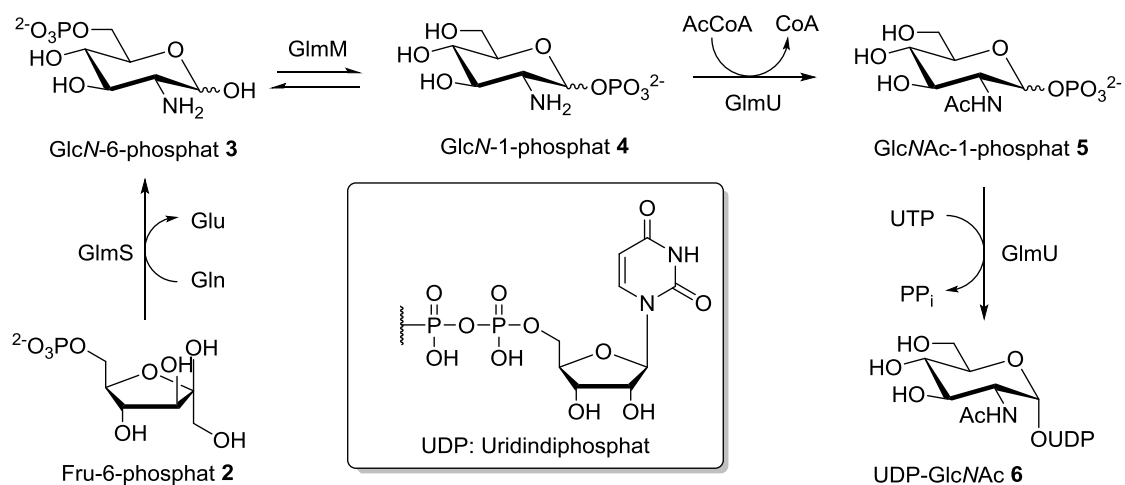


Abb. 2-2 Erster Abschnitt der Zellwandbiosynthese

Fructose-6-phosphat **2** wird zu Beginn mittels einer Aminotransferase (*GlmS*)^[58] in das Glucosamin **3** überführt, wobei die Aminofunktion eines Glutamins als Stickstoffüberträger dient. Im zweiten Schritt wird mittels der Phosphoglucosaminmutase (*GlmM*)^[59] die Phosphatgruppe in einer Gleichgewichtsreaktion von der 6-Position auf die 1-Position zum GlcN-1-phosphat **4** umgelagert. Die letzten beiden Schritte werden von der *GlmU*-Synthase^[60] katalysiert. Zuerst wird die Acetylgruppe eines Acetyl-CoA-Moleküls auf die Aminogruppe übertragen und es entsteht GlcNAc-1-phosphat **5**. Im Anschluss findet eine α -selektive Uridinylierung an 1-Position mit Hilfe von Uridintriphosphat (UTP) zum UDP-GlcNAc **6** statt.^[61]

Der zweite Abschnitt ist im Cytoplasma und an der inneren Membran lokalisiert (Abb. 2-3). Die Umsetzung von UDP-GlcNAc **6** zu UDP-MurNAc **8** ist ein zweistufiger Prozess, der durch die Transferase *MurA*^[62] und die Reduktase *MurB*^[63] katalysiert wird. Beim ersten Schritt handelt es sich um einen Transfer des Enolpyruvats, ausgehend von

Phosphoenolpyruvat (PEP), an die 3-Position des UDP-*N*-Acetylglucosamins **6**. Hierzu wird ein Additions-Eliminierungsmechanismus über eine tetraedrische Zwischenstufe postuliert.^[64] Der Enolpyruvatrest an Verbindung **7** wird im zweiten Schritt mittels der NADPH-abhängigen Reduktase (MurB) zum D-Lactylrest reduziert.

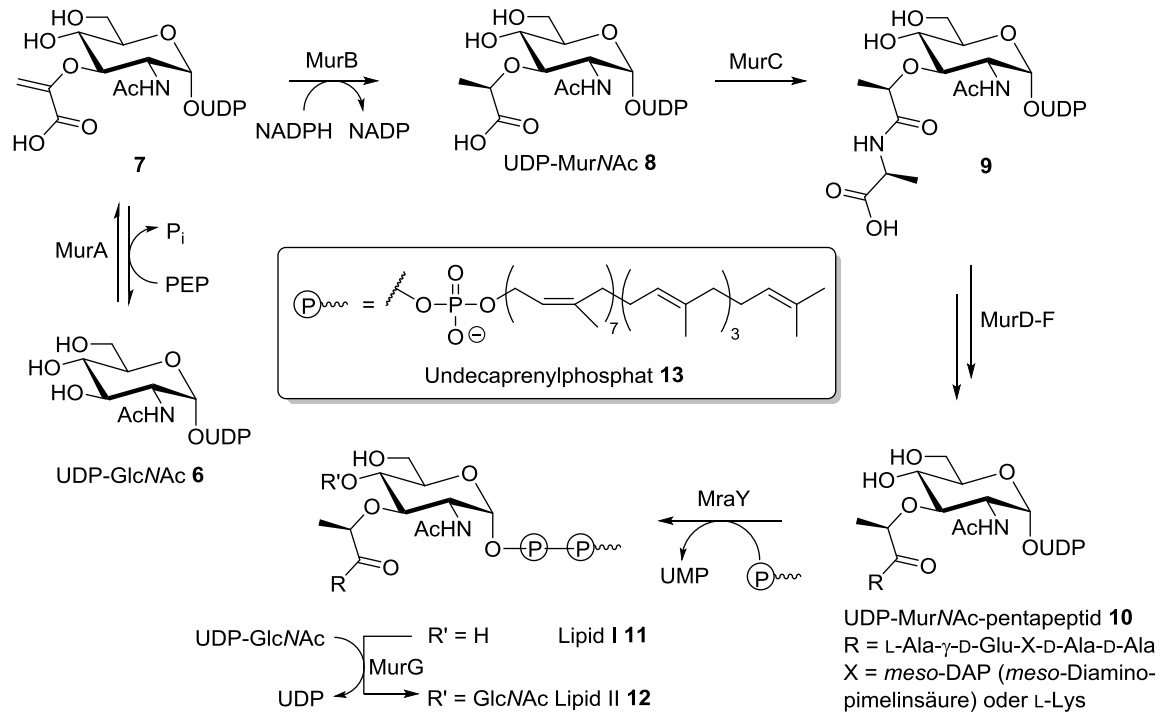


Abb. 2-3 Biosyntheseweg zum Lipid II **12**

Die Peptidkette wird anschließend schrittweise ausgehend vom C-Terminus aufgebaut: Beginnend mit L-Alanin, anschließend D-Glutaminsäure, einer Diaminosäure (meist *meso*-Diaminopimelinsäure oder L-Lysin) und einem Dipeptid (häufig D-Alanin-D-Alanin). Jede Aminosäure (bzw. das Dipeptid) wird unter Beteiligung eines der hoch selektiven Enzyme MurC-F^[65-68] eingeführt. MurC, als erstes peptidübertragendes Enzym, stellt ein attraktives Target für neue Antibiotika dar. In Kapitel 2.2.4 folgt ein Überblick über gebräuchliche MurC-Assays. Gemäß einer mechanistischen Beschreibung^[61] beginnt die Peptidkupplung mit der Aktivierung der Säurefunktion durch Phosphorylierung mittels Adenosin-triphosphat (ATP). Anschließend erfolgt ein nucleophiler Angriff der Aminosäure oder des Peptides unter Abspaltung des Phosphatanions. Das resultierende UDP-*N*-Acetyl-muraminsäure-pentapeptid **10**, auch Park-Nucleotid^[57] genannt, wird anschließend mithilfe der membrangebundenen Translocase Mray in das Lipid I **11** überführt. Bei diesem Schritt wird an der 1-Position des Park-Nucleotids **10** das Uridinmonophosphat (UMP) durch den Lipidanker Undecaprenylphosphat **13** substituiert.

Das Enzym *MraY* als wichtiges Target neuartiger Nucleosidantibiotika wird in Kapitel 2.2 ausführlicher behandelt. Im letzten intrazellulären Schritt wird *N*-Acetylglucosamin, katalysiert durch *MurG*,^[69] β -selektiv an die 4-Position des Lipids I **11** verknüpft, wobei Lipid II **12** gebildet wird.^[61,70]

Der dritte Abschnitt der Peptidoglycan-Biosynthese findet außerhalb der Membran statt. Dafür wird das Lipid II **12** über einen noch unbekanntenen Mechanismus durch die Membran in den extrazellulären Raum transportiert. Die anschließende Polymerisation findet unter Inversion der Konfiguration an der 1-Position des Muraminsäurerestes statt und wird durch eine membrangebundene Glycotransferase^[71] katalysiert. Die Quervernetzung zwischen den Peptidketten findet mittels einer Transpeptidase^[72] statt. Dabei greift die freie Aminogruppe der *meso*-Diaminopimelinsäure oder des L-Lysins einer Peptidkette nucleophil an der terminalen Peptidbindung der benachbarten Peptidkette an, wodurch die terminale Aminosäure (meist D-Alanin) abgespalten wird.^[49]

2.2 Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptid-transferase (*MraY*)

2.2.1 Aufbau

Struve und *Neuhaus* entdeckten 1965, dass durch bestimmte Enzympräparationen von *S. aureus* die Umsetzung des UDP-MurNAc-pentapeptids **10** zum Lipid I **11** und Uridinmonophosphat katalysiert wird.^[73] Das in dieser Reaktion aktive Enzym (*MraY*) wurde in den 1970er Jahren in verschiedenen Mikroorganismen hinsichtlich der Kinetik und des Reaktionsmechanismus detailliert untersucht.^[74-76] Das hierfür codierende Gen liegt auf einer Region, die *mra* (*murein region a*) genannt wird und auf dem *E. coli*-Gencluster bei 2 min lokalisiert werden kann.^[77] Bei Inaktivierung dieses Gens tritt Zelllyse ein, somit ist das zugehörige Enzym essentiell für das Überleben des Bakteriums.^[78] Durch Analyse der Primärstruktur wurde festgestellt, dass das Enzym aus sich wiederholenden hydrophoben und hydrophilen Domänen besteht. Außerdem ist eine lipidische Umgebung für die Aktivität unerlässlich.^[79] Die Überexpression und die Reinigung des Enzyms war lange Zeit ein Problem und ist erst 2004 von *Bouhss et al.* durchgeführt worden.^[80] 2011 entwickelten *Bernhard* und Mitarbeiter eine zellfreie Methode zur Expression von *MraY*, welche gute Aktivitäten aufwies.^[81]

Ein Topologie-Modell wurde durch Vergleiche von *E. coli* und *S. aureus* *MraY* und anderen orthologen Enzymen von *Bouhss et al.* aufgestellt.^[82] Dieses Modell konnte vor

kurzem durch eine Kristallstruktur von *MraY* aus *Aquitex aeoticus* bestätigt werden (Abb. 2-4).

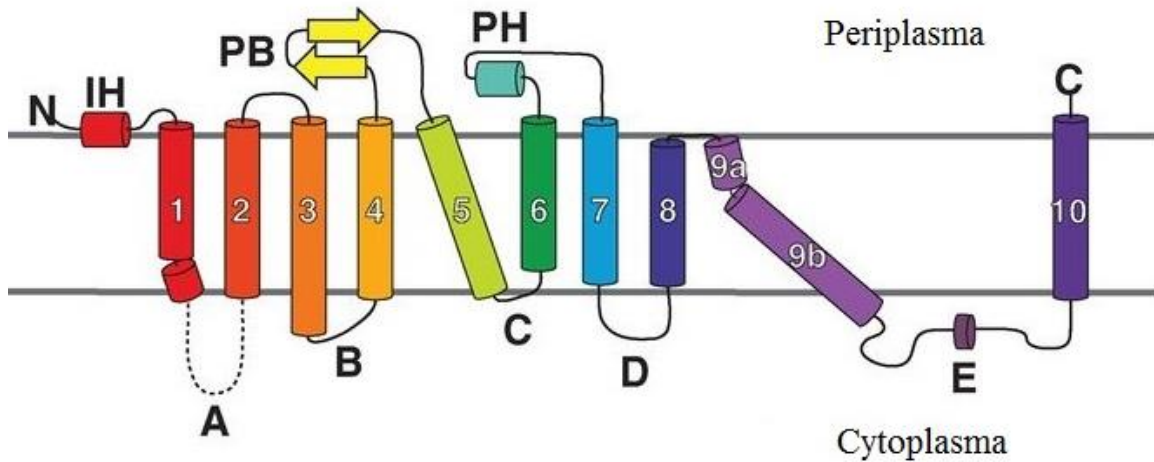


Abb. 2-4 Aus der Kristallstruktur abgeleitetes Topologie-Diagramm von *MraY* (aus B. C- Chung et al.; Crystal Structure of *MraY*, an Essential Membrane Enzyme for Bacterial Cell Wall Synthesis; *Science* **2013**, *341*, 1012-1016)^[83]

MraY kristallisiert als Dimer. Im Zentrum dieses Dimers liegt ein ovaler Tunnel, in dem hauptsächlich hydrophobe Aminosäuren liegen und welcher groß genug ist, um Lipide aufzunehmen. Jedes Protomer besteht aus 10 transmembranen Helices (1-10), einer an der Grenzfläche gelegenen Helix (IH), einer periplasmatischen β -Haarnadel (PB), einer periplasmatischen Helix (PH) und fünf cytoplasmatischen Loops (A-E). Der C- und der N-Terminus liegen auf der periplasmatischen Seite (Abb. 2-4).^[83]

2.2.2 Katalytischer Mechanismus

Die Translokase I (*MraY*) katalysiert neben der Umsetzung von Park-Nucleotid **10** zu Lipid **11** durch Übertragung des membrangebundenen Lipidankers Undecaprenylphosphat **13** ebenfalls den Austausch von tritiummarkiertem UMP gegen den UMP-Rest am Park-Nucleotid **10**.^[84] Der Gleichgewichtscharakter der Reaktion wurde mithilfe von Isotopenmarkierungsexperimenten nachgewiesen.^[85] Um das aktive Zentrum des Enzyms zu lokalisieren, wurden Vergleiche mit orthologen Enzymen und Mutationen bestimmter Aminosäuren in den cytoplasmatischen Loops durchgeführt.^[86-87] Die am aktiven Zentrum beteiligten Aminosäuren müssen in allen Enzymen der Familie vorkommen, im cytoplasmatischen Bereich lokalisiert sein und nucleophile Eigenschaften aufweisen. Aufgrund dieser Kriterien wurden drei konservierte Aspartat-Einheiten (Asp-115,

Asp-116, Asp-267) gefunden, die eine Rolle im Mechanismus spielen könnten. Sie alle liegen auf der cytoplasmatischen Seite, und der Austausch dieser Aminosäuren führt zu einem Verlust der Aktivität.^[86]

Im Zusammenhang mit diesen Ergebnissen wurde von einem zweistufigen Mechanismus ausgegangen (Abb. 2-5).^[85] Analog zu Mechanismen vergleichbarer Enzyme wurde postuliert, dass die beiden Aspartat-Einheiten 115 und 116 (Loop II) an Mg^{2+} koordinieren, welches außerdem an die Diphosphat-Einheit des Park-Nucleotids **10** bindet. Durch diese Aktivierung wird der nucleophile Angriff des Aspartatrestes 267 (Loop IV) an das Diphosphat erleichtert.^[88] UMP wird abgespalten und es entsteht ein kovalentes Enzym-Phospho-MurNAc-pentapeptid-Intermediat **14**. Anschließend greift das Undecaprenylphosphat **13** unter Regeneration des Enzyms nucleophil an.

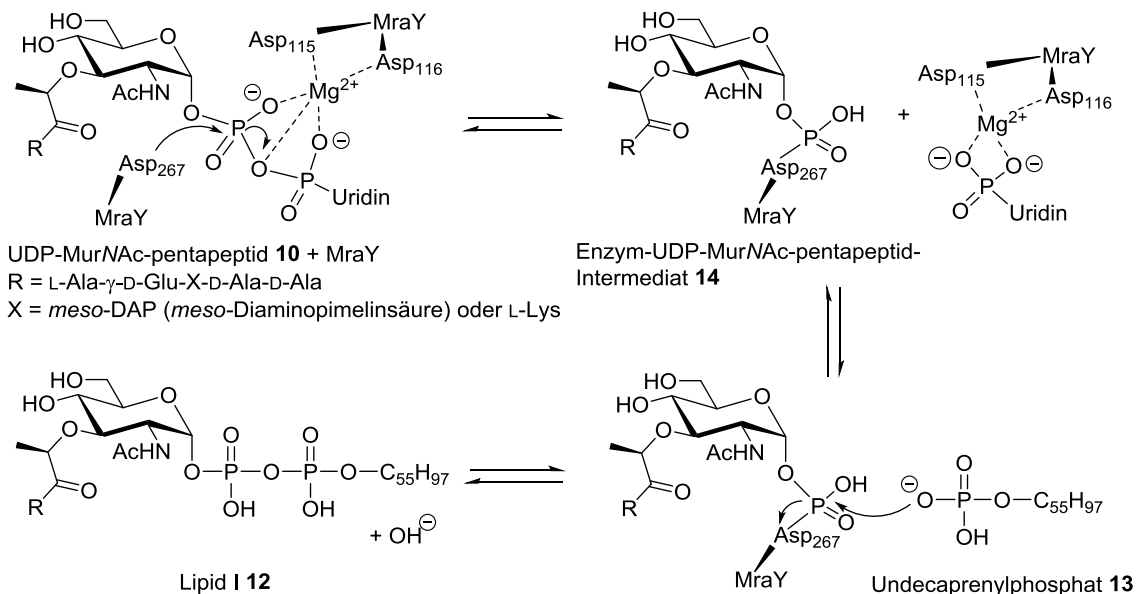


Abb. 2-5 Postulierter zweistufiger Mechanismus der Lipid I-Synthese katalysiert durch MraY (nach Struve et al.; On the Initial Stage in Peptidoglycan Synthesis. Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide Translocase (Uridin Monophosphate); *Biochemistry* **1966**, 5, 82-92)^[85]

Der zweistufige Mechanismus wurde allerdings basierend auf Daten, die aus Experimenten mit ungereinigtem MraY erhalten wurden, veröffentlicht. Dabei könnten verschiedene Enzymverunreinigungen Nebenreaktionen verursacht haben. 2008 wurden von *Bouhss et al.* ausführliche Mutagenese-Studien mit gereinigtem MraY durchgeführt. Aufgrund dieser Studien wird ein einstufiger Mechanismus als plausibler erachtet (Abb. 2-6).^[89]

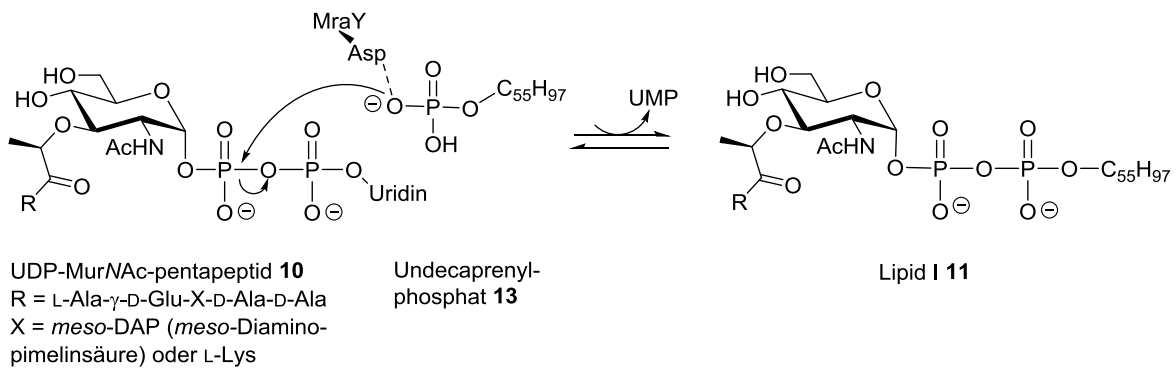


Abb. 2-6 Postulierter einstufiger Mechanismus katalysiert durch MraY nach *Bouhss et al.*

Das Enzym-aktivierte Undecaprenylphosphat **13** greift direkt am Diphosphatrest des Park-Nucleotids **10** unter Abspaltung von UMP an. Die Tatsache, dass einzelne Inaktivierungen der Asparaginreste nicht zur vollständigen Inaktivierung des Enzyms, sondern lediglich zur Verringerung der Aktivität führten, unterstützt diesen Mechanismus.^[89]

Für die Aktivität von MraY ist das Vorhandensein von Mg^{2+} essentiell, aber auch einige monovalente Ionen wie K^+ oder Na^+ erhöhen die Aktivität.^[80] Bis zum heutigen Tag konnten trotz intensiver Forschung weder über den Mechanismus noch über das aktive Zentrum genaue Aussagen gemacht werden. Jedoch konnten durch die Kristallisation des Enzyms erste Erkenntnisse gewonnen werden. Alle für die katalytische Reaktion wichtig erachteten Aminosäuren liegen in einer Spalte des Enzyms, welche das aktive Zentrum darstellen könnte.^[83] Durch Cokristallisation des Enzyms mit dem Substrat oder Inhibitoren könnte das aktive Zentrum lokalisiert werden. Da MraY in dieser Form nur in Bakterienzellen vorkommt, ist es ein sehr attraktives Target für neue Antibiotika. Um die Wirkung eines solchen antibiotischen Wirkstoffes zu validieren, müssen Aktivitäts-Assays für das Enzym entwickelt werden. Welche Arten von Assays für das Enzym MraY bis heute publiziert worden sind, wird im folgenden Kapitel zusammengefasst.

2.2.3 MraY-Assays

Unterschiede in den Assays liegen zum einen bei der Präparation der Enzyme und zum anderen bei der Detektion der Produkte. Für MraY wurden häufig Membranpräparationen verwendet, da so der Assay unter natürlichen Bedingungen durchführbar ist.^[90-91] Zudem gab es zunächst keine geeignete Reinigungsmethode für MraY.^[79] Jedoch können andere in der Membran enthaltene Enzyme die Ergebnisse verändern. Unter Verwendung gereinigter

Enzyme wurden spezifischere Daten erhalten.^[92] Zur Detektion werden die Substrate für Enzym-Assays meist isotopen- oder fluoreszenzmarkiert. Eine Isotopenmarkierung verändert das Substrat nur geringfügig und ist relativ günstig.^[80] Ein Nachteil dieser Methode ist, dass radioaktiver Abfall entstehen kann, wodurch die Entsorgung teurer und gefährlicher wird. Fluoreszenzmarkierungen hingegen müssen so gewählt werden, dass sie mühelos eingeführt werden können und die Substrataktivität des Enzyms nicht beeinflusst wird. Seit den 1960er Jahren wurden die Produkte von Enzymkatalysen meist durch Papierchromatographie quantifiziert oder durch Extraktion erhalten, was jedoch mühsam ist und nur einen geringen Durchsatz liefert.^[54-55] Um schnellere Ergebnisse zu erzielen, wurden Hochdurchsatz-Verfahren (*high-throughput screening*, *HTS*)^[93] entwickelt. Eine Methode für isotopenmarkierte Substrate ist der Szintillations-Assay (*scintillation proximity assay*, *SPA*). Dabei sind kleinste Kügelchen mit einem Emitter, der bei einem Angriff eines radiomarkiertem Moleküls Licht aussendet, am Wirkort gebunden.^[94] Für HTS-Anwendungen können diese Assays auf Mikrotiterplatten durchgeführt werden und so in kurzer Zeit ausgelesen werden.^[91,95-97] 1977 wurde von *Weppner* und *Neuhaus* das dansylierte Park-Nucleotid **71** als Substrat für *MraY* erschlossen, welches etwas stärker an *MraY* bindet.^[98] In einem erstmals fluoreszenzbasierten Assay von *Bugg et al.* wurde das dansylierte Park-Nucleotid **71** erfolgreich verwendet.^[54-55] Dabei wurde der Unterschied der Fluoreszenzmaxima des Substrates **71** (561 nm) und des Produktes **11** (531 nm) ausgenutzt. Des Weiteren steigt die Fluoreszenzintensität des dansylierten Lipids I **11** aufgrund des Wechsels von einer wässrigen zu einer lipidischen Umgebung. Somit kann durch Fluoreszenzdetektion die Enzymaktivität gemessen werden und dieser Assay leicht auf ein HTS-Format übertragen werden.^[92] Durch IC_{50} -Werte bekannter *MraY*-Inhibitoren wurde dieser Assay als sehr aussagekräftig eingestuft.^[55,92] Im Jahr 2012 wurde von *Shapiro et al.* ein auf dem Prinzip des Förster-Energie-Resonanz-Transfers (FRET)^[99] basierender HTS-Assay von *MraY* publiziert. FRET beschreibt eine strahlungslose Energieübertragung zwischen einem Donor und einem Akzeptor, welcher abstandsabhängig ist. Dafür wurde als FRET-Donor ein Fluorophor mit dem Park-Nucleotid **10** verknüpft und als FRET-Akzeptor ein kommerziell erhältliches lipidgebundenes Fluorophor verwendet, welches, zusammen mit *MraY*, in einer künstlichen Mizelle integriert war. Nach der Umsetzung des Park-Nucleotids **10** zum Lipid I **11** näherte sich der Donor der Membranoberfläche und ein FRET-Signal konnte detektiert werden. Dieser Assay ist empfindlicher als ein herkömmlicher

Fluoreszenz-Assay,^[100] aber die sehr großen Fluorophore verändern die Intermediate stark und der Assay kann nicht unter natürlichen Bedingungen durchgeführt werden.

2.2.4 MurC-Assays

Das Enzym MurC,^[65] eine nicht-ribosomale Aminosäure-Ligase, katalysiert den ersten peptidverknüpfenden Schritt in der Peptidoglycan-Biosynthese und stellt ebenfalls ein interessantes Target für Antibiotika dar (s. Abb. 2-3). Dabei wird unter ATP-Verbrauch eine Amidbindung zwischen UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** und meist L-Alanin (selten auch Glycin oder L-Serin)^[101] geknüpft. Es entstehen Adenosindiphosphat (ADP) und anorganisches Phosphat (P_i), welche detektiert werden können, um die Enzymaktivität zu messen. Zur Detektion von P_i wird häufig ein Malachitgrün-Assay (MG-Assay)^[102] oder ein Methylthioguanosin-Assay (MESG-Assay)^[103] verwendet, während für die Detektion von ADP ein Pyruvat-Kinase/Lactat-Dehydrogenase-Assay (PK/LDH-Assay)^[104] genutzt wird. Die MG- und MESG-Assays können über Absorbanz aus den jeweiligen Farbkomplexen mit P_i gemessen werden und der PK/LDH-Assay über die Fluoreszenz von den fluoreszierenden Komplexen mit ADP. Für beides ist ein HTS-Verfahren möglich, dennoch sind gekoppelte und sekundäre Assays oft nicht so präzise. Eine Alternative stellt ein LC-MS-basierter Assay dar, welcher spezifischer und sensibler ist, aber wiederum nicht für das HTS-Format anwendbar ist.^[105] Die meisten bekannten MurC-Inhibitoren ahmen das tetraedrische Phosphat-Intermediat nach.^[106-107] Da diese Zwischenstufe auch bei anderen Enzymen, die unter ATP-Verbrauch Amidbindungen knüpfen, vorkommt, sind einige dieser Inhibitoren nicht spezifisch für MurC.^[108] Somit ist die Suche nach neuen Inhibitoren und ebenfalls nach neuen MurC-spezifischen Assays von großer Relevanz.

2.3 Synthesen wichtiger Intermediate der Peptidoglycan-Biosynthese

2.3.1 Enzymatische und chemoenzymatische Synthesen

Für Enzymassays ist es unerlässlich, eine ausreichende Menge des Substrates in geeigneter Form zu generieren. Dafür gibt es die Möglichkeit der Isolierung der Substrate aus den Zellen oder die Durchführung von enzymatischen, chemoenzymatischen und chemischen Synthesen der Intermediate. Das Isolieren von einigen Substraten, z. B. Park-Nucleotid **10**, ist aufgrund der geringen vorhandenen Menge in den Zellen eher ungeeignet. Obwohl das

Anreichern der Substrate prinzipiell möglich ist, ist ihre Reinigung ineffizient und zeitintensiv.^[109-111] Bei der enzymatischen Synthese werden die Vorstufen unter Katalyse der jeweiligen gereinigten meist rekombinanten Enzyme zur Reaktion gebracht. Aufgrund der relativ hohen Kosten oder der schlechten Verfügbarkeit einiger Enzyme und Intermediate, ist hierbei die zugängliche Menge begrenzt. Außerdem kann bei sehr spezifischen Enzymen nur wenig variiert werden.^[112] Bei der Verwendung von Wild-Typ-Enzymen ist die Reinigung häufig aufwändig. Dieses konnte durch Verwendung von His-Tag-Enzymen erleichtert werden.^[113]

Durch chemoenzymatische Synthese können die Substrate variiert und die Kosten reduziert werden. So wurde von *Blanot* und Mitarbeitern ein dansyliertes Lipid I-Analogon, ausgehend von Park-Nucleotid **10**, durch enzymatische Phosphatspaltung, anschließende Dansylierung und Diphosphatkupplung in Anwesenheit von Carbonyldiimidazol (CDI) mit einem α -Dihydroheptaprenylphosphat dargestellt (ohne Abbildung). Der letzte Schritt verlief mit einer geringen Ausbeute von nur 13 %. Dies war zum Teil auf Reinigungsprobleme zurück zu führen.^[114] *Wong et al.* publizierten 2001 eine chemoenzymatische Synthese von drei verschiedenen fluoreszenzmarkierten Park-Nucleotid-Derivaten **16a-c** (Abb. 2-7).

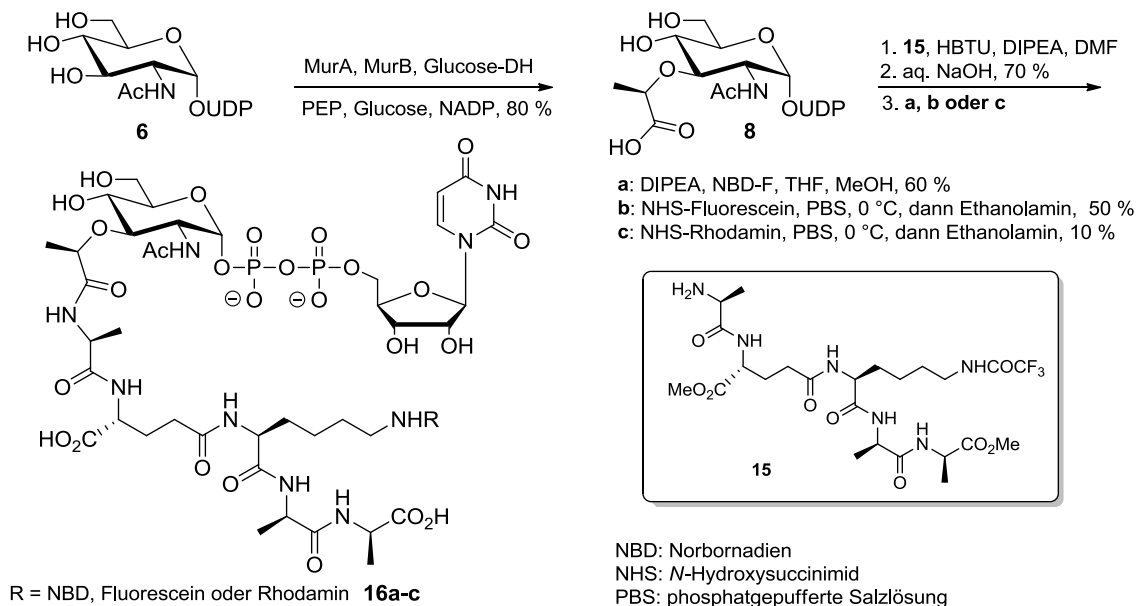


Abb. 2-7 Chemoenzymatische Synthese von fluoreszenzmarkiertem Park-Nucleotid **10** nach *Wong*^[115]

Ausgehend von kommerziell erhältlichem UDP-GlcNAc **6** wurde UDP-MurNAc **8** in einer Eintopfreaktion mittels MurA- und MurB-Katalyse dargestellt, anschließend wurde durch Peptidkupplung mit dem Peptid **15** und globale basische Entschützung das Park-Nucleotid

10 in zwei Schritten mit einer Gesamtausbeute von 56 % erhalten. Drei verschiedene Fluoreszenzmarker wurden schließlich an das Lysin gekuppelt, sodass die Verbindungen **16a-c** erhalten wurden.^[115]

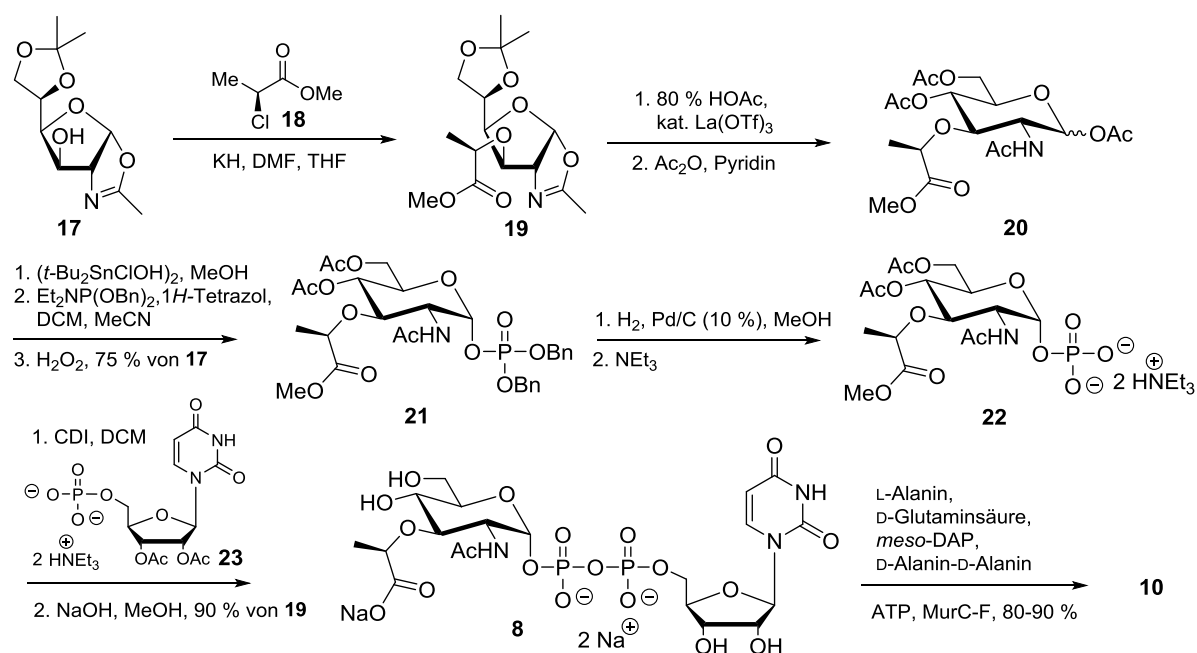


Abb. 2-8 Chemoenzymatische Synthese von Park-Nucleotid **10** nach *Kurosui*^[116]

Da die enzymatische Synthese von UDP-MurNAc **8** relativ kostenintensiv ist, wurde dieses Intermediat von *Kurosui et al.* chemisch dargestellt und die anschließende Kupplung des Peptids mittels Enzymkatalyse durchgeführt (Abb. 2-8). Das Oxazolin **17** wurde mittels kinetisch kontrollierter Acetonidbildung ausgehend von kommerziell erhältlichem *N*-Acetylglucosamin erhalten. Durch eine Substitutionsreaktion mit (*S*)-Chlorpropionsäuremethylester **18** konnte der Zucker **17** zum Muraminsäurederivat **19** umgesetzt werden. Schutzgruppenmanipulation und selektive Deacetylierung der primären Hydroxygruppe mittels eines Zinn-Katalysators sowie anschließende α -selektive Phosphitbildung nebst direkter Oxidation führten zu benzylgeschütztem Phosphat **21**. Abschließend wurden die Benzylgruppen unter reduktiven Bedingungen abgespalten und das Phosphat **22** unter CDI-Aktivierung mit dem Uridinmonophosphat **23** zum UDP-MurNAc **8** gekuppelt. Das Park-Nucleotid **10** wurde durch sequentielle Zugabe der Aminosäuren und Enzymkatalyse mittels MurC-F aufgebaut.^[116]

2.3.2 Chemische Synthesen von UDP-MurNAc **8**

Die erste chemische Synthese von UDP-MurNAc **8** wurde 1968 von *Heymann et al.* veröffentlicht. Es konnte jedoch nur eine geringe Ausbeute erzielt und die α,β -Anomere nicht getrennt werden (ohne Abbildung).^[117] Erst 27 Jahre später wurde von *Blanot et al.* eine weitere chemische Synthese von UDP-MurNAc **8** publiziert (Abb. 2-9).

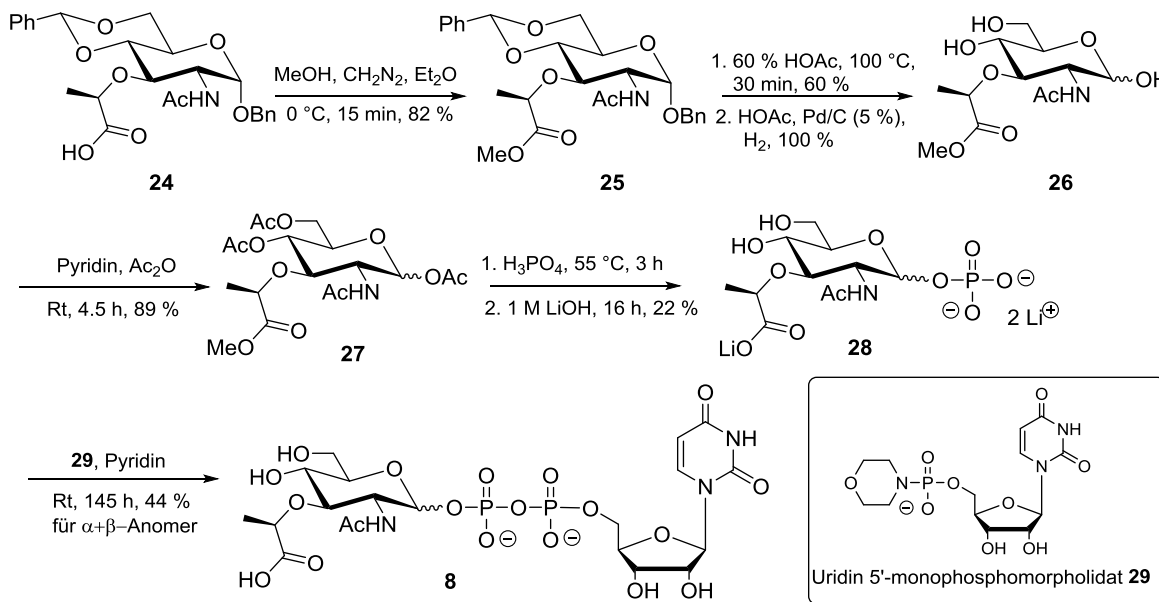


Abb. 2-9 Synthese von UDP-MurNAc **8** nach *Blanot et al.*^[119]

Ausgehend von kommerziell erhältlicher geschützter *N*-Acetylmuraminsäure **24** konnte durch Bildung des Methylesters **25** und anschließende saure und hydrogenolytische Entschützung Derivat **26** synthetisiert werden. Die freien Hydroxygruppen wurden mittels Acetanhydrid zur Verbindung **27** acetyliert. Die Phosphatgruppe in anomerer Position wurde bei 55 °C unter Verwendung von 100 %iger Phosphorsäure eingeführt. Diese Reaktion war nicht selektiv, und das Phosphat **28** konnte nach globaler basischer Entschützung in nur 22 % Ausbeute erhalten werden. Die Zielverbindung **8** wurde durch Kupplung nach *Khorana* und *Moffatt*^[118] mit Uridin-5'-monophosphomorpholidat **29** als Gemisch der α - und β -Anomere (Verhältnis ca. 1:1) in 44 % Ausbeute erhalten.^[119]

Im Jahr 2000 optimierte die Arbeitsgruppe um *Dini* die Synthese von UDP-MurNAc **8** durch eine veränderte Schutzgruppenstrategie und modifizierte Einführung der Phosphatgruppe in anomerer Position. Die Gesamtausbeute konnte im Vergleich zu *Blanot*^[119] von 4 % auf 14 % erhöht werden, und es wurde ausschließlich das α -Anomer des Glycosylphosphats erhalten (Abb. 2-10).^[121]

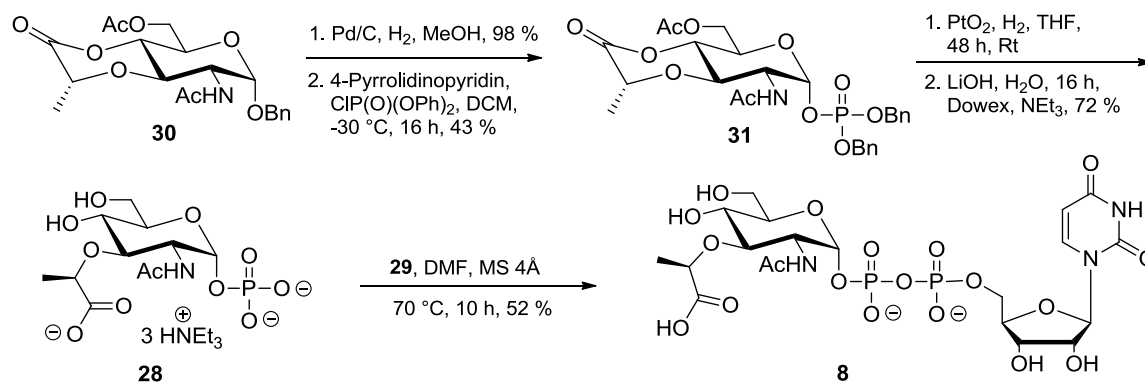


Abb. 2-10 Chemische Synthese von UDP-MurNAc **8** nach *Dini*^[121]

Das geschützte Glucosamin **30**, welches in einem Schritt aus der geschützten Muraminsäure **24** zugänglich ist,^[120] wurde selektiv am anomeren Zentrum hydrogenolytisch entschützt und anschließend mittels Diphenylchlorphosphat in Anwesenheit von 4-Pyrrolidinopyridin zum α -Anomer des Phosphats **31** in 43 % Ausbeute umgesetzt. Das Phosphat **31** wurde in zwei Stufen durch Hydrierung an Platinoxid und anschließende Esterhydrolyse mit Lithiumhydroxid vollständig entschützt, sodass die Verbindung **28** erhalten wurde. Das UDP-MurNAc **8** konnte durch eine verbesserte Diphosphatkupplung in 52 % Ausbeute ausschließlich als α -Anomer erhalten werden. Hierfür wurde das Uridin-5'-monophosphomorpholidat für 18 h bei 100 °C im Vakuum getrocknet und Molsieb für die Reaktion verwendet. Die Erhöhung der Temperatur von Raumtemperatur auf 70° C verkürzte die Reaktionszeit von einer Woche (vgl. Abb. 2-9) auf 10 h.^[121]

Babic und *Pecar* versuchten die Bedingungen von *Dini* zu reproduzieren und beobachteten unter den hydrogenolytischen Bedingungen das teilentschützte Produkt **32** als Hauptkomponente (Abb. 2-11).

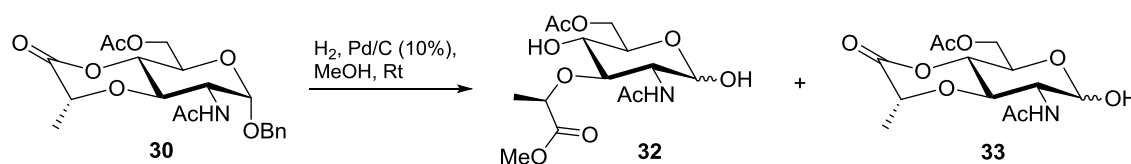


Abb. 2-11 Problematischer Syntheseschritt bei der Synthese nach *Dini*^[122]

Eine neue Synthese wurde ausgehend vom Methylester der Muraminsäure **25** begonnen, und nach Schutzgruppenmanipulation konnte das Phosphat unter analogen Bedingungen in einer Ausbeute von 55 % erhalten werden. UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** wurde in einer Gesamtausbeute von 25 % über sechs Stufen ausgehend vom Methylester **25** erhalten

(ohne Abbildung).^[122] Die Arbeitsgruppe um *Humljan* konnte die Benzylentschützung am Lacton **30** mit THF anstatt MeOH in exzellenten Ausbeuten von 95 % durchführen. Die weiteren Schritte konnten unter ähnlichen Bedingungen nach *Dini* optimiert werden, sodass die Gesamtausbeute auf 30 % in ebenfalls sechs Stufen verbessert wurde (ohne Abbildung).^[123]

2.3.3 Chemische Synthesen von Park-Nucleotid **10** und Derivaten

Die erste Totalsynthese von Park-Nucleotid **10** wurde 1998 von *Hitchcock et al.* publiziert (Abb. 2-12).^[124]

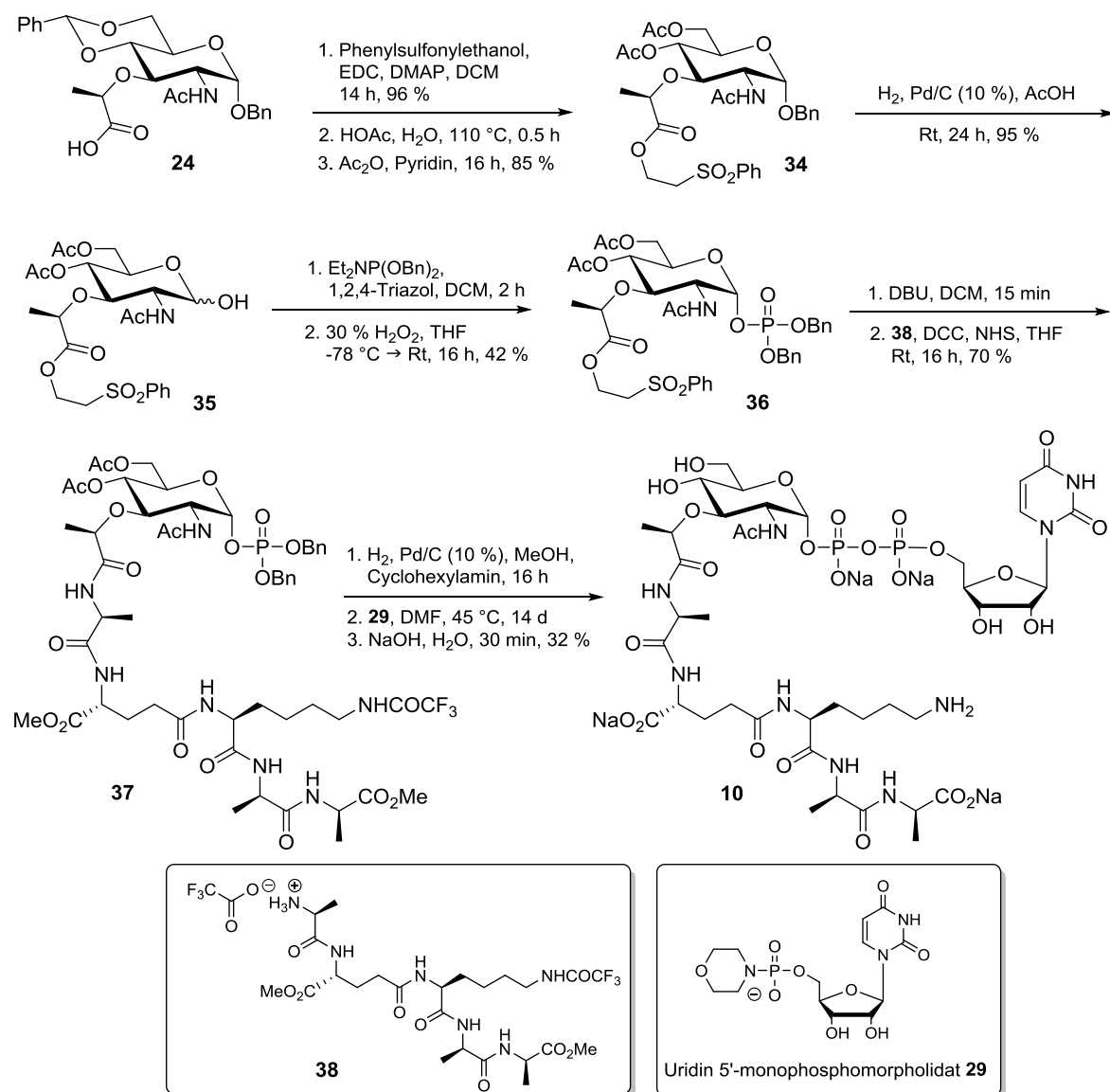


Abb. 2-12 Totalsynthese von Park-Nucleotid **10** nach *Hitchcock*^[124]

Die Synthese ging von der geschützten Muraminsäure **24** aus, die in drei Schritten aus kommerziell erhältlichem *N*-Acetylglucosamin dargestellt werden konnte.^[125] Die Säure wurde mit Phenylsulfonylethanol nach Aktivierung mit Dicyclohexyl-carbodiimid (DCC) und *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) verestert. Die Benzylidengruppe wurde anschließend sauer gespalten und die freien OH-Gruppen acetyliert, woraus Verbindung **34** resultierte. Die anomere Hydroxygruppe wurde selektiv hydrogenolytisch zum Lactol **35** entschützt. Unter Verwendung von Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit sowie 1,2,4-Triazol^[126] konnte das Phosphit erhalten werden, welches direkt mit Wasserstoffperoxid oxidiert wurde. Durch eine kurze Säulenchromatographie konnte das Phosphat **36** als α -Anomer in 42 % Ausbeute erhalten werden. Für die Pentapeptidkupplung wurde der Phenylsulfonylethylester mit Diazabicycloundecen (DBU) gespalten, und unter DCC/NHS-Aktivierung konnte das 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptid **37** erhalten werden. Das Pentapeptid **38** wurde mittels Boc-Schutzgruppen und einer EDC-Kupplungsstrategie synthetisiert. Die Zielverbindung **10** konnte nach Benzylentschützung des Phosphats **36**, anschließender Diphosphatkupplung unter *Khorana-Moffatt*-Bedingungen und globaler basischer Entschützung in einer Ausbeute von 32 % erhalten werden. Die Synthese gelang somit in 11 Stufen in einer Gesamtausbeute von 7 %.

Basierend auf dieser Strategie und Verbesserungen von *Walker*,^[127] die im Zuge einer Synthese von Lipid I **11** durchgeführt wurden, publizierten *Wong et al.* 2001 eine Synthese eines Park-Nucleotid-Derivats, das in Vancomycin-resistenten Bakterien vorkommt. Dieses besitzt am C-Terminus der Peptidkette ein Lactat anstelle eines Alanins (ohne Abbildung).^[115] Die Bildung des Phosphats wurde mithilfe von 1*H*-Tetrazol anstatt 1,2,4-Triazol mit verbesserter Ausbeute durchgeführt. Daraufhin wurde postuliert, dass durch die erhöhte Acidität von 1*H*-Tetrazol die Reaktion vom α -Anomer zum Phosphit schneller ist, als die Anomerenbildung zum nucleophileren β -Anomer.^[128] Außerdem wurde für die Oxidation zum Phosphat *tert*-Butylhydroperoxid anstelle von Wasserstoffperoxid verwendet. Somit konnte das Phosphat mit einer Ausbeute von 75 % erhalten werden. Bei der Diphosphatkupplung wurde ebenfalls 1*H*-Tetrazol zugesetzt, und das gewünschte Produkt konnte nach Entschützung in 50 % Ausbeute erhalten werden. Über eine neunstufige Synthese wurde die Zielverbindung in 18 % Gesamtausbeute synthetisiert.^[115]

Eine Synthese eines fluoreszenzmarkiertem Park-Nucleotids **44** aus Mycobakterien wurde 2008 von *Li* und *Kurosu* publiziert (Abb. 2-13).^[129] Hierbei enthält das Substrat eine

N-Glycolylgruppe statt einer *N*-Acetylgruppe an der 2-Position der Glucose. Im Zuge dieser Synthese wurden einige Optimierungen von bekannten Strategien vorgenommen.

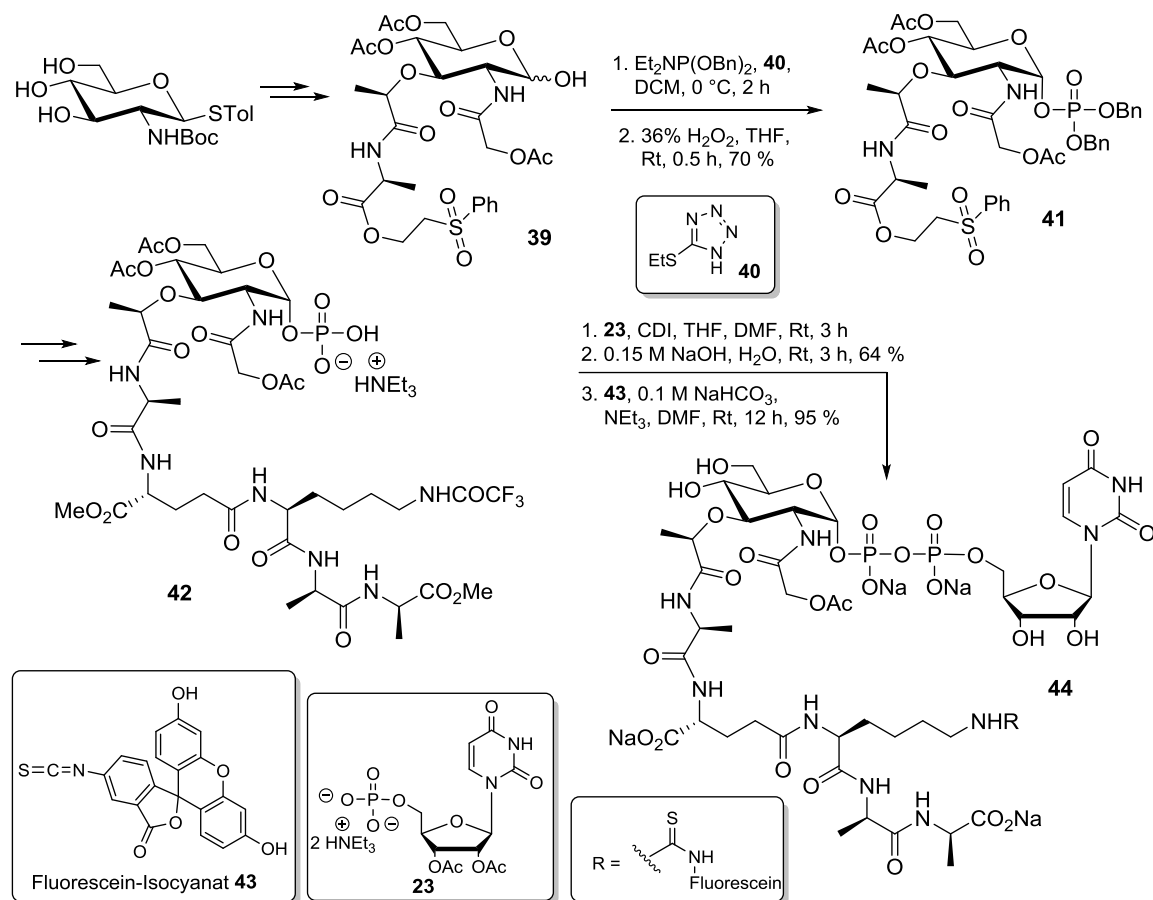


Abb. 2-13 Synthese von Park-Nucleotid **44** aus Mykobakterien nach *Li* und *Kurosui*^[129]

Die Bildung des Phosphats **41** aus der Verbindung **39** analog *Wong* mittels Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit mit 1*H*-Tetrazol^[115] ergab in dem Fall eine schlechtere Ausbeute und α,β -Selektivität. Verwendung von 5-Ethylthio-1*H*-tetrazol **40** hingegen ergab das Produkt **41** als reines α -Anomer nach Oxidation mit Wasserstoffperoxid in 70 % Ausbeute. Da die Morpholidatkupplung zum Diphosphat häufig langsam abläuft, wurde hier das Triethylammonium-5'-Uridinmonophosphatdiacetat **23** mit dem entschütztem Phosphat **42** mittels CDI-Aktivierung gekuppelt. Das Zielprodukt **44** konnte nach globaler Entschützung, Reinigung und Kupplung mit Fluorescein-Isocyanat **43** in einer Ausbeute von 64 % erhalten werden. Die Gesamtausbeute dieser Synthese beträgt 10 % über 12 Stufen.^[129]

Bei allen hier vorgestellten Synthesen wurden die Bedingungen für jede Zielverbindung individuell angepasst und weiter optimiert. Die Schlüsselschritte bei allen Synthesen sind

die Einführung der Phosphatgruppe in 1-Position des Zuckers und die Diphosphatkupplung mit einem geeigneten Uridinderivat.

2.4 Muraymycine

2.4.1 Allgemeines

In den letzten Jahren wurden vermehrt *MraY*-Inhibitoren natürlichen Ursprungs isoliert und charakterisiert. Dennoch sind bis jetzt keine Antibiotika, die *MraY* hemmen, in klinischer Verwendung.^[130] Sehr vielversprechende *MraY*-Inhibitoren, die Muraymycine, gehören zu der Klasse der Nucleosid-Antibiotika. Dies ist eine Klasse von Inhibitoren, die eine Nucleosidstruktur, meist basierend auf Uridin, vorweisen und somit dem Substrat UDP-MurNAc-pentapeptid **10** strukturell ähneln.^[131-132]

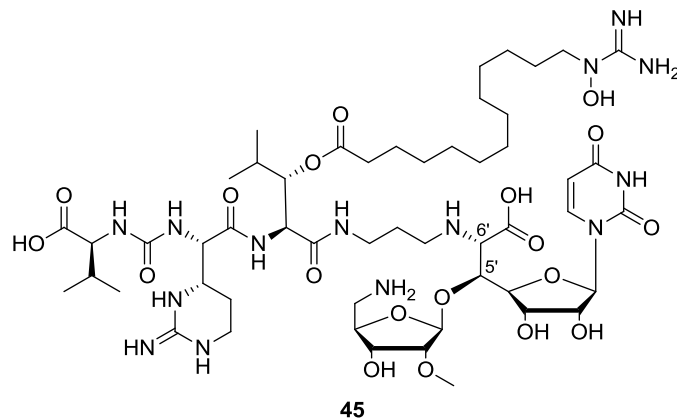


Abb. 2-14 Muraymycin A1 **45**

Die Muraymycine wurden 2002 in *Streptomyces* sp. entdeckt, und durch eine Kombination aus Absorptionschromatographie, Ionenaustauschchromatographie und HPLC konnten 19 verschiedene Strukturen isoliert werden. Hauptsächlich unterscheiden sich diese in der Aminozuckereinheit und/oder der Lipidkette. Die Strukturen wurden mittels NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie aufgeklärt.^[56] Das komplexeste Muraymycin A1 **45** (Abb. 2-14) weist sehr gute Aktivitäten gegen *Staphylococcus aureus* (MRSA, MSSA, MIC 2-8 µg/mL), *Enterococcus* spp. (MIC 16-64 µg/mL) und permeables *E. coli* (MIC <0.5 µg/mL) auf.^[130] Der MIC-Wert (*minimum inhibitor concentration*) beschreibt die größte Verdünnung eines Wirkstoffes, bei der kein Wachstum eines Bakteriums nach der Inkubation zu beobachten ist.^[133] Die Aktivität bei Wild-Typ-*E. coli* (MIC >128 µg/mL) ist deutlich geringer, was wiederum auf eine geringe

Membranpermeabilität hinweist. Alle Muraymycine besitzen als Grundstruktur eine Uridineinheit, welche an der 5'-Position der Ribose eine Verknüpfung zu einer Glycineinheit aufweist. An der Aminofunktion der Glycineinheit ist über einen Diaminopropanlinker ein Harnstoff-Tripeptid verknüpft. Das Harnstoff-Tripeptid enthält ein L-Leucin oder ein (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucin, das mit verschiedenen Fettsäuren verestert sein kann, ein Epicapreomycin und ein L-Valin, welche über eine Harnstoffeinheit verbunden sind. An der 5'-Position des Uridins ist häufig eine Aminoribose gebunden.

2.4.2 Struktur-Aktivitätsstudien mit Muraymycin-Analoga

Für Struktur-Aktivitätsstudien (*structure activity relationship, SAR*) der Aminofunktionen wurden 16 verschiedene Muraymycin-Analoga ausgehend von Muraymycin C1 semisynthetisch dargestellt, indem die primäre Aminogruppe an der Aminosuckereinheit und/oder die sekundäre Aminogruppe am Diaminopropanlinker verändert wurden. Derivate, in denen beide Aminogruppen funktionalisiert waren, zeigten keine Aktivität gegen *MraY*. Funktionalisierungen am sekundären Amin führten lediglich zu minimaler Aktivitätsminderung. *Lin* und Mitarbeiter fanden somit heraus, dass mindestens eine Aminogruppe frei sein muss, damit das Analogon noch Aktivität gegen *MraY* aufweist.^[134] *Yamashita et al.* synthetisierten ein stark vereinfachtes Muraymycin-Analogon, indem sie das Epicapreomycin durch eine Arginin-Einheit ersetzten und auf die 5'-Aminoribose-Einheit und die lipophile Seitenkette verzichteten. Die Aktivität gegenüber *MraY* ging dadurch kaum verloren, gegen grampositive Bakterien waren die Verbindungen jedoch deutlich weniger aktiv.^[135] Das deutet darauf hin, dass die Fettsäurekette nicht essentiell für die Inhibierung von *MraY*, aber unerlässlich für das Durchdringen der Zellmembran ist. Wurden vereinfachte Harnstoffpeptide mit Arginin oder Ornithin statt Epicapreomycin mit einem Uridinderivat zu Muraymycin-Analoga gekuppelt, waren die Aktivitäten vergleichbar zu einigen natürlichen Muraymycinen. Aus diesem Grund wurde vermutet, dass die cyclische Struktur des Epicapreomycins nicht essentiell für die antibakterielle Wirkung ist. Das Fehlen des Valins führte zu einem ebenfalls aktiven Analogon, fehlte hingegen die komplette Harnstoffpeptideinheit, war das Derivat deutlich weniger aktiv. Das deutet darauf hin, dass dieses Strukturmotiv mit *MraY* interagiert.^[136] Anhand dieser Erkenntnisse wurde ein Modell der Muraymycin-Inhibition für *MraY* postuliert (Abb. 2-15).^[137]

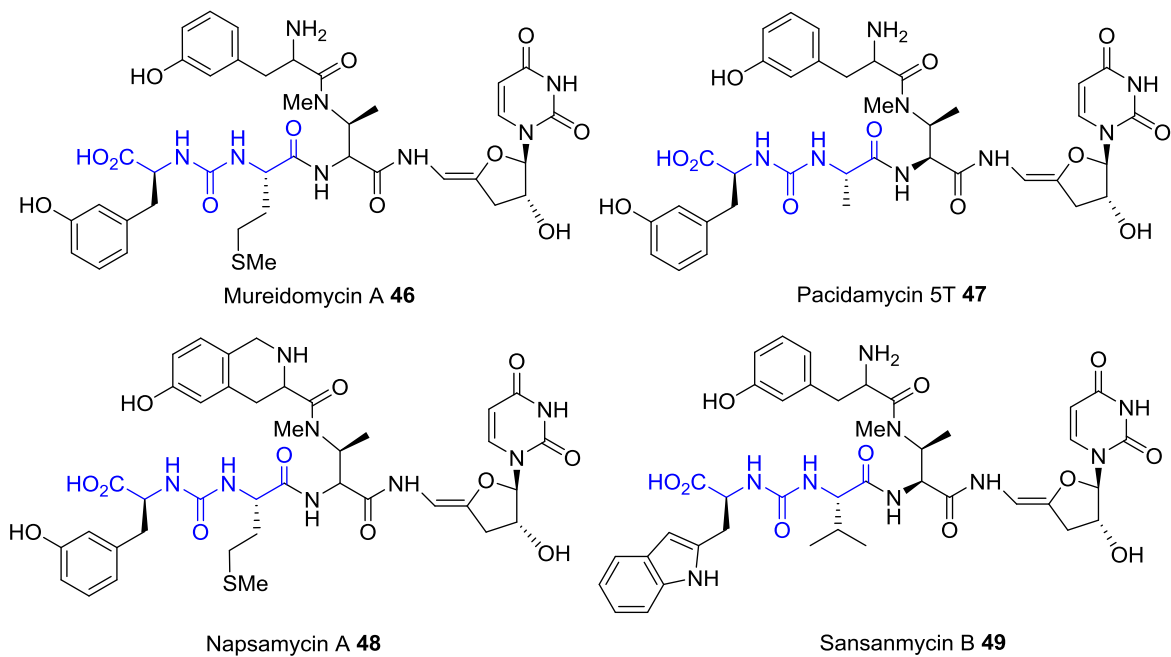


Abb. 2-16 Auswahl wichtiger Nucleosid-Antibiotika mit Harnstoffpeptidmotiv (blau unterlegt)

Die Mureidomycine (z. B. Mureidomycin A **46**) bestehen aus 3'-Desoxyuridin, welches über einen 4',5'-Enaminlinker mit einem Harnstoffpeptid verknüpft ist. Das Peptid ist aus zwei *meta*-Tyrosinresten, einem Methioninrest und einem *N*-Methyl-Diaminobutan-säurerest aufgebaut. Die Pacidamycine (z. B. Pacidamycin 5T **47**) besitzen im Vergleich zu den Mureidomycinen einen Alaninrest statt des Methioninrestes. Die C-terminale Aminosäure kann *meta*-Tyrosin, Phenylalanin oder Tryptophan sein. Die Napsamycine (z. B. Napsamycin A **48**) besitzen alle eine aminotermine bicyclische Aminosäure und die Sansanmycine (z. B. Sansanmycin B **49**) verfügen am C-Terminus über ein Tryptophan.

Andere biologisch aktive Naturstoffe mit Harnstoffpeptideinheit sind z. B. die mikrobiell alkalischen Proteinase-Inhibitoren (MAPI)^[141] und die Syringoline, die als Protease-Hemmer wirken^[142] (Abb. 2-17).

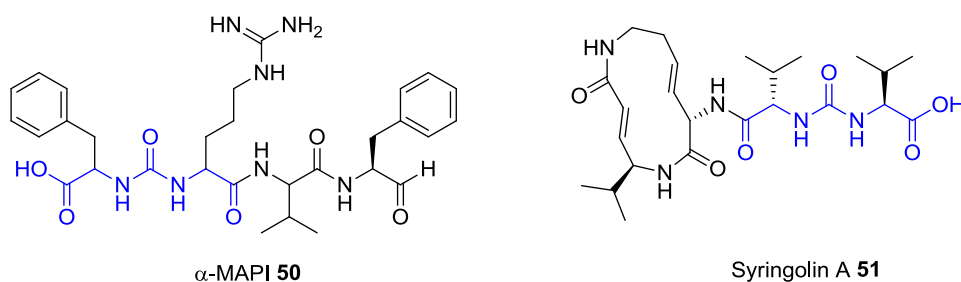


Abb. 2-17 Strukturen ausgewählter Naturstoffe mit Harnstoffpeptidmotiv (blau unterlegt)

Die sogenannten MAPI (z. B. α -MAPI **50**) besitzen eine terminale Carboxyl-Funktion und eine C-terminale Aldehyd-Funktion. Die C-terminale Aminosäure ist über eine interne Harnstofffunktion mit einem Arginin verknüpft. Die Syringoline (z. B. Syringolin A **51**) sind aus zwei Valinresten, die über eine Harnstoffeinheit verknüpft sind, aufgebaut. Außerdem ist ein Makrozyklus an einem Valinrest gebunden.

Obwohl bis heute die biologische Funktion der Harnstoffeinheit nicht bekannt ist, ist eine biologische Relevanz aufgrund des wiederholten Vorkommens in Naturstoffen sehr wahrscheinlich. Bei der *N*-Acylierung der Harnstoffeinheit von Syringolinen sinkt die Aktivität gegenüber Proteasen stark ab.^[143] Eine Harnstoffeinheit kann zwei stabile Wasserstoffbrückenbindungen eingehen, wobei eine normale Peptideinheit nur eine Wasserstoffbrückenbindung eingeht. Dies könnte z. B. für die molekulare Erkennung im aktiven Zentrum von Enzymen von Bedeutung sein.^[144] Eine weitere Funktion der Harnstoffeinheit könnte die Erhöhung der Stabilität gegenüber Peptidasen sein.

2.5.2 Synthesen verschiedener Harnstoffpeptide

Yamashita et al. publizierten im Zuge einer Synthese vereinfachter Muraymycin-Analoga folgende Harnstoffdipeptidsynthese.^[135] Das Dipeptid **55** wurde in zwei Schritten ausgehend vom geschützten L-Arginin **52** dargestellt (Abb. 2-18).

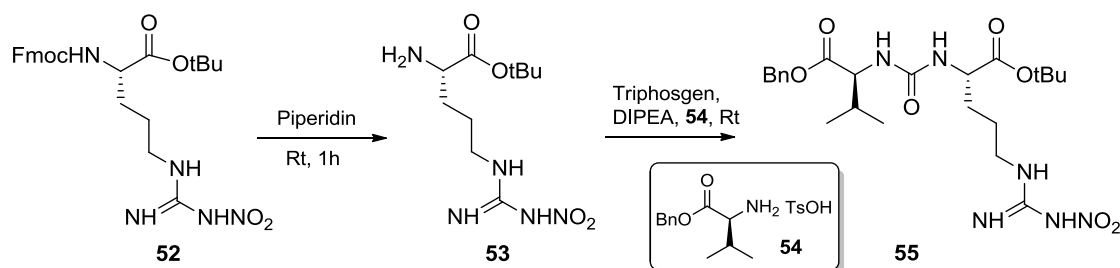


Abb. 2-18 Synthese des Harnstoffdipeptids nach *Yamashita et al.*^[135]

Zuerst wurde durch Fmoc-Entschützung das freie Amin **53** erhalten, welches mit Hilfe von Triphosgen mit dem *O*-benzylgeschützten L-Valin **54** gekuppelt wurde. Die vereinfachten Muraymycin-Analoga wurden abschließend durch saure Spaltung des *tert*-Butylesters und anschließende Peptidkupplung unter HOBt/EDC-Aktivierung mit verschiedenen Uridin-Derivaten erhalten.^[135]

Ein weiteres Harnstoffdipeptid **60**, bestehend aus Epicapreomycinid und L-Valin, wurde im Zuge einer Totalsynthese von Muraymycin D2 von *Matsuda et al.* dargestellt (Abb. 2-19).^[145]

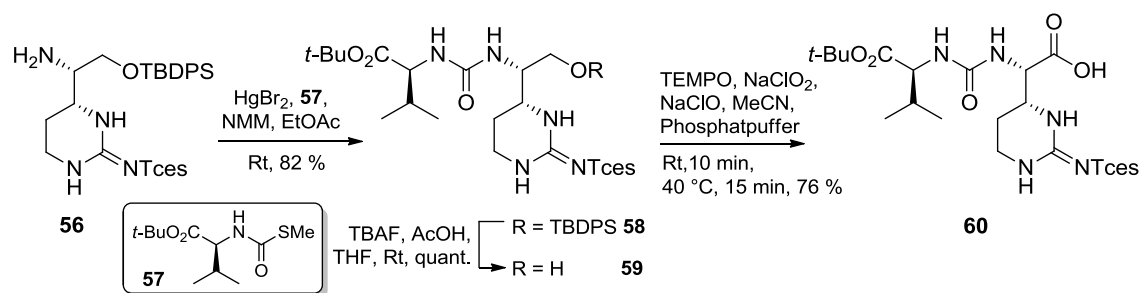


Abb. 2-19 Harnstoffdipeptidsynthese nach Matsuda *et al.*^[145]

Für die Harnstoffsynthese mussten verschiedene Bedingungen erprobt werden, um die gute Ausbeute von 82 % zu erhalten. Die Kupplung mit kommerziell erhältlichem L-Valin-*tert*-butylester **62** unter Zusatz von *N,N*-Carbonyldiimidazol in Dichlormethan ergab nur Spuren des gewünschten Produktes. Es wurde eine sterische Hinderung der zyklischen Guanidin-Einheit vermutet. Dimethylaminopyridin wurde zur Aktivierung zugegeben, und das Produkt **58** konnte in 30 % Ausbeute erhalten werden. Es wurde jedoch eine Epimerisierung an der α -Position des Valinrestes beobachtet. Die Kupplung mit Triphosgen und Triethylamin ergab das Produkt **58** in 62 % Ausbeute. Noch höhere Ausbeuten von 82 % wurden durch die Kupplung des Valin-Derivats **57** mit dem geschützten Aminoalkohol **56** unter Verwendung von Quecksilberbromid und *N*-Methylmorpholin erzielt. Anschließend wurde die *tert*-Butyldiphenylsilyl-(TBDPS)-Gruppe abgespalten und der freie Alkohol **59** zur Säure **60** oxidiert.^[146]

Für SAR-Studien wurden ebenfalls von Matsuda *et al.* verschiedene vereinfachte Harnstoffdipeptide in zwei oder drei Stufen ausgehend von der jeweiligen geschützten Aminosäure synthetisiert (Abb. 2-20).

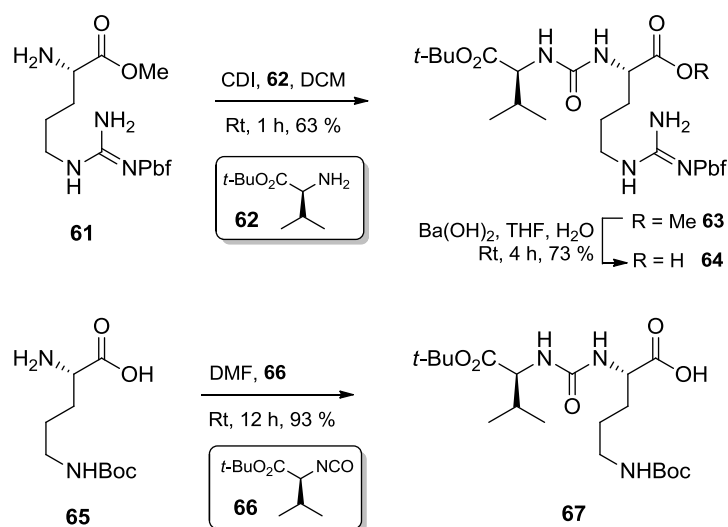


Abb. 2-20 Synthesen vereinfachter Harnstoffdipeptide nach Matsuda *et al.*^[145]

Das Arginin-Derivat **64** wurde ausgehend von dem Methylester **61** über eine Kupplung mit *N,N*-Caronyldiimidazol (CDI) und *L*-Valin-*tert*-butylester **62** sowie anschließende basische Verseifung dargestellt. Für das Ornithin-Derivat **67** wurde die Harnstoffeinheit durch Kupplung eines geschützten Ornithins **65** mit dem Isonitril **66** aufgebaut.^[145]

Eine andere Route zum Harnstoffpeptid **70** eines Muraymycin-Derivats publizierten im Jahr 2012 *Kurosu* und Mitarbeiter (Abb. 2-21).^[147]

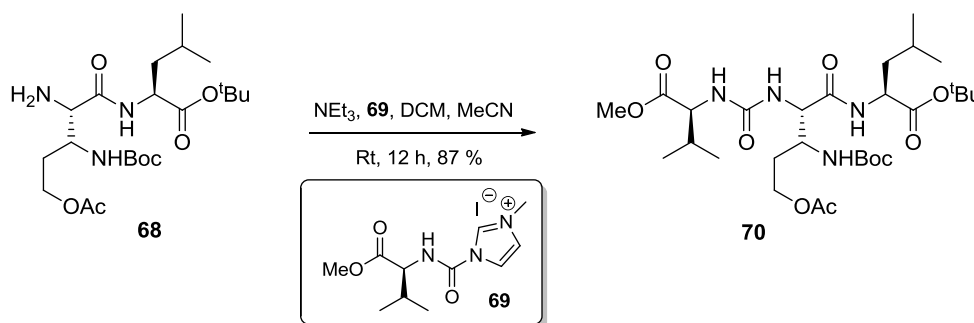


Abb. 2-21 Harnstoffpeptidkupplung über Imidazolium-Salz nach *Kurosu*^[147]

Die Harnstoffbildung findet hier über ein Imidazolium-Salz **69** statt, welches unter basischen Bedingungen mit dem Dipeptid **68** gekuppelt wurde. Das Valinderivat **69** wurde ausgehend von kommerziell erhältlichem *L*-Valin-hydrochlorid durch Umsetzung mit CDI sowie Imidazol und anschließende Methylierung mit Methyljodid synthetisiert.

Obwohl in diesem Kapitel ausschließlich Synthesen der Harnstoffpeptide für Muraymycin-Analoga vorgestellt wurden, zeigt sich eine große Variabilität der Syntheserouten. Dies deutet darauf hin, dass es bis jetzt keine allgemeingültige Synthese für Harnstoffpeptide gibt. Dieses wäre jedoch für die Darstellung einer Bibliothek von Muraymycin-Analoga von großer Bedeutung.

3 Aufgabenstellung und Planung der Arbeit

3.1 Aufgabenstellung

Synthese des dansylierten Park-Nucleotids und vereinfachter Analoga der Muraymycin-Antibiotika

Die Enzyme der Peptidoglycan-Biosynthese sind wichtige Targets für neuartige Antibiotika. Intermediate dieser Biosynthese sind zur Validierung der Aktivität verschiedener Antibiotika unerlässlich. Da die Isolierung aus den Bakterienzellen für einige Intermediate, wie z. B. für das Park-Nucleotid **10**, häufig ineffektiv ist und nur geringe Mengen erhalten werden können, ist ein chemischer Zugang von besonderem Interesse. Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die totalsynthetische Darstellung des fluoreszenzmarkierten Park-Nucleotids **71** als Substrat für MraY-Assays, sowie der Uridindiphosphat-*N*-Acetylmuraminsäure **8** als Substrat für MurC-Assays (Abb. 3-1). Des Weiteren sollte ein synthetischer Zugang zur Darstellung möglichst vielfältiger Harnstoffpeptide gefunden werden. Dafür sollten außerdem verschiedene (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren dargestellt werden (Abb. 3-2).

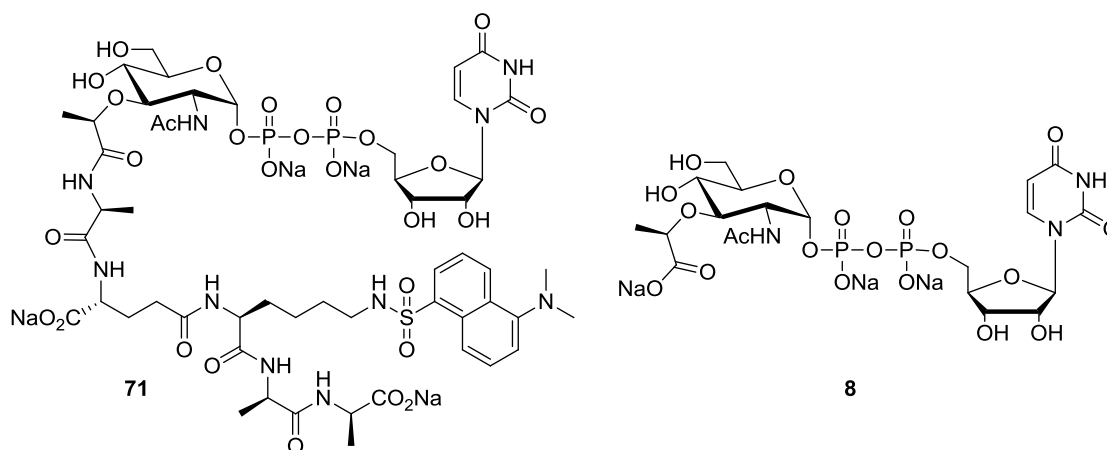


Abb. 3-1 Die Zielverbindungen: Dansyliertes Park-Nucleotid **71** und UDP-MurNAc **8**

Bei den Arbeiten zur Synthese des dansylierten Park-Nucleotids **71** lag der Fokus zum einen auf einer robusten Synthese der Kohlenhydrateinheit. Des Weiteren sollte die Diphosphatkupplung als ein wichtiger Schlüsselschritt untersucht werden. Zum anderen wurde die Synthese des dansylierten Peptids untersucht, welches die frühzeitige

Einführung des Fluoreszenzmarkers an der Seitenkette des Lysins ermöglicht. Die Möglichkeit, die Synthesestrategie der Zuckereinheit auf eine Darstellung von UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** zu übertragen, galt es zu überprüfen.

In einem weiteren Projekt war das Ziel, möglichst vielfältige Harnstoffpeptidstrukturen zur Synthese neuer vereinfachter Muraymycin-Analoga für Struktur-Aktivitäts-Beziehungs-Studien (SAR) darzustellen. Hierbei lag der Fokus auf der Synthese verschiedener Harnstoffpeptide **72-81** sowie der (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren **82** und **83** (Abb. 3-2).

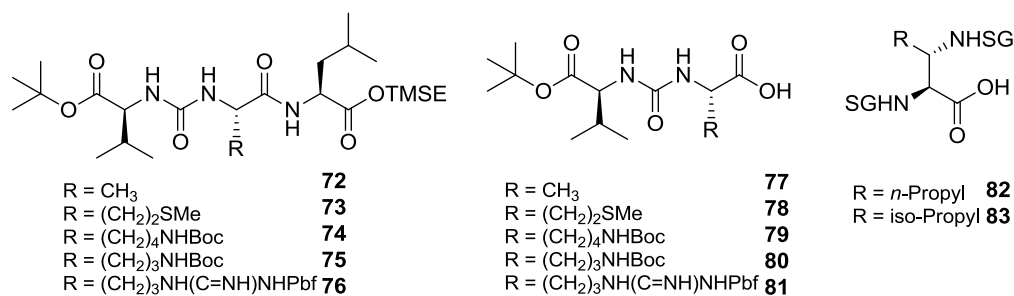


Abb. 3-2 Die Zielverbindungen: Verschiedene Harnstoffpeptide und (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren

Yamashita et al. stellten einige vereinfachte Muraymycin-Analoga im Zuge von SAR-Studien dar. Diese waren gegen grampositive Organismen ähnlich aktiv wie einige natürlich vorkommende Muraymycine.^[135] Aufbauend auf diesen Arbeiten sollte die im Naturstoff vorhandene, nicht-proteinogene Aminosäure Epicapreomycidin durch die proteinogenen Aminosäuren L-Alanin, L-Methionin, L-Arginin, L-Lysin und die kommerziell erhältliche nicht-proteinogene Aminosäure L-Ornithin ersetzt werden, um verschiedene Funktionalitäten in das Harnstoffpeptid einzuführen. Dadurch kann der Einfluss des Harnstoffpeptides, im Speziellen der Seitenkette der variablen Aminosäure, untersucht werden. Die restlichen Bestandteile des Harnstoffpeptides sollten, analog der Muraymycine der D-Reihe, L-Leucin und L-Valin für die Harnstofftripeptide oder nur L-Valin für die Harnstoffdipeptide sein. Es wäre sinnvoll, geeignete Schutzgruppenstrategien und Bedingungen für die Harnstoffkupplung zu etablieren, die möglichst auf alle Aminosäuren anwendbar sind. Außerdem sollten im Hinblick auf die Variierbarkeit der vereinfachten Muraymycin-Analoga verschiedene (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren synthetisiert werden, um sie anstelle des L-Leucins in das Harnstoffpeptid zu integrieren. Dabei wäre es wichtig, dass die Konfiguration der Aminosäure, analog zum (2*S*,3*S*)-3-Hydroxyleucin aus den natürlichen Muraymycinen, erhalten bleibt. Dieses sollte ausgehend von D-Serin mittels einer *ex-chiral-pool*-Strategie über einen *Garner*-Aldehyd und einer stereokontrollierten *Grignard*-Reaktion verwirklicht werden. Die im daraus resultierenden

Muraymycin-Analogen freie Aminogruppe an der 3-Position könnte im Anschluss daran mittels Amidbildung funktionalisiert werden. Dadurch könnte die biologische Stabilität der Derivate im Vergleich zu den natürlich vorkommenden Muraymycinen, die an dieser Stelle eine Esterfunktion beinhalten, erhöht werden. Die Harnstoffpeptide könnten entweder als Tripeptide direkt mit einem geeigneten Uridinderivat oder alternativ als Dipeptide mit einem Aminosäure-verknüpften Uridinderivat verbunden werden. Diese vereinfachten Muraymycin-Derivate könnten später in einem Assay auf ihre Aktivität gegenüber MraY getestet und für SAR-Studien verwendet werden.

3.2 Planung der Arbeit

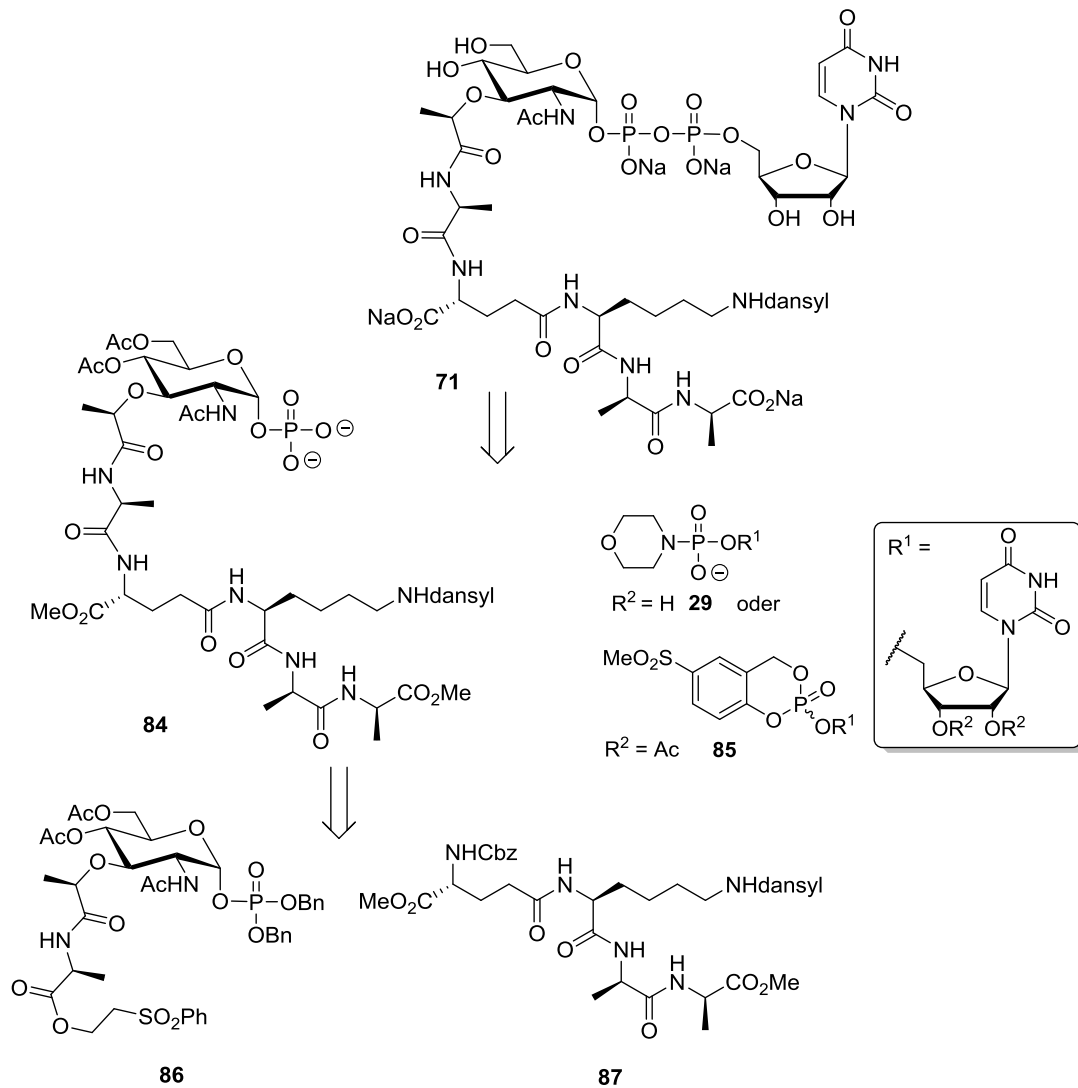


Abb. 3-3 Retrosynthese von dansyliertem Park-Nucleotid **71**

In Anlehnung an eine publizierte Synthese nach *Hitchcock*^[124] wurde aufbauend auf den Ergebnissen vorheriger Arbeiten^[148] für das dansylierte Park-Nucleotid **71** der in Abb. 3-3 gezeigte Synthesepfad aufgestellt.

Die Zielverbindung **71** sollte mittels Diphosphatkupplung ausgehend von dem dansylierten 1-Phosphomuraminsäurepentapeptid **84** dargestellt werden. Dazu sollte entweder ein geeignetes *cycloSal*-Derivat **85** oder das kommerziell erhältliche Uridinmonophosphomorpholidat **29** verwendet werden. Die Verbindung **84** sollte aus dem dansylierten Tetrapeptid **87** und dem geschützten Zucker-Alanin-Derivat **86** über eine Peptidkupplung aufgebaut werden. Diese Strategie wurde gewählt, da sich in früheren Studien Probleme bei der Entschützung des Pentapeptids ergeben haben, die zudem in dieser Arbeit genauer untersucht werden sollten. Das geschützte Tetrapeptid **87** sollte mittels Cbz-Schutzgruppenstrategie linear aufgebaut werden.

Die Synthese beider Kohlenhydratbausteine **86** und **21** sollte auf Basis eigener Vorarbeiten durchgeführt und optimiert werden (Abb. 3-4).^[148]

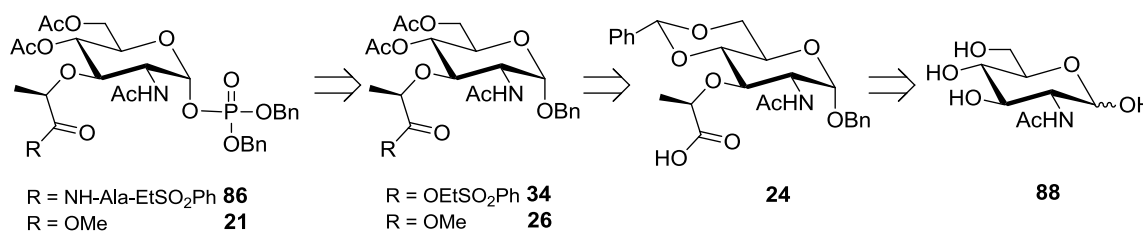


Abb. 3-4 Retrosynthese der geschützten Muraminsäure-Derivate **86** und **21**

Das jeweilige geschützte Glycosylphosphat **86** und **21** sollte aus dem Vorläufer **34** und **26** synthetisiert werden, der die hydrogenolytisch abspaltbare Benzylschutzgruppe am anomeren Zentrum, sowie eine nach Bedarf geschützte Carboxylgruppe beinhaltet. Dadurch sollten die Einführung des Phosphates am anomeren Zentrum und die Derivatisierung der Säuregruppe gewährleistet sein. Die Acetylfunktionen an den Hydroxygruppen in 4- und 6-Position sollten in einem globalen Entschützungsschritt im Zielmolekül basisch abspaltbar sein. Die Verbindungen **34** und **26** sollten in wenigen Schritten aus der Muraminsäure **24** durch Umschützung der Hydroxygruppen an 4- und 6-Position sowie Veresterung der Säure aufgebaut werden. Die geschützte Muraminsäure **24** sollte aus dem kommerziell erhältlichen *N*-Acetyl-D-glucosamin **88** synthetisiert werden. Dafür sollte die Benzylgruppe selektiv am anomeren Zentrum eingeführt und die Alkoholfunktionen an der 4- und 6-Position durch bevorzugte Sechsringbildung geschützt

werden. An der noch freien Hydroxygruppe in 3-Position sollte durch S_N2 -Reaktion mit (*S*)-2-Chlorpropionsäure der (*R*)-Lactylrest eingeführt werden.

Der Aufbau der verschiedenen Harnstofftripeptide **72-76** sollte nach einem einheitlichen Prinzip erfolgen (Abb. 3-5). Hierbei sollten die Tripeptide **72-76** durch eine Peptidkupplung aus den Harnstoffdipeptiden **77-81** und dem geschützten Leucin **89** aufgebaut werden. Die Einführung der Harnstoffeinheit sollte wiederum über den *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-Valin-*tert*-butylester **57** analog einer modifizierten Synthese nach Matsuda^[145] erfolgen.

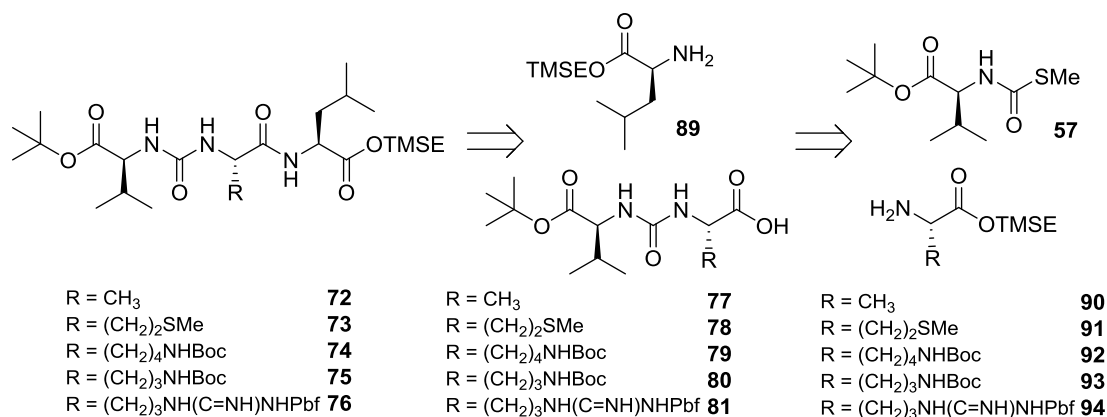


Abb. 3-5 Retrosynthese der Harnstoffpeptide

Das Valin-Derivat **57** sollte in einem Schritt aus dem kommerziell erhältlichen *tert*-Butyl-*L*-Valinat **62** dargestellt und die jeweiligen Aminosäuren durch Schutzgruppenmanipulation zu den geeigneten Derivaten **90-94** umgesetzt werden. Hierbei ist zu beachten, dass die Seitenkettenschutzgruppen während der Synthese stabil sind, um später das Muraymycin-Analogon durch globale Abspaltung aller Schutzgruppen erhalten zu können.

Für die Synthese der (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren **82** und **83** sollten verschiedene Syntheseansätze verfolgt werden (Abb. 3-6). Die Zielstrukturen **82** und **83** sollten mittels verschiedener Schutzgruppenstrategien aus den Oxazolidin-geschützten Derivaten **95-97** durch Öffnung des Oxazolidins, Schützung der freien Aminogruppe und anschließende Oxidation erhalten werden. Der Schlüsselschritt der Synthese ist der Aufbau des Stereozentrums an der 3-Position, der mittels stereokontrollierter *Grignard*-Reaktion durchgeführt werden könnte. Dabei sollte sowohl *Garner*-Aldehyd **99** als auch das entsprechende Imin **101** bzw. **102** als Vorläufer dienen.

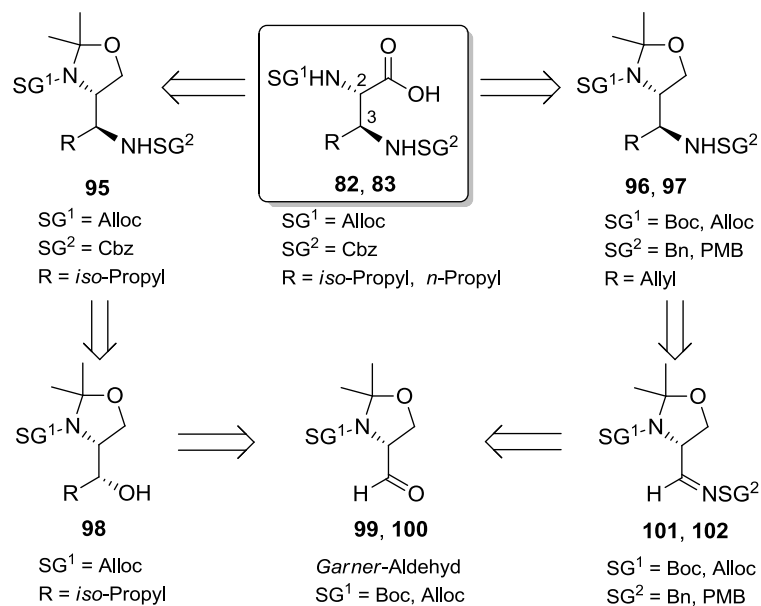


Abb. 3-6 Retrosynthesewege zu verschiedenen Diaminosäuren **82** und **83**

Bei Verwendung des Aldehyds **99** wurde die bevorzugte Bildung des *Cram*-Chelat-Produkts erwartet, das nach anschließender $\text{S}_{\text{N}}2$ -Substitution mit einem Azid als Nucleophil und Reduktion das Amin **95** in gewünschter Konfiguration liefert. Wird das Imin **102** eingesetzt, sollte die Reaktion in Richtung des *Felkin-Anh*-Produktes gelenkt werden. Das Stereozentrum an 2-Position sollte durch die Verwendung eines *Garner*-Aldehyds **99**, **100** festgelegt werden, welcher ausgehend von kommerziell erhältlichen D-Serin mit zwei verschiedenen Schutzgruppen nach literaturbekanntem Synthesen dargestellt werden sollte.^[149-150]

4 Resultate und Diskussion

4.1 Synthese des dansylierten Park-Nucleotids 71

4.1.1 Synthese der geschützten 1-Phosphomuraminsäure 36

4.1.1.1 Synthese der geschützten Muraminsäure 24

Für die Synthese des dansylierten Park-Nucleotids **71** sollte auf Grundlage der Synthese nach *Hitchcock*^[124] und eigener Arbeiten^[148] zuerst ein geeigneter Kohlenhydratbaustein **36** dargestellt werden. Kriterien dafür waren, dass einerseits die Milchsäure-Einheit an der 3-Position des *N*-Acetylglucosamins **88** zwecks Einführung der Peptidkette selektiv entschützt werden konnte und andererseits eine orthogonale Entschützung des Phosphats für die Kupplung mit einem Uridylat-Derivat möglich war. 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **24** ist zwar kommerziell erhältlich, aber recht kostenintensiv. Eine chemische Synthese war in diesem Fall sinnvoll, da die Substanz im Hinblick auf die Totalsynthese im Multigramm-Maßstab benötigt wurde. Eine dreistufige Synthese ausgehend von preiswertem *N*-Acetylglucosamin **88** wurde bereits in früheren Arbeiten^[148] etabliert (Abb. 4-1).

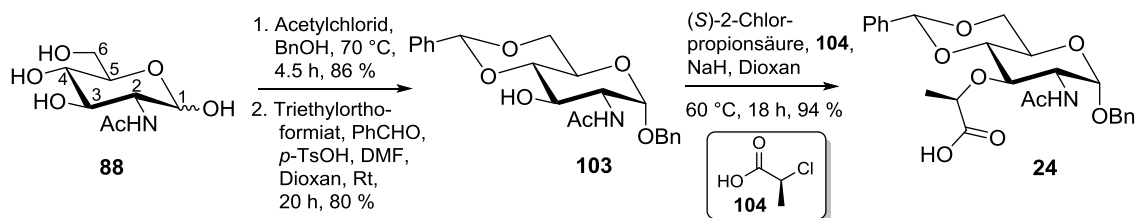


Abb. 4-1 Synthese der geschützten Muraminsäure **24**

Zu Beginn wurde die Benzylgruppe α -selektiv am anomeren Zentrum eingeführt. Durch die langsame Zugabe von Acetylchlorid zu Benzylalkohol wurde Chlorwasserstoff *in situ* frei gesetzt, welcher die Bildung des Vollacetals vermittelt. Das reine α -Anomer konnte in einer Ausbeute von 86 % mittels Umkristallisation aus Ethanol erhalten werden. Die beiden Hydroxygruppen an 4- und 6-Position des Zuckers konnten aufgrund der bevorzugten Bildung des Sechsrings bei Verwendung von Aldehyden als Benzylidengruppe geschützt werden. Dies gelang gemäß einer publizierten Synthese nach *Gross* und *Rimpler*,^[151] wobei Benzaldehyd und Triethylorthoformiat mit katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure umgesetzt wurden. Das verwendete Lösungsmittelgemisch

von Dimethylformamid und Dioxan (1:1) bewirkte das Ausfallen des gewünschten Produktes **103**, welches durch Zugabe von Diethylether nach Beendigung der Reaktion vervollständigt wurde. Hierbei konnte eine Ausbeute von 80 % erreicht werden. Diese Schutzgruppe ist stabil gegen Basen, aber empfindlich gegenüber Säuren und Hydrogenolyse. Ziel dieser Schutzgruppenstrategie war die selektive Einführung der Milchsäure-Einheit in 3-Position. Dies wurde durch eine S_N2 -Reaktion erreicht, indem zuerst die freie Hydroxygruppe durch Natriumhydrid deprotoniert wurde und das Alkoxid anschließend mit der zuvor zugegebenen (*S*)-2-Chlorpropionsäure **104** reagierte.^[152] Aufgrund der Stereospezifität dieser S_N2 -Reaktion konnte die geschützte Muraminsäure **24** in der gewünschten (*R*)-Konfiguration in einer sehr guten Ausbeute von 94 % ohne weitere Reinigung dargestellt werden.^[152] Somit wurde das Zielprodukt **24** in drei Schritten mit nur einer Umkristallisation im ersten Schritt in einer Gesamtausbeute von 65 % erhalten.

(*S*)-2-Chlorpropionsäure **104** wurde durch doppelte Inversion aus L-Alanin **109** dargestellt (ohne Abbildung). Dafür wurde die Aminosäure **109** mit 5 M Salzsäure und Natriumnitrit versetzt, wobei zuerst ein Diazoniumsalz entstanden ist. Dies bildete durch intramolekularen Angriff der Carboxyl-Gruppe ein Lacton, welches nucleophil von einem Chlorid angegriffen wurde. Nach Destillation des Rohproduktes konnte die Säure **104** in einer Ausbeute von 67 % erhalten werden.^[153]

4.1.1.2 Synthese des geschützten Glycosylphosphats **36**

Die Darstellung des Glycosyl-Phosphats **36** als Kohlenhydratbaustein für die anschließende Peptidkupplung konnte in einer fünfstufigen Synthese erreicht werden (Abb. 4-2).

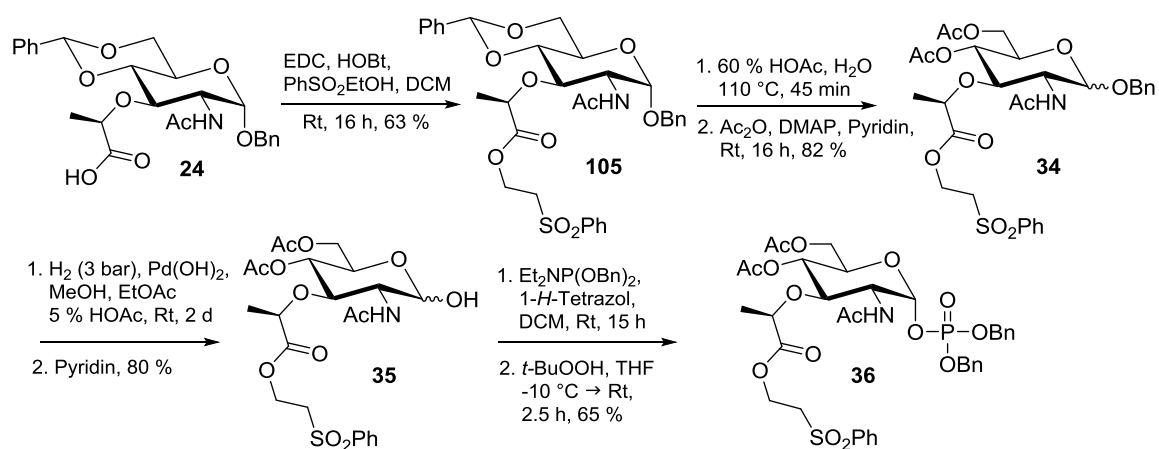


Abb. 4-2 Synthese des Glycosylphosphats **36**

Bei jedem Schritt wurden die Bedingungen, die in der Totalsynthese des Park-Nucleotids **10** nach *Hitchcock*^[124] publiziert wurden, nachvollzogen und gegebenenfalls optimiert. Für die Einführung des Phosphats an der 1-Position des Zuckers mussten Schutzgruppenmanipulationen vorgenommen werden. Zum Schutz der Carboxylfunktion wurde diese verestert. Der resultierende Ester sollte selektiv neben basisch und hydrogenolytisch abspaltbaren Schutzgruppen zu entfernen sein. Gleichzeitig sollte er aber ausreichend stabil gegenüber den nachfolgenden Reaktionsbedingungen sein. In dieser Arbeit fiel die Wahl auf den Phenylsulfonylethylester, welcher in Anwesenheit der sehr milden Base Diazabicycloundecen (DBU) verseift werden kann. Bei der Einführung dieser Gruppe ergaben sich einige Probleme. In früheren Arbeiten^[148] wurden bereits verschiedene Aktivierungsreagenzien erprobt, wodurch nur mäßige isolierte Ausbeuten erzielt wurden (32-45 %). Nach den Bedingungen von *Hitchcock*^[124] mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (EDC) und Dimethylaminopyridin (DMAP) konnte lediglich ein unsauberes Produkt mit einer berechneten Ausbeute von 57 % erhalten werden. Die besten Bedingungen waren hier die Verwendung von EDC und 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) in Dichlormethan unter Verwendung von 1.1 Äq. des Phenylsulfonylalkohols. Eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 5 d bis zum vollen Umsatz (gemäß DC-Analyse) konnte die isolierte Ausbeute von 63 % nicht erhöhen. Diese moderate Ausbeute könnte auf Reinigungsprobleme zurückgeführt werden, da es sich als schwierig erwies, den Phenylsulfonylethanol vom Produkt **105** zu trennen. Zum Teil war eine wiederholte säulenchromatographische Reinigung notwendig. Aus diesem Grund wurde eine Reaktionsführung mit einer größeren Menge an Äquivalenten des Alkohols als nicht sinnvoll erachtet. Die NMR-Spektren der verunreinigten Proben ließen allerdings auf einen höheren Umsatz schließen, die hohen Ausbeuten (>90 %) aus der Literatur konnten allerdings nicht reproduziert werden.^[115,124] Die Veresterung eines in dieser Arbeit dargestellten Cbz-L-Alanins **111** mit dem gleichen Alkohol lieferte ebenfalls nur eine Ausbeute von 67 %, diese Reaktion scheint generell auf eine mäßige Ausbeute limitiert zu sein. Ein Wechsel der Schutzgruppe an dieser Stelle würde aber eine Umstellung der erarbeiteten Synthesestrategie erforderlich machen.

Ein Schutzgruppenaustausch von der Benzyliden- zur Acetylgruppe an den Hydroxygruppen in 4- und 6-Position war notwendig, da die Stabilität der Benzylidenfunktion im Folgeschritt nicht gewährleistet werden konnte. Außerdem sollten alle Schutzgruppen durch eine finale basische Entschützung entfernt werden, weshalb die Acetylgruppe als neue Schutzgruppe gewählt wurde. Im ersten Schritt wurde mit 60 %-iger

wässriger Essigsäure bei 110 °C entschützt und nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum direkt acetyliert. Die Reaktion wurde unter milden Bedingungen mit Essigsäureanhydrid und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) als Katalysator in Pyridin durchgeführt. Das Produkt **34** wurde in einer Ausbeute von 82 % erhalten, was nah an den publizierten Bedingungen von 85 % liegt. Die stark sauren Bedingungen im ersten Schritt führten allerdings zur Bildung eines α,β -Anomerengemisches (5:1). Die Phosphatgruppe sollte in einem späteren Schritt α -selektiv eingeführt werden, somit war die Stereochemie am anomeren Zentrum an dieser Stelle der Synthese nicht von Bedeutung.

Bei der Spaltung des Benzylacetals am anomeren Zentrum der Verbindung **34** mussten recht harsche Bedingungen verwendet werden, da sonst nur wenig Umsatz beobachtet wurde. Wurden die Bedingungen nach *Hitchcock* durchgeführt, wurden 63 % des Edukts reisoliert und nicht identifizierte Zersetzungsprodukte erhalten. Dabei wurde der Zucker **34** in konz. Essigsäure mit Pd/C (10 %) unter Wasserstoffatmosphäre für 24 h gerührt. Auch eine längere Reaktionszeit ergab kein Produkt **35**. Erst nach intensiven Optimierungen wurden geeignete Bedingungen für diese Umsetzung erhalten. Dafür wurde der benzylgeschützte Zucker **34** in einem Gemisch aus 5 % Essigsäure in Methanol und Ethylacetat (2:1) unter Anwesenheit des Katalysators Palladiumhydroxid (*Pearlman's* Katalysator) 2 d unter erhöhtem Wasserstoffdruck (3-5 bar) in einer Schüttelapparatur zur Reaktion gebracht. Die Zugabe von Ethylacetat war wichtig, um die Löslichkeit des geschützten Zuckers **34** zu gewährleisten. Pyridin wurde zum Neutralisieren der Essigsäure nach der Reaktion hinzugegeben, da ohne Zugabe der Base Zersetzung beobachtet wurde. Unter diesen Bedingungen konnte die Verbindung **35** in 80 % Ausbeute erhalten werden. Bei größeren Ansätzen wurden jedoch nur Ausbeuten von 50-60 % erreicht. Bedingt durch das begrenzte Volumen der Druckgefäße könnten schlechtere Durchmischung und geringere Kontaktfläche zwischen Katalysator und Reaktant vorgelegen haben. Außerdem traten vermehrt Abtrennungsprobleme vom Pyridiniumacetat aufgrund später Elution des recht polaren Zuckers **35** während der säulenchromatographischen Reinigung auf.

Die Einführung des Phosphats am anomeren Zentrum wurde mit Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit und Zugabe von 1*H*-Tetrazol statt 1,2,4-Triazol^[124] in Dichlormethan und anschließende Oxidation durchgeführt. In der Literatur^[154] wurde 1*H*-Tetrazol im Zusammenhang mit einer ähnlichen Reaktion als geeignete Säure beschrieben. Es wurde dadurch eine gute Ausbeute und hohe α -Selektivität erzielt (vgl. Kap. 2.3.3). Um das Phosphat **36** ausschließlich als α -Anomer zu erhalten, waren zwei Umkristallisationen

notwendig. Die erste Umkristallisation wurde direkt nach der Bildung des Phosphits durchgeführt, während die zweite nach der *tert*-Butylhydroperoxid-Oxidation zum Phosphat **36** stattfand. Somit konnte die 1-Phosphomuraminsäure **36** in sehr guter Selektivität und in einer für diese Umsetzung guten Ausbeute von 65 % erhalten werden. Bei der Verwendung von 1,2,4-Triazol wurde nur eine Ausbeute von 42 % erreicht.^[124] Die Konfiguration wurde durch ein ³¹P-entkoppeltes ¹H-NMR-Spektrum bestimmt. Dies war notwendig, da im normalen ¹H-NMR-Spektrum das H-1-Signal eine Kopplung zum benachbarten Phosphoratom und zum H-2 aufwies, und somit die Kopplungskonstante zum H-2 nicht eindeutig bestimmt werden konnte. Durch die Entkopplung konnte die Kopplungskonstante zwischen H-1 und H-2 des Zuckers **36** auf 3.0 Hz bestimmt werden, was einer *cis*-Kopplung entspricht. Über fünf Stufen konnte das Glycosylphosphat **36** somit in einer Gesamtausbeute von 27 % erhalten werden.

4.1.2 Synthese der dansylierten Peptidseitenkette

4.1.2.1 Synthese der geschützten Aminosäuren

Die Peptidseitenkette des darzustellenden dansylierten Park-Nucleotids **71** besitzt die Struktur L-Alanin- γ -D-Glutaminsäure-(1-*O*-methyl)-L-Lysin-(dansyl)-D-Alanin-D-Alanin. In eigenen Vorarbeiten wurde eine Fmoc-Strategie wegen einer möglichen Adaption auf die Festphasensynthese gewählt. Dies ließ sich jedoch aufgrund von Reinigungsproblemen nicht auf die flüssige Phase übertragen.^[148] Aus diesem Grund wurde als alternative Schutzgruppe für die Aminofunktionen die ebenfalls gebräuchliche Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Cbz) verwendet. Für die Peptidsynthese mussten andere funktionelle Gruppen, wie die Carboxylgruppe und die Seitenketten einiger Aminosäuren, in geeigneter Weise geschützt werden. Die permanenten Schutzgruppen, die erst nach Darstellung der geschützten Zielverbindung abgespalten werden, wurden so gewählt, dass sie in einer globalen Entschützungsreaktion zusammen mit den Acetylschutzgruppen in der Kohlenhydrateinheit basisch entfernt werden können. So wurden die Carboxylgruppen von D-Alanin und D-Glutaminsäure als Methylester geschützt. Die temporären Schutzgruppen mussten dementsprechend so gewählt werden, dass sie in Anwesenheit der anderen Schutzgruppen abspaltbar waren. Da nur die D-Glutaminsäure und L-Lysin über Seitenketten mit funktionellen Gruppen verfügen, wird die verwendete Strategie bei den jeweiligen Synthesen der geschützten Aminosäuren beschrieben.

4.1.2.1.1 Darstellung der geschützten Alanin-Derivate

Da Alanin über keine funktionelle Gruppe in der Seitenkette verfügt, wurden nur die Carboxylgruppen und die Aminogruppen der beiden benötigten Enantiomere geschützt. Außerdem wurde für eine alternative [4+1]-Strategie der L-Alaninphenylsulfonyl-ethylester **110** synthetisiert (Abb. 4-3). Diese Strategie wurde verwendet, da Probleme bei der Entschützung des Pentapeptids aufgetreten waren. Diese werden in Kap. 4.1.2.2 genauer erläutert.

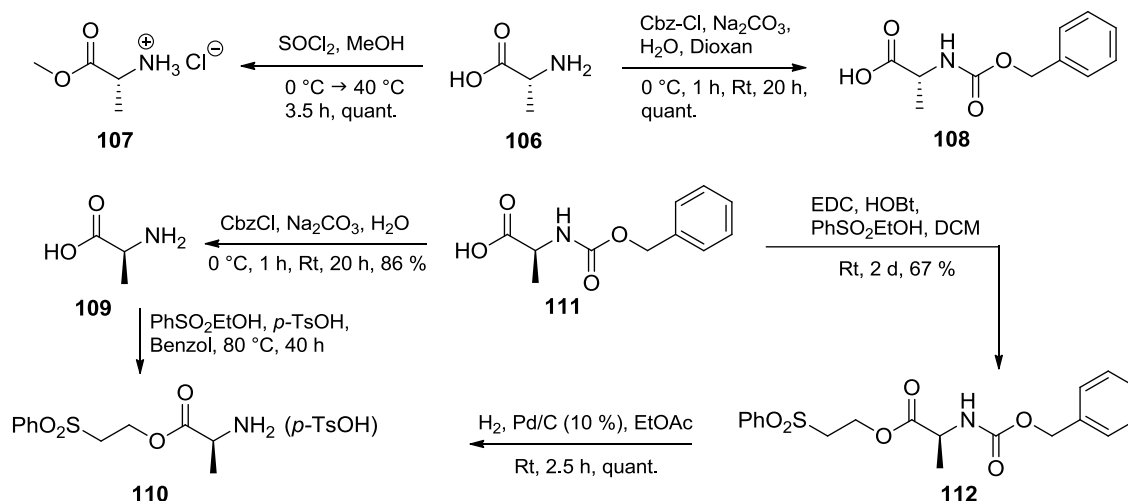


Abb. 4-3 Synthese der geschützten Alanin-Derivate

D-Alaninmethylester-hydrochlorid **107** wurde durch Reaktion von D-Alanin **106** mit Thionylchlorid in Methanol dargestellt.^[156] In dieser wasserfreien Synthese wurde *in situ* das Carbonsäurechlorid generiert, welches nucleophil vom Methanol angegriffen wurde. So konnte der Methylester **107** in quantitativer Ausbeute und sehr guter Reinheit erhalten werden. Die Cbz-Schützungen der beiden Enantiomere konnten unter publizierten Bedingungen durch Verwendung von Cbz-Chlorid (für das D-Isomer gelöst in Dioxan) und Natriumhydrogencarbonat als Base in Wasser in einer Reaktionszeit von 22 h realisiert werden.^[155] Die Cbz-geschützten Aminosäuren wurden in exzellenten (quant., **108**) bzw. guten Ausbeuten (86 %, **111**) ohne weitere Reinigung erhalten.

Die Darstellung des L-Alaninphenylsulfonyl-ethylesters **110** wurde auf zwei verschiedenen Routen durchgeführt. Die einstufige Synthese direkt aus dem L-Alanin **109** wurde auf Grundlage einer beschriebenen Reaktion durchgeführt.^[157] Dafür wurde L-Alanin **109** in Benzol gelöst und mit Phenylsulfonyl-ethanol und *para*-Toluolsulfonsäure-hydrat versetzt. In einer Dean-Stark-Apparatur wurde das Gemisch für 16 h unter Rückfluss gerührt. Zum vollständigen Umsatz musste noch eine weitere Portion Phenylsulfonyl-ethanol und

para-Toluolsulfonsäure-hydrat zugegeben und für weitere 24 h unter Rückfluss gerührt werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung mit Dichlormethan und Methanol wurde ein Gemisch aus L-Alaninphenylsulfonylethylester **110** und einer anderen Alanin-haltigen Spezies erhalten. Außerdem waren andere Verunreinigungen enthalten, weshalb auf eine dreistufige Synthese zurückgegriffen wurde. Hierfür wurde Cbz-L-Alanin **111** nach Aktivierung der Carbonsäure mittels EDC und HOBt mit Phenylsulfonylethanol verestert. Das Produkt konnte nach zwei Tagen in 67 % Ausbeute erhalten werden, was ein für diese Synthese annehmbares Resultat war. Ähnliche Ausbeuten für Veresterungen mit dem gleichen Alkohol sind bekannt, erforderten jedoch umfangreiche Optimierungen (s. Kap. 4.1.1.2).

Anschließend sollte die Cbz-Gruppe hydrogenolytisch abgespalten werden. Eine häufig verwendete Methode zur Cbz-Entschützung ist die Reaktion mit Wasserstoff an Pd/C (10 %) in Methanol. Diese Bedingungen ergaben aber ein Gemisch aus zwei verschiedenen Alanin-Derivaten, was sich vermutlich auf eine teilweise Umesterung zum Methylester zurückführen lässt. Wurde die Reaktion in Ethylacetat durchgeführt, konnte das Produkt nach zwei Stunden in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Somit wurde L-Alaninphenylsulfonylethylester **110** über 3 Stufen ausgehend von L-Alanin **109** mit einer Gesamtausbeute von 58 % erhalten.

4.1.2.1.2 Synthese von dansyliertem Cbz-L-Lysin **114**

Der Fluoreszenzmarker für das Zielprodukt **71** wurde früh eingeführt, da dadurch auf eine Schutzgruppe der Aminofunktion an der Seitenkette des L-Lysins **113** verzichtet werden konnte. Die Dansylgruppe wurde als Fluoreszenzmarker gewählt, da dieser bereits im natürlichen Park-Nucleotid **10** semisynthetisch eingeführt wurde und das resultierende Produkt **71** für *MraY*-Assays verwendet werden konnte (siehe Kap. 2.2.3).^[54] Zudem war die frühe Einführung des Fluorophors für eine vereinfachte Detektion bei der Dünnschichtchromatographie und der Säulenchromatographie hilfreich.

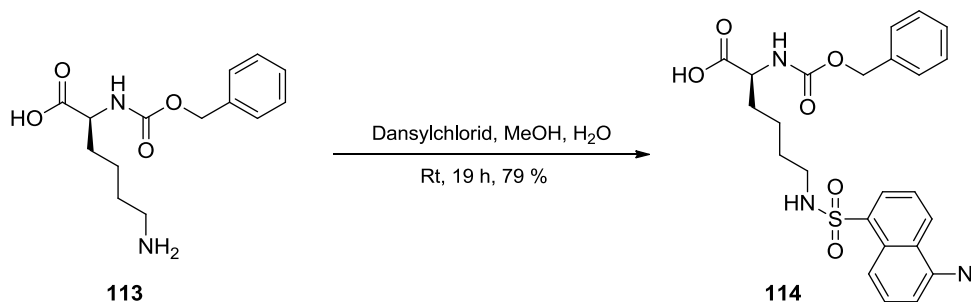


Abb. 4-4 Synthese von dansyliertem L-Lysin **114**

Das dansylierte Cbz-L-Lysin **114** wurde ausgehend von kommerziell erhältlichem Cbz-L-Lysin **113** auf Basis einer literaturbekannten Synthese^[158] mit Dansylchlorid und Natriumhydrogencarbonat als Base in Methanol und Wasser nach 19 h in einer guten Ausbeute von 79 % erhalten (Abb. 4-4). Die gute Ausbeute konnte durch Optimierung der säulenchromatographischen Reinigung erreicht werden. Wurde das Rohprodukt ohne Zusatz von Säure chromatographiert, wurden lediglich Ausbeuten von 50-64 % erzielt. Durch Zugabe von 1 % Trifluoressigsäure konnte nach Einengen der Lösung Zersetzung beobachtet werden. Wurde aber 1 % Essigsäure verwendet und vor dem Einengen Toluol zugegeben, konnte eine Ausbeute von 79 % erreicht werden. Das Toluol bildet mit der Essigsäure ein Azeotrop und verhindert das Anreichern der Säure im Gemisch.

4.1.2.1.3 Synthese von Cbz-D-Glutaminsäure-(5-allyl)-1-methylester **117**

Die selektive Schützung der 1-Carboxylgruppe als Methylester konnte nicht in einem Schritt durchgeführt werden. Da die 5-Carboxylgruppe leichter zu derivatisieren ist, musste diese zuerst temporär geschützt werden. Um die Orthogonalität der Schutzgruppen zu gewährleisten, wurde für die 5-Carboxylgruppe die Allylgruppe ausgewählt. Diese lässt sich durch katalytische Mengen von Palladium(0)-Verbindungen reaktiv abspalten und ist unter basischen Bedingungen stabil (Abb. 4-5).

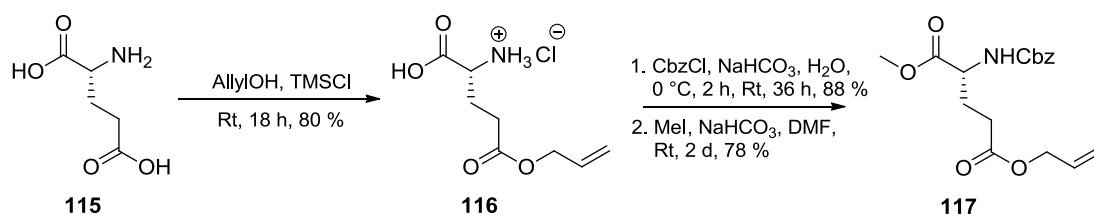


Abb. 4-5 Synthese von Cbz-D-Glutaminsäure-(5-allyl)-1-methylester **117**

Für die Schützung der Seitenkette wurde kommerziell erhältliche D-Glutaminsäure **115** in Allylalkohol gelöst und langsam mit Trimethylsilylchlorid (TMSCl) versetzt.^[159] Durch TMS-Chlorid wird Chlorwasserstoff *in situ* erzeugt, und es fängt entstehendes Wasser ab. Außerdem wird vermutet, dass es die Veresterung in Richtung der 5-Position dirigiert.^[160] Hierbei war wichtig, dass der Allylalkohol vorher mit Molsieb getrocknet wurde, da sonst größere Mengen des 1-Isomers entstanden sind und somit das gewünschte Regioisomer **116** in geringerer Ausbeute erhalten wurde. Der 5-Allylester **116** konnte nach Zugabe von Diethylether durch Ausfällen in 80 % Ausbeute erhalten werden. Die gewünschte

Regioisomerie von **116** konnte durch ein ^1H - ^{13}C -HMBC-Korrelationsspektrum bestätigt werden.^[148]

Die Cbz-Schützung wurde unter den gleichen Bedingungen wie mit L-Alanin **109** als Substrat durchgeführt. Dabei war eine Verlängerung der Reaktionszeit von 20 h auf 36 h für eine gute Ausbeute von 88 % notwendig. Die Einführung der Methylgruppe an der 1-Carboxylgruppe konnte in Anlehnung einer literaturbekannten Synthese realisiert werden.^[161] Die Aminosäure wurde in Dimethylformamid gelöst und mit Natriumhydrogencarbonat als Base versetzt. Methyljodid wurde langsam zugetropft, und der Methylester **117** wurde nach 2 d in einer guten Ausbeute von 78 % erhalten. Der Cbz-D-Glutaminsäure-(5-allyl)-1-methylester **117** wurde in einer Gesamtausbeute von 55 % in drei Stufen ausgehend von D-Glutaminsäure **115** und mit nur einer säulenchromatographischen Reinigung im letzten Schritt dargestellt.

4.1.2.2 Darstellung der Peptidkette

Das Peptid wurde sequentiell beginnend mit dem Dipeptid Cbz-D-Alanin-D-Alaninmethylester **118** dargestellt, welches bereits in Vorarbeiten synthetisiert worden war (Abb. 4-6).^[148]

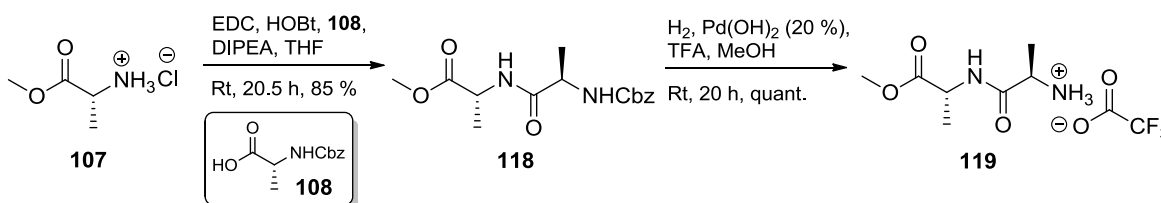


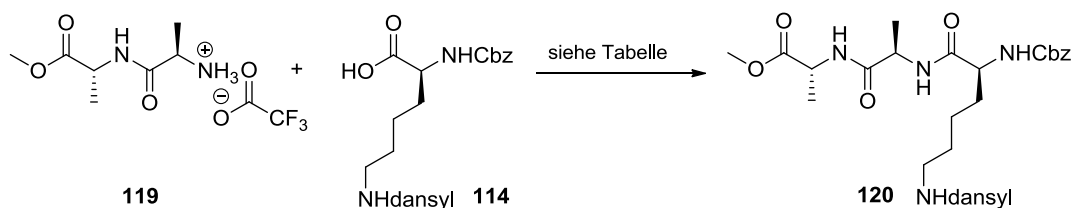
Abb. 4-6 Synthese des entschützten Dipeptids **119**

Für Peptidkupplungen ist eine zahlreiche Auswahl an Aktivierungsreagenzien vorhanden.^[162-164] Im Zuge der Kupplung von D-Alaninmethylester-hydrochlorid **107** und Cbz-L-Alanin **108** wurden als Kupplungsreagenzien EDC **121**^[165] (Abb. 4-8) und HOBT **122**^[166] eingesetzt. EDC **121** hatte hier den Vorteil gegenüber dem häufig verwendeten Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), dass es ein wasserlösliches Harnstoffderivat als Abspaltprodukt bildet, wodurch die Reinigung wesentlich erleichtert wurde. Bei der Reaktion von EDC **121** mit der Carboxylgruppe entsteht zuerst ein reaktiver Acylisoharnstoff, welcher sich langsam zu einem unreaktiven *N*-Acylharnstoff umlagert. Dies konnte durch den Zusatz von HOBT **122** mit der Bildung eines stabileren HOBT-Esters verhindert werden. Um zu gewährleisten, dass sich der Aktivester zuerst bildete, wurde der D-Alaninmethylester **107** zusammen mit *N,N*-Diisopropylethylamin als Base nach 15 min

zu der restlichen Reaktionslösung getropft. Der Aktivester wurde anschließend von der freien Aminogruppe des D-Alaninmethylesters **107** nucleophil angegriffen. Nach der Abspaltung von HOBt **122** wurde die Peptidbindung geknüpft. Das Dipeptid **118** wurde somit in guten Ausbeuten von 85 % erhalten.

Die Cbz-Gruppe konnte durch palladiumkatalysierte Hydrogenolyse (*Pearlman's* Katalysator) in Methanol und Zugabe von 1.0 Äq. Trifluoressigsäure abgespalten werden. Die Trifluoressigsäure wurde zur Protonierung der Aminogruppe zugesetzt, damit diese nicht intramolekular an der Esterfunktion angreifen konnte. Ohne Zusatz von Säure bildete sich das cyclische 3,6-Dimethyl-2,5-Diketopiperazin, was ein literaturbekanntes Problem bei der Entschützung von Dipeptiden darstellt (ohne Abbildung).^[167] Das Dipeptid **119** konnte bei kleinen Ansätzen in 2-3 h quantitativ erhalten werden. Bei großen Ansätzen musste die Reaktionszeit auf bis zu 20 h verlängert und weiterer Katalysator nachgegeben werden.

Bei der Peptidkupplung zum Tripeptid **120** mit EDC/HOBt **121/122** konnte zunächst nur eine Ausbeute von 52 % erzielt werden (Tab. 4-1, Nr. 1).



Nr.	Kupplungsreagenz	Base	Lösungsmittel	Zeit	Ausbeute
1	EDC/HOBt	DIPEA	THF	23 h	52 %
2	Oxyma	DIPEA	THF	21 h	46 %
3	EDC/NHS	DIPEA	DMF/DCM	20 h+2 d	63 %
4	PyBOP/HOBt	DIPEA	THF/DCM	21.5 h	59 %
5	PyBOP	NEt ₃	THF	21 h	73 %
6	PyBOP	DIPEA	THF/DCM	2 d	85 %
7	COMU	DIPEA	DMF	2 d	67 %

Tab. 4-1 Peptidkupplung zum Tripeptid **120**

Dies könnte an dem relativ sperrigen Dansylrest an der L-Lysinseitenkette liegen, welcher den Angriff des Amins erschwert. EDC **121** und HOBt **122** haben den Vorteil, dass sie relativ preisgünstig sind, allerdings besitzen sie nur eine mittlere Reaktivität. Daraufhin wurden verschiedene Aktivierungsreagenzien (Abb. 4-7) für die Peptidkupplung erprobt. Aufgrund der Fülle an Reagenzien und Reaktionsbedingungen wurden vorab einige Bedingungen aus der Literatur verwendet, die für ähnliche Peptide verwendet worden

waren.^[168-170] Des Weiteren wurden auf Basis literaturbekannter Methoden Variationen vorgenommen.

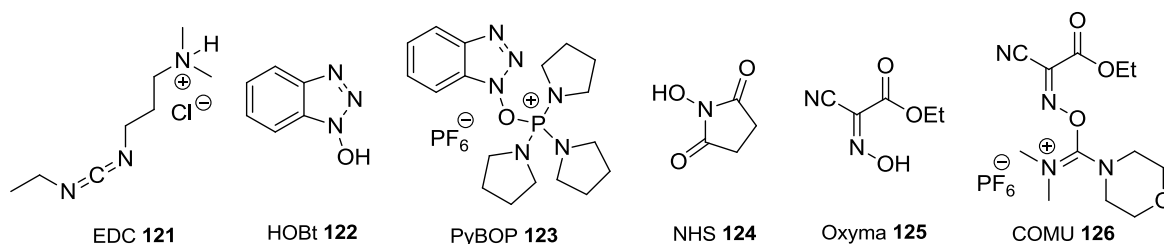


Abb. 4-7 Verwendete Peptidkuppungsreagenzien

Oxyma **125**^[171] wurde in der Literatur als ein guter Ersatz für HOBt **122** beschrieben. Im Vergleich zu HOBt **122** ist Oxyma **125** sterisch wenig gehindert und nicht explosionsgefährlich. Außerdem bildet Oxyma **125** mit einer Carbonsäure einen reaktiveren Ester. Der daraus resultierende schnellere Angriff der Aminofunktion kann die Bildung von Epimeren verringern. Die Hauptmechanismen der Epimerisierung bei Peptidkupplungen werden in Kap. 4.1.3 genauer erläutert. Die Reaktion wurde analog der EDC/HOBt-Methode durchgeführt, das Tripeptid **120** konnte aber nur in einer mäßigen Ausbeute von 46 % erhalten werden (Tab. 4-1, Nr. 2). Eine klassische Methode, die im Zuge einer Totalsynthese von Lipid II angewendet wurde, ist die Verwendung von EDC/NHS **121/124**.^[169] Hier wurde nach Aktivierung mit EDC **121** und Zugabe von *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) **124** der isolierbare NHS-Ester gebildet. Dieser wurde nach Entfernen des Lösungsmittels direkt mit dem Dipeptid **119** in Anwesenheit von Diisopropylethylamin für 2 d umgesetzt. Dabei wurde eine Ausbeute von 63 % erreicht (Tab. 4-1, Nr. 3). In einer publizierten Synthese von ebenfalls dansyliertem L-Lysin und D-Ala-D-Ala-OTMSE wurde (Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat (BOP) und HOBt **122** verwendet.^[168] Da das Abspaltprodukt von BOP Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPA) toxisch ist, wurde in dieser Arbeit als Alternative das strukturähnliche (Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat PyBOP **123**^[172] eingesetzt, welches eine ähnliche Reaktivität besitzt. Obwohl bei der Reaktion mit PyBOP **123** HOBt **122** frei wird, könnte die zusätzliche Zugabe von einem Äquivalent HOBt **122** die Reaktion beschleunigen und die Epimerisierung reduzieren. Bei dieser Umsetzung betrug die Ausbeute jedoch lediglich 59 % (Tab. 4-1, Nr. 4). Dies könnte zum Teil an der erschwerten Reinigung durch die erhöhte Menge an HOBt **122** gelegen haben. Bei der Peptidkupplung nur mit PyBOP **123** bildete sich zuerst eine instabile Acylphosphoniumspezies, die direkt vom frei gewordenen

HOBt **122** angegriffen wurde. Triebkraft war hier die Bildung des stabilen Phosphinoxids. Als Base wurde Triethylamin verwendet, auf diese Weise wurde eine Ausbeute von 73 % erreicht (Tab. 4-1, Nr. 5). Der Wechsel zu der nicht-nucleophilen, sterisch gehinderten Base Diisopropylethylamin und Verwendung eines Gemisches aus Dichlormethan und Tetrahydrofuran ergab die beste Ausbeute von 85 % in dieser Optimierungsserie (Tab. 4-1, Nr. 6). Das moderne Reagenz COMU **126** ^[173] kombiniert die Eigenschaften von morpholinbasierten Uroniumverbindungen mit Oxyma **125** als Abgangsgruppe. Damit konnte das Tripeptid **120** aber in einer geringeren Ausbeute von 67 % erhalten werden (Tab. 4-1, Nr. 7).

Die weiteren Schritte zum entschützten Tetrapeptid **129** waren die Cbz-Entschützung des Tripeptids **120**, die Allyl-Entschützung des D-Glutaminsäure-Derivats **117** und anschließende Peptidkupplung beider Komponenten **127** und **128** zum geschützten Tetrapeptid **87**. Nach abschließender Cbz-Entschützung konnte das gewünschte Produkt **129** erhalten werden (Abb. 4-8).

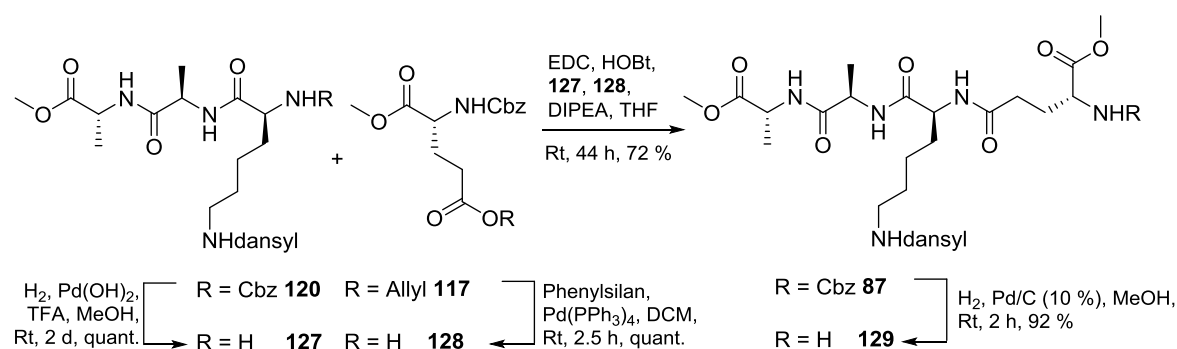


Abb. 4-8 Synthese des entschützten Tetrapeptids **129**

Die Allyl-Entschützung der D-Glutaminsäure **117** konnte durch Reaktion mit Phenylsilan und katalytischen Mengen von Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in Dichlormethan in quantitativer Ausbeute durchgeführt werden. Das Phenylsilan wirkte hier als Abfangreagenz für die abgespaltene Allylgruppe. Das entschützte Tripeptid **127** konnte analog zur Entschützung des Dipeptids **119** mit *Pearlman's* Katalysator und Zugabe von 1.0 Äq. Trifluoressigsäure in Methanol in ebenfalls quantitativer Ausbeute ohne weitere Reinigung erhalten werden. Die Zugabe der Säure erfolgte hierbei nur als Vorsichtsmaßnahme, um Cyclisierungen vorzubeugen. Die Peptidkupplung wurde jeweils unter den Bedingungen mit EDC/HOBt **121/122** und mit PyBOP **123** durchgeführt. Bei der Reaktion mit PyBOP **123** konnte das Abspaltprodukt Tripyrrolidinphosphorsäuretriamid auch nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung nicht vom Produkt **87**

abgetrennt werden. Auf Grundlage der Integrale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wurde eine Ausbeute des Tetrapeptids **87** von 63 % berechnet. Mit der EDC/HOBt-Methode konnte das Tetrapeptid **87** nach 44 h in einer isolierten Ausbeute von 72 % erhalten werden.

Die Cbz-Entschützung des Tetrapeptids **87** ergab unter Verwendung von 1 % Trifluoressigsäure teilweise eine Zersetzung des Produktes. Ersetzte man Trifluoressigsäure mit der schwächeren Essigsäure, wurden ebenfalls Zersetzungsprodukte erhalten. Die Säure wurde ursprünglich zugesetzt, um den intramolekularen Angriff des freien Amins an die Carboxylgruppe der benachbarten Aminosäure zu verhindern. Diese Reaktion wurde bei der säurefreien Cbz-Entschützung des Dipeptids **119** beobachtet, spielt aber anscheinend bei der Entschützung des Cbz-Tetrapeptids **87** keine Rolle. Denn wurde die Synthese ohne Säure durchgeführt, konnte das Produkt **129** nach 2 h Reaktion und anschließender säulenchromatographischer Reinigung in exzellenter Ausbeute von 92 % erhalten werden. Bei einer Reaktionszeit von über 3 h, sank die Ausbeute auf 40-67 %. Bei kleinen Ansätzen waren die Ausbeuten geringer, was auf den prozentual größeren Verlust bei der chromatographischen Reinigung zurückzuführen war. Ohne säulenchromatographische Reinigung konnte das entschützte Tetrapeptid **129** nicht sauber erhalten werden, da außerdem nicht-isolierbare Nebenprodukte beobachtet wurden.

Für die Darstellung eines Pentapeptids wurden zum einen das Cbz-L-Alanin **111** und zum anderen das Fmoc-L-Alanin **130** mit dem Tetrapeptid **129** gekuppelt (Abb. 4-9).

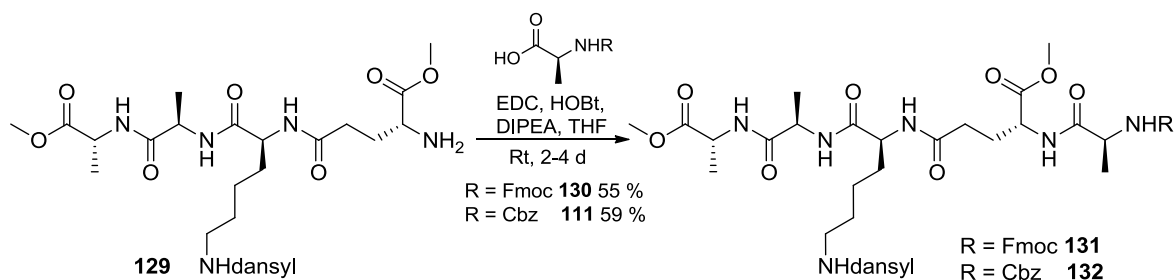
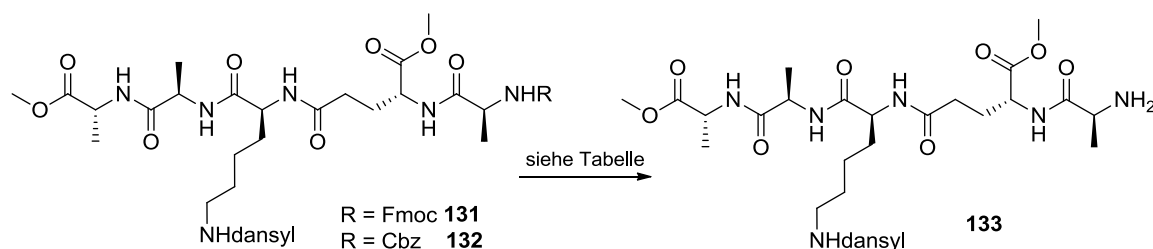


Abb. 4-9 Kupplung zum Pentapeptid **131** und **132**

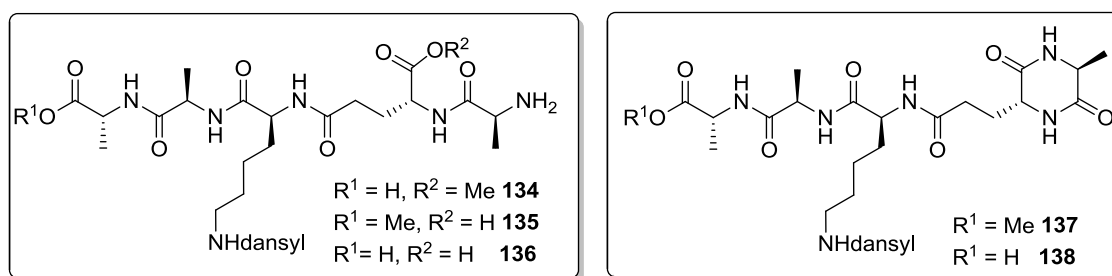
Die Peptidkupplungen mit beiden Alanin-Derivaten **130** und **111** wurden jeweils unter EDC/HOBt-Bedingungen durchgeführt, da diese Reagenzien günstig sind und vor weiteren Optimierungsreaktionen die Kupplung mit dem Zuckerphosphat **139** getestet werden sollte. Das Fmoc-Pentapeptid **131** konnte unter den in Abb. 4-9 beschriebenen Bedingungen nach 4 d in einer Ausbeute von 55 % und das Cbz-Pentapeptid **132** nach 2 d in einer Ausbeute von 59 % erhalten werden.

Bei der Entschützung der Pentapeptidderivate traten einige Probleme auf. Es wurden verschiedene Bedingungen getestet, wobei durch keine der durchgeführten Reaktionen ein befriedigendes Ergebnis erhalten wurde. In der unteren Tabelle (Tab. 4-2) sind einige der verwendeten Bedingungen aufgeführt. Oftmals konnte das Produkt nicht sauber erhalten werden und wurde zum Teil direkt mit dem entschützten Zuckermonophosphat **139** gekuppelt.



Nr.	Edukt	Reagenzien	LM	Zeit	Produkte*
1	132	H ₂ , Pd/C,	MeOH	3 h	134, 135, 136, 138
2	132	H ₂ , Pd(OH) ₂ , TFA	MeOH	1 h 20 min	133, 134, 135, 137
3	132	H ₂ , Pd(OH) ₂ , TFA	MeOH	15 min-1.5 h	134, 135, 136, 137, 138
4	132	PdCl ₂ , Et ₃ SiH, NEt ₃	DCM/THF	1 h 20 min	132, 133
5	131	Piperidin	DMF	2 h	-

* Detektion der Produkte über Massenspektrometrie



Tab. 4-2 Entschützungsversuche zum Pentapeptid **133**

Zuerst wurde die Cbz-Entschützung zum Pentapeptid **133** unter den bereits für das Tetrapeptid **129** verwendeten Bedingungen durchgeführt (Tab. 4-2, Nr. 1). Hierbei wurden jedoch Cyclisierungen (**138**) und außerdem die teilweise und vollständige Abspaltung der Methylester (**134, 135, 136**) beobachtet. Die Abspaltung der Methylester resultierte wahrscheinlich aus der Cyclisierungsreaktion und anschließender Öffnung des Ringes durch Wasser während der Aufarbeitung. Da bei der Entschützung des Dipeptids **119** durch Zugabe von Trifluoressigsäure gute Ergebnisse erzielt werden konnten, wurden

diese Bedingungen für diese Synthese übernommen (Tab. 4-2, Nr. 2). In einem kleinen Ansatz konnte das gewünschte Produkt **133** als Hauptprodukt im Rohgemisch identifiziert werden und wurde deshalb direkt weiter eingesetzt. Bei der anschließenden Kupplung mit dem Zuckerderivat **139** wurden neben der gewünschten Verbindung **37** einige Nebenprodukte im Massenspektrum nachgewiesen. Aufgrund der geringen Mengen wurde keine Reinigung durchgeführt. Bei der Wiederholung dieser Reaktion in einem größeren Ansatz konnte jedoch kein Produkt **133** erhalten werden. Auch durch Variation der Reaktionszeiten konnte kein entschütztes Pentapeptid **133** isoliert werden (Tab. 4-2, Nr. 3). Lediglich die fünf Nebenprodukte **134-138** wurden im Massenspektrum detektiert. Analog einer literaturbekannten Methode^[174] wurde die Cbz-Entschützung mit Palladiumchlorid als Katalysator und Triethylsilan als Hydridquelle durchgeführt (Tab. 4-2, Nr. 4). Da die Si-H-Bindung relativ schwach und Wasserstoff elektronegativer als Silicium ist, kann das Hydrid leicht abgespalten werden. Diese Methode ist milder als eine heterogene Hydrogenolyse mit elementarem Wasserstoff. Triethylamin wurde als Base zugefügt und das Gemisch für 80 min unter Rückfluss in DCM/THF (1:1) als Lösungsmittel gerührt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte eine Fraktion isoliert werden, die laut Massenspektrometrie das gewünschte Produkt **133** und auch das Edukt **132** beinhaltete. Bei Wiederholung konnte aber auch unter diesen Bedingungen das Ergebnis nicht reproduziert werden. Die Fmoc-Entschützung wurde mit Piperidin in Dimethylformamid durchgeführt (Tab. 4-2, Nr. 5), ergab jedoch in der Folgereaktion mit dem Zuckerphosphat **139** ebenfalls nicht die gewünschte Verbindung **133**. Im Massenspektrum konnte dem Hauptpeak das Nebenprodukt **137** zugeordnet werden, welches aufgrund des fehlenden freien Amins unter Peptidkupplungsmethoden nicht reagieren kann. Aufgrund dieser nicht erfolgreichen Pentapeptid-Entschützung wurde eine alternative Methode zur Darstellung des 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptids **84** verfolgt, welche im folgenden Kapitel beschrieben wird.

4.1.3 Synthese des 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptids **84**

Für die Kupplungen mit einigen Rohprodukten aus den Entschützungen der Pentapeptide **132** und **131** wurde zuerst die Estergruppe im Zuckerderivat **36** verseift. Die Entschützung konnte mit Diazabicycloundecen (DBU) als Base in Dichlormethan quantitativ durchgeführt werden (Abb. 4-10).

Das Produkt **139** wurde wässrig aufgearbeitet und nicht weiter gereinigt. Eine säulenchromatographische Reinigung unter normalen Bedingungen war nicht möglich, da

es auch mit 15 % Methanol in Dichlormethan als Laufmittel nicht migrierte. Deshalb wurde die nachfolgende Kupplung mit der ungereinigten 1-Phosphomuraminsäure **139** durchgeführt. Der Umsatz wurde durch Dünnschichtchromatographie bestimmt, da im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum die Signale des abgespaltenen Phenylsulfonylethanol nicht eindeutig von den Signalen des Eduktes **36** zu unterscheiden waren.

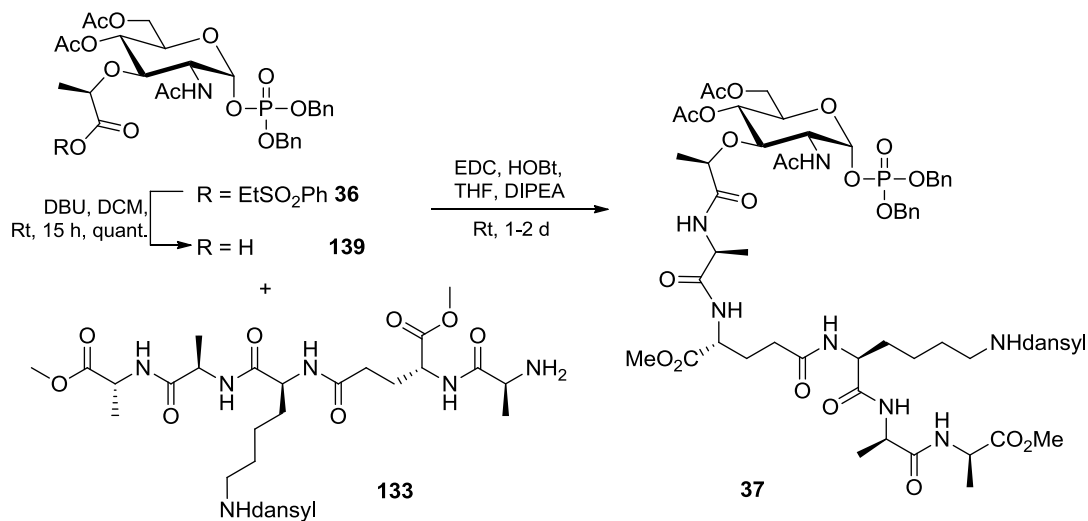
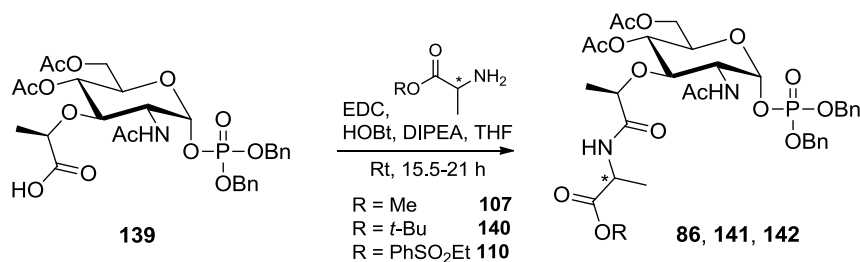


Abb. 4-10 Darstellung von 1-Dibenzylphosphomuraminsäure-pentapeptid **37**

Die Kupplungen wurden unter EDC/HOBT-Bedingungen mit Diisopropylethylamin als Base in Tetrahydrofuran durchgeführt (Abb. 4-10). In den Massenspektren nach der säulenchromatographischen Reinigung wurde neben der Muraminsäure **37** ebenfalls eine große Zahl an nicht identifizierten Nebenprodukten detektiert. Auch das Verlängern der Reaktionszeit oder das Verwenden von auf unterschiedlichen Wegen entschützten Pentapeptiden führte nur zu geringen Anteilen vom Produkt **37** im Reaktionsgemisch. Dieses lässt sich mit den im vorherigen Kapitel erwähnten Problemen bei der Entschützung des Pentapeptids **133** erklären. Da auf diesem Wege das gewünschte Produkt **37** nicht ohne weitere aufwändige Optimierungen erhalten werden konnte, wurde die Strategie umgestellt.

Die Synthese zum entschützten Tetrapeptid **129** verlief ohne größere Probleme, daher sollte dies mit einem L-Alanin-verknüpften Zuckerderivat **143** umgesetzt werden. Zur Kupplung mit der Muraminsäure **139** wurde der L-Alaninphenylsulfonylester **110** verwendet, da dieser selektiv entschützt werden kann. Zuerst wurde die Kupplung mit dem bereits synthetisierten D-Alaninmethylester **107** und dem kommerziell erhältlichen L-Alanin-*tert*-butylester **140** erprobt (Abb. 4-11).



Nr.	R	*	Ausbeute
141	Me	D	quant.
142	<i>t</i> -Bu	L	71 %
86	PhSO ₂ Et	L	70 %

Abb. 4-11 Kupplung der verschiedenen Alaninderivate mit dem Zuckerphosphate **139**

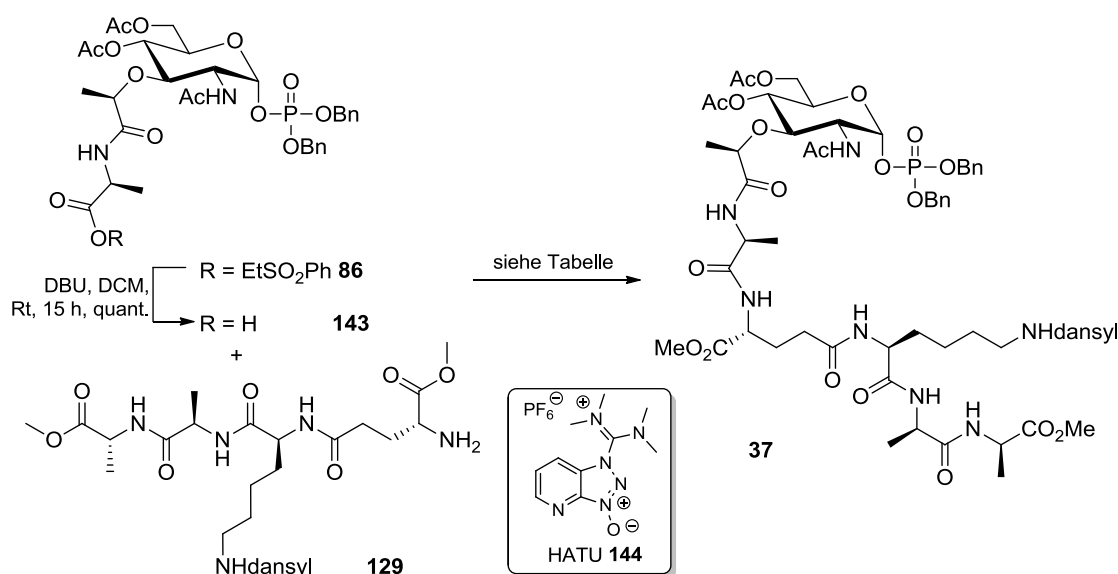
Unter Verwendung von EDC **121** und HOBt **122** mit D-Alaninmethylester **107** und 1-Dibenzylphosphomuraminsäure **139** konnte nach einer Reaktionszeit von 21 h unter Zugabe von Diisopropylethylamin in Tetrahydrofuran das leicht verunreinigte Produkt **141** in quantitativer Ausbeute erhalten werden.

Bei der Kupplung mit L-Alanin-*tert*-butylester **140** wurde der Alanin-verknüpfte Zucker **142** nach 21 h in 71 % Ausbeute erhalten. Um zu testen, ob der *tert*-Butylester eine Alternative zum Phenylsulfonylester darstellt, wurde die Entschützung erprobt. Die Spaltung des *tert*-Butylesters sollte in 20 %iger Trifluoressigsäure-Lösung in Dichlormethan durchführbar sein. Nach 2.5 h Reaktion und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde im ³¹P-NMR-Spektrum des Rohproduktes drei verschiedene Phosphorspezies identifiziert. Im ¹H-NMR-Spektrum konnten jedoch keine Signale der entschützten Verbindung zugeordnet werden. Dies wies auf eine Zersetzung des Zuckers unter den sauren Bedingungen hin.

Die Kupplung mit L-Alaninphenylsulfonylester **110** wurde analog der anderen Alaninderivate durchgeführt. Aufgrund der besseren Löslichkeit wurde ein Gemisch aus Dichlormethan und Tetrahydrofuran (1:1) verwendet. Wurde das verunreinigte L-Alaninphenylsulfonylester-tosylat **110** aus der einstufigen Synthese verwendet, konnte hauptsächlich der Methylester **141** isoliert werden. Dieses könnte auf eine Umesterung während der säulenchromatographischen Reinigung, katalysiert durch Kieselgel mit Methanol als Laufmittel, zurückzuführen sein. Nach einer Wiederholung des Versuches wurde für die säulenchromatographische Reinigung reines Ethylacetat als Laufmittel verwendet. Es wurde ebenfalls ein Methylester **141** isoliert. Das bedeutet, dass der Anteil des Methylesters bereits im verunreinigten L-Alaninphenylsulfonylester-

tosylat **110** sehr groß war oder der anteilig enthaltene Methylester reaktiver ist. Verwendung von L-Alaninphenylsulfonylethylester **110** aus der dreistufigen Synthese führte zum gewünschten Produkt **86** in 70 % Ausbeute. Damit die Gefahr der Umesterung nicht gegeben war, wurde bei der säulenchromatographischen Reinigung kein Methanol im Laufmittel verwendet.

Zum Abschluss der Synthese des 1-Dibenzylphosphomuraminsäure-pentapeptids **37** wurden die Esterspaltung des Phenylsulfonylethylesters **86** und die Peptidkupplung mit dem entschützten Tetrapeptid **129** durchgeführt (Abb. 4-12).



Nr.	Reagenz	Lösungsmittel	Zeit	Ausbeute
1	HOBt/EDC	THF/DCM	22 h	41 %
2	PyBOP	DCM	5 d	29 %
3	PyBOP/HOBt	DMF	24 h	- ^a
4	NHS/EDC	DMF	25 h	63 % ^b
5	HATU	DMF	25 h	73 %

a: nach säulenchromatographischer Reinigung nicht rein erhalten, b: wahrscheinlich Epimerisierung

Abb. 4-12 Alternative Route zum 1-Dibenzylphosphomuraminsäure-pentapeptid **37**

Die Phenylsulfonylethylester-Spaltung konnte mit DBU in Dichlormethan erneut in quantitativer Ausbeute durchgeführt werden. Daran schloss sich die Peptidkupplung an. Unter EDC/HOBt-Bedingungen konnte das Produkt **37** in nur moderater Ausbeute von 41 % erhalten werden (Abb. 4-12, Tabelle Nr. 1). Da die sterische Hinderung beider Komponenten recht groß ist, könnte die Verwendung von reaktiveren Reagenzien zur Aktivierung vorteilhaft sein. Für einige Peptidkupplungen hat sich die Aktivierung mit PyBOP **123** bewährt (Abb. 4-12, Tabelle Nr. 2). Nach 5 d Reaktionszeit bei

Raumtemperatur und anschließender säulenchromatographischer Reinigung wurde das noch stark mit dem PyBOP-Abspaltungsprodukt verunreinigte Produkt **37** erhalten. Erst eine weitere säulenchromatographische Reinigung ergab die saubere Verbindung **37** in lediglich 29 % Ausbeute.

Eine Kombination aus PyBOP **123** und HOBt **122**, analog einer ähnlichen Kupplung eines Zuckerphosphats mit einem Pentapeptid im Zuge einer Synthese von Lipid I^[69], ergab ebenfalls ein Produkt **37**, welches mit Tripyrrolidinphosphorsäuretriamid verunreinigt war (Abb. 4-12, Tabelle Nr. 3). Da die Menge des Gemisches bereits auf eine geringe Ausbeute schließen ließ, wurde auf die Reinigung des Produktes **37** verzichtet. Die Verwendung von NHS **124** und Aktivierung durch EDC **121** wurde im Zuge einer Totalsynthese von Lipid I publiziert^[154] (Abb. 4-12, Tabelle Nr. 4). Die Ausbeute konnte zwar erhöht werden, aber im NMR-Spektrum war ein doppelter Signalsatz zu sehen. Daher wurde eine Epimerisierung eines der chiralen Zentren vermutet.

Es gibt zwei Hauptmechanismen, nach denen Peptide epimerisieren können: Der erste ist die direkte Protonenabstraktion, die durch eine erhöhte CH-Acidität durch den elektronenziehenden Effekt der aktivierten Ester-Gruppe verursacht wird. Die benachbarten Substituenten, die Base und das Lösungsmittel beeinflussen den Grad der Epimerisierung zusätzlich. Eine Reprotonierung erfolgt unter einer teilweisen Änderung der Konfiguration. Der zweite Mechanismus ist die Bildung eines ebenfalls C-H-aziden Oxazolidinons (Abb. 4-13).^[175]

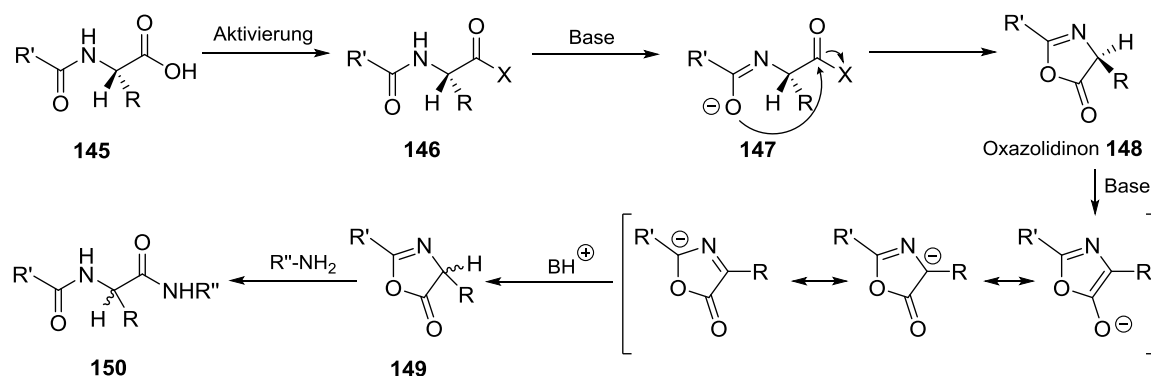
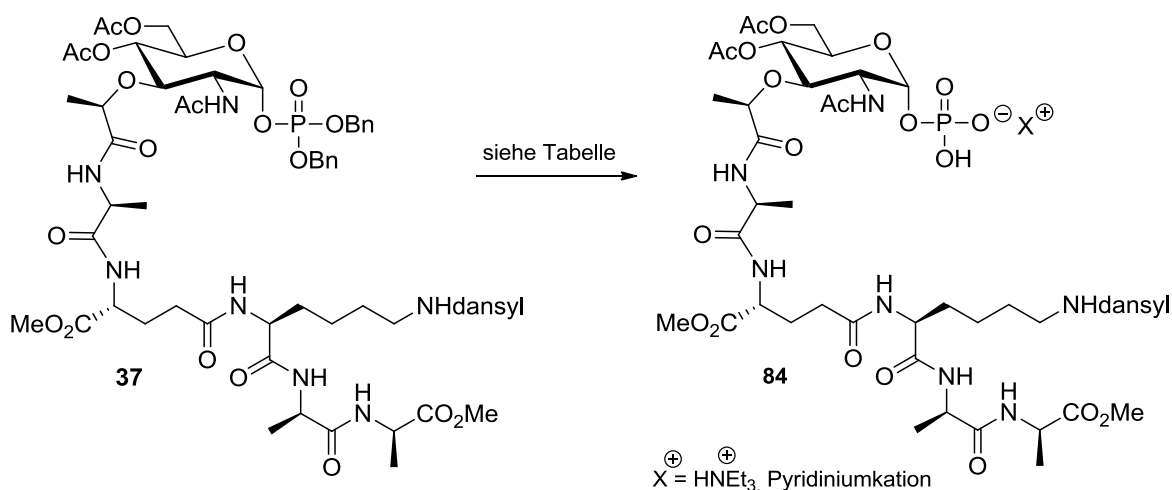


Abb. 4-13 Mechanismus der Peptid-Epimerisierung durch Oxazolidinon-Bildung

Nach der Aktivierung des Peptids **145** zum Aktivester **146** kann eine Base das Proton am Stickstoff abstrahieren, wodurch sich ein Imidat **147** bildet. Ein intramolekularer Angriff des Imidat-Sauerstoffanions führt zu einem Oxazolidinon **148**, welches durch Mesomeriestabilisierung des Anions deutlich acider ist. Die Reaktion wird durch stark elektronenziehende Substituenten, eine Acylierung des Amin-Stickstoffs und starke Basen

begünstigt. Die Deprotonierung und anschließende Reprotonierung führt nach Angriff einer Aminosäure ($R''\text{-NH}_2$) an die Verbindung **149** zum partiell epimerisierten Peptid **150**. Die besten Ausbeuten von 73 % bei guter Reinheit konnten mit dem Kupplungsreagenz 2-(7-Aza-1*H*-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU) **144** erzielt werden (Abb. 4-12).^[176] Der Mechanismus verläuft analog zu demjenigen von PyBOP **123**, allerdings ist hier die Triebkraft die Bildung eines stabilen Harnstoffderivats. Ein positiver Effekt dieses Reagenzes ist, dass der vorhandene Pyridin-Stickstoff durch den Nachbargruppeneffekt die Aminogruppe im Übergangszustand über eine Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert. Die Reaktion wurde unter Zugabe von Diisopropylethylamin in Dimethylformamid durchgeführt.

Der letzte Schritt auf dem Weg zum Phosphomuraminsäure-pentapeptid **84** stellt die Benzylentschützung der Phosphatgruppe dar (Tab. 4-3).



Nr.	Katalysator	X	Lösungsmittel	Zeit	Ausbeute
1	Pd/C	NEt ₃	MeOH	4 h	-
2	Pd/C	NEt ₃	Dioxan	27 h	-
3	Pd/C	-	MeOH	0.5 h	-
4	Pd/C	-	EtOAc	16 h	-
5	Pd/C	NEt ₃	Dioxan+HOAc	18.5 h	74 %
6	Pd/C	Pyridin	Dioxan+HOAc	22 h	quant.

Tab. 4-3 Benzylentschützung des Zuckerphosphats **84**

Eine publizierte Synthese nach *Hitchcock*^[124] mit Cyclohexylamin und Pd/C in Methanol unter Wasserstoffatmosphäre konnte nicht reproduziert werden. Als Hauptprodukt wurde das komplett entschützte Zuckerderivat erhalten.^[148] Auf der Grundlage literaturbekannter Synthesen mit ähnlichen Molekülen^[169,177] wurden weitere Bedingungen für die

Benzylentschützung erprobt. Die Basen Triethylamin und Pyridin wurden bei allen Reaktionen erst 5 min vor Ende der Reaktion zugegeben. Die Kationen der Basen dienten dem entschützten Glycosylphosphat **84** als Gegenion. Unter zu stark basischen Bedingungen ist die Gefahr der Abspaltung der Schutzgruppen gegeben.

Bei der Reaktion mit Pd/C (10 %) in Methanol und anschließender Zugabe von Triethylamin konnte gemäß Analyse der Massenspektren kein Produkt **84** und auch kein Edukt **37** identifiziert werden (Tab. 4-3, Nr. 1). Dies weist auf eine Zersetzung des Moleküls hin. Daraufhin wurde Dioxan als aprotisches Lösungsmittel verwendet (Tab. 4-3, Nr. 2). Die deutlich milderen Bedingungen lieferten jedoch auch nach längerer Reaktionszeit nicht die gewünschte Verbindung **84**. Auch der komplette Verzicht auf die Base und eine sehr kurze Reaktionszeit in Methanol ergaben lediglich Zersetzungsprodukte (Tab. 4-3, Nr. 3). Ein Peak im Massenspektrum konnte dem komplett entschützten Zuckerderivat zugeordnet werden. Empfindliche Hydrogenolysen wurden in dieser Arbeit erfolgreich in Ethylacetat als Lösungsmittel durchgeführt, dies führte in diesem Fall aber nicht zum Erfolg (Tab. 4-3, Nr. 4). Erst durch den Zusatz von Essigsäure in Dioxan und anschließenden Basenzusatz konnte das benzylentschützte Phosphat **84** erhalten werden. Nach Zugabe von Triethylamin wurde das Triethylammoniumsalz **84** in 74 % Ausbeute erhalten (Tab. 4-3, Nr. 5). Wurde Pyridin zugegeben, konnte das Pyridiniumsalz **84** sogar in quantitativer Ausbeute erhalten werden (Tab. 4-3, Nr. 6). Der Unterschied der Ausbeute könnte darin begründet sein, dass das Ammoniumacetat durch Gefriertrocknung allein nicht entfernt werden konnte, sodass als weiterer Reinigungsschritt eine Dialyse durchgeführt werden musste. Hierbei blieb vermutlich Produkt **84** an der Membran zurück, was durch die Fluoreszenz der Membran auch nach mehrfachem Waschen erkennbar war. Das Pyridiniumacetat hingegen konnte durch Gefriertrocknung entfernt werden. Im Hinblick auf die Diphosphatkupplung ist die Wahl des Gegenions von Bedeutung. Dieses wird im Kapitel 4.1.5 näher erläutert.

4.1.4 Synthese der *cycloSal*-Verbindung **85**

4.1.4.1 Bildung von NDP-Zuckern mit *cycloSal*-Verbindungen

Die Diphosphatkupplung ist einer der wichtigsten Schlüsselschritte in der Synthese des dansylierten Park-Nucleotids **71**, da diese häufig mit moderaten Ausbeuten einhergeht.^[178] Hierfür sollten zwei verschiedene Ansätze verfolgt werden. Der erste ist die Kupplung des entschützten Zuckerphosphates **84** mit einer sogenannten *cycloSal*-Verbindung **85**. Die

Bezeichnung stammt daher, dass **cyclische Saligenyl-Phosphatriester** als reaktive Nucleotid-Derivate eingesetzt werden. Ursprünglich wurde die *cycloSal*-Methode entwickelt, um antivirale Wirkstoffe in Zellen einzuschleusen. Die *cycloSal*-Nucleotide werden in der Zelle durch Angriff von Wasser oder eines Hydroxid-Ions, wie in Abb. 4-14 gezeigt, gespalten und die aktiven Nucleotide freigesetzt.^[179] Bei der Darstellung eines Nucleotiddiphosphat-Zuckers (NDP-Zucker) **153** wird das *cycloSal*-Nucleotid **85** nucleophil von einem Zuckerphosphat **151** am Phosphatriester angegriffen, wobei die labilere Phenylester-Bindung gespalten wird (Abb. 4-14).

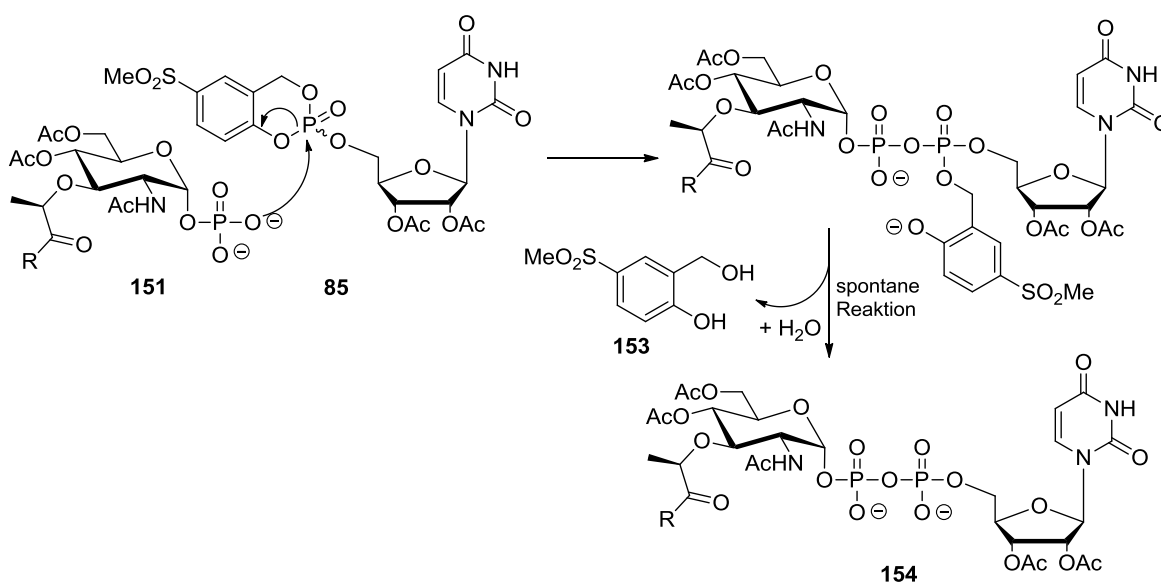


Abb. 4-14 NDP-Zuckersynthese mit *cycloSal*-Verbindungen

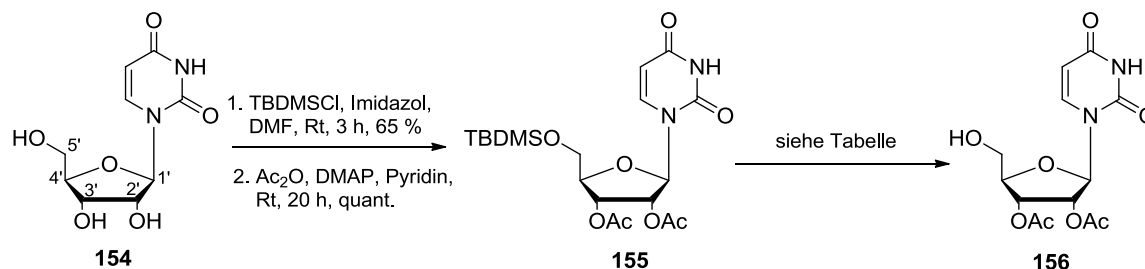
Nach einer spontanen Abspaltung des Salicylalkohols **153** bildet sich das gewünschte Produkt **154**.^[180] Diese Reaktionsbedingungen erzielten im Vergleich zu anderen literaturbekannten Diphosphatkupplungen, wie die Kupplung mit Carbonyldiimidazol oder die auch hier verwendeten *Khorana-Moffatt*-Bedingungen, bei einigen Zuckerphosphaten höhere Ausbeuten und bieten daher eine vielversprechende Alternative.^[181]

4.1.4.2 Synthese von 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156**

Für die in Kap. 4.1.4.1 beschriebene Reaktion wurde zunächst 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156** ausgehend von kommerziell erhältlichem Uridin **154** in einer dreistufigen Synthese dargestellt (Abb. 4-15). Die Hydroxygruppen des Uridins **154** in 2'- und 3'-Position sollten hinsichtlich der späteren globalen Entschützung mit basisch abspaltbaren Schutzgruppen versehen werden. Da die primäre Hydroxygruppe reaktiver ist, wurde diese zuerst

temporär als Silylether geschützt, anschließend die sekundären Hydroxygruppen acetyliert und die primäre Hydroxyfunktion wieder entschützt.

Es gibt eine Reihe von Silylethern, die als Alkoholschutzgruppen verwendet werden können. Je größer der sterische Anspruch am Silicium in der Schutzgruppe ist, desto stabiler sind diese Verbindungen, aber desto schwerer lassen sich diese spalten. Als temporäre Schutzgruppe wurde die *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe (TBDMS) ausgewählt, da sie eine recht hohe Stabilität aufweist und dennoch unter milden Bedingungen zu entfernen ist. Der Einsatz dieser Schutzgruppe bietet sich an, da sie mit Fluorid-Ionen abgespalten werden kann, welche die Acetylgruppen nicht angreifen. Die thermodynamische Triebkraft der Reaktion rührt von der Bildung der stabilen Si-F-Bindung. Die selektive Einführung der TBDMS-Gruppe am primären Alkohol konnte mittels 1.3 Äq. TBDMS-Chlorid, Imidazol als Aktivator und Base in Dimethylformamid als Lösungsmittel bei 0 °C in einer Ausbeute von 65 % realisiert werden.^[182] Die Erhöhung der Temperatur, der Äquivalente von TBDMS-Chlorid und der Reaktionszeit kann zum dreifach TBDMS-geschützten Uridin führen.^[183] Das vollständig geschützte Uridinderivat **155** konnte unter Verwendung von Essigsäureanhydrid und Dimethylaminopyridin zur Aktivierung in Pyridin quantitativ erhalten werden.^[184]



Nr.	Fluorid-Quelle	Lösungsmittel	Zeit	Ausbeute
1	TBAF (1.5 Äq.)	THF	1 h	24 %
2	TBAF (1.7 Äq.)	THF	19.5 h	17 %
3	NH ₄ F (10 Äq.)	MeOH	6 d	7 %
4	NH ₄ F (13 Äq.)	MeOH	7 d	6 %
5	NEt ₃ ·3HF (6.0 Äq.)	THF/DCM	16 h	quant.

Abb. 4-15 Synthese von 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156**

Um optimale Bedingungen für die Abspaltung der TBDMS-Gruppe zu finden, bedurfte es einer Reihe von Reaktionen (siehe Tabelle, Abb. 4-15). Eine häufig durchgeführte Methode, um Silylether zu spalten, ist die Verwendung von Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF). TBAF wurde als Lösung in Tetrahydrofuran wasserfrei bezogen, da in

Anwesenheit von Wasser die Reaktivität der Fluorid-Ionen herabgesetzt wird.^[185] Zunächst wurden 1.5 Äq. der TBAF-Lösung langsam zum Uridinderivat in Tetrahydrofuran getropft und für 1 h gerührt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten nur 24 % des Produktes **156** isoliert werden (Abb. 4-15, Tabelle Nr. 1). Die Verlängerung der Reaktionszeit auf 19.5 h und Verwendung von 1.7 Äq. TBAF-Lösung verringerte die Ausbeute auf 17 % (Abb. 4-15, Tabelle Nr. 2). Als alternatives Reagenz wurde Ammoniumfluorid verwendet, welches in einem großen Überschuss zu der Lösung des Eduktes **155** in Methanol gegeben wurde. Nach 6 d konnten nur 7 % des Produktes **156** isoliert werden (Abb. 4-15, Tabelle Nr. 3). Die Erhöhung der Äquivalente des Ammoniumfluorids (von 10 Äq. auf 13 Äq.) und die Verlängerung der Reaktionszeit auf 7 d führte zu einer ähnlichen Ausbeute von 6 % (Abb. 4-15, Tabelle Nr. 4). Erst durch die Verwendung von Triethylamintrihydrofluorid in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Dichlormethan (1:1) konnte das gewünschte Produkt **156** nach 16 h in quantitativer Ausbeute erhalten werden (Abb. 4-15, Tabelle Nr. 5).^[186]

Somit wurde das 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156** in drei Stufen ausgehend von kommerziell erhältlichem Uridin **154** mit einer Gesamtausbeute von 65 % dargestellt. Im Vergleich dazu wurde das Produkt in früheren Arbeiten mit einer ebenfalls häufig verwendeten Dimethoxytrityl-Schutzgruppe (DMTr) statt der TBDMS-Schutzgruppe in einer Gesamtausbeute von nur 50 % erhalten.^[148] Die säulenchromatographischen Reinigungen dieser Verbindungen waren außerdem aufgrund der Säurelabilität der DMTr-Gruppe stark erschwert.^[187]

4.1.4.3 Synthese des *cycloSal*-Nucleotids **85**

Zur Darstellung des *cycloSal*-Derivats **85** wurde zuerst ein geeigneter Salicylalkohol **152** synthetisiert. Die Arbeitsgruppe um C. Meier stellten verschiedene Derivate mit variierenden Substituenten in *para*-Position zur Hydroxygruppe (5-Position) dar und untersuchten diese auf ihre Hydrolysestabilität.^[188] Die Studie zeigte, dass akzeptorsubstituierte Derivate eine niedrigere Hydrolysestabilität aufweisen. Daraus folgt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der Diphosphatkupplung von der Akzeptorstärke des Substituenten abhängig ist. In vorherigen Arbeiten wurde als Akzeptor die Nitrogruppe verwendet, da aufgrund des stark negativen M- und I-Effekts eine sehr schnelle Reaktion zu erwarten war. Ebenso wurde jedoch auch die Stabilität der Verbindungen verringert. Infolge dessen traten synthetische Probleme bei der Darstellung des gewünschten *cycloSal*-Derivats auf.^[148] Im Vergleich dazu ist das 5-Methylsulfonyl-Derivat ähnlich

reaktiv, aber deutlich stabiler und somit einfacher zu handhaben.^[178] Die Synthese des Salicylalkohols **152** erfolgte analog literaturbekannter Verfahren^[189-190] und wurde ausgehend von kommerziell erhältlichem *para*-(Methylthio)phenol **157** durchgeführt (Abb. 4-16).

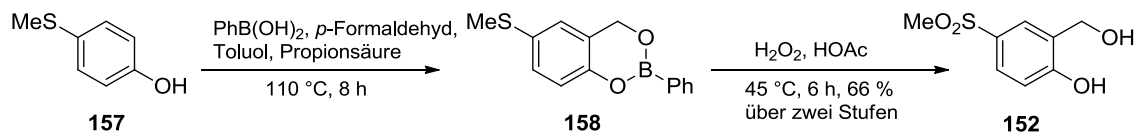


Abb. 4-16 Synthese von 5-(Methylsulfonyl)-salicylalkohol **152**

Die selektive Einführung der Hydroxymethylgruppe in *ortho*-Position zur Hydroxygruppe konnte unter Verwendung von Phenylboronsäure in Anwesenheit von Propionsäure und *para*-Formaldehyd in Toluol realisiert werden. Die Reaktion wurde in einer Dean-Stark-Apparatur durchgeführt, um das während der Reaktion gebildete Wasser direkt zu entfernen. Außerdem wurde durch die erhöhte Temperatur der *para*-Formaldehyd in das Monomer gespalten, welches die reaktive Verbindung ist. Zu Beginn wurden zwei Äquivalente *para*-Formaldehyd zugegeben und nach 2 h, 4 h, 6 h und 8 h jeweils die gleiche Menge nachgegeben. Unter diesen Bedingungen bildete sich das stabile Benzodioxaborin-Derivat **158**. Da elektronenreiche Aromaten die Reaktion beschleunigen, wurde *p*-(Methylthio)phenol **157** statt das bereits oxidierte *p*-(Methylsulfonyl)phenol verwendet. Außerdem konnte durch anschließende Reaktion mit Wasserstoffperoxid in einem Schritt der Schwefel oxidiert und der freie Salicylalkohol **152** erhalten werden. Die hierbei erreichte Ausbeute von 66 % über zwei Stufen übertraf die Literaturausbeute von 54 %.^[178]

Für die Synthese des *cycloSal*-Derivats **85** waren noch zwei weitere Schritte notwendig. Diese sind ebenfalls in der Literatur beschrieben und beinhalten die Bildung des Chlorphosphits **159** und die Kupplung mit dem 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156** (Abb. 4-17).^[181]

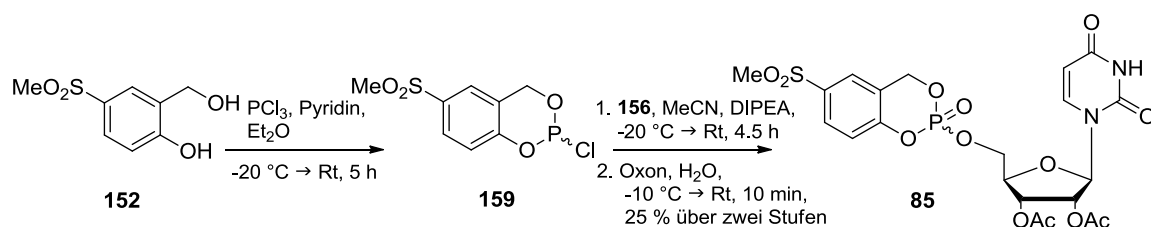


Abb. 4-17 Synthese von 5-(Methylsulfonyl)-*cycloSal*-2',3'-*O*-diacetyluridin-monophosphat **85**

Chlorphosphite sind sehr anfällig gegenüber Hydrolyse und Oxidationen und müssen daher unter Wasser- und Luftausschluss synthetisiert und gelagert werden. Der 5-(Methylsulfonyl)-salicylalkohol **152** musste vor der Reaktion fein gemörsert werden, um eine möglichst große Oberfläche zu erhalten, da er in Diethylether sehr schlecht löslich ist. Daher wurde anschließend eine möglichst große Menge Diethylether (70 mL Et₂O für 1 g Alkohol) zu dem Salicylalkohol **152** gegeben und die Suspension für 30 min im Ultraschallbad belassen. Das Gemisch wurde auf -20 °C gekühlt und frisch destilliertes Phosphortrichlorid hinzugegeben. Durch die recht hohe Verdünnung und die tiefen Temperaturen kommt es bevorzugt zur intramolekularen Ringschlussreaktion. Pyridin als Lösung in Diethylether wurde über einen Zeitraum von 3 h zugetropft, um das langsame Ausfallen des Pyridiniumchlorids und somit eine leichtere Abtrennung vom Produkt zu gewährleisten. Das Gemisch wurde noch für 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt und über Nacht bei -20 °C gelagert. Anschließend wurde das ausgefallene Pyridiniumhydrochlorid unter Argon abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinheit des Produktes wurde über ³¹P-NMR-Spektroskopie bestimmt, wobei die Probe unter Argon abgefüllt, in über Aluminiumoxid getrocknetem deuterierten Chloroform gelöst und direkt vermessen wurde. Im ³¹P-NMR-Spektrum (Abb. 4-18, links) liegt das Signal der Phosphor-(III)-Spezies für das Chlorphosphit **159** bei 139.45 ppm. Bei -1.24 ppm bis -1.26 ppm liegt ein Multiplett mit dem Intergral 0.08 im Verhältnis zum Produkt, welches auf eins normiert wurde. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um das Hydrolyse-Produkt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter gereinigt und direkt weiter umgesetzt.

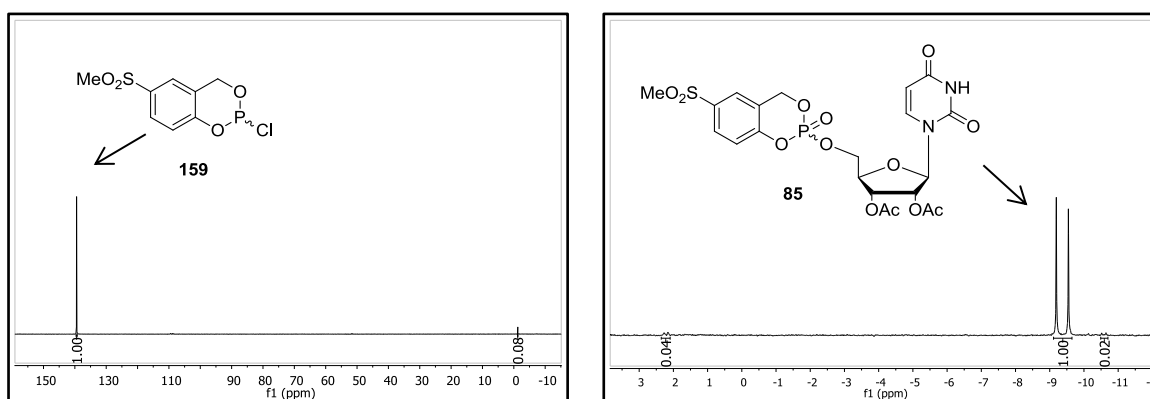


Abb. 4-18 ³¹P-NMR-Spektren von **159** und **85**

Die Bildung des *cycloSal*-Derivats **85** musste ebenfalls unter strengem Sauerstoff- und Wasserausschluss durchgeführt werden. Zu Beginn wurde das 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156**

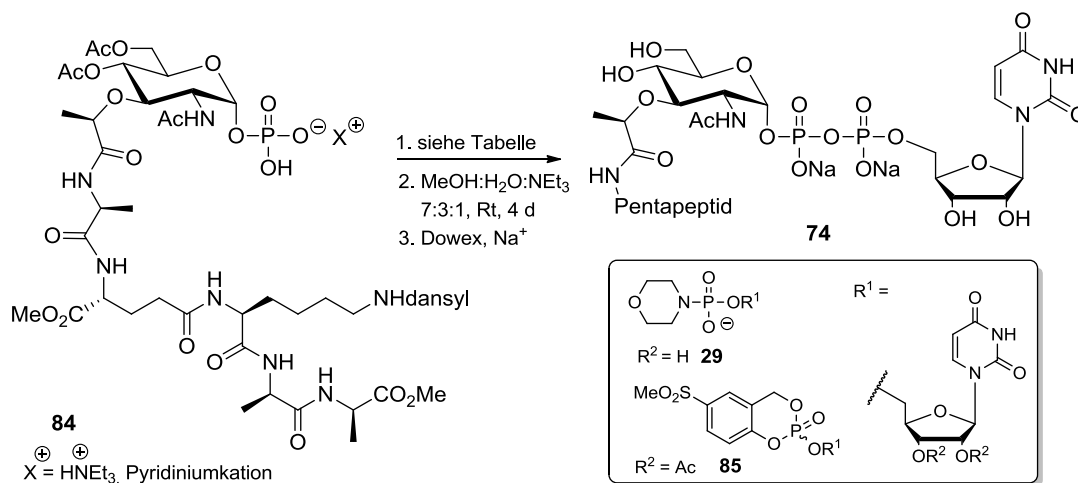
unter Hochvakuum für 30 min getrocknet, um das restliche Wasser zu entfernen. Über Phosphorpentoxid getrocknetes Acetonitril war nicht ausreichend wasserfrei, weshalb sehr trockenes Acetonitril von *Sigma Aldrich* bezogen werden musste. Bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden Diisopropylethylamin und das Chlorphosphit **159** langsam zu der Lösung des Nucleotids **156** gegeben und bei Raumtemperatur für 4 h gerührt. Die anschließende direkte Oxidation mit Oxon ($\text{KHSO}_5 \cdot \frac{1}{2} \text{KHSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{K}_2\text{SO}_4$) in Wasser fand bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ statt und wurde nach 15 min beendet, damit die Hydrolyse möglichst vermieden wurde. *Meier et al.* berichteten von einer Ausbeutesteigerung durch die Verwendung von Oxon im Gegensatz zum früher verwendeten *tert*-Butylhydroperoxid.^[178] Das Rohprodukt war stabil genug, um säulenchromatographisch gereinigt zu werden. Es konnte zwar lediglich eine Ausbeute von 25 % erzielt werden, aber das Produkt wurde in einer sehr guten Reinheit erhalten. Im ^{31}P -NMR-Spektrum (Abb. 4-18, rechts) sind neben den Produktpeaks der beiden Diastereomere bei -9.19 ppm und -9.55 ppm nur geringe Verunreinigungen bei $2.32\text{ bis }2.16\text{ ppm}$ und $-10.52\text{ bis }-10.64\text{ ppm}$ zu erkennen. Somit konnte unter literaturbekannten Bedingungen das 5-(Methylsulfonyl)-*cycloSal*-2',3'-*O*-diacetyluridin-monophosphat **85** als Diastereomeregemisch (1:0.7) erhalten werden. Die synthetisierte Menge war ausreichend, um die Diphosphatkupplung zu erproben. Aus diesem Grund wurden die Reaktionsbedingungen nicht weiter optimiert.

4.1.5 Abschließende Schritte zum dansylierten Park-Nucleotid **71**

Zum Abschluss der Synthese des dansylierten Park-Nucleotids **71** waren die Diphosphatkupplung und die abschließende globale Entschützung notwendig. Für die Diphosphatkupplung sollten zwei literaturbekannte Methoden erprobt werden. Diese waren die Kupplung des 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptids **84** mit dem in dieser Arbeit synthetisierten *cycloSal*-Derivat **85**^[180] und die Kupplung unter Bedingungen nach *Khorana* und *Moffatt*^[118], wobei ein kommerziell erhältliches Uridinmonophosphomorpholidat **29** gekuppelt werden sollte (Tab. 4-4).

Zuerst wurde der Versuch unternommen, die Bedingungen nach *Meier et al.*^[178] zu reproduzieren (Tab. 4-4, Nr. 1). Nach der Literatur wurden die besten Ausbeuten bei der Verwendung eines Zuckerphosphats mit Triethylammonium als Gegenion erhalten.^[180] So wurden zwei Äquivalente des entschützten Zuckerphosphats **84** als Triethylammoniumsalz für 4 h unter Hochvakuum getrocknet und anschließend unter Argon in Dimethylformamid mit aktiviertem Molsieb für eine Stunde gerührt. Das *cycloSal*-Derivat **85** wurde, gelöst in Dimethylformamid, über 10 min zugetropft. Nach 22 h Reaktionszeit und anschließender

basischer Entschützung aller Schutzgruppen konnte dem Produkt **74** kein Peak im Massenspektrum zugeordnet werden. Es konnten große Mengen an Zuckermonophosphat **84** und Uridinmonophosphat, welches durch Hydrolyse des *cycloSal*-Derivats **85** entstanden war, nachgewiesen werden. Im ^{31}P -NMR-Spektrum konnten lediglich Spuren eines Diphosphats detektiert werden.



Nr.	Zucker	Nucleotid	Reagenzien	Zeit	Ausbeute ^a
1	3.65 μmol	85 (0.5 Äq.)	DMF	22 h	-
2	10.2 μmol	85 (2.5 Äq.)	DMF	6 d	-
3	3.65 μmol	29 (1.5 Äq.)	1 <i>H</i> -Tetrazol, Pyridin	2 d	33 %
4	180 μmol	29 (1.5 Äq.)	1 <i>H</i> -Tetrazol, Pyridin	3 d	25 %

a: nach Diphosphatkupplung, globaler Entschützung und Ionenaustauschchromatographie

Tab. 4-4 Synthese des dansylierten Park-Nucleotids **71**

Da die Synthese des Phosphomuraminsäure-pentapeptids **84** sehr zeitintensiv war und über viele Stufen verlief, ist die Verwendung von zwei Äquivalenten gegenüber dem weniger aufwändig zu synthetisierenden *cycloSal*-Derivat **85** nicht vorteilhaft. Deshalb wurde beim zweiten Versuch (Tab. 4-4, Nr. 2) das Nucleotid **85** entgegen den Protokollen von *Meier et al.* im Überschuss (2.5 Äq.) eingesetzt. Die Diphosphatkupplung wurde über 6 d und die anschließende globale Entschützung für 2 d gerührt. Aus dem Rohprodukt konnte im ^{31}P -NMR-Spektrum ein Anteil an Diphosphat identifiziert werden. Nach *reversed-phase*- (RP)-säulenchromatographischer Reinigung konnte in einer Fraktion das Diphosphat zwar angereichert, aber nicht sauber erhalten werden. Da die Menge des Feststoffes in dieser Fraktion bereits sehr klein war, wurde auf eine weitere Reinigung verzichtet. Daraus folgt,

dass der *cycloSal*-Ansatz keine geeignete Methode für die Diphosphatkupplung dieser Komponenten zu sein scheint.

Für die Diphosphatkupplung nach der *Khorana-Moffatt*-Methode wurden die Bedingungen in einer Synthese eines Park-Nucleotid-Derivats nach Wong^[115] nachvollzogen (Tab. 4-4, Nr. 3). Das Zuckerphosphat **84** als Pyridiniumsalz und das Uridin-5'-monophosphomorpholidat **29** wurden jeweils dreimal mit Pyridin coevaporiert, um restliches Wasser zu entfernen. Anschließend wurden beide Komponenten zusammen in Pyridin gelöst, mit 1*H*-Tetrazol zur Aktivierung versetzt (*Wong*-Variante) und für 2 d gerührt. Nach Entschützung wurde vom Rohgemisch ein ³¹P-NMR-Spektrum aufgenommen, und als Hauptkomponente wurden ein Diphosphat identifiziert (Abb. 4-19, links). Außerdem wurden nur Spuren an Edukt **84** gefunden. Die Vorreinigung mit RP-Säulenchromatographie, anschließender RP-HPLC-Reinigung und Ionenaustauschchromatographie ergab das Produkt **74** als Tetranatrium-Salz in 33 % Ausbeute und guter Reinheit (Abb. 4-19, rechts).

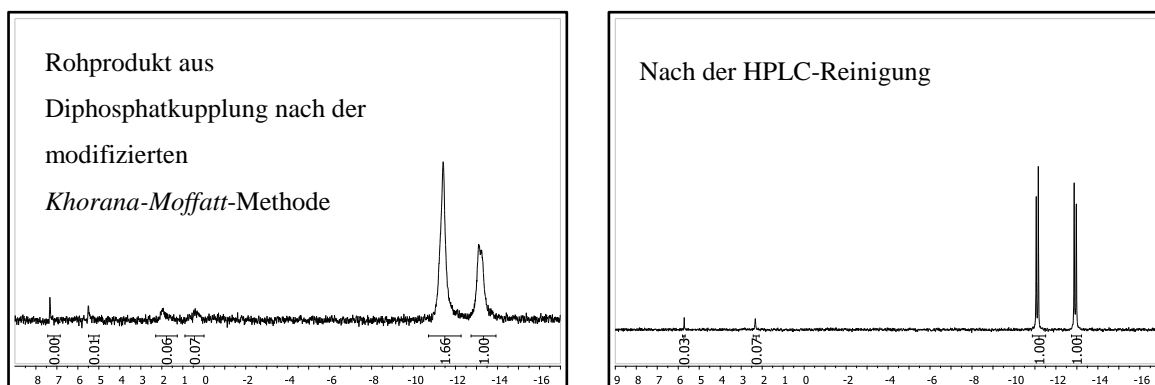


Abb. 4-19 ³¹P-NMR-Spektren des Rohproduktes und nach HPLC-Reinigung des Park-Nucleotids **71**

Durch HPLC-Coinjektion mit einem aus natürlicher Quelle isolierten und anschließend dansylierten Park-Nucleotid **71** (zur Verfügung gestellt von A. Spork) konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass das chemisch dargestellte Park-Nucleotid **71** mit dem natürlichen Park-Nucleotid übereinstimmt. Ein fluoreszenzbasierter *MraY*-Assay wurde kürzlich erfolgreich mit dem in dieser Arbeit synthetisierten dansylierten Park-Nucleotid **71** durchgeführt.^[191]

Die Reaktion wurde noch zweimal in verschiedenen Ansatzgrößen (15 μ mol, 180 μ mol) und Reaktionszeiten wiederholt, wobei in beiden Ansätzen eine Ausbeute von 25 % erzielt werden konnte (Tabelle 4-4, Nr. 4). Als zweite Diphosphatkomponente wurde das Dimer des Uridinmonophosphats (ohne Abbildung) charakterisiert, welches durch Kupplung von zwei Uridin-5'-monophosphomorpholidat-Molekülen **29** entstanden war. Die Bildung des

Dimers unter diesen Bedingungen wurde ebenfalls in der Literatur beschrieben.^[123] Da das Uridin-Derivat **29** in 1.5 Äq. zugegeben wurde, konnte die Bildung des Dimers nicht verhindert werden. Aufgrund dieser Nebenreaktion dürfte bei einer Erhöhung der Äquivalente dieser Komponente keine Verbesserung der Ausbeute zu erwarten sein. Da im Rohprodukt schon große Anteile des Produktes **71** zu beobachten waren, scheint der Umsatz gut zu sein (Abb. 4-19, links). Die geringe isolierte Ausbeute könnte an Reinigungsproblemen liegen. Es mussten jeweils mindestens zwei chromatographische Reinigungen durchgeführt werden. Weitere Optimierungen dieser Synthese stehen noch aus. Es wäre möglich, die Temperatur oder die Äquivalente von *1H*-Tetrazol zu variieren (vgl. Kap. 4.2).^[123] Außerdem könnte eine Methode mit Carbodiimidazol zur Aktivierung in diesem Fall bessere Ausbeuten liefern.^[169] Das dansylierte Park-Nucleotid **71** konnte über 14 Stufen ausgehend von *N*-Acetylglucosamin **88** in einer Gesamtausbeute von 4 % erhalten werden. Die Syntheseschritte der publizierten Synthese von *Hitchcock*^[124] konnten nicht reproduziert werden und mussten jeweils optimiert werden.

4.2 Synthese der UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8**

4.2.1 Synthese von 1-Phospho-glycosylmethylester **21**

Die Synthese des Zuckerphosphats **21** für die Darstellung von Uridindiphosphat-*N*-acetylmuraminsäure **8** wurde auf Basis der Strategie des Zuckerphosphats **36** für das dansylierte Park-Nucleotid **71** durchgeführt, wobei einige Schritte optimiert wurden.

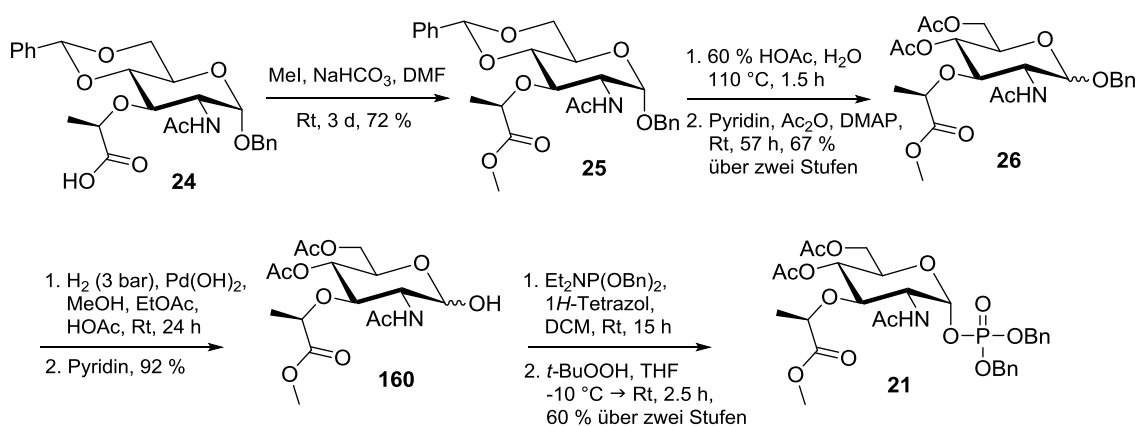


Abb. 4-20 Synthese des Methylester-geschützten Zuckerphosphats **21**

Hierbei musste die Carboxylgruppe bis zur letzten Stufe geschützt vorliegen, da sie erst am Ende der Syntheseroute in einer globalen basischen Schutzgruppenabspaltung freigesetzt

werden sollte. Hierfür wurde die bereits für einige Aminosäuren verwendete Methylester-Funktion gewählt.

Ausgegangen wurde von dem bereits synthetisierten geschützten Muraminsäurederivat **24** (Abb. 4-20). Zur Methylierung der Carboxylgruppe wurde Methyljodid mit Natriumhydrogencarbonat als Base verwendet.^[161] Unter diesen Bedingungen konnte das Produkt **25** in einer guten Ausbeute von 72 % erhalten werden.

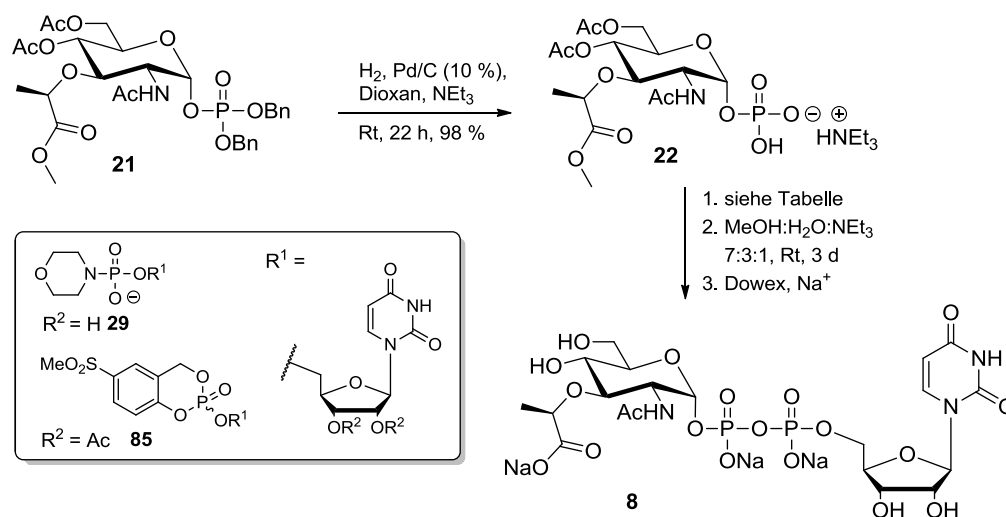
Im Anschluss wurden die Hydroxygruppen an 4- und 6-Position des Zuckers **25** entschützt und direkt acetyliert. Zur vollständigen Benzyliden-Entschätzung musste im Vergleich zu dem als Phenylsulfonylethylester geschützten Derivat **105** doppelt so lange bei 110 °C gerührt werden. Bei der anschließenden Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Dimethylaminopyridin in Pyridin musste die Zeit für eine akzeptable Ausbeute von 67 % ebenfalls deutlich verlängert werden (von 16 h auf 57 h). Eine kürzere Reaktionszeit (20 h) führte zu großen Mengen von einfach acetyliertem Zuckerderivat (einfach geschützt: 30 %, zweifach geschützt: 44 %). Die einfach geschützten Derivate wurden nochmals unter den gleichen Bedingungen umgesetzt, um die Gesamtausbeute zu erhöhen. Unter diesen Bedingungen entstand ein Anomerengemisch von **26** im Verhältnis $\alpha:\beta = 5:1$.

Die Benzylentschätzung zum Zucker **160** gelang unter den für das Park-Nucleotid **71** verwendeten Bedingungen bei kürzerer Reaktionszeit von nur 24 h mit einer exzellenten Ausbeute von 92 %. Hierbei war eventuell die kleinere Schutzgruppe an der Säurefunktion aufgrund eines verringerten sterischen Anspruchs von Vorteil.

Der letzte Schritt bestand in der α -selektiven Einführung der Phosphatgruppe an der anomeren Position des Lactols **160**. Diese konnte mit Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit sowie 1*H*-Tetrazol und anschließender Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid bei gleicher Reaktionszeit wie zuvor und vergleichbar guter Ausbeute von 60 % erreicht werden. Hierbei musste allerdings das Produkt **21** am Ende säulenchromatographisch gereinigt werden, da eine Umkristallisation fehlschlug. Dies lag wahrscheinlich an der etwas höheren Polarität des Moleküls. Mit dieser Syntheseroute wurde das gewünschte Glycosylphosphat **21** in fünf Stufen mit einer Gesamtausbeute von 27 % ausgehend von der kommerziell erhältlichen geschützten Muraminsäure **24** erhalten.

4.2.2 Abschließende Schritte zur UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8**

Zur Vervollständigung der Synthese der UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** musste die Phosphatgruppe am Zuckerderivat debenzyliert und die Diphosphatkupplung durchgeführt werden (Abb. 4-21).



Nr.	Zucker	Nucleotid	Reagenzien	Zeit	Ausbeute
1	36 μmol	85 (0.5 Äq.)	DMF	2 d	16 %
2	80 μmol	29 (1.5 Äq.)	1 <i>H</i> -Tetrazol, Pyridin	5 d	59 %

Abb. 4-21 Synthese von UDP-N-Acetylmuraminsäure **8**

Die Benzylentschützung am Phosphat **21** konnte in sehr guter Ausbeute von 98 % durch Hydrogenolyse unter Palladium-Katalyse mit Zugabe von Triethylamin in Dioxan durchgeführt werden.^[192] Obwohl Triethylamin direkt am Anfang der Reaktion zugegeben wurde, wurde keine Abspaltung der Schutzgruppen beobachtet.

Auch hier wurde die Diphosphatkupplung mit den beiden in Kap. 4.1.5 vorgestellten Methoden durchgeführt. Die Synthese wurde analog zu der von *Meier* publizierten Methode^[178] mit einer längeren Reaktionszeit durchgeführt (Abb. 4-21, Tabelle Nr. 1). Anschließend wurde global mit Triethylamin in Methanol und Wasser entschützt. Die Reinigung war ebenfalls, analog zum dansylierten Park-Nucleotid **71**, recht aufwändig. Zwei säulenchromatographische Reinigungen mit RP-Kieselgel und eine präparative RP-HPLC wurden durchgeführt, um nach anschließendem Ionenaustausch (Dowex[®]) das Produkt **8** in sehr guter Reinheit als Trinatriumsalz in 16 % Ausbeute zu erhalten. Aufgrund der geringen Ausbeute ist auch für diese Komponenten die Methode wenig geeignet. In einer publizierten Synthese mit Kupplung von α -D-N-Acetylglucosamin mit dem ebenfalls hier verwendeten *cycloSal*-Derivat **85** konnte nur eine Ausbeute von 39 % erzielt werden.^[178] Dies deutet darauf hin, dass N-Acetylglucosamin-Derivate nicht effektiv mit der *cycloSal*-Methode gekuppelt werden können.

Die Diphosphatkupplung wurde ebenfalls unter modifizierten *Khorana-Moffatt*-Bedingungen^[118] mit Uridin-5'-monophosphomorpholidat **29** und 1*H*-Tetrazol in einer

Reaktionszeit von 5 d mit anschließender Entschützung in 3 d durchgeführt. Das Diphosphat **8** wurde ebenfalls mit RP-Säulenchromatographie und RP-HPLC gereinigt und anschließend mittels Ionenaustausch in das Natriumsalz überführt. Somit konnte die UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** in sehr guter Reinheit und in einer Ausbeute von 59 % erhalten werden (Abb. 4-21, Tabelle Nr. 2). Da diese Reaktion sehr empfindlich gegenüber Feuchtigkeit ist, spielt auch das Verfahren für die Trocknung der Edukte und Materialien eine entscheidende Rolle bei der Ausbeute. Nach intensiven NMR-Studien erhielt die Arbeitsgruppe um *Humljan* das UDP-MurNAc **8** unter ähnlichen Bedingungen in einer Ausbeute von 65 % (vgl. Kap. 2.3.2).^[123] Die Gesamtausbeute der siebenstufigen Reaktionssequenz zum UDP-MurNAc **8** ausgehend von geschützter Muraminsäure **24** betrug in dieser Arbeit 16 %.

Quelle (Jahr)	Stufenzahl ausgehend von 88 (Ausbeute)	Stufenzahl ausgehend von 24 (Ausbeute)	Ausbeute Einführung des Phosphats	Ausbeute Diphosphatkupplung
<i>Dini</i> ^[121] (2000)	9 Stufen (k. A.)*	6 Stufen (14 %)	43 %	52 %
<i>Babic</i> ^[122] (2007)	10 Stufen (7 %)	7 Stufen (25 %)	55 %	51 %
<i>Humljan</i> ^[123] (2008)	9 Stufen (19 %)	6 Stufen (30 %)	65 %	65 %
vorliegende Arbeit	10 Stufen (10 %)	7 Stufen (16 %)	60 %	59 %

*k. A.: = keine Angabe

Tab. 4-5 Vergleich der verschiedenen Synthesen zum UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8**

Die erste stereoselektive Synthese von UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** nach *Dini et al.*^[121] aus dem Jahr 2000 konnte mittels einer geeigneten Schutzgruppenstrategie in nur sechs Stufen ausgehend von der geschützten Muraminsäure **24** durchgeführt werden. Durch die Bildung des cyclischen Lactons **30** mit der Lactylseitenkette und der Hydroxy-Gruppe an 4-Position konnte eine Stufe gespart werden. Es wurde aber eine etwas geringere Gesamtausbeute von 14 % im Vergleich zu der vorliegenden Arbeit (16 %) erreicht. Bei der Synthese konnte die Phosphatgruppe mit Diphenylchlorphosphat und 4-Pyrrolidinopyridin in nur 43 % Ausbeute eingeführt werden, und die Diphosphatkupplung gelang in 52 % Ausbeute.

Eine andere Synthese von UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** aus dem Jahr 2007 wurde von *Babic* und *Pecar* publiziert.^[122] Da die Einführung der Lactylseitenkette mit racemischer

2-Chlorpropionsäure durchgeführt wurde, konnte hier das gewünschte Diastereomer **24** in nur 63 % erhalten werden. Dadurch ist die Gesamtausbeute ausgehend von *N*-Acetylglucosamin **88** mit 7 % geringer als in der vorliegenden Arbeit (10 %). Geht man aber von der ebenfalls kommerziell erhältlichen geschützten Muraminsäure **24** aus, konnte eine höhere Gesamtausbeute von 25 % erreicht werden. Dies liegt hauptsächlich an der in der vorliegenden Arbeit problematischen Umschätzung von der Benzyliden- zur Acetyl-Schutzgruppe, die in nur 67 % Ausbeute verlief. Die weiteren Reaktionsschritte gelangen in vergleichbaren Ausbeuten zur publizierten Synthese von *Babic* und *Pecar*.^[122] Die Arbeitsgruppe um *Humljan*^[123] verwendeten die Synthesestrategie von *Dini*, konnte aber die Ausbeuten der Schlüsselschritte deutlich erhöhen. Die Einführung des Phosphats gelang in 65 % Ausbeute und die Diphosphatkupplung konnte nach intensiven Optimierungen ebenfalls in 65 % Ausbeute durchgeführt werden. Diese Verbesserungen führten zu einer Gesamtausbeute von 30 % ausgehend von geschützter Muraminsäure **24**. In der vorliegenden Arbeit konnten zwar im Vergleich mit den publizierten Arbeiten nicht die beste Gesamtausbeute erzielt werden, aber die Schlüsselschritte gelangen in vergleichbaren Ausbeuten. Einige Stufen müssten noch optimiert werden.

Es konnte dennoch gezeigt werden, dass diese hier vorgestellten Syntheserouten zum Aufbau der Kohlenhydratbausteine **36** und **21** als Vorläufer für zwei wichtige Intermediate der Peptidoglycan-Biosynthese sehr robust sind. Aus dem Baustein **36** mit dem selektiv abspaltbaren Phenylsulfonylethylester sollten durch sequentielle Kupplung einzelner Aminosäuren ebenfalls die Intermediate der Enzyme aus der Peptidoglycan-Biosynthese MurD-F synthetisiert werden können. Ebenso wurde eine sehr effiziente Synthese für die Peptidseitenkette für das dansylierte Park-Nucleotid **71** entwickelt.

4.3 Synthese der Harnstoffpeptide

Für die Darstellung vereinfachter Analoga der Muraymycin-Antibiotika sollten zunächst verschiedene Harnstoffpeptide synthetisiert werden, die sich in jeweils einer Aminosäure unterscheiden. Die natürlichen Muraymycine variieren bei der Auswahl der Aminosäuren im Harnstoffpeptid nur geringfügig. Dies ist aus L-Valin, Epicapreomycidin und L-Leucin, (3*S*)-3-Hydroxy-L-leucin oder mit Fettsäuren veresterten (3*S*)-3-Hydroxy-L-leucin-Bausteinen aufgebaut. Um den Wirkmechanismus der Muraymycine zu erforschen oder potentielle neue Inhibitoren für MraY zu entdecken, ist eine Variation der Harnstoffpeptidkette wichtig. Die Funktion der Harnstoffpeptidkette in den Muraymycinen ist noch nicht vollständig bekannt. In dieser Arbeit wurde die aufwändig zu synthetisierende Aminosäure Epicapreomycidin jeweils gegen L-Lysin, L-Ornithin, L-Arginin, L-Alanin und L-Methionin ausgetauscht und in ein Harnstoffpeptid eingebaut. L-Valin und L-Leucin wurden als weitere Komponenten für die Harnstoffpeptide verwendet.

4.3.1 Synthese der geschützten Aminosäuren

Für die Harnstoffpeptid-Synthese mussten die Aminosäuren zuerst auf geeignete Weise geschützt werden. Auch hier wurde, wie in vorherigen Kapiteln erwähnt, für Aminogruppen die etablierte Cbz-Schutzgruppenchemie verwendet, da bei der Synthese des Peptids für das dansylierte Park-Nucleotid **71** gute Ergebnisse beim Schützen und Entschützen erhalten wurden. Da ein Harnstoffpeptid über zwei C-Termini verfügt, wurden die beiden äußeren Carboxylgruppen mit orthogonal abspaltbaren Schutzgruppen versehen.

4.3.1.1 Synthese von L-Leucin-trimethylsilylethylester-trifluoracetat **89**

L-Leucin sollte in den geplanten Muraymycin-Analoga direkt mit der Uridineinheit verknüpft werden. Daher wurde eine temporäre, unter milden Bedingungen abspaltbare Esterschutzgruppe verwendet, wobei die Wahl auf 2-Trimethylsilylethylester (TMSE) fiel. Der TMSE-Ester ist sowohl unter Peptidkupplungsbedingungen als auch bei der Hydrogenolyse stabil. Die Abspaltung kann analog zu bekannten Silylschutzgruppen für Alkohole unter milden Bedingungen mit Fluorid-Ionen selektiv durchgeführt werden.^[193]

Die Synthese zum L-Leucintrimethylsilylethylester **89** wurde im Arbeitskreis *Ducho* bereits von *R. Linder* etabliert^[194] (Abb. 4-22). Zuerst wurde die Aminogruppe mit der

Cbz-Gruppe durch Verwendung von Cbz-Chlorid und Natriumcarbonat quantitativ geschützt.^[155]

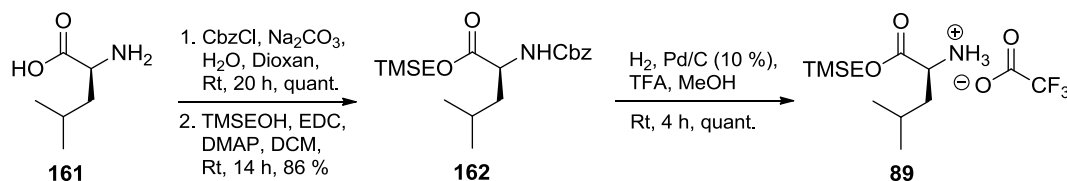


Abb. 4-22 Synthese von L-Leucintrimethylsilylester **89**

In dieser Arbeit wurde EDC **121** für die Aktivierung der Carboxylgruppe bei der Veresterung verwendet. Um die Bildung des unreaktiven *N*-Acylharnstoffs zu verhindern, wurde als Additiv *N,N*-Dimethylaminopyridin (DMAP) zugegeben. Unter diesen Bedingungen konnte der gewünschte Ester **162** in einer guten Ausbeute von 86 % erhalten werden. Die abschließende Cbz-Entschützung wurde zunächst mit Palladium auf Kohle in Methanol unter Wasserstoffatmosphäre durchgeführt. Allerdings konnte das freie Amin **89** in nur 51 % Ausbeute erhalten werden. Wahrscheinlich ist aufgrund der geringen sterischen Hinderung der Seitenkette der Angriff der nun freien Aminogruppe an die Estergruppe einer anderen Aminosäure möglich. Die Vermutung wurde aufgrund von ¹H-NMR-Spektren aufgestellt, deren Signale auf die Bildung von Dimeren oder Oligomeren hindeuteten. Um die Reaktivität der Aminogruppe abzusenken, wurde bei der Cbz-Entschützung Trifluoressigsäure zugegeben. Dadurch wurde die freie Aminogruppe protoniert und konnte nicht mehr weiter reagieren. L-Leucintrimethylsilylester-trifluoroacetat **89** konnte somit in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Die Gesamtausbeute dieser Reaktionssequenz betrug 86 % über drei Stufen ausgehend von L-Leucin **161**.

4.3.1.2 Synthese von *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-*tert*-butylester **57**

Zur Harnstoffkupplung sind, wie in Kapitel 2.5.2 beschrieben, verschiedene Methoden publiziert.^[135,145-147] Zum Beispiel kann die Harnstoffeinheit *in situ* durch die Verwendung von Carbonyldiimidazol gebildet werden, oder eine der zu kuppelnden Aminosäuren wird vorher mit einer geeigneten Gruppe derivatisiert. Dafür sind Isonitrile oder *S*-Thiocarbamate geeignet. In dieser Arbeit wurde auf Basis einer literaturbekannten Synthese,^[145] die im Zuge einer Totalsynthese von Muraymycin D2 publiziert wurde, die Verwendung eines *S*-Methylthiocarbamats **57** zur Kupplung der Harnstoffpeptide untersucht. Dafür wurde kommerziell erhältlich L-Valin-*tert*-butylester-hydrochlorid **62**

in einem Schritt zum *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butylester **57** umgesetzt (Abb. 4-23).

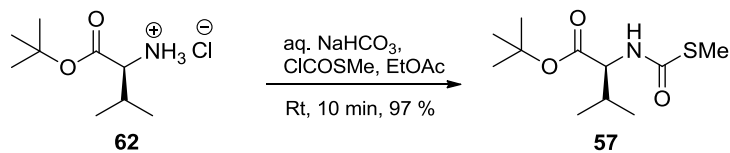


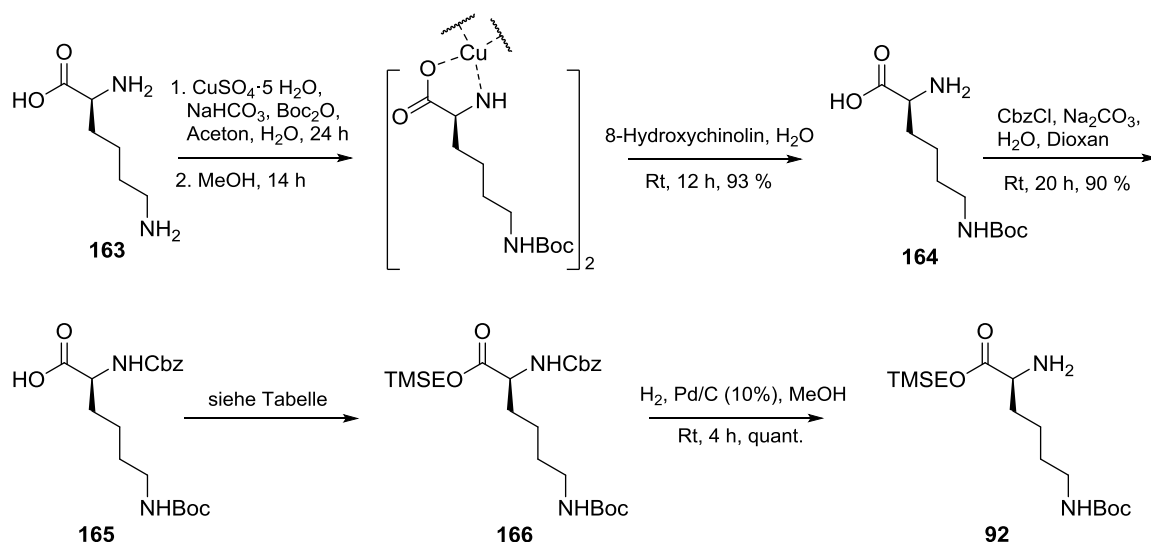
Abb. 4-23 Synthese von *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butylester **57**

Zu einem Gemisch aus *L*-Valin-*tert*-butylester-hydrochlorid **62** in ges. wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Ethylacetat wurde das feuchtigkeitsempfindliche Methylchlorthioformiat direkt aus einer zugeschmolzenen Ampulle gegeben. Die Reaktion wurde nach 10 min durch Zugabe von Methanol beendet. Das *S*-Methylthiocarbamat **57** wurde in einer exzellenten Ausbeute von 97 % erhalten.

4.3.1.3 Synthese von *N*^ε-Butyloxycarbonyl-*L*-lysintrimethylsilylethylester **92**

L-Lysin **163** wurde als Aminosäure für die Harnstoffpeptidkette ausgewählt, da sie wie das Epicapreomycin eine basische Seitenkette besitzt. Hierbei ist interessant, ob die Basizität ausreicht, um eine zu einem natürlichen Muraymycin-Derivat vergleichbare Aktivität zu erhalten. Außerdem ist die Seitenkette um eine Methyleneinheit länger und flexibler, sodass das daraus resultierende Muraymycin-Analogon eine andere Konformation einnehmen kann. Die Aminogruppe in der Seitenkette wurde für die weiteren Schritte permanent geschützt, um unter sauren Bedingungen in einer globalen Entschützung final abgespalten zu werden. Die *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Boc) hat sich als Schutzgruppe für Aminofunktionen in der Peptidchemie bewährt und ist stabil gegenüber basischen und hydrogenolytischen Bedingungen. Das *N*^ε-Boc-*L*-Lysin **164** ist zwar kommerziell erhältlich, kann aber in zwei einfachen Reaktionen aus preisgünstigerem *L*-Lysin **163** dargestellt werden (Abb. 4-24). Da sich die Reaktivitäten der beiden Aminogruppen nicht signifikant unterscheiden, wurde zur selektiven Schützung der Seitenkette die α -Aminogruppe mit einem Kupfer-Chelatkomplex maskiert.^[195] Dafür wurden *L*-Lysin-hydrochlorid **163** und Kupfersulfat-pentahydrat in einer wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst, was einen schnellen Farbwechsel von hellblau zu dunkelblau zur Folge hatte. Zur Schützung der freien Aminogruppe der Seitenkette wurde Boc-Anhydrid als Lösung in Aceton dazugegeben. Zum Freisetzen der geschützten Aminosäure **164** wurde der Komplex mit dem Komplexbildner 8-Hydroxychinolin in

Wasser suspendiert, wodurch ein Farbwechsel von blau zu gelbgrün erfolgte. Das *N*^ε-Boc-L-Lysin **164** konnte nach Gefriertrocknen der wässrigen Phase in sehr guten Ausbeuten von 93 % erhalten werden. Die selektive Bildung des gewünschten Regioisomers wurde auf der Stufe des Cbz-geschützten Lysins **165** durch Vergleiche der NMR-Spektren mit der kommerziell erhältlichen, derivatisierten Aminosäure erhalten.



Nr.	Aktivierungsreagenz	Äq.	Additiv	Zeit	Ausbeute
1	EDC	1.3	DMAP	14 h	13 %
2	DCC	1.5	DMAP	20 h	-*
3	PyBOP	1.5	-	23 h	18 %
4	EDC	2.0	DMAP	25 h	77 %

* Dieses Produkt war noch stark mit Dicyclohexylharnstoff verunreinigt

Abb. 4-24 Synthese von *N*^ε-Butyloxycarbonyl-L-lysintrimethylsilylester **92**

An der α -Aminogruppe der Verbindung **64** wurde unter etablierten Bedingungen die Cbz-Schutzgruppe in einer Ausbeute von 90 % eingeführt. Die TMSE-Veresterung ergab unter den Bedingungen, die für das Leucin etabliert worden waren, das gewünschte Produkt **166** in nur 13 % Ausbeute (Abb. 4-24, Tabelle Nr. 1). Da eine TMSE-Veresterung mit DCC als Aktivierungsreagenz und Dimethylaminopyridin (DMAP) als Additiv für ein ähnliches Lysinderivat mit guten Ausbeuten publiziert wurde,^[196] wurden diese Bedingungen getestet (Abb. 4-24, Tabelle Nr. 2). In diesem Fall konnte aber das Produkt nicht vom Nebenprodukt der DCC-Reaktion (Dicyclohexylharnstoff) abgetrennt werden. Zur Aktivierung von Carbonsäuren wurde bei Peptidkupplungen häufig mit Erfolg PyBOP **123** verwendet.^[197] Da es reaktiver als EDC/DMAP ist, wäre eine höhere Ausbeute zu erwarten. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte der TMSE-Ester **166** jedoch

in nur 18 % Ausbeute erhalten werden, da auch hier die Abtrennung des Nebenprodukts problematisch war (Abb. 4-24, Tabelle Nr. 3). Bei der Verwendung von EDC **121** und DMAP traten keine Probleme bei der Abtrennung auf, daher wurden mit diesen Reagenzien weitere Optimierungen durchgeführt. Die Erhöhung der Äquivalente von EDC **121** (von 1.3 Äq. zu 2.0 Äq.) und 2-Trimethylsilylethanol (1.3 Äq. zu 1.5 Äq.) und die Verlängerung der Reaktionszeit (von 14 h auf 25 h) ergab N^{α} -Cbz- N^{ϵ} -Boc-L-Lysin-OTMSE **166** in 77 % Ausbeute (Abb. 4-24, Tabelle Nr. 4, vgl. Nr. 1). Um das überschüssige 2-Trimethylsilylethanol zu entfernen, waren zwei säulenchromatographische Reinigungen notwendig. Im Multigramm-Maßstab wurde die Reaktion unter den optimierten Bedingungen wiederholt, und das Produkt **166** konnte in ca. 65-70 % erhalten werden, war aber noch mit 2-Trimethylsilylethanol verunreinigt. Die Verwendung einer geringeren Menge an 2-Trimethylsilylethanol würde die Reinigung wahrscheinlich vereinfachen. Ein Wechsel der Carboxylschutzgruppe für diese Aminosäure könnte für weiter führende Studien in Betracht gezogen werden.

Die abschließende Entfernung der Cbz-Schutzgruppe konnte in quantitativer Ausbeute unter Verwendung von Wasserstoff an Palladium in Methanol durchgeführt werden. Um eine Spaltung der Boc-Schutzgruppe zu vermeiden, wurde keine Säure zugesetzt. Es wurden keine Nebenprodukte durch Reaktionen des freienamins beobachtet. Das Zielprodukt N^{ϵ} -Butyloxycarbonyl-L-lysintrimethylsilylethylester **92** konnte in einer Gesamtausbeute von 64 % über vier Stufen ausgehend von L-Lysin **163** erhalten werden.

4.3.1.4 Synthese von N^{δ} -Boc-L-Ornithin-trimethylsilylethylester **93**

L-Ornithin **167** wurde als Aminosäure eingesetzt, da es die gleiche Kettenlänge wie das Epicapreomycin aufweist und ebenfalls eine basische Seitenkette besitzt. So ist ein direkter Vergleich des Einflusses der Basizität in den verschiedenen Muraymycin-Derivaten möglich. Da sich L-Ornithin und L-Lysin nur durch eine Methylengruppe unterscheiden, wurde die gleiche Schutzgruppenstrategie angewendet (Abb. 4-25). Bei der Boc-Schützung der Seitenkette wurden Bedingungen verwendet, wie sie für das L-Ornithin **167** in der Literatur beschrieben sind.^[198] Dabei wurden für die Komplexbildung Kupferacetat und Natriumhydroxid als Base eingesetzt. Auch hier bildete sich nach kurzer Zeit der dunkelblaue Kupfer-Ornithin-Komplex, der nach Boc-Schützung der Seitenkette abfiltriert wurde. Nach diesem Schritt konnte jedoch deutlich weniger Produkt im Vergleich zum L-Lysin isoliert werden. Die Freisetzung des Boc-geschützten Ornithins **65** gelang wiederum quantitativ. Das N^{δ} -Boc-L-Ornithin **65** konnte in lediglich 55 % Ausbeute

erhalten werden. Da aber relativ günstige Edukte eingesetzt wurden, ist auch diese Umsetzung insgesamt zufriedenstellend. Die NMR-Spektren der Cbz-geschützten Verbindung **168** stimmten mit denen der kommerziell erhältlichen derivatisierten Referenzsubstanz überein.

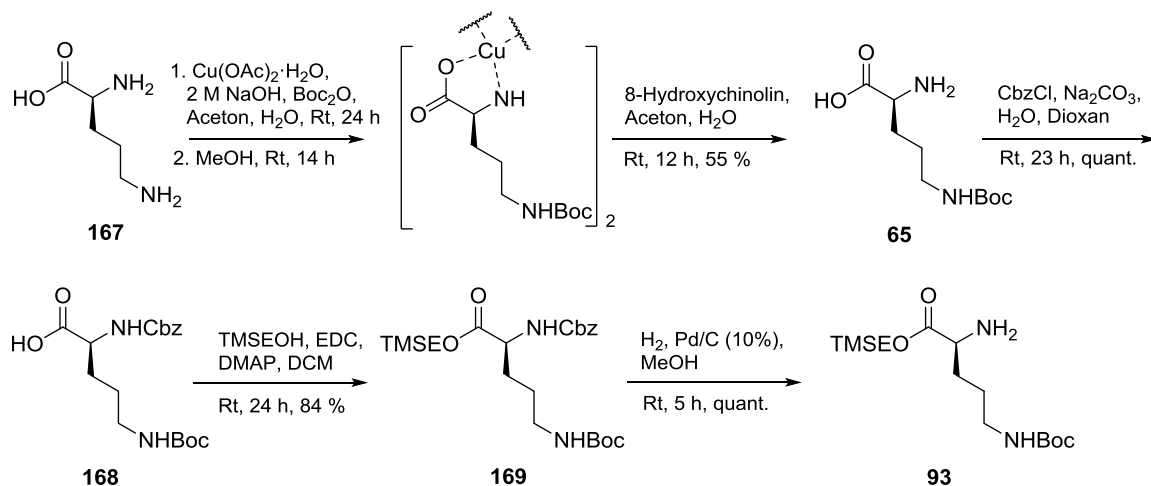


Abb. 4-25 Synthese von N^δ -Boc-L-Ornithintrimethylsilylethylester **93**

Die weiteren Schützungsreaktionen gelangen gemäß dem für L-Lysin verwendeten Verfahren in sehr guten Ausbeuten. Die Cbz-Schützung wurde 2 h länger gerührt, und das Produkt **168** konnte in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Die TMSE-Veresterung ergab den N^α -Cbz- N^δ -Boc-L-Ornithintrimethylsilylethylester **169** in 84 % Ausbeute. Bei der Erhöhung der Ansatzgröße erwies sich die Trennung des Produktes **169** vom 2-Trimethylsilylethanol ebenfalls als schwierig. Wenn Methanol im Laufmittel der säulenchromatographischen Reinigung verwendet wurde, sank die Ausbeute. Eine Umesterung mit Methanol zum Methylester wurde vermutet, was bei TMSE-Estern ein bekanntes Problem ist.^[193] Die Cbz-Entschützung gelang wiederum nach etwas längerer Reaktionszeit in quantitativer Ausbeute, die je nach Ansatzgröße 5 bis 13 h betrug. Die Gesamtausbeute der Reaktionssequenz zum Ornithin-Baustein **93** betrug aufgrund der moderaten Ausbeute im ersten Reaktionsschritt nur 46 % ausgehend von L-Ornithin **167**.

4.3.1.5 Synthese von 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuransulfonylchlorid **172**

L-Arginin **174** ist der Aminosäure Epicapreomycin aus den natürlichen Muraymycinen strukturell am ähnlichsten, da es ebenfalls eine Guanidineinheit in der Seitenkette enthält. Dabei ist interessant, ob die cyclische Struktur des Epicapreomycidins einen Einfluss auf die Aktivität im Muraymycin-Analogen hat. Die Guanidingruppe wurde auf andere Weise

geschützt als die Aminogruppen von L-Lysin und L-Ornithin. Hierfür hat sich eine ebenfalls sauer abspaltbare Schutzgruppe, die 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuranyl-Gruppe (Pbf), bewährt.^[199] Diese ist, im Vergleich zur dem ebenso häufig verwendeten Sechsring-Analogon Pmc, unter milderer Bedingungen abspaltbar. Im Fünfring überlappen die nicht-bindenden Orbitale des Sauerstoffatoms besser mit den π -Orbitalen des aromatischen Systems und stabilisieren somit das Kation nach der Abspaltung effektiver.^[200] Die Methylgruppen am Aromaten erhöhen die Elektronendichte zusätzlich im aromatischen Ring, sodass eine optimalere Überlappung mit den d-Orbitalen des Schwefels besteht. Dies schwächt die S-N-Bindung zwischen der Pbf-Gruppe und der Guanidin-Gruppe im Arginin und führt somit zu einer erleichterten Abspaltung. Zur Einführung dieser Gruppe wurde Pbf-Chlorid **172** verwendet, welches ausgehend von kommerziell erhältlichem 2,3,5-Trimethylphenol **170** in zwei Stufen nach literaturbekannten Synthesen^[201-202] dargestellt wurde (Abb. 4-26).

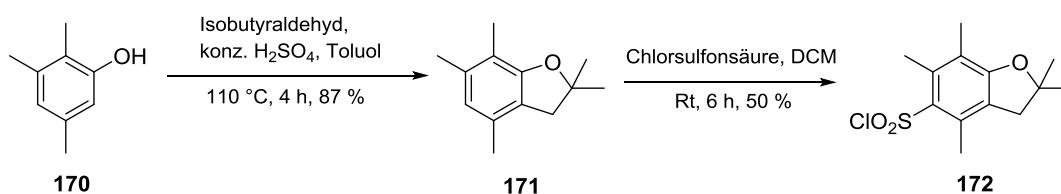


Abb. 4-26 Synthese von Pbf-Cl **172**

Die Reaktion wurde in einer Dean-Stark-Apparatur durchgeführt, um das entstehende Wasser direkt zu entfernen. Dafür wurde 2,3,5-Trimethylphenol **170** in Toluol gelöst und mit Isobutyraldehyd und katalytischen Mengen konz. Schwefelsäure versetzt.^[201] Eine elektrophile aromatische Substitution des protonierten Aldehyds und anschließender intramolekularer Angriff der Hydroxygruppe nach vorheriger Wasserabspaltung führt zur Bildung des Pentamethyldihydrobenzofurans **171** in einer guten Ausbeute von 87 %.

Die Chlorsulfonierung wurde bei 0 °C in Dichlormethan mit Chlorsulfonsäure durchgeführt.^[202] Das Pbf-Chlorid **172** konnte in einer berechneten Ausbeute von 50 % mit einer Verunreinigung (10 %) durch das Edukt **171** erhalten werden. Dies war ausreichend sauber, um mit dem Arginin **175** umgesetzt zu werden. Durch das Edukt **171** waren keine Nebenreaktionen zu erwarten.

4.3.1.6 Synthese von N^{ε} -Pbf-L-Arginintrimethylsilylethylester **94**

Bei der Synthese des N^{ε} -Pbf-L-Arginintrimethylsilylesters **94** wurden zwei verschiedene Reaktionswege durchgeführt. Zum einen wurde das kommerziell erhältliche

L-Arginin **174** zuerst mit einer Cbz-Schutzgruppe versehen und anschließend in der Seitenkette mit Pbf-Chlorid **172** geschützt. Zum anderen wurde das ebenfalls kommerziell erhältliche, aber teurere *N*^ε-Pbf-L-Arginin **173** direkt mit der Cbz-Gruppe geschützt. Die weiteren Schritte konnten analog zu den vorher beschriebenen Aminosäuren durchgeführt werden (Abb. 4-27).

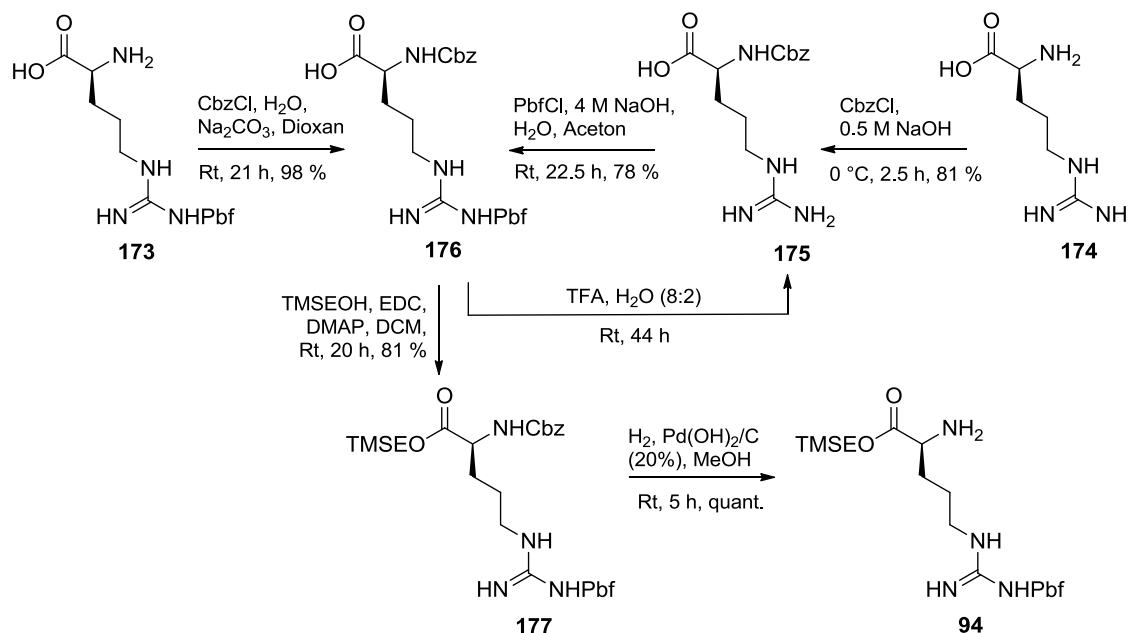


Abb. 4-27 Synthese von *N*^ε-Pbf-L-Arginintrimethylsilylethylester **94**

Die Cbz-Schützung von Pbf-geschütztem L-Arginin **173** konnte unter den gleichen Bedingungen wie bei den anderen Aminosäuren durchgeführt werden. Aus Löslichkeitsgründen wurde eine Mischung aus Wasser und Dioxan (1:1) verwendet, und das Produkt **176** konnte in einer exzellenten Ausbeute von 98 % erhalten werden. Die Cbz-Schützung von L-Arginin **174** konnte in einer pH-kontrollierten Reaktion erhalten werden.^[203] Hierfür wurde L-Arginin **174** in wässriger Natriumhydroxid-Lösung gelöst und das Cbz-Chlorid so zugetropft, dass der pH-Wert stabil zwischen 12 und 13 blieb. Das Gemisch wurde anschließend bis zum Erreichen des pH-Wertes 7-7.5 gerührt, wobei das Produkt **175** ausfiel und abfiltriert werden konnte. Nach dem Trocknen wurde *N*^α-Cbz-L-Arginin **175** in einer guten Ausbeute von 81 % und guter Reinheit erhalten. Bei der anschließenden Pbf-Schützung wurde ebenfalls der pH-Wert kontrolliert.^[204] Das in Wasser und Aceton gelöste Cbz-L-Arginin **175** wurde langsam bei 0 °C mit 4 M Natriumhydroxid-Lösung versetzt, so dass der pH-Wert zwischen 12 und 13 stabil blieb. Nach 30 min wurde das Pbf-Chlorid **172** langsam zugetropft. Da der pK_a-Wert der Guanidin-Gruppe 12.5 beträgt, liegt diese bei dem oben genannten pH-Wert nicht

vollständig protoniert vor. Somit konnte das Pbf-Chlorid **172** nucleophil von der Guanidin-Gruppe angegriffen und N^{α} -Cbz- N^{ζ} -Pbf-L-Arginin **176** nach säulenchromatographischer Reinigung in 78 % Ausbeute erhalten werden.

Die TMSE-Schätzung wurde nach bekannten Methoden mit 2.6 Äq. EDC **121**, 1.1 Äq. DMAP und 1.5 Äq. 2-Trimethylsilylethanol durchgeführt. Hier wurde auf eine wässrige Aufarbeitung verzichtet, und der TMSE-Ester **177** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in 81 % Ausbeute erhalten werden. Bei der zuerst verwendeten Cbz-Entschätzung mit Wasserstoff an Pd/C (10 %) in Methanol konnte das freie Amin **94** in 86 % Ausbeute erhalten werden. Wurde der reaktivere *Pearlman's*-Katalysator in Methanol verwendet, konnte das Produkt **94** sogar quantitativ erhalten werden. Insgesamt wurde der N^{ζ} -Pbf-L-Arginintrimethylsilylester **94** in 51 % über vier Stufen ausgehend von L-Arginin **174** und in 79 % Ausbeute über drei Stufen ausgehend von N^{ζ} -Pbf-L-Arginin **173** erhalten.

Um die Eignung der Pbf-Gruppe für die geplante Syntheseroute zu testen, wurde die Pbf-Entschätzung exemplarisch mit dem N^{α} -Cbz- N^{ζ} -Pbf-L-Arginin **176** durchgeführt. Die Pbf-geschützte Aminosäure **176** wurde in einem Gemisch aus Trifluoressigsäure und Wasser (8:2)^[200] über 2 d umgesetzt und die Reaktion mittels LC-MS-Analytik verfolgt. Die Pbf-entschützte Aminosäure **175** wurde als Hauptkomponente identifiziert. Die globale Entschätzung des 5'-Desoxy-Muraymycins C4 mit Pbf-Schutzgruppe am Epicapreomycinidin wurde kürzlich im Arbeitskreis *Ducho* von A. Spork unter den oben genannten Bedingungen nach bereits 24 h erfolgreich durchgeführt.^[187]

4.3.1.7 Synthese von L-Alanintrimethylsilylester **90**

L-Alanin wurde aufgrund der sterisch wenig gehinderten Seitenkette ausgewählt, um zu untersuchen, ob die Seitenkette der mittleren Aminosäure in der Harnstoffpeptidkette überhaupt eine Rolle für die Aktivität der vereinfachten Muraymycin-Analoga spielt. Ausgegangen wurde von Cbz-geschütztem L-Alanin **111**, welches, wie in Kapitel 4.1.2.1.1 beschrieben, synthetisiert worden war (Abb. 4-28).

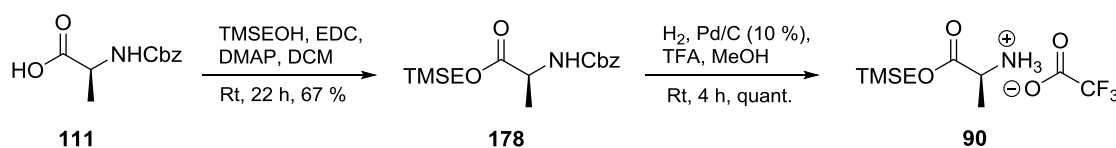


Abb. 4-28 Synthese von L-Alanintrimethylsilylester **90**

Die TMSE-Schützung wurde nach der für Arginin verwendeten Methode durchgeführt, da so die besten Ausbeuten erzielt wurden. Auch hier wurde auf eine wässrige Aufarbeitung verzichtet, jedoch konnte der TMSE-Ester **178** nur in einer Ausbeute von 67 % erhalten werden.

Die Cbz-Gruppe wurde mit Wasserstoff an Pd/C (10 %) in Methanol unter Zugabe von Trifluoressigsäure abgespalten. Da bei sterisch wenig gehinderten Aminosäuren die Gefahr der Dimerisierung oder Oligomerisierung besteht (siehe L-Leucinderivat, Kap. 4.3.1.1) wurde Säure zugesetzt, um die Reaktivität der Aminogruppe herabzusetzen. Somit konnte L-Alanintrimethylsilylester-trifluoracetat **90** in quantitativer Ausbeute erhalten werden, was kombinierte 67 % über zwei Stufen ausgehend von Cbz-L-Alanin **111** ergab.

4.3.1.8 Synthese von L-Methionintrimethylsilylester **91**

L-Methionin **179** ist eine der zwei proteinogenen Aminosäuren, die Schwefel enthalten. Der eventuelle Einfluss des Schwefels auf die Aktivität der Muraymycin-Analoga könnte damit untersucht werden. Der Thioether ist unter den meisten Peptidkupplungs- und Entschützungsbedingungen stabil und muss nicht geschützt werden. Die Reaktionssequenz zum L-Methionintrimethylsilylester **91** konnte analog zum L-Alanin oder L-Lysin durchgeführt werden, und die Reaktionszeiten wurden nach Bedarf variiert (Abb. 4-29).

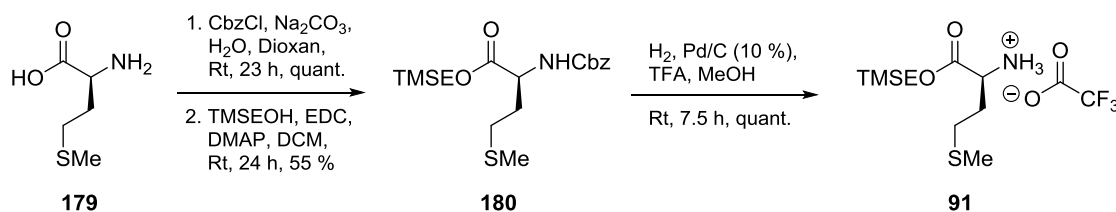


Abb. 4-29 Synthese von L-Methionintrimethylsilylester **91**

L-Methionin **179** wurde unter den etablierten Cbz-Schützungsbedingungen in quantitativer Ausbeute zum *N*-Cbz-L-Methionin umgesetzt. Die Veresterung mit 2-Trimethylsilylethanol zum *N*-Cbz-L-Methionintrimethylsilylester **180** gelang nur in moderaten Ausbeuten von 55 %. Eventuell wäre hier in zukünftigen Arbeiten der Wechsel zu einer anderen Esterschutzgruppe sinnvoll.

Die Cbz-Entschützung wurde zunächst ohne Säurezusatz erprobt. Das Produkt **91** konnte in einer Ausbeute von 85 % erhalten werden. Unter Zusatz von Trifluoressigsäure und mit Palladium auf Kohle unter Wasserstoffatmosphäre in Methanol konnte das gewünschte Produkt **91** als TFA-Salz in quantitativer Ausbeute synthetisiert werden. Über drei Stufen

wurde L-Methionintrimethylsilylethylester **91** in einer Gesamtausbeute von 55 % ausgehend von L-Methionin **179** erhalten.

4.3.2 Synthese der Harnstoffpeptide

Der Aufbau der Harnstoffeinheiten sollte nach einem einheitlichen Prinzip erfolgen, welches auf einer literaturbekannten Synthese basierte.^[145] Diese wurde mit dem *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-*tert*-butylester **57** und einem geschützten Epicapreomycinol **56** unter Verwendung von Quecksilberbromid und *N*-Methylmorpholin (NMM) in Ethylacetat durchgeführt (vgl. Abb. 2-19, Kap. 2.5.2). Das Quecksilberbromid wirkt als Aktivator für das *S*-Methylthiocarbamat, da Quecksilber eine hohe Affinität zu Schwefel aufweist. Anschließend greift das zu kuppelnde Amin die aktivierte Carbonylfunktion unter Harnstoffbildung an. Aufgrund der Toxizität und Umwelt-gefährlichkeit von Quecksilberbromid wurde dies in einer im Arbeitskreis *Ducho* von *M. Büschleb*^[205] etablierten Methode durch Silbertriflat ersetzt. Silber hat ebenfalls eine hohe Affinität zu Schwefel, und das Triflat stellt ein Gegenion mit geringem kovalenten Bindungsanteil zum Kation dar, sodass im Prinzip ein solvatisiertes Silberion vorliegt.

4.3.2.1 Synthese des Lysin-haltigen Harnstoffpeptids **74**

Unter den oben beschriebenen Bedingungen konnte die Harnstoffkupplung des Lysinderivats **92** mit dem Valinderivat **57** erfolgreich durchgeführt werden. Das gewünschte Harnstoffdipeptid **181** wurde in 76 % Ausbeute erhalten (Abb. 4-30).

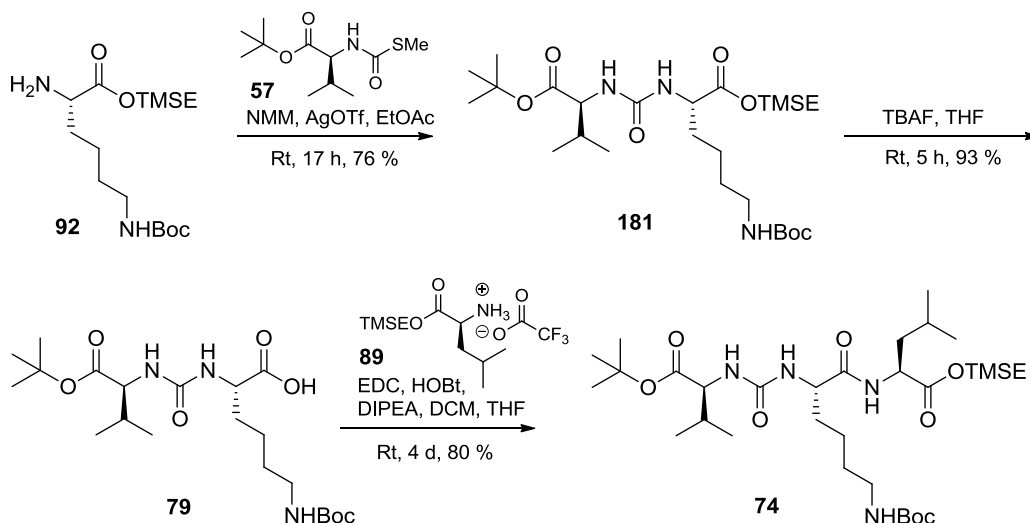


Abb. 4-30 Synthese des Lysin-haltigen Harnstofftripeptids **74**

Für die Synthese des Tripeptids **74** wurde die TMSE-geschützte Carboxylgruppe verseift. Dies gelang durch die Verwendung von 1 M TBAF-Lösung unter wasserfreien Bedingungen in Tetrahydrofuran, so dass die freie Carbonsäure **79** zunächst in 62 % Ausbeute erhalten wurde. Durch Verbesserung der säulenchromatographischen Reinigung wurde das TMSE-entschützte L-Lysinderivat **79** schließlich in einer exzellenten Ausbeute von 93 % erhalten.

Die anschließende Peptidkupplung des Harnstoffdipeptids **79** mit dem geschützten Leucin **89** fand unter EDC/HOBt-Kupplungsbedingungen statt. Aus Löslichkeitsgründen wurde ein Gemisch aus Dichlormethan und Tetrahydrofuran (1:1) verwendet. Das Harnstofftripeptid **74** konnte in einer guten Ausbeute von 80 % erhalten werden. Diese Synthesesequenz über drei Stufen wurde in einer Gesamtausbeute von 47 % ausgehend von *N*^c-Boc-L-Lysintrimethylsilylester **92** realisiert.

4.3.2.2 Synthese des Ornithin-haltigen Harnstofftripeptids **75**

Das Ornithin-Analogon **75** wurde unter den gleichen Bedingungen wie das Lysinderivat **74** synthetisiert (Abb. 4-31).

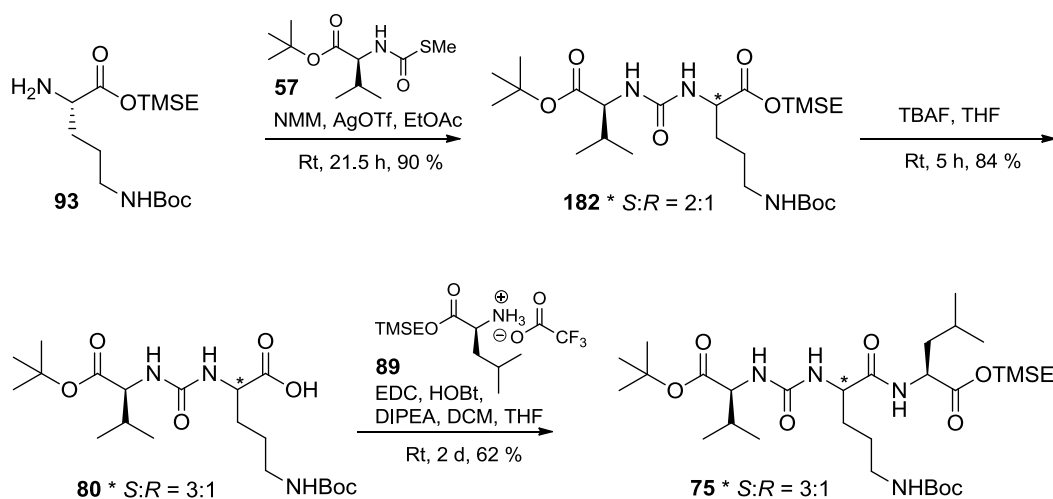


Abb. 4-31 Synthese des Ornithin-haltigen Harnstofftripeptids **75**

Die Harnstoffkupplung konnte nach einer etwas längeren Reaktionszeit von 21.5 h in einer Ausbeute von 90 % durchgeführt werden. In den ¹³C-NMR-Spektren konnte ein doppelter Signalsatz beobachtet werden. Verbindungen, die eine Boc-Gruppe enthalten, können aufgrund der sterisch gehinderten *tert*-Butylgruppe rotationsgehemmt sein. Um die Bildung von NMR-detektierbaren Rotameren auszuschließen, wurden die NMR-Spektren bei 100 °C in deuteriertem DMSO gemessen. Da weiterhin ein doppelter Signalsatz zu

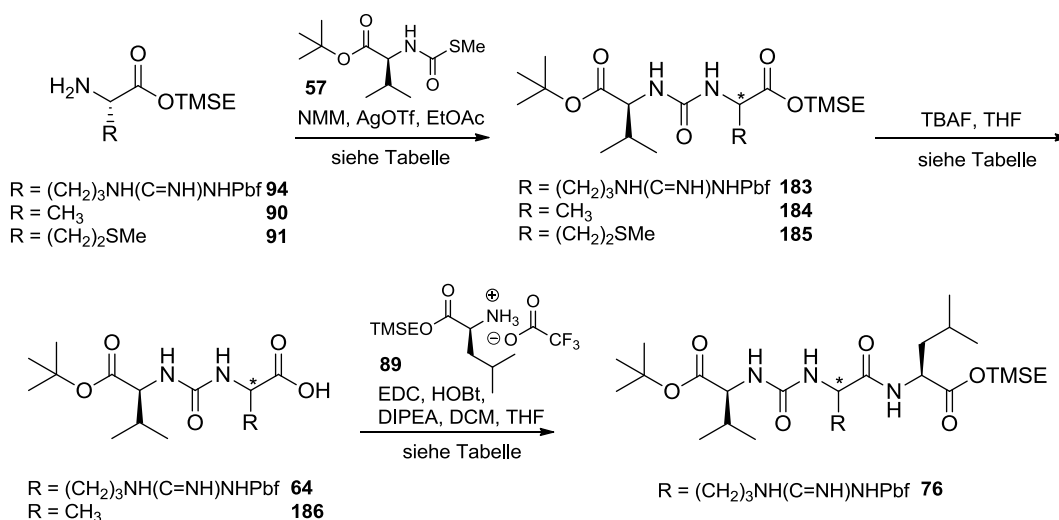
sehen war, wurde eine Epimerisierung eines der Stereozentren vermutet. Diese Annahme wurde im Folgenden am Beispiel des Alanin-Derivats überprüft. Das Stereozentrum mit dem Verlust der stereochemischen Integrität konnte zu der Aminosäure zugeordnet werden, die bei der Harnstoffkupplung mit dem freien Amin angreift. Dafür wurden die beiden vermutlich entstandenen Diastereomere diastereomerenrein synthetisiert und mit dem Gemisch zusammen NMR-spektroskopisch untersucht. Dadurch wurde das Hauptisomer als das (*S,S*)-Isomer identifiziert (s. Kap. 4.3.2.4). Die Möglichkeit besteht, dass diese Ergebnisse auf die anderen Aminosäuren übertragbar sind, da wahrscheinlich der gleiche Mechanismus für die Epimerisierung zu tragen kommt.

Das Harnstoffdipeptid **182** wurde somit als Gemisch zweier Diastereomere im Verhältnis 2:1 erhalten. Das Diastereomerenverhältnis wurde, wenn möglich, aus den Integralen der Signale aus dem ^1H -NMR-Spektrum bestimmt. Waren keine separierten Signale im ^1H -NMR-Spektrum vorhanden, wurden zur Bestimmung des Diastereomerenverhältnisses mehrere Integrale zweier gleicher Kohlenstoffatome der beiden Diastereomere aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum herangezogen und gemittelt. *Ichikawa, Matsuda* und Mitarbeiter publizierten eine Synthese von Ornithin- und Arginin-haltigen Harnstoffpeptiden, die im Falle des Arginins mit Hilfe von CDI durchgeführt wurde und im Falle des Ornithins mit dem Isonitrilderivat von L-Valin. In den ^{13}C -NMR-Spektren konnte ebenfalls ein doppelter Signalsatz identifiziert werden. Obwohl dies in der Publikation nicht beschrieben wurde, scheint die Synthese von diesen Harnstoffpeptiden generell problematisch zu sein.^[137] Auf der Stufe des Harnstoffdipeptids **182** konnten die Diastereomere nicht getrennt werden und wurden als Gemisch weiter umgesetzt.

Das TMSE-entschützte Produkt **80** konnte unter Verwendung von TBAF in Tetrahydrofuran nach 5 h in 84 % Ausbeute erhalten werden. Durch säulenchromatographische Reinigung konnte das gewünschte (*S,S*)-Diastereomer angereichert werden (3:1), allerdings war eine vollständige Trennung auch auf dieser Stufe nicht möglich. Die Peptidkupplung mit EDC **121** und HOBt **122** zum Harnstofftripeptid **75** konnte mit einer Ausbeute von 62 % durchgeführt werden. Eine säulenchromatographische Reinigung war auch hier nicht für die Trennung der Diastereomere geeignet. Die Gesamtausbeute über diese drei Stufen betrug 47 % ausgehend von N^δ -Boc-L-Ornithin-trimethylsilylester **93**.

4.3.2.3 Synthese weiterer Harnstoffpeptide

Da das Ornithinderivat **182** unter den Bedingungen der Harnstoffkupplung epimerisierte, das Lysinderivat **181** aber nicht, konnte keine Vorhersage über die stereochemische Stabilität verschiedener Aminosäuren bei dieser Reaktion getroffen werden. Somit wurden die Harnstoffkupplungen mit den in dieser Arbeit dargestellten geschützten Aminosäuren **94**, **90** und **91** ebenfalls unter diesen Bedingungen erprobt (Abb. 4-32).



Aminosäure	Harnstoffkupplung	Entschützung	Peptidkupplung
Arginin	Rt, 17 h, 80 % *S:R = 2:1	Rt, 24 h	Rt, 2 d, 54 % über 2 Stufen *S:R = 3:1
Alanin	Rt, 18 h, 71 % *S:R = 1.6:1	Rt, 5 h, 92 % *S:R = 1.6:1	-
Methionin	Rt, 21.5 h, 90 % *S:R = 2.5:1	-	-

Abb. 4-32 Synthese verschiedener Harnstoffpeptide

Das TMSE-geschützte Arginin **94** konnte nach 21.5 h mit dem *S*-Methylthiocarbamat **57** in einer Ausbeute von 80 % gekuppelt werden. Das Harnstoffdipeptid **183** wurde ebenfalls als Diastereomeregemisch im Verhältnis von 2:1 erhalten. Nach der TMSE-Entschützung konnte das Produkt nicht sauber erhalten werden und wurde direkt weiter mit dem L-Leucin-TMSE-Ester **89** umgesetzt. Das Harnstofftripeptid **76** wurde über diese zwei Stufen im Diastereomerenverhältnis von 3:1 in 54 % Ausbeute und einer Gesamtausbeute von 43 % über drei Stufen ausgehend von *N*^ε-Pbf-L-Arginintrimethylsilylester **94** erhalten. Auf keiner der Stufen war eine Trennung der Diastereomere mittels säulenchromatographischer Reinigung möglich.

Mit den geschützten Aminosäuren L-Alanintrimethylsilylethylester **90** und L-Methionintrimethylsilylethylester **91** wurde lediglich die Harnstoffkupplung mit dem *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57** durchgeführt, um zu untersuchen, ob mit diesen strukturell einfachen Aminosäuren ebenfalls Epimerisierung auftritt oder ob diese durch eine funktionalisierte Seitenkette bedingt wird. Die Reaktion mit dem L-Alanin-Derivat **90** ergab das Harnstoffdipeptid **184** in einer Ausbeute von 71 %, ebenfalls als Isomerengemisch im Verhältnis 2:1. Für die Zuordnung der Diastereomere wurde das Harnstoffdipeptid **184** zum TMSE-entschütztem Derivat **186** verseift. Dies gelang nach 5 h mit TBAF-Lösung in Tetrahydrofuran und anschließender säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 92 % mit dem gleichen Diastereomerenverhältnis. Das Methioninderivat **91** konnte in sehr guter Ausbeute von 90 % mit dem Valinderivat **57** gekuppelt werden. Allerdings konnte ebenfalls nur ein Diastereomerengemisch erhalten werden, jedoch in einem etwas besseren Verhältnis zum gewünschten Isomer von 2.5:1.

Ein möglicher Mechanismus dieser Epimerisierung, der ähnlich der Epimerisierung bei der Peptidkupplung abläuft, wird hier beschrieben (Abb. 4-33, vgl. Kap. 4.1.3, Abb. 4-13).

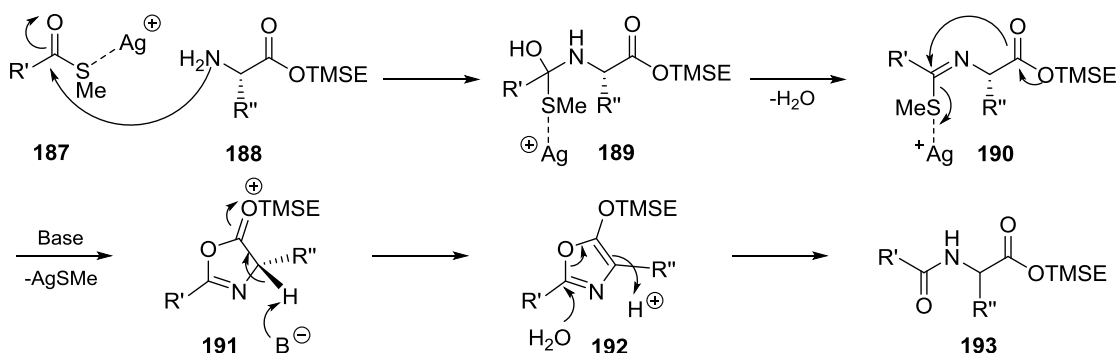


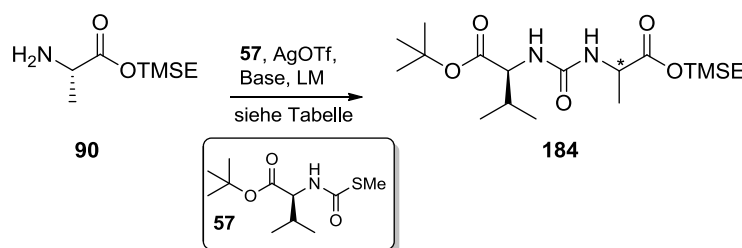
Abb. 4-33 Möglicher Mechanismus zur Epimerisierung während der Harnstoffkupplung

Das aktivierte *S*-Methylthiocarbamat **187** wird von der Aminogruppe der jeweiligen Aminosäure **188** angegriffen und eine tetraedrische Zwischenstufe **189** entsteht. Nach Wasserabspaltung greift das Carbonyl-Sauerstoffatom intramolekular an das aktivierte Imidothioat **190** an und ein 5(4*H*)-Oxazolidinon **191** wird gebildet. Das nunmehr recht acide Proton am stereogenen C-Atom kann durch eine Base abstrahiert werden. Durch anschließende Wasseranlagerung, Reprotonierung und Öffnung des Ringes **192** wird das Harnstoffpeptid **193** als Diastereomerengemisch erhalten.

Zur Überprüfung der Abhängigkeit des Reaktionsverlaufs von der Base wurde die Harnstoffkupplung mit dem L-Alaninderivat **90** genauer untersucht (Tab. 4-6). Dazu

wurden verschiedene Basen und Äquivalente der Basen verwendet und das Diastereomerenverhältnis verglichen. Für die Bestimmung der Diastereomerenverhältnisse wurden jeweils die Signale einer der CH₃-Gruppen des Valins aus den ¹H-NMR-Spektren herangezogen.

Mit eher starken Basen wie *N*-Methylmorpholin (pK_a = 7.38) oder Triethylamin (pK_a = 10.76) war die Ausbeute zwar recht hoch, aber das Diastereomerenverhältnis ungünstig (Tab. 4-6, Nr. 1 und Nr. 2). Bei der Verwendung von Pyridin (pK_a = 5.23) als Base in DMF oder als Lösungsmittel konnte der Anteil des gewünschten Produktes erhöht werden, aber die Ausbeute sank (Tab. 4-6, Nr. 4 und Nr. 5). Eine noch recht gute Ausbeute und recht gutes Isomerenverhältnis wurde erreicht, wenn 1.0 Äq. Triethylamin und 1.0 Äq. Pyridin verwendet wurden (Tab. 4-6, Nr. 3). Das bedeutet, dass die Epimerisierung durch mittlere bis starke Basen begünstigt wird und der in Abb. 4-33 gezeigte Mechanismus dabei eine Rolle spielen könnte.



Nr.	Base	Lösungsmittel	Ausbeute	*S:R ^a
1	NMM (5.4 Äq.)	EtOAc	71 %	1.6:1
2	NEt ₃ (6.9 Äq.)	DMF	69 %	1.8:1
3	NEt ₃ (1.0 Äq.), Pyridin (1.0 Äq.)	DMF	59 %	3.8:1
4	Pyridin (2.0 Äq.)	DMF	53 %	3.8:1
5	Pyridin	Pyridin	29 %	3.9:1

a: Diastereomerenverhältnis aus ¹H-NMR-Spektrum bestimmt.

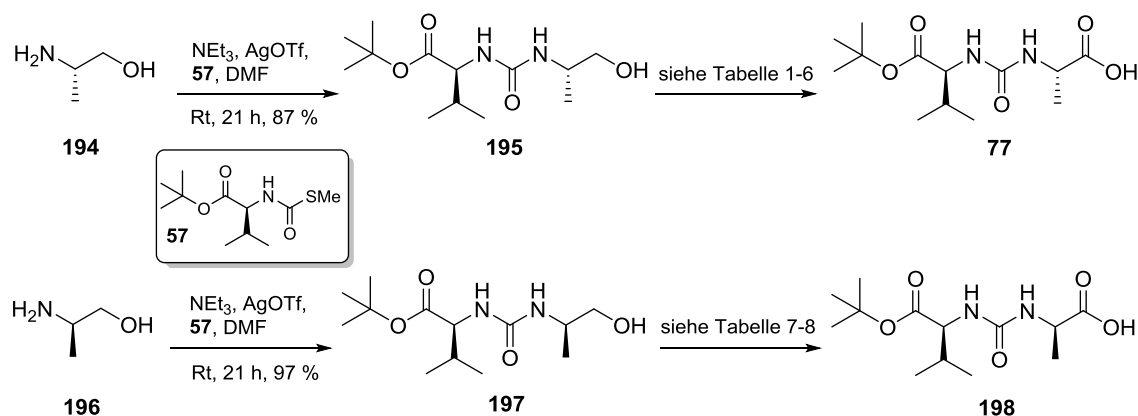
Tab. 4-6 Untersuchung der Abhängigkeit der Base bei der Harnstoffkupplung

Keine der bisher verwendeten Methoden ergab das gewünschte (*S,S*)-Diastereomer in ausreichend reiner Form. Eine RP-HPLC-Reinigung der Verbindungen nach der Kupplung mit einem Uridinderivat und anschließender globaler Entschützung sollte zu einer erfolgreichen Diastereomerentrennung führen. Eine HPLC-Trennung wurde im Arbeitskreis *Ducho* von *A. Spork* an einem ebenfalls epimerisierten, strukturell ähnlichen Derivat bereits erfolgreich durchgeführt.^[187] Dennoch ist eine diastereomerenreine Synthese wünschenswert. Da die Harnstoffkupplung nach der hier verwendeten Methode ausgehend von einem Epicapreomycidol und dem Valinderivat **57** von *M. Büschleb*

erfolgreich durchgeführt werden konnte und keinerlei Epimerisierungen aufgetreten waren,^[205] sollte diese Methode mit den jeweiligen Aminoalkoholen erprobt werden. Nach dem oben gezeigten Mechanismus sollte so auch die Bildung des Oxazolidinon-Intermediats **191**, dessen acides α -Proton abstrahiert werden kann, nicht mehr möglich sein.

4.3.2.4 Synthese der Alanin-haltigen Harnstoffpeptide **77** und **198**

Da Alaninol kommerziell erhältlich ist, wurde dieses als Ausgangsstoff für die Erprobung der alternativen Harnstoffkupplung gewählt. Für die Zuordnung der Stereochemie des Diastereomergemisches aus vorherigen Harnstoffkupplungen sollten beide Diastereomere synthetisiert werden.



Nr.	Alaninol	Bedingungen	Reinigung	Ausbeute
1	L	TEMPO, NaOCl, NaClO ₂ , Phosphat-Puffer, MeCN, 35 °C, 22 h	Extraktion	- ^a
2	L	TEMPO, NaOCl, NaClO ₂ , Phosphat-Puffer, MeCN, 35 °C, 4 d ^b	Säulenchrom.	- ^c
3	L	TEMPO, BAIB, MeCN, H ₂ O, 23.5 h	Extraktion, Säulenchrom.	25 %
4	L	TEMPO, BAIB, MeCN, H ₂ O, 34 h ^b	Extraktion, Säulenchrom.	6 %
5	L	TEMPO, BAIB, MeCN, H ₂ O, 23.5 h	Extraktion	55 % ^d
6	L	RuCl ₃ , NaIO ₄ , CCl ₄ , MeCN, H ₂ O, 5 h	Extraktion, Säulenchrom.	18 %
7	D	TEMPO, BAIB, MeCN, H ₂ O, 18 h	Extraktion, Säulenchrom.	3 %
8	D	TEMPO, BAIB, MeCN, H ₂ O, 8 h	Säulenchrom.	50 %

a: nur Edukt reisoliert, b: Oxidationsmittel noch zweimal nachgegeben, c: Nebenprodukte, d: leicht verunreinigt

Abb. 4-34 Synthese der Alanin-haltigen Harnstoffpeptide **77** und **198**

Da bei der Verwendung der Aminoalkohole keine Epimerisierungsgefahr bestehen sollte, wurde zur Steigerung der Reaktivität Triethylamin als Base und *N,N*-Dimethylformamid als Lösungsmittel verwendet (Abb. 4-34).

Bei der Verwendung von L-Alaninol **194** konnte eine gute Ausbeute von 87 % erhalten werden und mit D-Alaninol **196** eine exzellente Ausbeute von 97 %. Nach Analyse der NMR-Spektren beider Verbindungen konnte die Gegenwart eines zweiten Diastereomers nicht nachgewiesen werden.

Für die Oxidation von primären Alkoholen zu Carbonsäuren gibt es in der Literatur eine große Anzahl an Methoden.^[206] Bei der Synthese von Verbindungen, die in biologischen Tests benutzt werden, sollten aufgrund ihrer Toxizität möglichst keine Schwermetalle eingesetzt werden.

Die kombinierte TEMPO-Pinnick-Oxidation^[207] wurde für ein Harnstoffdipeptid mit aktiviertem L-Valin und Epicapreomycidol bereits erfolgreich von *M. Büschleb*^[205] durchgeführt. Dabei wurde der zu oxidierende Alkohol in Acetonitril vorgelegt, mit 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy-Radikal (TEMPO) **200**, Phosphatpuffer und Natriumchlorit als Lösung in Wasser und einer wässrige Natriumhypochlorit-Lösung versetzt. TEMPO kann in drei verschiedenen Redoxzuständen vorliegen, wobei die eingesetzte Form jeweils das stabile Nitroxyl-Radikal **200** ist (Abb. 4-35).

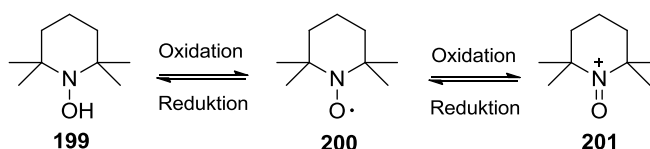


Abb. 4-35 Redoxzustände von TEMPO

Für die Oxidation des Alkohols zur Säure reicht die Verwendung von TEMPO und Natriumchlorit prinzipiell aus, jedoch beschleunigt die Zugabe von Natriumhypochlorit die Reaktion stark. Das Nitroxyl-Radikal **200** wird von Natriumhypochlorit sehr schnell zum *N*-Oxoammonium-Ion **201** oxidiert und kann in dieser Form den Alkohol zum Aldehyd oxidieren. Der Aldehyd wird anschließend direkt durch Natriumchlorit zur Carbonsäure oxidiert. Die reduzierte Form von TEMPO, das Hydroxylamin **199**, wird anschließend vom Natriumhypochlorit wieder zum aktiven *N*-Oxoammonium-Ion **201** oxidiert (Abb. 4-35).^[207] Die Reaktion wurde für 22 h bei 35 °C gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung konnte nur Edukt **195** reisoliert werden (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 1). Daraufhin wurde die Reaktionszeit auf 4 d verlängert und nach je 1 d, 3 d und 4 d die gleiche Menge an Oxidationsmitteln zugegeben (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 2). Nach Aufarbeitung und

säulenchromatographischer Reinigung konnten nur Nebenprodukte erhalten werden. Neben größeren Mengen von TEMPO-Derivaten wurde eine weitere Hauptkomponente isoliert. Dieses könnte aufgrund einer nicht vollständig abgelaufenen Oxidation auf der Stufe des Aldehyds **202** durch eine intramolekulare Reaktion zu **203** und anschließender Oxidation zum Diketon **204** entstanden sein (Abb. 4-36).

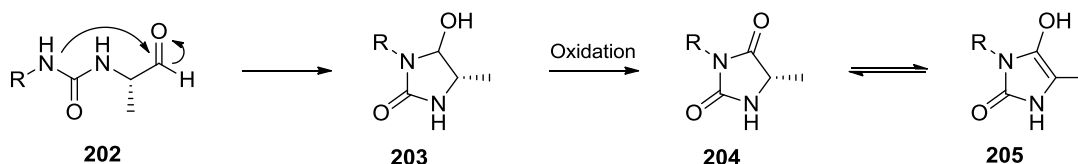


Abb. 4-36 Mögliche Nebenreaktion bei der TEMPO-Pinnick-Oxidation

Da im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum das $\alpha\text{-CH}$ vom Alanin nicht nachzuweisen war und die CH_3 -Gruppe als Singulett vorlag, wurde das 5-Hydroxy-1*H*-imidazol-2(3*H*)-on **205** als mögliche Struktur postuliert. Die Verbindungen **204** und **205** liegen als Keto-Enol-Tautomere im Gleichgewicht vor, wobei das Gleichgewicht gemäß $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum auf Seiten des Enols **205** liegt.

Aufgrund der beobachteten Nebenprodukte und die Tatsache, dass kein Edukt reisoliert wurde, scheint die Oxidation von TEMPO zum Aldehyd gut zu funktionieren. Aus diesem Grund wurde TEMPO als Reagenz in der nächsten Reaktion beibehalten. Für die abschließende Oxidation zur Carbonsäure wurde ein anderes Oxidationsmittel, das Bisacetoxyiodbenzol (BAIB), zugegeben. Die sogenannte TEMPO/BAIB-Reaktion wurde ebenfalls im Arbeitskreis *Ducho* von A. Lemke^[208] ausgehend von einer literaturbekannten Synthese optimiert.^[209] Hierbei wird das stabile Nitroxyl-Radikal **200** von BAIB zum *N*-Oxoammonium-Ion **201** oxidiert, welches wiederum den Alkohol zum Aldehyd oxidiert. BAIB oxidiert anschließend den Aldehyd zur Carbonsäure und regeneriert TEMPO. Da 1.0 Äq. von BAIB für die Oxidation zum Aldehyd und 1.0 Äq. für die Oxidation zur Carbonsäure verbraucht werden, müssen mindestens 2.0 Äq. BAIB zugegeben werden. Bei den optimierten Bedingungen wurden 2.2 Äq. BAIB und 0.3 Äq. TEMPO in Acetonitril und Wasser verwendet. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnten 25 % der Säure **77** erhalten werden (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 3). Die säulenchromatographische Reinigung war gemessen an der Polarität der Carbonsäure problematisch. Da außerdem kein vollständiger Umsatz mittels DC beobachtet wurde, wurde beim nächsten Ansatz nach 3 h, 19 h und 34 h die gleiche Menge TEMPO und BAIB zugegeben (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 4). Bei der Reinigung mittels

säulenchromatographischer Reinigung wurde dem Laufmittel 0.1 % Essigsäure beigemischt. Dadurch konnte zwar die Reinigung erleichtert werden, jedoch wurden nur 6 % des Produktes **77** isoliert. Die beste Ausbeute von 55 % konnte nach Reinigung durch Extraktion erreicht werden (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 5). Die Säure **77** war zwar noch leicht verunreinigt, jedoch konnten keine Signale von TEMPO- oder BAIB-Intermediaten in den NMR-Spektren identifiziert werden.

Eine weitere schwermetallfreie Oxidationsmethode war eine ebenfalls im Arbeitskreis *Ducho* von *O. Ries*^[210] verwendeten Oxidation eines geschützten Hydroxyleucins. Diese wurde mit katalytischen Mengen Ruthenium(III)chlorid und Natriumperodat in Tetrachlormethan, Acetonitril und Wasser durchgeführt^[211] (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 6). Nach 5 h war kein Edukt **195** mittels DC detektierbar. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt **77** in nur 18 % Ausbeute erhalten werden. Es wurde ebenfalls eine große Menge an Nebenprodukten isoliert, welche nicht identifiziert werden konnten.

Das (*S,R*)-Diastereomer **197** wurde nach den optimierten Reaktionsbedingungen zur Reaktion gebracht. Nach 18 h Reaktion wurde versucht, das Harnstoffdipeptid **198** ebenfalls durch Extraktion zu reinigen, es konnte aber nicht in ausreichender Reinheit erhalten werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung mit Säurezugabe konnten nur 3 % des Produktes **198** isoliert werden (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 7). Wurde aber die Reaktionszeit auf 8 h reduziert und auf die wässrige Aufarbeitung verzichtet, konnte die Carbonsäure **198** in einer Ausbeute von 50 % erhalten werden (Abb. 4-34, Tabelle Nr. 8).

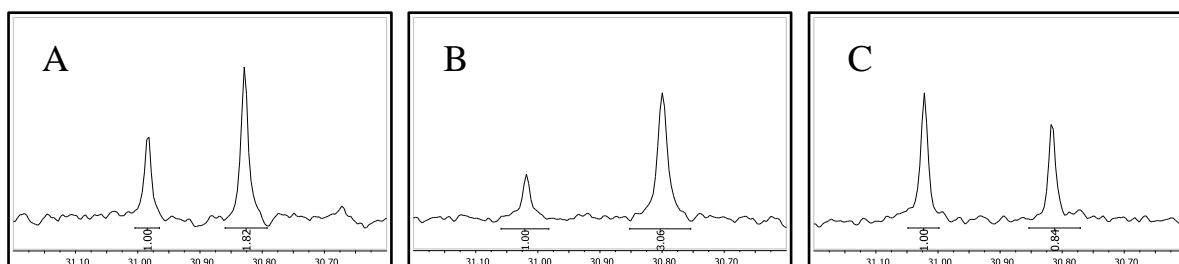


Abb. 4-37 Ausschnitte der ^{13}C -NMR-Spektren, A: **186**, B: **186+77**, C: **186+198**

Anhand der analytischen Daten der beiden diastereomerenreinen Harnstoffdipeptide **77** und **198** konnte die Zuordnung der Diastereomere des Gemischs **186** (s. Kap. 4.3.2.3) durchgeführt werden. Dafür wurde das Diastereomergemisch **186** entweder mit dem (*S,S*)-Diastereomer **77** oder dem (*S,R*)-Diastereomer **198** im Verhältnis 2:1 zusammen gegeben. In den ^1H -NMR-Spektren konnten den einzelnen Diastereomeren keine separierten Signale zugeordnet werden. Somit wurde das Verhältnis der Signale gleicher

Kohlenstoffatome der verschiedenen Diastereomere in den ^{13}C -NMR-Spektren analysiert. In der Abbildung 4-37 wurde am Beispiel eines Signalpaars der verschiedenen ^{13}C -NMR-Spektren die Veränderung der Verhältnisse gezeigt.

Im Gemisch **186** lagen die beiden Diastereomere im Verhältnis von ca. 2:1 vor (Abb. 4-37, A). Durch Zugabe des (*S,S*)-Diastereomers ändert sich das Verhältnis auf 3:1 (Abb. 4-37, B) und bei Zugabe des (*S,R*)-Diastereomers wurde ein Verhältnis von ca. 1:1 beobachtet (Abb. 4-37, C). Die Änderung der Verhältnisse wurde im gleichen Maße auch bei den anderen ^{13}C -Signalen beobachtet. Daraus folgt, dass das Hauptisomer im Gemisch **186** das (*S,S*)-Diastereomer **77** ist. Da keine zusätzlichen Signale zu sehen waren, wurde belegt, dass die Epimerisierung am α -C-Atom des Alanins stattgefunden hatte und nicht am α -C-Atom des Valins. Somit konnte die in Kap. 4.3.2.2 zugeordnete Stereochemie bestätigt werden.

4.3.2.5 Versuch der Synthese von Methionin-haltigen Harnstoffdipeptid **78**

Eine analoge Synthesestrategie sollte auf das ebenfalls kommerziell erhältliche L-Methioninol **206** angewendet werden (Abb. 4-38). Die Harnstoffkupplung gelang unter den gleichen Bedingungen zum Alanin in guten Ausbeuten von 86 %.

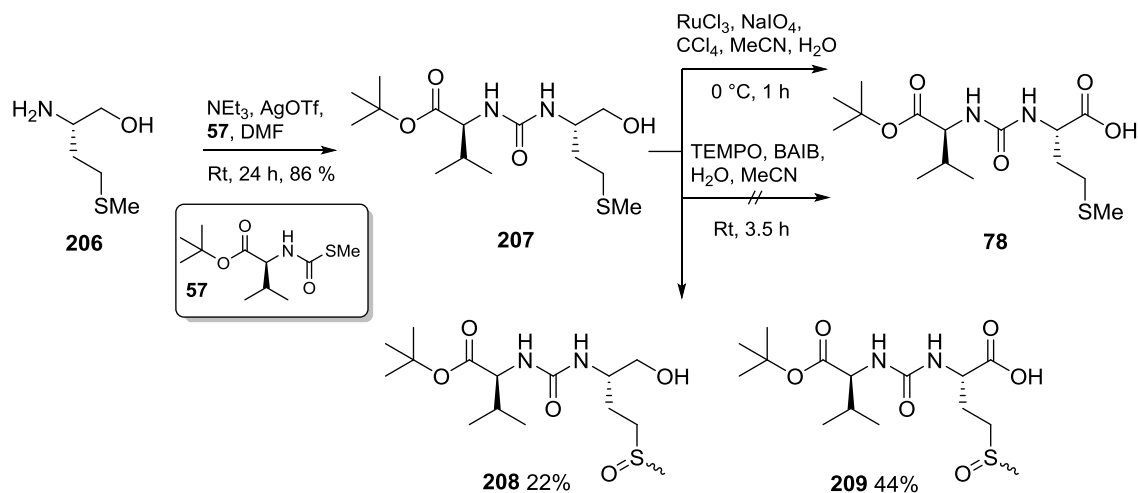


Abb. 4-38 Synthese des Methionin-haltigen Harnstoffdipeptids **78**

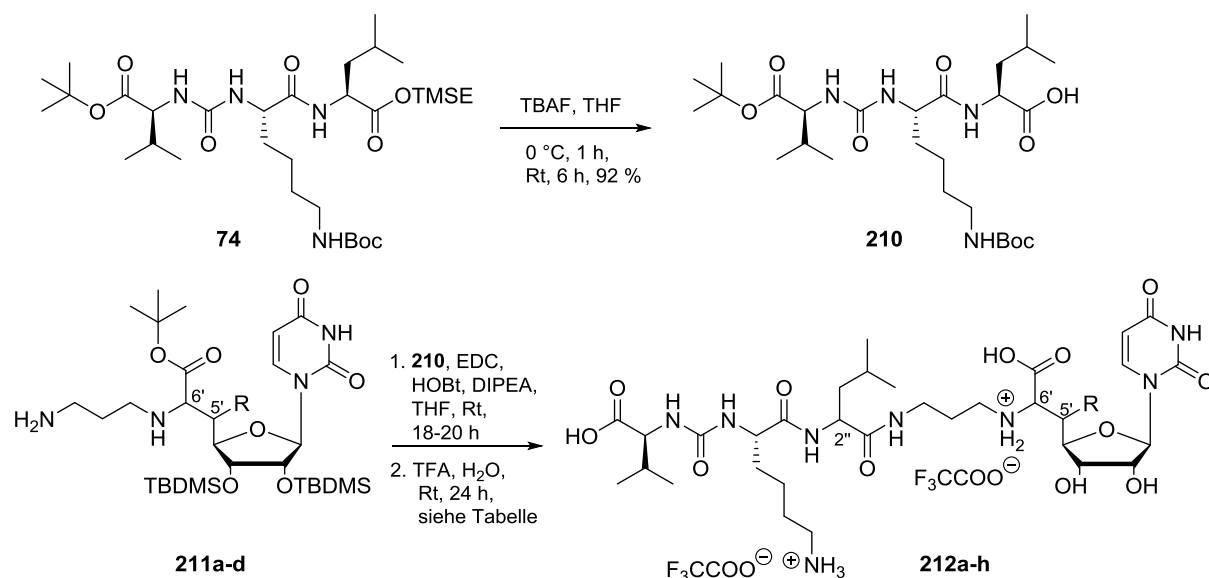
Die Oxidation von Methioninderivaten erfordert eine chemoselektive Oxidationsmethode, da der Thioether ebenfalls oxidierbar ist. Zuerst wurde die TEMPO/BAIB-Oxidation erprobt. Zur Vermeidung der Oxidation des Thioethers, wurde die Reaktion per Dünnschichtchromatographie alle 30 min kontrolliert. Sobald das Edukt nicht mehr zu detektieren war (nach 3.5 h), wurde die Reaktion beendet. Nach säulenchromato-

graphischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **78** jedoch nicht erhalten werden. Die Oxidation des Thioethers läuft anscheinend unter diesen Bedingungen schneller ab, da nur die Nebenprodukte **208** (44 %) und **209** (22 %) isoliert werden konnten. Als weitere Oxidationsmethode wurde die Ruthenium-katalysierte Oxidation durch Natriumperodat erprobt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurden drei verschiedene Verbindungen identifiziert. Die Hauptkomponente war das Edukt **207**, welches in 53 % Ausbeute reisoliert wurde. In ca. 25-30 % berechneter Ausbeute konnte das Produkt **78** isoliert werden, was jedoch mit ca. 20 % Edukt **207** und anderen Verbindungen verunreinigt war. Eine dieser Verbindungen war eine wahrscheinlich cyclisierte Verbindung, die analog zum Mechanismus der Bildung des Alaninderivats **77** (s. Abb. 4-33) entstanden sein könnte. Eine am Thioether oxidierte Spezies wurde nicht isoliert. Dies weist darauf hin, dass diese Methode geeignet wäre, um die gewünschte Oxidation zu realisieren. Eine Erhöhung der Reaktionszeit sollte das Produkt **78** in besserer Ausbeute liefern. Aus Zeitgründen konnte diese Reaktion jedoch nicht mehr optimiert werden.

4.3.2.6 Erste Ergebnisse eines *MraY*-Assays von Muraymycin-Analoga mit Lysin-haltigem Harnstoffpeptid^[187]

Die Kupplungen geeigneter Uridinderivate **211a-d** mit dem entschützten L-Lysin-haltigen Harnstoffdipeptid **210** wurden kürzlich im Arbeitskreis *Ducho* von *A. Spork* durchgeführt (Abb. 4-39).^[187]

Das im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierte Lysin-haltige Harnstofftripeptid **74** wurde mittels TBAF-Lösung in THF entschützt und führte in sehr guten Ausbeuten von 92 % zum Produkt **210**. Die Peptidkupplungen mit dem Uridinderivaten **211a-d** wurden mittels EDC/HOBt-Methode in guten Ausbeuten von 75-83 % durchgeführt. Anschließend wurden alle Schutzgruppen sauer mit 80 %iger Trifluoressigsäure abgespalten. Die Muraymycin-Analoga **212a-h** wurden jedoch als Diastereomergemisch erhalten, welche mittels HPLC-Reinigung getrennt werden konnten. Hierbei konnte durch säurevermittelte Totalhydrolyse der Muraymycin-Analoga **212a-h** und anschließende Umsetzung mit *Marfey's* Reagenz^[212] die Konfiguration des epimerisierten Stereozentrums bestimmt werden. Die synthetisierten Muraymycin-Analoga **212a-h** konnten, ebenfalls von *A. Spork*, in einem *MraY*-Assay auf ihre inhibitorische Aktivität untersucht werden. Durch die Epimerisierung konnte der Einfluss des Stereozentrums an der 2-Position des Leucins analysiert werden.



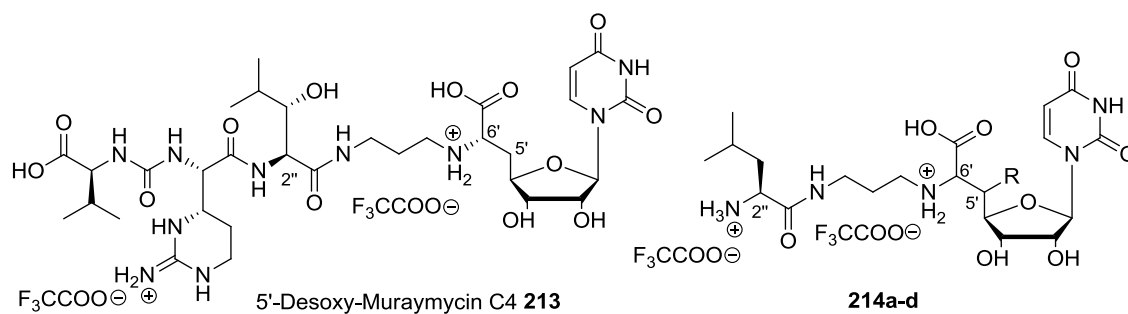
Nr.	R	5'	6'	Substrat	2''	Produkte	Ausbeute	IC ₅₀ ^a [μM]
1	H	-	S	211a	S	212a	57 %	1.7
					R	212b	18 %	2.6
2	H	-	R	211b	S	212c	57 %	4.2
					R	212d	19 %	17
3	OH	R	S	211c	S	212e	54 %	2.7
					R	212f	27 %	15
4	OH	S	R	211d	S	212g	59 %	4.7
					R	212h	24 %	7.3

a: Fluoreszenz-basierter *in vitro*-Assay mit rekombinanten *MraY* aus *S. aureus*^[191]

Abb. 4-39 Synthese verschiedener vereinfachter Muraymycin-Analoga durch *A. Spork*; inhibitorische Aktivität gegenüber *MraY*

Die gemessenen IC₅₀-Werte zeigen, dass ein Derivat mit dem *S*-konfigurierten Leucin, der natürlichen Konfiguration, tendenziell aktiver als das an 2''-Position *R*-konfigurierte Analogon ist. Die Werte weichen jedoch nicht sehr stark voneinander ab, sodass von einer signifikanten Abhängigkeit der Aktivität von der Stereochemie an der 2''-Position nicht ausgegangen werden kann.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die strukturell vereinfachten Muraymycin-Antibiotika **212a-h** zwar nicht ganz so aktiv wie das ebenfalls im Arbeitskreis *Ducho* synthetisierte 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **213** (IC₅₀ = 0.52 μM) waren, diese aber deutlich einfacher zu synthetisieren sind. Außerdem weisen sie eine deutlich höherer Inhibitor-Aktivität auf, als die stark vereinfachten verkürzten Muraymycinderivate **214a-d**, die als Peptid-Komponente nur L-Leucin beinhalten (IC₅₀ = 2.5-1.1 mM) (Tab. 4-7).^[191]



Nr.	R	5'	6'	IC ₅₀ ^a
213	-	-	S	0.52 μM
214a	OH	R	S	1.8 mM
214b	OH	S	R	2.0 mM
214c	H	-	S	1.1 mM
214d	H	-	R	2.5 mM

a: Fluoreszenz-basierter *in vitro*-Assay mit rekombinanten MraY aus *S. aureus*^[191]

Tab. 4-7 Struktur von 5'-Desoxy-Muraymycin **213** und der verkürzten Muraymycin-Derivate **214a-d**; inhibitorische Aktivität gegenüber MraY

Die in der vorliegenden Arbeit geplanten Harnstoffpeptide konnten mit verschiedenen Methoden diastereomerenrein und als Diastereomergemisch synthetisiert werden. Dabei wurden Harnstoffdipeptide und Harnstofftripeptide dargestellt, um sie in Zukunft mit verschiedenen Uridinderivaten zu Muraymycin-Analoga umzusetzen (siehe Ausblick). Die erhaltenen Diastereomergemische könnten ebenfalls verwendet werden, um den Einfluss des Stereozentrums der mittleren Aminosäure zu untersuchen.

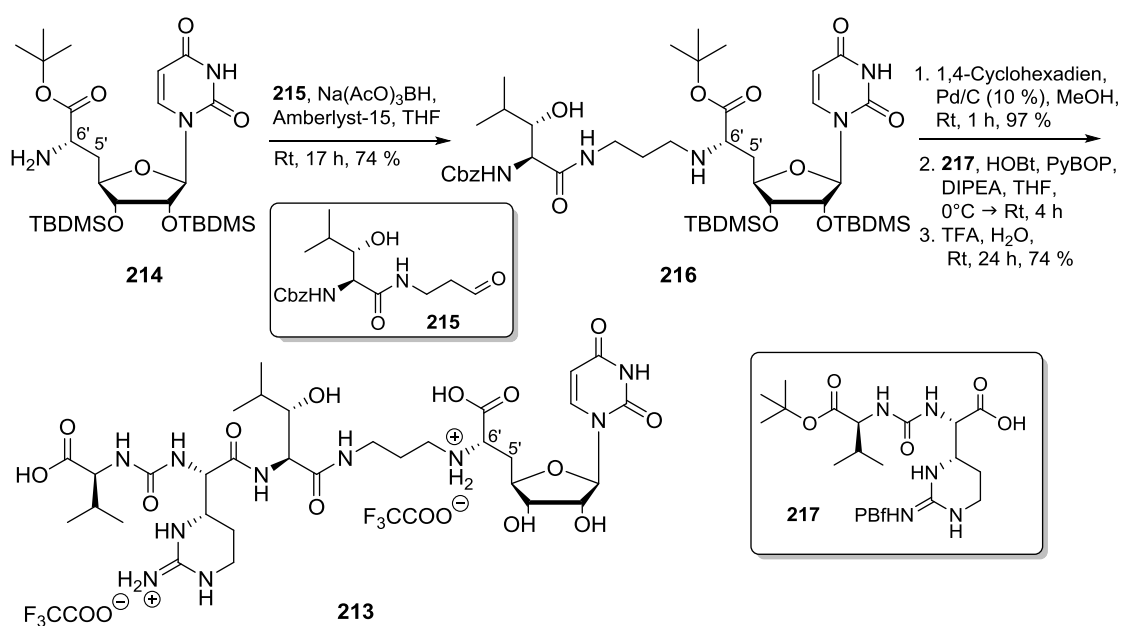


Abb. 4-40 Synthese von 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **213** durch A. Spork

Damit die Epimerisierung am L-Leucin vermieden wird, sollte ein alternativer dreiteiliger Ansatz erprobt werden. Dabei sollte ein L-Leucinderivat direkt über eine reduktive Aminierung mit einem Uridinderivat gekuppelt und anschließend ein Harnstoffdipeptid über eine Peptidkupplung verknüpft werden. Dieser Ansatz wurde kürzlich im Arbeitskreis *Ducho* für die Synthese des 5'-Desoxy-Muraymycin C4 erfolgreich angewendet (Abb. 4-40).^[187]

Die Synthese startet ausgehend vom Amin **214**, welches von *A. Spork* stereoselektiv dargestellt wurde.^[187] Der in der reduktiven Aminierung verwendete (3*S*)-3-Hydroxy-L-Leucin-abgeleitete Aldehyd **215** wurde von *O. Ries* stereoselektiv synthetisiert.^[210] Nach Cbz-Entschützung von Verbindung **216** wurde das von *M. Büschleb* stereoselektiv dargestellte L-Epicapreomycidin-haltige Harnstoffdipeptid **217**^[205] unter Peptidkupplungsbedingungen mit PyBOP **123** und HOBt **122** mit dem Cbz-entschützten Uridin-Derivat gekuppelt. Nach globaler saurer Entschützung konnte das 5'-Desoxy-Muraymycin C4 **213** erhalten werden, und es wurden keine Epimerisierungen beobachtet.

4.4 Synthese von (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren

2,3-Diaminosäuren sind in vielen biologisch aktiven Naturstoffen, wie z. B. den Mureidomycinen,^[213] den Pacidamycinen^[139] oder den Capreomycinen^[214] enthalten. In der chemischen Synthese solcher natürlichen Wirkstoffe sind Diaminosäuren häufig Schlüsselintermediate. Die Darstellung von zwei vicinalen stickstoffhaltigen Stereozentren ist häufig nicht trivial. Eine Vielzahl an Synthesen für 2,3-Diaminosäuren über verschiedene Routen ist publiziert worden.^[215-221] In der vorliegenden Arbeit sollten die bisher nicht-bekanntes (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren *N*²-Cbz-*N*³-Alloc-(3*S*)-3-Amino-L-leucin **83** und *N*²-Cbz-*N*³-Alloc-(2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure **82** synthetisiert werden. Bis heute sind erst wenige Synthesen von Derivaten des (3*S*)-3-Amino-L-leucins in der Literatur beschrieben worden.^[222-223]

Die geplanten (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren sollen anstelle des (3*S*)-3-Hydroxy-L-leucins in Muraymycin-Analoga integriert werden. In einigen natürlichen Muraymycinen ist die Hydroxygruppe des (3*S*)-3-Hydroxy-L-leucins mit einer Fettsäure verestert. Ein Vorteil der Diaminosäuren an dieser Stelle ist die Möglichkeit der Bildung einer stabileren Amidbindung im Vergleich zur Esterbindung. Dies wäre im Hinblick auf eine Optimierung der Muraymycin-Analoga zu Wirkstoff-Kandidaten vorteilhaft.

4.4.1 Versuch der Synthese von geschütztem (3*S*)-3-Amino-L-leucin **83**

4.4.1.1 Synthese von Alloc-geschütztem *Garner*-Aldehyd **99**

Der *Garner*-Aldehyd^[224] ist ein häufig verwendeter Baustein für die Synthese verschiedener nicht-proteinogener Aminosäuren^[225-227] oder Diaminosäuren.^[228-229] Er kann ausgehend von L- oder D-Serin in fünf Stufen mit verschiedenen Aminoschutzgruppen synthetisiert werden. In der geplanten Synthese von (3*S*)-3-Amino-L-leucin **83** sollte der Alloc-geschützte *Garner*-Aldehyd **99** als Reagenz für eine stereokontrollierte *Grignard*-Reaktion zur Einführung der *iso*-Propylgruppe verwendet werden. Der Vorteil dieser modularen Strategie ist die Möglichkeit der Synthese weiterer Diaminosäuren durch Verwendung der jeweils benötigten Kohlenstoffnucleophile. Die Allyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Alloc) wurde gewählt, da diese selektiv in Anwesenheit der meisten Aminoschutzgruppen abspaltbar und außerdem stabil gegenüber basischen und sauren Bedingungen ist. Die Darstellung des Alloc-geschützten *Garner*-Aldehyds **99** wurde auf Basis einer publizierten Synthese nach *Tabor et al.*^[150] durchgeführt (Abb. 4-41).

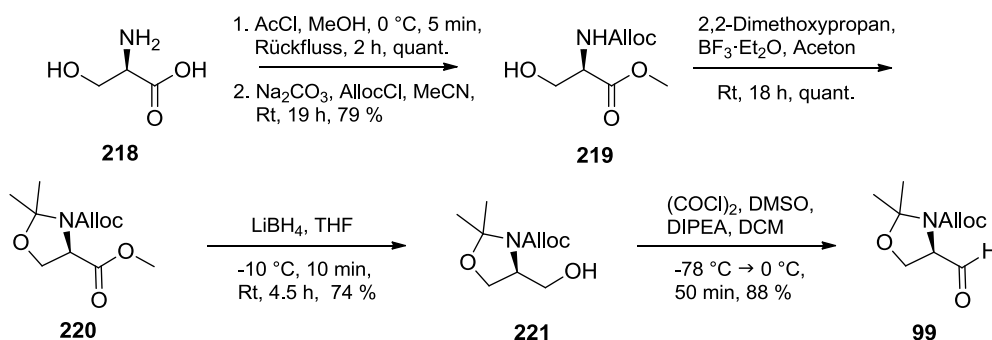


Abb. 4-41 Synthese des Alloc-geschützten *Garner*-Aldehyds **99**

D-Serin **218** wurde durch eine Säure-vermittelte Veresterung mit Acetylchlorid in Methanol quantitativ zum Methylester umgesetzt. Die Alloc-Schätzung wurde in Wasser und Acetonitril mit Natriumcarbonat als Base in Anwesenheit von Alloc-Chlorid durchgeführt. Nach 19 h konnte der *N*-Alloc-D-Serinmethylester **219** in 79 % Ausbeute erhalten werden. Die primäre Hydroxygruppe wurde anschließend unter Ausbildung einer Oxazolidin-Einheit als Acetonid **220** geschützt. Hierfür wurde der Methylester **219** in Aceton gelöst und mit einem Überschuss von 2,2-Dimethoxypropan und katalytischen Mengen Bortrifluorid-Etherat als Lewis-Säure versetzt. Hierbei war es wichtig, wasserfrei zu arbeiten, da Bortrifluorid-Etherat stark hydrolyseempfindlich ist. Die Umsetzung erfolgte quantitativ. Die Reduktion vom Methylester **220** zum primären Alkohol wurde aufgrund der ebenfalls reduzierbaren Alloc-Gruppe unter milden Bedingungen mit Lithiumborhydrid durchgeführt. Diese Umsetzung führte mit einer Ausbeute von 74 % zum Alkohol **221**. Wurde das reaktivere Lithiumaluminiumhydrid verwendet, konnte der Alkohol **221** nach 20 min Reaktionszeit in nur 21 % erhalten werden. Nach dieser Zeit war das Edukt **220** bereits komplett umgesetzt, wobei die Alloc-Gruppe ebenfalls teilweise reduziert wurde. Die Oxidation zum Aldehyd **99** erfolgte unter *Swern*-Bedingungen. Dafür wurden Oxalylchlorid und Dimethylsulfoxid in Dichlormethan vorgelegt, wobei sich das reaktive Chlorsulfoniumion bildet. Anschließend wurde der Alkohol **221** langsam bei -60 °C zugegeben. Der *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyd **99** konnte somit in 88 % Ausbeute erhalten werden. Über diese fünf Stufen ausgehend von D-Serin **218** wurde eine Gesamtausbeute von 51 % erreicht.

4.4.1.2 Weitere Schritte zum *N*²-Cbz-*N*³-Alloc-(3*S*)-3-Amino-L-leucin **83**

Den Schlüsselschritt der geplanten Synthese zum geschütztem (3*S*)-3-Amino-L-leucin **83** stellt die *Grignard*-Reaktion dar, wodurch das Stereozentrum an 3-Position generiert

werden sollte. Bei einer *Grignard*-Reaktion greift ein Kohlenstoffnucleophil an eine Carbonylverbindung unter Bildung des jeweiligen Alkylalkohols an. Der Angriff des Nucleophils kann von zwei Seiten erfolgen. Da Carbonylverbindungen mit zwei verschiedenen Substituenten prochiral sind, entstehen im Falle einer vorher chiralen Verbindung zwei Diastereomere. Aufgrund der Bevorzugung bestimmter Übergangszustände entsteht meist ein Diastereomer im Überschuss. Welches Diastereomer bevorzugt gebildet wird, hängt hauptsächlich von der Carbonylverbindung, den *Grignard*-Reagenzien und der Zugabe von Additiven (z. B. Lewis-Säuren) ab. Normalerweise wird ohne zusätzliche Zugabe eines chelatisierenden Metallions bei Carbonylverbindungen mit einer elektronenziehenden Gruppe in α -Position der Felkin-Anh-Übergangszustand bevorzugt, woraus das *anti*-Produkt **222** resultiert (Abb. 4-42).^[206] Allerdings wurde beobachtet, dass sich im Gegensatz dazu bei der Reaktion des *N*-Boc-*Garner*-Aldehyds mit *iso*-Propylmagnesiumchlorid bevorzugt das *syn*-Produkt bildet.^[230] Für diese Reaktion wurde ein Cram-Chelat-Übergangszustand postuliert, der diese Selektivität erklären würde (Abb. 4-42).^[231] M^+ ist, bei der *Grignard*-Reaktion ohne Zugabe von zusätzlichen Metallionen, ein weiteres *iso*-Propylmagnesiumchlorid-Molekül.

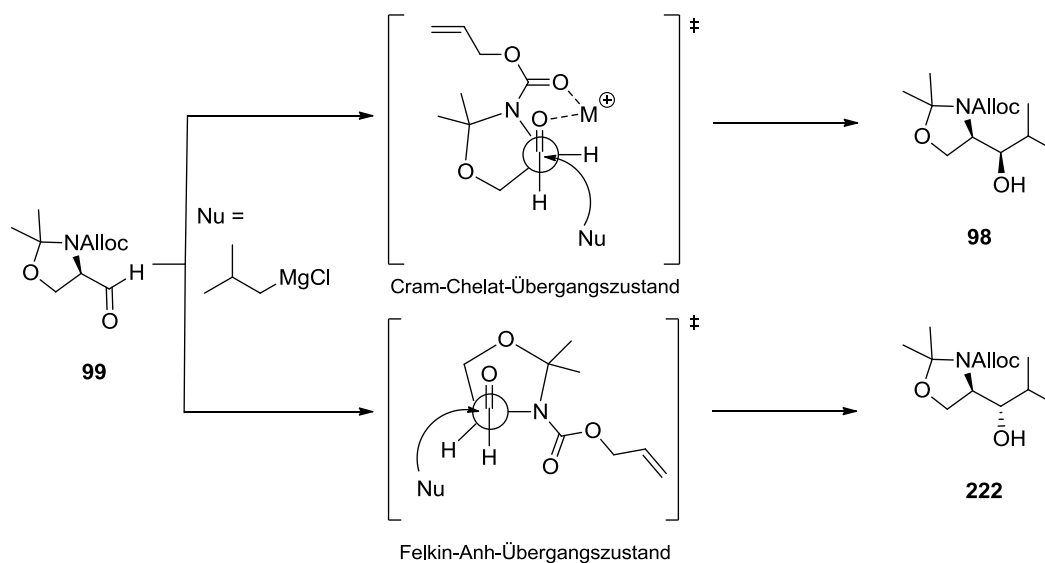
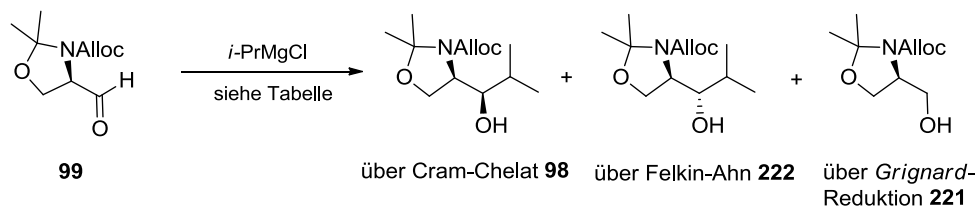


Abb. 4-42 Stereochemischer Verlauf der *Grignard*-Reaktion

Für diese Art von Übergangszustand spricht, dass der Urethan-Carbonyl-Sauerstoff stärker zur Chelatisierung befähigt ist als der eher elektronenarme Stickstoff. Außerdem wurde in einer Kristallstruktur des Produktes einer *Grignard*-Reaktion eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Alkohol und dem Urethan-Carbonyl-Sauerstoff identifiziert. Es konnte gezeigt werden, dass die Erhöhung des sterischen Anspruchs am Oxazolidin und

des *Grignard*-Nucleophils die Selektivität erhöht. Der Cram-Chelat-Übergangszustand wird durch aprotische Lösungsmittel wie Diethylether oder Tetrahydrofuran zusätzlich stabilisiert.^[231] Bei tiefen Temperaturen läuft die Addition kinetisch kontrolliert über einen möglichst energiearmen Übergangszustand ab. Analog dazu wurde für die *Grignard*-Reaktion mit dem hier verwendeten *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyd **99** ebenfalls der Cram-Chelat-Übergangszustand als bevorzugt angenommen und somit das *syn*-Produkt **98** als Hauptprodukt erwartet. (Tab. 4-8).



Nr.	Äq. ^a	Zeit	Temp.	98 ^{b,c} (%)	222 ^c (%)	221 ^b (%)	99 ^c (%)
1	3.3	2 h	-78 °C	31	(31)	n. i.	(19)
2	3.3 ^d	2 h	-78 °C	24	(14)	n. i.	(29)
3	6.6	2.5 h	-78 °C	12 (18)	(12)	13	(16)
4	3.3	5 h	-78 °C	12 (14)	(10)	16	(3)
5	3.3	2 h	-78 °C	36 (41)	(18)	27	(1)
		1.5 h	0 °C				
6	4.4	2 h	-78 °C	32	16	n. i.	-
		1.5 h	0 °C				
7 ^e	3.7	2 h	-78 °C	30	(24)	n. i.	(6)
		1.5 h	0 °C				
8 ^f	3.6 ^g	0.1 h	-78 °C	27 (30)	(9)	n. i.	(26)
		5 h	0 °C				
9	2.2	0.5 h	-80 °C → Rt	15 (19) ^c	(15)	n. i.	(15)
10	1.1 ^d	3 h	0 °C	3	(8)	n. i.	(13)

n. i. = nicht isoliert, a: Äq. *i*-PrMgCl, b: isolierte Ausbeute, c: berechnete Ausbeute in Klammern, d: mit ZnBr₂, e: in Et₂O, f: in Toluol, g: Äq. *i*-Pr₂Zn

Tab. 4-8 *Grignard*-Reaktion mit *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyd **99**

Die Reaktion des *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyds **99** mit *iso*-Propylmagnesiumchlorid wurde zuerst unter publizierten Bedingungen durchgeführt (Tab. 4-8, Nr. 1).^[231] Die gute Ausbeute von 73 % und die Selektivität von 1:6 zum *syn*-Produkt konnten mit dem Alloc-geschützten Derivat **99** nicht erreicht werden. Das gewünschte Produkt **98** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung in 31 % Ausbeute erhalten. Da das (*R,S*)-Diastereomer **222** nicht vom Aldehyd **99** abgetrennt werden konnte, wurden die Ausbeuten dieser Verbindung aus den Integralen des ¹H-NMR-Spektrums bestimmt. Für

das (*R,S*)-Diastereomer **222** wurde eine Ausbeute von 31 % und für den Aldehyd **99** von 19 % berechnet. Der bei jeder Reaktion gebildete primäre Alkohol der *Grignard*-Reduktion **221** wurde häufig nicht isoliert, sodass in diesen Fällen keine Ausbeute bestimmt werden konnte. Bei der *Grignard*-Reduktion wird statt eines Alkylrestes ein Hydrid auf die Carbonylverbindung übertragen. Dies tritt häufig bei sterisch gehinderten Carbonylverbindungen mit sperrigen Kohlenstoffnucleophilen, die ein β -ständiges Wasserstoffatomen tragen, auf.^[231]

Zur Optimierung dieser Reaktion wurden einige Bedingungen variiert. Durch Zugabe von Zinkbromid könnte der Chelat-Übergangszustand stabilisiert und dadurch die Selektivität zum gewünschten (*R,R*)-Diastereomer **98** erhöht werden. Unter gleichen Bedingungen wie bei Nr. 1 und Zugabe von Zinkbromid konnte zwar ein Anstieg der Selektivität (1.7:1) beobachtet werden, aber es wurde eine geringere Ausbeute von 24 % erhalten (Tab. 4-8, Nr. 2). Die Erhöhung der Äquivalente des *iso*-Propylmagnesiumchlorids führte genauso zu einer geringeren Ausbeute (Tab. 4-8, Nr. 3) wie eine Verlängerung der Reaktionszeit (Tab. 4-8, Nr. 4). Wie aus der Tabelle zu erkennen ist, sanken auch die isolierten Mengen der anderen Verbindungen, sodass zunehmende Zersetzung die Ausbeute wahrscheinlich verschlechterte. Eine Erhöhung der Ausbeute auf 36 % des gewünschten Diastereomers **98** konnte durch das langsame Erwärmen der Reaktionslösung auf 0 °C und anschließendes Rühren für weitere 1.5 h bei dieser Temperatur erreicht werden (Tab. 4-8, Nr. 5).

Zur weiteren Optimierung wurden die Reaktionszeit und Temperatur konstant gehalten und weitere Parameter variiert. Zum einen wurden die Äquivalente des *iso*-Propylmagnesiumchlorids erhöht (Tab. 4-8, Nr. 6) oder das Lösungsmittel von Tetrahydrofuran auf Diethylether gewechselt (Tab. 4-8, Nr. 7), was jeweils keine besseren Ausbeuten, aber zumindest einen besseren Umsatz lieferte.

Des Weiteren wurde eine publizierte Synthese getestet, in der die Verwendung von *i*-Pr₂Zn bei der Reaktion mit *N*-Boc-*Garner*-Aldehyd **100** gute Ausbeuten von 68 % und eine sehr hohe Selektivität von >19:1 ergab.^[232] Diese Bedingungen lieferten die in dieser Umsetzung beste Selektivität (3:1), aber nicht die beste Ausbeute (27 %), da ein schlechter Umsatz vorlag (Tab. 4-8, Nr. 8).

Die Anwendung von Bedingungen aus einer im Arbeitskreis *Ducho*^[205] für die Addition von Allylmagnesiumchlorid an den *N*-Boc-*Garner*-Aldehyd optimierten Synthese, bei der 2.2 Äq. des *Grignard*-Reagenzes verwendet wurden, führte zu einer noch geringeren Ausbeute (Tab. 4-8, Nr. 9). Eine ebenfalls im Arbeitskreis *Ducho*^[205] etablierte Synthese mit 1.1 Äq *Grignard*-Reagenz und 5.0 Äq. Zinkbromid und Erhöhung der Temperatur auf

0 °C führte zu einer geringeren Selektivität und einer sehr niedrigen Ausbeute (Tab. 4-8, Nr. 10). Die geringen Ausbeuten (Nr. 9 und Nr. 10) könnten an der Verwendung von weniger als 3.0 Äq. der *Grignard*-Verbindung liegen, da prinzipiell mindestens zwei Äquivalente für eine Umsetzung benötigt werden und das dritte Äquivalent für die Chelatisierung benötigt wird. Die Erhöhung der Temperatur verringerte wahrscheinlich die Selektivität, da bei höherer Temperatur möglicherweise der Angriff des Nucleophils schneller als die Chelatisierung ist. Außerdem könnte eine verstärkte Rotation der Carbonyl-Einheit vorliegen, sodass dadurch die Chelatisierung geschwächt wäre. Die geringen Ausbeuten sind vor allem mit der großen sterischen Hinderung des Substrates als auch des Reagenzes zu erklären. Die besten Bedingungen waren somit 3.3 Äq. *Grignard*-Reagenz in Tetrahydrofuran bei einer Reaktionszeit von 2 h bei -78 °C und 1.5 h bei 0 °C (Tab. 4-8, Nr. 5). Dabei wurde ein sehr guter Umsatz erreicht. Allerdings stieg auch der Anteil des primären Alkohols **221** an, der aus der *Grignard*-Reduktion resultierte.^[231]

Zur Bestimmung der Stereochemie des Hauptproduktes sind verschiedene Methoden bekannt. Eine häufig verwendete Methode ist die Umsetzung zu *Mosher*-Ethern.^[233] Dabei wird jeweils das (*R*)- und (*S*)-Derivat der α -Methoxy- α -trifluormethylphenylessigsäure (*Mosher*-Säure) mit dem chiralen Alkohol verestert und das Produkt mittels ¹H- sowie ¹⁹F-NMR-Spektroskopie untersucht. Dabei ist die relative Anordnung der Substituenten am stereogenen Zentrum zur Phenylgruppe der *Mosher*-Säure entscheidend für die chemische Verschiebung.^[234] Anhand des Vergleiches der chemischen Verschiebungen der verschiedenen Derivate kann die Stereochemie bestimmt werden. Die Reaktion mit dem Alkohol **98** und der *Mosher*-Säure führte zu keiner Umsetzung. Die Kupplung wurde mit DCC/DMAP und EDC/DMAP unter verschiedenen Bedingungen versucht, allerdings konnte nur Edukt **98** reisoliert werden.

Alternativ wurde die Derivatisierung des Hauptproduktes **98** zum 1,3-Dioxan **224** durchgeführt (Abb. 4-43).

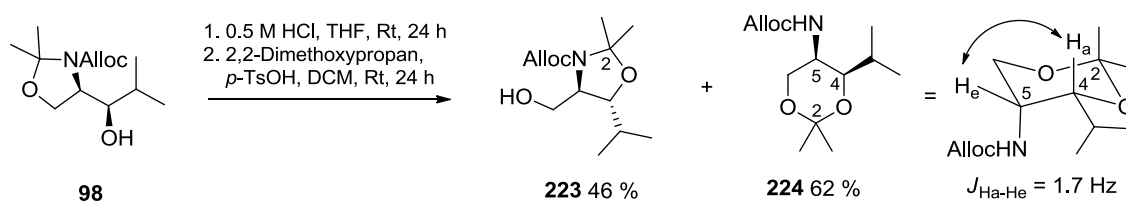


Abb. 4-43 Bestimmung der relativen Konfiguration über das 1,3-Dioxan **224**

Durch die Sechsring-Struktur kann mit Hilfe der Kopplungskonstanten im ^1H -NMR-Spektrum die relative Anordnung der benachbarten Gruppen bestimmt werden. Da das Stereozentrum am C-5 eine bekannte Konfiguration besitzt, konnte das durch die *Grignard*-Reaktion neu gebildete stereogene Zentrum am C-4 relativ dazu zugeordnet und somit die relative und indirekt auch die absolute Konfiguration bestimmt werden. Wie durch die *Karplus*-Beziehung^[235] beschrieben, liegt eine Kopplungskonstante zwischen zwei axial zueinander stehenden Protonen ($J_{\text{Ha-Ha}}$) bei 8.0-10 Hz, und eine Kopplungskonstante für ein axial und ein äquatorial stehendes Protonenpaar ($J_{\text{Ha-He}}$) beträgt 1.5-3.0 Hz.

Für die Synthese zum 1,3-Dioxan **224** wurde die Acetonid-Schutzgruppe des Alkohols **98** sauer gespalten und das Produkt dieser Reaktion mit 2,2-Dimethoxypropan und einer katalytischen Menge *p*-Toluolsulfonsäure umgesetzt.^[236] Dabei wurden zwei Heterocyclen erhalten, zum einen ein Oxazolidin-Derivat **223** und zum anderen ein 1,3-Dioxan-Derivat **224**. Die beiden Verbindungen konnten aus den ^1H -NMR-Spektren nicht eindeutig zu einer der beiden Strukturen zugeordnet werden. Durch Analyse der ^{13}C -NMR-Spektren konnte aufgrund der chemischen Verschiebung des C-2 eine Zuordnung durchgeführt werden.

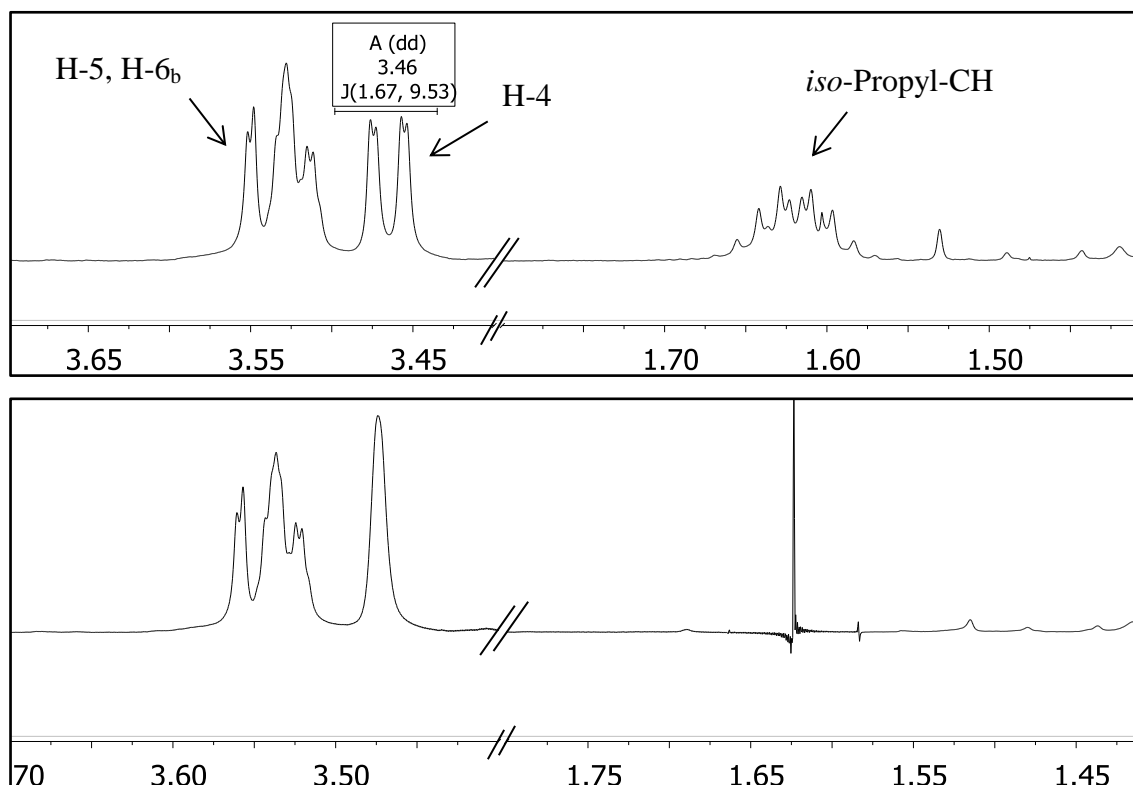


Abb. 4-44 Ausschnitte aus den ^1H -NMR-Spektren von **224**, oben: normal, unten: partiell entkoppelt

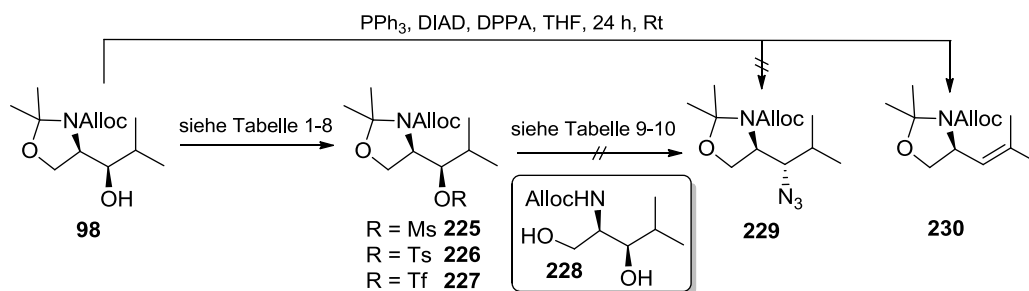
Beim Oxazolidin **223** ist das C-2 von Stickstoff- und Sauerstoffatomen umgeben und beim 1,3-Dioxan **224** von zwei Sauerstoffatomen. Die beiden Sauerstoffatome üben einen stärkeren elektronenziehenden Effekt als ein Stickstoff- und ein Sauerstoffatom aus. Somit ist das C-2 im 1,3-Dioxan **224** stärker entschirmt und weiter tieffeldverschoben.

Zur Zuordnung der relativen Konfiguration wurde das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 1,3-Dioxans **224** ausgewertet (Abb. 4-44, oben). Die Kopplungskonstanten der relevanten Protonen H-4 und H-5 konnten zuerst nicht eindeutig zugeordnet werden. Das Signal von H-5 liegt zusammen mit H-6_b in einem Multipllett. Das Signal von H-4 spaltet als Dublett vom Dublett mit Kopplungskonstanten von 1.7 Hz und 9.5 Hz auf. Die kleine Kopplungskonstante könnte zu einer äquatorial-axialen Kopplung gehören und die große Kopplungskonstante zu einer axial-axialen Kopplung. Eine der beiden Kopplungskonstanten konnte auf die Kopplung mit dem *iso*-Propyl-CH zurückgeführt werden. Dieses Signal liegt ebenfalls als ein Multipllett vor, aus dem keine Kopplungskonstante erkennbar war. Das Problem konnte gelöst werden, indem das *iso*-Propyl-CH-Signal entkoppelt wurde und so nur noch die Kopplung von H-4 zu H-5 sichtbar war (Abb. 4-44, unten). Die kleine Kopplung konnte zwar nicht mehr aufgelöst werden, jedoch konnte eindeutig gezeigt werden, dass die große Kopplungskonstante zu der Kopplung des H-4 mit dem *iso*-Propyl-CH gehört. Somit beträgt die gesuchte Kopplung 1.7 Hz, und es liegt eine äquatorial-axiale Kopplung zwischen H-4 und H-5 vor. Dies bestätigt die postulierte absolute Konfiguration des Hauptproduktes **98**.

Mit dem (*R,R*)-Diastereomer **98** sollten nun die weiteren Stufen zum (*3S*)-3-Amino-L-leucin **83** vervollständigt werden. Zur Einführung der Aminogruppe sollte der Alkohol in eine geeignete Abgangsgruppe überführt werden. Eine häufig verwendete Methode ist die Bildung von Sulfonsäureestern, da sie nach dem Abspalten die negative Ladung des entstandenen Anions gut stabilisieren können. In dieser Arbeit wurden Mesylat, Tosylat, und Triflat als Abgangsgruppen erprobt (Abb. 4-45).

Die Aktivierung des Alkohols **98** wurde zuerst mit Methansulfonylchlorid (MsCl) erprobt. Dies ist ein sterisch wenig anspruchsvolles Reagenz und sollte sich gut mit dem sterisch gehinderten Alkohol **98** umsetzen lassen. Für die Reaktion wurde der Alkohol **98** in Dichlormethan gelöst, mit 2.0 Äq. Triethylamin versetzt und 1.5 Äq. MsCl bei 0 °C langsam zugegeben. Nach 2 h bei 0 °C wurde nur wenig Produkt (19 %) und noch recht viel Edukt (47 %) isoliert (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 1). Eine Verlängerung der Reaktionszeit und Erwärmen auf Raumtemperatur ergab zwar eine geringere Ausbeute von 12 %, aber auch weniger Edukt (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 2). Das heißt, dass unter diesen Bedingungen

Zersetzung auftrat und die Reaktion zum Mesylat **225** nicht schnell genug war. Wurden 2.0 Äq. Diisopropylethylamin (DIPEA) als Base verwendet und Dimethylaminopyridin (DMAP) zur Aktivierung zugegeben, konnte die Ausbeute nach 2 d bei Raumtemperatur auf 42 % erhöht werden (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 3). Da aber noch viel Edukt **98** (38 %) reisoliert wurde, wurde die Reaktionszeit verlängert. Nach 20 h und 37 h wurden jeweils weitere Portionen der Reagenzien zugegeben. Damit konnte die Ausbeute auf 52 % erhöht werden, und nur 11 % des Edukts **98** wurden reisoliert (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 4).



Nr.	Reagenz (Äq.)	Bedingungen (Äq.)	Zeit	Temp.	Produkte (%)
1	MsCl (1.5)	NEt ₃ (2.0), DCM	2 h	0 °C	98 (47), 225 (19)
2	MsCl (1.5)	NEt ₃ (2.0), DCM	21 h	0 °C → Rt	98 (15), 225 (12)
3	MsCl (2.0)	DIPEA (4.0), DMAP, DCM	30 min 45 h	0 °C Rt	98 (38), 225 (42)
4	MsCl (2.0)	DIPEA (4.0), DMAP, DCM	1 h 3 d	0 °C Rt	98 (11), 225 (52)
5	TsCl (1.5)	Me ₃ N·HCl (1.0), Pyridin	13 d	Rt	98 (50)
6	TsCl (4.0)	Me ₃ N·HCl (1.0), NEt ₃ , DCM	2 d	Rt	98 (34), 228 (38)
7	TsCl (2.0)	NEt ₃ (4.0), DMAP, DCM	2 d	Rt	98 (48)
8	Tf ₂ O (1.2)	Pyridin (3.0), DCM	3 h 16 h	0 °C Rt	98 (11)
9	(Bu ₄ N)N ₃ (5.0)	DMF	22 h	Rt	225 (64)
10	NaN ₃ (6.0)	DMF	24 h	80 °C	225 (49)

Abb. 4-45 Versuche zur Synthese des Azids **229**

Mit dem Mesylat **225** sollte die Umsetzung zum Azid über eine S_N2-Reaktion erfolgen, um die gewünschte stereochemische Konfiguration zu erhalten. Dafür wurde das Mesylat **225** in Dimethylformamid gelöst und Tetrabutylammoniumazid zugegeben. Nach 22 h bei Raumtemperatur konnte keine Umsetzung zum Azid **229** beobachtet werden (Abb. 4-45,

Tabelle Nr. 9). Bei der Umsetzung des Mesylats **225** mit Natriumazid bei 80 °C konnte ebenfalls nur Edukt **225** (49 %) reisoliert werden (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 10). Daher wurde vermutet, dass die Mesyl-Gruppe den Alkohol **98** nicht ausreichend aktiviert.

Aus diesem Grund sollte der Alkohol **98** in eine bessere Abgangsgruppe, das Tosylat **226**, überführt werden. Dieses kann aufgrund des aromatischen Ringes die negative Ladung nach dem Abspalten noch besser stabilisieren (mesomerer Effekt). Die Reaktion mit *para*-Toluolsulfonsäurechlorid (TsCl), Trimethylammoniumchlorid und 1.0 Äq. Triethylamin als Base in Pyridin ergab nach 13 d kaum Umsetzung des Edukts **98** (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 5). Die Verwendung von Dichlormethan als Lösungsmittel bewirkte eine verstärkte Bildung von Nebenprodukten (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 6). Als eine der Hauptkomponenten nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte neben dem Edukt **98** (34 %) eine acetonidenschützte Verbindung **228** (38 %) isoliert werden. Die Zugabe von Dimethylaminopyridin zur Aktivierung führte ebenfalls nicht zum Erfolg (Abb. 4-45, Tabelle Nr. 7). Eventuell ist das Tosylat zu sperrig, um mit dem sterisch gehinderten Alkohol eine Veresterung einzugehen.

Als ebenfalls sehr gute Abgangsgruppe ist das Triflat bekannt. Die Fluoratome bewirken einen starken negativen induktiven Effekt auf die Sulfonylgruppe. Somit wird das Anion sehr gut stabilisiert. Hierfür wurde das Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tf₂O) bei -25 °C in eine Lösung des Alkohols **98** mit Pyridin als Base in Dichlormethan gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei 0 °C und für weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte nur wenig Substanz isoliert werden, wobei hauptsächlich das Edukt **98** aber kein Produkt **227** identifiziert wurde. Daraus folgt, dass der Alkohol durch die Nachbarschaft zum Oxazolidin und zur *iso*-Propyl-Gruppe sterisch sehr stark abgeschirmt ist und nur schlecht zu den sterisch relativ anspruchsvollen Sulfonestern aktiviert werden kann, was in den beschriebenen schlechten Umsätzen resultierte.

Eine direkte Umsetzung eines Alkohols zum Azid kann mit der *Mitsunobu*-Reaktion realisiert werden.^[237] Auf Grundlage einer publizierten Synthese eines Alkohols mit einer *iso*-Propylgruppe in α -Position wurde diese Umsetzung durchgeführt.^[238] Der Alkohol **98** wurde mit Triphenylphosphin, Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) und Diphenylphosphorylazid (DPPA) umgesetzt. Dabei konnte ein Hauptprodukt isoliert werden, welches jedoch wahrscheinlich das Alken **230** darstellt. Von Problemen durch Eliminierung unter diesen Bedingungen wurde berichtet.^[238] Da der Alkohol **98** anscheinend eine zu große sterische Hinderung aufweist, um auf diesem hier vorgestellten

Weg zum Azid umgesetzt zu werden, wurde diese Route zur Darstellung von Diaminosäuren nicht weiter verfolgt.

4.4.2 Synthese der geschützten (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure **82**

Aufgrund der sterischen Hinderung der *iso*-Propylgruppe bei der vorherigen Syntheseroute sollte diese gegen eine *n*-Propylgruppe ausgetauscht werden, welche über eine Allylgruppe und anschließende Reduktion ebenfalls in einer *Grignard*-Reaktion eingeführt werden sollte. Dabei sollte ausgenutzt werden, dass die Addition von Allylmagnesiumchlorid an das *N*-Benzylimin **102** des Boc-geschützten *Garner*-Aldehyds **100** als Hauptprodukt das *anti*-Diastereomer liefert.^[205] Somit kann der Stickstoff an 3-Position frühzeitig eingeführt werden.

4.4.2.1 Synthese des Boc-geschützten *Garner*-Aldehyds **100**

Die Darstellung des *N*-Boc-*Garner*-Aldehyds **100** erfolgte nach einer literaturbekannten Synthese von *Dondoni* und *Perrone*,^[149] wobei einige Bedingungen variiert wurden (Abb. 4-46).

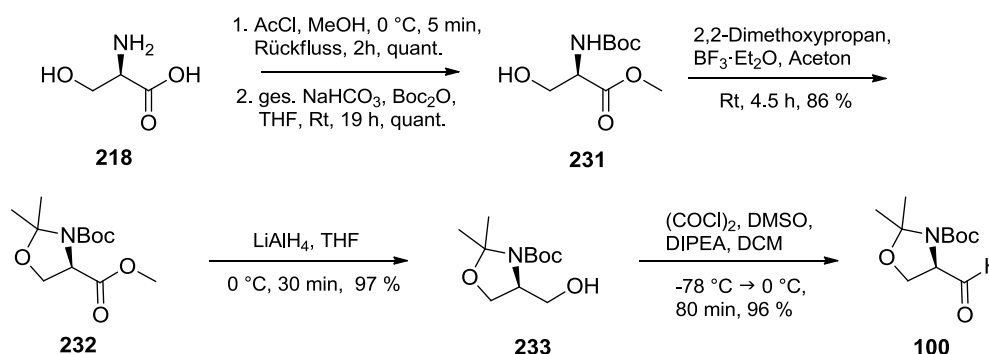


Abb. 4-46 Synthese von *N*-Boc-*Garner*-Aldehyd **100**

Ausgegangen wurde von D-Serin **218**, welches zuerst quantitativ durch die Bildung eines Methylesters geschützt wurde. Dieser wurde direkt mit Natriumhydrogencarbonat und Boc-Anhydrid umgesetzt, um das Boc-geschützte Derivat **231** in ebenfalls quantitativer Ausbeute zu erhalten. Die Acetonidschützung zu **232** gelang mit 2,2-Dimethoxypropan in Aceton und katalytischen Mengen Bortrifluorid-Etherat in guten Ausbeuten von 86 %. Die Reduktion zum primären Alkohol **233** konnte mit Lithiumaluminiumhydrid in exzellenten Ausbeuten von 97 % durchgeführt werden. Bei der anschließenden *Swern*-Oxidation zum Aldehyd **100** wurde ebenfalls eine sehr gute Ausbeute von 96 % erreicht. Über die fünf

Stufen konnte der Boc-Garner-Aldehyd **100** mit nur einer säulenchromatographischen Reinigung in einer Gesamtausbeute von 80 % ausgehend von D-Serin **218** erhalten werden.

4.4.2.2 Synthese der *N*²-Alloc-*N*³-Cbz-(2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure **82** und Umsetzung mit einem Aminopropyl-Linker

Ausgehend vom *N*-Boc-Garner-Aldehyd **100** sind noch sieben Stufen zur geschützten Diaminohexansäure **82** notwendig. Der Schlüsselschritt ist die Einführung der Seitenkette mittels Imino-Grignard-Reaktion. Anschließende Schutzgruppenmanipulationen und Oxidation zur Säure sollten das gewünschte Produkt **82** liefern. Zur Verknüpfung mit einem Uridin-Derivat sollte ein Aminopropanlinker an die Diaminosäure **82** gekuppelt werden (Abb. 4-47).

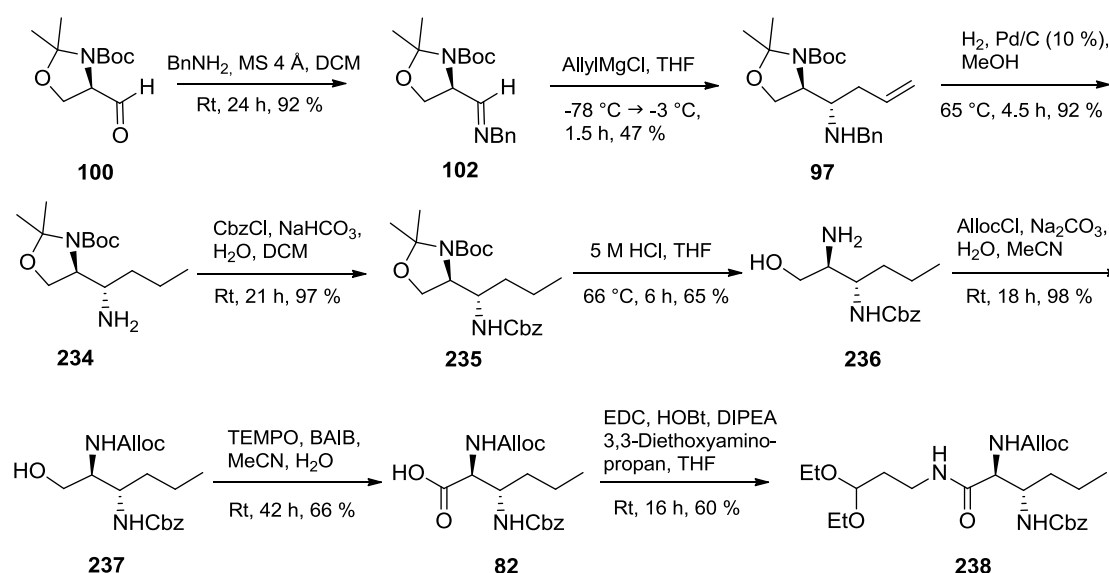


Abb. 4-47 Synthese der derivatisierten 2,3-Diaminohexansäure **238**

Die Synthese von Imin **102** konnte durch Umsetzung des Aldehyds **100** mit Benzylamin realisiert werden. Da dies eine Gleichgewichtsreaktion ist und dabei Wasser entsteht, wurde die Reaktion durch Zugabe von aktiviertem Molsieb in Richtung des Imins **102** gelenkt. Für eine gute Umsetzung war es wichtig, das Benzylamin als Lösung in Dichlormethan langsam zum Aldehyd hinzuzugeben. Das Produkt **102** konnte in sehr guten Ausbeuten von 92 % erhalten werden. Wurde eine säulenchromatographische Reinigung durchgeführt, zerfiel das Imin **102** zum Teil wieder in den Aldehyd **100**. Die Imino-Grignard-Reaktion wurde nach etablierten Methoden von *M. Büschleb*^[205] durchgeführt. Aufgrund der Bildung einiger Nebenprodukte wurde die Menge des Allylmagnesiumchlorids auf 1.1 Äq. beschränkt. Für die Diastereoselektivität der Reaktion

war es wichtig, dass das *Grignard*-Reagenz bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ zugegeben und die Reaktionsmischung langsam erwärmt wurde. Durch die langsame Erhöhung der Temperatur während der Reaktion konnte eine exzellente Diastereoselektivität erreicht werden. Diese *Grignard*-Reaktion verläuft hauptsächlich über den Felkin-Ahn-Übergangszustand und liefert somit als Hauptprodukt die gewünschte *anti*-Verbindung **97**. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Ausbeute von 47 % für das (*S,S*)-Diastereomer **97** erzielt. Die Bestimmung der relativen Konfiguration wurde durch NOE-Experimente eines cyclischen Harnstoffs, der nach Acetonidöffnung und TBDMS-Schätzung des Alkohols dargestellt wurde, von *M. Büschleb* durchgeführt. Die postulierte Konfiguration konnte dadurch bestätigt werden. Die analytischen Daten des in dieser Arbeit dargestellten Amins **97** waren konsistent mit denen von *M. Büschleb*.^[205]

Die Benzylentschätzung des Amins **97** und gleichzeitige Reduktion der Doppelbindung konnte durch Einleiten von Wasserstoff in Methanol unter Rückfluss in 4.5 h durchgeführt werden. Dabei wurde eine exzellente Ausbeute von 92 % erreicht. Die Cbz-Schätzung des nun freien Amins **234** gelang ebenfalls in sehr guten Ausbeuten von 97 %. Aus Löslichkeitsgründen wurde die Reaktion in Dichlormethan und Wasser (1:1) durchgeführt. Bei der anschließenden Acetonidöffnung der Verbindung **235** unter sauren Bedingungen (HCl) wurde ebenfalls die Boc-Gruppe abgespalten. Dies war erwünscht, da im Zielprodukt **82** eine Schutzgruppe an der 3-Aminofunktion vorhanden sein sollte, welche sauren Bedingungen widersteht. Für die zukünftige Synthese von Muraymycin-Analoga wurde beabsichtigt, die Diaminosäure **82** mit einem Aminopropyl-Linker zu versehen, welcher eine sauer zu spaltende Acetalfunktion erhalten sollte. Deshalb wurde das freie Amin des Diaminoalkohols **236** anschließend mit der unter sauren Bedingungen stabilen Alloc-Gruppe geschützt. Dies gelang mit Allylchlorformiat, Natriumcarbonat als Base in Acetonitril und Wasser in exzellenten Ausbeuten von 98 %. Die Oxidation zur Carbonsäure wurde unter TEMPO/BAIB-Bedingungen durchgeführt. Die Diaminohexansäure **82** wurde in eher moderaten Ausbeuten von 66 % erhalten. Weitere Optimierungen wurden aus Zeitgründen nicht durchgeführt. Da es eine große Anzahl an Oxidationsmethoden gibt, sollte eine Erhöhung der Ausbeute generell möglich sein. Ein erster Versuch der Kupplung der Diaminosäure **82** mit dem 3,3-Diethoxyaminopropan wurde unter Verwendung von EDC/HOBt-Aktivierung mit Diisopropylethylamin als Base in Tetrahydrofuran durchgeführt. Das Produkt **238** konnte in einer Ausbeute von 60 % erhalten werden. Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass eine Kupplung mit dem Aminopropyl-Linker möglich ist. Das Acetal **238** konnte in 7 Stufen ausgehend von

N-Boc-*Garner*-Aldehyd **100** in 10 % Ausbeute und in 12 Stufen ausgehend von D-Serin **218** in 8 % Ausbeute erhalten werden.

4.4.2.3 Weitere Ansätze zur Synthese von (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminosäuren

Ausgehend vom Imin **102** sollte der Anwendungsbereich dieser Imino-*Grignard*-Reaktion zur Darstellung einer größeren Anzahl verschiedener Diaminosäuren untersucht werden. Zuerst sollte die Reaktion mit sterisch weniger gehinderten *Grignard*-Reagenzien erprobt werden (Abb. 4-48).

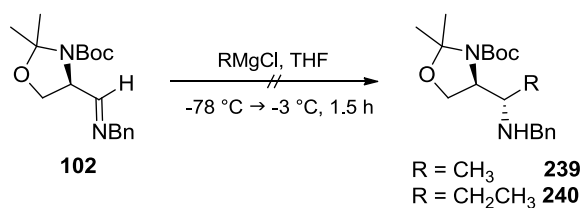


Abb. 4-48 Versuch der Imino-*Grignard*-Reaktion mit MeMgCl und EtMgCl

Die Bedingungen, unter denen die Allylgruppe erfolgreich eingeführt werden konnte, wurden hier angewendet. Wurde Magnesiumchlorid eingesetzt, konnte nur der *Garner*-Aldehyd **100** in 73 % Ausbeute aus dem Rohgemisch isoliert werden, und kein Produkt **239** wurde erhalten. Der Aldehyd **100** ist aufgrund des nicht umgesetzten Imins **102** durch Hydrolyse während der wässrigen Aufarbeitung oder der säulenchromatographischen Reinigung unter den leicht sauren Bedingungen am Kieselgel entstanden.

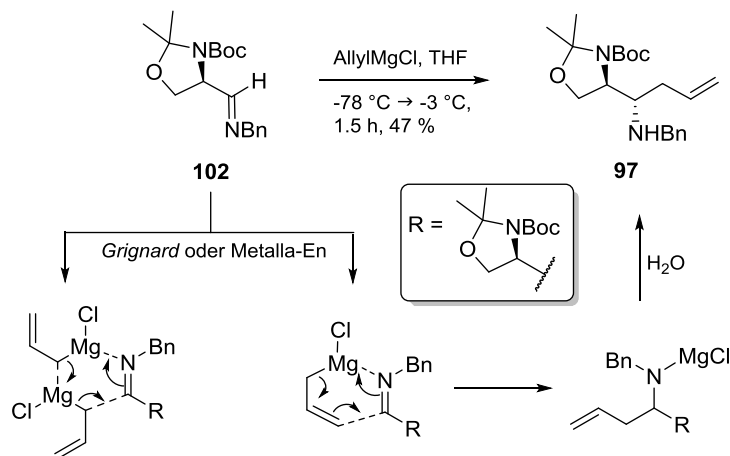


Abb. 4-49 Mögliche Mechanismen zur Bildung von **97**

Bei der Reaktion mit Ethylmagnesiumchlorid wurde ein Gemisch aus Imin **102** und Aldehyd **100** isoliert. Dabei konnte ebenfalls keinerlei Umsetzung zum Produkt **240**

beobachtet werden. Die hier verwendeten Bedingungen mit 1.1 Äq. des *Grignard*-Reagenzes waren speziell auf die Reaktion mit Allylmagnesiumchlorid und dem Benzylimin **102** hin optimiert. Somit könnte eine Erhöhung der Äquivalente der *Grignard*-Reagenzien oder der Temperatur eventuell zur Verbesserung des Resultats führen.

Die Tatsache, dass die höchste Ausbeute mit nur 1.1 Äq. an Allylmagnesiumchlorid erhalten wurde, deutet darauf hin, dass die Reaktion mit dem Imin **102** über einen anderen Mechanismus verläuft (Abb. 4-49). Ein möglicher alternativer Mechanismus könnte, wie in Abbildung 4-49 gezeigt, über einen cyclischen Übergangszustand verlaufen. Die Metalla-En-Reaktion ist eine pericyclische Reaktion, wobei über einen konzertierten Mechanismus ein Metall (hier Magnesium), welches in Allyl-Position zu einem Alken liegt, auf ein Enophil (hier Imin) übertragen wird. Dabei wird außerdem eine Bindung zwischen der Doppelbindung des Allylrestes und dem Imin gebildet.^[239-241] Bei der *Grignard*-Reaktion sind zwei Äquivalente des Allylmagnesiumchlorids für einen vollständigen Umsatz bei der Reaktion nötig. Dies könnte erklären, warum die Reaktion mit den anderen hier verwendeten *Grignard*-Reagenzien nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte. Es könnte aber auch sein, dass die hier eingesetzten Methyl- und Ethylmagnesiumchlorid Verbindungen nicht reaktiv genug für die Umsetzung mit dem Imin **102** sind.

Zur Synthese einer weiteren Diaminosäure wurde der *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyd **99** zum *para*-Methoxybenzyl-geschützten Imin **101** umgesetzt. Anschließend wurde dieser mit Allylmagnesiumchlorid zur Reaktion gebracht (Abb. 4-50).

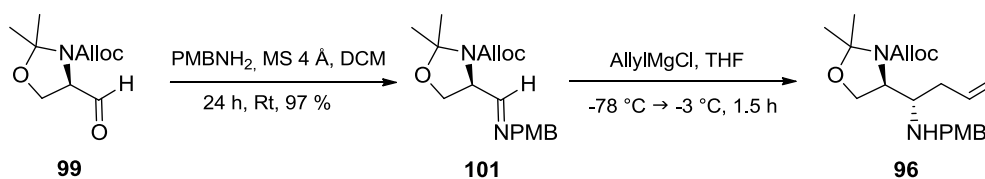


Abb. 4-50 Umsetzung von AllylMgCl mit dem Alloc- und PMB-geschützten Imin **101**

Hierbei wurde das *para*-Methoxybenzylamin mit dem *Alloc*-*Garner*-Aldehyd **99** in Dichlormethan umgesetzt und das Imin **101** in exzellenter Ausbeute von 97 % erhalten. Die *para*-Methoxybenzylgruppe wurde eingesetzt, da sie selektiv in Anwesenheit von verschiedenen funktionellen Gruppen unter nicht-reduktiven Bedingungen mit Cerammoniumnitrat entschützt werden kann.^[242]

Die *Grignard*-Reaktion des Allylmagnesiumchlorids mit dem Imin **101** ergab nach säulenchromatographischer Reinigung ein Gemisch aus dem Produkt **96** und nicht-identifizierbaren Nebenprodukten. Aus Zeitgründen wurden keine weiteren Optimierungen durchgeführt, und die Synthese zur Diaminosäure wurde nicht weiter verfolgt. Da die Bildung des Amins **96** prinzipiell möglich ist, könnten die Reaktionen analog zu der Synthese der (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure **82** durchgeführt werden, wobei ein Umschützungsschritt von der Boc- zur Alloc-Gruppe entfallen würde.

5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Synthese zweier wichtiger Intermediate der Peptidoglycanbiosynthese: Das dansylierte Park-Nucleotid **71** und die UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8**. Dies sind wertvolle Verbindungen für *MraY*- und *MurC*-Assays zur Untersuchung der Aktivitäten verschiedener Inhibitoren. Weiterhin wurden verschiedene Harnstoffpeptide und (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren synthetisiert, welche die Darstellung vereinfachter Muraymycin-Antibiotika und Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen hinsichtlich ihrer Peptidketten ermöglicht.

Das fluoreszenzmarkierte Park-Nucleotid **71** konnte ausgehend von kommerziell erhältlichem *N*-Acetylglucosamin **88** in 14 Stufen in einer Gesamtausbeute von 4 % dargestellt werden (Abb. 5-1).

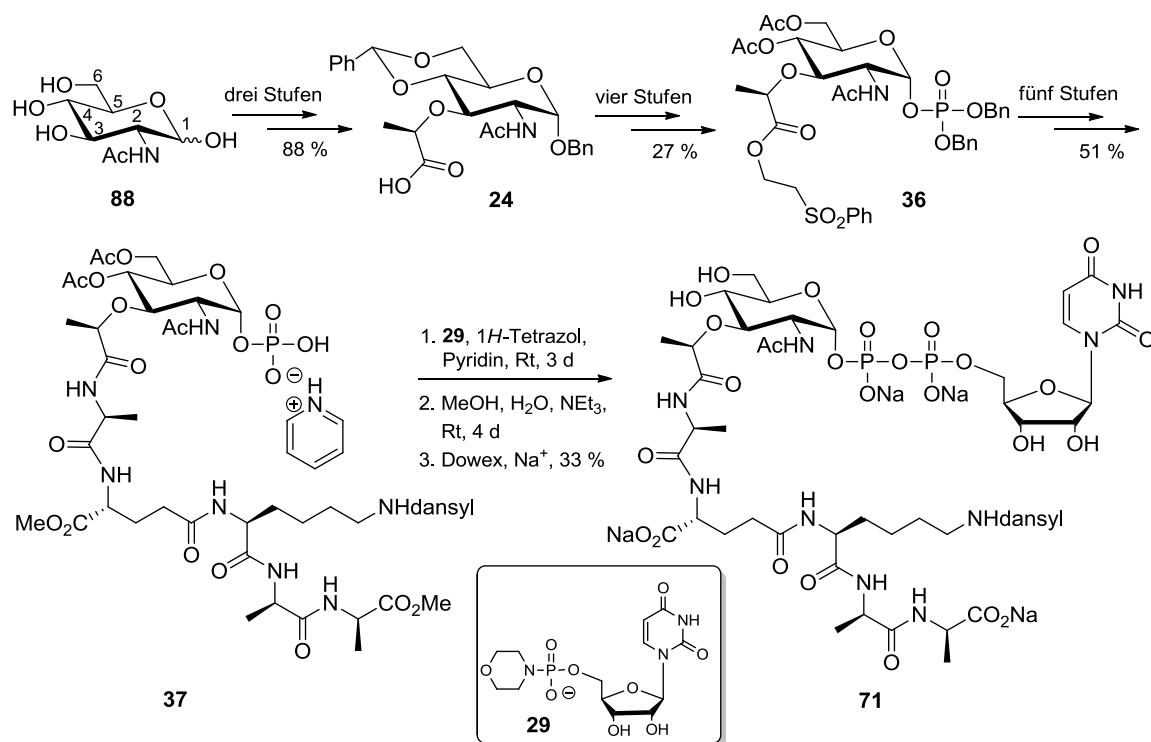


Abb. 5-1 Darstellung des dansylierten Park-Nucleotids **71**

Auf Basis einer literaturbekannten Syntheseroute^[151-152] konnte die Darstellung der geschützten Muraminsäure **24** gründlich optimiert werden. Das Produkt **24** wurde mittels einer geeigneten Schutzgruppenstrategie und stereokontrollierter Einführung der Propionsäureeinheit in drei Stufen in einer Ausbeute von 88 % erhalten. Die Synthese zum Glycosylphosphat **36** enthielt problematische Schritte. Die Schützung der Propionsäure mit Phenylsulfonylethanol konnte aufgrund von Reaktivitäts- und Reinigungsproblemen nach

einigen Optimierungsversuchen in nur 63 % Ausbeute durchgeführt werden. Nach dem Wechsel von der Benzyliden- zur Acetyl-Schutzgruppe der Hydroxyfunktionen an der 4- und 6-Position konnte die Benzylgruppe am anomeren Zentrum nur unter sauren Bedingungen und Wasserstoffüberdruck (3-5 bar) abgespalten werden. Zur Neutralisation wurde nach der Reaktion Pyridin zugegeben, da ansonsten Zersetzung beobachtet wurde. Die Einführung der Phosphatgruppe am anomeren Zentrum ergab das Glycosylphosphat **36** als reines α -Anomer nach zwei Umkristallisationen in einer Ausbeute von 65 %. Aufgrund von Problemen bei der Synthese des Pentapeptids **132** wurde die Peptidkette in einer [4+1]-Strategie mit dem Zucker **36** verknüpft. Nach Entschützung der Lactylseitenkette unter milden basischen Bedingungen wurde zuerst L-Alaninphenylsulfonylethylester **110** und nach wiederholter Entschützung das Tetrapeptid **129** mit dem Zucker gekuppelt. Die Entschützung konnten jeweils quantitativ und die Kupplungen in guten Ausbeuten von 70-73 % durchgeführt werden. Die Benzylgruppen am Phosphat wurden unter hydrogenolytischen Bedingungen durch Palladium-Katalyse mit 9 % Essigsäure in Dioxan abgespalten. Durch anschließende Zugabe von Triethylamin oder Pyridin konnte das entschützte Glycosylphosphat-pentapeptid **37** als Triethylammoniumsalz in 74 % Ausbeute und als Pyridiniumsalz in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Die Diphosphatkupplung ergab ausschließlich unter Verwendung der *Wong-Variante* der *Khorana-Moffatt-Methode*^[115,243] das Zielprodukt **71** nach globaler basischer Entschützung und Ionenaustausch über Dowex[®] in 33 % Ausbeute als Natriumsalz. Das in dieser Arbeit dargestellte dansylierte Park-Nucleotid **71** konnte kürzlich erfolgreich in einem Fluoreszenz-basiertem *MraY*-Assay eingesetzt werden.^[191]

Die Peptidkette wurde ausgehend von D-Alaninmethylester **107** linear in fünf Stufen mit einer Gesamtausbeute von 52 % zum Tetrapeptid **87** aufgebaut (Abb. 5-2).

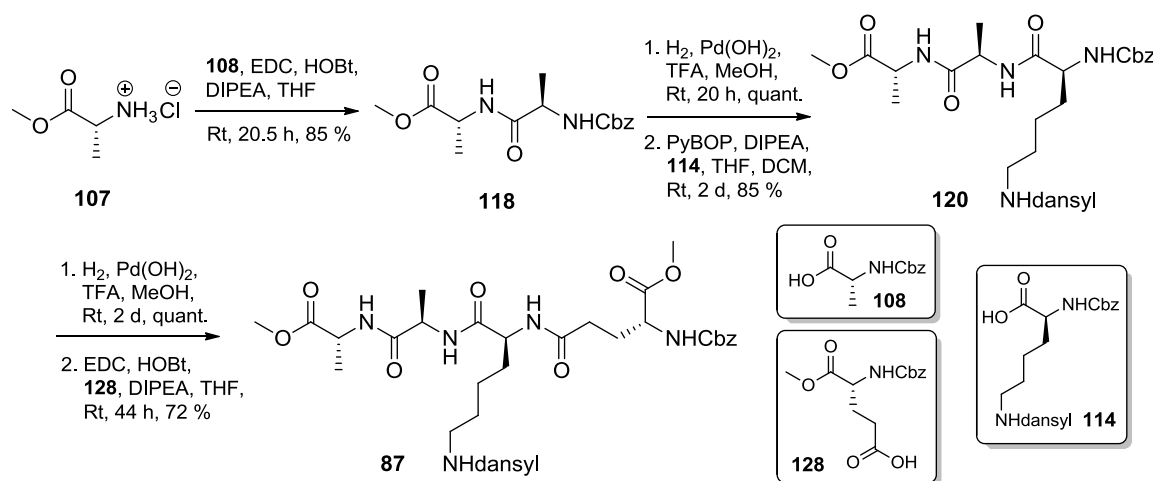


Abb. 5-2 Darstellung des Tetrapeptids **87**

Die Aminogruppen wurden durchgehend mit Cbz-Schutzgruppen und die α -Carboxylgruppen mit Methylgruppen versehen. Die Seitenkette des L-Lysins wurde mit der Dansylgruppe versehen und die 5-Carboxylgruppe der D-Glutaminsäure temporär als Allylester geschützt. Die Peptidkupplungen wurden für die jeweiligen Ausgangsverbindungen optimiert. EDC/HOBt-Kupplungsbedingungen mit Diisopropylethylamin als Base ergaben das Dipeptid **118** in einer guten Ausbeute von 85 %. Die Cbz-Entschützung konnte stets quantitativ durchgeführt werden. Die Kupplung des sterisch gehinderten dansylierten L-Lysins **114** zum Tripeptid **120** konnte nach zahlreichen Optimierungsversuchen mit PyBOP **123** als Aktivierungsreagenz und Diisopropylethylamin als Base in Dichlormethan und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel in 85 % Ausbeute durchgeführt werden. Das Tetrapeptid **87** wurde wiederum mit der EDC/HOBt-Methode in einer Ausbeute von 72 % synthetisiert.

Die Synthese der UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** wurde auf Basis der Darstellung des dansylierten Park-Nucleotids **71** durchgeführt. Ausgehend von der bereits dargestellten *N*-Acetylmuraminsäure **24** konnte das Zielprodukt **8** in acht Stufen in einer Gesamtausbeute von 15 % erhalten werden (Abb. 5-3).

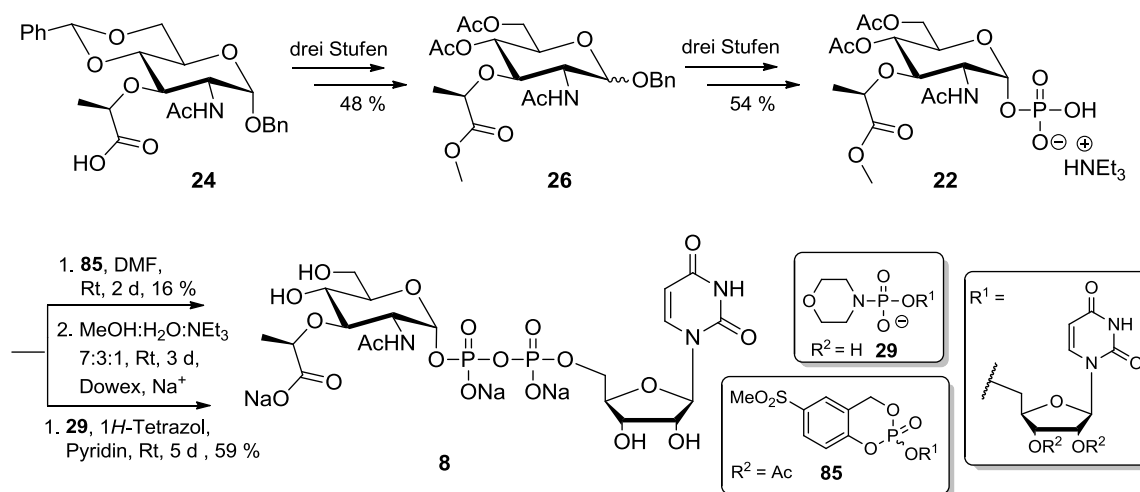


Abb. 5-3 Darstellung von UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8**

Die Schützung der Propionylseitenkette als Methyl ester gelang in einer guten Ausbeute von 72 %. Entgegen der Erwartung lief die Acetylschützung der Benzylidenentschützten Hydroxygruppen in 4- und 6-Position des Zuckers zunächst nicht vollständig ab. Durch wiederholte Umsetzung und Verlängerung der Reaktionszeit konnte der bisacetylierte Zucker **26** in einer Ausbeute von 67 % erhalten werden. Die Benzylentschützung der anomeren Hydroxygruppe konnte unter analogen Bedingungen zur Synthese des

dansylierten Park-Nucleotids **71** in exzellenten Ausbeuten von 92 % realisiert werden. Nach der Einführung der Phosphatgruppe musste eine säulenchromatographische Reinigung durchgeführt werden, um das Produkt als reines α -Anomer in 60 % Ausbeute zu erhalten. Das Phosphat **22** konnte mittels Palladium-katalysierter Hydrogenolyse in einem Gemisch aus Dioxan und Triethylamin in 98 % Ausbeute erhalten werden. Für die anschließende Diphosphatkupplung wurden zwei verschiedene Methoden erprobt. Zum einen wurde als aktiviertes Uridinphosphat das in dieser Arbeit synthetisierte *cycloSal*-Derivat **85** verwendet und die Kupplung gemäß der Methode nach Meier^[180] durchgeführt. Dabei konnte das Zielprodukt **8** nach finaler basischer Entschützung und Ionenaustausch zum Natriumsalz in einer geringen Ausbeute von 16 % erhalten werden. Zum anderen wurde ein kommerziell erhältliches Uridinmonophosphomorpholidat **29** eingesetzt, welches analog der Wong-Variante der Methode nach Khorana und Moffatt^[243] mit dem Glycosylphosphat gekuppelt wurde. Nach dem Abspalten aller Schutzgruppen und Ionenaustausch wurde die UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** als Natriumsalz in einer Ausbeute von 59 % erhalten.

Die Synthese des *cycloSal*-Nucleotids **85** konnte ausgehend von kommerziell erhältlichem Uridin **154** in vier Stufen realisiert werden. Dabei wurde eine Gesamtausbeute von 16 % erreicht (Abb. 5-4).

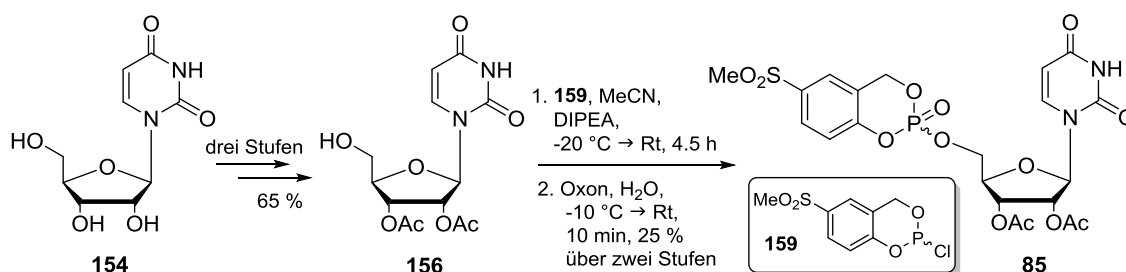
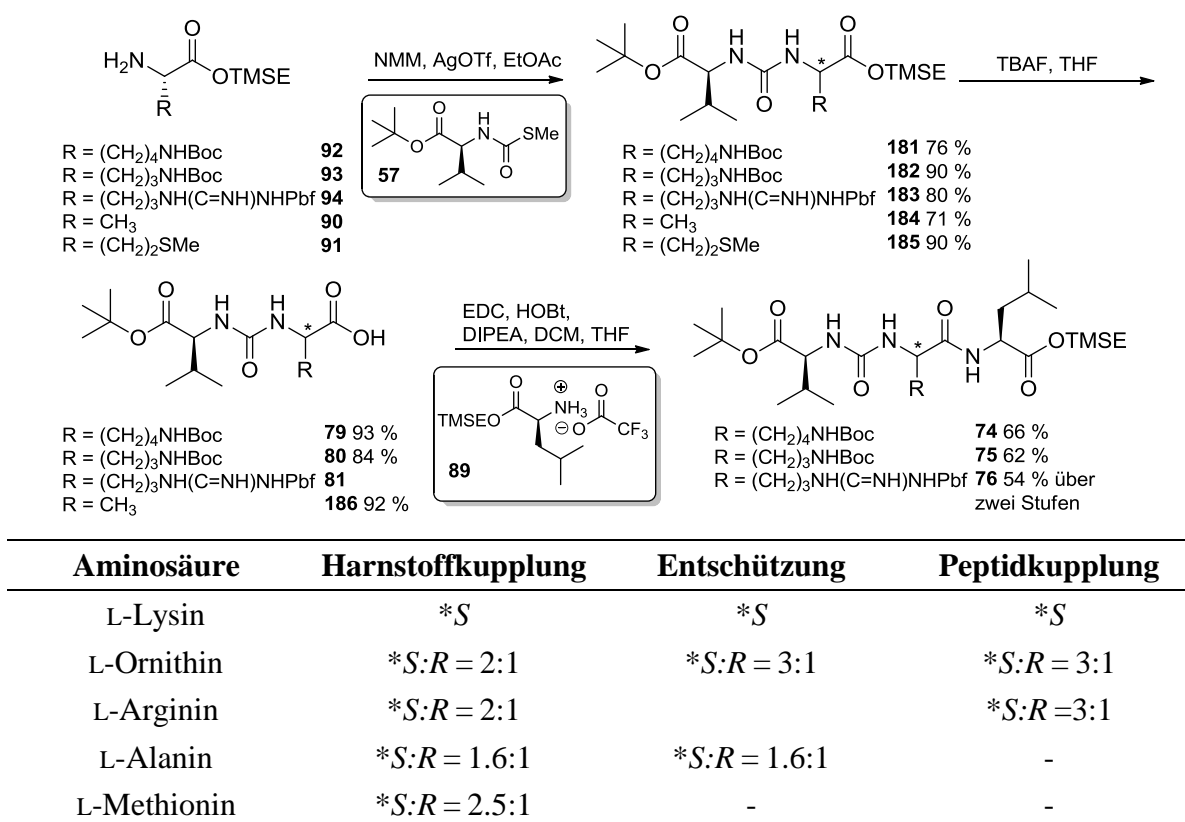


Abb. 5-4 Darstellung des *cycloSal*-Nucleotids **85**

Zuerst wurde selektiv der primäre Alkohol mit der TBDMS-Schutzgruppe in 65 % Ausbeute versehen. Anschließend konnten die beiden sekundären Hydroxylgruppen in quantitativer Ausbeute acetyliert werden. Die nachfolgende TBDMS-Entschützung erfolgte unter Verwendung von Triethylamintrihydrofluorid ebenfalls quantitativ zum 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156**. Das Chlorphosphit **159** wurde in drei Stufen ausgehend von kommerziell erhältlichem *para*-(Methylthio)phenol **157** in einer Gesamtausbeute von 38 % erhalten (ohne Abbildung). Die Hydroxymethylierung in *meta*-Position konnte mit Phenylboronsäure, *para*-Formaldehyd und katalytischen Mengen Propionsäure

durchgeführt werden. Anschließende Oxidation und Freisetzung des Salicylalkohols **152** gelang mit Wasserstoffperoxid in einer Ausbeute von 66 % über zwei Stufen. Das Chlorphosphit **159** wurde durch die Umsetzung des Salicylalkohols **152** mit Triphenylphosphin unter striktem Feuchtigkeitsausschluss erhalten. Die Reaktion des Chlorphosphits **159** mit dem Uridinderivat **156** und direkte Oxidation mit Oxon ergab das *cycloSal*-Nucleotid **85** in 25 % Ausbeute. Da es sich hierbei um literaturbekannte Synthesen handelte und eine ausreichende Menge für die Diphosphatkupplungen vorhanden war, wurden die Reaktionsschritte nicht weiter optimiert.^[181]

Die Synthesen der Harnstoffpeptide wurden nach einer einheitlichen Methodik durchgeführt (Abb. 5-5).



*S:R Verhältnis der Diastereomere, bestimmt über ¹H-NMR-Spektroskopie

Abb. 5-5 Darstellung der Harnstoffpeptide

Die Aminosäuren L-Alanin, L-Leucin und L-Methionin, jeweils ohne Schutzgruppe in der Seitenkette, wurden in drei Stufen zu den TMSE-Estern **92**, **90** und **91** umgesetzt. L-Lysin und L-Ornithin wurden zusätzlich in der Seitenkette mit einer Boc-Schutzgruppe und L-Arginin mit einer Pbf-Schutzgruppe versehen. Die Bildung der Harnstoffeinheit erfolgte durch Kupplung des jeweiligen Aminosäure-trimethylsilylesters **90-94** mit dem *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57**, *N*-Methylmorpholin als Base und

Silbertriflat als Aktivierungsreagenz. Die Ausbeuten lagen zwischen 71 % und 90 %. Entgegen der Erwartung trat bei allen Harnstoffkupplungen, außer bei der Verwendung des derivatisierten L-Lysins **92**, eine Epimerisierung während dieser Reaktion in verschiedenen Diastereomerenverhältnissen auf (Abb. 5-5, siehe Tabelle). Die TMSE-Entschützungen konnten in sehr guten Ausbeuten von 84-93 % durchgeführt werden. Die Peptidkupplungen mit dem L-Leucin-Derivat **89** lieferten unter Verwendung von EDC **121** und HOBT **122** die Harnstofftripeptide in moderaten Ausbeuten von 54-66 %. Diese Reaktionen wurden nicht weiter optimiert und nicht mit allen Harnstoffdipeptiden durchgeführt, da die Kupplung des L-Lysin-haltigen Harnstofftripeptids **74** mit verschiedenen Uridinderivaten **211a-d** zur Darstellung von vereinfachten Muraymycin-Analoga unter Epimerisierung des Stereozentrums am L-Leucin ablief (ohne Abbildung).^[187] Daher sollte in einer alternativen Strategie zur Darstellung der Muraymycin-Analoga die erste Aminosäure (meist ein Leucin-Derivat) direkt mit einem Uridin-Derivat verknüpft und anschließend mit einem Harnstoffdipeptid gekuppelt werden. Das epimerisierte Stereozentrum der in dieser Arbeit dargestellten Harnstoffdipeptide **181-185** wurde mit Hilfe von diastereomerenrein dargestellten Harnstoffdipeptiden ausgehend von L- und D-Alaninol **194** und **196** verifiziert. Das Diastereomeregemisch **186** wurde jeweils mit der L-Alanin-haltigen Verbindung **77** und der D-Alanin-haltigen Verbindung **198** im Verhältnis 1:2 zusammen gegeben. Anschließend wurden die Unterschiede der Verhältnisse in den ¹³C-NMR-Spektren bestimmt. Dadurch konnte nachgewiesen werden, dass die Epimerisierung an der angreifenden Aminosäure stattfindet.

Die diastereomerenreinen Verbindungen **77** und **198** wurden über die Kupplung der Aminoalkohole **194** und **196** mit dem *S*-Methylthiocarbamat **57** und anschließende Oxidation erhalten. Außerdem wurden diese Reaktionsbedingungen mit L-Methioninol **206** erprobt (Abb. 5-6).

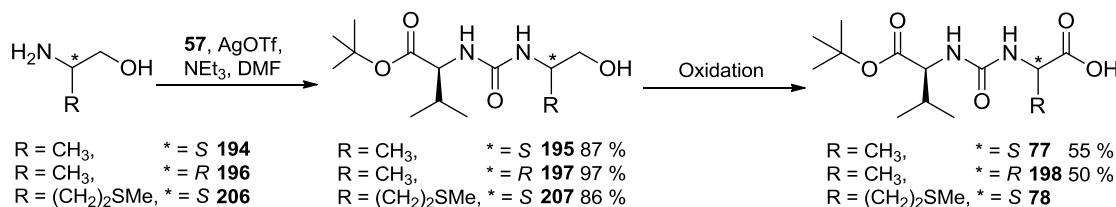


Abb. 5-6 Darstellung der Harnstoffdipeptide über den Aminoalkohol

Die Harnstoffkupplung mit den Aminoalkoholen wurde unter leicht veränderten Bedingungen durchgeführt. *N*-Methylmorpholin wurde durch die stärkere Base Triethylamin ersetzt und das Lösungsmittel von Ethylacetat auf Dimethylformamid

gewechselt. Dadurch wurden die Verbindungen **195**, **197** und **207** in sehr guten bis exzellenten Ausbeuten von 86-97 % als diastereomerenreine Verbindungen erhalten. Die Umsetzung zu den Alanin-haltigen Harnstoffdipeptiden **77** und **198** konnte mittels TEMPO/BAIB-Oxidation durchgeführt werden. Dabei wurden moderate Ausbeuten von 50-55 % erreicht. Dies ist auf die Bildung von Nebenprodukten durch unvollständige Oxidation sowie eine problematische Reinigung zurückzuführen. Die Oxidation zum Methionin-haltigen Harnstoffdipeptid **78** war bisher nicht selektiv möglich, da der Thioether ebenfalls oxidiert wurde oder andere Nebenreaktionen stattfanden.

Für die Darstellung verschiedener (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren wurden zwei verschiedene Syntheserouten erprobt (Abb. 5-7). Als wichtige Ausgangsverbindung wurde der Garner-Aldehyd **99** bzw. **100** mit zwei verschiedenen Schutzgruppen für die Aminogruppe ausgehend von D-Serin **218** in fünf Stufen synthetisiert.^[149-150]

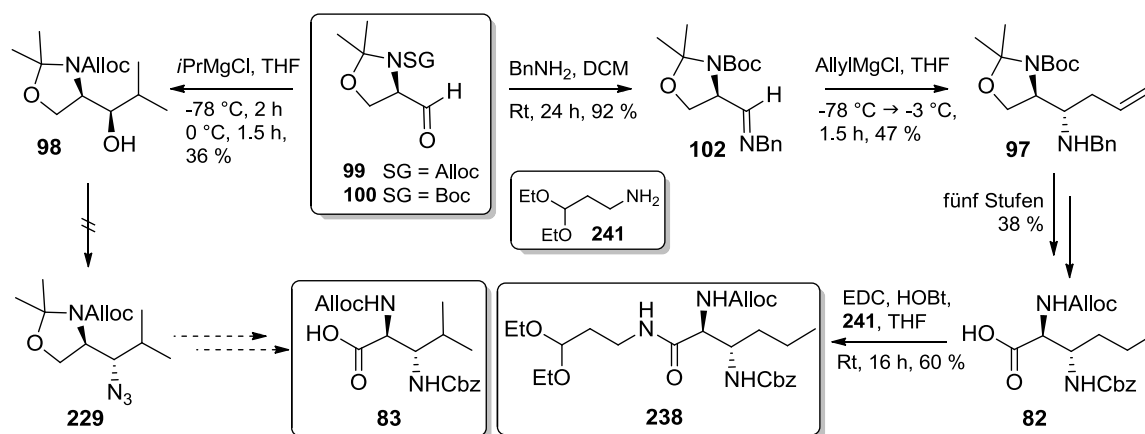


Abb. 5-7 Syntheserouten zu verschiedenen (2*S*,3*S*)-Diaminosäuren

Alloc-geschützter Garner-Aldehyd **99** wurde in einer Gesamtausbeute von 51 % und Boc-geschützter Garner-Aldehyd **100** in 80 % Gesamtausbeute erhalten. Die Synthese des geplanten (3*S*)-3-Amino-L-leucins **83** sollte über eine Grignard-Reaktion und anschließende Umsetzung zum Azid begonnen werden (Abb. 5-7). Die Addition des *iso*-Propylmagnesiumchlorids an den Garner-Aldehyd **99** ergab nach intensiven Optimierungen das gewünschte (2*R*,3*R*)-Diastereomer **98** in einer Ausbeute von 36 %. Dabei wurden außerdem das (2*R*,3*S*)-Diastereomer **222** in 18 % Ausbeute und der primäre Alkohol **221** aus der Grignard-Reduktion in 27 % Ausbeute erhalten. Die Umsetzung zum Azid **229** konnte weder über zwei Stufen nach Aktivierung des Alkohols und anschließender nucleophiler Substitution mit einem Azid-Anion noch über eine Mitsunobu-Reaktion^[237] erreicht werden.

Bei der Darstellung der (2*S*,3*S*)-Diaminohexansäure **82** wurde die Alkylgruppe über eine Imino-*Grignard*-Reaktion eingeführt (Abb. 5-7). Die Bildung des Imins aus dem *N*-Boc-*Garner*-Aldehyd **100** gelang in exzellenten Ausbeuten von 92 %. Das Homoallyl-Amin **97** konnte in Ausbeuten von 47 % in diastereomerenreiner Form erhalten werden. Durch Schutzgruppenmanipulation wurde schließlich die geschützte (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure **82** über fünf Stufen in 38 % Ausbeute erhalten. Ein Aminopropyllinker **241** wurde unter Peptidkupplungsbedingungen mit EDC/HOBt **121/122** an die Diaminosäure **82** gekuppelt. Mit der dargestellten derivatisierten Diaminosäure **238** liegt nun eine Verbindung vor, die in weiteren Schritten mit geeigneten Uridinderivaten gekuppelt werden kann. Diese Verbindungen können anschließend mit den ebenfalls in dieser Arbeit dargestellten Harnstoffpeptiden verknüpft werden. Durch die Variabilität dieser dreiteiligen Synthesestrategie kann durch die Kombination der verschiedenen Komponenten eine große Anzahl an Muraymycin-Analoga dargestellt werden. Dies ist besonders im Hinblick auf zukünftige SAR-Studien von großem Interesse.

6 Ausblick

Bei den in dieser Arbeit erfolgreich abgeschlossenen Synthesen von dansyliertem Park-Nucleotid **71** und UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** ist zunächst die intensive Untersuchung der Diphosphatkupplung von großer Relevanz. Um die mäßigen Ausbeuten von 33 % für das dansylierte Park-Nucleotid **71** und 59 % für die UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** zu erhöhen, könnten alternative Methoden verwendet werden. Die Kupplung eines Zuckermonophosphats mit einem Nucleosidmonophosphat verläuft häufig in eher wenig zufriedenstellenden Ausbeuten. Bei verschiedenen publizierten Synthesen der UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** sind mit der *Khorana-Moffatt*-Methode vergleichbare Ausbeuten von nur 51-65 % erhalten worden.^[121-123] Eine mögliche Verbesserung könnte die Reaktion mit Carbonyldiimidazol als aktivierendem Reagenz darstellen. *Kurosu et al.* publizierten für die Darstellung von UDP-MurNAc **8** unter diesen Bedingungen eine Ausbeute von 90 %.^[116] Bei der Synthese eines Park-Nucleotids aus Vancomycin-resistenten Bakterien konnte durch die Verwendung von Carbonyldiimidazol eine Ausbeute von 64 % erreicht werden.^[129] Inwiefern sich dieses Ergebnis auf das dansylierte Park-Nucleotid **71** übertragen lässt, sollte in zukünftigen Arbeiten untersucht werden. Eine weitere mögliche Darstellung eines Diphosphats wäre die Kupplung eines Zuckerphosphats mit einem Uridinphosphoramidit und Dicyanoimidazol als Aktivator mit anschließender Oxidation und Entschützung.^[244]

Eine einheitliche und robuste Methode für die Darstellung der Harnstoffdipeptide ist von entscheidender Bedeutung für die Synthese möglichst vielfältiger Muraymycin-Analoga. In der vorliegenden Arbeit wurde dafür der Grundstein bereits gelegt. Da jedoch bei der Harnstoffkupplung über das Valin-Thiocarbamat **57** bei den meisten eingesetzten Aminosäuren Epimerisierung auftrat, sind Änderungen der Bedingungen notwendig. Eine Möglichkeit wäre die Erhöhung der Äquivalente an Silbertriflat, um die Reaktion zum Harnstoffpeptid zu beschleunigen und die Nebenreaktion damit zu unterdrücken. Bei literaturbekannten Synthesen mit Arginin- und Ornithin-haltigen Harnstoffdipeptiden unter Verwendung von Carbodiimidazol als Aktivator bzw. eines Isonitril-Derivats von Valin wurde ebenfalls Epimerisierung beobachtet.^[137] Aus diesem Grund ist die Anwendung dieser Reaktionsbedingungen auf die geplanten Harnstoffdipeptide vermutlich keine Alternative. Ein Austausch der Reaktivitäten könnte hingegen erfolgreich sein. Dabei sollte ein Valinderivat **62** mit freier Aminogruppe mit einer aktivierten Aminosäure **242** zu einem Harnstoffdipeptid **243** reagieren (Abb. 6-1). Da mit dem *S*-Methylchlorthioformiat

als aktivierendem Reagenz gute Erfahrungen gemacht wurden, sollte es weiterhin verwendet werden. Andere Aktivierungsreagenzien wie Carbonyldiimidazol oder *N*-Hydroxysuccinimid könnten ebenso in Betracht gezogen werden.

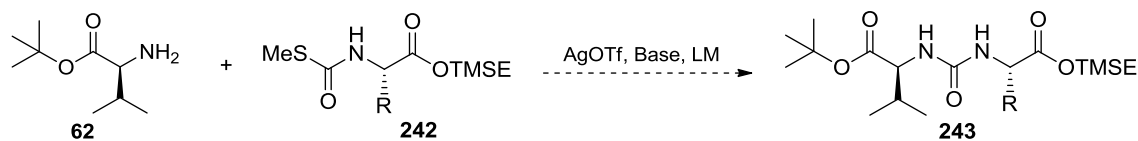


Abb. 6-1 Mögliche Synthese der Harnstoffdipeptide

Auch die Verwendung von Valinol als Alternative zum Valin-*tert*-butylester **62** könnte vielversprechend sein. Bei den Kupplungen des aktivierten Valins **57** mit Alaninol **196** und **194** oder Methioninol **206** konnten in dieser Arbeit sehr gute Ausbeuten und exzellente Stereoselektivitäten erzielt werden. Der Einsatz des Valinols hätte ebenfalls den Vorteil, dass einheitlich die Valinkomponente zur Säure oxidiert wird. Somit müssten nur einmalig optimale Bedingungen für die Oxidation gefunden werden, um eine Vielzahl an Harnstoffdipeptiden darzustellen. Außerdem sind nicht alle Aminoalkohole kommerziell erhältlich und müssten für die vorherige Strategie erst synthetisiert werden.

Für die Darstellung des (2*S*,3*S*)-3-Amino-L-leucins **83** könnte die Einführung des Azids durch alternative Reagenzien der *Mitsunobu*-Reaktion durchgeführt werden.^[245] Für die Verwendung von Tributylphosphin statt Triphenylphosphin wurden ebenfalls gute Ergebnisse publiziert.^[246]

Außerdem soll zukünftig eine gänzlich neue Synthesestrategie zur Darstellung von (2*S*,3*S*)-3-Amino-L-leucin **83** etabliert werden (Abb. 6-2).

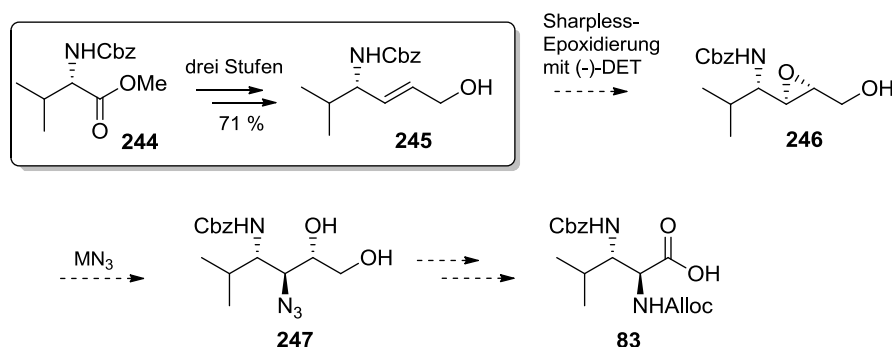


Abb. 6-2 Alternative Route zur Darstellung von (2*S*,3*S*)-3-Amino-L-leucin **83**

Nach einer literaturbekannten Synthese kann ausgehend von geschütztem L-Valin **244** in drei Stufen der (S)-Aminoallylalkohol **245** dargestellt werden.^[247] Die Doppelbindung

könnte anschließend durch eine *Sharpless*-Epoxidierung mit (*S,S*)-Diethyltartrat ((-)-DET) stereoselektiv zum Epoxid **246** umgesetzt werden. Die ebenfalls stereokontrollierte Öffnung des Epoxids mit einem geeigneten Azid-Nucleophil sollte die Verbindung **247** hervorbringen.^[248] Die weiteren Schritte zur Diaminosäure **83** beinhalten eine Reduktion des Azids (z. B. *Staudinger*-Reduktion),^[249] anschließende Schützung des resultierendenamins und oxidative Spaltung des Diols (z. B. RuCl₃, NaIO₄).^[250] Alternativ könnte zu Beginn das Diol oxidativ gespalten und nachfolgend das Azid zum Amin reduziert werden.^[251]

In der Synthese zur (*2S,3S*)-2,3-Diaminohexansäure **82** ist eine Optimierung der Oxidation zur Carbonsäure wichtig. Eine ebenfalls milde Alternative zur durchgeführten TEMPO/BAIB-Oxidation wäre die Oxidation mit TEMPO und Trichlorisocyanursäure.^[252] Des Weiteren könnte eine zweistufige Synthese mit Oxidation durch 2-Iodoxybenzoesäure (IBX)^[253] oder *Dess-Martin*-Periodinan (DMP)^[254] zum Aldehyd und anschließender Pinnick-Oxidation zur Säure erfolgreich sein.^[255] Außerdem könnte die Route über den Alloc-geschützten *Garner*-Aldehyd **99** weiter verfolgt werden, da dabei eine Stufe im Vergleich zur Route mit dem Boc-*Garner*-Aldehyd **100** gespart werden würde.

Die in dieser Arbeit dargestellten Harnstoffdipeptide und (*2S,3S*)-2,3-Diaminosäuren sind wichtige Bausteine zur Synthese neuer Muraymycin-Analoga. Für die Darstellung dieser Analoga sind nur wenige weitere Schritte nötig. Hierbei sollte anstatt eines zweiteiligen Ansatzes (siehe Kap. 4.2.2.6) ein dreiteiliger Ansatz gewählt werden, da auf diese Weise eine Epimerisierung wahrscheinlich vermieden werden kann (Abb. 6-3).

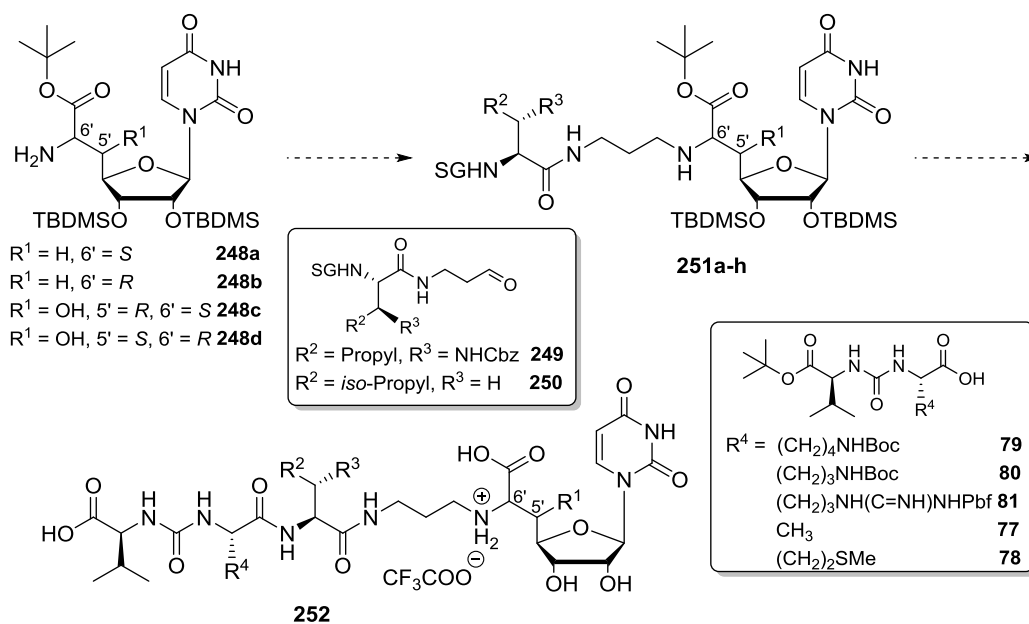


Abb. 6-3 Mögliche Darstellung verschiedener Muraymycin-Analoga **252**

Die Uridin-Derivate **248a-d** wurden im Arbeitskreis *Ducho* bereits synthetisiert.^[187] Die Aminosäuren, die direkt an das Uridin gekuppelt werden, müssten dafür nur noch mit einem geschützten Aminopropyl linker versehen und zu den Aldehyden **249** und **250** entschützt werden. (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure **82** wurde in dieser Arbeit bereits erfolgreich mit 3,3-Diethoxy-1-aminopropan gekuppelt. Das Leucin-Derivat **250** wurde im Arbeitskreis *Ducho* dargestellt.^[187] Die Komponenten sollten im ersten Schritt mittels reduktiver Aminierung zu den Uridin-Derivaten **251a-h** verknüpft werden. Nach Schutzgruppenabspaltung, Peptidkupplung mit den dargestellten Harnstoffdipeptiden **77-81** und globaler Entschätzung sollten die Muraymycin-Analoga **252** erhalten werden können. Alle Reaktionsschritte wurden kürzlich mit ähnlichen Komponenten im Arbeitskreis *Ducho*^[187] durchgeführt und sollten mit diesen Bausteinen ebenfalls durchführbar sein.

Eine Adaption dieser Reaktionssequenz an die feste Phase könnte die Reinigung erleichtern und eine sequenzielle Kupplung verschiedener Aminosäuren ermöglichen. Dafür könnten die Uridin-Derivate über die Glycineinheit an einem geeigneten Harz immobilisiert werden. Damit wäre der Aufbau einer vielfältigen Bibliothek von Muraymycin-Analoga möglich, die mittels *MraY*-Assays auf ihre Aktivität getestet werden können. Außerdem können mit diesen Verbindungen Erkenntnisse über die Funktion und strukturelle Relevanz der Harnstoffpeptide im aktiven Zentrum des Enzyms erhalten werden.

7 Experimententeil

7.1 Allgemeines

7.1.1 Allgemeine Arbeitsweisen

Sämtliche Reaktionen, die den Ausschluss von Sauerstoff und/oder Feuchtigkeit erforderten, wurden unter Zuhilfenahme der Schlenktechnik durchgeführt. Dabei wurden im Vakuum ausgeheizte Glaskolben, an Phosphor(V)-oxid und Blaugel oder Orangegel getrocknetes Argongas als Inertgas sowie absolute Lösungsmittel verwendet. Zur Reaktionsführung bei tiefen Temperaturen ($T \leq 0 \text{ }^\circ\text{C}$) wurden geeignete Kältemischungen (Eis/Wasser, Trockeneis oder flüssiger Stickstoff/Aceton) eingesetzt.

7.1.2 Edukte und Reagenzien

Sämtliche Edukte und Reagenzien wurden, soweit nicht anders angegeben, von den Firmen *ABCR*, *Acros Organics*, *Alfa Aesar*, *Fluka*, *GL Biochem.*, *Iris Biotech.*, *Merck*, *Nova Biochem.*, *Roth*, *Sigma Aldrich* und *VWR* in Synthesequalität bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet.

N,N-Diisopropylethylamin (DIPEA): (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) über Molekularsieb (4 \AA) getrocknet und aufbewahrt.

Phosphortrichlorid (PCl₃): frisch destilliert.

Dimethylsulfoxid (DMSO): (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) über Molekularsieb (3 \AA) getrocknet und aufbewahrt.

Triethylamin (NEt₃): (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) über Molekularsieb (4 \AA) getrocknet und aufbewahrt.

7.1.3 Lösungsmittel

Die folgenden Lösungsmittel wurden in technischer Qualität bezogen und vor ihrer Verwendung für Reaktionen ohne Inertgasbedingungen und zur Chromatographie wie angegeben gereinigt.

Dichlormethan (DCM): destilliert.

Diethylether (Et₂O): destilliert und über Kaliumhydroxid aufbewahrt.

Ethylacetat (EtOAc): destilliert.

Petrolether 35/70 (PE): destilliert.

iso-Hexan: destilliert.

n-Hexan: destilliert.

n-Pentan: destilliert.

Weitere Lösungsmittel wurden mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse“ bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt.

7.1.4 Absolute Lösungsmittel

Alle Reaktionen unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss wurden mit absoluten Lösungsmitteln durchgeführt. Hierzu wurden die bezogenen Lösungsmittel (Reinheitsgrad: „zur Analyse“, „HPLC-Qualität“ oder „technische Qualität“) wie angegeben gereinigt.

Acetonitril (MeCN): über Phosphor(V)-oxid am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert und über Molekularsieb (3 Å) aufbewahrt.

Dichlormethan (DCM): über Calciumhydrid am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert und über Molekularsieb (3 Å) aufbewahrt.

Diethylether (Et₂O): über Natrium mit Benzophenon als Indikator am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

N,N-Dimethylformamid (DMF): entgast, über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Dioxan: entgast, über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Methanol (MeOH): entgast, über Molekularsieb (3 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Pyridin: über Calciumhydrid am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

Tetrahydrofuran (THF): über Natrium mit Benzophenon als Indikator am Rückfluss getrocknet, unter Inertgas destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

Aceton: entgast, über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Ethylacetat (EtOAc): entgast, über Molekularsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.

Das verwendete Molekularsieb wurde durch Ausheizen (300 °C) über 2 h im Vakuum aktiviert.

7.1.5 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC):

Es wurden Kieselgel-beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (*Merck* DC Kieselgel 60 F₂₅₄) verwendet. Die R_f -Werte wurden bei Kammersättigung mit einer ungefähren Laufstrecke von 3.5 cm ermittelt. UV-löschende Verbindungen wurden mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm detektiert. Fluoreszenzaktive Verbindungen wurden mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 366 nm detektiert. Als Anfärbereagenzien wurden wässrige Kaliumpermanganat-Lösung (2 g Kaliumpermanganat, 3 mL 5 %ige Natriumhydroxidlösung, 12 g Natriumcarbonat, 200 mL Wasser), Vanillin-Schwefelsäure-Lösung (4 g Vanillin, 25 mL konz. Schwefelsäure, 80 mL Essigsäure, 680 mL Methanol) und Ninhydrin-Lösung (100 mL Butanol, 3 mL Essigsäure, 0.3 g Ninhydrin) verwendet.

Säulenchromatographie:

Säulenchromatographische Reinigungen wurden mit Kieselgel der Firma *VWR* (Kieselgel Gerdura[®] Si 60, Korngröße: 40-63 μm) durchgeführt. Für die *reversed-phase*-Chromatographie wurde RP-Kieselgel der Firma *Fluka* (RP-Kieselgel 90 C₁₈, Korngröße: 40-63 μm) verwendet. Bei beiden Methoden wurde unter erhöhtem Druck (Flashchromatographie, typ. 0.2–0.6 bar Überdruck) gearbeitet.

Ionenaustauschchromatographie:

Für die Ionenaustauschchromatographie wurde Dowex[®]-Harz der Firma *Alfa Aesar* (Dowex[®]-Harz 50WX8, Korngröße 50-100 μm) verwendet.

Analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Analytische HPLC):

Analytische HPLC-Messungen erfolgten zum einen an einer HPLC-Anlage *LaChrom Elite*[®] der Firma *Hitachi*. Die HPLC-Anlage bestand aus einem Organizer, einer Pumpe L-2300, einem Autosampler L-2200, einem Säulenofen L-2300 und zwei Detektoren, einem L-2455 *Diode Array*-Detektor (DAD) und einem L-2485 *Fluorescence*-Detektor (FLD). Der Säulenofen war auf 24 °C temperiert. Zum anderen wurde eine HPLC-Anlage der Firma *Hitachi* mit dem Mischer L-7614, dem Detektor L-7400 und der Pumpe L-7150 verwendet. Es wurde eine Säule des Typs LichroCart[®]Purospher[®] RP18e (5 μm ,

4 x 125 mm) mit der entsprechenden Vorsäule (4 x 4 mm) von der Firma VWR verwendet. Als Laufmittel wurden Acetonitril (Reinheitsgrad: „HPLC-grade“), Methanol (Reinheitsgrad: „HPLC-grade“) und bidest. Wasser verwendet. Für den Puffer wurden Essigsäure (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) und Triethylamin (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) verwendet. Die Retentionszeiten (t_R) sind in Minuten und ohne Bereinigung der Totzeit angegeben.

Analytische HPLC-Methoden:

Park-Nucleotid_Analyt

HPLC-Anlage: *Hitachi*, Detektor: UV/VIS (260 nm), Flussrate: 0.5 mL/min

Säule: LichroCart[®]Purospher[®] RP18e (5 μ m, 4 x 125 mm) mit Vorsäule (4 x 4 mm)

Eluenten: A-Wasser (50 mM HOAc-NEt₃ (1:1)), B-Acetonitril

t (min)	0	5	25	30	35	40	45
B (%)	10	30	70	100	100	10	10

UDP-MurNAc_Analyt

HPLC-Anlage: *Hitachi*, Detektor: UV/VIS (260 nm), Flussrate: 0.5 mL/min

Säule: LichroCart[®]Purospher[®] RP18e (5 μ m, 4 x 125 mm) mit Vorsäule (4 x 4 mm)

Eluenten: A-Wasser (50 mM HOAc-NEt₃ (1:1)), B-Acetonitril

t (min)	0	30	33	38	41	45
B (%)	0	1	100	100	0	0

Präparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Präparative HPLC):

Präparative HPLC-Reinigungen erfolgten zum einen an einer HPLC-Anlage der Firma *Jasco*, bestehend aus einem DG-2080-53-Entgaser, zwei PU-2080 Plus-Pumpen, einem UV-2075 Plus UV/VIS-Detektor sowie einer Mika 1000-Mischkammer der Firma *Portmann Instruments* und zum anderen an einer HPLC-Anlage der Firma *Hitachi* mit dem Mischer L-7614, dem Detektor L-7400 und der Pumpe L-7150. Es wurde eine Säule des Typs Nucleodur[®] 100-5 C18ec (5 μ m, 21 x 250 mm) mit der entsprechenden Vorsäule (5 μ m, 16 x 20 mm) der Firma *Macherey-Nagel* verwendet und eine Säule des Typs Nucleodur[®] 100-10 C18ec (10 μ m, 21 x 250 mm) mit der entsprechenden Vorsäule (10 μ m, 16 x 20 mm) der Firma *Macherey-Nagel*. Die Detektion erfolgte bei 260 nm. Als Laufmittel wurden Acetonitril (Reinheitsgrad: „HPLC-grade“), Methanol (Reinheitsgrad: „HPLC-grade“) und bidest. Wasser verwendet. Für den Puffer wurden Essigsäure

(Reinheitsgrad: „zur Analyse“) und Triethylamin (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) verwendet. Die Retentionszeiten (t_R) sind in Minuten und ohne Bereinigung der Totzeit angegeben.

Präparative und semipräparative HPLC-Methoden:

Park-Nucleotid_semipräp1

HPLC-Anlage: *Hitachi*, Detektor: UV/VIS (260 nm), Flussrate: 0.5 mL/min

Säule: LichroCart®Purospher® RP18e (5 μ m, 4 x 125 mm) mit Vorsäule (4 x 4 mm)

Eluenten: A-Wasser (10 mM HOAc-NEt₃ (1:1)), B-Acetonitril

t (min)	0	20	20.1	25	25.1	35
B (%)	10	30	100	100	10	10

Park-Nucleotid_Präp1

HPLC-Anlage: *Jasco*, Detektor: UV/VIS (260 nm), Flussrate: 15 mL/min

Säule: LichroCart®Purospher® RP18e (10 μ m, 20 x 250 mm) mit Vorsäule (10 μ m, 20 x 50 mm)

Eluenten: A-Wasser (50 mM HOAc-NEt₃ (1:1)), B-Acetonitril

t (min)	0	20	25	30	35	40
B (%)	20	20	110	100	100	10

Park-Nucleotid_Präp2

HPLC-Anlage: *Hitachi*, Detektor: UV/VIS (260 nm), Flussrate: 10 mL/min

Säule: Nucleodur® 100-10 C18ec (10 μ m, 21 x 250 mm) mit Vorsäule (5 μ m, 16 x 20 mm)

Eluenten: A-Wasser (50 mM HOAc-NEt₃ (1:1)), B-Acetonitril

t (min)	0	5	25	30	35	40	45
B (%)	10	30	70	100	100	10	10

UDP-Mur-NAc_Präp

HPLC-Anlage: *Hitachi*, Detektor: UV/VIS (260 nm), Flussrate: 10 mL/min

Säule: Nucleodur® 100-10 C18ec (10 μ m, 21 x 250 mm) mit Vorsäule (5 μ m, 16 x 20 mm)

Eluenten: A-Wasser (50 mM HOAc-NEt₃ (1:1)), B-Acetonitril

t (min)	0	30	35	40	45	50
B (%)	0	10	100	100	0	0

7.1.6 Spektroskopie und Spektrometrie

Kernresonanzspektroskopie (NMR):

Die NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen und in der NMR-Abteilung des Departments Chemie der Universität Paderborn an folgenden Geräten aufgenommen: Firma *Varian*: Mercury-300 (^1H -NMR: 300 MHz, ^{13}C -NMR: 75 MHz, ^{19}F -NMR: 282 MHz, ^{31}P -NMR: 121 MHz), Unity-300 (^1H -NMR: 300 MHz, ^{13}C -NMR: 76 MHz), Inova-500 (^1H -NMR: 500 MHz, ^{13}C -NMR: 126 MHz), Inova-600 (^1H -NMR: 600 MHz, ^{13}C -NMR: 151 MHz); Firma *Bruker*: Avance-500 (^1H -NMR: 500 MHz, ^{13}C -NMR: 126 MHz), Avance-300 (^{13}C -NMR: 75 MHz, ^{19}F -NMR: 282 MHz, ^{31}P -NMR: 121 MHz). Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der δ -Skala in ppm angegeben. Als interner Standard für die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren dienen die Restprotonensignale des jeweils verwendeten deuterierten Lösungsmittels. Die Signale der ^{31}P -NMR-Spektren wurden gegen einen externen Standard von 85%iger Phosphorsäure kalibriert. Verschiebungen der ^{19}F -NMR-Signale wurden gegen CFCl_3 als externen Standard kalibriert. Zur einwandfreien Zuordnung der einzelnen Signale zu den entsprechenden Kernen wurden zusätzlich meist $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY und $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -Korrelationspektren (HSQC und HMBC) gemessen. Zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale der ^1H -NMR-Spektren wurden die folgenden Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin. (Quintett), m (Multipllett), dd (Dublett vom Dublett) sowie deren Kombinationen (z.B. ddd (Dublett vom Dublett vom Dublett)). Die ^{13}C -NMR- und ^{31}P -NMR-Spektren wurden ^1H -Breitband-entkoppelt aufgenommen. Alle skalaren Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) angegeben. Die Kennzeichnung diastereotoper Protonen erfolgte durch den tiefgestellten Index a für das stärker ins Tieffeld verschobene und den tiefgestellten Index b für das stärker ins Hochfeld verschobene Signal.

Massenspektrometrie (MS):

Die Massenspektren wurden in der Massenspektrometrie-Abteilung des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen und in der Massenspektrometrie-Abteilung des Departments Chemie der Universität Paderborn gemessen. Als Ionisierungsmethoden wurden sowohl die Elektronenstoßionisation (EI, 70 eV), die Desorption durch chemische Ionisation (DCI) mit Ammoniak als Reaktandgas und die Elektrosprayionisation (ESI) verwendet. Die bei den EI- und DCI-Spektren in

Klammern angegebenen relativen Peakintensitäten beziehen sich jeweils auf den Basispeak ($I = 100\%$). DCI-Spektren wurden mit einem doppelfokussierenden Sektorfeld-Massenspektrometer MAT 95 der Firma *Finnigan* aufgenommen. Die EI- und ESI-Massenspektren wurden an einem Ion-Trap-Massenspektrometer LCQ der Firma *Finnigan*, einem Time-of-flight-(TOF)-Massenspektrometer microTOF der Firma *Bruker* oder einem Quadrupol-Flugzeit-Massenspektrometer „*synapt 2G*“ der Firma *Waters* aufgenommen. An den beiden letztgenannten Geräten wurden ebenfalls die Spektren der hochauflösenden ESI-Massenspektrometrie (ESI-HRMS) gemessen. ESI-HR-Massenspektren werden zudem an einem 7 Tesla-Fouriertransformations-Ionencyclotronresonanz-(FTICR)-Massenspektrometer APEX IV der Firma *Bruker* aufgenommen. Für alle ESI-Massenspektren wurden jeweils nur die Peaks mit der höchsten Intensität aufgeführt. Das Verhältnis von Masse m durch Ladung z (m/z) ist jeweils in der Einheit Th [$\text{Th} = u/e$] angegeben, wobei gilt $z = z' \cdot e$ mit der Elementarladung e und deren Anzahl z' .

Infrarotspektroskopie (IR):

Die IR-Spektren wurden an einem Fouriertransformations-Infrarot-(FTIR)-Spektrometer Vector 22 der Firma *Bruker*, einem FT-IR-Spektrometer 4100 der Firma *Jasco* mit einer integrierten GladiATR[®] ATR-(*Attenuated Transmission Reflection*)-Einheit der Firma *PIKE Technologies* oder einem IR-Spektrometer Vertex 70 der Firma *Bruker* mit einer Platinum ATR-Einheit aufgenommen. Je nach verwendetem IR-Spektrometer wurden flüssige Substanzen als Film zwischen Natriumchlorid-Platten, Feststoffe in Form von KBr-Presslingen oder Flüssigkeiten und Feststoffe mit der ATR-Einheit vermessen. Angegeben sind jeweils die Wellenzahlen ν in cm^{-1} .

Ultraviolett-Spektroskopie (UV):

Die UV-Spektren wurden mit Hilfe eines Lambda-2-Modells der Firma *Perkin-Elmer*, eines V-630-Spektrophotometers der Firma *Jasco* oder eines Cary 50 Spektrometers der Firma *Agilent/Varian* aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden Acetonitril (Reinheitsgrad: „für UV-Spektroskopie“) oder Methanol (Reinheitsgrad: „für UV-Spektroskopie“) verwendet, wobei jeweils ungefähr 0.1 mg der zu analysierenden Substanz in 10 mL des Lösungsmittels gelöst wurden. Alle UV-Spektren wurden in einem Wellenlängenbereich $\Delta\lambda$ von 500 nm bis 190 nm gemessen. Aufgeführt sind jeweils die Wellenlängen der Absorptionsmaxima λ_{max} in nm mit dem dazugehörigen dekadischen Logarithmus des molaren dekadischen Extinktions-Koeffizienten $\lg \varepsilon$ [$\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$].

Polarimetrie:

Die Drehwerte der reinen, optisch aktiven Verbindungen wurden mit Hilfe eines Polarimeters Modell 241 MC der Firma *Perkin-Elmer* aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden Chloroform (Reinheitsgrad: „zur Analyse“), Methanol (Reinheitsgrad: „zur Analyse“), Dimethylsulfoxid (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) oder bidest. Wasser verwendet, wobei jeweils ungefähr 10 mg der zu analysierenden Substanz in 1.0 mL des Lösungsmittels gelöst wurden. Die angegebenen Konzentrationen c sind auf die Einheit g/dL bezogen. Alle Drehwerte wurden mit einer Natriumdampflampe (D-Linie: $\lambda \approx 589$ nm) gemessen und wurden als spezifische Drehwerte $[\alpha]_D^T$ [$^{\circ}$ ·mL/g·dm] angegeben.

Schmelzpunktbestimmung:

Schmelzpunkte wurden mit einer Schmelzpunktbestimmungsapparatur nach Dr. Tottoli der Firma *Büchi* oder einem Schmelzpunktmessgerät des Typs B-545 der Firma *Büchi* ermittelt. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert und wurden in $^{\circ}$ C angegeben.

7.1.7 Geräte

Gefriertrocknungsanlage:

Die Gefriertrocknung von wässrigen oder wasserhaltigen Lösungen wurde an einer Gefriertrocknungsanlage Alpha 2-4 der Firma *Christ* durchgeführt.

Hydrierapparatur:

Hydrierungen bei erhöhtem Druck wurden an einer Hydrierapparatur der Firma *Parr* durchgeführt.

Zentrifuge:

Für die Zentrifugation wurde eine Zentrifuge vom Typ Galaxy 14D Microcentrifuges Europe der Firma *VWR* verwendet.

7.2 Synthesen

7.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

7.2.1.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Cbz-Schützung von Aminosäuren (AAV1)

Die jeweilige Aminosäure (1.0 Äq.) wurde in Wasser gelöst und mit Natriumcarbonat (3.0 Äq.) versetzt. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt. Benzylchlorformiat (1.1 Äq.), gelöst in Dioxan, wurde bei dieser Temperatur langsam zugetropft und das Reaktionsgemisch für 0.5-2 h bei 0 °C und für weitere 20-36 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit Diethylether (3 x) gewaschen, die wässrige Phase mit verd. Salzsäure (10 %) auf pH 1-2 gebracht und mit Ethylacetat (3 x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

7.2.1.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Peptidkupplung (AAV2)

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Eine C-terminal-ungeschützte Aminosäure (1.0 Äq.) oder ein C-terminal-ungeschütztes Peptid (1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran oder einer Mischung aus abs. Tetrahydrofuran und abs. Dichlormethan (1:1) gelöst und mit 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) (1.0 Äq.) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (EDC) (1.0 Äq.) bei Raumtemperatur versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 15-30 min gerührt und anschließend die N-terminal-ungeschützte Aminosäure (1.0 Äq.) (gegebenenfalls als Hydrochlorid) oder das N-terminal-ungeschützte Peptid (1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (1.0 Äq. oder 2.0 Äq. im Falle der Verwendung des Hydrochlorids) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 15.5-96 h bei Raumtemperatur gerührt und mit Ethylacetat versetzt. Die organische Phase wurde mit Wasser, verd. Salzsäure (0.5 M), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x) und Wasser (2 x) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.

7.2.1.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Peptidkupplung (AAV3)

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Die C-terminal-ungeschützte Aminosäure (1.0 Äq.) oder das

C-terminal-ungeschützte Peptid (1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan oder in einer Mischung aus abs. Dichlormethan und abs. Tetrahydrofuran (1:1) gelöst und bei Raumtemperatur mit Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidin-phosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP) (1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (1.0 Äq. oder 2.0 Äq. im Falle der Verwendung des Hydrochlorids) versetzt. Anschließend wurde die N-terminal-ungeschützte Aminosäure (1.0 Äq.) (gegebenenfalls als Hydrochlorid) oder das N-terminal-ungeschützte Peptid (1.0 Äq.) zugegeben und für 1-5 d bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit verd. Salzsäure (0.5 N), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser (2 x) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden jeweils mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.

7.2.1.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Cbz-Entschützung (AAV4)

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff auszuschließen. Die Cbz-geschützte Aminosäure (1.0 Äq.) oder das Cbz-geschützte Peptid (1.0 Äq.) wurde in entgastem Methanol gelöst und mit Pd/C (10 %, 0.14-0.30 Äq.) versetzt. Unter einer H₂-Atmosphäre (1 bar) wurde das Reaktionsgemisch für 2-13 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde über Celite[®] abfiltriert, die Celite[®] mit Methanol gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt.

7.2.1.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Cbz-Entschützung unter Zusatz von Trifluoressigsäure (AAV5)

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff auszuschließen. Zu einer Lösung von entgastem Methanol, Trifluoressigsäure (1.0 Äq.) und der Cbz-geschützten Aminosäure (1.0 Äq.) oder des Cbz-geschützten Peptids (1.0 Äq.) wurde Pd(OH)₂/C (20 %, 0.09-0.26 Äq.) gegeben. Unter H₂-Atmosphäre (1 bar) wurde das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Umsatz des Eduktes gerührt (DC-Kontrolle: DCM:MeOH 9:1; dabei wurde nach Bedarf weiterer Katalysator zugegeben). Der Katalysator wurde über Celite[®] abfiltriert, die Celite[®] mit Methanol gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt.

7.2.1.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Harnstoffkupplung (AAV6)

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Die Aminosäure (1.0 Äq.) und *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-Valin-*tert*-butylester **57** (1.1 Äq.) wurden in abs. Ethylacetat gelöst, mit *N*-Methylmorpholin (3.0 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (1.5 Äq.) versetzt und für 17-24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert, und die Celite[®] wurden mit Ethylacetat (2 x) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x) und ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.

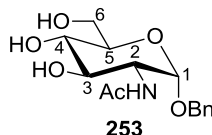
7.2.1.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Harnstoffkupplung (AAV7)

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Die Aminosäure (1.0 Äq.) und *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-Valin-*tert*-butylester **57** (1.1 Äq.) wurden in abs. Dimethylformamid gelöst, mit Triethylamin (4.2 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (1.3 Äq.) versetzt und für 21-24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert, und die Celite[®] wurden mit Ethylacetat (2 x) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x) und ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.

7.2.2 Synthese der geschützten Zuckerphosphate

7.2.2.1 Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonyl-ethyl-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **36**

Synthese von 1-*O*-Benzyl-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **253**

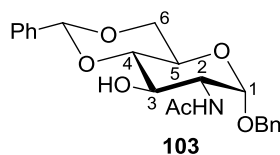


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Zu einer Suspension von *N*-Acetylglucosamin **88** (10.0 g, 45.2 mmol, 1.0 Äq.) in Benzylalkohol (125 mL) wurde Acetylchlorid (10.9 mL, 12.0 g, 153 mmol, 3.4 Äq.) bei 0 °C getropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei Raumtemperatur und für 4 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch bei 0 °C durch Zugabe von festem Natriumhydrogencarbonat auf pH 7 gebracht. Die Suspension wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde am Rotationsverdampfer im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand mit Diethylether (200 mL) versetzt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 12.1 g (39.0 mmol, 86 %) eines leicht bräunlichen Feststoffes.

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 7.39-7.24 (m, 5H, Ar-H), 4.84 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1), 4.74 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.49 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 3.89 (dd, $J = 10.7$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-2), 3.84-3.79 (m, 1H, H-3), 3.74-3.63 (m, 3H, H-4, H-5, H-6_a), 3.40-3.33 (m, 1H, H-6_b), 1.94 (s, 1H, Acetyl-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 173.55 (C=O-Acetyl), 138.97 (Ar-C), 129.36 (Ar-CH), 129.22 (Ar-CH), 128.80 (Ar-CH), 97.44 (C-1), 74.05 (C-4), 72.63 (C-3), 72.36 (C-6), 70.06 (Bn-CH₂), 62.69 (C-5), 55.36 (C-2), 22.52 (Acetyl-CH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 334.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₂₁NO₆ (311.33), ber.: 334.1261 [M+Na]⁺, gef.: 334.1266. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3297, 3029, 2934, 1650, 1636, 1552, 1454, 1377, 1122, 1091, 1038, 734, 695. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +115.5$ (c = 0.53, MeOH). **Schmelzpunkt:** T_m = 209 °C.

Synthese von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **103**^[151]

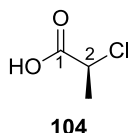


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 1-*O*-Benzyl-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **253** (1.03 g) wurde mit abs. Ethanol (2 mL) und abs. Toluol (6.5 mL) coevaporiert, um Wasser zu entfernen. Das so getrocknete Edukt (998 mg, 3.20 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (3 mL) und abs. Dioxan (3 mL) gelöst und mit Triethylorthoformiat (1.60 mL, 1.24 g, 9.60 mmol, 3.0 Äq.), Benzaldehyd (1.30 mL, 1.37 g, 12.9 mmol, 4.0 Äq.) und *p*-Toluolsulfonsäure (166 mg, 0.960 mmol, 0.3 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein Feststoff ausfiel. Die Suspension wurde mit Diethylether (8 mL) versetzt und für 1 h bei 0 °C gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 1.03 g (2.57 mmol, 80 %) eines weißen Feststoffes.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7.95 (d, J = 7.7 Hz, 1H, NH), 7.46-7.26 (m, 10H, Ar-H), 5.60 (s, 1H, PhCH), 5.15 (d, J = 5.5 Hz, 1H, OH-3), 4.80 (d, J = 3.4 Hz, 1H, H-1), 4.68 (d, J = 12.6 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.47 (d, J = 12.6 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.15 (dd, J = 8.7 Hz, J = 3.5 Hz, 1H, H-6_a), 3.86-3.81 (m, 1H, H-2), 3.80-3.67 (m, 3H, H-3, H-5, H-6_b), 3.55-3.50 (m, 1H, H-4), 1.87 (s, 3H, Acetyl-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 169.17 (C=O), 137.52 (Ar-C), 137.46 (Ar-C), 128.61 (Ar-CH), 128.00 (Ar-CH), 127.76 (Ar-CH), 127.41 (Ar-CH), 127.32 (Ar-CH), 126.16 (Ar-CH), 100.71 (Ph-CH), 96.83 (C-1), 81.98 (C-4), 68.53 (Bn-CH₂), 67.91 (C-6), 67.18 (C-3), 62.75 (C-5), 54.15 (C-2), 22.47 (Acetyl-CH₃). **MS** (ESI⁺): m/z = 422.2 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₃H₂₅NO₆ (399.44), ber.: 422.1574 [M+Na]⁺, gef.: 422.1583. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3425, 3292, 1650, 1556, 1453, 1372, 1130, 1090, 1040, 1022, 1001, 749, 734, 696. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25}$ = +86.0 (c = 1.1, DMSO). **Schmelzpunkt:** T_m = 220 °C.

Synthese von (*S*)-2-Chlorpropionsäure **104**^[153]

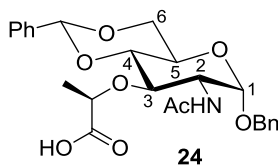


L-Alanin **109** (44.6 g, 500 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Salzsäure (5 N, 650 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine auf 0 °C gekühlte wässrige Natriumnitrit-Lösung (4 M, 200 mL) über 100 min zugetropft, so dass die Innentemperatur 5 °C nicht überstieg. Die Reaktionsmischung wurde für 5 h bei 0 °C und für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandenen Gase wurden über 3 h unter reduziertem Druck entfernt. Die Lösung wurde mit Natriumcarbonat (50 g) versetzt und die wässrige Phase mit Diethylether (4 x 200 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden auf 150 mL eingeeengt und mit ges. Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde nochmals mit Diethylether (3 x 75 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3 d über Calciumchlorid getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Reinigung erfolgte mittels Destillation im Vakuum (51 mbar, Sdp. 98 °C).

Ausbeute: 36.4 g (0.335 mol, 67 %) einer farblosen Flüssigkeit.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.10 (s_{br}, 1H, OH), 4.45 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-2), 1.73 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 177.99 (C-1), 52.16 (C-2), 21.40 (CH₃). **MS** (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 108.1 [M] (3), 73.0 (6), 65.0 (25), 64.0 (100), 63.0 (72), 56.0 (8), 55.0 (27), 45.0 (70), 44.0 (12). **IR** (Film): ν [cm⁻¹] = 3103, 2993, 2939, 1729, 1454, 1255, 1211, 1076, 668. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = -15.4$ (*c* = 1.4, CHCl₃). **Siedepunkt:** *T*_b = 98 °C (51 mbar).

Synthese von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **24**^[152]



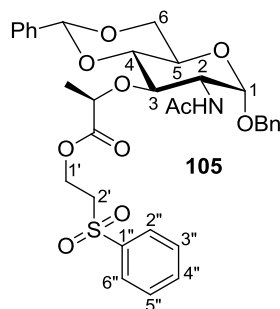
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **103** (3.32 g, 8.31 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dioxan (200 mL) bei 60 °C gelöst und mit

Natriumhydrid (60 % Dispersion in Mineralöl, 588 mg, 24.5 mmol, 2.9 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 min bis kurz vor den Siedepunkt erhitzt und auf 60 °C abgekühlt. Es wurde (*S*)-2-Chlorpropionsäure **104** (4.98 g, 41.7 mmol, 5.0 Äq.) hinzugegeben und 30 min bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde erneut Natriumhydrid (60 % Dispersion in Mineralöl, 2.35 g, 98.1 mmol, 12 Äq.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 16 h bei 60 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Eiswasser (8.3 mL) beendet, die Reaktionslösung auf 0 °C abgekühlt, mit verd. Salzsäure (6 M) auf pH 2 gebracht und in Eiswasser (400 mL) gegeben. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser (3 x 50 mL) und Petrolether (2 x 50 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 3.70 g (7.85 mmol, 94 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.14. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 12.74 (s_{br} , 1H, COOH), 7.94 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NH), 7.45-7.28 (m, 10H, Ar-CH), 5.69 (s, 1H, Ph-CH), 5.07 (d, J = 3.3 Hz, 1H, H-1), 4.70 (d, J = 12.4 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.50 (d, J = 12.4 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.30 (q, J = 6.9 Hz, 1H, Propionyl-CH), 4.19-4.14 (m, 1H, H-6_a), 3.88-3.69 (m, 5H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6_b), 1.86 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 1.29 (d, J = 6.9 Hz, 3H, Propionyl-CH₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 174.96 (Acetyl-C=O), 169.08 (COOH), 137.39 (Ar-C), 137.37 (Ar-C), 128.53 (Ar-CH), 128.02 (Ar-CH), 127.90 (Ar-CH), 127.42 (Ar-CH), 127.37 (Ar-CH), 125.62 (Ar-CH), 100.12 (Ph-CH), 96.69 (C-1), 81.47 (C-4), 74.94, 74.93 (C-3, Propionyl-CH), 68.91 (Bn-CH₂), 67.78 (C-6), 62.78 (C-5), 53.44 (C-2), 22.53 (Acetyl-CH₃), 18.60 (Propionyl-CH₃). **MS** (ESI⁺): m/z = 472.2 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₅H₂₉NO₈ (471.50), ber.: 472.1966 [M+H]⁺, gef.: 472.1962. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3299, 3035, 2926, 1658, 1561, 1123, 1091, 1080, 1055, 1023, 696. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25}$ = +101.7 (c = 1.2, DMSO). **Schmelzpunkt:** T_m = 225 °C.

Synthese von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonyl-ethyl-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **105**



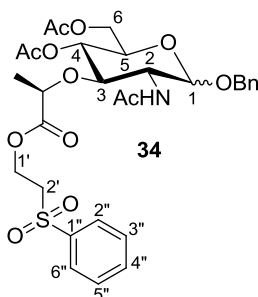
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Zu einer Suspension von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **24** (1.77 g, 3.75 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (40 mL) wurden bei Raumtemperatur 1-Hydroxybenzotriazol (554 mg, 4.10 mmol, 1.1 Äq.) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (787 mg, 4.11 mmol, 1.1 Äq.) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 45 min bei Raumtemperatur gerührt, 2-Phenylsulfonylethanol (491 μ L, 764 mg, 4.10 mmol, 1.1 Äq.) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die organische Phase mit Wasser (50 mL), verd. Salzsäure (1 M, 50 mL), Wasser (50 mL) und ges. Natriumcarbonat-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2 \rightarrow 80:20) gereinigt.

Ausbeute: 1.52 g (2.38 mmol, 63 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:4) = 0.26. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.85-7.82 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.46-7.28 (m, 14H, H-3'', H-4'', H-5'', Ar-CH, NH), 5.56 (s, 1H, Ph-CH), 5.36 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1), 4.69 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, Bn- CH_2), 4.53 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, Bn- CH_2), 4.50-4.45 (m, 2H, H-1'), 4.22 (dd, $J = 9.8$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1H, H-6_a), 4.16 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, Propionyl-CH), 3.95-3.80 (m, 2H, H-2, H-3), 3.77-3.65 (m, 3H, H-4, H-5, H-6_b), 3.44 (dd, $J = 6.4$ Hz, $J = 5.1$ Hz, 2H, H-2'), 2.01 (s, 3H, Acetyl- CH_3), 1.18 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 174.11 (Acetyl-C=O), 170.58 (Propionyl-C=O), 138.98 (C-1''), 137.24 (Ar-C), 137.17 (Ar-C), 134.08 (C-5''), 129.28 (Ar-CH), 129.17 (C-3'', C-4''), 128.95 (Ar-CH), 128.28 (Ar-CH), 128.20 (Ar-CH), 127.80 (C-2'', C-6''), 127.73 (Ar-CH), 125.80 (Ar-CH), 101.27 (Ph-CH), 97.21 (C-1), 83.22 (C-4), 74.86 (Propionyl-CH), 74.82 (C-3), 70.32 (Bn- CH_2), 68.92

(C-6), 62.87 (C-5), 58.33 (C-1'), 54.92 (C-2'), 54.08 (C-2), 23.13 (*N*-Acetyl-CH₃), 18.40 (Propionyl-CH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 662.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₂H₃₇NO₁₀S (639.71), ber.: 662.2030 [M+Na]⁺, gef.: 662.2038. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3313, 1755, 1653, 1373, 1305, 1145, 1119, 1085, 1053, 732, 694. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 219 nm (4.35). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +86.3$ (c = 1.0, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: T_m = 215 °C.

Synthese von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α,β -D-glucosamin **34**



In einer Mischung aus konz. Essigsäure (70 mL) und Wasser (45 mL) wurde 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **105** (4.16 g, 6.51 mmol, 1.0 Äq.) bei 110 °C gelöst und für 45 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde unter Argonatmosphäre in abs. Pyridin (70 mL) bei Raumtemperatur gelöst, und Acetanhydrid (25.0 mL, 27.9 g, 27.3 mmol, 4.2 Äq.) sowie Dimethylaminopyridin (15.9 g, 0.130 mmol, 0.02 Äq.) wurden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 3.38 g (5.32 mmol, 82 %) eines weißen Schaums als Anomerengemisch ($\alpha:\beta = 5:1$).

α -Anomer:

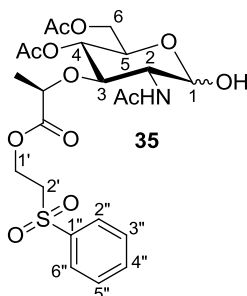
DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:2) = 0.13. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.87 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-2'', H-6''), 7.63 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-4''), 7.51 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.41 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, NH), 7.31-7.24 (m, 5H, Ar-H), 5.33 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H, H-1), 5.03 (dd, $J = 9.5$ Hz, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-3), 4.61 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.49 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.55-4.40 (m, 2H, H-1'),

4.12 (dd, $J = 12.4$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H, H-6_a), 4.05 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, Propionyl-CH), 3.94-3.70 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6_b), 3.44 (dd, $J = 5.9$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-2'), 2.05 (s, 6H, 2 x *O*-Acetyl-CH₃), 1.97 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 1.19 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, Propionyl-CH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 173.78 (*N*-Acetyl-C=O), 170.57 (Propionyl-C=O), 170.51 (*O*-Acetyl-C=O), 168.95 (*O*-Acetyl-C=O), 138.88 (Ar-C), 137.10 (Ar-C), 134.03 (C-4''), 129.31 (C-3'', C-5''), 128.28 (C-2'', C-6''), 127.88 (Ar-CH), 127.83 (Ar-CH), 127.87 (Ar-CH), 96.50 (C-1), 75.98 (C-4), 75.04 (Propionyl-CH), 71.88 (C-3), 70.35 (Bn-CH₂), 68.10 (C-5), 62.02 (C-6), 58.17 (C-1'), 54.73 (C-2'), 53.77 (C-2), 23.10 (*N*-Acetyl-CH₃), 20.87 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.77 (*O*-Acetyl-CH₃), 18.52 (Propionyl-CH₃).

α,β -Anomerengemisch:

MS (ESI⁺): $m/z = 658.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺) C₃₀H₃₇NO₁₂S (635.68), ber.: 658.1929 [M+Na]⁺, gef.: 658.1927. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3360, 1747, 1662, 1253, 1146, 1124, 1045, 732, 693. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 264 nm (3.07). **Schmelzpunkt**: $T_m = 48$ °C.

Synthese von 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α,β -D-glucosamin **35**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff auszuschließen. In abs. Ethylacetat (0.95 mL) und abs. Methanol (1.9 mL) wurde 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α,β -D-glucosamin **34** (48 mg, 76 μ mol, 1.0 Äq.) bei Raumtemperatur gelöst und mit konz. Essigsäure (0.15 mL) und einer Spatelspitze Pd(OH)₂/C (20 %) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde unter H₂-Überdruck (3 bar) für 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Suspension wurden Pyridin (0.3 mL) und Kieselgel (100 mg) gegeben und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 97:3 \rightarrow 95:5) gereinigt.

Ausbeute: 34 mg (62 μmol , 80 %) eines farblosen Öls als Anomerengemisch ($\alpha:\beta = 5:1$).

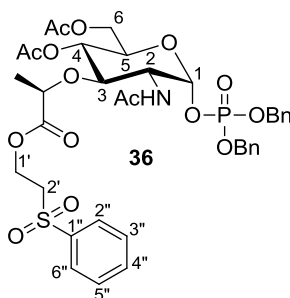
α -Anomer:

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 98:2) = 0.09. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 7.98-7.95 (m, 2H, H-2", H-6"), 7.79-7.74 (m, 1H, H-4"), 7.69-7.64 (m, 2H, H-3", H-5"), 5.24 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-1), 4.95-4.88 (m, 1H, H-3), 4.57-4.39 (m, 2H, H-1'), 4.17 (dd, $J = 11.7$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1H, H-6_a), 4.13-3.98 (m, 3H, H-5, H-6_b, Propionyl-CH), 3.82-3.80 (m, 2H, H-2, H-4), 3.67 (dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 2H, H-2'), 2.10 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 2.03 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.97 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 1.14 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 174.49 (*N*-Acetyl-C=O), 173.29 (Propionyl-C=O), 172.35 (*O*-Acetyl-C=O), 171.18 (*O*-Acetyl-C=O), 140.70 (C-1"), 135.24 (C-4"), 130.50 (C-3", C-5"), 129.12 (C-2", C-6"), 92.04 (C-1), 77.82 (C-4), 76.70 (Propionyl-CH), 72.87 (C-3), 68.63 (C-5), 63.77 (C-6), 59.54 (C-1'), 55.54 (C-2'), 55.36 (C-2), 23.00 (*N*-Acetyl- CH_3), 21.07 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.76 (*O*-Acetyl- CH_3), 19.09 (Propionyl- CH_3).

α,β -Anomerengemisch:

MS (ESI⁺): $m/z = 568.2$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_{12}\text{S}$ (545.56), ber.: 568.1459 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺, gef.: 568.1460. **IR** (KBr): ν [cm^{-1}] = 3429, 2992, 1752, 1733, 1662, 1260, 1154, 1133, 1037, 732. **Schmelzpunkt:** $T_m = 190$ °C (Zersetzung).

Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonyl-ethylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **36**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Dibenzyl-*N,N*-diisopropylphosphoramidit (1.95 mL, 2.00 g, 5.81 mmol, 3.5 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (10 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit 1*H*-Tetrazol (0.45 M in MeCN, 19.4 mL, 8.72 mmol, 5.3 Äq.) versetzt. Eine Lösung von 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonyl-ethyl-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α,β -D-glucosamin

35 (890 mg, 1.64 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (10 mL) wurde über 10 min zugetropft und das Reaktionsgemisch für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Dichlormethan (70 mL) versetzt und mit ges. Natriumcarbonat-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung (je 70 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Diethylether/*n*-Hexan (je 18 mL, 1:1) umkristallisiert, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Das so erhaltene Phosphit wurde in abs. Tetrahydrofuran (29 mL) gelöst, auf -10 °C gekühlt und mit einer *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in Decan, 1.85 mL, 10.2 mmol, 6.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1.5 h bei dieser Temperatur und für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Diethylether (70 mL) verdünnt und mit ges. Natriumthiosulfat-Lösung, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie ges. Natriumchlorid-Lösung (je 70 mL) gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Diethylether/*n*-Hexan (je 18 mL, 1:1) umkristallisiert.

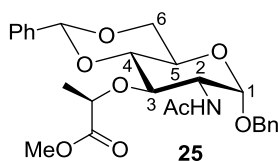
Ausbeute: 852 mg (1.06 mmol, 65 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (EtOAc) = 0.68. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.95-7.92 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.70-7.65 (m, 1H, H-4''), 7.61-7.56 (m, 2H, H-3'', H-5''), 7.34-7.33 (m, 10H, Bn-CH), 6.10 (dd, $J_{HP} = 5.9$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1H, H-1), 5.13-5.07 (m, 1H, H-3), 5.06-5.01 (m, 4H, Bn-CH₂), 4.55 (dd, $J = 5.9$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-1'), 4.12-4.05 (m, 2H, Propionyl-CH, H-6_a), 4.01-3.95 (m, 2H, H-5, H-6_b), 3.92-3.87 (m, 1H, H-2), 3.77-3.71 (m, 1H, H-4), 3.50-3.44 (m, 2H, H-2'), 2.10 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 1.98 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 1.86 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 1.25 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Propionyl-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 173.96 (*N*-Acetyl-C=O), 170.97 (Propionyl-C=O), 170.48 (*O*-Acetyl-C=O), 168.84 (*O*-Acetyl-C=O), 139.01 (C-1''), 135.38 (d, $J_{CP} = 7.5$ Hz, 2 x Bn-C), 135.30 (C-4''), 134.13 (C-3'', C-5''), 129.45 (Bn-CH), 128.54 (Bn-CH), 127.96-127.90 (m, Bn-CH), 127.86 (C-2'', C-6''), 95.54 (d, $J_{CP} = 7.4$ Hz, C-1), 75.22 (Propionyl-CH), 74.94 (C-4), 71.06 (C-3), 69.93 (C-5), 69.58 (d, $J_{CP} = 5.7$ Hz, Bn-CH₂), 69.56 (d, $J_{CP} = 5.7$ Hz, Bn-CH₂), 61.50 (C-6), 58.36 (C-1'), 54.76 (C-2'), 52.82 (d, $J_{CP} = 8.6$ Hz, C-2), 22.87 (*N*-Acetyl-CH₃), 20.88 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.68 (*O*-Acetyl-CH₃), 18.53 (Propionyl-CH₃). **³¹P-NMR** (121 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -3.01. **MS** (ESI⁺): $m/z = 828.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₃₇H₄₄NO₁₅PS (805.78), ber.: 828.2061 [M+Na]⁺,

gef.: 828.2061. **IR** (KBr): ν [cm^{-1}] = 3483, 2937, 1746, 1660, 1376, 1297, 1241, 1145, 1044, 733. **UV** (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 264 nm (3.31). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +46.8$ ($c = 1.0$, CHCl_3). **Schmelzpunkt**: $T_{\text{m}} = 129$ °C.

7.2.2.2 Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **21**

Synthese von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **25**



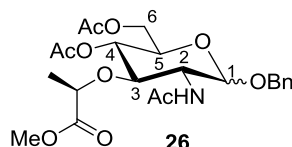
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dimethylformamid (250 mL) wurde 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **24** (4.00 g, 8.48 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und bei Raumtemperatur mit Natriumhydrogencarbonat (2.20 g, 26.2 mmol, 3.1 Äq.) und Methyljodid (1.8 mL, 4.0 g, 28 mmol, 3.3 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 d bei Raumtemperatur gerührt und mit Ethylacetat (200 mL) verdünnt. Anschließend wurde die organische Phase mit ges. Natriumthiosulfat-Lösung (2 x 200 mL), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 200 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (2 x 200 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulen-chromatographie (DCM:MeOH 98:2) gereinigt.

Ausbeute: 2.98 g (6.14 mmol, 72 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_{F} -Wert (PE:EtOAc 4:6) = 0.22. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 7.88 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH), 7.42-7.27 (m, 10H, Ar-CH), 5.70 (s, 1H, Ph-CH), 4.89 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1), 4.70 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H, Bn- CH_2), 4.41 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H, Bn- CH_2), 4.35 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, Propionyl-CH), 4.17-4.14 (m, 1H, H-6_a), 3.94-3.85 (m, 1H, H-2), 3.81-3.72 (m, 4H, H-3, H-4, H-5, H-6_b), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 1.85 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 1.26 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 173.79 (Acetyl-C=O), 169.70 (Propionyl-C=O), 138.23 (Ar-C), 138.13 (Ar-C), 129.11 (Ar-CH), 128.66 (Ar-CH), 128.44 (Ar-CH), 128.23 (Ar-CH), 128.04 (Ar-CH),

126.32 (Ar-CH), 101.27 (Ph-CH), 97.86 (C-1), 82.29 (C-4), 76.33 (Propionyl-CH), 75.60 (C-3), 69.97 (Bn-CH₂), 68.61 (C-6), 63.42 (C-5), 53.79 (C-2), 52.03 (OCH₃), 22.90 (Acetyl-CH₃), 18.99 (Propionyl-CH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 486.2$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₆H₃₁NO₈ (485.53), ber.: 486.2122 [M+H]⁺, gef.: 486.2122. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3291, 1730, 1656, 1563, 1370, 1123, 1080, 1015, 732, 694. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +123.2$ (c = 1.2, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: T_m = 214 °C.

Synthese von 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α,β -D-glucosamin **26**



1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin **25** (2.75 g, 5.66 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einer Mischung aus konz. Essigsäure (60 mL) und Wasser (30 mL) bei 110 °C gelöst und für 1.5 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur in abs. Pyridin (60 mL) gelöst, Acetanhydrid (6.00 mL, 6.48 g, 63.5 mmol, 11 Äq.) sowie Dimethylaminopyridin (99 mg, 0.81 mmol, 0.14 Äq.) wurden zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden eine weitere Portion Acetanhydrid (2.10 mL, 2.30 g, 22.2 mmol, 3.9 Äq.) und Dimethylaminopyridin (35 mg, 0.29 mmol, 0.05 Äq.) zugegeben und für weitere 41 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie (DCM:MeOH 99:1 → 98:2) gereinigt.

Ausbeute: 1.81 g (3.77 mmol, 67 %) eines weißen Feststoffes als Anomerengemisch ($\alpha:\beta = 5:1$).

α -Anomer:

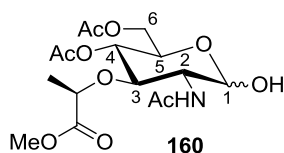
DC: R_F-Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.35. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.72 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, NH), 7.38-7.30 (m, 5H, Ar-H), 5.43 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, H-1), 5.10 (dd, $J = 10.2$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-3), 4.64 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.54 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.23 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, Propionyl-CH), 4.15 (dd, $J = 12.3$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H, H-6_a), 3.98-3.81 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6_b), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.09 (s, 6H,

2 x *O*-Acetyl-CH₃), 2.03 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 1.36 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, Propionyl-CH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 175.03 (*N*-Acetyl-C=O), 170.81 (Propionyl-C=O), 170.79 (*O*-Acetyl-C=O), 168.16 (*O*-Acetyl-C=O), 137.44 (Ar-C), 128.42 (Ar-CH), 127.94 (Ar-CH), 127.91 (Ar-CH), 96.63 (C-1), 75.78 (C-4), 75.22 (Propionyl-CH), 72.15 (C-3), 70.49 (Bn-CH₂), 68.21 (C-5), 62.11 (C-6), 54.12 (C-2), 52.42 (OCH₃), 23.06 (*N*-Acetyl-CH₃), 20.83 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.75 (*O*-Acetyl-CH₃), 18.79 (Propionyl-CH₃).

α,β-Anomerengemisch:

MS (ESI⁺): *m/z* = 504.2 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₃H₃₁NO₁₀ (481.49), ber.: 504.1840 [M+Na]⁺, gef.: 504.1851. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3314, 2954, 1737, 1649, 1544, 1370, 1231, 1038, 732, 698. **Schmelzpunkt**: T_m = 124 °C.

Synthese von 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl-α,β-D-glucosamin **160**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff auszuschließen. 1-*O*-Benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl-α,β-D-glucosamin **26** (50 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Ethylacetat (0.5 mL) und abs. Methanol (0.9 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit konz. Essigsäure (80 μL, 84 mg, 1.4 mmol, 13 Äq.) und Pd(OH)₂/C (20 %, 30 mg, 40 μmol, 0.4 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter H₂-Überdruck (3 bar) für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Suspension wurden Pyridin (0.15 mL) und Kieselgel (100 mg) gegeben und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2) gereinigt.

Ausbeute: 37 mg (96 μmol, 92 %) eines farblosen Öls als Anomerengemisch (α:β = 7:1).

α-Anomer:

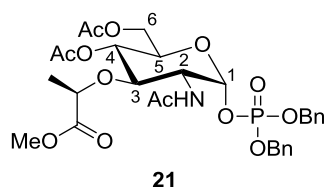
DC: *R*_F-Wert (DCM:MeOH 98:2) = 0.19. ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 5.24 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-1), 4.99-4.92 (m, 1H, H-3), 4.29 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H, Propionyl-CH), 4.19-4.06 (m, 3H, H-4, H-5, H-6_a), 4.00 (dd, *J* = 11.8 Hz, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-6_b), 3.87-3.85 (m, 1H, H-2), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 2.10 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 2.03 (s, 3H,

O-Acetyl-CH₃), 1.99 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 1.30 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, Propionyl-CH₃).
¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 175.83 (*N*-Acetyl-C=O), 173.42 (Propionyl-C=O), 172.54 (*O*-Acetyl-C=O), 171.36 (*O*-Acetyl-C=O), 92.09 (C-1), 77.77 (C-4), 77.03 (Propionyl-CH), 72.97 (C-3), 68.70 (C-5), 63.79 (C-6), 55.56 (C-2), 52.80 (OCH₃), 22.80 (*N*-Acetyl-CH₃), 20.90 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.66 (*O*-Acetyl-CH₃), 19.24 (Propionyl-CH₃).

α,β-Anomerengemisch:

MS (ESI⁺): *m/z* = 414.2 [M+Na]⁺. HRMS (ESI⁺): C₁₆H₂₅NO₁₀ (391.37), ber.: 414.1371 [M+Na]⁺, gef.: 414.1365.

Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl-α-*D*-glucosamin-1-phosphat 21



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit (3.06 mL, 3.15 g, 9.10 mmol, 3.6 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (12 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit 1*H*-Tetrazol (0.45 M in MeCN, 32.4 mL, 14.6 mmol, 5.8 Äq.) versetzt. Eine Lösung von 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-phenylsulfonylpropion-2-yl)-*N*-acetyl-α,β-*D*-glucosamin **160** (977 mg, 2.50 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (4 mL) wurde über 10 min zugetropft, das Reaktionsgemisch für 15 h bei Raumtemperatur gerührt und mit Dichlormethan (100 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumcarbonat-Lösung, Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung (je 100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Diethylether/*n*-Hexan (1:1, je 20 mL) umkristallisiert, der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit *n*-Hexan (20 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Produkt wurde unter Argon-Atmosphäre in abs. Tetrahydrofuran (12 mL) gelöst, auf -10°C abgekühlt und mit einer *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5.5 M in Decan, 2.88 mL, 15.8 mmol, 6.3 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1.5 h bei dieser Temperatur und für 1 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Diethylether verdünnt (120 mL) und mit ges. Natriumthiosulfat-Lösung, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung (je 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über

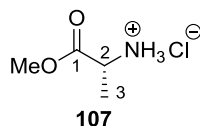
Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 974 mg (1.50 mmol, 60 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:4) = 0.33. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.88 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, NH), 7.27-7.30 (m, 10H, Ar-H), 6.15 (dd, $J_{\text{HP}} = 5.8$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1H, H-1), 5.16-5.02 (m, 5H, H-3, 2 x Bn- CH_2), 4.23 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H, Propionyl-CH), 4.09 (dd, $J = 12.3$ Hz, $J = 4.2$ Hz, 1H, H-6_a), 4.02-3.88 (m, 3H, H-2, H-5, H-6_b), 3.81-3.77 (m, 1H, H-4), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 2.11 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.98 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.87 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 1.37 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 175.05 (*N*-Acetyl-C=O), 171.19 (Propionyl-C=O), 170.64 (*O*-Acetyl-C=O), 169.00 (*O*-Acetyl-C=O), 135.55 (d, $J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, Ar-C), 135.45 (d, $J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, Ar-C), 128.59 (Ar-CH), 127.97 (Ar-CH), 127.93 (Ar-CH), 95.43 (d, $J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, C-1), 75.28 (Propionyl-CH), 74.63 (C-4), 71.11 (C-3), 69.91 (C-5), 69.53 (d, $J_{\text{CP}} = 5.5$ Hz, Bn- CH_2), 69.51 (d, $J_{\text{CP}} = 5.5$ Hz, Bn- CH_2), 61.47 (C-6), 53.98 (d, $J_{\text{CP}} = 8.6$ Hz, C-2), 52.60 (OCH_3), 22.76 (*N*-Acetyl- CH_3), 20.88 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.61 (*O*-Acetyl- CH_3), 18.70 (Propionyl- CH_3). **$^{31}\text{P-NMR}$** (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -3.05. **MS** (ESI⁺): $m/z = 674.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{NO}_{13}\text{P}$ (651.60), ber.: 674.1973 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, gef.: 674.1974. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3264, 1741, 1660, 1559, 1370, 1246, 1127, 1026, 956, 929, 736, 698. **UV** (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 258 nm (2.54). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +71.0$ ($c = 1.1$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 106$ °C.

7.2.3 Synthese der geschützten Aminosäuren für das Pentapeptid 133

Synthese von D-Alaninmethylester-hydrochlorid **107**^[156]

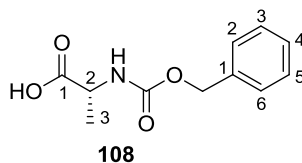


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. D-Alanin **106** (10.0 g, 112 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Methanol (165 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Thionylchlorid (19.0 mL, 31.1 g, 261 mmol, 2.3 Äq.) wurde über 30 min zugetropft, die resultierende Lösung bei 40 °C für 3.5 h gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 15.8 g (112 mmol, quant.) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.13. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.69 (s, 3H, NH_3^+), 4.29-4.28 (m, 1H, H-2), 3.30 (s, 3H, OCH_3), 1.72 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170.34 (C-1), 53.12 (C-2), 49.23 (OCH_3), 15.94 (C-3). **MS** (DCI^+): $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{ClNO}_2$ (139.58), m/z (%) = 121 [$\text{M-Cl} + \text{NH}_4$] $^+$ (100), 104 [M-Cl] $^+$, (65), 94 (28), 92 (14), 86 (9), 80 (5). **IR** (KBr): ν [cm^{-1}] = 3427, 2987, 2931, 1743, 1493, 1240, 1220, 1111, 500. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -8.0$ ($c = 1.0$, MeOH). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 119$ °C.

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-D-Alanin **108**^[155]

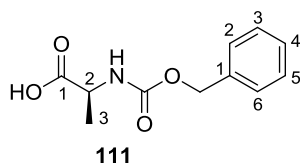


Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden D-Alanin **106** (2.06 g, 22.5 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (7.15 g, 67.6 mmol, 3.0 Äq.) und Benzylchloroformiat (3.50 mL, 4.19 g, 24.5 mmol, 1.1 Äq.) in Wasser (75 mL) und Dioxan (4 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei 0 °C und für 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 5.02 g (22.5 mmol, quant.) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.40. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 10.53 (s_{br} , 1H, COOH), 7.40-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 5.33 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, NH), 5.12 (s, 2H, Cbz- CH_2), 4.43 (dq, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-2), 1.47 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 177.75 (C-1), 155.80 (Cbz-C=O), 136.02 (Cbz-C-1), 128.52 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.22 (Cbz-C-4), 128.09 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 67.12 (Cbz- CH_2), 49.45 (C-2), 18.35 (C-3). **MS** (ESI): $m/z = 222.1$ [M-H] $^-$. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ (223.23), ber.: 222.0772 [M-H] $^-$, gef.: 222.0782. **IR** (KBr): ν [cm^{-1}] = 3335, 1696, 1536, 1292, 1276, 1253, 1975, 1020, 695. **UV** (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 205 nm (3.96). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -3.6$ ($c = 1.0$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 79$ °C.

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin **111**

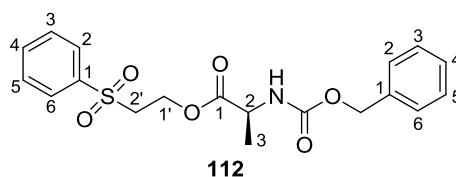


Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden L-Alanin **109** (5.00 g, 56.1 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (17.9 g, 168 mmol, 3.0 Äq.) und Benzylchlorformiat (8.80 mL, 10.5 g, 61.7 mmol, 1.1 Äq.) in Wasser (180 mL) (ohne Dioxan, Abweichung von der **AAV**) eingesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei 0 °C und für 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 10.8 g (48.3 mmol, 86 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.40. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 10.81 (s_{br} , 1H, COOH), 7.39-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 5.36 (d, J = 7.3 Hz, 1H, NH), 5.12 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.48-4.38 (m, 1H, H-2), 1.46 (d, J = 7.3 Hz, 3H, H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 177.69 (C-1), 155.82 (Cbz-C=O), 136.03 (Cbz-C-1), 128.53 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.23 (Cbz-C-4), 128.10 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 67.12 (Cbz-CH₂), 49.45 (C-2), 18.35 (C-3). **MS** (ESI): m/z = 222.1 [M-H]⁻. **HRMS** (ESI): C₁₁H₁₃NO₄ (223.23), ber.: 222.0772 [M-H]⁻, gef.: 222.0773. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 1692, 1530, 1240, 1071, 1018, 744, 729, 694, 607, 574. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 206 nm (3.94). **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25}$ = +8.5 (c = 0.5, CHCl₃). **Schmelzpunkt:** T_m = 85 °C.

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alaninphenylsulfonylethylester **112**



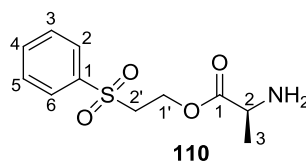
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin **111** (500 mg, 2.24 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (25 mL) gelöst und mit 1-Hydroxybenzotriazol (454 mg, 3.36 mmol, 1.5 Äq.) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (644 mg, 3.36 mmol, 1.5 Äq.) bei Raumtemperatur versetzt, anschließend wurde 2-Phenylsulfonylethanol (459 mg, 2.46 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 48 h bei Raumtemperatur gerührt und die organische Phase mit

Wasser, verd. Salzsäure (0.5 N), Wasser und ges. Natriumcarbonat-Lösung (je 30 mL) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden jeweils mit Dichlormethan (je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 3:2).

Ausbeute: 590 mg (1.51 mmol, 67 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 2:1) = 0.23. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.92 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, Ph-H-2, Ph-H-6), 7.67 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.8$ Hz, 1H, Ph-H-4), 7.57 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.8$ Hz, 2H, Ph-H-3, Ph-H-5), 7.38-7.33 (m, 5H, Cbz-CH), 5.09 (s, 2H, Cbz- CH_2), 4.47 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 2H, H-1'), 4.15 (q, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-2), 3.45 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 2H, H-2'), 1.27 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 172.25 (C-1), 155.46 (Cbz-C=O), 139.17 (Ph-C), 136.15 (Cbz-C-1), 134.10 (Ph-C-4), 129.44 (Ph-C-3, Ph-C-5), 128.53 (Ph-C-2, Ph-C-6), 128.24 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.12 (Cbz-C-4), 128.08 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 66.97 (Cbz- CH_2), 58.34 (C-1'), 54.85 (C-2'), 49.43 (C-2), 18.16 (C-3). **MS** (ESI^+): $m/z = 414.1$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{S}$ (391.44), ber.: 414.0982 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, gef.: 414.0976. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1713, 1294, 1246, 1172, 1140, 1068, 729, 688, 526. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 205 nm (4.32). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1.6$ ($c = 0.64$, CHCl_3).

Synthese von L-Alaninphenylsulfonylethylester **110**^[157]



Über direkte Veresterung:

L-Alanin **109** (1.20 g, 13.5 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Benzol (70 mL) gelöst und mit 2-Phenylsulfonylethanol (3.00 g, 16.1 mmol, 1.2 Äq.) und *p*-Toluolsulfonsäure-hydrat (2.80 g, 15.0 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Dean-Stark-Apparatur 16 h unter Rückfluss gerührt. Es wurde eine weitere Portion 2-Phenylsulfonylethanol (2.00 g, 10.7 mmol, 0.8 Äq.) und *p*-Toluolsulfonsäure-hydrat (2.00 g, 10.7 mmol, 0.8 Äq.) zugegeben, das Reaktionsgemisch mit Benzol (15 mL) versetzt und für weitere 24 h unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2 → 90:10).

Ausbeute: 5.90 g eines stark verunreinigten Produktes als *p*-Toluolsulfonat-Salz (100 % = 5.80 g).

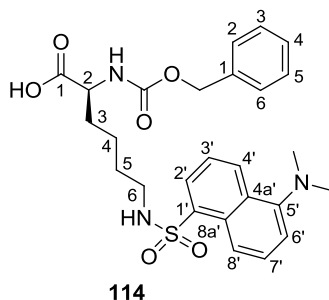
Über Cbz-Entschützung:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alaninphenylsulfonylethylester **112** (173 mg, 0.441 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 120 mg, 0.112 mmol, 0.3 Äq.) in abs. Ethylacetat (10 mL) (Abweichung von der **AAV**) eingesetzt. Die Reaktionsmischung wurde unter H₂-Atmosphäre für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 134 mg eines leicht verunreinigten farblosen Öls (100 % = 113 mg).

DC: *R_f*-Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.06. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.96-7.93 (m, 2H, Ph-H-2, Ph-H-6), 7.71-7.67 (m, 1H, Ph-H-4), 7.61-7.58 (m, 2H, Ph-H-3, Ph-H-5), 4.51-4.44 (m, 2H, H-1'), 3.49-3.44 (m, 2H, H-2'), 3.36-3.32 (m, 1H, H-2), 1.20 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 175.21 (C-1), 139.43 (Ph-C-1), 134.05 (Ph-C-4), 129.42 (Ph-C-3, Ph-C-5), 128.12 (Ph-C-2, Ph-C-6), 57.98 (C-1'), 55.07 (C-2'), 49.77 (C-2), 20.01 (C-3). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 280.1 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₁H₁₅NO₄S (257.3), ber.: 280.0614 [M+Na]⁺, gef.: 280.0619. **IR** (ATR): *ν* [cm⁻¹] = 2937, 1739, 1602, 1449, 1307, 1140, 1018, 800, 729, 688. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ε) = 205 nm (3.41). **Drehwert:** [α]_D²⁵ = -9.7 (c = 1.1, MeOH).

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin **114**



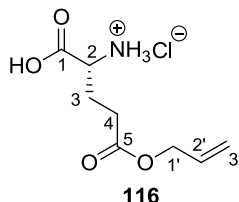
N^α-Benzyloxycarbonyl-L-lysin-hydrochlorid **113** (715 mg, 2.55 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einer Mischung aus Wasser (23 mL) und Methanol (57 mL) gelöst. Anschließend wurden

Natriumhydrogencarbonat (625 mg, 7.44 mmol, 2.9 Äq.) und Dansylchlorid (1.00 g, 3.71 mmol, 1.5 Äq.) bei Raumtemperatur zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 19 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend mit verd. Salzsäure (1 N, 11.5 mL) auf pH 2 gebracht und mit Dichlormethan (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung (100 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 96.5:3:0.5).

Ausbeute: 1.04 g (2.02 mmol, 79 %) eines gelbgrünen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.14. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 8.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-2'), 8.27 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-4'), 8.06 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-8'), 7.86 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, N^βH), 7.61-7.52 (m, 2H, H-3', H-7'), 7.32-7.28 (m, 5H, Cbz-CH), 7.22 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-6'), 7.16 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, N^αH), 4.98 (s, 2H, Cbz- CH_2), 3.75-3.68 (m, 1H, H-2), 2.80 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.74-2.67 (m, 2H, H-6), 1.52-1.14 (m, 6H, H-3, H-4, H-5). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 174.08 (C-1), 155.75 (Cbz-C=O), 151.17 (C-5'), 136.93 (C-1'), 136.06 (Cbz-C-1), 129.15 (C-2'), 129.00 (C-8a'), 128.96 (C-4a'), 128.14 (C-4'), 127.98 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 127.60 (C-7'), 127.57 (Cbz-C-4), 127.48 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 123.38 (C-3'), 119.04 (C-8'), 114.96 (C-6'), 65.24 (Cbz- CH_2), 54.19 (C-2), 45.00 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 42.30 (C-6), 30.77 (C-3), 28.91 (C-5), 22.59 (C-4). **MS** (ESI): $m/z = 512.2$ [M-H] $^-$. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ (513.61), ber.: 512.1861 [M-H] $^-$, gef.: 512.1864. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1698, 1308, 1139, 1059, 788, 697, 622, 568, 536. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 217 nm (4.63), 252 nm (4.10), 338 nm (3.60). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +10.4$ ($c = 0.53$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 80$ °C.

Synthese von D-Glutaminsäure-5-allylester-hydrochlorid **116**^[159, 256]



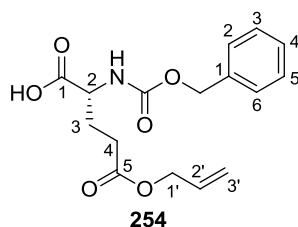
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Zu einer Suspension von D-Glutaminsäure **115** (500 mg, 2.87 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Allylalkohol (13.4 mL) wurde bei Raumtemperatur Trimethylsilylchlorid (1.15 mL, 988 mg, 9.10 mmol, 3.2 Äq.) getropft. Die resultierende Lösung wurde für 18 h

bei Raumtemperatur gerührt, danach auf 0 °C gekühlt und mit Diethylether (45 mL) versetzt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 531 mg (2.37 mmol, 80 %) eines weißen Feststoffes.

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 5.95 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 5.7$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-2'), 5.32 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, H-3_a'), 5.23 (dddd, $J = 10.5$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, H-3_b'), 4.61 (ddd, $J = 5.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 2H, H-1'), 4.04 (dd, $J = 6.7$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-2), 2.66-2.60 (m, 2H, H-4), 2.30-2.09 (m, 2H, H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 173.11 (C-5), 171.18 (C-1), 133.35 (C-2'), 118.41 (C-3'), 66.42 (C-1'), 53.15 (C-2), 30.57 (C-4), 26.59 (C-3). **MS** (ESI⁺): $m/z = 188.0$ [M-Cl]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₈H₁₄ClNO₄ (223.65), ber.: 188.0917 [M-Cl]⁺, gef.: 188.0917. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3019, 2938, 1740, 1651, 1512, 1488, 1216, 1179. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = -20.3$ ($c = 1.2$, MeOH). **Schmelzpunkt:** $T_m = 98$ °C.

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-5-allylester **254**



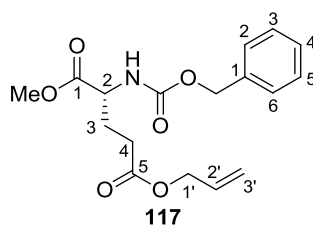
Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden D-Glutaminsäure-5-allylesterhydrochlorid **116** (8.93 g, 39.9 mmol, 1.0 Äq.), Natriumhydrogencarbonat (33.6 g, 400 mmol, 10 Äq.) und Benzylchlorformiat (5.70 mL, 6.99 g, 41.0 mmol, 1.0 Äq.) in Wasser (400 mL) eingesetzt (ohne Dioxan: Abweichung von **AAV**). Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei 0 °C und für 36 h bei Raumtemperatur gerührt, und das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 11.3 g (35.0 mmol, 88 %) eines farblosen Öls.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.35 (s_{br}, 1H, COOH), 7.37-7.28 (m, 5H, Cbz-CH), 5.88 (dddd, $J = 17.1$ Hz, $J = 10.9$ Hz, $J = 5.7$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-2'), 5.64 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, NH), 5.29 (dddd, $J = 16.7$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H,

H-3'_a), 5.22 (dddd, $J = 10.4$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, H-3'_b), 5.10 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.57-4.55 (m, 2H, H-1'), 4.46-4.39 (m, 1H, H-2), 2.54-2.32 (m, 2H, H-4), 2.20-2.08 (m, 1H, H-3_a), 2.08-1.96 (m, 1H, H-3_b). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 175.70 (C-5), 172.69 (C-1), 156.21 (Cbz-C=O), 135.92 (Cbz-C-1), 131.79 (C-2'), 128.84 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.18 (Cbz-C-4), 128.05 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 118.47 (C-3'), 67.19 (Cbz-CH₂), 65.48 (C-1'), 53.15 (C-2), 30.16 (C-4), 27.16 (C-3). **MS** (ESI): $m/z = 320.1$ [M-H]. **HRMS** (ESI): C₁₆H₁₉NO₆ (321.33), ber.: 320.1140 [M-H], gef.: 320.1139. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 1726, 1691, 1531, 1243, 1171, 1055, 923, 730, 696. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 206 nm (3.94). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -13.7$ ($c = 0.53$, CHCl₃).

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-5-allyl-1-methylester **117**



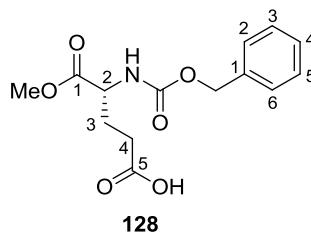
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-5-allylester **254** (11.2 g, 34.9 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (220 mL) gelöst und mit Natriumhydrogencarbonat (5.86 g, 69.7 mmol, 2.0 Äq.) bei Raumtemperatur versetzt. Methyljodid (10.9 mL, 24.7 g, 174 mmol, 5.0 Äq.) wurde langsam zugetropft und die Reaktionsmischung für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit Ethylacetat gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (1.7 L) aufgenommen und mit Wasser (500 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 150 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. Natriumthiosulfat-Lösung (2 x 400 mL) und ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 400 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 9.15 g (27.8 mmol, 78 %) eines farblosen Öls.

DC: R_{F} -Wert (PE:EtOAc 2:1) = 0.33. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.36-7.33 (m, 5H, Cbz-CH), 5.79 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.4$ Hz, $J = 5.8$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1H, H-2'), 5.44 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, NH), 5.30 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz,

1H, H-3'_a), 5.23 (dddd, $J = 10.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, H-3'_b), 5.10 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.56 (ddd, $J = 5.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 2H, H-1'), 4.45-4.38 (m, 1H, H-2), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 2.53-2.34 (m, 2H, H-4), 2.28-2.17 (m, 1H, H-3_a), 2.05-1.93 (m, 1H, H-3_b). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 172.26 (C-1, C-5), 155.87 (Cbz-C=O), 136.09 (Cbz-C-1), 131.92 (C-2'), 128.49 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.17 (Cbz-C-4), 128.07 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 118.41 (C-3'), 67.04 (Cbz-CH₂), 65.36 (C-1'), 53.26 (C-2), 52.51 (OCH₃), 30.06 (C-4), 27.56 (C-3). MS (ESI): $m/z = 358.1$ [M+Na]⁺. HRMS (ESI⁺): C₁₇H₂₁NO₆ (335.35), ber.: 358.1261 [M+Na]⁺, gef.: 358.1261. IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 1717, 1521, 1207, 1171, 1048, 985, 738, 697. UV (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 207 nm (3.93). Drehwert: $[\alpha]_D^{24} = -7.0$ (c = 0.68, CHCl₃).

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-1-methylester **128**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-5-allyl-1-methylester **117** (503 mg, 1.50 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (45 mL) gelöst und Phenylsilan (350 μ L, 308 mg, 2.85 mmol, 1.9 Äq.) bei Raumtemperatur zugetropft. Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (35 mg, 30 μ mol, 0.02 Äq.) wurde zugegeben, das Reaktionsgemisch für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt und mit Dichlormethan (150 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 150 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Diethylether (3 x 150 mL) extrahiert, mit verd. Salzsäure (2 N, 275 mL) auf pH 1 gebracht und mit Dichlormethan (3 x 150 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 452 mg (1.53 mmol, quant.) eines weißen Feststoffes.

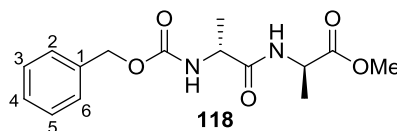
DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 2:3) = 0.07. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.36-7.30 (m, 5H, Cbz-CH), 5.49 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, NH), 5.10 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.47-4.40 (m, 1H, H-2), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 2.51-2.37 (m, 2H, H-4), 2.27-2.18 (m, 1H, H-3_a), 2.02-1.90 (m,

^1H , H-3_b). ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 177.87 (C-5), 172.31 (C-1), 156.02 (Cbz-C=O), 136.02 (Cbz-C-1), 128.51 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.21 (Cbz-C-4), 128.07 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 67.15 (Cbz- CH_2), 53.13 (C-2), 52.57 (OCH_3), 29.85 (C-4), 27.42 (C-3). **MS** (ESI): m/z = 294.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_6$ (295.29), ber.: 294.0983 $[\text{M}-\text{H}]^-$, gef.: 294.0982. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1699, 1524, 1210, 1175, 1050, 1027, 737, 697, 576. **UV** (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 206 nm (3.92). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -3.3$ ($c = 0.53$, CHCl_3). **Schmelzpunkt**: $T_{\text{m}} = 71$ °C.

7.2.4 Synthese des Pentapeptids 133

Die Benennung der folgenden Peptide erfolgt nicht nach IUPAC-Nomenklatur, sondern sie werden aufgrund der besseren Lesbarkeit in Anlehnung an die Kurzschreibweise der Aminosäuren in ausgeschriebener Form sequentiell vom *N*-Terminus zum *C*-Terminus benannt. Die Nummerierung für die Auswertung der NMR-Spektren der einzelnen Aminosäuren beginnt vom Carbonyl-C und erfolgt entlang der Hauptkette. Aufgrund der besseren Lesbarkeit wurde hier auf die Nummerierung in der Abbildung verzichtet. Bei sich wiederholenden Aminosäureeinheiten wurde die in der Abbildung am weitesten links stehende Aminosäureeinheit mit 1 bezeichnet.

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-D-alanin-D-alaninmethylester 118

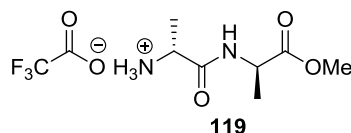


Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-D-alanin **108** (160 mg, 0.717 mmol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (97.0 mg, 0.720 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (138 mg, 0.720 mmol, 1.0 Äq.), D-Alaninmethylester-hydrochlorid **107** (100 mg, 0.716 mmol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (250 μL , 190 mg, 1.43 mmol, 2.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (4 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5).

Ausbeute: 186 mg (0.605 mmol, 84 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.56. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.31-7.28 (m, 5H, Cbz-CH), 6.84 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, Ala1-NH), 5.60 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ala2-NH), 5.02 (s, 2H, Cbz- CH_2), 4.52 (dq, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, Ala1-H-2), 4.29 (dq, $J = 7.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ala2-H-2), 3.70 (s, 3H, OCH_3), 1.35 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, Ala1-H-3), 1.34 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala2-H-3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 172.97 (Ala2-C-1), 171.80 (Ala1-C-1), 155.76 (Cbz-C=O), 136.07 (Cbz-C-1), 128.36 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.00 (Cbz-C-4), 127.85 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 66.89 (Cbz- CH_2), 52.41 (OCH_3), 50.33 (Ala2-C-2), 48.01 (Ala1-C-2), 18.74 (Ala2-C-3), 18.13 (Ala1-C-3). **MS** (ESI^+): $m/z = 331.1$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ (308.33), ber.: 331.1264 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, gef.: 331.1266. **IR** (KBr): ν [cm^{-1}] = 3299, 1739, 1687, 1648, 1540, 1455, 1327, 1261, 1233, 1069, 1057, 695, 672. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +11.3$ ($c = 1.0$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 104$ °C.

Synthese von D-Alanin-D-alaninmethylester-trifluoacetat **119**



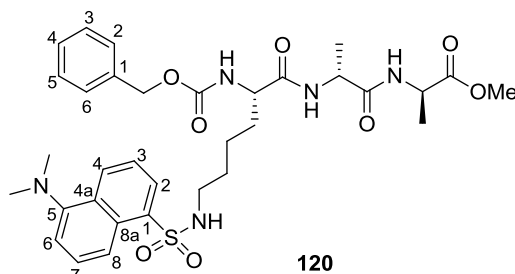
Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-D-alanin-D-alaninmethylester **118** (5.55 g, 18.0 mmol, 1.0 Äq.), $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 %, 1.17 g, 1.67 mmol, 0.09 Äq.) und Trifluoressigsäure (1.39 mL, 2.05 g, 21.0 mmol, 1.2 Äq.) in Methanol (55 mL) eingesetzt. Unter H_2 -Atmosphäre wurde das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Eine weitere Portion $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 %, 400 mg, 0.573 mmol, 0.03 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung für weitere 18 h unter H_2 -Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 5.08 g (18.7 mmol, quant.) eines leicht verunreinigten farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.08. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 4.45 (q, $J = 7.3$ Hz, 1H, Ala1-H-2), 3.93 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, Ala2-H-2), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 1.51 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, Ala2-H-3), 1.41 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, Ala1-H-3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 173.98 (Ala2-C-1), 170.76 (Ala1-C-2), 163.70-162.71 (m, $\text{CF}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{O}^-$), 115.74-115.28 (m, $\text{C}\underline{\text{F}}_3\text{C}\text{O}\text{O}^-$), 52.80 (OCH_3), 50.04 (Ala2-C-2), 49.85 (Ala1-C-2), 17.53 (Ala2-C-3), 17.25 (Ala1-C-3). **$^{19}\text{F-NMR}$** (282 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = -77.07. **MS** (ESI^+): $m/z = 175.1$ [$\text{M}-\text{TFA}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$ (271.21), ber.: 175.1077

[M-TFA]⁺, gef.: 175.1078. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 1662, 1556, 1198, 1179, 1130, 1054, 836, 799, 721. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +24.3$ (c = 1.1, MeOH).

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alanin-methylester **120**



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden *N*^α-Benzyloxycarbonyl-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin **114** (1.00 g, 1.94 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)-carbodiimid-hydrochlorid (373 mg, 1.94 mmol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (263 mg, 1.94 mmol, 1.0 Äq.), Diisopropylethylamin (670 μ L, 503 mg, 3.88 mmol, 2.0 Äq.) und D-Alanin-D-alaninmethylester-trifluoracetat **119** (561 mg, 1.94 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (23 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5).

Ausbeute: 678 mg (1.01 mmol, 52 %) eines grüngelben Feststoffes.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin **114** (50 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (2 mL) gelöst und bei 0 °C mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimid-hydrochlorid (23 mg, 0.12 mmol, 1.2 Äq.) und *N*-Hydroxysuccinimid (14 mg, 0.12 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der NHS-Ester wurde in Dimethylformamid (1.5 mL) gelöst und mit D-Alanin-D-alanin-methylester-trifluoracetat **119** (31 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (50 μ L, 66 mg, 0.29 mmol, 2.9 Äq.) bei Raumtemperatur versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 d bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat

getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die abschließende Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2).

Ausbeute: 40 mg (60 μ mol, 63 %) eines grüngelben Feststoffes.

Variante 3:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin **114** (50 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (1 mL) gelöst und bei 0 °C mit Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinphosphoniumhexafluorophosphat (61 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) versetzt. D-Alanin-D-alaninmethylester-trifluoracetat **119** (32 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.), gelöst in abs. Tetrahydrofuran (1 mL), wurde bei Raumtemperatur zugegeben und die Reaktionsmischung mit Triethylamin (0.11 mL, 80 mg, 0.79 mmol, 8.0 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit verd. Salzsäure (1 M, 10 mL) und Natriumcarbonat-Lösung (10 %, 10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die abschließende Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2 → 85:15).

Ausbeute: 48 mg (72 μ mol, 73 %) eines grüngelben Feststoffes.

Variante 4:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin **114** (20 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)-carbodiimid-hydrochlorid (7.5 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.) und (Hydroxyimino)cynoessigsäureethylester (5.5 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.) versetzt. D-Alanin-D-alaninmethylester-trifluoracetat **119** (6.8 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.), und Diisopropylethylamin (7.0 μ L, 5.0 mg, 80 μ mol, 2.0 Äq.) wurden bei Raumtemperatur zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden nochmals 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)-carbodiimid-hydrochlorid (3.8 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.), (Hydroxyimino)cynoessigsäureethylester (2.8 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.) und Diisopropylethylamin (4.0 μ L, 2.9 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.) zugegeben und für 1 d gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die

organische Phase wurde mit Wasser (10 mL) und verd. Salzsäure (0.5 M, 10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die abschließende Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2).

Ausbeute: 12 mg (18 μ mol, 46 %) eines grüngelben Feststoffes.

Variante 5:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N* ^{α} -Benzyloxycarbonyl-(*N* ^{ϵ} -dansyl)-L-lysin **114** (20 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (1 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit 1-[(1-(Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)-dimethylaminomorpholino)]-uronium-hexafluorophosphat (17 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.) und versetzt. D-Alanin-D-alanin-methylester-trifluoracetat **119** (6.8 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.), und Diisopropylethylamin (7.0 μ L, 5.0 mg, 80 μ mol, 2.0 Äq.) wurden bei Raumtemperatur zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden nochmals 1-[(1-(Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)-dimethylaminomorpholino)]-uronium-hexafluorophosphat (8.5 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.) und Diisopropylethylamin (4.0 μ L, 2.9 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.) zugegeben und für 1 d gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (10 mL) und verd. Salzsäure (0.5 M, 10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die abschließende Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2).

Ausbeute: 18 mg (26 μ mol, 67 %) eines grüngelben Feststoffes.

Variante 6 :

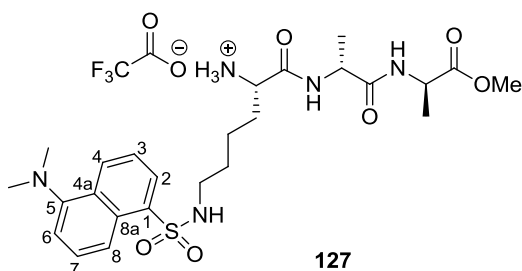
Die Reaktion wurde gemäß **AAV3** durchgeführt. Es wurden *N* ^{α} -Benzyloxycarbonyl-(*N* ^{ϵ} -dansyl)-L-lysin **114** (20 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidin-phosphonium-hexafluorophosphat (20 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.), Diisopropylethylamin (7.0 μ L, 5.0 mg, 78 μ mol, 2.0 Äq.) und D-Alanin-D-alanin-methylester-trifluoracetat **119** (6.8 mg, 39 μ mol, 1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (1 mL) und abs. Tetrahydrofuran (1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 d bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde nochmals Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidin-phosphoniumhexafluorophosphat (10 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.) und Diisopropylethylamin (4.0 μ L, 2.9 mg, 20 μ mol, 0.5 Äq.)

zugegeben und für 1 d gerührt (Abweichung von der **AAV**). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2).

Ausbeute: 22 mg (33 μ mol, 85 %) eines grüngelben Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.31. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.52 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.30 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.21 (dd, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, Dansyl-H-4), 7.53-7.47 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.32-7.28 (m, 5H, Cbz-CH), 7.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 7.00 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, 2 x Ala-NH), 5.69 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Lys- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$), 5.48 (dd, $J = 5.8$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1H, Lys- $\text{N}^{\epsilon}\text{H}$), 5.07 (d, $J = 1.9$ Hz, 2H, Cbz- CH_2), 4.54-4.48 (m, 2H, Ala-H-2), 4.13-4.04 (m, 1H, Lys-H-2), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 2.87 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.84-2.80 (m, 2H, Lys-H-6), 1.71-1.62 (m, 2H, Lys-H-3), 1.58-1.50 (m, 2H, Lys-H-5), 1.40-1.22 (m, 8H, Lys-H-4, 2 x Ala-H-3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 173.08 (Lys-C-1), 171.47 (Ala-C-1), 171.71 (Ala-C-1), 156.35 (Cbz-C=O), 151.78 (Dansyl-C-5), 126.09 (Dansyl-C-1), 134.84 (Cbz-C-1), 130.26 (Dansyl-C-2), 129.79 (Dansyl-C-8a), 129.58 (Dansyl-C-4a), 129.47 (Dansyl-C-4), 128.48 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.27 (Dansyl-C-7), 128.16 (Cbz-C-4), 128.04 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 123.23 (Dansyl-C-3), 118.90 (Dansyl-C-8), 115.22 (Dansyl-C-6), 67.09 (Cbz- CH_2), 54.80 (Lys-C-2), 52.41 (OCH_3), 48.85 (Ala-C-2), 48.11 (Ala-C-2), 45.40 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 42.67 (Lys-C-6), 31.79 (Lys-C-3), 28.89 (Lys-C-5), 22.17 (Lys-C-4), 18.08 (Ala-C-3), 17.89 (Ala-C-3). **MS** (ESI^+): $m/z = 692.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS** (ESI^+) $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ (669.79), ber.: 692.2725 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, gef.: 692.2725. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1647, 1521, 1453, 1308, 1139, 1048, 789, 622, 568. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 217 nm (4.65), 252 nm (4.12), 339 nm (3.63). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +13.2$ ($c = 0.52$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 49$ $^{\circ}\text{C}$.

Synthese von (N^{ϵ} -dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester-trifluoracetat **127**



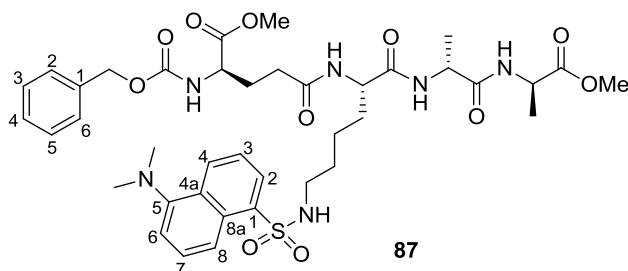
Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden N^{α} -Benzyloxycarbonyl- (N^{ϵ} -dansyl)-L-lysin-D-Alanin-D-alaninmethylester **120** (149 mg, 0.223 mmol, 1.0 Äq.),

Trifluoressigsäure (15 μ L, 22 mg, 0.22 mmol, 1.0 Äq.) und Pd(OH)₂/C (20 %, 30 mg, 43 μ mol, 0.19 Äq.) in abs. Methanol (10 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 17.5 h unter H₂-Atmosphäre gerührt, anschließend weiteres Pd(OH)₂/C (20 %, 20 mg, 28 μ mol, 0.18 Äq.) zugegeben und für weitere 25 h gerührt.

Ausbeute: 139 mg (0.220 mmol, quant.) eines gelbgrünen Öls.

DC: *R_f*-Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.16. **¹H-NMR** (300 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 8.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.33 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.17 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, Dansyl-H-4), 7.61-7.55 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.28 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, Dansyl-H-6), 4.53-4.32 (m, 2H, Ala-H-2), 3.71-3.66 (m, 1H, Lys-H-2), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 2.88 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.86-2.80 (m, 2H, Lys-H-6), 1.72-1.67 (m, 2H, Lys-H-3), 1.47-1.35 (m, 4H, Lys-H-5, Lys-H-4), 1.39 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H, 2 x Ala-C-3). **¹³C-NMR** (126 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 173.30 (Lys-C-1), 173.81-172.67 (m, CF₃C=O), 172.23 (Ala-C-1), 171.59 (Ala-C-1), 151.85 (Dansyl-C-5), 126.09 (Dansyl-C-1), 129.86 (Dansyl-C-2), 129.74 (Dansyl-C-8a), 129.59 (Dansyl-C-4a), 128.69 (Dansyl-C-4), 127.70 (Dansyl-C-7), 122.89 (Dansyl-C-3), 119.56-118.89 (m, CF₃COO), 119.11 (Dansyl-C-8), 115.06 (Dansyl-C-6), 60.12 (Lys-C-2), 53.68 (OCH₃), 51.34 (Ala-C-2), 48.73 (Ala-C-2), 44.39 (N(CH₃)₂), 42.11 (Lys-C-6), 32.30 (Lys-C-3), 29.00 (Lys-C-5), 21.68 (Lys-C-4), 16.84 (Ala-C-3), 15.89 (Ala-C-3). **¹⁹F-NMR** (282 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = -76.80. **MS** (ESI⁺): *m/z* = 536.2 [M-TFA]⁺. **HRMS** (ESI⁺). C₂₇H₃₈F₃N₅O₈S (649.68), ber.: 536.2537 [M-TFA]⁺, gef.: 536.2544. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 1735, 1666, 1241, 1200, 1138, 1044, 790, 623, 569. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 218 nm (4.58), 252 nm (4.07), 341 nm (3.59). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +35.2$ (c = 1.0, MeOH).

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-1-methylester-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **87**



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV3** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-1-methylester **128** (85 mg, 0.29 mmol, 1.2 Äq.), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidin-phosphoniumhexafluorophosphat (150 mg, 0.290 mmol, 1.2 Äq.), (*N*^c-dansyl)-L-Lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **127** (136 mg, 0.216 mmol, 1.0 Äq.) und abs. Triethylamin (167 µL, 121 mg, 1.20 mmol, 5.0 Äq.) (Abweichung von der **AAV**) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) und abs. Dichlormethan (2 mL) verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5). Das Produkt konnte auch nach mehrfacher Reinigung mittels Säulenchromatographie nicht sauber erhalten werden und war stark mit PyBOP-Abspaltungsprodukten verunreinigt.

Ausbeute: 180 mg eines stark verunreinigten Produktes als gelbgrünen Feststoff (100 % = 180 mg).

Variante 2:

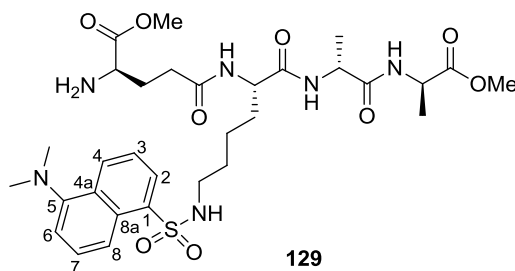
Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-1-methylester **128** (235 mg, 0.800 mmol, 1.2 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (90 mg, 0.67 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimidhydrochlorid (127 mg, 0.660 mmol, 1.0 Äq.), (*N*^c-dansyl)-L-Lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **127** (414 mg, 0.650 mmol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (230 µL, 171 mg, 1.30 mmol, 2.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (10 mL) verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde weiteres 1-Hydroxybenzotriazol (45 mg, 0.33 mmol, 0.5 Äq.) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimidhydrochlorid (63 mg, 0.33 mmol, 0.5 Äq.) zugegeben und für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5).

Ausbeute: 381 mg (0.47 mmol, 72 %) eines gelbgrünen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.48. **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.45 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.31 (d, J = 8.7 Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.13 (d, J = 7.3 Hz, Ala-NH), 8.08 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Dansyl-H-4), 8.04 (d, J = 7.3 Hz, Ala-NH), 7.91 (d, J = 7.3 Hz, 1H, NH), 7.68 (d, J = 7.3 Hz, 1H, NH), 7.63-7.55 (m, 2H, Dansyl-H-3,

Dansyl-H-7), 7.35-7.31 (m, 6H, Cbz-CH, NH), 7.25 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 5.03 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.30-4.22 (m, 2H, Ala-H-2), 4.14-3.99 (m, 2H, Lys-H-2, Glu-H-2), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 2.83 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.76-2.72 (m, 2H, Lys-H-6), 2.23-2.18 (m, 2H, Glu-H-4), 2.00-1.72 (m, 2H, Glu-H-3), 1.51-1.33 (m, 6H, Lys-H-3, Lys-H-4, Lys-H-5), 1.28 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 172.82 (Lys-C-1), 172.60 (Glu-C-1), 172.03 (Glu-C-5), 171.45 (Ala-C-1), 171.30 (Ala-C-1), 156.03 (Cbz-C=O), 151.32 (Dansyl-C-5), 136.84 (Dansyl-C-1), 136.10 (Cbz-C-1), 129.28 (Dansyl-C-8a), 129.09 (Dansyl-C-4a), 129.05 (Dansyl-C-2), 128.34 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.30 (Cbz-C-4), 128.13 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 127.75 (Dansyl-C-7), 127.67 (Dansyl-C-4), 123.55 (Dansyl-C-3), 119.13 (Dansyl-C-8), 115.08 (Dansyl-C-6), 65.53 (Cbz-CH₂), 53.48 (Lys-C-2), 52.69 (Glu-C-2), 51.78 (OCH₃), 48.58 (OCH₃), 47.54 (2 x Ala-C-2), 45.04 (N(CH₃)₂), 42.29 (Lys-C-6), 31.26 (Glu-C-4), 31.19 (Lys-C-3), 28.90 (Lys-C-5), 26.68 (Glu-C-3), 22.34 (Lys-C-4), 17.97 (Ala-C-3), 16.72 (Ala-C-3). MS (ESI): $m/z = 811.3$ [M-H]⁻. HRMS (ESI): C₃₉H₅₂N₆O₁₁S (812.93), ber.: 811.3342 [M-H]⁻, gef.: 811.3355. IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3281, 1688, 1630, 1536, 1218, 1140, 1020, 622, 569. UV (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 216 nm (4.48), 252 nm (3.94), 341 nm (3.45). Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +2.4$ (c = 0.53, CHCl₃). Schmelzpunkt: T_m = 173 °C.

Synthese von D-Glutaminsäure-1-methylester-(N^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester 129



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-D-glutaminsäure-1-methylester-(N^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **87** (28 mg, 35 μ mol, 1.0 Äq.), Trifluoressigsäure (2.3 μ L, 3.4 mg, 35 μ mol, 1.0 Äq.) und Pd(OH)₂/C (20 %, 7.0 mg, 7.0 μ mol, 0.19 Äq.) in abs. Methanol (1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 d unter H₂-Atmosphäre gerührt, wobei nach 19 h, 25 h, 41 h, 69 h und 72 h weiteres Pd(OH)₂/C (20 %, je 7.0 mg, 7.0 μ mol, 0.19 Äq.) zugegeben

wurde (Abweichung von der **AAV**). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1).

Ausbeute: 4 mg des Produktes als verunreinigtes gelbgrünes Öls (Ausbeute 100 % = 24 mg).

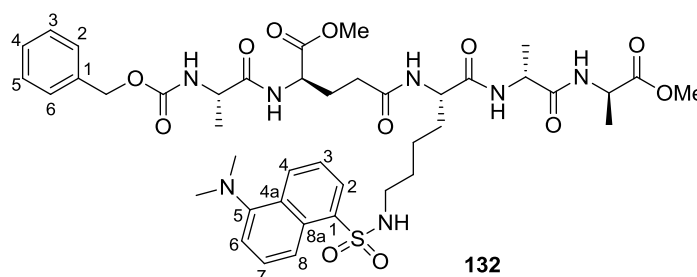
Variante 2:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-D-Glutaminsäure-1-methylester-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **87** (251 mg, 309 μmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 100 mg, 108 mmol, 0.3 Äq.) in abs. Methanol (25 mL) verwendet und das Reaktionsgemisch für 2 h unter H₂-Atmosphäre gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1).

Ausbeute: 188 mg (277 μmol, 93 %) eines gelbgrünen Öls.

DC: *R*_f-Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.14. **¹H-NMR** (300 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 8.55 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.34 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.17 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-4), 7.60-7.54 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.27 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, Dansyl-H-6), 4.43-4.30 (m, 2H, 2 x Ala-H-2), 4.17-4.05 (m, 2H, Lys-H-2, Glu-H-2), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 2.87 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.84-2.80 (m, 2H, Lys-H-6), 2.34-2.30 (m, 2H, Glu-H-4), 2.07-1.78 (m, 2H, Glu-H-3), 1.67-1.27 (m, 6H, Lys-H-5, Lys-H-4, Lys-H-3), 1.40 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H, Ala-H-3), 1.33 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H, Ala-H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 175.43 (Lys-C-1), 175.19 (Glu-C-1), 174.65 (Glu-C-5), 174.42 (Ala-C-1), 174.30 (Ala-C-1), 153.21 (Dansyl-C-5), 137.10 (Dansyl-C-1), 131.23 (Dansyl-C-8a), 131.12 (Dansyl-C-4a), 130.98 (Dansyl-C-2), 130.13 (Dansyl-C-7), 129.08 (Dansyl-C-4), 124.31 (Dansyl-C-3), 120.54 (Dansyl-C-8), 116.44 (C-6), 55.16 (Lys-C-2), 54.45 (OCH₃), 52.69 (Glu-C-2), 52.56 (OCH₃), 50.03 (Ala-C-2), 49.52 (Ala-C-2), 45.81 (N(CH₃)₂), 43.52 (Lys-C-6), 32.51 (Glu-C-4), 31.92 (Lys-C-3), 31.02 (Lys-C-5), 30.27 (Glu-C-3), 23.75 (Lys-C-4), 17.88 (Ala-H-3), 17.23 (Ala-H-3). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 701.3 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₃₁H₄₆N₆O₉S (678.80), ber.: 701.2939 [M+Na]⁺, gef.: 701.2923. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3338, 2943, 1740, 1658, 1537, 1146, 795, 627, 571. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ε) = 210 nm (4.66), 253 nm (4.07), 3.40 nm (3.58). **Drehwert:** [α]_D²⁵ = +18.5 (c = 1.0, MeOH).

**Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-
(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **132****



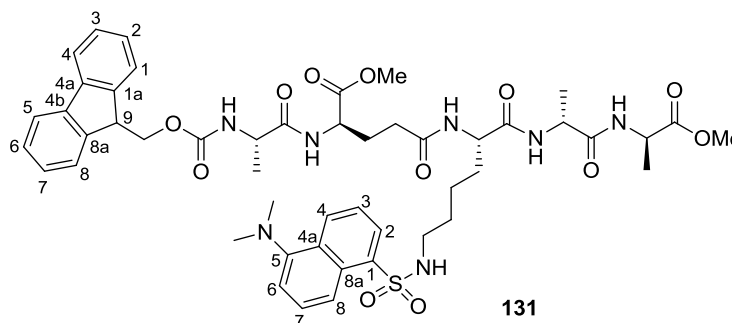
Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden Benzyloxycarbonyl-L-alanin **111** (124 mg, 55.4 μ mol, 2.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (75 mg, 55 μ mol, 2.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (106 mg, 55.4 μ mol, 2.0 Äq.), D-Glutaminsäure-1-methylester-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **129** (188 mg, 277 μ mol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (95 μ L, 72 mg, 55 μ mol, 2.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (7 mL) eingesetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 44 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH: 95:5).

Ausbeute: 145 mg (164 μ mol, 59 %) eines gelbgrünen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.44. **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.45 (d, J = 8.5 Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.30-8.26 (m, 2H, Dansyl-H-8, NH), 8.18 (d, J = 7.1 Hz, Ala-NH), 8.13 (d, J = 7.9 Hz, 1H, Dansyl-H-4), 8.08 (d, J = 7.3 Hz, Ala-NH), 7.96 (d, J = 7.4 Hz, 1H, NH), 7.86 (dd, J = 5.6 Hz, J = 5.6 Hz, 1H, Lys-N^εH), 7.64-7.55 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.39 (d, J = 7.9 Hz, 1H, NH), 7.35-7.26 (m, 5H, Cbz-CH), 7.25 (d, J = 7.3 Hz, 1H, Dansyl-H-6), 5.01 (d, J = 2.8 Hz, 2H, Cbz-CH₂), 4.29-4.17 (m, 3H, 3 x Ala-H-2), 4.12-4.05 (m, 2H, Lys-H-2, Glu-H-2), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.34 (s, 3H, OCH₃), 2.82 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.75-2.69 (m, 2H, Lys-H-6), 2.18-2.11 (m, 2H, Glu-H-4), 1.99-1.70 (m, 2H, Glu-H-3), 1.50-1.22 (m, 6H, Lys-H-3, Lys-H-4, Lys-H-5), 1.28 (d, J = 7.3 Hz, 3H, Ala-H-3), 1.19 (d, J = 7.1 Hz, 3H, Ala-H-3), 1.19 (d, J = 7.1 Hz, 3H, Ala-H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 172.66 (Lys-C-1), 172.52 (Glu-C-1), 171.99 (Glu-C-5), 171.89 (Ala-C-1), 171.34 (Ala-C-1), 171.21 (Ala-C-1), 155.46 (Cbz-C=O), 151.24 (Dansyl-C-5), 136.91 (Dansyl-C-1), 136.07 (Cbz-C-1), 129.17 (Dansyl-C-8a), 129.02 (Dansyl-C-4a), 128.99 (Dansyl-C-2), 128.18 (Cbz-C-3, Cbz-C-5, Cbz-C-2, Cbz-C-6), 128.00 (Cbz-C-4), 127.62 (Dansyl-C-7), 127.54 (Dansyl-C-4), 123.42

(Dansyl-C-3), 119.04 (Dansyl-C-8), 114.99 (Dansyl-C-6), 65.27 (Cbz-CH₂), 52.68 (Lys-C-2), 51.67 (Glu-C-2), 51.65 (OCH₃), 51.43 (OCH₃), 49.81 (Ala-C-2), 47.50 (Ala-C-2), 47.44 (Ala-C-2), 44.95 (N(CH₃)₂), 42.21 (Lys-C-6), 31.11 (Glu-C-4), 31.03 (Lys-C-3), 28.83 (Lys-C-5), 26.93 (Glu-C-3), 22.27 (Lys-C-4), 18.41 (Ala-C-3), 17.83 (Ala-C-3), 16.66 (Ala-C-3). **MS** (ESI⁺): $m/z = 906.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₄₂H₅₇N₇O₁₂S (884.01), ber.: 906.3678 [M+Na]⁺, gef.: 906.3679. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3279, 2917, 1649, 1630, 1536, 1458, 1257, 1022, 797, 626. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 217 nm (4.81), 253 nm (4.27), 342 nm (3.80). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3.6$ (c = 0.42, MeOH).

Synthese von *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alanin-methylester **131**



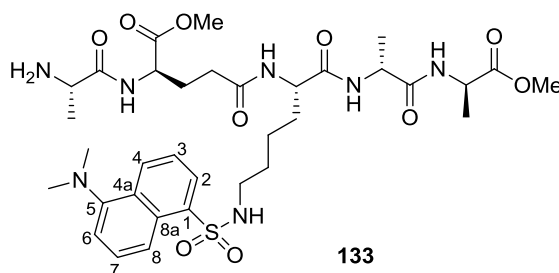
Die Synthese wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanin **130** (68 mg, 0.22 mmol, 2.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (42 mg, 0.22 mmol, 2.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (29 mg, 0.22 mmol, 2.0 Äq.), D-Glutaminsäure-1-methylester-(*N*^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **129** (74 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (37 μ L, 28 mg, 0.22 mmol, 2.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (3 mL) eingesetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5).

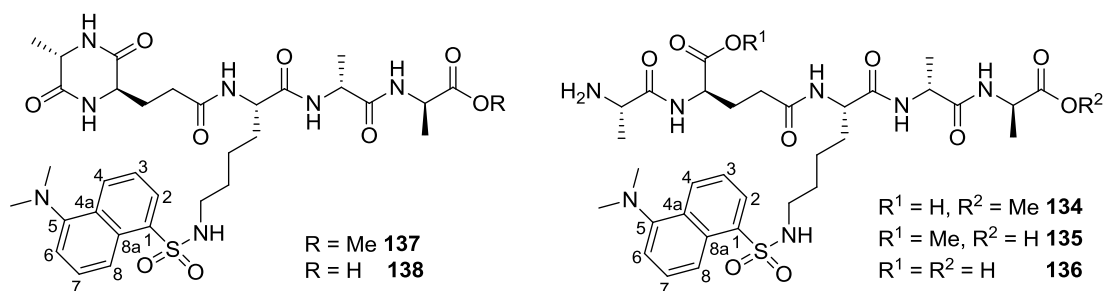
Ausbeute: 53 mg (61 μ mol, 55 %) eines gelbgrünen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.29. **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.45 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.30 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.23 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, NH), 8.12 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, NH), 8.09-8.04 (m, 2H, NH, Dansyl-H-4), 7.92-7.86 (m, 3H, Fmoc-H-5, Fmoc-H-4, NH), 7.80 (m, $J = 5.9$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 1H, Lys-N^εH), 7.73-7.70 (m, 2H, Fmoc-H-1, Fmoc-H-8), 7.61-7.53 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.41-7.36

(m, 3H, Fmoc-H-3, Fmoc-H-6, NH), 7.31, (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 2H, Fmoc-H-2, Fmoc-H-7), 7.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 4.30-4.05 (m, 8H, Ala-H-2, Lys-H-2, Glu-H-2, Fmoc-H-9, Fmoc-CH₂), 3.59 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.82 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.77-2.70 (m, 2H, Lys-H-6), 2.18-2.13 (m, 2H, Glu-H-4), 1.98-1.76 (m, 2H, Glu-H-3), 1.51-1.13 (m, 6H, Lys-H-3, Lys-H-4, Lys-H-5), 1.28 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.18 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Ala-H-3). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 172.50 (Lys-C-1), 172.37 (Glu-C-1), 171.85 (Glu-C-5), 171.73 (Ala-C-1), 171.18 (Ala-C-1), 171.05 (Ala-C-1), 155.34 (Fmoc-C=O), 151.10 (Dansyl-C-5), 143.66 (Dansyl-C-1), 143.55 (Fmoc-C-1a, Fmoc-C-8a), 140.47 (Fmoc-C-4a, Fmoc-C-4b), 135.94 (Dansyl-C-8a), 129.07 (Dansyl-C-4a), 128.92 (Dansyl-C-2), 128.88 (Dansyl-C-7), 127.90 (Fmoc-C-3, Fmoc-C-6), 127.38 (Dansyl-C-4), 126.84 (Fmoc-C-2, Fmoc-C-7), 125.06 (Fmoc-C-1, Fmoc-C-8), 123.32 (Dansyl-C-3), 119.85 (Dansyl-C-8), 118.95 (Fmoc-C-4, Fmoc-C-5), 114.90 (Dansyl-C-6), 65.55 (Fmoc-CH₂), 54.76 (Lys-C-2), 52.69 (Glu-C-2), 51.69 (OCH₃), 51.66 (OCH₃), 49.76 (Ala-C-2), 47.51 (Ala-C-2), 47.45 (Ala-C-2), 46.58 (Fmoc-C-9), 44.96 (N(CH₃)₂), 42.22 (Lys-C-6), 31.15 (Glu-C-4), 31.07 (Lys-C-3), 28.87 (Lys-C-5), 27.00 (Glu-C-3), 22.32 (Lys-C-4), 18.52 (Ala-C-3), 17.89 (Ala-C-3), 16.71 (Ala-C-3). **MS** (ESI⁺): $m/z = 994.4$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₄₉H₆₁N₇O₁₂S (972.11), ber.: 994.3991 [M+Na]⁺, gef.: 994.3998. **IR** (KBr): ν [cm⁻¹] = 3293, 2957, 1654, 1632, 1536, 1448, 1229, 1143, 791, 740. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 210 nm (4.83), 256 nm (4.35). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1.5$ (c = 1.0, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: T_m = 154 °C.

Synthese von L-Alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-(N^ε-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester 133



Nebenprodukte:*Variante 1 (über Fmoc-Entschützung):*

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-(*N*^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **131** (20 mg, 20 μmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (1.2 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit Piperidin (0.3 mL) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung direkt eingesetzt.

Ausbeute: 21 mg eines Gemisches aus verunreinigtem Produkt und Fmoc-Piperidin-Addukt (100 % = 15 mg). Bei der Folgereaktion wurde von 100 % Umsatz ausgegangen.

Variante 2 (über Cbz-Entschützung):

Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-(*N*^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alanin-methylester **132** (15 mg, 17 μmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 10 mg, 9.0 μmol, 0.6 Äq.) in abs. Methanol (2 mL) eingesetzt. Unter H₂-Atmosphäre wurde das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte kein Produkt erhalten werden. Im Massenspektrum konnten Derivate mit ein oder zwei abgespaltenen Methylgruppen **134-136** und das Cyclisierungsprodukt **138** beobachtet werden.

Variante 3 (über Cbz-Entschützung):

Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-(*N*^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alanin-methylester **132** (10 mg, 11 μmol, 1.0 Äq.), Pd(OH)₂/C (20 %, 10 mg, 19 μmol, 1.7 Äq.) und Trifluoressigsäure (0.72 μL, 1.0 mg, 11 μmol, 1.0 Äq.) in abs. Methanol (0.6 mL)

eingesetzt. Unter H_2 -Atmosphäre wurde das Reaktionsgemisch für 1.3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Ausbeute: 20 mg als Gemisch von verunreinigten Produkt **133**, Cyclisierungsprodukt **137** und dem Derivat **136** (100 % = 13 mg).

Variante 4 (über Cbz-Entschützung):

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff auszuschließen. In abs. Dichlormethan (1 mL) und abs. Tetrahydrofuran (1 mL) wurde *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanin-D-glutaminsäure-1-methylester-L-lysin-(*N*^c-dansyl)-D-alanin-D-alaninmethylester **132** (10 mg, 12 μ mol, 1.0 Äq.) gelöst und bei Raumtemperatur mit $PdCl_2$ (1.0 mg, 5.6 μ mol, 0.6 Äq.), Triethylsilan (9.5 μ L, 13 mg, 0.11 mmol, 10 Äq.) und Triethylamin (9.5 μ L, 13 mg, 0.13 mmol, 13 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h unter Rückfluss gerührt. Es wurde über Celite[®] filtriert, die Celite[®] mit Methanol gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1). Das Produkt konnte nicht sauber erhalten werden und wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

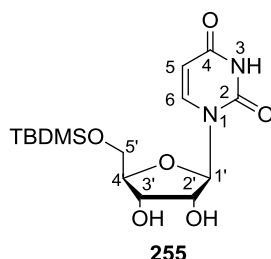
Ausbeute: 4.0 mg des verunreinigten Produkts als grünelbes Öl (100 % = 9.1 mg).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.06. **MS** (ESI⁺): $m/z = 772.2 [M+Na]^+$. **HRMS** (ESI⁺): $C_{34}H_{51}N_7O_{10}S$ (749.87), ber.: 772.3310 $[M+Na]^+$, gef.: 772.3301.

Aufgrund der geringen Mengen und schlechten Reinheiten der Produkte konnten die NMR-Spektren nicht ausgewertet werden, und es wurden keine weiteren Analysen durchgeführt.

7.2.5 Synthese des *cycloSal*-Nucleotids 85

Synthese von 5'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)uridin 255

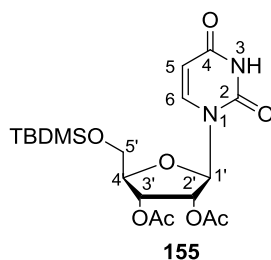


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Uridin **154** (10.0 g, 41.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (100 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (7.72 g, 51.3 mmol, 1.3 Äq.) und Imidazol (7.00 g, 103 mmol, 2.5 Äq.) in abs. Dimethylformamid (100 mL) wurde bei 0 °C zugetropft, das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für 3 h bei dieser Temperatur gerührt. Wasser (110 mL) wurde bei 0 °C langsam zugegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat (2 x 160 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 250 mL) und Wasser (2 x 250 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 1:4).

Ausbeute: 9.61 g (26.8 mmol, 65 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:4) = 0.12. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 10.42 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, NH-3), 8.09 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-6), 5.90 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-1'), 5.66 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, H-5), 4.25-4.13 (m, 3H, H-2', H-3', H-4'), 4.03 (dd, $J = 11.8$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, H-5'_a), 3.85 (dd, $J = 11.8$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, H-5'_b), 0.92 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.11 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 164.00 (C-4), 151.26 (C-2), 140.50 (C-6), 102.04 (C-5), 90.28 (C-1'), 84.87 (C-4'), 75.62 (C-2'), 69.19 (C-3'), 61.74 (C-5'), 25.89 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.39 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), -5.56 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). **MS** (ESI^+): $m/z = 381.1$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ (358.46), ber.: 381.1452 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, gef.: 381.1453. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1701, 1666, 1109, 1089, 1057, 828, 803, 775, 566. **UV** (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 205 nm (3.92), 261 nm (3.96). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8.3$ ($c = 1.4$, MeOH). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 181$ °C.

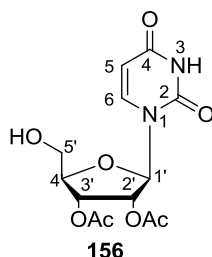
Synthese von 5'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2',3'-*O*-diacetyluridin **155**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 5'-*O*-*tert*-(Butyldimethylsilyl)uridin **255** (5.56 g, 15.5 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Pyridin (300 mL) gelöst, und bei Raumtemperatur wurden 4-Dimethylaminopyridin (840 mg, 6.90 mmol, 0.4 Äq.) und Essigsäureanhydrid (8.40 mL, 9.00 g, 88.6 mmol, 5.7 Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Ethylacetat verdünnt (200 mL) und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (250 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (250 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Ethylacetat (200 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 1:1)

Ausbeute: 7.10 g (16.0 mmol, quant.) eines leicht verunreinigten weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.42. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 11.48 (s, 1H, NH-3), 7.75 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-6), 6.01 (d, J = 6.2 Hz, 1H, H-1'), 5.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-5), 5.36-5.27 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.20 (ddd, J = 2.9 Hz, J = 2.9 Hz, J = 2.9 Hz, 1H, H-4'), 3.86 (dd, J = 11.6 Hz, J = 2.9 Hz, 1H, H-5'_a), 3.80 (dd, J = 11.6 Hz, J = 2.9 Hz, 1H, H-5'_b), 2.09 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 2.02 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.09 (s, 6H, Si(CH₃)₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 169.31 (Acetyl-C=O), 169.19 (Acetyl-C=O), 162.70 (C-4), 150.28 (C-2), 139.77 (C-6), 102.33 (C-5), 85.68 (C-1'), 82.39 (C-4'), 72.29 (C-2'), 70.55 (C-3'), 62.70 (C-5'), 25.60 (SiC(CH₃)₃), 20.27 (Acetyl-CH₃), 20.07 (Acetyl-CH₃), 17.82 (SiC(CH₃)₃), -5.73 (Si(CH₃)₂), -5.79 (Si(CH₃)₂). **MS** (ESI⁺): m/z = 465.2 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₉H₃₀N₂O₈Si (442.54), ber.: 465.1664 [M+Na]⁺, gef.: 465.1663. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3201, 3066, 2931, 1745, 1714, 1458, 1235, 1100, 1046, 833, 814, 783. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 204 nm (4.08), 258 nm (4.12). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = +1.2 (c = 1.2, CHCl₃). **Schmelzpunkt:** T_{m} = 97 °C.

Synthese von 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156***Variante 1:*

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 5'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2',3'-*O*-diacetyluridin **155** (500 mg, 1.10 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (12.5 mL) gelöst, und Tetrabutylammoniumfluorid (443 mg, 1.69 mmol, 1.5 Äq.), gelöst in abs. Tetrahydrofuran (20 mL), wurde über 40 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2).

Ausbeute: 90 mg (0.27 mmol, 24 %) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 5'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2',3'-*O*-diacetyluridin **155** (104 mg, 229 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Methanol (5 mL) gelöst, und Ammoniumfluorid (116 mg, 3.12 mmol, 13 Äq.) wurde bei Raumtemperatur zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 7 d bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5).

Ausbeute: 5.0 mg (16 μ mol, 6 %) eines farblosen Öls.

Variante 3:

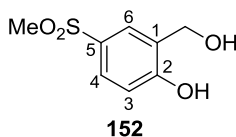
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (10 mL) und abs. Tetrahydrofuran (10 mL) wurde 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-*O*-diacetyluridin **155** (2.19 g, 4.94 mmol, 1.0 Äq.) gelöst, bei Raumtemperatur mit Triethylamin-trihydrofluorid (4.8 mL, 4.8 g, 30 mmol, 6.0 Äq.)

versetzt und das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (EtOAc:MeOH 4:1).

Ausbeute: 1.89 g eines leicht verunreinigten farblosen Feststoffes (100 % = 1.60 g).

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:2) = 0.10. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 9.91 (s_{br} , 1H, NH-3'), 7.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-6'), 6.05 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H-1), 5.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-5'), 5.43-5.38 (m, 2H, H-2, H-3), 7.17 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-4), 4.87 (dd, $J = 12.1$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-5_a), 4.80 (dd, $J = 12.1$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-5_b), 2.09 (s, 3H, Acetyl- CH_3), 2.03 (s, 3H, Acetyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170.00 (Acetyl-C=O), 169.72 (Acetyl-C=O), 163.46 (C-4'), 150.49 (C-2'), 140.77 (C-6'), 103.12 (C-5'), 87.37 (C-1), 83.49 (C-4), 73.03 (C-2), 71.23 (C-3), 61.74 (C-5), 20.72 (Acetyl- CH_3), 20.51 (Acetyl- CH_3). **MS** (ESI): $m/z = 327.1$ [M-H]⁻. **HRMS** (ESI) $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ (328.27), ber.: 327.0834 [M-H]⁻, gef.: 327.0838. **IR** (KBr): ν [cm^{-1}] = 3467, 3238, 3064, 1751, 1697, 1465, 1379, 1107, 1080, 1049. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 203 nm (3.98), 257 nm (3.97). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +16.9$ ($c = 1.0$, MeOH). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 74$ °C.

Synthese von 5-(Methylsulfonyl)salicylalkohol **152**^[189]



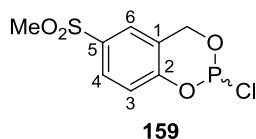
4-(Methylthio)phenol **157** (6.26 g, 44.7 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Toluol (300 mL) gelöst, mit Phenylboronsäure (6.53 g, 53.6 mmol, 1.2 Äq.), *p*-Formaldehyd (2.68 g, 89.3 mmol, 2.0 Äq.) und Propionsäure (1.7 mL, 1.7 g, 22 mmol, 0.5 Äq.) bei Raumtemperatur versetzt und in einer Dean-Stark-Apparatur unter Rückfluss gerührt. Alle zwei Stunden wurde eine weitere Portion *p*-Formaldehyd (2.68 g, 89.3 mmol, 2.0 Äq.) zugegeben. Nach 8 h wurde das Gemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan (300 mL) aufgenommen und mit Wasser (300 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (2 x 300 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (300 mL) gewaschen, anschließend über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in konz. Essigsäure (82 mL) gelöst und mit Wasserstoffperoxid-Lösung (30 % in

Wasser, 16.3 mL) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 6 h bei 45 °C gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5).

Ausbeute: 5.93 g (29.3 mmol, 66 %) eines bräunlichen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.33. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 7.86 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H-6), 7.62 (dd, J = 8.5 Hz, J = 2.4 Hz, 1H, H-4), 6.97 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H-3), 4.53 (s, 2H, Bn- CH_2), 3.08 (s, 3H, SO_2CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 158.44 (C-2), 130.53 (C-5), 129.72 (C-1), 127.01 (C-4), 126.08 (C-6), 114.66 (C-3), 57.67 (Benzyl- CH_2) 44.27 (SO_2CH_3). **MS** (ESI): m/z = 201.0 [M-H]. **HRMS** (ESI): $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_4\text{S}$ (202.23), ber.: 201.0227 [M-H] $^-$, gef.: 201.0228. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3396, 1590, 1431, 1289, 1143, 1119, 1022, 995, 826, 767. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 239 nm (3.87), 273 nm (3.14), 279 nm (3.16). **Schmelzpunkt:** T_m = 117 °C.

Synthese von 5-(Methylsulfonyl)-saligenylchlorphosphit **159**^[181]



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit und Sauerstoff auszuschließen. 5-(Methylsulfonyl)salicylalkohol **152** (1.00 g, 4.94 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Diethylether (70 mL) suspendiert und auf -20 °C gekühlt. Anschließend wurde frisch destilliertes Phosphortrichlorid (0.52 mL, 0.82 g, 5.9 mmol, 1.2 Äq.) zugegeben und 10 min bei -20 °C gerührt. Abs. Pyridin (0.92 mL, 0.90 g, 11 mmol, 2.3 Äq.), gelöst in abs. Diethylether (3 mL), wurde über 3 h bei -20 °C zugetropft und das Gemisch für 18 h bei -20 °C gelagert, um das vollständige Ausfällen des Pyridiniumchlorids zu gewährleisten. Der ausgefallene Feststoff wurde unter Argon abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

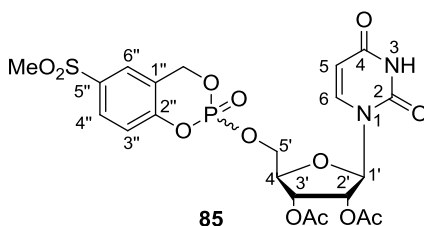
Ausbeute: 760 mg eines verunreinigten Rohproduktes als farbloses Öl (100 % = 1.31 g).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.80 (dd, J = 8.9 Hz, J = 2.2 Hz, 1H, H-4), 7.61 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-6), 7.12 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-3), 5.48-5.43 (m, 1H, Bn- CH_2),

5.13-5.05 (m, 1H, Bn-CH₂), 3.02 (s, 3H, SO₂CH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 150.24 (d, J_{CP} = 5.3 Hz, C-2), 135.74 (C-5), 128.62 (C-4), 125.88 (C-6), 122.40 (d, J_{CP} = 12.9 Hz, C-1), 120.66 (C-3), 60.61 (d, J_{CP} = 2.0 Hz, Bn-CH₂), 44.58 (SO₂CH₃). ³¹P-NMR (121 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 139.45.

Aufgrund der Instabilität des Produktes konnten keine weiteren Analysen durchgeführt werden.

Synthese von 5''-(Methylsulfonyl)-*cycloSal*-2',3'-*O*-diacetyluridin-monophosphat **85**^[181]



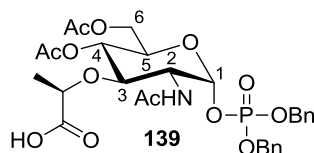
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit und Sauerstoff auszuschließen. 2',3'-*O*-Diacetyluridin **156** (165 mg, 0.503 mmol) wurde in abs. Acetonitril (10 mL) gelöst und auf -20 °C gekühlt. Diisopropylethylamin (170 µL, 126 mg, 0.976 mmol, 2.0 Äq.) und 5-(Methylsulfonyl)-saligenylchlorphosphit **159** (267 mg, 2.0 Äq. bei hypothetischer Reinheit), gelöst in Acetonitril (4 mL), wurden zugegeben. Es wurde 20 min bei -20 °C und 4 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle DCM:MeOH (0.5 % HOAc) 9:1). Oxon (1.23 g, 2.00 mmol, 4.0 Äq.) wurde in Wasser (5 mL) gelöst, bei -10 °C zugegeben und das Gemisch für 10 min bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und in eine Mischung aus kaltem Wasser (10 mL) und Ethylacetat (10 mL) gegeben. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat extrahiert (3 x 10 mL) und die organische Phase mit kaltem Wasser (2 x 10 mL) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2 → 9:1).

Ausbeute: 71 mg (0.12 mmol, 25 %) eines leicht verunreinigten Schaums als Diastereomergemisch (1:0.7).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH: 98:2) = 0.22. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 9.50-9.41 (m, 2H, 2 x NH), 7.90 (dd, $J = 8.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 2H, 2 x H-4''), 7.77-7.73 (m, 2H, 2 x H-6''), 7.35 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 2H, 2 x H-6), 7.24-7.21 (m, 2H, 2 x H-3'), 5.88-5.86 (m, 2H, 2 x H-1'), 5.65 (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2 x H-5), 5.50-5.36 (m, 4H, 2 x H-2, 2 x H-3'), 5.31-5.27 (m, 4H, 2 x Bn- CH_2), 4.95-4.39 (m, 4H, 2 x H-4', 2 x H-5'_a), 4.35-4.24 (m, 2H, 2 x H-5'_b), 3.05 (s, 3H, SO_2CH_3), 3.04 (s, 3H, SO_2CH_3), 2.10 (s, 3H, O -Acetyl- CH_3), 2.07 (s, 3H, O -Acetyl- CH_3), 2.06 (s, 6H, 2 x O -Acetyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 169.67 (2 x O -Acetyl- $\text{C}=\text{O}$), 169.60 (2 x O -Acetyl- $\text{C}=\text{O}$), 164.21 (C-4'), 163.17 (C-4'), 160.96 (C-2'), 160.92 (C-2'), 153.72-153.52 (m, 2 x C-2''), 149.99 (2 x C-2'), 140.36 (2 x C-6'), 136.91 (2 x C-5''), 129.68 (C-4''), 129.62 (C-4''), 125.78 (2 x C-6''), 121.80 (d, $J_{\text{CP}} = 9.3$ Hz, C-1''), 121.68 (d, $J_{\text{CP}} = 9.3$ Hz, C-1''), 119.97 (d, $J_{\text{CP}} = 7.5$ Hz, C-3''), 119.85 (d, $J_{\text{CP}} = 7.5$ Hz, C-3''), 103.17 (C-5'), 103.07 (C-5'), 88.71 (C-1), 88.51 (C-1), 80.26-80.20 (m, 2 x C-4), 72.65 (C-2), 72.57 (C-2), 69.53 (C-3), 69.49 (C-3), 68.41 (d, $J_{\text{CP}} = 7.0$ Hz, Bn- CH_2), 68.12 (d, $J_{\text{CP}} = 7.0$ Hz, Bn- CH_2), 67.47-67.25 (m, 2 x C-5), 44.82 (SO_2CH_3), 44.51 (SO_2CH_3), 20.58 (O -Acetyl- CH_3), 20.46 (O -Acetyl- CH_3), 20.43 (O -Acetyl- CH_3), 20.28 (O -Acetyl- CH_3). **$^{31}\text{P-NMR}$** (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -9.15, -9.61. **MS** (ESI): $m/z = 597.0$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI $^+$): $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{PS}$ (574.45), ber.: 597.0551 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, gef.: 597.0556. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1753, 1689, 1297, 1224, 1035, 937, 717. **Schmelzpunkt:** $T_m = 141$ °C.

7.2.6 Synthese des dansylierten Park-Nucleotids 71

Synthese von Di- O -benzyl-4,6- O -diacetyl-3- O -((2*R*)-propion-2-yl)- N -acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat 139



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Di- O -benzyl-4,6- O -diacetyl-3- O -((2*R*)-phenylsulfonylpropion-2-yl)- N -acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **36** (50 mg, 60 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (5 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit Diazabicycloundecen (10 μL ,

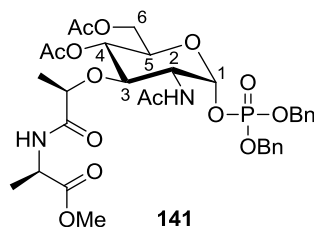
10 mg, 70 μmol , 1.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 15 h bis zum vollständigen Umsatz (DC-Kontrolle: DCM:MeOH 9:1) bei Raumtemperatur gerührt, die Reaktion anschließend durch Zugabe von verd. Salzsäure (1 N, 1.5 mL) beendet und das Gemisch mit Dichlormethan (15 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 x 10 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde nicht weiter gereinigt und direkt umgesetzt.

Ausbeute: 57 mg eines verunreinigten farblosen Öls (100 % = 40 mg).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.09.

Aufgrund der Verunreinigungen konnten die NMR-Spektren nicht ausgewertet werden, und es wurden keine weiteren Analysen durchgeführt. Für die Folgereaktionen wurde von einem 100 %igem Umsatz ausgegangen.

Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-D-alanyl-methylester)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **141**



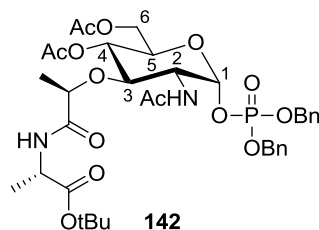
Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **139** (6.0 mg, 9.4 μmol , 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (2.0 mg, 18 μmol , 2.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (3.0 mg, 18 μmol , 2.0 Äq.), D-Alaninmethylester-hydrochlorid **107** (1.0 mg, 18 μmol , 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (3.0 μL , 2.0 mg, 19 μmol , 2.1 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5) gereinigt.

Ausbeute: 7.0 mg eines leicht verunreinigten farblosen Öls (100 % = 6.4 mg).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.24. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.38-7.35 (m, 10H, Bn-CH), 6.85 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, Ala-NH), 6.56 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H,

Acetyl-NH), 5.67 (dd, $J_{\text{HP}} = 5.9$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, H-1), 5.15-5.04 (m, 5H, H-3, Bn-CH₂), 4.56-4.47 (m, 1H, H-2), 4.43-4.34 (m, 1H, Ala-H-2), 4.10 (dd, $J = 13.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1H, H-6_a), 4.03 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Propionyl-CH), 3.95-3.87 (m, 2H, H-5, H-6_b), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (dd, $J = 10.6$ Hz, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-4), 2.09 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 2.02 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 1.86 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 1.41 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.31 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Propionyl-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 172.02 (*N*-Acetyl-C=O), 171.49 (Ala-C-1), 170.70 (Propionyl-C=O), 170.63 (*O*-Acetyl-C=O), 169.02 (*O*-Acetyl-C=O), 135.46 (d, $J_{\text{CP}} = 6.3$ Hz, Ar-C), 135.25 (d, $J_{\text{CP}} = 6.3$ Hz, Ar-C), 128.97 (d, $J_{\text{CP}} = 1.8$ Hz, Ar-CH), 128.78 (d, $J_{\text{CP}} = 1.8$ Hz, Ar-CH), 128.12 (Ar-CH), 128.07 (Ar-CH), 96.74 (d, $J_{\text{CP}} = 6.8$ Hz, C-1), 78.28 (Propionyl-CH), 77.21 (C-4), 70.18 (C-5), 69.97 (d, $J_{\text{CP}} = 5.5$ Hz, Bn-CH₂), 69.11 (C-3), 61.55 (C-6), 53.14 (d, $J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, C-2), 48.69 (Ala-C-2), 27.94 (OCH₃), 22.90 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.77 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.63 (*N*-Acetyl-CH₃), 19.00 (Propionyl-CH₃), 17.84 (Ala-C-3). **³¹P-NMR** (121 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -2.40. **MS** (ESI⁺): $m/z = 745.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₃₃H₄₃N₂O₁₄P (722.67), ber.: 745.2344 [M+Na]⁺, gef.: 745.2343. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2928, 2363, 1741, 1667, 1552, 1366, 1224, 1011, 956, 698. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 260 nm (3.66), 264 nm (3.69). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +31.1$ (c = 0.91, CHCl₃).

Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*L*-alanin-*tert*-butylester)-*N*-acetyl- α -*D*-glucosamin-1-phosphat **142**

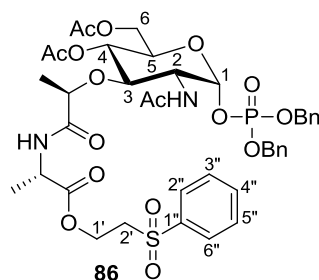


Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -*D*-glucosamin-1-phosphat **139** (15 mg, 24 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (7.0 mg, 48 μ mol, 2.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (9.0 mg, 48 μ mol, 2.0 Äq.), *L*-Alanin-*tert*-butylester (4.0 mg, 24 μ mol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (12 μ L, 9.0 mg, 72 μ mol, 3.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (1 mL) und abs. Tetrahydrofuran (1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 95:5) gereinigt.

Ausbeute: 13 mg (17 μ mol, 71 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.55. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.39-7.34 (m, 10H, Bn-CH), 6.67 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ala-NH), 6.42 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Acetyl-NH), 5.69 (dd, $J_{\text{HP}} = 5.8$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-1), 5.15-5.00 (m, 5H, H-3, Bn- CH_2), 4.36-4.23 (m, 2H, H-2, Ala-H-2), 4.12-4.06 (m, 1H, H-6_a), 3.95-3.89 (m, 3H, Propionyl-CH, H-5, H-6_b), 3.52 (dd, $J = 10.4$ Hz, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-4), 2.08 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 2.01 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.76 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.45 (s, 9H, *t*-Bu- CH_3), 1.37 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.31 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 172.79 (*N*-Acetyl-C=O), 171.93 (Ala-C-1), 170.61 (Propionyl-C=O), 170.53 (*O*-Acetyl-C=O), 169.07 (*O*-Acetyl-C=O), 135.45 (d, $J_{\text{CP}} = 6.2$ Hz, Ar-C), 135.11 (d, $J_{\text{CP}} = 6.2$ Hz, Ar-C), 129.04 (d, $J_{\text{CP}} = 2.0$ Hz, Ar-CH), 128.82 (d, $J_{\text{CP}} = 2.0$ Hz, Ar-CH), 128.15 (Ar-CH), 128.09 (Ar-CH), 96.87 (d, $J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, C-1), 78.49 (*t*-Bu-C), 77.21 (C-4), 70.21 (C-5), 70.02 (d, $J_{\text{CP}} = 5.5$ Hz, Bn- CH_2), 68.85 (C-3), 65.83 (Propionyl-CH), 61.53 (C-6), 52.97 (d, $J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, C-2), 48.02 (Ala-C-2), 29.69 (*t*-Bu- CH_3), 22.69 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.78 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.64 (*N*-Acetyl- CH_3), 18.77 (Propionyl- CH_3), 17.54 (Ala-C-3). **$^{31}\text{P-NMR}$** (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -2.28. **MS** (ESI⁺): $m/z = 787.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{P}$ (764.75), ber.: 787.2814 [M+Na]⁺, gef.: 787.2822. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 2962, 2360, 1745, 1660, 1262, 1087, 1022, 802, 698. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 258 nm (3.02). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +20.2$ ($c = 0.91$, CHCl_3).

Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-*L*-alaninphenyl-sulfonylethylester)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **86**



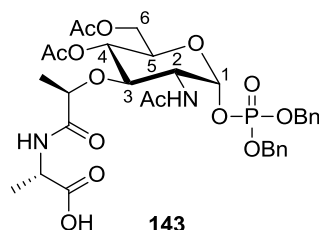
Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **139** (13 mg, 20 μmol , 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (6.0 mg, 40 μmol , 2.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (8.0 mg, 40 μmol , 2.0 Äq.), *L*-Alaninphenyl-sulfonylethylester **110** (6.0 mg, 20 μmol , 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (11 μL , 8.0 mg, 60 μmol , 3.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (1 mL) und abs. Tetrahydrofuran (1 mL)

eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 15.5 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (EtOAc) gereinigt.

Ausbeute: 12 mg (14 μmol , 70 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (EtOAc) = 0.09. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.88 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, H-2'', H-6''), 7.64-7.50 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-4''), 7.61-7.56 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.35-7.29 (m, 10H, Bn-CH), 6.74 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, Ala-NH), 6.41 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, Acetyl-NH), 5.60 (dd, $J_{\text{HP}} = 5.8$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, H-1), 5.09-4.98 (m, 5H, H-3, Bn- CH_2), 4.40 (dd, $J = 6.2$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 2H, H-1'), 4.31-4.27 (m, 1H, H-2), 4.17-4.13 (m, 1H, Ala-H-2), 4.08-4.05 (m, 1H, H-6_a), 3.94-3.87 (m, 3H, Propionyl-CH, H-5, H-6_b), 3.50-3.37 (m, 3H, H-4, H-2'), 2.04 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 1.97 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.72 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.25 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.24 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 171.95 (*N*-Acetyl-C=O), 171.44 (Ala-C-1), 170.56 (Propionyl-C=O), 170.52 (*O*-Acetyl-C=O), 169.06 (*O*-Acetyl-C=O), 139.04 (C-1''), 135.34 (d, $J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, Bn-C), 135.11 (d, $J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, Bn-C), 134.04 (C-4''), 129.41 (C-3'', C-5''), 128.94 (Bn-CH), 128.73 (Bn-CH), 128.04 (Bn-CH), 128.01 (C-2'', C-6''), 96.74 (d, $J_{\text{CP}} = 7.7$ Hz, C-1), 78.21 (Propionyl-CH), 76.86 (C-4), 70.08 (C-5), 69.91 (d, $J_{\text{CP}} = 6.9$ Hz, 2 x Bn- CH_2), 68.69 (C-3), 61.46 (C-6), 58.05 (C-1'), 54.78 (C-2'), 52.90 (d, $J_{\text{CP}} = 8.6$ Hz, C-2), 47.86 (Ala-C-2), 22.87 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.72 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.57 (*N*-Acetyl- CH_3), 18.58 (Propionyl- CH_3), 16.95 (Ala-C-3). **$^{31}\text{P-NMR}$** (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -2.56. **MS** (ESI⁺): $m/z = 899.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺) $\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{PS}$ (876.86), ber.: 899.2433 [M+Na]⁺, gef.: 899.2432. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 1742, 1214, 1141, 1034, 1010, 950, 730, 629, 505. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 208 nm (4.41), 264 nm (3.26). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +22.0$ ($c = 1.6$, CHCl_3).

Synthese von Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-L-alanyl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **143**



Variante 1 (über *tert*-Butylester):

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-L-alanyl-*tert*-butylester)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **142** (5.0 mg, 6.8 μ mol, 1.0 Äq.) wurde mit einer Trifluoressigsäure-Lösung (20 % in Dichlormethan, 1 mL) versetzt und für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: DCM:MeOH 9:1). Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Mittels Massenspektrometrie wurde im Rohprodukt das gewünschte Produkt nachgewiesen, welches gemäß NMR-Spektrum stark verunreinigt war. Nach Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1) konnte kein Produkt isoliert werden.

Variante 2 (über Phenylsulfonylethylester):

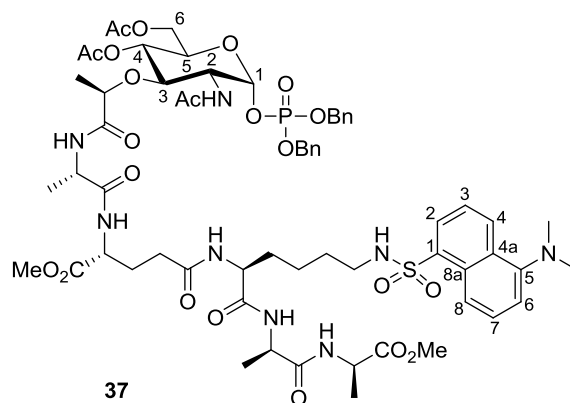
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-L-alanylphenylsulfonylethylester)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **86** (329 mg, 380 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (13 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit Diazabicycloundecen (60 μ L, 61 mg, 0.40 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bis zum vollständigen Umsatz (DC-Kontrolle DCM:MeOH 9:1) bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von verd. Salzsäure (1 N, 9.4 mL) beendet und mit Dichlormethan (20 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 x 20 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde nicht weiter gereinigt und direkt umgesetzt.

Ausbeute: 307 mg eines verunreinigten farblosen Öls (100 % = 269 mg).

DC: R_f -Wert (EtOAc) = 0.68. **MS** (ESI⁺): $m/z = 731.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₃₂H₄₁N₂O₁₄P (708.23), ber.: 731.2188 [M+Na]⁺, gef.: 731.2189.

Aufgrund der Verunreinigungen konnten die NMR-Spektren nicht ausgewertet werden, und es wurden keine weiteren Analysen gemessen. Es wurde in der Folgereaktion von 100 %igen Umsatz ausgegangen.

Synthese des geschützten, dansylierten 1-Dibenzylphosphoraminsäure-pentapeptids 37



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **139** (11 mg, 17 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (4.0 mg, 17 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (4.0 mg, 17 μ mol, 1.0 Äq.), L-Alanin-D-glutaminsäure-(1-methylester)-(N^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **P8** (13 mg, 17 μ mol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (3.0 μ L, 2.0 mg, 17 μ mol, 1.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) verwendet. Die Reaktionsmischung wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde eine weitere Portion 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (3.0 mg, 13 μ mol, 0.8 Äq.) und 1-Hydroxybenzotriazol (2.0 mg, 8.5 μ mol, 0.5 Äq.) zugegeben und für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2 \rightarrow 9:1). Es konnte nur wenig Produkt in einer Fraktion durch Massenspektrometrie nachgewiesen werden.

Ausbeute: 13 mg eines verunreinigten Produktes als grüngelbes Öl (100 % = 23 mg).

Variante 2:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-L-alanyl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **143** (149 mg, 0.210 mmol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (58 mg, 0.43 mmol, 2.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (81 mg, 0.42 mmol, 2.0 Äq.), D-Glutaminsäure-1-methylester-(N^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **129** (143 mg, 0.21 mmol, 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (0.12 mL, 88 mg, 0.68 mmol, 3.2 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (10 mL) und abs. Dichlormethan (10 mL) verwendet. Die Reaktionsmischung wurde für 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 97:3).

Ausbeute: 117 mg (85.0 μmol , 41 %) eines gelbgrünen Feststoffes.

Variante 3:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV3** durchgeführt. Es wurden Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-L-alanyl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **143** (17 mg, 24 μmol , 1.0 Äq.), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinphosphonium-hexafluorophosphat (13 mg, 24 μmol , 1.0 Äq.), D-Glutaminsäure-1-methylester-(*N*^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **129** (16 mg, 24 μmol , 1.0 Äq.) und Diisopropylethylamin (8.0 μL , 6.0 mg, 48 μmol , 2.0 Äq.) und abs. Dichlormethan (1 mL) verwendet. Die Reaktionsmischung wurde für 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels zweifacher Säulenchromatographie (DCM:MeOH 96:4 \rightarrow 9:1 und DCM \rightarrow DCM:MeOH 95:5).

Ausbeute: 10 mg (7.0 μmol , 29 %) eines gelbgrünen Feststoffes.

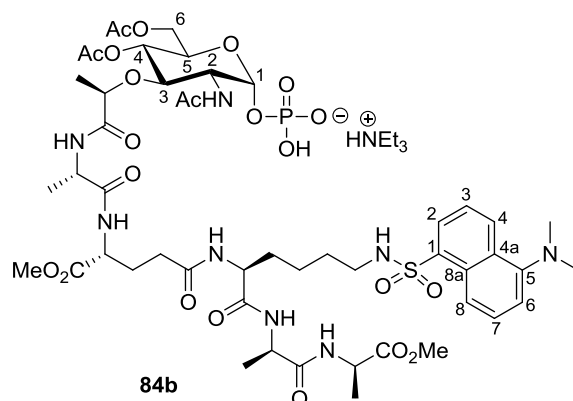
Variante 4:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-propion-2-yl-L-alanyl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **143** (14 mg, 20 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (1 mL) gelöst. Anschließend wurden D-Glutaminsäure-1-methylester-(*N*^c-dansyl)-L-lysin-D-alanin-D-alaninmethylester **129** (15 mg, 23 μmol , 1.1 Äq.), *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (11 mg, 30 μmol , 1.5 Äq.) und Diisopropylethylamin (30 μL , 23 mg, 0.17 mmol, 8.8 Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 25 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde im Vakuum konzentriert und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5 mL) gewaschen, die wässrige Phase mit Dichlormethan (2 x 5 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 96:4).

Ausbeute: 20 mg (15 μmol , 73 %) eines gelbgrünen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.29. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.50 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.10 (dd, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1H, Dansyl-H-4), 7.71 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH), 7.51-7.40 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7, NH), 7.31-7.20 (m, 11H, Bn-CH, Ala-NH), 7.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 7.11-7.05 (m, 1H, Glu-NH), 6.88 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, Acetyl-NH), 6.84-6.76 (m, 1H, NH), 5.86 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, Lys- N^{H}), 5.62 (dd, $J_{\text{HP}} = 5.7$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, Glc-H-1), 5.10-4.94 (m, 5H, Bn- CH_2 , Glc-H-3), 4.55-4.44 (m, 4H, Glc-H-2, Lys-H-2, 2 x Ala-H-2), 4.32-4.25 (m, 1H, Ala-H-2), 4.15-4.10 (m, 2H, Glu-H-2, Glc-H-6_a), 3.93-3.86 (m, 3H, Propionyl-CH, Glc-H-5, Glc-H-6_b), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.70-3.65 (m, 1H, Glc-H-4), 3.64 (s, 3H, OCH_3), 2.86 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.84-2.78 (m, 2H, Lys-H-6), 2.52-2.43 (m, 1H, Glu-H-4_a), 2.32-2.14 (m, 2H, Glu-H-3_a, Glu-H-4_b), 2.07 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 2.00 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.89 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 1.74-1.69 (m, 1H, Glu-H-3_b), 1.52 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.42-1.23 (m, 6H, Lys-H-3, Lys-H-4, Lys-H-5), 1.41 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.32 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.25 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 175.31 (C=O), 173.30 (C=O), 172.99 (C=O), 172.24 (C=O), 172.09 (C=O), 171.79 (C=O), 171.70 (C=O), 171.20 (C=O), 170.42 (C=O), 169.39 (C=O), 152.13 (Dansyl-C-5), 135.24 (d, $J_{\text{CP}} = 7.3$ Hz, Bn-C), 135.18, (d, $J_{\text{CP}} = 7.3$ Hz, Bn-C), 134.20 (Dansyl-C-1), 130.59 (Dansyl-C-2), 129.82 (Dansyl-C-4), 129.76 (Dansyl-C-8_a), 129.35 (Bn-CH), 128.61 (Bn-CH), 128.51 (Bn-CH), 128.48 (Bn-CH), 128.08 (Dansyl-C-7), 127.69 (Bn-CH), 127.90 (Bn-CH), 127.82 (Dansyl-C-4_a), 123.20 (Dansyl-C-3), 118.05 (Dansyl-C-8), 115.19 (Dansyl-C-6), 96.61 (d, $J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, Glc-C-1), 78.85 (Propionyl-CH), 78.79 (Glc-C-4), 70.03 (Glc-C-3), 69.84 (d, $J_{\text{CP}} = 5.9$ Hz, Bn- CH_2), 69.75 (d, $J_{\text{CP}} = 5.9$ Hz, Bn- CH_2), 68.51 (Glc-C-5), 61.34 (Glc-C-6), 55.09 (Lys-C-2), 52.88 (d, $J_{\text{CP}} = 9.7$ Hz, Glc-C-2), 52.67 (OCH_3), 52.24 (OCH_3), 51.58 (Glu-C-2), 49.87 (Ala-C-2), 49.51 (Ala-C-2), 47.98 (Ala-C-2), 45.40 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 41.40 (Lys-C-6), 30.37 (Glu-C-4), 29.75 (Lys-C-3), 28.31 (Glu-C-3), 27.88 (Lys-C-5), 23.07 (*N*-Acetyl- CH_3), 21.43 (Lys-C-4), 20.99 (*O*-Acetyl- CH_3), 20.71 (*O*-Acetyl- CH_3), 19.15 (Ala-C-3), 18.35 (Ala-C-3), 17.27 (Propionyl- CH_3), 16.97 (Ala-C-3). **$^{31}\text{P-NMR}$** (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -1.33. **MS** (ESI⁺): $m/z = 1391.6$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{63}\text{H}_{85}\text{N}_8\text{O}_{22}\text{PS}$ (1369.43), ber.: 1391.5129 [M+Na]⁺, gef.: 1391.5127. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 2958, 2928, 2858, 1745, 1455, 1262, 1084, 1019, 794, 702. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 217 nm (4.51), 252 nm (3.93). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +21.5$ ($c = 1.1$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 66$ °C.

Synthese des geschützten, dansylierten 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptid-triethylammoniumsalzes **84b**



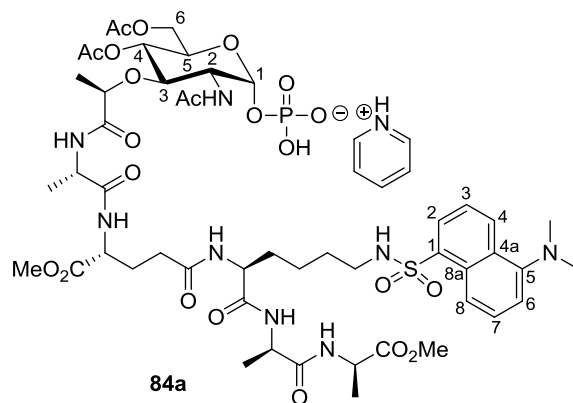
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Das geschützte, dansylierte 1-Dibenzylphosphomuraminsäure-pentapeptid **37** (20 mg, 14 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Dioxan (1.8 mL) gelöst, bei Raumtemperatur mit konz. Essigsäure (0.2 mL) und Pd/C (10 %, 26 mg, 24 μmol , 1.7 Äq.) versetzt und für 18.5 h bei Raumtemperatur unter H_2 -Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde abs. Triethylamin (0.48 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 5 min gerührt. Der Katalysator wurde mittels Zentrifugation entfernt, der Überstand wurde mit Wasser versetzt und gefriergetrocknet. Das Produkt wurde mittels Dialyse gereinigt, um überschüssiges Triethylammoniumacetat zu entfernen. Für die Aufreinigung mittels Dialyse wurde das Dialysiersystem *Spectra/Por Float-A-Lyzer G2* verwendet. Die Dialysemembranen haben ein Ausschlusskriterium einer Molmasse kleiner 500 g/mol und ein Fassungsvermögen von 5 mL. Die Membranen wurden vor der Benutzung dreimal mit demineralisiertem Wasser gewaschen und anschließend für mindestens 1 h in demineralisiertem Wasser eingeweicht. Die Substanz wurden in demineralisiertem Wasser (4 mL) gelöst und anschließend in demineralisiertem Wasser (3 x 2 L) über 4 d dialysiert.

Ausbeute: 13 mg (10 μmol , 74 %) als grünelbes Öl.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.29. **$^1\text{H-NMR}$** (600 MHz, D_2O): δ [ppm] = 8.51 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.31 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.24 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, Dansyl-H-4), 7.72-7.67 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.40 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 5.44 (dd, $J_{\text{HP}} = 6.9$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1H, Glc-H-1), 5.06-5.03 (m, 1H, Glc-H-3), 4.43-4.35 (m, 4H, Glc-H-6_a, Lys-H-2, Ala-H-2, Glu-H-2), 4.31-4.27 (m, 2H, 2 x Ala-H-2), 4.23-4.18 (m, 2H, Propionyl-CH, Glc-H-6_b), 4.05-4.02 (m, 1H, Glc-H-4), 3.96-3.94 (m, 1H, Glc-H-2), 3.79-3.77 (m, 1H, Glc-H-5), 3.75 (s, 6H, 2 x OCH_3), 3.23 (q,

$J = 7.3$ Hz, 6H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3^+$, 2.93-2.90 (m, 2H, Lys-H-6), 2.88 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.36-2.30 (m, 1H, Glu-H-4_a), 2.22-2.16 (m, 2H, Glu-H-3_a, Glu-H-4_b), 2.15 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 2.14 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 2.02 (s, 3H, *O*-Acetyl- CH_3), 2.00-1.95 (m, 1H, Glu-H-3_b), 1.50-1.41 (m, 2H, Lys-H-3), 1.45 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.42 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.37 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.33-1.30 (m, 2H, Lys-H-4), 1.32 (t, $J = 7.3$ Hz, 9H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3^+$), 1.30 (d, $J = 9.3$ Hz, 3H, Propionyl- CH_3) 1.22-1.14 (m, 1H, Lys-H-5_a), 1.14-1.05 (m, 1H, Lys-H-5_b). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): δ [ppm] = 177.62 (C=O), 177.34 (C=O), 177.29 (C=O), 177.23 (C=O), 177.04 (C=O), 176.60 (C=O), 176.45 (C=O), 176.35 (C=O), 175.79 (C=O), 175.67 (C=O), 152.42 (Dansyl-C-5), 136.74 (Dansyl-C-1), 132.67 (Dansyl-C-2), 132.11 (Dansyl-C-4), 131.58 (Dansyl-C-8a), 131.52 (Dansyl-C-4a), 131.28 (Dansyl-C-7), 126.56 (Dansyl-C-3), 121.66 (Dansyl-C-8), 118.52 (Dansyl-C-6), 95.96 (d, $J_{\text{CP}} = 6.3$ Hz, Glc-C-1), 80.74 (Propionyl-CH), 80.26 (Glc-C-4), 71.63 (Glc-C-3), 64.70 (Glc-C-6), 61.34 (Glc-C-5), 56.60 (Lys-C-2), 56.28 (d, $J_{\text{CP}} = 9.3$ Hz, Glc-C-2), 55.55 (OCH_3), 55.44 (OCH_3), 54.49 (Glu-C-2), 52.27 (Ala-C-2), 51.96 (Ala-C-2), 51.22 (Ala-C-2), 49.32 ($\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3^+$), 47.57 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 44.80 (Lys-C-6), 33.76 (Glu-C-4), 32.60 (Lys-C-3), 30.52 (Glu-C-3), 28.99 (Lys-C-5), 24.66 (*N*-Acetyl- CH_3), 24.48 (Lys-C-4), 22.99 (*O*-Acetyl- CH_3), 22.74 (*O*-Acetyl- CH_3), 21.10 (Ala-C-3), 19.23 (Ala-C-3), 19.07 (Propionyl- CH_3), 18.55 (Ala-C-3), 10.84 ($\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3^+$). $^{31}\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.69. **MS** (ESI): $m/z = 1187.4$ [M-H]⁻. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{49}\text{H}_{73}\text{N}_8\text{O}_{22}\text{PS}$ (1188.42), ber.: 1187.4225 [M-H]⁻, gef.: 1187.4222.

Synthese des geschützten, dansylierten 1-Phospho-muraminsäure-pentapeptid-pyridiniumsalzes 84a



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Das geschützte, dansylierte 1-Dibenzylphosphomuraminsäure-pentapeptid **37** (108 mg, 80.0 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Dioxan (10 mL) gelöst, bei

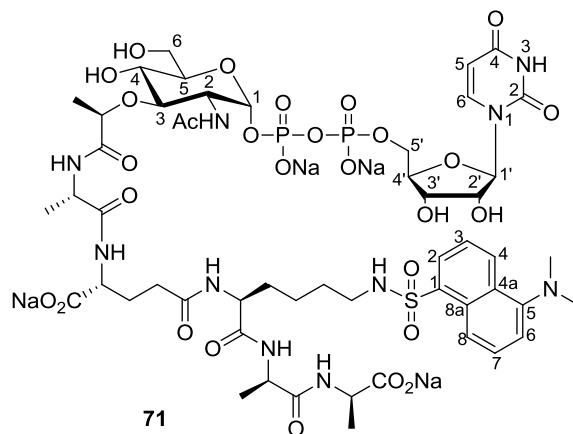
Raumtemperatur mit konz. Essigsäure (1 mL) und Pd/C (10 %, 137 mg, 130 μ mol, 1.6 Äq.) versetzt und für 22 h unter H₂-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde abs. Pyridin (3 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 5 min gerührt. Der Katalysator wurde durch Zentrifugieren entfernt, der Überstand wurde mit Wasser versetzt und gefriergetrocknet. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 108 mg eines leicht verunreinigtes grünelben Öls (100 % = 96 mg).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.29. **¹H-NMR** (300 MHz, D₂O): δ [ppm] = 8.66-8.58 (m, 2H, Pyr-H-2, Pyr-H-6), 8.41 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.8$ Hz, 1H, Pyr-H-4), 8.32 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.23 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.10 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, Dansyl-H-4), 7.88 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.8$ Hz, 2H, Pyr-H-3, Pyr-H-5), 7.62-7.50 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.36 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 5.28 (dd, $J_{HP} = 6.7$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1H, Glc-H-1), 4.91-4.81 (m, 1H, Glc-H-3), 4.29-4.05 (m, 6H, Glc-H-4, Glc-H-6, Lys-H-2, Ala-H-2, Ala-H-2), 4.05-3.96 (m, 2H, Ala-H-2, Glc-H-2), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.62-3.49 (m, 3H, Glc-H-5, Propionyl-CH, Glu-H-2), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 2.82 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.78-2.71 (m, 2H, Lys-H-6), 2.22-2.11 (m, 1H, Glu-H-4_a), 2.05-1.96 (m, 2H, Glu-H-3_a, Glu-H-4_b), 1.90 (s, 9H, *N*-Acetyl-CH₃, 2 x *O*-Acetyl-CH₃), 1.96-1.84 (m, 1H, Glu-H-3_b), 1.29-1.12 (m, 2H, Lys-H-3), 1.29 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.28 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.20 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.22-1.12 (m, 2H, Lys-H-4), 1.13 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, Propionyl-CH₃) 1.04-0.86 (m, 2H, Lys-H-5). **¹³C-NMR** (75 MHz, D₂O): δ [ppm] = 177.32 (C=O), 177.05 (C=O), 176.98 (C=O), 176.93 (C=O), 176.69 (C=O), 176.38 (C=O), 176.09 (C=O), 176.04 (C=O), 175.57 (C=O), 175.25 (C=O), 150.63 (Dansyl-C-5), 149.18 (Pyr-H-4), 144.00 (Pyr-H-2, Pyr-H-6), 137.38 (Dansyl-C-1), 131.90 (Dansyl-C-2), 131.54 (Dansyl-C-4), 131.47 (Dansyl-C-8a), 130.95 (Dansyl-C-4a), 130.77 (Dansyl-C-7), 129.82 (Pyr-H-3, Pyr-H-5), 127.02 (Dansyl-C-3), 123.31 (Dansyl-C-8), 119.10 (Dansyl-C-6), 95.18 (d, $J_{CP} = 6.1$ Hz, Glc-C-1), 80.76 (Propionyl-C-2), 80.18 (Glc-C-4), 71.83 (Glc-C-3), 64.72 (Glc-C-6), 63.10 (Glc-C-5), 56.66 (Lys-C-2), 56.23 (d, $J_{CP} = 9.1$ Hz, Glc-C-2), 55.55 (OCH₃), 55.45 (OCH₃), 54.56 (Glu-C-2), 52.22 (Ala-C-2), 51.94 (Ala-C-2), 51.23 (Ala-C-2), 48.00 (N(CH₃)₂), 44.97 (Lys-C-6), 33.85 (Glu-C-4), 32.84 (Lys-C-3), 30.90 (Glu-C-3), 29.15 (Lys-C-5), 24.68 (*N*-Acetyl-CH₃), 23.52 (Lys-C-4), 23.11 (*O*-Acetyl-CH₃), 22.86 (*O*-Acetyl-CH₃), 21.26 (Ala-C-3), 19.46 (Ala-C-3), 19.36 (Propionyl-CH₃), 18.77 (Ala-C-3). **³¹P-NMR**

(121 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -1.82. **MS** (ESI): m/z = 1187.4 [M-H]⁻. **HRMS** (ESI): C₄₉H₇₃N₈O₂₂PS (1188.42), ber.: 1187.4225 [M-H]⁻, gef.: 1187.4227.

Synthese des dansylierten Park-Nucleotids **71** als Tetranatriumsalz



Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Geschütztes, dansyliertes 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptid **84b** (13 mg, 10 μ mol, 1.0 \ddot{A} q.) wurde in abs. Dimethylformamid (1 mL) gelöst und mit Molekularsieb (3 \AA) 1 h bei Raumtemperatur gerührt. 5-(Methylsulfonyl)-*cycloSal*-2',3'-*O*-diacetyluridin-monophosphat **85** (14 mg, 25 μ mol, 2.5 \ddot{A} q.) wurde in abs. Dimethylformamid (1 mL) gelöst und die Lösung über 10 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Molekularsieb wurde über Celite[®] abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in bidest. Wasser (5 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (5 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde gefriergetrocknet, das Rohprodukt in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1, 6.6 mL) gelöst und für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Methanol wurde unter vermindertem Druck entfernt und die wässrige Phase gefriergetrocknet. Im Rohprodukt konnte neben Zersetzungsprodukten eine kleine Menge Diphosphat mittels ³¹P-NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden. Mittels RP-Säulenchromatographie (Wasser) konnte kein Produkt isoliert werden.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Das geschützte, dansylierte 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptid **84a**

(4.6 mg, 3.6 μmol , 1.0 Äq.) und das Uridin-5'-monophosphormorpholidat-4-morpholin-*N-N'*-dicyclohexylcarboxamidin-Salz **29** (5.7 mg, 5.3 μmol , 1.5 Äq.) wurden jeweils mit abs. Pyridin (3 x 1 mL) coevaporiert, anschließend zusammen gegeben und in abs. Pyridin (1 mL) gelöst. 1*H*-Tetrazol (0.45 M in MeCN, 23 μL , 10 μmol , 2.8 Äq.) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (0.5 mL) beendet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1, 2 mL) gelöst und 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Methanol wurde unter verminderten Druck entfernt und die wässrige Phase gefriergetrocknet. Das Produkt wurde mittels RP-Säulenchromatographie (H_2O) vorgereinigt.

HPLC (semipräparativ): Methode: Park-Nucleotid_semipräp1, Injektionskonzentration: 7.5 mg in 1 mL H_2O . Das Produkt wurde durch Ionenaustauschchromatographie (bidest. H_2O , Na^+ -Form des Dowex[®]-Harzes 50WX8 50-100) in das Tetranatriumsalz überführt und mittels Gefrier Trocknung vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: 1.7 mg (1.2 μmol , 33 %) eines gelblichen Feststoffes.

Variante 3:

Analog zu Variante 2 in einem größeren Ansatz: Es wurden 1-Phosphomuraminsäure-pentapeptid **84a** (228 mg, 180 μmol , 1.0 Äq.), Uridin-5'-monophosphormorpholidat-4-morpholin-*N-N'*-dicyclohexylcarboxamidin-Salz **29** (182 mg, 264 μmol , 1.5 Äq.) und 1*H*-Tetrazol (0.45 M in MeCN, 1.14 mL, 510 μmol , 2.8 Äq.) in abs. Pyridin (5 mL) eingesetzt und das Reaktionsgemisch für 3 d gerührt. Der Rückstand wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1, 55 mL) gelöst und 4 d bei Raumtemperatur gerührt.

HPLC (präparative Vortrennung): Methode: Park-Nucleotid_Präp1, Injektionskonzentration: 459 mg in 2 mL H_2O . **HPLC** (präparativ): Methode: Park-Nucleotid_Präp2, Injektionskonzentration: 146 mg in 2 mL H_2O). Das Produkt wurde durch Ionenaustauschchromatographie (bidest. H_2O , Na^+ -Form des Dowex[®]-Harzes 50WX8 50-100) in das Tetranatriumsalz überführt und mittels Gefrier Trocknung vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: 65 mg (46 μmol , 25 %) eines gelblichen Feststoffes.

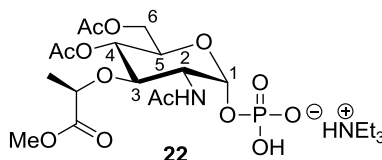
HPLC (analytisch): $t_R = 16.1$ min (Methode: Park-Nucleotid_Analyt, Injektionsvolumen: 10 μL ($c \sim 1$ mg/mL in H_2O)). **HPLC** (semipräparativ): $t_R = 17.5$ min (Methode: Park-Nucleotid_semipräp1). $t_R = 9.0$ min (Methode: Park-Nucleotid_Präp1). **HPLC** (präparativ): $t_R = 8.8$ min (Methode: Park-Nucleotid_Präp2). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, D_2O): δ [ppm] = 8.48 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Dansyl-H-2), 8.27 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Dansyl-H-8), 8.23 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, Dansyl-H-4), 7.90 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, Uracil-H-6), 7.70-7.65 (m, 2H, Dansyl-H-3, Dansyl-H-7), 7.38 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, Dansyl-H-6), 5.95-5.94 (m, 1H, Ribose-H-1'), 5.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, Uracil-H-5), 5.46 (dd, $J_{\text{HP}} = 7.2$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, Glc-H-1), 4.34-4.32 (m, 2H, Ribose-H-2', Ribose-H-3'), 4.29-4.06 (m, 8H, Ribose-H-4', Ribose-H-5', Glc-H-2, Glc-H-4, 2 x Ala-H-2, Glu-H-2), 3.96-3.93 (m, 1H, Glc-H-3), 3.88-3.55 (m, 5H, Glc-H-5, Glc-H-6, Ala-H-2, Lys-H-2, Propionyl-CH), 2.90 (dd, $J = 6.5$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 2H, Lys-H-6), 2.85 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.27-2.21 (m, 2H, Glu-H-4), 2.14-2.05 (m, 1H, Glu-H-3_a), 1.99 (s, 3H, *N*-Acetyl- CH_3), 1.88-1.81 (m, 1H, Glu-H-3_b), 1.41 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.38 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.42-1.39 (m, 2H, Lys-H-4), 1.30 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H, Propionyl- CH_3 , Ala-H-3), 1.26-1.15 (m, 2H, Lys-H-5), 1.13-1.03 (m, 1H, Lys-H-3_a), 1.03-0.94 (m, 1H, Lys-H-3_b). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, D_2O): δ [ppm] = 179.77 (C=O), 177.62 (C=O), 175.79 (C=O), 175.42 (C=O), 174.18 (C=O), 173.97 (C=O), 173.47 (C=O), 152.18 (Uracil-C-4), 150.90 (Uracil-C-2, Dansyl-C-5), 141.57 (Uracil-C-6), 134.05 (Dansyl-C-1), 130.21 (Dansyl-C-2), 129.76 (Dansyl-C-4), 128.98 (Dansyl-C-8_a), 128.96 (Dansyl-C-4_a), 128.77 (Dansyl-C-7), 124.05 (Dansyl-C-3), 119.07 (Dansyl-C-8), 115.99 (Dansyl-C-6), 102.73 (Uracil-C-5), 94.68 (d, $J_{\text{CP}} = 5.5$ Hz, Glc-C-1), 88.57 (Ribose-C-1'), 83.22 (d, $J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, Ribose-C-4'), 79.93 (Propionyl-CH), 77.99 (Glc-C-4), 73.82 (Ribose-C-2'), 73.02 (Glc-C-3), 69.74 (Ribose-C-3'), 68.11 (Glc-C-5), 65.06 (d, $J_{\text{CP}} = 4.2$ Hz, Ribose-C-5'), 60.44 (Glc-C-6), 54.35 (Ala-C-2), 54.19 (Ala-C-2), 53.48 (d, $J_{\text{CP}} = 8.2$ Hz, Glc-C-2), 51.04 (Ala-C-2), 49.78 (Glu-C-2), 52.04 (Lys-C-2), 45.04 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 42.22 (Lys-C-6), 31.88 (Glu-C-4), 30.27 (Lys-C-4), 28.22 (Glu-C-3), 27.80 (Lys-C-5), 22.21 (*N*-Acetyl- CH_3), 21.98 (Lys-C-3), 18.75 (Propionyl- CH_3), 17.55 (Ala-C-3), 16.95 (Ala-C-3), 16.59 (Ala-C-3). **$^{31}\text{P-NMR}$** (121 MHz, D_2O): δ [ppm] = -11.11 (d, $J = 20.6$ Hz), -12.92 (d, $J = 20.6$ Hz). **MS** (ESI): $m/z = 1381.4$ $[\text{M}-4\text{Na}+3\text{H}]^-$. **HRMS** (ESI): $\text{C}_{52}\text{H}_{72}\text{N}_{10}\text{Na}_4\text{O}_{28}\text{P}_2\text{S}$ (1471.15), ber.: 1381.3954 $[\text{M}-4\text{Na}+3\text{H}]^-$, gef.: 1381.3944. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3294, 2942, 1741, 1695,

1633, 1541, 1455, 1145, 791, 628. UV (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 248 nm (4.22), 328 nm (3.58).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +22.4$ (c = 1.6, MeOH).

7.2.7 Synthese von UDP-*N*-Acetylmuraminsäure 8

Synthese von 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat 22



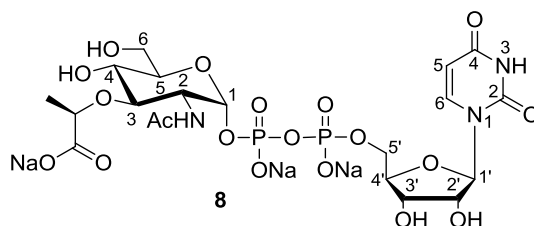
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **21** (342 mg, 0.530 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dioxan (7 mL) gelöst, mit Triethylamin (150 μ L, 110 mg, 1.10 mmol, 2.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 56 mg, 0.60 mmol, 1.1 Äq.) versetzt und für 17 h bei Raumtemperatur unter H₂-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde weiteres Pd/C (10 %, 56 mg, 0.60 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und für weitere 5 h gerührt. Der Katalysator wurde über Celite[®] abfiltriert und die Celite[®] mit Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (10 mL) aufgenommen und mit Wasser extrahiert (5 x 10 mL). Die vereinigten wässrigen Phasen wurden gefriergetrocknet und das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 294 mg (0.513 mmol, 98 %) eines farblosen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.47 (dd, $J_{\text{HP}} = 7.3$ Hz, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-1), 5.08 (dd, $J = 10.1$ Hz, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-3), 4.25-4.22 (m, 2H, H-5, H-6_a), 4.18-4.09 (m, 1H, H-4), 4.01-3.96 (m, 2H, H-2, H-6_b), 3.91-3.84 (m, 1H, Propionyl-CH), 3.60 (s, 3H, OCH₃), 3.05 (q, $J = 7.3$ Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₃), 2.04 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 1.98 (s, 3H, *O*-Acetyl-CH₃), 1.88 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 1.17-1.11 (m, 12H, N(CH₂CH₃)₃), Propionyl-CH₃). ¹³C-NMR (126 MHz, D₂O): δ [ppm] = 175.07 (*N*-Acetyl-C=O), 174.31 (Propionyl-C=O), 173.94 (*O*-Acetyl-C=O), 173.00 (*O*-Acetyl-C=O), 95.35 (d, $J_{\text{CP}} = 5.7$ Hz, C-1), 77.88 (Propionyl-CH), 76.91 (C-4), 69.82 (C-3), 68.26 (C-5), 62.08 (C-6), 53.14 (d, $J_{\text{CP}} = 8.0$ Hz, C-2), 52.74 (OCH₃), 46.75 (N(CH₂CH₃)₃), 22.15 (*N*-Acetyl-CH₃), 20.41 (*O*-Acetyl-CH₃), 20.21 (*O*-Acetyl-CH₃), 18.42 (Propionyl-CH₃),

8.29 $(\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3)$. $^{31}\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -1.00. **MS** (ESI): m/z = 470.1 $[\text{M-NEt}_3]^-$ **HRMS** (ESI): $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{P}$ (572.54), ber.: 470.1069 $[\text{M-NEt}_3]^-$, gef.: 470.1059. **IR** (ATR): ν (cm^{-1}) = 3298, 2982, 1734, 1660, 1548, 1455, 1370, 1224, 1111, 1033, 918, 833, 725. **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +55.6$ ($c = 1.2$, H_2O). **Schmelzpunkt**: 73 °C.

Synthese von UDP-*N*-Acetylmuraminsäure **8** als Trinatriumsalz



Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **22** (80 mg, 0.14 mmol, 2.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (8 mL) gelöst und mit Molekularsieb (4 Å, 2 g) 1 h bei Raumtemperatur gerührt. 5-(Methylsulfonyl)-*cycloSal*-2',3'-*O*-diacetyluridin-monophosphat **85** (41 mg, 70 μmol , 1.0 Äq.), gelöst in abs. Dimethylformamid (1.8 mL), wurde über 10 min zugetropft und das Reaktionsgemisch für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Das Molekularsieb wurde über Celite[®] abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in bidest. Wasser (50 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (50 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde gefriergetrocknet, das Rohprodukt in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1, 22 mL) gelöst und für 1 d bei Raumtemperatur gerührt. Methanol wurde unter vermindertem Druck entfernt und die wässrige Phase gefriergetrocknet. Die Vorreinigung erfolgte mittels RP-Säulenchromatographie (Wasser). Die Reinigung erfolgte mittels RP-HPLC.

HPLC (präparativ): Methode: UDP-Mur-NAc_Präp, Injektionskonzentration: 17.4 mg in 0.4 mL H_2O . Das Produkt wurde durch Ionenaustauschchromatographie (bidest. H_2O , Na^+ -Form des Dowex[®]-Harzes 50WX8 50-100) in das Trinatriumsalz überführt und mittels Gefrier Trocknung vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: 8.5 mg (11 μmol , 16 %) eines weißen Feststoffes.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 4,6-*O*-Diacetyl-3-*O*-((2*R*)-methylpropion-2-yl)-*N*-acetyl- α -D-glucosamin-1-phosphat **22** (56 mg, 80 μ mol, 1.0 Äq.) und Uridin-5'-monophosphomopholidat-4-morpholin-*N,N'*-dicyclohexylcarbonyldiamidin-Salz **29** (81 mg, 0.12 mmol, 1.5 Äq.) wurden jeweils mit abs. Pyridin (3 x 3 mL) coevaporiert, anschließend zusammen gegeben und in abs. Pyridin (5 mL) gelöst. 1*H*-Tetrazol (0.45 M in MeCN, 0.50 mL, 0.23 mmol, 2.8 Äq.) wurde zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (2 mL) beendet, und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1, 15 mL) gelöst und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Methanol wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt gefriergetrocknet. Das Produkt wurde mittels RP-Säulenchromatographie (H₂O) vorgereinigt und mittels präparativer HPLC gereinigt

HPLC (präparativ): Methode: UDP-Mur-*N*Ac_Präp, Injektions-konzentration: 52 mg in 1 mL H₂O. Das Produkt wurde durch Ionenaustauschchromatographie (bidest. H₂O, Na⁺-Form des Dowex[®]-Harzes 50WX8 50-100) in das Trinatriumsalz überführt und mittels Gefriertrocknung vom Lösungsmittel befreit.

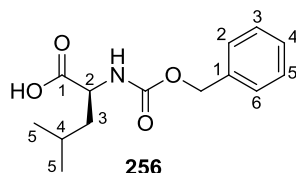
Ausbeute: 35 mg (47 μ mol, 59 %) eines weißen Feststoffes.

HPLC (analytisch): $t_R = 3.0$ min (Methode UDP-Mur*N*Ac_Analyt, Injektionsvolumen: 10 μ L (c ~ 1 mg/mL in H₂O)). **HPLC** (präparativ): $t_R = 18.7$ min (Methode: UDP-Mur-*N*Ac_Präp). **¹H-NMR** (500 MHz, D₂O): δ [ppm] = 7.89 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Uracil-H-6), 5.99 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, Ribose-H-1'), 5.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Uracil-H-5), 5.62 (dd, $J_{HP} = 7.3$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1H, Glc-H-1), 4.36-4.33 (m, 2H, Ribose-H-2', Ribose-H-3'), 4.28-4.25 (m, 2H, Propionyl-CH, Ribose-H-4'), 4.28-4.14 (m, 2H, Ribose-H-5'), 3.92-3.88 (m, 2H, Glc-H-3, Glc-H-6_a), 3.87-3.84 (m, 1H, Glc-H-2), 3.82-3.74 (m, 2H, Glc-H-4, Glc-H-6_b), 3.62-3.58 (m, 1H, Glc-H-5), 2.05 (s, 3H, *N*-Acetyl-CH₃), 1.33 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Propionyl-CH₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, D₂O): δ [ppm] = 181.53 (Propionyl-C=O), 174.47 (*N*-Acetyl-C=O), 169.62 (Uracil-C-4), 154.36 (Uracil-C-2), 141.28 (Uracil-C-6), 102.94 (Uracil-C-5), 93.96 (d, $J_{CP} = 6.3$ Hz, Glc-C-1), 88.48 (Ribose-C-1'), 83.14 (d, $J_{CP} = 9.0$ Hz, Ribose-C-4'), 77.71 (Propionyl-CH), 77.25

(Glc-C-4), 73.80 (Ribose-C-2'), 73.08 (Glc-C-3), 69.79 (Ribose-C-3'), 69.20 (Glc-C-5), 65.07 (d, $J_{CP} = 5.5$ Hz, Ribose-C-5'), 60.32 (Glc-C-6), 53.17 (d, $J_{CP} = 8.8$ Hz, Glc-C-2), 22.21 (*N*-Acetyl-CH₃), 18.84 (Propionyl-CH₃), **³¹P-NMR** (122 MHz, D₂O): δ [ppm] = -11.21 (d, $J = 20.0$ Hz), -12.85 (d, $J = 20.0$ Hz). **MS** (ESI): $m/z = 746.0$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₀H₂₈N₃Na₃O₁₉P₂ (745.0), ber.: 746.0564 [M+H]⁺, gef.: 746.0572. **IR** (ATR) ν [cm⁻¹] = 3313, 1668, 1632, 1246, 1115, 1089, 1033, 921. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 261 nm (3.76). **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +40.2$ (c = 1.0, H₂O). **Schmelzpunkt**: T_m = 244 °C.

7.2.8 Synthese der geschützten Aminosäuren für die Harnstoffpeptide

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-leucin **256**



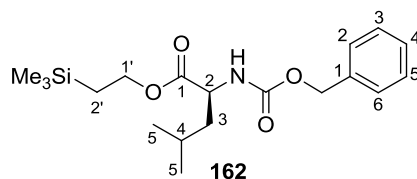
Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden L-Leucin **161** (5.00 g, 38.2 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (12.0 g, 114 mmol, 3.0 Äq.) und eine Lösung von Benzylchlorformiat (5.9 mL, 7.0 g, 41 mmol, 1.1 Äq.) in Dioxan (34 mL) und Wasser (130 mL) verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei 0 °C und für 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 10.1 g (38.0 mmol, quant.) eines farblosen Öls.

DC: R_f-Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.30. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.77 (s_{br}, 1H, COOH), 7.33-7.30 (m, 5H, Cbz-CH), 5.26 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, NH), 5.10 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.39 (ddd, $J = 8.7$ Hz, $J = 8.0$ Hz, $J = 4.6$ Hz, 1H, H-2), 1.74-1.63 (m, 2H, H-4, H-3_a), 1.58-1.52 (m, 1H, H-3_b), 0.94 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-5), 0.93 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-5). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 177.82 (C-1), 156.14 (Cbz-C=O), 136.11

(Cbz-C-1), 128.49 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.17 (Cbz-C-4), 128.02 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 67.10 (Cbz-CH₂), 52.41 (C-2), 41.43 (C-3), 24.74 (C-4), 22.78 (C-5), 21.68 (C-5). **MS** (ESI): $m/z = 264.1$ [M-H]⁻. **HRMS** (ESI): C₁₄H₁₉NO₄ (265.31), ber.: 264.1241 [M-H]⁻, gef.: 264.1242. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3318, 2957, 1699, 1521, 1454, 1343, 1214, 1045, 908, 732, 695. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 205 nm (4.05), 258 nm (2.45). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -8.2$ (c = 1.0, CHCl₃).

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-leucintrimethylsilylethylester **162**



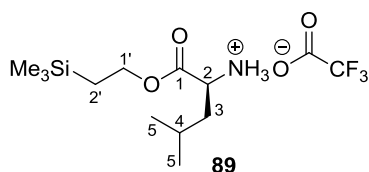
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Benzyloxycarbonyl-L-leucin **256** (10.0 g, 37.8 mmol, 1.0 Äq.), wurde in abs. Dichlormethan (385 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (9.21 g, 48.0 mmol, 1.3 Äq.), Dimethylaminopyridin (922 mg, 7.55 mmol, 0.2 Äq.) und 2-Trimethylsilylethanol (6.87 mL, 5.67 g, 48.0 mmol, 1.3 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde mit verd. Salzsäure (1 M, 3 x 600 mL), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 600 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x 600 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 95:5).

Ausbeute: 11.8 g (32.4 mmol, 86 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 7:3) = 0.70. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.38-7.28 (m, 5H, Cbz-CH), 5.18 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, NH), 5.09 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.34 (ddd, $J = 8.7$ Hz, $J = 5.1$ Hz, $J = 5.1$ Hz, 1H, H-2), 4.19 (dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 2H, H-1'), 1.74-1.44 (m, 3H, H-3, H-4), 0.98 (dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 2H, H-2'), 0.93 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, H-5), 0.91 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, H-5), 0.03 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 173.19 (C-1), 155.90 (Cbz-C=O), 136.27 (Cbz-C-1), 128.44 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.07, (Cbz-C-4), 128.01 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 66.86 (Cbz-CH₂), 63.62 (C-1'), 52.56 (C-2), 41.82 (C-3), 24.68 (C-4), 22.82 (C-5), 21.80 (C-5), 17.28

(C-2'), -1.57 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 388.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₉H₃₁NO₄Si (365.54), ber.: 388.1915 [M+Na]⁺, gef.: 388.1910. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3346, 2954, 1717, 1518, 1333, 1249, 1217, 1167, 1042, 835, 695. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 205 nm (4.16). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -9.2$ (c = 1.1, CHCl₃).

Synthese von L-Leucintrimethylsilylethylester-trifluoracetat **89**



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-L-leucintrimethylsilylethylester **162** (50 mg, 0.14 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10%, 20 mg, 19 μ mol, 0.13 Äq.) in abs. Methanol (40 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei Raumtemperatur unter H₂-Atmosphäre gerührt. Der Katalysator wurde mittels Zentrifugation entfernt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 16 mg (69 μ mol, 51 %) eines farblosen Öls.

Variante 2:

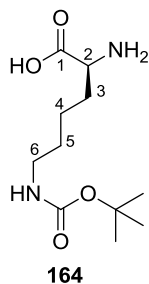
Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden *N*-Benzyloxycarbonyl-L-leucintrimethylsilylethylester **162** (366 mg, 1.00 mmol, 1.0 Äq.), Trifluoressigsäure (80 μ L, 0.12 g, 1.0 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 146 mg, 0.130 mmol, 0.1 Äq.) (Abweichung von der **AAV**) in abs. Methanol (40 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei Raumtemperatur unter H₂-Atmosphäre gerührt. Die Lösung wurde über Celite[®] abfiltriert, die Celite[®] mit Methanol gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 345 mg (1.00 mmol, quant.) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 9:1) = 0.76. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.29-4.23 (m, 2H, H-1'), 3.90 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-2), 1.87-1.73 (m, 3H, H-3, H-4), 1.05-0.99 (m, 2H, H-2'), 0.97 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, H-5), 0.95 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, H-5), 0.04 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.12 (C-1), 162.73-161.77 (m, CF₃COO⁻), 116.32-114.45 (m, C_FCOO⁻), 65.12 (C-1'), 51.54 (C-2), 39.61 (C-3),

24.29 (C-4), 22.09 (C-5), 21.74 (C-5), 17.19 (C-2'), -1.68 (Si(CH₃)₃). **¹⁹F-NMR** (282 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -75.98. **MS** (ESI⁺): m/z = 232.2 [M-TFA]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₂₆F₃NO₄Si (345.43), ber.: 232.1727 [M-TFA]⁺, gef.: 232.1724. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 1733, 1665, 1250, 1201, 1174, 1137, 1042, 930, 834. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25}$ = 3.6 (c = 1.0, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: T_m = 85°C.

Synthese von *N*^ε-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-lysin **164**



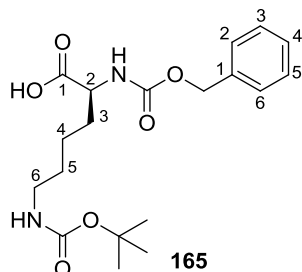
L-Lysin-hydrochlorid **113** (5.00 g, 27.3 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einer wässrigen Natriumcarbonat-Lösung (1 M, 54 mL, 54 mmol, 2.0 Äq.) gelöst, mit Kupfersulfat-pentahydrat (3.42 g, 13.5 mmol, 0.5 Äq.) und Wasser (27 mL) versetzt und für 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Natriumhydrogencarbonat (2.30 g, 27.5 mmol, 1.0 Äq.) und Di-*tert*-butyldicarbonat (7.82 g, 35.4 mmol, 1.3 Äq.), gelöst in Aceton (32 mL), wurden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend Methanol (10 mL) zugegeben und für weitere 14 h bei Raumtemperatur gerührt, um das vollständige Ausfallen des Kupferkomplexes zu gewährleisten. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Der Kupferkomplex wurde in Wasser (288 mL) suspendiert und mit 8-Hydroxychinolin (4.59 g, 31.2 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser (2 x 100 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurde mit Ethylacetat (3 x 200 mL) gewaschen und das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute: 6.29 g (25.6 mmol, 93 %) eines weißen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.68 (dd, J = 6.7 Hz, J = 5.6 Hz, 1H, H-2), 3.06 (dd, J = 6.9 Hz, J = 6.9 Hz, 2H, H-6), 1.89-1.77 (m, 2H, H-3), 1.53-1.47 (m, 2H, H-5), 1.41 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.44-1.32 (m, 2H, H-4). **¹³C-NMR** (126 MHz, D₂O): δ [ppm] = 175.27 (C-1), 158.40 (Boc-C=O), 80.97 (Boc-C), 54.86 (C-2), 39.69 (C-6), 30.40 (C-3), 28.69 (C-5), 27.75 (Boc-CH₃), 21.76 (C-4). **MS** (ESI⁺): m/z = 269.2 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺):

$C_{11}H_{22}N_2O_4$ (246.30), ber.: 269.1477 $[M+Na]^+$, gef.: 269.1472. **IR** (ATR): ν $[cm^{-1}] = 3376, 1687, 1586, 1532, 1514, 1170, 1143, 621$. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = -2.8$ ($c = 1.3, H_2O$). **Schmelzpunkt**: $T_m = 211$ °C.

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysin **165**

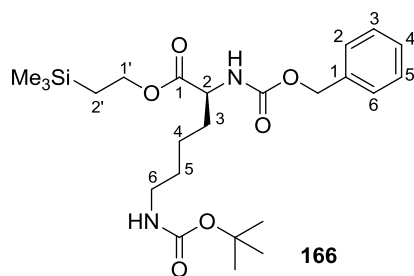


Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden *N*^ε-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-lysin **164** (100 mg, 0.406 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (130 mg, 1.22 mmol, 3.0 Äq.) und Benzylchlorformiat (64 μ L, 77 mg, 0.45 mmol, 1.1 Äq.) in Wasser (1.4 mL) und Dioxan (0.4 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 40 min bei 0 °C und für 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 140 mg (0.368 mmol, 90 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.42. **¹H-NMR** (300 MHz, $C_2D_2Cl_4$, 100 °C): δ [ppm] = 7.37-7.33 (m, 5H, Cbz-CH), 5.45 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, *N*^αH), 5.15 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.35 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 5.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H, H-2), 3.10 (dd, $J = 6.5$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 2H, H-6), 1.98-1.86 (m, 1H, H-3_a), 1.82-1.68 (m, 1H, H-3_b), 1.57-1.42 (m, 4H, H-4, H-5), 1.47 (s, 9H, Boc-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, $C_2D_2Cl_4$, 100 °C): δ [ppm] = 174.04 (C-1), 156.28 (Boc-C=O), 155.88 (Cbz-C=O), 136.15 (Cbz-C-1), 128.21 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 127.80 (Cbz-C-4), 127.58 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 79.41 (Boc-C), 66.87 (Cbz-CH₂), 53.69 (C-2), 40.31 (C-6), 31.72 (C-3), 29.28 (C-5), 28.21 (Boc-CH₃), 22.17 (C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 381.20$ $[M+H]^+$. **HRMS** (ESI⁺): $C_{19}H_{28}N_2O_6$ (380.44), ber.: 381.2020 $[M+H]^+$, gef.: 381.2016. **IR** (ATR): ν $[cm^{-1}] = 2933, 1689, 1518, 1366, 1247, 1162, 1042, 736, 696$. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 205 nm (4.07), 250 nm (3.05). **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = 12.6$ ($c = 1.0, CHCl_3$).

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysintrimethylsilylethylester **166**



Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysin **165** (50 mg, 0.13 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (1.4 mL) gelöst, mit Dicyclohexylcarbodiimid (41 mg, 0.20 mmol, 1.5 Äq.), Dimethylaminopyridin (13 mg, 0.11 mmol, 0.8 Äq.) und 2-Trimethylsilylethanol (29 μ L, 24 mg, 0.20 mmol, 1.5 Äq.) versetzt und bei Raumtemperatur für 20 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit verd. Salzsäure (1 M) auf pH 2 gebracht. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 10 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 3:1) nicht zufriedenstellend gereinigt werden und war noch stark mit Dicyclohexylharnstoff verunreinigt.

Ausbeute: 55 mg des stark verunreinigten Produktes (100 % = 63 mg).

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysin **165** (50 mg, 0.13 mmol, 1.0 Äq.), Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinphosphoniumhexafluorophosphat (136 mg, 0.262 mmol, 2.0 Äq.) und 2-Trimethylsilylethanol (28 μ L, 23 mg, 0.20 mmol, 1.5 Äq.) wurden in abs. Dichlormethan (0.7 mL) gelöst und bei Raumtemperatur für 23 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (10 mL) versetzt und mit H₂O (3 x 10 mL), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 10 mL) und Wasser (3 x 10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM).

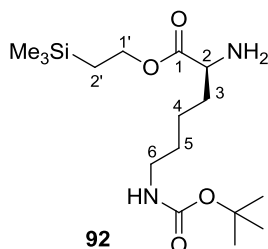
Ausbeute: 11 mg (23 μ mol, 18 %) eines farblosen Öls.

Variante 3:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysin **165** (667 mg, 1.75 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (673 mg, 3.51 mmol, 2.0 Äq.) und Dimethylaminopyridin (175 mg, 1.43 mmol, 0.8 Äq.) wurden in abs. Dichlormethan (8.9 mL) gelöst und mit 2-Trimethylsilylethanol (380 µL, 310 mg, 2.62 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 25 h bei Raumtemperatur gerührt und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 30 mL), ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x 30 mL) und Wasser (60 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:DCM 6:4 →DCM).

Ausbeute: 653 mg (1.36 mmol, 77 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 7:3) = 0.37. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 7.36-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 5.39-5.33 (m, 1H, *N*^αH), 5.10 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.61-4.52 (m, 1H, *N*^εH), 4.35-4.31 (m, 1H, H-2), 4.24-4.18 (m, 2H, H-1'), 3.10-3.07 (m, 2H, H-6), 1.92-1.77 (m, 1H, H-3_a), 1.73-1.63 (m, 1H, H-3_b), 1.52-1.32 (m, 4H, H-4, H-5), 1.42 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.03-0.97 (m, 2H, H-2'), 0.04 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 172.38 (C-1), 156.01 (Cbz-C=O), 155.86, (Boc-C=O), 136.46 (Cbz-C-1), 128.47 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.09 (Cbz-C-4), 128.05 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 79.15 (Boc-C), 66.96 (Cbz-CH₂), 63.78 (C-1'), 54.00 (C-2), 40.35 (C-6), 32.41 (C-3), 29.67 (C-5), 28.44 (Boc-CH₃), 22.42 (C-4), 17.48 (C-2'), -1.56 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): m/z = 503.3 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₄H₄₀N₂O₆Si (480.67), ber.: 503.2548 [M+Na]⁺, gef.: 503.2550. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3356, 2953, 1694, 1515, 1249, 1170, 1041, 836, 696. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 205 nm (4.18). **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = 2.0$ (c = 0.33, CHCl₃).

Synthese von *N*^ε-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-lysintrimethylsilylethylester **92**

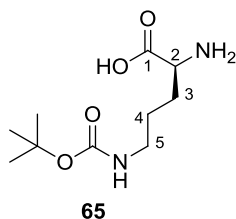
Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysintrimethylsilylethylester **166** (600 mg, 1.25 mmol, 1.0 Äq.)

und Pd/C (10 %, 190 mg, 0.179 mmol, 0.14 Äq.) in abs. Methanol (2 mL) eingesetzt und für 3 h bei Raumtemperatur unter H₂-Atmosphäre gerührt.

Ausbeute: 422 mg (1.22 mmol, 98 %) eines farblosen Öls.

DC: *R_f*-Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.80. **¹H-NMR** (300 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ [ppm] = 4.53-4.44 (m, 1H, N^εH), 4.26-4.20 (m, 2H, H-1'), 3.39-3.35 (m, 1H, H-2), 3.14-3.07 (m, 2H, H-6), 1.80-1.68 (m, 1H, H-3_a), 1.59-1.39 (m, 5H, H-3_b, H-4, H-5), 1.45 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.05-1.00 (m, 2H, H-2'), 0.08 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ [ppm] = 175.38 (C-1), 155.57 (Boc-C=O), 78.67 (Boc-C), 62.70 (C-1'), 54.33 (C-2), 40.48 (C-6), 34.25 (C-3), 29.64 (C-5), 28.23 (Boc-CH₃), 22.71 (C-4), 17.34 (C-2'), -1.77 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 347.2 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₆H₃₄N₂O₄Si (346.54), ber.: 347.2361 [M+H]⁺, gef.: 347.2364. **IR** (ATR): *ν* [cm⁻¹] = 3372, 2952, 2364, 1713, 1520, 1365, 1250, 1171, 838. **Drehwert:** [α]_D²⁵ = +5.5 (c = 0.58, CHCl₃).

Synthese von *N*^δ-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-ornithin **65**



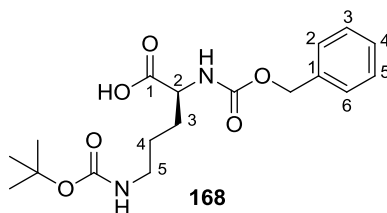
L-Ornithin-hydrochlorid **167** (5.00 g, 29.6 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einer wässrigen Natriumhydroxid-Lösung (2 M, 30 mL) gelöst, mit Kupferacetat (2.97 g, 14.9 mmol, 0.5 Äq.) und Wasser (15 mL) versetzt und für 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Di-*tert*-butyldicarbonat (8.54 g, 38.7 mmol, 1.3 Äq.), gelöst in Aceton (60 mL), wurde zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Aceton (30 mL) zugegeben und für weitere 20 h bei Raumtemperatur gerührt, um das vollständige Ausfallen des Kupferkomplexes zu gewährleisten. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit einer Aceton/Wasser-Mischung (2:1, 60 mL) sowie Wasser (2 x 150 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Der Kupferkomplex wurde in Aceton (30 mL) suspendiert und für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Wasser (30 mL) zugegeben und für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 8-Hydroxychinolin (4.59 g, 31.2 mmol, 1.1 Äq.), gelöst in Wasser (180 mL), versetzt und für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Der

ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser (2 x 30 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Ethylacetat (3 x 60 mL) gewaschen und das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute: 3.80 g (16.4 mmol, 55 %) eines weißen Feststoffes.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.71 (dd, $J = 6.2$ Hz, $J = 6.2$ Hz, 1H, H-2), 3.09 (dd, $J = 6.7$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-5), 1.90-1.77 (m, 2H, H-3), 1.61-1.47 (m, 2H, H-4), 1.40 (s, 9H, Boc-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, D₂O): δ [ppm] = 174.91 (C-1), 158.32 (Boc-C=O), 81.01 (Boc-C), 54.65 (C-2), 39.55 (C-5), 28.05 (C-3), 27.77 (Boc-CH₃), 24.98 (C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 231.1$ [M-H]⁻. **HRMS** (ESI⁺): C₁₀H₂₀N₂O₄ (232.28), ber.: 231.1348 [M-H]⁻, gef.: 231.1350. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3360, 2928, 1687, 1521, 1404, 1251, 1165, 1042, 655. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +2.7$ ($c = 1.1$, H₂O). **Schmelzpunkt:** $T_m = 215$ °C.

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^δ-*tert*-butyloxycarbonyl-L-ornithin **168**



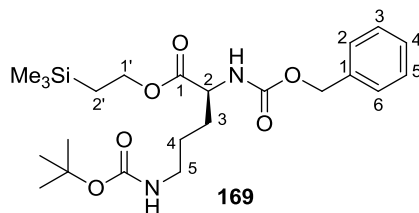
Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden *N*^ε-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-ornithin **65** (500 mg, 2.15 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (683 mg, 6.44 mmol, 3.0 Äq.) in Wasser (30 mL) und Dioxan (20 mL) sowie eine Lösung von Benzylchlorformiat (330 μ L, 394 mg, 2.31 mmol, 1.1 Äq.) in Dioxan (1.9 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei 0 °C und für 23 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 811 mg (2.15 mmol, quant.) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.22. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 7.37-7.31 (m, 5H, Cbz-CH), 5.71-5.57 (m, 1H, N^δH), 5.10 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.81-4.67 (m, 1H, N^αH), 4.47-4.34 (m, 1H, H-2), 3.22-3.01 (m, 2H, H-5), 1.98-1.78 (m, 1H, H-3_a), 1.76-1.62 (m, 1H, H-3_b), 1.60-1.50 (m, 2H, H-4), 1.50 (s, 9H, Boc-CH₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 175.13 (C-1), 156.27 (Boc-C=O), 153.35 (Cbz-C=O), 136.24 (Cbz-C-1), 128.46 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.10 (Cbz-C-4), 128.00 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 69.26 (Boc-C), 67.26 (Cbz-CH₂), 53.55 (C-2), 40.11 (C-5), 29.69 (C-3), 28.38

(Boc-CH₃), 25.78 (C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 389.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₈H₂₆N₂O₆ (366.41), ber.: 389.1683 [M+Na]⁺, gef.: 389.1682. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3330, 2933, 1689, 1516, 1246, 1162, 1053, 735, 696. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 205 nm (4.05). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 14.5$ (c = 0.2, CHCl₃).

Synthese von *N* ^{α} -Benzyloxycarbonyl-*N* ^{δ} -*tert*-butyloxycarbonyl-L-ornithintrimethylsilylester **169**



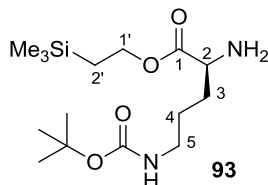
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N* ^{α} -Benzyloxycarbonyl-*N* ^{δ} -*tert*-butyloxycarbonyl-L-ornithin **168** (79 mg, 0.22 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (82 mg, 0.43 mmol, 2.0 Äq.) und Dimethylaminopyridin (22 mg, 0.18 mmol, 0.8 Äq.) wurden in abs. Dichlormethan (1.1 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit 2-Trimethylsilylethanol (46 μ L, 38 mg, 0.32 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur für 24 h gerührt, mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 10 mL), ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x 10 mL) und Wasser (3 x 10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM).

Ausbeute: 84 mg (0.18 mmol, 84 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.78. **¹H-NMR** (300 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ [ppm] = 7.37-7.32 (m, 5H, Cbz-CH), 5.25 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, N ^{α} H), 5.14 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.56-4.44 (m, 1H, N ^{δ} H), 4.44-4.24 (m, 3H, H-1', H-2), 3.16-3.10 (m, 2H, H-5), 1.95-1.84 (m, 1H, H-3_a), 1.76-1.64 (m, 1H, H-3_b), 1.64-1.52 (m, 2H, H-4), 1.46 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.07-1.01 (m, 2H, H-2'), 0.09 (s, 9 H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 50 °C): δ [ppm] = 171.73 (C-1), 155.51 (Boc-C=O), 155.44 (Cbz-C=O), 136.32 (Cbz-C-1), 128.19 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 127.75 (Cbz-C-4), 127.56 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 78.85 (Boc-C), 66.65 (Cbz-CH₂), 63.55 (C-1'), 53.82 (C-2), 40.17 (C-5), 29.83 (C-3), 28.21 (Boc-CH₃), 25.84 (C-4), 17.30 (C-2'), -1.82 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 489.3$ [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺): C₂₃H₃₈N₂O₆Si (466.64), ber.: 489.2391 [M+Na]⁺, gef.: 489.2395. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3348, 2953, 1698, 1510, 1248, 1168, 1041, 836, 736, 696. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 205 nm (4.10). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 0.9$ (c = 1.0, CHCl₃).

Synthese von *N*^δ-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-ornithintrimethylsilylester **93**

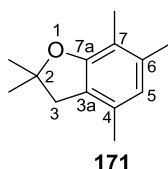


Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-L-ornithintrimethylsilylester **169** (1.09 g, 2.14 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 355 mg, 0.321 mmol, 0.15 Äq.) in abs. Methanol (100 mL) eingesetzt und für 13 h unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 708 mg (2.14 mol, quant.) eines farblosen Öls.

DC: *R*_F-Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.18. **¹H-NMR** (300 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ [ppm] = 4.54-4.52 (m, 1H, N^δH), 4.27-4.22 (m, 2H, H-1'), 3.51-3.37 (m, 1H, H-2), 3.17-3.11 (m, 2H, H-5), 1.83-1.70 (m, 1H, H-3_a), 1.66-1.55 (m, 3H, H-3_b, H-4), 1.47 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.07-1.01 (m, 2H, H-2'), 0.09 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 50 °C): δ [ppm] = 175.60 (C-1), 155.62 (Boc-C=O), 78.85 (Boc-C), 63.06 (C-1'), 54.01 (C-2), 40.10 (C-5), 31.83 (C-3), 28.24 (Boc-CH₃), 26.19 (C-4), 17.25 (C-2'), -1.64 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 333.2 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₃₂N₂O₄Si (332.21), ber.: 333.2204 [M+H]⁺, gef.: 333.2204. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3369, 2953, 1711, 1515, 1365, 1249, 1166, 835, 761. **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -3.0$ (c = 0.38, CHCl₃).

Synthese von 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran **171**



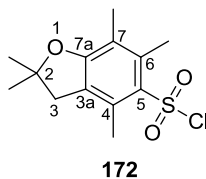
2,3,5-Trimethylphenol **170** (3.00 g, 22.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Toluol (10 mL) gelöst und mit Isobutyraldehyd (2.4 mL, 1.9 g, 26 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Es wurde konz. Schwefelsäure (52 μ L, 96 mg, 0.98 mmol, 0.04 Äq.) zugetropft und das Reaktionsgemisch in einer Dean-Stark-Apparatur für 4 h unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde

im Vakuum entfernt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan → *iso*-Hexan:EtOAc = 95:5).

Ausbeute: 3.64 g (19.1 mmol, 87 %) eines gelben Feststoffes.

DC R_f -Wert (Pentan) = 0.20. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.49 (s, 1H, H-5), 2.92 (s, 2H, H-3), 2.21 (s, 3H, 4- CH_3), 2.16 (s, 3H, 6- CH_3), 2.09 (s, 3H, 7- CH_3), 1.48 (s, 6H, 2-(CH_3)₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 157.33 (C-7a), 136.37 (C-6), 131.14 (C-4), 122.67 (C-3a), 122.12 (C-5), 115.29 (C-7), 85.82 (C-2), 42.31 (C-3), 28.62 (2-(CH_3)₂), 19.28 (4- CH_3), 18.48 (6- CH_3), 11.52 (7- CH_3). **MS** (ESI⁺): m/z = 191.2 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}$ (190.28), ber.: 191.1537 [M+H]⁺, gef.: 191.1547. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 2971, 2916, 1590, 1455, 1409, 1285, 1084, 952, 898, 837, 775, 648. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 206 nm (4.69), 226 nm (3.84), 285 nm (3.29). **Schmelzpunkt:** T_m = 49 °C.

Synthese von 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonylchlorid **172**

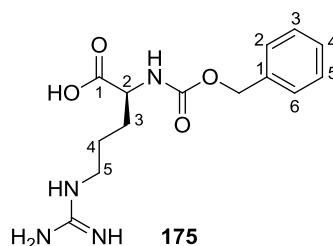


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran **171** (1.00 g, 5.26 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (27 mL) gelöst, und eine Lösung von Chlorsulfonsäure (0.53 mL, 0.93 g, 8.0 mmol, 1.5 Äq.) in abs. Dichlormethan (7.6 mL) wurde bei 0 °C langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 15 min bei 0 °C und für 6 h bei Raumtemperatur gerührt sowie anschließend in ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (30 mL) gegeben. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (2 x 50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 898 mg eines noch verunreinigten bräunlichen Feststoffes (100 % = 1.52 g).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.01 (s, 2H, H-3), 2.65 (s, 3H, 4-CH₃), 2.56 (s, 3H, 6-CH₃), 2.15 (s, 3H, 7-CH₃), 1.51 (s, 6H, 2-(CH₃)₂). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 161.73 (C-7a), 140.94 (C-6), 134.99 (C-4), 134.53 (C-3a), 125.61 (C-5), 118.73 (C-7), 87.97 (C-2), 42.76 (C-3), 28.53 (2-(CH₃)₂), 19.47 (6-CH₃), 18.15 (4-CH₃), 12.40 (7-CH₃). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 289.1 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₁₇ClO₃S (288.79), ber.: 289.0660 [M+H]⁺, gef.: 289.0654. **IR** (ATR): *ν* [cm⁻¹] = 2971, 2928, 1579, 1451, 1409, 1363, 1285, 1173, 1092, 779, 635. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ε) = 209 nm (4.89), 288 nm (3.92). **Schmelzpunkt**: T_m = 55 °C.

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-L-arginin **175**



Darstellung durch Pbf-Entschützung:

N^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginin **176** (10 mg, 18 μmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Trifluoressigsäure und Wasser (8:2, 1 mL) gelöst und für 44 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels HPLC-MS analysiert und konnte als Hauptkomponente in dem Reaktionsgemisch identifiziert werden.

Darstellung durch Cbz-Schützung:

Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden L-Arginin **174** (206 mg, 1.18 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (373 mg, 3.52 mmol, 3.0 Äq.) in Wasser (13 mL) und Dioxan (13 mL) sowie Benzylchlorformiat (180 μL, 215 mg, 1.26 mmol, 1.1 Äq.) als Lösung in Dioxan (1.1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei 0 °C und für 26 h bei Raumtemperatur gerührt. In der organischen Phase war kein Produkt enthalten und das Produkt konnte aus der wässrigen Phase nicht sauber erhalten werden.

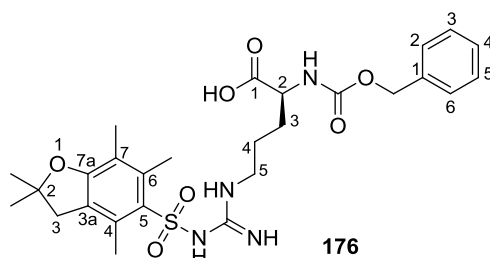
Variante 2:

L-Arginin **174** (5.08 g, 29.1 mmol, 1.0 Äq.) wurde in wässriger Natriumhydroxid-Lösung (0.5 M, 25 mL) gelöst und Benzylchlorformiat (4.20 mL, 5.04 g, 29.5 mmol, 1.0 Äq.) bei 0 °C vorsichtig zugetropft. Während der Zugabe wurde der pH-Wert kontrolliert und zwischen 12-13 gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde solange bei 0 °C gerührt, bis der pH-Wert auf 7-7.5 (2.5 h) gesunken war. Das ausgefallene Produkt wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 7.13 g (23.1 mmol, 81 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (CHCl₃:CH₃OH:Toluol:H₂O 8:8:1:1.5) = 0.26. **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 8.90-8.81 (m, 1H, N^δH), 7.58 (s_{br}, 3H, NH, NH₂), 7.38-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 6.78 (d, J = 7.4 Hz, 1H, N^αH), 5.01 (s, 2H, Cbz-CH₂), 3.79-3.75 (m, 1H, H-2), 3.06-3.05 (m, 2H, H-5), 1.76-1.69 (m, 1H, H-3_a), 1.62-1.55 (m, 1H, H-3_b), 1.53-1.44 (m, 2H, H-4). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 175.83 (C-1), 157.79 (C=NH), 156.03 (Cbz-C=O), 137.77 (Cbz-C-1), 128.77 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.10 (Cbz-C-4), 128.00 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 65.55 (Cbz-CH₂), 55.48 (C-2), 40.88 (C-5), 29.90 (C-3), 25.67 (C-4). **MS** (ESI⁺): m/z = 309.2 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₄H₂₀N₄O₄ (308.15), ber.: 309.1654 [M+H]⁺, gef.: 309.1655. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3414, 3040, 1672, 1637, 1552, 1409, 1266, 1019, 740, 721, 694. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25}$ = +6.5 (c = 1.0, MeOH). **Schmelzpunkt:** 191 °C.

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginin **176**

*Darstellung durch Pbf-Schützung:*

N^α-Benzyloxycarbonyl-L-arginin **175** (205 mg, 0.660 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einer Mischung aus Wasser (0.8 mL) und Aceton (3 mL) suspendiert und für 15 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlte wässrige Natriumhydroxid-Lösung (4 M,

0.8 mL) vorsichtig bei konstantem pH-Wert von 12-13 zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für weitere 30 min bei 0 °C gerührt. 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonylchlorid **172** (464 mg, 1.63 mmol, 2.5 Äq.), gelöst in Aceton (1.3 mL), wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch für 1.5 h bei 0 °C und 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden eine weitere Portion 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonylchlorid **172** (469 mg, 1.63 mmol, 2.5 Äq.), gelöst in Aceton (2.0 mL), und wässrige Natriumhydroxid-Lösung (4 M, 0.45 mL) zugetropft, das Reaktionsgemisch für 4 h bei Raumtemperatur gerührt und mit Zitronensäure-Lösung (10 %) neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser (10 mL) aufgenommen und mit Diethylether (3 x 25 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit verd. Salzsäure (2 N) auf pH 2 gebracht und mit Ethylacetat (3 x 35 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (2 x 20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Diethyletherphase enthielt ebenfalls Produkt und wurde daher zusammen mit der Ethylacetatphase eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 95:4:1 → 90:9:1).

Ausbeute: 285 mg (0.515 mmol, 78 %) eines weißen Feststoffes.

Darstellung durch Cbz-Schützung:

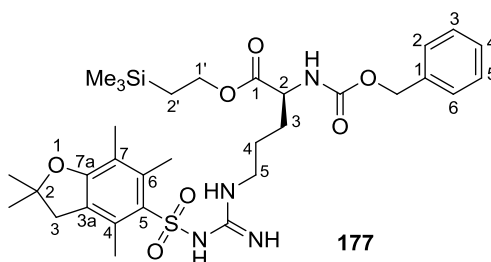
Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden *N*^ε-(2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginin **173** (2.03 g, 4.76 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (1.50 g, 14.0 mmol, 3.0 Äq.) in Wasser (52 mL) und Dioxan (52 mL) sowie Benzylchlorformiat (728 µL, 873 mg, 5.12 mmol, 1.1 Äq.), gelöst in Dioxan (4.4 mL), eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei 0 °C und für 21 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 2.60 g (4.64 mmol, 98 %) eines weißen Feststoffes.

DC: *R*_f-Wert (DCM:MeOH:HOAc 95:4:1) = 0.23. **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, 80 °C): δ [ppm] = 12.28 (s, 1H, COOH), 7.39-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 7.21-7.11 (m, 1H, N^αH), 6.64-6.58 (m, 1H, N^δH), 6.43 (s, 2H, 2 x NH), 5.06 (s, 2H, Cbz-CH₂), 3.98 (ddd, *J* = 8.6 Hz, *J* = 5.1 Hz, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-2), 3.10-3.06 (m, 2H, H-5), 2.97 (s, 2H, Pbf-H-3), 2.53 (s, 3H, Pbf-4-CH₃), 2.47 (s, 3H, Pbf-6-CH₃), 2.04 (s, 3H, Pbf-7-CH₃),

1.78-1.71 (m, 1H, H-3_a), 1.65-1.56 (m, 1H, H-3_b), 1.53-1.47 (m, 2H, H-4), 1.44 (s, 6H, Pbf-2-CH₃). ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆, 80 °C): δ [ppm] = 173.75 (C-1), 158.04 (C=NH), 156.70 (Cbz-C=O, Pbf-C-7a), 137.65 (Pbf-C-5), 137.56 (Pbf-C-3a), 135.09 (Cbz-C-1), 132.01 (Pbf-C-7), 128.71 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.12 (Cbz-C-4), 127.95 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 124.78 (Pbf-C-6), 116.70 (Pbf-C-4), 86.65 (Pbf-C-2), 66.01 (Cbz-CH₂), 54.30 (C-2), 43.16 (Pbf-C-3), 40.61 (C-5), 29.00 (C-3), 28.70 (Pbf-2-(CH₃)₂), 26.17 (C-4), 19.11 (Pbf-6-CH₃), 17.80 (Pbf-4-CH₃), 12.50 (Pbf-7-CH₃). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 561.2 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₇H₃₆N₄O₇S (560.66), ber.: 561.2379 [M+H]⁺, gef.: 561.2383. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3331, 2929, 1703, 1543, 1239, 1088, 659. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ε) = 209 nm (4.45), 216 nm (4.44), 254 nm (3.86). **Drehwert**: [α]_D²⁵ = -1.5 (c = 0.50, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: T_m = 80 °C.

Synthese von *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginintrimethylsilylethylester **177**



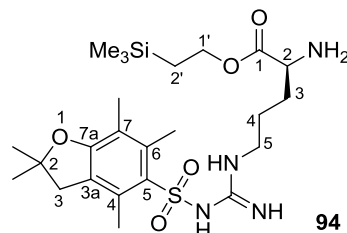
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginin **177** (1.55 g, 2.76 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (1.38 g, 7.22 mmol, 2.6 Äq.) und Dimethylaminopyridin (370 mg, 3.03 mmol, 1.1 Äq.) wurden in Dichlormethan (20 mL) gelöst und mit 2-Trimethylsilylethanol (581 µL, 479 mg, 4.05 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (Pentan:EtOAc 1:1 → EtOAc).

Ausbeute: 1.47 g (2.23 mmol, 81 %) eines farblosen Öls.

DC: R_F-Wert (Pentan:EtOAc 1:1) = 0.17. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 7.35-7.28 (m, 5H, Cbz-CH), 5.96 (s, 2H, 2 x NH), 5.89-5.82 (m, 1H, N^δH), 5.48 (d, J = 7.5 Hz, 1H, N^αH), 5.09 (d, 2H, J = 1.7 Hz, Cbz-CH₂), 4.30-4.19 (m, 3H, H-1', H-2),

3.25-3.13 (m, 2H, H-5), 2.94 (s, 2H, Pbf-H-3), 2.58 (s, 3H, Pbf-6-CH₃), 2.51 (s, 3H, Pbf-4-CH₃), 2.03 (s, 3H, Pbf-7-CH₃), 1.88-1.81 (m, 1H, H-3_a), 1.71-1.64 (m, 1H, H-3_b), 1.64-1.57 (m, 2H, H-4), 1.45 (s, 6H, Pbf-C-2-CH₃), 0.99 (dd, $J = 8.6$ Hz, $J = 8.6$ Hz, 2H, H-2'), 0.04 (s, 9H, Si(CH₃)₃). ¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 172.00 (C-1), 158.76 (C=NH), 156.06 (Cbz-C=O, Pbf-C-7a), 138.34 (Pbf-C-5), 136.22 (Pbf-C-3a), 133.21 (Pbf-C-7), 132.34 (Cbz-C-1), 128.51 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.18 (Cbz-C-4), 127.94 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 124.52 (Pbf-C-6), 117.39 (Pbf-C-4), 86.23 (Pbf-C-2), 67.13 (Cbz-CH₂), 64.07 (C-2), 60.24 (C-1'), 43.30 (Pbf-C-3), 40.80 (C-5), 30.39 (C-3), 28.51 (Pbf-2-(CH₃)₂), 25.18 (C-4), 19.06 (Pbf-6-CH₃), 17.74 (Pbf-4-CH₃), 17.48 (C-2'), 12.28 (Pbf-7-CH₃), -1.62 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 683.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₃₂H₄₈N₄O₇Si (660.90), ber.: 683.2905 [M+Na]⁺, gef.: 683.2910. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3338, 1716, 1619, 1547, 1249, 1091, 835, 742. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 208 nm (2.52), 217 nm (2.49), 254 nm (1.87). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1.9$ ($c = 0.61$, CHCl₃).

Synthese von *N*^ε-(2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginintrimethylsilylester **94**



Variante 1:

N^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginintrimethylsilylester **177** (15 mg, 23 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. Methanol (1 mL) gelöst, mit Pd/C (10 %, 3.5 mg, 3.3 μmol , 0.1 Äq.) versetzt und für 5 h unter H₂-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Zentrifugation (13000 U/min) abgetrennt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 20 mg (20 μmol , 86 %) eines farblosen Öls.

Variante 2:

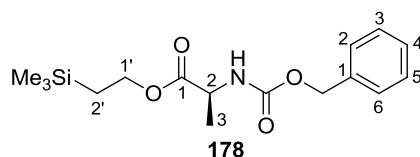
Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden *N*^α-Benzyloxycarbonyl-*N*^ε-(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginintrimethylsilylester **177** (822 mg, 1.24 mmol, 1.0 Äq.) und Pd(OH₂)/C (20 %, 194 mg, 0.181 mmol,

0.15 Äq.) (Abweichung von der **AAV**) in abs. Methanol (55 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 h unter H₂-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 674 mg eines leicht verunreinigten farblosen Öls (100 % = 653 mg).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.51. **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 6.20-6.13 (m, 1H, N^δH), 6.07 (s_{br}, 2H, 2 x NH), 4.24-4.20 (m, 2H, H-1'), 3.48-3.43 (m, 1H, H-2), 3.26-3.15 (m, 2H, H-5), 2.95 (s, 2H, Pbf-H-3), 2.59 (s, 3H, Pbf-6-CH₃), 2.53 (s, 3H, Pbf-4-CH₃), 2.10 (s, 3H, Pbf-7-CH₃), 1.84-1.79 (m, 1H, H-3_a), 1.71-1.65 (m, 2H, H-4), 1.64-1.56 (m, 1H, H-3_b), 1.46 (s, 6H, Pbf-2-CH₃), 1.03-0.99 (m, 2H, H-2'), 0.06 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 175.21 (C-1), 158.74 (C=NH), 156.13 (Pbf-C-7a), 138.35 (Pbf-C-5), 133.24 (Pbf-C-3a), 132.36 (Pbf-C-7), 124.51 (Pbf-C-6), 117.39 (Pbf-C-4), 86.23 (Pbf-C-2), 63.52 (C-1'), 54.04 (C-2), 43.32 (Pbf-C-3), 41.00 (C-5), 31.02 (C-3), 28.51 (Pbf-2-(CH₃)₂), 25.73 (C-4), 19.06 (Pbf-6-CH₃), 17.72 (Pbf-4-CH₃), 17.53 (C-2'), 12.29 (Pbf-7-CH₃), -1.59 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): m/z = 527.3 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₄H₄₂N₄O₅SSi (526.26), ber.: 527.2718 [M+H]⁺, gef.: 527.2720. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3433, 2952, 1737, 1545, 1452, 1405, 1248, 1089, 835, 730, 660. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 218 nm (4.47), 254 nm (3.85). **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = -3.8$ (c = 0.19, CHCl₃).

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-alanintrimethylsilylethylester **178**



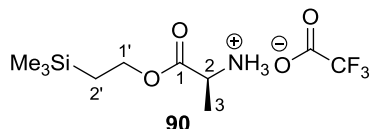
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*^α-Benzyloxycarbonyl-L-alanin **108** (1.00 g, 4.48 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (2.24 g, 9.41 mmol, 2.1 Äq.) und Dimethylaminopyridin (600 mg, 4.03 mmol, 0.9 Äq.) wurden in abs. Dichlormethan (30 mL) gelöst, und 2-Trimethylsilylethanol (941 μ L, 776 mg, 6.56 mmol, 1.5 Äq.) wurde bei Raumtemperatur zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 22 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 6:1) gereinigt. Das Produkt

konnte erst nach einer weiteren Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 95:5) sauber erhalten werden.

Ausbeute: 974 mg (3.01 mmol, 67 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.49. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.36-7.31 (m, 5H, Cbz-CH), 5.32 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, NH), 5.11 (s, 2H, Cbz- CH_2), 4.38-4.32 (m, 1H, H-2), 4.25-4.21 (m, 2H, H-1'), 1.41 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-3), 1.02-0.99 (m, 2H, H-2'), 0.05 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 173.05 (C-1), 155.80 (Cbz-C=O), 136.02 (Cbz-C-1), 128.52 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.14 (Cbz-C-4), 128.09 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 66.87 (Cbz- CH_2), 63.87 (C-1'), 49.77 (C-2), 18.76 (C-3), 17.34 (C-2'), -1.52 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **MS** (ESI^+): $m/z = 346.1$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Si}$ (323.46), ber.: 346.1451 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, gef.: 346.1447. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3345, 2951, 1718, 1528, 1251, 1215, 1177, 1069, 837, 698. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 258 nm (2.36). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +0.9$ ($c = 0.76$, CHCl_3).

Synthese von L-Alanintrimethylsilylethylester-trifluoracetat **90**



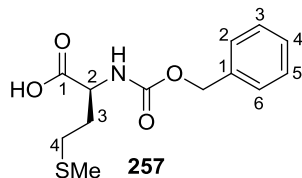
Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden N^{α} -Benzyloxycarbonyl-L-alanintrimethylsilylethylester **178** (316 mg, 0.980 mmol, 1.0 Äq.), Trifluoressigsäure (79 μL , 0.12 g, 1.0 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 143 mg, 0.100 mmol, 0.1 Äq.) (Abweichung von der **AAV**) in abs. Methanol (40 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei Raumtemperatur unter H_2 -Atmosphäre gerührt.

Ausbeute: 306 mg (1.01 mmol, quant.) eines gelblichen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.07. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 4.35-4.32 (m, 2H, H-1'), 4.05 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-2), 1.53 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-3), 1.09-1.06 (m, 2H, H-2'), 0.07 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 169.72 (C-1), 162.06-161.12 (m, $\text{CF}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{O}^-$), 120.99-120.36 (m, $\underline{\text{C}}\text{F}_3\text{COO}^-$), 64.54 (C-1'), 48.52 (C-2), 16.85 (C-3), 14.80 (C-2'), -3.00 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{19}\text{F-NMR}$** (282 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = -76.90. **MS** (ESI^+): $m/z = 212.1$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+):

$C_8H_{19}NO_2Si$ (189.33), ber.: 212.1077 $[M+Na]^+$, gef.: 212.1067. **IR** (ATR): ν $[cm^{-1}] = 2925, 1742, 1673, 1193, 1183, 1134, 841, 802, 723$. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +2.7$ ($c = 0.89, CHCl_3$).

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-methionin **257**

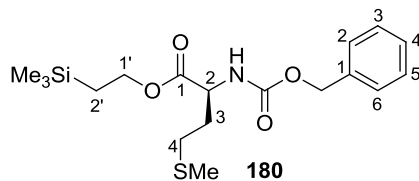


Die Reaktion wurde gemäß **AAV1** durchgeführt. Es wurden L-Methionin **179** (1.00 g, 6.70 mmol, 1.0 Äq.), Natriumcarbonat (2.13 mg, 20.1 mmol, 3.0 Äq.) in Wasser (95 mL) und Dioxan (62 mL) sowie eine Lösung von Benzylchlorformiat (1.03 mL, 1.24 g, 7.25 mmol, 1.1 Äq.) in Dioxan (5.9 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei 0 °C und für 23 h bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 2.16 g eines leicht verunreinigten weißen Feststoffes (100 % = 1.91 g).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 10.86 (d, 1H, COOH), 7.37-7.30 (m, 5H, Cbz-CH), 5.48 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH), 5.13 (s, 2H, Cbz- CH_2), 4.55-4.42 (m, 1H, H-2), 2.57 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-4), 2.27-2.19 (m, 1H, H-3_a), 2.09 (s, 3H, SCH₃), 2.05-1.97 (m, 1H, H-3_b). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 176.66 (C-1), 156.14 (Cbz-C=O), 136.01 (Cbz-C-1), 128.57 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.31 (Cbz-C-4), 128.14 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 67.32 (Cbz- CH_2), 53.05 (C-2), 31.61 (C-3), 29.91 (C-4), 15.38 (SCH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 306.1$ $[M+Na]^+$. **HRMS** (ESI⁺): $C_{13}H_{17}NO_4S$ (283.34), ber.: 306.0776 $[M+Na]^+$, gef.: 306.0776. **IR** (ATR): ν $[cm^{-1}] = 3314, 2920, 1737, 1718, 1687, 1536, 1400, 1208, 1065, 1022, 694$. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 258 nm (2.68). **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +14.5$ ($c = 1.4, CHCl_3$). **Schmelzpunkt**: $T_m = 72$ °C.

Synthese von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-methionintrimethylsilylester **180**



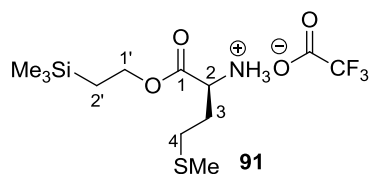
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Benzyloxycarbonyl-L-methionin **257** (511 mg, 1.80 mmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (677 mg, 2.84 mmol,

2.0 Äq.) und Dimethylaminopyridin (176 mg, 1.18 mmol, 0.8 Äq.) wurden in abs. Dichlormethan (10 mL) gelöst. 2-Trimethylsilylethanol (380 μ L, 314 mg, 2.70 mmol, 1.5 Äq.) wurde bei Raumtemperatur zugetropft und das Reaktionsgemisch für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 95:5) gereinigt.

Ausbeute: 379 mg (0.989 mmol, 55 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 7:1) = 0.32. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.36-7.30 (m, 5H, Cbz-CH), 5.39 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, NH), 5.12 (s, 2H, Cbz- CH_2), 4.46 (ddd, $J = 12.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-2), 4.23 (dd, $J = 14.5$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-1'), 2.57-2.50 (m, 2H, H-4), 2.21-2.13 (m, 1H, H-3_a), 2.09 (s, 3H, SCH_3), 2.01-1.93 (m, 1H, H-3_b), 1.03-0.99 (m, 2H, H-2'), 0.05 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 171.98 (C-1), 155.84 (Cbz-C=O), 136.24 (Cbz-C-1), 128.52 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.19 (Cbz-C-4), 128.11 (Cbz-C2, Cbz-C-6), 67.04 (Cbz- CH_2), 64.09 (C-1'), 53.35 (C-2), 31.19 (C-3), 29.91 (C-4), 17.42 (C-2'), 15.47 (SCH_3), -1.53 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{19}\text{F-NMR}$** (282 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = -76.74. **MS** (ESI^+): $m/z = 406.1$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_4\text{SSi}$ (383.58), ber.: 406.1484 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, gef.: 406.1483. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 258 nm (2.51). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3.2$ ($c = 1.1$, CHCl_3).

Synthese von L-Methionintrimethylsilylester 91



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV4** durchgeführt. Es wurden N^{α} -Benzyloxycarbonyl-L-methionintrimethylsilylester **180** (190 mg, 0.470 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 72 mg, 70 μ mol, 0.15 Äq.) in abs. Methanol (20 mL) eingesetzt und für 6 h unter H_2 -Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde eine weitere Portion Pd/C (10 %, 36 mg, 40 μ mol, 0.08 Äq.) zugegeben und für 16 h unter H_2 -Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt (Abweichung von der **AAV**).

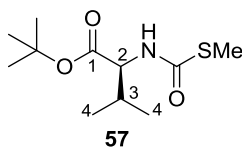
Ausbeute: 99 mg (0.40 mmol, 84 %) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV5** durchgeführt. Es wurden *N*^α-Benzyloxycarbonyl-L-methionintrimethylsilylethylester **180** (177 mg, 0.440 mmol, 1.0 Äq.), Trifluoressigsäure (36 µL, 54 mg, 0.44 mmol, 1.0 Äq.) und Pd/C (10 %, 65 mg, 50 µmol, 0.1 Äq.) (Abweichung von der **AAV**) in abs. Methanol (20 mL) eingesetzt und für 7.5 h unter H₂-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt.

Ausbeute: 171 mg eines leicht verunreinigtes farblosen Öls (100 % = 154 mg).

DC: *R*_f-Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.29. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 4.39-4.36 (m, 2H, H-1'), 4.46 (dd, *J* = 6.4 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1H, H-2), 2.68 (dd, *J* = 7.0 Hz, *J* = 7.0 Hz, 2H, H-4), 2.29-2.22 (m, 1H, H-3_a), 2.14 (s, 3H, SCH₃), 2.18-2.13 (m, 1H, H-3_b), 1.13-1.09 (m, 2H, H-2'), 0.10 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 169.06 (C-1), 161.89-161.13 (m, CF₃COO⁻), 118.10-117.52 (m, CF₃COO⁻), 64.76 (C-1'), 51.47 (C-2), 29.40 (C-3), 28.41 (C-4), 16.91 (C-2'), 15.37 (SCH₃), -3.00 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 272.1 [M-TFA+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₂H₂₄F₃NO₄SSi (263.47), ber.: 272.1116 [M-TFA+Na]⁺, gef.: 272.1125. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3430, 2955, 1741, 1676, 1436, 1200, 1181, 1134, 837, 721. **Drehwert:** [α]_D²⁵ = +2.8 (c = 1.4, CHCl₃).

Synthese von *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57**

L-Valin-*tert*-butylester-hydrochlorid (1.88 g, 9.00 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Ethylacetat (50 mL) und ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 mL) gelöst, mit Methylchlorthioformiat (1.00 g, 9.00 mmol, 1.0 Äq.) versetzt und für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol (5 mL) beendet, mit ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x 100 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 9:1).

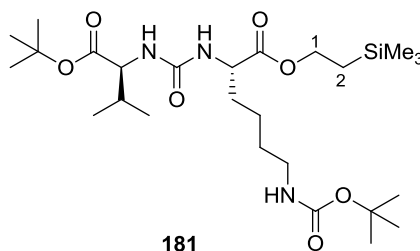
Ausbeute: 2.17 g (8.76 mmol, 97 %) eines farblosen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 9:1) = 0.34. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H, NH), 4.48-4.37 (m, 1H, H-2), 2.35 (s, 3H, SCH_3), 2.17–2.11 (m, 1H, H-3), 1.47 (s, 9H, *t*-Bu- CH_3), 0.95 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-4), 0.90 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-4). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170.65 (C-1), 167.97 (Harnstoff-C=O), 82.19 (*t*-Bu-C), 59.08 (C-2), 31.69 (C-3), 28.02 (*t*-Bu- CH_3), 18.68 (C-4), 17.54 (C-4), 12.35 (SCH_3). **MS** (ESI⁺): m/z = 270.1 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{S}$ (247.12), ber.: 270.1134 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺, gef.: 270.1135. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3254, 2967, 1732, 1656, 1625, 1524, 1366, 1215, 1142. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = 19.0 (c = 1.0, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** T_{m} = 36°C.

7.2.9 Synthese der Harnstoffpeptide

Die Benennung der folgenden Peptide erfolgt nicht nach IUPAC-Nomenklatur, sondern sie werden aufgrund der besseren Lesbarkeit in Anlehnung an die Kurzschreibweise der Aminosäuren in ausgeschriebener Form sequentiell von links nach rechts benannt. Die Nummerierung für die Auswertung der NMR-Spektren der einzelnen Aminosäuren beginnt vom Carbonyl-C und erfolgt entlang der Hauptkette. Aufgrund der besseren Lesbarkeit wurde hier auf die Nummerierung der Aminosäuren in den Abbildungen verzichtet.

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Lys-(*N*^ε-Boc)-*O*-TMSE 181

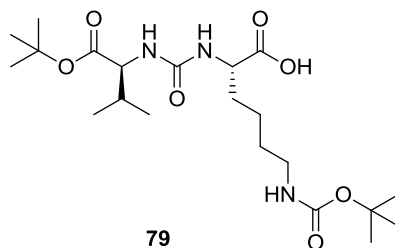


Die Reaktion wurde gemäß **AAV6** durchgeführt. *N*^ε-*tert*-Butyloxycarbonyl-L-lysintrimethylsilylester **92** (10 mg, 29 μmol , 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-*tert*-butylester **57** (7.9 mg, 32 μmol , 1.1 Äq.), *N*-Methylmorpholin (9.5 μL , 8.7 mg, 86 μmol , 3.0 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (11 mg, 43 μmol , 1.5 Äq.) wurden eingesetzt und in abs. Ethylacetat (1 mL) für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 3:1).

Ausbeute: 12 mg (22 μmol , 76 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 3:2) = 0.47. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): δ [ppm] = 4.98 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Lys- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$), 4.95 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, Val-NH), 4.63-4.48 (m, 1H, Lys- $\text{N}^{\epsilon}\text{H}$), 4.38 (ddd, $J = 8.0$ Hz, $J = 7.6$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H, Lys-H-2), 4.31-4.14 (m, 3H, Val-H-2, H-1), 3.10 (dd, $J = 13.0$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 2H, Lys-H-6), 2.18-2.03 (m, 1H, Val-H-3), 1.89-1.75 (m, 1H, Lys-H-3_a), 1.75-1.59 (m, 1H, Lys-H-3_b), 1.59-1.32 (m, 4H, Lys-H-4, Lys-H-5), 1.49 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃) 1.46 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.08-0.99 (m, 2H, H-2), 0.97 (d, $J = 9.5$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.94 (d, $J = 9.5$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.08 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): δ [ppm] = 172.89 (Lys-C-1), 171.56 (Val-C-1), 156.78 (Boc-C=O), 155.69 (Harnstoff-C=O), 81.42 (*t*-Bu-C), 78.71 (Boc-C), 63.24 (C-1), 58.68 (Val-C-2), 53.13 (Lys-C-2), 40.35 (Lys-C-6), 32.33 (Lys-C-3), 31.16 (Val-C-3), 29.46 (Lys-C-5), 28.26 (*t*-Bu-CH₃), 27.90 (Boc-CH₃), 22.35 (Lys-C-4), 18.55 (Val-C-4), 17.60 (Val-C-4), 17.32 (C-2), -1.80 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 568.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₆H₅₁N₃O₇Si (545.78), ber.: 568.3388 [M+Na]⁺, gef.: 568.3391. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3355, 2961, 1715, 1644, 1550, 1365, 1249, 1164, 836. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 7.7$ ($c = 0.38$, CHCl₃).

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Lys-(N^ε-Boc)-OH **79**



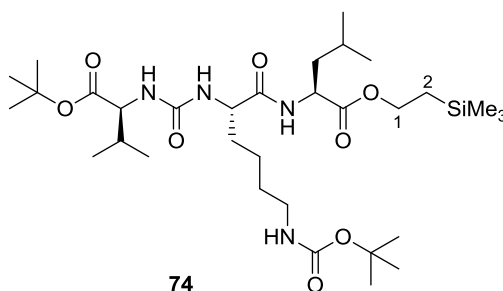
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Lys-(N^ε-Boc)-O-TMSE **181** (380 mg, 0.696 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (8.7 mL) gelöst, bei 0 °C mit Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF, 840 μL , 0.840 mmol, 1.2 Äq.) versetzt und für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 95:5:1).

Ausbeute: 287 mg (0.644 mmol, 93 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH:HOAc 7:3:1) = 0.41. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$, 100 °C): δ [ppm] = 5.69-5.37 (m, 2H, Lys- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$, Val- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$), 4.95-4.83 (m, 1H, Lys- $\text{N}^{\epsilon}\text{H}$), 4.36-4.28 (m, 1H, Lys-H-2), 4.25-4.18 (m, 1H, Val-H-2), 3.16-3.06 (m, 2H, Lys-H-6), 2.23-2.02 (m,

1H, Val-H-3), 1.95-1.80 (m, 1H, Lys-H-3_a), 1.80-1.66 (m, 1H, Lys-H-3_b), 1.51-1.48 (m, 4H, Lys-H-4, Lys-H-5), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃) 1.47 (s, 9H, Boc-CH₃), 0.97 (d, $J = 10.5$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.94 (d, $J = 10.5$ Hz, 3 H, Val-H-4). ¹³C-NMR (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 50 °C): δ [ppm] = 175.12 (Lys-C-1) 171.99 (Val-C-1), 158.34 (Boc-C=O), 156.21 (Harnstoff-C=O), 81.98 (*t*-Bu-C), 81.74 (Boc-C), 58.46 (Val-C-2), 53.38 (Lys-C-2), 40.04 (Lys-C-6), 31.16 (Lys-C-3), 31.11 (Val-C-3), 29.29 (Lys-C-5), 28.26 (*t*-Bu-CH₃), 27.85 (Boc-CH₃), 22.25 (Lys-C-4), 18.69 (Val-C-4), 17.43 (Val-C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 468.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₁H₃₉N₃O₇ (445.55), ber.: 468.2680 [M+Na]⁺, gef.: 468.2681. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3359, 2967, 1715, 1640, 1552, 1366, 1159, 847. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = 19.9$ (c = 0.80, CHCl₃).

Synthese von *O*-^{*t*}Bu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Lys-(*N*^{*ε*}-Boc)-L-Leu-*O*-TMSE **74**



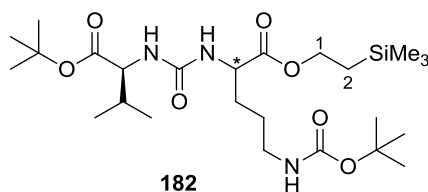
Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden *O*-^{*t*}Bu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Lys-(*N*^{*ε*}-Boc)-OH **79** (15 mg, 35 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (4.7 mg, 35 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (6.7 mg, 35 μ mol, 1.0 Äq.), L-leucintrimethylsilylester-trifluoacetat **89** (12 mg, 35 μ mol, 1.0 Äq.), gelöst in abs. Tetrahydrofuran (1 mL), und Diisopropylethylamin (12 μ L, 9.0 mg, 70 μ mol, 2.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bei Raumtemperatur gerührt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 99:1).

Ausbeute: 18 mg (28 μ mol, 80 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 98:2) = 0.48. ¹H-NMR (300 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ [ppm] = 6.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, Lys-N⁰H), 5.21 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, Leu-NH), 5.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Val-NH), 4.76-4.64 (m, 1H, Lys-N ^{ϵ} H), 4.53 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 8.1$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 1H, Lys-H-2), 4.31-4.12 (m, 4H, Val-H-2, Leu-H-2, H-1), 3.10 (dd,

$J = 13.1$ Hz, $J = 6.3$ Hz, 2H, Lys-H-6), 2.20-2.02 (m, 1H, Val-H-3), 1.93-1.76 (m, 1H, Lys-H-3_a), 1.77-1.34 (m, 8H, Lys-H-3_b, Lys-H-4, Lys-H-5, Leu-H-3, Leu-H-4), 1.46 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.49 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃) 1.10-1.00 (m, 2H, H-2), 1.01-0.87 (m, 12H, 2 x Val-H-4, 2 x Leu-H-5), 0.07 (s, 9H, Si(CH₃)₃). ¹³C-NMR (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 50 °C): δ [ppm] = 172.41 (Lys-C-1), 172.36 (Val-C-1), 172.06 (Leu-C-1), 157.52 (Boc-C=O), 155.97 (Harnstoff-C=O), 81.55 (*t*-Bu-C), 78.78 (Boc-C), 63.24 (C-1), 58.34 (Val-C-2), 53.51 (Lys-C-2), 50.77 (Leu-C-2), 41.06 (Lys-C-6), 39.90 (Leu-C-3), 31.51 (Lys-C-3), 31.03 (Val-C-3), 29.47 (Lys-C-5), 28.29 (*t*-Bu-CH₃), 27.88 (Boc-CH₃), 24.52 (Leu-C-4), 22.57 (Lys-C-4), 22.39 (Val-C-4), 21.79 (Val-C-4), 18.80 (Leu-C-5), 17.43 (Leu-C-5), 17.15 (C-2), -1.73 (Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 681.50$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₃₂H₆₂N₄O₈Si (658.94), ber.: 681.4229 [M+Na]⁺, gef.: 681.4233. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3339, 2958, 1731, 1688, 1633, 1546, 1249, 1153, 837. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = -14.1$ ($c = 0.91$, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: $T_m = 108^\circ\text{C}$.

Synthese von *O*-^{*t*}Bu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Orn-(N ^{δ} -Boc)-*O*-TMSE **182**



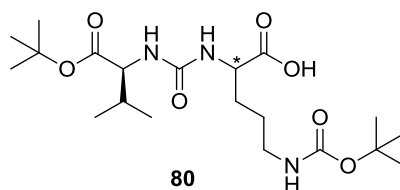
Die Reaktion wurde gemäß **AAV6** durchgeführt. *N* ^{δ} -*tert*-Butyloxycarbonyl-L-ornithintrimethylsilylester **93** (30 mg, 90 μmol , 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-*tert*-butylester **57** (25 mg, 99 μmol , 1.1 Äq.), *N*-Methylmorpholin (26 μL , 24 mg, 0.23 mmol, 2.6 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (35 mg, 0.13 mmol, 1.5 Äq.) wurden eingesetzt und in abs. Ethylacetat (2.25 mL) für 21.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (PE:EtOAc 3:1).

Ausbeute: 43 mg (81 μmol , 90 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomergemisch (**S*:*R* = 2:1).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.72. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 6.30-6.25 (m, 4H, 2 x Orn-N ^{α} H, 2 x Orn-N ^{δ} H), 6.09 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, Val-N ^{α} H), 6.09 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, Val-N ^{α} H), 4.18-4.13 (m, 6H, 2 x Orn-H-2, 2 x H-1), 4.00-3.96 (m, 2H, 2 x Val-H-2), 2.97-2.95 (m, 4H, 2 x Orn-H-5), 2.02-1.95 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 1.72-1.65 (m, 2H, 2 x Orn-H-3_a), 1.59-1.52 (m, 2H, 2 x Orn-H-3_b), 1.49-1.45

(m, 4H, 2 x Orn-H-4), 1.43 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH₃), 1.40 (s, 18H, 2 x Boc-CH₃), 1.00-0.96 (m, 4H, 2 x H-2), 0.90 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, Val-H-4), 0.89 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, Val-H-4), 0.88 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H, Val-H-4), 0.05 (s, 18H, 2 x Si(CH₃)₃). ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 173.26 (Orn-C-1), 173.25 (Orn-C-1), 171.85 (2 x Val-C-1), 157.77 (Harnstoff-C=O), 157.68 (Harnstoff-C=O), 156.03 (2 x Boc-C=O), 80-83 (2 x *t*-Bu-C), 77.95 (2 x Boc-C), 62.66 (C-1), 62.65 (C-1), 59.01 (Val-C-2), 58.97 (Val-C-2), 53.19 (Orn-C-2), 53.12 (Orn-C-2), 40.45 (2 x Orn-C-5), 31.23 (Val-C-3), 31.11 (Val-C-3), 30.30 (Orn-C-3), 30.16 (Orn-C-3), 28.78 (2 x *t*-Bu-CH₃), 28.31 (Boc-CH₃), 28.30 (Boc-CH₃), 26.41 (Orn-C-4), 26.38 (Orn-C-4), 19.24 (Val-C-4), 19.22 (Val-C-4), 18.22 (2 x Val-C-4), 17.59 (2 x C-2), -1.10 (Si(CH₃)₃), -1.11 (Si(CH₃)₃). MS (ESI⁺): *m/z* = 554.4 [M+Na]⁺. HRMS (ESI⁺): C₁₉H₂₈N₂O₆ (531.33), ber.: 554.3232 [M+Na]⁺, gef.: 554.3241. IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3360, 2962, 1716, 1641, 1550, 1365, 1249, 1164, 836.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Orn-(N^ε-Boc)-OH **80**



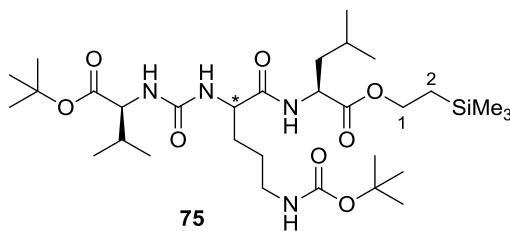
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Orn-(N^δ-Boc)-*O*-TMSE **182** (90 mg, 0.17 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (2.2 mL) gelöst und bei 0 °C mit Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF, 0.20 mL, 0.20 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 95:5:1).

Ausbeute: 61 mg (0.14 mmol, 84 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomergemisch (**S*:*R* = 3:1).

DC: *R_f*-Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.37. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.91-7.50 (s_{br}, 4H, 2 x COOH, 2 x Orn-N^αH), 6.08-5.97 (m, 2H, 2 x Val-NH), 5.94-5.87 (m, 2H, 2 x Orn-N^δH), 4.37-4.32 (m, 2H, 2 x Orn-H-2), 4.29-4.25 (m, 2H, 2 x Val-H-2), 3.19-3.03 (m, 4H, 2 x Orn-H-5), 2.19-2.04 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 1.93-1.78 (m, 2H, 2 x Orn-H-3_a), 1.73-1.50 (m, 6H, 2 x Orn-H-3_b, 2 x Orn-H-4), 1.45 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH₃) 1.42 (s, 18H,

2 x Boc-CH₃), 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.92 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.86 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4). ¹³C-NMR (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 50 °C): δ [ppm] = 175.13 (Orn-C-1), 174.98 (Orn-C-1) 172.52 (Val-C-1), 171.92 (Val-C-1), 158.34 (Boc-C=O), 158.18 (Boc-C=O), 156.39 (2 x Harnstoff-C=O), 82.00 (*t*-Bu-C), 81.74 (*t*-Bu-C), 79.59 (2 x Boc-C), 58.45 (Val-C-2), 58.39 (Val-C-2), 53.20 (Orn-C-2), 53.05 (Orn-C-2), 39.81 (2 x Orn-C-5), 31.12 (2 x Val-C-3), 28.77 (2 x Orn-C-3), 28.21 (2 x *t*-Bu-CH₃), 27.85 (2 x Boc-CH₃), 25.81 (2 x Orn-C-4), 18.76 (Val-C-4), 18.70 (Val-C-4), 17.39 (2 x Val-C-4). MS (ESI⁺): $m/z = 454.3$ [M+Na]⁺. HRMS (ESI⁺): C₂₀H₃₇N₃O₇ (431.52), ber.: 454.2524 [M+Na]⁺, gef.: 454.2520. IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3358, 2969, 1715, 1639, 1552, 1366, 1249, 1159, 847.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Orn-(N^δ-Boc)-L-Leu-*O*-TMSE 75



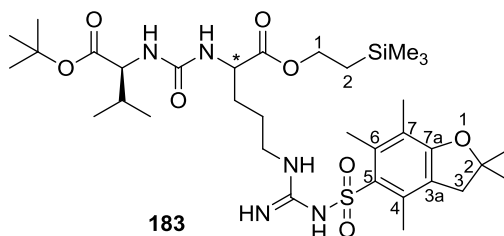
Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Orn-(N^ε-Boc)-OH **80** (40 mg, 93 μmol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (12 mg, 93 μmol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (18 mg, 93 μmol, 1.0 Äq.), L-Leucintrimethylsilylester-trifluoracetat **89** (48 mg, 0.14 mmol, 1.5 Äq.), gelöst in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL), und Diisopropylethylamin (39 μL, 30 mg, 0.23 mmol, 2.9 Äq.) in abs. Dichlormethan (2.5 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 42 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 99:1).

Ausbeute: 37 mg (57 μmol, 62 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomergemisch (**S*:*R* = 3:1).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.36. ¹H-NMR (300 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C): δ [ppm] = 6.63 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, 2 x Leu-NH). 5.23 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, 2 x Orn-N^αH), 5.02 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, 2 x Val-NH), 4.75-4.59 (m, 2H, 2 x Orn-N^δH), 4.53 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 7.8$ Hz, $J = 4.9$ Hz, 2H, 2 x Leu-H-2), 4.36-4.09 (m, 8H, 2 x Val-H-2,

2 x Orn-H-2, 2 x H-1), 3.26-3.05 (m, 4H, 2 x Orn-H-5), 2.20-2.01 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 1.99-1.78 (m, 2H, 2 x Orn-H-3_a), 1.78-1.51 (m, 12H, 2 x Orn-H-3_b, 2 x Orn-H-4, 2 x Leu-H-3, 2 x Leu-H-4), 1.50 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH₃) 1.47 (s, 18H, 2 x Boc-CH₃), 1.10-0.99 (m, 4H, 2 x H-2), 0.99-0.89 (m, 24 H, 4 x Val-H-4, 4 x Leu-H-5), 0.09 (s, 18H, 2 x Si(CH₃)₃). ¹³C-NMR (75 MHz, C₂D₂Cl₄, 50 °C): δ [ppm] = 172.44 (Orn-C-1), 172.40 (Orn-C-1), 172.35 (Val-C-1), 172.02 (Val-C-1), 171.87 (Leu-C-1), 171.54 (Leu-C-1), 157.32 (Boc-C=O), 157.16 (Boc-C=O), 156.32 (Harnstoff-C=O), 156.16 (Harnstoff-C=O), 81.52 (*t*-Bu-C), 81.42 (*t*-Bu-C), 79.14 (Boc-C), 79.05 (Boc-C), 63.44 (C-1), 63.37 (C-1), 58.41 (Val-C-2), 58.36 (Val-C-2), 53.48 (Leu-C-2), 52.85 (Leu-C-2), 50.82 (Orn-C-2), 50.77 (Orn-C-2), 41.04 (Leu-C-3), 40.84 (Leu-C-3), 39.46 (Orn-C-5), 31.15 (Val-C-3), 31.08 (Val-C-3), 29.45 (Orn-C-3), 29.15 (Orn-C-3), 28.23 (2 x *t*-Bu-CH₃), 27.88 (2 x Boc-CH₃), 26.28 (2 x Leu-C-4), 24.63 (Orn-C-4), 24.53 (Orn-C-4), 22.64 (Val-C-4), 22.56 (Val-C-4), 21.79 (Val-C-4), 21.62 (Val-C-4), 18.75 (2 x Leu-C-5), 17.50 (Leu-C-5), 17.41 (Leu-C-5), 17.15 (2 x C-2), -1.66 (Si(CH₃)₃), -1.72 (Si(CH₃)₃). MS (ESI⁺): *m/z* = 667.4 [M+Na]⁺. HRMS (ESI⁺): C₁₉H₂₈N₂O₆ (644.42), ber.: 667.4073 [M+Na]⁺, gef.: 667.4086. IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3299, 2958, 1730, 1632, 1549, 1366, 1249, 1152, 837. Schmelzpunkt: T_m = 109°C.

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Arg-(N^S-Pbf)-*O*-TMSE 183

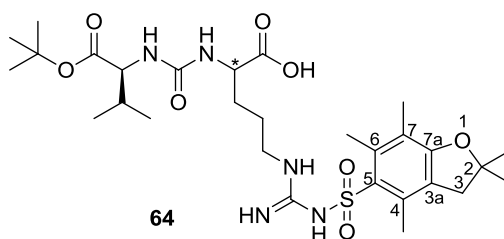


Die Reaktion wurde gemäß **AAV6** durchgeführt. Es wurden *N*^ε-(2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl)-L-arginintrimethylsilylester **94** (562 mg, 1.07 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-*tert*-butylester **57** (326 mg, 1.31 mmol, 1.1 Äq.), *N*-Methylmorpholin (400 μL, 368 mg, 3.66 mmol, 3.4 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (459 mg, 1.81 mmol, 1.7 Äq) in abs. Ethylacetat verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde für 17 h bei Raumtemperatur gerührt, und das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 98:2 → 9:1) gereinigt.

Ausbeute: 619 mg (0.853 mmol, 80 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomergemisch (**S*:*R* = 2:1).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.57. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 6.42-6.36 (m, 2H, 2 x Arg- $\text{N}^{\delta}\text{H}$), 6.29-6.27 (m, 4H, 2 x Arg-NH), 6.02-5.94 (m, 2H, 2 x Arg- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$), 5.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2 x Val-NH), 4.37-4.29 (m, 2H, 2 x Arg-H-2), 4.22-4.17 (m, 6H, 2 x H-1, 2 x Val-H-2), 3.32-3.13 (m, 4H, 2 x Arg-H-5), 2.95 (s, 4H, 2 x Pbf-H-3), 2.59 (s, 3H, Pbf-4- CH_3), 2.58 (s, 3H, Pbf-4- CH_3), 2.53 (s, 3H, Pbf-6- CH_3), 2.52 (s, 3H, Pbf-6- CH_3), 2.17-2.04 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 2.09 (s, 6H, 2 x Pbf-7- CH_3), 1.85-1.75 (m, 2H, 2 x Arg-H-3_a), 1.71-1.51 (m, 6H, 2 x Arg-H-3_b, 2 x Arg-H-4), 1.45 (s, 18H, 2 x *t*-Bu- CH_3), 1.44 (s, 12H, 2 x Pbf-2-(CH_3)₂), 1.02-0.98 (m, 4H, 2 x H-2), 0.92 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.91 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.80 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.03 (s, 18H, 2 x $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 173.75 (Val-C-1), 173.25 (Arg-C-1), 173.19 171.82 (Val-C-1, Arg-C-1), 158.67 (2 x Pbf-C-7a), 158.27 (Harnstoff-C=O), 158.01 (Harnstoff-C=O), 156.29 (C=NH), 156.27 (C=NH), 138.39 (2 x Pbf-C-5), 138.38 (2 x Pbf-C-3a), 132.32 (2 x Pbf-C-7), 124.42 (Pbf-C-6), 124.49 (Pbf-C-6), 117.39 (2 x Pbf-C-4), 86.27 (2 x Pbf-C-2), 82.34 (*t*-Bu-C), 81.68 (*t*-Bu-C), 63.84 (C-1), 63.70 (C-1), 58.79 (Arg-C-2), 58.61 (Arg-C-2), 52.74 (2 x Val-C-2), 43.30 (2 x Pbf-C-3), 40.69 (Arg-C-5), 40.51 (Arg-C-5), 31.15 (Val-C-3), 30.84 (Val-C-3), 30.50 (Arg-C-3), 29.87 (Arg-C-3), 28.60 (2 x *t*-Bu- CH_3), 28.06 (2 x Pbf-2-(CH_3)₂), 25.46 (Arg-C-4), 25.28 (Arg-C-4), 19.24 (Val-C-4), 19.22 (Val-C-4), 19.03 (2 x Pbf-6- CH_3), 17.87 (Val-C-4), 17.83 (Val-C-4), 17.67 (Pbf-4- CH_3), 17.44 (Pbf-4- CH_3), 17.40 (2 x C-2), 17.22 (2 x Pbf-7- CH_3), -1.54 (2 x $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **MS** (ESI^+): $m/z = 726.38$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{11}\text{H}_{25}\text{NO}_2\text{Si}$ (725.38), ber.: 726.3854 [$\text{M}+\text{H}$]⁺, gef.: 726.3876. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3345, 2967, 1730, 1625, 1548, 1370, 1246, 1146, 1087, 837, 662. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 219 nm (5.01), 255 nm (4.49). **Schmelzpunkt:** $T_m = 85$ °C.

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Arg-(N^{ζ} -Pbf)-OH **64**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Arg-(N^{ζ} -Pbf)-*O*-TMSE **183** (150 mg, 0.200 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (2.5 mL) gelöst, und mit Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF, 244 μL , 0.244 mmol, 1.2 Äq.) versetzt.

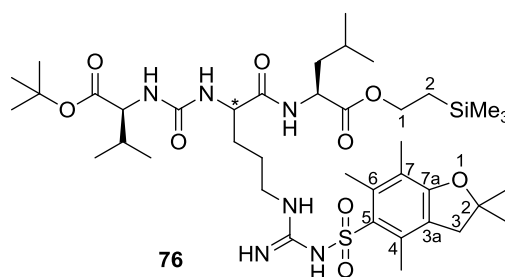
Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach DC-Kontrolle (DCM:MeOH 7:3) wurde weitere Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF, 102 μ L, 0.102 mmol, 0.5 Äq.) zugetropft, und das Reaktionsgemisch wurde für 28 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1) gereinigt. Das Produkt konnte nicht sauber erhalten werden und wurde direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute: 121 mg eines noch verunreinigten farblosen Öls (100 % = 125 mg) als Diastereomergemisch.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 7:3) = 0.77. **MS** (ESI⁺): m/z = 626.31 [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₁H₂₅NO₂Si (625.31), ber.: 626.3145 [M+H]⁺, gef.: 626.3091.

Aufgrund der starken Verunreinigungen konnten die NMR-Spektren nicht ausgewertet werden, und es wurden keine weiteren Analysen durchgeführt. In den NMR-Spektrum waren keine Silylsignale mehr zu finden.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Arg-(N^ξ-Pbf)-L-Leu-O-TMSE **76**

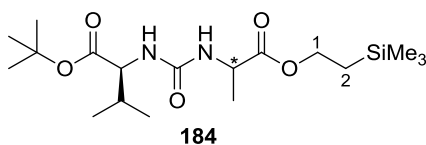


Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden noch verunreinigtes *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Arg-(N^ξ-Pbf)-OH **64** (50 mg, 80 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (12 mg, 80 μ mol, 1.0 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (17 mg, 80 μ mol, 1.0 Äq.), L-Leucin-trimethylsilylethylester-trifluoacetat **89** (42 mg, 0.13 mmol, 1.5 Äq.), gelöst in abs. Tetrahydrofuran (2.1 mL), und Diisopropylethylamin (35 μ L, 26 mg, 0.20 mmol, 2.6 Äq.) in abs. Dichlormethan (2.1 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 42 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 97:3).

Ausbeute: 37 mg (40 μ mol, 54 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomergemisch (*S:R = 3:1).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.34. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3 , 50 °C): δ [ppm] = 7.24 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H, Leu-NH), 7.17 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, Leu-NH), 6.29-6.27 (m, 6H, 2 x 3 Arg-NH), 6.16 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, Arg- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$), 6.07 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, Arg- $\text{N}^{\alpha}\text{H}$), 5.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Val-NH), 5.77 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Val-NH), 4.50-4.44 (m, 2H, 2 x Leu-H-2), 4.31-4.27 (m, 2H, 2 x Arg-H-2), 4.21-4.15 (m, 6H, 2 x H-1, 2 x Val-H-2), 3.31-3.23 (m, 4H, 2 x Arg-H-5), 2.95 (s, 4H, 2 x Pbf-H-3), 2.59 (s, 3H, Pbf-4- CH_3), 2.58 (s, 3H, Pbf-4- CH_3), 2.53 (s, 3H, Pbf-6- CH_3), 2.52 (s, 3H, Pbf-6- CH_3), 2.13-2.08 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 2.09 (s, 6H, 2 x Pbf-7- CH_3), 2.00-1.92 (m, 2H, 2 x Arg-H-3_a), 1.73-1.55 (m, 12H, 2 x Leu-H-3, 2 x Leu-H-4, 2 x Arg-H-3_b, 2 x Arg-H-4), 1.46 (s, 12H, 2 x Pbf-2- CH_3), 1.44 (s, 9H, *t*-Bu- CH_3), 1.44 (s, 9H, *t*-Bu- CH_3), 1.02-0.98 (m, 2H, 2 x H-2), 0.94-0.89 (m, 21H, 2 x 2 Leu-H-5, 3 x Val-H-4), 0.84 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.04 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0.03 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3 , 50 °C): δ [ppm] = 173.07 (2 x Val-C-1), 172.78 (Leu-C-1), 172.76 (Leu-C-1), 172.60 (2 x Arg-C-1), 158.79 (2 x Pbf-C-7_a), 158.50 (Harnstoff-C=O), 158.39 (Harnstoff-C=O), 156.47 (2 x C=NH), 138.39 (Pbf-C-5), 138.33 (Pbf-C-5), 133.08 (2 x Pbf-C-3_a), 132.33 (Pbf-C-7), 132.29 (Pbf-C-7), 124.52 (2 x Pbf-C-6), 117.46 (Pbf-C-4), 117.43 (Pbf-C-4), 86.24 (2 x Pbf-C-2), 81.59 (2 x *t*-Bu-C), 63.58 (C-1), 63.41 (C-1), 58.98 (2 x Val-C-2), 53.63 (2 x Arg-C-2), 51.36 (Leu-C-2), 51.25 (Leu-C-2), 43.34 (2 x Pbf-C-3), 41.18 (2 x Arg-C-5), 40.88 (2 x Leu-C-3), 30.91 (Val-C-3), 30.78 (Val-C-3), 29.01 (2 x Arg-C-3), 28.52 (2 x Pbf-C-2-(CH_3)₂), 28.07 (2 x *t*-Bu- CH_3), 25.85 (2 x Leu-C-4), 24.83 (Arg-C-4), 24.79 (Arg-C-4), 22.73 (2 x C-2), 19.14 (Pbf-4- CH_3), 19.10 (Pbf-4- CH_3), 19.04 (2 x Val-C-4), 18.99 (2 x Val-C-4), 17.81 (Pbf-6- CH_3), 17.75 (Pbf-6- CH_3), 17.72 (Leu-C-5), 17.51 (Leu-C-5), 17.40 (Leu-C-5), 17.36 (Leu-C-5), 12.29 (Pbf-7- CH_3), 12.28 (Pbf-7- CH_3), -1.59 (2 x $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). **MS** (ESI^+): $m/z = 839.47$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{40}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_9\text{SSi}$ (838.47), ber.: 839.4767 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 839.4784. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3329, 2958, 1726, 1640, 1548, 1251, 1155, 1096, 837, 667. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 219 nm (4.92), 255 nm (4.42). **Schmelzpunkt:** $T_m = 103$ °C.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Ala-*O*-TMSE 184



Variante 1:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV6** durchgeführt. Es wurden L-Alanintrimethylsilylethylester-trifluoracetat **90** (294 mg, 0.970 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57** (472 mg, 1.97 mmol, 2.0 Äq.), *N*-Methylmorpholin (0.58 mL, 0.53 g, 5.3 mmol, 5.4 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (662 mg, 2.58 mmol, 2.7 Äq.) in abs. Ethylacetat (70 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 7:1) gereinigt.

Ausbeute: 267 mg (0.690 mmol, 71 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomerengemisch (**S*:*R* = 1.6:1).

Variante 2:

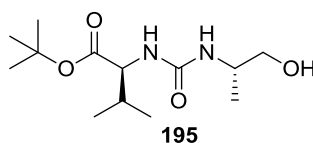
Die Reaktion wurde gemäß **AAV7** durchgeführt. Es wurden L-Alanintrimethylsilylethylester-trifluoracetat **90** (62 mg, 0.21 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57** (60 mg, 0.24 mmol, 1.1 Äq.), abs. Triethylamin (0.13 mL, 94 mg, 0.92 mmol, 4.2 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (73 mg, 0.28 mmol, 1.3 Äq.) in abs. Dimethylformamid (2.5 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 23 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 7:1) gereinigt.

Ausbeute: 55 mg (0.14 mmol, 69 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomerengemisch (**S*:*R* = 1.7:1).

DC: R_f -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.21. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.28 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, 2 x NH), 5.23 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, 2 x NH), 4.48-4.37 (m, 2H, 2 x Ala-H-2), 4.31-4.26 (m, 2H, 2 x Val-H-2), 4.22-4.19 (m, 4H, 2 x H-1), 2.12-2.05 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 1.46 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 1.45 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 1.37 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.34 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-H-3), 1.01-0.98 (m, 4H, 2 x H-2), 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.93 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.87 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.03 (s, 18H, 2 x Si(CH₃)₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 174.39 (Ala-C-1), 174.11 (Ala-C-1), 172.52 (Val-C-1), 172.13 (Val-C-1), 157.00 (Harnstoff-C=O), 156.88 (Harnstoff-C=O), 81.66 (*t*-Bu-C), 81.64 (*t*-Bu-C), 63.61 (2 x C-1), 58.37 (Val-C-2), 58.22 (Val-C-2), 49.09 (Ala-C-2), 48.97 (Ala-C-2), 31.70 (Val-C-3), 31.57 (Val-C-3), 28.07 (2 x *t*-Bu-CH₃), 19.09 (Ala-C-3), 18.95

(Ala-C-3, Val-C-4), 18.88 (Val-C-4), 17.67 (2 x Val-C-4), 17.53 (C-2), 17.29 (C-2), -1.53 (2 x Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 411.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₈H₃₆N₂O₅Si (388.57), ber.: 411.2291 [M+Na]⁺, gef.: 411.2296. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3344, 2960, 1734, 1635, 1562, 1370, 1250, 1166, 1141, 857, 834.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Alaninol **194**

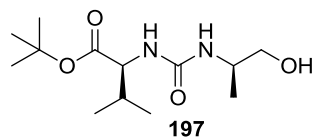


Die Reaktion wurde gemäß **AAV7** durchgeführt. Es wurden L-Alaninol **194** (83 mg, 1.1 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-valin-*tert*-butylester **57** (312 mg, 1.26 mmol, 1.1 Äq.), abs. Triethylamin (0.63 mL, 0.46 g, 4.5 mmol, 4.1 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (363 mg, 1.43 mmol, 1.3 Äq.) in abs. Dimethylformamid (24 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt, und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 263 mg (0.957 mmol, 87 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.19. **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.61 (s, 1H, OH), 4.28 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, Val-H-2), 3.86-3.79 (m, 1H, Ala-H-2), 3.62 (dd, $J = 10.9$ Hz, $J = 3.3$ Hz, 1H, Ala-H-1_a), 3.48 (dd, $J = 10.9$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 1H, Ala-H-1_b), 2.16-2.08 (m, 1H, Val-H-3), 1.46 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 1.11 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Ala-H-3), 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.88 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 173.09 (Val-C-1), 159.02 (Harnstoff-C=O), 81.94 (*t*-Bu-C), 68.62 (Ala-C-1), 58.48 (Val-C-2), 48.94 (Ala-C-2), 31.35 (Val-C-3), 28.06 (*t*-Bu-CH₃), 19.07 (Ala-C-3), 17.55 (Val-C-4), 17.31 (Val-C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 297.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₂₆N₂O₄ (274.36), ber.: 297.1790 [M+Na]⁺, gef.: 297.1790. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3578, 3300, 2962, 1726, 1622, 1565, 1147, 1046, 642. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +7.9$ ($c = 1.1$, CHCl₃). **Schmelzpunkt:** $T_m = 136$ °C.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-D-Alaninol **197**

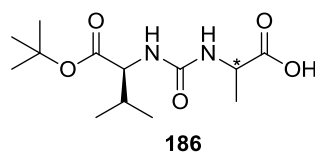


Die Reaktion wurde gemäß **AAV7** durchgeführt. Es wurden D-Alaninol **196** (100 μ L, 100 mg, 1.32 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-*L*-valin-*tert*-butylester **57** (364 mg, 1.47 mmol, 1.1 Äq.), abs. Triethylamin (0.77 mL, 0.55 g, 5.5 mmol, 4.2 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (440 mg, 1.73 mmol, 1.3 Äq.) in abs. Dimethylformamid (30 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 351 mg (1.28 mmol, 97 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 95:5) = 0.17. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.99 (s, 1H, OH), 4.37 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, Val-H-2), 3.88-3.80 (m, 1H, Ala-H-2), 3.62 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 3.3$ Hz, 1H, Ala-H-1_a), 3.30 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 1H, Ala-H-1_b), 2.21-2.15 (m, 1H, Val-H-3), 1.49 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 1.08 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Ala-H-3), 0.96 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 174.44 (Val-C-1), 159.08 (Harnstoff-C=O), 82.26 (*t*-Bu-C), 66.93 (Ala-C-1), 58.18 (Val-C-2), 48.33 (Ala-C-2), 31.25 (Val-C-3), 28.06 (*t*-Bu-CH₃), 19.14 (Ala-C-3), 17.90 (Val-C-4), 17.13 (Val-C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 297.2$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₂₆N₂O₄ (274.36), ber.: 297.1814 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺, gef.: 297.1813. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3349, 3187, 2974, 1731, 1649, 1561, 1370, 1142, 701. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12.3$ ($c = 1.0$, CHCl_3). **Schmelzpunkt:** $T_{\text{m}} = 86$ °C.

Synthese von *O*-^{*t*}Bu-*L*-Val-*N*-(C=O)-*N*-D,L-Ala-OH **186**

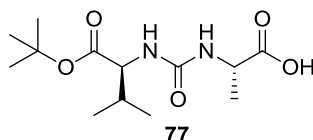


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *O*-^{*t*}Bu-*L*-Val-*N*-(C=O)-*N*-D,L-Ala-*O*-TMSE **184** (55 mg, 0.14 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) gelöst, mit Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF, 0.17 mL, 0.17 mmol, 1.2 Äq.) bei 0 °C versetzt und für 25 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach DC-Kontrolle (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) wurden weitere Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (1 M in THF, 0.20 mL, 0.20 mmol, 1.5 Äq.) und abs. Tetrahydrofuran (1 mL) zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 7 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 95:5:0.1).

Ausbeute: 37 mg (0.13 mmol, 92 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomergemisch (**S*:*R* = 7:4).

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH:HOAc 95:5:0.1) = 0.07. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 4.27 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2 x Ala-H-2), 4.08 (d, $J = 5.1$ Hz, 2H, 2 x Val-H-2), 2.12-2.05 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 1.47 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH₃), 1.36 (d, 6H, $J = 7.1$ Hz, 2 x Ala-H-3), 0.97 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.96 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.92 (2 x d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 2 x Val-H-4). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 172.04 (2 x Val-C-1), 171.89, (2 x Ala-C-1), 158.68 (2 x Harnstoff-C=O), 81.13 (*t*-Bu-C), 81.11 (*t*-Bu-C), 58.64 (Val-C-2), 58.59 (Val-C-2), 48.48 (2 x Ala-C-2), 30.98 (Val-C-3), 30.83 (Val-C-3), 26.93 (2 x *t*-Bu-CH₃), 18.14 (Ala-C-3), 18.11 (Ala-C-3), 17.59 (Val-C-4), 17.46 (Val-C-4), 16.64 (Val-C-4), 16.58 (Val-C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 311.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₂₄N₂O₅ (288.34), ber.: 311.1583 [M+Na]⁺, gef.: 311.1592. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2964, 2360, 2175, 2031, 1967, 1258, 1093, 1017, 802.

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Ala-OH **77**



Variante 1:

O-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Alaninol **184** (30 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (1.3 mL) gelöst und bei 35 °C mit 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (2.0 mg, 0.012 mmol, 0.1 Äq.), Kaliumphosphatpuffer (0.67 M, 1 mL), Natriumchlorit (80 %, 30 mg, 0.40 mmol, 3.6 Äq.), gelöst in Wasser (0.1 mL), und Natriumhypochlorit-Lösung (5 % in H₂O, 0.40 mL, 0.40 mmol, 3.6 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 22 h bei 35 °C gerührt. Zum Reaktionsgemisch wurde Ethylacetat (10 mL) gegeben und mit ges. Natriumthiosulfat-Lösung (2 x 5 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (2 x 5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es konnte nur verunreinigtes Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 31 mg von verunreinigtem Edukt als gelbliches Öl.

Variante 2:

O-^tBu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Alaninol **184** (40 mg, 0.15 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (0.7 mL) und Kaliumphosphatpuffer (0.67 M, 0.56 mL) gelöst, bei 35 °C mit 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (6.8 mg, 0.044 mmol, 0.3 Äq.), Natriumchlorit (80 %, 27 mg, 0.29 mmol, 2.0 Äq.), gelöst in Wasser (0.14 mL), und Natriumhypochlorit-Lösung (5 % in H₂O, 20 µL, 0.29 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei 35 °C gerührt. Es wurden weitere Portionen 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (6.8 mg, 0.044 mmol, 0.3 Äq.), Natriumchlorit (80 %, 27 mg, 0.29 mmol, 2.0 Äq.), und Natriumhypochlorit-Lösung (5 % in H₂O, 20 µL, 0.29 mmol, 2.0 Äq.) nach 26 h und nach weiteren 2 d zugegeben und das Reaktionsgemisch für insgesamt 4 d bei 35 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1) gereinigt. Es konnten verschiedene Nebenprodukte isoliert werden, welche nicht analysiert wurden.

Variante 3:

O-^tBu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Alaninol **184** (49 mg, 0.18 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrachlormethan (1 mL), Acetonitril (1 mL) und Wasser (1 mL) gelöst und bei 0 °C mit Ruthenium-(III)-chlorid (4.0 mg, 18 µmol, 0.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 h bei 0 °C gerührt und verd. Salzsäure (1 M, 2.5 mL) wurde zugegeben. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether (3 x 10 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1 → 8:2).

Ausbeute: 9.5 mg (33 µmol, 18 %) eines farblosen Öls.

Variante 4:

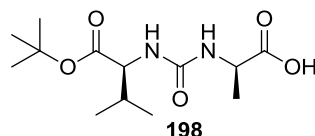
O-^tBu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Alaninol **184** (30 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (1 mL) gelöst, mit Wasser (1 mL), Bisacetoxyiodbenzol (78 mg, 0.24 mmol, 2.2 Äq.) und 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (6.0 mg, 0.033 mmol, 0.3 Äq.) versetzt und unter DC-Kontrolle (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) für 23.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Zum Reaktionsgemisch wurde Diethylether (10 mL) gegeben und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 5 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit verd. Salzsäure (1 M) auf pH 1 gebracht und mit Ethylacetat (4 x 20 mL) extrahiert. Die

vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 17 mg (60 μ mol, 55 %) eines leicht verunreinigten farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH:HOAc 95:5:0.1) = 0.07. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 4.12-4.09 (m, 2H, Val-H-2, Ala-H-2), 2.13-2.07 (m, 1H, Val-H-3), 1.49 (s, 9H, *t*-Bu- CH_3), 1.36-1.31 (m, 3H, Ala-H-3), 0.98 (d, J = 6.9 Hz, 3H, Val-H-4), 0.95 (d, J = 6.9 Hz, 3H, Val-H-4). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 172.21 (Val-C-1, Ala-C-1), 158.70 (Harnstoff-C=O), 81.15 (*t*-Bu-C), 58.84 (Val-C-2), 50.64 (Ala-C-2), 30.73 (Val-C-3), 29.96 (*t*-Bu- CH_3), 18.10 (Ala-C-3), 17.90 (Val-C-4), 16.81 (Val-C-4). **MS** (ESI $^+$): m/z = 311.2 [M+Na] $^+$. **HRMS** (ESI $^+$): $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ (288.34), ber.: 311.1583 [M+Na] $^+$, gef.: 311.1592. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 2888, 2854, 2363, 1340, 1243, 1061, 953, 846. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = +3.8 (c = 0.26, CHCl_3).

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-D-Ala-OH **198**



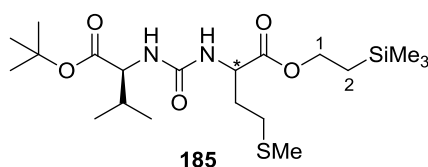
O-*t*-Bu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-D-Alaninol **77** (80 mg, 0.29 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (1 mL) gelöst, mit Wasser (1 mL), Bisacetoxiyodbenzol (206 mg, 0.638 mmol, 2.2 Äq.) und 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (16 mg, 87 μ mol, 0.3 Äq.) versetzt und unter DC-Kontrolle (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) für 8 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 9:1 \rightarrow 84:16)

Ausbeute: 42 mg (0.14 mmol, 50 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH:HOAc 95:5:0.1) = 0.09. **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 4.21-4.12 (m, 2H, Val-H-2, Ala-H-2), 2.16-2.07 (m, 1H, Val-H-3), 1.49 (s, 9H, *t*-Bu- CH_3), 1.35-1.31 (m, 3H, Ala-H-3), 0.98 (d, J = 6.9 Hz, 3H, Val-H-4), 0.95 (d, J = 6.9 Hz, 3H, Val-H-4). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 172.11 (Val-C-1, Ala-C-1), 158.70 (Harnstoff-C=O), 81.20 (*t*-Bu-C), 58.59 (Val-C-2), 50.50 (Ala-C-2),

31.11 (Val-C-3), 29.96 (*t*-Bu-CH₃), 18.33 (Ala-C-3), 18.13 (Val-C-4), 16.73 (C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 311.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₂₄N₂O₅ (288.34), ber.: 311.1583 [M+Na]⁺, gef.: 311.1592. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3373, 2966, 2922, 1723, 1555, 1370, 1134, 850, 757. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +1.8$ (c = 0.90, CHCl₃).

Synthese von *O*-*t*-Bu-L-Val-N-(C=O)-N-D,L-Met-OH **185**



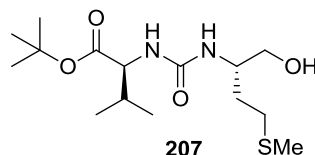
Die Reaktion wurde gemäß **AAV6** durchgeführt. Es wurden L-Methionintrimethylsilyl-ethylester **91** (99 mg, 0.27 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57** (115 mg, 0.410 mmol, 1.5 Äq.), *N*-Methylmorpholin (140 μ L, 129 mg, 1.27 mmol, 4.7 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (161 mg, 0.630 mmol, 2.3 Äq.) in abs. Ethylacetat (25 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan: EtOAc 7:1) gereinigt.

Ausbeute: 66 mg (0.15 mmol, 56 %) eines farblosen Öls als nicht trennbares Diastereomerengemisch (**S*:*R* = 2.5:1).

DC: R_f -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.19. **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.18-5.14 (m, 2H, 2 x Met-NH), 5.09 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, Val-NH), 5.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Val-NH), 4.55-4.48 (m, 2H, 2 x Met-H-2), 4.28 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 2H, 2 x Val-H-2), 4.25-4.21 (m, 4H, 2 x H-1), 2.55-2.52 (m, 4H, 2 x Met-H-4), 2.16-2.09 (m, 4H, 2 x Met-H-3_a, 2 x Val-H-3), 2.09 (s, 3H, SCH₃), 2.08 (s, 3H, SCH₃), 1.99-1.87 (m, 2H, 2 x Met-H-3_b), 1.46 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 1.45 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 1.03-0.99 (m, 4H, 2 x H-2), 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.93 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.88 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.05 (s, 9H, Si(CH₃)₃), 0.04 (s, 9H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 173.15 (Met-C-1), 172.92 (Met-C-1), 172.14 (Val-C-1), 171.99 (Val-C-1), 157.04 (Harnstoff-C=O), 156.92 (Harnstoff-C=O), 81.77 (2 x *t*-Bu-C), 63.92 (2 x C-1), 58.43 (Val-C-2), 58.36 (Val-C-2), 52.69 (Met-C-2), 52.63 (Met-C-2), 32.65 (Met-C-3), 32.58 (Met-C-3), 31.66 (Val-C-3), 31.58 (Val-C-3), 30.05 (Met-C-4), 30.03 (Met-C-4), 28.07 (2 x *t*-Bu-CH₃), 18.92 (Val-C-4), 18.90 (Val-C-4), 17.66 (Val-C-4), 17.56 (Val-C-4), 17.41 (2 x C-2), 15.48 (SCH₃), 15.46

(SCH₃), -1.53 (2 x Si(CH₃)₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 471.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₀H₄₀N₂O₅SSi (448.69), ber.: 471.2325 [M+Na]⁺, gef.: 471.2326. **IR**: ν [cm⁻¹] = 3343, 2959, 1731, 1632, 1555, 1368, 1252, 1156, 860, 832.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Methioninol **207**

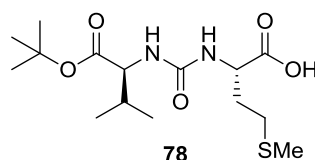


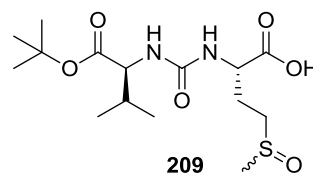
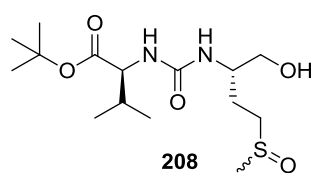
Die Reaktion wurde gemäß **AVV7** durchgeführt. Es wurden L-Methioninol **206** (50 mg, 0.37 mmol, 1.0 Äq.), *N*-(*S*-Methylthiocarbonyl)-L-Valin-*tert*-butylester **57** (100 mg, 0.400 mmol, 1.1 Äq.), abs. Triethylamin (0.21 mL, 0.15 g, 1.5 mmol, 4.2 Äq.) und Silbertrifluormethansulfonat (123 mg, 0.481 mmol, 1.3 Äq.) in abs. Dimethylformamid (4 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 107 mg (0.320 mmol, 86 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 97:3) = 0.08. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.53 (s, 1H, OH), 4.25 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, Val-H-2), 3.83-3.78 (m, 1H, Met-H-2), 3.68 (dd, $J = 11.1$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1H, Met-H-1_a), 3.58 (dd, $J = 11.1$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1H, Met-H-1_b), 2.61-2.51 (m, 2H, Met-H-4), 2.14-2.08 (m, 1H, Val-H-3), 2.09 (s, 3H, SCH₃), 1.85-1.72 (m, 2H, Met-H-3), 1.46 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 0.95 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.88 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 172.67 (Val-C-1), 158.83 (Harnstoff-C=O), 81.89 (*t*-Bu-C), 66.30 (Met-C-1), 58.61 (Val-C-2), 52.32 (Met-C-2), 31.42 (Val-C-3), 30.96 (Met-C-4), 30.82 (Met-C-3), 28.08 (*t*-Bu-CH₃), 19.03 (Val-C-4), 17.65 (Val-C-4), 15.51 (SCH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 357.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₃₀N₂O₄S (334.47), ber.: 357.1824 [M+Na]⁺, gef.: 357.1826. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3341, 2967, 1701, 1642, 1554, 1297, 1099, 1061, 848. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = -6.9$ ($c = 1.2$, CHCl₃). **Schmelzpunkt:** $T_m = 126$ °C.

Synthese von *O*-^tBu-L-Val-N-(C=O)-N-L-Met-OH **78**



Nebenprodukte:*Variante 1:*

O-^tBu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Methioninol **207** (30 mg, 90 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (1 mL) gelöst, mit Wasser (1 mL), Bisacetoxiodobenzol (64 mg, 0.20 mmol, 2.2 Äq.) und 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (5.0 mg, 0.027 mmol, 0.3 Äq.) versetzt und unter DC-Kontrolle (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) für 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Diethylether (10 mL) versetzt und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 5 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit verd. Salzsäure (1 M) auf pH 1 gebracht und mit Ethylacetat (4 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 92:8:0.1).

Ausbeute (208): 7.6 mg (22 μ mol, 22 %) eines farblosen Öls als Diastereomergemisch (2:1).

Ausbeute (209): 14 mg (39 μ mol, 44 %) eines farblosen Öls als Diastereomergemisch (1:1).

Variante 2:

O-^tBu-L-Val-*N*-(C=O)-*N*-L-Methioninol **198** (25 mg, 0.075 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrachlormethan (1 mL), Acetonitril (1 mL) und Wasser (1 mL) gelöst und bei 0 °C mit Ruthenium(III)chlorid (1.6 mg, 8.0 μ mol, 0.1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei 0 °C gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 98:2:0.1).

Ausbeute (78): 8.8 mg eines verunreinigten farblosen Öls (100 % = 26 mg).

Ausbeute (reisoliertes Edukt): 13 mg (0.039 mmol, 52 %) eines farblosen Öls.

Analytische Daten von **78**:

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 4.24 (dd, $J = 5.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H, Met-H-2), 4.08 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, Val-H-2), 3.26-3.11 (m, 2H, Met-H-4), 2.97 (s, 3H, SOCH₃), 2.38-2.31 (m, 1H, Met-H-3_a), 2.17-2.08 (m, 2H, Met-H-3_b, Val-H-3), 1.50 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 0.99 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.96 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4). **¹³C-NMR** (126 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 172.31 (Val-C-1, Met-C-1), 158.97 (Harnstoff-C=O), 81.15 (*t*-Bu-C), 58.92 (Val-C-2), 53.38 (Met-C-2), 39.12 (Met-C-4), 30.57 (Met-C-3), 26.97 (*t*-Bu-CH₃), 26.52 (Val-C-3), 21.75 (Val-C-4), 18.21 (Val-C-4), 16.67 (SOCH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 355.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₂₈N₂O₅S (348.46), ber.: 355.1538 [M+Na]⁺, gef.: 355.1546.

Analytische Daten von **208**:

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) = 0.25. **¹H-NMR** (300 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 4.09 (dd, $J = 4.9$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 2H, 2 x Met-H-2), 3.83-3.80 (m, 2H, 2 x Val-H-2), 3.61 (dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H, Met-H-1_a), 3.59 (dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H, Met-H-1_a), 3.55 (dd, $J = 5.3$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1H, Met-H-1_b), 3.53 (dd, $J = 5.3$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1H, Met-H-1_b), 3.02-2.80 (m, 4H, 2 x Met-H-4), 2.66 (s, 3H, SOCH₃), 2.65 (s, 3H, SOCH₃), 2.18-2.02 (m, 4H, 2 x Met-H-3), 1.90-1.79 (m, 2H, 2 x Val-H-3), 1.50 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH₃), 0.99 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.98 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Val-H-4), 0.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 2 x Val-H-4). **¹³C-NMR** (75 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 172.19 (2 x Val-C-1), 159.36 (2 x Harnstoff-C=O), 81.11 (*t*-Bu-C), 81.09 (*t*-Bu-C), 64.01 (Met-C-1), 63.87 (Met-C-1), 58.75 (2 x Val-C-2), 50.88 (Met-C-2), 50.44 (Met-C-2), 36.87 (Met-C-4), 36.79 (Met-C-4), 30.64 (SOCH₃), 30.55 (SOCH₃), 26.97 (2 x *t*-Bu-CH₃), 26.81 (2 x Val-C-3), 25.10 (Met-C-3), 24.79 (Met-C-3), 18.22 (Val-C-4), 18.19, (Val-C-4), 16.59 (Val-C-4), 16.54 (Val-C-4). **MS** (ESI⁺): $m/z = 373.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₃₀N₂O₅S (350.47), ber.: 373.1768 [M+Na]⁺, gef.: 373.1782.

Analytische Daten von **209**:

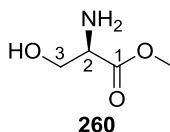
DC: R_f -Wert (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) = 0.12. **¹H-NMR** (500 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 4.35-4.28 (m, 2H, 2 x Met-H-2), 4.10-4.08 (m, 2H, 2 x Val-H-2), 3.00-2.82 (m, 4H, 2 x Met-H-4), 2.67 (s, 3H, SOCH₃), 2.65 (s, 3H, SOCH₃), 2.32-2.24 (m, 2H, 2 x Met-H-3_a), 2.16-2.06 (m, 4H, 2 x Met-H-3_b, 2 x Val-H-3), 1.49 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH₃), 0.99 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 2 x Val-H-4), 0.95 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 2 x Val-H-4). **¹³C-NMR** (126 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 175.33 (2 x Met-C-1), 172.20 (2 x Val-C-1), 159.21

(2 x Harnstoff-C=O), 81.09 (2 x *t*-Bu-C), 58.81 (2 x Val-C-2), 50.28 (Met-C-2), 50.00 (Met-C-2), 36.86 (Met-C-4), 36.65 (Met-C-4), 30.70 (Met-C-3), 30.63 (Met-C-3), 26.98 (2 x *t*-Bu-CH₃), 26.59 (Val-C-3), 26.13 (Val-C-3), 20.06 (2 x Val-C-4), 18.20 (2 x Val-C-4), 16.71 (SOCH₃), 16.68 (SOCH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 387.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₂₈N₂O₆S (364.46), ber.: 387.1560 [M+Na]⁺, gef.: 387.1570.

7.2.10 Synthesen und Versuche zur Synthese verschiedener Diaminosäuren

7.2.10.1 Versuche der Synthese von (3S)-3-Amino-L-leucin

Synthese von D-Serinmethylester-hydrochlorid **260**^[150]



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Bei 0 °C wurde Acetylchlorid (29.0 mL, 410 mmol, 2.9 Äq.) langsam zu abs. Methanol (300 mL) getropft, und das Reaktionsgemisch wurde für 5 min bei dieser Temperatur gerührt. D-Serin **218** (15.0 g, 143 mmol, 1.0 Äq.) wurde zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für 2 h unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 23.6 g (150 mmol, quant.) eines weißen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 4.18-4.16 (m 1H, H-2), 4.03 (dd, $J = 11.9$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1H, H-3_a), 3.97 (dd, $J = 11.9$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-3_b), 3.88 (s, 3H, OCH₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 167.96 (C-1), 59.28 (C-3), 54.74 (C-2), 52.31 (OCH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 120.1$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₄H₉NO₃ (119.12), ber.: 120.0655 [M+H]⁺, gef.: 120.0651. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3345, 2916, 1745, 1595, 1509,

1444, 1242, 1092, 1038, 965, 794. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -5.1$ ($c = 1.1$, MeOH).
Schmelzpunkt: $T_{\text{m}} = 169^{\circ}\text{C}$.

Synthese von *N*-Allyloxycarbonyl-D-serinmethylester **219**^[150]

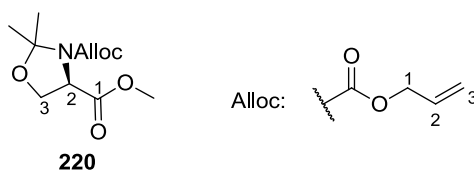


D-Serinmethylester-hydrochlorid **260** (17.3 g, 111 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (300 mL) und Acetonitril (300 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit Natriumcarbonat (23.6 g, 223 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Allylchlorformiat (11.8 mL, 13.4 g, 112 mmol, 1.0 Äq.), gelöst in Acetonitril (25 mL), wurde tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 17.9 g (87.9 mmol, 79 %) eines farblosen Öls.

DC: R_{f} -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 1:2) = 0.40. **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.91 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.72 (s_{br} , 1H, NH), 5.31 (m, 1H, Alloc-H-3_a), 5.24-5.21 (m, 1H, Alloc-H-3_b), 4.59 (ddd, $J = 5.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 2H, Alloc-H-1), 4.44-4.43 (m, 1H, H-2), 3.99 (dd, $J = 11.2$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-3_a), 3.91 (dd, $J = 11.2$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, H-3_b), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 2.46 (s_{br} , 1H, OH). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 171.01 (C-1), 156.12 (Alloc-C=O), 132.44 (Alloc-C-2'), 117.99 (Alloc-C-3), 66.06 (Alloc-C-1), 63.29 (C-3), 56.03 (C-2), 52.72 (OCH_3). **MS** (ESI^+): $m/z = 226.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5$ (203.18), ber.: 226.0686 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, gef.: 226.0682. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3372, 2955, 1699, 1517, 1436, 1339, 1208, 1057, 934, 775. **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -7.3$ ($c = 1.1$, CHCl_3).

Synthese von *N*-Allyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-D-serinmethylester **220**^[150]



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Allyloxycarbonyl-D-serinmethylester **219** (17.8 g, 87.9 mmol, 1.0 Äq.) und 2,2-Dimethoxypropan (265 mL, 225 g, 2.20 mol, 25 Äq.) wurden in abs. Aceton (200 mL) gelöst, und Bortrifluorid-Etherat (2.64 mL, 20.8 mmol, 0.25 Äq.) wurde bei Raumtemperatur langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (250 mL) zugegeben. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 200 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. Natriumchlorid-Lösung (200 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan:EtOAc 4:1→7:3).

Ausbeute: 23.6 g (96.7 mmol, quant.) eines gelblichen Öls.

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 2:1) = 0.74. **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, 80 °C): δ [ppm] = 5.96-5.86 (m, 1H, Alloc-H-2), 5.30-5.26 (m, 1H, Alloc-H-3_a), 5.21-5.19 (m, 1H, Alloc-H-3_b), 4.59-4.53 (m, 3H, Alloc-H-1, H-2), 4.21 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 7.1$ Hz, 1H, H-3_a), 3.93 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1H, H-3_b), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 1.59 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.50 (s, 3H, C(CH₃)₂). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆, 80 °C): δ [ppm] = 171.36 (C-1), 151.81 (Alloc-C=O), 133.46 (Alloc-C-2), 117.31 (Alloc-C-3), 94.88 (C(CH₃)₂), 66.48 (C-3), 65.48 (Alloc-C-1), 59.05 (C-2), 52.50 (OCH₃), 25.35 (C(CH₃)₂), 24.55 (C(CH₃)₂). **MS** (ESI⁺): $m/z = 266.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₁H₁₇NO₅ (243.26), ber.: 266.0999 [M+Na]⁺, gef.: 266.0998. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2985, 2958, 1757, 1707, 1400, 1204, 1087, 1053, 995, 844, 767. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +45.5$ (c = 1.1, CHCl₃).

Synthese von *N*-Allyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-D-serinol **221**^[150]



Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Lithiumaluminiumhydrid (46.9 mg, 1.23 mmol, 1.5 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (1.2 mL) suspendiert, und eine Lösung von *N*-Allyloxycarbonyl-*N,O*-Isopropyliden-D-serinmethylester **220** (203 mg, 0.834 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (2.2 mL) wurde bei Raumtemperatur über 8 min zugetropft. Das

Reaktionsgemisch wurde für 20 min bei Raumtemperatur gerührt, anschließend auf 0 °C abgekühlt und mit wässriger Kaliumhydroxid-Lösung (10%, 0.6 mL) langsam versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für weitere 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit Diethylether (10 mL) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Phosphat-Puffer (0.1 M, pH = 6.7, 20 mL) gewaschen und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Aufgrund der geringen Ausbeute wurde auf die Säulenchromatographie verzichtet.

Ausbeute: 38 mg eines noch verunreinigten gelblichen Öls (100 % = 181 mg).

Variante 2:

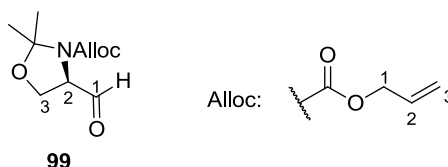
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Allyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-D-serinmethylester **220** (439 mg, 1.80 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Methanol (5 mL) gelöst und für 10 min bei -10 °C gerührt. Anschließend wurde Lithiumborhydrid-Lösung (2 M in THF, 1.82 mL, 3.64 mmol, 2.0 Äq.) bei -10 °C zugetropft, das Gemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für 2.5 h bei dieser Temperatur gerührt. Es wurde nochmals auf -10 °C gekühlt, weitere Lithiumborhydrid-Lösung (2 M in THF, 0.90 mL, 1.80 mmol, 1.0 Äq.) wurde bei -10 °C zugetropft, und das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (20 mL) beendet und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchlorid-Lösung (2 x 20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan:EtOAc 2:1 → EtOAc).

Ausbeute: 287 mg (1.33 mmol, 74 %) eines gelblichen Öls.

DC: R_f -Wert (PE:Et₂O 1:1) = 0.40. **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 5.95 (dddd, $J = 17.3$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.4$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.31 (dddd, $J = 17.3$ Hz, $J = 3.3$ Hz, $J = 3.3$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.21 (dddd, $J = 10.6$ Hz, $J = 2.9$ Hz, $J = 2.9$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, Alloc-H-3_b), 4.57-4.55 (m, 2H,

Alloc-H-1), 4.49 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, OH), 3.97 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-1_a), 3.93 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-1_b), 3.90-3.86 (m, 1H, H-2), 3.61-3.57 (m, 1H, H-3_a), 3.35-3.30 (m, 1H, H-3_b), 1.50 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)₂). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 152.35 (Alloc-C=O), 133.83 (Alloc-C-2), 117.50 (Alloc-C-3), 93.82 (C(CH₃)₂), 65.50 (C-1), 65.29 (Alloc-C-1), 61.24 (C-3), 58.89 (C-2), 27.06 (C(CH₃)₂), 24.19 (C(CH₃)₂). **MS** (ESI⁺): $m/z = 238.1$ [M+Na]⁺ **HRMS** (ESI⁺): C₁₀H₁₇NO₄ (215.25), ber.: 238.1050 [M+Na]⁺, gef.: 238.1047. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3436, 2985, 2877, 1680, 1404, 1347, 1258, 1073, 844, 767. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +14.8$ (c = 1.3, CHCl₃).

Synthese von *N*-Allyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-*D*-serinal (Alloc-*Garner*-Aldehyd) **99**^[150]

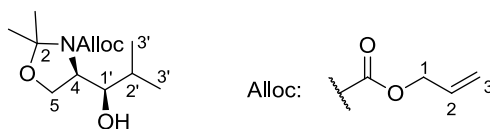


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Oxalylchlorid (2.4 mL, 3.6 g, 28 mmol, 1.5 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (30 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde über 5 min abs. Dimethylsulfoxid (3.9 mL, 4.3 g, 54 mmol, 3.0 Äq.), gelöst in abs. Dichlormethan (7.5 mL), getropft, wobei sich das Reaktionsgemisch auf -70 °C erwärmte. Bei -60 °C wurde eine Lösung aus *N*-Allyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-*D*-serinol **221** (3.90 g, 18.1 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (30 mL) tropfenweise über 20 min zugegeben. Das Reaktionsgemisch erwärmte sich dabei auf -55 °C. Der Tropftrichter wurde anschließend mit abs. Dichlormethan (2 x 5 mL) gewaschen, und bei -45 °C wurde abs. Diisopropylethylamin (18.9 mL, 14.4 g, 111 mmol, 6.0 Äq.), gelöst in abs. Dichlormethan (3 mL), über 5 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C erwärmt und mit eisgekühlter verd. Salzsäure (1 M, 70 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 20 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Phosphat-Puffer (0.1 M, pH 6, 3 x 50 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan:EtOAc 4:1 → 2:1).

Ausbeute: 3.40 g (15.9 mmol, 88 %) eines gelblichen Öls.

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.25. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 9.58 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H-1), 5.92 (dddd, J = 17.3 Hz, J = 10.6 Hz, J = 5.4 Hz, J = 5.4 Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.29 (dddd, J = 17.3 Hz, J = 1.3 Hz, J = 1.3 Hz, J = 1.3 Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.21 (dddd, J = 10.6 Hz, J = 1.3 Hz, J = 1.3 Hz, J = 1.3 Hz, 1H, Alloc-H-3_b), 4.57 (ddd, J = 5.4 Hz, J = 1.3 Hz, 2H, Alloc-H-1), 4.48 (ddd, J = 6.7 Hz, J = 3.4 Hz, J = 1.7 Hz, 1H, H-2), 4.15-4.09 (m, 2H, H-3), 1.57 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.51 (s, 3H, C(CH₃)₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 199.29 (C-1), 152.20 (Alloc-C=O) 133.42 (Alloc-C-2), 117.67 (Alloc-C-3), 94.93 (C(CH₃)₂), 65.74 (Alloc-C-1), 64.94 (C-2), 63.76 (C-3), 26.14 (C(CH₃)₂), 24.49 (C(CH₃)₂). **MS** (ESI⁺): m/z = 236.1 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₀H₁₅NO₄ (213.23), ber.: 236.0893 [M+Na]⁺, gef.: 236.0893. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2967, 2914, 2802, 1694, 1510, 1084, 996, 730. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25}$ = +58.3 (c = 1.1, CHCl₃).

Synthese von (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin 98



98

Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Alloc-Garner-Aldehyd **99** (200 mg, 0.940 mmol, 1.0 Äq.) und Zinkbromid (967 mg, 4.29 mmol, 4.5 Äq.) wurden in abs. Tetrahydrofuran (7 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt, und *iso*-Propylmagnesiumchlorid-Lösung (2 M in THF, 1.55 mL, 3.09 mmol, 3.3 Äq.) wurde bei dieser Temperatur über 15 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei -78 °C für 2 h gerührt, mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 20 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 8:1 → 3:1).

Ausbeute: 57 mg (0.22 mmol, 24 %) eines farblosen Öls.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Zur Darstellung einer Di-*iso*-propylzink-Lösung wurde Zinkchlorid (680 mg, 5.00 mmol, 1.0 Äq.) unter Hochvakuum bei 200 °C für 5 min getrocknet und in abs. Tetrahydrofuran (5 mL) suspendiert. *iso*-Propylmagnesiumchlorid-Lösung (2 M in Tetrahydrofuran, 5.25 mL, 10.5 mmol, 2.1 Äq.) wurde über 5 min bei Raumtemperatur zugetropft und das Reaktionsgemisch für 20 min bei Raumtemperatur bis zur Entstehung einer klaren Lösung gerührt. *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyd **99** (115 mg, 0.540 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Toluol (5 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt, und die frisch hergestellte Di-*iso*-propylzink-Lösung (1 M in Tetrahydrofuran, 1.92 mL, 1.92 mmol, 3.6 Äq.) wurde zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei dieser Temperatur für 10 min und bei 0 °C für 5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung (15 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether (3 x 15 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 6:1 → 3:1).

Ausbeute: 37 mg (0.14 mmol, 27 %) eines farblosen Öls

Variante 3:

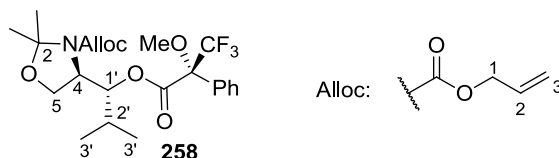
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Alloc-*Garner*-Aldehyd **99** (2.86 g, 13.5 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (100 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt, und *iso*-Propylmagnesiumchlorid-Lösung (2 M in THF, 22.5 mL, 45.0 mmol, 3.3 Äq.) wurde über 15 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei -78 °C für 2 h, bei 0 °C für 1.5 h gerührt und anschließend mit Diethylether (50 mL) verdünnt. Ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) wurde zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether (3 x 50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 6:1 → 3:1 → 1:1).

Ausbeute: 1.23 g (4.79 mmol, 36 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.31. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.93 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 5.7$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.33 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 2.9$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.25 (dddd, $J = 10.5$ Hz, $J = 2.9$ Hz, $J = 1.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, Alloc-H-3_b), 4.67-4.63 (m, 2H, Alloc-H-1), 4.10-4.03 (m, 1H, H-4), 3.96 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1H, H-5_a), 3.78 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, H-5_b), 3.53-3.44 (m, 1H, H-1'), 1.71-1.65 (m, 1H, H-2'), 1.63 (s, 3H, 2-CH₃), 1.53 (s, 3H, 2-CH₃), 1.02 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-3'), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-3'). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 155.95 (Alloc-C=O), 132.26 (Alloc-C-2), 118.30 (Alloc-C-3), 94.35 (C-2), 78.44 (C-1'), 66.49 (Alloc-C-1), 65.52 (C-5), 61.05 (C-4), 31.03 (C-2'), 27.09 (2-CH₃), 24.44 (2-CH₃), 20.33 (C-3'), 14.45 (C-3'). **MS** (ESI⁺): $m/z = 280.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₃H₂₃NO₄ (257.33), ber.: 280.1519 [M+Na]⁺, gef.: 280.1521. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3477, 2967, 2931, 1691, 1401, 1251, 1069, 995, 929, 844, 767. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +31.1$ ($c = 1.1$, CHCl_3).

Versuch der Konfigurationsbestimmung über den Mosher-Ester 258 und 259

Veresterung mit (*R*)-Mosher-Säure

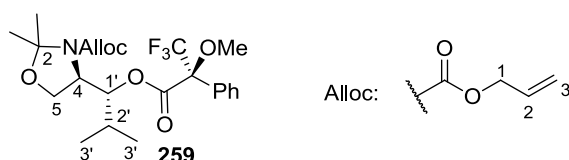


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (0.7 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (30 mg, 0.12 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und bei Raumtemperatur mit Dimethylaminopyridin (2.2 mg, 20 μmol , 0.15 Äq.) und (*R*)-Mosher-Säure (32 mg, 0.14 mmol, 1.2 Äq.) versetzt. Dicyclohexylcarbodiimid (27 mg, 0.13 mmol, 1.1 Äq.), gelöst in abs. Dichlormethan (0.13 mL), wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur für 4 h gerührt. Eine weitere Portion Dicyclohexylcarbodiimid (27 mg, 0.13 mmol, 1.1 Äq.), gelöst in abs. Dichlormethan (0.15 mL), wurde zugetropft, das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 10 mL) und Natriumchlorid-Lösung (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan:EtOAc 3:1). Es konnte nur Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 47 mg von reisolierem Edukt als farbloses Öl.

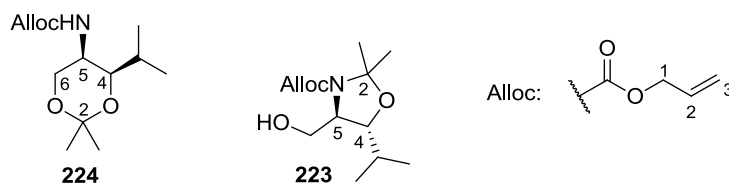
Veresterung mit (*S*)-Mosher-Säure



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (3 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (20 mg, 78 μ mol, 1.0 Äq.) wurde gelöst, (*S*)-Mosher-Säure (34 mg, 0.15 μ mol, 1.9 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (38 mg, 0.20 μ mol, 2.5 Äq.) und Dimethylaminopyridin (2.8 mg, 27 μ mol, 0.3 Äq.) wurden bei Raumtemperatur zugegeben und für 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach DC-Kontrolle (*n*-Hexan:EtOAc 3:1) wurde eine weitere Portion 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (38 mg, 0.20 μ mol, 2.5 Äq.) und Dimethylaminopyridin (2.8 mg, 27 μ mol, 0.3 Äq.) zugegeben und die Reaktionslösung für weitere 24 h gerührt. Anschließend wurde mit einer Mischung aus Ethylacetat:*n*-Hexan (1:19, 20 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL), Wasser (2 x 10 mL) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung (20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es konnte nur Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 39 mg von reisolierem Edukt als farbloses Öl.

Synthese von (4*R*,5*R*)-5-*N*-Allyloxycarbonyl-4-isopropyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxan **224** und (4*R*,5*R*)-1-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(hydroxymethyl)-5-isopropyl-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **223**



(4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (24 mg, 93 μmol , 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (4 mL) gelöst, verd. Salzsäure (0.5 M, 0.13 mL) wurde bei Raumtemperatur zugetropft und die Reaktionslösung für 24 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde unter Argon-Atmosphäre in abs. Dichlormethan (1.3 mL) gelöst, bei Raumtemperatur wurde 2,2-Dimethoxypropan (130 μL , 110 mg, 1.10 mmol, 1.2 Äq.) und *p*-Toluolsulfonsäure (1.7 mg, 9.9 μmol , 0.1 Äq.) zugegeben und das Gemisch für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde anschließend mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt, die organische Phase mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 20 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand mittels Säulenchromatographie gereinigt (*n*-Hexan:EtOAc 9:1→8:2).

Ausbeute (224): 11 mg (43 μmol , 46 %) eines farblosen Öls.

Ausbeute (223): 15 mg (58 μmol , 62 %) eines farblosen Öls.

Analytische Daten von **224**:

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 9:1) = 0.43. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 6.86 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, NH), 5.91 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 5.2$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.31 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.18 (dddd, $J = 10.5$ Hz, $J = 3.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, Alloc-H-3_b), 4.50-4.48 (m, 2H, Alloc-H-1), 3.99 (dd, $J = 11.9$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-6_a), 3.55-3.51 (m, 2H, H-5, H-6_b), 3.46 (dd, $J = 9.5$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-4), 1.66-1.58 (m, 1H, H-1'), 1.36 (s, 3H, 2-CH₃), 1.32 (s, 3H, 2-CH₃), 0.86 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-2'), 0.77 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-2'). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 156.25 (Alloc-C=O), 134.15 (Alloc-C-2), 117.26 (Alloc-C-3), 98.84 (C-2), 76.16 (C-4), 64.86 (Alloc-C-1), 64.84 (C-6), 46.10 (C-5), 29.69 (2-CH₃), 28.94 (C-1'), 19.41 (2-CH₃), 19.37 (C-2'), 17.68 (C-2').

Analytische Daten von **223**:

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 9:1) = 0.17. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 5.94 (dddd, $J = 17.3$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.3$ Hz, $J = 5.3$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.29 (dddd, $J = 17.3$ Hz, $J = 1.7$ Hz, $J = 1.7$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.22-5.19 (m,

1H, Alloc-H-3_b), 4.97-4.84 (m, 1H, OH), 4.58-4.49 (m, 2H, Alloc-H-1), 3.73 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-5), 3.69-3.66 (m, 1H, H-4), 3.55-3.44 (m, 2H, CH₂OH), 1.74 (dq, $J = 8.0$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-1'), 1.51 (s, 3H, 2-CH₃), 1.41 (s, 3H, 2-CH₃), 0.92 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-2'), 0.87 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-2'). ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 151.77 (Alloc-C=O), 133.87 (Alloc-C-2), 117.54 (Alloc-C-3), 93.97 (C-2), 83.31 (C-5), 65.15 (Alloc-C-1), 61.41 (C-4), 31.85 (C-1'), 27.41 (2-CH₃), 27.05 (2-CH₃), 19.56 (C-2'), 18.57 (C-2').

Synthese von (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-methylsulfonyloxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin 225



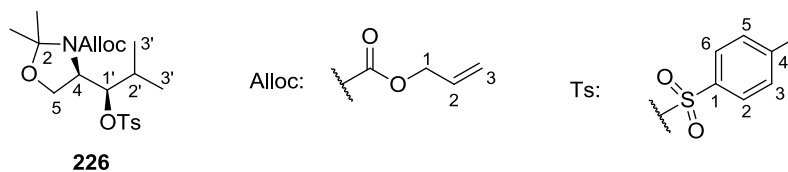
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (2 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-2'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (65 mg, 0.25 mmol, 1.0 Äq.) gelöst, bei Raumtemperatur mit Diisopropylethylamin (11 μ L, 8.1 mg, 1.1 mmol, 4.2 Äq.) und Dimethylaminopyridin (2.0 mg, 0.016 mmol, 0.05 Äq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Methansulfonylchlorid (40 μ L, 59 mg, 0.52 mmol, 2.1 Äq.) wurde zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei 0 °C und für 20.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden noch zweimal Diisopropylethylamin (11 μ L, 8.1 mg, 1.1 mmol, 4.2 Äq.), Dimethylaminopyridin (2.0 mg, 0.016 mmol, 0.05 Äq.) und abs. Dichlormethan (1 mL) bei Raumtemperatur und Methansulfonylchlorid (40 μ L, 59 mg, 0.52 mmol, 2.1 Äq.) bei 0 °C zugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde für je 30 min bei 0 °C und für 17 h bzw. 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (5 mL) beendet und das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 9:1 \rightarrow 8:2).

Ausbeute: 44 mg, (0.13 mmol, 52 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 1:1) = 0.23. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 5.94 (dddd, $J = 16.6$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H, Alloc-H-2),

5.35 (dddd, $J = 16.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.24 (dddd, $J = 10.6$ Hz, $J = 2.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, Alloc-H-3_b), 4.73 (ddd, $J = 5.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, Alloc-H-1), 4.64-4.60 (m, 2H, Alloc-H-1, H-1'), 4.38-4.29 (m, 1H, H-4), 4.00 (ddd, $J = 9.7$ Hz, $J = 6.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1H, H-5_a), 3.94 (dd, $J = 9.7$ Hz, $J = 1.2$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1H, H-5_b), 2.99 (s, 1H, SO₂CH₃), 2.05-1.96 (m, 1H, H-2'), 1.68 (s, 3H, 2-CH₃), 1.52 (s, 3H, 2-CH₃), 1.09 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-3'), 1.02 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-3'). ¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃, 50 °C): δ [ppm] = 152.82 (Alloc-C=O), 132.46 (Alloc-C-2), 118.02 (Alloc-C-3), 95.35 (C-2), 85.87 (C-1'), 65.97 (Alloc-C-1), 64.90 (C-5), 57.91 (C-4), 38.64 (SO₂CH₃), 29.09 (C-2'), 26.39 (2-CH₃), 21.49 (2-CH₃), 20.83 (C-3'), 15.94 (C-3'). **MS** (ESI⁺): $m/z = 358.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₄H₂₅NO₆S (335.42), ber.: 358.1300 [M+Na]⁺, gef.: 358.1311. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2974, 2944, 1701, 1400, 1333, 1260, 1105, 921, 767. **Drehwert**: $[\alpha]_D^{25} = +21.8$ (c = 1.2, CHCl₃).

Versuch der Synthese von (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-*p*-toluolsulfonyloxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin 226



Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Pyridin (1 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-2'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (30 mg, 0.12 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und bei 0 °C mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (34 mg, 0.18 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine weitere Portion *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (64 mg, 0.34 mmol, 2.9 Äq.) bei 0 °C zugegeben und das Gemisch für 7 d bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden Trimethylamin-hydrochlorid (11 mg, 0.12 mmol, 1.0 Äq.) und abs. Pyridin (1 mL) zugegeben und die Reaktionslösung für 1 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung (5 mL) beendet und das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (10 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (10 mL)

gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 6:1). Es konnte nur Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 15 mg von verunreinigtem Edukt als farbloses Öl.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (1 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (38 mg, 0.15 mmol, 1.0 Äq.) gelöst, mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (142 mg, 0.590 mmol, 4.0 Äq.) und Trimethylaminhydrochlorid (14 mg, 0.15 mmol, 1.0 Äq.) versetzt und für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt, die organische Phase mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 5:1). Es konnten nur Edukt und Zersetzungsprodukte reisoliert werden.

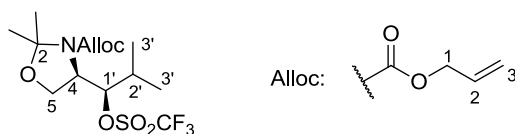
Ausbeute: 13 mg von verunreinigtem Edukt als farbloses Öl.

Variante 3:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (4 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-Hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (29 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und bei Raumtemperatur mit Triethylamin (54 µL, 42 mg, 0.42 mmol, 3.8 Äq.) versetzt. Bei 0 °C wurden *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (40 mg, 0.20 mmol, 1.8 Äq.) und Dimethylaminopyridin (14 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) zugegeben und die Reaktionslösung für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Bei 0 °C wurde ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) zugegeben und die wässrige Phase mit Dichlormethan (10 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumchlorid-Lösung (10 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 5:1). Es konnte nur Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 14 mg von verunreinigtem Edukt als farbloses Öl.

Versuch der Synthese von (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-trifluormethylsulfonyloxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **227**



227

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Dichlormethan (1.5 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-Hydroxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (34 mg, 0.13 mmol, 1.0 Äq.) gelöst, bei Raumtemperatur mit abs. Pyridin (30 µL, 29 mg, 0.37 mmol, 2.9 Äq.) versetzt, und bei -25 °C wurde Trifluormethansulfonsäureanhydrid (30 µL, 45 mg, 0.16 mmol, 1.2 Äq.) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei 0 °C gerührt, für 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt. Diethylether (5 mL) wurde bei 0 °C zugegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 5:1). Es konnte nur Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 4 mg von verunreinigtem Edukt als farbloses Öl.

Versuch der Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-azido-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **229**



229

Variante 1:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-methylsulfonyloxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **225** (36 mg, 0.11 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (3 mL) gelöst und mit Tetrabutylammoniumazid (150 mg, 0.530 mmol, 4.9 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 22 h bei Raumtemperatur gerührt, Wasser (10 mL) wurde zugegeben und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (15 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 4:1). Es konnte ausschließlich Edukt reisoliert werden.

Ausbeute: 23 mg (69 μ mol, 63 %) von reisoliertem Edukt.

Variante 2:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-methylsulfonyloxy-1'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **225** (32 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dimethylformamid (1 mL) gelöst und mit Natriumazid (37 mg, 0.57 mmol, 5.7 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei 80 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (10 mL) beendet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (10 mL) aufgenommen, mit Wasser (15 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 6:1). Es konnte ausschließlich Edukt reisoliert werden.

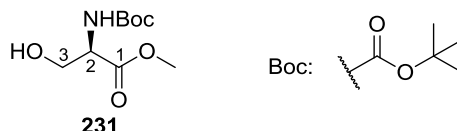
Ausbeute: 13 mg (50 μ mol, 50 %) von reisoliertem Edukt.

Variante 3:

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Tetrahydrofuran (1.5 mL) wurde (4*R*,1'*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-(1'-hydroxy-2'-isopropyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **98** (27 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und das Reaktionsgemisch auf 0 °C gekühlt. Triphenylphosphin (233 mg, 0.890 mmol, 8.9 Äq.) wurde zugegeben, anschließend eine Lösung von Diisopropylazodicarboxylat (180 μ L, 179 mg, 0.890 mmol, 8.9 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (1.5 mL) zugetropft und die Reaktionslösung für 5 min bei 0 °C gerührt. Diphenylphosphorylazid (190 μ L, 244 mg, 0.890 mmol, 8.9 Äq.) wurde zugetropft, das Reaktionsgemisch für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 95:5). Es konnten nur ein nicht näher identifiziertes Eliminierungsprodukt erhalten werden.

7.2.10.2 Synthese von geschützter (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminohexansäure und Versuche zur Synthese von weiteren geschützten (2*S*,3*S*)-2,3-Diaminosäuren

Synthese von *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D-serinmethylester **231**^[149]

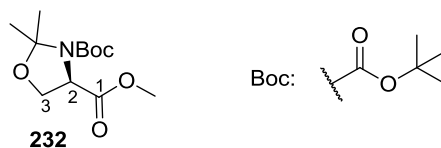


D-Serinmethylester-hydrochlorid **260** (23.6 g, 0.150 mol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (45 mL) suspendiert, bei Raumtemperatur mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (178 mL) und Di-*tert*-butyldicarbonat (38.9 g, 0.180 mol, 1.3 Äq.) versetzt und 19 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (50 mL) verdünnt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 170 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (170 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 34.9 g eines leicht verunreinigten farblosen Öls (100% = 30.5 g).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, 100 °C): δ [ppm] = 6.33 (s_{br}, 1H, NH) 4.57 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 1H, OH), 4.09 (ddd, $J = 7.8$ Hz, $J = 4.9$ Hz, $J = 4.9$ Hz, 1H, H-2), 3.70-3.67 (m, 2H, H-3), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 1.41 (s, 9H, Boc-CH₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆, 100 °C): δ [ppm] = 170.77 (C-1), 154.62 (Boc-C=O), 78.02 (Boc-C), 61.00 (C-3), 56.06 (C-2), 50.98 (OCH₃), 27.67 (Boc-CH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 242.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₉H₁₇NO₅ (219.24) ber.: 242.0999 [M+Na]⁺, gef.: 242.0999. **IR** (Film): ν [cm⁻¹] = 3406, 2978, 2369, 1744, 1703, 1514, 1366, 1248, 1165, 1062. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = -9.1$ (c = 1.4, CHCl₃).

Synthese von *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*,*O*-isopropyliden-D-serinmethylester **232**^[149]



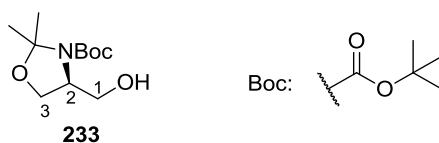
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D-serinmethylester **231** (30.7 g, 0.140 mol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Aceton (147 mL) gelöst, mit 2,2-Dimethoxypropan (145 mL, 122 g,

1.18 mol, 8.4 Äq.) und Bortrifluorid-Etherat (1.2 mL, 1.4 g, 9.6 mmol, 0.07 Äq.) versetzt und das Reaktionsgemisch für 4.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Triethylamin (3 mL) wurde zugegeben und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Diethylether (120 mL) und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (150 mL) aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether (2 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 9:1).

Ausbeute: 30.0 g (0.120 mmol, 86 %) eines gelben Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:1) = 0.59. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 4.42 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-2), 4.18 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-3_a), 3.95 (dd, $J = 9.2$ Hz, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-3_b), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 1.58 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.48 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.41 (s, 9H, Boc-CH₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 170.52 (C-1), 150.40 (Boc-C=O), 93.49 (C(CH₃)₂), 79.16 (Boc-C), 65.13 (C-3), 58.35 (C-2), 51.25 (OCH₃), 27.43 (Boc-CH₃), 24.68 (C(CH₃)₂), 24.01 (C(CH₃)₂). **MS** (ESI⁺): $m/z = 282.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₂H₂₁NO₅ (259.30), ber.: 282.1317 [M+Na]⁺, gef.: 282.1324. **IR** (Film): ν [cm⁻¹] = 3500, 2981, 2359, 1760, 1710, 1393, 1205, 1094, 848, 770. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +48.6$ (c = 0.93, CHCl₃).

Synthese von *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-D-serinol **233**^[149]



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Lithiumaluminiumhydrid (1.42 g, 37.4 mmol, 1.5 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (65 mL) gelöst, und eine Lösung von *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-D-serinmethylester **232** (6.55 g, 25.3 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (37 mL) wurde bei Raumtemperatur über 30 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde eine wässrige Kaliumhydroxid-Lösung (10 %, 20 mL) bei 0 °C langsam zugetropft, Tetrahydrofuran (50 mL) wurde zugegeben und die Reaktionslösung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde über Celite[®] filtriert und die Celite[®] mit

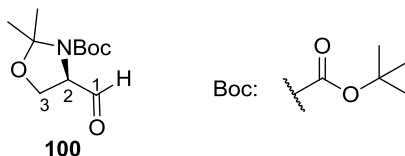
Diethylether (3 x 20 mL) gewaschen. Das Filtrat wurde mit Phosphat-Puffer (0.1 M, pH 6.7, 3 x 30 mL) gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Ausbeute: 5.60 g (24.2 mmol, 97 %) eines hellgelbes Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 8:3) = 0.10. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 4.43 (dd, $J = 5.5$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H, OH), 3.94-3.88 (m 2H, H-1), 3.83-3.78 (m, 1H, H-2), 3.60-3.56 (m, 1H, H-3_a), 3.31-3.26 (m, 1H, H-3_b), 1.47 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.44 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.44 (s, 3H, C(CH₃)₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 150.98 (Boc-C=O), 92.39 (C(CH₃)₂), 78.53 (Boc-C), 64.24 (C-1), 60.38 (C-3), 57.93 (C-2), 27.59 (Boc-CH₃), 26.29 (C(CH₃)₂), 23.29 (C(CH₃)₂). **MS** (ESI): $m/z = 230.2$ [M-H]⁻. **HRMS** (ESI): C₁₁H₂₁NO₄ (231.29) ber.: 230.1398 [M-H]⁻, gef.: 230.1396. **IR** (Film): ν [cm⁻¹] = 3461, 2983, 1699, 1476, 1393, 1259, 1173, 1074, 849, 771. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +13.9$ (c = 1.1, CHCl₃).

Synthese von *N-tert-Butyloxycarbonyl-N,O-isopropyliden-D-serinal*

(*N*-Boc-Garner-Aldehyd) **100**^[149]



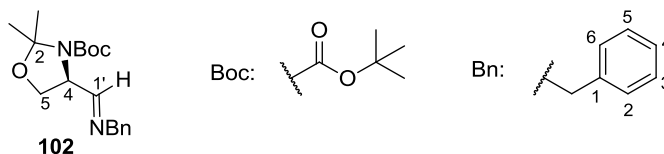
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Oxalylchlorid (3.12 mL, 4.62 g, 36.4 mmol, 1.5 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (40 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Eine Lösung von abs. Dimethylsulfoxid (5.02 mL, 5.52 g, 70.7 mmol, 3.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (10 mL) wurde über 25 min zugetropft, wobei sich das Reaktionsgemisch auf -70 °C erwärmte. Bei -60 °C wurde *N-tert*-butyloxycarbonyl-*N,O*-isopropyliden-D-serinol **233** (5.47 g, 23.6 mmol, 1.0 Äq.), gelöst in abs. Dichlormethan (40 mL), über 50 min zugetropft, wobei sich das Reaktionsgemisch auf -55 °C erwärmte. Der Tropftrichter wurde mit abs. Dichlormethan (2 x 5 mL) gewaschen, und Diisopropylethylamin (24.6 mL, 18.7 g, 145 mmol, 6.1 Äq.), gelöst in abs. Dichlormethan (4 mL), wurde bei -45 °C über 5 min zugetropft. Das Kältebad wurde entfernt, und bei 0 °C wurde eisgekühlte Salzsäure (1 M, 90 mL) zugegeben. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 x 20 mL) extrahiert,

die vereinigten organischen Phasen mit Phosphat-Puffer (0.1 M, pH 6, 3 x 60 mL) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum ergab das Rohprodukt, welches ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt wurde.

Ausbeute: 5.20 g (22.7 mmol, 96 %) eines gelben Öls.

DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 3:1) = 0.28. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 9.54 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-1), 4.35 (ddd, $J = 7.2$ Hz, $J = 3.5$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-2), 4.09 (dd, $J = 9.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-3_a), 4.03 (dd, $J = 9.4$ Hz, $J = 3.5$ Hz, 2H, H-3_b), 1.55 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.49 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.43 (s, 9H, Boc-CH₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 198.47 (C-1), 150.98 (Boc-C=O), 93.47 (C(CH₃)₂), 79.57 (Boc-C), 63.95 (C-2), 62.48 (C-3), 27.43 (Boc-CH₃), 25.30 (C(CH₃)₂), 23.69 (C(CH₃)₂). **MS** (ESI⁺): $m/z = 252.1$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₁H₁₉NO₄ (229.27), ber.: 252.1206 [M+Na]⁺, gef.: 252.1208. **IR** (Film): ν [cm⁻¹] = 2983, 2362, 1704, 1393, 1260, 1172, 1096, 1001, 850, 769. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +63.6$ (c = 1.1, CHCl₃).

Synthese von (4S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylimino)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **102**

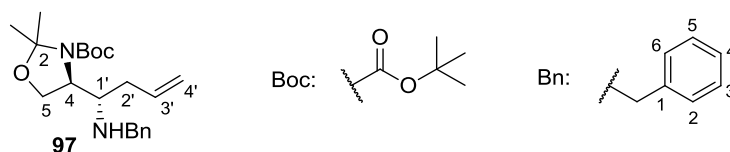


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Boc-Garner-Aldehyd **100** (2.28 g, 9.94 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (50 mL) gelöst, mit aktiviertem Molsieb (3 Å, 19 g) versetzt und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung von Benzylamin (1.10 mL, 1.10 g, 10.3 mmol, 1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan (50 mL) wurde über 30 min zugetropft und das Reaktionsgemisch für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde über Celite[®] filtriert, die Celite[®] mit Dichlormethan (2 x 100 mL) gewaschen und das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 2.90 g (9.13 mmol, 92 %) eines gelben Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 7.76 (ddd, *J* = 3.9 Hz, *J* = 1.4 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-1'), 7.33-7.22 (m, 5H, Bn-CH), 4.60 (s, 2H, Bn-CH₂), 4.42 (ddd, *J* = 6.7 Hz, *J* = 3.9 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H, H-4), 4.09 (dd, *J* = 8.9 Hz, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-5_a), 4.01 (dd, *J* = 8.9 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H, H-5_b), 1.53 (s, 3H, 2-CH₃), 1.49 (s, 3H, 2-CH₃), 1.39 (s, 9H, Boc-CH₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 163.44 (C-1), 150.91 (Boc-C=O), 138.77 (Bn-C-1), 127.54 (Bn-C-3, Bn-C-5), 127.13 (Bn-C-2, Bn-C-6), 126.02 (Bn-C-4), 93.06 (C-2), 78.86 (Boc-C), 65.20 (C-5), 62.56 (Bn-CH₂), 59.27 (C-4), 27.49 (Boc-CH₃), 25.61 (2-CH₃), 23.81 (2-CH₃). **MS** (ESI⁺): *m/z* = 341.2 [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₈H₂₆N₂O₃ (318.41), ber.: 341.1836 [M+Na]⁺, gef.: 341.1836. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2988, 1688, 1453, 1392, 1362, 1241, 1163, 1093, 859, 739. **UV** (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 247 nm (2.95). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +49.0$ (*c* = 1.2, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: *T*_m = 65 °C.

Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylamino)-but-3'-enyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin 97

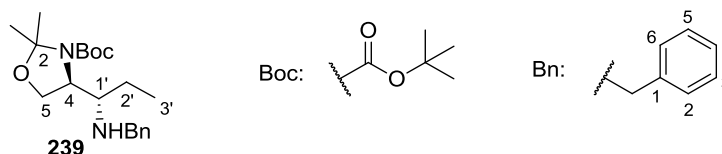


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. (4*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylamino)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **102** (3.00 g, 9.43 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (48 mL) gelöst und auf -80 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde Allylmagnesiumchlorid (1.7 M, 5.5 mL, 9.4 mmol, 1.0 Äq.) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde über 1.5 h auf -3 °C erwärmt, anschließend ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) zugegeben und mit Wasser (50 mL) und Diethylether (50 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 7:1).

Ausbeute: 1.88 g (4.42 mmol, 47 %) eines gelben Öls.

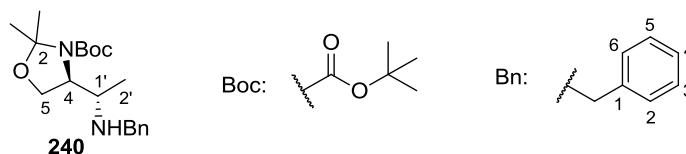
DC: R_f -Wert (PE:EtOAc 1:1) = 0.60. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 7.32-7.19 (m, 5H, Bn-CH), 5.86 (dddd, $J = 17.1$ Hz, $J = 10.1$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-3'), 5.08 (dddd, $J = 17.1$ Hz, $J = 3.3$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, H-4'a), 5.03-5.01 (m, 1H, H-4'b), 4.08-4.04 (m, 1H, H-5a), 3.91-3.87 (m, 2H, H-4, H-5b), 3.83 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 3.74 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 3.08-3.05 (m, 1H, H-1'), 2.29-2.23 (m, 1H, H-2'a), 2.14-2.09 (m, 1H, H-2'b), 1.71 (s_{br}, 1H, NH), 1.54 (s, 3H, 2-CH₃), 1.45 (s, 3H, 2-CH₃), 1.43 (s, 9H, Boc-CH₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 151.41 (Boc-C=O), 140.68 (Bn-C-1), 135.71 (C-3'), 127.42 (Bn-C-3, Bn-C-5), 127.20 (Bn-C-2, Bn-C-6), 125.85 (Bn-C-4), 115.64 (C-4'), 92.89 (C-2), 78.64 (Boc-C), 63.13 (C-5), 59.36 (C-4), 56.98 (C-1'), 51.09 (Bn-CH₂), 35.92 (C-2'), 27.57 (Boc-CH₃), 25.91 (2-CH₃), 23.27 (2-CH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 361.2$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₁H₃₂N₂O₃ (360.49), ber.: 361.2486 [M+H]⁺, gef.: 361.2480. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2977, 1693, 1454, 1363, 1249, 1171, 1088, 911, 855, 698. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 250 nm (2.53), 292 nm (2.01). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +52.2$ (c = 1.1, CHCl₃).

Versuch der Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylamino)-propyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin 239



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. (4*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylamino)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **102** (100 mg, 0.310 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (1.5 mL) gelöst und auf -80 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde Ethylmagnesiumchlorid (2.0 M, 0.17 mL, 0.34 mmol, 1.1 Äq.) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde über 1.5 h auf -3 °C erwärmt, anschließend ges. Ammoniumchlorid-Lösung (2 mL) zugegeben und mit Wasser (15 mL) und Diethylether (15 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (15 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (15 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 7:1). Es konnte kein Produkt isoliert werden. Es wurde ein Gemisch aus Edukt **102**, *Garner*-Aldehyd **100** und Zersetzungsprodukten erhalten.

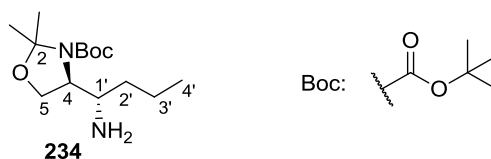
Versuch der Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-Benzylamino)-ethyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **240**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. (4*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylimino)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **102** (100 mg, 0.310 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) gelöst und auf -80 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde Methylmagnesiumchlorid (3.0 M, 0.12 mL, 0.34 mmol, 1.1 Äq.) langsam zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über 1.5 h auf -3 °C erwärmt, anschließend ges. Ammoniumchlorid-Lösung (2 mL) zugegeben und mit Wasser (15 mL) und Diethylether (15 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (15 mL) und ges. Natriumchlorid-Lösung (15 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 7:1). Es konnte kein Produkt erhalten werden. Es konnte ausschließlich *Garner*-Aldehyd **100** erhalten werden.

Ausbeute (*N*-Boc-*Garner*-Aldehyd **100**): 53 mg (0.23 mmol, 73 %) eines gelblichen Öls.

Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-(1'-aminobutyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **234**

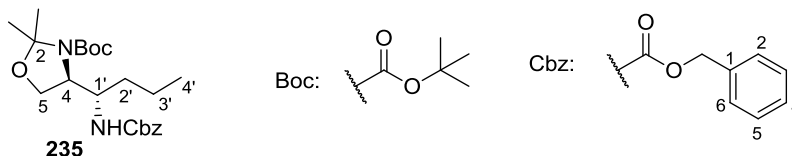


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff auszuschließen. (4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-((1'-benzylimino)-but-3'-enyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **97** (2.00 g, 4.71 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Methanol (85 mL) gelöst, mit Pd/C (10 %, 1.28 g, 1.20 mmol, 0.3 Äq.) versetzt und unter Rückfluss und H₂-Einleitung für 4.5 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde über Celite[®] filtriert, die Celite[®] mit Methanol (50 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 1.45 g (4.32 mmol, 92 %) eines farblosen Öls.

DC: R_f -Wert (DCM:MeOH 9:1) = 0.40. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 3.98 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, H-5_a), 3.85 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-5_b), 3.76-3.73 (m, 1H, H-4), 3.02 (ddd, $J = 8.8$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H, H-1'), 1.52 (s, 3H, 2-CH₃) 1.45 (s, 3H, 2-CH₃), 1.44 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.37-1.28 (m, 3H, H-2'_a, H-3'), 1.26-1.20 (m, 1H, H-2'_b), 0.90 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-4'). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 152.57 (Boc-C=O), 93.74 (C-2), 79.65 (Boc-C), 63.82 (C-5), 62.05 (C-4), 52.04 (C-1'), 36.50 (C-2'), 28.60 (Boc-CH₃), 27.09 (2-CH₃), 24.25 (2-CH₃), 19.49 (C-3'), 14.23 (C-4'). **MS** (ESI⁺): $m/z = 273.2$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₄H₂₈N₂O₃ (272.38), ber.: 273.2173 [M+H]⁺, gef.: 273.2177. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2929, 1691, 1363, 1260, 1179, 1090, 849, 767. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = +21.6$ (c = 1.2, CHCl₃).

Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-*N*-benzyloxycarbonyl-1'-aminobutyl-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin 235



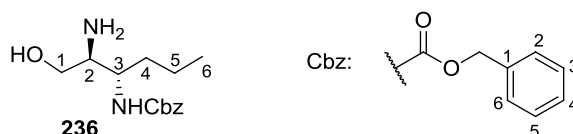
(4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-(1'-aminobutyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **234** (1.40 g, 4.16 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Dichlormethan (45 mL) und Wasser (45 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit Natriumhydrogencarbonat (1.95 g, 23.2 mmol, 6.0 Äq.) und Benzylchlorformiat (600 μL , 717 mg, 4.25 mmol, 6.0 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 21 h bei Raumtemperatur gerührt, die Phasen getrennt und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan: EtOAc 7:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.60 g (4.03 mmol, 97 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_f -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.20. **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 7.37-7.27 (m, 5H, Cbz-CH), 6.52 (s_{br}, 1H, NH), 5.06-4.99 (m, 2H, Cbz-CH₂), 4.00-3.95 (m, 2H, H-5), 3.87-3.80 (m, 2H, H-4, H-1'), 1.45 (s, 3H, Boc-CH₃), 1.42 (s, 3H, 2-CH₃), 1.39 (s, 3H, 2-CH₃), 1.39-1.26 (m, 4H, H-2', H-3'), 0.88 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-4'). **$^{13}\text{C-NMR}$** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 156.62

(Cbz-C=O), 152.12 (Boc-C=O), 137.91 (Cbz-C-1), 128.60 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 127.99 (Cbz-C-4), 127.95 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 93.70 (C-2), 79.60 (Boc-C), 65.76 (Cbz-CH₂), 63.90 (C-5), 60.65 (C-4), 52.18 (C-1'), 34.30 (C-2'), 28.61 (Boc-CH₃), 27.76 (2 x 2-CH₃), 19.37 (C-3'), 13.95 (C-4'). **MS** (ESI⁺): $m/z = 429.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₂H₃₄N₂O₅ (406.52), ber.: 429.2365 [M+H]⁺, gef.: 429.2357. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3320, 2871, 1716, 1679, 1540, 1400, 1363, 1099, 1061, 863, 760, 701. **UV** (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 258 nm (2.62). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +35.9$ (c = 1.2, CHCl₃). **Schmelzpunkt**: T_m = 81 °C.

Synthese von (2*S*,3*S*)-*N*³-Benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexanol **236**



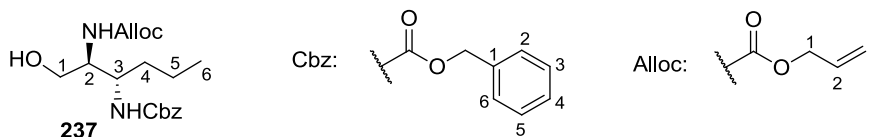
(4*S*,1'*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-*N*-benzyloxycarbonyl-1'-aminobutyl-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **235** (1.54 g, 3.79 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Tetrahydrofuran (5 mL) gelöst, mit verd. Salzsäure (5 M, 3.8 mL, 19.0 mmol, 5.0 Äq.) versetzt und für 6 h unter Rückfluss gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit Dichlormethan (10 mL) und Wasser (10 mL) versetzt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit wässriger Natriumhydroxid-Lösung (5 %) auf pH 2 gebracht und mit Ethylacetat (3 x 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 810 mg (2.45 mmol, 65 %) eines weißen Feststoffes.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 7.38-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 6.92 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, NH), 5.01 (s, 2H, Cbz-CH₂), 3.43-3.38 (m, 1H, H-3), 3.37 (dd, $J = 10.2$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H, H-1_a), 3.17 (dd, $J = 10.2$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1_b), 2.61 (ddd, $J = 8.0$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H, H-2), 1.54-1.46 (m, 1H, H-4_a), 1.38-1.26 (m, 2H, H-5), 1.23-1.16 (m, 1H, H-4_b), 0.85 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-6). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO-d₆, 100 °C): δ [ppm] = 156.59 (Cbz-C=O), 137.91 (Cbz-C-1), 128.77 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.13 (Cbz-C-4), 128.00 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 65.48 (Cbz-CH₂), 64.30 (C-1), 56.83 (C-2), 53.41 (C-3), 32.33 (C-4), 19.29 (C-5), 14.40 (C-6). **MS** (ESI⁺): $m/z = 267.2$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₄H₂₂N₂O₃ (266.34), ber.: 267.1703 [M+H]⁺, gef.: 267.1700. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 3320, 2952, 1687, 1532, 1304, 1245, 1047, 893, 730, 672.

UV (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 258 nm (2.56). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -7.2$ ($c = 1.1$, CHCl_3).
Schmelzpunkt: $T_{\text{m}} = 152$ °C.

Synthese von (2S,3S)-N²-Allyloxycarbonyl-N³-benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexanol 237



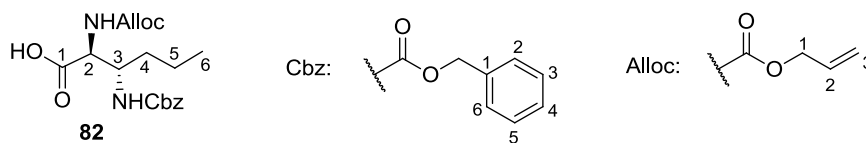
(2S,3S)-N³-Benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexanol **236** (553 mg, 1.67 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Wasser (30 mL) und Acetonitril (30 mL) gelöst, bei Raumtemperatur mit Natriumcarbonat (352 mg, 3.32 mmol, 2.0 Äq.) versetzt, und eine Lösung von Allylchlorformiat (180 μL , 204 mg, 1.69 mmol, 1.0 Äq.) in Acetonitril (1.2 mL) wurde zutropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Ethylacetat (50 mL) verdünnt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 1:1).

Ausbeute: 679 mg (1.64 mmol, 98 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_{f} -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 1:1) = 0.26. **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.38-7.32 (m, 5H, Cbz-CH), 5.91 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.5$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.45 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, NH-2), 5.32-5.28 (m 1H, Alloc-H-3_a), 5.22-5.20 (m, 1H, Alloc-H-3_b), 5.13 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H, Cbz-CH₂), 5.10 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H, Cbz-CH₂), 4.89 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, NH-3), 4.57-4.36 (m, 2H, Alloc-H-1), 3.77-3.75 (m, 1H, H-2), 3.67-3.61 (m, 1H, H-3), 3.56-3.49 (m, 2H, H-1), 1.71-1.64 (m, 1H, H-4_a), 1.51-1.44 (m, 1H, H-4_b), 1.42-1.26 (m, 2H, H-5), 0.91 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-6). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 157.77 (Alloc-C=O), 156.32 (Cbz-C=O), 136.04 (Cbz-C-1), 132.76 (Alloc-C-2), 128.61 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.35 (Cbz-C-4), 128.09 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 117.66 (Alloc-C-3), 67.32 (Cbz-CH), 65.73 (Alloc-C-1), 62.13 (C-1), 55.87 (C-2), 52.01 (C-3), 33.82 (C-4), 19.31 (C-5), 13.75 (C-6). **MS** (ESI⁺): $m/z = 373.2$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ (350.41), ber.: 373.1739 [M+Na]⁺, gef.: 373.1755. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3298, 2952, 1687, 1547, 1304, 1238, 1047, 738, 701. **UV**

(MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 258 nm (2.75). **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -22.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).
Schmelzpunkt: $T_{\text{m}} = 180$ °C.

Synthese von (2*S*,3*S*)-*N*²-Allyloxycarbonyl-*N*³-benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexansäure **82**



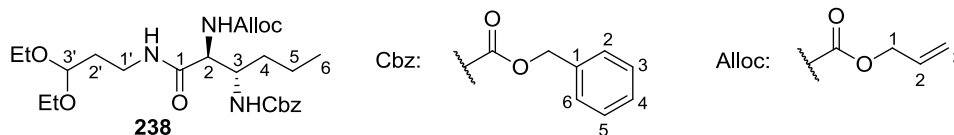
(2*S*,3*S*)-*N*²-Allyloxycarbonyl-*N*³-benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexanol **237** (28 mg, 80 μmol , 1.0 Äq.) wurde in Acetonitril (2 mL) gelöst, mit Wasser (2 mL), Bisacetoxyiodbenzol (48 mg, 0.15 mmol, 2.2 Äq.) und 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (4.0 mg, 0.026 mmol, 0.3 Äq.) versetzt und unter DC-Kontrolle (DCM:MeOH:HOAc 9:1:0.1) für 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde nochmals mit Bisacetoxyiodbenzol (48 mg, 0.15 mmol, 2.2 Äq.) und 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidin-1-oxyl (4.0 mg, 0.026 mmol, 0.3 Äq.) versetzt und für weitere 21 h gerührt. Zum Reaktionsgemisch wurden Ethylacetat (10 mL) und verd. Salzsäure (1 M, 10 mL) gegeben. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 20 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM:MeOH:HOAc 97:3:0.1).

Ausbeute: 19 mg (53 μmol , 66 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_{f} -Wert (DCM:MeOH:HOAc 95:5:1) = 0.32. **¹H-NMR** (500 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 7.40-7.27 (m, 5H, Cbz-CH), 5.93 (dddd, $J = 17.2$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 5.4$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H, H-2'), 5.35-5.32 (m, 1H, H-3'_a), 5.21-5.19 (m, 1H, H-3'_b), 5.08 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.57-4.56 (m, 2H, H-1'), 4.51-4.50 (m, 1H, H-2), 4.06-4.04 (m, 1H, H-3), 1.54-1.40 (m, 3H, H-4, H-5_a), 1.36-1.27 (m, 1H, H-5_b), 0.91 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-6). **¹³C-NMR** (126 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 172.16 (C-1), 157.36 (Alloc-C=O), 157.18 (Cbz-C=O), 136.96 (Cbz-C-1), 132.88 (C-2'), 128.01 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 127.47 (Cbz-C-4), 127.29 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 116.29 (C-3'), 66.09 (Cbz-CH₂), 65.36 (C-1'), 57.55 (C-2), 52.30 (C-3), 31.83 (C-4), 18.90 (C-5), 12.56 (C-6). **MS** (ESI⁺): $m/z = 387.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **HRMS** (ESI⁺): $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ (364.39), ber.: 387.1532 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, gef.: 387.1541.

IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3290, 2952, 1694, 1539, 1230, 1047, 730, 693. **UV** (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 258 (2.81). **Drehwert**: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -17.2$ ($c = 1.1$, MeOH).

Synthese von (2*S*,3*S*)-*N*²-Allyloxycarbonyl-*N*³-benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexansäure-3',3'-diethoxypropylamid **238**



Die Reaktion wurde gemäß **AAV2** durchgeführt. Es wurden (2*S*,3*S*)-*N*²-Allyloxy-carbonyl-*N*³-benzyloxycarbonyl-2,3-diamino-1-hexansäure **82** (80 mg, 0.23 mmol, 1.0 Äq.), 1-Hydroxybenzotriazol (34 mg, 0.25 mmol, 1.1 Äq.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (49 mg, 0.26 mmol, 1.1 Äq.), 3,3-Diethoxy-1-aminopropan (48 μL , 44 mg, 0.30 mmol, 1.3 Äq.) und Diisopropylethylamin (60 μL , 46 mg, 0.36 mmol, 1.6 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (2 mL) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt, und die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 2:1).

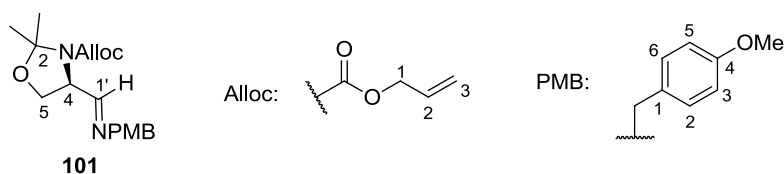
Ausbeute: 68 mg (0.14 mmol, 60 %) eines weißen Feststoffes.

DC: R_{f} -Wert (*iso*-Hexan:EtOAc 2:1) = 0.18. **¹H-NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.35-7.29 (m, 5H, Cbz-CH), 6.82 (s_{br} , 1H, NH-1), 5.94-5.86 (m, 2H, Alloc-H-2, NH-2), 5.60 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, NH-3), 5.32-5.28 (m, 1H, Alloc-H-3_a), 5.22-5.20 (m, 1H, Alloc-H-3_b), 5.14-5.09 (m, 2H, Cbz-CH₂), 4.56-4.52 (m, 3H, Alloc-H-1, H-3'), 4.23 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, H-2), 3.90-3.85 (m, 1H, H-3), 3.67-3.62 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.51-3.45 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.37-3.31 (m, 2H, H-1'), 1.82-1.74 (m, 2H, H-2'), 1.54-1.51 (m, 2H, H-4), 1.45-1.29 (m, 2H, H-5), 1.22-1.19 (m, 6H, 2 x OCH₂CH₃), 0.90 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-6). **¹³C-NMR** (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 169.55 (C-1), 157.06 (Alloc-C=O), 156.25 (Cbz-C=O), 136.39 (Cbz-C-1), 132.49 (Alloc-C-2), 128.50 (Cbz-C-3, Cbz-C-5), 128.10 (Cbz-C-4), 127.96 (Cbz-C-2, Cbz-C-6), 117.99 (Alloc-C-3), 101.98 (C-3'), 66.91 (Cbz-CH₂), 66.06 (Alloc-C-1), 62.07 (OCH₂CH₃), 61.86 (OCH₂CH₃), 57.48 (C-2), 54.24 (C-3), 35.46 (C-1'), 34.23 (C-4), 33.00 (C-2'), 19.46 (C-5), 15.30 (2 x OCH₂CH₃), 13.73 (C-6). **MS** (ESI⁺): $m/z = 516.3$ [M+Na]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₅H₃₉N₃O₇ (493.59), ber.: 516.2686 [M+Na]⁺, gef.: 516.2693. **IR** (ATR): ν [cm^{-1}] = 3298,

2967, 1688, 1653, 1546, 1261, 1023, 804, 678. **Drehwert:** $[\alpha]_D^{25} = -13.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3).
Schmelzpunkt: $T_m = 201$ °C.

7.2.10.3 Versuch der Synthese von geschützter (2S,3S)-Diaminohexensäure über den Alloc-Garner-Aldehyd **99**

(4S)-N-Allyloxycarbonyl-4-((1'-*p*-methoxybenzylimino)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **101**



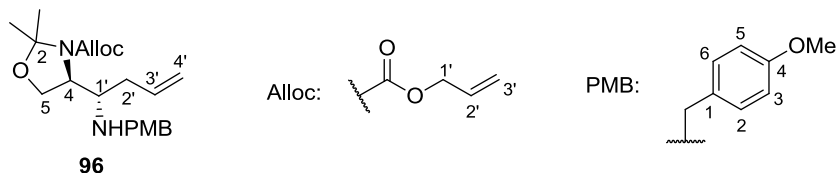
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. *N*-Alloc-Garner-Aldehyd **99** (452 mg, 2.12 mmol, 1.0 Äq.) wurde in abs. Dichlormethan (10 mL) gelöst, mit aktiviertem Molsieb (3 Å, 3.2 g) versetzt und die Reaktionslösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. *p*-Methoxybenzylamin (280 µL, 294 mg, 2.14 mmol, 1.0 Äq.) wurde zugetropft, das Reaktionsgemisch für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und über Celite[®] filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Ausbeute: 683 mg (2.05 mmol, 97 %) eines gelben Öls.

DC: R_f -Wert (*n*-Hexan:EtOAc 4:1) = 0.19. **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 7.77-7.75 (m, 1H, H-1'), 7.17-7.14 (m, 2H, PMB-H-2, PMB-H-6), 6.89-7.86 (m, 2H, PMB-H-3, PMB-H-5), 5.88 (dddd, $J = 17.3$ Hz, $J = 10.6$ Hz, $J = 5.3$ Hz, $J = 5.3$ Hz, 1H, Alloc-H-2), 5.29-5.25 (m, $J = 1.6$ Hz, 1H, Alloc-H-3_a), 5.18-5.16 (m, 1H, Alloc-H-3_b), 4.54-4.49 (m, 5H, Bn-CH₂, Alloc-H-1, H-4), 4.12 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 1H, H-5_a), 4.05 (dd, $J = 8.9$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1H, H-5_b), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 1.55 (s, 3H, 2-CH₃), 1.51 (s, 3H, 2-CH₃). **¹³C-NMR** (126 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C): δ [ppm] = 169.67 (C-1), 158.96 (PMB-C-4), 152.26 (Alloc-C=O), 133.60 (Alloc-C-2), 131.87 (PMB-C-1), 129.26 (PMB-C-2, PMB-C-6), 117.43 (Alloc-C-3), 114.45 (PMB-C-3, PMB-C-6), 94.50 (C-2), 66.74 (Alloc-C-1), 65.43 (C-4), 62.98 (C-5), 53.73 (OCH₃), 26.51 (2-CH₃), 24.61 (2-CH₃). **MS** (ESI⁺): $m/z = 333.2$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₁₈H₂₄N₂O₄ (332.39), ber.: 333.1814 [M+H]⁺, gef.: 333.1822. **IR** (ATR): ν [cm⁻¹] = 2981, 2937, 1701, 1510, 1393, 1245, 1099,

1032, 818, 767. UV (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 228 nm (4.21), 277 nm (3.53). Drehwert: $[\alpha]_D^{25} = +21.0$ (c = 1.1, CHCl₃).

Versuch der Synthese von (4*S*,1'*S*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-((1'-*p*-methoxybenzylamino)-but-3'-enyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **96**



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. In abs. Tetrahydrofuran (2 mL) wurde (4*S*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-((1'-*p*-methoxybenzylimino)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidin **101** (95 mg, 0.30 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und auf -80 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde Allylmagnesiumchlorid (2 M, 0.18 mL, 0.36 mmol, 1.2 Äq.) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde über 1.5 h auf -3 °C erwärmt, ges. Ammoniumchlorid-Lösung (10 mL) wurde zugegeben und mit Wasser (50 mL) und Diethylether (50 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 mL) sowie ges. Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (*iso*-Hexan:EtOAc 4:1). Das Produkt war noch stark verunreinigt, und es wurden daher keine weiteren Analysen durchgeführt.

Ausbeute: 66 mg eines verunreinigten Produktes als gelbliches Öl (100 % = 112 mg).

MS (ESI⁺): $m/z = 375.2$ [M+H]⁺. **HRMS** (ESI⁺): C₂₁H₃₀N₂O₄ (374.47), ber.: 375.2278 [M+H]⁺, gef.: 375.2282.

8 Literaturverzeichnis

- [1] S. A. Waksman; History of the Word Antibiotic; *J. Hist. Med.* **1973**, 28, 284-286.
- [2] M. Claaß; Über Sulfazonfarbstoffe; *Ber. Deut. Chem. Gesell.* **1912**, 45, 747-756.
- [3] G. Domagk; Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen; *Deutsch. Med. Wschr.* **1935**, 61, 250-252.
- [4] M. I. Andersson, A. P. MacGowan; Development of the quinolones; *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, 51, 1-11.
- [5] M. R. Barbachyn, C. W. Ford; Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Oxazolidinonen: Grundlage der Entwicklung von Linezolid; *Angew. Chem.* **2003**, 115, 2056-2070; Oxazolidinone Structure-Activity Relationships Leading to Linezolid; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2010-2023.
- [6] F. v. Nussbaum, M. Brands, B. Hinzen, S. Weigand, D. Häbich; Antibakterielle Naturstoffe in der medizinischen Chemie-Exodus oder Renaissance?; *Angew. Chem.* **2006**, 118, 5194-5224; Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry-Exodus or Revival?; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 5072-5129.
- [7] R. Bentley; Bartolomeo Gosio, 1863–1944: An appreciation; *Adv. Appl. Microbiol.* **2001**, 48, 229-250.
- [8] A. Fleming; On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with a special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*; *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, 10, 226-236.
- [9] E. Chain, H. W. Florey, A. D. Gardner, N. G. Heatley, M. A. Jennings, J. Orr-Ewing, A. G. Sanders; Penicillin as a chemotherapeutic agent; *Lancet* **1940**, 236, 226-228.
- [10] K. C. Nicolaou, J. S. Chen, D. J. Edmonds, A. A. Estrada; Fortschritte in der Chemie und Biologie natürlicher Antibiotika; *Angew. Chem.* **2009**, 121, 670-732; Recent Advantages in the Chemistry and Biology of Naturally Occurring Antibiotics; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 660-719.
- [11] *The World Health Report* World Health Organization: 2002; pp 1-230.
- [12] V. M. D 'Costa, C. E. King, L. Kalan, M. Morar, W. W. L. Sung, C. Schwarz, D. Froese, G. Zazula, F. Calmels, R. Debruyne, G. B. Golding, H. N. Poinar, G. D. Wright; Antibiotic resistance is ancient; *Nature* **2011**, 477, 457-461.
- [13] P. Heisig; Was ist neu an Ketoliden und Oxazolidinonen? Wirkungs- und Resistenzmechanismen; *Pharm. unserer Zeit* **2004**, 33, 10-19.

-
- [14] P. Courvalin; Transfer of Antibiotic Resistance Genes between Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 1447-1451.
- [15] R. J. Williams, D. L. Heymann; Containment of Antibiotic Resistance; *Science* **1998**, *279*, 1153-1154.
- [16] W. Witte; Medical Consequences of Antibiotic Use in Agriculture; *Science* **1998**, *279*, 996-997.
- [17] Helmholtz-Zentrum *Antibiotika und Antibiotika-Resistenzen*, Flugs Informationsdienst: Helmholtzzentrum München, 2007; pp 1-16.
- [18] K. Kümmerer; Resistance in the environment; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *54*, 311-320.
- [19] G. L. French; What's new and not so new on the antimicrobial horizon?; *Clin. Microbiol. Infect.* **2008**, *14*, 19-29.
- [20] M. Kresken; Resistenzsituation bei grampositiven Infektionserregern in Deutschland; *Pharm. unserer Zeit* **2004**, *33*, 20-27.
- [21] S. Loewenberg; India reports cases of totally drug-resistant tuberculosis; *Lancet* **2012**, *379*, 205.
- [22] G. D. Wright; Aminoglycoside-modifying enzymes; *Curr. Opin. Microbiol.* **1999**, *2*, 499-503.
- [23] R. Hakenbeck, T. Grebe, D. Zähner, J. B. Stock; β -Lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*: penicillin-binding proteins and non-penicillin-binding proteins; *Mol. Microbiol.* **1999**, *33*, 673-678.
- [24] G. Colman, A. Efstratiou; Vancomycin-resistant leuconostocs, lactobacilli and now pediococci; *Lancet* **1987**, *10*, 1-3.
- [25] X. Z. Li, H. Nikaido; Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria; *Drugs* **2004**, *64*, 159-204.
- [26] C. T. Walsh, G. Wright; Introduction: Antibiotic Resistance; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391-393.
- [27] P. A. Lambert; Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria; *J. App. Microbiol.* **2002**, *92*, 46S-54S.
- [28] E. D. Brown, G. D. Wright; New Targets and Screening Approaches in Antimicrobial Drug Discovery; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 759-774.
- [29] I. Chopra, L. Hesse, A. J. O. Neill; Exploiting current understanding of antibiotic action for discovery of new drugs; *J. Appl. Microbiol.* **2002**, *92*, 4S-15S.

- [30] A. P. Carter, W. M. Clemons, D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan; Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics; *Nature* **2000**, *407*, 340-348.
- [31] F. Schlünzen, R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Franceschi; Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria; *Nature* **2001**, *413*, 814-821.
- [32] C. Walsh; Where will new antibiotics come from?; *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, *1*, 65-70.
- [33] D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader; Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002; *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022-1037.
- [34] M. Trautmann; Pharmakodynamik von Linezolid; *Chemother. J.* **2004**, *13*, 218-222.
- [35] S. Tsiodras, H. S. Gold, G. Sakoulas, G. M. Eliopoulos, C. Wennersten, L. Venkataraman, R. C. Moellering, M. J. Ferraro; Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*; *Lancet* **2001**, *358*, 207-208.
- [36] D. Bertrand, S. Bertrand, E. Neveu, P. Fernandes; Molecular Characterization of Off-Target Activities of Telithromycin: a Potential Role for Nicotinic Acetylcholine Receptors; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 5399-5402.
- [37] J. N. Steenbergen, J. Alder, G. M. Thorne, F. P. Tally; Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections; *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *55*, 283-288.
- [38] J. S. Hardesty, P. Juang; Fidaxomicin: A Macrocyclic Antibiotic for the Treatment of *Clostridium difficile* Infection; *Pharmacother.* **2011**, *31*, 877-886.
- [39] T. Lincke, S. Behnken, K. Ishida, M. Roth, C. Hertweck; Closthioamide: An Unprecedented Polythioamide Antibiotic from the Strictly Anaerobic Bacterium *Clostridium cellulolyticum*; *Angew. Chem.* **2010**, *11*, 2055-2057; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2011-2013.
- [40] K. H. Jang, S.-J. Nam, J. B. Locke, C. A. Kauffman, D. S. Beatty, L. A. Paul, W. Fenical; Anthracimycin, a Potent Anthrax Antibiotic from a Marine-Derived Actinomycete; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7976-7978; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7822-7824.
- [41] Y. Xiao, K. Gerth, R. Müller, D. Wall; Myxobacterium-Produced Antibiotic TA (Myxovirescin) Inhibits Type II Signal Peptidase; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 2014-2021.

-
- [42] H. Hirakawa, H. Tomita; Interference of bacterial cell-to-cell communication: a new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic resistance; *Front. Microbiol.* **2013**, *4*, 1-14.
- [43] D. Romero, M. F. Traxler, D. López, R. Kolter; Antibiotics as Signal Molecules; *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5492-5505.
- [44] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim **1992**, 256ff.
- [45] C. Gram; Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt und Trockenpräparaten; *Fortschr. Med.* **1884**, *2*, 185-189.
- [46] W. Weidel; Ein neuer Typ von Makromolekülen; *Angew. Chem.* **1964**, *76*, 801-832.
- [47] A. Bouhss, A. E. Trunkfield, T. D. H. Bugg, D. Mengin-Lecreulx; The biosynthesis of peptidoglycan lipid-linked intermediates; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233.
- [48] R. Scherrer, P. Gerhardt; Molecular Sieving by the *Bacillus megaterium* Cell Wall and Protoplast; *J. Bacteriol.* **1971**, *107*, 718-735.
- [49] P. Welzel; Syntheses around the Transglycosylation Step in Peptidoglycan Biosynthesis; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 4610-4660.
- [50] K. H. Schleifer, O. Kandler; Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications; *Bacteriol. Rev.* **1972**, *36*, 407-477.
- [51] J.-L. Mainardi, R. Villet, T. D. Bugg, C. Mayer, A. Michel; Evolution of peptidoglycan biosynthesis under selective pressure of antibiotics in Gram-positive bacteria; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 386-408.
- [52] A. Marchese, L. Gualco, E. A. Debbia, G. C. Schito, A. M. Schito; In vitro activity of fosfomycin against gram-negative urinary pathogens and the biological cost of fosfomycin resistance; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2003**, *22*, 53-39.
- [53] F. Van Bambeke; Glycopeptides and glycodepsipeptides in clinical development: A comparative review of their antibacterial spectrum, pharmacokinetics and clinical efficacy; *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2006**, *7*, 740-749.
- [54] P. E. Brandish, K.-i. Kimura, M. Inukai, R. Southgate, J. T. Lonsdale, T. D. H. Bugg; Modes of Action of Tunicamycin, Liposidomycin B, and Mureidomycin A: Inhibition of Phospho-*N*-Acetylmuramyl-Pentapeptide Translocase from *Escherichia coli*; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 1640-1644.
- [55] P. E. Brandish, M. K. Burnham, J. T. Lonsdale, R. Southgate, M. Inukai, T. D. H. Bugg; Slow Binding Inhibition of Phospho-*N*-acetylmuramyl-

- pentapeptidetranslocase (*Escherichia coli*) by Mureidomycin A; *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 7609-7614.
- [56] L. A. McDonald, L. R. Barbieri, G. T. Carter, E. Lenoy, J. Lotvin, P. J. Petersen, M. M. Siegel, G. Singh, R. T. Williamson; Structures of the Muraymycins, Novel Peptidoglycan Biosynthesis Inhibitors; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10260-10261.
- [57] J. T. Park; Uridine-5'-pyrophosphate derivatives I. Isolation from *Staphylococcus aureus*; *J. Biol. Chem.* **1952**, *194*, 877-884.
- [58] B. Badet, P. Vermoote, P.-Y. Haumont, F. Lederer, F. Le Goffic; Glucosamine Synthetase from *Escherichia coli*: Purification, Properties, and Glutamine-Utilizing Site Location; *Biochemistry* **1987**, *26*, 1940-1948.
- [59] D. Mengin-Lecreulx, J. van Heijenoort; Characterization of the Essential Gene glmM Encoding Phosphoglucosamine Mutase in *Escherichia coli*; *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 32-39.
- [60] A. M. Gehring, W. J. Lees, D. J. Mindiola, C. T. Walsh, E. D. Brown; Acetyltransfer Precedes Uridyltransfer in the Formation of UDP-*N*-acetylglucosamine in Separable Active Sites of the Bifunctional GlmU Protein of *Escherichia coli*; *Biochemistry* **1996**, *35*, 579-585.
- [61] J. van Heijenoort; Recent advances in the formation of the bacterial peptidoglycan monomer unit; *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 503-519.
- [62] T. Skarzynski, D. H. Kim, W. J. Lees, C. T. Walsh, K. Duncan; Stereochemical Course of Enzymatic Enolpyruvyl Transfer and Catalytic Conformation of the Active Site Revealed by the Crystal Structure of the Fluorinated Analogue of the Reaction Tetrahedral Intermediate Bound to the Active Site of the C115A Mutant of MurA; *Biochemistry* **1998**, *37*, 2572-2577.
- [63] T. E. Benson, J. L. Marquardt, A. C. Marquardt, F. A. Etzkorn, C. T. Walsh; Overexpression, Purification, and Mechanistic Study of UDP-*N*-Acetylenolpyruvylglucosamine Reductase; *Biochemistry* **1993**, *32*, 2024-2030.
- [64] E. D. Brown, J. L. Marquardt, J. P. Lee, C. T. Walsh, K. S. Anderson; Detection and Characterization of a Phospholactoyl-Enzyme Adduct in the Reaction Catalyzed by UDP-*N*-acetylglucosamine Enolpyruvyl Transferase, MurZ; *Biochemistry* **1994**, *33*, 10638-10645.
- [65] H. Jin, J. J. Emanuele, R. Fairman, J. G. Robertson, M. E. Hail, H.-T. Ho, P. J. Falk, J. J. Villafranca; Structural Studies of *Escherichia coli* UDP-*N*-Acetylmuramate:L-Alanine Ligase; *Biochemistry* **1996**, *35*, 1423-1431.

-
- [66] C. Michaud, D. Blanot, B. Flouret, J. van Heijenoort; Partial purification and specificity studies of the D-glutamate-adding and D-alanyl-D-alanine-adding enzymes from *Escherichia coli* K12; *Eur. J. Biochem.* **1987**, *166*, 631-637.
- [67] E. Gordon, B. Flouret, L. Chantalat, J. van Heijenoort, D. Mengin-Lecreulx, O. Dideberg; Crystal Structure of UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-glutamate: meso-Diaminopimelate Ligase from *Escherichia Coli*; *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 10999-11006.
- [68] Y. Yan, S. Munshi, B. Leiting, M. S. Anderson, J. Chrzas, Z. Chen; Crystal Structure of *Escherichia coli* UDPMurNAc tripeptide D-alanyl-D-alanine-adding Enzyme (MurF) at 2.3 Å Resolution; *J. Mol. Biol.* **2000**, *304*, 435-445.
- [69] S. Ha, E. Chang, M.-C. Lo, H. Men, P. Park, M. Ge, S. Walker; The Kinetic Characterization of *Escherichia coli* MurG Using Synthetic Substrate Analogues; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8415-8426.
- [70] T. D. H. Bugg, C. T. Walsh; Intracellular Steps of Bacterial Cell Wall Peptidoglycan Biosynthesis: Enzymology, Antibiotics, and Antibiotic Resistance; *Nat. Prod. Rep.* **1992**, *9*, 199-215.
- [71] D. S. Barrett, L. Chen, N. K. Litterman, S. Walker; Expression and Characterization of the Isolated Glycosyltransferase Module of *Escherichia coli* PBP1b; *Biochemistry* **2004**, *43*, 12375-12381.
- [72] C. Goffin, J. M. Ghuysen; Multimodular penicillin-binding proteins: an enigmatic family of orthologs and paralogs; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, *62*, 1079-1093.
- [73] W. G. Struve, F. C. Neuhaus; Evidence for an Initial Acceptor of UDP-N-Ac-Muramyl-Pentapeptide in the Synthesis of Bacterial Mucopeptide; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1965**, *18*, 6-12.
- [74] J. N. Umbreit, J. L. Strominger; Complex Lipid Requirements for Detergent-Solubilized Phosphoacetylmuramyl-Pentapeptide Translocase from *Micrococcus luteus*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1972**, *69*, 1972-1974.
- [75] D. D. Pless, F. C. Neuhaus; Initial Membrane Reaction in Peptidoglycan Synthesis; *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 1568-1576.
- [76] A. Geis, R. Plapp; Phospho-N-Acetylmuramoyl-Pentapeptide-Transferase of *Escherichia-Coli-K12* - Properties of membrane-bound and extracted and partially purified enzyme; *Biochim. Biophys. Acta* **1978**, *527*, 414-424.
- [77] M. Ikeda, M. Wachi, H. K. Jung, F. Ishino, M. Matsuhashi; The *Escherichia coli mraY* Gene Encoding UDP-N-Acetylmuramoyl-Pentapeptide:Undecaprenyl-

- Phosphate Phospho-*N*-Acetylmuramoyl-Pentapeptide Transferase; *J. Bacteriol.* **1991**, *173*, 1021-1026.
- [78] D. S. Boyle, W. D. Donachie; *mraY* is an essential gene for cell growth in *Escherichia coli*; *J. Bacteriol.* **1998**, *180*, 6429-6432.
- [79] W. A. Weppner, F. C. Neuhaus; Initial Membrane Reaction in Peptidoglycan Synthesis: Interaction of Lipid with Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide Translocase; *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, *552*, 418-427.
- [80] A. Bouhss, M. Crouvoisier, D. Blanot, D. Mengin-Lecreulx; Purification and Characterization of the Bacterial *MraY* Translocase Catalyzing the First Membrane Step of Peptidoglycan Biosynthesis; *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 29974-29980.
- [81] Y. Ma, D. Münch, T. Schneider, H.-G. Sahl, A. Bouhss, U. Ghoshdastider, J. Wang, V. Dötsch, X. Wang, F. Bernhard; Preparative Scale Cell-free Production and Quality Optimization of *MraY* Homologues in Different Expression Modes; *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 38844-38853.
- [82] A. Bouhss, D. Mengin-Lecreulx, D. Le Beller, J. van Heijenoort; Topological analysis of the *MraY* protein catalysing the first membrane step of peptidoglycan synthesis; *Mol. Microbiol.* **1999**, *34*, 576-585.
- [83] B. C. Chung, J. Zhao, R. A. Gillespie, D.-Y. Kwon, G. Ziqiang, J. Hong, P. Zhou, S.-Y. Lee; Crystal Structure of *MraY*, an Essential Membrane Enzyme for Bacterial Cell Wall Synthesis; *Science* **2013**, *341*, 1012-1016.
- [84] M. G. Heydanek Jr., W. G. Struve, F. C. Neuhaus; On the Initial Stage in Peptidoglycan Synthesis. Kinetics and Uncoupling of Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide Translocase (Uridine 5'-Phosphate); *Biochemistry* **1969**, *8*, 1214-1221.
- [85] W. G. Struve, R. K. Sinha, F. C. Neuhaus, M. S. Prime; On the Initial Stage in Peptidoglycan Synthesis. Phospho-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide Translocase (Uridine Monophosphate); *Biochemistry* **1966**, *5*, 82-92.
- [86] A. J. Lloyd, P. E. Brandish, A. M. Gilbey, T. D. H. Bugg; Phospho-*N*-Acetyl-Muramyl-Pentapeptide Translocase from *Escherichia coli*: Catalytic Role of Conserved Aspartic Acid Residues; *J. Bacteriol.* **2004**, *186*, 1747-1757.
- [87] N. P. Price, F. A. Momany; Modeling bacterial UDP-HexNAc: polyprenol-P HexNAc-1-P transferases; *Glycobiology* **2005**, *15*, 29R-42R.
- [88] J. van Heijenoort; Lipid Intermediates in the Biosynthesis of Bacterial Peptidoglycan; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2007**, *71*, 620-635.

-
- [89] B. Al-Dabbagh, X. Henry, M. El Ghachi, G. Auger, D. Blanot, C. Parquet, D. Mengin-Lecreulx, A. Bouhss; Active Site Mapping of MraY, a Member of the Polyprenyl-phosphate *N*-Acetylhexosamine 1-Phosphate Transferase Superfamily, Catalyzing the First Membrane Step of Peptidoglycan Biosynthesis; *Biochemistry* **2008**, *47*, 8919-8928.
- [90] M. D. F. S. Barbosa, H. O. Ross, M. C. Hillman, R. P. Meade, M. G. Kurilla, D. L. Pompliano; A Multitarget Assay for Inhibitors of Membrane-Associated Steps of Peptidoglycan Biosynthesis; *Anal. Biochem.* **2002**, *306*, 17-22.
- [91] B. Chandrakala, B. C. Elias, U. Mehra, N. S. Umapathy, P. Dwarakanath, T. S. Balganes, S. M. deSousa; Novel Scintillation Proximity Assay for Measuring Membrane-Associated Steps of Peptidoglycan Biosynthesis in *Escherichia coli*; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 768-775.
- [92] T. Stachyra, C. Dini, P. Ferrari, A. Bouhss, J. van Heijenoort, D. Mengin-Lecreulx, D. Blanot, J. Biton, D. Le Beller; Fluorescence Detection-Based Functional Assay for High-Throughput Screening for MraY; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 897-902.
- [93] K. H. Bleicher, H.-J. Böhm, K. Müller, A. I. Alanine; Hit and Lead Generation: Beyond High-Throughput Screening; *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 369-379.
- [94] N. D. Cook; Scintillation proximity assay: a versatile high-throughput screening technology; *Drug Discovery Today* **1996**, *1*, 287-294.
- [95] S. A. Hyland, M. S. Anderson; A high-throughput solid-phase extraction assay capable of measuring diverse polyprenyl phosphate: sugar-1-phosphate transferases as exemplified by the WecA, MraY, and MurG proteins; *Anal. Biochem.* **2003**, *317*, 156-165.
- [96] A. A. Branstrom, S. Midha, C. B. Longley, K. Han, E. R. Baizman, H. R. Axelrod; Assay for Identification of Inhibitors for Bacterial MraY Translocase or MurG Transferase; *Anal. Biochem.* **2000**, *280*, 315-319.
- [97] L. E. Zawadzke, P. Wu, L. Cook, L. Fan, M. Casperson, M. Kishnani, D. Calambur, S. J. Hofstead, R. Padmanabhaa; Targeting the MraY and MurG bacterial enzymes for antimicrobial therapeutic intervention; *Anal. Biochem.* **2003**, *314*, 243-252.
- [98] F. C. Neuhaus, W. A. Weppner; Fluorescent Substrate for Nascent Peptidoglycan Synthesis; *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 2296-2303.

- [99] T. Förster; Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz; *Ann. Physik* **1948**, *6*, 55-76.
- [100] A. B. Shapiro, H. Jahić, N. Gao, L. Hajec, O. Rivin; A High-Throughput, Homogeneous, Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based Assay for Phospho-*N*-acetylmuramoyl-pentapeptide Translocase (MraY); *J. Biomol. Screening* **2012**, *17*, 662-672.
- [101] D. Patin, A. Boniface, A. Kovac, M. Hervé, S. Dementin, H. Barreteau, D. Lecreulx-Mengin, D. Blanot; Purification and biochemical characterization of Mur ligases from *Staphylococcus aureus*; *Biochimie* **2010**, *92*, 1793-1800.
- [102] P. A. Lanzetta, L. J. Alvarez, P. S. Reinach, O. A. Candia; An Improved Assay for Nanomole Amounts of Inorganic Phosphate; *Anal. Biochem.* **1979**, *100*, 95-97.
- [103] M. R. Webb; A continuous spectrophotometric assay for inorganic phosphate and for measuring phosphate release kinetics in biological systems; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 4884-4887.
- [104] N. Z. Wayllace, H. A. Valdez, A. Meraz, R. A. Ugalde, M. V. Busi, D. F. Gomez-Casati; An enzyme-coupled continuous spectrometric assay for glucose synthetases; *Mol. Biol. Rep.* **2012**, *1*, 589-591.
- [105] G. Deng, R.-F. Gu, S. Marmor, S. L. Fisher, H. Jahic, S. Gautam; Development of an LC-MS based enzyme activity assay for MurC: application to evaluation of inhibitors and kinetic analysis; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *35*, 817-828.
- [106] F. Reck, S. Marmor, S. L. Fisher, M. A. Wuonola; Inhibitors of the Bacterial Cell Wall Biosynthesis Enzyme MurC; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1451-1454.
- [107] S. Marmor, C. P. Petersen, F. Reck, W. Yang, N. Gao, S. L. Fisher; Biochemical Characterization of a Phosphinate Inhibitor of *Escherichia coli* MurC; *Biochemistry* **2001**, *40*, 12207-12214.
- [108] M. Sova, A. Kovac, S. Turk, M. Hrast, D. Blanot, S. Gobec; Phosphorylated hydroxyethylamines as novel inhibitors of the bacterial cell wall biosynthesis enzymes of MurC to MurF; *Bioorg. Chem.* **2009**, *37*, 217-222.
- [109] B. Flouret, D. Mengin-Lecreulx, J. van Heijenoort; Reverse-Phase High-Pressure Liquid Chromatography of Uridine Diphosphate *N*-Acetylmuramyl Peptide Precursors of Bacterial Cell Wall Peptidoglycan; *Anal. Biochem.* **1981**, *114*, 59-63.
- [110] U. Kohlrausch, J.-V. Höltje; One-step purification procedure for UDP-*N*-acetylmuramyl-peptide murein precursors from *Bacillus cereus*; *FEMS Microbiol. Lett.* **1991**, *78*, 253-258.

-
- [111] Y. van Heijenoort, M. Gomez, M. Derrien, J. A. Ayala, J. van Heijenoort; Membrane Intermediates in the Peptidoglycan Metabolism of *Escherichia Coli*: Possible Roles of PBP 1b and PBP 3; *J. Bacteriol.* **1992**, *174*, 3549-3557.
- [112] S. G. Reddy, S. T. Waddell, D. W. Kuo, K. K. Wong, D. L. Pompliano; Preparative Enzymatic Synthesis and Characterization of the Cytoplasmic Intermediates of Murein Biosynthesis; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1175-1178.
- [113] J. B. Raymond, N. P. Price, M. S. Pavelka Jr.; A method for the enzymatic synthesis and HPLC purification of the peptidoglycan precursor UDP-*N*-acetylmuramic acid; *FEMS Microbiol. Lett.* **2003**, *229*, 83-89.
- [114] G. Auger, M. Crouvoisiera, M. Caroff, J. van Heijenoort, D. Blanot; Synthesis of an analogue of the lipoglycopeptide membrane intermediate I of peptidoglycan biosynthesis; *Lett. Pept. Sci.* **1997**, *4*, 371-376.
- [115] H. Liu, R. Sadamoto, P. S. Sears, C.-H. Wong; An Efficient Chemoenzymatic Strategy for the Synthesis of Wild-Type and Vancomycin-Resistant Bacterial Cell-Wall Precursors: UDP-*N*-acetylmuramyl-peptides; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9916-9917.
- [116] M. Kurosu, S. Mahapatra, P. Narayanasamy, D. C. Crick; Chemoenzymatic synthesis of Park's nucleotide: toward the development of high-throughput screening for *MraY* inhibitors; *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 799-803.
- [117] H. Heymann, R. Turdiu, B. K. Lee, S. S. Barkulis; A Synthesis of Uridinediphospho-*N*-acetylmuramic Acid and Its Use as an Acceptor of L-¹⁴C]Alanine; *Biochemistry* **1968**, *7*, 1393-1399.
- [118] S. Roseman, J. J. Distler, J. G. Moffatt, H. G. Khorana; Nucleoside Polyphosphates. XI An Improved General Method for the Synthesis of Nucleotide Coenzymes. Syntheses of Uridine-5', Cytidine-5' und Guanosine-5' Diphosphate Derivatives; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 659-663.
- [119] D. Blanot, G. Auger, D. Liger, J. van Heijenoort; Synthesis of α - and β -anomers of UDP-*N*-acetylmuramic acid; *J. Carbohydr. Res.* **1994**, *252*, 107-115.
- [120] T. Osawa, P. Sinay, M. Halford, R. W. Jeanloz; The *O*-Acetyl Derivatives of *N*-Acetylmuramic acid; *Biochemistry* **1969**, *8*, 3369-3375.
- [121] C. Dini, N. Drochon, P. Ferrari, J. Aszodi; Multi Gram Synthesis of UDP-*N*-Acetylmuramic Acid; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 143-145.
- [122] A. Babic, S. Pecar; An improved total synthesis of UDP-*N*-acetyl-muramic acid; *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4403-4405.

- [123] J. Humljan, S. Starcevic, V. Car, P. S. Anderluh, D. Kocjan, B. Jenko, U. Urleb; Optimization of UDP-*N*-acetylmuramic acid synthesis; *Pharmazie* **2008**, *63*, 102-106.
- [124] S. A. Hitchcock, C. N. Eid, J. A. Aikins, M. Zia-Ebrahimi, L. C. Blaszcak; The First Total Synthesis of Bacterial Cell Wall Precursor UDP-*N*-Acetylmuramyl-Pentapeptide (Park Nucleotide); *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1916-1917.
- [125] R. W. Jeanloz, E. Walker, P. Sinay; Synthesis of various glycosides of 2-Amino-3-*O*-(*D*-1-carboxy-ethyl)-2-deoxy-*D*-glucopyranose (Muramic acid); *Carbohydr. Res.* **1968**, *6*, 184-196.
- [126] M. M. Sim, H. Kondo, C.-H. Wong; Synthesis and Use of Glycosyl Phosphites: An Effective Route to Glycosyl Phosphates, Sugar Nucleotides, and Glycosides; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2260-2267.
- [127] H. Men, P. Park, M. Ge, S. Walker; Substrate Synthesis and Activity Assay for MurG; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2484-2485.
- [128] R. S. Narayan, M. S. VanNieuwenhze; Synthesis of Substrates and Biochemical Probes for Study of the Peptidoglycan Biosynthetic Pathway; *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 1399-1414.
- [129] K. Li, M. Kurosu; Synthetic Studies on Mycobacterium tuberculosis Specific Fluorescent Park's Nucleotide Probe; *Heterocycles* **2008**, *76*, 455-459.
- [130] C. Dini; MraY Inhibitors as Novel Antibacterial Agents; *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1221-1236.
- [131] K.-i. Kimura, T. D. H. Bugg; Recent advances in antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall biosynthesis; *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 252-273.
- [132] M. Winn, R. J. M. Goss, K.-i. Kimura, T. D. H. Bugg; Antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall assembly: Recent advances in structure-function studies and nucleoside biosynthesis; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 279-304.
- [133] S. Rachakonda, L. Cartee; Challenges in Antimicrobial Drug Discovery and the Potential of Nucleoside Antibiotics; *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 775-793.
- [134] Y.-I. Lin, Z. Li, G. D. Francisco, L. A. McDonald, R. A. Davis, G. Singh, Y. Yang, T. S. Mansour; Muraymycins, Novel Peptidoglycan Biosynthesis Inhibitors: Semisynthesis and SAR of Their Derivatives; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2341-2344.
- [135] A. Yamashita, E. Norton, P. J. Petersen, B. A. Rasmussen, G. Singh, Y. Yang, T. S. Mansour, D. M. Ho; Muraymycins, Novel Peptidoglycan Biosynthesis Inhibitors:

-
- Synthesis and SAR of Their Analogues; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3345-3350.
- [136] T. Tanino, S. Ichikawa, B. Al-Dabbagh, A. Bouhss, H. Oyama, A. Matsuda; Synthesis and Biological Evaluation of Muraymycin Analogues Active against Anti-Drug-Resistant Bacteria; *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 258-262.
- [137] T. Tanino, B. Al-Dabbagh, D. Mengin-Lecreulx, A. Bouhss, H. Oyama, S. Ichikawa, A. Matsuda; Mechanistic Analysis of Muraymycin Analogues: A Guide to the Design of MraY Inhibitors; *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8421-8439.
- [138] F. Isono, K. Kodama, M. Inukai; Susceptibility of *Pseudomonas* Species to the Novel Antibiotics Mureidomycins; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 1024-1027.
- [139] W. Zhang, B. Ostash, C. T. Walsh; Identification of the biosynthetic gene cluster for the pacidamycin group of peptidyl nucleoside antibiotics; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *1*, 1-6.
- [140] L. Kaysser, X. Tang, E. Wemakor, K. Sedding, H. S., S. Sieberberg, B. Gust; Identification of napsamycin biosynthesis gene cluster by genome mining; *ChemBioChem* **2011**, *12*, 477-487.
- [141] T. Watanabe, K. Fukuhara, S. Murao; Structural elucidation of α -MAPI, a novel microbial alkaline proteinase inhibitor, produced by *Streptomyces nigrescens* WT-27; *Tetrahedron Lett.* **1979**, *7*, 625-628.
- [142] U. Wäspi, D. Blanc, T. Winkler, P. Rüedi, R. Dudler; Syringolin, a Novel Peptide Elicitor from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* that Induces Resistance to *Pyricularia oryzae* in Rice; *Mol. Plant Microbe Interact.* **1998**, *11*, 727-733.
- [143] H. J. Imker, C. T. Walsh, W. M. Wuest; SylC Catalyzes Ureido-Bond Formation During Biosynthesis of the Proteasome Inhibitor Syringolin A; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18263-18265.
- [144] D. Ke, C. Zhan, X. Li, A. D. Q. Li, J. Yao; The urea-dipeptides show stronger H-bonding propensity to nucleate β -sheetlike assembly than natural sequence; *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8269-8276.
- [145] T. Tanino, I. Satoshi, M. Shiro, A. Matsuda; Total Synthesis of (-)-Muraymycin D2 and its Epimer; *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1366-1377.
- [146] T. Tanino, S. Hirano, S. Ichikawa, A. Matsuda; Synthetic study of muraymycins using Ugi-four component reaction; *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, *52*, 557-558.

- [147] B. A. Aleiwi, C. Schneider, M. Kurosu; Synthesis of Ureidomuraymycidine Derivatives for Structure-Activity Relationship Studies of Muraymycins; *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3859-3867.
- [148] S. Wohnig; Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen **2009**.
- [149] A. Dondoni, D. Perrone; Synthesis of 1,1-Dimethyl-(*S*)-4-formyl-2,2-dimethyl-3-oxazolidinecarboxylate by Oxidation of the Alcohol; *Org. Synth.* **2000**, *77*, 64-70.
- [150] C. Körner, E.-A. Raiber, S. E. M. Keegan, D. C. Nicolau, T. D. Sheppard, A. Tabor; An expedient synthesis of orthogonally protected lysinioalanine from Alloc-protected Garner's aldehyde; *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6381-6383.
- [151] P. H. Gross, M. Rimpler; Stereochemically Pure Derivatives of Muramic and Isomuramic Acids; *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 37-45.
- [152] H. M. Flowers, R. W. Jeanloz; The Synthesis of 2-Acetamido-3-*O*-(*D*-1-carboxyethyl)-2-deoxy- α -*D*-Glucose (*N*-Acetylmuramic Acid) and of Benzyl Glucoside Derivatives of 2-Amino-3-*O*-(*D*-1-carboxyethyl)-2-deoxy-*D*-glucose (Muramic acid); *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 2983-2986.
- [153] B. Koppenhöffer, V. Schurig; (*S*)-2-Chloroalkanoic Acids of High Enantiomeric Purity from (*S*)-2-Amino Acids: (*S*)-2-Chloropropanoic Acid; *Org. Synth.* **1993**, *8*, 119-124.
- [154] M. S. VanNieuwenhze, S. C. Mauldin, M. Zia-Ebrahimi, J. A. Aikins, L. C. Blaszcak; The Total Synthesis of Lipid I; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6983-6988.
- [155] M. Y. H. Lai, M. A. Brimble, D. J. Callis, P. W. R. Harris, M. S. Levi, F. Sieg; Synthesis and pharmacological evaluation of glycine-modified analogues of the neuroprotective agent glycy-L-prolyl-L-glutamic acid (GPE); *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 533-548.
- [156] R. Rengasamy, M. J. Curtis-Long, W. D. Seo, S. H. Jeong, I.-Y. Jeong, H. K. Park; New Building Block for Polyhydroxylated Piperidine: Total Synthesis of 1,6-Dideoxynojirimycin; *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2898-2901.
- [157] W. E. Alborn, L. C. Blaszcak, S. C. Mauldin, P. L. Skatrud, M. S. Van Nieuwenhze, M. S. Zia-Ebrahimi, Process for preparing dansylated glycopeptide lipid II derivatives as substrate for the transglycolase enzymes, WO2002085929, **2002**.

-
- [158] A. Dantas de Araujo, J. M. Palomo, J. Cramer, O. Seitz, K. Alexandrov, H. Waldmann; Diels-Alder Ligation of Peptides and Proteins; *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6095-6109.
- [159] K. L. Webster, A. B. Maude, M. E. O'Donnell, A. P. Mehrotra, D. Gani; Design and preparation of serine-threonine protein phosphatase inhibitors based upon the nodularin and microcystin toxin structures. Part 3; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 1673-1695.
- [160] T. H. Chan, M. A. Brook; A Simple Procedure for the Esterification of Carboxylic Acids; *Synthesis* **1983**, 201-203.
- [161] E. R. Citivello, H. Rapoport; Synthesis of the Enantiomeric Furobenzofurans, Late Precursors for the Synthesis of (+)- and (-)-Aflatoxins B₁, B₂ and G₂ *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3775-3782.
- [162] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque; Amide bond formation and peptide coupling; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827-10852.
- [163] S.-Y. Han, Y.-A. Kim; Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis; *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447-2467.
- [164] A. El-Faham, F. Albericio; Morpholine-Based Immonium and Halogenoamidinium Salts as Coupling Reagents in Peptide Synthesis; *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2731-2737.
- [165] N. L. Benoiton, F. M. F. Chen; Not the alkoxy-carbonylamino-acid *O*-acylisourea; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 543-545.
- [166] J. C. Sheehan, G. P. Hess; A New Method of Forming Peptide Bonds; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.
- [167] H. Naraoka, K. Harada; Stereochemistry of Pireazine-2,5-dione Formation by Self-condensation of DL-Amino Acid esters; *J. Chem. Soc., Perkin Trans I* **1986**, *1*, 1557-1560.
- [168] B. Schwartz, J. A. Markwalder, S. P. Seitz, Y. Wang, R. L. Stein; A Kinetic Characterization of the Glycosyltransferase Activity of Escherichia coli PBP1b and Development of a Continuous Fluorescence Assay; *Biochemistry* **2002**, *41*, 12552-12561.
- [169] M. S. VanNieuwenhze, S. C. Mauldin, M. Zia-Ebrahimi, B. E. Winger, W. J. Hornback, S. L. Saha, J. A. Aikins, L. C. Blaszcak; The First Total Synthesis of Lipid II: The Final Monomeric Intermediate in Bacterial Cell Wall Biosynthesis; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3656-3660.

- [170] U. Pal, S. Ranatunga, Y. Ariyaratna, J. R. Del Valle; Total Synthesis of the Putative Structure of Lucentamycin A; *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5298-5301.
- [171] R. Subirós-Funosas, R. Prohens, R. Barbas, A. El-Faham, F. Albericio; Oxyma: An Efficient Additive for Peptide Synthesis to Replace the Benzotriazole-Based HOBt and HOAt with a Lower Risk of Explosion; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9394-9403.
- [172] J. Coste, D. Le-Nguyen, B. Castro; PyBOP: A new Peptide Coupling Reagent devoid of Toxic By-Product; *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 205-208.
- [173] A. El-Faham, R. S. Funosas, R. Prohens, F. Albericio; COMU: A Safer and More Effective Replacement for Benzotriazole-Based Uronium Coupling Reagents; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9404-9416.
- [174] Y. Yonezawa, T. Hirosaki, T. Hayashi, C.-g. Shin; Convenient Synthesis and Conversion of a (Z)- α,β -Didehydroornithine Derivative to α,β -Didehydrokyotorpin; *Synthesis* **2000**, 144-148.
- [175] A. El-Faham, F. Albericio; Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup; *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602.
- [176] Y. Zhang, E. J. Fechter, T.-S. A. Wang, D. Barrett, S. Walker, D. E. Kahne; Synthesis of Heptaprenyl-Lipid IV to Analyze Peptidoglycan Glycosyltransferases; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3080-3081.
- [177] P. J. Montoya-Peleaz, J. G. Riley, W. A. Szarek, M. A. Valvano, J. S. Schutzbach, I. Brockhausen; Identification of a UDP-Gal: GlcNAc-R galactosyltransferase activity in *Escherichia coli* VW 187; *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1205-1211.
- [178] S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, C. Meier; Reliable Synthesis of Various Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7656-7664.
- [179] C. Meier; *cycloSal* Phosphates as Chemical Trojan Horses for Intracellular Nucleotide and Glycosylmonophosphate Delivery – Chemistry Meets Biology; *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 1081-1102.
- [180] S. Wendicke, S. Warnecke, C. Meier; Effiziente Synthese von Nucleosiddiphosphat-Glycopyranosen; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1523-1525; Efficient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1500-1502.
- [181] S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, S. Warnecke, S. Wendicke, C. Meier; A convenient synthesis of nucleotide diphosphate glycopyranoses and other polyphosphorylated bioconjugates; *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 63-75.

-
- [182] A. Stutz, C. Höbartner, S. Pitsch; Novel Fluoride-Labile Nucleobase-Protecting Groups for the Synthesis of 3'(2')-O-Aminoacylated RNA Sequences; *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2477-2503.
- [183] W. A. Szarek, M. Pinto, M. Iwakawa; Synthesis and biological activity of nucleoside analogs involving modifications in the carbohydrate ring; *Can. J. Chem.* **1985**, *63*, 2149-2161.
- [184] O. Kaczmarek, N. Brodersen, A. Bunge, L. Löser, D. Huster, A. Herrmann, A. Arbuzova, J. Liebscher; Synthesis of Nucleosides with 2'-Fixed Lipid Anchors and Their Behavior in Phospholipid Membranes; *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 1917-1928.
- [185] H. Sun, S. G. DiMugno; Anhydrous Tetrabutylammonium Fluoride; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2050-2051.
- [186] S. Warnecke; Dissertation, Universität Hamburg, **2010**.
- [187] A. Spork; Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [188] C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, A. S. Maqbool, E. De Clercq, J. Balzarni; *cycloSal*-Pronucleotides of 2'-Fluoro-*ara*- and 2'-Fluoro-*ribo*-2',3'-dideoxy-adenosine as a Strategy to Bypass a Metabolic Blockade; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1615-1624.
- [189] W. Nagata, O. Kyo, T. Aoki; *ortho*-Specific α -Hydroxyalkylation of Phenols with Aldehydes. An Efficient Synthesis of Saligenol Derivatives; *Synthesis* **1979**, 365-368.
- [190] H.-D. Becker, A. Björk, E. Adler; Quinone Dehydrogenation. Oxidation of Benzylic Alcohols with 2,3-Dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone; *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1596-1600.
- [191] A. Spork, S. Wohnig, C. Ducho; unveröffentlichte Ergebnisse; Georg-August-Universität Göttingen; **2013**.
- [192] S. Wendicke; Dissertation, Universität Hamburg; **2007**.
- [193] P. Sieber; Der 2-Trimethylsilyläthyl-Rest als selektiv abspaltbare Carboxy-Schutzgruppe; *Helv. Chim. Acta* **1977**, *60*, 2711-2716.
- [194] R. Linder; Bachelorarbeit, Georg-August Universität Göttingen, **2011**.
- [195] A. Dose, S. Liokatis, F.-X. Theillet, P. Selenko, D. Schwarzer; NMR Profiling of Histone Deacetylase and Acetyl-transferase Activities in Real Time; *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 419-424.

- [196] H. Fenniri, P. Mathivanan, K. L. Vidale, D. M. Sherman, K. Hallenga, K. V. Wood, J. G. Stowell; Helical Rosette Nanotubes: Design, Self-Assembly, and Characterization; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3854-3855.
- [197] T. Hoeg-Jensen, M. H. Jakobsen, A. Holm; A New Method for Rapid Solution Synthesis of shorter Peptides by use of PyBOP; *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6387-6390.
- [198] S. Wiejak, E. Masiukiewicz, B. Rzeszotarska; Improved Scalable Syntheses of Mono- and Bis-Urethane Derivatives of Ornithine; *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 1189-1191.
- [199] J. C. Martini, N. W. Franke, G. M. Singerman; New preparation of coumarans; *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 2904-2907.
- [200] L. A. Carpino, H. Shroff, S. A. Triolo, M. E. M. El-Sayed, H. Wenschuh, F. Albericio; The 2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl Group (Pbf) as Arginine Side Chain Protectant; *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7829-7832.
- [201] O. Garcia, J. M. Bofill, E. Nicolas, F. Albericio; 2,2,4,6,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-methyl (Pbfm) as an Alternative to the Trityl Group for the Side-Chain Protection of Cysteine and Asparagine/Glutamine; *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3631-3640.
- [202] S. K. Collins, A. I. McDonald, L. E. Overman, Y. H. Rhee; Enantioselective Total Synthesis of (-)-Dehydrobatzelladine C; *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1253-1255.
- [203] S. S. Ali, K. M. Kahn, H. Echner, W. Voelter; Two new Protecting Groups for the Guanidino Function of Arginine; *J. Prakt. Chem.* **1995**, *337*, 12-17.
- [204] T. Humbert, A. Marsura, C. Luu-Duc; Solid Phase Synthesis of a Tetrapeptide Labelled with Carbon-13; *J. Lab. Comp. Radiopharm.* **1992**, *31*, 183-198.
- [205] M. Büschleb; Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [206] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, München **2004**, 740-744.
- [207] M. Zhao, J. Li, E. Mano, Z. Song, D. M. Tschaen, E. J. J. Grabowski, P. J. Reider; Oxidation of Primary Alcohols to Carboxylic Acids with Sodium Chlorite Catalyzed by TEMPO and Bleach; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2564-2566.
- [208] A. Lemke; Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2009**.
- [209] A. Dondoni, A. Massi, E. Minghini, S. Sabbatini, V. Bertolasi; Model Studies toward the Synthesis of Dihydropyrimidinyl and Pyridyl α -Amino Acids via Three-

-
- Component Biginelli and Hantzsch Cyclocondensations; *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6172-6183.
- [210] O. Ries; Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [211] N. Okamoto, O. Hara, K. Makino, Y. Hamada; Stereoselective synthesis of (3*S*,4*R*)-3,4-dimethyl-(*S*)-glutamine and the absolute stereochemistry of the natural product from papuamides and callipeltin; *Tetradron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1353-1358.
- [212] P. Marfey; Determination of D-Amino Acids. II. Use of a Bifunctional Reagent, 1,5-Difluoro-2,4-Dinitrobenzene; *Carlsberg Res. Commun.* **1984**, *49*, 591-596.
- [213] W.-H. Lam, K. Rychli, T. D. H. Bugg; Identification of a novel β -replacement reaction in the biosynthesis of 2,3-diaminobutyric acid in peptidynucleoside mureidomycin A; *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1912-1917.
- [214] M. Wang, S. J. Gould; Biosynthesis of capreomycin. Incorporation of L-serine, L-alanine, and L-2,3-diaminopropionic acid; *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5176-5180.
- [215] A. Viso, R. F. de la Pradilla, A. García, A. Flores; α,β -Diamino Acids: Biological Significance and Synthetic Approaches; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 3167-3196.
- [216] D. E. DeMong, R. M. Williams; Asymmetric Synthesis of (2*S*,3*R*)-Capreomycin and the Total Synthesis of Capreomycin IB; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8561-8565.
- [217] Y. Chen, A. K. Yudin; Synthesis of 3-aminoaspartic acid derivatives from glycine precursors; *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4865-4868.
- [218] D. A. Evans, E. B. Sjogren; The asymmetric synthesis of β -lactam antibiotics- I. application of chiral oxazolidones in the Staudinger reaction; *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3783-3786.
- [219] S. R. Chhabra, A. Mahajan, W. C. Chan; Homochiral 4-Azalysine Building Blocks: Syntheses and Applications in Solid-Phase Chemistry; *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4017-4029.
- [220] G. Li, S. H. Kim, H.-X. Wei; α,β -Differentiated tandem diamination of cinnamic esters using *N,N*-dichloro-2-nitrobenzenesulfonamide and acetonitrile as the nitrogen sources; *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8699-8703.
- [221] T. B. Durham, M. J. Miller; An Enantioselective Synthesis of Differentially Protected erythro- α,β -Diamino Acids and Its Application to the Synthesis of an Analogue of Rhodopeptin B5; *J. Org. Chem.* **2002**, *68*, 35-42.

- [222] C. Schüttler, Z. Li-Böhmer, K. Harms, P. von Zezschwitz; Enantioselective Synthesis of 3,4-Disubstituted cis- and trans-1,2,5-Thiadiazolidine-1,1-dioxides as Precursors for Chiral 1,2-Diamines; *Org. Lett.* **2013**, *15*, 800-803.
- [223] X.-X. Yan, Q. Peng, Q. Li, K. Zhang, J. Yao, X.-L. Hou, Y.-D. Wu; Highly Diastereoselective Switchable Enantioselective Mannich Reaction of Glycine Derivatives with Imines; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14362-14363.
- [224] P. Garner, J. M. Park; The Synthesis and Configurational Stability of Differentially Protected β -Hydroxy- α -amino Aldehydes; *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2361-2364.
- [225] P. L. Beaulieu, P. W. Schiller; Enantiospecific Synthesis of D- α,ω -Diaminoalkanoic Acids; *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2019-2022.
- [226] I. Jako, P. Uiber, A. Mann, C. G. Wermuth, T. Boulanger, B. Norberg, G. Evrard, F. Durant; Stereoselective synthesis of 3-alkylated glutamic acids: application to the synthesis of secokainic acid; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5729-5733.
- [227] N. Chida, T. Tobe, S. Okada, S. Ogawa; Total synthesis and absolute configuration of bengamide A; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1064-1066.
- [228] B. B. Snider, Y. Gu; Total Synthesis of (-)- and (+)-Dysibetaine; *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1761-1763.
- [229] C. Guibourdenche, M. L. Roumestant, P. Viallefont; Enantiospecific synthesis of quisqualic acid; *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, *9*, 2041-2046.
- [230] B. H. Han, Y. C. Kim, M. K. Park, J. H. Park, H. J. Go, H. O. Yang, D.-Y. Suh, Y.-H. Kang; Total Synthesis of Sanjoinine-G1; *Heterocycles* **1995**, *41*, 1909-1914.
- [231] L. Williams, Z. Zhang, F. Shao, P. J. Carroll, M. M. Joullie; Grignard Reactions to Chiral Oxazolidine Aldehydes; *Tetrahedron* **1996**, *52*, 11673-11694.
- [232] X. Zhang, W. A. van der Donk; On the Substrate Specificity of Dehydration by Lactacin 481 Synthetase; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2212-2213.
- [233] J. A. Dale, D. L. Dull, H. S. Mosher; α -Methoxy- α -trifluoromethylphenylacetic acid, a versatile reagent for the determination of enantiomeric composition of alcohols and amines; *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 2543-2549.
- [234] J. M. Seco, E. Quinoa, R. Riguera; The assignment of absolute configurations by NMR of arylmethoxyacetate derivatives: is this methodology being correctly used?; *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 2781-2791.
- [235] M. Karplus; Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance; *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870-2871.

-
- [236] H.-E. Radunz, R. M. Cebvant, V. Eiermann; Eine effiziente und stereoselektive Synthese von D-erythro-Sphingosin; *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 1103-1105.
- [237] O. Mitsunobu; The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products; *Synthesis* **1981**, 1-28.
- [238] S. Hanessian, D. K. Maji, S. Govindan, R. Matera, M. Tintelnot-Blomley; Substrate-Controlled and Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Carbocyclic Amino Acid Dipeptide Mimetics; *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2861-2876.
- [239] W. Oppolzer, E. J. Jacobsen; Enantioselective syntheses of (+)- α -skytanthine, (+)- δ -skytanthine and (+)-iridomyrmecin by an intramolecular magnesium-ene reaction; *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 1141-1144.
- [240] K. Zheng, Y. Yang, J. Zhao, C. Yin, L. Lin, X. Liu, X. Feng; The Magnesium(II)-Catalyzed Asymmetric Ketone-Ene Reaction under Solvent-Free Conditions: Stereocontrolled Access to Enantioenriched Trifluoromethyl-Substituted Compounds; *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 9969-9972.
- [241] Q. Yang, Y. Liu, W. Zhang; A theoretical study of imine-ene reaction influencing factors; *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 6343-6351.
- [242] H. Adams, J. C. Anderson, S. Peace, A. M. K. Pennell; The Nitro-Mannich Reaction and Its Application to the Stereoselective Synthesis of 1,2-Diamines; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9932-9934.
- [243] S. Roseman, J. J. Distler, J. G. Moffatt, H. G. Khorana; Nucleoside Polyphosphates. XI.I An Improved General Method for the Synthesis of Nucleotide Coenzymes. Syntheses of Uridine-5', Cytidine-5' and Guanosine-5' Diphosphate Derivatives; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 659-663.
- [244] H. Gold, P. van Delft, N. Meeuwenoord, J. D. C. Codée, D. V. Filippov, G. Eggink, H. S. Overkleeft, G. A. van der Marel; Synthesis of Sugar Nucleotides by Application of Phosphoramidites; *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 9458-9460.
- [245] T. Tsunoda, M. Nagaku, C. Nagino, Y. Kawamura, F. Ozaki, H. Hioki, S. Itô; Carbon-carbon bond formation with new Mitsunobu reagents; *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 2531-2534.
- [246] T. Tsunoda, Y. Yamamiya, S. Itô; 1,1'-(azodicarbonyl)dipiperidine-tributylphosphine, a new reagent system for Mitsunobu reaction; *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1639-1642.

- [247] K. Tsubaki, T. Kusumoto, N. Hayashi, D. Tanima, K. Fuji, T. Kawabata; Convenient preparation of optically active *N,N*-bis(4-substituted-4-aminobutyl)amines; *Tetradron: Asymmetry* **2005**, *16*, 739-743.
- [248] A. K. Ghosh, Y. Wang; Total Synthesis of (+)-Polyoxin J; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2789-2795.
- [249] H. Staudinger, J. Meyer; Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylenderivate und Phosphinimine; *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
- [250] R. Badorrey, C. Cativiela, M. D. Díaz-de-Villegas, R. Díez, J. A. Gálvez; Study of the Reactions between Vinylmagnesium Bromide and Imines Derived from (*R*)-Glyceraldehyde – The Key Step in the Stereodivergent Synthesis of Conveniently Protected, Enantiopure syn- and anti-2-Amino-1,3,4-butanetriol Derivatives; *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2268-2275.
- [251] M. Caron, P. R. Carlier, K. B. Sharpless; Regioselective azide opening of 2,3-epoxy alcohols by [Ti(O-*i*-Pr)₂(N₃)₂]: synthesis of α -amino acids; *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5185-5187.
- [252] L. De Luca, G. Giacomelli, S. Masala, A. Porcheddu; Trichloroisocyanuric/TEMPO Oxidation of Alcohols under Mild Conditions: A Close Investigation; *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4999-5001.
- [253] J. D. More, N. S. Finney; A Simple and Advantageous Protocol for the Oxidation of Alcohols with *o*-Iodoxybenzoic Acid (IBX); *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001-3003.
- [254] D. B. Dess, J. C. Martin; A Useful 12-1-5 Triacetoxyperiodinane (the Dess-Martin Periodinane) for the Selective Oxidation of Primary or Secondary Alcohols and a Variety of Related 12-1-5 Species; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277-7287.
- [255] B. O. Lindgren, T. Nilsson; Preparation of Carboxylic Acids from Aldehydes (including Benzaldehydes) by Oxidation with Chlorite; *Acta Chim. Scand.* **1973**, *27*, 888-890.
- [256] P. J. Belshaw, S. Mzengeza, G. A. Lajoie; Chlorotrimethylsilane Mediated Formation of ω -Allyl Esters of Aspartic And Glutamic Acids; *Synthetic Commun.* **1990**, *20*, 3157-3160.

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

$[\alpha]_D^{25}$	spezifischer Drehwert
Å	Ångström
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
AcCl	Acetylchlorid
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcCoA	acetyliertes Coenzym A
AcOH	Essigsäure
ADP	Adenosindiphosphat
Ala	Alanin
Alloc	Allyloxycarbonyl
AllocCl	Chlorameisensäureallylester
Äq.	Äquivalente
Arg	Arginin
AS	Aminosäuren
Asp	Aspartat
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	<i>attenuated total reflection</i>
BAIB	Bisacetoxiodbenzol
ber.	berechnet
bidest.	bidestiliert
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butylcarbonat
BOP	Benzotriazolylxytris(dimethylamino)-phosphonium-hexafluorophosphat
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa

CAN	Cerammoniumnitrat
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CbzCl	Chlorameisensäurebenzylester
CDI	Carbonyldiimidazol
cm	Zentimeter
CoA	Coenzym A
COMU	1-Cyano-(2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)-dimethylamino-morpholino-carbenium-hexafluorophosphat
COSY	<i>correlation spectroscopy</i>
CR	<i>carbohydrate recognition</i>
δ	chemische Verschiebung [ppm]
d	Dublett, Tage
Da	Dalton
DAP	Diaminopimelinsäure
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCI	<i>desorption chemical ionization</i>
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett
ddd	Dublett von Dubletts von Dubletts
dddd	Dublett von Dubletts von Dubletts von Dubletts
(-)-DET	(<i>S,S</i>)-Diethyltartrat
DH	Dehydrogenase
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
dm	Dezimeter
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMP	<i>Dess-Martin</i> -Periodinan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DPPA	Diphenylphosphorylazid
ϵ	molarer dekadischer Extinktionskoeffizient

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
e	Elementarladung
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid
EI	Elektronenstossionisation
ESI	Elektrosprayionisation
Et	Ethyl
<i>et al.</i>	und andere
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FRET	<i>Förster</i> -Resonanzenergietransfer
FT	Fouriertransformation
g	Gramm
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gew%	Gewichtsprozent
Glc	Glucose
GlcNAc	<i>N</i> -Acetylglucosamin
Glu	Glutaminsäure
h	Stunde(n)
HATU	2-(1 <i>H</i> -7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond coherence</i>
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
HTS	<i>high throughput screening</i>
Hz	Hertz
<i>i</i>	<i>iso</i>
IBX	2-Iodoxybenzoesäure
IC ₅₀	inhibitorische Konzentration für 50 % Enzymaktivität
<i>iPr</i>	<i>iso</i> -Propyl

IR	Infrarot
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
<i>J</i>	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
<i>kat.</i>	katalytisch
Kap.	Kapitel
konz.	konzentriert
λ_{\max}	maximale Wellenlänge
LC-MS	Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie-Kopplung
Leu	Leucin
Lys	Lysin
M	molar
m	Multipllett
m/z	Masse pro Ladung
MAPI	mikrobiell alkalische Proteinase-Inhibitoren
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
MIC	<i>minimum inhibitor concentration</i>
mL	Milliliter
μm	Mikrometer
mm	Millimeter
mM	Millimolar
μmol	Mikromol
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
Ms	Methylsulfonyl
MS	Massenspektrometrie, Molekularsieb
MsCl	Methylsulfonylchlorid
MTPA	α -Methoxy- α -trifluoromethylphenyllessigsäure
Mur	Muraminsäure
MurNAc	<i>N</i> -Acetylmuraminsäure
<i>mra</i>	<i>murein region A</i>

ν	Wellenzahl
N	Normal
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NBD	Norbornadien
NDP	Nucleotiddiphosphat
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
nm	Nanometer
nM	Nanomolar
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NOE	<i>nuclear overhauser effect</i>
Nr.	Nummer
<i>p</i>	<i>para</i>
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PE	Petrolether
PEP	Phosphoenolpyruvat
Ph	Phenyl
P _i	anorganisches Phosphat
pK _a	Säurekonstante
Pmc	2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl
PMP	<i>para</i> -Methoxybenzyl
PP _i	Pyrophosphat
Pr	Propyl
ppm	<i>parts per million</i>
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
PyBOP	Benzotriazol-1-yloxy-tripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
q	Quartett
quant.	quantitativ
R	Rest
R _f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
RP	<i>reversed phase</i>
Rt	Raumtemperatur

s	Singulett
s.	siehe
S	Sedimentationskoeffizient
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SAR	<i>structure activity relationship</i>
SG	Schutzgruppe
S _N 2	nucleophile Substitution 2. Ordnung
SPA	<i>scintillation proximity assay</i>
t	Triplett
<i>t</i>	tert
T	Temperatur
T _b	Siedepunkt
Tab.	Tabelle
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyl
Th	Thomson
T _m	Schmelzpunkt
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBDMSCl	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
Tces	Trichlorethoxysulfonyl
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl
Tf	Trifluormethansulfonyl
Tf ₂ O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMSCl	Trimethylsilylchlorid
TMSE	Trimethylsilylethyl
TMSEOH	2-Trimethylsilylethanol
TOF	<i>time of flight</i>
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
TsCl	<i>p</i> -Toluolsulfonylchlorid
<i>t</i> _R	Retentionszeit
typ.	typischerweise

UDP	Uridindiphosphat
UMP	Uridinmonophosphat
UTP	Uridintriphosphat
UV	Ultraviolett
Val	Valin
VIS	sichtbare elektromagnetische Strahlung
z. B.	zum Beispiel

9.2 Danksagung

Herrn Prof. Dr. C. Ducho möchte ich ganz besonders für die Vergabe des interessanten Themas, die hervorragenden Arbeitsbedingungen, seine engagierte Betreuung sowie für seine stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft danken.

Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. U. Diederichsen für die Übernahme des Zweitgutachtens dieser Arbeit.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. L. Tietze, Herrn Dr. A. Breder, Herrn Prof. Dr. G. Clever und Herrn Prof. Dr. D. Stalke für die Teilnahme in der Prüfungskommission.

Weiterhin danke ich der NMR-Abteilung in der Universität Göttingen um Herrn Dipl.-Chem. R. Machinek und seinen Mitarbeitern Frau E. Pfeil, Frau C. Siebert, Frau C. Zolke und Herrn M. Weitemeier und der NMR-Abteilung der Universität Paderborn um Dr. H. Egold und seinen Mitarbeitern für die Messung zahlreicher NMR-Spektren. Der Abteilung für zentrale Analytik der Universität Göttingen um Dr. H. Frauendorf und seinen Mitarbeitern Frau G. Krökel, Frau G. Udvarnoki und Herrn F. Hambloch und der Abteilung für zentrale Analytik der Universität Paderborn um Dr. H. Weber und seinen Mitarbeitern Frau R. Knaup und Frau Dipl.-Ing. M. Zukowski danke ich für die Messung der zahlreichen Massenspektren. Mein Dank gilt auch Frau E. Pfeil für die nette Einweisung an den Spektrometern und die Möglichkeit zur eigenen Messung der IR- und UV-Spektren, sowie der Drehwerte und der Messung der IR- und UV-Spektren, sowie der Drehwerte, wenn es zeitlich knapp war. Des Weiteren danke ich Frau A. Harbarth für die sehr schnelle Messung der IR-Spektren in Paderborn. Mein Dank gilt auch der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. G. Henkel, besonders Adam Neuba und Jochen Ortmeyer für die Einweisung an dem UV-Spektrometer und die Möglichkeit zur eigenen Messung der UV-Spektren. Frau Martina Pretor und besonders Ole Schneemann danke ich für die schnelle Hilfe in Computerfragen. Für die Bestellung und Bereitstellung der Chemikalien danke ich Herrn R. Schrommek und Herrn H. Tucholla in Göttingen und Herrn M. Schmidt in Paderborn. Für die Entsorgung der Chemikalien in Paderborn danke ich Herrn C. Nernheim.

Den Mitgliedern des Arbeitskreises Martin Büschleb, Oliver Ries, Anatol Spork, Anke Lemke, Boris Schmidtgall, Malte-Ole Schneemann, Daniel Wiegmann, Kristin Leyerer, Marius Wirth, Philipp Schäfer gilt mein Dank für ihre Hilfsbereitschaft, das hervorragende Arbeitsklima und zahlreiche Gespräche. Meinen Bachelor-Studenten Ruth Linder und Siyuan Sima danke ich für die Unterstützung durch ihre Arbeiten an den Harnstoff-Peptiden und 2,3-Diaminosäuren im Rahmen ihrer Bachelorarbeiten. Vielen Dank auch an alle Praktikantinnen und Praktikanten, die mich durch ihre experimentellen Arbeiten im Rahmen ihres Studiums tatkräftig unterstützten. Außerdem danke ich allen Bachelor-Studenten des Arbeitskreises Ducho für die gute Arbeitsatmosphäre.

Ich danke den Mitgliedern der Abteilung Tietze für die nette Einweisung in die Hydrierapparatur und für die Bereitstellung einiger Chemikalien. Den Mitgliedern der Abteilung Wilhelm und den Mitgliedern der Abteilung Kuckling danke ich für die Bereitstellung der Gefriertrocknungsanlage und der HPLC-Anlage, die sehr gute Arbeitsatmosphäre und die netten und lustigen Gespräche während der Mittags- und Kaffeepausen.

Für das zügige und zuverlässige Korrekturlesen gilt mein besonderer Dank Kathrin Luhn, Laura Grothe, Rajkumar Jeyachandran, Kristin Leyerer, Boris Schmidtgall, Martin Büschleb und Jan Schier.

Meinen Freunden danke ich für die schönen Abende außerhalb des Labors und besonders für die willkommene Ablenkung in der Schreib- und Lernphase. Ohne euch wäre die Zeit nicht so schön geworden. Besonders möchte ich noch meiner WG Laura, Tabea, Marie und Anke danken, die die Wohnung erst zu einem Zuhause gemacht haben. Ein besonderer Dank gilt Anke, die mich in allen Lebenslagen in Paderborn unterstützt hat.

Meiner Familie und besonders meinen Eltern und meinem Onkel Norbert möchte ich für ihre Unterstützung während des gesamten Studiums und besonders während der Promotion danken und dafür, dass sie mir das Studium und den Aufenthalt in Bern ermöglicht haben. Außerdem bedanke ich mich dafür, dass ihr immer für mich da seid.

Ganz besonders danke ich Jan, für die vielen schönen Abende und Aufmunterungen in der Endphase der Promotion. Außerdem für das Ertragen meiner Launen und das Verständnis, wenn mal wieder wenig Zeit war. Danke dass du mich unterstützt hast, auch wenn es nicht immer einfach war.

9.3 Lebenslauf

Persönliche Informationen

Name: Stephanie Wohnig
Geburtsdatum: 19.05.1984
Geburtsort: Stadtoldendorf
Staatsangehörigkeit: deutsch

Ausbildung

1.2012-12.2013 wissenschaftliche Mitarbeiterin, Universität Paderborn

11. 2009-12.2013 Promotionsstudium des Faches Chemie, Georg-August Universität Göttingen, Dissertation zum Thema: „Synthese des dansylierten Park-Nucleotids und vereinfachter Analoga der Muraymycin-Antibiotika“ im Arbeitskreis von Prof. Dr. C. Ducho.

11.2009-12.2011 wissenschaftliche Mitarbeiterin, Georg-August Universität Göttingen

10.2008-07.2009 Diplomarbeit zum Thema: „Chemische Wege zur Darstellung von Fluoreszenz-markiertem Park-Nucleotid“ im Arbeitskreis von Jun.-Prof. Dr. C. Ducho, Georg-August Universität Göttingen, Note „sehr gut“

11.2007-03.2008 Auslandsaufenthalt im Rahmen des ERASMUS-Programmes, Universität Bern/Schweiz bei Prof. P. Renaud

10.2003-10.2009 Studium des Faches Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

08.1996-05.2003 Campe Gymnasium, Holzminden

Konferenzbeiträge

S. Wohnig, C. Ducho, A Chemical Approach for the Synthesis of Fluorescently Labelled UDP-MurNAc-Pentapeptide for High Throughput *MraY* Assays, 12th JCF-Spring Symposium, Göttingen, Germany, 2010.

S. Wohnig, C. Ducho, Chemical Synthesis of Fluorescently Labelled UDP-MurNAc-Pentapeptide for High Throughput MraY Assays, 10th German Peptide Symposium, Berlin, Germany, March 7th-10th 2011.

S. Wohnig, C. Ducho, Chemical Synthesis of Fluorescently Labelled UDP-MurNAc-Pentapeptide for High Throughput MraY Assays, 4th Göttingen Chemistry Forum, Göttingen, Germany, July 8th 2011.

S. Wohnig, C. Ducho, A Chemical Synthesis of Dansylated UDP-MurNAc- Pentapeptide for High Throughput MraY Assays, 4th EucemS Chemistry Congress, Prague, Czech Republic, August 26th-30th 2012.

Göttingen, 13. November 2013

Ort, Datum

Stephanie Wohnig

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel: "Synthese des dansylierten Park-Nukleotids und vereinfachter Analoga der Muraymycin-Antibiotika " selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Göttingen, den 13.11.2013

Stephanie Wohnig